Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 11, No. 2, Summer 2015, p. 200-210

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۱، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴، ص. ۲۱۰-۲۰۰

اثرات تیمار ترکیبی ٤- هگزیل رزورسینول و اسید سیتریک بر تغییرات کیفی میگوی سفید غربی پرورشی(*Litopenaeus vannamei*) طی نگهداری در انجماد

مینا سیف زاده[1*] - علی اصغر خانی پور[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۷/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۴/۱۱

چکیده:

اثرات ۴- هگزیل رزورسینول برای جلوگیری از ایجاد لکه سیاه و بررسی کیفیت شیمیایی، باکتریایی و حسی در میگوی پرورشی مورد ارزیابی قرار گرفت. برای اجرای این تحقیق دو تیمار در نظر گرفته شد. تیمارها شامل میگوی غوطه ور شده در غلظت ۰/۱۵ ٪ ۴- هگزیل رزورسینول در ترکیب با اسید سیتریک ۱٪ به مدت ۱۰ دقیقه و میگوی بدون آنتی اکسیدان بودند. کیفیت نمونه ها با استفاده از آزمایشات باکتریایی، شیمیایی و حسی طی نگهداری سردخانه ۱۸- درجه سلسیوس به مدت ۶ ماه مورد ارزیابی قرار گرفت. باکتری‌های سودوموناس، ویبریو پاراهمولیتیکوک، اشریشیا کلی و تولید کننده دی سولفید هیدروژن در نمونه‌های آزمایشی و شاهد مشاهده نشدند. باکتری کلی فرم در نمونه‌های آزمایشی در قیاس با شاهد مشاهده نشد. فاکتورهای پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، اسید چرب آزاد، تری متیل آمین وTVB-N در میگوی آزمایشی در مقایسه با شاهد تفاوت معنی دار داشتند (P<۰/۰۵). فاکتورهای TVB-N، تری متیل آمین، پراکسید، رطوبت، شمارش کلی باکتری ها و باکتری‌های استافیلوکوک در نمونه‌های آزمایشی و شاهد طی مدت زمان سردخانه گذاری تفاوت معنی دار نشان دادند(P<۰/۰۵). علیرغم فاکتورهای پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، TVB-N، تری متیل آمین، اسید چرب آزاد، شمارش کلی باکتری ها، باکتری‌های استافیلوکوک و کلی فرم در فاکتورهای pH و رطوبت بین نمونه‌های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). پارامتر حسی رنگ (ملانوزیز) در میگوی آزمایشی در مقایسه با شاهد از کیفیت بهتری برخوردار بودند. در کیفیت حسی، ملانوزیز و مدت زمان ماندگاری بین نمونه‌های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار مشاهده شد (P<۰/۰۵) . در تیمار آزمایشی تا پایان مدت زمان سردخانه گذاری لکه‌های سیاه ظاهر نشد اما در میگوی شاهد به مدت کمتر از یک ماه ماندگاری در سردخانه ملانوزیز ظاهر شد.

واژه‌های کلیدی: میگوی سفید غربی، لکه سیاه، آنتی اکسیدان، ۴- هگزیل رزورسینول ، پروتئاز ، نگهداری در سردخانه

مقدمه

محدودیت صید ذخایر دریایی و ازدیاد جمعیت سبب افزایش تقاضا برای پروتئین دریایی بویژه میگو شد. لذا توجه جوامع بشری به تولید میگوی پرورشی معطوف گردید. با توسعه پرورش میگو بالاخص میگوی سفید غربی به عنوان یکی از فعالیتهای مهم آبزی پروری در جهان، این صنعت به شکل تجاری تقریباً از اوایل دهه هفتاد در سواحل جنوبی ایران آغاز شد (دفتر برنامه و بودجه سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۰).

عمل آوری مهمترین عنصر در بازاریابی میگو است. انتخاب تکنولوژی عمل آوری در صنعت فرآوری برای صادرات و کشورهای وارد کننده حائز اهمیت بوده، بایستی بر اساس نیاز بازار و بهداشت مواد غذایی در نظر گرفته شده و توسط سازمان امنیت غذاها پذیرفته شده باشد. بنابراین، با توجه به ویژگی‌های فرآورده مناسب ترین تکنولوژی را برای تهیه آن می‌توان انتخاب کرد. بر این اساس بهره برداری مناسب و بهینه از میگوی پرورشی در کشور با بکارگیری روش‌های بهینه جابجایی، فرآوری و تغییرات پس از برداشت از اهمیت ویژه ای برخوردار است(Rackowe, 1992).

در بازارهای جهانی، میگو به اشکال منجمد، بلوک شده بدون سر و با سر عرضه می‌گردد. میگوی منجمد به دلیل قیمت مناسب و مدت زمان نگهداری طولانی در سردخانه از ارزش تجاری بالا و تقاضای زیاد مصرف کنندگان برخوردار است. از مهمترین تغییرات کیفی که در طول نگهداری طولانی میگوی منجمد در سردخانه اتفاق

۱و۲- به ترتیب دانشجوی دکترا و دانشیار پژوهشکده آبزی پروری آب‌های داخلی کشور، ایران
(* - نویسنده مسئول: Email: m_seifzadeh-ld@yahoo.com)

www.SID.ir

Archive of SID

می‌افتد می‌توان به از بین رفتن رنگ، اکسیداسیون چربی، دناتوره شدن پروتئین و تشکیل بلورهای یخ اشاره کرد (Fieger, 1950).

۴ – هگزیل رزورسینول یک پودر سفید رنگ، فنولیک، محلول در آب، امولیسیفایر، آنتی اکسیدان، تثبیت کننده رنگ و سنتتیک بوده که از سدیم کلراید و تری کلسیم فسفات تشکیل شده است. این ترکیب به عنوان افزودنی غذایی و ضد عفونی کننده خوراکی توسط سازمان بهداشت جهانی پذیرفته شده است. ۴ – هگزیل رزورسینول بوسیله جوشاندن به مدت ۵ دقیقه در آب گرم غیر فعال شده و فاقد اثرات سمی برای انسان می‌باشد (Frankos , 1997 ; 1991 , Otwell).

لکه سیاه یا ملانوزیس (Melanosis) پیگمان سیاه غیر محلول (ملانین) در سطح پوسته داخلی میگو است که به اکسیداسیون آنزیماتیک پیش سازهای فنولیک ارتباط دارد. این تغییر رنگ در سطح بدن میگو، لابستر و خرچنگ بدلیل تیره شدن غشاء زیر پوست ظاهر می‌شود. اکسیژن، دما و نور خورشید در بروز این لکه ها نقش اساسی دارند. لکه ها ی سیاه پدیده آنزیمی هستند که به وسیله آنزیم پلی فنل اکسیداز (polyphenol oxidase) ایجاد می‌شوند (Concalves and Grindi, 2009). پلی فنل اکسیداز در پاسخ ایمنی، استحکام کوتیکول، ترمیم زخم ها و افزایش مقاومت به بیماری ها در سخت پوستان نیز نقش دارد. این آنزیم، آنزیم داخلی بدن میگو بوده، طی نگهداری در یخچال و یخ فعال بوده و حتی بعد از انجماد نیز فعال باقی می‌ماند. لکه سیاه یک مشکل مهم در گونه‌های تجاری میگو است و می‌تواند تاثیر منفی روی ظاهر، کیفیت میگو، مدت زمان ماندگاری، بازار پسندی، ارزش اقتصادی و پذیرش محصول توسط مصرف کننده داشته باشد (Gomez and Monters, 2007; Flores and Crawford, 1973). در جهان برای جلوگیری از ملانوزیز و غیر فعال کردن آنزیم پلی فنل اکسیداز از روش‌های مختلفی مانند حرارت مایکروویو، بخار (روش حرارتی)، ترکیبات آنتی اکسیدان و حذف اکسیژن (گاز دی اکسید کربن متراکم) استفاده می‌شود. از سایر روش‌های مورد استفاده برای غیر فعال کردن این آنزیم کاربرد روش‌های شیمیایی است. از این روش ها می‌توان از ترکیبات احیاء کننده قوی مانند میموزین، سیناپیک اسید، پی کوماریک، کوجیک اسید، سدیم بنزوات، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید، سدیم هیدروژن پیرو فسفات، عامل‌های سولفاته و غیره را نام برد (Flick and Lovel, 1972). تاکنون در زمینه کاربرد ۴- هگزیل رزورسینول برای جلوگیری از ایجاد لکه سیاه در میگو در داخل کشور تحقیقی انجام نشده است. اما در سایر کشورها از ۴- هگزیل رزورسینول توسط Otwell در سال ۱۹۹۱ Frankos، (۱۹۹۱)، Guandelini (۱۹۹۸) Martinez Alvarez، (۲۰۰۵)، Mendes (۲۰۰۶)، Montero، (۲۰۰۴ و ۲۰۰۵)، CabaheroLopez (۲۰۰۰)، Thepnuan (۲۰۰۸) و Slattery (۲۰۰۹) جهت جلوگیری از ملانوزیز در میگو استفاده شده است. این تحقیق با هدف بررسی اثرات ۴- هگزیل رزورسینول برای جلوگیری از ایجاد لکه سیاه، کیفیت شیمیایی، باکتریایی و حسی در میگوی پرورشی منجمد انجام شد.

مواد و روش ها

مشخصات ٤- هگزیل رزورسینول

این آنتی اکسیدان به شکل کریستال‌های سفید رنگ، محلول در اتر ، الکل، کلروفرم و استن، خیلی به کندی محلول در آب <۰/۱ ml ۱۰۰۰/g ، دارای نقطه ذوب: ۶۷ – ۶۲ درجه سلسیوس، خلوص: ۹۸ ٪، خاکستر: حداکثر ۲ درصد، اسیدیته: کمتر از ۰/۰۵ درصد، خاکستر سولفاته: کمتر از ۰/۱ درصد، نیکل: کمتر از ۲ mg/kg ، جیوه: کمتر از ۳ mg/kg، سرب: کمتر از ۲ mg/kg، وزن مولکولی: ۱۹۷/۲۴، LD۵۰: ۵۵۰ mg/kg است.

روش تهیه محلول ٤ – هگزیل رزورسینول:

برای آماده سازی محلول ۴ – هگزیل رزورسینول از آب فیلتر شده دریا استفاده شد. سپس این محلول با اسید سیتریک ۱ درصد مخلوط شد. بتدریج این محلول با سود ۶ نرمال مخلوط شد تا pH آن به ۸ – ۷/۵ رسانده شد (Martinez-Alvarez,2005b).

عمل آوری

عمل آوری میگوی وانامی در اواخر ماه آبان در سایت پرورش میگو در تیاب جنوبی انجام شد. این پروژه در ۲ تیمار و ۳ تکرار عمل آوری شد. مقدار ۴۴ کیلوگرم میگو با میانگین وزن و طول ۸/۴ گرم و ۱۰/۶۱ سانتی متر برای عمل آوری استفاده شد. اکثر میگو ها نر بودند. تیمارها شامل میگوی عمل آوری شده با ۴ – هگزیل رزورسینول و میگوی بدون آنتی اکسیدان (نمونه شاهد) تهیه شدند. میگوها بعد از برداشت دریچه ای و با استفاده از آب یخ به مدت ۳ دقیقه سرد شدند. سپس میگوهای سرد شده در داخل محلول ۴ – هگزیل رزورسینول به نسبت ۲ به ۱ (نسبت محلول به میگو) به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند (Martinez-Alvarez,2005b). میگوهای تیمار شده زیر پوششی از یخ به نسبت ۲ به ۱ (دمای صفر درجه سلسیوس) بوسیله سبد به کارخانه عمل آوری بندر کلاهی انتقال داده شدند. بعد از این مرحله میگو با استفاده از پلاستیک‌های پلی اتیلن در مقادیر ۵۰۰ گرمی بسته بندی شده، سپس جعبه گذاری شده و به مدت ۸ ساعت در داخل تونل انجماد قرار داده شد و سپس به سردخانه ۱۸ – درجه سلسیوس انتقال داده شدند. برای تهیه نمونه شاهد میگوها به همین روش بدون استفاده از آنتی اکسیدان عمل آوری شدند. برای بررسی کیفیت نمونه‌های منجمد آزمایشی و شاهد از آزمایشات میکروبی، شیمیایی و حسی استفاده شد.

برای بررسی کیفیت حسی نمونه های آزمایشی و شاهد (۱۰

www.SID.ir

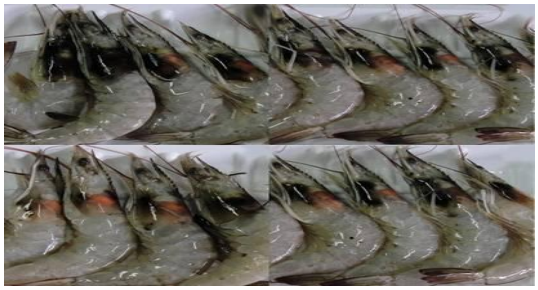
Archive of SID

نمونه از هر تیمار) از جدول امتیاز بندی کیفی میگوهای خام (با ۱۰ امتیاز و ۴ سطح کیفی) استفاده شد. پارامتر حسی مورد بررسی شامل بررسی رنگ ظاهری به روش Quality index method scoring (متد شاخص کیفی امتیاز دهی) انجام شد. آزمایش حسی با استفاده از سی ارزیاب مرد و زن در سردخانه بندر کلاهی با میانگین سنی ۳۵ تا ۴۵ سال انجام شد. این افراد بطور تصادفی از کارشناسان و متخصصین فرآوری میگو انتخاب شدند. نمونه ها به شکل منجمد مورد ارزیابی قرار گرفتند (Luten, 2000).

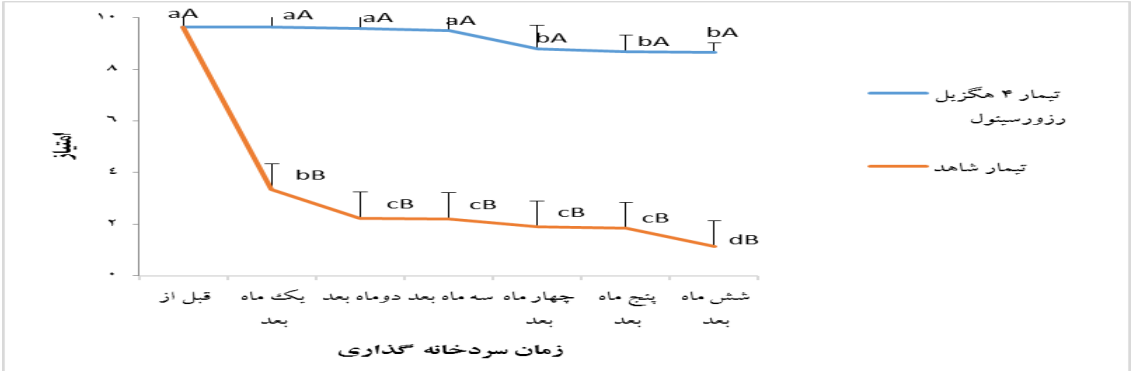
آزمایشات شیمیایی برای نمونه‌های آزمایشی و شاهد منجمد شامل اندازه گیری پراکسید به روش تیتراسیون یدومتریک(A.O.A.C. 2002)، TVB-N به روش ماکروکجلدال (A.O.A.C. 1990)، تری متیل آمین به روش اصلاح شده Bullard and Collins, 1980) تیوباربیتوریک اسید به روش مستقیم(Pearson, 1997) و pH به روش الکترومتریک (A.O.A.C. 1997) انجام شد. آنزیم پروتئاز در نمونه‌های آزمایشی و شاهد به روش اندازه گیری فعالیت آنزیم با استفاده از سوبسترای طبیعی قبل از سردخانه گذاری انجام شد(Sarath , 2008).

آزمایشات میکروبی برای نمونه‌های شاهد و آزمایشی منجمد شامل شمارش کلی باکتری ها به روش کشت پورپلیت (Andrews and Hammack, 2003; Maturin and Peeler, 2001) استافیلوکوک به روش کشت سطحی (Bennett and Lancette, 2001)، باکتری های سودوموناس آئروجینوزا به روش کشت سطحی(Holt *et al*, 1994)، باکتری‌های تولید کننده دی سولفید هیدروژن به روش کشت(Holt *et al*, 1994)، کلی فرم و اشریشیا کلی به روش کشت پورپلیت (Feng *et al* , 2002) ویبریو پاراهمولیتیک به روش کشت سطحی , Depaolajr and Kysner) (2004 است. آزمایشات میکروبی، شیمیایی و حسی طی هفت مرحله انجام شد. مرحله اول قبل ازسرد خانه گذاری، مرحله دوم یک ماه بعد از سردخانه گذاری و سایر مراحل هر ماه یک بار در زمان‌های ثابت ماهیانه به مدت شش ماه انجام شد. همچنین میگوهای برداشت شده قبل از انجام پروسس عمل آوری از نظر میکروبی، شیمیایی و حسی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه برداری برای انجام این آزمایشات به روش تصادفی انجام شد. مواد شیمیایی استفاده شده برای انجام آزمایشات شیمیایی و باکتریایی از نمایندگی شرکت Merck در ایران تهیه شد. در هر مرحله آزمایشات باکتریایی ، شیمیایی و حسی در ۳ تکرار انجام شدند.

تجزیه و تحلیل اطلاعات خام بدست آمده از آزمایشات میکروبی، شیمیایی و حسی در میگوی آزمایشی و شاهد بوسیله نرم افزار آماری SPSS و تست آنالیز واریانس دو طرفه در سطح معنی دار (۵٪) طی مدت زمان نگهداری در سردخانه انجام گرفت و تغییرات نتایج نمونه‌های آزمایشی و شاهد طی زمان مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی تفاوت و مقایسه بین نمونه‌های آزمایشی و شاهد از آنالیز T test استفاده شد.



شکل شماره ۱ – لکه سیاه روی میگوی شاهد



نمودار ۱– نتایج ارزیابی حسی کیفیت رنگ (ملانوزیز) میگوی غوطه ورشده در محلول ترکیبی۰/۱۵٪ ٤– هگزیل رزورسینول و اسید سیتریک ۱٪ و شاهد طی شش ماه نگهداری در سردخانه

حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در زمان و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها می‌باشد(P<۰/۰۵) .

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- نتایج تغییرات فاکتورهای شیمیایی میگوی غوطه ورشده در محلول ترکیبی ۰/۱۵٪ ٤ - هگزیل رزورسینول و اسید سیتریک ۱٪ و شاهد طی مدت شش ماه نگهداری در سردخانه

ویژگی نمونه / زمان سردخانه گذاری	پراکسید (meqO$_2$/kg)		اسید چرب آزاد (g/100)		تیوباربیتوریک اسید(mg/kg)		TVB-N (mg/100g)		pH		تری متیل آمین (µg/g)		رطوبت(٪)	
	آزمایشی	شاهد	آزمایشی	شاهد	آزمایشی	شاهد	آزمایشی	شاهد	آزمایشی	شاهد	آزمایشی	شاهد	آزمایشی	شاهد
قبل از	۰/۱۴ ±۰/۱۳ aA	۰/۱۲ ±۰/۱۲ aA	۰/۵۳ ±۰/۲۲ aA	۰/۵۳ ±۰/۲۳aA	۰/۰۸ ±۰/ ۱۲ aA	۰/۰۸ ±۰/۱۲ aA	۱۱/۸ ±۱/۴aA	۱۱/۸ ±۱/۴aA	۶/۹۸ ±۱/۴aA	۶/۹۸ ±۱/۴aA	۰/۵۶ ±۰/۴۸aA	۰/۵۶ ±۰/۴۸aA	۷۷/۹۸ ±۱/۸aA	۷۷/۹۸ ±۱/۸aA
یک ماه بعد	۰/۴۹±۰/۱۷abA	۱/۲۵ ±۰/۱۷ bB	۰/۶۱ ±۰/۲۱ aA	۲/۷۳ ±۰/۱۲bB	۰/۱۷ ±۰/۱۷ aA	۰/۲۱ ±۰/۲۵ aB	۱۲/۲ ±۱/۵bA	۱۲/۲ ±۱/۵bA	۷/۱۲ ±۱/۷aA	۷/۱۱ ±۱/۸aA	۰/۸۹ ±۰/۱۹aA	۰/۸۹ ±۰/۲۰ aA	۷۷/۱۳ ±۱/۱abA	۷۷/۱۳ ±۱/۱bA
دو ماه بعد	۰/۷۱ ±۰/۱۹ bA	۲/۸۷ ±۰/۲۳ bB	۰/۹۴ ±۰/۲۳ aA	۵/۴۶±۰/۱۸cB	۰/۲۸ ±۰/۲۵ aA	۰/۳۳ ±۰/۳۲aB	۱۲/۲ ±۲/۱cA	۱۲/۸ ±۱/۲cB	۷/۱۵ ±۲/۲aA	۷/۱۷ ±۲/۲aA	۱/۸۶ ±۰/۱۲bA	۱/۳۵ ±۰/۲۵ aA	۷۶/۸۲ ±۰/۱۲bB	۷۶/۸۲ ±۰/۱۲bB
سه ماه بعد	۰/۶۷ ±۰/۲۱bA	۲/۱۶ ±۰/۴۶ bB	۰/۸۷ ±۰/۱۲A a	۵/۴۸±۰/۲۷cB	۰/۴۵ ±۰/۳۱ aA	۰/۴۷ ±۰/۱۶ aB	۱۲/۲ ±۲/۱dA	۱۵/۲±۱/۲dB	۷/۱۹ ±۲/۲aA	۷/۲۹ ±۱/۸aA	۱/۸۶ ±۰/۱۲bA	۵/۶۳ ±۰/۲۸cB	۷۵/۸۷ ±۱/۰cA	۷۵/۸۷ ±۱/۰dA
چهار ماه بعد	۰/۶۱ ±۰/۲۸ bA	۲/۴۵ ±۰/۴۱ bcB	۰/۹۱ ±۰/۱۹ abA	۵/۴۹ ±۰/۴۵cB	۰/۳۹ ±۰/۱۱ aA	۰/۴۶ ±۰/۲۷ aA	۱۵/۸ ±۲/۲eA	۱۶/۶ ±۱/۸eB	۷/۲۵ ±۱/۴aA	۷/۳۲ ±۱/۹aA	۲/۳۴ ±۰/۳۲cA	۲/۳۴ ±۰/۳۲cA	۷۵/۳۴ ±۱/۰dA	۷۵/۳۴ ±۱/۰dA
پنج ماه بعد	۰/۵۹ ±۰/۳۱bA	۳/۱۲ ±۰/۲۸ cB	۱/۱۵ ±۰/۱۵bA	۵/۴۹ ±۰/۴۸cB	۰/۴۸ ±۰/۲۷ aA	۰/۷۸ ±۰/۲۲bB	۱۶/۴ ±۳/۴fA	۱۸/۲ ±۱/۳gB	۷/۳۳ ±۲/۰aA	۷/۳۸ ±۱/۴abA	۲/۳۵ ±۰/۲۵ aA	۲/۳۵ ±۰/۲۵ aA	۷۶/۳۹ ±۱/۸aA	۷۶/۳۹ ±۱/۸aA
شش ماه بعد	۰/۵۷ ±۰/۲۳ bA	۱/۷۴±۰/۱۹ cB	۱/۳۳ ±۰/۱۳bA	۵/۵۳ ±۰/۴۱cB	۰/۵۳ ±۰/۲۳aA	۰/۵۳ ±۰/۲۳aA	۱۶/۴ ±۱/۹gA	۱۸/۸ ±۱/۹gB	۷/۴۱ ±۱/۹aA	۷/۴۱ ±۱/۹aA	۲/۴۵ ±۰/۲۷dA	۲/۴۵ ±۰/۲۷dA	۷۶/۱۸ ±۱/۸cA	۷۶/۱۸ ±۱/۸fA

حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در ردیف است.
حروف مشابه نشانه عدم وجود تفاوت معنی دار در هر ردیف و هر ستون می باشد (P>۰/۰۵).
حروف غیر مشابه نشانه وجود تفاوت معنی دار در هر ردیف و هر ستون می باشد(P<۰/۰۵).

نتایج:

نتایج ارزیابی حسی رنگ در تیمارهای عمل آوری شده با ۴ – هگزیل رزورسینول و شاهد در نمودار ۱ آورده شده است. بر اساس این نمودار ملانوزیز در میگوی آزمایشی تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه مشاهده نشد اما در میگوهای شاهد کمتر از مدت زمان ماندگاری یک ماه در سردخانه مشاهد شد (P<۰/۰۵) .

در کیفیت حسی و مدت زمان ماندگاری در سردخانه بین نمونه‌های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار مشاهده شد (P<۰/۰۵) .

شاخص حسی رنگ در نمونه‌های آزمایشی در قیاس با شاهد از کیفیت بهتری برخوردار بودند. کیفیت رنگ در نمونه‌های آزمایشی از قبل از زمان سردخانه گذاری تا پایان ماه سوم تفاوت معنی دار نشان نداد(P>۰/۰۵) . از ماه سوم تا ماه چهارم اندکی کاهش یافت (۰/۰۵ P<)و تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه تفاوت معنی دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵) .

نمونه‌های آزمایشی تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه از کیفیت مطلوبی برخوردار بودند اما در نمونه‌های شاهد طی مدت زمان کمتر از یک ماه ماندگاری در سردخانه ۱۸ – درجه سلسیوس لکه‌های سیاه ظاهر شد (کیفیت حسی خود را از دست دادند).

در نمونه‌های آزمایشی و شاهد ارزش پراکسید از قبل از سردخانه گذاری تا ماه دوم افزایش و از ماه سوم تا پایان مدت زمان سردخانه گذاری کاهش داشته است. در این فاکتور تفاوت معنی دار طی مدت زمان نگهداری در سردخانه در نمونه‌های آزمایشی و شاهد مشاهده شد (P < ۰/۰۵).

در نمونه‌های آزمایشی و شاهد فاکتور اسید چرب آزاد طی مدت زمان نگهداری در سردخانه سیر افزایشی نشان داد. در این فاکتور در نمونه‌های آزمایشی از قبل از سردخانه گذاری تا ماه چهارم تفاوت معنی دار مشاهده نشد(P>۰/۰۵). در نمونه‌های شاهد از ماه اول تا پایان مدت زمان نگهداری در سردخانه تفاوت معنی دار مشاهده شد (P < ۰/۰۵).

فاکتور تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌های آزمایشی و شاهد سیر صعودی نشان داد. این فاکتور در نمونه‌های آزمایشی در طی زمان نگهداری در سردخانه تفاوت معنی دار نشان نداد. اما، در نمونه‌های شاهد تفاوت معنی دار نشان داد(P < ۰/۰۵).

فاکتور TVB-N طی زمان نمونه برداری (ماههای مختلف) در نمونه‌های آزمایشی و همینطور شاهد افزایش معنی دار نشان داد (P < ۰/۰۵).

فاکتور pH در نمونه‌های آزمایشی و شاهد طی مدت زمان سردخانه گذاری سیر افزایشی نشان داد. این فاکتور طی مدت زمان نگهداری در نمونه‌های آزمایشی تفاوت معنی دار نشان

www.SID.ir

Archive of SID

نداد. در نمونه‌های شاهد تا پایان ماه چهارم تفاوت معنی دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵) .

فاکتور تری متیل آمین در نمونه‌های آزمایشی و شاهد طی مدت زمان نگهداری در سردخانه سیر افزایشی نشان داد. این فاکتور طی مدت زمان سردخانه گذاری تا ماه اول در نمونه‌های آزمایشی تفاوت معنی دار نشان نداد(P>۰/۰۵) و سپس تفاوت معنی دار مشاهده شد. اما، در نمونه‌های شاهد طی مدت زمان ماندگاری در سردخانه این فاکتور تفاوت معنی دار نشان داد (P < ۰/۰۵).

فاکتور رطوبت در نمونه‌های شاهد از قبل از سردخانه گذاری تا پایان مدت زمان نگهداری در سردخانه تفاوت معنی دار مشاهده شد. در نمونه‌های آزمایشی از قبل از سردخانه گذاری تا ماه اول تفاوت معنی دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). از ماه دوم تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه تفاوت معنی دار مشاهده شد (P < ۰/۰۵).

در فاکتورهایTVB-N ، تیوباربیتوریک اسید، پراکسید، تری متیل آمین و اسید چرب آزاد بین نمونه‌های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار مشاهده شد (P < ۰/۰۵). اما، در فاکتورهای pH و رطوبت بین نمونه‌های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

آنزیم پروتئاز در نمونه‌های عمل آوری شده با ۴ – هگزیل رزورسینول ۰/۱۵٪ ۲/۲۰ unit/mg و در نمونه‌های شاهد ۲/۹۰ unit/mg بود.

درنتایج شمارش کلی باکتری ها، باکتری‌های استافیلوکوک و کلی فرم در نمونه‌های آزمایشی و شاهد طی مدت زمان ماندگاری در سردخانه تفاوت معنی دار مشاهده شد(P<۰/۰۵) .

در شمارش کلی باکتری ها، باکتری‌های استافیلوکوک و کلی فرم بین نمونه‌های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار مشاهده شد(۰/۰۵ > P) .

شمارش کلی باکتری ها، باکتری‌های استافیلوکوک و کلی فرم در نمونه‌های آزمایشی در قیاس با شاهد کاهش نشان دادند.

آلودگی به باکتری‌های کلی فرم در نمونه‌های آزمایشی کمتر از ده عدد در هر گرم بود. آلودگی به باکتری‌های ویبریوپاراهمولیتیک، باکتری‌های تولید کننده دی سولفید هیدروژن و اشریشیا کلی در نمونه‌های آزمایشی و شاهد مشاهده نشد.

نتایج و بحث

ملانوزیز در میگوی آزمایشی تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه مشاهده نشد اما در میگوهای شاهد کمتر از مدت زمان ماندگاری یک ماه در سردخانه مشاهده شد.

جدول ۲- نتایج تغییرات بار میکروبی میگوی غوطه ورشده در محلول ترکیبی ۰/۱۵٪-٤ هگزیل رزورسینول و اسید سیتریک ۱٪ و شاهد طی شش ماه نگهداری در سردخانه (لگاریتم واحد تشکیل دهنده کلنی در هر گرم)

ویژگی	شمارش کلی باکتری ها		باکتری استافیلوکوک		باکتری کلی فرم	
نمونه / زمان	نمونه‌های آزمایشی	نمونه شاهد	نمونه‌های آزمایشی	نمونه شاهد	نمونه‌های آزمایشی	نمونه شاهد
قبل از سردخانه گذاری	۳/۳۰±۰/۸۴ cA	۵/۶۷ ±۰/۴۳ cB	۱/۶۵ ±۰/۱۷ cA	۲/۹۶ ±۰/۳۲ dB	Aکمتر از ده عدد در هر گرم	۱/۲۳±۰/۱۶ bB
ماه اول	۳/۱۶±۰/۵۱ cA	۵/۵۱ ±۰/۳۵ cB	۱/۳۴±۰/۷۴ bcA	۲/۵۴ ±۰/۱۲ dB	Aکمتر از ده عدد در هر گرم	۱/۱۱ ±۰/۱۱ bB
ماه دوم	۲/۹۹±۰/۲۹ cA	۵/۱۳ ±۰/۱۳ bcB	۱/۰۷ ±۰/۶۷ bA	۱/۹۹ ±۰/۳۴ cB	Aکمتر از ده عدد در هر گرم	۰/۹۵±۰/۱۱ bB
ماه سوم	۲/۶۸±۰/۱۹ bcA	۴/۷۹ ±۰/۴۴ bB	aA کمتر از ده عدد در هر گرم	۱/۲۷ ±۰/۷۴ bB	Aکمتر از ده عدد در هر گرم	۰/۳۵±۰/۱۲ aB
ماه چهارم	۲/۴۹±۰/۲۷ bA	۴/۳۱ ±۰/۲۴ bB	کمتر از ده عدد در هر گرمa	a کمتر از ده عدد در هر گرم	کمتر از ده عدد در هر گرم	a کمتر از ده عدد در هر گرم
ماه پنجم	۲/۱۱±۰/۱۸ abA	۳/۹۱ ±۰/۴۶ abB	کمتر از ده عدد در هر گرمa	aکمتر از ده عدد در هر گرم	کمتر از ده عدد در هر گرم	کمتر از ده عدد در هر گرمa
ماه ششم	۱/۷۴±۰/۶۵ aA	۳/۵۳ ±۰/۶۳ aB	کمتر از ده عدد در هر گرمa	aکمتر از ده عدد در هر گرم	کمتر از ده عدد در هر گرم	کمتر از ده عدد در هر گرمa

حروف مشابه نشانه عدم وجود تفاوت معنی دار در هر ردیف و ستون می‌باشد (P>۰/۰۵) .

حروف غیر مشابه نشانه وجود تفاوت معنی دار در هر ردیف و ستون می‌باشد(P<۰/۰۵) .

حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در ردیف است.

از حیث مدت زمان ماندگاری در سردخانه نمونه‌های عمل آوری شده با ۴ – هگزیل رزورسینول و نمونه‌های کنترل تفاوت معنی دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). نتایج به دست آمده از این تحقیق برای جلوگیری از ایجاد ملانوزیز در میگو با تحقیقات انجام شده توسط

www.SID.ir

Archive of SID

Otwell (۱۹۹۱و ۲۰۰۴)، Frankos (۱۹۹۱)، Guandelini (۱۹۹۸)، Martinez Alvarez (۲۰۰۵)، Mendes (۲۰۰۶)، Montero (۲۰۰۴ و ۲۰۰۵)، Lopez Cabahero (۲۰۰۰)، Arias (۲۰۰۷)، Thepnuan (۲۰۰۸) و Slattery (۲۰۰۹) جهت جلوگیری از ملانوزیز در میگو مطابقت دارد.

کمپلکس آنزیمی پلی فنل اکسیداز شامل تیروزیناز و کاتکول اکسیداز آنزیم تترامر، متالوپروتئین و از پروتئین‌های وابسته به مس است که دارای ۴ اتم مس مولکولی بوده و ۲ اتم مس در جایگاه فعال آنزیم دارد. یون مس از کوفاکتورهای ضروری برای انجام واکنش توسط این آنزیم است. اسید سیتریک یک آنتی اکسیدان طبیعی است که دارای خاصیت جذب فلزات می‌باشد. این ترکیب قادر به چلاته کردن یون مس، کاهش سطح مس در دسترس، احیاء و حذف فلز مس از آنزیم پلی فنل اکسیداز و غیر فعال کردن این آنزیم است (Otwell, 2004).

حذف اکسیژن یکی دیگر از مکانیسم‌های جلوگیری از ایجاد ملانوزیز می‌باشد. آنزیم پلی فنل اکسیداز کمپلکس آنزیمی درگیر در اکسیداسیون فنل است. این آنزیم از اکسیژن مولکولی به عنوان کوسوبسترا استفاده می‌کند. آنزیم پلی فنل اکسیداز در نوع مت ([cu(II)cu(II)]) با اکسیژن مولکولی واکنش کرده و سبب تشکیل پلی فنل اکسیداز در حالت اکسی ([cu(II)cu(II)o_2]) می‌شود که مستعد کاتالیز واکنش‌های مونو دی فنل است. این آنزیم (مونوفنل اکسیداز یا تیروزیناز) در نوع مت هیدروکسیلاسیون مونوفنل ها (تیروزین) را به دی فنل ها کاتالیز کرده و سبب بروز ملانوزیز در میگو می‌شود (Iyengar etal, 1991). با توجه به ساختار فنولیک ۴ – هگزیل رزورسینول و این که ترکیب فوق جزء ترکیبات دی فنل می‌باشد به نظر می‌رسد که این آنتی اکسیدان بوسیله رقابت با دی فنل‌های های حاصل از هیدروکسیلاسیون تیروزین می‌تواند بجای آنها با آنزیم واکنش داده و مانع از ادامه فعالیت آنزیم شود. علاوه بر این، اکسیداسیون سوبسترای دی فنولیک به کوئینون ها به وسیله آنزیم دی فنل اکسیداز و در حضور اکسیژن کاتالیز می‌شود که تحت تاثیر اتواکسیداسیون و پلی مریزاسیون به تشکیل ملانین و تولید رنگدانه سیاه منجر می‌شود. ۴ – هگزیل رزورسینول با خاصیت آنتی اکسیدانی خود اکسیژن را حذف کرده، از تشکیل پلی فنل اکسیداز در شکل اکسی، ادامه فعالیت آنزیم و بروز لکه سیاه جلوگیری می‌کند (Howgate,2008). حذف اکسیژن از طریق مکانیسم دیگری مانند جلوگیری از پیشرفت واکنش تیروزین به ملانین نیز قادر به جلوگیری از بروز لکه سیاه در میگو می‌باشد. تیروزین بطور طبیعی در میگو وجود دارد. این اسید آمینه به عنوان سوبسترا برای آنزیم پلی فنل اکسیداز عمل می‌کند. این اسید آمینه شامل یک حلقه فنولیک است که می‌تواند بوسیله آنزیم پلی فنل اکسیداز از نواحی کاراپاس سفالوتراکس میگو، caudal و کوتیکل شکم اکسیده شود (Bailey and Fieger, 1957). تیروزین طی مراحل مختلف و تحت تاثیر اکسیژن به ترکیباتی مانند دوپا، دوپاکوئینون، لوکو، دوپا کروم، ۵ و ۶ دی هیدروکسی اندول بانضمام دی اکسید کربن، اندول ۵ و ۶ کوئینون و در نهایت به پیگمان با وزن مولکولی بالا و سیاه رنگ ملانین تبدیل می‌شود. حذف اکسیژن بوسیله ۴ – هگزیل رزورسینول منجر به جلوگیری از انجام واکنش‌های تبدیل تیروزین به ملانین می‌شود (Camino, 2004).

تغییر pH نیز از مکانیسم‌های جلوگیری از ایجاد ملانوزیز می‌باشد. دو واکنش اساسی پلی فنل اکسیداز برای ایجاد ملانوزیز شامل کاتالیز هیدروکسیلاسیون و اکسیداسیون تحت تاثیر اکسیژن مولکولی به عنوان کوسوبسترا انجام پذیر است. این واکنش ها در شرایط اسیدی (pH<۵) و شرایط قلیایی (pH>۸) قابل انجام نیستند. بنابراین به وسیله تنظیم pH محلول ۴ – هگزیل رزورسینول روی ۸ نیز می‌توان سبب جلوگیری از فعالیت آنزیم شد(Mendes, 2006).

از مکانیسم‌های جلوگیری از بروز لکه سیاه بوسیله ۴ – هگزیل رزورسینول می‌توان به تاثیر این آنتی اکسیدان روی آنزیم پلی فنل اکسیداز اشاره کرد. ۴ – هگزیل رزورسینول قادر به واکنش با هر دو شکل مت و دی اکسی آنزیم پلی فنل اکسیداز است. با توجه به نقش دو منظوره این آنتی اکسیدان و نقش سوبسترا در نحوه عملکرد ۴ – هگزیل رزورسینول برای غیر فعال سازی آنزیم پلی فنل اکسیداز، تاثیر ۴ - هگزیل رزورسینول روی کاهش فعالیت آنزیم پروتئاز و کاهش سوبستراهای حاصل از فعالیت آنزیم پروتئاز این ترکیب قادر به واکنش با فرم داکسی آنزیم پلی فنل اکسیداز هست. با وجود کاهش سوبسترا برای فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز، اما سوبسترا در میگو وجود داشته و بنابراین ۴ هگزیل رزورسینول با استفاده از متد ممانعت آنزیماتیک بوسیله رقابت با سوبستراهای موجود برای اتصال به سایت‌های کاتالیزوری آنزیم قادر به غیر فعال کردن آنزیم می‌باشد. علاوه بر این، آنتی اکسیدان ۴ – هگزیل رزورسینول به عنوان مهار کننده آنزیم پلی فنل اکسیداز عمل کرده و قادر به اتصال به شکل مت این آنزیم و غیر فعال سازی آن می‌باشد (López- , 2006 Caballero (Arias, 2007;.

غیر فعال سازی یا کاهش فعالیت آنزیم پروتئاز از سایر مکانیسم‌های جلوگیری از بروز لکه سیاه توسط ۴ – هگزیل رزورسینول می‌باشد. پلی فنل اکسیداز به عنوان پیش ساز در بدن میگو سنتز می‌شود (Thepnuan, 2008).پروتئاز ترشح شده از هپاتوپانکراس میگوی وانامی قادر است پلی فنل اکسیداز را فعال کند. این آنزیم پایدار بوده و انجماد سبب کاهش در مقدار آن نمی‌شود (Omondi and Stark, 2001). آنزیم‌های پروتئولیتیک سبب تبدیل پیش ساز آنزیم پلی فنل اکسیداز به آنزیم پلی فنل اکسیداز می‌شوند. ۴ – هگزیل رزورسینول از فعالیت آنزیم پروتئاز

www.SID.ir

Archive of SID

جلوگیری کرده و باین ترتیب قادر است که از فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز جلوگیری کند (Savagaon and Sreenivasan, 1978; Kusaimah, 2001 .

بروز ملانوزیز در میگوی شاهد تحت تاثیر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز می‌باشد. در نمونه شاهد فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در سرما کند شده اما از بین نرفته و به مرور زمان سبب تغییر رنگ و ایجاد لکه‌های سیاه می‌شود (Lopez Cabahero, 2000).

اسید چرب آزاد در نمونه‌های آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش کمتری داشت. در نمونه شاهد به دلیل تاثیر انزیم‌های لیپولیتیک بر روی چربی ماهی،آنزیم لیپاز بافت، آنزیم لیپولیتیک ترشح شده از باکتری‌های استافیلوکوک و آنزیم هایی که از باکتری‌های مرده و تجزیه شده آزاد می‌شوند قادر به فعالیت در فاکتور آبی پائین بوده می‌توانند طی فرآیند لیپولیز سبب هیدرولیز چربی ها و تولید اسیدهای چرب غیر اشباع شوند اما در نمونه‌های آزمایشی به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی ۴ – هگزیل رزورسینول و جلوگیری از هیدرولیز چربی این فاکتور کاهش نشان داد (Bottino *et al*, 1979).

مقدار TBA و پر اکسید در نمونه‌های آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش کمتری طی مدت زمان نگهداری در سردخانه نشان داد. در نمونه ها از ماه اول تا دوم مقدار پر اکسید افزایش داشته اما از از ماه دوم به بعد کاهش نشان داده است. در نمونه شاهد تاثیر انجماد بر بافت میگو، سبب کاهش رطوبت در زمان سردخانه گذاری، افزایش امکان نفوذ اکسیژن به داخل بافت و در نتیجه اکسید شدن چربی‌های غیر اشباع و افزایش پراکسید شد. ولی با گذشت زمان تجزیه پراکسید منجر به تولید آلدئید و کتون می‌گردد که منجر به کاهش مقدار پراکسید و افزایش مقدار TBA می‌گردد. علاوه بر این، با توجه به نقش ترکیبات آلدئیدی در افزایش این فاکتور به نظر می‌رسد ترکیبات آلدئیدی حاصل از تجزیه تری متیل آمین نیز از عوامل موثر در افزایش این فاکتور باشند. اما در تیمارهای عمل آوری شده با ۴ – هگزیل رزورسینول تحت تاثیر خاصیت آنتی اکسیدانی این ترکیب از هیدرولیز چربی، افزایش اکسیداسیون و تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون، و تاثیر خاصیت ضد باکتریایی آن از تولید ترکیبات آلدئیدی حاصل از تجزیه تری متیل آمین و افزایش مقدار TBA جلوگیری شد (Hui etal, 2004).

pH در نمونه‌های آزمایشی در مقایسه با شاهد طی مدت زمان نگهداری در سردخانه افزایش کمتری نشان داد. علاوه بر تولید بازهای فرار (آمونیاک و تری متیل آمین) و TVB-N خاصیت بازی ترکیبات آلدئیدی تولید شده از تجزیه محصولات اولیه اکسیداسیون چربی مانند هیدروپراکسیدها و ترکیبات آلدئیدی، آلدئید فرمیک و هیدروژن تولید شده از تجزیه تری متیل آمین سبب افزایش pH در نمونه شاهد می‌گردند. در نمونه‌های آزمایشی به دلیل کاهش تری متیل آمین، جلوگیری از اکسیداسیون چربی توسط ۴ – هگزیل رزورسینول،کاهش تجزیه محصولات ثانویه اکسیداسیون چربی به ترکیباتی مانند آلدئیدها و TVB-N این فاکتور در قیاس با شاهد کاهش داشت (Huss, 1994; Rome *et al*, 1973).

مقدار رطوبت در نمونه‌های آزمایشی در قیاس با شاهد کاهش کمتری نشان داد. در میگوهای شاهد علاوه بر وجود فضای خالی بین میگوها و نیز نوسانات دمایی سردخانه، تشکیل کریستال‌های یخ در فرآورده و جریان هوا در سردخانه طی زمان سردخانه گذاری تولید آلدئید فرمیک حاصل از تجزیه تری متیل آمین اکسید باعث کاهش قدرت نگهداری آب و افزایش خروج آب از ماهی و کاهش رطوبت شد(جانستون و نیکلسون، ۱۳۸۴). در نمونه‌های عمل آوری شده با ۴ – هگزیل رزورسینول، این ترکیب علاوه بر افزایش ظرفیت نگهداری آب بافت نمونه ها، تحت تاثیر خاصیت ضد باکتریایی این ترکیب مقدار تولید تری متیل آمین و آلدئید فرمیک در این نمونه ها کاهش یافته و در نتیجه مقدار رطوبت در نمونه‌های عمل آوری شده با این آنتی اکسیدان در مقایسه با نمونه شاهد افزایش جزئی نشان داد(Rome *et al*, 1973).

مقدار TVB-N در نمونه‌های آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش کمتری داشت. شاخص TVB-Nدر مجموع شامل تری متیل آمین، دی متیل آمین، آمونیاک و سایر ترکیبات آمین دار(حاصل فساد باکتریایی و آنزیمی) در ارتباط با فساد فرآورده های دریائی می‌باشد. در نمونه شاهد علاوه بر کاهش رطوبت که سبب شکسته شدن ساختار پروتئین و تولید ترکیب‌های ازت دار فرار قابل تقطیر می‌شود، تولید اسیدهای چرب آزاد و تاثیر آن بر دناتوره شدن پروتئین، آنزیم پروتئاز و تجزیه اسیدهای آمینه یا انواع متیل آمین ها و سایر نیتروژن های غیر پروتئینی نیز می‌توانند باعث افزایش TVB-N گردند. اما در نمونه‌های آزمایشی به دلیل کاهش تشکیل اسیدهای چرب آزاد، کاهش تعداد میکرواورگانیسم ها و جلوگیری از فعالیت آنزیم پروتئاز هپاتوپانکراس میگو مقدار این فاکتور در مقایسه با نمونه شاهد طی مدت زمان سردخانه گذاری پائین تر بود (Cobb *et al*, 1973; Xiong, 1997).

تری متیل آمین در نمونه‌های آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش کمتری داشت. تری متیل آمین اکساید فاکتور فساد نبوده بلکه عاملی مهم درتغییر کیفیت میگو می باشد. تری متیل آمین اکساید عامل مهمی جهت تنظیم فشار اسمزی بوده و حدود ۱ تا ۷درصد وزن خشک بافت را تشکیل می‌دهد (Mendonça Diniz *et al*, 2001). بنابراین، فسفولیپیدهای چربی میگو بطور طبیعی از تری متیل آمین اکساید غنی بوده و تجزیه فسفولیپیدها تحت تاثیر فعالیت باکتری ها و آنزیم‌های داخلی بدن میگو مقدار کمی تری متیل آمین در میگوهای زنده و تازه صید شده وجود دارد (Yousuf Ali *et al*, 2013). با توجه به این که تاثیر ۴ – هگزیل رزورسینول مستقیماً روی تجزیه تری متیل آمین در میگوی منجمد خیلی جزئی است، این

www.SID.ir

Archive of SID

ترکیب از تجزیه تری متیل آمین اکساید (دارای ساختار نیتروژنی بوده) توسط فعالیت آنزیمی باکتریایی مانند آنزیم‌های تری متیل آمین اکسیداز و پروتئولیتیک تولید شده و به ترکیبات ساده تر نظیر تری متیل آمین و دی متیل آمین اکساید احیاء می‌شود. ترکیب اخیر بوسیله آنزیم‌های باکتریایی به تری متیل آمین تبدیل می‌شود. سپس تری متیل آمین تولید شده از فساد باکتری ها به آلدئید فرمیک و دی متیل آمین (حاصل خود هضمی آنزیمی) تبدیل می گردد (Cintra *et al*, 1999). در نمونه‌های شاهد به دلیل وجود باکتری ها در روی سطح بدن، امعاء و احشاء و سفالوتراکس و آنزیم‌های مترشحه از آن ها فسفولیپیدها تجزیه شده و در نهایت تری میتل آمین تولید می‌شود که سبب افزایش این فاکتور طی مدت زمان سردخانه گذاری در نمونه ها شده است. در نمونه‌های آزمایشی تحت تاثیر فعالیت ضد باکتریایی ۴ – هگزیل رزورسینول در تعداد باکتری ها کاهش مشاهده شده است که سبب کاهش در آنزیم‌های مترشحه و در نهایت کاهش مقدار تری متیل آمین در مقایسه با نمونه‌های شاهد شد (Haard and Simos, 2004; Sotelo and Rehben,2000)

شمارش باکتری ها در نمونه‌های عمل آوری شده با ۴ – هگزیل رزورسینول در مقایسه با شاهد کاهش داشت. ۴ – هگزیل رزورسینول با مکانیسم‌های مختلفی مانند جذب اکسیژن و تغییر شرایط برای بقای میکرواورگانیسم ها سبب از بین رفتن آن ها می‌شود. ۴ – هگزیل رزورسینول با استفاده از جذب اکسیژن سبب نامساعد شدن شرایط برای رشد باکتری‌های هوازی می‌گردد. با توجه به این که سدیم کلراید یکی از ترکیبات تشکیل دهنده ۴ – هگزیل رزورسینول می‌باشد قادر به تغییر شرایط محلول ۴ – هگزیل رزورسینول از حالت ایزوتونیک، نامساعد شدن شرایط برای بقای میکرواورگانیسم ها، پاره شدن غشای سیتوپلاسمی و از بین رفتن آن ها می‌شود. علاوه بر این، ۴ – هگزیل رزورسینول ضد عفونی کننده قوی بوده و سبب کاهش میکرواورگانیسم ها در نمونه‌های عمل آوری شده با این ترکیب می‌شود (Rauf, 2005; Martinez-Alvarez, 2005b; Green, 1949).

سرانجام با توجه به تاثیر ۴ – هگزیل رزورسینول برای جلوگیری از فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نمونه‌های آزمایشی تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه از کیفیت مطلوبی برخوردار بودند اما نمونه‌های شاهد کمتر از یک ماه کیفیت خود را از دست داده بودند.

منابع

جانستون، وی. ای و نیکلسون، اف. جی. ۱۳۸۴ . انجماد و نگهداری محصولات شیلاتی در سردخانه ها. جان فدا، ترانه سادات. تهران: انتشارات وزارت جهاد کشاورزی.

دفتر برنامه و بودجه سازمان شیلات ایران،. ۱۳۹۰. سالنامه آماری شیلات ایران ۱۳۷۹ –۱۳۸۹. سازمان شیلات ایران/ معاونت برنامه ریزی و توسعه مدیریت/ دفتر برنامه و بودجه.

Andrews WH, Hammack TS., 2003. Food sampling and preparation of sample homogenate. In: Bacteriological analytical manual online, 8th edn. Food and Drug Administration. US.

A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis, 920.03. Determination of total volatile nitrogen by distillation method. AOAC international.USA.

A.O.A.C. 1997. Official Methods of Analysis, 981.12. AOAC international, USA.

A.O.A.C. 2002. Official Method of Analysis, 965.33, Peroxide value of oils and fats. AOAC International . USA.

Arias E, González J, Oria R, Lopez-Buesa P. 2007. Ascorbic acid and 4-hexylresorcinol effects on pear PPO and PPO catalyzed browning reaction. Journal of Food Science. 72(8):C422-9

Bailey, M. E and Fiefer, E. A. 1957. Chemical prevention of Black spot in Ice stored shrimp. Food Technology. 8:317 – 319.

Bennett, R, W and Lancette., 2001. *Staphylococcus aureus*, FDA, pp 35.

Bottino, N.R., Lilly, M.L., Finne, G. 1979. Fatty acid stability of Gulf of Mexico brown shrimp 44: 123 – 127. *aztecus*) held on ice and in frozen storage. Journal of Food Science

Bullard F.A., Collins J.,1980. An improved method to analyze trimethylamine in fish and the interference of ammonia and dimethylamine. Fishery Bulletin. 78: 314 – 318.

Camino, F. 2004. Melanosis in shrimp. FDA.

Cintre, I. H.A., Ogawa, N. B.P., Souza, M. R., Diniz, F. M and Ogawa, M. 1999. Decomposition of trimethylamine oxide related to the use of sulfites in shrimp. Food Science and Technology. 19 (3): 415 – 423.

Cobb III, B.F., I. Alaniz, C.A. Thrompson Jr. 1973. Biochemical and microbial studies on shrimp: volatile nitrogen and amino nitrogen analysis. Journal of Food Science. 38: 225 – 229.

Concalves, A.A., Gindri Junior, C.S.G., 2009. The effect of uptake on storage quality of frozen shrimp. Journal of food engineering. 90: 344 – 351.

Depaolajr, A; KYSNER, C, A., 2004. *Vibrio*, FDA, pp45

Feng, P; Weagant, S, D and Grant, M, A., 2002. Enumeration of *Escheria coli* and the *Coliform* bacteria, FDA, pp 30.

www.SID.ir

Archive of SID

Fieger, E. A. 1950. Problems In Handling Fresh And Frozen Shrimp. Food Technology .4: 250 – 256

Flick, G.J and Lovell, R.T. 1972. Post-mortem biochemical changes in the muscle of gulf shrimp, Penaeus Aztecus. Journal of Food Science. 37: 132 -136.

Flores, S.C., Crawford, D.L. 1973. Postmortem quality changes in iced Pacific shrimp (Pandalus jordani). Journal of Food Science. 38: 146 – 152.

Frankos, V. H., Schemitt, D. F., Haws, L. C ., McEvily, A. J et al. 1991.Generally recognized as safe (GRAS) evaluation of 4-hexylresorcinol for use as a processing aid for prevention of melanosis in shrimp. Regul Toxicol Pharmacol Volume 14. Pp 202 – 212.

Gomez-G-uillén M.C. and Montero M.P. 2007. Polyphenol Uses in Seafood Conservation. 2: American Journal of Food Technology.2: 365 – 369.

Green, M. 1949. Bacteriology Of Shrimp. Ii. Quantitative Studies On Freshly Caught And Iced Shrimp. Food Research 14:372 – 377.

Guandalini E, Ioppolo A, Mantovani A, Stacchini P, Giovannini C. 1998. 4-Hexylresorcinol as inhibitor of shrimp melanosis: efficacy and residues studies; evaluation of possible toxic effect in a human intestinal in vitro model (Caco-2); preliminary safety assessment. Food Addit Contam Volume 15 . Pp 171 – 180.

Haard, N.F., and Simos, B.K., 2004. Seafood Enzymes. Marcle Dekker, New York.

Holt J.G., Krieg R.N., Sneath P.H.A., Staley J.T. and Williams S.T., 1994. Bergeys manual of determinative bacteriology. Ninth edition, Williams & Wilkins. 787P.

Howgate, P. 2008. Melanosis in shrimp. FDA. 10 p.

Hui, Y.H., Cornillon, P., Legarreta, I.G., Lim, M., Murrell, K.D., Nip, W.K., 2004. Handbook of Frozen Foods, vol. 133. Part IV: Frozen Seafood, Marcel Dekker Incorporated, USA, 1293 p.

Huss, H.H., 1994. Assurance of seafood quality. Fisheries Technical paper 334.

Iyengar, R., Bohmont, C. W and Mcevily. A. J.1991. 4-Hexylresorcinol and prevention of shrimp blackspot: Residual analyses. Journal of Food Composition and Analysis. 4(2): 148-157.

Kusaimah M; Soottawat, B and Kongkarn, K. 2011. Polyphenol oxidase, proteases, melanosis and properties of pre-cooked Pacific White Shrimp as affected by heating conditioned. The 12 th Asian food conference 16 – 18 June 2011Bangkok, Thailand. 485 – 489.

López-Caballero, M. E., Martínez-Álvarez, O., Carmen Góme Guillén, M and Montero, P. 2006. Quality of Norway lobster treated with a 4-hexylresorcinol-based formulation. European Food Research and Technology. 222(3 - 4): 425 -431.

Lopez Caballero, M. E., Perez Mateos, M., Borderias, J. E and Montero, P. 2000. Extension of shelf life of prawns vacuum packaging and high pressure treatment. J. Food. Prot. 63: 1381 – 1388.

Luten, J. B. 2000. 'Development and implementation of a computerized sensory system (QIM) for evaluating fish freshness. CRAFT FAIR CT97 9063. Final Report for the period from 01-01-98 to 31-03-00', Wageningen, The Netherlands, RIVO The Netherlands Institute for Fisheries Research, p 18.

Martinez-Alvarez, O., M.C. Gomez-Guille'n and P. Montero, 2005a. Role of sulfites and 4 - hexylresorcinol on microbial growth and melanosis prevention in shrimps using controlled atmosphere. J. Food Prot., 68: 103-110.

Martinez-Alvarez, O., M.E. Lopez-Caballero, P. Montero and M.C. Gomez-Guillén, 2005b. A 4-hexyl-resorcinol based formulation to prevent melanosis and microbial growth in chilled tiger prawns fiom aquaculture. J. Food Sci., 70: 415-422.

Maturin, L, J and Peeler, J, T., 2001. Aerobic plate counts, FDA,pp10.

Mendes,M., Pestana, J and Pestana. C. 2006. Changes in 4-hexylresorcinol residues during processing of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*. European food research and technology Volume 223. Pp 509 – 515.

Mendonça Diniz, F., HidenburgoAniceto Cintra, I., Barreto Perdigão Ogawa, N Rosangela Souza, M., Araruna Vieira, I. J and MasayoshiOgawa. 2001.Inhibitory effect of hexulresorcinol on Melanosis and decomposition of trimethyl amin osxide (TMAO) in shrimp on ice and frozen storage. Bol.Téc.Cient.CEPNOR, Belém,1(1): 125-134.

Montero, O. Martínez-Álvarez, J. P. Zamorano, R. Alique and M. C. Gómez-Guillén . 2005. Melanosis inhibition and 4-hexylresorcinol residual levels in deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) following various treatments. Food Research and Technology Volume 223. PP 16 – 21.

Montero, P., Martil, O., Nez-Alvarez, O and Gomez –Guillen, M. C. 2004. Effectiveness of onboard application of 4-hexylresorcinol in inhibiting melanosis in shrimp (Parapenaeus longirostris). Journal of food science 69(8): C643-C647

Omondi, J.G and Stark, J. R. 2001.Studies on digestive proteases from midgut glands of a shrimp, Penaeus indicus, and a lobster, Nephrops norvegicus: Part 1. Proteolytic activity. Appl Biochem Biotechnol. 90(2):137-53.

Otwell, W. S., Lyengar, R and McEvily, A. J. 1991. Inhibition of shrimp melanosis by 4 – Hexylresorsinol. Journal Of Aquatic Food Product Technology Volume 1. Pp 53 – 65.

Otwell. W. S., Marty, R. M and Barton, L. 2004. Reduction of sulfating agents inpreventing shrimp melanosis. Food Science and Human Nutrition Department. 6 P.

Pearson, D., 1997. Laboratory Techniques in food analysis. Butter worth. Co. LtD. England.

www.SID.ir

Archive of SID

Rackowe, R. 1992. Shrimp processing. International Marine Fisheries Company. Pp 270 – 275.

Rauf, A. 2005. Synthesis and biological studies of some Schiff base compounds and their transition metal complexes. Department of Chemistry/ Bahauddin Zakariya University Multan of Pakistan.

Rome. M, Castell, C.H., Neal, W.E., Dale, J., 1973. comparision of changes in Trimethyl Amine, Dimethy Amine and extractable protein in iced and frozen GADOID fillets.

Sarath, G., 2008. *Protease Assay Methods.* Proteolytic Enzymes, edited by R.Beynon et al, chapter 3, pp. 45-77.

Savagaon, K. A and Sreenivasan, A. 1978. Activatiopn mechanism of prephenolase in lobster and shrimp. Fish Technology. 15:49 -55.

Slattery , S. L; Williams, D. J and Torrisi, C.2009. New Modified Dipping Method Using 4-hexylresorcinol for Preventing Blackspot Formation in Prawns . Journal of aquatic food product technology Volume 18. Pp 284 – 293.

Sotelo, C.G., Rehben, H., 2000. TMAO Degrading Enzymes, pp:167-190.

Thepnuan, R., Benjakul, S and Visessanquan. 2008. Effect of pyrophosphate and 4-hexylresorcinol pretreatment on quality of refrigerated white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) kept under modified atmosphere packaging. Journal Food Seience Volume 73. Pp 124 -133.

Xiong, Y.L., 1997. Protein denaturation and functionality losses. In Quality in Frozen Food (M. Erickson and Y.-C. Hung, eds.) pp. 111–140, Chapman Hall/International Thomson Publishing, New York, NY.

Yousuf Ali, M., Mahmud, Z., Abdur Rashed, M. D., Khanom, M and Golam Sarower, M. D. 2013. Post- harvest quality loss of shrimp (*Penaeus monodon*) in the value chain of southwestern region (SATKHIRA) in theBangladesh. International Journal of Scientific Knowledge.3(2): 36-44.

www.SID.ir

Archive of SID

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 11, No. 2, Summer 2015, p. 200-210

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۱، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴، ص. ۲۱۰-۲۰۰

The effects of 4- hexylresorcinol and citric acid mix treatment on qualitative variations of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during freezing period

M. Seifzadeh[1]*, A.A. Khanipour[2]

Received: 13-10-2013
Accepted: 02-07-2014

Abstract:

The effects of 4-hexylresorcinol for preventing black spots forming in whiteleg shrimps and checking chemical, bacterial and sensory qualities of cultured shrimps were evaluated. Two treatments containirg were inplemen ted immersed shrimp in a mixture of 4 - hexylresorcinol and citric acid (at a concentration of 0.15 % and 1%, respectively) for 10 minutes and without antioxidant shrimp. Qualities of samples had been evaluated by bacterial, chemical and sensory tests at a temperature of -18 °C in frozen storage for 6 months. No *Pseudomonas*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* and hydrogen disulfide-producing bacteria were observed in experimental samples. Unlike the control samples, Coliform bacteria were hot observed in experimental samples. Peroxide value, thiobarbituric acid, free fatty acids, TVB-N and trimethylamine factors showed significant differences compared to control samples. TVB-N, trimethylamine, peroxide value, moisture, content total bacterial counts and *Staphylococcus* bacterial counts factors of experimental and control samples showed significant difference during the storage period ($P<0.05$). PH and moisture factors of experimental samples showed no significant difference compared to control samples ($P>0.05$), unlike total bacterial counts, s*taphylococcus* bacterial counts, C*oliform* bacterial counts, free fatty acids, peroxide value, thiobarbituric acid, TVB-N and trimethylamine factors. Sensory factors including color (melanosis) of experimental shrimp had better qualities than control samples. Sensory quality, melanosis and shelf life of experimental samples showed significant difference compared to control samples ($P<0.05$). black spot washot formed in the experimental treatments till the end of the storage period but melanosis was formed in the control samples in less than a month being kept in frozen storage.

Key words: Whiteleg shrimp, black spot, antioxidant, 4 - hexylresorcinol, protease, being kept in frozen storage

1,2- Ph.D student and Associate professor, Research institute for Aquaculture national water, Iran
(* - Corresponding Author Email: m_seifzadeh_Id@yahoo.com)

www.SID.ir