بررسی اثر عصاره بره موم(Propolis) کردستان بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان(*Oncorhynchus mykiss*)

ارسلان عدنانی[1*]، شعله درویشی[1]، خسرو محمدی[1]

* arash.a89@gmail.com

۱-دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۵

چکیده

فساد ماهی‌ها ناشی از تغییرات ایجاد شده در اثر واکنش‌های بیولوژیکی ازقبیل اکسایش چربی‌ها، واکنش‌های منتج از فعالیت‌های آنزیم‌های طبیعی ماهی و فعالیت‌های متابولیکی ریزاندامگان است. این عوامل باعث کاهش زمان ماندگاری ماهی و سایر فرآورده‌های دریایی می‌شوند. بره موم یک محصول طبیعی است که از رزین‌های گیاهی مشتق شده و بوسیله زنبورهای عسل جمع آوری می‌گردد. بره موم قرن‌ها در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گرفت. مشخص شده است که بره موم دارای فعالیت‌های ضد میکروبی، التیام بخش زخم‌ها، ضد اکسایشی و ضد تومور است. در این مطالعه شاخص‌های بیوشیمیایی و میکروبیولوژیکی فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان تیمار شده با عصاره الکلی ۱۰٪ بره موم کردستان در طی ۲۴ روز مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش ها به صورت شمارش باکتری‌های نمک دوست و سرمادوست به عنوان شاخص‌های میکروبیولوژیکی و شاخص‌های(میزان کل بازهای فرار نیتروژنی)TVB-N، (شاخص تیوباربیتوریک اسید)TBARS، pH و اسیدیته به عنوان شاخص‌های بیوشیمیایی در روزهای ۲۴، ۱۶، ۸، ۰ طی نگهداری در برودت یخچال و به صورت بسته بندی تحت خلاء صورت گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که پس از ۲۴ روز روند افزایشی رشد در شاخص‌های میکروبیولوژیکی در نمونه‌های شاهد بسیار سریعتر از نمونه‌های تیمار شده صورت گرفت و میزانTVB-N، TBARS و اسیدیته بر حسب اسید لاکتیک نمونه‌های شاهد بالاتر از نمونه‌های تیمار شده بود و pH نمونه‌های تیمار شده بالاتر از نمونه‌های شاهد بود. نتایج به دست آمده بیانگر این است که عصاره ۱۰٪ الکلی بره موم کردستان می‌تواند میزان ماندگاری فیله‌های ماهی قزل آلای رنگین کمان را با توجه به بررسی شاخص های فساد فیله ماهی در طول نگهداری در برودت یخچال و به صورت بسته بندی تحت خلاء به مدت حداقل ۸ روز بهبود ببخشد.

کلمات کلیدی: بره موم، ماهی قزل آلا، باکتری‌های سرما دوست، باکتری‌های نمک دوست، TVB-N، TBARS

* نویسنده مسئول

مقدمه

ماهی قزل آلا از نوع ماهی‌های سردآبی، در زیر گروه آزاد ماهیان جای می‌گیرد، دارای بدنی فشرده و باله دمی‌بزرگ تر از ماهی آزاد است. این ماهی یکی از مهمترین آبزیان پرورشی در سطح جهان است.

ماهی قزل آلا به طور طبیعی دارای میزان زیادی اسیدهای چرب غیراشباع نظیر اسید ایکوزاپنتانوییک (Eicosapentaenoic acid) اسید دکوزاهگزانوییک (Docosahexaenoic acid) می‌باشد و فواید زیادی برای سلامتی انسان دارد (Steffens,1997). اما از طرف دیگر وفور این اسیدهای چرب غیر اشباع در ماهی قزل آلا آن را برای فساد اکسایشی مستعد ساخته است(Mexis *et al*., 2009).

فساد ماهی اکثراً در بخش‌های حاوی چربی رخ می‌دهد، به خصوص در قسمت چربی‌های غیر اشباع که در حضور اکسیژن محیط به سرعت اکسیده می‌شوند، ماهی قزل آلا نیز جزو محصولات با میزان بالای اسید چرب غیر اشباع می‌باشد این ماهی منبع مهم و مناسب پروتئین برای انسان است، اما به دلیل میزان بالای اسیدهای چرب چند غیر اشباعی و حضور آنزیم‌های لیز(lyse) کننده خود به خودی نسبت به فسادهای میکروبی و شیمیایی حساس است (Ghaly *et al*., 2010).

به طور کلی pH عضله ماهی زنده نزدیک به ۷ است، اما پس از مرگ بر اساس فصل، گونه، بار باکتریایی و عوامل دیگر به طور قابل ملاحظه ای تغییر می‌کند، اولین تغییر قابل ملاحظه پس از مرگ پدیده جمود نعشی (Rigor mortis) است که در طی آن عضلات سفت و خشک می‌شوند تا زمانی که به بیشترین میزان سفتی برسند. از آنجاییکه در این زمان دیگر اکسیژنی وجود ندارد، انباشتگی دی‌اکسیدکربن و اسیدلاکتیک رخ می‌دهد. افزایش غلظت یون هیدروژن موجب کاهش pH می‌گردد. این کاهش فرآیندهای غیرهوازی را محدود کرده و آنزیم‌های شرکت‌کننده در این فرآیند را ممانعت می‌کند. سپس در اثر فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک عضلات نرم‌تر می‌شوند. فعالیت این آنزیم‌ها و همچنین تشکیل ترکیبات قلیایی ناشی از باکتری‌های عامل فساد ماهی موجب افزایش pH می‌گردد (Grzegorz *et al*., 2010).

اما در طی نگهداری ماهی‌ها در بسته بندی تحت خلاء فعالیت لاکتوباسیلوس‌ها منجر به تولید اسید لاکتیک و کاهش pH می‌گردد(Hernandez *et al*., 2009).

فعالیت میکروبی در ماهی منجر به تنزل خصوصیات فیزیکی و شیمیایی کیفیت شده و نتیجه آن منجر به ایجاد بو و طعم بد شدیدی می شود که این امر با کاهش ماندگاری و ارزش غذایی محصول همراه است همچنین هر چه مدت زمان بین مرگ ماهی تا آغاز فرآیند بسته بندی طولانی تر شود ماندگاری ماهی به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد (*Sivertsvik et al*., 2002) لذا به دلیل مستعد بودن ماهی و محصولات شیلاتی به فساد سریع، فناوری‌های زیادی برای افزایش ماندگاری آن‌ها موردبررسی قرار گرفته است (Holley & Patel., 2005). از سوی دیگر بسته بندی، نگهداری و انتقال سالم ماهیان از نظر تجاری بسیار اهمیت دارد.

اغلب روش‌های معمول در نگهداری ماهی بر پایه کنترل دمای نگهداری و کاهش دما استوار است، اما باید توجه داشت که دمای پایین نگهداری محصولات دریایی گرچه سبب کاهش سرعت فساد میکروبی آن‌ها می‌شود، اما کارایی بالایی در ممانعت از فسادهای شیمیایی مانند اکسایش خود به خودی و تجزیه چربی‌ها در مواد غذایی دریایی که در ابعاد تجاری، در شرایط یخچالی و به صورت سرد(غیر منجمد) و تحت هوای معمولی نگهداری می‌شوند ندارد لذا استفاده از روش-هایی نوین و استفاده از مواد نگهدارنده مناسب می تواند منجر به ایجاد رویکردهایی نوین و مناسب جهت نگهداری مناسب این ماده غذایی باشد.

بره موم ترکیبی است که بوسیله زنبورهای عسل، از جوانه یا سایر قسمت‌های‌گیاه جمع آوری می‌شود. این ماده دارای‌بیش از ۳۰۰ ترکیب مختلف نظیر پلی‌فنل‌ها، آلدئید فنلیک، مونو ترپن‌ها، آمینواسیدها، استروئیدها و ترکیبات غیر آلی دیگر در ساختمان خود است که نسبت این ترکیبات به مکان و زمان جمع‌آوری بره موم و منابع گیاهی مورد استفاده زنبور عسل بستگی دارد. اما به طور طبیعی بره موم از ۳۰٪ موم، ۵۰٪ صمغ، ۱۰٪اسانس آروماتیک و مواد معطرگیاهی و ۵٪ پولن یاگرده تشکیل شده است (Burdock *et al*., 1998., Scifo *et al*., 2004).

برخی ازمحققان خصوصیات مفیدبره موم وعسل را ناشی از محتوای فلاوونوییدی آن دانسته‌اند(Grang & Davey., 1990).

استفاده از بره موم امروزه به سبب ویژگی‌های مفید آن در بسیاری از کشورهای جهان ازقبیل آمریکا و اروپا محبوبیت بسیاری پیداکرده است (Teixeira *et al*., 2009).

عصاره بره موم توسط حلال‌های متفاوت و به روش‌های مختلف استخراج گردیده است، برای استخراج این ترکیب حلال‌های:روغن، اتانول ۶۰٪، پروپیلن گلیکول وگلیسرین مورد استفاده قرار گرفته و فعالیت‌های ضد باکتریایی و ضد قارچی آن‌ها بررسی شده است، نتایج نشان می‌دهد به رغم تفاوت در عملکردها، عصاره‌های مختلف بره موم همگی دارای ویژگی‌های ضدباکتریایی و ضد قارچی هستند (Tossi *et al*., 1996). بره موم به رغم اثرات باکتری کشی و باکتری ایستایی یاد شده ماده‌ای غیرسمی بوده ومصرف معادل ۷۰ میلی‌گرم آن در روز بدون عوارض جانبی‌گزارش شده است (ضیا و همکاران، ۱۳۸۸).

اکنون با توجه به موارد یاد شده تصور می‌گردد عصاره بره موم به عنوان یک ماده نگهدارنده طبیعی‌با خواص نگهدارندگی مطلوب می‌تواند در کنار سایر روش‌های نگهداری معمول اثر مطلوبی بر افزایش مدت زمان نگهداری ماهی و بازارپسندی آن داشته باشد، زیرا هم دارای اثرات ضدباکتریایی، ضد قارچی و ضد اکسیدانی است و هم با توجه به اینکه این محصول پایه‌ای طبیعی دارد، مشکلات موجود در سایر نگهدارنده‌های مصنوعی و شیمیایی ازقبیل عدم بازار پسندی و استقبال مصرف کنندگان را نخواهد داشت.

مواد و روش ها

به منظور انجام تحقیق ماهی های قزل آلای بالغ با وزن تقریبی هر کدام ۳ کیلوگرم از مراکز پرورش ماهی شهر مشهد تهیه گردید و در کمترین زمان ممکن در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردید و پس از عملیات شستوشو، سرزنی، دم‌زنی و تخلیه شکمی از هر ماهی دو فیله به ابعاد نسبی (۳×۷×۱۵) سانتی‌متر تهیه شد. بره موم ازکندوهای پرورش زنبور عسل شهرستان سقز استان کردستان تهیه شده و جهت استخراج عصاره متانولی آن بره‌موم به نسبت ۱ به ۱۰ با متانول ۸۰ ٪ مخلوط شد و به مدت ۲۴ ساعت با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه روی لرزاننده (Shaker)(مدل RH Basic 2 ساخت شرکت IKA آلمان) قرار داده شد، سپس عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر گردید. پس از خشک شدن عصاره، پودر عصاره بدست آمد که با متانول ۸۰ درصد به نسبت ۱ به ۱۰ (۱ گرم عصاره در ۱۰ میلی لیتر متانول۸۰٪) حل شده و به عنوان محلول پایه استفاده شد. برای به کار بردن بره‌موم مقادیر ذکر شده بصورت اسپری (افشانه)، روی سطح داخلی بسته‌بندی و فیله ماهی‌ها

(به مدت ۲۰ ثانیه برای هر سطح) استفاده گردید و پس از اعمال تیمار نمونه‌های تیمار شده و شاهد در دستگاه بسته بندی تحت خلاء "Henkelman" بسته‌بندی شدند و به منظور انجام آزمایش ها در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند.

آزمون های میکروبی

شمارش باکتری‌های نمک‌دوست هوازی

برای انجام این آزمایش ۱۰ گرم نمونه با ۹۰ میلی لیتر محلول حجمی NaCl۰/۸۵ مخلوط و همگن شد و پس از تهیه رقت مورد نیاز ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت در محیط پلیت کانت آگار(PCA) قرار گرفت و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه قرار داده شد. پس از شمارش پرگنه ها تعداد آن‌ها در عکس رقت مورد استفاده ضرب شده و بر وزن نمونه برداشته شده تقسیم گردید سپس لگاریتم آنها گرفته شده و به صورت لگاریتم تعداد پرگنه در واحد وزن بیان شد (Harrigan & Mccance, 1976).

شمارش باکتری‌های سرمادوست

برای انجام این آزمایش ۱۰ گرم نمونه با ۹۰ میلی‌لیتر محلول حجمی NaCl۰/۸۵ مخلوط و همگن گردید و پس از تهیه رقت مورد نیاز ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت در محیط پلیت کانت آگار(P.C.A) قرار گرفت و به مدت ۱۰ ساعت در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد در سردخانه قرار داده شد. پس از شمارش پرگنه ها تعداد آنها در عکس رقت مورد استفاده ضرب شده و بر وزن نمونه برداشته شده تقسیم گردید سپس لگاریتم آنها گرفته شده و به صورت لگاریتم تعداد پرگنه در واحد وزن بیان گردید(Harrigan & Mccance, 1976).

اندازه‌گیری pH

برای تعیین pH فیله‌های ماهی، ۵ گرم از هر نمونه را با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر به خوبی همگن نموده و سپس pH نمونه‌ها بوسیله pH متر (inoLab pH 7110 آلمان)اندازه گیری شد (Basiri *et al.*, 2013).

اندازه‌گیری شاخص تیوباربیتوریک اسید(Thiobarbituric acid)

مقدار تیوباربیتوریک برحسب میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید(Malondialdehyde) در کیلوگرم نمونه محاسبه شد بدین صورت که به ۱۰ گرم از گوشت ماهی موجود در بالن تقطیر ۱۰۰۰ میلی‌لیتری، ۹۷/۵ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده گردید و به مدت ۲ دقیقه بوسیله مخلوط‌کن قوی(همیلتون۱۴۱) همگن شد. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۰/۴ مولار به آن‌ها اضافه شد. بعد از افزودن چند عدد ساچمه شیشه ای ضد کف بالن را حرارت داده تا در مدت ۱۰ دقیقه از زمان جوش ۵۰ میلی‌لیتر مایع تقطیر به دست آید سپس ۵ میلی‌لیتر از مایع تقطیر با ۴ میلی‌لیتر از معرف تیوباربیتوریک (Thiobarbituric acid) در یک لوله آزمایش مخلوط شدند، لوله‌های آزمایش که حاوی مایع تقطیر و معرف بودند به همراه لوله شاهد به مدت ۳۵ دقیقه در بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از سرد شدن به مدت ۱۰ دقیقه جذب آن‌ها در طول موج ۵۳۸ نانومتر در مقابل محلول شاهد (اتانول) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید (Baik *et al.*, 2004).

اندازه گیری کل مواد ازته فرار

برای اندازه‌گیری کل مواد ازته فرار برحسب میلی گرم مواد ازته فرار در ۱۰۰ گرم ماهی ۱۰ گرم از گوشت ماهی با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر بوسیله مخلوط‌کن قوی(همیلتون۱۴۱)

کاملاً همگن گردیده و سپس به بشر ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد و ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و پس از افزودن ۲ گرم اکسید منیزیوم و چندعدد ساچمه شیشه ای ضد کف تقطیر گردید، از ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری که حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محلول اسید بوریک ۳٪ و چند قطره معرف متیل رد برای جمع‌آوری مایع تقطیر شده استفاده گردید. هنگامی‌که ۱۲۵ میلی‌لیتر از مایع تقطیر شده جمع‌آوری شد به دلیل تقطیر بازهای فرار نیتروژنی و قلیایی‌شدن محیط محلول، اسید بوریک سبز رنگ شد سپس محلول حاصله با اسید هیدروکلریک ۰/۱ نرمال تیتر گردید و میزان TVB-N بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماهی از فرمول زیر محاسبه شد (Goulas & Kontominas, 2005).

$$\frac{mgTVB-N}{100gr\ fish}=\frac{(mg\ \text{اسید مصرفی})\times(\text{غلظت اسید})\times 14\times 100}{\text{وزن نمونه}}$$

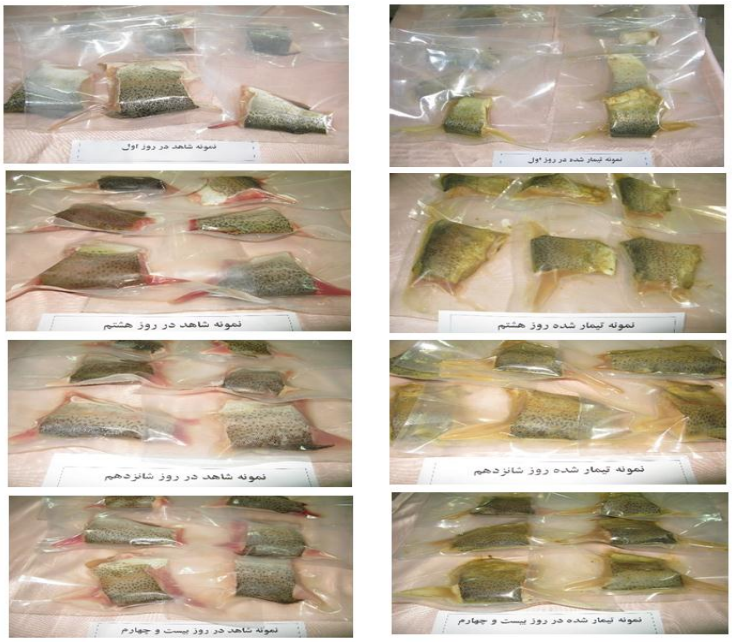
اندازه‌گیری اسیدیته

برای تعیین اسیدیته بر حسب اسید لاکتیک ۱۰ گرم از نمونه را به همراه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر در همزن به خوبی‌همگن نموده و پس از افزودن چند قطره معرف فنل فتالیئن بوسیله محلول ۰/۱ نرمال NaOH تیتراسیون انجام شد و درصد اسید لاکتیک از فرمول زیر محاسبه گردید (Basiri *et al.*, 2013):

$$\text{اسیدیته (درصد اسید لاکتیک)}=\frac{ml\ NaOH\ \text{مصرفی}\times NaOH\ \text{نرمالیته}\times 0.9\times 100}{\text{وزن نمونه}}$$

تجزیه و تحلیل آماری

در پژوهش حاضر به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از آمار توصیفی و آمار استنباطی استفاده شد. از آمار توصیفی برای تهیه جداول، رسم نمودارها و محاسبه شاخص‌های آماری و از آمار استنباطی شامل روش‌های طرح عاملی ، آزمون t نمونه‌های مستقل ، تحلیل واریانس یک‌طرفه (آزمون تعقیبی توکی(Tukey test)) به منظور آزمون فرضیه‌های پژوهش استفاده گردید. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقادیر $p<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

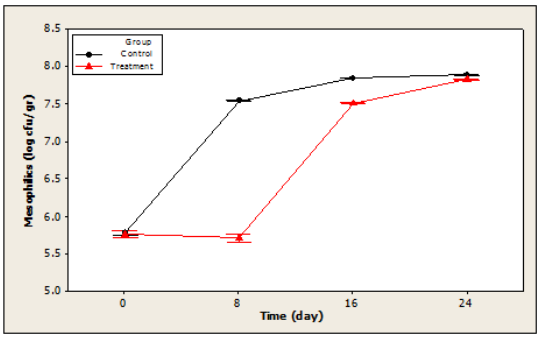


شکل۳: نمونه های شاهد و تیمار شده با عصاره متانولی ۱۰٪ بره موم در طی ۲۴ روز نگهداری در دمای یخچال

Figure 3: The control and treated with 10% methanol extract of propolis samples during 24 days of storage at refrigerator temperature

نتایج

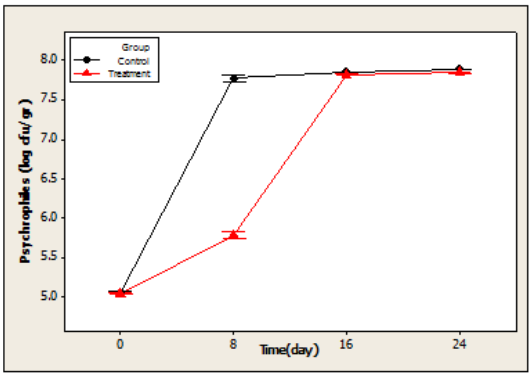
بر اساس نتایج شمارش بار باکتریایی باکتری‌های نمک دوست هوازی، لگاریتم تعداد باکتری‌های نمک‌دوست هوازی در فیله ماهی قزل آلا در ابتدای آزمایش ۵/۷ لگاریتم تعداد باکتری بود و با گذشت زمان این مقدار افزایش پیدا کرد به طوری که این افزایش در نمونه های شاهد در روز ۸ روند سریعی را طی کرده و به ۷/۵۵ لگاریتم تعداد باکتری رسید در حالی که بار باکتریایی نمونه های تیمار شده در روز ۸ نسبت به ابتدای آزمایش تغییر محسوسی نداشته و افزایش بار باکتریایی نمک دوست هوازی در نمونه های تیمار شده از روز ۸ به بعد رخ داد و در روز ۱۶ به ۷/۵۱ لگاریتم تعداد باکتری رسید(شکل ۱).



شکل۱: مقایسه میانگین لگاریتم تعداد باکتری‌های هوازی نمک دوست گروه‌های کنترل و تیمار شده با بره موم طی ۲۴ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد

Figure 1: comparison of the mean log of the aerobic mesophil bacteria in control groups and treated with propolis during 24 days of storage at 4 ° C.

تغییر در بار باکتریایی باکتری‌های سرمادوست در این مطالعه حاکی از افزایش بار باکتریایی باکتری‌های سرما دوست در نمونه‌های شاهد در ۸ روز ابتدایی نگهداری بود به طوری که میزان آن از ۵/۰۵ لگاریتم تعداد باکتری در روز اول به ۷/۷۷ لگاریتم تعداد باکتری در روز ۸ رسید افزایش بار باکتریایی در نمونه های تیمار شده با عصاره ۱۰٪ متانولی بره موم در زمان طولانی تری رخ داد به این صورت که بار باکتریایی باکتری‌های سرما دوست در نمونه های تیمار شده در ۸ روز اول تغییر محسوسی نداشته اما پس از گذشت ۱۶ روز از ۵/۰۴ لگاریتم تعداد باکتری در روز اول به ۷/۸۲ لگاریتم تعداد باکتری در روز ۱۶ رسید (شکل ۲).



شکل۲: مقایسه میانگین لگاریتم تعداد باکتری‌های سرما دوست گروه‌های کنترل و تیمار شده با بره موم طی ۲۴ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد

Figure 2: comparison of the mean log of the Psychrophil bacteria in control groups and treated with propolis during 24 days of storage at 4 ° C.

نتایج شاخص شیمیایی بررسی شده در این مطالعه در جدول ۱ خلاءصه شده است.نگهداری ماهی در بسته بندی تحت خلاء منجر به فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک، تولید اسید و کاهش pH می‌گردد در طول زمان نگهداری ماهی میزان اسیدیته بر حسب اسید لاکتیک افزایش یافته و pH کاهش می‌یابدباکتری‌های اسید لاکتیک تا روز ۱۶ نگهداری با توجه به اینکه pH محیط مناسب می‌باشد به خوبی رشد می‌کنند اما گزارش ها بیانگر این است که در روزهای پایانی نگهداری تولید اسیدلاکتیک در نمونه‌های شاهد کمتر بوده که دلیل آن کاهش pH به میزان پایینتر از pH مطلوب رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک می‌باشد.

میزان شاخص TVB-N در ابتدا در نمونه‌های شاهد و تیمار شده با عصاره متانولی۱۰٪ بره موم در حدود ۱۵/۲ گزارش گردید، در طول زمان نگهداری میزان آن در تمامی نمونه ها افزایش یافت به طوری‌که در روز ۲۴ نگهداری میزان آن در نمونه‌های شاهد ۲۲/۶۴ و در

نمونه‌های تیمار شده به۱۹/۴۳ رسید، افزایش بیشتر این شاخص در نمونه‌های شاهد نشان دهنده توانایی عصاره متانولی بره موم در جلوگیری از تشکیل ترکیبات نیتروژنی حاصل از فعالیت باکتری‌های پروتئولیتیک و پروتئازهای موجود در گوشت ماهی است و نتایج به دست آمده با تحقیقات هکتور و همکاران در سال (۲۰۱۳) مطابقت دارد (Hector *et al*., 2013).

شاخص TBARS به‌طور وسیعی جهت اندازه‌گیری درجه اکسایش چربی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد.نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که شاخص TBARS در نمونه های شاهد افزایش بیشتری داشته است به طوری‌که در روز ۲۴ این شاخص در نمونه‌های شاهد برابر با ۸/۰۴ و در نمونه‌های تیمار شده با عصاره متانولی ۱۰٪ بره موم ۶/۶۶ می‌باشد این اختلاف نشانگر خواص آنتی اکسیدانی بره‌موم می‌باشد که باعث جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها در نمونه‌های تیمار شده گردیده است،در تحقیق مشابه دیگر چایلو و نازارنو در سال (۲۰۰۹)نیز به نتایج مشابهی دست یافتند (Chaillou & Nazareno, 2009).

جدول ۱: مقایسه میانگین اثر تیمار عصاره ۱۰٪ بره موم بر برخی شاخص های شیمیایی فیله های ماهی قزل آلا طی ۲۴ روز

Table 1: comparison of 10% propolis extracts on some chemical indicator means of fillet of salmon during the 24 days of storage at 4 ° C.

زمان نگهداری(روز)	تیمارها	اسیدیته (بر حسب اسید لاکتیک)	TVB-N (mgTVB-N /100g sample)	TBARS (mg MDA/Kg of sample)	pH
۰	شاهد	۰/۴۱±۰/۰۳۸^{c}	۱۵/۲۷±۰/۷۵^{b}	۰/۵۷±۰/۰۷^{d}	۶/۷۷±۰/۲۵^{a}
	تیمار شده با عصاره۱۰٪ متانولی بره موم	۰/۴۰±۰/۰۱۳^{d}	۱۵/۲۳±۰/۳۱^{b}	۰/۵۴±۰/۰۶^{d}	۶/۸۲±۰/۰۳^{a}
۸	شاهد	۰/۵۲±۰/۰۸۲^{bc}	۲۳/۰۹±۱/۸۹^{a}	۳/۲۵±۰/۱۶^{c}	۶/۵۰±۰/۲۷^{ab}
	تیمار شده با عصاره۱۰٪ متانولی بره موم	۰/۵۰±۰/۰۱۰^{c}	۱۷/۷۱±۱/۸۱^{ab}	۲/۷۹±۰/۰۸^{c}	۶/۴۸±۰/۱۱^{bc}
۱۶	شاهد	۰/۶۰±۰/۰۱۲^{ab}	۲۳/۰۶±۳/۰۶^{a}	۶/۱۸±۰/۲۸^{b}	۶/۱۱±۰/۲۰^{b}
	تیمار شده با عصاره۱۰٪ متانولی بره موم	۰/۶۱±۰/۰۲۱^{b}	۱۹/۷۹±۲/۰۷^{a}	۴/۸۷±۰/۱۸^{b}	۶/۵۹±۰/۱۲^{ab}
۲۴	شاهد	۰/۶۵±۰/۰۴۴^{a}	۲۲/۶۴±۱/۳۰^{a}	۸/۰۴±۰/۴۹^{a}	۵/۰۳±۰/۱۱^{c}
	تیمار شده با عصاره۱۰٪ متانولی بره موم	۰/۹۴±۰/۰۵۳^{a}	۱۹/۴۳±۰/۹۰^{a}	۶/۶۶±۰/۵۵^{a}	۶/۲۶±۰/۰۸^{c}

میانگین ± انحراف معیار(p<۰/۰۵، n=۳).حروف مختلف در هر ستون بیانگر اختلاف معنی دار بین نمونه ها است.

بحث

با توجه به شرایط بی هوازی ایجاد شده در نمونه‌های شاهد و تیمار شده فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک در نمونه‌ها رخ داده و موجب افزایش میزان اسیدیته بر حسب اسید لاکتیک می‌گردد که این افزایش با افزایش زمان و فعالیت بیشتر باکتری‌های اسید لاکتیک افزایش می‌یابد.

شاخص TVB-N در ماهی‌های نگهداری شده نشان دهنده میزان ترکیبات نیتروژنی تشکیل شده در اثر فعالیت باکتری‌های پروتئولیتیک و پروتئازهای موجود در گوشت ماهی است به همین دلیل شاخص TVB-N پر استفاده ترین شاخص جهت تعیین کیفیت و تازگی ماهی است. در مطالعه ای که هکتور و همکارانش در سال ۲۰۱۳ انجام دادند نیز توانایی بره موم در کاهش سرعت افزایش شاخص TVB-N نشان داده شد. هکتور و همکارانش عصاره بره موم را در مقایسه با

تیمار دود در ماهی کچما (kechmaa) قرار دادند و مشاهده کردند که استفاده از عصاره بره موم به طرز معنی داری در مقایسه با سایر تیمارها سرعت افزایش میزان شاخص TVB-N را کاهش می‌دهد هر چند که تفاوت میان درصدهای مختلف بره موم در تحقیق او معنی دار نبودند (Hector *et al.*, 2013). این تأثیر بره موم می‌تواند به دلیل خاصیت ضد میکروبی و توانایی کاهش ظرفیت باکتری‌ها درانجام آمین زدایی اکسایشی ترکیبات نیتروژنی غیرپروتئینی باشد (Fan *et al.*, 2009).

شاخص TBARS به طور گسترده ای جهت اندازه گیری درجه اکسایش چربی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. افزایش بیشتر میزان شاخص TBARS در نمونه‌های شاهد به نسبت نمونه‌های تیمار شده نشان دهنده خواص ضد اکسایشی بره موم است که در تحقیقات چایلو و نازارنو در سال (۲۰۰۹) نیز بدان اشاره شده است(Chaillou & Nazareno., 2009).

مطالعات کاگوروپولوس و همکارانش در سال (۲۰۰۹) مشخص نمود که ترکیبات اصلی عامل فعالیت ضد اکسایشی بره موم فنولیک اسید، فلاوونوییدو آنتراکوئینون‌ها (C6H4(CO).2C6H4) است (Kalogeropoulos *et al.*, 2009).

همچنین در تحقیق دیگری در سال (۲۰۰۷) "آن و همکارانش" نیز خواص ضد اکسایشی بره موم را تأیید نموده و عامل اصلی این خاصیت را کافییک اسید و ترکیبات مشتق شده از آن عنوان کردند (Ahn *et al.*, 2007).

بسته بندی تحت خلاء با ایجاد شرایط بی هوازی خود تا حدودی باعث کاهش رشد در باکتری‌های نمک دوست می‌گردد. این کاهش در تحقیقات بسیاری از جمله "استامن و همکاران، ۱۹۹۰. ، آشی و همکاران، ۱۹۹۶. ، گیمنز، ۲۰۰۲" مورد بررسی قرار گرفته است (Stammen *et al.*, 1990; Ashie *et al.*, 1996; Gimenez *et al.*, 2002) و از طرف دیگر خاصیت ضد باکتریایی بره موم مورد تحقیق بسیاری از محققان بوده است و تاثیر بازدارندگی آن در تحقیقات مختلف به اثبات رسیده است(Castro & Higashi, 1995; Grange & Davey 1990; Muhsine Duman *et al.*, 2014) این اثرات ضد باکتریایی موجب گردیده که کند شدن رشد باکتری‌های نمک دوست در ماهی‌ها رخ دهد به طوری که در نمونه‌های تیمار شده که اثرات بسته بندی تحت خلاء و بره موم به صورت توأم اعمال گردیده بود این رشد به نسبت بسته بندی تحت خلاء نیز سرعت کندتری داشته است و از طرف دیگر کاهش pH به میزان کمتر از pH بهینه رشد باکتری ها باعث کاهش سرعت رشد آن‌ها می گردد.

باکتری‌های سرمادوست عمده ترین عامل فساد میکروبی در ماهی‌ها و غذاهای نگهداری شده در دمای یخچال هستند (Bensid *et al.*, 2014; Gram *et al.*, 2002).

در تحقیقی که "دومان" در سال ۲۰۱۴ بر روی تاثیر عصاره آبی بره موم بر روی نگهداری ماهی انجام داد گزارش کرد که رشد باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های تیمار شده در طی ۲۴ روز نگهداری به نسبت نمونه‌های شاهد کند تر و کمتر بوده است و تفاوت معنی داری بین نمونه‌های تیمار شده و گروه شاهد گزارش کرد که نتایج این تحقیق نیز با گزارشات وی مطابقت دارد(MuhsineDuman *et al.*, 2014).

ماهی به عنوان یک غذای دریایی که نقش مهمی‌در سلامت سبد غذایی جامعه دارد علی رغم فوائد بسیاری که دارد یک محصول فساد پذیر تلقی می‌گردد و وجود فلورهای میکروبی طبیعی در کنار شرایط دیگر از قبیل میزان

چربی بالا باعث گردیده که در صورت عدم اعمال اقدامات مناسب پیشگیرانه به سرعت فاسد و غیر قابل مصرف گردد.

تیمار مورد مطالعه در این تحقیق عبارتست از عصاره ۱۰٪ الکلی بره موم که درترکیب با بسته بندی تحت خلاء و نگهداری در دمای یخچال بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان مورد استفاده قرار گرفت. استفاده از این تیمار در کنار تیمارهای دیگر که پیش تر بوسیله سایر محققان مورد بررسی قرار گرفته بود موجب بهبود در شرایط کیفی ماهی و افزایش زمان ماندگاری محصول گردید به طوریکه شاخص‌های TVBN و TBARS به عنوان اصلی ترین شاخص‌های تازگی و نشانگر فساد در ماهی، در نمونه‌های تیمار شده به نسبت نمونه‌های شاهد که فاقد عصاره بره موم بودند بهبود داشته و دیگر شاخص‌های شیمیایی مورد مطالعه(pH و اسیدیته) نیز در نمونه‌های تیمار شده در محدوده قابل قبول قرار گرفتند.

بررسی شاخص‌های میکروبی به صورت بررسی میزان باکتری‌های نمک دوست و سرمادوست صورت گرفت و نشان داد که خاصیت ضد میکروبی بره موم موجب گردیده که نمونه‌های تیمار شده ماندگاری بالاتری نسبت به نمونه‌های شاهد داشته باشند وافزایش بار میکروبی با شیب تند در نمونه‌های تیمار شده به نسبت نمونه‌های شاهد تقریبا با هفت روز تأخیر رخ داد.

در نهایت با توجه به ارزیابی‌های صورت گرفته و همچنین وضعیت ظاهری فیله های ماهی (شکل ۳) نتیجه گرفته شد که استفاده از عصاره ۱۰٪ الکلی بره موم در کنار تیمارهای بسته بندی تحت خلاء و نگهداری در دمای یخچال ضمن بهبود کارایی این تیمارها نقش مهمی‌در افزایش زمان ماندگاری، بهبود شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی و افزایش خاصیت ضد میکروبی داشته و باعث افزایش زمان ماندگاری ماهی به میزان قابل توجهی می‌گردد.

منابع

ضیا، م.ع.، منانی، ر.، محمودی، م.، بیات، م. و محقق، ف.، ۱۳۸۸. بررسی تاثیر عصاره الکلی بره موم(بره موم)بر رشد تریکوفیتون منتاگروفایتیس، تریکوفیتون روبروم و تریکوفیتون وروکوزوم. ، مجله دانشکده پزشکی اصفهان.سال بیست و هفتم، شماره ۹۵، صفحات۲۳۲-۲۴۱.

Ahn, M., Kumazawa, S, Usui, Y., Nakamura, J., Atsuka, M., Zhu, F. and Nakayama, T., 2007. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. Food chemistry, 101: 1400–1409.
DOI: 0.1016/j.foodchem.2006.03.045

Ashie, I. N. A., Smith, J.P., Simpson, B.K. and Haard, N.F., 1996. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. Critical Rev. Food Science and Nutrition. 36: 87-121.
DOI: 10. 1080/10408399609527720.

Baik, M.Y., Suhendro, E.L., Nawar, W.W., McClements, D.J., Decker, E.A. and Chinachoti, P., 2004. Effects of antioxidants and humidity on the oxidative stability of microencapsulated fish oil. Journal of the American Oil Chemists' Society. 81(4): 355-360.
DOI: 10.1007/s11746-004-0906-7

Basiri, S., Shekarforoush, S.S., Aminlari, M., Abhari, Kh. and Berizi, E., 2013. Influence of combined vacuum packaging and pomegranate peel extract on shelf life and overall quality of pacific white shrimp (Peneous vannamei) during refrigerated storage., Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University. IJVR, 2014, Vol. 15, No. 1, pp: 23-29.

Bensid, A., Ucar, Y., Bendeddouche, B. and Ozogul, F., 2014. Effect of the icing with thyme, oregano and clove extracts on quality parameters of gutted and beheaded anchovy (*Engraulis encrasicolus*). Food Chemistry, 145, 681–686. DOI: http: // dx . doi . org / 10 . 1016 / j . foodchem.2013.08.106

Burdock, G.A., 1998. Review of the Biological Properties and Toxicity of Bee Propolis (Propolis). Food and Chemical Toxicology. 36, 347-363. DOI:http://dx.doi.org/10.1016/S0278-6915(97)00145-2

Castro, S.L. and Higashi, K.O., 1995. Effect of different formulations of propolis on mice infected with Trypanosoma cruzi. Journal of Ethnopharmacology, 46, 55–58. DOI: 10.1016/0378-8741(95)01228-6

Chaillou, L. and Nazareno, M.A., 2009. Bioactivity of propolis from Santiago del Estero, Argentina, related to their chemical composition. LWT – Food Science and Technology, 42, 1422–1427. DOI : 10.1016/j.lwt.2009.03.002

Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. and Chi, Y., 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. Food Chemistry. 115(1): 66–70. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.11.060

Ghaly, A.E., Dave, D., Budge, S. and Brooks, M.S., 2010. Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: Review. American Journal of Applied Sciences. 7, 859–877. DOI : 10.3844/ajassp.2010.859.877

Gimenez, B., Roncales, P. and Beltran, J., 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. Journal of the Science of Food and Agriculture. 82, 1154-1159. DOI: DOI: 10.1002/jsfa.1136

Goulas, A.E. and Kontominas, M.G., 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (Scomber japonicus): biochemical and sensory attributes. Food Chemical 93(3): 511–520. DOI:10.1007/s11947-011-0641-4

Gram, L., Ravna, L., Rascha, M., Bruhna, J.B., Christensenb, A.B. and Givskov, M., 2002. Food spoilage—Interactions between food spoilage bacteria. International Journal of Food Microbiology, 78, 79–97. DOI: 10.1016/S0168-1605(02)00233-7

Grange, J. and Davey, R., 1990., Antibacterial properties of propolis (bee glue). , Journal of the Royal Society of Medicine. Vol. 83.

Szczepanik, G., Kryża, K. and Ostrowska, M., 2010. influence of method of packing on physicochemical and textural changes in atlantic herring during frozen storage. , Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria. 9(4): 425-441.

Harrigan, W. F. and McCance, M.E., 1976. Laboratory methods in food and dairy microbiology. London: Academic Press Inc. DOI: 10.1002/jobm.19780180316

Mahecha, H.S., Jiménez Toquica, Á. and Díaz Moreno, A.C., 2013. physicochemical evaluation of cachama Fillets (*Piaractus brachypomus*) Preserved

Muhsine Duman, M. and Ozpolat, E., 2014. Effects of water extract of propolis on fresh shibuta (Barbus grypus) fillets during chilled storage., Food Chemistry. 189, 80-85
DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.08.091

Scifo, C., Cardile, V., Russo, A., Consoli, R., Vancheri, C., Capasso, F., Vanella, A. and Renis, M., 2004. Resveratrol and propolis as necrosis or apoptosis inducers in human prostate carcinoma cells. Oncology Research. 14(9): 415-26. DOI:http://www.ingentaconnect.com/contentone/cog/or/2004/00000014/00000009/art00002

Sivertsvik, M., Jeksrud, W.K. and Rosnes J.T., 2002. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products– significance of microbial growth, activities and safety. International journal of food science and technology. 37(2): 107-127. DOI: 10.1046/j.1365-2621.2002.00548.x

Stammen, K., Gerdes, D. and Caporaso, F., 1990. Modified atmosphere packaging of seafood. Critical Reviews in Food Science and Technology, 29, 301-331.
DOI:http://dx.doi.org/10.1080/10408399009527530

Steffens, W., 1997. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. Aquaculture,. 151(1): 97-119. DOI: 10.1016/S0044-8486(96)01493-7

Weinstein Teixeira, É., Negri, G., Meira, M.S.A., Message, D. and Salatino, A., 2005. Plant origin of green propolis: Bee with Propolis during Storage. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín. 67(1): 7229-7236. 2014.
DOI:https://doi.org/10.15446/rfnam.v67n1.42653

Hernandez, M.D., Lopez, M.B., Alvarez, A., Ferrandini, E., Garcia Garcia, B. and Garrido, M.D., 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. Journal of Food Chemistry, 114, 237-245.
DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.09.045

Holley, R.A. and Patel, D., 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiology. 22(4): 273-292.
DOI: 10.1016/j.fm.2004.08.006

Kalogeropoulos, N., Konteles, S.J., Troullidou, E., Mourtzinos, I. and Karathanos, V.T., 2009. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. Food Chemistry. 116, 452–461.
DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.02.060

Mexis, S., Chouliara E. and Kontominas, M., 2009. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 C. Food microbiology. 26(6): 598-600.
DOI:http://dx.doi.org/10.1080/10498850.2016.1240281

Behavior, Plant Anatomy and Chemistry, Advance Access Publication, eCAM 2005. 2(1): 85–92.
DOI: 10.1093/ecam/neh055

Tossi, B., Donini, A., Romagnoli, C. and Bruni, A., 1996. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. Phytotherapy research, VOL. 10, 335-336. DOI:10.1002/(SICI)1099-1573(199606)10:4<335::AID-PTR828>3.0.CO;2-7.