استفاده از هسته انگور (*Vitis vinifera*) نانو کپسوله به‌منظور بهبود شاخص‌های شیمیایی، باکتریایی و افزایش زمان ماندگاری فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

فرانک محمودی اردبیلی[a]، مسعود هدایتی‌فرد[b] *

[a] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه شیلات، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران
[b] دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۲/۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۵/۱۷

چکیده

مقدمه: امروزه استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی برای حفظ کیفیت مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش استفاده از نگهدارنده طبیعی عصاره هسته انگور در فرم نانوکپسوله برای افزایش عمر ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: فیله‌های ماهی قزل آلای رنگین‌کمان پس از سر و دم زدن و تخلیه شکمی، حذف استخوان‌ها و شستشو، با عصاره هسته انگور با دو دز ۰/۲٪ و ۰/۴٪ در دو فرم آزاد (معمولی) و نانو انکپسوله بطور جداگانه تهیه و در دمای یخچال (۴ درجه سانتی گراد) به مدت ۱۵ روز نگهداری شد. شاخص‌های شیمیایی شامل بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N mg/100)، عدد پراکسید (PV meqO_2/K_{fa}) و تیوباربیتوریک اسید (TBA mgMDA/K) و جمعیت‌های باکتریایی شامل شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل (TC) و باکتری‌های سرماگرا (TPC) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که نمونه‌های حاوی انواع عصاره هسته انگور به هردو فرم نانو کپسوله و معمولی نسبت به نمونه شاهد دارای کیفیت بهتری بودند؛ بطوریکه زمان ماندگاری ماهی تازه از ۶ روز در شاهد به بیش از ۹ روز در نمونه‌های حاوی عصاره افزایش یافت ($p<0.05$). نتایج همچنین نشان داد فرآیند نانو انکپسول کردن عصاره هسته انگور بر روی جمعیت باکتری‌های سرماگرا (TPC)، تاثیری مشابه با فرم آزاد آن دارد؛ در حالیکه روی جمعیت باکتری‌های کل (TC) و نیز شاخص‌هایی همچون مجموعTVB-N ، اندیس PV و شاخص TBA اثر نگهدارندگی مستقل دارد ($p<0.05$).

نتیجه‌گیری: با عنایت به نتایج بدست آمده می‌توان ادعا نمود که فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با به‌کارگیری عصاره هسته انگور تا ۱۲ روز در یخچال قابلیت مصرف به‌عنوان ماهی تازه را دارد.

واژه‌های کلیدی: *قزل‌آلای رنگین‌کمان، نانوانکپسوله، هسته انگور*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: hedayati.m@qaemiau.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

غذاهای دریایی علیرغم فواید سرشار تغذیه‌ای، فرآورده‌هایی فساد پذیر هستند و معمولا سریع‌تر از غذاهای گوشتی دیگر فاسد می‌شوند. این فرآورده‌ها منبع پروتئینی با ارزش و سرشار از اسیدهای چرب با ارزش امگا-۳ (Hedayatifard and Moeini, 2007) برای تغذیه انسان می‌باشند و در یک رژیم غذایی سالم نقش مهمی را ایفا می‌کنند. به همین دلیل نمی‌توان ماهی را بیش از ۱۲ الی ۱۵ ساعت در دمای محیط نگهداری کرد (Shakila Jeya *et al*., 2005). چراکه ماندگاری ماهیان در هوا به اثرات شیمیایی اکسیژن اتمسفر و رشد میکروارگانیسم‌های هوازی مولد فساد وابسته است (Özogul *et al*., 2004). افزایش تقاضای مصرف ماهی تازه یکی از تمایلات اصلی در خرید ماهی است، همچنین علاوه بر سالم وخوش طعم بودن گوشت ماهی، راه‌هایی برای توزیع مناسب آنها مورد نیاز است.

فساد باکتریایی ماهی نگهداری شده در یخچال، تحت شرایط هوازی توسط میکروارگانیزم‌های گرم منفی سرمادوست مثل سودوموناس[1]، آلترموناس[2]، شوانلا[3] و گونه‌های مختلف فلاوباکتریوم[4] اتفاق می‌افتد (Hubbs, 1991). بدین منظور روش‌های متعددی برای جلوگیری از رشد یا از بین بردن باکتری‌های عامل فساد و پاتوژن‌های بیماری‌زا و همچنین افزایش کیفیت و امنیت غذاهای نگهداری شده در یخچال ارائه شده‌است که استفاده از عصاره‌ها، اسانس‌ها و یا روکش‌دار کردن ماهی از جمله آنهاست (Ojagh *et al*., 2010; Atrea *et al*., 2009). ترکیبات فنولی یکی از بهترین منابع آنتی اکسیدان‌های طبیعی هستند (Dormana *et al*., 2003; Lee *et al*., 2005). تحقیقات Sacchetti و همکاران (۲۰۰۵) اثر ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی برخی اسانس‌ها را نشان داد و در همین راستا استفاده از اسانس‌ها به عنوان مواد ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی ماهی مورد مطالعه قرار گرفته است و توسط Mexis و همکاران (۲۰۰۹) و همچنین Kykkidou و همکاران (۲۰۰۹) مورد استناد قرار گرفت.

امروزه برای افزایش عمر ماندگاری و جلوگیری از فساد ماهی تکنیک‌های متفاوتی مثل سردسازی محصول بلافاصله پس از صید و نگهداری در یخ (Özyurt *et al*., 2009)، انجماد (معینی، ۱۳۶۸)، بسته بندی در خلا[5] و اتمسفر اصلاح شده[6] (هدایتی‌فرد و اروجعلیان، ۱۳۸۹؛ Özogul *et al*., 2004) پرتودهی با اشعه گاما و UV (Savvaidis *et al*., 2002)، استفاده از مواد ضد میکروبی مثل اسیدهای آلی (Al-Dagal and Bazarra, 1999) و نمک اسیدهای آلی (Manju *et al*., 2007; Sallam *et al*., 2007)، استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی و مصنوعی (Banergee, 2006)، روکش‌دار کردن (Fan *et al*., 2009) و در همین راستا بکارگیری اسانس‌ها (Frangos *et al*., 2010) و همچنین اثر ترکیبی روکش غذایی و اسانس (Ojagh *et al*., 2010) به کار برده می‌شود.

در صنایع غذایی از آن دسته آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیکی استفاده می‌شود که ارزان، مطمئن و فراوان باشند (Pokorny, 2003)، اما امروزه مصرف‌کنندگان از هر ماده شیمیایی واهمه دارند و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را ترجیح می‌دهند؛ این افراد آنتی اکسیدان‌های طبیعی را مطمئن‌تر دانسته و آن‌ها را با بدن سازگارتر می‌دانند (Boyd *et al*., 1993; Yu *et al*., 2002; Pokorny, 2003; Serdaroglu and Yildiz-Turp, 2005). از این رو برای حفظ و نگهداری گوشت و ماهیان، تقاضا برای استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی افزایش یافته است (Sahoo *et al*., 2004; Lin and Lin, 2005). بر طبق گزارشات این احتمال وجود دارد که آنتی اکسیدان‌های سنتتیک به عنوان عامل بروز سرطان عمل کنند و جهش زا باشند، در حالیکه در مقابل انواع طبیعی آنتی اکسیدان‌ها جنبه‌های غذایی و درمانی را با خود به همراه دارند.

انگور (*Visit vinifra*) یکی از میوه‌هایی است که بیشترین سطح زیر کشت را در دنیا به خود اختصاص داده‌است بطوریکه در دهه اخیر سالانه حدود ۵۸ میلیون تن انگور در دنیا تولید شده است (Jayaprakasha, 2003). هسته انگور از ضایعات کارخانه‌های عصاره گیری انگور می‌باشد که با دارا بودن ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی بسیار قوی بطور گسترده‌ای از آن برای درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله انواع سرطان، بیماری‌های

[1] Pseudomonas [2] Alteromonas [3] Shewanella [4] Flavobacterium [5] Vacuum Packaging
[6] Modified Atmosphere Packaging

Archive of SID

www.SID.ir

قلبی– عروقی، زخم معده، چاقی مفرط، التهابات پوستی و نیز به عنوان یک نگهدارنده موثر و قوی در موادغذایی استفاده می‌گردد (Kallithraka and Viguera, 1995; Cha *et al*., 2002). عصاره دانه انگور یک مکمل تغذیه ای مناسب می‌باشد که به دلیل غنی بودن از ترکیبات مختلف منومری مانند کاتکین، اپی‌کاتکین، و ترکیبات دی مری، تری مری و تترامری مانند پروسیانیدین‌ها خواص آنتی اکسیدانتی و ضد میکروبی نشان می‌دهد و به عنوان عامل ضد سرطان و ضد ویروس شناخته می‌شود (Brannan, 2009).

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان یکی از گونه‌های تجاری ایران محسوب می‌شود که در استان‌های مختلف پرورش داده می‌شود. این ماهی در حال حاضر یکی از گونه‌های مهم پرورشی جهان به حساب می‌آید به طوری که تولید آن از ۴۴۷ هزار تن در سال ۲۰۰۰ به بیش از ۷۸۰ هزارتن در سال ۲۰۱۴ افزایش یافته و هفدهمین گونه مهم پرورشی آبزیان از نظر تولید می‌باشد (FAO, 2014). ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نیز در ایران به دلیل طعم و مزه مناسب و مطلوب دارای طرفداران بسیاری می‌باشد، به طوری که در سال ۱۳۹۲ به میزان ۱۴۳ هزار تن تولید گردید که ضمن تامین ۳/۰۷ درصد از کل آزاد ماهیان پرورشی، مقام اول جهان را در زمینه تولید قزل‌آلا در آب شیرین به خود اختصاص داده است (بی نام، ۱۳۹۲).

در زمینه استفاده از فرآورده‌های گیاهی برای افزایش عمر ماندگاری ماهی تحقیقات مختلفی صورت پذیرفته است، بطوریکه اثر چای سبز روی ماهی ماکرل اقیانوس اطلس (*scomber scombrus*) (Alghazeer *et al*, 2008)، اثر ترکیبی اسانس پونه کوهی (*Origanum vulgare*) و بسته بندی تحت خلا بر روی مدت ماندگاری هشت‌پای مدیترانه‌ای (*Octopus vulgaris*) (Atrea و همکاران، ۲۰۰۹)، پوشش افشانه‌ای پودر آویشن روی باس دریایی (Attouchi and Sodak، ۲۰۱۰)، اثرات ضدباکتریایی عصاره هسته انگور روی ۱۵ گونه باکتری پاتوژن و عامل فساد در محیط الکلی (Baydar و همکاران، ۲۰۰۴)، بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره هسته انگور، نایسین، لیزوزیم در ترکیب با آلژینات سدیم و کاراژینان EDTAبعنوان پوشش‌های خوراکی (Cha و همکاران، ۲۰۰۲) و اثرات پلی‌فنول چای[1] (TP) برای افزایش مدت ماندگاری ماهی کپور نقره‌ای (Fan و همکاران، ۲۰۰۸) مورد مطالعه قرار گرفته است. همچنین ماهیان مختلفی تحت اثرات نگهدارندگی ترکیبات گیاهی همانند عصاره رزماری (*Rosemarinus officinalis*) (Formanek *et al*., 2003)، ترکیب نمک سود کردن و اسانس روغنی پونه کوهی و بسته‌بندی تحت شرایط خلاء (Frangos *et al*., 2010)، ترکیب نمک سود شده سبک همراه با بسته‌بندی اتمسفر اصلاح‌شده[2] یا MAP و پونه کوهی (Goulas and Kontominas, 2007)، هسته انگور در حلال‌های مختلف (Jayaprakasha, 2003)، اسانس آویشن و MAP (Kykkidou *et al*., 2009) و نیز استات سدیم (Manju *et al*., 2007) و پونه کوهی (Mexis *et al*., 2009) قرار گرفتند.

از سوی دیگر محققان داخل کشور نیز به موضوع پرداخته‌اند، بطوریکه Shafiee و همکاران (۱۹۹۹) فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی هسته انگور را گزارش کردند، اجاق و همکاران (۱۳۸۳) اثر آنتی اکسیدان‌های طبیعی بر کیفیت ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultriventris caspia*)، اعتمادی و همکاران (۱۳۸۷) اثر آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی عصاره رزماری بر ماهی قزل آلای بسته بندی شده در خلا، Choobkar و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی بر رشد استافیلوکوک ارئوس (*Staphylococcus aureus*) در فیله‌های کپور نقره‌ای نمک سود، Haghparast و همکاران (۲۰۱۰) نقش عصاره‌ی گیاه چای سبز و پیاز قرمز بر کیفیت چربی و خصوصیات حسی فیله‌های ماهی قره برون و نیز گلی و همکاران (۱۳۸۹) فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست نارنج را در ماهی فیتوفاگ مورد مطالعه قرار دادند. همچنین علی‌بیگی و همکاران (۱۳۹۲) از عصاره پوست پرتقال برای جلوگیری از فساد چربی فیله ماهی کپور استفاده کردند.

انکپسوله کردن در واقع روش بسته بندی مواد بصورت میکرو و نانو می‌باشد (Desai and Park, 2005). هدف از این روش محافظت از ترکیبات فعال از محیط اطراف ماده می‌باشد، بنابراین ترکیبات فعال به عنوان ماده هسته می‌باشند که مواد احاطه‌ای پوسته را شامل می‌شوند. ماده

[1] Tea Polyphenol

[2] MAP: Modified Atmospher Packaging

Archive of SID

www.SID.ir

انکپسوله شده به عنوان هسته مواد و ماده فعال و پرکننده نامیده می‌شود و ماده‌ای که انکپسوله می‌کند را به عنوان پوشش ماتریس یا ماده حامل می‌نامند (Madene *et al.*, 2006). کاربرد نانو انکپسولاسیون رو به افزایش است چراکه ویژگی‌های مهمی در مواد انکپسوله ایجاد می‌کند که از جمله این ویژگی‌ها، مخلوط کردن کامل مواد غیر قابل ترکیب، افزایش پایداری مواد انکپسوله بوسیله محافظت آنها از انواع تغییرات محیطی، آنزیمی و شیمیایی؛ بهبود در شناوری مواد، فراهم ایجاد بافری در برابر تغییرات pH، ایجاد ثبات یونی و حرارتی، محافظت در برابر طعم‌ها و بوهای نامطلوب و همچنین قابلیت آزادشدن کنترل‌شده ماده انکپسوله شده می‌باشد (Augustin *et al.*, 2001). در صنایع غذایی با انکپسوله کردن آنتی‌اکسیدان‌ها، می‌توان با عوامل تخریبی آنها مقابله کرد و از عوامل محیطی حفظ نمود. در این فناوری، آنتی اکسیدان مورد نظر به موقع و تحت شرایط خاص از پوشش رها می‌شود و خواص خود را اعمال می‌نماید.

در پژوهش کنونی نیز از عصاره هسته گیاه انگور به دو فرم آزاد و نانوکپسوله‌شده با لیپوزوم و با دزهای مختلف به‌عنوان نگهدارنده و یک ماده باکتریواستاتیک علیه باکتری‌های مولد فساد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شرایط سرما و در ۴ درجه سانتی‌گراد مورد استفاده قرار گرفته و طی دوره نگهداری در سردخانه اثرات آن روی شاخص‌های شیمیایی کیفیت بهمراه ترکیبات تقریبی ماهی و همچنین جمعیت باکتریایی کل و باکتری‌های سرمادوست در زمان‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

- تهیه عصاره نانو هسته انگور

عصاره‌گیری به روش خیساندن[1] و با استفاده از حلال اتانول به روش ارائه شده توسط Donsi و همکاران (۲۰۱۱) صورت گرفت و پس از اتمام فرآیند، ماده بدست آمده توزین و تا هنگام مصرف درون شیشه مات در یخچال نگهداری شد. در این فرآیند مقدار ۱۰۰ گرم از هسته انگور پس از آسیاب کردن، درون ظروف عصاره‌گیری ریخته شده و به میزان چهار برابر وزن هسته انگور، اتانول (۸۰ درصد) اضافه شده و مدت دو روز روی شیکر در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند؛ سپس محلول بدست آمده توسط کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف شده و درون بن ماری با درجه حرارت $^{\circ}C$ ۶۵-۶۰ برای تبخیر حلال قرار داده شد. عمل تغلیظ تا رسیدن به حدود پنج درصد مقدار اولیه عصاره ادامه یافت. پس از اتمام عصاره گیری ماده بدست آمده را توزین نموده و درون شیشه مات ریخته و تا هنگام مصرف در یخچال نگهداری شد.

از لیپوزوم برای انکپسوله کردن عصاره هسته انگور استفاده شد (Gibbs *et al.*, 1999)؛ بطوریکه بعد از تهیه آن به شکل تجاری، ابتدا به‌مدت ۳۰ دقیقه با اسید لینولئیک (بعنوان سورفاکتانت) به مقدار ۰/۱۳۰ درصد در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و در pH ۴/۵ شیک شد. پس از اتمام انکوباسیون، عصاره هسته انگور به مخلوط لیپوزوم و سورفاکتانت اضافه شده و به‌مدت ۲ ساعت در دمای محیط مجددا تکان داده شد. مخلوط مذکور در دستگاه خشک‌کن افشانه‌ای (اسپری درایر، مدل OPH, Lab-plant، UK Ltd YO14 ساخت انگلستان) با سرعت ۵/۲۶ml/min و با هوادهی ۱۰۰٪، درجه حرارت ورودی و خروجی به ترتیب ۱۰۵ و ۶۸ درجه سانتی‌گراد خشک شده و نهایتا نسبت لیپوزوم به عصاره هسته انگور ۴ به ۱ تهیه شد.

- تهیه و آماده‌سازی تیمارها

تعداد ۲۵ عدد ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان با وزن متوسط ۳۵۰±۲/۵۰ گرم از مزارع استان مازندران صید و به آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی و بیوتکنولوژی پژوهشکده اکولوژی دریای خزر (ساری، مازندران) منتقل شد. در آزمایشگاه نمونه ماهیان با آب شسته، سر و امعاء و احشاء آن تخلیه[2] (شکری و همکاران، ۱۳۹۴) و ماهی‌ها به قطعات ۵۰ گرمی تقسیم و در ظروف درب دار پلاستیکی قرار گرفتند. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، تیماربندی مطابق جدول ۱ انجام شده و سپس با عصاره هسته انگور به فرم‌های آزاد و نانو انکپسوله با لیپوزوم و هرکدام با استناد به تحقیقات گذشته با دزهای ۰/۲ و ۰/۴ درصد در واحد وزنی انتخاب و به روش اسپری کردن به فیله ماهی قزل‌آلا اضافه شدند. یک نمونه نیز به عنوان شاهد (فاقد هرگونه ماده نگهدارنده) تهیه شد. سپس نمونه‌ها در شرایط یخچال

[1] Macetation
[2] Gutting

Archive of SID

www.SID.ir

با ۰/۲±۴ درجه سانتی‌گراد همراه با بسته‌بندی در ظروف درب‌دار و تحت هوای معمولی (Air-Pak) نگهداری شدند. تست "اندازه گیری ذرات" با استفاده از دستگاه "پارتیکل آنالایزر SEM" صورت پذیرفت و بعد از اطمینان از آن، نسبت به کاربرد عصاره نانوکپسوله شده روی فیله ماهیان اقدام شد. به غیر از انواع عصاره، سایر مواد افزودنی و ترکیبات تیمارها یکسان بود.

جدول ۱- تیماربندی فیله ماهیان قزل‌آلا با انواع عصاره هسته انگور

تیمار	نام تیمار	غلظت دز	فرم نگهدارنده
۱	F-2	۰/۲ درصد	عصاره آزاد (معمولی)
۲	F-4	۰/۴ درصد	عصاره آزاد (معمولی)
۳	NEn-2	۰/۲ درصد	عصاره نانو-انکپسوله
۴	NEn-4	۰/۴ درصد	عصاره نانو-انکپسوله
۵	شاهد	–	–

- آزمایش‌های شیمیایی و میکروبی

سنجش شاخص‌های شیمیایی و میکروبی از زمان صفر و هر ۳ روز یکبار تا زمان رسیدن به فساد کامل صورت پذیرفت. اندازه گیری ترکیبات تقریبی ماهی تازه شامل پروتئین به روش کجلدال، خاکستر و رطوبت با کوره الکتریکی (AOAC, 2005) و چربی به روش سرد (Kirk and Sawyer, 1991) و بر مبنای استفاده از حلال و بازیابی مجدد آن انجام پذیرفت. شمارش کلی باکتری‌ها (TC, Total Count) با محیط کشت نوترینت آگار (Nutrient agar) و کشت ۰/۱ میلی لیتر نمونه به مدت ۴۸ ساعت انکوباسیون (با انکوباتور Nuve-Germany) در درجه حرارت ۳۵ درجه سلسیوس و طبق دستورالعمل ارائه شده توسط Jay (1990) انجام شد. برای شمارش باکتری‌های سرمادوست [1] (PTC) از محیط تریپتیک سوی آگار [2](TSA) با قرار دادن ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه برروی محیط‌کشت و شمارش باکتری‌ها بعد از ۱۰ روز انکوباسیون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد استفاده شد (McFaddin, 2000).

اندیس پراکسید (PV) برحسب $meqO_2/K_{fat}$ (میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی) و تیو باربیتوریک اسید (TBA) برحسب $mgMDA/Kg_t$ (میلی گرم مالون دهالدئید در کیلوگرم) به عنوان شاخص‌های فساد چربی به روش Kirk and Sawyer (1991) و مجموع ازت‌های فرار (TVB-N, Total Volatile Bases-Nitrogen) برحسب میلی‌گرم در صد گرم نیز به عنوان شاخص تخریب پروتئین محصول و به روش Hasegawa (1987) اندازه‌گیری گردید.

- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج تمامی آزمون‌ها از میانگین سه تکرار بدست آمد (Mean±SD, N=3). تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با آنالیز واریانس یکطرفه و با استفاده از برنامه نرم‌افزاری SPSS for Windows, 19.05 انجام و جهت تعیین اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها، از آزمون جداساز دانکن (Duncan) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<0.05$) استفاده گردید. تست همگن بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف – اسمیرنوف انجام و نرمال بودن داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نمودارها نیز با استفاده از برنامه نرم‌افزاری Excel 2010 ترسیم شد.

یافته‌ها

- ترکیبات

نتایج حاصل از مقایسه میانگین آنالیز تقریبی ترکیب بیوشیمیایی کیفی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تازه در نمودار ۱ نشان داده شده است. مطابق آن فیله ماهی قزل‌آلا دارای ۷/۵۵±۰/۱۰ درصد چربی و ۱۸/۹۳±۰/۳۰ درصد پروتئین بهمراه ۷۰/۵۰±۰/۲۱ درصد رطوبت و ۲/۳۰±۰/۱۵ درصد مواد معدنی است.

- شمارش جمعیت میکروبی

همچنین نتایج شمارش جمعیت کلی باکتری‌ها (TC) و باکتری‌های سرماگرا (PTC) در نمودارهای ۲ و ۳ آمده است. نتایج نشان داد میزان جمعیت باکتری‌های کل مزوفیل و نیز سرماگرا در زمان‌ها و تیمارهای مختلف دارای روند صعودی بوده است ($p<0.05$) و حداکثر آن در هر مورد در روز ۱۵ شمارش گردید. با توجه به نتایج حاصله در روزهای مختلف نگهداری بین تیمارهای حاوی عصاره و تیمار شاهد تفاوت وجود دارد ($P<۰/۰۵$).

[1] Psychrophilic Total Bacterial Counts

[2] Tryptic Soy Agar

Archive of SID

www.SID.ir

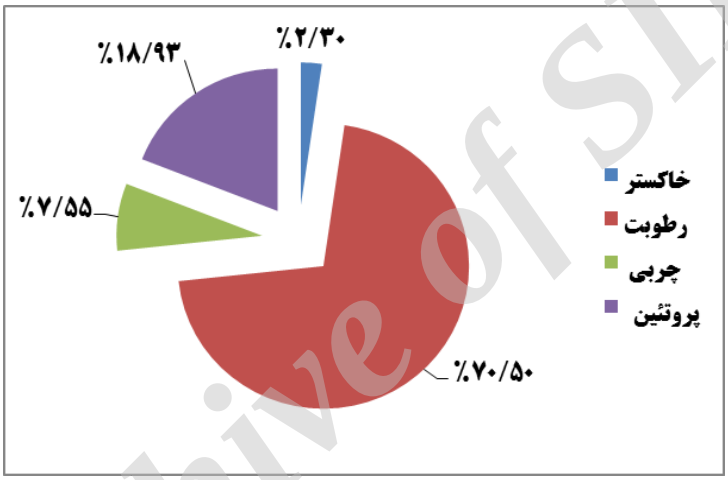
- **تغییرات شاخص‌های شیمیایی**

تغییرات شاخص‌های شیمیایی کیفیت شامل مجموع بازهای فرار (TVB-N)، اندیس پراکساید (PV) و تیوباربیتوریک اسید (TBA) در جدول‌های ۲ تا ۴ آورده شده‌اند.

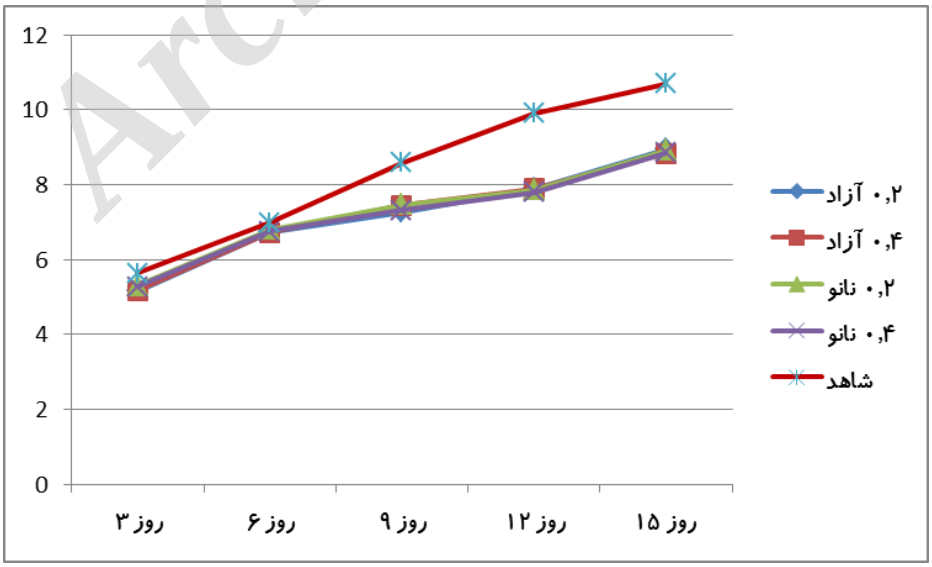
بحث

ماهی قزل‌آلای تازه با داشتن ۱۸/۹۳٪ پروتئین و ۷/۵۵٪ چربی (نمودار ۱) که اغلب غیراشباع می‌باشند، قابلیت فساد شیمیایی در شرایط نامناسب نگهداری را داشته و همچنین با دارا بودن بیش از ۷۰ درصد رطوبت در بافت خود (نمودار ۱) منبع غذایی مناسبی برای رشد و تکثیر میکروارگانیزم‌ها به ویژه باکتری‌های مولد فساد می‌باشد. میکروارگانیسم‌ها در تمام سطوح خارجی (پوست وآبشش‌ها) و در روده ماهی زنده و ماهی تازه صید شده یافت می‌شوند که میزان آن بسته به محیط، گونه ماهی و فصل صید (Huss, 1995; Hedayatifard, 2003) متفاوت می‌باشد.

محدوده پیشنهاد برای TC در ماهی تازه ۷ Log cfu/g (Huss, 1995; ICMSF, 1986) و در محصولات عمل‌آوری‌شده ۶ Log cfu/g (Hedayatifard, 2003) می‌باشد. آلودگی میکروبی ابتدایی، وضعیت نگهداری و بسته‌بندی و دمای نگهداری نقش مهمی را در تعیین عمر ماندگاری محصولات شیلاتی ایفاء می‌کنند.



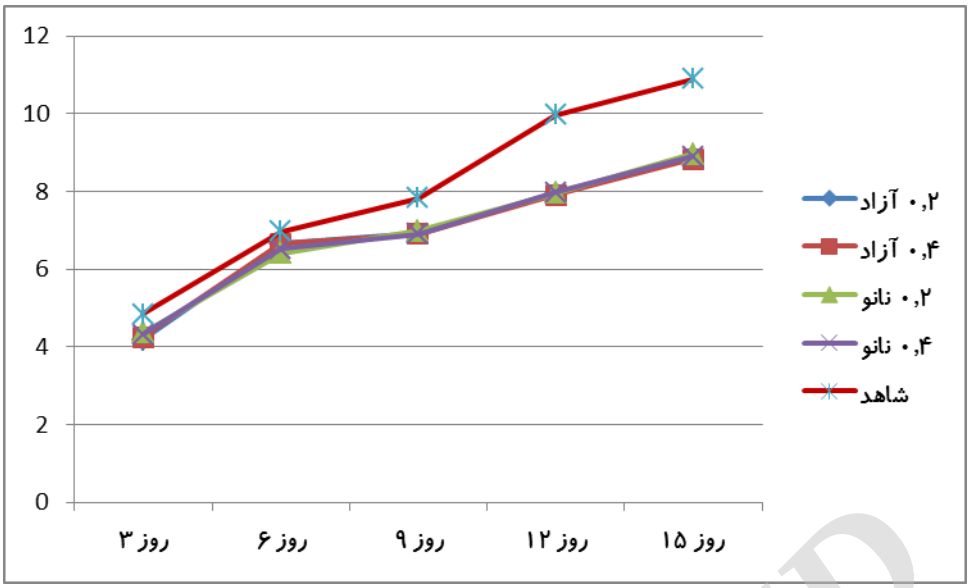
نمودار ۱- میانگین آنالیز تقریبی ترکیب بیوشیمیایی ماهی قزل آلا تازه



نمودار ۲- مقایسه میانگین لگاریتم جمعیت کل باکتری‌های (Log CFU/g) در فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان در غلظت‌های مختلف عصاره هسته انگور به فرم‌های آزاد و نانو کپسوله

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۳- مقایسه میانگین لگاریتم جمعیت باکتری‌های سرماگرا (Log CFU/g) در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در غلظت‌های مختلف عصاره هسته انگور به فرم‌های آزاد و نانو کپسوله

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص مجموع ازت‌های تام فرار (TVB-N mg/100) فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان در غلظت‌های مختلف عصاره هسته انگور به فرم‌های آزاد و نانو کپسوله

شاخص	زمان (روز)	F-2 (۰/۲ آزاد)	F-4 (۰/٤ آزاد)	تیمار NEn-2 (۰/۲ نانو)	NEn-4 (۰/٤ نانو)	٥ (شاهد)
TVN	۰	۱۰/۱۸ ±۰/۰۷^{b}	۹/۸۳ ±۰/۱۲^{a}	۹/۶۶ ±۰/۲۹^{a}	۱۰/۰۶ ±۰/۰۹^{ab}	۹/۸۵ ±۰/۲۰^{a}
	۳	۱۵/۴۹ ±۰/۳۱^{bc}	۱۵/۳۳ ±۰/۱۰^{c}	۱۵/۲۱ ±۰/۱۴^{c}	۱۵/۶۷ ±۰/۰۷^{b}	۱۶/۸۵ ±۰/۴۳^{a}
	۶	۲۱/۴۷ ±۰/۰۲^{c}	۱۷/۵۳ ±۰/۱۲^{d}	۲۱/۶۲ ±۰/۲۳^{c}	۱۷/۳۸ ±۰/۲۱^{b}	۲۳/۹۴±۰/۵۸^{a}
	۹	۳۱/۳۶ ±۰/۲۸^{c}	۲۸/۹۱ ± ۰/۱۲^{b}	۳۱/۲۳ ±۰/۰۲^{c}	۲۸/۸۳ ± ۰/۱۳^{b}	۳۲/۸۷ ±۰/۵۳^{a}
	۱۲	۵۲/۷۷ ±۰/۱۹^{c}	۴۹/۸۷ ±۰/۶۵^{d}	۵۲/۰۶ ±۱/۱۱^{c}	۴۸/۵۹ ±۰/۶۲^{b}	۵۶/۰۱ ±۰/۴۳^{a}
	۱۵	۵۸/۵۷ ±۰/۲۶^{d}	۴۵/۳۱ ±۰/۰۶^{b}	۵۸/۱۲ ±۰/۰۲^{c}	۴۴/۹۸ ±۰/۲۹^{b}	۶۴/۳۶ ±۰/۷۴^{a}

* حروف مختلف در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشد (P<۰/۰۵)

جدول ۳- مقایسه میانگین شاخص پراکسید (PV meq/Kfat) فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان در غلظت‌های مختلف عصاره هسته انگور به فرم‌های آزاد و نانو کپسوله

شاخص	زمان (روز)	F-2 (۰/۲ آزاد)	F-4 (۰/٤ آزاد)	تیمار NEn-2 (۰/۲ نانو)	NEn-4 (۰/٤ نانو)	٥ (شاهد)
PV	۰	۰/۸۵ ±۰/۰۱^{c}	۰/۸۸ ±۰/۰۱^{a}	۰/۸۳ ±۰/۰۰^{b}	۰/۸۷ ±۰/۰۱^{a}	۰/۸۶ ±۰/۰۳^{ac}
	۳	۲/۴۰ ±۰/۰۱^{d}	۲/۲۷ ±۰/۰۳^{c}	۲/۲۶ ±۰/۰۹^{ac}	۱/۸۸ ±۰/۰۶^{b}	۲/۴۰ ±۰/۰۵^{ad}
	۶	۳/۴۷ ±۰/۲۲^{d}	۳/۱۱ ±۰/۱۰^{c}	۳/۱۸ ±۰/۰۹^{c}	۲/۲۰ ±۰/۰۹^{b}	۳/۴۸±۰/۰۹^{ad}
	۹	۴/۱۶ ±۰/۰۷^{e}	۳/۹۹ ± ۰/۲۰^{de}	۳/۸۵ ±۰/۱۲^{cd}	۲/۸۷ ± ۰/۳۹^{b}	۴/۳۰ ±۰/۰۶^{a}
	۱۲	۵/۵۹ ±۰/۰۲^{d}	۴/۹۰ ±۰/۰۳^{c}	۴/۹۷ ±۰/۰۲^{c}	۳/۶۲ ±۰/۳۰^{b}	۶/۰۱ ±۰/۱۶^{a}
	۱۵	۴/۷۲ ±۰/۰۴^{d}	۴/۴۶ ±۰/۰۳^{c}	۴/۴۷ ±۰/۰۸^{c}	۳/۱۷ ±۰/۰۴^{b}	۵/۱۱ ±۰/۰۶^{a}

* حروف مختلف در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی دار آماری می باشد (P<۰/۰۵)

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ٤- مقایسه میانگین شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBA mgMDA/K) فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان در غلظت‌های مختلف عصاره هسته انگور به فرم‌های آزاد و نانو کپسوله

شاخص	زمان (روز)	نمونه				
		F-2 (۰/۲ آزاد)	F-4 (۰/٤ آزاد)	NEn-2 (۰/۲ نانو)	NEn-4 (۰/٤ نانو)	٥ (شاهد)
TBA	۰	۰/۵۷۹ ±۰/۰۰۴^{cd}	۰/۵۷۳ ±۰/۰۰۲^{cd}	۰/۵۸۸ ±۰/۰۰۶^{b}	۰/۵۸۸ ±۰/۰۳۱^{bd}	۰/۸۶ ±۰/۰۰۳^{ab}
	۳	۱/۴۴۲ ±۰/۰۰۱^{a}	۱/۳۲۰ ±۰/۰۴^{ab}	۱/۴۱۵ ±۰/۰۶^{a}	۱/۲۹۵ ±۰/۰۴^{b}	۱/۵۱۰ ±۰/۰۲^{a}
	۶	۲/۴۴۵ ±۰/۰۴^{c}	۲/۰۳۵ ±۰/۱۴^{b}	۲/۴۵۰ ±۰/۰۹^{c}	۱/۹۳۰ ±۰/۰۹^{b}	۲/۸۰۵±۰/۱۰^{a}
	۹	۲/۸۴۵ ±۰/۰۲^{de}	۲/۸۹۵ ± ۰/۶۵^{d}	۲/۶۵۰ ±۰/۱۴^{cd}	۲/۳۸۰ ± ۰/۰۴^{bd}	۲/۹۵۰ ±۰/۰۲^{ab}
	۱۲	۳/۱۹۰ ±۰/۰۸^{c}	۲/۷۶۰ ±۰/۱۶^{b}	۳/۱۰۰ ±۰/۰۵^{c}	۲/۵۸۵ ±۰/۲۱^{b}	۳/۵۸۵ ±۰/۲۳^{a}
	۱۵	۴/۰۹۵ ±۰/۰۴^{c}	۳/۵۶۵ ±۰/۰۳^{d}	۴/۰۸۵ ±۰/۱۲^{c}	۳/۴۰۰ ±۰/۰۵^{b}	۵/۱۹۵ ±۰/۰۳^{a}

* حروف مختلف در هر ردیف بیانگر اختلاف معنی دار آماری می باشد($P<۰/۰۵$)

تغییرات جمعیت باکتری‌ها در نمونه شاهد دارای روندی صعودی بوده، در حالی که در تیمارهای مختلف حاوی عصاره شمارش کلی طی روزهای صفر تا ۱۵ روند آرام‌تری را نسبت به تیمار شاهد داشته‌اند ($p<0.05$). میزان شمارش TC در نمونه شاهد پس از ۶ روز از حد مجاز استاندارد مصرف خارج شد، در حالی‌که در نمونه‌های حاوی عصاره هسته انگور پس از ۹ روز نگهداری در آستانه تجاوز از حد استاندارد قرار گرفت ($p<0.05$)؛ بنابراین حضور عصاره هسته انگور، عمر نگهداری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را افزایش داده است ($p<0.05$). باتوجه به نتایج، ماندگاری تیمارهای حاوی عصاره هسته انگور به فرم آزاد و نانوکپسوله، بیش از ۹ روز و عمر ماندگاری نمونه‌های شاهد ۶ روز بوده است($p<0.05$). در عین حال، اثرات نگهدارندگی تیمار حاوی عصاره هسته انگور بصورت آزاد و خصوصا با دوز ۰/۴ درصد نیز بیشتر بوده است ($p<0.05$).

با توجه به نحوه عرضه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان برای مصرف انسانی که بصورت غیرمنجمد می‌باشد، افزایش عصاره هسته انگور به فرم آزاد با دز ۰/۴ درصد فرصت و شرایط خوبی را فراهم می‌نماید تا در دمای یخچالی $^{\circ}C$ ۴ بتوان ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تازه را به بیش از ۹ روز نگهداری افزایش داد.

اما استفاده از مواد ضد میکروبی طبیعی برای به تعویق انداختن زمان رشد باکتری‌های TC نتایج قابل قبول‌تری را در پی داشته است؛ بطوریکه غوطه‌وری نمونه‌های کپور نقره‌ای در پلی‌فنول‌های چای ۲٪، باعث بازدارندگی رشد باکتری‌های عامل فساد و افزایش مدت ماندگاری نمونه‌ها تا ۳۵ روز (Fan و همکاران، ۲۰۰۸)، استفاده از کیتوزان (۲٪) به عنوان روکش غذایی، مدت ماندگاری نمونه‌های کپور نقره ای را تا ۳۰ روز (Fan و همکاران، ۲۰۰۹)، کاربرد ترکیبات جاذب اکسیژن و اسانس پونه (۴٪) تا ۱۲ روز، فیله‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان دارای صرفا اسانس پونه کوهی (۴٪) تا ۸ روز (Mexis و همکاران، ۲۰۰۹) در محدوده مجاز مصرف نگهداری شدند.

از طرفی، مواد طبیعی همانند اسانس دارچین و روکش غذایی برای ماهی کپور (Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰)، غوطه‌وری در اسانس آویشن و یا پونه کوهی برای باس دریایی آسیایی (Harpaz و همکاران، ۲۰۰۳)، افزودن کیتوزان به فیله کاد (Jeon و همکاران، ۲۰۰۲) و عصاره رزماری (۰/۱٪) به دلیل حضور ترکیبات فنولی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (اعتمادی و همکاران، ۱۳۸۷) می‌تواند موجب کند شدن رشد باکتری‌های TC و افزایش عمر ماندگاری ماهیان گردد.

همچنین در روش‌های ترکیبی همانند فیله‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تیمار شده با اسانس پونه کوهی ۰/۲٪ و نمک سود شده بهمراه بسته‌بندی تحت خلاء تا روز ۱۶ نگهداری در یخچال قابل مصرف بودند، درحالیکه افزایش اسانس پونه کوهی تا ۰/۴٪ این زمان را تا ۱۸ روز افزایش داد (Frangos و همکاران، ۲۰۱۰) و در همین رابطه Kykkidou و همکاران (۲۰۰۹) گزارش نمودند که میزان TC فیله‌های شیرماهی بسته‌بندی‌شده در روش ترکیبی MAP و اسانس آویشن، به مراتب از روش‌های انفرادی نگهداری موثرتر است.

هنگامیکه از فساد فرآورده‌های دریایی نگهداری شده در سرما صحبت می‌شود باید توجه داشت که عوامل فساد

Archive of SID

www.SID.ir

در آنها عمدتا باکتری‌های سرمادوست هستند (Huss, 1995). باکتری‌های سرماگرا گرم منفی گروه بزرگی از میکروارگانیسم‌ها هستند که سبب فساد محصولات دریایی تازه نگهداری شده در دمای یخچال می‌باشند (Shirazinejad *et al*., 2010). از ویژگی‌های مهم این باکتری‌ها دارا بودن آنزیم پروتئولتیک و لیپولتیک قوی و سرعت تکثیر آنها در زمان کوتاه می‌باشد (Sallam, 2007). محدوده مجاز حضور آنها در مواد غذایی همانند TC است.

نتایج نشان داد که شمارش باکتری‌های PTC در نمونه‌های شاهد از روز صفر تا روز پانزدهم دارای روندی صعودی است، در حالیکه در تیمارهای حاوی عصاره هسته انگور، رشد آنها کنترل شده و روند افزایشی آنها از شیب آرامتری برخوردار است ($p<0.05$). باتوجه به نتایج حاصله، استفاده از عصاره هسته انگور به هر دو فرم آزاد و نانو کپسوله به‌عنوان نگهدارنده، باعث کنترل و کندی رشد باکتری‌های PTC و درنتیجه افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در یخچال می‌گردد. در مقایسه دو فرم عصاره نگهدارنده آزاد و نانوکپسوله هسته انگور، علیرغم کندتر بودن رشد و پائین‌تر بودن PTC در نمونه‌های حاوی فرم نانوکپسوله با دز ۰/۴٪، اختلاف آماری با عصاره آزاد دیده نشد ($p>0.05$). مطابق با همین نتایج، جمعیت باکتری‌های PTC در نمونه‌های شاهد تا روز ۶ نگهداری در محدوده استاندارد مصرف قرار داشتند درحالیکه در هر دو دز ۰/۲٪ و ۰/۴٪ و در هر دو فرم حاوی عصاره هسته انگور، حداقل تا روز ۹ نگهداری در یخچال در محدوده استاندارد مصرف قرار داشتند. بنابراین عصاره هسته انگور به تنهایی نیز می‌تواند مدت زمان نگهداری قزل‌آلای رنگین‌کمان را از ۶ روز به بیش از ۹ روز افزایش دهد.

نکته مهم این است که باکتری‌های سرمادوست هوازی بوده و در غیاب اکسیژن قادر به فعالیت نمی‌باشند (Mexis *et al*., 2009) بنابراین استفاده از روش ترکیبی حین نگهداری همانند بسته‌بندی تحت خلاء می‌تواند موجب افزایش عمر ماندگاری ماهیان در محیط سردخانه گردد. پژوهش حاضر نیز موید نتایج تحقیقاتی همچون Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) در کاربرد اسانس دارچین، Skandamis و همکاران (۲۰۰۲) و Mexis و همکاران (۲۰۰۹) با استفاده از پونه کوهی و Ouattara و همکاران (۱۹۹۷) در ترکیب اسانس پونه کوهی و آویشن بود. همچنین Tsai و همکاران (۲۰۰۲) اثرات مشابهی را برای کاربرد محلول طبیعی کیتوزان برای تاخیر در رشد جمعیت انواع باکتری‌های مزوفیل، سرمادوست، کلیفرم‌ها، آئروموناس‌ها (*Aeromonas* spp.) و ویبریوها (*Vibrio* spp.) بیان نموده‌اند.

سنجش مجموع بازهای نیتروژنی فرار، معمولاً برای تعیین ارزیابی کیفیت بافت ماهی طی فرآیند سردسازی به کار گرفته می‌شود (Mazorra Manzano *et al*., 2000). حد نهایی پذیرش میزان بازهای نیتروژنی فرار برای مصرف ماهیان مختلف از ۲۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم تا ۳۵ و ۳۰ میلی گرم نیتروژن در صد گرم بافت ماهیان شکارچی و گوشتخوار می‌باشد (Hedayatifard, 2003). محققین مختلف مقادیر متفاوتی از میزان TVB-N را برای ماهیان مختلف، تیمارها و شرایط خاص فرآوری به‌عنوان حد محدودیت مصرف انسانی گزارش نموده‌اند؛ بطوریکه ۳۵ تا ۳۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم برای ماهیان عمل‌آوری‌شده (Hedayatifard, 2003; Kykkidou *et al*., 2009) و نیز ۲۰ mg/100g برای ماهیان تازه (Connell, 1995) متعارف‌ترین آن است.

در پژوهش کنونی، طی دوره نگهداری، مقدار TVB-N با گذشت زمان در تمامی تیمارها روند صعودی داشت. این افزایش در تیمار شاهد بیشتر از تیمارهای حاوی عصاره هسته انگور بوده است ($p<0.05$)؛ به طوریکه حداکثر مقادیر قابل قبول آن در تیمارهای حاوی عصاره هسته انگور از روز صفر تا روز ۹ نگهداری حاصل شد. نتیجه جالب توجه پیرامون کنترل TVB-N توسط عصاره هسته انگور این است که بدون توجه به فرم نانوکپسوله یا آزاد، با افزایش غلظت عصاره، تولید TVB-N کاهش می‌یابد و انکپسوله‌کردن اثر چندانی روی کارکرد عصاره هسته انگور ندارد. به همین دلیل حداقل مقادیر بازهای ازته فرار در تیمارهای حاوی ۰/۴٪ عصاره هسته انگور محاسبه شد.

البته حضور ماهی در شرایط سرما نیز خود به کند شدن روند تولید TVB-N کمک می‌کند (Hedayatifard, 2003). نتایج پژوهش کنونی با تحقیقاتی که از نگهدارنده‌های طبیعی گیاهی برای کنترل فساد آبزیان استفاده کرده بودند، مطابقت داشت؛ چنانکه مواد طبیعی

Archive of SID
www.SID.ir

مانند پلی‌فنل‌های چای (Fan *et al*., 2008)، کیتوزان (Tsai *et al*., 2002; Jeon *et al*., 2002; Fan *et al*., 2009)، آویشن (Attouchi and Sadok, 2010)، اسانس آویشن و نیز پونه کوهی (Frangos *et al*., 2010; Atrea *et al*., 2009; Giatrakou *et al*., 2008; Harpaz *et al*., 2003) ، و ترکیب کیتوزان و اسانس دارچین (Ojagh *et al*., 2010) عملکرد مشابهی در کنترل تولید TVB-N در ماهیان نگهداری شده در سردخانه نشان دادند.

اندازه‌گیری پراکسید به منظور تعیین محصولات اولیه حاصل از اکسیداسیون چربی (هیدروپراکسیدها) (Perez-Villarreal and Pozo, 1990) و تولید و سنجش تیوباربیتوریک اسید حاصل از فساد ثانویه چربی و تبدیل پراکسید به آلدئیدها و ستن‌ها است (Pacheco-Aguilar *et al*., 2000). اندازه‌گیری TBA شاخص مناسبی برای تعیین پیشرفت اکسیداسیون چربی و تولید ترکیبات کربونیل است (Eun *et al*., 1994; Dragoev *et al*.,1998). وجود چنین ترکیباتی در گوشت ماهی سبب تغییراتی در ویژگی‌های حسی آن از جمله طعم و بو می‌شود (Ladikos and Lougovois, 1990). حد مجاز مصارف انسانی برای پراکسید ۱۰ $meqO_2/k_{fat}$ (Kirk and Sawyer, 1991) و برای TBA نیز ۵ mgMDA/K (Hedayatifard, 2003) پیشنهاد شده‌اند؛ اگرچه همان منبع، بهترین میزان مالون دی‌آلدئید را ۱ تا ۲ mgMDA/K بیان نموده است.

افزایش مقادیر پراکسید در نمونه‌های نگهداری شده در یخچال نسبت به نمونه‌های تازه (روز اول) در مطالعه حاضر، بیانگر پیشرفت تندی (Rancidity) و فساد چربی هنگام نگهداری می‌باشد و البته کاهش آن در انتهای دورهٔ نگهداری، احتمالا به دلیل پیروی از مکانیسم تک مولکولی (مونومولکولار) و دو مولکولی (بی‌مولکولار) و تبدیل پراکسید به ترکیبات ثانویه اکسیداسیونی (کربونیل) است (Pacheco-Aguilar *et al*., 2000). در مطالعه حاضر میزان پراکسید در زمان‌های مختلف و در تیمار حاوی هسته انگور همانند نمونه شاهد، دارای روند صعودی بوده است. اندیس پراکسید اندازه‌گیری‌شده در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تا روز ۱۲ نگهداری در هر ۴ تیمار آزمایشی افزایش معنی داری داشت ($P<۰/۰۵$). این روند در تیمار شاهد بیشتر از تیمارهای حاوی عصاره هسته انگور بود. در روز پانزدهم و پایان دوره نگهداری کمترین میزان پراکسید در این مطالعه در تیمار حاوی ۰/۴٪ عصاره هسته انگور نانوکپسوله و با ۰/۰۴ ± ۳/۱۷ $meqO_2/k_{fat}$ و بیشترین مقادیر نیز در تیمار حاوی ۰/۲٪ عصاره آزاد و نمونه‌های شاهد به ترتیب با ۰/۰۴ ± ۴/۷۲ و ۰/۰۶ ± ۵/۱۱ $meqO_2/k_{fat}$ مشاهده شده است ($p<0.05$). نتایج بیانگر تاثیر سرما بر کنترل پراکسید و مهمتر از آن، تاثیر فرم نانوانکپسوله کردن بر روی کنترل تولید پراکسید در بافت ماهی قزل‌آلا بود. مطابق نتایج طی نگهداری، به‌تدریج از روز ۱۲ تا روز ۱۵ کاهش سرعت در تولید میزان پراکسید دیده شد؛ بطوریکه بیشترین مقادیر پراکسید در روز ۱۲ نگهداری و در همان تیمارهای ۰/۲٪ عصاره و شاهد مشاهده شد. با اینحال این شاخص تا پایان دوره نگهداری در محدوده مجاز مصرف قرار داشت.

مقدار تیوباربیتوریک اسید (TBA) در تیمارهای حاوی عصارهٔ هسته انگور به علت ممانعت عصاره از اکسایش چربی‌ها نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری پایین‌تر بود ($p<0.05$). در پایان دوره نگهداری، بالاترین مقدار TBA با ۰/۰۳±۵/۱۹۵ mgMDA/K در نمونه‌های شاهد و کمترین مقادیر آن در تیمارهای حاوی ۰/۴٪ عصاره هسته انگور در هر دو فرم آزاد و نانوکپسوله و به ترتیب با ۰/۰۳±۳/۵۶۵ و ۰/۰۵±۳/۴۰۰ mgMDA/K محاسبه شد ($p<0.05$) اما با اینحال تیمار حاوی عصاره نانوکپسوله بهترین شرایط کیفی را نشان داده است. بنابراین افزایش در عصاره نگهدارنده موجب کاهش تولید TBA در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌گردد و در تمام دوره ۱۵ روزه نگهداری، میزان TBA در تیمارهای حاوی عصاره هسته انگوردر محدوده استاندارد قرار دارد و تنها در پایان دوره و در تیمار شاهد میزان آن از حد استاندارد مصرف خارج شده است. بنابراین نگهداری ماهی در سرما بهمراه افزودن عصاره هسته انگور به علت ممانعت از اکسیده شدن، اثرات بازدارندگی روی پیشرفت فساد چربی ماهی دارد.

مطابق سوابق موجود، انواع عصاره گیاهی روی ماهی و محصولات دریایی خاصیت نگهدارندگی خود را اعمال می‌کنند؛ بطوریکه کیفیت چربی ماهیان ماکرل (Alghazeer *et al*., 2008) و کیلکا (اجاق و همکاران، ۱۳۸۳) در چای سبز، قره‌برون در آسکوربیک و سیتریک اسید (Rostamzad *et al*., 2010)، قزل‌آلا در دارچین و

Archive of SID

www.SID.ir

کیتوزان (Ojagh *et al*., 2010)، اسانس پونه کوهی (Mexis *et al*., 2009)، و عصاره رزماری (اعتمادی و همکاران، ۱۳۸۷)، هرینگ در کیتوزان (Jeon *et al*., 2002)، سیچلید کروماید سبز (*Etroplus suratensis*) (Manjue, 2010) و باس دریایی در آویشن (Attouchi and Sadok, 2010) در شرایط نگهداری ماهیان مذکور در سرما، به خوبی حفظ گردید. علی‌بیگی و همکاران (۱۳۹۲) با استفاده از خواص آنتی اکسیدانی پوست پرتقال توانستند مقادیر تیوباربیتوریک اسید را در تمام تیمارها در پایین‌ترین محدوده (mgMDA/K ۲-۱) طی دوره نگهداری فیله ماهی کپور در یخچال حفظ نمایند.

در پژوهش حاضر اندیس پراکسید ماهی از روز ۱۲ نگهداری کاهش ولی تیوباربیتوریک اسید همچنان و به‌ویژه از روز ۱۲ به بعد، روند صعودی خود را ادامه داد؛ دلیل کاهش پراکسید در روغن ماهی می‌تواند به‌علت تجزیه آن به مواد آلدئیدی و ستنی و همچنین اسیدهای فرار باشد (Ladikos and Lougovois, 1990). قزل‌آلای رنگین‌کمان ماهی نسبتا پرچربی است و هر چه درجه غیراشباعیت روغن نیز بیشتر باشد، درجه توسعه اکسیداسیون آن افزایش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که عصاره هسته انگور به فرم نانو کپسوله و با دز ۰/۴ درصد، با داشتن اثرات ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی، بر کنترل عوامل شیمیایی و میکروبی فساد موثر است؛ بطوریکه زمان ماندگاری ماهی تازه را از ۶ روز در شاهد به بیش از ۹ روز افزایش می‌دهد. فرآیند نانو انکپسوله کردن عصاره هسته انگور، بر روی جمعیت باکتری‌های سرماگرا، تاثیری مشابه با فرم آزاد آن دارد؛ در حالیکه روی جمعیت باکتری‌های کل (TC) و نیز شاخص‌هایی همچون اندیس PV، TVB-N و TBA اثر مستقل و نگهدارنگی دارد. با عنایت به نتایج بدست آمده می‌توان ادعا نمود که ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با بکارگیری عصاره هسته گیاه انگور تا ۱۲ روز در یخچال قابلیت مصرف به‌عنوان ماهی تازه را دارد. بنابراین می‌توان پیرامون دزهای دقیق‌تر و حتی بالاتر این عصاره روی این ماهی و یا سایر آبزیان با ارزش اقتصادی مطالعات دامنه‌داری انجام داد و گستره تحقیق را به باکتری‌های مولد مسمومیت غذاهای دریایی نیز گسیل داشت.

سپاسگزاری

مولفین از همکاری‌های صمیمانه آقایان مهندس محمود حیدری و دکتر رضا صفری، همکاران آزمایشگاه مواد غذایی مازندران تقدیر و تشکر می‌نمایند.

منابع

اجاق، م.، سحری، م.ع. و رضایی، م. (۱۳۸۳). اثر آنتی اکسیدان‌های طبیعی بر کیفیت ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonellacultriventris caspia*) به هنگام نگهداری در یخ. مجله علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس، سال ۳، شماره ۴ ، صفحات ۷-۱.

اعتمادی، ح.، رضایی، م. و عابدیان، ع. (۱۳۸۷). پتانسیل آنتی باکتریایی وآنتی اکسیدانی عصاره رزماری *Rosmarinus officinalis* در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss*. فصلنامه علوم وصنایع غذایی، شماره ۴، صفحات ۷۷-۶۷ .

بی‌نام. (۱۳۹۲). سالنامه آماری شیلات ایران، معاونت طرح و توسعه، سازمان شیلات ایران، تهران، ۶۴ ص.

شکری، ف.، هدایتی‌فرد، م. و رفتنی امیری، ز. (۱۳۹۴). تاثیر تخلیه احشایی بر ویژگی‌های کیفی، بار میکروبی و پروفایل اسیدهای چرب ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در شرایط انجماد در ۱۸- درجه سانتی گراد، مجله علمی پژوهشی بهداشت مواد غذایی، شماره ۱۷ ، صفحات ۳۵-۵۱.

علی‌بیگی، ط.، علیزاده دوغیکلائی، ا. و زکی‌پور رحیم آبادی، ا. (۱۳۹۲). بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصارهٔ پوست پرتقال بر کیفیت فیلهٔ کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) هنگام نگهداری در یخچال(4°C). نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران. صفحات ۱۹۷-۱۸۵.

گلی، ز.، لکزایی، م. و پورامیر، م. (۱۳۸۹). فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست نارنج و تاثیر آن بر اکسیداسیون چربی گوشت خام و پخته ماهی (*Hypophthalmichthys molitrix*). مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، شماره ۱۹، ۲۶-۱۹.

Archive of SID

www.SID.ir

معینی، س. (۱۳۶۸). صنایع فرآورده‌های شیلاتی، معاونت آموزش و تحقیقات، شرکت سهامی شیلات ایران، وزارت جهاد سازندگی، تهران، ۲۱۲ص.

هدایتی‌فرد، م. و اروجعلیان، ع. (۱۳۸۹). افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی ازون برون تازه(*Acipenser stellatus*) در شرایط بسته‌بندی تحت اتمسفر اصلاح شده (MAP) و خلاء، مجله علمی شیلات ایران، سال ۱۹ ، شماره ۳ ، ۱۴۰-۱۲۷.

Al-Dagal, M. M. & Bazarra, W. A. (1999). Extension of shelf-life of whole and peeled shrimp with organic acid salts and bifidobacteria. Journal of Food Protection, 62, 51–56.

Alghazeer, R., Saeed, S. N. & Howell, K. (2008). Aldehyde formation in frozen mackerel (*Scomber scombrus*) in the presence and absence of instant green tea. Food Chemistry, 108, 801–810.

AOAC. (2005). Official Method of Analysis (17thed). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

Atrea, I., Papavergou, A., Amvrosiadis, I. & Savvaidis, I. N. (2009). Combined effect of vacuum-packaging and oregano essential oil on the shelf-life of Mediterranean octopus (*Octopus vulgaris*) from the Aegean Sea stored at 4 C. Food Microbiology, 26, 166–172.

Attouchi, M. & Sadok, S. (2010). The effect of powdered thyme sprinkling on quality changes of wild and farmed gilthead sea bream fillets stored in ice. Food Chemistry, 119, 1527–1534.

Augustin, M. A., Sanguansri, L., Margetts, C. & Young, B. (2001). Micro encapsulation of food ingredients. Food Australia, 53, 220–223.

Banergee, S. (2006). Inhibition of mackerel (*Scomber scomberus*) muscle lipoxygenase by green tea polyphenols. Food Research International, 39 (4), 486-491.

Baydar, N. G., Ozkan, G. & Sagdic, O. (2004). Total phenolic contents and antibacterial activities of grape seed extracts. Food Control, 15, 335-339.

Boyd, C., Green, D. P., Giesbrecht, F. B. & King, M. F. (1993). Inhibition of oxidative rancidity in frozen cooked fish flake by tert-butylhydroquinone and rosemary extract. J. Sci. Food Agric, 61:87-93.

Brannan, R.G., 2009. Effect of Grape seed extract on descriptive sensory analysis of the ground chicken during refrigerated storage. Meat Science, 81(4), 289-295.

Cha, S. D., Choi, H. J. & Park, J. (2002). Antimicrobial films based on Na-alginate and κ-carrageenan. Lebensm Technology, 35, 715-719

Choobkar, N., Soltani, M., Ebrahimzadeh Mousavi, H. A. Akhonzadeh Basti, A. & Matinfar, A. (2010). Effect of *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the growth of *Staphylococcus aureus* in the light salted fillets of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 9(3), 352-359.

Desai, K. G. H. & Park, H.J. (2005). Recent developments in micro encapsulation of food ingredients. Drying Technology, 23, 1361–1394.

Donsi, F., Sessa, M. F., Ferrari, G. & Annunziata, M. (2011). Nanoencapsulation of essential to enhance their antimicrobial activity in foods. LWT - Food Science and Technology, 44 (9), 1908-1914.

Dormana, H. J. D., Peltoketo, A., Hiltunen, R. & Tikkanen, M. J. (2003). Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extacts from selected lamiaceae herbs. Food Chemistry, 83, 255-62.

Dragoev, S. G., Kiosev, D. D., Danchev, S. A., Ionchev, N. I. & Genv, N. S. (1998). Study on oxidative processes in frozen fish Bulgarian. The Journal of Agricultural Science, 4, 55-65.

Eun, J. B., Boyle, J. A. & Hearnsberger, J. O. (1994). Lipid peroxidant and chemical change in Catfish (*Ictalurus punctatus*) muscle microsoes during frozen storage, Journal of Food Science, 59, 251-255.

Fan, W. J., Chi, Y. L. & Zhang, S. (2008). The uses of a tea polyphenol dip to extend theshelf life of silver carp (*Hypophthalmicthys molitrix*) during storage in ice. Food Chemistry, 108, 148–153.

Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. & Chi, Y. (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. Food Chemistry, 115, 66–70.

FAO. (2014). The state of world fisheries and aquaculture: Food and Agriculture Organization, Rome, Italy, 243p

Formanek, Z., Lynch, A., Galvin, K., Farkas, J. & Kerry, J. P. (2003). Combined effects of irradiation and the use of natural antioxidants on the shelf life stability of overwrapped minced beef. Meat Science, 63(4), 433–440.

Frangos, L., Pyrgotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A. & Savvaidis, I. N. (2010). Combined effects of salting, oregano oil and vacuum-packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets. Food Microbiology, 27, 115–121.

Giatrakou, V., Kykkidou, S., Papavergou, A., Kontominas, M. G. & Savvaidis, I. N. (2008). Potential of oregano essential oil and MAP to extend the shelf life of fresh swordfish: A

Archive of SID

www.SID.ir

comparative study with ice storage. Journal of Food Science, 73,167–173.

Gibbs, B. F., Kermash, S., Alli, I. & Mulligan, C. N. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 50, 213-224.

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

Haghparast, S., Hadiseh, K., Gholamhossein, A. & Bahareh, S. (2010). Effect of green tea (*Camellia sinenses*) extract and onion (*Allium cepa*) juice on lipid degradation and sensory acceptance of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) fillets. International Food Research, 17, 751-761.

Hasegawa, H. (1987). Laboratory manual on analytical methods and procedures for fish and fish products, Marine Fisheries Research Department, Southeast Asian Fisheries Development Center in collaboration with Japan International Cooperation Agency, Singapore. 226p.

Harpaz, S., Glatman, L., Drabkin, V. & Gelman, A. (2003). Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater-reared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). Journal of Food Protection, 66, 410–417.

Hedayatifard, M. (2003). Fish and shrimp processing technology. Persia fisheries industries company, Tehran, 120 pp.

Hedayatifard, M. & Moini, S. (2007). Loss of omega-3 fatty acids of sturgeon (*Acipenser stellatus*) during cold storage, International Journal of Agriculture and Biology, 9(4), 598-601.

Hubbs, G. (1991). Fish: microbiological spoilage and safety. Journal of Food Science and Technology, 5,166–173.

Kirk, R.S. & Sawyer, R. (1991). Pearson's Chemical Analysis of Foods. (9th Ed.) Longman Scientific and Technical. Harlow, Essex, UK.

ICMSF. (1986). ''International Commission on Microbiological Specification for Foods''. Microorganisms infoods. 2. Sampling for microbiological analysis: principle sand specific applications 2nd Ed. Buffalo, NY: University of TorontoPress.

Jay, J. M. (1990). Modern Food Microbiology, 4th Ed.,Van Nostrand Reinhold Co., New York, 642p.

Jayaprakasha, G. K. (2003). Antibacterial and antioxidant activities of grape (Vitis vinifer) seed extracts. Food Research International, 36, 117-122.

Jeya Shakila, R., Jeyasekaran, G. & Vijayalakshmi, S. (2005). Effect of vacuum packaging on the quality characteristics of seer fish (*Scomberomorus commersonii*) chunks during refrigerated storage, Journal of Food Science and Technology, 42, 438-443.

Jeon, Y. J., Kamil, J. Y. V. A. & Shahidi, F. (2002). Chitosan as an Edible Invisible Film for Quality Presevation of Herring and Atlantic Cod. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 5167-5178.

Kallithraka, S., Viguera, C. G. & Bakker, J. (1995). Survey of Solvents for the extraction of grape seed phenolics. Phytochemical Analysis, 6, 265-267

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

Ladikos, D. & Lougovois, V. (1990). Lipid Oxidation in Muscle Food: A review; Food Chemistery, 35, 295-314.

Lee, S. J., Umano, K., Shibamoto, T. & Lee, K. G. (2005). Identification of volatitle components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. Food Chemistry, 91, 131 - 7.

Lin, C. C. & Lin, C. S. (2005). Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. Food Control, 16, 169-175.

Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. & Desobry, S. (2006). Flovour encapsulation and controlled release a review. International Journal of Food Science and Technology, 41, 1-21.

Manju, S., Leema, J., Srinivasa Gopal, T. K., Ravishankar, C. N. & Jose, L. (2007). Effect of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological, texture and sensory changes of Pearspot (*Etroplus suratensis*) during chill storage. Food Chemistry, 102(1), 27-32.

Mazorra Manzano, M. A., Pacheco Aguilar, R., Diaz Rojas, E. L., & Lugo Sanchez, M.E. (2000). Postmortem changes in black Skipijack muscle during storage in ice. Journal of Food Science, 65, 774-779.

McFaddin, J. F. (2000). Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, 7nd Ed., Baltimore, Williams and Wilkins.

Mexis, S. F., Chouliara, E. & Kontominas, M. G. (2009). Combined effect of an oxygen

Archive of SID

www.SID.ir

absorber and oregano essential oil on shelf lifeextension of rainbow trout fillets stored at 4 C. Food Microbiology, 26, 598–605.

Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. & Hosseini, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry, 120, 193–198.

Ouattara, B., Sabato, S. F. & Lacroix, M. (2001). Combined effect of antimicrobial coating and gamma irradiation on shelf-life extension of pre-cooked shrimp (Penaeus spp.). International Journal of Food Microbiology, 68, 1–9

Özogul, F., Polat, A. & Özogul, Y. (2004). The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). Food Chemistry, 85, 267-273.

Özyurt, G., Kuley, E., Özkűtűk, S. & Özogul, F. (2009). Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbutus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. Food Chemistry, 114, 505-510.

Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sachez, M. E., & Robles- Burgueno, R. (2000). Postmortem biochemical and functional characteristic of montery sardine muscle stored at 0°C. Journal of Food Science, 65, 40-47.

Perez-Villarreal, B. & Pozo, R. (1990). Chemical composition and ice spoilage of Albacore (*Thunnus alalunga*). Journal of Food Science, 55, 678-682.

Pokorny, J. (2003). Natural antioxidants. P31-45, In: Zeuthen, P., Sorensen, L.B. (eds.), Food preservation techniques.

Rostamzad, H., Shabanpour, B., Kashaninejad, M. & Shabani, A. (2010). Inhibitory impacts of natural antioxidants (ascorbic and citric acid) and vacuum packaging on lipid oxidation in frozen Persian sturgeon fillets .Iranian Journal of Fisheries Sciences, 9(2), 279-292 .

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M. & Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food Chemistry, 91, 621–632.

Sahoo, J., Karwasra, R. K. & Hooda, S. (2004). Studies on á-tocopherol acetate as an antioxidant in chicken mince on its quality during refrigerated storage. Journal of Food Science and Technology, 41 (3), 140-243.

Sallam, K. I. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control, 18, 566–575.

Savvaidis, I. N., Skandamis, P. N., Riganakos, K. A., Panagiotakis, N. & Kontominas, M.G. (2002). Control of natural microbial flora and *Listeria monocytogenes* in vacuum packaged trout at 4 and 10°C using irradiation. Journal of Food Protection, 65, 515–522.

Serdaroglu, M. & Felekoglu, E. (2005). Effects of using rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. Journal of Food Quality, 28, 109-120.

Shafiee, A., Javidnia, K. & Tabatabai, M. (1999). Volatile constituents and antimicrobial activity of *zataria multiflora*, population Iran, Journal of Chemistry & Chemistry Engineerig, 18(1), 1-5.

Shirazinejad, A., Noryati, I., Rosma, A. & Dara, I. (2010). Inhibitory effect of lactic acid and nisin on bacterial spoilage of chilled shrimp. World Academy of Science, Engineering and Technology, 41, 163–167.

Skandamis, P., Tsigarida, E. & Nychas, G. J. E. (2002). The effect of oregano essential oil on survival/death of Salmonella typhimurium in meat stored at 5 C under aerobic, VP/MAP conditions. Food Microbiology, 19, 97–103.

Tsai, G. J., Su, W. H., Chen, H. C. & Pan, C. L. (2002). Antimicrobial Activity of Shrimp Chitin and Chitosan from Different Treatments and Applications of Fish Preservation. Fisheries Science, 68, 170–177.

Yu, L., Scanlin, L., Wilson, J. & Schmidt, G. (2002). Rosemary extracts as inhibitors of lipid oxidation and color change in cooked Turkey products during refrigerated storage. Journal of Food Science, 67(2), 582-585.

Archive of SID

www.SID.ir