بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد دوم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۲
http://japu.gau.ac.ir

# اثر آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره سیر (*Allium sativum*) بر مدت ماندگاری قزل‌آلای رنگین‌کمان در شرایط نگه‌داری سرد

*حلیمه اعتمادی[۱]، مسعود رضایی[۲] و محمدعلی ضیایی[۳]

[۱]استادیار گروه محیط زیست پژوهشکده خلیج فارس ، دانشگاه خلیج فارس بوشهر، [۲]دانشیار گروه شیلات، دانشگاه تربیت مدرس، [۳]دانشجوی دکتری گیاه پزشکی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۲۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۲۹

## چکیده

در این مطالعه اثرات آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره سیر بر خصوصیات میکروبی، بیوشیمیایی و حسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بسته‌بندی شده در خلا در دمای (۱±۲ درجه سانتی‌گراد) طی مدت ۱۸ روز بررسی شد. عصاره سیر با غلظت ۰/۵ درصد موجب افزایش اکسیداسیون چربی در نمونه‌های تیمارشده گردید به‌طوری‌که اکسیداسیون چربی در نمونه‌های تیمارشده به‌طور معنی‌داری بیشتر از نمونه شاهد بود. مقادیر باکتری‌های سرمادوست و کل باکتری‌ها در طول دوره نگه‌داری در ماهیان تیمارشده با عصاره سیر کمتر از حد قابل قبول پیشنهادی (۷ logcfu/g) باقی ماند به‌طوری‌که فساد میکروبی در این نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. طبق بررسی‌های حسی مدت ماندگاری نمونه شاهد ۱۵ روز، در حالی‌که ماهیان تیمارشده با عصاره سیر ۹ روز بود که با مدت ماندگاری تعیین‌شده براساس آنالیزهای میکروبی مغایرت داشت. کاهش مدت ماندگاری ماهیان تیمارشده نسبت به نمونه شاهد ممکن است به‌دلیل فساد اکسیداسیونی ناشی از اثر پراکسیدانی سیر در این غلظت باشد.

***واژه‌های کلیدی:*** سیر (*Allium sativum*)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، مدت ماندگاری، بسته‌بندی در خلا

*مسئول مکاتبه: etemadi.halime@yahoo.com

**مقدمه**

ماهیان منبع مهمی از اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه و امگا ۳ به‌طور عمده DHA[۱] و EPA[۲] می‌باشند لین و لین (۲۰۰٤) به‌همین دلیل در مقابل آسیب‌های ناشی از اکسیداسیون بسیار حساس هستند و دچار فساد زود هنگام می‌شوند ویستی و همکاران (۲۰۰۳). همچنین در نتیجه فساد باکتریایی ماهی، ترکیبات فرار با وزن ملکولی پایین تولید می‌شوند. این ترکیبات به‌طور معمول سولفید هیدروژن، تری‌متیل‌آمین و آمونیاک می‌باشند میلر و همکاران (۱۹۷۳) که به‌همراه اکسیداسیون سریع چربی‌ها و تولید ترکیبات آلدهیدی و کتونی، عامل نامطلوب شدن گوشت، تشدید بوی نامطبوع و بی‌مزه شدن ماهی در طی زمان نگه‌داری هستند. استفاده از مواد ضد میکروبی مثل اسیدهای آلی و نمک آن‌ها همچنین استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و مصنوعی برای افزایش مدت ماندگاری محصولات دریایی و حفظ کیفیت ماهی به‌کار برده می‌شود. نگرانی کارخانجات و مصرف‌کنندگان در ارتباط با امنیت غذایی مواد افزودنی مصنوعی منجربه تمایل روز افزون آن‌ها در استفاده از افزودنی‌های طبیعی در محصولات غذایی شده است. مزایای کاربرد مواد طبیعی مناسب با فعالیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی، افزایش مدت ماندگاری ماهی، عدم نیاز به آزمایش‌های امنیّت غذایی که در هنگام استفاده از افزودنی‌های شیمیایی انجام می‌شود، بی‌خطر بودن مصرف آن‌ها در دوزهای مختلف، تهیه از منابع دورریختنی و تنوع ساختاری آن‌ها می‌باشد. در عین حال پرهزینه بودن خالص‌سازی و تهیه عصاره و ایجاد تغییرات طعم و بو در محصول از معایب استفاده از افزودنی‌های طبیعی است پوکورنی (۱۹۹۱).

ترکیبات گوناگون آنتی‌اکسیدانی در عصاره سیر موجود می‌باشد که میزان تأثیر نهایی این ترکیبات بر محصول، وابسته به غلظت خواهد بود به‌این معنی که غلظت تأثیر زیادی در گرفتن نتیجه مطلوب و موردنظر ما بر محصول دارد. این ترکیبات جذب کننده و خنثی کننده رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسیداسیون هستند. آلین[۳] موجود در سیر در حضور آنزیم آلیناز[٤] به آلسین[۱]، دی آلیل‌سولفید[۲] و

۱- Docosahexaenoic acid

۲- Eicosapentaenoic acid

۳- Allin

٤- Alliinase

آلیل‌سولفید[3] با اثرات آنتی‌اکسیدانی تبدیل می‌شود. سیر دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های ضد باکتریایی ضدویروسی، ضدپرتوزئوا و ضدقارچ می‌باشد. ترکیبات ارگانوسولفوره مشتق شده از سیر را به‌عنوان عامل ضدمیکروبی مسئول در جلوگیری از فساد غذایی و بیماری‌های ناشی از مصرف غذا می‌دانند لسچنر و ایلسچ (۲۰۰۳). سیر همچنین دارای مقادیر قابل توجه سلنیم موردنیاز برای فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به‌عنوان آنزیم محافظت‌کننده ارگانیسم‌ها از آسیب‌های اکسیداتیو می‌باشد یانگ و همکاران (۱۹۹۳).

با توجه به خصوصیات بی‌نظیر آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی سیر و اهمیت فوق‌العاده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در سبد غذایی، در این پژوهش اثر عصاره سیر برروی خصوصیات شیمیایی، بیولوژیکی و حسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بسته‌بندی شده در خلا مورد مطالعه قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

**تهیه ماهی و تیمار کردن نمونه‌ها:** ۳۹ ماهی قزل‌آلای پرورشی[4] (با میانگین وزن ۳۰۰ گرم، میانگین طول ۲۷۰ میلی‌متر، حدوداً یکساله) از مجتمع پرورش قزل‌آلای شمال واقع در استان مازندران شهرستان نوشهر در زمستان ۱۳۸۵ تهیه شد. انتخاب نمونه‌ها به‌طور تصادفی از بین ماهی‌های هم‌اندازه و سالم صورت گرفت و پس از صید داخل مخلوطی از آب و یخ قرار داده شدند تا توسط شوک سرمایی[5] کشته شوند. نمونه‌ها در مدت ۳۰ دقیقه به آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند آنگاه ماهی‌ها با آب شسته شد و در طول مراحل آماده‌سازی در یخ نگه‌داری گردیدند. سیر تازه از مغازه‌های محلی خریداری شد پس از پوست کنی و تمیز کردن، سیرها چندین بار با آب مقطر استریل شسته شدند. یکصد گرم سیر شسته شده و سپس هموژن گردید. برای خارج‌سازی عصاره، نمونه هموژن شده بر روی یک پارچه (تصفیه کننده شیر و محصولات لبنی)

---

۱- Allicin

۲- Diallyl sulfide

۳- Allyl sulfide

٤- *O.mykiss*

٥- Hypotermia

استریل فشرده شد و عصاره خارج شده با غلظت ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد. با افزودن حجم مناسبی از آب‌مقطر استریل عصاره‌ای با غلظت ۷۵ درصد تهیه شد ایندول و همکاران (۲۰۰٦).

پس از فلس‌گیری و تخلیه شکمی ماهی‌ها دوباره شسته شدند. سه ماهی به‌عنوان نمونه روز ۰ (صفر) انتخاب شد. ماهی‌های باقی‌مانده به دو بخش تقسیم شدند، ۱۸ ماهی بخش اول به‌عنوان نمونه شاهد در خلا (دستگاه BOSS N84 محصول کشور آلمان) بسته‌بندی شد. بسته‌ها از جنس پلی‌اتیلن با دانسیته کم و دارای ضخامت ۷۵ میکرومتر و نفوذ اکسیژنی ۵۲/۵ میلی‌لیتر بر مترمربع در روز به ازای هر اتمسفر بودند. ۱۸ ماهی باقی‌مانده به نسبت ۱ به ۲/۵ (ماهی: محلول) در محلول عصاره سیر با غلظت ۰/۵ درصد به‌مدت ۳۰ دقیقه غوطه‌ور و به‌مدت ۵ دقیقه آب چک شدند. پس از بسته‌بندی در خلا درون جعبه‌های جداگانه قرار داده شد و به‌دنبال آن بر همه نمونه‌ها برچسب زده شد و در دما ۱±۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۸ روز در یخچال (YAKHSAZAN, R141) نگه‌داری شدند. در روزهای ۳، ٦، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ دوره نگه‌داری سه ماهی از هر بخش به‌طور تصادفی انتخاب شد و به‌منظور تعیین پارامترهای کیفی (شیمیایی، میکوبیولوژیکی و حسی) مورد آزمایش قرار گرفت.

**آزمایشات میکروبی:** ۲۵ سانتی‌متر مربع از پوست ناحیه قدامی پشت ماهی با اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی شد. سپس با انبرک و اسکارپل استریل قسمت ضدعفونی شده پوست کنی شد و ۱۰ گرم ازگوشت زیرین برداشته و در ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل ۰/۸۵ درصد قرار داده شد و به‌مدت ٦۰ ثانیه در یک مخلوط‌کن (Seward Medical London, UK) آزمایشگاهی هموژن شد. سه ماهی از هر تیمار به‌طور جداگانه نمونه‌برداری شد.

**تهیه محیط‌های کشت، انکوباسیون و شمارش باکتری:** برای شمارش کل باکتری‌ها و باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های تهیه‌شده، از محیط کشت پلیت کانت آگار[1] استفاده شد. بعد از ساخت محیط کشت، با میکروسمپلر ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های تهیه‌شده طبق دستورالعمل بالا، بر روی محیط کشت به‌طور سطحی پخش شد. پلیت کانت‌های کشت داده شده مربوط به کل باکتری‌ها بعد از ٤۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد شمارش شدند و پلیت‌های مرتبط با باکتری‌های سرمادوست بعد از ۱۰

۱- Plate count agar

روز انکوباسیون در ۷ درجه سانتی‌گراد شمارش شدند. برای شمارش انتروباکتریاسه از محیط کشت VRBGA[1] استفاده شد. ۰/۱ میلی‌لیتر نمونه به‌طور سطحی برروی محیط VRBGA گسترش داده شد. شمارش انتروباکتریاسه بعد از ۲٤ ساعت انکوباسیون پلیت‌ها در ۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. کلنی‌های بزرگ با هاله صورتی رنگ به‌عنوان انتروباکترها شمارش شدند. برای شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک از محیط کشت MRSA[2] استفاده شد. یک میلی‌لیتر نمونه با میکرو سمپلر به پتری‌دیش خالی منتقل گردید. یک لایه محیط کشت مایع آماده شده به نمونه اضافه شده پتری‌دیش به‌طور 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 بی‌هوازی پلیت‌های کشت داده شده در جار بی‌هوازی دارای ۲ گازپک C قرار داده شدند و در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳-۲ روز نگه‌داری شدند. داده‌های حاصل از شمارش چشمی پلیت‌ها در عکس رقت ضرب شده و بر وزن نمونه برداشت شده تقسیم شد. با قرار دادن این داده‌ها در لگاریتم، لگاریتم تعداد کلنی در واحد وزن (log cfu/g) به‌دست آمد (AOAC, 2002).

**آزمای‌های شیمیایی:** نصف هر ماهی چرخ شد و مقادیر کافی از گوشت هموژن شده برای آنالیزهای شیمیایی برداشته شد. آزمایش‌های اسید چرب آزاد (FFA)[3] و پراکساید (PV)[4] مطابق روش پیشنهاد شده توسط اگان و همکاران (۱۹۸۱) و اسید تیو باربیتوریک (TBA)[5] مطابق روش نامولما و همکاران (۱۹۹۹) انجام گرفت.

۵ گرم نمونه چرخ شده از هر تیمار به ٤۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و به‌مدت ۳۰ ثانیه در یک مخلوط‌کن قرار داده شد. سپس pH نمونه‌ها با pH متر دیجیتالی[6] با استانداردهایی در pH ٤ و ۷ اندازه‌گیری شد مانجو و همکاران (۲۰۰۷).

---

۱- Violet red bile glucose agar

۲- deMan rogosa and sharpe agar

۳- Free fatty acid

٤- Peroxide value

۵- Thiobarbituric acid

5- Multiline P4 Wtw

**بررسی حسی:** دو گروه نمونه‌ها در هر دوره زمانی نمونه‌برداری به‌وسیله ۵ نفر داور نیمه آموزش دیده از نظر فاکتورهای حسی مطابق با طرح درجه‌بندی انجمن اروپا به نام طرح EC[1] درجه‌بندی 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 درجه‌بندی EC، کیفیت عالی، کیفیت مناسب (نسبت به وضعیت عالی، ماهی کاهش کیفی کمی دارد)، کیفیت خوب (هنوز مناسب برای فروش می‌باشد) و کیفیت بد (ماهی فاسد شده و دیگر برای فروش مناسب نیست) به‌ترتیب با علامت‌های E، A، B و C نشان داده می‌شوند هاوگیت و همکاران (۱۹۹۲). در نهایت نتایج درجه‌بندی ۵ ارزیاب در مورد فاکتورهای کیفی در هر ماهی جمع شدند و درجه نهایی مربوط به هر فاکتور در هر تیمار تعیین شد. به درجه‌های E، A، B و C به‌ترتیب نمرات ۱، ۲، ۳ و ٤ داده شد. جدول ۱ بیان‌کننده واژه‌های توصیفی مربوط به طرح درجه‌بندی EC برای ماهی قزل‌آلا می‌باشد که در هر روز نمونه‌برداری قبل از انجام سایر آزمایش‌ها ابتدا هر نمونه ماهی توسط ۵ ارزیاب طبق این جدول درجه‌بندی می‌شدند. برای رسم نمودارهای حسی به‌این ترتیب عمل شد که برای هر تیمار در هر روز نمونه‌برداری ۳ تکرار وجود داشت که هر تکرار توسط ۵ ارزیاب درجه‌بندی شد (اعداد ۱ تا ٤ بسته به‌میزان کیفیت به هر نمونه داده شد). از مجموعه اعداد به‌دست آمده برای یک تیمار در یک روز نمونه‌برداری درصد گرفته شد تا مشخص شود چند درصد از این اعداد درجه ۱ چند درصد درجه ۲، چند درصد درجه ۳ و چند درصد درجه ٤ هستند.

**جدول ۱- واژه‌های توصیفی مربوط به درجه‌بندی طرح EC**

| پوست | چشم | آبشش | بو | ظاهر | درجه EC |
|---|---|---|---|---|---|
| درخشان و روشن، محکم با لعاب شفاف | برآمده و محدب، نداشتن موکوس، قرنیه نیمه شفاف | رنگ قرمز | بوی تازگی | لعاب براق، باریک و نیم شفاف، رنگ گوشت نیمه شفاف | E |
| مومی، نرم با لعاب شیری | مسطح، موکوس متوسط، | رنگ | بوی | لعاب آبکی و شفاف، | A |

۱- European community

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | قرنیه مات و شیری | قرمز | ماهی | رنگ گوشت خاکستری | |
| مومی، نرم با لعاب شیری و کمی آب چک خونی | مسطح با موکوس زیاد و قرنیه شیری و مات | رنگ قرمز تیره | بوی کهنگی | لعاب کمی شیری و کدر رنگ گوشت خاکستری | B |
| تیره و کدر | فرورفته، موکوس زیاد و قرنیه مات وکدر | رنگ قرمز تیره | بوی فساد | کاملا شیری و رنگ گوشت خاکستری | C |

**تجزیه و تحلیل آماری**: تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصله با نرم‌افزار SPSS۱۲ انجام پذیرفت. به‌منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی به‌دست آمده از آزمایش‌های شیمیایی و میکروبی پس از کنترل نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف- اسمیرنوف[۱] از تجزیه واریانس یک طرفه استفاده گردید. همچنین برای بررسی تفاوت‌های بین میانگین‌ها در زمان‌های مختلف برای یک تیمار از آزمون T غیرجفتی استفاده گردید. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد H0، ۵ درصد در نظر گرفته شد (زار، ۱۹۹۹).

## نتایج

تغییرات pH، FFA، PV و TBA ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با عصاره سیر طی ۱۸ روز نگه‌داری در دمای ۱±۲ درجه سانتی‌گراد در جدول ۲ آورده شده است. نمودارهای ۱ تا ٤ به‌ترتیب تغییرات باکتری‌های سرمادوست[۲]، کل باکتری‌های قابل رویت[۳]، باکتری‌های اسید لاکتیک[٤] و انتروباکتریاسه[۵] را در دو تیمار مورد آزمایش نشان می‌دهد. در جدول ۳ قابلیت پذیرش ماهیان بسته‌بندی شده در خلا و بسته‌بندی شده در خلاء با تیمار سیر را از نظر

۱- Kolomogorav – Smirnov

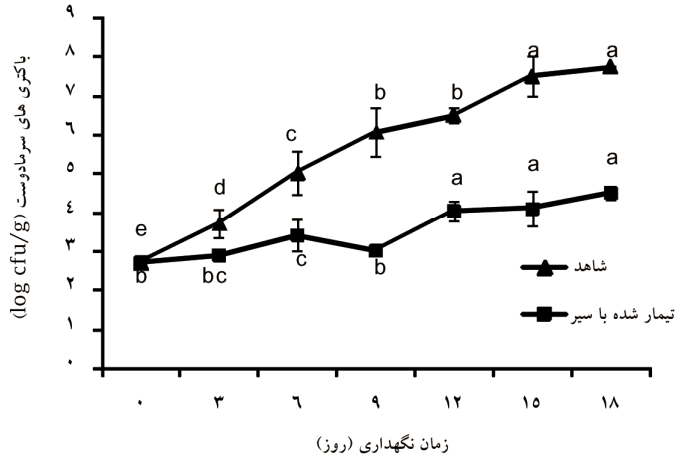
۲- Psychro throphic counts (PTC)

۳- Total viable counts (TVC)

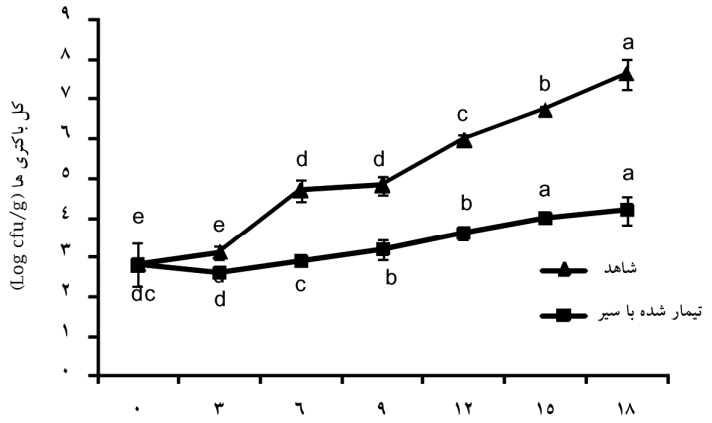
٤- Lactic acid bacteria (LAB)

۵- Enterobacteriaceae counts (ETC)

فاکتورهای حسی نشان می‌دهد. نمودارهای ۵ و ٦ درصد امتیازهای نهایی خصوصیّات حسی دو تیمار مورد آزمایش در هر روز نمونه‌برداری را نشان می‌دهد. طبق این نتایج بررسی‌های حسی مدت ماندگاری نمونه شاهد ۱۵ روز، در حالی‌که ماهیان تیمار شده با عصاره سیر ۹ روز بود.




**نمودار ۱- تغییرات باکتری‌های سرمادوست در روزهای مختلف نگه‌داری در دمای ۱±۲ درجه سانتی‌گراد در دو تیمار مورد آزمایش (n=۳). هر مختصه بیانگر میانگین ± انحراف معیار از میانگین، حروف کوچک مشترک در هر منحنی نشان از عدم تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف است**




**نمودار ۲- تغییرات کل باکتری‌ها در روزهای مختلف نگه‌داری در دمای ۱±۲ درجه سانتی‌گراد در دو تیمار مورد آزمایش (n=۳). هر مختصه بیانگر میانگین ± انحراف معیار از میانگین، حروف کوچک مشترک در هر منحنی نشان از عدم تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف است**

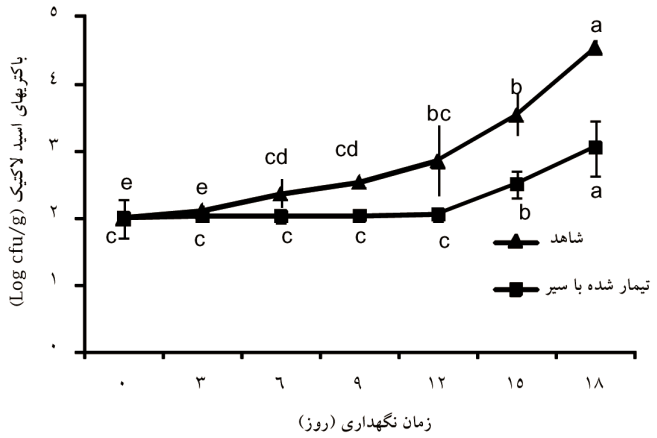
**جدول ۲- تغییرات در فاکتورهای شیمیایی نمونه‌های شاهد و تیمار شده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با عصاره سیر در طول دوره نگه‌داری در دما ۱±۲ درجه سانتی‌گراد**

| روزهای نگه‌داری | pH | | اسید چرب آزاد (درصد اسید اولئیک) | | پراکساید میلی‌اکی والان اکسیژن برکیلوگرم (چربی) | | تیوباربیتوریک اسید (میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم گوشت) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | شاهد | تیمار سیر | شاهد | تیمار سیر | شاهد | تیمار سیر | شاهد | تیمار سیر |
| ۰ | ٦/٧٣±٠/٠٠* a | ٦/٧٣±٠/٠٠ a | ٠/١٩±٠/٠١ e | ٠/١٩±٠/٠١ e | ٢/٥٥±٠/٥٦ c | ٢/٥٥±٠/٥٦ e | ٠/٠٩٣±٠/٠١ d | ٠/٠٩٣±٠/٠١f |
| ٣ | ٦/٦٨±٠/٠٢bcd | ٦/٦٥±٠/٠٢ab | ٠/٢٢±٠/٠١٢d | ٠/٢٣±٠/٠٢de | ٢/١٠±٠/٥٥ c | ٣/٥٣±٠/٠٨ de | ٠/١٢±٠/٠٨٤ d | ٠/٢٩±٠/٠٥ e |
| ٦ | ٦/٦٩±٠/٠٠abc | ٦/٦٨±٠/٠١ab | ٠/٢٨±٠/٠٥d | ٠/٣١±٠/٠٢d | ٤/٠٦±٠/٩٨c | ٤/١٢±٠/١٩ d | ٠/٣٥١±٠/٠٥c | ٠/٣٩±٠/٠٣d |
| ٩ | ٦/٦٤±٠/٠٢de | ٦/٦٥±٠/٠٢ ab | ٠/٢٩±٠/٠٠ d | ٠/٣٠±٠/٠٧ d | ٥/٢٠±٠/٤١bc | ٧/٥٩±٠/٢٨c | ٠/٢٠٢±٠/٠٤cd | ٠/٥٩±٠/٠٣c |
| ١٢ | ٦/٧٢±٠/٠٢ab | ٦/٧٥±٠/٠٠ a | ٠/٤١±٠/٠٤c | ٠/٤٧±٠/٠٥ c | ٨/٩٢±٠/٠٢a | ٧/٣٤±٠/٠٩ c | ٠/٥٨٤±٠/٠٣b | ٠/٦٧±٠/٠٣c |
| ١٥ | ٦/٦٢±٠/٠١e | ٦/٥٩±٠/٠١٤b | ٠/٥٠±٠/٠١b | ٠/٧٤±٠/٠٥ b | ٦/٠٨±١/٤٥ b | ١٢/٨٤±٠/١٤b | ٠/٦٠٤±٠/٠٨ b | ١/٠٠±٠/٠٦b |
| ١٨ | ٦/٦٧±٠/٠٠cd | ٦/٦٦±٠/٠٢ ab | ٠/٧٥±٠/٠٠ a | ٠/٨٩±٠/٠٢ a | ١٠/٠٠±١/٠٢a | ١٤/١١±٠/٢٧a | ٠/٨٣٠±٠/٠٩ a | ١/١٥±٠/٠٥ a |

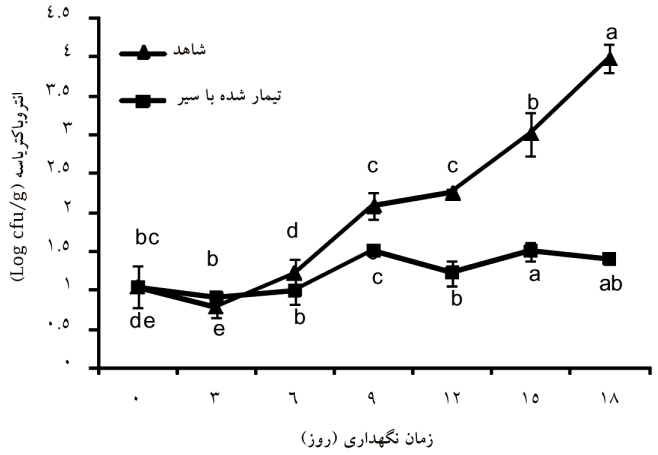
* میانگین ± انحراف معیار از میانگین، حروف کوچک مشترک در هر ستون نشان از عدم تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف نگه‌داری است

**جدول ۳- قابلیت پذیرش ماهیان قزل‌آلای نمونه شاهد و تیمار شده با سیر از نظر فاکتورهای حسی مطابق طرح درجه‌بندی انجمن اروپا (EC scheme) کیفیت عالی (E)، کیفیت مناسب (A)، کیفیت خوب (B)، کیفیت بد (C)**

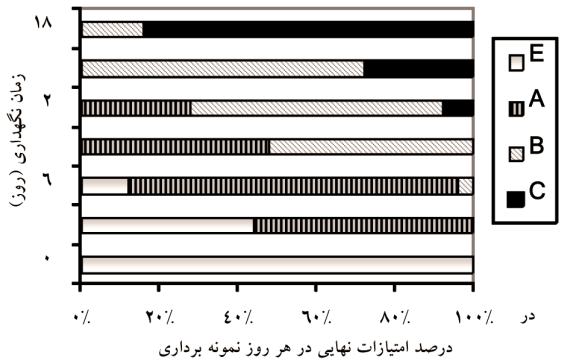
| تیمار | نمونه‌های بسته‌بندی شده در خلا | | | | | | | نمونه‌های بسته‌بندی شده در خلا با تیمار سیر | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| روزهای نگه‌داری | ۰ | ۳ | ٦ | ۹ | ۱۲ | ۱۵ | ۱۸ | ۰ | ۳ | ٦ | ۹ | ۱۲ | ۱۵ | ۱۸ |
| پوست | E | E | A | A | B | B | C | E | E | B | B | C | C | C |
| چشم | E | A | A | B | B | C | C | E | B | B | C | C | C | C |
| بو | E | E | A | A | A | B | C | E | B | B | C | C | C | C |
| آبشش | E | E | A | A | B | B | C | E | A | B | B | C | C | C |
| ظاهر | E | E | A | B | B | C | C | E | A | B | B | C | C | C |



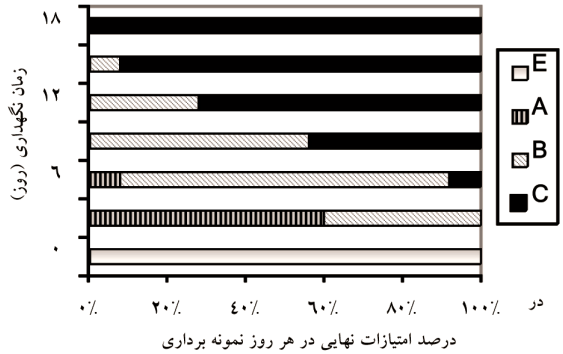

**نمودار ۳- تغییرات باکتری‌ها اسید لاکتیک در روزهای مختلف نگه‌داری در دمای ۱±۲ درجه سانتی‌گراد در دو تیمار مورد آزمایش (n=۳). هر مختصه بیانگر میانگین ± انحراف معیار از میانگین، حروف کوچک مشترک در هر منحنی نشان از عدم تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف است**




**نمودار ٤- تغییرات انتروباکتریاسه در روزهای مختلف نگه‌داری در دمای ۱±۲ درجه سانتی‌گراد در دو تیمار مورد آزمایش (n=۳). هر مختصه بیانگر میانگین ± انحراف معیار از میانگین، حروف کوچک مشترک در هر منحنی نشان از عدم تفاوت معنی‌دار در زمان‌های مختلف است**




**نمودار ٥- درصد امتیازات نهایی خصوصیات حسی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بسته‌بندی شده در خلاء در هر روز نمونه‌برداری (E= کیفیت عالی، A= کیفیت خوب، B= کیفیت متوسط، C= کیفیت بد)**




**نمودار ٦- درصد امتیازات نهایی خصوصیات حسی در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بسته‌بندی شده در خلا و تیمار شده با سیر در هر روز نمونه‌برداری (E= کیفیت عالی، A= کیفیت خوب، B= کیفیت متوسط، C= کیفیت بد)**

## بحث و نتیجه‌گیری

**آنالیزهای باکتریایی:** بیشترین حد پیشنهاد شده برای باکتری‌های سرمادوست در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان log cfu/g ۷ است (آی، سی، ام، اس، اف، ۱۹۸٦). که نمونه‌های شاهد بعد از ١٤ روز نگه‌داری (روز ۱۵) به‌این حد رسیدند در حالی‌که مقادیر PTC نمونه‌های تیمارشده با عصاره سیر در انتهای دوره نگه‌داری زیر حد مجاز پیشنهادی (٦ log cfu/g) قرار داشت و به‌طور معنی‌داری کمتر از نمونه شاهد بود که ممکن است به‌دلیل اثرات بازدارندگی عصاره سیر بر فساد باکتریایی باشد. تعیین مدت ماندگاری تیمارهای مختلف توسط آنالیزهای باکتریایی بر مبنای زمان رسیدن تیمارها به حد مجاز قابل قبول (۷ log cfu/g) برای باکتری‌های سرمادوست قرار دارد. بنابراین طبق آنالیزهای میکروبی مدت ماندگاری نمونه شاهد ١٤ روز بود در حالی‌که نمونه سیر تا انتهای دوره نگه‌داری دچار فساد باکتریایی نشدند. طبق تحقیقات انجام شده بیشترین اثر بازدارندگی عصاره سیر بر باکتری‌های گرم منفی می‌باشد (کومار و همکاران، ۱۹۹۸).

پژوهش‌گران مقدار کل باکتری‌های ابتدایی را برای گونه‌های مختلف آب شیرین (تیلاپیا (*Oreocheromis aureous*)، باس راه راه (*Morone saxatilis*)، قزل‌آلای رنگین‌کمان و سوف نقره‌ای (*Bidyanus bidyanus*)) ٦-۲ log cfu/g تعیین کردند (ساوایدیس و همکاران، ۲۰۰۲؛ چیتری و همکاران، ۲۰۰٤) میزان کل باکتری‌های ابتدایی در این مطالعه ۲/۸ بود که نشان‌دهنده کیفیت بالای

ماهی تهیه شده می‌باشد. مقدار کل باکتری‌ها در نمونه شاهد پس از ۱۷-۱٦ روز به ۷ log cfu/g رسید در حالی‌که در نمونه‌های تیمارشده با عصاره سیر در پایان دوره ٤/۷ log cfu/g گزارش شد. مقادیر کل باکتری‌های نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر از نمونه سیر بود که نشان‌دهنده اثرات بازدارندگی عصاره سیر بر کل باکتری‌های قابل رویت می‌باشد. این نتایج با پژوهش‌های سلام و همکاران (۲۰۰٤) در بررسی اثرات آنتی‌باکتریایی عصاره سیر در گوشت جوجه مطابقت دارد. باکتری‌های اسیدلاکتیک گروهی از باکتری‌ها هستند که از جنس‌های متعدد باکترهای گرم مثبت تشکیل شده‌اند. مقادیر باکتری‌های اسیدلاکتیک در نمونه تیمارشده با عصاره سیر به‌طور معنی‌داری کمتر از نمونه شاهد بود.

انتروباکتریاسه بخشی از فلور میکروبی ماهی قزل‌الای رنگین‌کمان تازه نگه‌داری شده در ۱±۲ درجه سانتی‌گراد در طول دوره نگه‌داری است. رشد انتروباکتریاسه نسبت به سایر گروه‌های میکروبی کمتر بود به‌طوری‌که در انتهای دوره نگه‌داری در تیمار شاهد و سیر به‌ترتیب به ۳/۹ log cfu/g و ۱/٤ رسید. مقادیر انتروباکتریاسه نمونه‌های سیر به‌طور معنی‌داری کمتر از نمونه شاهد بود که تأیید کننده اثرات بازدارندگی عصاره سیر برگروه انتروباکتریاسه است. خاصیّت آنتی‌باکتریایی سیر به‌دلیل وجود ترکیبات ضد باکتریایی آلسین و دی الیل تیو سولفات است که این ترکیبات با گروه SH پرتئین‌های ضروری سلول واکنش می‌دهد و ایجاد اثرات بازدارندگی بر فعالیت باکتری‌ها می‌نمایند.

**آنالیزهای شیمیایی:** کاهش اندک pH در ابتدای دوره نگه‌داری در هر تیمار ممکن است به‌دلیل حلالیت $CO_2$ در ماهیچه ماهی به هنگام بسته‌بندی باشد. نتایج مشابهی توسط مانجو و همکاران (۲۰۰۷) برروی ماهی لکه مرواریدی (*Etroplus suratensis*) بسته‌بندی شده در خلا در طول ۵ روز ابتدایی نگه‌داری در ۲-۰ درجه سانتی‌گراد و توسط مکین بر روی ماهی سر پهن ماسه‌ای[۱] (*Platycephalus bassensis*) تحت خلا در مدت ٦ روز ابتدایی نگه‌داری در ٦ درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد میکین و همکاران (۱۹۸۲) و مانجو و همکاران (۲۰۰۷). طبق آنالیزهای آماری تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار مورد آزمایش در میزان pH وجود نداشت که با یافته‌های مک‌کارتی و همکاران (۲۰۰۱) در ارزیابی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره طبیعی گیاهان بر روی گوشت خام و پخته شده مطابقت دارد.

۱- Sand flat head

**هیدرولیز چربی:** هیدرولیز چربی به تنهایی منجربه کاهش کیفیت، طعم و بوی نامطلوب در محصول نمی‌شود ولی با تولید اسیدهای چرب آزاد به‌دلیل توسعه اکسیداسیون چربی باعث توسعه فساد محصول می‌شوند (آبورگ، ۲۰۰۱). گلیسریدها، گلیکولیپیدها و فسفولیپیدها توسط آنزیم‌های لیپاز هیدرولیز و به اسیدهای چرب آزاد تبدیل می‌شوند که در ادامه روند اکسیداسیون چربی به آلدهیدها و کتون‌ها تبدیل می‌گردند همیلتون و همکاران (۱۹۹۷). افزایش FFA طی دوره نگه‌داری در هر دو تیمار معنی‌دار بود که با نتایج گزارش‌شده توسط اوزگول و همکاران برروی ماهی مارماهی اروپایی (*Anquilla anquilla*) نگه‌داری شده در یخ و یخچال با دمای ۱±۳ درجه سانتی‌گراد مطابقت دارد اوزوگول و همکاران (۲۰۰۵). از شروع دوره تا دوازدهمین روز نگه‌داری تفاوت معنی‌داری بین مقادیر FFA تیمارهای شاهد و سیر مشاهده نشد ولی بعد از این دوره FFA در ماهیان تیمار شده با عصاره سیر به‌طور معنی‌داری بیشتر از نمونه شاهد بود که ممکن است به‌دلیل اثر پراکسیدانی عصاره سیر باشد. این نتایج متفاوت با نتایج ارائه شده توسط اوگورزابل و همکاران (۲۰۰۰) می‌باشد.

**اکسیداسیون لیپید:** جهت تعیین هیدروپراکسایدها به‌عنوان محصول اولیه اکسیداسیون چربی در ماهیان از شاخص پراکساید استفاده می‌شود اولافسدوتیر (۱۹۹۷). میزان پراکساید در همه نمونه‌ها کمتر از حد قابل‌قبول پیشنهادی (۲۰-۱۰ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم چربی) توسط هووس (۱۹۹۵) بود. تا دوازدهمین روز نگه‌داری میزان پراکسید در تیمار شاهد روند افزایشی داشت و تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار در مقادیر پراکسید مشاهده نشد. بعد از این دوره کاهش ناگهانی در تیمار شاهد دیده شد که ممکن است به‌دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تولید کربونیل‌ها و ترکیبات فرار باشد. درحالی‌که در نمونه‌های تیمار شده با سیر افزایش معنی‌داری در میزان پراکسید نسبت به نمونه شاهد تا انتهای دوره نگه‌داری مشاهده شد. افزایش مقادیر پراکسید در تیمار سیر ممکن است مرتبط با غلظت بالای عصاره سیر استفاده شده باشد که منجربه اثر اکسیداسیونی و حتی پراکسیدانی در عصاره سیر شده است.

به‌منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون لیپید در ماهیان به‌طور وسیعی از شاخص TBA استفاده می‌شود نیشیموتو و همکاران (۱۹۸۵) که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به‌ویژه آلدهیدها را نشان می‌دهد. روند افزایش TBA در طول مدت نگه‌داری ممکن است به‌دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در ماهیچه باشد. همچنین آلدهیدها به‌عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون از شکست

هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شوند. روند افزایشی هیدروپراکسیدها می‌تواند دلیلی بر این امر باشد. کاهش میزان TBA در بعضی از روزهای نگه‌داری ممکن است به‌دلیل کاهش هیدروپرکسیدها و واکنش بین مالون آلدهید با پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و گلیکوژن باشد که باعث کاهش مقادیر مالون‌آلدهید و به‌دنبال آن کاهش TBA می‌شود رهارجو و سوفوس (۱۹۹۳) و گومز و همکاران (۲۰۰۳). لاکشمانان محدوده ۲-۱ میلی‌گرم مالون‌آلدهید برکیلوگرم چربی را به‌عنوان حد قابل قبول مقادیر TBA در ماهیان معرفی کردند لاکشمانان (۲۰۰۰). مقادیر TBA در همه نمونه‌ها در این مطالعه از حد قابل قبول پیشنهادی در طول دوره نگه‌داری کمتر بود.

مقادیر اسید تیوباربیتوریک در ماهیان تیمار شده با عصاره سیر به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بیشتر از نمونه شاهد بود این نتایج با پژوهش‌های انجام شده توسط سلام و همکاران، (۲۰۰٤) و اوگورزابل و همکاران (۲۰۰۰) به‌ترتیب برروی سوسیس جوجه[۲] و سوسیس خشک[۳] مغایرت دارد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه سیر به گروهی از ترکیبات دارای سولفور موجود در آن به‌ویژه آلسین مرتبط می‌شود کیم و همکاران (۱۹۹۷).

**بررسی حسی:** طبق بررسی‌های حسی مدت ماندگاری نمونه شاهد و نمونه تیمارشده با عصاره سیر به‌ترتیب ۱۵ و ۹ روز تعیین شد. کاهش کیفیت تیمار شاهد بیشتر در فاکتورهای چشم و ظاهر ماهی دیده شد ولی در نمونه تیمار شده با عصاره سیر بیشتر در فاکتورهای چشم و بوی ماهی کاهش کیفی مشاهده شد. نمونه‌های تیمارشده با سیر تا روز نهم نگه‌داری قابل مصرف هستند چون حدود درصد این نمونه‌ها دارای نمره B یعنی کیفیت مناسب برای فروش می‌باشند که طبق طرح EC روز نهم نگه‌داری به‌عنوان مدت ماندگاری ماهیان تیمارشده با سیر تعیین شد. در حالی‌که ۷۰ درصد نمونه‌های شاهد تا روز ۱۵ نگه‌داری دارای درجه کیفی B بودند.

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه غوطه‌وری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در عصاره سیر ۰/۵ درصد قبل از بسته‌بندی در خلا به‌طور معنی‌داری رشد میکروبی را به تأخیر می‌اندازد ولی باعث افزایش اکسیداسیون و اثر پراکسیدانی در این تیمار می‌شود که ممکن است به‌دلیل غلظت بالای عصاره سیر استفاده شده و اثر پراکسیدانی آلسین باشد به‌طوری‌که با تولید ترکیبات حاصل از اکسیداسیون

2- Chicken sausages
3- Dry sausages

موجب کاهش مدت ماندگاری محصول تیمارشده تا روز نهم نگه‌داری در مقابل نمونه‌های شاهد با مدت ماندگاری ۱۵ روز می‌شود. به‌همین دلیل پژوهش‌های بیشتری به‌روی تعیین غلظت مناسب عصاره سیر با خاصیّت مطلوب آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی لازم می‌باشد. از آن‌جا که کاربرد روش‌هایی به‌منظور به حداقل رساندن فساد باکتریایی و اکسیداتیو در محصولات دریایی از نظر اقتصادی و بهداشتی دارای اهمیّت می‌باشد انجام مطالعات بیشتر در زمینه ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی عصاره گیاهان طبیعی در ماهی و محصولات شیلاتی ضروری و مفید می‌باشد.

## منابع


1.Aguirrezábal, M.M., Mateo, J., Domìnguez, M.C. and Zumalacárregui, J.M. 2000. The effect of paprika, garlic and salt on rancidity in dry sausages. Meat Sci. 54: 77-81.

2.AOAC, 2002. Official Methods of Analysis of the Association of the Official Analysis Chemists. Association of Official Analytical Chemists, (14th ed.), Washington, DC. Pp: 5-100.

3.Aubourg, S. 2001. Fluorescence study of the prooxidant activity of free fatty acids on marine lipids. J. Sci. Food. Agr. 81: 385-390.

4.Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I.N. and Kontominas, M.G. 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. Food Microbiol. 21: 157-165.

5.Egan, H., Kirk R.S. and Sawyer, R. 1981. Pearson's chemical analysis of foods (8th ed.). London: Academic Press. 106p.

6.Gomes, H.A., Silva, E.N., Nascimento, M.R.L. and Fukuma, H.T. 2003. Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically de boned gamma irradiated chicken meat. Food Chem. 80: 433-437.

7.Hamilton, R.C., Kalu, J., Prisk, E., Padley, F.B. and Pierce, H. 1997. Chemistry of free radicals in lipids. Food Chem. 60(2): 193-199.

8.Howgate, P., Johnston, A. and Whittle, K.J. 1992. Multilingual guide to EC freshness grades for fishery products. Marine Laboratory, Scottish Office of Agriculture, Environment and Fisheries Department, Aberdeen, UK. 187p.

9.Huss, H.H. (Ed) 1995. Quality and quality changes in fresh fish .FAO Fisheries Technical Paper No. 348, Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome, Italy. 38p.

10.ICMSF ''International Commission on Microbiological Specification for Foods'' 1986. Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological

analysis: principle sand specific applications (2nded.). Buffalo, NY: University of Toronto Press. 286p.
11.Indul, M.N., Hatha Abirosh, A.A.M.C., Harsha1, U. and Vivekanandan, G. 2006. Antimicrobial activity of some of the south-Indian spices against serotypes of Escherichia Coli, Salmonalla, Listeria monocytogenes and Aeromonas Hydrophila. Braz J. Microbiol. 37: 153-158.
12.Kim, S.M., Kubota, K. and Kobayashi, A. 1997. Antioxidative activity of sulphur containing flavour compounds in garlic. Biosci Biotech Bioch. 61: 1482-1485.
13.Kumar, M. and Berawal, J.S. 1998. Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium sativum*). J. Appl Bacteriol. 842: 213-215.
14.Lakshmanan, P.T. 2000. Fish spoilage and quality assessment. In T.S.G. Iyer, M.K. Kandoran, Mary Thomas, and P.T. Mathew (Eds.), Quality assurance in seafood processing (Pp. 26-40). Cochin: Society Fisher Techno (India).
15.Leuschner, R.G.K. and Ielsch, V. 2003. Antimicrobial effects of garlic, clove and red hot chilli on Listeria monocytogenes in broth model systems and soft cheese. Int. J. Food. Sci and Nutr. 54: 127-133.
16.Lin, C.C. and Lin, C.S. 2004. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea extracts. Food Chem. 16(2): 169-175.
17.Manju, S., Leema, J., Srinivasa, G., Ravishankar, T.K. and Jose, C.N. 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.
18.Meekin, T.A., Hulse, L. and Bremner, H.A. 1982. Spoilage association of vacuum packed sand flathead (*Platycephalus bassensis*) fillets. Food Tech Aust. 34: 278-282.
19.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.
20.Miller, A., Scanlan, A., Lee J.S. and Libbey, L.M. 1973. Identification of volatile compounds produced in sterile fish muscle. Sebastes melanops by Pseudomonas fragi. Appl Microbiol. 25: 952-955.
21.Namulema, A., Muyonga, J.H. and Kaaya, A.N. 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at -13 and -27˚C. J. Food Sci. 64: 241-244.
22.Nishimoto, J., Suwetja, I.K. and Miki, H. 1985. Estimation of keeping freshness period and practical storage life of mackerel muscle during storage at low temperatures. *Mem* Fac Fish *Kagoshima* Univ. 34.1: 89-96.

23.Ólafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B. and Undeland, I. 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. Trends Food Sci and Tech. 8: 258-265.
24.Özogul, Y., Özyurt, G., Özogul, F., Kuley E. and Polat, A. 2005. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. Food Chem. 92: 745-751.
25.Pokorný, J. 1991. Natural antioxidants for food use. Trends Food Sci and Tech. 2: 223-227.
26.Raharjo S. and Sofos, J.N. 1993. Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues. Meat Sci. 35: 145-169.
27.Sallam, Kh., Ishioroshi, I.M. and Samejima, K. 2004. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. Lebensm-Wiss Techol. 37: 849-559.
28.Savvaidis, I.N., Skandamis, P., Riganakos, K., Panagiotakis, N. and 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 Protect. 65: 515-522.
29.Vicetti, R., Ishittani, T., Salas A. and Ayava, M. 2003. Use of alfa-tochopherol combined with synergists and compared to other antioxidants on the oxidative stability of sardine skin lipids. J. Food Compos and Anals. 18(2-3): 131-137.
30.Yang, G.C., Yasaei, P.M. and Page, S.W. 1993. Garlic as antioxidants and free radical scavengers. J. Food and Drug Anal. 1(4): 357-364.
31.Zar, J.H. 1999. Biostatistical Analysis Prentice Hall International, Inc. Department, Aberdeen, UK. 660p.