

# بررسی اثر ضد میکروبی عصاره خیار دریایی (*Holothuria leucospilota*) بر ماندگاری فیله ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بسته بندی شده در خلا در شرایط نگهداری در یخچال

حنانه رضائیان<sup>۱</sup>، سید ولی حسینی<sup>۲\*</sup>، عباسعلی مطلبی مغانجوقی<sup>۳</sup>، علیرضا میرواقفی<sup>۴</sup>

۱ کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲ دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳ استاد موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران

۴ دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۱/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۲۷

## چکیده

در این پژوهش اثر ضد میکروبی عصاره خیار دریایی در غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد) بر ماندگاری فیله‌های قزل آلاهی رنگین کمان بسته بندی شده در خلا و نگهداری شده در یخچال مورد بررسی قرار گرفت. فیله‌ها به مدت ۱۶ روز در یخچال (دمای  $4 \pm 0.5$  درجه سانتیگراد) نگهداری و هر ۴ روز یکبار آزمون‌های میکروبی (شامل بار باکتریایی کل، سودوموناس، انتروباکتریاسه و باکتری‌های تولید کننده سولفید هیدروژن) بر روی نمونه‌ها انجام شد. مقادیر اندازه گیری شده جمعیت سودوموناس‌ها، انتروباکتریاسه و باکتری‌های تولید کننده گاز سولفید هیدروژن در طول دوره نگهداری، در نمونه‌های تیمار شده با عصاره خیار دریایی بطور معنی‌داری کمتر از نمونه‌های شاهد بود. همچنین در بین غلظت‌های مختلف عصاره، عصاره ۲ درصد بیشترین اثر ضدباکتری را نشان داد. یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که عصاره خیار دریایی احتمالاً بواسطه دارا بودن ترکیبات زیستی با خاصیت ضدباکتریایی، می‌تواند بعنوان یک نگهدارنده طبیعی برای فیله ماهی قزل آلاهی رنگین کمان در زمان نگهداری کوتاه مدت آنها (نگهداری در شرایط سرد مانند نگهداری در یخچال) مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: عصاره خیار دریایی، ماهی، کیفیت میکروبی، نگهداری، ماندگاری

## ۱. مقدمه

همین‌رو اخیراً توجه متخصصین به استفاده از ترکیبات طبیعی بجای نگهدارنده‌های شیمیایی برای حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری ماهیان معطوف گشته است.

بدون شک تغییرات میکروبی که به کمک آنزیم‌ها صورت می‌گیرد و در نهایت منجر به فساد spoilage می‌شود از مهم‌ترین تغییرات است که در ماهی و دیگر آبزیان خوراکی مشاهده می‌شود. در این رابطه میگرورگان‌های متعددی وجود دارند که در شرایط طبیعی قادر به ایجاد تغییرات هستند ولی در بین آنها اهمیت باکتری بیش از میکرورگان‌های دیگر است. میکروب‌های موجود در یک ماده غذایی شاخص کیفیت مهم آن مواد غذایی است. وجود مقادیر زیاد باکتری در هر ماده غذایی می‌تواند به علت بکار بردن مواد اولیه نامرغوب، استفاده از وسایل آلوده، کافی نبودن سرما در هنگام حمل و نقل و ... باشد لذا سنجش آن می‌تواند معیاری برای پی بردن به کیفیت بهداشتی مواد غذایی نیز باشد. بنابراین استفاده از موادی مناسب با فعالیت آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی به منظور بهبود کیفیت، افزایش عمر ماندگاری گوشت و در عین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی ضروری و مفید می‌باشد (Yin and Cheng, 2003).

خیار دریایی جانوری با پوسته پوشیده شده از خار است و در شاخه خارپوستان و رده خیارسانان قرار می‌گیرد. خیارهای دریایی از لحاظ بوم‌شناختی، زیست‌شناختی و اقتصادی حائز اهمیت هستند و از اعضای مهم زنجیره غذایی در بوم‌سامانه مناطق معتدل و آبسنگ‌های مرجانی مناطق گرمسیری محسوب می‌شوند (Brukner et al., 2003). این موجود از جمله بی‌مهرگانی است که استفاده‌های سنتی، پزشکی و تغذیه‌ای از آن دارای قدمت بالایی است (James, 2001). تاثیر ضدباکتریایی عصاره‌های به دست آمده از قسمت‌های مختلف بدن و تخم‌های خیار دریایی در پژوهش‌های بسیاری به اثبات رسیده است. در پژوهشی که توسط Jamali و همکاران (۲۰۰۹) در خصوص اثر ضد باکتریایی عصاره‌های طبیعی خیار دریایی خلیج فارس *Holothuria sp.* بر

ماهی و دیگر آبزیان از تولیدات اقتصادی مهم بسیاری از کشورها می‌باشند. ماهیان به دلیل دارا بودن چربی‌های غیر اشباع<sup>۲</sup> زیاد اما کلسترول کم (Ackman and McLeod, 1988)، پروتئین‌هایی با ارزش غذایی بالا، مقدار کم چربی‌های اشباع saturated fatty acid (SFA) و کلسترول و همچنین مقادیر قابل ملاحظه ویتامین و مواد معدنی، اهمیت بسیار زیادی در رژیم غذایی انسان دارند. امروزه ماهی ۶۰-۳۵ درصد نیاز پروتئینی خیلی از کشورهای آسیایی را تامین می‌کند ماهیان به دلیل دارا بودن ۲۲-۱۰ درصد پروتئین، ۲۰-۱ درصد چربی و ۵-۰/۵ درصد مواد معدنی و مقادیر کمی کربوهیدرات اهمیت بسیار زیادی در رژیم غذایی انسان دارند (FAO, 2002).

مشکل اساسی و مهم در توزیع ماهی و فرآورده‌های شیلاتی طبیعت فسادپذیر ماهی و کیفیت نامناسب آنهاست. این امر ناشی از آلودگی فرآورده‌های شیلاتی به وسیله میکرورگان‌های است (Garret et al., 1997, Gram and Melchiorson, 1996). سرعت فسادپذیری بالا در ماهی و استعداد ذاتی اکسیداسیون و تغییر رنگ بافت ماهی سبب می‌گردد تا دوره ماندگاری آن محدود باشد. امروزه از روش‌های مختلفی به منظور کنترل یا کاهش تغییرات اشاره شده در فوق، استفاده می‌شود که از مهم‌ترین آنها تکنیک سردکردن<sup>۳</sup> freezing (Balachandran, 2001) و انجمادکردن کامل (Evans, 2008) است؛ اما این روش‌ها نیز بطور کامل نمی‌توانند مانع از فساد میکروبی یا شیمیایی شوند (Dragoev et al., 1998). بنابراین به منظور حفظ کیفیت مطلوب و افزایش عمر ماندگاری shelf-life، از تکنیک‌های کمکی استفاده می‌شود که استفاده از نگهدارنده‌های مصنوعی مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول<sup>۴</sup> و بوتیل هیدروکسی تولوئن<sup>۵</sup> یکی از این روش‌ها می‌باشد (Jeon et Sathivel et al., 2007; al., 2002). اما مطالعات نشان داد که اثرات مضر چنین ترکیباتی بیشتر از اثرات مفید آنها است. از

<sup>4</sup> Butylated hydroxyanisole (BHA)

<sup>5</sup> Butylated hydroxytoluene (BHT)

<sup>2</sup> polyunsaturated fatty acid (PUFA)

<sup>3</sup> chilling

مجددا شسته و در محلول‌های آماده عصاره خیار دریایی ۰/۵، ۱ و ۲ درصد به مدت ۱۰ ثانیه غوطه‌ور شدند. پس از بسته بندی نمونه‌ها در خلا، کلیه‌ی نمونه‌های مربوط به هر تیمار در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۶ روز نگهداری شدند. در طی دوره نگهداری، در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ نگهداری، از هر گروه نمونه‌هایی بطور تصادفی انتخاب شده و آزمایشات میکروبی بر روی آن انجام گرفت.

## ۲.۲. آماده سازی نمونه ها جهت عصاره گیری

خیار دریایی مورد نیاز از عمق ۳۰ متری اطراف جزیره هنگام جمع آوری و با استفاده از یخ به ساحل منتقل گردید. پس از انتقال به آزمایشگاه، نمونه‌ها در فریز در دمای ۴۰- درجه سانتیگراد تا زمان عصاره‌گیری نگهداری شدند. برای تهیه عصاره، ابتدا نمونه‌ها با استفاده از آب سرد، انجماد زدایی گردید. ارگان‌های داخلی بدن آن جدا و دیواره بدن پاک شده و سپس به تکه‌های کوچک ۱ سانتی متری خرد گردید. نمونه‌های خرد شده به ارلن منتقل و به آنها ۱۰۰۰ سی سی متانول (مجللی، ایران) اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه در دمای اتاق قرارداد شد. پس از ۷۲ ساعت محلول به دست آمده صاف شده تا ذرات نمونه از آن جدا شود. حلال عصاره بدست آمده با روتاری (BUCHI، سوئیس)، در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد و دور ۱۴۵، جدا شد. سپس به اندازه حجم نمونه به دست آمده، اتر اضافه گردید تا دو فاز آبی و اتری تشکیل شود. توسط دکانتور دو فاز فوق جدا شد. از فاز رویی (عصاره آبی) جهت تهیه محلول‌هایی مورد نظر (۰/۵، ۱ و ۲ درصد) با آب مقطر استفاده گردید.

## ۳.۲. آزمون‌های میکروبی

برای بررسی وضعیت میکروبی نمونه در طی دوره نگهداری باکتریهای سودوموناس، باکتری‌های تولید کننده گاز سولفید هیدروژن، انتروباکتریاسه و همچنین بارباکتریایی کل مورد بررسی قرار گرفتند. براساس روش APHA (Downes and Ito, 2001)، بعد از آماده سازی نمونه‌ها به منظور تهیه رقت‌های سریال از نمونه‌های مورد نظر، مقدار ۱ میلی لیتر از نمونه هموزن برداشته شده و به لوله آزمایش حاوی ۹

سه سوپه از باکتری اشرشیاکلی مورد بررسی قرار گرفته است مشخص گردید که خیار دریایی دارای توانایی قابل ملاحظه‌ای در مهار باکتریهای مذکور می‌باشد. این توانایی توسط پژوهش فرجامی و همکاران نیز به اثبات رسیده است (Farjami et al., 2014). همچنین در بررسی‌های انجام شده بر ترکیبات بدست آمده از سامانه گوارشی، غددجنسی، ماهیچه و غدد تولید مثلی و دیگر قسمت‌های بدن خیار دریایی *Cucumaria frondosa* علاوه بر اثرهای ضدباکتری، اثر آنتی‌اکسیدانی این عصاره‌ها نیز نشان داده شده است (Hawa et al., 1999; Sugawara et al., 2006).

پرورش ماهی، راهی جهت عرضه ماهی در طول تمام فصول سال به بازار می‌باشد. در این میان قزل‌آلای رنگین کمان از مهم‌ترین ماهیان پرورشی ایران محسوب می‌گردد که از بازار پسندی بالایی برخوردار است. ماهیان آب شیرین بخاطر ترکیبات بیولوژیکی‌شان، محصولاتی بسیار فسادپذیر می‌باشند. بنابراین استفاده از روشی که بتواند کیفیت این ماهیان را بدون کمترین تغییرات حفظ نماید، ضروری می‌باشد. هدف از این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد) عصاره خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* بر کیفیت میکروبی فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در زمان نگهداری در یخچال می‌باشد.

## ۲. مواد و روشها

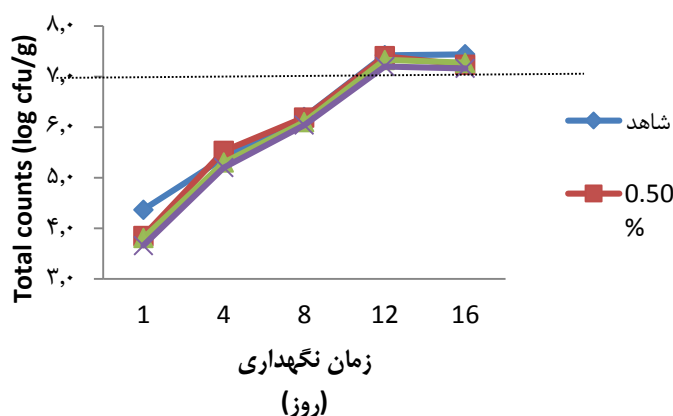
### ۱.۲. تهیه و آماده‌سازی ماهی

۱۵ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزن  $50 \pm 350$  گرم از کارگاه خصوصی پرورش ماهی واقع در مهرشهر کرج، بطور تصادفی و بصورت زنده در آذر ماه ۱۳۹۱ تهیه گردید. سپس ماهیان تازه در داخل جعبه‌های یونولیت حاوی یخ (نسبت ۳ به ۱ از یخ و نمونه) قرار داده شد و به آزمایشگاه فرآوری آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل گردید (تقریباً نیم ساعت). به منظور جداسازی مواد زائد خارجی از سطح بدن ماهیان، شستشوی آنها با آب شیرین انجام پذیرفت. پس از سرزنی، تخلیه شکمی و فیله نمودن، ماهیان

دانکن در سطح اعتماد ۵ درصد نیز صورت پذیرفت.

### ۳. نتایج

مجموع کل باکتریها: مقادیر شمارش کل باکتریهای قابل رویت در فیله های و کیوم و مواجهه با عصاره خیار دریایی ماهی قزل آلابی رنگین کمان در شرایط نگهداری در یخچال در شکل ۱ آمده است. با توجه به شکل مشخص است که استفاده عصاره باعث می شود شمارش کل باکتریایی کمتر از نمونه های شاهد باشد اما این کاهش در سطح ۵ درصد معنی دار نبود. به گونه ای که تعداد کل باکتریها در گروه شاهد به تدریج با سپری شدن دوره نگهداری افزایش پیدا کرد و در روز ۱۶ نگهداری به بالاترین میزان خود رسید. در تمام طول دوره نگهداری بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).



شکل ۱- تغییرات بار کل باکتریایی در نمونه های ماهی قزل آلابی کمان غوطه ور شده در محلول حاوی غلظت های مختلف عصاره خیار دریایی (۰، ۰.۵، ۱، ۲ درصد) (▲) و (x) در زمان های مختلف نگهداری در یخچال (۴ °C)

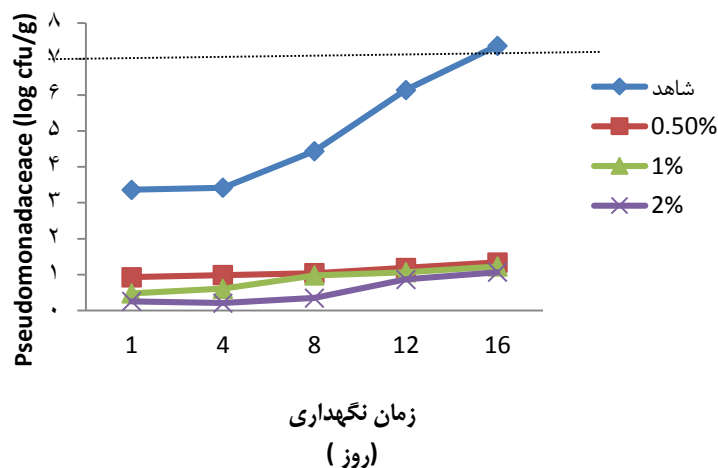
۲درصد در روز ۴ آزمایش بود. بین مقادیر باکتری سودوموناس در نمونه های تیمار شده با عصاره با نمونه های شاهد در طول دوره نگهداری اختلاف معنی داری وجود داشت و مقدار این باکتری در نمونه های تیمار شده با عصاره بطور معنی داری کمتر از نمونه های شاهد بود.

میلی لیتر آب مقطر استریل منتقل گردید تا رقت ۰/۱ بدست آید و سپس از رقت های مورد نظر آزمایشات مربوط به سنجش گروه های باکتریایی مورد نظر انجام شد. در خصوص بار باکتریایی کل، نمونه بر روی Plate count agar کشت داده شد و به مدت ۱ روز در گرمخانه و در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس پلیت های مذکور مورد شمارش باکتریایی طبق قوانین شمارش قرار گرفتند.

### ۴.۲. آزمونهای آماری

جهت تجزیه و تحلیل آماری داده ها از نرم افزار SPSS استفاده شد. آزمون کولموگروف-اسمیرنوف برای تعیین نرمال بودن داده ها و تجزیه واریانس برای تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین هر شاخص و تأثیر اثر اصلی انجام شد. آزمون

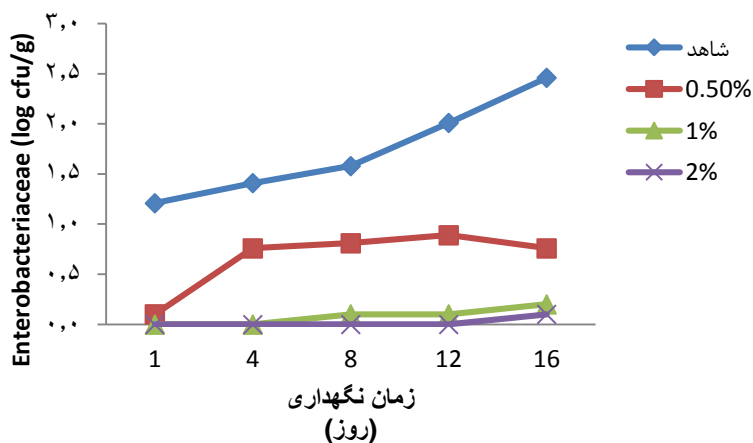
باکتریهای سودوموناس: آهنگ تغییرات باکتریها در گروه شاهد از روز آغازین آزمایش تا روز ۱۶ نگهداری در یخچال همزمان با افزایش مدت ماندگاری افزایش یافت به گونه ای که در روز ۱۶ به  $7.37 \log \text{ cfu/g}$  یعنی بیشترین مقدار در تمام گروه ها رسید (شکل ۲). کمترین مقدار نیز در غلظت



شکل ۲- تغییرات بار باکتریایی سودوموناس در نمونه های ماهی قزل آلا رنگین کمان غوطه ور شده در محلول حاوی غلظت های مختلف عصاره خیار دریایی (۰، ۰.۵، ۱، ۲ درصد) (●، ■، ▲، ×) در زمان های مختلف نگهداری در یخچال (۴ °C)

غلظت ۱ درصد تا روز ۴ و در غلظت ۲ درصد تا روز ۱۲ هیچ کلونی باکتری مشاهده نشد. مقدار انتروباکتریاسه در طول دوره نگهداری در نمونه های تیمار شده با عصاره بطور معنی داری کمتر از نمونه های شاهد بود (شکل ۳).

باکتری های انتروباکتریاسه: تعداد باکتریهای انتروباکتریاسه چه در گروه کنترل و چه در گروه های آغشته با عصاره خیار دریایی افزایش چشمگیری نداشت به گونه ای که در گروه کنترل در روز ۱۶ نگهداری در یخچال به حداکثر مقدار خود یعنی log ۲/۴۶ cfu/g رسید. نکته ی جالب این است که در

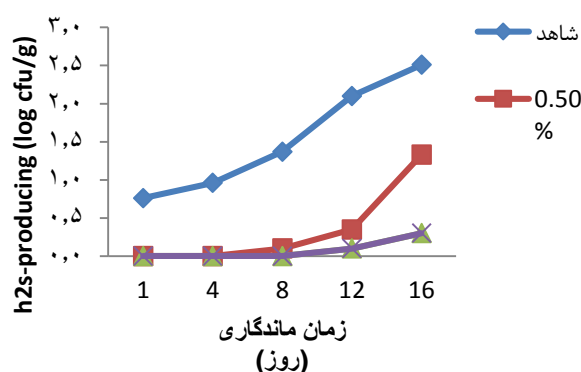


شکل ۳- تغییرات بار باکتریایی انتروباکتریاسه در نمونه های ماهی قزل آلا رنگین کمان غوطه ور شده در محلول حاوی غلظت های مختلف عصاره خیار دریایی (۰، ۰.۵، ۱، ۲ درصد) (●، ■، ▲، ×) در زمان های مختلف نگهداری در یخچال (۴ °C)

پیدا شود که وابسته به شرایط نگهداری و دستکاری است (Gonzalez- Fandosa *et al.*, 2004). شمارش کل باکتری در روز دوازدهم نگهداری برای گروه‌های شاهد و ۰/۵، و ۲ درصد به مرز  $\log \text{cfu/g}$  ۷/۰ رسید که طبق نظر ICMSF (۱۹۸۶) حد مجاز بار باکتریایی برای ماهیان آب شور و شیرین تعریف شده است. بر اساس داده‌ها در ماهی قزل آلابی رنگین کمان شمارش کل نمونه‌های شاهد و ۰/۱ درصد، و ۱ درصد و ۲ درصد در هفته آخر آزمایش غیر قابل مصرف می‌باشند. عصاره خیار دریایی دارای ترکیباتی چون ساپونین، گلیکوزیدهای تری‌ترپنی تری‌سولفات<sup>۸</sup> و غیره دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی هستند. Mokhlesi و همکاران (۲۰۱۱) به نتایج مشابهی دست یافتند. آنها به بررسی اثر ضد باکتریایی، ضد قارچی و سیتوتوکسیکی عصاره‌های متیل استاتی، متانولی و متانول-آبی استخراج شده از خیار دریایی *Bohadschia marmorata* از خلیج فارس بر روی *Candida albicans*، *Aspergillus niger*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و لارو *Artemia salina* پرداختند. براساس نتایج بدست آمده از پژوهش آنها، عصاره متانولی بدست آمده از دیواره بدن و متانول-آبی بدست آمده از قسمت *cuvierian*، دارای اثر ضد قارچی معنی‌داری در برابر *A. niger* و *C. albicans* بودند ولی خاصیت ضد ویروسی معنی‌داری از آنها دیده نشد. عصاره متانول-آبی *cuvierian* همچنین دارای اثر سیتو توکسیکی معنی‌داری بود.

باکتریهای سودوموناس: این میکرو ارگانیسم‌ها جزء میکرو ارگانیسم‌های سرما دوست محسوب می‌شوند که می‌توانند در دمای یخچال رشد کنند. دلیل استفاده از دمای یخچال در این تحقیق شمارش این باکتریها بالاترین مقدار را در قزل آلابی بودند. برای نمونه‌های شاهد ۱۶ روز طول کشید تا به حد مجاز  $\log \text{cfu/g}$  ۷ رسید ولی برای نمونه‌های مواجهه با عصاره خیار دریایی جمعیت سودوموناس هرگز در طول ۱۶ روز نگهداری به این حد نرسید. سودوموناس در بین باکتری‌های گرم منفی مقاومت خیلی کمی به

باکتریهای تولید کننده گاز سولفید هیدروژن<sup>۶</sup> نتایج نشان داد که در گروه شاهد افزایش تدریجی باکتریهای تولید کننده سولفید هیدروژن در طی دوره نگهداری مشاهده شد. در گروه ۰/۵ درصد تا روز ۸ نگهداری در یخچال تعداد این باکتریها کم می‌باشد اما بعد از این دوره تعداد آنها به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد و در روز ۱۶ نگهداری به بیشترین مقدار خود یعنی  $\log \text{cfu/g}$  ۲/۵۱ رسید (شکل ۴). در غلظتهای ۱ درصد و ۲ درصد تا روز ۸ هیچ باکتری مشاهده نشد. همان گونه که مشاهده می‌شود اختلاف معنی‌داری بین گروه ۱ درصد و ۲ درصد مشاهده نشد.



شکل ۴- تغییرات بار باکتریایی *H2S-Producing bacteria* در نمونه‌های ماهی قزل آلابی رنگین کمان غوطه‌ور شده در محلول حاوی غلظت‌های مختلف عصاره خیار دریایی (۰/۵، (♦)۰، ۱ درصد (■)، ۲ درصد (▲) و ۴ درصد (×)) در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (۴ °C)

#### ۴. بحث و نتیجه گیری

شمارش کل میکروبی<sup>۷</sup>: هر چند بطور گسترده‌ای پذیرفته شده که بار میکروبی اولیه ماهیان آب شیرین متفاوت می‌باشد و به عواملی چون وضعیت آب و دمای محیط پرورش وابسته است، اما انتشارات علمی در دسترس در مورد گونه‌های مختلف آب شیرین (تیلایپا، قزل آلابی رنگین کمان، سوف نقره‌ای) شمار بار باکتریایی معمول را در هنگام صید ۱۰۶-۱۰۲  $\text{cfu/g}$  گزارش کرده‌اند (Chytiri *et al.*, 2004). شمار بالایی از بار میکروبی می‌تواند در محصول خام

<sup>8</sup> trisulfated triterpene glycosides

<sup>6</sup> H<sub>2</sub>S-producing bacteria

<sup>7</sup> Total counts

بود (Gennari *et al.*, 1999; Koutsoumanis *et al.* 1999; Tejada and Huidobro, 2002). اگرچه این گروه می‌توانند در دمای پایین رشد کنند اما فراوانی آنها در مدت نگهداری در یخچال کاهش می‌یابد شاید به این دلیل باشد که سرعت رشد آنها کمتر از دیگر باکتریهای گرم منفی سایکروتروفیک عامل فساد است. پتانسیل فساد انتروباکتریاسه بویژه در مواردی که آلودگی آب یا تاخیر در سردسازی بعد از صید اتفاق افتد، قابل توجه و دارای اهمیت است.

باکتریهای تولیدکننده سولفید هیدروژن<sup>۹</sup>: این باکتریها به دلیل ایجاد شرایط بی‌هوازی (بسته بندی در خلا) در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند (Chytiri *et al.*, 2004). از آنجا که باکتریهای تولیدکننده سولفید هیدروژن و سودوموناس ها دو میکرو ارگانیسم سرما گرای رقابتی هستند (Koutsoumanis *et al.*, 1999) فاز تاخیری اولیه باکتریهای تولیدکننده سولفید هیدروژن ممکن است در نتیجه اثر بازدارندگی باکتریهای سودوموناس باشد این مسئله به تحقیق توسط Gram and Melchiorson (۱۹۹۶) گزارش شده است و سودوموناس می‌تواند به دلیل توانایی تولید siderophores (ماکروفاژهای حاوی هموسیدرین) مانع رشد باکتریهای تولیدکننده سولفید هیدروژن شود. با توجه به اطلاعات به دست آمده در هیچکدام از گروه‌های آزمایش میزان آن به حداکثر مقدار مجاز (ICMSF, 1986)  $\log \text{ cfu/g}$  (۷/۰) نرسیدند.

غوطه‌وری نمونه‌ها در عصاره خیار دریایی ۲ درصد بطور معنی داری رشد میکروبی را به تاخیر می‌اندازد و باعث افزایش عمر ماندگاری محصول می‌شود.

عصاره خیار دریایی دارند (Chytiri *et al.*, 2002). پس از ۱۰ روز نگهداری فیله‌های قزل‌آلای رنگین کمان در شرایط یخچال به حد مجاز  $7 \log \text{ cfu/g}$  رسیدند. طی پژوهشی، Abraham و همکاران (۲۰۰۲) اثر ضد باکتریایی و ضدقارچی عصاره الکلی استخراج شده از گونه‌های *Actinopyga echinites*، *H. scabra* و *Holothuria atra*، *A. miliaris* دریایی را بر روی باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli*، *Salmonella typhi*، *Klebsiella pneumonia*، *Vibrio Harvey* و قارچ عامل فساد در ماهیان، *Aspergillus sp.* بررسی کردند و طبق نتایج به دست آمده عصاره‌های استخراج شده از *H. scabra*، *A. miliaris* و *Holothuria atra* اثرات مهارکنندگی مختلفی را از خود نشان دادند ولی *Bacillus sp.* تحت تاثیر عصاره‌های holothurian قرار نگرفت.

باکتریهای انتروباکتریاسه: انتروباکتریاسه بخشی از فلور میکروبی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تازه نگهداری شده در شرایط سرد در طول دوره نگهداری است. در این تحقیق جمعیت باکتری‌های انتروباکتریاسه در گروه شاهد و در گروه‌های دیگر هرگز به  $7 \log \text{ cfu/g}$  حتی در روز ۱۶ نگهداری نرسید. برای گروه شاهد در انتهای آزمایش  $2/46 \log \text{ cfu/g}$  بود و این نشان از عدم آلودگی ثانویه یا تاخیر در سرد کردن ماهی بود. همانطور که بررسی شد باکتریهای این گروه کمتر از دیگر گروه‌های مورد مطالعه بود که در تایید با نتایج گزارش شده با ماهیان تازه مدیترانه‌ای در انتهای مدت ماندگاری محصول

## References

Abraham, T.J., Nagarajan, J., Shanmugan, S.A., 2001. Antimicrobial substances of potential biomedical importance from Holothurian species. *Indian Journal of Marine Sciences*, 31, 161-164.

Ackman, R.G., McLeod, C., 1988. Total lipids and nutritionally important fatty acids of some Nova Scotia fish and shell fish food products. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 21, 309 – 398.

Balachandran, K.K., 2001. Onboard handling and preservation in postharvest technology of

<sup>9</sup> H<sub>2</sub>S-Producing bacteria

- fish and fish product. Daya Publishing House. Delhi. India. 439 p.
- Bruckner, A.W., Johnson, K.A., Field, J.D., 2003. Conservation strategies for sea cucumbers: Can a CITES Appendix II listing promote sustainable international trade. *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, 18, 24- 33.
- Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I.N., kontominas, M.G., 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aqua cultured rainbow trout. *Journal of Food Microbiology*, 21157-165.
- Dragoev, S.G., Kiosev, D.D., Danchev, S.A., Ioncheva, I., Genov, N.S., 1998. Study on the oxidative processes in frozen fish. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 4, 55-65.
- Downes, F.P., Ito, K., 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods (4<sup>th</sup> Ed.). APHA (American Public Health Association), Washington, DC. USA.
- Evans, J.A., 2008. Frozen food science and technology. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK.
- FAO, 2002. Quality and quality changes in fresh fish. (H. Huss, Ed.) FAO Fisheries Technical Paper No.384, Food and Agriculture Organization of United Nations.
- Garret, E.S., Jahncke, M.L., Tennyson, J.M., 1997. Microbiological hazards and food safety issues associated with sea foods. *Journal of Food Protection*, 60, 1409-1415.
- Gennari, M., Tomaselli, S., Cotrona, V., 1999. The micro flora of fresh and spoiled sardines (*Sardina pilchardus*) caught in Adriatic (Mediterranean) sea and stored in ice. *Journal of Food Microbiology*, 16, 15-28.
- Gram, L., Melchiorson, J., 1996. Interaction between fish spoilage bacteria *Pseudomonas* spp. and *S. Putrefaciens* in fish extracts and on fish tissue. *Journal of Applied Bacteriology*, 80, 589-595.
- Gonzalez-Fandosa, E., Garcia-Linares, M.C., Villarino-Rodriguez, A., Garcha-Arias, M.T., Garcia-Fernandez, M.C., 2004. Evaluation of the microbiological safety and sensory quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processed by the sous vide method. *Journal of Food Microbiology*, 21, 193-201.
- Hawa, I., Zulaikah, M., Jamaludin, M., Zainal Abidin, A.A., Kaswandi, M.A., Ridzwan, B.H., 1999. The potential of the coelomic fluid in sea cucumber as an antioxidant. *Malaysian Journal of Nutrition*, 5, 55-59.
- ICMSF, 1989. Sampling for microbiological analysis (2nd ed.). In Microorganisms in foods, Vol. 2 Toronto, Canada: University of Toronto Press: The International Commission on Microbiological Specifications for Foods Karahadian, C. and Lindsay, R. C. Role of oxidative processes in the formation of and stability of fish flavors. In: Flavor Chemistry Trends and Developments, R. Teranishi, R. G. Buttery and F. Shahidi (Eds.), American Chemical Society, Washington, DC. 1986: PP. 60-65.
- James, D.B., 2001. Twenty sea cucumber from seas around India. *Naga, ICLARM Quarterly*, 24(1&2), 48.
- Jeon, Y.J., Kamil, J.Y.V.A., Shahidi, F., 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 5167-5178.
- Koutsoumanis, K., Lambropoulou, K., Nychas, G.J.E., 1999. Biogenic amines and sensory changes associated with the microbial Flora of Mediterranean gilt-head sea bream (*Sparus aurata*) stored aerobically at 0, 8, and 15\_C. *Journal of Food Protection*, 62, 398-402.
- Mokhlesi, A., Saeidnia, S., Gohari, A.R., Shahverdi, A.R., Mollazadeh-Moghaddam, K., Eshaghi, N., 2011. Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities *Bohadschia marmorata*, a sea cucumber from North coastal of Persian Gulf. *Pharmacology on Line*, 3, 1029-1038.
- Razavi Shiarazim H., 2001. Sea food processing technology. Naghshe Mehr Publication, 292 P.
- Sugawara, T., Zaima, N., Yamamoto, A., Sakai, S., Noguchi, R., Hirata, T., 2006. Isolation of sphingoid bases of sea cucumber cerebroside and their cytotoxicity against human colon cancer cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70, 290612.
- Sathivel, S., Liu, Q., Huang, J., Prinyawiwatkul, W., 2007. The Influence of chitosan glazing on the quality of skinless Pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. *Journal of Food Engineering*, 83, 366-373.



- Tejada, M., Huidobro, A., 2002. Quality of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*) during ice storage related to the slaughter method and gutting. *European Food Research and Technology*, 215, 1-7
- Yin, M. C., Cheng, W. S., 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. *Meat Science*, 63, 23-28

