مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال ششم، شماره چهارم، پیاپی بیست و چهارم، بهار ۱۳۹۷ (۶۵-۵۷)

تأثیر عصاره نانوکپسوله گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) بر ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نگهداری شده در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد

مریم غنی‌زاده[۱]، مریم شاپوری[۲*]، مهدی بابازاده[۳]
۱. دانشجوی کارشناس ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، گروه منابع طبیعی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران
۲. گروه منابع طبیعی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران
۳. گروه منابع طبیعی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۸/۱٦ – تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۲/۲٤)

چکیده
رزماری یک ماده ضد میکروبی طبیعی است که بر روی بسیاری از عوامل بیماری‌زا و ارگانیسم‌های مسبب فساد مواد غذایی تأثیر دارد. هدف از انجام این تحقیق استفاده از گیاه رزماری در دو فرم معمولی در دو غلظت (۰/۱ و ۰/۳ درصد) و فرم نانوکپسوله آن در دو غلظت (۰/۱ و ۰/۳ درصد) به منظور افزایش مدت زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دمای یخچال بوده است. فاکتورهای مورد بررسی شامل پارامترهای شیمیایی (مجموع بازهای نیتروژنی فرار و عدد پراکسید) و پارامترهای میکروبی (شمارش کلی باکتری‌ها و شمارش باکتری‌های سرماگرا) بوده که در زمان‌های صفر، ۳، ٦، ۹، ۱۲ و ۱۵ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج تغییرات مقادیر TVB-N در تیمار نانو کپسوله با غلظت ۰/۳ درصد کمتر از سایر تیمارها بوده است. نتایج پارامترهای میکروبی در تیمارهای حاوی عصاره نانوکپسوله رزماری کمتر از عصاره‌های معمولی بوده ولی با این وجود در روزهای ۹-۱۲، تمامی پارامترهای مورد بررسی خارج از دامنه استاندارد بودند (۷ logCFU/g). نتیجه‌گیری که از این تحقیق حاصل می‌شود آن است که هر چند فرم نانو کپسوله در غلظت ۰/۳ درصد نسبت به سایر غلظت‌ها نتایج بهتری را به همراه داشته ولی برای دستیابی به نتایج بهتر و افزایش زمان ماندگاری ماهی قزل‌آلا نیاز به ارزیابی کامل پارامترهای میکروبی و شیمیایی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: قزل‌آلای رنگین کمان، رزماری، فرم نانوکپسوله، افزایش زمان ماندگاری.

Effects of nano encapsulation of *Rosmarinus officinalis* on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet shelf life in 4°c

Maryam Ghanizade[1], Maryam Shapoori[2*], Mehdi Babazadeh[3]
1. M.Sc. Student, Depatment of Natrual Resources, Savadkooh Branch, Islamic Azad Univesity, Savadkooh, Iran
2. Depatment of Natrual Resources, Savadkooh Branch, Islamic Azad Univesity, Savadkooh, Iran
3. Depatment of Natrual Resources, Savadkooh Branch, Islamic Azad Univesity, Savadkooh, Iran
(Received: Nov. 7, 2015 - Accepted: May 14, 2018)

Abstract
Rosmarinus officinalis is a natural antimicrobial, which effects on many pathogens and food spoilage organisms. The purpose of this study was using two concentrations of Nano-encapsulation and the ethanolic extract of *R. officinalis* (0.1% and 0.3%) in order to increase the shelf life of fillets of rainbow trout at fridge temperature. Factors considered included (Proxide value and total volatile base nitrogen) as well as microbial parameters (Total count of bacteria and psychotropic count) in the periods of 0, 3, 6, 9, 12 and 15 days. The changes in TVB-N values during the treatment with nano-encapsulation of 0.3% were lower than the other treatments. The results of microbial parameters in the treatments containing of Nano-encapsulation were less than ordinary extracts. However, on days 9 to 12, all parameters were beyond the standard range (7logCFU/g). In conclusion, based on the results of this study, although Nano encapsulated formed in the concentration of 0.3% compared to the other concentrations had better results, achieving better results and increasing the shelf life of rainbow trout needed thorough evaluation of biological and chemical parameters.

Keywords: *Oncorhynchus mykiss*, *Rosmarinus officinalis*, Encapsulation form, increased the shelf life.

* نویسنده مسئول: E-mail: m_shapoori@iausk.ac.ir

مقدمه

قابلیت فساد پذیری بالای ماهیان سبب شده تا حفظ کیفیت ماهی تازه، یکی از مسائل مهم مورد توجه صنعت ماهی و مصرف کنندگان باشد. در این رابطه توجه به عمر ماندگاری محصول (دوره زمانی که یک محصول غذایی، تحت وضعیت نگهداری مشخص، برای مصرف مناسب و امن باشد) مهم است. به این منظور تکنیک‌های متفاوتی مثل سردسازی محصول بلافاصله پس از صید و نگهداری در یخ انجماد (Aubourg *et al*., 2004)، بسته‌بندی در خلا و اتمسفر اصلاح شده، پرتودهی با اشعه گاما و UV، استفاده از مواد ضد میکروبی مثل اسیدهای آلیونمک اسیدهای آلی (Gram & Huss,1996)، استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی و مصنوعی (Burt, 2004)، بکارگیری اسانس‌ها،روکش دار کردن (Fan *et al*., 2009) و همچنین اثر ترکیبی روکش غذایی و اسانس (Ojagh *et al*., 2010) برای افزایش عمر ماندگاری محصولات دریایی و حفظ کیفیت ماهی به کار گرفته شده است. عدم استفاده از تکنیک‌های مناسب نگهداری ماهیان و محصولات دریایی منجر به تغییرات سریع در فاکتورهای متفاوت شیمیایی، بیوشیمیایی و میکروبیولوژی محصول گردیده و پدیده پیچیده فساد ماهی را به دنبال دارد (Gokoglu *et al*., 2004). ماهیان حتی در دمای پایین نگهداری نیز ممکن است با فساد باکتریایی مواجه باشند. در نتیجه فعالیت باکتریایی، ترکیبات فرار با وزن ملکولی پایین تولید می‌شوند. این ترکیبات به‌طور معمول سولفید هیدروژن، تری متیل آمین و آمونیاک بوده، که عامل نامطلوب شدن گوشت، تشدید بوی نامطبوع و بی‌مزه شدن ماهی در طی زمان نگهداری می‌باشند (Gokoglu *et al*., 2004). فساد باکتریایی ماهی نگهداری شده در یخچال تحت شرایط هوازی توسط میکروارگانیزم‌های گرم منفی سرما دوست مثل سودوموناس، آلترموناس، شوانلاو گونه‌های مختلف فلاوباکتریوم اتفاق می‌افتد. بدین منظور روش‌های متعددی برای جلوگیری از رشد یا از بین بردن باکتری‌های عامل فساد و پاتوژن‌های بیماری‌زا و همچنین افزایش کیفیت و امنیت غذاهای نگهداری شده در یخچال ارائه شده است که از جمله می‌توان به استفاده از عصاره‌ها واسانس‌های گیاهی اشاره نمود (Ojagh *et al*., 2010). از طرفی اکسیداسیون چربی به عنوان یکی از دلایل اصلی کاهش کیفیت (Lin & Lin, 2004) و یکی از بزرگترین نگرانی‌ها در مورد گوشت و ماهی و فرآورده‌های دریایی منجمد می‌باشد. ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های گیاهی مسئول خواص ضد میکروبی آن‌ها هستند، همچنین ترکیبات فنولی موجود در گیاهان یکی از بهترین منابع آنتی اکسیدان‌های طبیعی است (Burt, 2004). گیاه رزماری دارای اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی می‌باشد. ویژگی‌های ضد میکروبی عصاره رزماری بر علیه برخی باکتری‌های بیماری‌زا در مقیاس آزمایشگاهی به خوبی شناخته شده است (Peiretti, 2012). به منظور جلوگیری از رشد باکتری‌ها و قارچ‌های مولد فساد مواد غذایی از عصاره رزماری به عنوان یک عامل نسبتاً قوی ضد میکروبی بر روی مواد غذایی استفاده می‌شود (Peiretti, 2012). هدف از انجام این بررسی کاربرد گیاه رزماری در دو فرم معمولی و فرم نانوکپسوله آن، به منظور افزایش مدت زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دمای یخچال بوده است.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۸ قطعه ماهی قزل آلای رنگین کمان با وزن متوسط ۱۰۰±۳۰۰ گرم و طول متوسط ۲±۱۸ سانتی‌متراز بین ماهی‌های هم اندازه و سالم، یکی از مزارع پرورش ماهی درنزدیکی شهرستان ساری به‌طور تصادفی انتخاب شدند و در جعبه‌های یونولیت به همراه پودر یخ به آزمایشگاه پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انتقال داده و بلافاصله اقدامات فیله کردن ماهی انجام شد. ماهی ابتدا شسته، سپس فیله گردیده

و در پایان عمل فیله کردن نیز مجددا فیله‌ها مورد شستشو قرار گرفتند. سپس فیله‌ها وزن گردیدند (فیله‌ها به نحوی تهیه گردید که هر فیله حدود ۱۰۰ گرم وزن داشتند). برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. به منظور تهیه عصاره رزماری از روش (Shahidi *et al*., 1992) استفاده گردید. همچنین برای آماده‌سازی عصاره رزماری انکپسوله شده در صمغ عربی ابتدا عصاره گیاه رزماری با استفاده از حلال الکل اتانول از طریق دستگاه سوکسله تهیه شد. بعد از این مرحله عصاره مورد نظر با استفاده از دستگاه اسپری درایر خشک می‌شود. ماده ای که برای انکپسوله کردن رزماری مورد استفاده قرار می‌گیرد صمغ عربی است که به شکل تجاری تهیه و ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه با اسید لینولئیک به مقدار ۰/۱۳۰ درصد به عنوان سورفاکتانت در درمای ۴۰درجه تکان داده می‌شود (pH ۱۰/۵). پس از اتمام زمان انکوباسیون، رزماری، به مخلوط صمغ عربی و سورفاکتانت اضافه شده و به مدت ۲ ساعت در دمای محیط تکان داده می‌شوند مخلوط مذکور در دستگاه اسپری درایر با سرعت ml/min ۵/۶ با هوادهی در دمای ورودی ۱۰۵ درجه و دمای خروجی ۱۰۸ درجه خشک می‌شود (Schmid *et al*., 2009) نسبت صمغ عربی به رزماری ۴ به ۱ می‌باشد. پس از آماده سازی نمونه‌ها دو غلظت از رزماری بدون کپسول (آزاد) در دوغلظت ۰/۱ و ۰/۳ درصد و دو غلظت از فرم انکپسوله در دو غلظت ۰/۱ و ۰/۳ به فیله ماهی قزل آلا اضافه می‌شوند نمونه‌ها در دمای ۴درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۱۵ روز نگهداری شده و به فاصله هر ۳ روز از نقطه نظر پارامترهای میکروبی و شیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. و برمبنای تطابق این خواص با استانداردها، مدت زمان قابل قبول برای نگهداری آن تعیین می‌گردد، که به طبع بهترین غلظت و نوع رزماری (آزاد یا انکپسوله) جهت دستیابی به بهترین زمان نگهداری و جلوگیری‌کننده از رشد میکروبی معرفی می‌گردد. برای هر کدام از تیمارهای ۰/۱٪ و ۰/۳٪ فرم معمولی و نانو کپسوله رزماری، یک استوک از هر فرم رزماری با دو غلظت ۰/۱٪ و ۰/۳٪ تهیه گردید و بر روی نقاط مختلف فیله ریخته شد و با دست به آرامی ماساژ داده شد (Peiretti, 2012). سپس فیله‌های تیمار شده درون فویل آلومینیومی قرار گرفتند و در یخچال (در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند. تیمارها طی نگهداری در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، به فاصله زمانی هر سه روز یکبار و در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ از نقطه‌نظر میکروبی تعیین تعداد کل باکتری‌های قابل رویت (TVC)[1] و تعداد کل باکتری‌های سرما دوست (PTC)[2] و شیمیایی (مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)[3] و عدد پراکسید (PV)[4] مورد ارزیابی قرار گرفتند (Haliloglu *et al*., 2004).

برای اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) مطابق روش Feldsine *et al*. (2002) فیله ابتدا چرخ شده ماهی را همراه با ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل بالن کلدال ریخته، پرل شیشه‌ای به همراه اکتان نرمال (ضد کف) به آن اضافه می‌گردد سپس بالن را به دستگاه وصل کرده و از زیر به آن حرارت داده می‌شود. داخل ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری نیز ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسید بوریک ۲٪ (۲گرم اسید بوریک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به همراه چند قطره معرف متیل رد در۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به همراه چند قطره معرف متیل رد (۰/۱ گرم متیل رد در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول) قرار داده می‌شود. متیل رد در محیط اسیدی قرمز رنگ و در محیط بازی زرد رنگ می‌باشد. عمل تقطیر تا گذشت ۳۰ دقیقه از زمان جوشش مواد درون بالن، یا جمع شدن حدود ۱۲۵ میلی‌لیتر مایع در ارلن مایر ادامه می‌یابد. محلول اسید بوریک به محض قلیایی شدن

1. Total Viable Count
2. Psychrothrophic Counts
3. Total Volatile Basic Nitrogen
4. Peroxide value

توسط بازهای ازته فرار تقطیر شده زرد رنگ می‌شود. عمل تیتراسیون این محلول توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا جایی ادامه می‌یابد که اسید بوریک دوباره قرمز شود. مقدار TVB-N به صورت میلی گرم در صد گرم گوشت ماهی با توجه به رابطه زیر به دست می‌آید.

$$TVB\text{-}N = \frac{\text{میزان اسید سولفوریک مصرفی} \times ۱/۴ \times ۱۰۰}{\text{وزن نمونه}} \quad (۱)$$

برای اندازه‌گیری عدد پروکسید (PV) نمونه‌ای از روغن استخراج شده ماهی را به‌دقت در ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری سر سمباده‌ای وزن نموده و حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسید استیک: کلروفرم (نسبت کلروفرم به اسیداستیک ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدید پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته یک درصد به مجموعه افزوده و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر گردید. میزان پراکسید از رابطه زیر مورد محاسبه قرار گرفت (Egan *et al*., 1997).

$$\text{عدد پراکساید} = \frac{\text{حجم مصرفی تیوسولفات} \times \text{نرمالیته} \times ۱۰۰۰}{\text{وزن نمونه روغن}} \quad (۲)$$

برای انجام آزمایش‌های میکروبی ۱ گرم نمونه برداشته شده و در ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل ۰/۸۵٪ قرار داده می‌شود و به مدت ۶۰ ثانیه در یک مخلوط کن آزمایشگاهی هموژن می‌شود.برای تعیین شمارش کلی باکتری‌ها (TVC) طبق روش Feldsine *et al*. (2002) برای TVC از نمونه‌های تهیه شده، محیط کشت تریپتیک سوی آگار (Tryptic Soy Agar) استفاده می‌شود. بعد از تهیه محیط کشت، با میکرو سمپلر، ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های تهیه شده، بر روی محیط کشت به‌طور سطحی پخش می‌شود. در صورت نیاز (بالا بودن تعداد باکتری‌ها در یک پلیت) رقیق سازی نمونه‌ها (تا لوگ ۶) در محلول سرم فیزیولوژی انجام می‌شود. پلیت های کشت داده شده مربوط به کل باکتری‌ها بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد شمارش می‌شوند. و برای شمارش باکتری‌های سرما دوست (PTC) نمونه‌های تهیه شده، از محیط تریپتیک سوی آگار (TSA) استفاده می‌شود. ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های تهیه شده، برروی محیط کشت به‌طور سطحی پخش می‌شود. پلیت‌های مربوط به باکتری‌های سرما دوست بعد از ۱۰ روز انکوباسیون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد شمارش می‌شوند (McFaddin, 1976).

نتایج

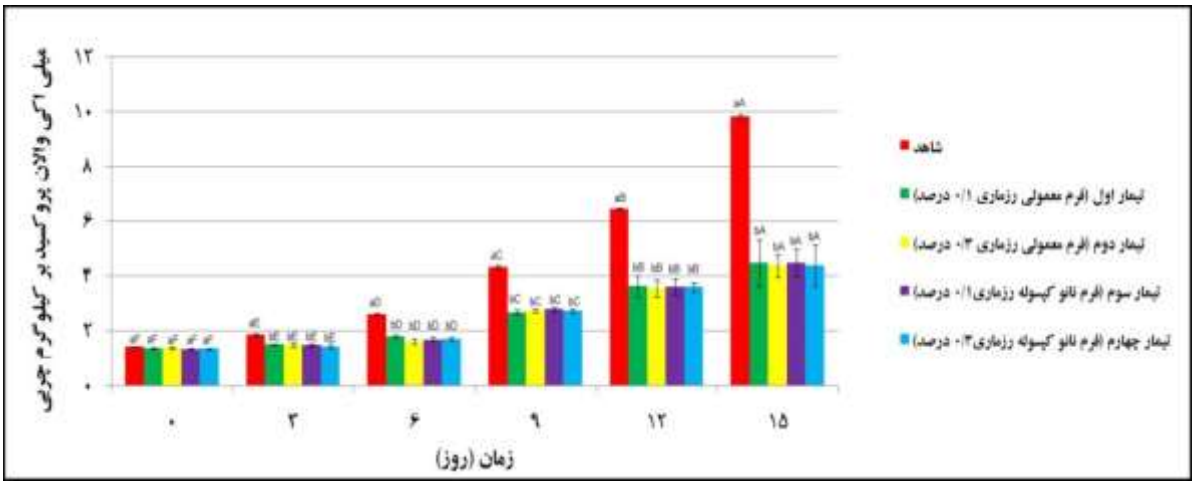
نتایج حاصله از این بررسی از نظرمیکروبی و شیمیایی به شرح زیر است: تغییرات مقدار عدد پراکسید (PV) محاسبه شده در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در طی نگهداری در یخچال در شکل ۱ آورده شده است. میزان عدد پراکسید در تمامی تیمارهای این آزمایش با افزایش زمان روندی افزایشی داشته، به‌طوریکه در روز ۱۵ در بیشترین میزان و در روز صفر در کمترین میزان خود بود و بین زمان‌های مختلف آزمایش در همه تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($p<۰/۰۵$).

همچنین، تغییرات مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) محاسبه‌شده در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در طی نگهداری در یخچال در شکل ۲ آورده شده است. طبق نتایج حاصله، میزان TVB-N در تمامی نمونه‌ها روندی افزایشی داشته ولی این روند افزایشی در تیمارهای نانوکپسوله رزماری کندتر از تیمارهای دارای فرم آزاد و تیمار شاهد بوده است ($p<۰/۰۵$). نتایج آنالیز واریانس نشان می‌دهد که تغییرات اندیس TVB-N در تیمارهای مختلف از روز صفر تا ۱۵ دارای اختلاف

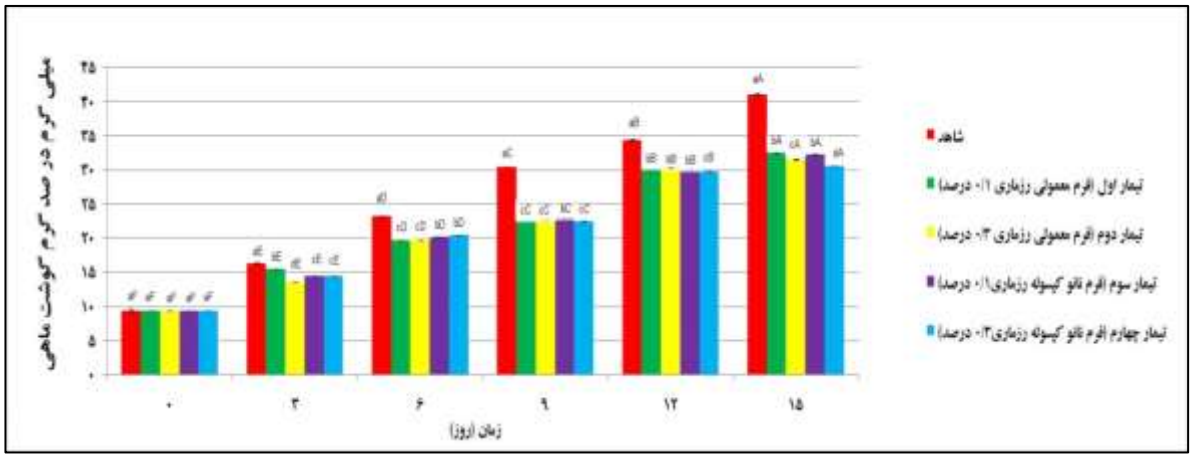
معنی‌داری است (p<۰/۰۵)، همچنین، بین زمان‌های مختلف آزمایش در اکثر تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (p<۰/۰۵).

شمارش کلی باکتری‌ها در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در طی نگهداری در یخچال در شکل ۳ به نمایش درآورده شده است.

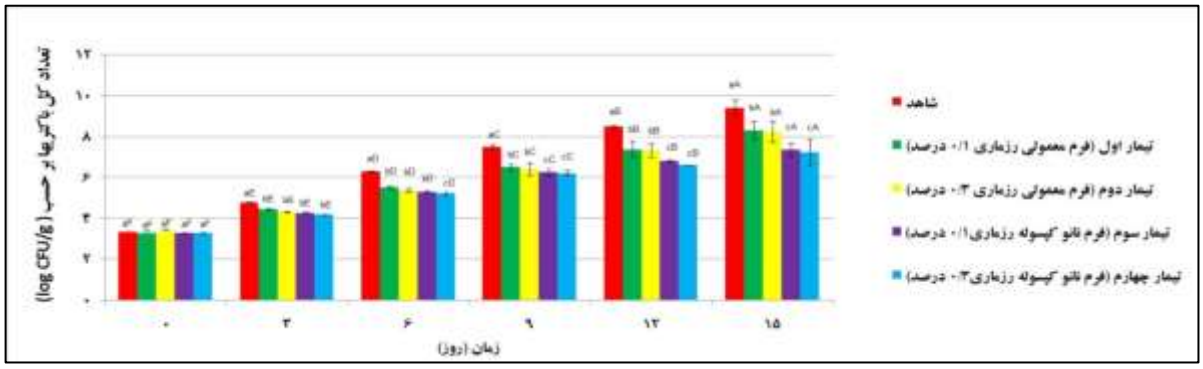
طبق نتایج حاصله، مقادیر کل باکتری‌های قابل رویت در تمامی نمونه‌ها روندی افزایشی داشته ولی این روند افزایشی در تیمار نانوکپسوله رزماری به ویژه در تیمار ۰/۳٪کندتر از تیمارهای دارای فرم آزاد بوده است (p<۰/۰۵). مقادیر کل باکتری‌های سرمادوست در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در طی نگهداری در یخچال در شکل ۴ به نمایش درآورده شده است. با توجه به شکل ۴ می‌توان مشاهده کرد که شاخص PTC در طی دوره نگهداری برای همه تیمارها افزایش معنی‌داری (p<۰/۰۵) داشت. مطابق نتایج به‌دست آمده، مقدار PTC در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۱۵ در بیشترین میزان و در روز صفر در کمترین میزان خود بوده است و بین زمان‌های مختلف آزمایش در همه تیمارها (به جز در زمان صفر)، از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (p<۰/۰۵).



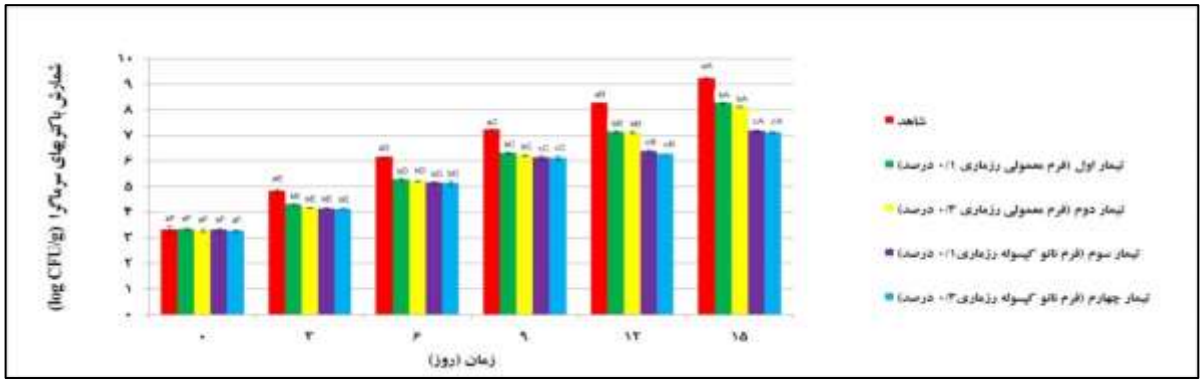
شکل ۱. تأثیر اشکال معمولی و نانو کپسوله رزماری بر شاخصPV (میلی‌اکی والان پراکسید بر کیلوگرم چربی) در تیمارهای مختلف فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی نگهداری در یخچال



شکل ۲. تاثیر اشکال معمولی و نانو کپسوله رزماری بر شاخصTVB-N (میلی‌گرم در صد گرم گوشت ماهی) در تیمارهای مختلف فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی نگهداری در یخچال



شکل ۳. تأثیر اشکال معمولی و نانو کپسوله رزماری بر شاخصTVC (بر حسب logCFU/g) در تیمارهای مختلف فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در طی نگهداری در یخچال



شکل ٤. تأثیر اشکال معمولی و نانو کپسوله رزماری بر شاخص PTC (بر حسب logCFU/g) در تیمارهای مختلف فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در طی نگهداری در یخچال

بحث و نتیجه‌گیری

بازهای نیتروژنی فرار یکی از شاخص‌های کیفی فراورده‌های شیلاتی، فساد باکتری ماهیان و فعالیت‌های آنزیمی برای ارزیابی کیفی این محصولات می‌باشد (Kilinc *et al.*, 2009). به منظور افزایش زمان ماندگاری آن از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. از جمله روش‌های نوین در این امر، استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در مراحل مختلف بسته بندی و نگهداری محصولات شیلاتی می‌باشد. با توجه به میزان تولید و مصرف بالای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در ایران، اقداماتی در جهت تنوع محصول و افزایش ماندگاری آن همراه با حفظ کیفیت آن ضرورت یافت، که در این خصوص مطالعات متعددی صورت گرفته و تأثیر عصاره یا اسانس‌های گیاهی مختلف از جمله رزماری مورد ارزیابی قرار گرفته شده است. مهمترین ماده فعال در عصاره رزماری کارنوزول می‌باشد ترکیبات فنولی دیگری مثل اپی رزمانول و ایزو رزمانول همچنین اسید رزمارینیک و اسید کارنوزیک از برگ‌های رزماری جداسازی شدند (Allen & Hamilton, 1989). Formanek *et al.* (2003) نیز گزارش کردند که عصاره رزماری علاوه برجلوگیری از اکسیداسیون لیپید و فساد میکروبی از تغییرات رنگ گوشت در طول دوره نگهداری جلوگیری می‌کند و باعث افزایش کیفیت گوشت از نظر فاکتورهای حسی می‌شود (Formanek *et al.*, 2003). اکسیداسیون چربی در ماهیان، به دلیل دارا بودن مقادیر بالای اسید چرب غیراشباع پس از مرگ دارای اهمیت فراوان می‌باشد و از عوامل اساسی نامطلوب شدن طعم و مزه در آن‌ها محسوب می‌شود (Peiretti, 2012). به‌منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون لیپید در ماهیان به‌طور وسیعی از شاخص

پر اکسید (PV) استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر مقادیر PV در طی دوره نگهداری در همه تیمارها افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) داشت، ولی این افزایش در تیمار نانو کپسوله ۰/۳ درصد رزماری روند کندتری نسبت به سایر تیمارها، به‌ویژه با تیمار شاهد داشت. میزان قابل قبول پراکساید ۲۰-۱۰ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم چربی، پیشنهاد گردیده است (Huss, 1995). در این مطالعه، در هیچکدام از تیمارها از حد پیشنهادی به میزان ۲۰ میلی اکی والان پراکسید بر کیلوگرم چربی تجاوز نکرد. میزان TVB-N اولیه گوشت فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در این تحقیق در تمامی تیمارها تقریباً برابر ۹/۳۲±۰/۰۰۲ بود که با چند امتیاز اختلاف به نتایج سایر محققین بر روی میزان TVB-N اولیه گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تقریباً نزدیک می‌باشد. میزان TVB-N گوشت ماهی بین گونه‌های مختلف متفاوت است ولی تفاوت در میزان TVB-N در یک گونه خاص ماهی می‌تواند به دلیل محتوای نیتروژن غیر پروتئینی گوشت ماهی (که خود متأثراز تغذیه ماهی می‌باشد)، فصل صید، اندازه ماهی، جنس و سایر عوامل محیطی دیگر باشد (Ojagh *et al.*, 2010). در تحقیق حاضر میزان TVB-N فیله ماهیان در کلیه تیمارها در زمان صفر تفاوت معنی‌داری با هم نداشت (P< ۰/۰۵). از روز ۳ تا ۱۵ آزمایشات همواره تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری بیشترین میزان TVB-N را درمقایسه با سایر تیمارها داشت که علت این امر را می‌توان در خواص آنتی اکسیدانی رزماری دانست (Huss, 1995). شمارش کلی باکتری‌ها معیاری برای پی بردن به کیفیت بهداشتی یک محصول است که غیر قابل مصرف بودن محصول را بیان می‌کند (Huss, 1995). تغییرات TVC گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در طول دوره نگهداری (۱۵ روز) در جدول ۳ آورده شده است. میزان TVC اولیه گوشت فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در این تحقیق در تمامی تیمارها تقریباً برابر ۳/۴۰±۰/۰۶ بود که می‌تواند نشانه تازگی ماهی باشد. از آنجایی‌که بار میکروبی اولیه ماهیان آب شیرین بسته به وضعیت آب و دما تغییر می‌کند، محققین مقدار TVC ابتدایی را ۶-۲ logCFU/g برای گونه‌های مختلف آب شیرین پیشنهاد دادند (Peiretti, 2012). با توجه به نتایج جدول ۳، میزان TVC در طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در همه تیمارها افزایش پیدا کرده است ولی روند افزایش در تیمارهای نانوکپسوله (به‌ویژه در غلظت ۰/۳٪) کندتر بوده، به‌طوری‌که در تفاوت بین تیمارهای نانوکپسوله رزماری به ویژه در غلظت ۰/۳٪ با تیمارهای ۱ و ۲ (فرم معمولی رزماری) و به‌ویژه با تیمار شاهد در اکثر مراحل نمونه‌گیری (به جز در روز صفر) معنادار بوده است (P<۰/۰۵) که به‌علت خاصیت ضد میکروبی گیاه رزماری بر جمعیت باکتریایی و حضور روکش غذایی (نانو کپسوله) به‌عنوان سینرژیست با عصاره گیاهی می‌باشد. در مطالعه حاضر الگوی افزایش مقادیر PTC همه تیمارها مشابه با الگوی تغییرات TVC بوده، در حالیکه PTC مقادیر پائین‌تری از TVC داشت. میزان ابتدایی PTC در فیله‌های تیمار شده با فرم معمولی و نانوکپسوله رزماری تقریباً یکسان بود و تفاوت معناداری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. Ojagh *et al.* (2010) گزارش نمودند که میزان ابتدایی PTC در فیله‌های قزل‌آلای تیمار شده با ترکیب روکش غذایی و اسانس دارچین ۲/۸۸ logCFU/g و در فیله‌های شاهد ۳/۸۵ logCFU/g بوده است، که نزدیک به نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. با توجه به جدول ۴ می‌توان مشاهده کرد که شاخص PTC در طی دوره نگهداری برای همه تیمارها افزایش معنی‌داری داشته است (P<۰/۰۵). در پایان دوره تیمارهای نانو کپسوله با تیمارهای دارای فرم معمولی و شاهد تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) داشتند. افزایش PTC در انتهای دوره نگهداری در فیله‌های تیمار شده با فرم نانو کپسوله رزماری ۰/۳٪ به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کمتر از سایر تیمارها بود. نتایج آزمایشات

شیمیایی و میکروبی که در طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال در زمان‌های ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ انجام پذیرفت، عملکرد بهتر فیله‌های تیمار شده با فرم نانو کپسوله رزماری به ویژه در غلظت ۰/۳٪ را در مقایسه با فرم معمولی و نمونه شاهد تأیید می‌کند. به‌طوریکه مقادیر TVB-N به عنوان شاخص شیمیایی کنترل کیفیت فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تیمار نانو کپسوله با غلظت ۰/۳٪ کمتر از سایر تیمارها بوده است. روند افزایشی مقادیر TVC و PTC در تیمار نانو کپسوله ۰/۳٪ در طول دوره نگهداری کندتر از سایر تیمارها بود. نتایج پارامترهای میکروبی در تیمارهای حاوی عصاره نانوکپسوله رزماری (به ویژه در غلظت ۰/۳٪) کمتر از عصاره‌های معمولی آن بوده ولی با این وجود در روزهای ۱۲-۹، پارامترهای میکروبی مورد بررسی خارج از دامنه استاندارد بودند (۷ logCFU/g). بنابراین استفاده از رزماری به ویژه در فرم نانو کپسوله با غلظت ۰/۳٪ در کاهش ارگانیزم‌های مسئول فساد و به تاخیر انداختن اکسیداسیون چربی و در نهایتا افزایش عمر ماندگاری فیله قزل‌آلای رنگین کمان مؤثرتر است. نتیجه‌گیری که از این تحقیق حاصل می‌شود نشان می‌دهد که هر چند فرم نانو کپسوله رزماری در غلظت ۰/۳ درصد نسبت به سایر غلظت‌ها نتایج بهتری را به همراه داشته ولی برای دستیابی به نتایج بهتر و افزایش زمان ماندگاری ماهی قزل‌آلا نیاز به استفاده از غلظت‌های بالاتر رزماری و ارزیابی کامل پارامترهای میکروبی و شیمیایی می‌باشد. همچنین مطالعات بیشتر در زمینه ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی عصاره گیاهان طبیعی در ماهی و محصولات شیلاتی ضروری و مفید می‌باشد.

REFERENCES

Allen, J.C.; Hamilton, R.J.; (1989). *Rancidity in foods* (No. Ed. 2). Elsevier Applied Science Publishers Ltd.

Aubourg, S.P.; Perez-Alonso, F.; Gallardo, J.M.; (2004). Studies on rancidity inhibition in frozen horse mackerel (*Trachuru strachurus*) by citric acid and ascorbic acids. Eur. J. Lipid Sci. Technol.; 106(4): 232-240.

Burt, S.; (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International Journal of Food Microbiology; 94(3), 223-253.

Egan, H.; Kirk, R. S.; Sawyer, R.; (1997). Pearson's Chemical. Analysis of Foods.

Fan, W.; Sun, J.; Chen, Y.; Qiu, J.; Zhang, Y.; Chi, Y.; (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage.Food Chemistry; 115(1): 66-70.

Feldsine, P.; Abeyta, C.; Andrews, W. H.; (2002). AOAC International methods committee guidelines for validation of qualitative and quantitative food microbiological official methods of analysis. Journal of AOAC International; 85(5), 1187-1200.

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 Science; 63(4), 433-440.

Gokoglu, N.; Yerlikaya, P.; Engiz, E.; (2004). Effects of cooking methods on the proximate composition and mineral connects of ranbow trout (*Oncor hynchusmykiss*). Food Chemistry; 84(1): 19-22.

Gram, L.; Huss, H.H.; (1996). Microbiological spoilage of fish and fishproducts.*I. J. Food Microb*; 33(1): 121-137.

Haliloglu, H.I.; Bayir, A.; Sirkecioglu, A.N.; Aras, N.M.; Atamanalp, M.; (2004). Comparison of fatty acid composition in some tissues of rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss*) living in seawater and freshwater. Food Chemistry; 86(1): 55-59.

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.

Kilinc, B.; Cakil, S.; Csdun, A.; Sen, B.; (2009). Effect of phosphate dip treatments on chemical, microbiological, color, textural, and sensory changes of rainbow trout (*Onchoryncus mykiss*) fillets during refrigerated storage. Journal of Food Product Technology; 18(1-2): 108-119

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

MacFaddin, J. F.; (1976). Biochemical tests for identification of medical bacteria. Williams & Wilkins Co.

McFaddin, J. F.; (1976). The indole test. Biochemical tests foridentification of medical bacteria. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 99-108.

Ojagh, S.M.; Rezaei, M.; Razavi, S.H.; Hosseini, S.M.H.; (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry; 120(1): 193-198.

Peiretti, P.G.; Gai, F.; Ortoffi, M.; Aigotti, R.; Medana, C.; (2012). Effects of rosemary oil (*Rosmarinus officinalis*) on the shelf-life of minced rainbow trout (*Oncor hynchusmykiss*) during refrigerated storage. Foods; 1(1), 28-39.

Schmid, R.W.; Lotz, J.; Schweigert, R.; Lackner, K.; Aimo, G.; Friese, J.; Maine, G.T.; (2009). Multi-site analytical evaluation of a chemiluminescent magnetic microparticle immunoassay (CMIA) for sirolimus on the Abbott ARCHITECT analyzer. Clinical Biochemistry; 42(15), 1543-1548.

Shahidi, F.; Janitha, P. K.; Wanasundara, P. D.; (1992). Phenolic antioxidants. Critical Reviews in Food Science & Nutrition; 32(1), 67-103.