

بررسی تاثیر آنتی اکسیدان گیاهی عصاره دانه انگور بر کیفیت شیمیایی، حسی و لکه سیاه میگوی سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) طی نگهداری در دمای ۱۸- درجه سلسیوس به مدت شش ماه

مینا سیف زاده^{۱*}، علی اصغر خانی پور^۱، سید حسن جلیلی^۱

۱- انزلی مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان
(تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۳)

چکیده

این پروژه با هدف بررسی امکان استفاده از عصاره دانه انگور برای جلوگیری از ایجاد لکه سیاه در میگوی پرورشی و جایگزینی آن بجای ترکیبات شیمیایی مصنوعی بود. تیمارها شامل میگوی غوطه ور شده در غلظت ۱۰g/l عصاره دانه انگور به مدت ۱۵ دقیقه و میگوی شاهد بودند. تیمارها به مدت ۶ ماه در سردخانه ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند. کیفیت نمونه ها با استفاده از آزمایش های شیمیایی و حسی مورد ارزیابی قرار گرفت. در نمونه های آزمایشی بر خلاف شاهد فاکتورهای شیمیایی شامل پراکسید و اسید چرب آزاد طی مدت زمان نگهداری در سردخانه تفاوت معنی دار نداشتند ($P > 0.05$). در فاکتورهای تیوباربیتوریک اسید و pH نمونه های آزمایشی و شاهد طی مدت زمان نگهداری در سردخانه تفاوت معنی دار نداشتند ($P > 0.05$). فاکتورهای تری متیل آمین و Total Volatile Nitrogen (TVN) در میگوی آزمایشی در مقایسه با شاهد کاهش داشتند. فاکتورهای رطوبت، تری متیل آمین و TVN در میگوی آزمایشی و شاهد طی مدت زمان نگهداری در سردخانه تفاوت معنی دار نداشتند ($P < 0.05$). در فاکتور رنگ و ملانوزیز در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد طی مدت زمان نگهداری در سردخانه تفاوت معنی دار مشاهده نشد ($P < 0.05$). پروتئین، چربی و خاکستر در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد تفاوت معنی دار نداشتند ($P > 0.05$). تیمار آزمایشی در مقایسه با شاهد از کیفیت بهتری برخوردار بود. در تیمار آزمایشی تا پایان مدت زمان نگهداری در سردخانه لکه های سیاه ظاهر نشد اما در میگوی شاهد بعد از مدت زمان ماندگاری ۲۰ روز در سردخانه ملانوزیز ظاهر شد.

کلید واژگان: میگوی سفید غربی، پلی فنل اکسیداز، آنتی اکسیدان، عصاره دانه انگور

* مسئول مکاتبات: M_seifzadeh_ld@yahoo.com

۱- مقدمه

فرآوری مهمترین عنصر در بازاریابی و صید میگو است. انتخاب تکنولوژی فرآوری در صنعت فرآوری میگو در صادرات و کشورهای وارد کننده حائز اهمیت است. برای تهیه محصول مناسب ویژگی های محصول بایستی در نظر گرفته شده و مناسب ترین تکنولوژی جهت تهیه این محصول انتخاب شود. بر این اساس بهره برداری مناسب و بهینه از میگوی پرورشی در کشور با بکارگیری روش های بهینه جابجایی و فرآوری میگو و توجه به تغییرات پس از برداشت از اهمیت ویژه ای برخوردار است [۱]. در حال حاضر در بازارهای جهانی، میگو به اشکال منجمد، بلوک شده، سالاد میگوی پخته شده، انجماد سریع انفرادی، میگوی پرورشی و میگوی AFD (Accelerated Freeze-Drying) موجود است. میگوی منجمد به دلیل طول دوره نگهداری طولانی از ارزش تجاری بالایی برخوردار بوده و تقاضا برای این محصول بسیار زیاد است. مهمترین تغییرات کیفیت که در طول نگهداری طولانی میگوی منجمد در سردخانه اتفاق می افتد شامل از بین رفتن رنگ، اکسیداسیون چربی، دناتوره شدن پروتئین و تشکیل بلورهای یخ می باشد [۲]. در حال حاضر جهت حفظ رنگ و برای جلوگیری از تشکیل لکه سیاه (blackspots) میگو در سردخانه از متابولیسم سولفیت سدیم استفاده می شود. این ترکیب یک نوع آنتی اکسیدان شیمیایی و حساسیت زا بوده و در مواردی مرگ کارگران نیز از استنشام آن گزارش شده است. علاوه بر این به دلیل باقی ماندن آن در بافت میگو و عوارض مصرف آن ممنوعیت قانونی استفاده از این ترکیب در بسیاری از کشورها وجود دارد [۳ و ۴]. بنابراین استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدان گیاهی و طبیعی مانند کاتچین (catechin) بجای متابولیسم سولفیت سدیم ضروری است.

پلی فنل ها به عنوان قوی ترین میکرونوترینت در برنامه غذایی انسان محسوب شده اند. عصاره دانه انگور که از مشتقات صنعتی انگور است، از انگور قرمز تهیه شده، یک آنتی اکسیدان طبیعی، قوی و فاقد اثرات سمی بوده به عنوان مکمل غذایی محسوب شده و هم اکنون در بسیاری از کشورها مصرف می گردد [۵]. لکه سیاه یا ملانوزیس (Melanosis) تشکیل پیگمان سیاه غیر محلول (ملانین) در سطح پوسته داخلی میگو است که به

اکسیداسیون آنزیماتیک پیش سازهای فنولیک ارتباط دارد. این تغییر رنگ در سطح بدن میگو، لایستر و خرچنگ بدلیل تیره شدن غشاء زیر پوست طی مرحله جمود نعشی بروز می نماید. اکسیژن، دما و نور خورشید در بروز این لکه ها نقش اساسی دارند. این پدیده یک مشکل آنزیماتیک است که به وسیله آنزیم پلی فنل اکسیداز (polyphenol oxidase) ایجاد می شود [۷ و ۶]. این آنزیم یک آنزیم داخلی بوده و فعالیت آن ارتباطی با باکتری های عامل فساد ندارد. پلی فنل اکسیداز در پاسخ ایمنی، استحکام کوتیکول، ترمیم زخم ها و افزایش مقاومت به بیماری ها در سخت پوستان نقش دارد. این آنزیم طی نگهداری در یخچال و یخ فعال بوده و حتی بعد از انجماد نیز فعال باقی می ماند. لکه های سیاه یک مشکل مهم در گونه های تجاری میگو است و می تواند تاثیر منفی روی ظاهر، کیفیت میگو، مدت زمان ماندگاری، بازار پسندی، ارزش اقتصادی و پذیرش محصول توسط مصرف کننده داشته باشد [۹ و ۸]. در جهان برای جلوگیری از ملانوزیز از روش های مختلفی مانند حرارت مایکروویو، بخار (روش حرارتی)، ترکیبات آنتی اکسیدان، حذف اکسیژن (گاز دی اکسید کربن متراکم) و غیر فعال کردن آنزیم پلی فنل اکسیداز استفاده می شود. از سایر روش ها برای غیر فعال کردن این آنزیم کاربرد روش های شیمیایی است. از این روش ها می توان از ترکیبات احیاء کننده قوی مانند میموزین، سیناپیک اسید، پی کوماریک، کوچیک اسید، ارگانیک اسید، سدیم بنزوات، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید، سدیم هیدروژن پیرو فسفات، عامل های سولفات و غیره را نام برد [۱۰ و ۱۱].

تاکنون در زمینه کاربرد عصاره دانه انگور برای جلوگیری از ایجاد لکه سیاه در میگو در داخل کشور تحقیقی انجام نشده است. در سال ۲۰۰۷ عصاره دانه انگور توسط Gokoglu برای جلوگیری از ایجاد رنگدانه های پوستی یا لکه سیاه در میگو استفاده شده است. این پروژه با هدف بررسی تاثیر کاتچین برای جلوگیری از ملانوزیز در میگوی پرورشی گونه وانامی طی مدت زمان نگهداری در سردخانه انجام شد.

۲- مواد و روش ها

برای انجام این تحقیق از تحقیق انجام شده توسط Gokoglu با تغییرات کمی که در آن داده شد استفاده شد. این تحقیق به روش تجربی و با تکنیک مشاهده انجام شد. فرآوری در سایت پرورش میگو در تیاب جنوبی انجام شد. این مطالعه در قالب ۲ تیمار و ۳ تکرار انجام گردید. تیمارها شامل میگوی فرآوری شده با عصاره دانه انگور و میگوی بدون آنتی اکسیدان (نمونه شاهد) هستند. میگوها بعد از برداشت با استفاده از آب یخ به مدت ۳ دقیقه سرد شدند. سپس میگوهای سرد شده در داخل محلول عصاره دانه انگور با غلظت ۱۰ g/l به نسبت ۲ به ۱ به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند. میگوهای پوشش شده تحت شرایط بهداشتی و زیر پوششی از یخ به نسبت ۲ به ۱ بوسیله سبد به کارخانه فرآوری بندر کلاهی انتقال داده شدند. بعد از این مرحله میگو با استفاده از پلاستیک های پلی اتیلن در مقادیر ۵۰۰ گرمی بسته بندی شده، سپس جعبه گذاری شده و به مدت ۸-۱۲ ساعت در داخل تونل انجماد (۴۰- درجه سلسیوس) قرار داده شد و سپس به سردخانه ۱۸- تا ۲۵- درجه سلسیوس انتقال داده شدند.

آزمایش های شیمیایی و حسی برای بررسی کیفیت نمونه های منجمد آزمایشی و شاهد به مدت شش ماه و در طی هفت مرحله از زمان صفر تا شش ماه انجام شد. میگوهای برداشت شده قبل از انجام فرآیند فرآوری از نظر شیمیایی و حسی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه برداری برای انجام این آزمایش ها به روش تصادفی انجام شد.

آزمایش های شیمیایی برای نمونه های آزمایشی و شاهد منجمد شامل اندازه گیری رطوبت به روش آون خشک [۱۲]، پروتئین به روش ماکروکجلدال [۱۲]، چربی به روش هیدرولیز اسیدی [۱۲]، خاکستر به روش تعیین گرایمتریک [۱۲]، پراکسید به روش تیتراسیون یدومتریک [۱۳]، TVN به روش ماکروکجلدال [۱۴]، تری متیل آمین به روش اصلاح شده Dyer [۱۵]، تیوباربیتوریک اسید به روش مستقیم [۱۶] و pH به روش الکترومتریک [۱۷] انجام شد. مواد شیمیایی استفاده شده برای انجام آزمایشات شیمیایی از نمایندگی شرکت Merck در ایران تهیه شد.

به منظور ارزیابی حسی برای نمونه های آزمایشی و نمونه شاهد (نمونه های ۱۰ تایی از هر تیمار) از جدول امتیاز بندی کیفی میگوهای خام (با ۱۰ امتیاز و ۴ سطح کیفی) استفاده شد.

پارامترهای مورد بررسی در این جدول شامل بررسی ملانوزیز، گوشت، چشمها، سرسینه و دم، بو، پاهای، پوست و شاخک ها و رنگ ظاهری بود که به روش Quality index method scoring سنجیده شد [۱۸]. برای انجام آزمایش های شیمیایی و حسی نمونه های آزمایشی و شاهد نیز در هر مرحله آزمایش سه تکرار انجام شد.

آزمایش حسی با استفاده از سی ارزیاب مرد و زن در سردخانه بندر کلاهی با میانگین سنی ۳۵ تا ۴۵ سال انجام شد. این افراد بطور تصادفی از کارشناسان و متخصصین فرآوری میگو انتخاب شدند. نمونه ها به شکل منجمد مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات خام بدست آمده از آزمایش های شیمیایی و حسی میگوی آزمایشی و شاهد از نرم افزار آماری SPSS و آنالیز واریانس دو طرفه به روش تکرار روی عامل زمان استفاده شد. برای تعیین توزیع نرمال در داده های شیمیایی از روش کولموگراف - اسمیرنوف استفاده شد.

۲-۱- تهیه محلول آنتی اکسیدانی

برای آماده سازی محلول عصاره دانه انگور مقدار ۱۰ گرم از این عصاره در یک لیتر آب رقیق شد.

۲-۲- روش عصاره گیری

عصاره گیری با سیستم حلال انجام شد. ابتدا دانه های انگور قرمز در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت در آون خشک شدند. سپس پودر شده و ۱۰۰ گرم پودر در استخراج کننده سوکسله با اتر پترولیوم (۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۶ ساعت) قرار گرفت تا چربی زدایی شد. پودر دانه انگور چربی زدایی شده در سوکسله مدت ۸ ساعت با ۲۰۰ میلی لیتر اتانول عصاره گیری شد. سپس عصاره در روتاری اواپراتور تحت وکیوم در دمای زیر ۴۰ درجه سلسیوس تغلیظ شد. عصاره خام به دست آمده لیوفیلیزه شد.

۲-۳- آنالیز عصاره دانه انگور (ارزیابی شده به روش HPLC)

محتوای تام فنلی: $90 \pm \text{g GAE}/100\text{g}$ ، پروفایل فنلی: منومر ۱۰٪، الیگومر ۸۰-۶۰٪، پلیمر ۲۵٪
امتیاز کیفی نهایی (OQS) = $\sum Si/6$ ، OQS مردودی > ۴ ،
OQS مرز قبولی (پذیرش) = ۴

جدول ۱ ارزیابی کیفی میگوی خام

۱	۴ ۴-۳-۲	۷ ۷-۶-۵	۱۰ ۱۰-۹-۸	امتیاز ویژگی
سیاه شدن کامل (سر سینه، باله های دمی و پوسته)	سر سینه تیره/ سیاه، برخی باله های دمی سیاه شده، وجود برخی خطوط سیاه در پوسته	بی رنگ، کمی شفاف، ظهور برخی از علائم سیاه شده گی، سر سینه قهوه ای تیره، روی باله های دمی خطوط سیاه	بی رنگ، شفاف، عدم وجود هر گونه رنگ تیره	رنگ (ظاهری)
بیشتر سر سینه و دم ها کنده شده اند	سر سینه و دم پیوستگی اندرکی دارند و به راحتی کنده می شوند، شل شدگی طبیعی، بخش گوشت سر سینه قابل رویت است، چند دم و سر سینه کنده شده اند	سر سینه و دم پیوسته بوده اما چندان سفت نمی باشد و حرکت آن افزایش داشته، در برخی سستی شروع گردیده	سر سینه و دم سفت و کاملاً پیوسته	سر سینه / دم
اغلب شاخک ها و پاها کنده شده، برخی پوسته ها نیز کنده شده اند	شروع به کنده شدن پاها و شاخک ها در جعبه نگهداری	کامل، پاها و شاخک ها سختی کمتری داشته (به راحتی کنده می شوند)	کامل، سخت	پاها، پوسته ها، شاخک ها
اغلب چشم ها کنده شده اند	کاهش رنگ، برخی چشم ها کنده شده اند (جستجو در جعبه نگهداری)	کاهش شفافیت، کمی تیره	شفاف، سفت	چشم ها
بوی شدیدی آمونیاکی و سولفیدی، تهوع آور	برخی دارای بوی ملایم ماهی	بدون بو	بویی شبیه جلبک های دریایی بوی آب دریا، خوشایند	بو
سیاه شدن (گوشت)، سر سینه، دم، وجود برخی رنگ رنگ های زرد و سبز در گوشت دم، پاره شدن رگ ها)	ظهور سیاه شده گی در گوشت سر سینه، خود هضمی رگ ها شروع شده (رگ برداری مشکل است)	سفتی کاهش یافته، نرم، سفید مات، رگ هنوز کامل است اما مقاومت کمتری دارد، سیاهی وجود ندارد	سفت، آبدار، سفید، شفاف، رگ سفت، مقاوم	گوشت (بافت، رنگ، رگ)

۳- نتایج و بحث

جدول ۲ نتایج تغییرات فاکتورهای شیمیایی میگوی غوطه ور شده با در محلول ۱۰ g/l عصاره دانه انگور و شاهد طی زمان نگهداری در سردخانه به مدت شش ماه

ویژگی	زمان	تیمار
تری متیل آمین ($\mu\text{g/g}$)	ماه ۰	نمونه آزمایشی $0.57 \pm 0.26a$
	ماه ۱	نمونه آزمایشی $0.81 \pm 0.21a$
	ماه ۲	نمونه آزمایشی $1.45 \pm 0.31b$
	ماه ۳	نمونه آزمایشی $2.14 \pm 0.69c$
	ماه ۴	نمونه آزمایشی $3.49 \pm 0.75d$
	ماه ۵	نمونه آزمایشی $4.46 \pm 0.89e$
	ماه ۶	نمونه آزمایشی $5.41 \pm 0.61f$
pH	ماه ۰	نمونه شاهد $6.99 \pm 1.8a$
	ماه ۱	نمونه شاهد $7.05 \pm 1.3a$
	ماه ۲	نمونه شاهد $7.09 \pm 1.1a$
	ماه ۳	نمونه شاهد $7.13 \pm 1.9a$
	ماه ۴	نمونه شاهد $7.15 \pm 1.4a$
	ماه ۵	نمونه شاهد $7.18 \pm 2.1a$
	ماه ۶	نمونه شاهد $7.20 \pm 1.7a$
TVN (mg/100g)	ماه ۰	نمونه آزمایشی $11.6 \pm 1.3a$
	ماه ۱	نمونه آزمایشی $12.0 \pm 1.45a$
	ماه ۲	نمونه آزمایشی $12.6 \pm 1.9b$
	ماه ۳	نمونه آزمایشی $12.7 \pm 1.8c$
	ماه ۴	نمونه آزمایشی $13.8 \pm 2.6d$
	ماه ۵	نمونه آزمایشی $14.8 \pm 1.5e$
	ماه ۶	نمونه آزمایشی $15.4 \pm 2.7f$
تیوباریتوریک اسید (mg/kg)	ماه ۰	نمونه آزمایشی $0.7 \pm 0.3a$
	ماه ۱	نمونه آزمایشی $0.10 \pm 0.28a$
	ماه ۲	نمونه آزمایشی $0.13 \pm 0.19a$
	ماه ۳	نمونه آزمایشی $0.18 \pm 0.17a$
	ماه ۴	نمونه آزمایشی $0.22 \pm 0.27a$
	ماه ۵	نمونه آزمایشی $0.24 \pm 0.2a$
	ماه ۶	نمونه آزمایشی $0.28 \pm 0.34a$
اسید چرب آزاد (g/100)	ماه ۰	نمونه شاهد $0.08 \pm 0.12a$
	ماه ۱	نمونه شاهد $0.21 \pm 0.25a$
	ماه ۲	نمونه شاهد $0.34 \pm 0.26a$
	ماه ۳	نمونه شاهد $0.47 \pm 0.16a$
	ماه ۴	نمونه شاهد $0.61 \pm 0.17a$
	ماه ۵	نمونه شاهد $0.78 \pm 0.17a$
	ماه ۶	نمونه شاهد $0.85 \pm 0.14a$
پر اکسید meq/kg)	ماه ۰	نمونه آزمایشی $0.12 \pm 0.12a$
	ماه ۱	نمونه آزمایشی $0.21 \pm 0.28a$
	ماه ۲	نمونه آزمایشی $0.52 \pm 0.45a$
	ماه ۳	نمونه آزمایشی $0.51 \pm 0.11a$
	ماه ۴	نمونه آزمایشی $0.45 \pm 0.33a$
	ماه ۵	نمونه آزمایشی $0.36 \pm 0.19a$
	ماه ۶	نمونه آزمایشی $0.34 \pm 0.27a$
رطوبت (درصد)	ماه ۰	نمونه شاهد $77.99 \pm 1.1a$
	ماه ۱	نمونه شاهد $77.61 \pm 1.8a$
	ماه ۲	نمونه شاهد $77.16 \pm 1.8b$
	ماه ۳	نمونه شاهد $76.95 \pm 1.8b$
	ماه ۴	نمونه شاهد $76.75 \pm 1.8b$
	ماه ۵	نمونه شاهد $76.39 \pm 1.8b$
	ماه ۶	نمونه شاهد $75.81 \pm 1.8c$

در نمونه های آزمایشی میانگین فاکتورهای رطوبت، پراکسید، اسید چرب آزاد، تیوباریتوریک اسید، pH، TVN و تری متیل آمین به ترتیب ۷۶/۹۵٪، ۰/۳۶ meq/kg، ۰/۶۳ g/100، ۰/۱۷ mg/kg و ۱۳/۲ mg/100، ۷/۱۱ و ۲/۷۸ μg/g است.

بر اساس آزمون کولموگراف اسمیرنوف توزیع داده های شیمیایی در محدوده نرمال بود. در نمونه های آزمایشی بر خلاف نمونه های شاهد فاکتورهای pH، تیوباریتوریک اسید، اسید چرب آزاد و پراکسید از قبل از سردخانه گذاری تا پایان ماه ششم تفاوت معنی دار وجود ندارد ($P > 0.05$). اما در نمونه های آزمایشی همانند نمونه های شاهد فاکتورهای TVN، تری متیل آمین و رطوبت تفاوت معنی دار است ($P < 0.05$).

مقدار پراکسید از قبل از سردخانه گذاری تا ماه دوم افزایش و از ماه سوم تا پایان مدت زمان سردخانه گذاری کاهش داشته است. در نمونه های شاهد میانگین فاکتورهای رطوبت، پراکسید، اسید چرب آزاد، تیوباریتوریک اسید، pH، TVN و تری متیل آمین به ترتیب ۷۶٪، ۱/۹۲ meq/kg، ۴/۵۷ g/100، ۰/۴۷ mg/kg و ۱۵/۴ mg/100، ۷/۳۱ و ۵/۳۱ μg/g است.

مقدار رطوبت در نمونه های آزمایشی در مقایسه با نمونه شاهد افزایش معنی داری نشان نداد. در نمونه های شاهد به علت وجود فضای خالی بین میگوها و نیز نوسانات دمایی سردخانه میگوی درون بسته ها رطوبت خود را از دست داده و دچار خشک شدگی و بالطبع کاهش وزن شد. این حالت می تواند به دلیل تشکیل کریستال های یخ نیز در فرآورده بروز نماید. تشکیل یخ عمل پایه ای دهیدراتاسیون محسوب شده، سبب خروج رطوبت منجمد به شکل بخار از ماده غذایی می گردد. جریان هوا در سردخانه نیز می تواند خروج رطوبت را تشدید کند. این حالت می تواند تخریب پروتئین ها و اکسیداسیون چربی ها را تسریع کرده و سبب کاهش کیفیت بافت و تغییر رنگ در این نمونه ها گردد. با این که اولیگومرهای فلاونول های عصاره دانه انگور روی ماهیچه اندوژن میگو تاثیر داشته و با به تاخیر انداختن جمع شدن ماهیچه ها سبب جلوگیری از ازدست دادن رطوبت در طی مدت زمان سردخانه گذاری میگو می شوند اما عصاره دانه انگور قادر به حفظ رطوبت میگو در شرایط انجماد نبوده و انجماد سبب کاهش رطوبت در این نمونه ها شده است [۳۱].

مقدار اسید چرب آزاد در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد کاهش داشت. در این نمونه ها غلظت این اسیدها از ماه اول تا ماه پنجم افزایش داشته است. اما از ماه پنجم تا ششم تقریباً بدون تغییر بوده است. اکسیداسیون چربی ناشی از واکنش چربی با اکسیژن و هیدرولیز آن متاثر از عمل آنزیم های لیپولیتیک بر روی چربی ماهی می باشد. آنزیم لیپولیتیک ترشح شده از باکتری های استافیلوکوک و آنزیم هایی که از باکتری های مرده و تجزیه شده آزاد می شوند قادر به فعالیت در فعالیت آبی پائین بوده و می توانند طی فرآیند لیپولیز سبب هیدرولیز چربی های بافت میگو و تولید اسیدهای چرب آزاد شوند. آزاد شدن اسیدهای چرب با تعداد کربن زیاد قادر به ایجاد بد طعمی مشخصی نیست اما با گذشت زمان اثرات تجمع اسیدهای چرب آزاد در عضلات ماهی به واسطه ترکیب آن ها با پروتئین عضله و دناتوره کردن آن سبب ایجاد طعم نامطلوب و آسیب های بافتی می گردد. در نمونه های آزمایشی به دلیل جلوگیری از فعالیت آنزیم لیپاز بافت تحت تاثیر کاتچین و حذف اکسیژن تحت تاثیر این ترکیب اسیدهای چرب آزاد کاهش نشان داده و سبب ایجاد بدطعمی در میگو نشده است. ویتامین E دارای خواص آنتی کسیدانی و محافظت اسیدهای چرب غیر اشباع از خطر اکسیداسیون است. غلظت تقریباً ثابت اسیدهای چرب در این نمونه ها در مراحل آخر نگهداری احتمالاً به دلیل کاهش مواد اولیه و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد بوده است [۲۳].

مقادیر TBA و پر اکسید در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد. در نمونه های تیمار شده از ماه اول تا دوم مقدار پر اکسید افزایش داشته انا از ماه دوم به بعد کاهش نشان داده اند. در نمونه شاهد به دلیل تاثیر انجماد بر بافت میگو، کاهش رطوبت و افت وزنی در زمان سردخانه گذاری، افزایش نفوذ اکسیژن به داخل بافت و در نتیجه اکسید شدن چربی های غیر اشباع و افزایش پراکسید می گردد. ولی پراکسید ناپایدار بوده و با گذشت زمان پراکسید شروع به تجزیه شدن می نماید که منجر به تولید آلدئید، کتون و ستن می گردد که در نتیجه منجر به کاهش مقدار پراکسید می گردد. غیر فعال سازی آنزیم لیپاز بافت تحت تاثیر کاتچین و توانایی این ترکیب برای از بین بردن رادیکال های آزاد تحت تاثیر از دست دادن هیدروژن، خواص آنتی اکسیدانی کاتچین و بالطبع کاهش اکسیداسیون و کاهش تولید

محصولات ثانویه اکسیداسیون مانند آلدئیدها سبب کاهش مقدار پراکسید در نمونه های آزمایشی شد. تاثیر اولیگومرهای فلاونول های عصاره دانه انگور روی ماهیچه های داخلی میگو، به تاخیر انداختن جمع شدن ماهیچه ها و از دست دادن رطوبت در طی زمان نگهداری و توکوفرول در طی مدت زمان سردخانه گذاری میگو نیز سبب جلوگیری از تشکیل پراکسید می شوند. پروتوکاتکونیک اسید نیز دارای خواص آنتی اکسیدانی و خوردن گی رادیکال های آزاد است [۲۴].

مقدار pH در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد کاهش نشان داد. علاوه بر تولید بازهای فرار (آمونیاک و تری میتیل آمین) و TVN با گذشت زمان محصولات اولیه اکسیداسیون چربی مانند هیدروپراکسیدها تجزیه شده و ترکیباتی مثل آلدئیدها و غیره تولید می گردند. این ترکیبات دارای خواص بازی بوده و سبب افزایش pH در نمونه شاهد می گردند. در نمونه های آزمایشی به دلیل کاهش تعداد میکرواورگانیزم ها، کاهش تری میتیل آمین، کاهش TVN و جلوگیری از اکسیداسیون چربی توسط کاتچین این فاکتور در قیاس با شاهد کمتر افزایش داشت [۲۵ و ۲۶].

جدول ۳ نتایج آزمایش های حسی نمونه های فراوری شده با عصاره دانه انگور طی مدت زمان نگهداری در سردخانه به مدت شش ماه

ویژگی زمان	گوشت	بر	چشم ها	پلها/ پوسته ها/ شاخک	سرسینه ام	رنگ
تیمبر	نمونه آزمایشی	نمونه شاهد	نمونه آزمایشی	نمونه شاهد	نمونه آزمایشی	نمونه شاهد
مله ۰	۹/۶۱±۰/۸۶a	۹/۶۳±۰/۷۷a	۹/۶۳±۰/۸۶a	۹/۶۶±۰/۴۵a	۹/۶۶±۰/۵۱a	۹/۶۶±۰/۵۱a
مله ۱	۹/۶۱±۰/۸۶a	۳/۴۴±۰/۷۷a	۳/۴۹±۰/۸۸a	۳/۴۸±۰/۸۶a	۹/۶۶±۰/۵۱a	۹/۶۶±۰/۵۱a
مله ۲	۹/۵۹±۰/۸۶a	-	۹/۶۳±۰/۸۶a	-	۹/۶۵±۰/۵۱a	-
مله ۳	۹/۳۳±۰/۸۶a	-	۹/۵۹±۰/۸۶a	-	۸/۸۱±۰/۵۱b	-
مله ۴	۹/۳۰±۰/۸۶a	-	۹/۴۸±۰/۸۶a	-	۸/۸۳±۰/۵۱b	-
مله ۵	۸/۸۹±۰/۸۶b	-	۹/۴۴±۰/۸۶a	-	۸/۸۱±۰/۵۱c	-
مله ۶	۸/۷۵±۰/۸۶b	-	۸/۷۱±۰/۸۶b	-	۸/۷۲±۰/۵۱c	-

حروف متفاوت در یک ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار است ($P < 0.05$).

حروف یکسان در یک ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار نیست ($P > 0.05$).

بر اساس آزمون واریانس دو طرفه از یک روز بعد از سردخانه گذاری تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه تفاوت معنی دار در شاخص رنگ در نمونه های آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0.05$). اما در نمونه های شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$).

کیفیت رنگ در میگوی آزمایشی تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه از کیفیت خوبی برخوردار بود و ملانوزیز در این نمونه ها تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه مشاهده نشد. اما در میگوهای شاهد بعد از مدت زمان ۲۰ روز نگهداری در سردخانه مشاهده شد. عصاره انگور قرمز محصول جانبی انگور است که حاوی مخلوطی از منومرهای کاتچین، محتوی الیگومرها و پلی مرهای پروآنتوسیانین، پیروسیانیدین، ویتامین E، فلاونول، اسیدهای مورد نیاز بدن (اسید فرولیک)، لینولئیک اسید و نوعی پلی فنل به نام رسیراترول است که از دانه های ویتیس وینیفرا استخراج می شود. پیروسیانیدین ها شاخص ترین ترکیبات فنلی موجود در عصاره دانه انگور می باشند. علاوه بر این عصاره دانه انگور از سایر ترکیبات فنولیک مانند کلروجنیک اسید، کاتکول، کافئیک اسید، دوپا، تانن، هیدروکوئینون، فنل، رزورسینول و پروتوکاتکونیک اسید تشکیل شده است. کاتچین از پلی فنل های گیاهی محسوب شده و از اسیدهای آمینه آروماتیک مانند فنیل آلانین و ال تیروزین تشکیل شده است [۱۱]. علاوه بر این تیروزین (سوبسترای منوفنولیک اساسی) اسید آمینه ای است که بطور طبیعی در میگو وجود دارد. این اسید آمینه به عنوان سوبسترا برای آنزیم پلی فنل اکسیداز (کمپلکس آنزیمی درگیر در اکسیداسیون فنل شامل تیروزیناز و کاتکول اکسیداز) عمل می کند. این اسید آمینه شامل یک حلقه فنولیک است که می تواند بوسیله آنزیم پلی فنل اکسیداز اکسیده شود. تیروزین طی مراحل مختلفی و تحت تاثیر اکسیژن به ترکیباتی مانند دوپا، دوپاکوئینون، ترکیب لوکو، دوپا کروم، ۵ و ۶ دی هیدروکسی اندول بانضمام دی اکسید کربن، اندول ۵ و ۶ کوئینون و در نهایت به ملانین تبدیل می شود [۱۰]. بنابراین تیروزین موجود در کاتچین به جای تیروزین موجود در بافت میگو می تواند به عنوان سوبسترا برای آنزیم پلی فنل اکسیداز عمل کرده و از بروز واکنش قهوه ای شدن و تغییر رنگ در میگوی آزمایشی جلوگیری کند. علاوه بر این کاتچین از ترکیبات فیتوشیمیایی فلاونوئید و بی رنگ هستند که سبب تغییر رنگ پوست میگو نمی شود. در نمونه شاهد فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در سرما کند شده اما از بین نرفته و به مرور زمان سبب تغییر رنگ و ایجاد لکه های سیاه می شود [۱۹]. کاتچین به روش های مختلفی مانند جلوگیری از تشکیل کوئینون کاتالیز شده بوسیله آنزیم پلی فنل اکسیداز، واکنش با محصولات

حد واسط واکنش های مولد قهوه ای شدن، جلوگیری از تشکیل دوپاکروم و غیر فعال شدن پلی فنل اکسیداز از بروز ملانوزیز و تغییر رنگ سطحی در میگو جلوگیری می کند. حذف اکسیژن یکی دیگر از مکانیسم های جلوگیری از ایجاد ملانوزیز می باشد زیرا آنزیم پلی فنل اکسیداز (وزن مولکولی ۲۱۰ تا ۲۲۰ کیلودالتون) از اکسیژن مولکولی به عنوان کوسوبسترا استفاده می کند. این آنزیم در نوع مت $[Cu(II)Cu(II)]$ با اکسیژن مولکولی واکنش کرده و سبب تشکیل پلی فنل اکسیداز در حالت اکسی $[Cu(II)Cu(II)O_2]$ می شود که مستعد کاتالیز واکنش های مونو دی فنل است. این آنزیم در نوع مت (مونوفنل اکسیداز یا تیروزیناز) هیدروکسیلاسیون مونوفنل ها (تیروزین) را به دی فنل ها کاتالیز کرده و سبب بروز ملانوزیز در میگو می شود. اکسیداسیون سوبسترای دی فنولیک به کوئینون ها به وسیله آنزیم دی فنل اکسیداز و در حضور اکسیژن کاتالیز می شود که تحت تاثیر اتواکسیداسیون و پلی مریزاسیون به تشکیل ملانین و تولید رنگدانه سیاه منجر می شود. کاتچین با پوشاندن سطح فراورده و دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی اکسیژن را حذف کرده و از فعالیت آنزیم و بروز تغییر رنگ جلوگیری می کند [۲۰]. عصاره دانه انگور به دلیل دارا بودن ترکیباتی مانند دوپا و هیدروکوئینون که از ترکیبات حد واسط واکنش قهوه ای شدن هستند و می توانند به عنوان سوبسترا برای آنزیم پلی فنل اکسیداز عمل کنند با روش رقابتی با این ترکیبات رقابت کرده و بجای آن ها با آنزیم پلی فنل اکسیداز واکنش داده و از بروز قهوه ای شدن و تغییر رنگ در میگو جلوگیری می کنند [۲۲]. کمپلکس آنزیمی پلی فنل اکسیداز یک آنزیم تترامر، متالوپروتئین و از پروتئین های وابسته به مس است که دارای ۴ اتم مس مولکولی بوده و ۲ اتم مس در جایگاه فعال آنزیم دارد. با توجه به این که کاتچین ها از دسته پلی فنل ها محسوب شده و دارای خاصیت جذب فلزات می باشند این ترکیب از عوامل چلاته کننده محسوب شده و قادر به احیاء و حذف فلز مس از آنزیم پلی فنل اکسیداز و غیر فعال کردن این آنزیم هستند (کاهش سطح مس در دسترس). کاتچین ها به دلیل دارا بودن گروههای هیدروکسیل در مرکز فعال آنزیم و نیز تشکیل باز های شیف (ترکیبات بازشیف دارای یک گروه عاملی ایمین یا آزومتین $(-HC=N-)$ می باشند که از طریق زوج الکترون غیریپوندی

سرانجام با توجه به این که عصاره دانه انگور یک نوع انتی اکسیدان گیاهی محسوب شده و قادر به جلوگیری از فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و بروز ملانوزیز، عدم بروز فساد اکسیداتیو و حفظ کیفیت حسی می باشد نمونه های آزمایشی تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه از کیفیت شیمیایی و حسی مطلوبی برخوردار بودند اما نمونه های شاهد کمتر از یک ماه ماندگاری در سردخانه کیفیت حسی خود را از دست دادند.

۴- تشکر و قدردانی

از استاتید بزرگوار آقایان دکتر خانی پور و جلیلی که مشاوره پروژه را به عهده داشتند و آقای دکتر مطلبی ریاست محترم موسسه تحقیقات علوم شیلاتی که نظارت اجرای این پروژه را بر عهده داشته اند سپاسگزاری می نمایم. از آقای دکتر مرتضوی رئیس محترم و آقای مهندس دهقانی معاونت محترم تحقیقاتی پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، آقای مهندس غریب نیا، آقای مهندس فروغی و کلیه همکاری که در اجرای این پروژه همکاری نموده اند قدردانی می نمایم.

۵- منابع

- [1] Rackowe, R. 1992. Shrimp processing. International Marine Fisheries Company. Pp 270 – 275.
- [2] Fieger, E. A. Problems In Handling Fresh And Frozen Shrimp. 4:1950, *Food Technol*.
- [3] Baker, F. 1996. Effectiveness of chemical preservatives in preventing melanosis in prawns. 11. 1996. *Asean Food J*.
- [4] Rotllant, G; Arnau, F; Garcia, J. A; Rodrigues, M and Sarda, F. Note. Effect of Metabisulphite Treatments and Freezing on Melanosis Inhibition in Rose Shrimp *Aristeus antennatus*. 34: 2002. *Food Sci and Technol Inter*.
- [5] Chen, C.W. and C.T. Ho, 1995. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black tea. 1: 1995, *J. Food Lipids*.
- [6] Camino, F. 2004. Melanosis in shrimp. FDA

روی نیتروژن مستعد برای حمله نوکلئوفیلی به یک فلز می باشد) با استفاده از گروه های آلدئید در چلاته کردن مس نقش دارند [۲۲، ۳۰، ۳۲].

در سایر فاکتورهای حسی شامل پوست، گوشت و چشم ها، بو، سرسینه و دم، پاها، پوسته ها و شاخک ها در نمونه های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار مشاهده نشد. میگوهای عمل آوری شده با عصاره دانه انگور از کیفیت رنگ، گوشت، بافت و بوی خوبی تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه برخوردار بودند. علاوه بر این شاخک های این میگوها تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه به سر میگوها چسبیده بود و از استحکام بالایی برخوردار بود. چشم های این میگو ها نیز تا پایان مدت زمان سردخانه گذاری روی سر میگو چسبیده بود. در نمونه های عمل آوری شده با عصاره دانه انگور کاتچین به سطح میگو چسبیده و از ایجاد بوی بد و فساد میگو جلوگیری می کند.

جدول ۴ نتایج ارزش غذایی نمونه های عمل آوری شده با عصاره دانه انگور و شاهد (شش ماه بعد از سردخانه گذاری)

نمونه	فاکتور	پروتئین	چربی	خاکستر
نمونه شاهد	$a1\text{w}1 \pm 1/1$	$a2\text{w}8 \pm 0/14$	$a1\text{w}3 \pm 0/14$	
نمونه عمل آوری شده با غلظت ۱۰ g/l	$a1\text{w}5 \pm 1/8$	$a2\text{w}3 \pm 0/15$	$a1\text{w}3 \pm 0/11$	
عصاره دانه انگور				

مقدار چربی در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش معنی داری نشان نداد. دلیل افزایش جزئی چربی در این نمونه ها را می توان به خواص آنتی اکسیدانی عصاره دانه انگور و جلوگیری از واکنش اکسیژن و بالطبع عدم هیدرولیز چربی ارتباط داد [۳۱]. مقدار خاکستر در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد تفاوت نشان نداد چون عصاره دانه انگور فاقد ترکیبات معدنی بوده و روی مقدار خاکستر نمونه تاثیر ندارد [۳۱]. مقدار پروتئین در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش معنی داری نشان نداد. عصاره دانه انگور دارای ساختار پروتئینی بوده و از اسید های آمینه تیروزین و فنیل آلانین تشکیل شده است که سبب افزایش تفاوت جزئی در مقدار پروتئین نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد می شود. با توجه به داده های بدست آمده این عصاره سبب افزایش ارزش غذایی تیمار آزمایشی نشد [۳۱].

- [20] Alonso, I. S.; Escrig, A. J.; Calixto, F. S. and Borderias, A. J. Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. 101: 2007, *Food Chem.*
- [21] Howgate, P. 2008. Melanosis in shrimp. FDA. 10 p.
- [22] He, Y. and F. Shahidi, Antioxidant activity of green tea and its catechins in a fish meat model system. 45: 1997, *J. Agric. Food Chem*
- [23] Bottino, N.R., Lilly, M.L., Finne, G. Fatty acid stability of Gulf of Mexico brown shrimp (*Penaeus aztecus*) held on ice and in frozen storage., 44, 1979. *J of Food Sci.*
- [24] Hui, Y.H., Cornillon, P., Legarreta, I.G., Lim, M., Murrell, K.D., Nip, W.K., 2004. Handbook of Frozen Foods, vol. 133. Part IV: Frozen Seafoods, Marcel Dekker Incorporated, USA, 1293 p.
- [25] Huss, H.H., 1994. Assurance of seafood quality. Fisheries Technical paper 334,
- [26] Dale, J., 1973. comparison of changes in Trimethyl Amine, Dimethyl Amine and extractable protein in iced and frozen GADOID fillets.
- [27] Cobb III, B.F., I. Alaniz, C.A. Thompson Jr. 1973. Biochemical and microbial studies on shrimp: volatile nitrogen and amino nitrogen analysis. 38: 1973, *J of Food Sci.*
- [28] Xiong, Y.L., 1997. Protein denaturation and functionality losses. In Quality in Frozen Food (M. Erickson and Y.-C. Hung, eds.) pp. 111–140, Chapman Hall/International Thomson Publishing, New York, NY.
- [29] Sotelo, C.G., REHBEN, H., 2000. TMAO Degrading Enzymes, pp:167-190. In: Haard, N.F., and
- [30] Simos, B.K., on (Eds.), Seafood Enzymes. Marce Dekker, New York.
- [31] Shahidi, F and Botta, J. R., 1994. Seafoods, chemistry, processing technology and quality, Chapman & Hall, pp 342
- [32] Rauf, A. 2005. Synthesis and biological studies of some Schiff base compounds and their transition metal complexes. Department of Chemistry/ Bahauddin Zakariya University Multan of Pakistan.
- [7] Concalves, A.A., Gindri Junior, C.S.G., 2009. The effect of uptake on storage quality of frozen shrimp. 90: 2009. *J of food eng.*
- [8] Gomez-G-uillén M.C. and Montero M.P. Polyphenol Uses in Seafood Conservation. 2: 2007. *American J of Food Technol*
- [9] Flores, S.C., D.L. Crawford. Postmortem quality changes in iced Pacific shrimp (*Pandalus jordani*). 38: 1973, *J of Food Sci.*
- [10] Flick, G.J., R.T. Lovell. Post-mortem biochemical changes in the muscle of gulf shrimp, *Penaeus Aztecus*. 37: 1972, *J of Food Sci*
- [11] Nesteror A., Zhao J. and Jia Q., 2008. Natural tyrosinase inhibitors for skin hyperpigmentation. Prous science. 10p.
- [12] A.O.A.C. 2003. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. AOAC International . USA.
- [13] A.O.A.C. 2002. Official Method of Analysis, 965.33, Peroxide value of oils and fats. AOAC
- [14] A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis, 920.03. Determination of total volatile nitrogen by distillation method. AOAC international.USA.
- [15] Bullard F.A., Collins J.(1980) An improved method to analyze trimethylamine in fish and the interference of ammonia and dimethylamine.78, 1980. *Fishery Bulletin*.
- [16] Pearson, D., 1997. Laboratory Techniques in food analysis. Butter worth. Co. Ltd. England.
- [17] A.O.A.C. 1997. Official Methods of Analysis, 981.12. AOAC international, USA.
- [18] LUTEN J B (2000a), 'Development and implementation of a computerised sensory system (QIM) for evaluating fish freshness. CRAFT FAIR CT97 9063. Final Report for the period from 01-01-98 to 31-03-00', Wageningen, The Netherlands, RIVO The Netherlands Institute for Fisheries Research, p 18.
- [19] Gokoglu, N and Yerlikaya, P. Inhibition effects of grape seed extracts on melanosis formation in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). 43: 2007, *J Of Food Sci and Technol*.

Study of effect of Grape seed extract herbal antioxidant on chemical and sensory quality and blackspot of cultured Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in freezing

Seifzadeh, M.^{1*}, Khanipour, A. A.¹, Jalili, H.¹

1. Iranian Fisheries National Fish Processing Center, Anzali

(Received: 89/11/16 Accepted: 91/2/3)

This project was carried out in order to Study of possibility of uses from Grape seed extract for prevention of melanosis in cultured shrimp and its instead to synthetic matterial. Treatments including of Grape seed extract processed with 10g/l concentration and control samples. The samples were kept at -18°C. Chemical and sensory examinations were carried out for a period of six months. No statistically significant difference was observed in peroxide value and free fatty acids in test samples compared with the control samples during storage period ($P>0.05$). No statistically significant difference was observed in thiobarbotouric acid and pH in test and control samples during storage period ($P>0.05$). TVN (Total Volatile Nitrogen) and trimethylamin factors were decreased in test samples compared with control samples. Statistically significant difference was observed in TVN, moisture and trimethylamin in test and control samples during storage period ($P<0.05$). No statistically significant difference was observed in colour and melanosis in test samples compared with control samples during storage period ($P>0.05$). No statistically significant difference was observed in Humidity, protein, lipid and ash in test samples compared with the control samples ($P>0.05$). Test samples had better quality compared with the control samples. The covered samples had a favorable quality until the end of storage period. But, the control samples had a favorable quality for a period of 20 days.

Keywords: White shrimp, Polyphenol oxidase, Antioxidant, Grape seed extract

* Corresponding author E-Mail Address: M_seifzadeh_ld@yahoo.com-