اثر پلی فنلهای چای سبز بر تغییرات میکروبی و شیمیایی ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان(*Oncorhynchus mykiss*) به هنگام نگهدار ی در یخ

بهروز محمدزاده[۱]، مسعود رضائی[۲*]

گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس

(تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۶ تاریخ پذیرش: ۸۹/۶/۲۳)

چکیده

در این تحقیق ماهیان قزل آلای رنگین کمان به صورت کامل در محلولهای ،۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ ppm تهیه شده از عصاره چای سبز به مدت ۹۰ دقیقه غوطه ور گردیدند و سپس به صورت لایه لایه یخ گذاری شدند. در ادامه شاخص‌های مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)، شمارش کل باکتریها (TVC)، شمارش باکتریهای سرمادوست (PVC) و pH در زمان‌های ۰ ، ۴ ، ۸ ، ۱۲ و ۱۶ روز پس از یخ‌گذاری اندازه‌گیری و با نمونه شاهد که در محلول عصاره چای سبز غوطه‌ور نشده بود مقایسه شدند. براساس نتایج آماری در تمامی تیمارها با گذشت زمان مجموع بازهای نیتروژنی فرار به شکل معنی‌داری ($P<0/05$) افزایش یافت، اما این افزایش در تیمار ۶۰۰ppm با سرعت کندتری صورت گرفت. در تیمار شاهد با گذشت زمان مقادیر شمارش کل باکتریها به شکل معنی‌داری ($P<0/05$) افزایش یافت، این افزایش در نمونه های غوطه ور در محلولهای حاوی عصاره چای سبز نیز دیده شد، بطوریکه بجز سطح ۶۰۰ppm بقیه سطوح تا روز ۱۶ اختلاف معنی داری را با تیمار شاهد نشان ندادند. شمار باکتریهای سرمادوست در طی زمان در تمامی تیمارها افزایش یافت بطوریکه تیمار شاهد در روز ۱۲ و سطوح ۲۰۰و ۴۰۰ ppm در انتهای دوره نگهداری از حد مجاز فراتر رفتند ولی تعداد آن در تیمار غوطه ور شده در محلول ۶۰۰ppm عصاره چای سبز پایین‌تر بوده و در انتهای دوره نگهداری کمتر از میزان مجاز بود. (۶/۸۹±۰/۱۵ log cfu/gr). مقدار pH نیز در تمامی گروهها دارای روند افزایشی است. با توجه به نتایج حاصل، استفاده از عصاره چای سبز در غلظت ۶۰۰ ppm جهت جلوگیری و به تاخیر انداختن فساد میکروبی ماهی قزل‌آلای‌رنگین‌کمان به هنگام نگهداری در یخ توصیه می‌شود.

کلید واژگان: عصاره چای سبز، قزل آلای رنگین کمان، فساد میکروبی، پلی فنل

*مسئول مکاتبات: rezai_ma@modares.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-02-09]

۱- مقدمه

مزارع پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان در دهه اخیر توسعه یافته اند و تولید این ماهی پرورشی در کشورداری روند رو به رشدی می باشد. با توجه به ماندگاری پایین این ماهی که ناشی از وجود میزان آب بالای بدن و pH خنثی ماهی می باشد[۱] و با توجه به رایج بودن نگهداری وحمل ونقل آن در یخ و با اشکال متفاوت کامل و شکم خالی و فیله شده [۲]، اهمیت افزایش ماندگاری ماهی کامل با استفاده از افزودنی ها مورد توجه قرار گرفته است. فساد در ماهی اغلب در نتیجه فعالیت باکتریایی است که منجر به کاهش و افت کیفیت می گردد [۳]. میزان فساد میکروبی ماهی و فراورده‌های ماهی بسته به فلور میکروبی موجود و شرایط نگهداری از قبیل دما و دسترسی به اکسیژن یا دیگر گازهایی که در بسته بندی ماهی پیدا می‌شوند می‌باشد که خود بر اساس نوع بسته بندی متفاوت خواهد بود [۴]. ترکیبات سنتتزی شیمیایی اغلب به عنوان ترکیبات ضد میکروبی در فرآوری و نگهداری مواد غذایی استفاده می شوند و بیشتر آنها دارای ترکیبی مقاوم شبیه آنتی بیوتیک ها هستند، لیکن آگاهی و نگرانی مصرف کنندگان از استعداد بالقوه این ترکیبات برای سلامتی انسان سبب تجدید نظر در علاقه به استفاده از جایگزین های طبیعی برای این مواد گردیده است. فعالیت آنتی باکتریایی چای سبز به خاطر ترکیبات پلی فنولیک آن است از این خاصیت می توان در موارد مختلفی ازجمله حفاظت در برابر آلودگی میکروبی تا مصرف پلی فنول ها در ابعاد صنعتی وهمچنین جلوگیری از آلودگی محصولات غذایی بوسیله باکتری های بیماریزا استفاده کرد[۵]. ترکیبات پلی فنولی چای اثرات بازدارندگی بسیار شدیدی در برابر گونه های مختلف باکتری های پاتوژن موجود در مواد غذایی دارند[۵]. اکثر پلی فنلهای موجود در چای سبز دارای فعالیت ضد میکروبی هستند، مقاومت باکتریها در برابر پلی فنل ها بسته به نوع باکتری و ساختار پلی فنل دارد [۶]. مطالعات زیادی در خصوص استفاده از چای سبز در ممانعت از باکتری های بیماریزا صورت گرفته است، اما در زمینه ممانعت از رشد باکتریهای عامل فساد میکروبی در مواد غذایی تحقیقات کمتری انجام گرفته است، که می توان به اثرات بازدارندگی پلی فنلهای چای سبز در برابر رشد میکروبی و میزان بازهای نیتروژنی فرار در عضله تون زردباله طی نگهداری در یخ توسط Noriyuki و همکاران، ۲۰۰۱ اشاره کرد[۷]. هدف این مطالعه بررسی ویژگیهای ضد میکروبی عصاره چای سبز بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان به صورت غوطه وری کامل ماهی در عصاره مذکور می باشد.

۲- مواد و روشها

ماهی قزل آلای رنگین کمان با وزن متوسط ۳۵۰ _۳۰۰ گرم به میزان ۲۵ کیلوگرم در فصل پاییز به صورت زنده از مجتمع پرورش ماهی (رویان) تهیه گردید. نمونه چای سبز (چین تابستانه) خشک شده, از پژوهشکده چای شهر لاهیجان تهیه شد. جهت تهیه عصاره چای سبز، ۵ گرم چای سبز خشک شده به ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شده و سپس به مدت ۱۲دقیقه در درجه حرارت۹۰ درجه سانتیگراد حرارت دیده و در ادامه به وسیله کاغذ صافی ۰/۴۵μm صاف می‌گردد [۸]. ماهیان را به صورت کامل در محلولهای عصاره چای سبز با سطوح ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ ppm [۹]، به مدت ۹۰ دقیقه غوطه ور کرده و سپس آنها را در بسته‌های سلفون قرار داده و بلافاصله بسته ها در جعبه های یونولیت که در کف آنها سوراخی جهت خروج احتمالی آب حاصل از ذوب یخها تعبیه شده‌است به صورت یک لایه یخ و یک لایه ماهی قرارگرفتند[۱۰]. در ادامه جهت بررسی تاثیر گذاری عصاره چای سبز بر روند فساد میکروبی شاخص های مربوطه به فاصله ۴ روز یکبار مورد سنجش قرار گرفتند.

۲-۱- آزمایش های شیمیایی

۲-۱-۱- مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار

۱۰ گرم گوشت چرخ شده ماهی را همراه با ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر داخل بالن کلدال ریخته، سپس چند عدد پرل شیشه ای به همراه اکتان نرمال (ضد کف) به آن اضافه می‌گردد. سپس بالن را به دستگاه وصل کرده و از زیر به آن حرارت داده می‌شود. درانتهای دستگاه یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی-لیتری نیز حاوی CC ۲۵ از محلول اسیدبوریک ۲٪ (۲ گرم اسید بوریک در CC ۱۰۰ آب مقطر به حجم رسانده) به همراه چند قطره معرف متیل رد (۰/۱ گرم متیل رد درCC ۱۰۰ اتانول به حجم رسانده) قرار داده شد. متیل‌قرمز[1] در محیط اسیدی قرمز

1. Red mtill

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-02-09]

رنگ و در محیط بازی زرد رنگ می‌باشد. عمل تقطیر تا گذشت ۳۰ دقیقه از زمان جوشش مواد درون بالن، یا جمع شدن حدود ۱۲۵ CC مایع در ارلن مایر ادامه می‌یابد. محلول اسیدبوریک به محض قلیایی شدن توسط بازهای ازته فرار تقطیر شده زرد رنگ می‌شود. عمل تیتراسیون این محلول توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا جایی ادامه می‌یابد که اسید بوریک دوباره قرمز شود. مقدار TVB-N به صورت میلی‌گرم در صد گرم گوشت ماهی با توجه به رابطه ۲-۱ به دست می‌آید[۱۱].

V حجم اسید سولفوریک مصرفی و M وزن نمونه می‌باشد.

رابطه ۱) $\frac{\text{میزان اسید} \times ۱/۴ \times ۱۰۰}{\text{وزن نمونه}}$

۲-۱-۲- مقادیر PH

۵ گرم از هر نمونه بافت هموژن شده به ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه در یک مخلوط‌کن قرار داده شد، سپس pH نمونه‌ها با pH دیجیتالی (Multiline P4Wtw) با استانداردهایی در pH ۴ و ۷ اندازه‌گیری شد.

۲-۲- آنالیزهای میکروبیولوژی

۲-۲-۱- آماده‌سازی نمونه‌ها

۲۵ Cm^2 از پوست ناحیه قدامی پشت ماهی با اتانول ۷۰٪ ضد عفونی شد. سپس با انبرک و اسکارپل استریل قسمت ضدعفونی شده پوست‌کنی شد و ۱۰ گرم از گوشت زیرین برداشته شده ودر ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل ۰/۸۵٪ قرارداده شده و به مدت ۶۰ ثانیه در یک مخلوط کن آزمایشگاهی هموژن شد. (هموژنایزر Wiggen Hauser، مدل D500) در ادامه رقت-های استاندارد ۰/۱ ، ۰/۰۱ ، ۰/۰۰۱ جهت کشت تهیه شد و در طول دوره و در صورت نیاز (بالا بودن بار باکتری و بالا بودن تراکم کلنی‌ها درون پلیت‌ها) جهت کشت از رقت‌های بالاتر نیز استفاده گردید. سه ماهی از هرتیمار به طور جداگانه نمونه برداری شد.

۲-۲-۲- تهیه محیط‌های کشت، انکوباسیون وشمارش باکتری

برای شمارش کل باکتریها و باکتری های سرمادوست در نمونه های تهیه شده، از محیط کشت پلیت کانت آگار (Plate count agar) استفاده شد، بعد از ساخت محیط کشت، با میکرو سمپلر ۰/۱ از نمونه های تهیه شده طبق دستور العمل بالا، بر روی محیط کشت به طور سطحی پخش شد در صورت نیاز (بالا بودن تعداد باکتری در یک پلیت) رقیق سازی نمونه ها با رقت ۱:۱۰ در محلول سرم فیزیولوژی درون لوله های آزمایش استریل در مراحل بعدی نمونه برداری انجام می شد. پلیت کانت های کشت داده شده مربوط به کل باکتری ها بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ °C شمارش شدند و پلیت های مربوط به باکتری های سرمادوست بعد از ۱۰ روز انکوباسیون در ۷°C شمارش شدند شمارش کلنی های باکتری کل روی هر پلیت با استفاده از رابطه ۲ صورت پذیرفت:

رابطه ۲) تعداد کل کلنی × عکس رقت × عکس حجم استفاده شده = لگاریتم تعداد کلنی در یک گرم(Log cfu/g)

۲-۳- روش آماری

به منظور تجزیه وتحلیل مقادیر کمی به دست آمده از تجزیه واریانس دو طرفه در قالب طرح آماری فاکتوریل کاملا تصادفی استفاده شد. برای مقایسه میانگین ها در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی دار شناخته شد از آزمون Dunkan در سطح ۵٪ به کمک نرم افزار Spss۱۱,۵ استفاده گردید [۱۲].

۳- نتایج

مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)، شمار کل باکتری (TVC)، شمار باکتریهای سرما دوست (PVC) در جدول۱ آورده شده است. براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس دوطرفه داده های TVB-N ,TVC,PVC, و pH اثر عصاره چای سبز، اثر زمان به همراه اثر متقابل سطوح مختلف عصاره چای سبز و زمان بر مقادیر شاخص های ذکر شده معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). به طور کلی نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با گذشت زمان در تمامی تیمارها مقدار مجموع

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-02-09]

بازهای نیتروژنی افزایش یافته است به طوری‌که تیمار شاهد در انتهای دوره دارای بیشترین میزان TVB-N بود (۳۷/۰۰±۰/۶۸). مقایسه بین تیمارها نیز نشان‌دهنده این بود که از روز ۱۲ به بعد تیمار شاهد نسبت به سطوح مختلف عصاره چای سبز میزان مجموع بازهای نیتروژنی بیشتری داشته که این افزایش معنی‌دار بوده است (p<۰/۰۵). همچنین میزان مجموع بازهای نیتروژنی در تیمار ۶۰۰ ppm در انتهای دوره نسبت به بقیه تیمارها به صورت معنی‌داری کمتر بود (p<۰/۰۵). با گذشت زمان در تمامی تیمارها مقدار شمارش کل باکتری افزایش یافته است که البته این افزایش در تیمار شاهد بیشتر بوده به طوریکه در انتهای دوره دارای بیشترین بار باکتریایی (۱۰/۵۲±۰/ ۲۲log cfu/gr) بود. مقایسه بین تیمارها نیز نشان داد که تیمار ۶۰۰ ppm عصاره چای سبز نسبت به بقیه تیمارها روند افزایش کندتری داشته به طوری‌که از روز ۸ به بعد به صورت معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود (p<۰/۰۵). نتایج نشان داد که با گذشت زمان در تمامی تیمارها به صورت کلی مقادیر باکتری‌های سرمادوست افزایش یافته که البته این افزایش در تیمار شاهد بیشتر بود به طوری‌که در انتهای دوره بیشترین بار باکتریایی (۹/۱۸±۰/۳۹log cfu/gr) را داشت. مقایسه بین تیمارها نیز نشان داد که از روز ۱۲ به بعد تیمار ppm ۶۰۰ نسبت به بقیه تیمارها به صورت معنی‌داری دارای بار باکتریایی کمتری بود (p<۰/۰۵) و از همان روز نیز تا انتهای دوره نیز مقدار بار باکتریایی تیمار شاهد نست به بقیه تیمارها به صورت معنی داری بیشتر بود (p<۰/۰۵).

جدول ۱ مقادیر شاخص های فساد میکروبی و شیمیایی در تیمارهای مختلف طی زمان نگهداری ماهی در یخ

شاخص	تیمار	زمان نگهداری (روز)				
		۰	۴	۸	۱۲	۱۶
TVB-N	Control	۳/۷±۰/۱۱^{aA*}	۸/۹±۰/۳۵^{bA}	۱۶/۲۳±۰/۳۴^{cA}	۲۷/۶۷±۰/۹۳^{dC}	۳۷/۰۰±۰/۶۸^{eC}
	۲۰۰ppm	۳/۶۳±۰/۳۲^{aA}	۸/۳۷±۰/۲۴^{bA}	۱۵/۶۳±۰/۳۲^{cA}	۲۱/۵۰±۰/۵۸^{dB}	۳۰/۰۳±۰/۹۷^{eB}
	۴۰۰ppm	۳/۶۰±۰/۱۱^{aA}	۸/۲۳±۰/۲۲^{bA}	۱۵/۸۲±۰/۴۱^{cA}	۲۰/۸۳±۰/۰۹^{dB}	۳۰/۱۳±۰/۴۰^{eB}
	۶۰۰ppm	۳/۶۷±۰/۰۹^{aA}	۸/۲±۰/۳۵^{bA}	۱۵/۵۷±۰/۷۸^{cA}	۱۸/۸۳±۰/۳۸^{dA}	۲۶/۸۰±۱/۲۱^{eA}
TVC	Control	۳/۱۴±۰/۲۱^{aA}	۴/۵۳±۰/۰۳^{bB}	۵/۲۲±۰/۲۸^{bB}	۷/۶۱±۰/۲۸^{cB}	۱۰/۵۲±۰/۲۲^{dC}
	۲۰۰ppm	۲/۸۸±۰/۲۵^{aA}	۳/۷۷±۰/۳۵^{bA}	۵/۰۸±۰/۲۸^{cB}	۷/۳۵±۰/۰۸^{dB}	۹/۲۰±۰/۲۰^{eB}
	۴۰۰ppm	۳/۲۱±۰/۳۲^{aA}	۳/۷۴±۰/۰۱^{aA}	۴/۹۵±۰/۳۸^{bB}	۷/۶۱±۰/۲۰^{cB}	۸/۵۸±۰/۲۹^{dAB}
	۶۰۰ppm	۳/۰۰±۰/۱۹^{aA}	۳/۳۹±۰/۱۵^{aA}	۳/۷۶±۰/۳۰^{aA}	۶/۳۸±۰/۲۹^{bA}	۷/۸۱±۰/۳۱^{cA}
PVC	Control	۲/۸۵±۰/۳۲^{aA}	۳/۸۹±۰/۴۱^{aB}	۵/۴۸±۰/۶۴^{bA}	۷/۳۸±۰/۲۰^{cC}	۹/۱۸±۰/۳۹^{dC}
	۲۰۰ppm	۳/۰۱±۰/۱۸^{aA}	۳/۴۳±۰/۲۱^{aAB}	۵/۴۵±۰/۵۱^{bA}	۶/۶۶±۰/۰۸^{cB}	۷/۷۹±۰/۲۰^{dB}
	۴۰۰ppm	۳/۲۵±۰/۲۱^{aA}	۳/۴۰±۰/۰۷^{aAB}	۵/۵۵±۰/۴۶^{bA}	۶/۲۸±۰/۱۱^{bB}	۷/۳۴±۰/۲۳^{cAB}
	۶۰۰ppm	۲/۹۲±۰/۳۲^{aA}	۲/۸۵±۰/۱۲^{aA}	۴/۸۸±۰/۲۶^{bA}	۵/۵۳±۰/۰۶^{bA}	۶/۸۹±۰/۱۵^{cA}

*میانگین± اشتباه معیار (Mean ± Standard Error of Mean; n=3) TVB-N بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم گوشت، مقادیر باکتری کل و سرمادوست ها بر حسب log cfu/g .

برای هر شاخص حروف مختلف کوچک در هر ردیف نشان از وجود تفاوت معنی دار در زمان های مختلف و حروف مختلف بزرگ در هر ستون بیانگر وجود تفاوت معنی دار در تیمارهای مختلف است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-02-09]

جدول۲ مقادیر عدد pH برای تیمارهای مختلف عصاره چای سبز نسبت به زمان

تیمار	زمان نگهداری (روز)				
	۰	۴	۸	۱۲	۱۶
شاهد	۵/۶۵±۰/۰۵^{a}	۵/۷۳±۰/۰۵^{a}	۶/۸۸±۰/۰۳^{c}	۶/۳۴±۰/۰۳^{b}	۶/۸۰±۰/۰۱^{c}
۲۰۰ ppm	۵/۵۹±۰/۰۴^{a}	۶/۲۴±۰/۱۲^{b}	۷/۱۰±۰/۱۵^{d}	۶/۳۰±۰/۰۱^{b}	۶/۸۱±۰/۰۳^{c}
۴۰۰ppm	۵/۶۰±۰/۰۳^{a}	۶/۰۰±۰/۰۲^{b}	۶/۹۶±۰/۰۳^{d}	۶/۳۲±۰/۰۱^{c}	۶/۸۷±۰/۰۲^{d}
۶۰۰ ppm	۵/۶۲±۰/۰۵^{a}	۶/۱۳±۰/۰۱^{b}	۶/۹۹±۰/۰۱^{e}	۶/۲۶±۰/۰۱^{c}	۶/۸۳±۰/۰۲^{d}

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

حروف مختلف کوچک در هر ردیف نشان از وجود تفاوت معنی دار در زمان های مختلف است.

نتایج آنالیز واریانس دو طرفه مقادیرpH حاکی از آن است که فقط اثر زمان معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). با توجه به معنی‌دار نبودن اثر متقابل می توان اثر زمان را به تمامی تیمارها تعمیم داد. به طور کلی نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها بدین صورت است که با گذشت زمان در تمامی تیمارها مقدار pH افزایش یافت.

۴ - بحث و نتیجه گیری

دامنه وسیعی از ترکیبات پایه‌ای فرار از جمله آمونیاک، متیل‌آمین، دی متیل‌آمین، تری‌متیل‌آمین و دیگر ترکیبات مشابه که در اثر فعالیت‌های میکروبی تولید می‌شوند، تحت عنوانTVB-N جهت نشان دادن فساد گوشت مورد استفاده قرار می‌گیرد و معمولا سطحی معادل ۴۰-۳۵ میلی گرم آن در ۱۰۰ گرم عضله ماهی معیار فساد گوشت است [۱۰]. همانطور که نتایج تحقیق حاضر (جدول ۱) نشان داد مقادیر TVB-N همراه با افزایش مدت زمان نگهداری در تمامی تیمارها افزایش یافته است، در بین تیمارهای مورد آزمایش تیمار ۶۰۰ppm در انتهای دوره از لحاظ میزان این شاخص در محدوده مجاز قرار داشت (۲۶/۸۰mg/kg)، در حالیکه دیگر تیمارها و به خصوص تیمار شاهد در آستانه فساد گوشت بودند و تیمار شاهد در انتهای دوره از حد مجاز فراتر رفت. اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای حاوی عصاره‌های چای سبز با تیمار شاهد می تواند ناشی از تاثیر پلی-فنل‌های چای سبز باشد، به طوری‌که Fan و همکاران، ۲۰۰۸ نیز در تیمارهای غوطه ور شده کپور نقره ای (*Hypophthalmicthys molitrix*) در پلی فنل‌های چای سبز نتایج مشابهی را بدست آوردند، آنها بیان کردند که این پدیده می تواند به ۲ علت اتفاق بیافتد؛ کاهشی سریع در جمعیت باکتری‌ها و یا کاهش ظرفیت و توانایی باکتری‌ها در اکسیداسیون و دآمینیشن ترکیبات ازته غیر پروتئینی و یا رخ دادن همزمان دو علت فوق با یکدیگر که به طور کلی ناشی از تاثیر غوطه وری نمونه های ماهی در محلول حاوی پلی فنل می‌باشد. استفاده از عصاره های چای سبز در فیله‌های ماهی بونیتو سبب پایین نگهداشتن سطح TVB-N نسبت به تیمار شاهد طی ۱۶ هفته نگهداری به صورت منجمد گردید[۱۳]. از آنجایی‌که TBV-N تولید شده احتمالا به علت تجزیه باکتریایی در عضله ماهیان می-باشد، مقادیر بالای بار باکتریایی(شمار کل باکتری ها) نمونه های تیمار شاهد نسبت به بقیه تیمارها طی مدت نگهداری در تحقیق حاضر می‌تواند دلیلی برای مقادیر یالای زیاد TVB-N تیمار شاهد باشد. به طوریکه وجود همبستگی بالای به دست آمده بین این دو شاخص گواه این موضوع است ($r=۰/۹۵۵$). مقایسه نتایج تحقیق ما با مطالعات دیگران نشان داد که پلی‌فنل‌های چای سبز در ممانعت از افزایش TVB-N نقش واضح و مشخصی دارد و در این خصوص نتایج این پژوهش منطبق بر نتایج دیگر محققین است. با این وجود برخی محققین در مطالعات خود ذکر کرده‌اند شاخص TVB-N نمی‌تواند معیار مناسبی جهت قضاوت میزان تازگی ماهی باشد[۱۴-۱۶و۲].

هر چند به طور گسترده ای پذیرفته شده که بار میکروبی اولیه ماهیان آب شیرین متفاوت می باشد به عواملی چون وضعیت آب و دمای محیط پرورش و وابسته است، لکن انتشارات علمی در دسترس در مورد گونه های مختلف آب شیرین (تیلاپیا، قزل آلای

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-02-09]

رنگین کمان، سوف نقره ای) شمار بار باکتریایی معمول را در هنگام صید 10^{2}-10^{6} cfu/g گزارش کرده اند[۲]. شمار بالایی از بار میکروبی می‌تواند در محصول خام پیدا شود که وابسته به شرایط نگهداری و دستکاری است [۱]. مهمترین گروه‌های باکتریایی که از گوشت خام قزل آلا جدا شده‌اند شامل *Pseudomonas- Moraxella- Aeromonas* می باشند [۱۷]. میزان مجاز شمار کل باکتری برای ماهی قزل آلای رنگین کمان ۷ log cfu/g پیشنهاد شده است [۱۸]. طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های ضدباکتریایی عصاره چای سبز به خاطر وجود ترکیبات پلی‌فنل بویژه کاتشین‌ها است که بر سلول‌های میکروبی تاثیرمی گذارد و با نفوذ عصاره به درون سلول بر متابولیسم RNA و DNA اثر گذاشته و از رشد و متابولیسم میکروب‌ها جلوگیری می‌کند [۱۹]. بر اساس نتایج مطالعه حال حاضر (جدول۱) شمارکل باکتری‌ها با گذشت زمان در تمامی تیمارها افزایش یافت، اما روند در تیمار ۶۰۰ppm به گونه‌ایست که تا روز ۸ هر چند بار میکروبی در حال افزایش بود، ولی اختلاف معنی‌داری بین روزهای نمونه‌برداری مشاهده نشد. در این تیمار از روز ۴ به بعد شمار کل باکتری به صورت معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود و شمار کل باکتری در انتهای دوره از حد مجاز (10^{7}cfu/g) فراتر رفت (۷/۸۱±۰/۳۱log cfu/gr)، در حالی‌که بقیه تیمارها در روز ۱۲ از حد مجاز بیشتر شدند . در مطالعه Fan و همکاران (۲۰۰۸)[۱۱] غوطه‌وری در محلول پلی‌فنل سبب به تاخیر انداختن فساد میکروبی شد، به طوری‌که در انتهای ۳۵ روز نگهداری ماهی کپور نقره‌ای در یخ شمار کل باکتری به میزان ۷/۶ log cfu/g رسید، و در همین مدت مقدار آن در نمونه‌های شاهد به میزان ۹/۵ log cfu/g افزایش یافت. آنها اشاره کردند که کاهش معنی‌دار مشاهده شده در میزان TVC در نمونه های غوطه‌ورشده پلی‌فنل می‌تواند ناشی از اثر بازدارندگی پلی‌فنل‌های چای روی فساد باکتریایی باشد. شمار کل باکتری در مطالعه Banon و همکاران (۲۰۰۶)[۲۰]. در تیمار کلوچه‌های گوشتی گاو حاوی ترکیب آنتی‌اکسیدانی سولفید و عصاره چای سبز(۱۰۰ppmسولفید + ۳۰۰ppm عصاره چای سبز) نسبت به به بقیه ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی دارای افزایش کمتری بود، به طوری‌که پس از گذشت ۹ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد شمار باکتری‌ها در این تیمار به ۵/۸ log cfu/g رسید و به طور معناداری کمتر از تیمار شاهد در مدت مشابه بود (log cfu/g ۶/۴). باکتری‌های هوازی از قبیل گونه‌های *Pesudomonas* جزء گروه‌های باکتریایی غالب در گوشت قزل آلای رنگین کمان می‌باشند که به فساد گوشت نگهداری شده در شرایط هوازی کمک می‌کنند [۱۷] بار باکتریایی مجاز برای سایکروتروفیک‌های هوازی (سرمادوست‌ها) ۷ log cfu/g گزارش شده است [۲۱].

درتحقیق حاضر(جدول۱) شمار باکتری‌های سرمادوست با گذشت زمان افزایش یافت، بطوریکه تیمار شاهد در روز ۱۲، و سطوح ۲۰۰ppm و ۴۰۰ ppm در روز ۱۶ از محدوده مجاز بار باکتریایی گذشت که نشان دهنده ایجاد فساد میکروبی از لحاظ این شاخص بود در حالی‌که سطح ۶۰۰ ppm در انتهای دوره به این میزان می‌رسد و تقریبا از این لحاظ هنوز به مرحله فساد نرسیده بود. در مطالعه Chytiri و همکاران، ۲۰۰۴ [2] در مدت ۱۸ روز نگهداری ماهی کامل قزل آلای رنگین کمان در یخ شمار باکتری‌های سودموناس در انتهای دوره نگهداری به میزان log cfu/g ۶ رسید. در مطالعه Kumudavally و همکاران (۲۰۰۸) [۱۹] گوشت قرمز تیمار شده با عصاره چای سبز در شرایط نگهداری هوازی در دمای ۲±۲۵ درجه سانتیگراد نسبت به تیمار شاهد به طور معناداری دارای شمار سودوموناس‌های کمتری بود. آنها در مطالعه‌ای خود نشان دادند که تیمارکردن با عصاره چای سبز در بازدارندگی از سودوموناس‌ها به همان اندازه که سبب کاهش سطوح آمین‌های بیوژن شود مفید است.

در تحقیق حاضر میزان pH (جدول۱) ابتدا تا روز ۸ افزایش یافته و سپس در روز ۱۲ کاهش یافته و مجدداً در انتهای دوره افزایش یافته که این نوسانات در همه تیمارها دیده می‌شود. به طور کلی روند تغییرات pH در تمامی تیمارها افزایشی بود. کاهش اولیه pH ممکن است ناشی از عدم حلالیت CO_2 در نمونه‌های ماهی باشد (تجمع CO_2) که به موجب افزایش CO_2، pH کاهش می‌یابد [۱۱]. چنین نتیجه‌ای در مطالعات دیگر نیز مشاهده شده است[۲۲و۲۳]. افزایش pH ممکن است ناشی از تولید ترکیبات پایه فرار از قبیل آمونیاک (آمونیاک + آمونیوم)، تری‌متیل‌آمین (TMA) در اثرعمل آنزیم‌های داخلی یا آنزیم‌های میکروبی باشد[۲۴]. در مطالعه Fan و همکاران (۲۰۰۸) [۱۰] در نمونه های تیمار شاهد ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت،

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-02-09]

همین روند در تیمار غوطه ور شده در محلول حاوی پلی‌فنل نیز مشاهده شد با این تفاوت که افزایش pH در این تیمارنسبت به تیمار شاهد با سرعت کمتری صورت پذیرفت، آنها بیان کردند که پایین بودن سطح pH سبب افزایش بازدارندگی میکروبی شده و از سویی دیگر به ممانعت از فعالیت آنزیم پروتئاز داخلی کمک می‌کند. نتایج تجزیه و تحلیل‌های میکروبی بیانگر این موضوع بود که در تمامی تیمارها، بار میکروبی همراه با گذشت زمان افزایش یافت، ولی این افزایش در تیمارهای غوطه ور شده در محلول حاوی عصاره چای سبز کندتر صورت گرفت به طوریکه تیمار ۶۰۰ ppm در هردو شاخص بار میکروبی در انتهای دوره وضعیت قابل قبولی نسبت به تیمار شاهد دارد. بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که به طور کلی تیمار کردن ماهی قزل آلای رنگین کمان به صورت غوطه وری در محلول حاوی عصاره چای سبز سبب حفظ کیفیت ماهی از لحاظ شاخص های میکروبی و افزایش ماندگاری این ماهی می شود. از سویی دیگر با توجه به نتایج بدست آمده در بین ۳ سطح مورد آزمایش سطح ۶۰۰ ppm به عنوان بهترین سطح در به تاخیر انداختن فساد میکروبی و حفظ کیفیت ماهی شناخته شد.

۵- منابع

[1] Gonzalez-Fandosa E., Garcia-Linares M. C., Villarino-Rodrıguez A., Garcha-Arias M. T., Garcıa-Fernandez M. C., 2004: Evaluation of the microbiological safety and sensory quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processed by the sous vide method. Journal of Food Microbiology, vol. 21: 193–201.

[2] Chytiri S., Chouliara I., Savvaidis I.N., Kontominas M.G., 2004: Microbiological, Chemical and Sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. . Journal of Food Microbiology, vol. 21: 157-165.

[3] Liston, J., 1980: Microbiology in fishery science. In: Connell, J.J. (Ed.), Advances in Fish Science and Technology. Fishing News Book Limited, Surrey, Farnham, pp. 138–157.

[4] Guillerm-Regost C., Haugen T., Nortvedt R., Carlehog M., Lunestadb T., Kiessling A.,. Rora A. M. B., 2006: Quality Characterization of Farmed Atlantic Halibut During Ice Storage. Journal of Food Science, Vol. 71: 83-90.

[5] Yukihiko Hara, 2001. Green tea Tokyo Food Techno Co., Ltd. (Mitsui Nor in Co., Ltd.) Tokyo, Japan.pp:264P.

[6] Almajano, M. P., Carbo, R., Jimenez, J. A. L., Gordon, M. H., 2008 : Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. Food Chemistry. Vol, 108 : 55–63.

[7] Noriyuki, I., Toshiyoshi, A., Yutaka, T., Misa, I., Akifumi, N., Nobuyuki, A., Djong-Chi, C., Tatsuo, M. 2001 : Suppressive Effect of Green Tea Polyphenol on Microbial Growth and Volatile Basic Nitrogen Content in Round Form Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) Meat during Ice Storage. . Journal of Food Preservation, Vol, 27 : 269- 276.

[8] Seto Y., Lin C., Endo Y., Fulimoto K., 2005: Retardation of lipid oxidation in blue spart by hot water tea extracts. Journal of the Science of Food and Agriculture, vol. 85: 1119-1124.

[9] Mahdavi D. L., Deshpande S. S., Salunkhe D. K. 1995. Journal of Food Antioxidant. 1st edn. New York: Marcel Dekker, Inc, USA. 378p.

[10] Fan W., Chi Y., Zhang S., 2008: The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmicthys molitrix*) during storage in ice. Food Chemistry, vol. 108 : 148–153.

[11] Goudlas, A. E. and Kontominas, M. G., 2005: Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. Food Chemistry, 93: 511–520.

[12] Zar J. H. 1999: Biostatistical Analysis. Prentice Hall International, Inc. 660p.

[13] Lin, C. C. and Lin, C. S. 2005: Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea extracts. Food Chemistry 16(2):169-175.

[14] Kyrana V.R., Lougovois V.,P., Valsamis D. S., 1997: Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (Sparus aurata) stored in ice. International Food Science and Technology. vol 32: 339–347.

[15] Dawood A. A., Roy R. N., WilliamsC. S., 1986: Quality of rainbow trout chilled-stored after post-catch holding. Journal of the Science of Food and Agriculture. vol 37: 421–427.

[16] Rezaei M., Hosseini S.F., Ershad Langrudi H., Safari R., Hossein s.v., 2008: Effect of

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-02-09]

delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Food Chemistry, vol. 106: 1161–1165.

[17] Sousa J. A., Romalde J.L., Ledo A., Eiras J. C., Barja J.L., Toranzo A. E., 1996: Health status of two salmonid aquaculture facilities in North Portugal: characterization of the bacterial and viral pathogens causing notificable diseases. Journal of Fish Diseases. Vol. 19: 83–89.

[18] ICMSF ''International Commissionon Microbiological Specification Foods'' 1986: Microorganisms infoods.
20 sampling for microbiological analysis. Prenciplesand specific application (2nded). Buffal.NY: university Toronto press.

[19] Kumudavally K. V., phanindrakumar H. S., Tabassum A., Radhakrishna K., Bawa A. S., 2008: Green tea – A potential preservative for extending the shelf life of freash mutton at ambient temperature (25±2 0C). Food Chemistry. vol. 107: 426-433.

[20] Banon S., Diaz P., RodriguezM., Garrido M. D., Price A., 2007; Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. Journal of Meat Science vol. 77: 626–633.

[21] Gimenez B., Roncales P., Beltran J.A., 2002 : Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. Journal of the Science of Food and Agriculture. Vol. 84: 1154–1159.

[22] Tiffney, P. & Mills, A. 1982: Storage trials of controlled atmosphere packaged fish products. Tech. Rep. No. 191. Sea Fish Industry Authority.

[23] Manju, S., Srinivasa Gopal, T. K., Jose, Leema, Ravishankar, C. N., & Ashok Kumar, K. 2007: Nucleotide degradation of sodium acetate and potassium sorbatedip treated and vacuum packed Black Pomfret (*Parastromateus niger*) and Pearlspot (*Etroplus suratensis*) during chill storage. Food Chemistry, 102, 699–706.

[24] Riebroy S., Benjakul S., Visessanguan W., Tanaka M., 2007: Effect of ice storage of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) on the chemical composition, Properties and acceptability of Som – fug, a fermented Thai fish mince. Food Chemistry. vol. 102: 270-280.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-02-09]

Effect of polyphenols green tea on microbial and chemical change rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss)* during storage in ice

Mohammadzadeh, B., Rezaei, M. *

Department of Seafood Processing, Tarbiat Modares University, Noor.
(Received: 88/11/6 Accepted: 89/6/23)

Effect of green tea extract and its natural antibacterial on microbial spoilage rainbow trout during ice storage was investigated. In this research fishes in whole fish form and dipped in antibacterial solutions (200, 400, 600 ppm) for 90 minutes and then were icing. During storage period (16 days), spoilage microbial indices (TVB-N, TVC, PVC) and pH with interval of 4 days were measured and compared with control treatment. Based on obtained results in all of treatments by passing time the value of total volatile nitrogen increased significantly *(P < 0/05)*. But this increase in treatment of 600 ppm performanced slowly. In control treatment by passing time Total viable count increased significantly *(P < 0/05)*. Except in level of 600 ppm, other levels did not significantly different until sixteenth day in comparison with control treatment. In passage of time, Psychotroph viable count (PVC) in all of treatments was increased while control treatment in twelfth day and levels of 200 and 400 ppm in final period storage time were aggressive allowable content but 600 ppm level in final period was lower than allowable content (6/89±0/15 log cfu/gr). The value of pH was increased in all of treatments. Obtained results showed that green tea extract with dipping whole fish in consternation of 600 ppm was suggested for retardation of microbial spoilage in rainbow trout during storage in ice.

Key words: Green tea extract, Rainbow trout, Microbial spoilage, Polyphenol

* Corresponding Author E-Mail address: rezai_ma@modares.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-02-09]