مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال هشتم، شماره دوم، پیاپی سی‌ام، پاییز ۱۳۹۸ (۲۲-۱۱)

تأثیر عصاره آزاد و انکپسوله رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر رفتار استافیلوکوکوس اورئوس و برخی پارامترهای میکروبی و شیمیایی در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نگهداری‌شده در ۴ درجه سانتی‌گراد

مهشید شاملوفر[۱*]، الهام پایندان[۲]، زهرا غیاثوند[۳]، هدی کاویانی چراتی[۴]

۱. استادیار، گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران
۲. کارشناس ارشد، صنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران
۳. استادیار، گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاداسلامی، آزادشهر، ایران
۴. کارشناس ارشد شیمی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۲/۲۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۲۲)

چکیده

رشد میکروبی و اکسیداسیون لیپیدها یکی از دلایل اصلی فساد گوشت و فرآورده‌های گوشتی است که تغییرات نامطلوبی در این فرآورده‌ها ایجاد می‌کند و در نتیجه، باعث بروز مسمومیت‌های غذایی و مرگ‌ومیر مصرف‌کنندگان و همچنین ایجاد خسارت‌های قابل ملاحظه اقتصادی می‌شود. به‌منظور ارزیابی رفتار باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (عامل مسمومیت غذایی) و سنجش برخی از پارامترهای میکروبی و شیمیایی، فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان آغشته به استافیلوکوکوس اورئوس در معرض پلی‌فنول‌های عصاره رازیانه (به فرم آزاد و انکپسوله) در دو غلظت (۰/۱، ۰/۳ درصد) قرار گرفته و در دمای یخچال به‌مدت ۱۵ روز نگهداری شدند. عوامل شیمیایی و میکروبی مورد بررسی شامل شاخص پراکسید، شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش باکتری‌های سرمادوست و شمارش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بودند. نتایج بررسی‌عوامل شیمیایی و میکروبی نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای عصاره آزاد و انکپسوله رازیانه بود ($P<0/05$). نتایج بیانگر آن است که عصاره رازیانه خصوصاً در فرم انکپسوله آن و در غلظت بالا مؤثرتر از فرم آزاد آن بوده است و منجر به کندتر شدن روند رشد شمارش کلی باکتری‌ها، باکتری‌های سرمادوست و تعداد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و کاهش شاخص پراکسید به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود. بنابراین استفاده از فرم انکپسوله رازیانه (به‌ویژه در غلظت ۰/۳ درصد) می‌تواند به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد گردد.

واژه‌های کلیدی: ارزیابی میکروبی و شیمیایی، استافیلوکوکوس اورئوس، افزایش ماندگاری، عصاره آزاد و انکپسوله گیاه رازیانه، فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان.

Effect of free and nanoencapsulated extract of *Foeniculum vulgare on behavior of Staphylococcus aureus* and microbial and chemical changes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet during storage in 4°C

Mahshid Shamloofar[1*], Elham Payandan[2], Zahra Ghiasvand[3], Hoda Kavyani Charati[4]

1. Assistant Professor, Department of Fisheries, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
2. M.A. of Nutritional Science, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
3. Assistant Professor, Department of Fisheries, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
4. M. A. of Chemistry Science, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran
(Received: May 13, 2016 - Accepted: Oct. 14, 2019)

Abstract

Microbial growth and lipid oxidation, as a major source of meat and meat products spoilage, results in undesirable changes and thus leads to food poisoning, human mortality and also considerable economic losses. In order to evaluate the behavior of Staphylococcus aureus (cusative agents of food poisoning) in the polyphenols presence of natural preservative (free extract *and nano-encapsulation of* Foeniculum vulgare) in the concentration of (0.1 and 0.3 %) the rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fillets were preserved for 15 days at refrigerator temperature. and some chemical parameters such as Peroxide Value and microbial parameters such as Total count, Psychrotrophic Count and Staph aureus bacteria count was stemated. Results showed that there was significant differences between free extract *and nano-encapsulated* treatments ($P<0/05$) and it revealed that the *nano-encapsulation of* F.vulgare, especially at high concentrations was more effective than conventional form that leading to a slower rate of growth of S.aureus number in rainbow trou fillets. So, using of the nano-encapsulated form of F.vulgare, especially, in concentration of %0.3, as natural preservative, was recommended in rainbow trou fillet.

Keywords: Chemical and microbial parameters, free *and nano-encapsulated* extract *of* F.vulgare, Rainbow trout fillets, Staphylococcus aureus, Shelf life.

* نویسنده مسئول: Email: shamloofar@gmail.com

مقدمه

علی‌رغم پیشرفت در مراقبت‌های پزشکی و تکنولوژی مواد غذایی که در سال‌های اخیر صورت گرفته است هنوز هم عفونت‌ها و مسمومیت‌های ناشی از غذا و همچنین فساد مواد غذایی در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه مشکل عمده‌ای برای سلامت انسان و اقتصاد محسوب می‌شود. در طول نگهداری، خصوصیات کیفی انواع گوشت‌ها خصوصاً ماهی در اثر فساد باکتریایی و اکسیداتیو کاهش می‌یابد. فساد اکسیداتیو باعث ایجاد بوی نامطبوع، تغییرات نامطلوب در طعم، تغییر در ساختمان مواد مغذی و کاهش ارزش غذایی محصول می‌شود درحالی‌که فساد و آلودگی میکروبی منجر به هدر رفتن محصول و ایجاد خطرات جدی در سلامت غذایی مصرف کنندگان می‌شود (Etemadi *et al*., 2008). بنابراین استفاده از موادی مناسب با فعالیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی به منظور بهبود کیفیت، افزایش عمر ماندگاری انواع گوشت و در عین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی ضروری و مفید می‌باشد (Yin & Cheng, 2003). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و نگهدارنده‌های ضد میکروبی یکی از مهم‌ترین روش‌های جلوگیری از فساد اکسیداتیو و باکتریایی گوشت ماهی و سایر محصولات گوشتی می‌باشد. در این ارتباط آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات نگهدارنده سنتزی سال‌هاست که برای کنترل فساد مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Botsoglou *et al*., 2003). با اثبات اثرات زیان بار این نگهدارنده‌های شیمیایی بر سلامت انسان، توجه محققان و همچنین مردم به سمت استفاده از افزودنی‌های طبیعی به‌خصوص با منشأ گیاهی در فرمولاسیون غذا جلب شده است (Shahidi *et al*., 2006). عصاره‌های گیاهی از جمله ترکیبات طبیعی هستند که دارای ترکیبات پلی‌فنولیک بوده و همچنین خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آنها توسط پژوهشگران مختلف به اثبات رسیده است (Burt, 2004; Oussalah *et al*., 2007; Mejholem & Dalgaard, 2002). آن‌ها می‌توانند به‌عنوان یک منبع خوب از عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی در برابر عوامل بیماریزای مواد غذایی به‌کار گرفته شوند. برای مثال در برخی از مطالعات منتشرشده امکان استفاده از اسانس‌های گیاهی مانند دارچین و میخک به‌عنوان ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی طبیعی در شیر وگوشت ماهی همچنین مریم‌گلی و آویشن برای نگهداری پنیر پیشنهاد شده است (Arashisara *et al*., 2004; Hernández *et al*., 2009). از جمله ترکیبات پلی‌فنولیک موجود در عصاره رازیانه (*Foeniculum vulgare*) تیمول و کارواکرول می‌باشد (Burt, 2004; Bagamboula *et al*., 2004). اسانس و عصاره‌های گیاهی و ترکیبات پلی‌فنولیک مؤثر آن‌ها در برابر انواع گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت فعال شناخته شدند. معمولاً باکتری‌های گرم منفی به‌دلیل داشتن دیواره لیپوپلی ساکاریدی در غشای خارجی خود نسبت به باکتری‌های گرم مثبت در برابر پلی‌فنول‌های اسانس و عصاره‌ها مقاومت بیشتری نشان می‌دهند. از جمله باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد، استافیلوکوک‌ها نمونه بارزی از کوکسی‌های عفونت‌زا و چرک‌زا می‌باشند. کلنی این باکتری سیاه رنگ با هاله رسوبی کدر است. این باکتری، آنزیم کواگولاز تولید می‌کند و این آنزیم باعث لخته‌شدن خون می‌شود (Pakzad *et al*., 2012). به‌منظور بررسی رفتار این باکتری در برابر پلی‌فنول‌های عصاره گیاهی رازیانه میزان $۱۰^{۶}$ logCFU/G به نمونه‌های فیله ماهی مورد مطالعه تلقیح شد. یک استراتژی جالب برای کاهش دوز مصرفی عصاره همراه با حفظ اثر بخشی آن‌ها می‌تواند انکپسوله کردن عصاره مورد نظر باشد، انکپسولاسیون به‌عنوان یک تکنولوژی برای قرار دادن مواد جامد، مایع، گاز در کپسول‌های کوچک مطرح است. کپسول‌هایی که می‌توانند محتویات خود را تحت شرایط خاص و رهایش کنترل‌شده[1] آزاد کنند. این تکنولوژی با حفاظت مواد در

1. Controlled release

برابر اکسیداسیون و آنتی‌باکتریال در طول مدت تولید و نگهداری از ایجاد عطر و طعم نامطلوب جلوگیری کرده و مانع از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای و متابولیکی آن‌ها می‌شود (Shahidi & Han, 1993). مطالعات انجام شده روی برخی از انواع ماهیان همراه با اثر بخشی پلی فنول‌های سایر عصاره ها علاوه بر جلوگیری از اکسایش لیپید و فساد میکروبی از تغییرات رنگ گوشت ماهی در طول دوره نگهداری نیز جلوگیری و باعث افزایش کیفیت گوشت ماهی از نظر فاکتورهای حسی می‌شود. از جمله این مطالعات می توان به تحقیق Etemadi *et al.* (2008) در بررسی پتانسیل آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اشاره نمود که نتایج حاصله نشان داد، اکسیداسیون لیپیدها و بار باکتریایی در فیله‌های ماهی در معرض عصاره رزماری به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار فاقد عصاره رزماری کاهش نشان داد. همچنین Sotuneh *et al.* (2016) تأثیر عصاره آزاد و ریزپوشانی‌شده پونه کوهی (*Origanum vulgare*) را بر تغییرات شیمیایی، میکروبی و رفتار باکتری سودوموناس فلورسانس در گوشت چرخ شده ماهی کیلکا معمولی بررسی کردند. نتایج نشان داد که عصاره پونه کوهی مخصوصاً فرم ریزپوشانی‌شده آن، به‌ویژه در غلظـت ۰/۵ درصد مؤثرتر از فرم معمولی آن بوده است و منجر به کندتر شدن تغییرات عدد پراکسید، باکتری‌های مزوفیل و سرماگرا سودوموناس فلورسانس در گوشت چرخ‌شده ماهی کیلکا معمولی گردید (Sotuneh *et al.*, 2016). ازآنجاکه تاکنون مطالعه‌ای در زمینه تأثیر عصاره رازیانه خصوصاً در فرم انکپسوله (فرم مؤثر) بر ماندگاری گوشت ماهی انجام نگرفته است، هدف از این تحقیق ارزیابی اثر پلی‌فنول‌های عصاره آزاد و فرم انکپسوله رازیانه بر افزایش ماندگاری میکروبی و اکسیداتیو گوشت ماهی تازه قزل‌آلای رنگین کمان در شرایط یخچالی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در تابستان ۱۳۹۳، تعدادی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط ۷۰۰ گرم، به صورت زنده از یک استخر پرورش ماهیان سرد آبی در ساری خریداری شده، پس از صید، سر و دم زنی، تخلیه امعا و احشا و شست‌وشو با آب تمیز، در یخچال یونولیتی حاوی یخ، در مدت ۳۰ دقیقه، به آزمایشگاه میکروبیولوژی پژوهشکده اکولوژی خزر ساری انتقال داده شدند.

عصاره گیری

به‌منظور تأثیرگذاری بهتر پلی‌فنول‌های موجود در گیاه رازیانه عصاره‌گیری به روش خیساندن[1] و با استفاده از حلال اتانول صورت گرفت. مقدار ۳۰۰ گرم از دانه رازیانه پس از آسیاب‌کردن، درون ظروف عصاره‌گیری ریخته شده و به میزان چهار برابر وزن رازیانه، اتانول (هشتاد درصد) اضافه و به‌مدت دو روز روی شیکر در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. سپس محلول به‌دست‌آمده توسط کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف و درون روتاری (Heidolpn، آلمان) ۵۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد برای تبخیرحلال قرار داده شد (Smith-Palmer, 1998).

انکپسوله کردن عصاره رازیانه

ماده‌ای که برای انکپسوله کردن رازیانه مورد استفاده قرار گرفت صمغ عربی بود، صمغ عربی به‌واسطه ویژگی‌های بی‌نظیر خود نقش مهمی در انکپسولاسیون مواد غذایی و افزودنی‌ها دارد (Gómez-Estaca, 2010). از این صمغ در صنایع غذایی به‌عنوان پایدارکننده استفاده می‌شود. تهیه صمغ عربی به شکل تجاری و ابتدا به‌مدت ۳۰ دقیقه با اسید لینولئیک به مقدار ۰/۱۳۰ درصد (بعنوان سورفاکتانت) در دمای ۴۰ درجه شیک شد (pH=۴/۵). پس از اتمام زمان انکوباسیون، رازیانه

1. Macetation

به مخلوط صمغ عربی سورفاکتانت اضافه و به‌مدت ۲ ساعت در دمای محیط شیک شد. مخلوط مذکور در دستگاه اسپری درایر (UK Ltd YO14 OPH, Lab-plant، انگلستان) با سرعت ۵/۲۶ml/min و با در نظر گرفتن ۱۰۰٪ هوادهی، دمای ورودی ۱۰۵ درجه و دمای خروجی ۶۸ درجه خشک شد. قابل به ذکر است نسبت صمغ به رازیانه ۴ به ۱ بود (Jafari *et al*., 2008).

تلقیح باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

باکتری استافیلوکوکوس اورئوس PTCC 1112 از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. در ابتدا این کشت لیوفلیزه در محیط آبگوشت BHI در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۸ ساعت دو مرتبه به‌طور متوالی تجدید کشت داده شد. سپس کشت دوم به نسبت پنج به یک با گلیسیرین استریل مخلوط شد و در قسمت‌های مساوی در لوله‌های میکروسانتریفیوژ اپندرف استریل در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس لوله‌های کووت حاوی ۵ میلی‌لیتر آبگوشت BHI استریل تهیه گردید. مقادیر مختلفی از کشت آبگوشت ۱۸BHI ساعته دوم بر روی لوله‌های کووت مذکور برده شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Eppendrof Biophotometer، آمریکا) در طول موج ۶۰۰ نانومتر، جذب نوری لوله‌های مذکور خوانده شد. به این ترتیب در هر بار انجام آزمایش (تعیین لگاریتم درصد احتمال رشد)، با مشخص‌شدن جذب نوری که معادل تقریباً 10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر بود، لوله کووت حاوی تقریباً 10^8 باکتری در میلی‌لیتر مشخص گردید، که این عدد معادل نیم مک فارلند می‌باشد. سپس از این سوسپانسیون ۱ سی‌سی برداشته تا در هر سانتی‌متر از فیله ماهی 1×10^6 باکتری موجود باشد (AOAC, 2005).

آغشته ساختن نمونه‌ها به عصاره رازیانه

در آزمایشگاه، به میزان ۱ سی‌سی از عصاره با غلظت (۰/۱، ۰/۳) درصد از فرم آزاد و انکپسوله بر روی سطح فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان توسط میکرو پیپت پخش شد و در ادامه، فیله‌های آغشته به عصاره رازیانه داخل یخچال در دمای ۱±۴ °C قرار گرفتند. سپس تیمارها که شامل یک تیمار شاهد فاقد عصاره رازیانه بود، به‌مدت ۱۵ روز در فواصل زمانی ۳ روز یکبار (روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵) مورد آزمایش شیمیایی و میکروبی قرار گرفتند.

اندازه‌گیری پراکسید

پانزده گرم از گوشت بدون استخوان ماهی خوب میکس‌شده، در دکانتور قرار داده شد، سپس ۶۰ سی‌سی کلرو فرم (شارلو) و بعد ۶۰ سی‌سی متانول (مرک)[1] به آن افزوده شد. پس از ۱۲-۲۴ ساعت، ۳۶ سی‌سی آب مقطر به نمونه افزوده شد و به‌مدت ۱-۲ ساعت استراحت داده شد تا ۳ فاز تشکیل شود. با دقت، ۲۰ سی‌سی از فاز پایین، درون ارلن انتقال یافته، ۱۵ سی‌سی اسید استیک (اپلیکم) کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) به آن افزوده شد. سپس ۰/۵ سی‌سی محلول یدور پتاسیم (مرک) اشباع، ۳۰ سی‌سی آب مقطر به محتویات ارلن اضافه شده، به‌مدت ۱ دقیقه استراحت داده شد و بعد مقدار ۰/۵ سی‌سی معرف نشاسته ۱٪ به آن اضافه شد و درب ارلن را گذاشته، محلول به شدت تکان داده شد. ید آزاد شده، باعث تغییر رنگ محلول شد که با محلول تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال (مرک)، تیتر شد (Sallam, 2007; Shahidi, 1993). سپس با استفاده از رابطه زیر، میزان پراکسید محاسبه گردید (AOAC, 2005).

عدد پراکساید =

وزن نمونه روغن/۱۰۰ × نرمالیته × حجم مصرفی تیوسولفات

آنالیز میکروبی نمونه‌ها

برای شمارش باکتریایی نمونه‌ها، ابتدا ۱۰ گرم از نمونه گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در شرایط استریل با ۹۰ میلی‌لیتر محلول نمک طعام ۰/۸۵٪ با

1. Merck

کمک همزن هموژن شد. از این محلول جهت تهیه رقت‌های متوالی و شمارش باکتریایی مورد نظر با قرار دادن در محیط کشت و دمای مخصوص هر باکتری استفاده گردید. تعداد باکتری‌های کل و باکتری‌های سرمادوست در محیط پلیت کانت آگار به‌ترتیب در دماهای ۳۷ $^{\circ}C$ به‌مدت ۲ روز و ۱۰ $^{\circ}C$ به‌مدت ۷ روز با شمارش کلنی‌های موجود بر روی پلیت انجام گرفت. شمارش باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس در دمای ۳۰ $^{\circ}C$ به‌مدت ۲ تا ۳ روز و به روش کشت سطحی انجام پذیرفت. تمامی شمارش‌ها به‌صورت $\log_{10}$ CFU/G گزارش گردید (AOAC, 2005).

عکس ضریب رقت × تعداد کلنی =CFU

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SSPS (16) ابتدا بررسی نرمال‌بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولمو- اسمیرنوف و سپس همگنی واریانس با استفاده از آزمون لون (Leven) انجام شد. نتایج این آزمونها برای آنالیز آماری داده‌های مربوط به تیمارهای آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین اختلاف بین تیمارها از روش آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA) استفاده شد. در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار بود، برای مقایسه میانگین‌ها آزمون دانکن به‌کار رفت. خطای مجاز برای رد H_0، در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل ۵٪ در نظر گرفته شد.

نتایج

جدول ۱ میزان عدد پراکسید را طی نگهداری نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که در طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در روز صفر و ۳ در شاخص پراکسید بین فیله‌های تیمار شده با عصاره رازیانه در فرم آزاد و انکپسوله آن در غلظت‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$). همان‌طوری‌که از نتایج میانگین عدد پراکسید برمی‌آید حداقل میزان پراکسید در بین تیمارهای مختلف مربوط به ابتدای آزمایش و حداکثر مقدار آن در روز ۹ نگهداری ۱۰/۳۸ log cfu/gدر تیمار شاهد می‌باشد.

تغییرات میزان بار باکتریایی کل (TPC) در جدول ۲ نشان داده شده است. میانگین اولیه TPC برای فیله‌ها در روز صفر نگهداری ۴/۵۹ log cfu/g بود. در مطالعه حاضر با گذشت زمان نگهداری میزان TPC برای همه تیمارها افزایش یافت. به‌طوری‌که کمترین میزان بار باکتری کل در روز صفر نگهداری و بیشترین این میزان برای همه نمونه‌ها در روز ۱۵ (پایان دوره نگهداری) مشاهده شد.

جدول ۱. تفاوت بین مقادیر میانگین ± انحراف معیار عدد پراکسید تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در زمان‌های مختلف برای هر تیمار

تیمار	زمان (روز)					
	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد	۱/۳۸ ±۰/۰۸^{fA}	۳/۴۲ ±۰/۱^{eB}	۶/۸۳ ±۰/۳۵^{dC}	۱۰/۳۸ ±۰/۲۲^{aC}	۹/۶۸ ±۰/۱۷^{bC}	۸/۵۹ ±۰/۱۹^{cB}
۰/۱٪ معمولی	۱/۳۵ ±۰/۰۹^{fA}	۲/۳۵ ±۰/۱^{eA}	۵/۶۲ ±۰/۲۵^{dA}	۹/۲۶ ±۰/۲۲^{aAB}	۸/۷۵ ±۰/۱۷^{bB}	۷/۴۶ ±۰/۱۹^{cA}
۰/۳٪ معمولی	۱/۲۵±۰/۰۳^{fA}	۲/۳۴±۰/۰۲^{eA}	۶/۲۰ ±۰/۱۹ ^{dB}	۹/۳۰±۰/۰۳^{aB}	۸/۵۰±۰/۲۷^{bAB}	۷/۳۷ ±۰/۰۷ ^{cA}
۰/۱٪ انکپسوله	۱/۳۲±۰/۰۹^{fA}	۲/۴۰ ±۰/۱۵^{eA}	۶/۱۱ ±۰/۵۵^{dB}	۹/۴۸±۰/۱۴^{aB}	۸/۵۲ ±۰/۱۵^{bAB}	۷/۴۴ ±۰/۱۵^{cA}
۰/۳٪ انکپسوله	۱/۸۲±۰/۰۵^{fA}	۲/۳۸ ±۰/۱۱^{eA}	۵/۴۰ ±۰/۱۴^{dA}	۹/۰۵±۰/۲۲^{aA}	۸/۳۸ ±۰/۰۶^{bA}	۷/۳۵ ±۰/۰۹^{cA}

میانگین هر تیمار و تکرار آن ± انحراف معیار از هر تیمار و تکرار آن حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) در روزهای مختلف نمونه‌برداری برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) در یک روز برای تیمارهای مختلف می‌باشد.

میزان TPC در روز ۶ نگهداری برای همه تیمارها در محدوده قابل قبول به ماهی قزل‌آلا ۷ log cfu/g تعلق داشت (Sallam, 2007). اگرچه در این روز، تیمار شاهد با ۷/۱۶ log cfu/g به مرز غیر قابل قبول نزدیک‌تر بود. در روز ۹ نگهداری میزان TPC دو تیمار به فرم انکپسوله هنوز به حد غیرقابل قبول نرسیده است، این درحالی‌که سایر تیمارها از این حد گذشته‌اند. به‌طورکلی، در روز ۱۵ نگهداری (پایان دوره نگهداری) همه تیمارها از دامنه قابل قبول گذشتند. در تحقیق حاضر تیمار دارای عصاره ۰/۳٪ انکپسوله در تمام روزهای نگهداری کمترین بار باکتریاییTPC را به خود اختصاص داده و دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد دارای بیشترین بار باکتریایی بود ($P<0/05$). روند افزایشی در تیمارهای انکپسوله کندتر بوده، به‌طوری‌که تفاوت بین تیمارهای انکپسوله رازیانه به‌ویژه در غلظت ۰/۳٪ با تیمارهای فرم آزاد رازیانه در طی نمونه‌گیری معنی‌دار بوده است ($P<0/05$).

تغییرات تعداد باکتری‌های سرمادوست فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در دمای یخچال در جدول ۳ نشان داده شده است. تعداد اولیه باکتری‌های سرمادوست (روز صفر) برای فیله‌ها ۴/۲۳ log cfu/g بود. تعداد باکتری‌های سرمادوست نیز همانند باکتری‌های کل با گذشت زمان نگهداری روند افزایشی نشان داد. به‌طوری‌که این تعداد در پایان دوره نگهداری (روز ۱۵) به‌ترتیب برای تیمارهای شاهد و ۰/۱ ٪ معمولی به ۱۰/۲۵ log cfu/g و ۹/۷۵ رسید. این شاخص در روز ۱۵ نگهداری برای تیمارهای ۰/۳٪ معمولی، ۰/۱٪ انکپسوله، ۰/۳٪ انکپسوله حدود ۸/۷۱ log cfu/g–۷/۴۰–۷/۴۴ شمارش شد. در روز ۶ نگهداری میزان بار باکتریایی برای تیمار شاهد به ۷ log cfu/g رسید، درحالی‌که سایر تیمارها در روز ششم هنوز به این مقدار نرسیده بودند، همچنین تیمار ۰/۱٪ انکپسوله و ۰/۳٪ انکپسوله به ترتیب با میزان بار باکتریایی ۷/۲۰ و ۷/۰۸ در روز ۱۲ به لگاریتم ۷ نزدیک شدند.

جدول ۴ بیانگر تعداد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس (log CFU/G) در زمان‌های مختلف نگهداری برای هر تیمار می‌باشد. در روز صفر آزمایش اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای مختلف مشاهده نشد ($p>0/05$) با گذشت زمان در همه تیمارها تعداد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس افزایش یافت، البته این افزایش در نمونه‌های حاوی ۰/۳٪ انکپسوله نسبت به سایر تیمارها روند کندتری داشت ($p<0/05$) اما در روز ۱۵ تفاوت معنی‌داری میان تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($p>0/05$). با وجود این که نمونه‌های تیمارشده با عصاره ۰/۳٪ انکپسوله رازیانه دارای استافیلوکوکوس اورئوس کمتری نسبت به گروه‌های دیگر و کنترل بودند، تیمار ۰/۳٪ انکپسوله از روز ۶ به بعد از حد مجاز بار باکتریایی logCFU/G ۷ تجاوز کرد و در روز ۹ به میزان (۷/۲۶) رسید. روند رشد باکتریایی از روز ۹ تا ۱۵ نسبت به روزهای ابتدایی آزمایش کند تر بود.

جدول ۲. تفاوت بین مقادیر میانگین ± انحراف معیار شمارش باکتری‌های کل (log cfu/g) TPC در زمان‌های مختلف نگهداری برای هر تیمار

تیمار	زمان (روز)					
	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد	۴/۶۴ ±۰/۰۸^{fA}	۵/۶۸ ±۰/۰۱^{eA}	۷/۱۶ ±۰/۱۳^{dB}	۸/۳۵ ±۰/۰۱^{cD}	۹/۹۲ ±۰/۰۱^{bE}	۱۰/۴۵ ±۰/۰۳۵^{aE}
۰/۱٪ معمولی	۴/۶۲ ±۰/۰۹^{fA}	۵/۳۷ ±۰/۰۴^{eA}	۶/۴۲ ±۰/۱۰^{dB}	۷/۴۲ ±۰/۰۸^{cD}	۸/۷۳ ±۰/۰۸^{bD}	۹/۴۶ ±۰/۰۱^{dD}
۰/۳٪ معمولی	۴/۵۲±۰/۰۸^{fA}	۴/۸۲±۰/۰۷^{eA}	۶/۲۰ ±۰/۰۸^{dB}	۷/۱۱±۰/۰۳^{cC}	۷/۷۰±۰/۰۶^{bC}	۸/۴۰ ±۰/۱^{aC}
۰/۱٪ انکپسوله	۴/۶۶±۰/۰۷^{fA}	۴/۸۷ ±۰/۰۸^{eA}	۵/۶۵ ±۰/۰۴^{dB}	۶/۵۵±۰/۰۶^{cBC}	۷/۴۴ ±۰/۰۵^{bB}	۷/۹۱ ±۰/۱۱^{aB}
۰/۳٪ انکپسوله	۴/۵۴±۰/۰۵^{fA}	۴/۵۹ ±۰/۱۴^{eA}	۵/۴۰ ±۰/۰۲^{dA}	۶/۲۰±۰/۰۲^{cA}	۷/۱۴ ±۰/۰۴^{bA}	۷/۴۷ ±۰/۰۵^{aA}

میانگین هر تیمار و تکرار آن ± انحراف معیار از هر تیمار و تکرار آن حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) در روزهای مختلف نمونه‌برداری برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) در یک روز برای تیمار های مختلف می‌باشد.

جدول ۳. تفاوت بین مقادیر میانگین ±انحراف معیار شمارش باکتری‌های سرمادوست (PTC (log cfu/g در زمان‌های مختلف نگهداری برای هر تیمار

تیمار	زمان (روز)					
	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد	۴/۴۴ ±۰/۰۶^{eA}	۶/۲۶ ±۰/۰۳^{fB}	۷/۳۶ ±۰/۰۱^{dC}	۸/۵۲ ±۰/۰۱^{cD}	۹/۵۸ ±۰/۳۲^{bD}	۱۰/۲۵ ±۰/۰۳۵^{dD}
۰/۱٪معمولی	۴/۳۶ ±۰/۰۶^{fA}	۵/۴۱ ±۰/۰۳^{eB}	۶/۴۷ ±۰/۰۴^{dC}	۷/۶۱ ±۰/۰۸^{cD}	۸/۷۸ ±۰/۰۸^{bC}	۹/۷۵ ±۰/۰۸^{dC}
۰/۳٪معمولی	۴/۱۲±۰/۰۹^{fA}	۴/۵۰±۰/۰۶^{eA}	۵/۷۹ ±۰/۰۵ ^{dB}	۶/۹۲±۰/۳۵^{cC}	۷/۴۹±۰/۰۶^{bB}	۸/۷۱ ±۰/۰۶ ^{aB}
۰/۱٪انکپسوله	۴/۱۶±۰/۱۳^{eA}	۴/۳۵ ±۰/۰۸^{dA}	۵/۱۷ ±۰/۰۴^{cA}	۶/۱۴±۰/۰۵^{cB}	۷/۲۰ ±۰/۱۲^{aA}	۷/۴۰ ±۰/۰۳^{aA}
۰/۳٪انکپسوله	۴/۰۷±۰/۰۳^{eA}	۴/۴۱ ±۰/۰۲^{dA}	۵/۰۸ ±۰/۰۴^{cA}	۶/۰۱±۰/۰۵^{cA}	۷/۰۸ ±۰/۰۸^{aA}	۷/۴۴ ±۰/۰۵^{aA}

میانگین هر تیمار و تکرار آن ± انحراف معیار از هر تیمار و تکرار آن حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) در روزهای مختلف نمونه‌برداری برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) در یک روز برای تیمارهای مختلف می‌باشد.

جدول ۴. تفاوت بین مقادیر میانگین ± انحراف معیار شمارش باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس (log cfu/g) در زمان های مختلف نگهداری برای هر تیمار

تیمار	زمان (روز)					
	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد	۴/۴۱ ±۰/۰۳^{aF}	۵/۳۲ ±۰/۱۱^{bE}	۷/۲۶ ±۰/۰۸^{dD}	۸/۱۸ ±۰/۰۵^{cC}	۹/۵۶ ±۰/۰۸^{cB}	۱۰/۰۶ ±۰/۱۲^{bA}
۰/۱٪ معمولی	۴/۲۶ ±۰/۰۳^{aE}	۵/۷۶ ±۰/۰۱^{cD}	۶/۵۱ ±۰/۰۹^{cC}	۷/۴۵ ±۰/۰۴^{bB}	۷/۶۲ ±۰/۰۸^{bB}	۷/۹۰ ±۰/۰۲^{aA}
۰/۳٪ معمولی	۴/۳۱±۰/۰۴^{aE}	۵/۱۱±۰/۱۶^{aD}	۶/۳۳ ±۰/۰۹ ^{bC}	۷/۴۸±۰/۰۵^{bB}	۷/۶۶±۰/۰۸^{bA}	۷/۷۸ ±۰/۰۹ ^{aA}
۰/۱٪ انکپسوله	۴/۳۹ ±۰/۰۴^{aE}	۵/۰۹ ±۰/۰۴^{aD}	۶/۴۴ ±۰/۰۸^{bcC}	۷/۴۷±۰/۰۵^{bB}	۷/۶۵ ±۰/۰۵^{bA}	۷/۶۹ ±۰/۰۵^{aA}
۰/۳٪ انکپسوله	۴/۳۱ ±۰/۰۲^{aE}	۵/۰۷ ±۰/۰۹^{aD}	۶/۱۲ ±۰/۰۷^{aC}	۷/۲۶±۰/۰۸^{aB}	۷/۳۸ ±۰/۰۳^{aB}	۷/۶۴ ±۰/۰۲^{aA}

میانگین هر تیمار و تکرار آن ± انحراف معیار از هر تیمار و تکرار آن حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) در روزهای مختلف نمونه‌برداری برای یک تیمار مشخص و حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) در یک روز برای تیمارهای مختلف می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

اکسیداسیون لیپیدهای حساس در بدن ماهی در مرحله اول منجر به تشکیل پراکسیدها می‌شود، پراکسیدها ترکیباتی بدون بو و طعم هستند که در مرحله اول تغییرات شیمیایی قابل اندازه‌گیری هستند. جهت تعیین هیدروپراکسایدها به‌عنوان محصول اولیه اکسیداسیون چربی در ماهیان از شاخص پراکساید (PV) استفاده می‌شود (Razavi shirazi, 2006) همانطور که در نتایج جدول ۱ آمده بعد از روز ۹ که بیشترین میزان پر اکسید مشاهده شد در طی روزهای ۱۲ تا ۱۵ شاهد کاهش بطئی عدد پراکسید هستیم که علت این امر ممکن است به دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تجزیه پراکسیدها به ترکیبات ثانویه و تولید کربونیل‌ها و ترکیبات فرّار باشد (Etemadi *et al*., 2008). میزان قابل‌قبول پراکساید، (۲۰-۱۰ میلی‌اکی والان پراکسید بر کیلوگرم چربی) پیشنهاد گردیده است (Etemadi *et al*., 2008)، که تا روز ۶ در همه تیمارها از مقدار استاندارد تجاوز نکرده و بعد از روز ۶ به عدد مذکور نزدیک شده، اما قابل ذکر است که از روز ۹ به بعد میانگین عدد پراکسید در تمامی تیمارها به استثنای تیمار شاهد در روز ۹ با میزان پراکسید (۱۰/۳۸) هرگز به مقدار ۱۰ میلی‌اکی والان پراکسید بر کیلوگرم چربی نرسیده است، این مطلب بدان معنی است که استفاده از عصاره رازیانه بویژه در فرم انکپسوله و خصوصاً غلظت بالا از این عصاره به‌عنوان یک ماده نگهدارنده در حفظ کیفیت ماهی و کنترل جمعیت باکتری‌های لیپولتیک مؤثر بوده است. در مطالعات Spencer (2008) ثابت شد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی فلاوونوئیدها به مهار رادیکال‌های هیدروکسیل، سوپراکسید و رادیکال‌های پروکسیل

لیپیدها مربوط می‌باشند. نتایج مشابهی نیز در سایر تحقیقات در هنگام استفاده از اشکال مختلف نگهدارنده‌های طبیعی از قبیل گیاهان مشاهده شده است. به‌عنوان مثال، Tahami *et al.* (2013)، اثر آنتی‌اکسیدانی گیاه رازیانه را بر پایداری روغن آفتابگردان و جلوگیری از اکسیداسیون ماهی کیلکای معمولی به هنگام نگهداری در یخ مورد بررسی قرار دادند، خاصیت آنتی اکسیدانی این گیاهان به دلیل وجود ترکیبات فنولیک آن کاملاً مشهود است و به‌طور معنی‌داری شاخص پراکسید خصوصاً در غلظت بالایی از این عصاره‌ها کمتر از نمونه شاهد قرار داشت (P<۰/۰۵). نتایج گزارش‌های محققین فوق با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد و تأییدکننده اثرات آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنول‌های گیاه رازیانه به‌ویژه در غلظت ۰/۳٪ و فرم مؤثر آن (انکپسوله) می‌باشد. محقق دیگر، Yeganeh *et al.* (2014) تأثیرات پوشش‌های خوراکی سیترات سدیم را بر فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در ۴ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار دادند و نتیجه حاصل از این تحقیقات به این صورت بیان شد که میزان شاخص پراکسید در طول ۲۰ روز آزمایش از میزان ۱۰ میلی‌اکی‌والان (حد استاندارد) تجاوز نکرده بود درحالی‌که در تیمار شاهد از روز چهارم به بعد به بیش از ۱۰ میلی‌اکی‌والان پراکسید رسیده بود که علت این امر را می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدان کسیترات سدیم نسبت داد. Borumand (2008) نیز روی کازئینات سدیم به نتایج مشابهی دست یافت. در نهایت قابل توجه است که، استفاده از روش انکپسوله کردن به دلیل اثرگذاری هرچه بیشتر ترکیبات مؤثره همانند روش پوشش‌دهی که بارزترین مشخصه آن‌ها ممانعت‌کنندگی در برابر عوامل خارجی می‌باشد، باعث تأخیر در فساد اکسیداتیو و افزایش ماندگاری مواد غذایی می‌شود.

تغییرات میزان بار باکتریایی کل (TPC) در جدول ۲ نشان داده شده است. میانگین اولیه TPC برای فیله‌ها در روز صفر نگهداری ۴/۵۹ logCFU/G بود که با توجه به بار باکتریایی اولیه پایین (log CFU/G ۵-۴) قبل از تیماربندی ماهیان مناسب بوده است، با توجه به نتایج تحقیقات مختلف، افزایش بار باکتریایی کل در حین نگهداری ثابت شده است. در مطالعه حاضر نیز با گذشت زمان نگهداری میزان TPC برای همه تیمارها افزایش یافت .بر طبق نتایج این تحقیق، سطح پایین‌تر بار میکروبی در تیمار ماهی دارای عصاره نشان می‌دهد که قدرت ضد میکروبی پلی‌فنولی عصاره رازیانه خصوصاً در فرم مؤثر آن تا حدی توانسته به‌عنوان مانعی در برابر آلودگی میکروبی عمل کند. در تحقیق حاضر روند افزایشی در تیمارهای انکپسوله کندتر بوده، به‌طوری‌که تفاوت بین تیمارهای انکپسوله رازیانه به‌ویژه در غلظت ۰/۳٪ با تیمارهای فرم آزاد رازیانه در طی نمونه‌گیری معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵)، دلیل این امر آزادسازی تدریجی پلی‌فنول‌های فرم انکپسوله رازیانه بوده که احتمالاً تأثیر باکتریواستاتیک بر فلور باکتری‌های کلی داشته، ولی با این وجود اثر مذکور تداوم داشته و باکتری فرصت رشد مجدد پیدا نمی‌کند ولی در فرم آزاد رازیانه به‌دلیل آن‌که تأثیر باکتریواستاتیک عصاره موقتی بوده و عصاره در طولانی مدت قادر به حفظ این اثر نمی‌باشد، فلور کلی باکتری‌ها مجدداً رشد کرده و منجر به تسریع در فرایند فساد می‌گردد. لازم به ذکر است که قدرت ضد میکروبی عصاره‌ها به محل و تعداد گروه‌های هیدروکسیل روی حلقه فنلی بستگی دارد (Shan *et al.*, 2007). در این راستا Geissman (1962) مشاهده کرد، فنول‌های اکسیدشده اثر شدیدتری اعمال می‌کنند. مکانیسم احتمالی این ترکیبات مانند فلاونوئیدها و فلاونول‌ها مهار آنزیمی از طریق واکنش با گروه‌های سولفیدریل یا واکنش‌های غیر اختصاصی با پروتئین‌های میکروبی مانند پروتئین‌های خارج سلولی و تشکیل کمپلکس با دیواره سلولی و یا ایجاد اختلال در غشای سلول میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (Tsuchi ya, 1996). در این راستا محققانی نظیر،

Bahram *et al.* و Rezaeei *et al.* (2012) (2013) تحقیقاتی بر روی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پوشش‌دار شده با اسید آسکوربیک همراه با پوشش آب پنیر طی۱۶ روز نگهداری و فیل ماهی پوشش‌دارشده با پروتئین آب پنیر همراه با اسانس دارچین طی ۲۰ روز نگهداری، انجام دادند. نتایج حاصل نشان داد میزان بار باکتریایی کل در نمونه‌های حاوی پوشش تا روز ۸ نگهداری به حد غیر قابل قبول یعنیlogCFU/G ۷ نزدیک نشده بودند. Bahram *et al.* (2013) در نتایج خود علت اثرات ضدمیکروبی دارچین را ترکیبات پلی‌فنولیک آن شامل سینامالدهید و اجنول دانستند که، دارای خواص آنتی باکتریال می‌باشند و احتمالاً از طریق اتصال گروه کربونیل با پروتئین‌ها عمل می‌کنند و جلوی فعالیت آمینو اسید دکربوکسیلاز را می‌گیرند. انکپسوله‌کردن عصاره در تحقیق حاضر جهت محافظت عصاره در ترکیب با محتویات غذایی و همچنین جهت رهاسازی طولانی‌مدت‌تر عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مؤثر موجود در عصاره در طول زمان ماندگاری و حفظ هر چه بیشتر ارزش غذایی فیله ماهی انجام شد.

باکتری‌های سرمادوست گرم منفی گروه اصلی میکروارگانیسم‌های عامل فساد ماهی نگهداری‌شده در دمای سرد هستند (Sallam, 2007; Gram & Huss, 1996). باکتری‌های عامل فساد، باکتری‌هایی هستند که صفت مشخصه آنها قابلیت ایجاد بو و طعم نامطبوع در عضله ماهی می‌باشد که به‌طور طبیعی نیز تعداد این باکتری‌ها محدود بوده و درصد کمی از فلور طبیعی ماهی را شامل می‌شوند، پس از مرگ ماهی سرعت رشد باکتری‌ها به تعداد باکتری‌های موجود در ماهی و درجه حرارت محیط نگهداری بستگی دارد (Gram, 1996). همان‌طورکه در نتایج جدول ۳ مشاهده می‌شود تیمار شاهد در روز ۶ نگهداری به حداکثر میزان مجاز باکتری سرما دوست (۷ logcfu/g) رسید و تیمارهای انکپسوله در روز ۱۲ به لگاریتم ۷ نزدیک شدند، که می‌تواند تأییدی بر وجود خاصیت ضد میکروبی عصاره رازیانه باشد که البته فرم انکپسوله این عصاره منجر به آزادسازی تدریجی و کنترل‌شده عصاره و اثرات بهتر آن در کنترل بار میکروبی در طول زمان نگهداری شده است. در این راستا برخی از محققین نظیر Jian-guo *et al.* (2014) ترکیب شیمیایی و مکانیسم عملکرد اسانس گیاه رازیانه را مورد بررسی قرار دادند، حداقل و حداکثر غلظت مهار کنندگی عصاره رازیانه بر روی دو گروه از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بررسی شد و به این نتیجه دست یافتند که عصاره گیاه رازیانه می‌تواند اثرات آنتی میکروبیال مطلوبی بر این باکتری‌ها گذارد.

استافیلوکوکوس اورئوس یک باکتری گرم مثبت و بیماری‌زا است و از آنجا که احتیاجات غذایی ساده‌ای دارد انتشار آن بسیار وسیع است و جزو میکروارگانیسم‌های عامل فساد در ماهی و محصولات دریایی تازه نگهداری شده در یخچال به‌صورت هوازی می‌باشد. نتایج این تحقیق این‌گونه نشان می‌دهد که تیمار ۰/۳٪ انکپسوله نسبت به سایر تیمارها تا روز ۱۵ دارای بار باکتریایی کمتری بود که این امر می‌تواند مؤید این مطلب باشد که انکپسوله کردن روش مؤثری به‌منظور افزایش اثر ماده مؤثره خصوصاً اثر پلی‌فنول‌های مذکور در رازیانه می‌باشد. نتایج برخی از محققین، اثرات ضد باکتریایی ترکیبات پلی فنولیک عصاره رزماری بر باکتری‌های گرم مثبت و به خصوص استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس را نشان می‌دهد (Eydim & Sarikus, 2006). این محققین عدم وجود دیواره پلی‌ساکاریدی در باکتری‌های گرم مثبت را عامل این حساسیت به عصاره‌های گیاهی گزارش کردند. وجود این دیواره در باکتری‌های گرم منفی از ورود ترکیبات فعال عصاره‌ها به داخل سلول جلوگیری می‌کند. Rozman & Ersek (2009) حضور اسیدهای فنولیک مانند اسید رزمارینیک و کلروژنیک را در عصاره رزماری از عوامل مؤثر بر باکتری‌های گرم مثبت می‌دانند. نتایج حاصل از این تحقیق با سایر یافته‌های محققین که بیانگر

کاسته شدن تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در گوشت حاوی سایر عصاره‌ها بود، مطابقت دارد (Parsaeei, 2009). در این راستا، Roumiani *et al*. (2013)، به بررسی اثرات ضدباکتریایی غلظت‌های مختلف پلی‌فنول‌های اسانس زیره سبز و نایسین در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌منظور مهار باکتری استرپتوکوکوس اینیایی در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد پرداختند، نتایجی از این تحقیق نشان داد که استفاده توأم از اسانس زیره سبز و نایسین تأثیر معنی‌داری (P<۰/۰۵) در کنترل و کاهش باکتری فوق در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان دارد. در تحقیق دیگری که توسط Jebeli javan *et al*. (2015) صورت گرفت در این تحقیق باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس را مورد شمارش قرار دادند و اثر ضد باکتریایی و پلی فنولیک عصاره‌های ۱٪، ۳٪، ۵٪ رزماری روی گوشت مرغ نگهداری شده طی ۵ روز در دمای یخچال مورد بررسی قرار گرفت و به این نتیجه دست یافتند که گوشت مرغ تیمارشده با عصاره ۳٪ و ۵٪ رزماری (غلظت بالا) در انتهای روز ۵ به حد غیر قابل قبول خود یعنی logCFU/G ۳ رسیدند و این در حالی است که تیمار شاهد و ۱٪ عصاره رزماری در روز ۴ از حد استاندارد مذکور توسط سازمان دامپزشکی کشور (۱۳۸۷) گذشتند.

در پژوهشی که انجام شد معلوم گردید که اثر افزایش عصاره آزاد رازیانه در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان حاوی جمعیت میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس، در مقایسه با افزودن این ترکیب آنتی‌باکتریال و آنتی‌اکسیدان به صورت انکپسوله در صمغ عربی طی مدت زمان نگهداری ۱۵ روزه، تأثیر معنی‌داری بر روند کاهش جمعیت استافیلوکوکوس اورئوس، شمارش کلی باکتری‌ها و باکتری‌های سرمادوست در ۴ درجه سانتی‌گراد و همچنین شاخص پراکسید داشتند، به‌طوری که اختلاف نهایی در کاهش جمعیت این باکتری‌ها از روز صفر تا روز ۱۵ خصوصاً در فرم انکپسوله کاملاً مشهود است (P>۰/۰۵). این روند نشانگر تأثیر حفاظتی فرم انکپسوله و تضمین پایداری آن در طول نگهداری، جلوگیری از واکنش با سایر ترکیبات موجود در محیط در طی زمان و در نتیجه ممانعت از کاهش فعالیت و همچنین تأثیر بر آغازگرها و ایجاد تداخل در کاهش PH به‌صورت طبیعی بود.

REFERENCES

AOAC. (2005). Afficial method of analysis, 17 edition, Washington, DC: association of official analytical chemistis; 716-725.

Arashisara, S.; *et al*. (2004). Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) fillets, International Journal of Food Microbiology; 97: 209-214.

Bagamboula, C.F.; *et al*. (2004). Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and S. *flexneri*, Food microbiology; 21: 32-42.

Bahram, S.; *et al*.; (2013). Antimicrobial activity of edible film of whey protein enriched with cinnamon essential oil on bluga fillets in refrigerated conditions. Jurnal of fisheries of Islamic Azad university of Azadshahr; 4: 63-72.

Borumand, A.; (2008). Research on antimicrobial production of casein films [dissertation]. TehranUniversity, Dep of Biosystems.

Botsoglou, N.A.; *et al*. (2003). Antioxidant activity of dietary oregano essential oil and a-tocopheryl acetate supplementation in long-term frozen stored Turkey meat, Journal of Agricultural Food Chemistry; 51: 2930-2936.

Burt, S.A. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. Inter, J. Food Microbiol, 94, 223-253.

Etemadi, H.; *et al*. (2008). Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on shelf life extension of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *JFST*; 5(4): 69-73.

Geissman, T.A. (1962). Flavonoid compounds, tannins, lignins and related compounds. In: Pyrr ole pigments, isoprenoid compounds and phenolic plant constituents.

Gómez-Estaca, J.; *et al.* (2010). Biodegradable gelatine-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. Food Microbiology; 27: 889-896.

Gram, L.; Huss, H. H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products, International Journal of Food Microbiology; 33: 121-137.

Hernández, M.D.; *et al*. (2009). Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meager (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage, Food Chemistry; 114: 237-245.

Jafari., S. M.; *et al*. (2008), Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying, Drying technology; 26(7): 816-835.

Jebeli Javan, A.;*et al*. (2015). Antioxidant and Antimicrobial Effects of Rosemary Extract On the quality and shelf life of chicken meat kept at the refrigerator temperature. Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology; 4(2): 131-142.

Jian-Guo Xu, *et al*. (2014). Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Food control; 35: 109-116.

Mejholm, O.; Dalgaard, P. (2002). Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism photobacterium phosphoreum in liquid media and fish products, Lett. Appl, Microbiol; 34: 27-31.

Pakzad, P.; *et al*. (2012). Identification of Staphylococcus aureus with antrotoxin A-E gene and TSST-1 by PCR method. Journal of Qom University of Medical Sciences; 3: 78.

Parsaeei, M.; *et al.* (2009). Effect of *Zataria multiflora* essential oil on enterotoxin production of *Staphylococcus aureus*. Journal of Medicinal Plants; 33(4): 98-102.

Razavi shirazi, H. (2006). Marine Technology: Maintenance Principles and Practice (1), Second edition. Pars Negar Publishing, Tehran.

Rezaeei, M.; *et al.* (2012). Effect of ascorbic acid with whey protein coating on shelf life of rainbow trout at refrigerator temperature: Evaluation of microbial and chemical properties. Iranian Journal of Nutrition and Food Technology; 7(3): 69-78.

Rumiani, L.; *et al.* (2013). Antibacterial activity of cumin essential oil and nisin on inhibiting *Streptocococcus iniae* in laboratory and fish fillets, Iranian jurnal of fisheries; 22 (3): 5-59.

Sallam, K. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon, Food Control; 18: 566-575.

Seydim, A.C.; Sarikus, G. (2006). Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils, Food Res Int; 39: 639-44.

Shahidi, F.; Han, X. Q. (1993). Encapsulation of food ingredients. Critical Review in Food Science and Nutrition.

Shahidi, F.; *et al*. (2006). Antioxidant activity of white and black sesame seeds and their hull fractions, Food Chemistry; 99: 478-83.

Shan, B.; *et al*. (2007). Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activit y against foodborne pathogenic bacteria, Journal of Agricultural Food Chemistry; 55 (14): 5484-90.

Smith-Palmer, A.; *et al*. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens, Letters in Food Microbiology; 26: 118-122.

Sotuneh, F.; *et al*. (2016). The effect of free and encapsulated extact of *Origanum vulgare* on chemical, microbial and the behavior of pseudomonas fluorescens in meat mince of *clupeonella cultiventris*, Journal of New Technologies in Aquaculture Development; 10(4): 59-72.

Spencer, J. P. E. (2008). Flavonoids: modulators of brain function. British Journal of Nutrition; 99 (1): 60-77.

Tahami, F.A.; *et al*. (2013). A survey of antioxidant effect of *Foeniculum vulgare*'s seed extract on sun flower oil. Food Technology & Nutrition; 10(1): 1-15.

Tsuchiya, H.M.; *et al.* (1996). Comparative study on the antibacterial activity of photochemical flavanones against methicillin-resistant Staphylococcus aureus, Journal of Ethnopharmacology; 50: 27-34.

Yeganeh, S.; *et al*. (2014). The effect of sodium caseinate coating on the quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during storage in a refrigerator. Journal of Food Science and Technology; 44 (11): 67-82.

Yin, M.C.; Cheng, W.S. (2003). Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-deri ved organo sulfur compounds in ground beef, Meat Science; 63: 23-28.