

مطالعه اثر ضد باکتریایی و ضد اکسیداسیونی عصاره زردچوبه در شرایط آزمایشگاهی بر ماهی (Curcuma Longa) (Oncorhynchus mykiss)

سمانه پزشک^۱، مسعود رضایی^۲، حمید راشدی^۳، هدایت حسینی^{۴*}

۱. کارشناس ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور- ایران

۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور- ایران

۳. دانشیار دانشکده مهندسی شیمی، پردیس دانشکده های فنی، دانشگاه تهران، تهران- ایران

۴. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انسستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی ، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران- ایران

(تاریخ دریافت: ۸/۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۸/۸/۲۳)

چکیده

در این تحقیق اثر آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی عصاره زردچوبه^۱ (۱,۰ درصد حجمی- حجمی) بر عمر ماندگاری ماهی قزل آلای-رنگین کمان بسته‌بندی شده در خلاء^۲ که در شرایط سرد (C° ± ۴) نگهداری می شد، بررسی گردید. آزمایش های میکروبی شامل بار کل باکتریایی (TVC) و باکتری های سرمادوست (PTC)، آزمایش های شیمیایی شامل شاخص پرکساید (PV)، شاخص تیوباریتوريک اسید (TBA)، اسیدهای چرب آزاد (FFA) به همراه pH و ارزیابی حسی در یک دوره ۲۰ روزه انجام گردید. عصاره زردچوبه به طور معنی داری (p < 0.05) اکسیداسیون لیپید را در ماهیان تیمار شده به تعویق انداخت. مقادیر باکتری های سرمادوست و کل باکتری ها در طول دوره نگهداری در ماهیان تیمار شده با عصاره زردچوبه زیر حد قابل قبول پیشنهادی (log cfu/g < 7) باقی ماند و فساد میکروبی در این نمونه ها نسبت به نمونه شاهد به طور معنی داری (p < 0.05) کاهش یافت. طبق بررسی های حسی و آنالیزهای میکروبی، ماهی قزل آلای-رنگین کمان تیمار شده با عصاره زردچوبه نسبت به نمونه شاهد تا انتهای دوره نگهداری قابل مصرف بود.

کلید واژگان: قزل آلای-رنگین کمان، عصاره زردچوبه، بسته بندی در خلاء، عمر ماندگاری

*مسئول مکاتبات: hedayat@sbmu.ac.ir

1. Turmeric
2. Vacuum packaging

۱- مقدمه

دلیل رنگریزه روغنی و زرد رنگ آن که کورکومین^۶ نام دارد، می باشد که به طور صنعتی از ماده خام آن تولید می گردد. علاوه بر کورکومین ترکیبات فنولی زردچوبه که حاوی اسید فرولیک^۷ و اسید پروتوکاتکویک^۸ است، بر خاصیت آنتیاکسیدانی و آنتی باکتریالی آن می افزاید^[۹, ۱۰]. تحقیق حاضر برای اولین بار به منظور بررسی اثر آنتی باکتریالی و آنتی اکسیدانی عصاره زردچوبه بر کیفیت و عمر ماندگاری ماهی قزلآلای رنگین کمان نگهداری شده در دمای سرد ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) انجام پذیرفت.

۲- مواد و روش کار

۱-۱- تهیه ماهی و تیمار کردن نمونه ها

۱-۱-۱- آماده سازی ماهی: ماهی قزلآلای رنگین- کمان از محل فروش ماهی زنده قزل آلآ در شهرستان نور با وزن متوسط ۳۵۰ گرم و طول متوسط ۲۸ سانتی متر، تهیه و درون جعبه های حاوی یخ در مدت ۶۰ دقیقه به آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس منتقل گردید. سپس نمونه های ماهی با آب قابل شرب شستشو داده شد و تخلیه شکمی و فلس کنی بر روی ماهی انجام گرفت.

۱-۱-۲- تیمار کردن نمونه ها: سه عدد ماهی به عنوان نمونه روز نخست آزمایش (روز صفر) انتخاب گردید و ماهی های باقی مانده به دو بخش تقسیم شدند، یک بخش از نمونه ها به عنوان نمونه شاهد در خلاء (دستگاه BOSS N84) بسته بندی شد. بسته ها از جنس پلی اتیلن با دانسیته کم دارای ضخامت ۷۵ میکرومتر بودند. بخش دیگر نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در عصاره زردچوبه با درصد خلوص ۴۰ درصد که از شرکت ماگنولیا (ساوه- ایران) تهیه شد، غوطه ور (۱/۱۵%) درون جعبه های جداگانه قرار داده شد و در دمای $4\pm1^{\circ}\text{C}$ به مدت ۲۰ روز نگهداری گردید. در زمان های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ دوره نگهداری سه ماهی از هر بخش به طور تصادفی انتخاب شد و به منظور تعیین پارامترهای کیفی

ماهیان چرب مثل ماهی آزاد و قزلآلای رنگین کمان دارای سطوح بالایی از اسیدهای چرب چند غیر اشباع^۳ می باشند که به دلیل اثرات مفید این نوع اسیدهای چرب (به خصوص از نوع امگا^(۳)) بر روی سلامتی انسان، مصرف آنها توصیه می شود^[۳]. عمر ماندگاری این محصولات به دلیل فسادهای آنزیمی و میکروبی، محدود می باشد. بنابراین صنعت فرآوری محصولات شیلاتی در جهت یافتن روش های اصلاح شده ای برای افزایش عمر ماندگاری آنها می باشد^[۱-۳] که از جمله ای آن می توان به کترل درجه حرارت و کاهش آن، بسته بندی تحت خلاء، بسته بندی در اتمسفر اصلاح شده^۴ و همچنین افزودن آنتی اکسیدان اشاره نمود^[۴]. مطالعات متعددی فعایت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریالی عصاره های گیاهی را بر ضد فسادهای غدایی به اثبات رسانده است که موجب افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی می گردد^[۵]. عصاره آویشن به عنوان یک آنتی اکسیدان بر فیله شمشیر ماهی بسته بندی شده در اتمسفر اصلاح شده، که در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری می شد، مورد مطالعه قرار گرفت و به طور معنی داری موجب افزایش عمر ماندگاری نمونه آویشن نسبت به نمونه شاهد گردید^[۶]. مدت ماندگاری میگویی صورتی تیمار شده با عصاره رزماری که به صورت سرد نگهداری می شد به طور قابل ملاحظه ای افزایش پیدا کرد^[۷]. از جمله ای گونه های گیاهی بومی جنوب آسیا که به عنوان یک افزودنی خوراکی استفاده می شود، گیاه زردچوبه است که از خانواده زنجبیل^۵ می باشد. این گیاه به عنوان یک چاشنی در غذا استفاده می گردد. همچنین یک ترکیب مهم در علم پژوهشکی به حساب می آید که به عنوان یک ضد نفخ، ضد انگل، ملین و یک دارو برای بیماری مزمن کبدی مورد استفاده قرار می گیرد^[۸]. خاصیت آنتی میکروبیالی و آنتی اکسیدانی زردچوبه مدت های زیادی شناخته شده است. خواص آنتی باکتریالی و آنتی اکسیدانی زردچوبه به

6. Curcumin

7. Ferulic

8. Protocatechuic

3. PUFA

4. Modified Atmosphere Packaging

5. zingiberaceae

کمک ۲ تا ۳ قطره معرف فتل فتالین و میزان مصروف سود نرمال مقدار اسیدیته بر حسب درصد اسید اوئیک بر طبق فرمول ذیل مشخص گردید [۱۵].

$$FFA = \frac{\text{حجم سود نرمال} \times 28.2}{\text{وزن تصریه روغن}}$$

۲۵۰ میلی لیتر نمونه روغن استخراج شده ماهی بدقت در یک اrlen مایر وزن گردید و حدود ۲۵ میلی لیتر از محلول اسیداستیک کلروفرم (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) به محتویات اrlen اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر از محلول یدور پتابسیم اشباع، ۳۰ میلی لیتر از آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر محلول نشاسته ادرصد به مجموعه افزوده شد، مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال تیتر گردید و با توجه به معادله ذیل میزان پراکساید محاسبه شد [۱۵].

$$PV = \frac{\text{حجم صرفی تیوباسیون} \times 1000}{\text{وزن تصریه روغن}}$$

برای اندازه گیری تیوباریتوريک اسید، ۲۰۰ میلی گرم از نمونه هموژن شده ماهی به یک بالن ۲۵ میلی لیتر انتقال داده شد و با ۱-بوتانول به حجم رسانده شد و ۵ میلی لیتر از این مخلوط را در لوله درب دار منتقل گشت و ۵ میلی لیتر به آن معرف تیوباریتوريک اسید اضافه گردید. لوله های فوق به مدت ۲ ساعت در حمام آب ۹۵ °C قرار گرفتند. سپس در دمای محیط سرد شدند و مقدار جدب آن در ۵۳۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در مقابل آب مقطر خوانده شد و مطابق فرمول ذیل تیوباریتوريک اسید محاسبه گردید [۱۵].

$$\text{TBA} = \frac{(\text{جلب شاهد - جلب تصریه}) \times 50}{200}$$

۵-۲- بررسی حسی

نمونه ها در هر دوره زمانی نمونه برداری به وسیله ۵ فرد نیمه آموزش دیده از نظر فاکتورهای حسی مطابق با طرح درجه بندی انجمن اروپا (EC) درجه بندی شدند. ظاهر، پوست، آبشش، چشم و لعاب سطحی همچنین بوی ناشی از آبشش در چهار درجه کیفی ارزیابی گردید. در طرح درجه بندی EC، به کیفیت عالی (E)، کیفیت مناسب (A)، کیفیت خوب (B)، کیفیت بد (C) به ترتیب نمرات

(شیمیایی، میکروبیولوژیکی و حسی) مورد آزمایش قرار گرفت.

۲-۲- آزمایش های میکروبی

۲۵ سانتی متر مربع از پوست ناجیه قدامی پشت ماهی با اتانول ۹۶ درصد ضدغوفونی شد. سپس با انبرک و اسکارپل استریل قسمت ضدغوفونی شده، پوست کنی گردید و ۱۰ گرم از گوشت قسمت زیرین برداشته شد و در ۹۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل ۰/۸۵ درصد قرار داده شد و به وسیله یک مخلوط کن آزمایشگاهی هموژن گردید و متعاقب آن رقت های مورد نیاز تهیه شد. ۱ میلی لیتر از هر رقت برای کشت باکتری ها به روش پور پلت در محیط پلیت کانت آگار^۹ قرار گرفت. پلیت کانت های کشت داده شده مربوط به کل باکتری^{۱۰} ها بعد ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷°C و پلیت های مرتبط با باکتری های سرمادوست^{۱۱} بعد از ۱۰ روز انکوباسیون در ۷°C شمارش شدند [۱۱، ۱۲ و ۱۳].

۳-۲- اندازه گیری pH

۵ گرم از نمونه ماهی هموژن شده با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط گردید و در نهایت pH نمونه با کمک دستگاه pH متر که در pH ۴ و ۷ استاندارد شده بود، تعیین گردید [۱۲].

۴-۲- آزمایش های شیمیایی

در جهت انجام آزمایش های شیمیایی، شانص های اسیدهای چرب آزاد^{۱۲}، پراکساید^{۱۳} و تیوباریتوريک اسید^{۱۴} مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی شانص های اسید چرب آزاد و پراکساید ابتدا نمونه ماهی چرخ شد و به ۱۵ گرم نمونه همگن شده گوشت ماهی ۶۰ سی سی متابول به همراه ۶۰ سی سی کلروفرم اضافه شد و بعد از ۲۴ ساعت به آن ۴۸ سی سی آب مقطر اضافه و پس از ۱ ساعت روغن مورد نیاز جدا گشت.

۲۵ سی سی الکل اتیلیک خنثی شده به وسیله سود نرمال به نمونه روغن اضافه گردید. سپس در مراحل بعدی با

9. Plate count agar

10. Total bacterial counts

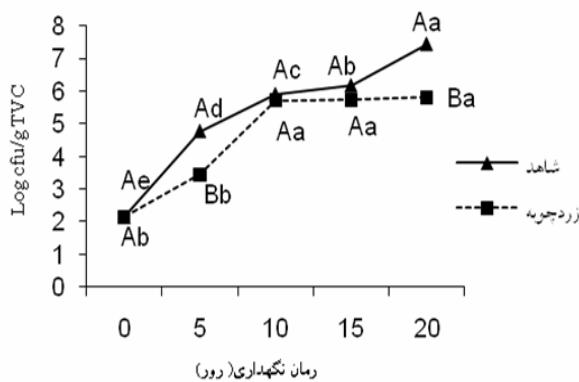
11. Psychrophilic counts

12. FFA

13. PV

14. TBA

شده برای ماهی خام (7 cfu/g log) رسید[۱۲]، این در حالی است که در نمونه های تیمار شده با عصاره زردچوبه در پایان دوره بار کل باکتری $5/8 \text{ cfu/g log}$ را گزارش گردید که اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) را نسبت به نمونه شاهد نشان داد (شکل ۱)



شکل ۱ میزان تغییرات مجموع بار میکروبی (TVC) در طی دوره نگهداری(روز). حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$

لذا اثرات بازدارندگی عصاره زردچوبه بر بار کل باکتری ها قابل رویت می باشد. عصاره زردچوبه دارای ترکیبات فنولی است که حاوی اسید فروولیک و اسید پروتوکاتکویک می باشد. مکانیزم عمل ترکیبات فنولی به این صورت است که غشای دوالیه فسفولیپیدی سلول را حساس نموده و موجب افزایش نفوذپذیری و نشت اجزای ضروری داخل سلولی (مانند آهن، ATP اسیدهای نوکلئیک و اسیدهای آمینه) می شوند. همچنین ممکن است به سیستم آنزیمی باکتری ها آسیب رسانده و موجب مرگ باکتری شوند[۲۱]. نتایج فوق با تحقیقات Djennane و همکاران که تاثیر عصاره گیاهی را روی گوشت بررسی کردند، مطابقت داشت[۲۲].

۲-۱-۳- باکتریهای سرمادوست گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیزم های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد هستند[۱۲]. بیشترین حد پیشنهاد شده برای باکتری های سرمادوست در ماهی قزلآلای رنگین- کمان ۷ $\log \text{cfu/g}$ است[۲۳].

۴، ۳، ۲ و ۱ داده شد. نمره ۳ به عنوان حد قابل قبول برای مصارف انسانی در نظر گرفته شد[۱۶].

۶-۶-آنالیز آماری

آنالیز آماری داده های حاصله با نرم افزار SPSS انجام گرفت و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد. با استفاده از روش آنالیز واریانس^{۱۵} جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر حاصل از هر شاخص در زمان های ۰ و ۵ و ۱۵ و ۲۰ روز به کار رفت. به منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی شرط نرمال بودن قبل از آزمون آنالیز واریانس با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همگنی واریانس داده ها به وسیله آزمون لون^{۱۶} تست گردید. همچنین جهت تعیین دقیق وجود یا عدم وجود تفاوت معنی دار بین تیمارهای مختلف زمان های مورد آزمایش با تیمار شاهد، از آزمون تفاوت حداقل معنی دار^{۱۷} و جهت مقایسه میانگین های تیمارهای چند گانه با یکدیگر از آزمون دانکن استفاده شد. در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد فرض صفر ۵ درصد در نظر گرفته شد[۱۷].

۳- نتایج و بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اثر تیمار زردچوبه-زمان و اثر متقابل آنها بر همه می پارامترهای مورد مطالعه معنی دار بوده است (جدول ۱).

۳-۱- آنالیزهای باکتریایی

۳-۱-۱- محققین شمارش کل باکتری های اولیه برای گونه های مختلف آب شیرین (تیلاپیا، باس راه، قزل آلای رنگین کمان، سوف نقره ای) را $2-6 \text{ cfu/g log}$ پیشنهاد دادند[۱۸]. در مطالعه حاضر بار کل باکتریایی اولیه ماهی مورد استفاده $3/7 \text{ cfu/g log}$ است که نشان دهنده کیفیت مناسب ماهی تهیه شده می باشد. افزایش بار باکتریایی کل در گوشت ماهی حین نگهداری ثابت گردیده است[۱۹ و ۲۰]. شمارش کل باکتری ها در نمونه شاهد در پایان دوره نگهداری بالاتر از حد مجاز توصیه

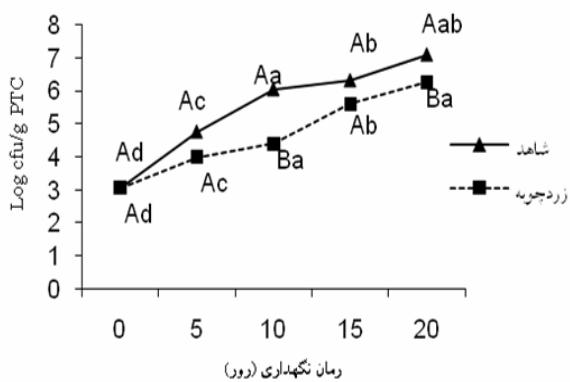
15. ANOVA

16. Levene

17. LSD

جدول ۱ نتایج آنالیز واریانس پارامترهای شیمیابی و میکروبی در طی دوره نگهداری (روز)

Sig.	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مربعات مجموع	منابع تغییرات	فاکتور
.0/000	۲۶/۸۹	۱۴/۸۴	۱	۱۴/۸۴	تیمار	پراکساید
.0/000	۳۰/۴	۱۶/۷۷	۴	۶۷/۱	زمان	
.0/001	۷/۵۱	۴/۱۴	۴	۱۶/۵۹	تیمار*زمان	
.0/01	۷/۹۸	۰/۰۶	۱	۰/۰۶	تیمار	pH
.0/04	۲/۲۷	۰/۰۱۷	۴	۰/۰۶	زمان	
.0/۱۳	۱/۹۷	۰/۰۱۵	۴	۰/۰۵	تیمار*زمان	
.0/002	۱۳/۴۸	۰/۶۳	۱	۰/۶۳	تیمار	تیوبایوتوریک اسید
.0/001	۷/۶۴	۰/۳۵	۴	۱/۴۳	زمان	
.0/07	۲/۶۷	۰/۱۲	۴	۰/۵	تیمار*زمان	
.0/01	۸/۵	۰/۰۰۴	۱	۰/۰۰۴	تیمار	کل باکتری
.0/000	۱۴۳/۸	۰/۰۶	۴	۰/۲۷	زمان	
.0/02	۳/۵	۰/۰۰۲	۴	۰/۰۰۷	تیمار*زمان	
.0/000	۳۶/۸۹	۱/۸۵	۱	۱/۸۵	تیمار	اسیدهای چرب آزاد
.0/001	۷/۶	۰/۳۸	۴	۱/۵۲	زمان	
.0/002	۶/۵۳	۰/۳۲	۴	۱/۳۱	تیمار*زمان	
.0/02	۶/۳۱	۰/۸۶	۱	۰/۸۶	تیمار	باکتریهای سرمادوست
.0/000	۱۰۲/۲	۱۴/۰۵	۴	۵۶/۲۱	زمان	
.0/21	۱/۵۹	۰/۲۱	۴	۰/۸۷	تیمار*زمان	



شکل ۲ میزان تغییرات مجموع باکتریهای سرما دوست (PTC) در طی دوره نگهداری (روز). حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) نسبت به نمونه شاهد نشان داد (شکل ۲).

در مطالعه حاضر بار اولیه باکتریهای سرما دوست ماهی قزلآلای مورد استفاده ۳ $\log \text{cfu/g}$ گزارش شد که در زمان ۱۰ دوره نگهداری به بیشترین حد پیشنهاد شده برای باکتریهای سرما دوست در ماهی رسید در حالی که مقادیر این باکتری ها در نمونه های تیمار شده با عصاره زردچوبه تا انتهای دوره $6/2 \log \text{cfu/g}$ شمارش گردید لذا اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) نسبت به نمونه شاهد نشان داد (شکل ۲).

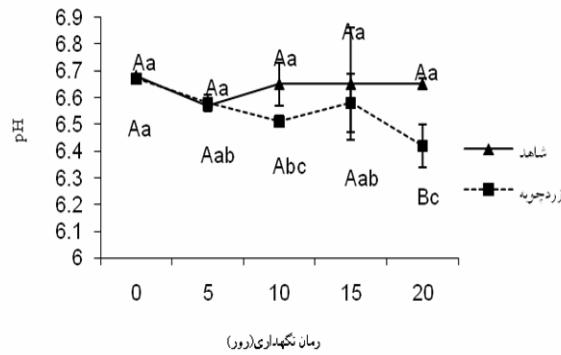
چرب آزاد و دیگر محصولات اکسیداسیون از طریق واکنش با پروتئین‌های میوفیبریلار و تغییر تغییر ساختار پروتئین اثر نامطلوبی بر بافت ماهیچه دارند [۲۸]. به علاوه این نوع اسیدهای چرب در مقایسه با مولکولهای چربی بزرگتر (ترگلیسرید و فسفولیپید) دارای اندازه مولکولی کوچکتری بوده و سرعت اکسیداسیون آن بیشتر است [۲۹ و ۳۰]. افزایش اسیدهای چرب آزاد طی دوره نگهداری در تیمار شاهد معنی دار بود ($p < 0.05$ ، اما در تیمار زردچوبه در طول دوره نگهداری روند معنی داری را نشان نداد. مقایسه این فاکتور بین دو تیمار در طول دوره در زمان‌های ۱۵ و ۲۰ تفاوت معنی‌داری را نشان داد که می‌توان این تفاوت را به خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره زردچوبه نسبت داد [۲۷].

۲-۳-۳ در مرحله اول اکسیداسیون، به واسطه اتصال اکسیژن به باند دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع پراکسایدها شکل می‌گیرند. هیدروپراکساید محصول اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب چندغیراشباع می‌باشد. به همین دلیل اکسیداسیون اولیه چربی با استفاده از اندازه گیری میزان پراکساید ارزیابی می‌شود [۳۱]. در مطالعه حاضر تا زمان ۱۰ دوره نگهداری میزان پراکساید در تیمارهای مختلف روند افزایشی داشت. بعد از این مدت یک کاهش ناگهانی در هر دو تیمار دیده شد که ممکن است به دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تولید کربونیل‌ها و ترکیبات فرار باشد. واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون از جمله واکنش با پروتئین‌های قابل حل در نمک و تولید ترکیبات کربونیلی نظیر استالدئید^{۱۸}، پروپیونالدئید^{۱۹} و استن^{۲۰} و اسیدهای چرب فرار نظیر اسید کاپروئیک^{۲۱} و اسید پروپیونیک^{۲۲} و نیز گازهای فرار نیز می‌تواند دلایل چنین کاهشی باشند [۳۲]. میزان پراکساید در همه نمونه‌ها کمتر از حد قابل قبول پیشنهادی (۲۰-۱۰ میلی اکی والان گر اکسید بر کیلوگرم چربی) بود [۳۳]. مقایسه میزان پراکساید نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با زردچوبه در زمان‌های ۱۰ و ۲۰ دوره

نتایج مشابه‌ای در توافق با نتایج گزارش شده، در مطالعه بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بسته‌بندی شده در خلاء گزارش شده است [۲۴].

pH - ۲-۳

میزان pH عضله ماهی زنده نزدیک ۷ است. pH ماهی پس از مرگ بر اساس فصل، گونه و فاکتورهای دیگر از ۶-۷ تغییر می‌کند [۲۵]. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان pH برای نمونه شاهد در زمان‌های مختلف با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارد. اما در ماهیان تیمار شده با عصاره زردچوبه بیشترین میزان pH مربوط به زمان‌های ۰، ۵ و ۱۵ و کمترین آن در زمان ۲۰ می‌باشد. مقایسه شاخص pH فقط در زمان ۲۰ بین تیمار شاهد و زردچوبه اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) نشان داد (شکل ۳).



شکل ۳ میزان تغییرات pH در طی دوره نگهداری (روز). حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$

دلیل کاهش جزئی pH در ابتدای دوره نتیجه تاثیر تجزیه اسید کربنیک وجود ترکیبات آمونیومی است که در اثر فساد باکتریایی تولید می‌شود [۲۶]. کمتر بودن pH در نمونه تیمار شده با عصاره زردچوبه را می‌توان به خاصیت آنتی باکتریایی عصاره زردچوبه مرتبط دانست [۲۷].

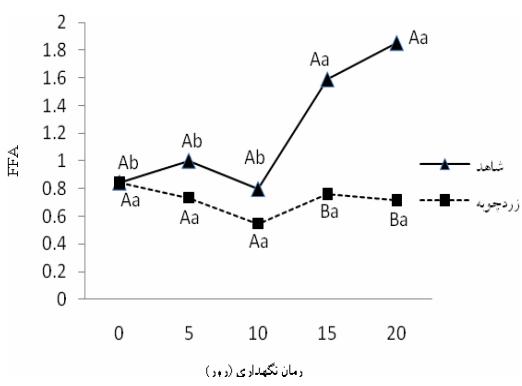
۳-۳-۳- آنالیزهای شیمیایی

۱-۳-۳- تشکیل اسیدهای چرب آزاد به تنها ی باعث کاهش ارزش تغذیه‌ای نمی‌شود، اما مسئول طعم و بوی نامطلوب در ماهی هستند. پس از جمود نعشی اسیدهای

18. Acetaldehyde
19. Propionaldehyde
20. Acetone
21. Caproic acid
22. Propionic acid

حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$

روند افزایشی این شاخص به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدانها در ماهیچه و همچنین تولید آلدهیدها از محصولات ثانویه حاصل از شکست هیدروپراکسیدها است. کاهش میزان تیوباریتوريک اسید در بعضی از روزهای نگهداری ممکن است به دلیل کاهش هیدروپراکساید ها و واکنش بین مالون آلدهید با پروتئینها، اسیدهای آمینه و گلیکوزن باشد که باعث کاهش مقادیر مالون آلدهید و کاهش آن را سبب می شود [۳۶]. مقایسه نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با زردچوبه نشان داد، در زمان ۱۵ و ۲۰ تیمار شاهد دارای تیوباریتوريک اسید بیشتری در مقایسه با تیمار زردچوبه است و اختلافشان معنی دار می باشد ($p < 0.05$) که می توان آن را به خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره زردچوبه نسبت داد [۹].

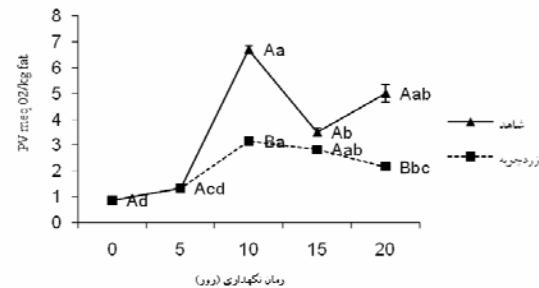


شکل ۶ میزان تغییرات اسیدهای چرب آزاد (FFA) در طی دوره نگهداری (روز). حروف کوچک مقایسه تیمار به تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$

۴-۳- آنالیز حسی

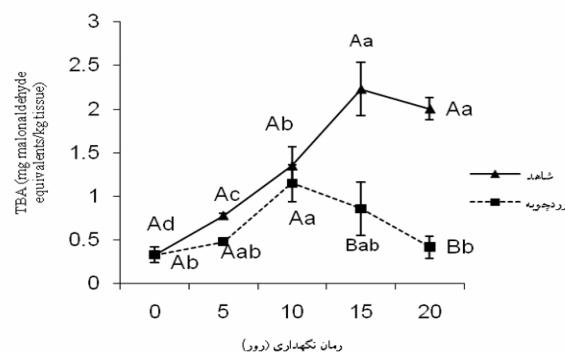
مطابق بررسی های حسی عمر ماندگاری نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با عصاره زردچوبه به ترتیب ۱۵ و ۲۰ روز تعیین شد. کاهش کیفیت تیمار شاهد بیشتر در فاکتورهای بو و پوست ماهی دیده شد ولی در نمونه تیمار شده با عصاره زردچوبه تا انتهای دوره نگهداری برای مصرف کننده قابل مصرف تشخیص داده شد. نتایج ارزیابی حسی اثر معنادار عصاره زردچوبه را در افزایش عمر ماندگاری ماهی فزل آلا نشان داد [جدول ۲].

نگهداری اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) را نشان داد (شکل ۴) که می تواند به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی و همچنین اثر آنتی میکروبی واکنش های آنزیمی باکتریایی مرتبط با اکسیداسیون چربی در ماهیان باشد [۲۰].



شکل ۴ تغییرات میزان پراکساید (PV) در طی دوره نگهداری (روز). حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$

۳-۳-۳- اندازه گیری تیوباریتوريک اسید شاخص مناسبی برای تعیین پیشرفت اکسیداسیون چربی و تولید ترکیبات کربوتیل است. وجود چنین ترکیباتی در گوشت ماهی سبب تغییراتی در ویژگی های حسی آن از جمله طعم و بو می شود [۳۴ و ۳۵]. نتایج نشان داد که برای نمونه شاهد بیشترین میزان تیوباریتوريک اسید در زمان های ۱۵ و ۲۰ و کمترین آن در زمان صفر است و برای تیمار زردچوبه کمترین مقدار این پارامتر در زمان صفر و بیشترین مقدار آن در زمان ۱۰ مشاهده شد (شکل ۵).



شکل ۵ میزان تغییرات تیوباریتوريک اسید (TBA) در طی دوره نگهداری (روز). حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان،

جدول ۲ نتایج ارزیابی حسی نمونه های دارای پوشش و بدون پوشش در طی دوره نگهداری (روز)

E: عالی، A: مناسب، B: خوب، C: بد

نمونه های تیمار زردچوبه بسته بندی شده در خلاء										نمونه های بسته بندی شده در خلاء	تیمار
۲۰	۱۵	۱۰	۵	۰	۲۰	۱۵	۱۰	۵	۰	روزهای نگهداری	
B	B	E	E	E	C	C	A	A	E	پوست	
B	B	A	A	E	C	B	B	A	E	آبشش	
B	B	A	E	E	C	B	A	A	E	چشم	
B	A	A	E	E	C	C	B	A	E	بو	
B	A	A	E	E	C	B	B	A	E	ظاهر	

[3]Yilmaz, M., Ceylan, Z.G., kocaman, M., Kaya, M., & Yilmaz, H. (2009). The effect of vacuum and modified atmosphere packaging on growth of *Listeria* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets, *Journal of Muscle Foods*, 20: 465–477.

[4]Lin, C.C., Lin, C.S. (2004). Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea, *Food Chem*, 16(2): 169-175.

[5]Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223 – 253

[6]Kykkidou, S., Giatrakou, V., Papavergou, A., Kontominas, M.G., & Savvaidis I.N., (2009). Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4 °C, *Food Chemistry*, 115: 169–175.

[7]Cadun, A., Duygu, Kis_la., S_u_kran C akl., (2008). Marination of deep-water pink shrimp with rosemary extract and the determination of its shelf-life, *Food Chemistry*, 109: 81–87.

[8]Srimal, R.C., (1997). Turmeric: a brief review of medicinal properties, *Fitoterapia* LXVIII, 65: 483-493.

[9]Suresh Kumar, G., Nayaka, H., Dharmesh, S.H., & Salimath, p.v., (2006). Free and bound phenolic antioxidants in amla (*Emblica officinalis*) and turmeric (*Curcuma longa*), *Journal of Composition and Analysis*, 19: 446-452.

[10]Negi, p.s., Jayaprakasha, G.K., Jagan Mohan Rao, L., & Sakariah, K.K., (1999).

۴- نتیجه گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، استفاده از ترکیب آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی طبیعی عصاره زردچوبه قادر است از شدت فعالیت باکتری های موجود بر سطح گوشت ماهی کاسته و فساد اکسیداسیونی آن را به تعویق اندازد و در نتیجه موجب افزایش ماندگاری ماهی گردد به طور معنی داری پارامتر های شیمیایی و باکتریایی تیمار شاهد و تیمار زردچوبه اختلاف دارند و این نتایج با ارزیابی حسی نمونه ها در طی زمان نگهداری مرتبط بود.

۵- تشکر و قدردانی

از جناب آقای مهندس قاسم تقی زاده به سبب همکاری در انجام مراحل تحقیق قدردانی می گردد.

۶- منابع

- [1]Navarro-Garcia, G., Pacheco-Aguilar, R., Bringas-Alvaradol, L., & Ortega-Garcia, J. (2004). Characterization of the lipid composition and natural antioxidants in the liver of *Dasyatis brevis* and *Gymnura marmorata* rays, *J. Agric. Food Chem*, 47: 4297-4300.
- [2]Ashie, I.N.A., Smith, J.M., & Simpmson, B.K. (1996). Spoilage and shelf life extension of fresh fish and shelffish, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 36: 21-87.

- the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice, *Food Chemistry* 108: 148–153.
- [21] Hyytia, E., Hielm, S., Mokkila, M., Kinnunen, A., & Korkeala, H. (1999). Predicted and observed growth and toxigenesis by *Clostridium botulinum* type E in vacuum-packaged fishery products challenge tests. *International Journal of Food Microbiology*, 47:161–169.
- [22] Djenane, D., Escalante, A.S., Beltran, J.A., Roncales, P., (2003). The shelf-life acid and antioxidants and stored under modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*, 20: 1-7.
- [23] ICMSC “International Commission on Microbiological Specification for Food” (1986). Microorganisms infoods. 2. Sampling for microbiological analysis: principle sand specific applications (2nded). Buffalo, NY: University of Toronto Press.
- [24] Gimenez, B., Roncales, P., & Beltran, J.A., (2002). Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *J. Sci Food Agric*, 84: 1154-1159.
- [25] Simeonidou, S., Govaris, A., & Vareltzis, K. (1998). Quality assesment of seven Mediterranean fish species during storage on ice. *Food Res. Int.* 30: 479–484.
- [26] Yilmaz, M., Ceylan, Z.G., Kocaman, M., Kaya, M., Yilmaz, H., (2009). The effect of vacuum and modified atmosphere packaging on growth of *Listeria* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets . *J. Muscle Foods*, 20: 465–477.
- [27] Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., Chi, Y., (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *J. Food Chemistry*, 115: 66-70.
- [28] Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sanchez, M.E., & Robles-Burgueno, M.R., (2000). Postmortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0°C. *J. Food Sci*, 65(1): 40-47.
- [29] Losada, V., Barros-Velazquez, J.P., Aubourg, S., (2007). Rancidity development in frozen pelagic fish: Influence of slurry ice as preliminary chilling treatment. *LWT*, 40: 991-999.
- Antibacterial activity of turmeric oil: A byproduct from curcumin manufacture, *Journal of Food Chemistry*, 47: 4297-4300.
- [11] Ben-Gigirey, B., Vieites Baptista de Sousa, J.M., Villa, T.G., Barros-Velazquez, J., (1998). Changes in iogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage, *J. Food Prot*, 61: 608–615.
- [12] Ibrahim Sallam, K., (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon, *J. Food Control*, 18: 566–575.
- [13] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S.H., Hosseini, S.M.H., (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trou. *J. Food Chemistry*, 120: 193-198.
- [14] Sallam, Kh.I., Ishioroshi, M., Samejima, K., (2004). Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage, *LWT.Food Sci Technol*, 37: 849-559.
- [15] Egan, H., Kirk, R.S., Sawyer, R., (1997). Pearson’s Chemical Analysis of Food. 9th Edition. Longman Scientific and Technical, 609-634.
- [16] Howgate, p., Johnston, A., & Whittle, K.J., (1992). Multilingual guide to EC freshness grades for Wshery products. Marine Laboratory, Scottish Oyce of Agricultur, Enviroment and Fisheries Department, Aberdeen, UK.
- [17] Zar, J. H. (1999). *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall International, Inc, 660pp.
- [18] Savvaidis, I.N., Skandamis, P., Riganakos, K., Panagiotakis, N., & Kontominas, M.G., (2002). Control of natural microbial flora and *Listeria monocytogenes* in vacuum packaged trout at 4 and 10 °C using irradiation. *J.Food Prot*, 65: 515-522.
- [19] Lyon, W. J., & Redmann, C. S. (2000). Bacteria associated with processed crawfish and potential toxin production by *Clostridium botulinum* type E in vacuum packaged and aerobically packaged crawfish tails, *Journal of Food Protection*, 63(12): 1687–1696.
- [20] Fan, W., Chi Y., & Zhang, S. (2008). The use of a tea polyphenol dip to extend

- Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome, Italy.
- [34] Dragoev, S.G., Kiosev, D.D., Danchev, S.A., Ionchev, N.I., Genv, N.S., (1998). Study on oxidative processes in frozen fish Bulgarian. *J. Agric Sci*, 4:55-65.
- [35] Ladikos, D., Lougovois, V., (1990). Lipid oxidation in muscle food: A review. *Journal of Food Chemistry*, 35: 295-314.
- [36] Gomes, H.A., Silva, E.N., Nascimento, M.R.L., Fukuma, H.T., (2003). Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chem*, 80: 433-437.
- [30] Lugasia, A., Losadab, V., Hovari, J., Lebovicsa, V., Jakoczia, I., & Aubourg, S., (2007). Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. *LWT*, 40: 930-936.
- [31] Lin, C.C., Lin, C.S., (2004). Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea. *Food Chem*, 16(2): 169-175.
- [32] Vidya, S.R.G., Srikar, L.N., (1996). Effect of preprocess ice storage on the lipid changes of Japanese headfin bream (*Nemipterus japonicus*) mince during frozen. *Asian Fisher Sci*, 9: 109-114.
- [33] Huss, H.H., (1995). Quality and quality changes in freshfish. FAO Fisheries Technical Paper No. 348,

Investigation of antibacterial and antioxidant activity of turmeric extract (*Curcuma Longa*) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in vitro

Pezeshk S.¹, Rezaei M.², Rashedi H.³, Hosseini H.^{4*}

1- M.Sc., Dept. of Fisheries, Faculty of Marin Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

2- Associate Prof., Dept. of Fisheries, Faculty of Marin Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

3- Associate Prof., Department of chemistry engineering, Tehran University, Tehran, Iran

4- Associate Prof., National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical sciences, Tehran, Iran

(Received:89/4/18 Accepted:89/10/27)

The effects of turmeric extract on the shelf life of whole, vacuum-packaged rainbow trout, stored under refrigeration ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) were studied by monitoring the microbiological (total viable count, psycrotrophic),chemical (PV, TBA, FFA), pH and sensory changes for a Period of 20 days.Turmeric extract significantly ($p<0/05$) delayed lipid oxidation in treated samples. psycrotrophic bacteria and total viable count of treated samples with turmeric extract maintained lower than the proposed acceptable limit ($7 \log \text{cfu/g}$) as far as microbial spoilage significantly ($p<0/05$) decreased in turmeric samples in comparison with the control samples. According to sensory and microbial analysis turmeric samples in compare with the control samples were acceptable for eat to end of storage.

Keywords: Rainbow trout, Turmeric extract, Vacuum package, Shelf life

* Corresponding Author E-Mail address: hedayat@sbmu.ac.ir