Archive of SID

مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال ششم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۰، صفحات ۲۰-۱۱

اثرات ضداکسیداسیونی و ضد باکتریایی پوشش آلژینات سدیم به همراه اسانس آویشن بر فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگهداری شده در یخچال

علی حمزه[۱]، مسعود رضائی[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس
۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس
پست الکترونیکی: rezai_ma@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۱ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۱۴

چکیده

سابقه و هدف: ماهیان به خاطر داشتن اسیدهای چرب غیراشباع و پروتئین با کیفیت بالا نسبت به فساد حساسیت زیادی دارند. به همین دلیل، استفاده از مواد نگهدارنده برای جلوگیری یا به تعویق انداختن فساد در آن‌ها طی نگهداری ضرورت پیدا می‌کند. آلژینات سدیم از مواد طبیعیِ دارای خواص ضداکسیداسیونی است و برای تقویت خواص ضد باکتریایی آن می‌توان اسانس دارای خواص ضد باکتریایی به آن افزود. بنابراین در این تحقیق، از پوشش زیستی آلژینات سدیمِ غنی شده با اسانس آویشن برای نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده شد.

مواد و روش‌ها: محلول ۳٪ آلژینات سدیم و آلژینات سدیم حاوی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد اسانس آویشن به منظور دستیابی به بهترین درصد مؤثر اسانس تهیه شد. تیمارهای کنترل (بدون پوشش)، آلژینات سدیم و آلژینات سدیم حاوی درصدهای متفاوت اسانس آویشن به صورت دوره‌ای تحت آزمایش‌های میکروبی شامل شمارش کلی باکتری‌های هوازی (TVC) و باکتری‌های سرماگرا (PTC)، آزمایش‌های اکسیداسیون شامل شاخص پراکسید (PV)، شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBA) و اسیدهای چرب آزاد (FFA) قرار گرفتند.

یافته‌ها: براساس نتایج آماری، مقادیر شاخص‌های اکسیداسیون و باکتریایی تیمارهای مختلف آلژینات سدیم و آلژینات سدیم حاوی اسانس آویشن در مقایسه با تیمار نمونه شاهد، تغییرات کمتری طی مدت نگهداری نشان دادند. مقادیر PV، FFA، TVC و PTC در تیمار آلژینات سدیم حاوی ۱ و ۱/۵ درصد اسانس آویشن تغییرات کمتری نسبت به بقیه تیمارها پیدا کرد ($p<0/05$) و اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار (۱٪ و ۱/۵٪) مشاهده نشد ($p>0/05$). کمترین تغییرات TBA به تیمار آلژینات سدیم حاوی ۱/۵درصد اسانس آویشن مربوط بود ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که پوشش آلژینات سدیم حاوی اسانس آویشن در کاهش اکسیداسیون و رشد باکتری‌های فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی نگهداری در شرایط سرد ($4\pm1^{o}C$) مؤثر است.

واژگان کلیدی: آلژینات سدیم، اسانس آویشن، قزل‌آلای رنگین‌کمان، ماندگاری

• مقدمه

ماهیان از غذاهای بسیار فسادپذیر هستند و نسبت به سایر غذاهای گوشتی سریع‌تر فاسد می‌شوند (۲، ۱). فساد ماهی را می‌توان به دو دسته کلی فساد باکتریایی و شیمیایی (اتولیتیک) طبقه‌بندی کرد (۳). فساد میکروبی یا شیمیایی باعث کاهش کیفی پروتئین‌ها و اسیدهای چرب غیراشباع ماهیان می‌شوند. به منظور کنترل یا کاهش این تغییرات در ماهیان از روش‌های نگهداری سرد و انجماد استفاده می‌شود. هر چند، این روش‌ها به طور کامل نمی‌توانند مانع فساد میکروبی یا شیمیایی شوند (۲). بنابراین، به منظور حفظ کیفیت مطلوب و افزایش عمر ماندگاری، نگهدارنده‌های مصنوعی مانند بوتیل‌هیدروکسی آنیزول (BHA) و بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) به مواد غذایی اضافه می‌شوند (۵، ۴، ۲) که اثرات مضر آن‌ها بیشتر از اثرات مفیدشان است (۲). در سال‌های اخیر، مطالعات متعددی در مورد استفاده از مواد طبیعی برای حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری ماهیان صورت گرفته است. مواد قابل تجزیه زیستی مانند پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها می‌توانند

www.SID.ir

Archive of SID

برای پوشش فیله‌های ماهی جهت جلوگیری از تغییرات کیفی طی نگهداری انجماد به کار روند (۵).

تا کنون، تشکیل فیلم و ویژگی‌های آن در مورد پلی ساکاریدهایی مثل نشاسته و مشتقات آن، صمغ‌های گوناگون میکروبی و گیاهی، کیتوزان، پکتین‌ها و آلژینات بررسی شده است. آلژینات از جلبک‌های قهوه‌ای phaephyceae به دست می‌آید و مانند نشاسته و سلولز، یک پلی ساکارید است که ۱۰۰۰ تا ۳۰۰۰ عدد واحدهای ساختمانی مرتبط به هم دو بخش نسبتاً سخت و نسبتا منعطف آن را تشکیل می‌دهند (۶).

قابلیت تشکیل ژل، افزایش استحکام بافت‌ها، پایدار کنندگی و قابلیت تشکیل فیلم از خواص کاربردی آلژینات است. وقتی لایه نازکی از ژل یا محلول آلژینات خشک شود، فیلم یا پوششی تشکیل می‌شود که می‌تواند باعث حفظ ظرفیت نگهداری آب، محافظت در برابر فساد میکروبی و مقاومت در برابر اکسیداسیون شود (۶). توانایی بالای آلژینات در تشکیل فیلم امکان استفاده از آن را به عنوان یک پوشش غذایی مناسب فراهم کرده است. البته، حضور و همراهی ترکیبات ضد باکتریایی و ضد اکسیداسیونی، زمینه افزایش خواص نگهداری آن را ایجاد می‌کنند.

به طور کلی، ترکیبات ضد میکروبی موجود در مواد غذایی می‌توانند عمر ماندگاری آن‌ها را افزایش دهند. استفاده از اسانس‌های گیاهی به جای نگهدارنده‌های شیمیایی نگرانی‌های ناشی از مصرف این گونه مواد را کاهش می‌دهد و از آنجا که این نگهدارنده‌ها (مانند BHA و BHT) دارای اثرات مضری همچون احتمال خطرات قلبی و بروز مشکلات معده هستند جایگزینی آن‌ها با نگهدارنده‌های طبیعی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۲، ۷).

اسانس‌های گیاهی و ترکیبات آن‌ها از زمان‌های قدیم به عنوان مواد طعم‌دهنده مورد استفاده قرار می‌گرفتند و هم اکنون ثابت شده است که این مواد طیف وسیعی فعالیت‌های ضد میکروبی دارند. ترکیب، ساختار و گروه‌های عاملی اسانس‌ها نقش مهمی در فعالیت ضد میکروبی آن‌ها ایفا می‌کند و معمولاً ترکیباتی که دارای گروه‌های فنولی هستند، تأثیر بیشتری دارند (۷). عوامل ضد میکروبی وقتی به فیلم‌های خوراکی اضافه می‌شوند، به آهستگی به سطح مواد غذایی رها می‌شوند بنابراین، در مدت زمان طولانی و در غلظت بالا روی مواد غذایی باقی می‌مانند (۵).

در بین اسانس‌ها، اسانس آویشن به طور افزاینده‌ای مورد علاقه محققان و عمل آورندگان غذا، به عنوان یک عامل ضداکسیداسیونی و ضدمیکروبی طبیعی قرار گرفته است (۸). آویشن حاوی مقادیر زیادی ترکیبات فنولی از جمله کارواکرول (Carvacrol)، تیمول (Thymol)، P-cymene و γ-Terpienene است. اثر ضداکسیداسیونی و ضدمیکروبی اسانس آویشن در محصولات غذایی متعددی مثل غذاهای دریایی، گوشت خوک، گوشت پخته شده گاو و جوجه و سبزیجات بررسی شده است (۸).

فراوانی مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دهه اخیر سبب شده است تا در برخی مناطق تولید قزل‌آلا به حالت اشباع برسد. قزل‌آلای رنگین‌کمان مانند سایر گونه‌های ماهیان چرب به طور ویژه‌ای به تغییرات اکسیداسیون و فساد کیفی طی مدت نگهداری حساس است. با توجه به تغییرات کیفی ماهیان در هنگام نگهداری به روش سرد و مشکلات استفاده از نگهدارنده‌های مصنوعی، کاربرد مواد طبیعی که قابلیت تجزیه هم دارند، در حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری ضرورت می‌یابد. در این راستا نظر به فراوانی تولید و عرضه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در کشور، این ماهی به عنوان گونه مورد مطالعه انتخاب شد و اثرات ترکیب پوشش آلژیناتی با آویشن در نگهداری این ماهی مورد ارزیابی قرار گرفت.

• مواد و روش‌ها

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به وزن ۲۵±۴۵۰ گرم به صورت زنده از یکی از استخرهای پرورشی شهرستان نور خریداری شد و همراه با یخ و به آزمایشگاه *دانشکده علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس* منتقل شدند. پس از سرزنی، تخلیه امعا و احشا و استخوان‌گیری ماهیان، از هر ماهی ۲ فیله به وزن ۱۰±۱۰۰ گرم برای انجام تیمارهای مختلف آماده شد. برای تهیه پوشش خوراکی از آلژینات سدیم تجاری (Sigma A2033) استفاده شد. محلول آلژینات سدیم از طریق انحلال ۳۰ گرم پودر آلژینات سدیم در ۱ لیتر آب مقطر (محلول ۳٪ آلژینات سدیم) و همچنین محلول آلژینات سدیم حاوی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد آویشن (تهیه شده از شرکت باریج اسانس، کاشان) همراه با هم زدن و گرمای ملایم (۵±۵۵ درجه سانتی‌گراد) تهیه شد (۹). از آنجا که پوشش آلژینات سدیم شکننده است ۲٪

www.SID.ir

Archive of SID

گلیسرول (شرکت مرک، آلمان) نیز به عنوان پلاستی سایزر به محلول اضافه شد (۱۰). همزمان محلول ۲٪ کلرید کلسیم (شرکت مرک، آلمان) هم تهیه شد. فیله‌ها به مدت ۱ دقیقه در محلول‌ها در دمای اتاق غوطه‌ور شدند، سپس آن‌ها را از محلول خارج نموده و به مدت ۳۰ ثانیه اجازه داده شد تا آب چک انجام شود و بعد از آن به مدت ۳۰ ثانیه در محلول ۲٪ کلرید کلسیم در دمای اتاق غوطه ور شدند تا پیوند متقاطع در پوشش القا شود (۱۱). نمونه‌ها به مدت ۲۰ روز در یخچال قرار گرفتند و به صورت دوره ای (هر ۵ روز) تحت آزمایش‌های میکروبی شامل شمارش کلی باکتری‌های هوازی (TVC) و باکتری‌های سرماگرا (PTC)، آزمایش‌های اکسیداسیون شامل شاخص پراکسید (PV)، شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBA) و اسیدهای چرب آزاد (FFA) قرار گرفتند.

برای آزمایشات میکروبی ۱۰ گرم از نمونه بخش درونی گوشت فیله در ۹۰cc محلول ۰/۸۵ درصد NaCl مخلوط و هموژن شد. سپس رقت‌های مورد نیاز تهیه شد و 1cc از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت در محیط پلیت کانت آگار (PCA) قرار گرفت. نمونه‌های کشت داده شده در انکوباتور ۳۷°C به مدت ۴۸ ساعت برای شمارش کل باکتری‌ها و در انکوباتور ۷°C به مدت ۱۰ روز برای شناسایی باکتری‌های سرماگرا قرار گرفتند. پس از طی مدت انکوباسیون، کلونی‌ها شمارش شدند (۱۳، ۱۲).

در آزمایشات اکسیداسیون، برای اندازه‌گیری پراکسید ۲۰cc از فاز پایینی دکانتوری که از آن جهت استخراج چربی ماهی استفاده می‌شد، به دقت به ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری سر سمباده‌ای منتقل شد و حدود ۲۵cc محلول اسیداستیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۲: ۳) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۰/۵cc از محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰cc از آب مقطر و ۰/۵cc محلول نشاسته ۱٪ به مجموعه افزوده شد و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر شد(۱۴).

مقدار تیوباربیتوریک اسید نمونه به روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه چرخ شده ماهی به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری انتقال یافت و سپس با ۱- بوتانل به حجم رسانده شد. 5cc از مخلوط فوق به لوله‌های خشک دردار ریخته شد و به آن 5cc معرف TBA افزوده شد (معرفTBA به وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی‌گرم از TBA در ۱۰۰cc حلال ۱- بوتانل پس از فیلتر شدن به دست می‌آید). لوله‌های دردار در حمام آب با دمای ۹۵°C به مدت ۲ ساعت قرار گرفتند و پس از آن در دمای محیط سرد شدند. سپس مقدار جذب (As) در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد (۱۴).

برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد ۲۵ cc الکل اتیلیک خنثی شده به وسیله سود نرمال، به نمونه روغن اضافه شد. سپس در مراحل بعدی با کمک ۲ تا ۳ قطره معرف فنل فتالئین و میزان مصرفی سود نرمال مقدار اسیدیته بر حسب درصد اسید اولئیک مشخص شد(۱۴).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار $SPSS_{16}$ انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف_اسمیرنوف (Kolomogorav – Smirnov) و سپس همگنی واریانس داده‌ها با آزمون لون (Leven) بررسی شد. نتایج این آزمون‌ها جهت آنالیز آماری داده‌های مربوط به تیمارهای آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. جهت بررسی تأثیر همزمان دو عامل زمان و پوشش خوراکی بر شاخص-های شیمیایی و میکروبی در تیمارهای مورد نظر و بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ بین مقادیر حاصل از هر شاخص در زمان‌های صفر ، ۵ ، ۱۰ ، ۱۵ و ۲۰ روز نگهداری از روش تجزیه واریانس دو طرفه استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار شناخته شد، آزمون دانکن به کار رفت. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد Ho میزان ۵٪ در نظر گرفته شد (۱۵).

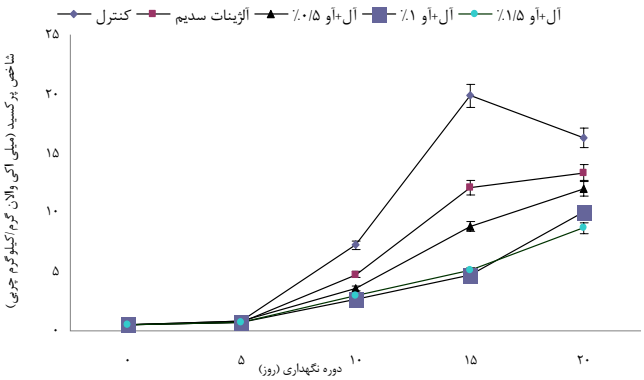
• یافته‌ها

نتایج عدد پراکسید (PV) : نتایج پراکسید در تیمارهای مختلف و در طی روزهای نگهداری در نمودار ۱ مشاهده می‌شود. نتایج آنالیز آماری حاکی از وجود اثر متقابل معنی‌دار بین زمان و تیمارهای دارای پوشش بود. به همین خاطر، مقایسه میانگین‌ها در تیمارهای مختلف طی مدت نگهداری به صورت مجزا صورت گرفت. به طور کلی، نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها به این صورت است که با توجه به نمودار ۱ با گذشت زمان مقادیر PV در همه تیمارها طی مدت نگهداری افزایش یافت؛ ولی این افزایش در تیمار شاهد با شدت بیشتری همراه بود به طوری که در روز ۱۵ دارای بیشترین مقدار (۱۹/۸۳±۱/۳meq/kg) بود و پس از آن در انتهای دوره کاهش یافت. مقایسه تیمارهای مختلف با یکدیگر نشان داد که تیمارهای دارای پوشش آلژینات سدیم حاوی ۱٪ و ۱/۵٪ اسانس آویشن کمترین مقدار

www.SID.ir

Archive of SID

پراکسید را داشتند که با وجود اختلاف جزئی بین این دو تیمار، اختلاف معنی‌داری در کل طول دوره نگهداری مشاهده نشد.

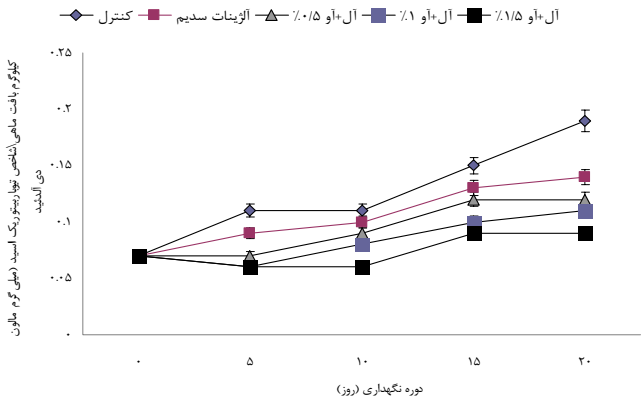


نمودار ۱- مقادیر عدد پراکسید (PV) برای تیمارهای مختلف

برای کلیه نمودارها:

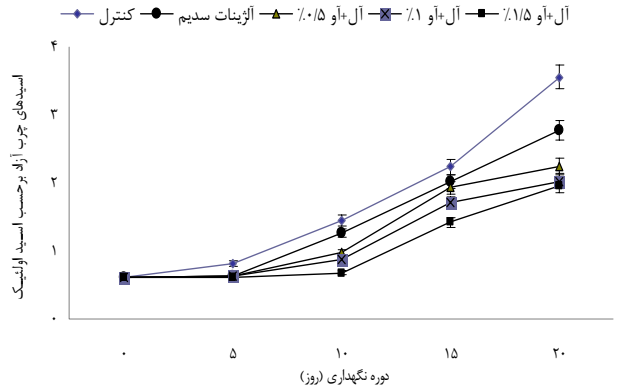
میانگین ± اشتباه معیار (Mean ± Standard Error of Mean; n=3)

نتایج عدد تیوبار بیتوریک اسید (TBA): نتایج اندازه‌گیری TBA در تیمارهای مختلف و طی روزهای نگهداری در نمودار ۲ مشاهده می‌شود. نتایج آنالیز آماری مقادیر عدد تیوباربیتوریک اسید حاکی از آن بود که اثر پوشش‌ها و اثر زمان و اثر متقابل هر سه معنی‌دار بودند ($p<0/05$). با گذشت زمان در همه تیمارها میزان عدد تیوباربیتوریک اسید افزایش یافت، به طوری‌که این افزایش در تیمار کنترل با شدت بیشتری همراه بود ($p<0/05$). مقایسه بین تیمارهای مختلف طی مدت نگهداری نشان داد که روند افزایش در تیمار آلژینات سدیم حاوی ۱/۵٪ اسانس آویشن نسبت به تیمارهای دیگر کندتر بود به طوری که این روند در انتهای دوره با دیگر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<0/05$).



نمودار ۲- مقادیر تیوبار بیتوریک اسید (TBA) برای تیمارهای مختلف

نتایج عدد اسیدهای چرب آزاد (FFA) : نتایج اندازه‌گیری FFA آزاد طی دوره نگهداری و در تیمارهای مختلف در نمودار ۳ مشاهده می‌شود. با گذشت زمان در تمامی تیمارها مقدار FFA آزاد افزایش یافت، ولی این افزایش در تیمار کنترل، سریع‌تر از سایر تیمارها بود. کمترین مقدار اسیدهای چرب آزاد مربوط به تیمار دارای پوشش آلژینات سدیم حاوی اسانس آویشن بود. اگرچه پوشش آلژینات سدیم حاوی ۱/۵٪ اسانس آویشن کمترین مقدار اسید چرب آزاد را داشت، اما در انتهای دوره اختلاف معنی‌داری با تیمار آلژینات سدیم حاوی ۱٪ اسانس آویشن نداشت.



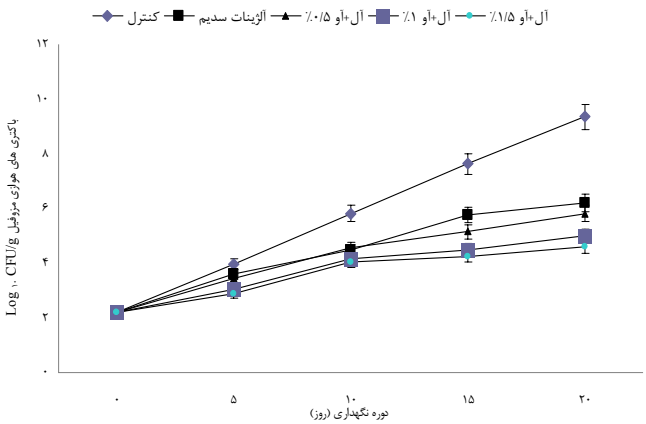
نمودار ۳- مقادیر اسیدهای چرب آزاد (FFA) برای تیمارهای مختلف

یافته‌های میکروبی

نتایج باکتری‌های هوازی مزوفیل (TVC): نتایج باکتری‌های هوازی مزوفیل در شکل ۴ آورده شده است. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با گذشت زمان در همه تیمارها شمارش کل باکتری افزایش یافته است. البته، این افزایش در تیمار شاهد شدیدتر بود، به طوری که در انتهای دوره، بیشترین بار باکتریایی (۹/۳۵±۰/۲۹) را داشت. مقایسه بین تیمارها نشان داد که تیمار آلژینات سدیم حاوی ۱٪ و ۱/۵٪ اسانس آویشن نسبت به بقیه تیمارها روند افزایش کندتری از خود نشان داد ($p<0/05$). با اینکه تیمار آلژینات سدیم حاوی ۱/۵٪ اسانس آویشن در انتهای دوره دارای کمترین مقدار بار باکتریایی بود، اما بار باکتریایی آن تفاوت معنی‌داری با تیمار آلژینات سدیم حاوی ۱٪ اسانس آویشن نداشت.

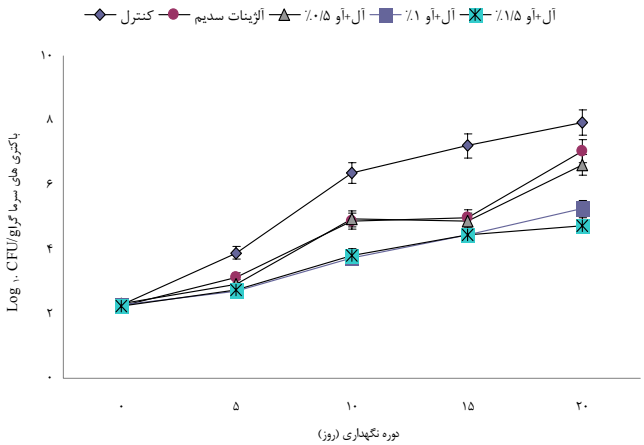
www.SID.ir

Archive of SID



نمودار۴- مقادیر شمارش کل باکتری برای تیمارهای مختلف

نتایج باکتری‌های سرماگرا (PVC) : نتایج باکتری‌های سرماگرا در شکل ۵ نشان داده شده است. نتایج آنالیز آماری داده‌ها حاکی از معنی‌دار بودن ($p<0/05$) اثر پوشش‌ها و اثر زمان و اثر متقابل بین زمان و پوشش‌ها بود. با گذشت زمان در همه تیمارها به صورت کلی مقادیر باکتری‌های سرماگرا افزایش یافت. البته، این افزایش در تیمار شاهد شدیدتر بود. به طوری‌که در انتهای دوره، بیشترین بار باکتریایی (۰/۳۸±۷/۹۳) را داشت. مقایسه بین تیمارها نیز نشان داد که تیمار آلژینات سدیم حاوی ۱٪ و ۱/۵٪ اسانس آویشن نسبت به بقیه تیمارها به صورت معنی‌داری دارای بار باکتریایی کمتری را داشتند ($p<0/05$). تیمار آلژینات سدیم حاوی ۱/۵٪ اسانس آویشن در انتهای دوره دارای کمترین مقدار باکتری‌های سرماگرا بود، اما بار باکتریایی آن تفاوت معنی‌داری با تیمار آلژینات سدیم حاوی ۱٪ اسانس آویشن نداشت ($p>0/05$).



نمودار ۵- مقادیر باکتریهای سرماگرا برای تیمارهای مختلف

• بحث

میزان پراکسید (PV): اکسیداسیون چربی یک مشکل اصلی در غذاهای دریایی به ویژه غذاهای با چربی بالا است که به ایجاد بو و طعم نامطلوب منجر می‌شود (۱۲، ۸). در مرحله اول اکسیداسیون، به دلیل اتصال اکسیژن به پیوند دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع، پراکسیدها تشکیل می‌شوند. هیدرو پراکسید، محصول اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب چند غیر اشباعی (PUFA) است به همین خاطر، اکسیداسیون اولیه چربی با استفاده از اندازه‌گیری میزان پراکسید ارزیابی می‌شود (۱۶). از آنجا که پراکسیدها ترکیباتی بدون طعم و بو هستند، نمی‌توانند به وسیله مصرف کنندگان تشخیص داده شوند. ولی این ترکیبات باعث به وجود آمدن ترکیبات ثانویه مثل آلدئیدها و کتون‌ها می‌شوند که سبب تشخیص تند شدن اکسیداسیونی می‌شوند (۱۷). همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، میزان اولیه پراکسید حدود ۰/۵۴ میلی‌اکی‌والان گرم O_2 در کیلوگرم چربی بود که طی دوره نگهداری برای همه تیمارها افزایش یافت. این افزایش در تیمار شاهد شدت بیشتری داشت، به طوری که بیشترین مقدار آن در روز ۱۵ بود و پس از آن در انتهای دوره کاهش یافت. کاهش میزان پراکسید برای تیمار شاهد در انتهای دوره را می‌توان به تجزیه پراکسیدها به ترکیبات ثانویه مربوط دانست (۱۹، ۱۸). کمترین میزان پراکسید در انتهای دوره به تیمار آلژینات سدیم حاوی ۱/۵٪ اسانس آویشن مربوط بود که دلیل آن را می‌توان به خواص آنتی اکسیدانی آلژینات سدیم و اسانس آویشن و اثر هم افزایی (synergist) آن‌ها ربط داد.

میزان تیوباربیتوریک اسید (TBA): تیوباربیتوریک اسید به طور گسترده به عنوان شاخص نشان‌دهنده میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد و ناشی از وجود مواد واکنش دهنده با TBA حاصل از مرحله دوم اتواکسیداسیون است که طی آن، پراکسیدها به موادی مثل آلدئیدها و کتون‌ها اکسید می‌شوند (۲۰). طبق گزارش *Auburg* (۱۹۹۳) در زمانی که مالونوآلدئیدها بتوانند با سایر ترکیبات بدن ماهی واکنش انجام بدهند، مقدار TBA ممکن است نشان دهنده درجه واقعی اکسید شدن چربی‌ها نباشد(۲۱). چنین ترکیباتی می‌توانند شامل آمین‌ها، نوکلئوتیدها و اسید نوکلئیک، پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و

www.SID.ir

Archive of SID

دیگرآلدئیدهای تولیدی در پایان اکسیداسیون چربی باشند. چنین رویکردی در بسیاری از ماهیان دیده شده است (۲۲، ۱۹). افزایش مقدار TBA طی نگهداری در یخ ممکن است ناشی از دهیدروژنه شدن جزئی بافت ماهی و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع نیز باشد.

همان طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، میزان TBA برای کلیه تیمارها در کل دوره نگهداری پایین بود که با نتایج مطالعه *Rezaei* و *Hosseini* (۲۰۰۸) و *Ozogul* و همکاران (۲۰۰۵) روی مار ماهی اروپایی همخوانی دارد (۲۳، ۱۹). تغییرات معنی‌دار برای تیمار شاهد و تیمار حاوی پوشش آلژینات سدیم از روز ۵ شروع شد. میزان TBA در تیمار آلژینات سدیم حاوی ۱/۵ ٪ اسانس آویشن در انتهای دوره به طور معنی‌داری کمتر از بقیه تیمارها بود (P< ۰/۰۵).

افزایش میزان TBA تیمارها در طول دوره را می‌توان به اکسیداسیون لیپید و تولید متابولیت‌های فرار در حضور اکسیژن مربوط دانست (۲۴). کم بودن TBA در تیمار حاوی پوشش آلژینات سدیم را می‌توان به ممانعت پوشش از نفوذ اکسیژن ربط داد (۲۲، ۹). اما کم بودن TBA برای تیمار آلژینات سدیم حاوی اسانس آویشن را می‌توان به اثر آنتی‌اکسیداسیونی اسانس و همچنین اثر هم افزایی (synergistic) پوشش آلژینات سدیم و اسانس آویشن مربوط دانست (۸). نتایج این تحقیق مطابق نتایج تحقیقات *Kostaki* و همکاران (۲۰۰۹)، *Lu* و همکاران (۲۰۰۸)، *Chidanandaiah* و همکاران (۲۰۰۷) و *Yu* و همکاران (۲۰۰۷) است.

نتایج PV و TBA نشان می‌دهد که این پوشش‌ها دارای اثر آنتی اکسیدانی هستند و پوشش آلژینات سدیم حاوی اسانس آویشن دارای اثر انتی اکسیدانی بیشتری نسبت به پوشش آلژینات سدیم دارد.

میزان اسیدهای چرب آزاد (FFA): با اینکه تشکیل FFA به تنهایی باعث کاهش ارزش تغذیه‌ای نمی‌شود، اما ارزیابی آن در بررسی فساد ماهی مهم است (۲۶، ۲۵). این موضوع به علت اثر پراکسیدانی FFA بر مواد لیپیدی بیان شده است و بر پایه اثر کاتالیزی گروه کربوکسیل بر تشکیل رادیکال‌های آزاد به دلیل تجزیه هیدروپراکسید است. به علاوه، FFA در مقایسه با ملکول‌های‌ای چربی بزرگ‌تر (یعنی تری‌گلیسرید و فسفولیپید) کوچک‌تر و سرعت اکسیداسیون آن بیشتر است (۲۶، ۲۵).

براساس نتایج به دست آمده (شکل ۳) میزان اسیدهای چرب آزاد با گذشت زمان در همه تیمارها افزایش یافت که این افزایش در تیمار شاهد شدت بیشتری داشت. در مقایسه تیمارها طی گذشت زمان تا روز ۱۰ اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد (P>۰/۰۵). کمترین میزان FFA در طول دوره به تیمارهای آلژینات سدیم حاوی ۱٪ و ۱/۵ ٪ اسانس آویشن مربوط بود. البته FFA در تیمار آلژینات سدیم حاوی ۱/۵ ٪ اسانس آویشن کمتر از تیمار حاوی ۱ ٪ اسانس بود، اما این اختلاف معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). این موضوع نشان می‌دهد که دو سطح ذکر شده از لحاظ تأثیرگذاری در روند کاهش و به تأخیر انداختن هیدرولیز چربی مشابه هم عمل کرده‌اند و اثر یکسانی دارند. در مطالعات دیگر از جمله *Kolakowska* و همکاران (۲۰۰۶) نیز طی مدت نگهداری میزان FFA افزایش یافت (۲۷). در مطالعه *Rezaei* و همکاران (۲۰۰۸) طی مدت ۲۰ روز نگهداری قزل‌آلای رنگین‌کمان به طور معنی‌داری افزایش یافت(۲۸). شکل‌گیری FFA طی نگهداری کوتاه مدت به علت کاتالیز شدن چربی‌ها توسط آنزیم‌های داخلی(عمدتاً لیپاز و فسفولیپاز) صورت می‌گیرد (۲۵). نتایج تحقیق حاضر با نتایج مطالعات ذکر شده مطابقت دارد.

میزان باکتری‌های هوازی مزوفیل (TVC): با اینکه بار میکروبی اولیه ماهیان آب شیرین متفاوت است و به عواملی مثل وضعیت آب و دمای محیط پرورش بستگی دارد (۲۲). شمار بالایی از بار میکروبی می‌تواند در محصول خام پیدا شود که وابسته به شرایط نگهداری و دستکاری است (۳۰). *Pseudomonas- Moraxella- Aeromonas* مهم‌ترین گروه‌های باکتریایی هستند که از گوشت خام قزل‌آلا جدا شده‌اند (۳۰).

همان طور که در نمودار ۴ مشاهده می‌شود، بار کل باکتریایی در ابتدای دوره برای تمامی تیمارها کمتر از $^{log\ cfu/g}$ ۴ بود که این تعداد، نشان دهنده کیفیت خوب فیله‌های مورد استفاده بود (۱۲). میزان مجاز شمار کل باکتری برای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان $^{log\ cfu/g}$ ۷ پیشنهاد شده است. در ۱۰ روز اول نگهداری، فیله‌های موجود در هر تیمار دارای بار کل باکتریایی کمتر از $^{log\ cfu/g}$ ۷ بودند، در حالی که بعد از آن میزان بار کل باکتریایی فیله‌های کنترل به $^{log\ cfu/g}$ ۷/۶۳ رسید که فراتر از حد مجاز تعیین شده ($^{logcfu/g}$۷) بود. گزارش‌های متفاوتی

www.SID.ir

Archive of SID

در مورد زمان رسیدن بار کل در فیله ماهیان به حد مجاز وجود دارد. *Kostaki* و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که بار کل باکتریایی فیله ماهی seabass (*Dicentrarchus labrax*) طی ۷ روز نگهداری در دمای ۴°C به بیش از ۷ $^{\log cfu/g}$ رسید. *Ojagh* و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که بار کل باکتریایی در فیله ماهی قزل‌آلا طی ۱۲ روز نگهداری از حد مجاز بیشتر شد. *Kykkidou* و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که بار کل باکتریایی در فیله ماهی Swordfish مدیترانه‌ای طی ۶ روز نگهداری در دمای ۴°C به بالاتر از ۷ $^{\log cfu/g}$ رسید (۳۱، ۱۳، ۸). مطابق شکل ۴ میزان بار کل باکتری برای همه تیمارها با توجه به زمان افزایش یافت. این افزایش در تیمار کنترل، شدت بیشتری داشت و بیشترین میزان آن در انتهای دوره بود (۰/۲۵± ۹/۳۵). کمترین میزان بار کل باکتری مربوط به تیمارهای آلژینات سدیم حاوی ۱٪ و ۱/۵ ٪ اسانس آویشن بود. این دو تیمار در کل دوره نگهداری با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند که این مطلب نشان می‌دهد که دو سطح ذکر شده از لحاظ تأثیر بر روند کاهش بار کل باکتری مشابه هم عمل کرده‌اند.

افزایش بار کل باکتری برای هر تیمار در طول دوره نگهداری به میزان دستکاری، میزان رعایت اصول بهداشتی در روش‌های عمل آوری و میزان اولیه باکتری بستگی دارد (۲۴). کمتر بودن میزان بار باکتری در تیمارهای دارای پوشش نشان می‌دهد که پوشش آلژینات سدیم در کاهش بار کل باکتری نقش مؤثری دارد (۳۳، ۳۱، ۲۴). نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات *Chidanandaiah* و همکاران (۲۰۰۷)، *El-Ebzary* و همکاران (۱۹۸۱) و *Lazarus* (۱۹۷۷) مطابقت داشت که این افراد به ترتیب کاهش معنی‌داری را در میزان بار کل باکتری در کلوچه‌های گوشتی پوشیده شده با آلژینات سدیم طی نگهداری در دمای ۴°C ، گوشت بوفالو دارای پوشش آلژینات سدیم و گوشت بره پوشیده شده با آلژینات سدیم را گزارش کردند.

کمتر بودن بار کل باکتری در تیمارهای دارای پوشش آلژینات سدیم حاوی اسانس آویشن را می‌توان علاوه بر اثر پوشش آلژینات سدیم به خاطر اثر اسانس آویشن هم دانست. فعالیت ضد میکروبی اسانس آویشن ناشی از وجود دو ترکیب تیمول و کارواکرول است. چنین ترکیباتی می‌توانند اثر هم‌افزا داشته باشند. تیمول و کارواکرول از لحاظ ساختاری بسیار شبیه هم هستند و در مکان‌های مختلفی از حلقه فنولی خود گروه هیدروکسیل دارند (۳۴). کارواکرول و تیمول غشای خارجی میکروارگانیسم‌ها را تخریب می‌کنند و سبب خروج لیپوساکاریدها و افزایش نفوذ پذیری غشای سیتوپلاسمی به ATP می‌شوند. خروج ATP منجر به تمام شدن ذخیره انرژی سلول و مرگ آن می‌شود (۳۴، ۷).

میزان باکتری‌های سرما گرا (PTC): باکتری‌های هوازی از قبیل گونه‌های *Pesudomonas* جزء گروه‌های باکتریایی غالب در گوشت قزل‌آلای رنگین کمان هستند که به طور گسترده‌ای به فساد گوشت نگهداری شده در شرایط هوازی کمک می‌کنند (۳۰). بار باکتریایی مجاز برای باکتری‌های سرماگرا هوازی log cfu/g ۷ گزارش شده است (۳۵). این باکتری‌ها و عمدتاً گونه‌های سودوموناس آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز تولید می‌کنند که سبب افزایش FFA می‌شوند (۳۱). باکتری‌های سرماگرای گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیسم‌های مولد فساد در فیله‌های در شرایط هوازی و در دمای سرد می‌باشند (۳۷، ۳۶، ۱۳، ۱۲).

مطابق نمودار ۵، تعداد باکتری‌های سرماگرا با توجه به افزایش زمان نگهداری افزایش یافت. به طوری که در انتهای دوره در تیمارهای کنترل و آلژینات سدیم از log cfu/g ۷ که حد مجاز آن است، فراتر رفت. اما تیمارهای آلژینات سدیم حاوی درصدهای مختلف اسانس آویشن دارای بار کمتری بودند و با وجود اختلاف جزئی، اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند که اثر مشابه آن‌ها را در بازدارندگی از رشد باکتری‌های سرما گرا نشان می‌دهد. نتایج این تحقیق مطابق با نتایج تحقیقات *Chidanandaiah* و همکاران (۲۰۰۷)، *El-Ebzary* و همکاران (۱۹۸۱) و *Lazarus* (۱۹۷۷) بود که کاهش معنی‌داری را در کلوچه‌های گوشتی، گوشت بوفالو و بره پوشیده شده با آلژینات سدیم گزارش کردند. کم بودن بار باکتری سرما دوست را نیز می‌توان به اثر آلژینات سدیم و اسانس آویشن به خاطر داشتن تیمول و کارواکرول و همچنین هم افزایی این دو (آلژینات سدیم و اسانس آویشن) مربوط دانست (۳۴، ۷).

تجزیه و تحلیل داده‌های این تحقیق نشان داد که اضافه شدن اسانس آویشن به پوشش آلژینات سدیم باعث افزایش خواص ضدمیکروبی و ضداکسیداسیونی پوشش شده است، به طوری که روند فساد میکروبی و اکسیداسیونی در فیله‌های دارای پوشش را به طور معنی‌داری به تعویق انداخته است.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Rezaei M, Montazeri N, Langrudi H E, Mokhayer B, Parviz M, Nazarinia A. The biogenic amines and bacterial changes of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored in ice. J Food Chem 2007; 103: 150-4.
2. 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. J. Food Chem. 2009; 115: 66-70.
3. Mukundan MK, Antony PD, Nair MR. A review on autolysis in fish. J Fish Res 1986; 4*:* 259-269.
4. Jeon YJ, Kamil JYVA, Shahidi F. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of Herring and Atlantic Cod. J Agric Food Chem 2002; 50: 5167-78.
5. Sathivel S. Chitosan and protein coatings affect yield, moisture loss, and lipid oxidation of Pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) Fillets during frozen storage. J Food Sci 2005; 70(8):455-9.
6. Cho SS, Dreher ML. Handbook of dietary fiber. New York, 3. Spiller GA, ed. CRC Press; 2001.
7. Hosseini MH, Razavi SH, Mousavi MA. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. J Food Process Pres 2008; 33: 727-43.
8. Kostaki M, Giatrakou V, Savvaidis I N, Kontominas M G. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. J Food Microbiol 2009; 26: 475-82.
9. Lu F, Liu D, Ye X, Wei Y, Liu F. Alginate–calcium coating incorporating nisin and EDTA maintains the quality of fresh northern snakehead (*Channa argus*) fillets stored at 4 °C. J Sci Food Agric 2009; 89: 848-54.
10. Rojas-Grau MA, Tapia MS, Rodrı´ guez FJ, Carmona AJ, Martin-Belloso O. Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning. J Food Hydrocolloids 2007; 21: 118-27.
11. Yu XL, Li XB, Xu XL, Zhou GH. Coating with sodium alginate and its effects on the functional properties and structure of frozen pork. J Muscle Foods 2008; 19: 333-51.
12. Ibrahim Sallam K. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. J Food Control 2007; 18 :566-75.
13. Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. J Food Chem 2010; 120: 193-8.
14. Egan H, Kirk RS, Sawyer R. Pearson's chemical analysis of food. 9th ed. Harlow, Uk. Longman Scientific and Technical Inc; 1997.p. 609-34.
15. Zar JH. Biostatistical analysis. 4th edn. New Jersey Prentice Hall International Inc;1974 . p.663.
16. Lin CC, Lin CS. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea extracts. J Food Chem 2005; 16:169-75.
17. Ozyurt G, Polat A, Tokur B. Chemical and sensory changes in frozen (-18 º C) wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) captured at different fishing seasons. J Food Sci Technol 2007; 42: 887-93.
18. Ben-Gigirey B, De Sousa JM, Villa TG, Barros-velazqez J. Chemical changes and visual appearance of albacore tuna as related to frozen storage. J Food Sci Technol 1999; 64: 20-24.
19. Rezaei M, Hosseini S. Quality assesssment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during Chilled Storage. J Food Sci 2008; 73: 93-6.
20. Lindsay RC. Flavour of fish. Procceding of the 8th World Congress of Food Science and Technology; 29th September–4October;1991, Toronto, Canada.
21. Auburg SP. interaction of malondialdehyde with biological molecules new trends about reactivity and significance. Int J Food sci Technol. 1993; 28: 323–35.
22. Chytiri S, Chouliara I, Savvaidis IN, Kontominas MG. Microbiological, Chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured Rainbow Trout. Food Microbiol 2004; 21: 157-65.
23. Ozogul Y, Ozyurt G, Ozogul F, Kuley E, Polat A. Freshness assessment of European Eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. Food Chem 2005; 92:745-51.
24. Chidanandaiah, Keshri RC, Sanyal MK. Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat paties during refrigerated (4 ± 1°C) storage. J Muscle Foods 2007; 20: 275-292
25. Losada V, Barros-Velazquez JP, Aubourg S. Rancidity development in frozen pelagic fish: influence of slurry ice as preliminary chilling treatment. LWT 2007; 40: 991-9.
26. Lugasia A, Losadab V, Hovari J, Lebovicsa V, Jakoczic I, Aubourg S. Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. LWT 2007; 40: 930-6.
27. Kolakowska A, Zienkowicz L, Domiszewski Z, Bienkiewicz G. Lipid changes and quality of whole

www.SID.ir

Archive of SID

of whole- and gutted Rainbow Trout during storage in ice. Acta Ichthyo Pisca 2006; 36: (1): 39-47.

28. Rezaei M, Hosseini SF, Ershad Langrudi H, Safari R, Hossein SV. Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J Food Chem 2008; 106: 1161-1165.

29. Gonzalez-Fandosa E, Garcia-Linares MC, Villarino-Rodrıguez A, Garcha-Arias MT, Garcıa-Fernandez MC. Evaluation of the microbiological safety and sensory quality of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) processed by the sous vide method. Food Microbiol 2004; 21: 193–201.

30. Sousa JA, Romalde JL, Ledo A, Eiras JC, Barja JL, Toranzo AE. Health status of two salmonid aquaculture facilities in North Portugal: characterization of the bacterial and viral pathogens causing notificable diseases. J. Fish Disease. 1996; 19: 83-9.

31. Kykkidou S, Giatrakou V, Papavergou A, Kontominas MG, Savvaidis IN. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4°C. J Food Chem 2009; 115: 169–75.

32. El-ebzary MM, Askar AA El-dashhouty MS, El-baki MMA. Evaluation of alginate coatings for frozen stored buffalo meat cut. Gordian 1981; 81, 287-92.

33. Lazarus CR. The development of microbial decontamination and moisture loss control procedures for beef, pork and lamb carcasses. Dissertation Abstracts International B. 1977; 37, 4890, Order No. 77-8195.

34. Sara Burt. Essential oils: their antibacterial properties and potential. J Food Microbiol 2004; 94: 223– 53.

35. Gimenez B, Roncales P, Beltran J A. Modified atmosphere packaging of filleted Rainbow Trout. J Sci Food Agric 2002; 84: 1154–59.

36. Gram L, Trolle G, Huss HH. Detection of spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20°C) temperatures. J Food Microbiol 1987; 4: 65-72.

37. Gram L, Huss HH. Microbiological spoilage of fish and fish products. J Food Microbiol 1996; 33 :121-37.

www.SID.ir

Archive of SID

Antioxidant and antibacterial effects of sodium alginate coating enriched with thyme essential oil on rainbow trout fillets during refrigerated storage

Hamzeh A[1], Rezaei M[2]*

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

*2-*Corresponding author: Associate. Prof., Dept. of Fisheries, Faculty of Marin Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran. Email: rezai_ma@modares.ac.ir*

Received 22 Nov, 2010 **Accepted 5 Mar, 2011**

Background and objectives: Fish and fish products are highly perishable foods because of their high unsaturated fatty acids and high-quality protein contents. For this reason, preservatives are used in order to prevent or delay their spoilage. Sodium alginate is a natural antioxidant, and to increase its antibacterial properties one can add essential oils with antibacterial properties. The object of this study was to determine the antioxidant and antibacterial effects of sodium alginate enriched with thyme oil on rainbow trout fillets.

Materials and methods: Solutions of sodium alginate (3%) and sodium alginate plus thyme oil (sodium alginate 3% + 0.5%, 1% and 1.5% thyme oil) were applied for coating the fish fillet samples. The control (with no coating) and the coated fish fillet samples were analyzed periodically (at 5-day intervals) to determine microbiological [(total viable (TVC) and psychrotrophic (PTC)) counts] and oxidation characteristics [(peroxide value (PV) and thiobarbituric. acid (TBA)] and free fatty acids (FFA) content.

Results: As compared with the control samples, smaller changes were observed in the bacterial and oxidative indices in the samples treated with sodium alginate and sodium alginate plus thyme oil during storage. In the samples treated with sodium alginate enriched with 1% and 1.5% thyme essential oil, the magnitudes of change in PV, FFA, TVC, and PTC were less than in the other treated samples ($p = 0.05$), and there were no statistically significant differences between the 2 treatments (i.e., 1% and 1.5% thyme oil; $p>0.05$). The smallest change in TBA was seen in the sodium alginate sample enriched with 1.5% thyme oil ($p<0.05$).

Conclusion: The results indicate that the sodium alginate coating enriched with thyme oil has the potential to reduce bacterial growth and oxidation in rainbow trout fillets during refrigerated storage (4 ± 1^0C).

Keywords: Sodium alginate, Thyme oil, Rainbow trout, Shelf-life

www.SID.ir