مطالعه اثرات ضد باکتریایی و ضد اکسیداسیونی عصاره جلبک *Chlorella vulgaris* بر کیفیت ماهی *Rainbow Trout* در دمای ٤ درجه سلسیوس

فرزانه سادات غفوری[a]، شاهرخ شعبانی[*b]، افشین آخوندزاده بستی[c]

[a] *دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران*
[b] *مربی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران*
[c] *استاد گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۳/۰۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۹/۲۰

چکیده

مقدمه: ماهیان به دلیل بالابودن میزان اسیدهای چرب چند غیراشباعی در چربی ماهی و pH خنثی از جمله غذاهای فسادپذیر به شمار می‌آیند. به این منظور از نگهدارنده‌های طبیعی برای به تاخیر افتادن فساد استفاده می‌شود. هدف از این تحقیق مطالعه اثرات ضد باکتریایی و ضد اکسیداسیونی عصاره جلبک *Chlorella vulgaris* بر کیفیت ماهی *Ranibow Trout* در دمای ۴ درجه سلسیوس بود.

مواد و روش‌ها: فیله‌های ماهی قزل آلا توسط ۴ غلظت عصاره جلبک (۰/۰،۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد) تیمار و طی ۹ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس با فاصله زمانی صفر، ۳، ۶ و ۹ روز مورد آزمایش‌های شیمیایی (تعیین میزان پراکسید، TBA، TVB-N، pH)، آزمایش‌های میکروبی (شمارش کلی میکروبی و شمارش سرمادوست‌ها) و ارزیابی حسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: براساس نتایج، میزان اکسیداسیون لیپیدها و فساد میکروبی، در ماهیان تیمار شده با عصاره جلبک بطور معنی‌داری کمتر از نمونه شاهد بود. در خصوص ارزیابی حسی بهترین کیفیت در انتهای دوره نگهداری مربوط به تیمارهای حاوی عصاره بود که اختلاف معنی‌داری با دیگر تیمارها در روز آخر داشت.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج تحقیق حاضر عصاره جلبک کلرلا ولگاریس باعث کاهش روند فساد میکروبی و اکسیداسیون در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نگهداری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس شد.

واژه‌های کلیدی: *Chlorella vulgaris، آنتی اکسیدان، ضد میکروب، عصاره، ماهی قزل آلای رنگین کمان*

[*] نویسنده مسئول مکاتبات email: shahrokhshabani2013@yahoo.com

مقدمه

مواد غذایی با توجه به ماهیتشان در طول نگهداری در معرض انواع فسادهای فیزیکی، شیمیایی و میکروبی قرار می‌گیرند. پایداری و کیفیت مواد غذایی بستگی به ترکیب شیمیایی، شرایط محیطی و تکنولوژیکی ماده غذایی دارد. از مواد غذایی فسادپذیر می‌توان به ماهی اشاره کرد و با توجه به اینکه ماهی دارای ارزش غذایی بالایی است باید تدابیری برای افزایش زمان ماندگاری آن در نظر گرفت. ماهی قزل آلا به نام انگلیسی *Rainbow trout* معروف است. گوشت این ماهی‌ها غنی از اسیدهای چرب اشباع نشده‌ای هست که وجودشان در غذای ایده‌آل، ضروری می‌باشد (Sadegi, 2001).

اکسیداسیون چربی را به عنوان یکی از دلایل اصلی کاهش کیفیت در مورد گوشت، ماهی و فرآورده‌های دریایی می‌دانند. چربی ماهیان به دلیل داشتن مقدار قابل توجهی از اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه در مقابل اکسیداسیون بسیار حساس و آسیب پذیر می‌باشد. این امر سبب ایجاد بو و طعم نامطلوب، تغییر رنگ، تغییر بافت، کاهش ظرفیت نگهداری آب، کاهش ارزش غذایی و تولید ترکیباتی که احتمالاً سمی می‌باشند، می‌شود (پاک ترمنی، ۱۳۹۳). همچنین فسادپذیری ماهیان تازه به عنوان یک محصول با میزان پروتئین بالا، بیشتر تحت تاثیر ترکیبات بیولوژیکی اتفاق می‌افتد که در این میان میکروارگانیسم‌های فاسدکننده از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند (Etemadi *et al.*, 2013).

امروزه افزایش تمایل مردم برای مصرف فرآورده‌های غذایی سالم با ماندگاری زیاد و بالا رفتن سطح آگاهی‌های آنها در مورد مسائل مرتبط با سلامتی و بیماری‌ها، باعث شده تا محققان و صنایع بر روی تولید محصولات سالم و افزایش زمان ماندگاری محصولات از لحاظ شیمیایی و میکروبی تمرکز بیشتری نمایند تا بتوانند درخواست مردم مبنی بر تولید فرآورده‌های سالم را پاسخگو باشند. از روش‌های موثر در افزایش زمان نگهداری این ماده غذایی استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی می‌باشد. در همین راستا، این تحقیق به منظور بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره جلبک کلرلا ولگاریس برگوشت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان صورت می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

- تهیه و عصاره گیری جلبک کلرلا ولگاریس

پودر جلبک کلرلا ولگاریس با نام تجاری آلگومد به همراه آنالیز ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی، میکروبی و فلزات سنگین، اندازه ذرات و دانسیته از شرکت فردای سبز ایرانیان خریداری شد. عصاره‌گیری توسط روش پرکولاسیون با حلال اتانول ۷۰٪ (نسبت پودر به حلال ۵:۱) به مدت ۷۲ ساعت به کمک شیکر (HEIDOLPH UNIMAX2010) صورت گرفت. عصاره حاصله با کاغذ صافی صاف شد و به کمک دستگاه تبخیرکننده دوار (HEIDOLPH 4001) تحت شرایط خلا تغلیظ گردید تا تمام حلال از عصاره جدا شد، سپس بازده استخراج محاسبه گردید و اسیدیته عصاره به کمک دستگاه pH متر METROHM مدل 827 pH LAB ساخت کشور سوئیس اندازه گیری گردید.

- فرآیند آماده سازی گوشت ماهی قزل آلای رنگین کمان

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با اندازه تقریبی ۲۵ سانتی‌متر از مراکز پرورش ماهی تهران خریداری شده و در مجاورت یخ به آزمایشگاه صنایع غذایی دانشگاه علوم و تحقیقات تهران انتقال یافت. ماهی‌ها در آزمایشگاه در شرایط بهداشتی شست و شو داده و تخلیه شکمی و فلس‌گیری روی آن‌ها انجام شد و به قطعات یکسان تقسیم بندی گردید و تا زمان آماده‌سازی در بسته‌بندی‌هایی از جنس پلی‌اتیلن که قبلاً استریل شده بسته‌بندی گردید (باباخانی لشگان و همکاران،۱۳۹۲).

- آماده سازی نمونه ها

فیله‌های ماهی آماده شده با روش غوطه وری با عصاره الکلی به نسبت‌های ۰/۱ ، ۰/۲ و ۰/۳ درصد تیمار تا تمامی قسمت‌های نمونه به صورت یکنواخت با عصاره جلبک آغشته شود و پس از قرار گرفتن روی صافی‌های فلزی سترون برای حذف مایع اضافی، در بسته‌های پلی‌اتیلنی استریل بسته‌بندی شدند و در دمای یخچال نگهداری گردیدند.

- آزمون های شیمیایی

- تعیین ترکیب تقریبی فیله ماهی

جهت تعیین ترکیب تقریبی فیله ابتدا کل فیله با استفاده از دستگاه خردکن خانگی چرخ شده و کاملاً همگن گردید. برای تعیین خاکستر از کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس (استاندارد ملی ایران، شماره ۷۴۴) و برای تعیین رطوبت از روش خشک کردن در آون (AOAC, 2005) استفاده گردید. اندازه گیری پروتئین کل به روش کجلدال (AOAC, 2005) با استفاده از دستگاه Inkjel مدل 1225 P ساخت کشور آلمان انجام شد. سنجش چربی به روش سوکسله (AOAC, 2005) با استفاده از حلال کلروفرم با استفاده از دستگاه Soxtec مدل 416 SE ساخت شرکت GERHARDT آلمان انجام گرفت. این آزمون ها فقط در روز صفر در سه تکرار انجام گرفتند.

- اندازه‌گیری pH

۱۰ گرم از نمونه ماهی هموژن شده را با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده و با میله شیشه‌ای کاملاً همگن نموده و pH نمونه با کمک دستگاه pH متر METROHM مدل 827 pH LAB ساخت کشور سوئیس که در pH ۴ و ۷ استاندارد شده بود تعیین شد (Garcia *et al*., 2004).

- اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

برای اندازه‌گیری میزان کل بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)، 10 گرم از نمونه گوشت ماهی چرخ شده در بالن حاوی ۲ گرم اکسید منیزیوم و ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و سنگ جوش قرار داده شد و عملیات تقطیر انجام گرفت. بخارات تقطیر شده وارد محلول ۲ درصد اسید بوریک حاوی چند قطره معرف (متیل رد و برموکرزول سبز) شده و در پایان توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتر شد مقدار مواد ازته فرار طبق رابطه ۱ محاسبه گردید (Ojagh *et al*., 2010; Goulas *et al*., 2005).

$$\%mg\ TVB-N = \frac{\text{میزان اسید} \times \text{غلظت اسید} \times 14 \times 100}{10} \quad (۱$$

- اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید (TBA)

این آزمون بر اساس مقادیر اسپکتروفتومتری کمپلکس صورتی حاصل از واکنش یک مولکول مالون آلدئید حاصل از تقطیر با دو مولکول تیوباربیتوریک اسید اضافه شده به محلول حاصل از تقطیر صورت پذیرفت و نتایج بر اساس میلی گرم مالون آلدئید در کیلوگرم نمونه بیان گردید.

برای اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید، ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه ماهی را در یک بالن مدرج ۲۵ میلی‌لیتر با ۱- بوتانول به حجم رسانده و ۵ میلی‌لیتر از این مخلوط به لوله دربدار انتقال داده شد و ۵ میلی‌لیتر به آن معرف تیوباربیتویک اسید اضافه گردید. لوله‌های فوق به مدت ۲ ساعت در حمام آب ۹۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس در دمای محیط سرد شده و مقدار جذب آن در ۵۳۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در مقابل آب مقطر خوانده شد و مطابق رابطه ۲ تیوباربیتوریک اسید محاسبه گردید (Ojagh *et al*., 2010).

$$TBA = \frac{50 \times (\text{جذب تیمار} - \text{جذب شاهد})}{200} \quad (۲$$

- اندازه‌گیری پراکسید (PV)

برای اندازه گیری پراکسید، ابتدا نمونه ماهی چرخ شد و به ۱۵ گرم نمونه همگن شده گوشت ماهی ۶۰ سی سی متانول و ۶۰ سی سی کلروفرم اضافه شد و بعد از ۲۴ ساعت، برای جداسازی فازها، ۳۶ سی سی آب مقطر اضافه گردید و بعد از ۲ ساعت روغن مورد نیاز جدا گشت. ۲۵۰ میلی لیتر نمونه روغن استخراج شده ماهی در یک ارلن مایر وزن گردید و حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسیداستیک کلروفرم به نسبت ۲:۳ به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی لیتر از آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر محلول نشاسته ۱٪ به مجموعه اضافه شد. مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر گردید و میزان پراکسید با استفاده از رابطه ۳ محاسبه گردید (Khaksar *et al*., 2010).

$$PV = \frac{\text{نرمالیته} \times \text{حجم مصرفی تیوسولفات} \times 1000}{\text{وزن روغن}} \quad (۳$$

- آزمون‌های میکروبی

۱۰ گرم از گوشت ماهی در شرایط استریل برداشته و به ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل ۰/۸۵ درصد افزوده و به مدت ۶۰ ثانیه توسط یک مخلوط کن آزمایشگاهی استریل (استوماکر یا هاون چینی) همگن گردید. سپس رقت‌های استاندارد ۰/۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۰۱ و ۰/۰۰۰۰۱

جهت کشت تهیه شد. شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها با روش کشت سطحی در محیط کشت نوترینت آگار انجام گرفت. برای این منظور محیط استریل در پلیت‌ها ریخته شده و بعد از آنکه محیط بسته شد و رطوبت مازاد سطح آن‌ها حذف گردید از رقت‌های تهیه شده ۰/۱ میلی‌لیتر به هر پلیت اضافه کرده و بخوبی در سطح آن پخش گردید. سپس پلیت‌های کشت داده شده جهت شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در انکوباتور ۳۲ درجه سلسیوس به مدت ۷۲-۲۴ ساعت قرار گرفت و پلیت‌های کشت داده شده جهت شمارش باکتری های سرماگرا در انکوباتور ۶/۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز قرار گرفت. سپس پلیت‌های مناسب انتخاب و تعداد میکروارگانیسم‌ها محاسبه گردید (شعبانی، ۱۳۹۲).

- ارزیابی حسی

جهت انجام ارزیابی حسی فیله‌های ماهی قزل‌آلا در طول دوره نگهداری از روش Goulas and Kontominas (۲۰۰۷) استفاده گردید. بدین منظور از یک گروه پنل ۷ نفره نیمه آموزش دیده استفاده شد. ارزیابی حسی در مورد رنگ، بو، بافت، طعم و قابلیت پذیرش کلی انجام گرفت. همچنین نمونه‌های فیله تازه ماهی قزل آلا در ۲۰- درجه سلسیوس ذخیره گردید و در زمان انجام ارزیابی حسی (پس از انجماد زدایی در دمای یخچال به مدت ۳ ساعت) به عنوان معیار بالاترین امتیاز در نظر گرفته شد. فیله‌های ماهی را به قطعات کوچک تقسیم بندی کرده و سرخ شد. تیمارها به ترتیب از شماره ۱ تا ۷ کد گذاری شده و در اختیار ارزیابان قرار گرفت. جهت امتیازدهی از یک مقیاس ۰ تا ۱۰ استفاده شد، به نحوی که ۱۰ بیشترین امتیاز و ۰ کمترین امتیاز را داشت. محصول با امتیاز کمتر از ۶ به عنوان محصول غیر قابل پذیرش تعریف گردید (Goulas and Kontominas, 2007).

- تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد و از نرم‌افزار SPSS 24 به منظور تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون دانکن در سطح معناداری ۵٪ استفاده شد.

یافته‌ها

- آنالیز ترکیبات سازنده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

نتایج آنالیز تقریبی ماهی در ابتدای دوره نگهداری مطابق جدول ۱ می‌باشد.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی فیله ماهی ± انحراف معیار

ترکیب	میانگین (درصد)
پروتئین	۱۹/۲±۰/۵
چربی	۵/۳۸±۰/۵۵
رطوبت	۷۱/۳±۱/۴
خاکستر	۱/۲۴±۰/۰۹

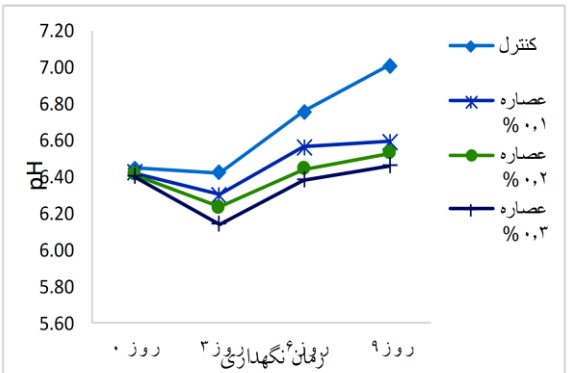
- بازده استخراج و pH عصاره اتانولی

در تحقیق حاضر، محلول ۷۰٪ اتانول جهت استخراج عصاره جلبک *Chlorella vulgaris* استفاده شد و بازده ۳/۱۷ ٪ برای عصاره خام اتانولی بدست آمد.

همچنین مقدار pH عصاره اتانولی در محدوده ۶/۸ – ۶/۵ بدست آمد.

- pH تیمارهای فیله ماهی مورد آزمون

مقادیر pH نمونه شاهد و تیمارهای حاوی عصاره محاسبه شد که نتایج حاصله در نمودار ۱ مشاهده می‌گردد.



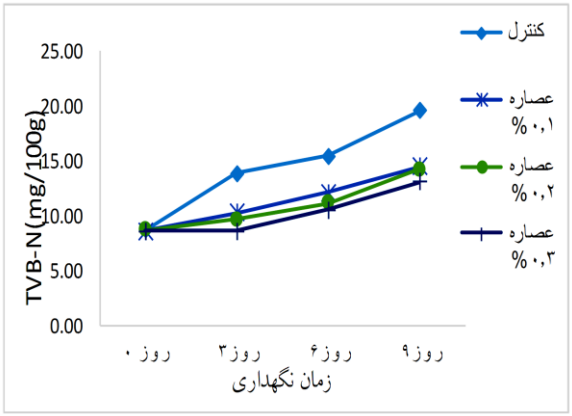
نمودار ۱- تغییرات مقادیر pH فیله‌های ماهی در روزهای ۹،۶،۳،۰ نگهداری در یخچال

طبق نمودار ۱ با گذشت زمان مقدار pH در نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها ابتدا کاهش یافته و پس از آن افزایش

می‌یابد. بطور کلی روند تغییرات pH در تمامی تیمارها افزایشی بود. کمترین مقدار pH در روز آخر مورد بررسی، در تیمار حاوی عصاره ۰/۳٪ مشاهده می‌گردد که مقدار آن با مقدار pH تیمار حاوی عصاره ۰/۲٪ تفاوت معنی‌داری ندارد (p>۰/۰۵)، اما با تیمار حاوی عصاره ۰/۱٪ و تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری دارد(p<۰/۰۵)در تمامی روزهای مورد بررسی بجز روز صفر، مقدار pH تیمارهای حاوی عصاره با غلظت‌های مختلف بطور معنی‌داری کمتر از مقدار pH در نمونه شاهد می‌باشد (p<۰/۰۵).

- TVB-N تیمارهای فیله ماهی مورد آزمون

مقادیر TVB-N نمونه شاهد و تیمارهای حاوی عصاره محاسبه شد که نتایج حاصله در نمودار شماره ۲ مشاهده می‌گردد.

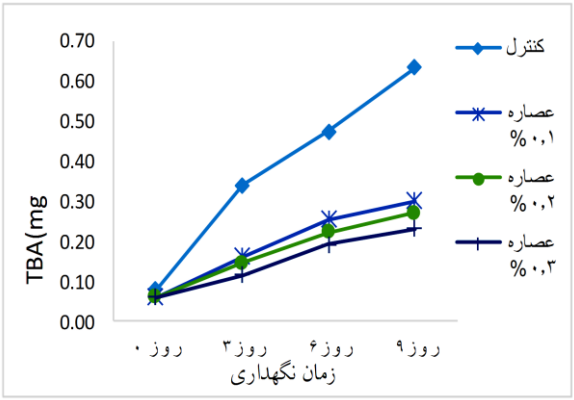


نمودار ۲- تغییرات مقادیر TVB-N فیله های ماهی در روزهای ۹،۶،۳،۰ نگهداری در یخچال

طبق نمودار ۲، میزان بازهای نیتروژنی فرار در تیمار شاهد و تیمارهای حاوی عصاره، با گذشت زمان بطور معنی‌داری افزایش یافته است (p<۰/۰۵). در روز آخر بررسی، کمترین مقدار TVB-N در تیمار حاوی عصاره ۰/۳٪ مشاهده می‌گردد که مقدار آن با مقدار TVB-N سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری دارد (p<۰/۰۵). در تمامی روزهای مورد بررسی بجز روز صفر، مقدار TVB-N تیمارهای حاوی عصاره با غلظت‌های مختلف بطور معنی‌داری کمتر از مقدار TVB-N در نمونه شاهد در همان روز می‌باشد (p<۰/۰۵).

- TBA تیمارهای فیله ماهی مورد آزمون

مقادیر TBA نمونه شاهد و تیمارهای حاوی عصاره محاسبه شد که نتایج حاصله در نمودار ۳ مشاهده می‌گردد.



نمودار ۳- تغییرات مقادیر TBA فیله های ماهی در روزهای ۹،۶،۳،۰ نگهداری در یخچال

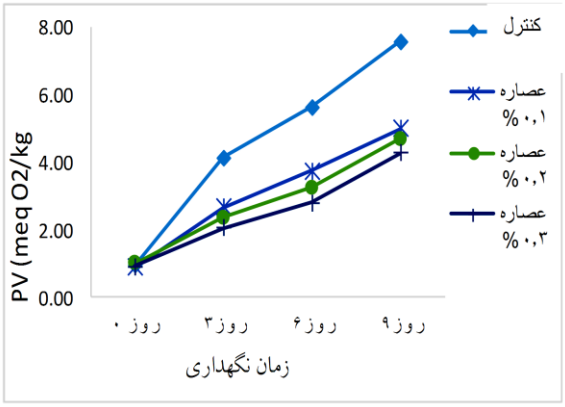
طبق نمودار ۳ با گذشت زمان مقدار TBA در نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها افزایش یافته و در روز آخر بررسی، کمترین مقدار TBA در تیمار حاوی عصاره ۰/۳٪ مشاهده می‌گردد که مقدار آن با مقدار TBA سایر تیمارهای حاوی عصاره تفاوت معنی‌داری ندارد (p>۰/۰۵)، اما با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری دارد (p<۰/۰۵). همچنین در تمامی روزهای مورد بررسی بجز روز صفر، مقدار TBA تیمارهای حاوی عصاره با غلظت‌های مختلف بطور معنی‌داری کمتر از مقدار TBA در نمونه شاهد می‌باشد (p<۰/۰۵).

- PV تیمارهای فیله ماهی مورد آزمون

مقادیر اندیس پراکسید نمونه شاهد و تیمارهای حاوی عصاره محاسبه شد که نتایج حاصله در جدول نمودار ۴ مشاهده می‌گردد.

طبق نمودار ۴ با گذشت زمان مقدار PV در نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها افزایش یافته و کمترین مقدار PV در روز آخر مورد بررسی، در تیمار حاوی عصاره ۰/۳٪ مشاهده می‌گردد که مقدار آن با مقدار PV سایر تیمارهای حاوی عصاره تفاوت معنی‌داری ندارد(p>۰/۰۵)، اما با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری دارد(p<۰/۰۵). همچنین در تمامی روزهای مورد بررسی بجز روز صفر، مقدار PV تیمارهای

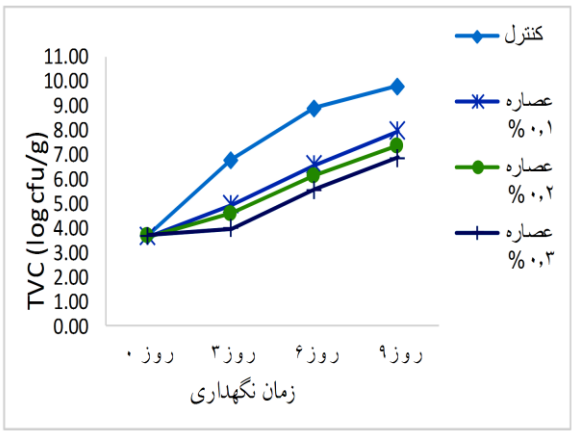
حاوی عصاره با غلظت‌های مختلف بطور معنی‌داری کمتر از مقدار PV در نمونه شاهد می‌باشد (p<۰/۰۵).



نمودار ٤- تغییرات مقادیر PV فیله‌های ماهی در روزهای ۹،٦،۳،۰ نگهداری در یخچال

- شمارش کلی باکتری‌های تیمارهای فیله ماهی مورد آزمون

مقادیر شمارش کلی باکتری‌های نمونه شاهد و تیمارهای حاوی عصاره محاسبه شد که نتایج حاصله در نمودار ۵ مشاهده می‌گردد.

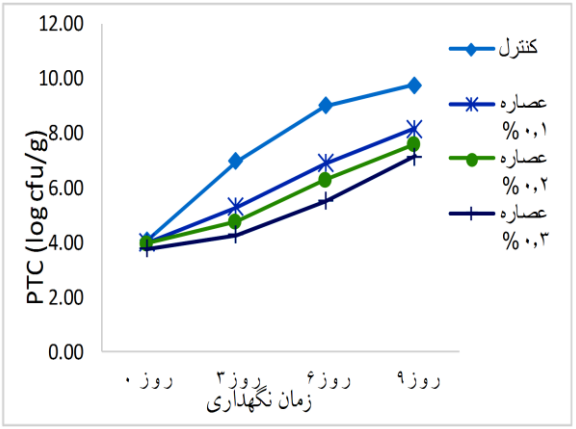


نمودار ۵- تغییرات مقادیر TVC فیله‌های ماهی در روزهای ۹،٦،۳،۰ نگهداری در یخچال

طبق نمودار ۵ با گذشت زمان مقدار TVC در نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها افزایش یافته و در روز آخر مورد بررسی، بیشترین مقدار TVC در نمونه شاهد مشاهده می‌گردد که مقدار آن با مقدار TVC تمامی تیمارهای حاوی عصاره تفاوت معنی‌داری دارد(p<۰/۰۵). کمترین مقدار TVC در روز آخر مورد بررسی، در تیمار حاوی عصاره ۰/۳٪ مشاهده می‌گردد که مقدار آن با مقدار TVC تیمار شاهد و سایر تیمارهای حاوی عصاره تفاوت معنی‌داری دارد (p<۰/۰۵). همچنین در تمامی روزهای مورد بررسی بجز روز صفر، مقدار TVC تیمارهای حاوی عصاره با غلظت‌های مختلف بطور معنی داری کمتر از مقدار TVC در نمونه شاهد می‌باشد (p<۰/۰۵).

- شمارش کلی باکتری‌های سرماگرای تیمارهای فیله ماهی مورد آزمون

مقادیر شمارش کلی باکتری‌های نمونه شاهد و تیمارهای حاوی عصاره محاسبه شد که نتایج حاصله در نمودار ۶ مشاهده می‌گردد.



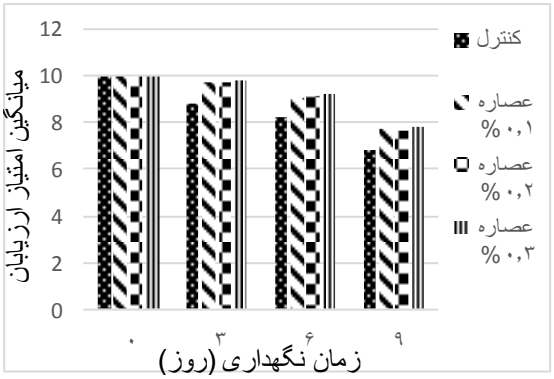
نمودار ٦- تغییرات مقادیر PTC فیله‌های ماهی در روزهای ۹،٦،۳،۰ نگهداری در یخچال

طبق نمودار ۶ با گذشت زمان مقدار PTC در نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها افزایش یافته و در روز آخر مورد بررسی، کمترین مقدار PTC در روز آخر مورد بررسی، در تیمار حاوی عصاره ۰/۳٪ مشاهده می‌گردد که مقدار آن با مقدار PTC تیمار شاهد و سایر تیمارهای حاوی عصاره و در همان روز، تفاوت معنی‌داری، دارد (p<۰/۰۵). همچنین در تمامی روزهای مورد بررسی بجز روز صفر، مقدار PTC تیمارهای حاوی عصاره با غلظت‌های مختلف بطور معنی داری کمتر از مقدار PTC در نمونه شاهد می‌باشد (p<۰/۰۵).

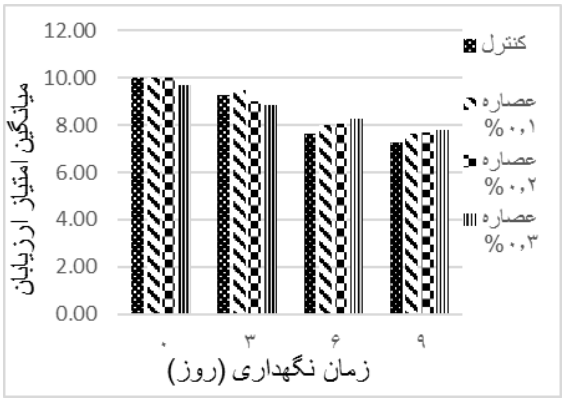
- ارزیابی حسی تیمارهای فیله ماهی مورد آزمون

ارزیابی حسی در مورد ۵ فاکتور بافت، رنگ، بو، طعم و پذیرش کلی صورت پذیرفت. همانطور که در نمودارهای ۷ تا ۱۱ مشخص است تیمارهای حاوی عصاره با گذشت

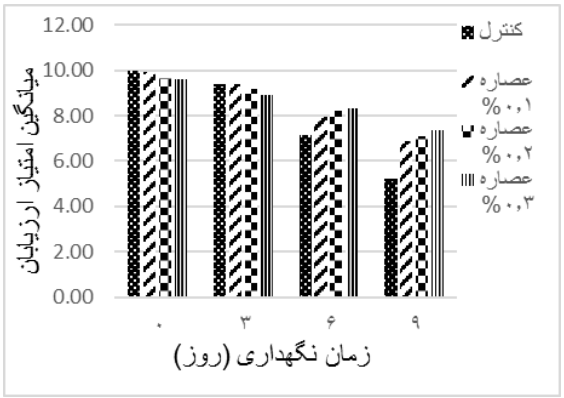
زمان دارای کیفیت بهتری نسبت به نمونه شاهد بوده اند و امتیاز بیشتری کسب کرده و مورد پذیرش ارزیابان قرار گرفته‌اند. همچنین کلیه نمونه ها از نظر اکسیداسیونی و میکروبی کیفیت بالاتری نسبت به نمونه شاهد داشته و از تمامی نمونه ها می‌توان به عنوان یک وعده غذایی سالم و پر انرژی استفاده نمود.



نمودار ۷- تغییرات بافت فیله های ماهی در روزهای ۹،۶،۳،۰ نگهداری در یخچال

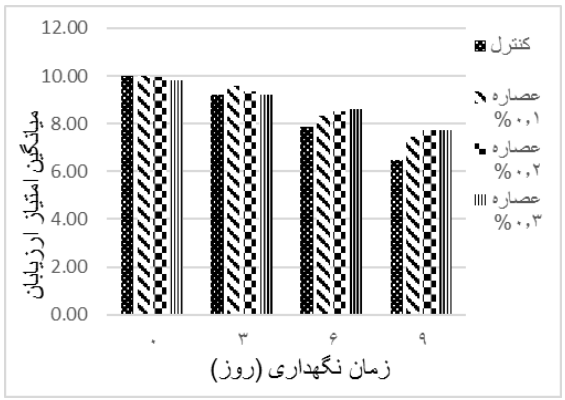


نمودار ۸- تغییرات رنگ فیله های ماهی در روزهای ۹،۶،۳،۰ نگهداری در یخچال



نمودار ۹- تغییرات طعم فیله های ماهی در روزهای ۹،۶،۳،۰ نگهداری در یخچال

نمودار ۱۰- تغییرات بوی فیله های ماهی در روزهای ۹،۶،۳،۰ نگهداری در یخچال



نمودار ۱۱- تغییرات طعم فیله های ماهی در روزهای ۹،۶،۳،۰ نگهداری در یخچال

بحث

بیشتر ماهیان دارای مقادیر اندک کربوهیدرات(کمتر از ۰/۵٪) در بافت ماهیچه‌ای خود هستند، به طوریکه بعد از مرگ ماهی مقدار اسید لاکتیک تولید شده در نتیجه واکنش گلیکولیز اندک بوده و pH گوشت ماهیان بعد از مرحله جمود نعشی بالاتر از ۶ خواهد بود. در این پژوهش pH تمامی تیمارها تا روز ۳ کاهش یافته، بطوری که در روز ۳، اختلاف مقدار pH بین تیمارهای حاوی عصاره با تیمار شاهد معنی‌دار می‌باشد ($p<0/05$). علت کمتر بودن pH اولیه را می‌توان با وجود اسید لاکتیک حاصل از واکنش گلیکولیز مرتبط دانست (Dimitrios *et al.*, 1997). این نتیجه با مطالعات Fan و همکاران (۲۰۰۸) و محمدزاده و رضایی (۱۳۹۲) و Manju و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت دارد. همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌گردد، از روز ۳ تا روز ۹ مقدار pH در تیمار شاهد و تیمارهای حاوی غلظت‌های مختلف عصاره افزایش یافته است. افزایش pH

در هر مرحله می‌تواند به دلیل ترکیبات تری متیل آمین و آمونیاک نیز باشد که در اثر فعالیت باکتریایی یا آنزیمی به وجود می‌آیند (فروغی، ۱۳۹۱).

pH عضله ماهی زنده بین ۶/۸ تا ۷ به عنوان حد قابل قبول شناخته شده است و اگرچه شاخص pH به تنهایی برای ارزیابی کیفیت ماهی مناسب نیست، اما در کنار سایر شاخص‌ها می‌تواند مفید باشد. pH اولیه در ماهی‌ها پس از جمود نعشی بسته به گونه ماهی از ۵/۴ تا ۷/۲ متغیر است (Grigorakis *et al*., 2003). که در تحقیق انجام شده pH تمامی تیمارها در تمام روزهای مورد آزمون در این محدوده قرار دارد. همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود در مطالعه حاضر کاهش روند تغییرات اسیدیته با استفاده از عصاره جلبک دیده شده است. زیرا تیمار شدن فیله‌ها با عصاره حاوی ترکیبات فنولی می‌تواند بازدارندگی میکروبی را افزایش دهد و حفاظت فیله‌ها را در مقابل پروتئازهای داخلی بالا ببرد و در نهایت مانع شکسته شدن پروتئین‌ها و تولید آمین‌ها شود (Baydar *et al*., 2004).

در تحقیق پزشک و همکاران(۱۳۸۸) در مورد اثر ضد باکتریایی و ضد اکسیداسیونی عصاره زردچوبه در شرایط آزمایشگاهی بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، نکوئی و همکاران (۱۳۹۴) در مورد اثر عصاره پوست داخلی نارنج بر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نیز کاهش روند تغییرات اسیدیته با استفاده از خاصیت آنتی‌باکتریایی عصاره‌های طبیعی مشاهده شده است.

مجموع بازهای نیتروژنی فرار(TVB-N) به طور عمده متشکل از تری‌متیل آمین، دی متیل آمین، آمونیاک و سایر ترکیبات نیتروژنی فرار مرتبط با فساد غذاهای دریایی می‌باشد که به ترتیب توسط باکتری‌های مولد فساد، آنزیم‌های اتولیتیک، دآمیناسیون اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها تولید می‌گردند و یکی از نشانگرهای اصلی تخریب و تجزیه پروتئین‌های گوشت محسوب می‌شود (Fan *et al*., 2008).

طبق نتایج حاصل از این پژوهش، عصاره جلبک به دلیل وجود ترکیبات فنولی، باعث افزایش بازدارندگی میکروبی و همچنین حفاظت فیله‌ها در برابر پروتئازهای داخلی و ممانعت از شکسته شدن پروتئین‌ها و تولید آمین‌ها می‌گردند.

مقدار اولیه TVB-N در نمونه ماهی در روز صفر، حدود ۸/۸۲ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه بود که نشان دهنده تازگی و کیفیت بالای ماهی می‌باشد و با نتایج Jouki و همکاران(۲۰۱۴) و پاک ترمنی و همکاران (۱۳۹۳) به ترتیب با مقدار TVB-N اولیه ۸/۲۳ و ۸/۱۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه مطابقت دارد. در مطالعه حاضر، تغییرات میزان TVB-N طی نگهداری فیله‌های قزل‌آلای رنگین کمان روندی افزایشی داشت، بطوریکه افزایش میزان این شاخص در روزهای ابتدایی روندی کند و از روز ۶ به بعد بطور شدیدی افزایش یافت. این نتایج در تحقیقات Arashisar و همکاران (۲۰۰۴) و ذوالفقاری و همکاران (۱۳۹۰) نیز مشاهده می گردد. این امر به دلیل عامل تولیدکننده TVB-N، یعنی باکتری‌ها بود. در روزهای اولیه جمعیت باکتری‌های مختلف در فاز پایه قرار دارند و با سرعت کمی افزایش می‌یابند. (Gram and Huss, 1996)، بنابراین TVB-N پس از روزهای اولیه به سرعت افزایش یافت.

در تمامی روزهای مورد آزمون مقدار TVB-N با افزایش غلظت عصاره، کاهش یافته است. شاید این موضوع را بتوان به کاهش جمعیت باکتری‌ها و یا کاهش توانایی اکسایشی آن‌ها در جدا کردن آمین‌ها از ترکیبات نیتروژنی غیر فرار و یا هر دو عامل درنتیجه اثر عصاره بر باکتری‌های موجود در فیله نسبت داد (اجاق و همکاران، ۱۳۹۱). این موضوع با نتایج تحقیق رضاییان و همکاران (۱۳۹۳) که اثر عصاره خیار دریایی بر کیفیت شیمیایی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طی نگهداری در یخچال را بررسی نموده و دریافتند با افزایش غلظت عصاره تا از ۰/۵ تا ۲ درصد، تاثیر ضد میکروبی افزایش یافت و مقدار TVB-N در انتهای دوره بررسی در تیمار حاوی ۲٪ عصاره کمتر از سایر تیمارها بود مطابقت دارد.

اکسیداسیون چربی از عوامل اساسی نامطلوب شدن طعم و مزه در آن‌ها محسوب می‌شود. به منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون لیپید در ماهیان به طور وسیعی از شاخص TBA استفاده می‌شود که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به ویژه آلدئیدها را نشان می‌دهد (Bahar *et al*., 2006). TBA اکسیداسیون چربی‌ها بر اساس محتوی

مالون دی آلدئید (MDA) می‌باشد. MDA توسط هیدروپراکسیدهایی تشکیل می‌شود که حاصل واکنش اولیه اسیدهای چرب با اکسیژن می‌باشند (kostaki *et al.*, 2009). در مطالعه حاضر، با گذشت زمان مقدار TBA در نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها بطور معنی داری افزایش یافت($p<۰/۰۵$) که می‌توان گفت روند افزایشی این شاخص به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در ماهیچه و همچنین تولید آلدئیدها از محصولات ثانویه حاصل از شکست هیدروپراکسیدها است (Gomes *et al.*, 2003). مقادیر بدست آمده برای TBA در روز صفر، حدود ۰/۰۸ میلی‌گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم بدست آمد که مشابه نتایج ذوالفقاری و همکاران (۱۳۸۹) و پاک ترمنی و همکاران (۱۳۹۳) می‌باشد. میزان پایین TBA اولیه بیانگر تازگی و کیفیت خوب ماهی است.

میزان محدود کنندگی گوشت ماهی برای مصرف از نظر میزان شاخص TBA حدود ۲-۱ میلی‌گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم عنوان شده است (Goulas *et al.*, 2007) که در مطالعه حاضر مقادیر این شاخص در همه نمونه‌ها از حد قابل قبول پیشنهادی در طول دوره نگهداری کمتر بود. طبق نمودار شماره ۳ با گذشت زمان مقدار TBA در نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها افزایش یافته و در تمامی روزهای مورد آزمون مقدار TBA با افزایش غلظت عصاره، کاهش یافته است که به دلیل وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی شامل: ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها، کلروفیل و ویتامین E و توکوفرول‌ها می‌باشد(plaza *et al.*, 2012). این نتایج با نتایج مطالعات Iheagwara (2013) که اثر عصاره زنجبیل را بر روی ماندگاری ماهی خال مخالی دودی نگهداری شده در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در مدت ۲۰ روز مورد بررسی قرار دادند و Ozugol و همکاران (۲۰۱۴) در مورد تاثیر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره رزماری با استفاده از اندیس TBA در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان هم راستا می‌باشد.

اکسیداسیون چربی یک مشکل اصلی در ماهی و سایر فراورده‌های دریایی است که منجر به ایجاد بو و طعم نامطلوب می‌شود. ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به دلیل غنی بودن از اسیدهای چرب غیراشباع نسبت به اکسیداسیون چربی حساسیت بالایی داشته به همین دلیل مدت زمان عمر ماندگاری آن کوتاه می‌باشد. هیدروپراکسید محصول اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFA) است، به همین دلیل اکسیداسیون اولیه چربی با استفاده از اندازه‌گیری میزان پراکسید ارزیابی می‌شود (Lin, 2005). این ترکیبات باعث به وجود آمدن ترکیبات ثانویه مثل آلدئیدها و کتون‌ها می‌شوند که سبب تند شدن اکسیداتیو می‌گردند (Ozyurt *et al.*, 2009). پلی فنول‌ها توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد را دارند، خصوصا رادیکال‌های پروکسی که یکی از کلیدی‌ترین واکنش دهنده‌های زنجیره‌های میانی‌اند، در نتیجه باعث خاتمه دادن چرخه واکنش‌های فساد اکسیداسیونی می‌شوند (باباخانی لشکان و همکاران، ۱۳۹۲). طبق نتایج پژوهش حاضر، وجود ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها و کلروفیل a و b که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند می‌تواند باعث کاهش سرعت اکسیداسیون و کمتر بودن شاخص پراکسید در نمونه‌های حاوی عصاره گردد.

طبق نمودار ۴ با گذشت زمان مقدار PV در نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها افزایش یافته که در مطالعات دیگر از جمله مقصودلو و همکاران (۱۳۸۹) و حمزه و رضایی (۱۳۹۰) نیز طی مدت نگهداری میزان PV افزایش یافت. از آن جا که نسبت مثبتی بین محتوای فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها و اسانس‌ها گزارش شده است (Tzung-Hsun *et al.*, 2008) در تمامی روزهای مورد آزمون مقدار PV با افزایش غلظت عصاره، کاهش یافته است. این موضوع با نتایج مطالعات جاهد خانیکی و همکاران (۱۳۹۴) که اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی دانه انار ایرانی بر کیفیت چربی فیله ماهی قزل‌آلا در دمای ۲ تا ۴ درجه سلسیوس را مورد بررسی قرار دادند و طبق یافته‌ها عصاره‌های انار بطور معنی دار با افزایش دوره نگهداری، میزان PV را در فیله ماهی در مقایسه با نمونه شاهد کاهش دادند و علی بیگی و همکاران (۱۳۹۲) که اثر آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ پوست پرتقال بر کیفیت فیلهٔ کپور معمولی هنگام نگهداری در یخچال را بررسی کردند و با افزایش غلظت عصاره، ترکیبات فنولی و در نتیجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته و عدد پراکسید کاهش یافت، مطابقت دارد (جاهد خانیکی و همکاران، ۱۳۹۴; علی بیگی

و همکاران، ۱۳۹۲).

در مطالعه حاضر، تعداد اولیه باکتری‌ها در نمونه‌ها حدود ۳/۹۶ log CFU/g می‌باشد که نشان‌دهنده تازگی و کیفیت خوب فیله‌ها است. نتایج مشابه (تعداد اولیه باکتری ۴-۳ log CFU/g) در مطالعات Arashisar و همکاران (۲۰۰۴) و Jouki و همکاران (۲۰۱۴) مشاهده گردیده است.

شمارش کلی باکتری‌ها شاخصی برای تعیین کیفیت و ماندگاری مواد غذایی است. محدوده مجازی که توسط سازمان ICSMF (کمیته بین‌المللی ویژگی میکروبی غذاها) (۱۹۸۶) برای شمارش کل ماهی‌های تازه و منجمد تعریف شده است ۷ log CFU/g می‌باشد. در مطالعه حاضر تا روز ۳ TVC تمامی تیمارها در حد قابل قبول می‌باشد، اما در روز ۶ فقط تیمارهای حاوی غلظت‌های مختلف عصاره دارای TVC کمتر از ۷ log CFU/g می‌باشند و در مورد تیمار شاهد شمارش کلی باکتری‌ها بیشتر از ۷ log CFU/g می‌باشد. در روز ۹ نیز فقط تیمار حاوی عصاره ۰/۳٪ از نظر شمارش کلی باکتری‌ها در حد قابل قبول بود.

گزارش‌های متفاوتی در مورد زمان رسیدن بار کل در فیله ماهیان به حد مجاز وجود دارد. در مطالعه Kotasaki و همکاران (۲۰۰۹)، بار کل باکتریایی فیله ماهی خاردار طی ۷ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس به بیش از ۷ log CFU/g رسید (Kotasaki *et al*., 2009). اجاق و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که بار کل باکتریایی در فیله ماهی قزل‌آلا طی ۱۲ روز نگهداری از حد مجاز بیشتر شد.

وجود ترکیبات زیست فعالی مانند: فلاونوئید، تانن، ترکیبات فنولی، ترپنوئید، گلیکوزید، ساپونین و کربوهیدرات‌ها در ساختار جلبک، اثرات مثبتی بر خاصیت ضد میکروبی عصاره اتانولی جلبک دارد (Syed *et al*., 2015).

ترکیبات فنولی فعالیت ضد میکروبی خود را بدین صورت اعمال می‌کنند که اولاً در غشاء دولایه فسفولیپیدی سلول اختلال ایجاد کرده که سبب افزایش نفوذپذیری سلول و از دست دادن برخی اجزاء سلولی می‌گردند. دوم اینکه سبب تخریب سیستم آنزیمی سلول می‌شوند که این آنزیم‌ها در تولید انرژی و سنتز ترکیبات ساختاری سلول نقش دارند و سوم این که این ترکیبات ضد میکروبی سبب تخریب مواد ژنتیکی سلول می‌شوند (شعبانپور و همکاران، ۱۳۹۰).

تاثیر ضد میکروبی عصاره جلبک کلرلا ولگاریس در تحقیقات دیگران نیز به اثبات رسیده است. Syed و همکاران (۲۰۱۵) فعالیت ضدمیکروبی عصاره کلرلا ولگاریس استخراج شده توسط اتانول را بر روی چهار گونه از باکتری‌های پاتوژن که شامل اشریشیا کلی، باسیلوس، کلبسیلا و سودوموناس بوده بررسی کرده و مشخص گردید که عصاره این جلبک بر روی هر چهار باکتری اثر بازدارندگی داشته و بیشترین خاصیت ضد میکروبی را در مورد کلبسیلا دارا می‌باشد.

باکتری‌های سرمادوست بویژه گونه‌های سودوموناس، آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز را تولید می کنند که سبب افزایش اسیدهای چرب آزاد می‌شوند. باکتری‌های سرمادوست در مقایسه با سایر باکتری‌ها در ایجاد فساد موثرترند و با تولید آلدئیدها و کتون‌ها باعث تغییر بو، بافت و مزه مواد غذایی می‌شوند (Tsao, 2001).

بیشترین حد پیشنهاد شده برای باکتری‌های سرمادوست در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، log CFU/g 7 است (ICSMF, 1986) در مطالعه حاضر، در روز ۶ بررسی، فقط تیمار حاوی عصاره با غلظت‌های مختلف دارای مقدار PTC کمتر از log CFU/g 7 بودند و در روز ۹، تمامی تیمارها دارای PTC بیشتر از log CFU/g 7 و غیر قابل مصرف بودند.

کاهش شمارش باکتری‌های سرماگرا و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری در نمونه‌های تیمار شده با عصاره، نشان دهنده تاثیر معنی دار عصاره بکار برده شده به عنوان ترکیب ضد باکتریایی می‌باشد. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات Erkan و همکاران (۲۰۱۱) بر روی ماهی bluefish تیمار شده با اسانس آویشن و برگ بو و اجاق و همکاران (۱۳۹۱) بر روی فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تیمار شده با کیتوزان و اسانس دارچین مطابقت دارد.

ارزیابی حسی به عنوان روشی مناسب برای ارزیابی کیفیت و تازگی ماهی طی دوره نگهداری می‌باشد و به عنوان یک روش ساده و سریع مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج ارزیابی حسی در نمودارهای ۷ تا ۱۱ نشان داده شده است. در روز صفر، همه تیمارها دارای بافت محکم و سفت

بوده، در حالی که با گذشت زمان وضعیت افت تغییر یافت و در روز ۹ تیمار شاهد دارای بافت نرمتری نسبت به سایر تیمارها بود. بهترین وضعیت بافت مربوط به تیمار حاوی عصاره ۰/۳٪ بود. به دلیل تغییر در پروتئین‌ها و pH، ظرفیت نگهداری آب در بافت فیله ماهی کاهش می‌یابد و باعث آب انداختگی می‌شود، اما در نمونه‌های حاوی عصاره به دلیل مهار رشد باکتریایی و اکسیداسیون تغییرات پروتئین و ظرفیت نگهداری آب حداقل است و آب انداختگی نداریم.

ایجاد مواد فرار حاصل از اکسیداسیون چربی‌ها مثل آلدئیدها و کتون‌ها و مواد حاصل از تجزیه پروتئین‌ها مانند آمونیاک سبب تغییر شاخص بو می‌شوند. همانطور که در نمودارهای شماره ۸ و ۱۰ مشاهده می‌گردد، در ابتدای دوره امتیاز بو و رنگ تیمارهای حاوی عصاره نسبت به تیمار شاهد کمتر بود که این امر به دلیل بوی خاص عصاره جلبک و رنگ سبز آن می‌باشد که با بو و رنگ مورد انتظار از ماهی متفاوت می‌باشد، اما با گذشت زمان و در روز آخر آزمون، امتیاز رنگ و بوی تیمارهای حاوی عصاره به دلیل کاهش فساد نسبت به تیمار شاهد در سطح بالاتری قرار دارد و دارای تفاوت معنی‌داری با شاهد می‌باشد ($p<0/05$). همچنین روند تغییر وضعیت خصوصیات حسی در تیمارها طی مدت نگهداری هماهنگ و همسو با تغییرات اکسیداسیون و فساد باکتریایی می‌باشد که می تواند به این دلیل باشد که اکسیداسیون چربی منجر به تخریب و افت کیفیت حسی می‌گردد (Kolakowska *et al*., 2006).

Fan و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که امتیازات آزمون‌های حسی در هر دو تیمار ماهی کپور نقره ای همزمان با افزایش طول دوره کاهش یافته است و ویژگی‌های حسی نمونه‌های تیمارشده با پلی فنول‌های چای امتیاز بالاتری را در مقایسه با تیمارهای غوطه ورشده در آب مقطر دریافت کرده‌اند.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق به منظور به تاخیر انداختن فساد میکروبی و اکسیداتیو و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از عصاره جلبک کلرلا ولگاریس استفاده گردید. *C.vulgaris* غنی از مواد مغذی مانند: پروتئین، لیپید، کربوهیدرات، مواد معدنی، فیبرهای رژیمی، آنتی اکسیدان‌ها و ویتامین‌ها بوده و بعنوان غذای سالم سبز توسط FAO نامگذاری شده است. جزء اصلی *C.vulgaris* پروتئین می‌باشد که بیش از ۵۰٪ ترکیب بیومس را به خود اختصاص می‌دهد. (Mohamed *et al*. 2013) همچنین این جلبک دارای مقادیر زیادی اسیدهای چرب چند غیر اشباعی می‌باشد که دارای خواص ضد میکروبی هستند (Plaza *et al*., 2011). مقادیر زیاد رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئید که اثرات آنتی‌اکسیدانی فراوانی دارند از دیگر مزایای تغذیه‌ای این جلبک می‌باشد.

نتایج آزمون‌های میکروبی و شیمیایی، اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک را به اثبات رساندند. تقریباً در همه نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره جلبک، میزان شاخص‌های میکروبی و شیمیایی نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری در سطح ۵ درصد داشتند و این موضوع با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت.

این نتیجه‌گیری می‌تواند کاربرد تجاری و بازارپسندی این جلبک و عصاره آن را در گوشت ماهی و فراورده‌های آن توجیه پذیر سازد. در یک جمع‌بندی می‌توان گفت عصاره جلبک کلرلا ولگاریس توانایی افزایش ماندگاری شیمیایی و میکروبی ماهی را دارا می‌باشد. همچنین می‌توان پس از انجام آزمون‌های تکمیلی از این ترکیبات به عنوان نگهدارنده طبیعی در سایر مواد غذایی استفاده نمود.

منابع

اجاق، م.، رضایی، م.، رضوی، ه. و حسینی، م. (۱۳۹۱). اثر پوشش‌های آنتی میکروبی در افزایش ماندگاری ماهی قزل آلای رنگین کمان. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره ۹، شماره ۳۴.

بی‌نام. (۱۳۸۹). استاندارد شماره ۷۴۴ ایران. گوشت و فراورده های آن، تعیین مقدار خاکستر کل. چاپ اول.

باباخانی لشکان، ا.، رضایی، م. و رضایی، ک. (۱۳۹۲). استفاده از عصاره جلبک قهو ای سارگاسوم (*Sargassum angustifolium*) به منزله آنتی اکسیدان در نگهداری گوشت چرخ شده ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultiventris*). نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۶، شماره ۱، صفحات ۱۳-۱.

پاک ترمنی، م. (۱۳۹۳). بررسی تاثیر بکارگیری پوشش غذایی آلژینات سدیم حاوی آلفا توکوفرول در افزایش ماندگاری گوشت ماهی. پایان نامه کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی. دانشکده بهداشت. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین.

پزشک، س.، رضایی، م.، راشدی، ح. و حسینی، ه. (۱۳۸۸). مطالعه اثر ضد باکتریایی و ضد اکسیداسیونی عصاره زردچوبه در شرایط آزمایشگاهی بر ماهی قزل آلای رنگین کمان. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره ۹، شماره ۳۵.

جاهد خانیکی، غ.، صالحی، ع.، شریعتی فر، ن. و علی محمدی، م. (۱۳۹۴). بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره های آبی و الکلی دانه انار ایرانی بر کیفیت چربی فیله ماهی قزل آلا و تعیین میزان فسادپذیری آن در دمای ۲ تا ۴ درجه سلسیوس. مجله دانشکده علوم پزشکی نیشابور، سال سوم، شماره ۲.

حمزه، ع. و رضایی، م. (۱۳۸۹). اثرات ضداکسیداسیونی و ضد باکتریایی پوشش آلژینات سدیم به همراه اسانس آویشن بر فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان نگهداری شده در یخچال. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال ششم، شماره ۳، صفحات ۲۰-۱۱.

ذوالفقاری، م.، شعبانپور، ب. و فلاح زاده، س. (۱۳۸۹). مقایسه تاثیر عصاره های آویشن شیرازی، پیاز و کاکوتی کوهی بر زمان ماندگاری فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان. نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۶، شماره ۲، صفحات ۱۲۹-۱۲۱.

رضاییان، ح.، حسینی، و. و مطلبی، ع. (۱۳۹۳). اثر عصاره خیار دریایی بر کیفیت شیمیایی فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان طی نگهداری در یخچال. مجله بهره برداری و پرورش آبزیان، جلد سوم، شماره ۳.

شعبانپور، ب.، ذوالفقاری، م. و فلاح زاده، س. (۱۳۹۰). اثر عصاره آویشن شیرازی بر ماندگاری فیله قزل آلای رنگین کمان شور و بسته بندی شده در خلاء در شرایط یخچال. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره ۸، شماره ۳۳.

شعبانی، ش. (۱۳۹۲). کنترل کیفیت میکروبی مواد غذایی. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، چاپ دوم.

علی بیگی، ط.، علیزاده، ا. و زکی پور، ا.(۱۳۹۲). بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصارۀ پوست پرتقال بر کیفیت فیلۀ کپور معمولی هنگام نگهداری در یخچال. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۶، شماره ۲، صفحات ۱۹۷-۱۸۵.

فروغی، ف. (۱۳۹۱). بررسی تاثیر عصاره موسیر و زردچوبه و ترکیب آنها بر مدت ماندگاری خمیر ماهی کپور در شرایط انجماد ۱۸- درجه سلسیوس. پایان نامه کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه شهید بهشتی.

محمد زاده، ب. و رضایی، م. (۱۳۹۲). اثر پلی فنل های چای سبز بر تغییرات میکروبی و شیمیایی ماهی قزل آلای رنگین کمان به هنگام نگهداری در یخ. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، شماره ۳۸، دوره ۱۰.

مقصودلو، ت.، معینی، س. و غرقی، ا. (۱۳۸۹). بررسی تغییرات شیمیایی، میکروبی و ارگانولپتیک ماهی قزل آلای رنگین کمان در اتمسفر تغییر یافته. مجله علوم آبزیان، سال اول، شماره اول.

Arashisar, S., Hisar, O., Kaya, M. & Yanik, T. (2004). Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (Oncorynchus mykiss) fillets. Journal of Food Microbiology, (97), 209– 214.

Bahar, T., Ozkutu, K., Gulsun, O. & Enver, O. (2006). Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp during frozen storage. Food Chemistry, (99), 335-41.

Baydar, N. G., Ozkan, G. & Sagdic, O. (2004). Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (Vitis vinifera L.) extracts. Food Control, 15 (5), 335–339.

Erkan, N., Tosun, S. Y., Ulusoy, S. & Uretener, G. (2011). The use of thyme and laural essential oil treatmants to extend the shelf life of bluefish (Pomatomu saltatrix) during storage in ice. Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 6(1), 39 -48.

Etemadi, H. & Rezaei, M. (2013). Combined effect of vacuum packaging and sodium acetate dip treatment on shelf life

extension of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) during Refrigerated Storage. Journal of Agricultural Science and Technology, 15, 929-939.

Fan, W., Chi, Y. & Zhang, S. (2008). Use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (Hypophthalmicthys molitrix) during storage in ice. Food Chemistry, 108, 1, 148-153.

Garcia, G., Alvaradol, L. & Garcia, J. (2004). Characterization of the lipid composition and natural antioxidants in the liver of *Dasyatis brevis* and *Gymnura marmorata* rays. Food Chemistry, (47), 429-300.

Goulas, A. E. & Kontominas, M. G. (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. Journal of Food Chemistry, 100, 287-296.

Gram, L. & Huss, H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. International Journal of Food Microbiology, (33), 121-137.

Grigorakis, K., Taylor, K. D. A. & Alexis, M. N. (2003). Seasonal patterns of spoilage of ice-stored cultured gilthead sea bream (Sparus aurata). Food Chemistry, 81(2), 263–268.

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

Iheagwara, M. C. (2013). Effect of Ginger Extract on Stability and Sensorial Quality of Smoked Mackerel (Scomber scombrus) Fish. Journal of Nutrition & Food Sciences, 3, 199.

Jouki, M., Tabatabaei, F. & Mortazavi, A. (2014). Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension. International Journal of Food Microbiology, 174, 88-97.

Khaksar, R., Moslemy, M. & Hosseini, H. (2010). Comparison of lipid changes in chicken frankfurters made by soybean and canola oils during storage. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, 11, 2.

Kolakowska, A., Domiszewski, Z. & Bienkiewicz, G. (2006). Lipid changes and Quality of whole and gutted Rainbow trout during storage in ice. Acta Ichthyologicaet Piscatoria, 36(1), 39-47.

Kostaki, M., Vasiliki, G. & Ioannis, N. (2009). Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (Dicentrarchus labrax) fillets. Food Microbiology, 26, 5, 475–482.

Lin, C. C. & Lin, C. S. (2005). Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. Food Control, 16(2), 169-175.

Manju, S., Srinivasa Gopal, T. K., Ravishankar, C. N. & Ashok Kumar, K. (2007). Nucleotide degradation of sodium acetate and potassium sorbate dip treated and vacuum packed Black Pomfret (Parastromateus Niger) and Pearlspot (Etroplus suratensis) during chill storage. Food Chemistry, (102), 699–706.

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

Ozyurt, G., Kuley, E., Ozkutuk, S. & Ozogul, F. (2009). Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (Mullus barbatus) and goldband goatfish (Upeneus moluccensis) during storage in ice. Food Chemistry, 114(2), 505–510.

Plaza, M., Santoyo, S. & Jaime, L. (2011). Comprehensive characterization of the functional activities of pressurized liquid and ultrasound-assisted extracts from *Chlorella vulgaris*. Food Science and Technology, (46), 245-253.

Plaza, M., Santoyo, S. & Jaime, L. (2010). Screening for bioactive compounds from algae. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, (51), 450–455.

Rezaei, M. (2008). Quality Assesssment of Farmed Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss) during Chilled Storage. Journal of Food Science, (73), 93-96.

Syed, S. & Arasu, A. (2015). The uses of *Chlorella Vulgaris* as antimicrobial agent and as a diet: the presence of bio-active compounds which caters the vitamins, minerals in general. International Journal of Bioscience and Biotechnology, 7, 1, 185-190.

Tsao, S. M. & Yin, M. C. (2001). In-vitro antimicrobial activity of four diallyl sulphides

occurring naturally in garlic and Chinese leek oils. Journal of Medical Microbiology, 50(7), 646-649.