(مقاله پژوهشی)

مطالعه اثر رنگدانه جدا شده از باکتری سراشیا *Serratia marcescens* بر کیفیت و عمر ماندگاری ماهی کپور(*Cyprinus carpio*) در شرایط یخچال

زهرا صدیقی[1]، سمیه بهرام[2*]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران.
۲-گروه شیلات، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاداسلامی، قائمشهر، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۲۵ تاریخ پذیرش:۱۳۹۸/۰۴/۲۹

چکیده

پرودی‌جیوسین رنگدانه قرمز استخراج شده از باکتری *Serratia marcescens* است که دارای اثر ضدمیکروبی و آنتی-اکسیدانی می‌باشد. در این پژوهش اثر رنگدانه پرودی‌جیوسین در غلظت‌های۱/۵و ۲٪ برکیفیت و ماندگاری فیله ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) طی دوره نگهداری ۱۸ روزدردمای۴ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای مورد مطالعه در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ مورد ارزیابی میکروبی (شمارش‌کلی باکتری، شمارش باکتری‌های‌سرمادوستو باکتری اسید لاکتیک) و شیمیایی (پراکسید، مقادیر تیوباربیوتیک اسید، اسیدچرب آزاد، وpH) قرار گرفتند. نتایج نشان داد غلظت ۲ درصد رنگدانه پرودی‌جیوسین توانست اکسیداسیون لیپیدی در فیله ماهی را از طریق کاهش مقادیر پراکسید، تیوباربیوتیک اسید واسیدچرب آزاد به تاخیر اندازد. همچنین فیله‌های حاوی ۲ درصد رنگدانه پرودی‌جیوسین کمترین مقادیر pH، باکتری اسید لاکتیک، مقادیر کلی باکتری و باکتری‌های سرمادوسترا نشان دادند و تا روز هجدهم نگهداری از مقادیر قابل قبول شاخص میکروبی برخوردار بودند. با توجه به نتایج رنگدانه پرودی‌جیوسین با غلظت ۲٪ می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان و ضدمیکروب طبیعی جهت استفاده در فرآورده گوشتی توصیه شود.

واژه های کلیدی: باکتری سراشیا مارسسنس، رنگدانه، ماهی کپور، فعالیت ضد میکروبی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

*مسئول مکاتبات: bahramsomi@gmail.com

۱-مقدمه

با افزایش جمعیت، نیاز به مواد غذایی و به‌ویژه تولید پروتئین با کیفیت بالا ضروری است. محصولات شیلاتی به‌دلیل ارزش غذایی بالاو داشتن چربی غیراشباع و پروتئین زیاد، آمادگی فساد سریع را دارند. اگرچه مقدار چربی در بدن گونه‌های مختلف ماهی متغیر است،ولی تقریبا تمامی آن‌ها در ساختمان لیپیدی خود دارای اسیدهای چرب چند غیر اشباعی هستند که در مجاورت هوا اکسیده شده و ایجاد تغییرات نامطلوب در چربی‌هامی‌نمایند. از طرفی در نتیجه فساد باکتریایی ماهی در مراحل پس از مرگ، ترکیبات فرار با وزن ملکولی پایین تولید می‌شوند. این ترکیبات به‌طور معمول سولفید هیدروژن، تری متیل آمین و آمونیاک بوده که به‌همراه اکسیداسیون سریع چربی‌ها و تولید ترکیبات آلدهیدی و کتونی، عامل نامطلوب شدن گوشت، تشدید بوی نامطبوع و بی‌مزهشدن ماهی در طی زمان نگهداری می‌باشند(۹). علی‌رغم این اعتقاد که دمای زیر صفر سردخانه باید بتواند از تغییرات لیپیدها جلوگیری نماید، ولی در عمل دیده می‌شودکه این تغییرات بروز نموده و باعث کاهش کیفیت محصول می‌گردند. هر چند دلیل این امر هنوز روشن نیست ولی به‌نظر می‌رسد آسیب‌های بافتی حاصل از انجماد و همچنین کاهش رطوبت حاصل از نگهداری ماهی منجمد عواملی هستند که این واکنش‌ها را تقویت می‌نمایند(۲). بنابراین به‌کار بردن موادی مناسب با فعالیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی به‌منظور بهبود کیفیت و افزایش عمر ماندگاری گوشت و در عین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی ضروری و مفید می‌باشد. از جمله روش‌های نوین نگهداری می‌توان به استفاده از باکتری وسین‌ها، اسانس‌های گیاهی و رنگدانه‌های طبیعی اشاره نمود. بر اساس پژوهش‌های پیشین مشخص شده است که برخی رنگدانه‌های تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها دارای فعالیت ضدباکتریایی علیه باکتری‌های عامل فساد مواد غذایی می‌باشند(۲۹). رنگدانه‌های طبیعی اغلب به‌دلیل سمیت کم و تجزیه‌پذیری در طبیعت به‌عنوان ترکیبات ضدباکتری در صنایع غذایی به‌کار می‌روند، این خواص معمولاً در رنگدانه‌های مصنوعی دیده نمی‌شود(۲۴).به‌طورکلی رنگدانه‌های زیستی می‌توانند از دو منبع گیاهی و میکروارگانیسم‌ها به دست آیند. برخی باکتری‌ها مانند سیانوباکترها[1]حاوی فیکوبیلین[2] (رنگدانه آبی یا قرمز) هستند که در فتوسنتز نقش دارد. *Serratia marcescens* باکتری گرم منفی، متعلق به خانواده انترو باکتریاسه [3]است که با تولید سه آنزیم لیپاز[4]، دی ان آز[5] و ژلاتیناز[6]از سایر جنس‌های متعلق به این خانواده قابل تمایز می‌باشد.مشخصه دیگر این باکتری تولید رنگدانه قرمز غیر محلول در آب به نام پرودی‌جیوسین[7]است. پژوهش‌ها نشان داد این ترکیب دارای اثرآنتی‌بیوتیکی، ضدتوموری، ضد میکروبی، ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد(۱۳؛۱ ۳۳). به نظر می‌رسد رنگدانه پرودی جیوسینبا توجه به دارا بودن فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی، بتواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در فرآورده‌های شیلاتی مورد استفاده قرار گیرد.لذا باتوجه به مطالب ارائه شده هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر رنگدانه پرودی‌جیوسین استخراج شده از *Serratia marcescens* بر کیفیت فیله ماهی کپور معمولی طی دوره نگهداری در دمای یخچال (۴ درجه سانتی گراد) بود.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه ماهی

برای انجام آزمایش ماهی‌های کپور مورد نیاز به تعداد ۳۰ عددرا با میانگین وزنی۱۰۰±۱۰۰۰گرم، از مزرعه پرورش ماهی واقع در شهرستان قائمشهر صید و با رعایت شرایط

1-Cyanobacteria
2-Phycobilin
3-Enterobacteriaceae
4-Lipase
5-DNA-ase
6-Gelatinase
7-prodigiosin

صحیح انتقال به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی قائمشهر منتقل شد و پس از سرزنی، تخلیه امعاء و احشاء، کندن پوست و استخوان‌گیری ماهی‌ها، با آب سرد شست وشو داده شد. سپس حدود ۶۰ فیله ۲ ±۱۰۰ گرمی تهیه شد و تا زمان انجام آزمایش در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد.

۲-۲- تهیه رنگدانه پرودی جیوسین

سوش لیوفیلیزه *Serratiamarcescens* با کد PTCC 1111 از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به‌عنوان یک سوش بومی به منظور تعیین میزان توانایی جذب تولید رنگدانه پرودی‌جیوسن، تهیه گردید. این سوش پس از تایید توسط آزمون‌های متداول تشخیص میکروبیولوژی، به مدت ۲۴ساعت در محیط کشت مایع تریپتون سوی براث [1] در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گرادکشت داده شد. سپس به منظور استخراج رنگدانه پرودی‌جیوسین نمونه‌هابا دور ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس محلول رویی دور ریخته شد و رسوب حاصله با مخلوطی از الکل اتانول (۹۶٪) و ۴٪ اسید کلریدریک ۱مولار مخلوط گردید و بر دستگاه شیکر قرار داده شد تا مخلوط شود و مجدداً با دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید و مایع رویی که حاوی رنگدانه می‌باشد جداسازی و رسوب ته ظرف دور ریخته شد (۱۹).

۲-۳-آغشته کردن نمونه به رنگدانه پرودی جیوسین

به‌منظور بررسی اثر رنگدانه پرودی‌جیوسین بر ماندگاری فیله ماهی کپور، انتخاب غلظت مناسب بر اساس مطالعه انجام گرفته توسط حسینی و همکاران (۱) صورت گرفت. بنابراین فیله‌های ماهی در غلظت‌های۱/۵ و ۲٪ رنگدانه پرودی جیوسین غوطه‌ورگردید و در کیسه‌های نایلونی زیپ‌دار بسته‌بندی در دمای یخچال (C° ۱±۴) نگهداری شد. در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ دوره نگهداری، ۳ نمونه از هر بخش به‌طور تصادفی انتخاب شد و به‌منظور تعیین پارامترهای کیفی (شیمیایی و میکروبی) مورد آزمایش قرار گرفت.

۲-٤-آزمون‌های شیمیایی

آزمون‌های عدد پراکسید و اسید چرب آزاد مطابق روش (۱۰)،اسید تیوباربیوتیک اسید مطابق روش (۲۵) وpH مطابق روش (۱۶) انجام گرفت.

۲-۵-آزمون‌های میکروبی

برای آزمون‌های میکروبی ۱۰ گرم از نمونه گوشت ماهی در شرایط استریل با ۹۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل ۰/۸۵ به مدت ۶۰ ثانیه در یک استومیکر[2]آزمایشگاهی هموژن شد. از هر ماهی سه بار به صورت جداگانه نمونه‌برداری شد. برای شمارش تعداد باکتری‌های کل و باکتری‌های سرما دوست نمونه‌های تهیه شده، از محیط تریپتیک سویا آگار [3]استفاده شد. پلیت‌های کشت داده شده مربوط به تعداد باکتری‌های کل بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های مربوط به باکتری‌های سرمادوست بعد از۱۰ روز انکوباسیون در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد شمارش شدند (۴). شمارش باکتری اسید لاکتیک در محیط بی‌هوازی و در محیط کشت ام. آر. اس.[4] آگار در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ تا ۳ روز به روش پور پلیت انجام شد (۱۶). شمارش‌ها به صورت log CFU/gگزارش شد.

۲-٦-تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه وتحلیل داده‌ها، باتوجه به نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس، با استفاده ازروش آنالیز واریانس (ANOVA) انجام شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها ازآزمون دانکن درسطح ۵ درصد استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیارگزارش شد و ارزیابی‌ها در۳ تکرار صورت پذیرفت. از نرم افزار (spss version18) برای آنالیزداده‌ها و Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

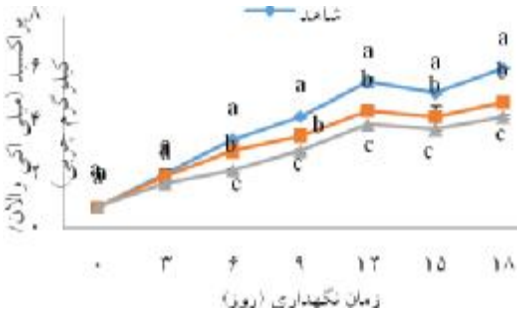
1-Tryptic Soy Broth

2-Stomacher
3-Tryptic Soy Agar
4-de Man,Rogosa,Sharp

۳- نتایج و بحث

۳-۱-تغییرات عدد پراکسید طی دوره نگهداری

پراکسید از شاخص‌های ارزیابی میزان اکسیداسیون چربی است که به‌طورگسترده‌ای درارزیابی میزان اکسیده شدن چربی استفاده می‌گردد و بیانگر محصول اولیه اکسیداسیون چربی می‌باشد (۲۷). نتایج به‌دست آمده از آزمون عدد پراکسید در پژوهش حاضر نشان داد (شکل ۱) با افزایش زمان مقادیر عدد پراکسید در تمامی تیمارها تا روز دوازدهم افزایش، سپس کاهش و مجددا افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). افزایش اکسیداسیون لیپیدی در طول زمان می‌تواند به علت رهایی بیشتر آهن آزاد و پرواکسیدان‌های دیگر در اثر تجزیه بیشتر در طول ذخیره‌سازی از ماهیچه باشد و کاهش میزان پراکسید در انتهای دوره ممکن است به‌دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تولید کربونیل‌ها و ترکیبات فرار باشد. واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون از جمله واکنش با پروتئین‌های قابل حل در نمک و تولید ترکیبات کربونیل نظیر استالدئید[1]، پروپیونالدئید[2]، استن[3]، اسیدهای چرب فرار و نیز گازهای فرار می‌توانند دلایل چنین کاهشی باشند (۳۲). با توجه به نتایج آنالیز آماری بیشترین مقادیر عدد پراکسید در تیمار شاهد (۶/۰۳ میلی‌اکی‌والان/کیلوگرم چربی) مشاهده شد و تیمارهای حاوی رنگدانه پرودی جیوسین مقادیر پراکسید کمتری را نشان دادند ($P<۰/۰۵$).کمتر بودن مقادیر عدد پراکسید در تیمارهای حاوی رنگدانه پرودی جیوسین به علت اثر آنتی‌اکسیدانی رنگدانه می‌باشد. Arivizhivendhan و همکاران (۶) با پژوهش بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی رنگدانه پرودی‌جیوسین نشان دادند رنگدانه پرودی جیوسین توانایی مهار رادیکال‌های آزاد ABTS و DPPH را دارد و میزان مهار رادیکال آزاد با افزایش غلظت پرودی جیوسین افزایش می‌یابد. آن‌ها دلیل این امر را فعالیت آنتی‌اکسیدانی رنگدانه پرودی جیوسین بیان نمودند. آنتی‌اکسیدان‌ها با اهدای اتم هیدروژن با لیپیدهای اکسید نشده رقابت می‌کنند و سبب تشکیل ترکیبات پایدارمی‌گردند. آنتی‌اکسیدان‌ها همچنین از طریق شلاته کردن یون‌های فلزی یا فرو نشاندن اکسیژن یگانه و یا حذف پراکسید، می‌توانندااثر مثبت خود را در جلوگیری از فساد اعمال کنند (۳۰). خاصیت آنتی‌اکسیدانی‌رنگدانه پرودی جیوسین توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است(۱۳، ۳۳). فعالیت آنتی‌اکسیدانی رنگدانه پرودی جیوسین در غلظت‌های مختلف ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱ مورد بررسی قرار گرفت و بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۱ و مقدار ۲/۴ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر گزارش شد (۳۳). در پژوهش حاضر نیز در نمونه‌های حاوی ۲٪ رنگدانه پرودی جیوسین میزان پراکسید کمتری مشاهده شد. در پژوهش‌های متعددی گزارش شده است که اثر آنتی‌اکسیدانی نگهدارنده‌های طبیعی وابسته به میزان غلظت آن‌ها است (۳۳، ۷).

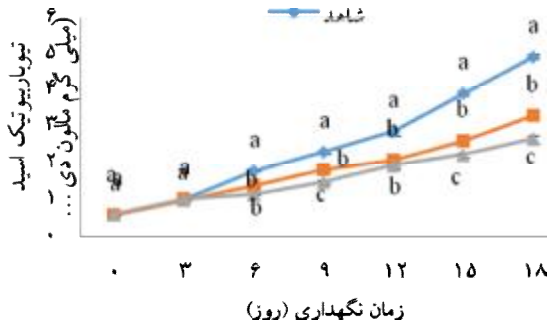


شکل ۱-تغییرات عدد پراکسید در فیله ماهی طی دوره نگهداری در یخچال.

1-Acetaldehyde
2-Propionaldehyed
3-Acetone

۳-۲-تغییرات عدد تیوباربیوتیک اسید طی دوره نگهداری

به منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون چربی در مواد غذایی به طور وسیعی از شاخص TBA[1] استفاده می‌شودکه میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به‌ویژه آلدهیدها وکتون‌هارا نشان می‌دهد(۲۶).باتوجه به نتایج آنالیز آماری، مقادیر عدد تیوباربیوتیک اسید (شکل ۲) در تیمارهای مختلف در روز صفر و سوم نگهداری اختلاف معنی داری با هم نداشتند (P>۰/۰۵). با افزایش زمان نگهداری مقادیر تیوباربیوتیک اسید در تمامی تیمارها افزایش یافت (P<۰/۰۵).روند افزایشی این شاخص به‌دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در ماهیچه و همچنین تولید آلدئیدها از محصولات ثانویه حاصل از شکست هیدروپراکسیدها است (۱۲). با توجه به نتایج در تمام روزهای نگهداری بیشترین مقادیر تیوباربیوتیک اسید (۴/۹۴ میلی گرم مالون دی آلدئید/کیلوگرم چربی) در تیمار شاهد مشاهد شد (P<۰/۰۵) و کمترین مقادیر تیوباربیوتیک اسید در نمونه‌های حاوی ۲ درصد رنگدانه مشاهده شد (P<۰/۰۵). پایین بودن میزان TBA در نمونه‌های حاوی رنگدانه پرودی جیوسین می‌تواند به دلیل اثر آنتی‌اکسیدانی رنگدانه در کاهش تیوباربیوتیک اسید باشد (۶). چرا که بر اساس مکانیسم یک مولکولی و دو مولکولی، زمانی که مقادیر هیدروپراکسید کم باشد سرعت تشکیل این ترکیبات سریعترازشکستگی آن‌ها است(۵).

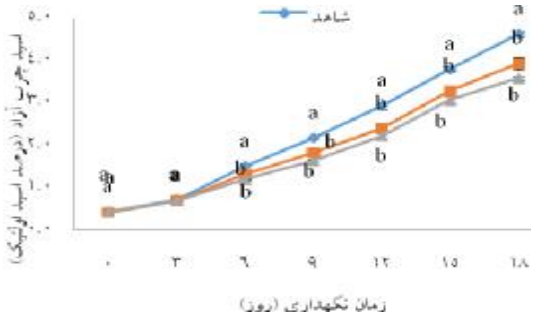


شکل ۲- تغییرات مقادیر تیوباربیوتیک اسید در فیله ماهی طی دوره نگهداری در یخچال.

1-Thiobarbituric Acid

۳-۳- تغییرات اسید چرب آزاد طی دوره نگهداری

اسیدهای چرب آزاد در نتیجه فساد آنزیمی و یا میکروبی چربی ایجاد می‌شوند. اگر چه گزارش‌های موجود اسیدچرب آزاد را به عنوان عامل مستقیم افت کیفیت بیان نکرده‌اند، اما افزایش مقادیر آن باعث افزایش اکسیداسیون چربی، ایجاد طعم نامطلوب[1]، تغییرات بافتی و در نهایت کاهش کیفیت محصول می‌شود(۲۱، ۲۲). با توجه به نتایج (شکل ۳) در تمامی روزها بیشترین مقادیر اسید چرب آزاد (۴/۶۳درصد اسید اولئیک در روز هجدم) در تیمار شاهد ($P<۰/۰۵$) و کمترین مقادیر اسید چرب آزاد(۳/۵۸درصد اسید اولئیک در روز هجدم)در تیمارهای حاوی رنگدانه پرودی جیوسین مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) رنگدانه پرودی جیوسین به علت دارا بودن فعالیت ضد اکسیدانی می‌تواند علاوه بر مهار مستقیم رادیکال‌های آزاد از تجمع سوپراکسید و رادیکال آزاد هیدروکسی از طریق ممانعت از فعالیت آنزیم اکسیداز گزانتین[2]جلوگیری کند. این آنزیم طی فرآیند تولید اسید اوریک، بازهای آلی پورین را به سوپراکسید و رادیکال‌های آزاد هیدروکسی تغییر می‌دهد(۲۲). وجود تفاوت معنی دار در مقادیر اسیدهای چرب آزاد در نمونه شاهد نسبت به نمونه‌های تیمار شده بیانگر اثرآنتی‌اکسیدانی رنگدانه پرودی جیوسین در کاهش روند فساد است



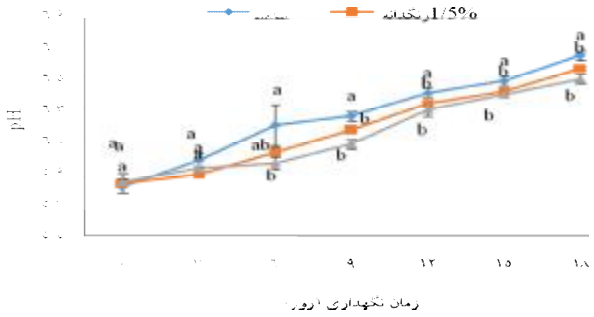
شکل ۳- تغییرات اسید چرب آزاد در فیله ماهی طی دوره نگهداری در یخچال.

1 -Off-flavor

2-Xanthin oxidase

۳-٤- تغییرات مقادیر pH طی دوره نگهداری

متابولیسم میکروبی باکتری‌های پروتئولیتیک و فعالیت آنزیم‌های درونی منجر به تولید ترکیبات فرار از قبیل آمونیاک و تری‌متیل‌آمینو در نهایت افزایشpH طی زمان نگهداری می‌شود (۲۰). pH یک شاخص مهم و موثر در کیفیت ماهی می‌باشد. نوع گونه، تغذیه، دما و ظرفیت تامپونی گوشت در تغییرات pH موثر می‌باشد. پس از مرگ، pH تاثیر گذارترین فاکتور بر روی بافت گوشت و میزان از هم گسیختگی بافت پیوندی است. یکی از دلایل این امر، آن است که تغییرات کم pH، شدیدا بر روی خصوصیات بافت پیوندی اثر می‌گذارد(۱۴). مطابق نتایج شکل ۴ با افزایش زمان، مقادیر pH در تمامی تیمارها افزایش یافت (P<۰/۰۵). تجزیه ترکیبات نیتروژنی در طول نگهداری ماهی منجر به افزایش pH گوشت می‌شود که بخشی از این افزایش ممکن است مرتبط با تولید ترکیبات آلکالین باشد. چنین افزایشی در pH می‌تواند نشانگر رشد باکتری‌ها،کاهش کیفیت و در نهایت فساد ماهی باشد(۱۴). با توجه به نتایج در تمام روزهای نگهداری بیشترین مقادیر pH (۶/۶۶) در تیمار شاهد مشاهد شد (P<۰/۰۵). با افزودن رنگدانه مقادیر pH کاهش یافت به طوری‌که در کل زمان‌های نگهداری کمترین مقدار pH در تیمارهای حاوی رنگدانه پرودی‌جیوسین مشاهده شد (P<۰/۰۵).تیمارهای حاوی رنگدانه در روزهای مختلف نگهداری اختلاف معنی داری با هم نداشتند (P<۰/۰۵).پایین بودن pH در فیله‌های تیمار شده با رنگدانه، به اثرآنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی رنگدانه مربوط می‌شودکه فیله‌های ماهی را در مقابل عملکرد پروتئازهای داخلی حفاظت می‌کند و در نتیجه باعث بازدارندگی‌از شکسته شدن پروتئین‌ها و تولید آمین‌ها می‌گردد (۱۱؛۶).



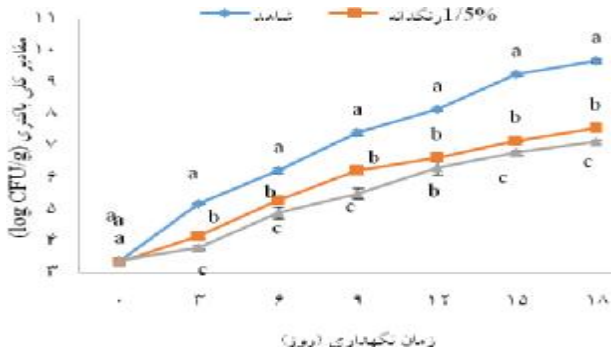
شکل ٤-تغییرات pH در فیله ماهی طی دوره نگهداری در یخچال.

۳-۵-تغییرات مقادیر کلی باکتری(TVC[1]) طی دوره نگهداری

شمارش کلی باکتری‌ها معیاری برای پی بردن به کیفیت بهداشتی یک محصول است که غیر قابل مصرف بودن محصول را بیان می‌کند.با توجه به نتایج مقادیر ابتدایی TVC در تیمارها بین ۳/۳۵- ۳/۴۰ log CFU/g بود. این تعداد کلونی نشان دهنده کیفیت خوب فیله‌های مورد استفاده بود (۲۶). مقادیر TVC (شکل ۵) در تمامی تیمارها با افزایش زمان به‌طور معنی داری افزایش یافت و این افزایش در تیمار شاهد بیشتر بود (P<۰/۰۵).با توجه به نتایج آنالیز آماری در اکثر روزهای نگهداری کمترین مقدار باکتری کل در تیمار رنگدانه ۱/۵٪رنگدانه پرودی‌جیوسین و بیشترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد(P<۰/۰۵). اثر ضدباکتریایی پرودی جیوسین نتیجه توانایی عبور از غشاء و قابلیت مهارکنندگی آنزیم‌های هدف مانند DNA gyrase و توپوایزومراز IV است که موجب مهار رشد سلول می‌شود(۲۸) بررسی‌اثر ضد باکتریایی رنگدانه پرودی-جیوسین‌نشان داد غلظت ۰/۰۷، ۰/۰۸ و ۰/۰۹ این رنگدانه در محیط آزمایشگاهی توانست باکتری‌های گرم مثبت و منفی

1-Total Viable Couunt

را مهار کند و میزان فعالیت ضدمیکروبی آن با افزایش غلظت رنگدانه بیشتر شد (۱). پژوهشگران دیگرنیز اعلام نمودند رنگدانه‌های پرودی جیوسین دارای اثرضد میکروبی می‌باشند(۱، ۱۵، ۳۱، ۳۳). همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد با افزایش غلظت رنگدانه پرودی جیوسین، اثر ضدباکتریایی رنگدانه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. این نتایج مشابه یافته‌های سایر پژوهشگران بود (۱۵، ۲۸)آن‌ها اعلام نمودند با افزایش غلظت رنگدانه پرودی جیوسین، فعالیت ضد میکروبی آن افزایش می‌یابد. Arivizhivendhan و همکاران (۶) طی تحقیقی اثر ضد میکروبی رنگدانه پرودی جیوسین را بر علیه ۶ باکتری پاتوژن مواد غذایی *E. coli*، *B. cereus*، *S. aureus*، *C. botilinum* ، *V. vulnificus*، *S. entertids* مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد رنگدانه پرودی‌جیوسین توانست به‌خوبی مانع رشد باکتری‌های مورد بررسی شود. آن‌ها دلیل این امر را حضور گروه‌های متوکسی دهنده پروتون در مولکول پرودی جیوسین بیان نمودند. طبق پژوهش‌های موجود میزان۷ log CFU/g سطح مورد قبول برای مجموع TVC است (۱۷). با توجه به این گزارش‌ها در ارتباط با TVC تیمار شاهد تنها تا ۷ روز و تیمار حاوی ۱/۵٪ رنگدانه تا ۱۴ روز و تیمار حاوی ۲٪ رنگدانه تا ۱۷روز از محدوده قابل قبولی برخوردار بود.



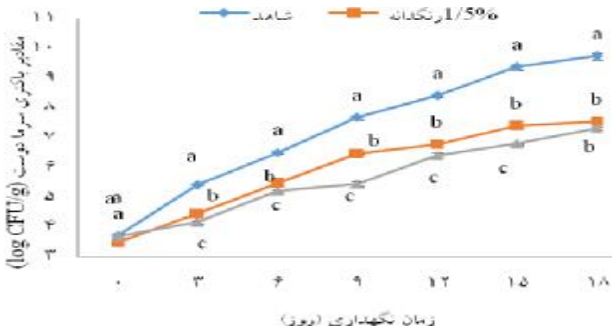
شکل ۵- تغییرات باکتری کل در فیله ماهی طی دوره نگهداری در یخچال.

۳-۶-تغییرات مقادیر باکتری سرمادوست(PTC[1]) طی دوره نگهداری

گروه اصلی میکروارگانیسم‌های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد، باکتری‌های سرما دوست گرم منفی هستند (۱۶). نتایج مربوط به مقادیر کلی باکتری‌ها و مقادیر باکتری سرمادوست(شکل ۶) باهم، هم خوانی دارد. به‌طوری‌که با افزایش زمان، مقادیر باکتری سرمادوست در تمامی تیمارها افزایش یافت و این افزایش در تیمار شاهد بیشتر بود (P<۰/۰۵). با توجه به نتایج آنالیز آماری در اکثر روزها بیشترین و کمترین مقادیر باکتری سرمادوست به ترتیب در تیمار شاهد و تیمار رنگدانه ۲٪ مشاهده شد(P<۰/۰۵). اما در روز هجدهم نگهداری مقادیر باکتری سرمادوست در دو تیمار حاوی رنگدانه اختلاف معنی داری با هم نداشتند (P>۰/۰۵). علت پایین‌تر بودن مقادیر باکتری سرمادوست در تیمارهای حاوی رنگدانه پرودی‌جیوسین می‌تواند فعالیت ضد میکروبی رنگدانه باشد. در حقیقت، اثرضد میکروبی این ترکیبات در نتیجه واکنش آن‌ها با آنزیم‌های سلول‌ها و اسپورهای رویشی می‌باشد، که سبب محدود کردن استفاده از آهن، تغییردر قابلیت نفوذ پذیری غشا و ایجاد منفذهای در غشای سلولیوکاهش حمل و نقل مواد مغذی، اکسیژن و متابولیت‌هامی‌شود(۲۳،۳۱). طبق گزارش‌های موجود میزان ۷log CFU/g سطح مورد

1-Psychrotrophic Counts

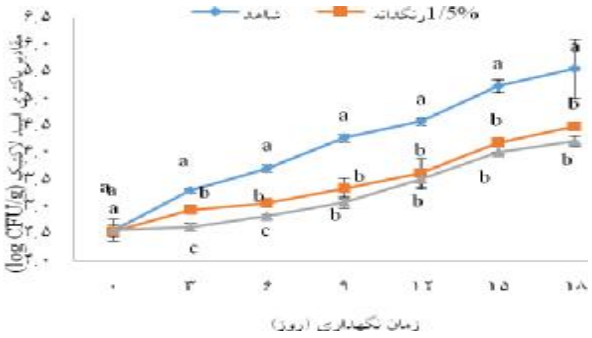
قبول برای مجموع PTC است (۱۷). با توجه به اینگزارش‌ها در ارتباط با TVC تیمار شاهد تنها تا ۸ روز و تیمار حاوی ۱/۵٪ رنگدانه تا ۱۴ روز و تیمار حاوی ۲٪ رنگدانه تا۱۷روز از محدوده قابل قبولی برخوردار بود.



شکل ٦- تغییرات باکتری سرمادوستدر فیله ماهی طی دوره نگهداری در یخچال.

۳-۷-تغییرات مقادیر باکتری اسید لاکتیک (LAB[1]) طی دوره نگهداری

باکتری‌های اسید لاکتیک، گونه‌هایی از باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری هستند. این باکتری‌ها جزء باکتری‌های گرم مثبت، نیمه متحرک و بدون قابلیت تولید اسپور و با حداقل تمایل به اکسیژن[2] هستند که تولید اسید لاکتیک درآن‌هابه عنوان محصول نهایی متابولیسم تخمیر قندها می‌باشد(۲۰). با افزایش زمان نگهداری مقادیر باکتری اسید لاکتیک (شکل ۷) در تمامی تیمارها افزایش یافت و این افزایش در تیمار شاهد بیشتر بود ($P<0/05$) با افزودن رنگدانه پرودی‌جیوسین مقادیر اسید لاکتیک کاهش یافت به‌طوری‌که در تمامی زمان‌ها کمترین مقادیر در تیمارهای حاوی رنگدانه مشاهده شد ($P<0/05$)، که می‌تواند به‌دلیل اثر ضد باکتریایی رنگدانه‌های طبیعی باشد.



شکل۷-تغییرات باکتری اسید لاکتیک در فیله ماهی طی دوره نگهداری در یخچال.

1-Lactic Acid Bacteria
2--Microaerophilic

٤- نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف (۱/۵، ۲٪) رنگدانه پرودی جیوسین استخراج شده از *Serratia marcescens* بر کنترل کیفیت و ماندگاری فیله ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد استفاده از رنگدانه با کاهش عدد پراکسید، تیوباربیوتیک اسید، اسید چرب آزاد و تغییرات میکروبی، کیفیت فیله ماهی را در طول دوره نگهداری بهبود بخشید. همچنین با افزایش غلظت رنگدانه نتایج بهتری مشاهده شد به طوری‌که رنگدانه با غلظت ۲٪ توانست عمر ماندگاری فیله ماهی کپور را تا ۱۰ روز نسبت به تیمار شاهد افزایش دهد. بنابراین به نظر می‌رسد، استفاده ازرنگدانه پرودی‌جیوسین می‌تواند تقاضای مصرف‌کنندگان به مواد غذایی عاری از مواد شیمیایی را تامین نموده و نیاز آن‌ها به مواد غذایی با کیفیت بالا و ایمن‌تر را تامین نماید.

٥- منابع

۱. حسینی، ا.، فتاحی، ا. و هدایتی فرد، م. ۱۳۹۵. اثرضد میکروبی رنگدانه پرودی جیوسین بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا تلقیح شده به فیله ی ماهی قزل الای رنگین کمان، پنجمین همایش سراسری کشاورزی و منابع طبیعی پایدار، قوچان.

۲. رضوی شیرازی، ح. ۱۳۸۰. تکنولوژی فراورده های دریایی اصول نگهداری و عمل آوری، جلد ۲، انتشارات نقش مهر، تهران، صفحات ۱-۲۹۲.

3. Abdollahzadeh, E., Rezaei, M. and Hosseini, H. 2014. Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control*, 35: 177-183.
4. AOAC. 2005. Official Method of Analgsis (17th ed). Washington, DC: Association of Official Analytical chemists.
5. Arivizhivendhan, K.V., Mahesh, M., Boopathy, R., Swarnalatha, S., Regina Mary, R. and Sekaran, G. 2018. Antioxidant and antimicrobial activity of bioactive prodigiosinproduces from Serratia marcescens using agricultural wasteas a substrate. *Food Science and Technology*, 55 (7): 2661-2670.
6. Ben-Gigirey, B., De Sousa, J.M., Villa, T.G. and Barros-velazqez, J. 1999 .Chemical changes and visualappearance of albacore tuna as related to frozen storage . *Food Science*, 64: 20-24.
7. Burt, S. 2004. Essentialoils: their antibacterial propertied and potential application in foods-a review. *Food Mashinicrobiology*, 94 (3): 223- 253.
8. Choobkar, N., Soltani, M., Ebrahimzadeh Mousavi, H. A., Akhonzadeh Basti, A. and Matinfar, A. 2010. Effect of *Zataria multiflora Boiss*. Essential Oil on the Growth of Staphylococcus aureus in the Light Salted Fillets of Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 9: 352- 359.
9. Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B. and Mazza, G. 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Food Microbiology*, 74: 101–109.
10. Egan, H., Kirk, R.S., Sawyer, R. 1997. Pearson's chemical analysis of food. 9th ed. Edinburgh .Scotland. U.K: Churchill Livingstone. 609–34.
11. Fan, W.J., Sun, Y., Chen, J., Qiu, Y. and Zhang, Y. Chi. 2009. Effects of chitosan coating an qulity and shelf life of silver carp during frozen storage.*Food Chemistry*, 115: 66-70.
12. Gomes, H.A., Silva, E.N., Nascimento, M.R.L. and Fukuma, H.T. 2003. Evaluation of the 2- thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chemistry*, 80: 433-437.
13. Gulani, C., Bhattacharya, S. and Das, A. 2012. Assessment of process parameters influencing the enhanced production ofprodigiosin from Serratia marcescens and evaluation of its antimicrobial, antioxidant and dyeing

14. Huss, H.H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish. FAQ Fisheries Technical Paper No 348. FAO, Rome
15. Ibrahim, D., Nazari, T., Kassim, J. and Lim, S. 2014. Prodigiosin - an antibacterial red pigment produced by *Serratia marcescens* IBRL USM 84 associated with a marine sponge *Xestospongia testudinaria Applied Pharmaceutical Science*, 4: 10. 001-006.
16. Ibrahim Sallam, K. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon.*Food Control*, 18: 566-75.
17. ICMSF. 1986. Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological analysis (2nd ed.). Toronto: University of Toronto Press.
18. Javadian, S.R., Shahoseini, S. R. and Ariaii, P. 2016. The effects of liposomal encapsulated thyme extract on the quality of fish mince and Escherichia coli O157: H7 inhibition during refrigerated storage. *Aquatic Food Product Technology*, 26 (1): 115-123.
19. Kamble, K.D., andHiwarale, V. D. 2012. Prodigiosin production from Serratia marcescens strains obtained from farm soil. *Environmental Sciences*, 3 (1): 631-638.
20. Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I.N. and Kontominas, M.G. 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: 475-482.
21. Losada, B. and Aubourgs, G. 2007. Rancidity development in frozen pelagic fish: inflaece of slurryice as preliminary chilling treatment. *Food Science and Technology*, 40: 991-9.
22. Lugasia, A., Losadab, V., Hovari, J., lebovicsav, J. and Aubourg S. 2007. Effect of pre- soaking whole pelagic fish in a plant extravt on sensory and biochemical changed duting subsequent frozen storage. *Food Science and Technology*, 40: 930-60.
23. Mekhael, R. and Yousif. S. 2009. The role of red pigment produced by *Serratia marcescens* as antibacterial and plasmid curing agent. The University of Duhok, 12: 268-274.
24. Morita, Y., Kondoh, K., Hasan, Q., Sakaguchi, T., Murakami, Y., Yokoyama, K.et al.1997. Purification and characterization of a cold-active protease from *psychrotrophic Serratia marcescens* AP3801. *American Chemical Society*, 74: 1377-1383.
25. Natseba, A., LwaliRda, I., Kakura, E., MuyaBja, C.K. and Muyoaga, J.H. 2005. Effect of prefreezingicing duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*). *Food ResearchInternational*, 38: 469-474.
26. Nishimoto, J., Suwetja, I. K. and Miki., H. 1985. Estimation of keepimg freshness period and practical storage life of mackerel muscle during storage at low temperatures. *Memoirs of the Faculty of Fisheries kagoshima universit*y. 34(1): 89-69.
27. Ozyurt, G., Polat, A. and Tokur, B. 2007. Chemical and sensory changes in frozen (-18ºC) wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) captured at different fishing seasons. *Food Science and Technology*, 42: 887–893.
28. Ramina, D., Nair, A. and Krithika, K. 2014. Optimization of cultural conditions for the production of prodigiosin by*Serratia marcescens* andscreening for the antimicrobial activity of prodigiosin. *pharma and biosciences*, 5 (3): 383 – 392.
29. Shirata, A., Tsukamoto, T., Yasui, H., Kato, H., Hayasaka, S. and Kojima. A. 1997. Production of bluish-purple pigments by Janthinobacterium lividum isolated from the raw silk and dyeing with them. *Sericultrul. Science of. Jpnan*, 66: 377-385.
30. Sonboli. A., Esmaeili, M. A., Gholipour, A. and Kanani, M.R. 2010. Composition, cytotoxicity and antioxidant activity of the essential oil of *Dracocephalum surmandinum* from Iran. *Natural Product Communication*,5(2): 341-4.
31. Vendruscolo, F., Tosin, I., José Giachini, A., Schmidell, W. and Luiz Ninow, J. 2014. Antimicrobial potentials. *Malaysian Journal of Microbiology*, 8(2): 116-122.

Activity of *Monascus* Pigments Produced in Submerged Fermentation. *Food Processing and preservation*, 38 (4): 1860- 1865.

32. Vidya, S.R.G. and Srikar, L.N. 1996. Effect of preprocess ice storage on the lipid changes of Japanese threadfin bream (*Nemipterus japonicas*) mince during frozen. *Asian Fisher Science*, 9: 109-114.

33. Vijayalakshmi, K. and Jagathy, K. 2016. Production of Prodigiosin From *Serratia marcescens* and its antioxidant and anticancer potential. *Advaced Research in Biological Sciences*, 3(3): 75-8

(Original Research Paper)

Study of the Effect of Extracted Pigment from *Serratia marcescens*on Quality and Shelf Life of Refrigerated Carp (*cyprinus carpio)*

Zahra Seddighi[1], Somayyeh Bahram[2*]

1-MS.c Students of Sea Food Processing, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.

2- Department of Fisheries, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.

Received:16/07/2018 Accepted:20/07/2019

Abstract

Prodigiosin is a red color pigment extracted by the bacterium *Serratia marcescens* and it has antimicrobial and antioxidant properties. In this study, the effects of different concentrations (1.5, 2%) of prodigiosin on the shelf life and quality of crap fillet during chilled storage (4+1 °C) were examined over a period of 18 days. The treatment were analyzed on days 0, 3, 6, 9, 12, 15, and 18 by bacteriological (total viable counts (TVC), total psychrotrophic counts (PTC) and lactic acid bacteria (LAB)) and biochemical (Peroxide value (PV), Thiobarbithic acid (TBA), free fatty acid (FFA), and pH) tests. Prodigiosin at 2% efficiently retarded lipid oxidation by decreasing PV, FFA and TBA production in the samples and it had the lowest pH, TVC, PTC and LAB, as well as this treatment had acceptable microbial parameters attributes up to eighteenth days of storage period. According to result prodigiosin with 2% concentration canrecommended as a natural antimicrobial and antioxidant in meat products.

Keywords: *Serratia marcescens*, Pigment, *cyprinus carpio*, Antimicrobial Activity, Antioxidant Activity.

*Corresponding Author: Bahramsomi@gmail.com