پتانسیل آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی عصاره رزماری (*Rosmarinus officinalis*) در افزایش عمرماندگاری ماهی قزل آلای رنگین کمان *(Oncorhynchus mykiss)*

حلیمه اعتمادی[1]، مسعود رضائی[2]*،عبدالمحمد عابدیان[3]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور
2- دانشیار گروه شیلات ، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور
3- دانشیار گروه شیلات ، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور

چکیده

در این مطالعه اثر آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی عصاره رزماری (0/1 درصد) در ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده در خلاء بررسی شد. آنالیزهای میکروبی (باکتری های سرمادوست، کل باکتری ها، باکتریهای اسید لاکتیک و انتروباکتریاسه)، شیمیایی (pH، اسید چرب آزاد، پراکساید، اسید تیوباربیتوریک و تری متیل آمین) و بررسی های حسی این ماهی در طول 18 روز در دمای $2\pm1^{\circ}C$ انجام شد. عصاره رزماری 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 رزماری زیر حد قابل قبول پیشنهادی (7 log cfu/g) باقی ماند به طوری که 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 رزماری تا انتهای دوره نگهداری قابل مصرف بودند به طوریکه عصاره رزماری توانست عمر ماندگاری نمونه ها را نسبت به نمونه شاهد 4 روز افزایش دهد.

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

1- مقدمه

ماهیان به رغم ارزش غذایی بالایی که دارند در برابر فساد اکسیداتیو بسیار حساس هستند و در طول نگهداری، خصوصیات کیفی آنها در اثر فساد باکتریایی و اکسیداتیو کاهش می یابد[1]. فساد اکسیداتیو باعث ایجاد بوی نامطبوع، تغییرات نامطلوب در طعم، تغییر در ساختمان مواد مغذی و کاهش ارزش غذایی محصول می شود در حالی که فساد و آلودگی میکروبی منجر به ایجاد خطرات جدی در سلامت غذایی مصرف کننده می شود. بنابراین استفاده از موادی مناسب با فعالیت آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی به منظور بهبود کیفیت، افزایش عمر ماندگاری گوشت و در عین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی ضروری و مفید می باشد[2]. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره رزماری از حدود 30 سال پیش شناخته شده است و طی این مدت تحقیقات زیادی بر روی این گیاه انجام شد که همگی خاصیت آنتی باکتریایی وآنتی آکسیدانی آن را تأیید کردند. مهمترین ماده فعال در عصاره رزماری کارنوزول می باشد ترکیبات فنولی دیگری

* مسئول مکاتبات: rezai_ma@modares.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

مثل اپی رزمانول و ایزو رزمانول همچنین اسید رزمارینیک و اسید کارنوزیک از برگ های رزماری جداسازی شدند[3]. در تحقیقWu و همکاران مشخص شد که قدرتی آنتی اکسیدانی عصاره رزماری بیشتر از BHA و برابر با BHT است[4]. بر اساس مطالعه Shahidi و Wanasundara غلظت های بین 200-1000 ppm عصاره رزماری را در غذاهای مختلف پیشنهاد شد[5]. Farmanek و همکاران نیز گزارش کردند که عصاره رزماری علاوه برجلوگیری از اکسیداسیون لیپید و فساد میکروبی از تغییرات رنگ گوشت در طول دوره نگهداری جلوگیری می کند و باعث افزایش کیفیت گوشت از نظر فاکتورهای حسی می شود[6].

در بین گونه های متفاوت پرورشی ماهی قزل آلای رنگین کمان(*O. mykiss*)، از نظر تولید بالای سالیانه، قابلیت دسترسی برای مصرف کننده و پراکنش مناسب از اهمیت زیادی بین پرورش دهندگان و مصرف کنندگان برخوردار است و اغلب به صورت ماهی کامل از مغازه های خرده فروشی و یا به صورت فیله شده و شکم خالی از مغازه های بزرگ قابل تهیه است. نظر به ارزش اقتصادی و غذایی، درصد بالای تولید و شیوه های نگهداری موقت و عرضه این ماهی، بررسی کیفیت و تعیین عمر ماندگاری آن در یخچال و تأثیرات بسته بندی و افزودنی های مختلف بر آن از جنبه های مهم مطالعات کیفی در بهداشت و تغذیه انسان بشمار می رود. بر همین اساس در این مطالعه به بررسی پتانسیل آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی عصاره رزماری *(Rosmarinus officinalis)* در افزایش عمرماندگاری ماهی قزل آلای رنگین کمان پرداخته شد.

2- مواد و روش ها

2-1- تهیه ماهی و تیمار کردن نمونه ها

39 عدد ماهی قزل آلای پرورشی (*O. mykiss*) (با میانگین وزن 300 گرم، میانگین طول 270 میلیمتر حدوداً یک ساله) از یکی از مزارع پرورشی شهرستان نوشهر در زمستان 1385 تهیه شد و در مدت 30 دقیقه به آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند. نمونهها از بین ماهیهای هم اندازه و سالم، بطور تصادفی انتخاب و به داخل مخلوطی از آب و یخ قرار داده شدند تا توسط شوک سرمایی (Hypothermia) کشته شوند. در ادامه، این ماهیان پس از فلس گیری و تخلیه شکمی با آب شستشو شدند. سه عدد از ماهی به عنوان نمونه روز نخست آزمایش (روز صفر) انتخاب شد و ماهی های باقی مانده به دو بخش تقسیم شدند، 18 ماهی بخش اول به عنوان نمونه شاهد در خلاء (دستگاه BOSS N84) بسته بندی شد. بسته ها از جنس پلی اتیلن با دانسیته کم و دارای ضخامت 75 µm بودند. 18 ماهی دیگر به نسبت 1:2/5 در محلول عصاره رزماری با غلظت 1000ppm به مدت 30 دقیقه غوطه ور شدند و پس از بسته بندی در خلاء درون جعبه های جداگانه قرار داده شد و متعاقباً بر همه نمونه ها برچسب زده شد و در دمای 2±1 C° به مدت 18 روز نگهداری شدند. در روزهای 3، 6، 9، 12، 15، 18 دوره نگه داری سه ماهی از هر بخش به طور تصادفی انتخاب شد و به منظور تعیین پارامترهای کیفی (شیمیایی، میکروبیولوژیکی و حسی) مورد آزمایش قرار گرفت.

2-2- اندازه گیری اسیدیته (pH)

5 گرم نمونه چرخ شده از هر تیمار به 45 میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و به مدت 30 ثانیه در یک مخلوط کن قرار داده شد سپس pH نمونه ها با pH متر دیجیتالی (Multiline P4 Wtw) با استاندارد هایی در pH 4 و 7 اندازه گیری شد[7].

2-3- آزمایش های شیمیایی

نمونه ماهیان چرخ شد و سپس مقادیر کافی از گوشت هموژن شده برای آنالیز های شیمیایی برداشته شد. آزمایش های اسید چرب آزاد، پراکساید مطابق روش پیشنهاد شده توسط Egan و همکاران [8]، اسید تیوباربیتوریک مطابق روش Namulema و همکاران [9] و تری متیل آمین مطابق روش پیشنهادی AOAC [10] انجام گرفت.

2-4- آزمایش های میکروبی

25 سانتی متر مربع از پوست ناحیه قدامی پشت ماهی با اتانول 70% ضدعفونی شد. سپس با انبرک و اسکارپل استریل قسمت ضدعفونی شده پوست کنی شد و 10g ازگوشت زیرین برداشته شده و در90 میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل 0/85% قرار داده شد و به مدت 60 ثانیه در یک مخلوط کن آزمایشگاهی هموژن شد. سه ماهی از هر بخش به طور جداگانه نمونه برداری شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

2-5- 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 0/1 میلی لیتر از نمونه های تهیه شده طبق دستور العمل بالا، برروی محیط کشت به طور سطحی پخش شد. پلیت کانت های کشت داده شده مربوط به کل باکتری ها بعد از 48 ساعت انکوباسیون در ^{o}C 37 شمارش شدند و پلیت های مرتبط با باکتری های سرمادوست بعد از 10 روز انکوباسیون در ^{o}C 7 شمارش شدند [11]. برای شمارش انتروباکتریاسه از محیط کشت Violet Red Bile Glucose (Agar) VRBGA استفاده شد. 0/1 میلی لیتر نمونه به طور سطحی برروی محیط VRBGA گسترش داده شد. شمارش انتروباکتریاسه بعد از 24 ساعت انکوباسیون پلیت ها در ^{o}C 30 انجام شد. کلنی های بزرگ با هاله صورتی رنگ به عنوان انتروباکترها شمارش شدند. برای شمارش باکتری های اسید لاکتیک از محیط کشت deMan Rogosa and Sharpe (MRS) agar استفاده شد. 1 میلی لیتر نمونه با میکرو سمپلر به پتری دیش خالی منتقل می گردد یک لایه محیط کشت مایع آماده شده به نمونه اضافه شده پتری دیش را به طور سینوسی تکان داده تا نمونه با محیط کشت مخلوط شود و پس از سرد شدن، لایه باریک دیگری به لایه اولیه اضافه شد. برای ایجاد یک محیط بی هوازی پلیت های کشت داده شده در جار بی هوازی حاوی 2 گازپک C قرار داده شدند و در انکوباتور ^{o}C 30 به مدت 3-2 روز نگهداری شدند. داده های حاصل از شمارش چشمی پلیت ها در عکس رقت ضرب شده، بر وزن نمونه برداشت شده تقسیم شد. با قرار دادن این داده ها در لگاریتم، لگاریتم تعداد کلنی در واحد وزن (log cfu/g) بدست آمد.

2-6- بررسی حسی

دو گروه نمونه ها در هر دوره زمانی نمونه برداری به وسیله 5 نفر ارزیاب آموزش دیده از نظر فاکتور های حسی مطابق با طرح درجه بندی انجمن اروپا به نام طرحEC (European Community) درجه بندی شدند. ظاهر پوست، آبشش، چشم و لعاب سطحی همچنین بوی ناشی از آبشش و بخش درونی هر ماهی در چهار درجه کیفی ارزیابی شدند. در طرح درجه بندی EC، کیفیت عالی، کیفیت مناسب (نسبت به وضعیت عالی، ماهی کاهش کیفی کمی دارد)، کیفیت خوب (هنوز مناسب برای فروش می باشد) و کیفیت بد (ماهی فاسد شده و دیگر برای فروش مناسب نیست) به ترتیب با علامت های علامت هایE، A، B و C نشان می دهند [12]. در نهایت نتایج درجه بندی 5 ارزیاب در مورد فاکتورهای کیفی در هر ماهی جمع شدند و درجه نهایی مربوط به هر فاکتور در هر تیمار تعیین شد. به درجات E، A، B و C به ترتیب نمرات1، 2، 3 و 4 داده شد.

2-7- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده های حاصله با نرم افزار SPSS انجام پذیرفت. به منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی به دست آمده از آزمایش های شیمیایی و آزمایش های میکروبی پس از کنترل نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کولموگراف – اسمیرنوف (Kolomogorav – Smirnov) از تجزیه واریانس دو طرفه در قالب طرح آماری فاکتوریل کاملاً تصادفی استفاده گردید. همچنین برای تعیین تفاوت معنی دار بین میانگین ها در تیمارهای مختلف از آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) و برای بررسی تفاوت های بین میانگین ها در زمان های مختلف برای یک تیمار از آزمون دانکن (Duncan) استفاده گردید. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد H0، 5 درصد در نظر گرفته شد [13].

3- نتایج

تغییراتpH، اسیدهای چرب آزاد، پراکساید، تیوباربیتوریک اسید و تری متیل آمین ماهی قزل آلای رنگین کمان نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با عصاره رزماری طی 18 روز نگهداری در دمای ^{o}C 1±2 به ترتیب در نمودارهای1 تا 5 آورده شده است. نمودارهای 6 تا 9 به ترتیب تغییرات

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

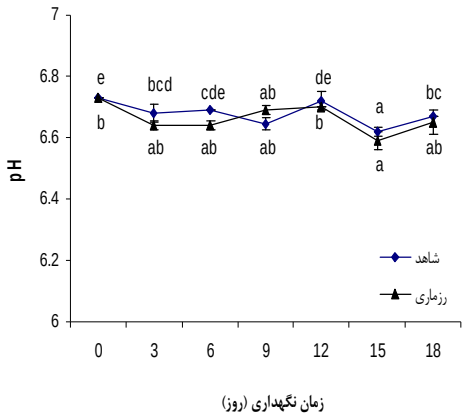
جدول 1 قابلیت پذیرش ماهیان بسته بندی شده در خلاء و بسته بندی شده درخلاء با تیمار رزماری از نظر فاکتورهای حسی مطابق طرح درجه بندی انجمن اروپا (EC scheme)

تیمار	نمونه های بسته بندی شده در خلاء							نمونه های بسته بندی شده در خلاء با تیمار رزماری						
روز های نگهداری	0	3	6	9	12	15	18	0	3	6	9	12	15	18
پوست	E	E	A	A	B	B	C	E	E	E	A	A	B	B
چشم	E	E	A	A	B	B	C	E	E	E	A	B	B	C
بو	E	E	E	A	A	A	C	E	E	E	A	A	A	B
آبشش	E	E	E	A	A	B	C	E	E	E	A	A	B	B
ظاهر	E	E	E	A	A	B	C	E	E	E	A	A	A	B

باکتری های سرمادوست، شمارش کل باکتری ها، باکتری های اسید لاکتیک و انتروباکتریاسه را در دو تیمار مورد آزمایش نشان می دهد. جدول 1 قابلیت پذیرش ماهیان بسته بندی شده در خلاء و بسته بندی شده درخلاء با تیمار رزماری را از نظر فاکتورهای حسی نشان می دهد.

4- بحث ونتیجه گیری

کاهش اندک pH در ابتدای دوره نگهداری در هر تیمار ممکن است به دلیل حلالیت CO_2 در ماهیچه ماهی به هنگام بسته بندی باشد. نتایج مشابهی توسط Manju و همکاران، Tiffney و Mills در نمونه های بسته بندی شده در خلاء به دست آمد[14،15]. طبق آنالیز های آماری تفاوت معنی داری($P<0/05$) بین دو تیمار مورد آزمایش در میزان pH وجود نداشت که با یافته های McCarthy و همکاران در ارزیابی پتانسیل آنتی اکسیدانی عصاره طبیعی گیاهان بر روی گوشت خام و پخته شده مطابقت دارد[16]. pH نمونه ماهی می تواند به فاکتورهای متعددی مثل گونه، ناحیه صید، تغذیه ماهی دما و شرایط نگهداری و ظرفیت بافری گوشت مرتبط باشد[17].



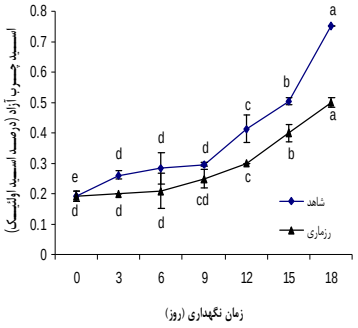
نمودار 1 تغییرات pH در روز های مختلف نگه داری در دمای $2\pm1^{\circ}C$ در دو تیمار مورد آزمایش (n=3). هر مختصه بیانگر میانگین ± انحراف معیار. حروف کوچک مشترک درهر منحنی نشان از عدم تفاوت معنی دار در زمان های مختلف است.

4-1- اسید های چرب آزاد

گلیسریدها، گلیکولیپیدها وفسفولیپیدها توسط آنزیم های لیپاز هیدرولیز شده و به اسید های چرب آزاد تبدیل می شوند که در ادامه روند اکسیداسیون چربی به آلدهیدها و کتون ها تبدیل می شوند[18]. هیدرولیز چربی به تنهایی منجر

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

به کاهش کیفیت، طعم و بوی نامطلوب در محصول نمی شود ولی اهمیت تشکیل اسیدهای چرب آزاد توسعه اکسیداسیون چربی است. افزایش اسیدهای چرب آزاد طی دوره نگهداری در هر دو تیمار معنی دار بود($P<0/05$) که با نتایج گزارش شده توسط Özogul و همکاران برروی مارماهی اروپایی (*Anguilla anguilla*) نگهداری شده در یخ و بدون یخ با دمای 3 ± 1 °C مطابقت دارد[19]. از شروع دوره نگهداری تا نهمین روز تفاوت معنی داری بین مقادیر اسیدهای چرب آزاد تیمارهای مختلف مشاهده نشد ولی بعد از این دوره میزان آن در ماهیان تیمار شده با عصاره رزماری به طور معنی داری ($P<0/05$) کمتر از نمونه شاهد می باشد که ممکن است به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره رزماری باشد.



نمودار 2 تغییرات اسید چرب آزاد در روز های مختلف نگه داری در دمای 2 ± 1 °C در دو تیمار مورد آزمایش (n=3). هر مختصه بیانگر میانگین ± انحراف معیار. حروف کوچک مشترک درهر منحنی نشان از عدم تفاوت معنی دار در زمان های مختلف است.

4-2- اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک اسید

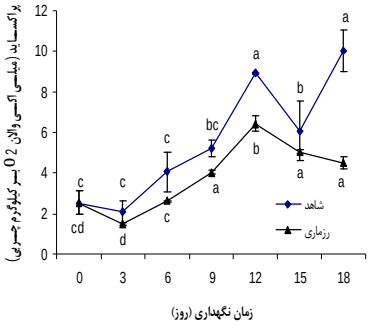
جهت تعیین هیدروپراکسایدها به عنوان محصول اولیه اکسیداسیون چربی در ماهیان از شاخص پراکساید استفاده می شود [20]. در مطالعه حاضر تا دوازدهمین روز نگهداری میزان پراکسید در تیمارهای مختلف روند افزایشی داشت بعد از این دوره یک کاهش ناگهانی در هر دو تیمار دیده شد که ممکن است به دلیل واکنش های ثانویه اکسیداسیون و تولید کربونیل ها و ترکیبات فرار باشد. واکنش های ثانویه اکسیداسیون از جمله واکنش با پروتئین های قابل حل در نمک و تولید ترکیبات کربونیلی نظیر استالدئید[1] ، پروپیونالدئید[2] و استن[3] و اسیدهای چرب فرار نظیر اسید کاپروئیک[4] و اسید پروپیونیک[5] و نیز گازهای فرار نیز می توانند دلایل چنین کاهشی باشند [21]. میزان پراکساید در همه نمونه ها کمتر از حد قابل قبول پیشنهادی (20-10 میلی اکی والان پراکسید بر کیلوگرم چربی) توسط Huss بود [22]. مقادیر پراکسید گزارش شده در این مطالعه مطابق با نتایج بدست آمده توسط Özogul برروی توربوت (*Scomphthalmus maximus*) نگه داری شده در یخ بود[23]. به منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون لیپید در ماهیان به طور وسیعی از شاخص تیوباربیتوریک اسید استفاده می شود [24] که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به ویژه آلدهیدها را نشان می دهد روند افزایش این شاخص در طول مدت نگهداری ممکن است به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان ها در ماهیچه باشد همچنین آلدهیدها به عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون از شکست هیدروپرکسایدها ایجاد می شوند روند افزایشی هیدروپراکسیدها می تواند دلیلی بر این امر باشد. کاهش میزان تیوباربیتوریک اسید در بعضی از روزهای نگهداری ممکن است به دلیل کاهش هیدروپرکسید ها و واکنش بین مالون آلدهید با پروتئینها، اسیدهای آمینه و گلیکوژن باشد که باعث کاهش مقادیر مالون آلدهید و متعاقباً کاهش تیوباربیتوریک اسید می شود[25،26]. Lakshanan محدوده 2-1 میلی گرم مالون آلدهید برکیلوگرم چربی را به عنوان حد قابل قبول مقادیر تیوباربیتوریک اسید در ماهیان معرفی کردند [27]. مقادیر این شاخص در همه نمونه ها در این مطالعه از حد قابل قبول پیشنهادی در طول دوره نگهداری کمتر بود.

مقادیر پراکساید و اسید تیوباربیتوریک در ماهیان تیمار شده با عصاره رزماری به طور معنی داری ($P<0/05$) کمتر از نمونه شاهد بود که می تواند به دلیل خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره رزماری و همچنین اثر آنتی میکروبی آن بر

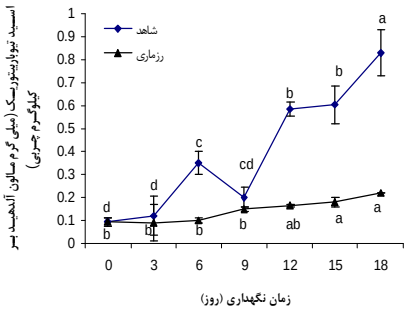
1. Acetaldehyde
2. Propionaldehyde
3. Acetone
4. Caproic acid
5. Propionic acid

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

واکنشهای آنزیمی باکتریایی مرتبط با اکسیداسیون چربی در ماهیان باشد.



نمودار 3 تغییرات پراکساید در روز های مختلف نگه داری در دمای 2±1 C° در دو تیمار مورد آزمایش (n=3). هر مختصه بیانگر میانگین ± انحراف معیار. حروف کوچک مشترک درهر منحنی نشان از عدم تفاوت معنی داردر زمان های مختلف است.

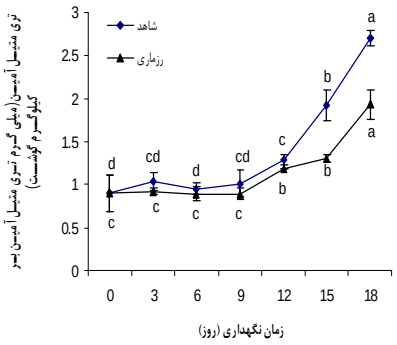


نمودار 4 تغییرات اسید تیوباربیتوریک در روز های مختلف نگه داری در دمای 2±1 C° در دو تیمار مورد آزمایش (n=3). هر مختصه بیانگر میانگین ± انحراف معیار. حروف کوچک مشترک درهر منحنی نشان از عدم تفاوت معنی داردر زمان های مختلف است.

4-3- تری متیل آمین

تری متیل آمین بخشی از ترکیبات بازی فرار است که از تجزیه تری متیل آمین اکساید موجود در گوشت ماهیان توسط فعالیت آنزیمی باکتریایی تولید می شود [28].

در تحقیقی Teskerdzic و Pifeifer مقدار 10 میلی گرم تری متیل آمین در 100 گرم گوشت را به عنوان حد مجاز این شاخص برای قزل آلای نگهداری شده در C° 4 پیشنهاد کردند [29]. مقادیر تری متیل آمین به دست آمده در هر دو تیمار بسیار کمتر ازحد مجاز پیشنهاد شده بود. افزایش اندک در مقدار تری متیل آمین نمونه ها احتمالاً به خاطر سطوح کم تری متیل آمین اکساید در گوشت این گونه ماهی می باشد. تا دوازدهمین روز نگهداری تفاوت معنی داری($P<0/05$) بین نمونه تیمار شده با عصاره رزماری و نمونه شاهد وجود نداشت پس از این دوره تا انتهای دوره نگهداری تری متیل آمین در نمونه های تیمار شده با عصاره رزماری به طور معنی داری($P<0/05$) کمتر از نمونه شاهد بود که ممکن است به دلیل خاصیت آنتی باکتریایی عصاره رزماری مرتبط باشد. فعالیت انتی باکتریایی و ضد قارچی عصاره رزماری در مقابل گونه های مختلفی از از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی توسط محققین زیادی بررسی و تأیید شده است [32،31،30].



نمودار 5 تغییرات تری متیل آمین در روز های مختلف نگه داری در دمای 2±1 C° در دو تیمار مورد آزمایش (n=3). هر مختصه بیانگر میانگین ± انحراف معیار حروف کوچک مشترک درهر منحنی نشان از عدم تفاوت معنی داردر زمان های مختلف است.

4-4- آنالیزهای باکتریایی

باکتریهای سرمادوست گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیزم های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد هستند[33]. بیشترین حد پیشنهاد شده برای باکتری های سرمادوست در ماهی قزل آلای رنگین کمان 7 log cfu/g است [34] که نمونه های شاهد بعد از 14روز نگه داری به این حد رسیدند در حالی که مقادیر این باکتری ها نمونه های تیمار شده با عصاره رزماری در انتهای دوره نگهداری زیر حد مجاز پیشنهادی (6 log cfu/g) قرار داشت

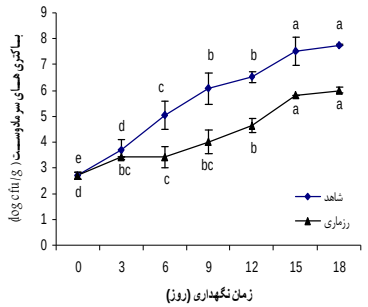
[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

و به طور معنی داری ($P<0/05$) کمتر از نمونه شاهد بود که ممکن است با اثرات بازدارندگی عصاره رزماری بر فساد باکتریایی باشد. تعیین عمر ماندگاری تیمارهای مختلف توسط آنالیز های باکتریایی بر مبنای زمان رسیدن تیمارها به حد مجاز قابل قبول (7 log cfu/g) برای باکتری های سرمادوست قرار دارد. بنابراین طبق آنالیز های میکروبی عمر ماندگاری نمونه شاهد 14 روز بود در حالی که نمونه رزماری تا انتهای دوره نگهداری دچار فساد باکتریایی نشدند بنابراین تخمین عمر ماندگاری بر اساس آنالیز های باکتریایی در این تیمار مستلزم نگهداری ماهی بیش از 18 روز در دمای 2 ± 1 ºC می باشد. نتایج مشابهی توسط Gimenz و همکاران بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان بسته بندی شده در خلاء گزارش شد [35].

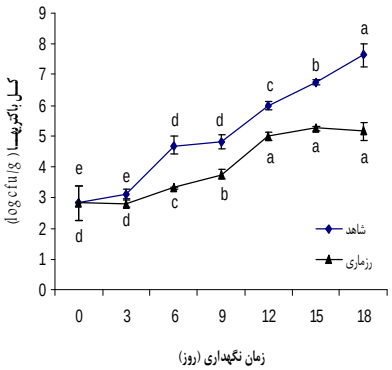
محققین شمارش کل باکتری ها اولیه برای گونه های مختلف آب شیرین (تیلاپیا، باس راه راه، قزل آلای رنگین کمان، سوف نقره ای) را 2-6 log cfu/g پیشنهاد دادند[36،37]. میزان ابتدایی این باکتری ها در مطالعه حاضر 2/8 بود که نشان دهنده کیفیت بالای ماهی تهیه شده می باشد. شمارش کل باکتری ها در نمونه شاهد پس از 17-16 روز به 7 log cfu/g رسید در حالی که در نمونه های تیمار شده با عصاره رزماری در پایان دوره 5 logcfu/g گزارش شد. شمارش کل باکتری ها نمونه شاهد به طور معنی داری بیشتر از نمونه رزماری بود که نشان دهنده اثرات بازدارندگی عصاره رزماری بر کل باکتری های قابل رویت می باشد. این نتایج با تحقیقات Djenane و همکاران و Sallam و همکاران در بررسی اثرات آنتی باکتریایی عصاره رزماری درگوشت مطابقت دارد[38،39].

مقادیر باکتری های اسید لاکتیک در نمونه تیمار شده با عصاره رزماری به طور معنی داری($P<0/05$) کمتر از نمونه شاهد بود. باکتری های اسید لاکتیک گروهی از باکتری ها هستند که از جنس های متعددی باکترهای گرم مثبت تشکیل شده اند. برخی از محققین ترکیبات فنولی قطبی موجود در عصاره رزماری را عامل اصلی خاصیت آنتی باکتریایی آن می دانند[40،41]. در حالی که Davidson و همکاران گزارش کردند که باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتر های گرم منفی به ترکیبات فنولی غیر قطبی حساسیت بیشتری دارند[42].

انتروباکتریاسه بخشی از فلور میکروبی ماهی قزل الای رنگین کمان تازه نگهداری شده در 2 ± 1 C° در طول دوره نگهداری است رشد انتروباکتریاسه نسبت به سایر گروه های میکروبی کمتر بود به طوریکه در انتهای دوره نگهداری در تیمار شاهد و رزماری به ترتیب به 3/9 و1/5 رسید. مقادیر انتروباکتریاسه نمونه های رزماری به طور معنی داری($P<0/05$) کمتر از نمونه شاهد بود که تأیید کننده اثرات بازدارندگی عصاره رزماری بر خلاف گروه انتروباکتریاسه است. پتانسیل فساد انتروباکتریاسه بویژه در مواردی که آلودگی آب یا تأخیر در سردسازی بعد از صید اتفاق افتد، قابل توجه و دارای اهمیت است.

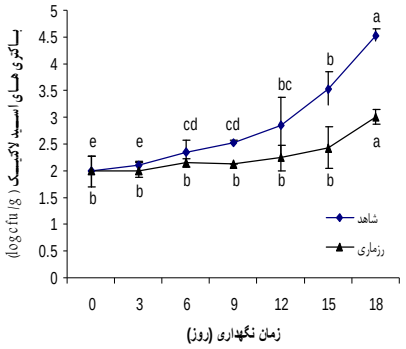


نمودار6 تغییرات باکتری های سرمادوست در روز های مختلف نگه داری در دمای 2 ± 1 C° در دو تیمار مورد آزمایش (n=3). هر مختصه بیانگر میانگین ± انحراف معیار، حروف کوچک مشترک درهر منحنی نشان از عدم تفاوت معنی دار در زمان های مختلف است.

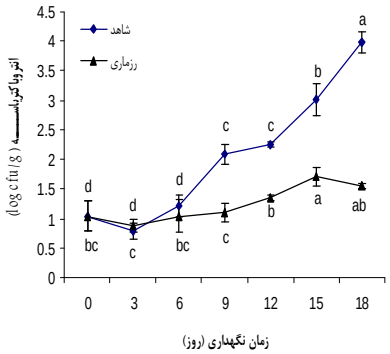


نمودار7 تغییرات کل باکتری ها در روز های مختلف نگه داری در دمای 2 ± 1 C° دز دو تیمار مورد آزمایش (n=3). هر مختصه بیانگر میانگین ± انحراف معیار، حروف کوچک مشترک درهر منحنی نشان از عدم تفاوت معنی داردر زمان های مختلف است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]



نمودار8 تغییرات باکتری های اسید لاکتیک در روز های مختلف نگه داری در دمای 2±1° C در دو تیمار مورد آزمایش (n=3). هر مختصه بیانگر میانگین ± انحراف معیار، حروف کوچک مشترک درهر منحنی نشان از عدم تفاوت معنی داردر زمان های مختلف است.



نمودار9 تغییرات انتروباکتریاسه در روز های مختلف نگه داری در دمای 2±1° C در دو تیمار مورد آزمایش (n=3). هر مختصه بیانگر میانگین ± انحراف معیار، حروف کوچک مشترک درهر منحنی نشان از عدم تفاوت معنی داردر زمان های مختلف است.

5-4- بررسی حسی

طبق بررسی های حسی عمر ماندگاری نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با عصاره رزماری به ترتیب 15 و18 روز تعیین شد. کاهش کیفیت تیمار شاهد بیشتر در فاکتورهای چشم و ظاهر ماهی دیده شد ولی در نمونه تیمار شده با عصاره رزماری بیشتر در فاکتورهای چشم و آبشش کاهش کیفی مشاهده شد.

5- نتیجه گیری

غوطه وری نمونه ها در عصاره رزماری 0/1% به طور معنی داری اکسیداسیون لیپید و رشد میکروبی را به تأخیر می اندازد و باعث افزایش عمر ماندگاری محصول می شود. از آنجا که کاربرد روش هایی به منظور به حداقل رساندن فساد باکتریایی و اکسیداتیو در محصولات دریایی از نظر اقتصادی و بهداشتی دارای اهمیت می باشد انجام مطالعات بیشتر در زمینه ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریایی عصاره گیاهان طبیعی در ماهی و محصولات شیلاتی ضروری ومفید می باشد.

6- تشکر و قدردانی

ازجناب آقای دکتر رضا امید بیگی و دوستان گرامی آقای مهندس آریا باباخانی و مهندس مهدی اجاق به سبب همکاری در انجام برخی از مراحل تحقیق تشکر و قدردانی می گردد.

فهرست واژگان

اسید چرب آزاد	FFA	Free fatty acid
پراکساید	PV	Peroxide value
اسید تیوباربیتوریک	TBA	Thiobarbituric acid
تری متیل آمین	TMA	Trimethylamine
باکتری های سرمادوست	PTC	Psychrothrophic counts
شمارش کلی باکتری ها	TVC	Total viable counts
باکتری های اسید لاکتیک	LAB	Lactic acid bacteria
انتروباکتریاسه	EBC	Enterobacteriaceae counts
بیشترین حد پیشنهادی	MRL	Maximal Recommended limit

7- منابع

[1] Ackman, R. G. 1999. In R. G. Ackman (Ed.), Marine biogenic lipids, fats and oils. Boca Raton, FL: CRC Press.
[2] Yin, M. C., & Cheng, W. S. 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. Meat Sci, 63, 23–28.
[3] Löliger, J. 1983. Natural antioxidants. In J. C. Allen, & R. J. Hamilton (Eds.), Rancidity in foods (pp. 89–107). London: Applied Science Publishers
[4] Wu, J. W., Lee, M. H., Ho, C. T., & Chang, S. S. 1982. Elucidation of the chemical structures of natural antioxidants

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[16] McCarthy, T. L., Kerry, J. P., Kerry, J. F., Lynch, P. B., & Buckley, D. J. 2001. Evaluation of the antioxidant potential of natural food/plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties. Meat Sci, 57, 45-52.

[17] Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sanchez, M. E., & Robles-Burgueno, M. R. 2000. Post-mortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0 °C. J. Food Sci, 65(1): 40–47.

[18] Hamilton, R. J., Kalu, C., Prisk, E., Padley, F. B., & Pierce, H. 1997.Chemistry of free radicals in lipids. Food Chem, 60(2): 193–199.

[19] Özogul, Y., Ö zyurt, G., Ö zogul, F., Kuley, E., & Polat, A. 2005. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. Food Chem, 92: 745–751.

[20] Ólafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P.,Jensen, B., Undeland, I., et al. 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. Trend Food Sci & Techn, 8: 258–265

[21] Vidya, S. R. G. and Srikar, L. N. 1996**.** Effect of preprocess ice storage on the lipid chenges of japanese threadfin bream (*Nemipterus japonicus*) mince during frozen. Asian Fisher Sci. 9: 109-114.

[22] Huss, H. H. (Ed.) 1995**.** *Quality and quality changes in freshfish* .FAO Fisheries Technical Paper No. 348, Foodand Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome, Italy.

[23] Özogul, Y., Özogul, F., Kuley, E., Özkutuk, A. S. Gökbulut, C., Köse, S. 2006. Biochemical, sensory and microbiological attributes of wild turbot (*Scophthalmus maximus*), from the Black Sea, during chilled storage. Food Chem, 99: 752-758.

[24] Nishimoto, J., Suwetja, I.K., & Miki, H. 1985**.** Estimation of keeping freshness period and practical storage life of mackerel muscle during storage at low temperatures. *Memoirs of the Faculty of Fisheries Kagoshima University*, 34(1): 89–96.

[25] Gomes HA, Silva EN, Nascimento MRL, Fukuma HT 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.

from rosemary. J. Am Oil Chem Soc, 59(8), 339-345.

[5] Shahidi, F., & Wanasundara, P. K. J. P. D. 1992. Phenolic antioxidants. Crit. Rev Food Sci , 32(1), 67–103.

[6] Formanek, Z., Lynch, A., Galvin, K., Farkas, J., & Kerry, J. P. 2003. Combined effects of irradiation and the use of natural antioxidants on the shelf life stability of overwrapped minced beef. Meat Sci, 63(4), 433–440.

[7] Sallam, Kh. I., & Samejima, K. 2004. Microbiological and chemical quality of ground beef treated with sodium lactate and sodium chloride during refrigerated storage. LWT-Food Sci Techn, 37: 865–871.

[8] Egan, H., Kirk, R. S., & Sawyer, R. (1981). Pearson's chemical analysis of foods (8th ed.). London: Academic Press.

[9] Namulema, A., Muyonga, J.H., Kaaya, A. N. 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at –13 and –27˚C.Food Res Int. 32, 151-156. J. Food Sci, 64: 241–244

[10] AOAC, 2002. Association of the Official Analysis Chemists. Official methods of analysis, (14th ed.), Washington, DC

[11] Ben-Gigirey, B., Vieites Baptista de Sousa, J. M., Villa, T. G., & Barros-Velázquez, J. 1998. Changes in biogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. J. Food Prot, 61: 608–615.

[12] Howgate, P., Johnston, A., & Whittle, K. J. 1992. Multilingual guide to EC freshness grades for Wshery products. Marine Laboratory, Scottish OYce of Agriculture, Environment and Fisheries Department, Aberdeen, UK.

[13] Zar, J.H. 1999. Biostatistical Analysis. Prentice Hall International, Inc. 660pp.Department, Aberdeen, UK

[14] Manju, S., Leema Jose., Srinivasa Gopal, T. K., Ravishankar, C. N., & Jose, L. 2007. Effects of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological, textural and sensory changes of Pearlspot (*Etroplus suratensis*) during chill storage. Food Chem, 102(1): 27-32

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

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[26] Raharjo S, Sofos JN 1993. Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues. Meat Sci, 35: 145–169.

[27] Lakshmanan, P. T. 2000. Fish spoilage and quality assessment. In T. S. G. Iyer, M. K. Kandoran, Mary Thomas, & P. T. Mathew (Eds.), Quality assurance in seafood processing (pp. 26–40). Cochin: Society Fisher Techno (India).

[28] Connell, JJ. 1990. Methods of assessing and selecting for quality.In: Connell JJ (ed) Control of fish quality. Fishing News Books,Oxford, pp 122–150.

[29] Teskeredzic, Z., & Pfeifer, K. 1987. Determining the degree of freshness of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) cultured in brackish water. J. Food Sci, 52: 1101–1102.

[30] Benkeblia, N., 2004. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). LWT. Food Sci Technol 37 , 263–268.

[31] Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M.,Alipoor-Astaneh, S., Rasooli, I., 2006. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chem. 102 , 898-904

[32] Whitemore, B. B., & Naidu, A. S. 2000. Thiosulfinates. In A. S. Naidu (Ed.), Natural food antimicrobial systems (pp. 265–380). Boca Raton, FL: CRC Press.

[33] Gram, L., & Huss, H.H. 1996. Microbiologica lspoilage of fish and fishproducts. I. J. Food Microb, 33: 121–137.

[34] ICMSF ‘‘International Commission on Microbiological Specification for Foods’’ 1986. Microorganisms infoods. 2. Sampling for microbiological analysis: principle sand specific applications(2nded.).Buffalo, NY: University of Toronto Press.

[35] Gimenez, B., Roncales, P., & Beltran, J. A., 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbowtrout. J. Sci Food Agric. 84, 1154–1159.

[36] Gelman, A., Glatman, L., Drabkin, V., & Harpaz, S., 2001. Effects of storage temperature and preservative treatment on shelf life of the pond raised freshwater fish, silver perch (*Bidyanus bidyanus*). J. Food Prot. 64, 1584–1591.

[37] 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.

[38] Djenane, D., Escalante, A.S., Beltrán, J.A., Roncalés, P., 2003. The shelf-life of beef steaks treated with dl-lactic acid and antioxidants and stored under modified atmospheres. Food Microb. 20, 1–7.

[39] Sallam, Kh. I., Ishioroshi, M., & Samejima, K. 2004. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. LWT.Food Sci Technol, 37, 849-559.

[40] Del Campo, J., Amiot, M. J., & Nguyen-The, C. 2000. Antimicrobial effect of rosemary extracts. J. Food Prot, 63, 1359–1368.

[41] Karamanoli, K., Vokou, D., Menkissoglu, U., & Constantinidou, H. I 2000. Bacterial colonization of phyllosphere of Mediterranean aromatic plants. J. Chem. Eco., 26, 2035–2048.

[42] Davidson, P. M. 1993. Parabens and phenolic compounds. In P. M. Davidson & A. L. Branen (Eds.), Antimicrobials in foods (pp. 263–306). New York: Marcel Dekker

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on shelf life extension of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Etemadi, H. [1], Rezaei, M. [2*], Abedian Kenary, A. M. [3]

1- M.Sc Student., Dept. of Fisheries, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
2- Associate Prof., Dept. of Fisheries, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
3- Associate Prof., Dept. of Fisheries, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

Antibacterial and antioxidant effect of rosemary extract were investigated on vacuum packed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Microbial (total viable, psycrotrophic, lactic acid bacteria and enterobacteriacea counts), chemical (pH, TMA, TBA, FFA, PV) and sensory analysis were done at 2±1°C for 18 days. Rosemary extract significantly ($p<0/05$) delayed lipid oxidation in treated samples. Psycrotrophic bacteria and total viable count of treated samples with rosemary extract maintained lower than the proposed acceptable limit (7 log cfu/g) as far as microbial spoilage significantly ($p<0/05$) decreased in rosemary samples in comparison with the control samples. According to sensory and microbial analysis rosemary samples were acceptable for eat to end of storage thus rosemary extract was able to increase shelf life of this samples 4 days in compare with the control samples.

Keywords: Rainbow trout, Rosemary extract, vacuum package, shelf life

[*] Corresponding author E-Mail address: rezai_ma@modares.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]