

تأثیر عصاره آزاد و انکپسوله رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر رفتار استافیلوکوکوس اورئوس و برخی پارامترهای میکروبی و شیمیایی در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نگهداری شده در ۴ درجه سانتی‌گراد

هدی کاویانی چراتی^۱، * مهشید شاملوفر^۲ و سیده‌زهره اسیدالنگی^۳

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد دانشکده منابع طبیعی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران،

^۲ گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران،

^۳ گروه شیمی، دانشکده منابع طبیعی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۲/۳؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۵

چکیده

رشد میکروبی و اکسیداسیون لیپیدها یکی از دلایل اصلی فساد گوشت و فرآورده‌های گوشتی است که تغییرات نامطلوبی در این فرآورده‌ها ایجاد می‌کند و در نتیجه، باعث بروز مسمومیت‌های غذایی و مرگ و میر مصرف‌کنندگان و همچنین ایجاد خسارت‌های قابل‌ملاحظه اقتصادی می‌شود. به‌منظور ارزیابی رفتار باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (عامل مسمومیت غذایی) و سنجش برخی از پارامترهای میکروبی و شیمیایی، فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان آغشته به استافیلوکوکوس اورئوس در معرض پلی‌فنول‌های عصاره رازیانه (به فرم آزاد و انکپسوله) در دو غلظت (۰/۱، ۰/۳ درصد) قرار گرفته و در دمای یخچال به‌مدت ۱۵ روز نگهداری شدند. عوامل شیمیایی و میکروبی مورد بررسی شامل شاخص پراکسید، شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش باکتری‌های سرمادوست و شمارش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بودند. نتایج بررسی عوامل شیمیایی و میکروبی نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای عصاره آزاد و انکپسوله رازیانه بود ($P < 0/05$). نتایج بیانگر آن است که عصاره رازیانه به‌خصوص در فرم انکپسوله آن و در غلظت بالا مؤثرتر از فرم آزاد آن بوده است و منجر به کندتر شدن روند رشد شمارش کلی باکتری‌ها، باکتری‌های سرمادوست و تعداد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و کاهش شاخص پراکسید به‌طور معنی‌داری ($P < 0/05$) در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود. بنابراین استفاده از فرم انکپسوله رازیانه (به‌ویژه در غلظت ۰/۳ درصد) می‌تواند به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد گردد.

واژه‌های کلیدی: ارزیابی میکروبی و شیمیایی، استافیلوکوکوس اورئوس، افزایش ماندگاری، عصاره آزاد و انکپسوله گیاه رازیانه، فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

مقدمه

ناشی از غذا و همچنین فساد مواد غذایی در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه مشکل عمده‌ای برای سلامت انسان و اقتصاد محسوب می‌شود. در طول نگهداری، خصوصیات کیفی انواع گوشت‌ها به‌خصوص ماهی در اثر فساد باکتریایی و اکسیداتیو

علی‌رغم پیشرفت در مراقبت‌های پزشکی و تکنولوژی مواد غذایی که در سال‌های اخیر صورت گرفته است هنوز هم عفونت‌ها و مسمومیت‌های

* نویسنده مسئول: shamloofar@gmail.com

کاهش می‌یابد. فساد اکسیداتیو باعث ایجاد بوی نامطبوع، تغییرات نامطلوب در طعم، تغییر در ساختمان مواد مغذی و کاهش ارزش غذایی محصول می‌شود در حالی که فساد و آلودگی میکروبی منجر به هدر رفتن محصول و ایجاد خطرات جدی در سلامت غذایی مصرف‌کنندگان می‌شود (Etemadi و همکاران، ۲۰۰۸). بنابراین استفاده از موادی مناسب با فعالیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی به منظور بهبود کیفیت، افزایش عمر ماندگاری انواع گوشت و در عین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی ضروری و مفید می‌باشد (Cheng و Yin، ۲۰۰۳). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و نگهدارنده‌های ضد میکروبی یکی از مهم‌ترین روش‌های جلوگیری از فساد اکسیداتیو و باکتریایی گوشت ماهی و سایر محصولات گوشتی می‌باشد. در این ارتباط آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات نگهدارنده سنتزی سال‌هاست که برای کنترل فساد مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Botsoglou و همکاران، ۲۰۰۳). با اثبات اثرات زیان‌بار این نگهدارنده‌های شیمیایی بر سلامت انسان، توجه پژوهشگران و همچنین مردم به سمت استفاده از افزودنی‌های طبیعی به خصوص با منشأ گیاهی در فرمولاسیون غذا جلب شده است (Shahidi و همکاران، ۲۰۰۶). عصاره‌های گیاهی از جمله ترکیبات طبیعی هستند که دارای ترکیبات پلی‌فنولیک بوده و همچنین خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها توسط پژوهشگران مختلف به اثبات رسیده است (Burt، ۲۰۰۴؛ Oussalah و همکاران، ۲۰۰۷؛ Mejholm و Dalgaard، ۲۰۰۲). آن‌ها می‌توانند به‌عنوان یک منبع خوب از عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی در برابر عوامل بیماری‌زای مواد غذایی به‌کار گرفته شوند. برای مثال در برخی از مطالعات منتشر شده امکان استفاده از اسانس‌های گیاهی مانند دارچین و میخک به‌عنوان ترکیبات ضد میکروبی و

آنتی‌اکسیدانی طبیعی در شیر و گوشت ماهی همچنین مریم گلی و آویشن برای نگهداری پنیر پیشنهاد شده است (Arashisara و همکاران، ۲۰۰۴؛ Hernández و همکاران، ۲۰۰۹). از جمله ترکیبات پلی‌فنولیک موجود در عصاره رازیانه (*Foeniculum vulgare*) تیمول و کارواکرول می‌باشد (Burt، ۲۰۰۴؛ Bagamboula و همکاران، ۲۰۰۴). اسانس و عصاره‌های گیاهی و ترکیبات پلی‌فنولیک مؤثر آن‌ها در برابر انواع گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت فعال شناخته شدند. معمولاً باکتری‌های گرم منفی به دلیل داشتن دیواره لیپوبیلی ساکاریدی در غشاء خارجی خود نسبت به باکتری‌های گرم مثبت در برابر پلی‌فنول‌های اسانس و عصاره‌ها مقاومت بیشتری نشان می‌دهند. از جمله باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد، استافیلوکوک‌ها نمونه بارزی از کوکسی‌های عفونت‌زا و چرک‌زا می‌باشند. کلنی این باکتری سیاه رنگ با هاله رسوبی کدر است. این باکتری، آنزیم کوآگولاز تولید می‌کند و این آنزیم باعث لخته شدن خون می‌شود (پاکزاد، ۱۳۹۱). به‌منظور بررسی رفتار این باکتری در برابر پلی‌فنول‌های عصاره گیاهی رازیانه میزان $\log_{10} \text{CFU/G}$ به نمونه‌های فیله ماهی مورد مطالعه تلقیح شد. یک استراتژی جالب برای کاهش دوز مصرفی عصاره همراه با حفظ اثر بخشی آن‌ها می‌تواند انکپسوله کردن عصاره موردنظر باشد، انکپسولاسیون به‌عنوان یک تکنولوژی برای قرار دادن مواد جامد، مایع، گاز در کپسول‌های کوچک مطرح است. کپسول‌هایی که می‌توانند محتویات خود را تحت شرایط خاص و رهایش کنترل شده^۱ آزاد کنند. این تکنولوژی با حفاظت مواد در برابر اکسیداسیون و آنتی‌باکتریال در طول مدت تولید و نگهداری از ایجاد عطر و طعم نامطلوب جلوگیری

1- Controlled release

مواد و روش‌ها

در تابستان ۱۳۹۳، تعدادی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط ۷۰۰ گرم، به صورت زنده از یک استخر پرورش ماهیان سردآبی در ساری خریداری شده، پس از صید، سر و دم‌زنی، تخلیه امعاء و احشاء و شستشو با آب تمیز، در یخچال یونولیتی حاوی یخ، در مدت ۳۰ دقیقه، به آزمایشگاه میکروبیولوژی پژوهشکده اکولوژی خزر ساری انتقال داده شدند.

عصاره گیری: به منظور تأثیرگذاری بهتر پلی‌فنول‌های موجود در گیاه رازیانه عصاره‌گیری به روش خیساندن^۱ و با استفاده از حلال اتانول صورت گرفت. مقدار ۳۰۰ گرم از دانه رازیانه پس از آسیاب کردن، درون ظروف عصاره‌گیری ریخته شده و به میزان چهار برابر وزن رازیانه، اتانول (هشتاد درصد) اضافه و به مدت دو روز روی شیکر در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. سپس محلول به دست آمده توسط کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف و درون روتاری (Heidolpn، آلمان) ۵۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد برای تبخیر حلال قرار داده شد (Smith-Palmer، ۱۹۹۸).

انکپسوله کردن عصاره رازیانه: ماده‌ای که برای انکپسوله کردن رازیانه مورد استفاده قرار گرفت صمغ عربی بود، صمغ عربی به واسطه ویژگی‌های بی‌نظیر خود نقش مهمی در انکپسولاسیون مواد غذایی و افزودنی‌ها دارد (Gómez-Estaca، ۲۰۱۰). از این صمغ در صنایع غذایی به عنوان پایدارکننده استفاده می‌شود. تهیه صمغ عربی به شکل تجاری و ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه با اسید لینولئیک به مقدار ۰/۱۳۰ درصد (به عنوان سورفاکتانت) در دمای ۴۰ درجه شیک شد (pH=۴/۵). پس از اتمام زمان انکوباسیون، رازیانه به مخلوط صمغ عربی سورفاکتانت اضافه و به مدت ۲ ساعت در دمای محیط شیک شد. مخلوط

کرده و مانع از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای و متابولیکی آن‌ها می‌شود (Han و Shahidi، ۱۹۹۳). مطالعات انجام شده روی برخی از انواع ماهیان همراه با اثربخشی پلی‌فنول‌های سایر عصاره‌ها علاوه بر جلوگیری از اکسایش لیپید و فساد میکروبی از تغییرات رنگ گوشت ماهی در طول دوره نگهداری نیز جلوگیری و باعث افزایش کیفیت گوشت ماهی از نظر فاکتورهای حسی می‌شود. از جمله این مطالعات می‌توان به پژوهش Etemadi و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی پتانسیل آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اشاره نمود که نتایج حاصله نشان داد، اکسیداسیون لیپیدها و بار باکتریایی در فیله‌های ماهی در معرض عصاره رزماری به طور معنی‌داری نسبت به تیمار فاقد عصاره رزماری کاهش نشان داد. همچنین Sotuneh و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر عصاره آزاد و ریزپوشانی شده پونه کوهی (*Origanum vulgare*) بر تغییرات شیمیایی، میکروبی و رفتار باکتری سودوموناس فلورسانس در گوشت چرخ‌شده ماهی کیلکا معمولی بررسی کردند. نتایج نشان داد که عصاره پونه کوهی به خصوص فرم ریزپوشانی شده آن، به ویژه در غلظت ۰/۵ درصد مؤثرتر از فرم معمولی آن بوده است و منجر به کندتر شدن تغییرات عدد پراکسید، باکتری‌های مزوفیل و سرماگرا سودوموناس فلورسانس در گوشت چرخ‌شده ماهی کیلکا معمولی گردید (Sotuneh و همکاران، ۲۰۱۶). از آنجا که تاکنون مطالعه‌ای در زمینه تأثیر عصاره رازیانه به خصوص در فرم انکپسوله (فرم مؤثر) بر ماندگاری گوشت ماهی انجام نگرفته است، هدف از این پژوهش ارزیابی اثر پلی‌فنول‌های عصاره آزاد و فرم انکپسوله رازیانه بر افزایش ماندگاری میکروبی و اکسیداتیو گوشت ماهی تازه قزل‌آلای رنگین‌کمان در شرایط یخچالی می‌باشد.

1- Macetation

بیپت پخش شد و در ادامه، فیله‌های آغشته به عصاره رازیانه داخل یخچال در دمای 4 ± 1 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس تیمارها که شامل یک تیمار شاهد فاقد عصاره رازیانه بود، به مدت ۱۵ روز در فواصل زمانی ۳ روز یکبار (روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵) مورد آزمایش شیمیایی و میکروبی قرار گرفتند.

اندازه‌گیری پراکسید: ۱۵ گرم از گوشت بدون استخوان ماهی خوب میکس شده، در دکانتور قرار داده شد، سپس ۶۰ سی‌سی کلروفرم (شارلو) و بعد ۶۰ سی‌سی متانول (مرک)^۱ به آن افزوده شد. پس از ۱۲-۲۴ ساعت، ۳۶ سی‌سی آب مقطر به نمونه افزوده شد و به مدت ۱-۲ ساعت استراحت داده شد تا ۳ فاز تشکیل شود. با دقت، ۲۰ سی‌سی از فاز پایین، درون ارلن انتقال یافته، ۱۵ سی‌سی اسید استیک (اپلیکم) کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) به آن افزوده شد. سپس ۰/۵ سی‌سی محلول یدور پتاسیم (مرک) اشباع، ۳۰ سی‌سی آب مقطر به محتویات ارلن اضافه شده، به مدت ۱ دقیقه استراحت داده شد و بعد مقدار ۰/۵ سی‌سی معرف نشاسته ۱ درصد به آن اضافه شد و درب ارلن را گذاشته، محلول به شدت تکان داده شد. ید آزاد شده، باعث تغییر رنگ محلول شد که با محلول تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال (مرک)، تیترا شد (Sallam, ۲۰۰۷؛ Shahidi, ۱۹۹۳). سپس با استفاده از رابطه زیر، میزان پراکسید محاسبه گردید (AOAC, ۲۰۰۵).

وزن نمونه روغن/۱۰۰ × نرمالیت × حجم مصرفی
تیوسولفات = عدد پراکساید

آنالیز میکروبی نمونه‌ها: برای شمارش باکتریایی نمونه‌ها، ابتدا ۱۰ گرم از نمونه گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شرایط استریل با ۹۰ میلی‌لیتر محلول نمک طعام ۰/۸۵ درصد با کمک همزن هم‌وزن شد. از

مذکور در دستگاه اسپری درایر (UK Ltd YO14 OPH, Lab-plant، انگلستان) با سرعت ۵/۲۶ میلی‌لیتر بر دقیقه و با در نظر گرفتن ۱۰۰ درصد هوادهی، دمای ورودی ۱۰۵ درجه و دمای خروجی ۶۸ درجه خشک شد. قابل به ذکر است نسبت صمغ به رازیانه ۴ به ۱ بود (Jafari و همکاران، ۲۰۰۸).

تلقیح باکتری استافیلوکوکوس اورئوس: باکتری استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 1112 از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. در ابتدا این کشت لیوفلیزه در محیط آبگوشت BHI در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت دو مرتبه به‌طور متوالی تجدید کشت داده شد. سپس کشت دوم به نسبت پنج به یک با گلیسرین استریل مخلوط شد و در قسمت‌های مساوی در لوله‌های میکروسانتریفیوژ اپندرف استریل در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس لوله‌های کووت حاوی ۵ میلی‌لیتر آبگوشت BHI استریل تهیه گردید. مقادیر مختلفی از کشت آبگوشت BHI ۱۸ ساعته دوم بر روی لوله‌های کووت مذکور برده شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Eppendorf Biophotometer، آمریکا) در طول موج ۶۰۰ نانومتر، جذب نوری لوله‌های مذکور خوانده شد. بدین ترتیب در هر بار انجام آزمایش تعیین لگاریتم درصد احتمال رشد، با مشخص شدن جذب نوری که معادل تقریباً 10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر بود، لوله کووت حاوی تقریباً 10^8 باکتری در میلی‌لیتر مشخص گردید، که این عدد معادل نیم مک‌فارلند می‌باشد. سپس از این سوسپانسیون ۱ سی‌سی برداشته تا در هر سانتی‌متر از فیله ماهی 1×10^6 باکتری موجود باشد (AOAC, ۲۰۰۵).

آغشته ساختن نمونه‌ها به عصاره رازیانه: در آزمایشگاه، به میزان ۱ سی‌سی از عصاره با غلظت (۰/۳، ۰/۱) درصد از فرم آزاد و انکپسوله بر روی سطح فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط میکرو

قرار گرفت. برای تعیین اختلاف بین تیمارها از روش آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA) استفاده شد. در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار بود، برای مقایسه میانگین‌ها آزمون دانکن به کار رفت. خطای مجاز برای رد H_0 ، در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل ۵ درصد در نظر گرفته شد.

نتایج

جدول ۱ میزان عدد پراکسید را طی نگهداری نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که در طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در روز صفر و ۳ در شاخص پراکسید بین فیله‌های تیمار شده با عصاره رازیانه در فرم آزاد و انکپسوله آن در غلظت‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$). همان‌طوری که از نتایج میانگین عدد پراکسید برمی‌آید حداقل میزان پراکسید در بین تیمارهای مختلف مربوط به ابتدای آزمایش و حداکثر مقدار آن در روز ۹ نگهداری $\log_{10} \text{cfu/g}$ ۱۰/۳۸ در تیمار شاهد می‌باشد.

این محلول جهت تهیه رقت‌های متوالی و شمارش باکتریایی موردنظر با قرار دادن در محیط کشت و دمای مخصوص هر باکتری استفاده گردید. تعداد باکتری‌های کل و باکتری‌های سرمادوست در محیط پلیت کانت آگار به ترتیب در دماهای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ روز و ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز با شمارش کلنی‌های موجود بر روی پلیت انجام گرفت. شمارش باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ تا ۳ روز و به روش کشت سطحی انجام پذیرفت. تمامی شمارش‌ها به صورت $\log_{10} \text{CFU/G}$ گزارش گردید (AOAC، ۲۰۰۵).

عکس ضریب رقت \times تعداد کلنی = CFU

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار $SSPS_{16}$ ابتدا بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولمو-اسمیرنوف و سپس همگنی واریانس با استفاده از آزمون لون (Leven) انجام شد. نتایج این آزمون‌ها برای آنالیز آماری داده‌های مربوط به تیمارهای آزمایش مورد استفاده

جدول ۱- تفاوت بین مقادیر میانگین \pm انحراف معیار عدد پراکسید تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در زمان‌های مختلف برای هر تیمار

تیمار	زمان (روز)					
	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد	۱/۳۸ \pm ۰/۰۸ ^{fA}	۳/۴۲ \pm ۰/۱ ^{eB}	۶/۸۳ \pm ۰/۳۵ ^{dC}	۱۰/۳۸ \pm ۰/۲۲ ^{aC}	۹/۶۸ \pm ۰/۱۷ ^{bC}	۸/۵۹ \pm ۰/۱۹ ^{eB}
۰/۱ درصد معمولی	۱/۳۵ \pm ۰/۰۹ ^{fA}	۲/۳۵ \pm ۰/۱ ^{eA}	۵/۶۲ \pm ۰/۲۵ ^{dA}	۹/۲۶ \pm ۰/۲۲ ^{aAB}	۸/۷۵ \pm ۰/۱۷ ^{bB}	۷/۴۶ \pm ۰/۱۹ ^{eA}
۰/۳ درصد معمولی	۱/۲۵ \pm ۰/۰۳ ^{fA}	۲/۳۴ \pm ۰/۰۲ ^{eA}	۶/۲۰ \pm ۰/۱۹ ^{dB}	۹/۳۰ \pm ۰/۰۳ ^{aB}	۸/۵۰ \pm ۰/۲۷ ^{bAB}	۷/۳۷ \pm ۰/۰۷ ^{eA}
۰/۱ درصد انکپسوله	۱/۳۲ \pm ۰/۰۹ ^{fA}	۲/۴۰ \pm ۰/۱۵ ^{eA}	۶/۱۱ \pm ۰/۰۵ ^{dB}	۹/۴۸ \pm ۰/۱۴ ^{aB}	۸/۵۲ \pm ۰/۱۵ ^{bAB}	۷/۴۴ \pm ۰/۱۵ ^{eA}
۰/۳ درصد انکپسوله	۱/۸۲ \pm ۰/۰۵ ^{fA}	۲/۳۸ \pm ۰/۱۱ ^{eA}	۵/۴۰ \pm ۰/۱۴ ^{dA}	۹/۰۵ \pm ۰/۲۲ ^{aA}	۸/۳۸ \pm ۰/۰۶ ^{bA}	۷/۳۵ \pm ۰/۰۹ ^{eA}

میانگین هر تیمار و تکرار آن \pm انحراف معیار از هر تیمار و تکرار آن حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) در روزهای مختلف نمونه‌برداری برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) در یک روز برای تیمارهای مختلف می‌باشد.

انکپسوله هنوز به حد غیرقابل قبول نرسیده است، این در حالی که سایر تیمارها از این حد گذشته‌اند. به‌طور کلی، در روز ۱۵ نگهداری (پایان دوره نگهداری) همه تیمارها از دامنه قابل قبول گذشتند. در پژوهش حاضر تیمار دارای عصاره ۰/۳ درصد انکپسوله در تمام روزهای نگهداری کم‌ترین بار باکتریایی TPC را به خود اختصاص داده و دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد دارای بیش‌ترین بار باکتریایی بود ($P < 0/05$). روند افزایشی در تیمارهای انکپسوله کندتر بوده، به‌طوری‌که تفاوت بین تیمارهای انکپسوله رازیانه به‌ویژه در غلظت ۰/۳ درصد با تیمارهای فرم آزاد رازیانه در طی نمونه‌گیری معنی‌دار بوده است ($P < 0/05$).

تغییرات میزان بار باکتریایی کل (TPC) در جدول ۲ نشان داده شده است. میانگین اولیه TPC برای فیلدها در روز صفر نگهداری $4/59 \log \text{cfu/g}$ بود. در مطالعه حاضر با گذشت زمان نگهداری میزان TPC برای همه تیمارها افزایش یافت. به‌طوری‌که کم‌ترین میزان بار باکتری کل در روز صفر نگهداری و بیش‌ترین این میزان برای همه نمونه‌ها در روز ۱۵ (پایان دوره نگهداری) مشاهده شد. میزان TPC در روز ۶ نگهداری برای همه تیمارها در محدوده قابل قبول به مایه قزل‌آلا $7 \log \text{cfu/g}$ تعلق داشت (Sallam, 2007). اگرچه در این روز، تیمار شاهد با $7/16 \log \text{cfu/g}$ به مرز غیرقابل قبول نزدیک‌تر بود. در روز ۹ نگهداری میزان TPC دو تیمار به فرم

جدول ۲- تفاوت بین مقادیر میانگین \pm انحراف معیار شمارش باکتری‌های کل TPC ($\log \text{cfu/g}$) در زمان‌های مختلف نگهداری برای هر تیمار

تیمار	زمان (روز)				
	صفر	۳	۶	۹	۱۲
شاهد	$4/74 \pm 0/08^{fA}$	$5/78 \pm 0/01^{eA}$	$7/16 \pm 0/13^{dB}$	$8/35 \pm 0/01^{cD}$	$9/92 \pm 0/01^{bE}$
۰/۱ درصد معمولی	$4/72 \pm 0/09^{fA}$	$5/37 \pm 0/04^{eA}$	$6/42 \pm 0/10^{dB}$	$7/42 \pm 0/08^{cD}$	$8/73 \pm 0/08^{bD}$
۰/۳ درصد معمولی	$4/52 \pm 0/08^{fA}$	$4/82 \pm 0/07^{eA}$	$6/20 \pm 0/08^{dB}$	$7/11 \pm 0/03^{cC}$	$7/70 \pm 0/07^{bC}$
۰/۱ درصد انکپسوله	$4/76 \pm 0/07^{fA}$	$4/87 \pm 0/08^{eA}$	$5/65 \pm 0/04^{dB}$	$6/55 \pm 0/06^{cBC}$	$7/44 \pm 0/05^{bB}$
۰/۳ درصد انکپسوله	$4/54 \pm 0/05^{fA}$	$4/59 \pm 0/14^{eA}$	$5/40 \pm 0/02^{dA}$	$6/20 \pm 0/02^{cA}$	$7/14 \pm 0/04^{bA}$

میانگین هر تیمار و تکرار آن \pm انحراف معیار از هر تیمار و تکرار آن حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) در روزهای مختلف نمونه‌برداری برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) در یک روز برای تیمارهای مختلف می‌باشد.

درصد معمولی، ۰/۱ درصد انکپسوله، ۰/۳ درصد انکپسوله حدود $7/44-7/40-8/71 \log \text{cfu/g}$ شمارش شد. در روز ۶ نگهداری میزان بار باکتریایی برای تیمار شاهد به $7 \log \text{cfu/g}$ رسید، در حالی که سایر تیمارها در روز ششم هنوز به این مقدار نرسیده بودند، همچنین تیمار ۰/۱ درصد انکپسوله و ۰/۳ درصد انکپسوله به ترتیب با میزان بار باکتریایی $7/20$ و $7/08$ در روز ۱۲ به لگاریتم ۷ نزدیک شدند.

تغییرات تعداد باکتری‌های سرمادوست فیلدها مایه قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در دمای یخچال در جدول ۳ نشان داده شده است. تعداد اولیه باکتری‌های سرمادوست (روز صفر) برای فیلدها $4/23 \log \text{cfu/g}$ بود. تعداد باکتری‌های سرمادوست نیز همانند باکتری‌های کل با گذشت زمان نگهداری روند افزایشی نشان داد. به‌طوری‌که این تعداد در پایان دوره نگهداری (روز ۱۵) به ترتیب برای تیمارهای شاهد و ۰/۱ درصد معمولی به $10/25 \log \text{cfu/g}$ و $9/75$ رسید. این شاخص در روز ۱۵ نگهداری برای تیمارهای ۰/۳

جدول ۳- تفاوت بین مقادیر میانگین \pm انحراف معیار شمارش باکتری‌های سرمادوست PTC ($\log \text{cfu/g}$)

در زمان‌های مختلف نگهداری برای هر تیمار

تیمار	زمان (روز)					
	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد	۴/۴۴ \pm ۰/۰۶ ^{EA}	۶/۲۶ \pm ۰/۰۳ ^{FB}	۷/۳۶ \pm ۰/۰۱ ^{DC}	۸/۵۲ \pm ۰/۰۱ ^{CD}	۹/۵۸ \pm ۰/۰۳ ^{BD}	۱۰/۲۵ \pm ۰/۰۳ ^{DD}
۰/۱ درصد معمولی	۴/۳۶ \pm ۰/۰۶ ^{FA}	۵/۴۱ \pm ۰/۰۳ ^{EB}	۶/۴۷ \pm ۰/۰۴ ^{DC}	۷/۶۱ \pm ۰/۰۸ ^{CD}	۸/۷۸ \pm ۰/۰۸ ^{BC}	۹/۷۵ \pm ۰/۰۸ ^{DC}
۰/۳ درصد معمولی	۴/۱۲ \pm ۰/۰۹ ^{FA}	۴/۵۰ \pm ۰/۰۶ ^{EA}	۵/۷۹ \pm ۰/۰۵ ^{DB}	۶/۹۲ \pm ۰/۰۳ ^{CC}	۷/۹۹ \pm ۰/۰۶ ^{BB}	۸/۷۱ \pm ۰/۰۶ ^{AB}
۰/۱ درصد انکپسوله	۴/۱۶ \pm ۰/۱۳ ^{EA}	۴/۳۵ \pm ۰/۰۸ ^{DA}	۵/۱۷ \pm ۰/۰۴ ^{EA}	۶/۱۴ \pm ۰/۰۵ ^{EB}	۷/۲۰ \pm ۰/۱۲ ^{AA}	۷/۴۰ \pm ۰/۰۳ ^{AA}
۰/۳ درصد انکپسوله	۴/۰۷ \pm ۰/۰۳ ^{EA}	۴/۴۱ \pm ۰/۰۲ ^{DA}	۵/۰۸ \pm ۰/۰۴ ^{EA}	۶/۰۱ \pm ۰/۰۵ ^{EA}	۷/۰۸ \pm ۰/۰۸ ^{AA}	۷/۴۴ \pm ۰/۰۵ ^{AA}

میانگین هر تیمار و تکرار آن \pm انحراف معیار از هر تیمار و تکرار آن حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) در روزهای مختلف نمونه‌برداری برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) در یک روز برای تیمارهای مختلف می‌باشد.

تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0/05$). با وجود این که نمونه‌های تیمار شده با عصاره ۰/۳ درصد انکپسوله رازیانه دارای استافیلوکوکوس اورئوس کم‌تری نسبت به گروه‌های دیگر و کنترل بودند، تیمار ۰/۳ درصد انکپسوله از روز ۶ به بعد از حد مجاز بار باکتریایی $\log \text{CFU/G}$ تجاوز کرد و در روز ۹ به میزان (۷/۲۶) رسید. روند رشد باکتریایی از روز ۹ تا ۱۵ نسبت به روزهای ابتدایی آزمایش کندتر بود.

جدول ۴ بیانگر تعداد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس ($\log \text{CFU/G}$) در زمان‌های مختلف نگهداری برای هر تیمار می‌باشد. در روز صفر آزمایش اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($P > 0/05$) با گذشت زمان در همه تیمارها تعداد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس افزایش یافت، البته این افزایش در نمونه‌های حاوی ۰/۳ درصد انکپسوله نسبت به سایر تیمارها روند کندتری داشت ($P < 0/05$) اما در روز ۱۵ تفاوت معنی‌داری میان

جدول ۴- تفاوت بین مقادیر میانگین \pm انحراف معیار شمارش باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس ($\log \text{cfu/g}$)

در زمان‌های مختلف نگهداری برای هر تیمار

تیمار	زمان (روز)					
	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد	۴/۴۱ \pm ۰/۰۳ ^{AF}	۵/۳۲ \pm ۰/۱۱ ^{BE}	۷/۲۶ \pm ۰/۰۸ ^{DD}	۸/۱۸ \pm ۰/۰۵ ^{CC}	۹/۵۶ \pm ۰/۰۸ ^{CB}	۱۰/۰۶ \pm ۰/۱۲ ^{BA}
۰/۱ درصد معمولی	۴/۲۶ \pm ۰/۰۳ ^{AE}	۵/۷۶ \pm ۰/۰۱ ^{ED}	۶/۵۱ \pm ۰/۰۹ ^{CC}	۷/۴۵ \pm ۰/۰۴ ^{BB}	۷/۶۲ \pm ۰/۰۸ ^{BB}	۷/۹۰ \pm ۰/۰۲ ^{AA}
۰/۳ درصد معمولی	۴/۳۱ \pm ۰/۰۴ ^{AE}	۵/۱۱ \pm ۰/۱۶ ^{AD}	۶/۳۳ \pm ۰/۰۹ ^{BC}	۷/۴۸ \pm ۰/۰۵ ^{BB}	۷/۶۶ \pm ۰/۰۸ ^{BA}	۷/۷۸ \pm ۰/۰۹ ^{AA}
۰/۱ درصد انکپسوله	۴/۳۹ \pm ۰/۰۴ ^{AE}	۵/۰۹ \pm ۰/۰۴ ^{AD}	۶/۴۴ \pm ۰/۰۸ ^{BC}	۷/۴۷ \pm ۰/۰۵ ^{BB}	۷/۶۵ \pm ۰/۰۵ ^{BA}	۷/۶۹ \pm ۰/۰۵ ^{AA}
۰/۳ درصد انکپسوله	۴/۳۱ \pm ۰/۰۳ ^{AE}	۵/۰۷ \pm ۰/۰۹ ^{AD}	۶/۱۲ \pm ۰/۰۷ ^{AC}	۷/۲۶ \pm ۰/۰۸ ^{AB}	۷/۳۸ \pm ۰/۰۳ ^{AB}	۷/۶۴ \pm ۰/۰۲ ^{AA}

میانگین هر تیمار و تکرار آن \pm انحراف معیار از هر تیمار و تکرار آن حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) در روزهای مختلف نمونه‌برداری برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) در یک روز برای تیمارهای مختلف می‌باشد.

بحث

اکسیداسیون لیپیدهای حساس در بدن ماهی در مرحله اول منجر به تشکیل پراکسیدها می‌شود، پراکسیدها ترکیباتی بدون بو و طعم هستند که در مرحله اول تغییرات شیمیایی قابل اندازه‌گیری هستند. جهت تعیین هیدروپراکسیدها به‌عنوان محصول اولیه اکسیداسیون چربی در ماهیان از شاخص پراکساید (PV) استفاده می‌شود (Razavi Shirazi, 2006). همان‌طور که در نتایج جدول ۱ آمده بعد از روز ۹ که بیش‌ترین میزان پراکسید مشاهده شد در طی روزهای ۱۲ تا ۱۵ شاهد کاهش بطئی عدد پراکسید هستیم که علت این امر ممکن است به‌دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تجزیه پراکسیدها به ترکیبات ثانویه و تولید کربونیل‌ها و ترکیبات فرار باشد (Etemadi و همکاران، ۲۰۰۸). میزان قابل‌قبول پراکساید (۲۰-۱۰ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم چربی) پیشنهاد گردیده است (Etemadi و همکاران، ۲۰۰۸)، که تا روز ۶ در همه تیمارها از مقدار استاندارد تجاوز نکرده و بعد از روز ۶ به عدد مذکور نزدیک شده، اما قابل‌ذکر است که از روز ۹ به بعد میانگین عدد پراکسید در تمامی تیمارها به‌استثنای تیمار شاهد در روز ۹ با میزان پراکسید (۱۰/۳۸) هرگز به مقدار ۱۰ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم چربی نرسیده است، این مطلب بدان معنی است که استفاده از عصاره رازیانه به‌ویژه در فرم انکپسوله و به‌خصوص غلظت بالا از این عصاره به‌عنوان یک ماده نگهدارنده در حفظ کیفیت ماهی و کنترل جمعیت باکتری‌های لیپولیتیک مؤثر بوده است. در مطالعات Spencer (2008) ثابت شد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها به مهار رادیکال‌های هیدروکسیل، سوپراکسید و رادیکال‌های پروکسیل لیپیدها مربوط می‌باشند. نتایج مشابهی نیز در سایر پژوهش‌ها در هنگام استفاده از اشکال مختلف نگهدارنده‌های طبیعی مانند گیاهان

مشاهده شده است. به‌عنوان مثال، Tahami و همکاران (۲۰۱۳)، اثر آنتی‌اکسیدانی گیاه رازیانه را بر پایداری روغن آفتابگردان و جلوگیری از اکسیداسیون ماهی کیلکای معمولی به‌هنگام نگهداری در یخ مورد بررسی قرار دادند، خاصیت آنتی‌اکسیدانی این گیاهان به‌دلیل وجود ترکیبات فنولیک آن کاملاً مشهود است و به‌طور معنی‌داری شاخص پراکسید به‌خصوص در غلظت بالایی از این عصاره‌ها کم‌تر از نمونه شاهد قرار داشت ($P < 0/05$). نتایج گزارش‌های پژوهشگران فوق با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد و تأییدکننده اثرات آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنول‌های گیاه رازیانه به‌ویژه در غلظت ۰/۳ درصد و فرم مؤثر آن (انکپسوله) می‌باشد. پژوهشگر دیگر، Yeganeh و همکاران (۲۰۱۴) تأثیرات پوشش‌های خوراکی سیترات سدیم را بر فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در ۴ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار دادند و نتیجه حاصل از این پژوهش‌ها به این صورت بیان شد که میزان شاخص پراکسید در طول ۲۰ روز آزمایش از میزان ۱۰ میلی‌اکی‌والان (حد استاندارد) تجاوز نکرده بود در حالی‌که در تیمار شاهد از روز چهارم به بعد به بیش از ۱۰ میلی‌اکی‌والان پراکسید رسیده بود که علت این امر را می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدان کسیترات سدیم نسبت داد. Borumand (۲۰۰۸) نیز روی کازئینات سدیم به نتایج مشابهی دست یافت. در نهایت قابل‌توجه است که، استفاده از روش انکپسوله کردن به‌دلیل اثرگذاری هرچه بیش‌تر ترکیبات مؤثره همانند روش پوشش‌دهی که بارزترین مشخصه آن‌ها ممانعت‌کنندگی در برابر عوامل خارجی می‌باشد، باعث تأخیر در فساد اکسیداتیو و افزایش ماندگاری مواد غذایی می‌شود.

تغییرات میزان بار باکتریایی کل (TPC) در جدول ۲ نشان داده شده است. میانگین اولیه TPC برای فیله‌ها در روز صفر نگهداری $\log CFU/G$ ۴/۵۹ بود

دیواره سلولی و یا ایجاد اختلال در غشاء سلول میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (Tsuchi ya, ۱۹۹۶). در این راستا پژوهشگرانی مانند، Rezaeei و همکاران (۲۰۱۲) و Bahram و همکاران (۲۰۱۳) پژوهش‌هایی بر روی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پوشش‌دار شده با اسید آسکوربیک همراه با پوشش آب پنیر طی ۱۶ روز نگهداری و فیل ماهی پوشش‌دار شده با پروتئین آب پنیر همراه با اسانس دارچین طی ۲۰ روز نگهداری، انجام دادند. نتایج حاصل نشان داد میزان بار باکتریایی کل در نمونه‌های حاوی پوشش تا روز ۸ نگهداری به حد غیرقابل قبول یعنی $\log CFU/G$ ۷ نزدیک نشده بودند. Bahram و همکاران (۲۰۱۳) در نتایج خود علت اثرات ضد میکروبی دارچین را ترکیبات پلی فنولیک آن شامل سینامالدهید و اجنول دانستند که، دارای خواص آنتی‌باکتریال می‌باشند و احتمالاً از طریق اتصال گروه کربونیل با پروتئین‌ها عمل می‌کنند و جلوی فعالیت آمینو اسید دکربوکسیلاز را می‌گیرند. انکپسوله کردن عصاره در پژوهش حاضر جهت محافظت عصاره در ترکیب با محتویات غذایی و همچنین جهت رهاسازی طولانی مدت تر عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مؤثر موجود در عصاره در طول زمان ماندگاری و حفظ هرچه بیش تر ارزش غذایی فیله ماهی انجام شد.

باکتری‌های سرما دوست گرم منفی گروه اصلی میکروارگانیسم‌های عامل فساد ماهی نگهداری شده در دمای سرد هستند (Sallam, ۲۰۰۷؛ Gram و Huss, ۱۹۹۶). باکتری‌های عامل فساد، باکتری‌هایی هستند که صفت مشخصه آن‌ها قابلیت ایجاد بو و طعم نامطبوع در عضله ماهی می‌باشد که به طور طبیعی نیز تعداد این باکتری‌ها محدود بوده و درصد کمی از فلور طبیعی ماهی را شامل می‌شوند، پس از مرگ ماهی سرعت رشد باکتری‌ها به تعداد باکتری‌های موجود در ماهی و درجه حرارت محیط نگهداری بستگی دارد (Gram, ۱۹۹۶). همان‌طور که در نتایج جدول ۳ مشاهده می‌شود تیمار شاهد در روز ۶ نگهداری به حداکثر

که با توجه به بار باکتریایی اولیه پایین ($\log CFU/G$ ۵-۴) قبل از تیمار بندی ماهیان مناسب بوده است، با توجه به نتایج پژوهش‌های مختلف، افزایش بار باکتریایی کل در حین نگهداری ثابت شده است. در مطالعه حاضر نیز با گذشت زمان نگهداری میزان TPC برای همه تیمارها افزایش یافت. بر طبق نتایج این پژوهش، سطح پایین تر بار میکروبی در تیمار ماهی دارای عصاره نشان می‌دهد که قدرت ضد میکروبی پلی فنولی عصاره رازیانه به خصوص در فرم مؤثر آن تا حدی توانسته به عنوان مانعی در برابر آلودگی میکروبی عمل کند. در پژوهش حاضر روند افزایشی در تیمارهای انکپسوله کندتر بوده، به طوری که تفاوت بین تیمارهای انکپسوله رازیانه به ویژه در غلظت ۰/۳ درصد با تیمارهای فرم آزاد رازیانه در طی نمونه گیری معنی دار بوده است ($P < 0/05$)، دلیل این امر آزادسازی تدریجی پلی فنول‌های فرم انکپسوله رازیانه بوده که احتمالاً تأثیر باکتریواستاتیک بر فلور باکتری‌های کلی داشته، ولی با این وجود اثر مذکور تداوم داشته و باکتری فرصت رشد مجدد پیدا نمی‌کند ولی در فرم آزاد رازیانه به دلیل آن که تأثیر باکتریواستاتیک عصاره موقتی بوده و عصاره در طولانی مدت قادر به حفظ این اثر نمی‌باشد، فلور کلی باکتری‌ها مجدداً رشد کرده و منجر به تسریع در فرایند فساد می‌گردد. لازم به ذکر است که قدرت ضد میکروبی عصاره‌ها به محل و تعداد گروه‌های هیدروکسیل روی حلقه فنلی بستگی دارد (Shan و همکاران، ۲۰۰۷). در این راستا Geissman (۱۹۶۲) مشاهده کرد، فنول‌های اکسید شده اثر شدیدتری اعمال می‌کنند. مکانیسم احتمالی این ترکیبات مانند فلاونوئیدها و فلاونول‌ها مهار آنزیمی از طریق واکنش با گروه‌های سولفیدریل یا واکنش‌های غیراختصاصی با پروتئین‌های میکروبی مانند پروتئین‌های خارج سلولی و تشکیل کمپلکس با

مانند اسید رزمارینیک و کلروژنیک را در عصاره رزماری از عوامل مؤثر بر باکتری‌های گرم مثبت می‌دانند. نتایج حاصل از این پژوهش با سایر یافته‌های پژوهشگران که بیانگر کاسته شدن تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت حاوی سایر عصاره‌ها بود، مطابقت دارد (Parsaei, ۲۰۰۹). در این راستا، Roumiani و همکاران (۲۰۱۳)، به بررسی اثرات ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف پلی‌فنول‌های اسانس زیره سبز و نایسین در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌منظور مهار باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد پرداختند، نتایجی از این پژوهش نشان داد که استفاده توأم از اسانس زیره سبز و نایسین تأثیر معنی‌داری ($P < 0/05$) در کنترل و کاهش باکتری فوق در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان دارد. در پژوهش دیگری که توسط Jebeli javan و همکاران (۲۰۱۵) صورت گرفت در این پژوهش باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس را مورد شمارش قرار دادند و اثر ضد باکتریایی و پلی‌فنولیک عصاره‌های ۱، ۳، ۵ درصد رزماری روی گوشت مرغ نگهداری شده طی ۵ روز در دمای یخچال مورد بررسی قرار گرفت و به این نتیجه دست یافتند که گوشت مرغ تیمارشده با عصاره ۳ و ۵ درصد رزماری (غلظت بالا) در انتهای روز ۵ به حد غیرقابل قبول خود یعنی $3 \log CFU/G$ رسیدند و این در حالی است که تیمار شاهد و ۱ درصد عصاره رزماری در روز ۴ از حد استاندارد مذکور توسط سازمان دامپزشکی کشور (۱۳۸۷) گذشتند.

نتیجه‌گیری

در پژوهشی که انجام شد معلوم گردید که اثر افزایش عصاره آزاد رازیانه در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حاوی جمعیت میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس، در مقایسه با افزودن این ترکیب آنتی‌باکتریال

میزان مجاز باکتری سرمادوست ($7 \log cfu/g$) رسید و تیمارهای انکپسوله در روز ۱۲ به لگاریتم ۷ نزدیک شدند، که می‌تواند تأییدی بر وجود خاصیت ضد میکروبی عصاره رازیانه باشد که البته فرم انکپسوله این عصاره منجر به آزادسازی تدریجی و کنترل شده عصاره و اثرات بهتر آن در کنترل بار میکروبی در طول زمان نگهداری شده است. در این راستا برخی از پژوهشگران مانند Jian-guo و همکاران (۲۰۱۴) ترکیب شیمیایی و مکانیسم عملکرد اسانس گیاه رازیانه را مورد بررسی قرار دادند، حداقل و حداکثر غلظت مهارکنندگی عصاره رازیانه بر روی دو گروه از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بررسی شد و به این نتیجه دست یافتند که عصاره گیاه رازیانه می‌تواند اثرات آنتی‌میکروبیال مطلوبی بر این باکتری‌ها گذارد.

استافیلوکوکوس اورئوس یک باکتری گرم مثبت و بیماری‌زا است و از آن‌جا که احتیاجات غذایی ساده‌ای دارد انتشار آن بسیار وسیع است و جزء میکروارگانیزم‌های عامل فساد در ماهی و محصولات دریایی تازه نگهداری شده در یخچال به‌صورت هوایی می‌باشد. نتایج این پژوهش این‌گونه نشان می‌دهد که تیمار ۰/۳ درصد انکپسوله نسبت به سایر تیمارها تا روز ۱۵ دارای بار باکتریایی کم‌تری بود که این امر می‌تواند بیانگر این مطلب باشد که انکپسوله کردن روش مؤثری به‌منظور افزایش اثر ماده مؤثره به‌خصوص اثر پلی‌فنول‌های مذکور در رازیانه می‌باشد. نتایج برخی از پژوهشگران، اثرات ضد باکتریایی ترکیبات پلی‌فنولیک عصاره رزماری بر باکتری‌های گرم مثبت و به‌خصوص استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس را نشان می‌دهد (Eydim و Sarikus, ۲۰۰۶). این پژوهشگران عدم وجود دیواره پلی‌ساکاریدی در باکتری‌های گرم مثبت را عامل این حساسیت به عصاره‌های گیاهی گزارش کردند. وجود این دیواره در باکتری‌های گرم منفی از ورود ترکیبات فعال عصاره‌ها به داخل سلول جلوگیری می‌کند. Rozman و Ersek (۲۰۰۹) حضور اسیدهای فنولیک

فرم انکپسوله کاملاً مشهود است ($P > 0.05$). این روند نشانگر تأثیر حفاظتی فرم انکپسوله و تضمین پایداری آن در طول نگهداری، جلوگیری از واکنش با سایر ترکیبات موجود در محیط در طی زمان و در نتیجه ممانعت از کاهش فعالیت و همچنین تأثیر بر آغازگرها و ایجاد تداخل در کاهش pH به صورت طبیعی بود.

و آنتی اکسیدان به صورت انکپسوله در صمغ عربی طی مدت زمان نگهداری ۱۵ روزه، تأثیر معنی داری بر روند کاهش جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس، شمارش کلی باکتری‌ها و باکتری‌های سرمادوست در ۴ درجه سانتی‌گراد و همچنین شاخص پراکسید داشتند، به طوری که اختلاف نهایی در کاهش جمعیت این باکتری‌ها از روز صفر تا روز ۱۵ به خصوص در

منابع

- AOAC. 2005. Official method of analysis, 17 edition, Washington, DC: association of official analytical chemists, pp. 716-725.
- Arashisara, S., et al., 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets, Inter. J. Food Microbiol. 97, 209-214.
- Bagamboula, C.F., et al., 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*, Food microbiology, 21, 32-42.
- Bahram, S., et al., 2013. Antimicrobial activity of edible film of whey protein enriched with cinnamon essential oil on bluga fillets in refrigerated conditions. J. Fish. Islamic Azad university of Azadshahr, 4: 63-72.
- Borumand, A., 2008. Research on antimicrobial production of casein films [dissertation]., Tehran University, Dept. of Biosystems.
- Botsoglou, N.A., et al., 2003. Antioxidant activity of dietary oregano essential oil and a-tocopheryl acetate supplementation in long-term frozen stored Turkey meat, J. Agric. Food Chem. 51, 2930-2936.
- Burt, S.A., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. Inter. J. Food Microbiol. 94, 223-253.
- Etemadi, H., et al., 2008. Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on shelf life extension of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). JFST. 5 (4), 69-73.
- Geissman, T.A., 1962. Flavonoid compounds, tannins, lignins and related compounds. In: Pyrrole pigments, isoprenoid compounds and phenolic plant constituents.
- Gómez-Estaca, J., et al., 2010. Biodegradable gelatine-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. Food Microbiology. 27, 889-896.
- Gram, L., and Huss, H.H., 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products, Inter. J. Food Microbiol. 33, 121-137.
- Hernández, M.D., et al., 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meager (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage, Food Chemistry, 114, 237-245.
- Jafari, S.M., et al., 2008. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying, Drying technology, 26 (7), 816-835.
- Jebeli Javan, A., et al., 2015. Antioxidant and Antimicrobial Effects of Rosemary Extract On the quality and shelf life of chicken meat kept at the refrigerator temperature. J. Res. Inn. Food Sci. Technol. 4 (2), 131-142.
- Jian-Guo, X., et al., 2014. Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Food control. 35, 109-116.
- Mejholm, O., and Dalgaard, P., 2002. Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism photobacterium phosphoreum in liquid

- media and fish products, Lett. Appl. Microbiol. 34, 27-31.
- Pakzad, P., et al., 2012. Identification of *Staphylococcus aureus* with antrotoxin A-E gene and TSST-1 by PCR method. J. Qom Univ. Med. Sci. 3, 78.
- Parsaei, M., et al., 2009. Effect of *Zataria multiflora* essential oil on enterotoxin production of *Staphylococcus aureus*. J. Med. Plant. 33 (4), 98-102.
- Razavi Shirazi, H. 2006. Marine Technology: Maintenance Principles and Practice (1), Second edition. Pars Negar Publishing, Tehran.
- Rezaeei, M., et al., 2012. Effect of ascorbic acid with whey protein coating on shelf life of rainbow trout at refrigerator temperature: Evaluation of microbial and chemical properties. Iran. J. Nutr. Food Technol. 7 (3), 69-78.
- Rumiani, L., et al., 2013. Antibacterial activity of cumin essential oil and nisin on inhibiting *Streptococcus iniae* in laboratory and fish fillets, Iran. J. Fish. 22 (3), 5-59.
- Sallam, K., 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon, Food Control, 18, 566-575.
- Seydim, A.C., and Sarikus, G., 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils, Food Res. Int. 39, 639-644.
- Shahidi, F., and Han, X.Q., 1993. Encapsulation of food ingredients. Critical Review in Food Science and Nutrition.
- Shahidi, F., et al., 2006. Antioxidant activity of white and black sesame seeds and their hull fractions, Food Chemistry, 99, 478-483.
- Shan, B., et al., 2007. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria, J. Agric. Food Chem. 55 (14), 5484-90.
- Smith-Palmer, A., et al., 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens, Letters in Food Microbiology, 26, 118-122.
- Sotuneh, F., et al., 2016. The effect of free and encapsulated extract of (*Origanum vulgare*) on chemical, microbial and the behavior of pseudomonas fluorescens in meat mince of *clupeonella cultiventris*, J. New Technol. Aquacul. Develop. 10 (4), 59-72.
- Spencer, J.P.E., 2008. Flavonoids: modulators of brain function. British J. Nutr. 99 (1), 60-77.
- Tahami, F.A., et al., 2013. A survey of antioxidant effect of (*Foeniculum vulgare*)'s seed extract on sun flower oil. Food Technology and Nutrition, 10 (1), 1-15.
- Tsuchiya, H.M., et al., 1996. Comparative study on the antibacterial activity of photochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, J. Ethnopharmacol. 50, 27-34.
- Yeganeh, S., et al., 2014. The effect of sodium caseinate coating on the quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during storage in a refrigerator. J. Food Sci. Technol. 44 (11), 67-82.
- Yin, M.C., and Cheng, W.S., 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organo sulfur compounds in ground beef, Meat Science, 63, 23-28.

**Effect of free and nanoencapsulated extract of *Foeniculum vulgare*
on behavior of *Staphylococcus aureus* and microbial and chemical changes
of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet during storage in 4 °C**

H. Kaviani Charati¹, *M. Shamloofar² and S.Z. Seyedalangi³

¹M.Sc. Graduate, Faculty of Natural Resources, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran, ²Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran, ³Dept. of Chemistry, Faculty of Natural Resources, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

Abstract

Microbial growth and lipid oxidation, as a major source of meat and meat products spoilage, results in undesirable changes and thus leads to food poisoning, human mortality and also considerable economic losses. In order to evaluate the behavior of *Staphylococcus aureus* (cusative agents of food poisoning) in the polyphenols presence of natural preservative (free extract and nano-encapsulation of *Foeniculum vulgare*) in the concentration of (0.1 and 0.3%) the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets were preserved for 15 days at refrigerator temperature. and some chemical parameters such as Peroxide Value and microbial parameters such as Total count, Psychrotrophic Count and *Staph aureus* bacteria count was stemated. Results showed that there was significant differences between free extract and nano-encapsulated treatments (P<0.05) and it revealed that the nano-encapsulation of *F. vulgare*, especially at high concentrations was more effective than conventional form that leading to a slower rate of growth of *S. aureus* number in rainbow trout fillets. So, using of the nano-encapsulated form of *F. vulgare*, especially, in concentration of 0.3%, as natural preservative, was recommended in rainbow trou fillet.

Keywords: Chemical and microbial parameters; Free and nano-encapsulated extract of *F. vulgare*; Rainbow trout fillets; Shelf life; *Staphylococcus aureus*

* Corresponding author; shamloofar@gmail.com