# بررسی تأثیر غوطه‌وری فیله‌ی ماهی فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) در عصاره‌ی سیر، بر برخی فاکتورهای کیفیت گوشت نگهداری شده در یخچال

زهرا غیاثوند[1*]، راضیه میهن[2]، فریبرز قجقی[3] و رضا چنگیزی[4]

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۶ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۹


## چکیده

به منظور مطالعه‌ی اثر عصاره‌ی سیر بر تازه‌مانی فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای، تعداد ۲۰ قطعه ماهی خریداری و پس از تهیه‌ی فیله با وزن متوسط ۱۰۰ گرم، آزمایش انجام شد. طرح آماری شامل سه تیمار آزمایشی هر یک در سه تکرار به ترتیب شامل ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد عصاره‌ی سیر و یک تیمار شاهد بدون عصاره‌ی سیر اجرا گردید. عصاره‌ی سیر در آب مقطر حل شده و سپس فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای درون حمام محلول تهیه شده به مدت ۱۰ دقیقه غوطه‌ور شدند. سپس همه‌ی نمونه‌ها درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی قرار داده شده و به یخچال با دمای ۱±۴ درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل شده و به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. در فواصل زمانی هفت روزه از فیله‌ها نمونه‌برداری به عمل آمد. نمونه‌ها برای اندازه‌گیری شاخص‌های کیفی به آزمایشگاه مجهز منتقل شدند. نتایج این مطالعه به وضوح حاکی از تأثیر معنی‌دار عصاره‌ی سیر بر بهبود تازه‌مانی فیله‌ی ماهی بود. بر این اساس بهترین نتایج مربوط به کاربرد عصاره‌ی سیر ۱/۵ درصد بود. بدین ترتیب شاخص تعداد کل باکتری‌های قابل مشاهده، تعداد کل باکتری‌های سرمادوست، عدد پراکساید، شاخص تیوباربیتوریک اسید، مقدار مواد ازته فرار، pH و مقدار اسیدهای چرب آزاد در تمامی موارد بهبود نشان داد. در نهایت با اندکی محافظه‌کاری طول دوره‌ی ۱۴ روزه با نسبت عصاره‌ی سیر ۱/۵درصد، طی دوره‌ی نگهداری در یخچال پیشنهاد می‌گردد.


**کلمات کلیدی:** ماهی کپور نقره‌ای، شاخص‌های کیفی، عصاره‌ی سیر، ماندگاری

## مقدمه

غذا از مهمترین فاکتورهای ضروری برای رشد و بقای زندگی است. یکی از اقلام غذایی که می‌تواند در برگیرنده‌ی اکثر نیازهای بدن باشد ماهی و به طور کلی آبزیان هستند که به خاطر ترکیبات خود به خصوص وجود اسیدهای چرب ارزشمندی به نام امگا ۳ به عنوان غذای سلامتی معروف شده‌اند (رضوی شیرازی ۱۳۸۰).

گوشت ماهی سرشار از پروتئین، ویتامین‌ها و مواد مورد نیاز بدن است، به عقیده‌ی کارشناسان و صاحب نظران، آبزیان می‌توانند به عنوان یک منبع مطمئن و کاهش‌دهنده‌ی اثرات سوء تغذیه مورد استفاده قرار گیرند. آبزیان منبع بسیار حیاتی برای غذای بشر به شمار می‌روند به طوری که حدود ۱۶ درصد پروتئین مصرفی انسان را تشکیل می‌دهند (Dalgaard and Mejlholm 2002).

ماده‌ی غذایی می‌تواند از طریق واکنش‌های شیمیایی، میکروبیولوژیکی و آسیب‌های فیزیکی فاسد شود. با این وجود، علت اصلی فساد غذا رشد و متابولیسم میکروبی

[1*] گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران E-mail: zaghiasvand@yahoo.com (نویسنده‌ی مسئول)

[2] دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد علوم صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر

[3] استادیار گروه شیلات، دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر

[4] استادیار گروه شیلات، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل

است که منجر به تشکیل ترکیباتی با بوی نامطلوب و ناخوشایند می‌شود. استفاده از فرآورده‌های طبیعی مثل ترکیب‌های ضدمیکروب راه جالبی برای کنترل باکتری‌های پاتوژن و توسعه‌ی زمان ماندگاری غذاهای فرآوری شده باشد (Oussalah et al. 2007). گروهی از مصرف‌کنندگان خواهان استفاده از غذاهای طبیعی و نیز بسته‌بندی شده در مواد مناسب به لحاظ زیست محیطی می‌باشند (Campos et al. 2011, Kuorwel et al. 2011, Wong et al. 1992). برای برآورده کردن این خواسته یکی از چالش‌های بزرگ در صنایع غذایی کاهش افزودنی‌های شیمیایی رایج و استفاده از ترکیب‌های طبیعی در فرمولاسیون غذاست (Sánchez-González et al. 2011). اسانس‌های گیاهی از جمله ترکیب‌های طبیعی هستند که خواص ضدمیکروبی آن‌ها توسط محقق‌های مختلف به اثبات رسیده است و آن‌ها می‌توانند به‌عنوان یک منبع خوب از عوامل ضدمیکروب در برابر پاتوژن‌های غذا به کار گرفته شوند (Dalgaard and Mejlholm 2002, Oussalah et al. 2007).

از نکات بسیار مهم، نگهداری آبزیان برای مدت طولانی با کم‌ترین تغییرات در ترکیب شیمیایی و جلوگیری از فساد آن‌ها می‌باشد. جهت جلوگیری یا به تعویق انداختن فساد ماهی و فراورده‌های آن، راهکارهای متعددی ارائه شده است که از آن جمله می‌توان به کنترل درجه‌ی حرارت و کاهش آن، بسته‌بندی تحت خلاء، بسته‌بندی در اتمسفر اصلاح شده و افزودن آنتی‌اکسیدان اشاره نمود. امروزه مواد ضدمیکروبی طبیعی متعددی شناخته شده است. سیر یک نوع آنتی‌بیوتیک با کاربرد گسترده می‌باشد. تعداد زیادی از انواع باکتری‌ها از جمله گرم مثبت و گرم منفی را از بین می‌برد. سیر گسترده‌ترین طیف آنتی‌بیوتیکی را دارا می‌باشد که ما می‌شناسیم. سیر ضدباکتری، قارچ، انگل، تک‌یاخته و ویروس می‌باشد. Allicin به عنوان ماده‌ی فعال در سیر است که فعالیت ضدمیکروبی بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی دارد (علی‌پوریگانه و همکاران ۱۳۸۸). سیر به عنوان ماده‌ی مؤثر در کاهش دادن رشد پاتوژن‌های که شامل: *S.aureus* ، *S.alnus* ، *S.typhi* ، *E.coli* ، *L.monocytogenes* ، *A.niger* ، *Acariparasitus* ، *psedumanas aeruginosa* ، *proteus morganni* در گوشت یخ زده است، عصاره‌ی سیر اثر بازدارندگی بر رشد آلودگی‌های میکروب‌های هوازی، مزوفیل و کلی‌فرم مدفوعی دارد (Banerjee and Sarkar 2003, Bernbom et al. 2009, Lu et al. 2011, Paludan-Müller et al. 1999).

نتایج مطالعات مختلف عملکرد اختصاصی اسانس‌ها در جلوگیری از رشد طیف وسیعی از میکروب‌ها را ثابت می‌کند (Bassolé et al. 2011, Jrah Harzallah et al. 2011, Weerakkody et al. 2010). برخی روش‌های صحیح و استاندارد زمان ماندگاری فیله‌ها با حفظ کیفیت اولیه‌ی بیش‌تر، شامل: آماده‌سازی ماهی شامل بریدن شکم، خارج کردن آلایش‌های غیر خوراکی، شستشوی ماهی با آب سرد آشامیدنی یا آب پاک سرد دریا، بهره-گیری از دستگاه‌ها و شرایط بهینه‌ی بهداشتی، بسته‌بندی ماهیان چرب با گازهای بی اثر، لعاب‌دار کردن فیله‌ها و پوشش دادن با استفاده از اسانس‌ها (سلطانی و همکاران ۱۳۹۲). انتخاب مناسب اسانس بر اساس ترکیبات شیمیایی آن برای اهداف ضد میکروبی خاص مهم است. بنابراین هدف از مطالعه‌ی حاضر با توجه به تأمین ماهی باکیفیت و کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به جای آنتی-اکسیدهای مصنوعی برای افزایش زمان ماندگاری، بررسی اثر ضدمیکروبی و ضد اکسیدانی عصاره‌ی سیر در کیفیت فیله‌ی فیتوفاگ هنگام نگهداری در یخچال (۴°C) است.

## مواد و روش کار

عصاره‌ی گیاه سیر با درجه‌ی خلوص ۹۵ درصد، از شرکت گیاه اسانس گرگان تهیه شد. مطابق با روش عصاره‌گیری به کار گرفته شده در این شرکت، میزان ماده‌ی خشک سیر ۴ درصد، وزن مخصوص ۰/۹۵۴ گرم بر سانتی‌متر مکعب و نسبت عصاره‌گیری ۱ به ۵ بود.

تعداد ۲۰ عدد ماهی فیتوفاگ با میانگین وزن ۱۰۰۰ گرم، از مرکز خرید ماهی خریداری و درون جعبه‌های حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شد. سپس نمونه‌های ماهی با آب قابل شرب شست و شو داده شده و تخلیه‌ی شکمی و فلس‌کنی روی ماهی انجام گرفت. پس از تخلیه‌ی شکمی و سر زنی فیله‌هایی، با وزن تقریبی ۱۰۰ گرم از هر ماهی تهیه شد. سه عدد فیله‌ی ماهی به عنوان یک تیمار بدون پوشش (تیمار شاهد) در نظر گرفته و در خلاء بسته‌بندی شدند. بسته‌ها از جنس پلی‌اتیلن با دانسیته‌ی کم ۷۵µm ضخامت دارند. در این تحقیق چهار تیمار طراحی گردید. تیمار اول نمونه‌ی فیله‌ی ماهی بدون کاربرد عصاره‌ی سیر و تیمارهای دوم تا چهارم شامل حاوی به ترتیب ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد عصاره‌ی سیر بودند. تعداد تکرار در هر تیمار معادل ۳ تعیین گردید. تمامی نمونه‌ها در شرایط یکسان در یخچال با دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۱ روز نگهداری شده و در روزهای صفر، ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ از آن‌ها نمونه‌برداری به عمل آمد. عصاره‌ی سیر با نسبت ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد (وزنی/حجمی ) در آب مقطر به طور جداگانه تهیه و سپس فیله‌های ماهی کپور به نسبت ۱ به ۲/۵ (وزن ماهی به محلول تهیه شده برای غوطه‌وری) به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط آزمایشگاه (۱۸ درجه‌ی سانتی‌گراد ) در محلول تهیه شده قرار گرفتند. همه‌ی نمونه‌ها داخل ظروف پلی‌اتیلن قرار داده شده و به یخچال با دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. این تیمارها به صورت دوره‌ای در فواصل زمانی معین (در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ ) به منظور تعیین شاخص‌های کیفی (شیمیایی و میکروبیولوژیکی ) مورد آزمایش قرار گرفتند (علی‌بیگی و همکاران ۱۳۹۲).

برای شمارش باکتریایی نمونه‌ها، ابتدا ۱۰ گرم از نمونه‌ی گوشت در شرایط استریل با ۹۰ میلی‌لیتر محلول نمک طعام ۰/۸۵ درصد با کمک همزن هموژن شد. از این محلول جهت تهیه‌ی رقت‌های متوالی و شمارش باکتریایی مورد نظر با قرار دادن در محیط کشت و دمای مخصوص هر باکتری استفاده گردید. تعداد باکتری‌های کل (TVC) و باکتری‌های سرما دوست (PTC) در محیط پلیت کانت آگار (Plate count agar) (Quelab,canada) به ترتیب در دماهای ۳۷C° به مدت ۲ روز و ۱۰C° به مدت ۷ روز با شمارش کلنی‌های موجود بر روی پلیت انجام گرفت (Mahmoudzadeh et al. 2010) تمامی شمارش‌ها به صورت log10 cfu/g گزارش گردید (Kongkiattikajorn 2013).

در آزمون پراکسید پس از افزودن مقادیر کافی از روغن در ارلن مایر، اسید استیک کلروفرمی (نسبت ۳ به ۲)، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی-لیتر آب مقطر به آن افزوده شد. محلول حاصل در حضور معرف نشاسته ۱ درصد با محلول تیوسولفات ۰/۰۰۱ نرمال تیتر گردید. نتایج آزمون پراکسید بر حسب میلی-اکی‌والان اکسیژن در هزار گرم از بافت ماهی گزارش شد (Egan et al. 1981).

برای اندازه‌گیری شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBA) ابتدا ۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه داخل یک بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری وزن شده و سپس نمونه در مقدار کمی از ۱- بوتانل حل و با همین حلال به حجم رسانیده می‌شود. با استفاده از یک پی‌پت ۵ میلی‌لیتر از نمونه به یک لوله‌ی آزمایش خشک انتقال داده شده و به وسیله‌ی پی‌پت ۵ میلی‌لیتر از محلول واکنش‌گر را به آن اضافه کرده و سپس لوله‌ی آزمایش را با درب شیشه‌ای سمباده‌ای بسته و محتویات درونی را تکان داده تا کاملاً با همدیگر مخلوط شوند. سپس لوله‌ی آزمایش در داخل یک حمام آب مجهز به ترموستات در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده می‌شود. پس از ۱۲۰ دقیقه لوله‌ی آزمایش را از حمام آب خارج کرده و به مدت ۱۰ دقیقه آن را زیر جریان شیر آب قرار داده تا به دمای محیط برسد. میزان جذب محلول واکنش را در یک سل ۱۰ میلی‌لیتری در طول موج ۵۳۰ نانومتر با استفاده از آب مقطر به عنوان شاهد اندازه‌گیری نموده و با استفاده از فرمول عدد TBA محاسبه می‌گردد (Egan et al. 1981).

جهت اندازه‌گیری مواد ازته فرار (TVN)، به بالن تقطیر کلدال ۱۰ گرم از نمونه گوشت، ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب و چند قطعه سنگ جوش اضافه می‌شود. در یک ارلن مایر به ظرفیت ۵۰۰ تا ۷۰۰ سانتی‌متر مکعب که به عنوان ظرف گیرنده زیر قسمت سرد کننده‌ی دستگاه تقطیر قرار می‌گیرد ۲۵ سانتی‌متر مکعب از محلول ۲ درصد اسید بوریک و چند قطره معرف متیل قرمز اضافه می‌گردد. پس از اتصال دستگاه تقطیر محتوی بالن تقطیر را حرارت داده به طوری که در مدت ۱۰ دقیقه به جوش آید و با همین مقدار حرارت مدت ۲۵ دقیقه عمل تقطیر ادامه خواهد یافت. سپس انتهای قسمت سردکننده‌ی دستگاه تقطیر را به وسیله‌ی لوله و یا رابطی به داخل محلول اسید بوریک مربوط نموده و پس از آن حرارت را قطع کرده داخل سرد کننده را با آب مقطر شسته و محلول تقطیر شده، به وسیله‌ی اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تیتره خواهد شد. برای محاسبه، مقدار مصرف اسیدسولفوریک را در ۱۴ ضرب کرده تا مقدار ازت فرار برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده‌ی گوشتی محاسبه شود (Jeon et al. 2002).

در حدود ۲۰ گرم از نمونه توزین و با مقدار کافی کلروفرم در یک هم‌زن مکانیکی کاملاً مخلوط می‌شود. سپس از روی کاغذ صافی عبور داده و محلول صاف شده از روی یک کاغذ صافی دیگر که حاوی سولفات سدیم خشک است عبور داده می‌شود. حجم معلومی از محلول صاف شده به یک بالن که قبلاً در اتوکلاو خشک و پس از سرد شدن در دسیکاتور توزین شده است منتقل می‌گردد. پس از تبخیر کلروفرم مقدار چربی در آن حجم (نسبت چربی در حلال) تعیین می‌گردد. ۲۵ میلی‌لیتر از محلول صاف شده به یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل شده و ۲۵ میلی‌لیتر الکل خنثی شده به آن افزوده خواهد شد. سپس می‌توان اسیدهای چرب آزاد را به وسیله‌ی محلول سود ۰/۱ نرمال در برابر معرف فنل فتالئین خنثی نمود. اسیدهای چرب آزاد برحسب اسید اولییک محاسبه شده و یک سانتی‌متر مکعب محلول سود ۰/۱ نرمال معادل ۰/۲۷۲ گرم اسید اولییک است (Egan et al. 1981).

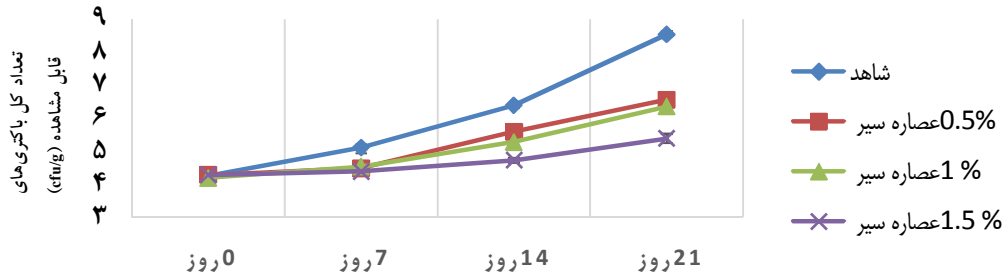
جهت اندازه گیری pH ، ۵ گرم از نمونه‌ی ماهی هموژن شده و با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط می‌گردد. در نهایت pH نمونه با کمک دستگاه pH متر که در pH ۴ و ۷ استاندارد شده است اندازه‌گیری می‌شود (Haghparast et al. 2010).

تجزیه و تحلیل آماری مشاهدات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 20 و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۳ انجام گرفت. به منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی به دست آمده از آزمایش‌های شیمیایی و آزمایش‌های میکروبی پس از کنترل نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون (Kolomogorav-Smirnov) کلموگروف–اسمیرنوف، از روش آماری One Way ANOVA به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد و سپس‌آزمون دانکن به منظور گروه‌بندی تیمارها براساس تفاوت آماری استفاده شد برای این منظور از سطح معنی‌داری ۹۵ درصد استفاده گردید.

## نتایج

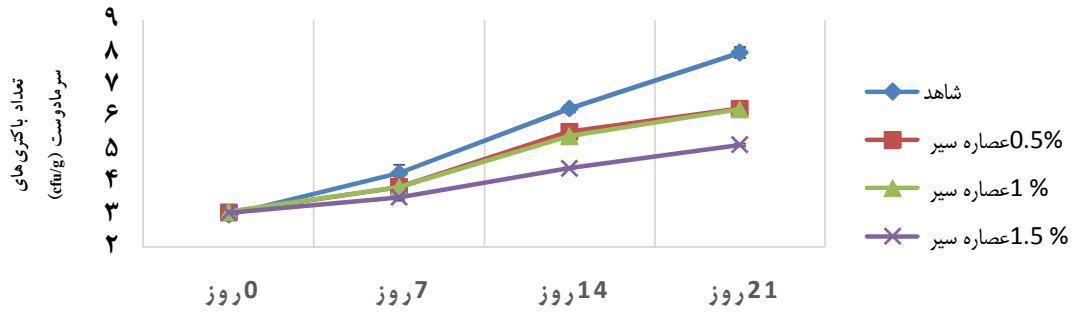
تعداد بار باکتریایی کل در تمام تیمارهای این آزمایش در روز ۲۱ بیش‌ترین و در روز صفر کم‌ترین میزان بود و بین زمان‌های مختلف آزمایش از نظر آماری در همه‌ی تیمارها به جز زمان ۱۴ و ۲۱ روز اختلاف معنی‌دار بود ($P<0/05$). با گذشت ۷ روز از یخچال‌گذاری، به غیر از تیمار شاهد در سایر تیمارها، روند افزایش تعداد باکتری‌ها آهسته‌تر از گروه شاهد بود. روز چهاردهم بیش‌ترین تعداد باکتری‌ها در تیمار شاهد و کم‌ترین در تیمار حاوی ۱/۵ درصد عصاره‌ی سیر دیده شد که این دو تیمار اختلاف معنی‌داری را داشتند ($P<0/05$). این روند در روز بیست و یکم نیز با شدت بیش‌تری ادامه یافت به طوری که با نزدیک شدن به پایان آزمایش، تفاوت تعداد کل باکتری قابل مشاهده بین تیمار شاهد از یک سو و تیمارهای سیر ۰/۵ و ۱ درصد و سیر ۱/۵ درصد از سوی

دیگر به صورت تصاعدی افزایش نشان داد و اختلاف معنی‌دار بین شاهد و تیمار حاوی ۱/۵ درصد عصاره‌ی سیر مشاهده شد. اما تیمارهای سیر ۰/۵ و ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (نمودار ۱).




**نمودار ۱: مقایسه‌ی میانگین مقادیر تأثیر تیمارهای عصاره‌ی سیر بر تعداد کل باکتری‌های قابل مشاهده (cfu/g) در فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای طی دوره‌های نگهداری در یخچال**

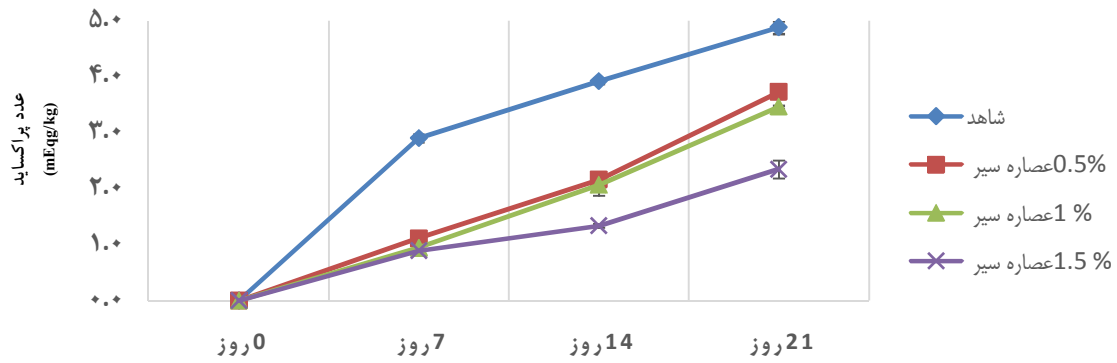
مطابق نمودار ۲ استفاده از تیمار عصاره‌ی سیر سبب افت سرعت افزایش تعداد باکتری‌های سرمادوست گردید. در تیمار شاهد روند افزایش تعداد باکتری‌های سرمادوست با تبعیت از تعداد کل باکتری‌های قابل شمارش یک روند افزایشی و تصاعدی را نشان داد اما سرعت ازدیاد این گروه از باکتری‌ها در تیمارهای آزمایشی حاوی عصاره‌ی سیر، به ویژه در تیمار عصاره‌ی سیر ۱/۵ درصد بسیار ملایم شد (نمودار ۲). در روز بیست و یکم تأثیر قوی عصاره‌ی سیر ۱/۵ درصد در مهار باکتری‌های سرمادوست مشاهده شد به طوری که تعداد باکتری‌های سرمادوست در این تیمار براساس لگاریتم cfu/g معادل ۵/۱۵۳ به دست آمد که برای مصرف انسانی مقدار نسبتاً پایینی است. کاربرد تیمارهای حاوی سیر، از روز هفتم اختلاف آماری معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان دادند و توانستند در حد قابل قبولی جمعیت باکتری‌های سرمادوست را کنترل کنند (P<۰/۰۵).




**نمودار ۲: مقایسه‌ی میانگین مقادیر تأثیر تیمارهای عصاره‌ی سیر بر تعداد باکتری‌های سرمادوست (cfu/g) در فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای طی دوره‌های نگهداری در یخچال**

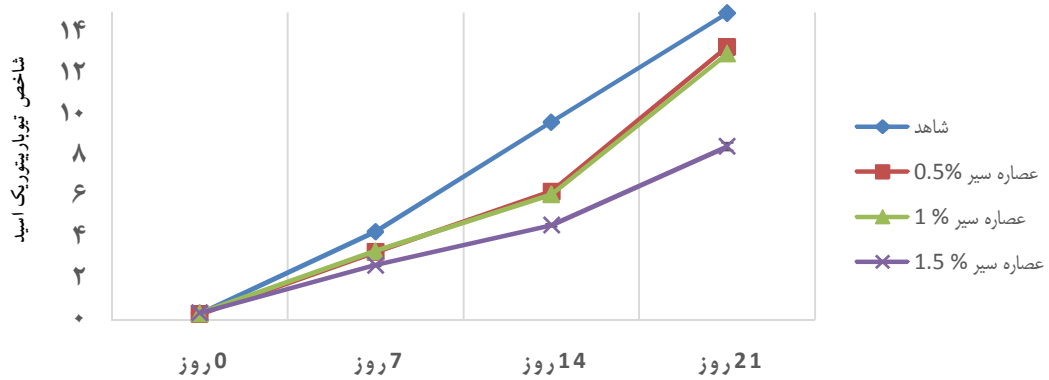
در نموار ۳ روند تغییرات عدد پراکساید حاکی از افزایش تصاعدی این عدد در تمام نمونه‌ها در طول زمان بود. در تیمارهای آزمایشی حاوی سیر، افزایش تدریجی عدد پراکساید در طول زمان آزمایش با شیب ملایمی پیش می‌رود. در پایان آزمایش (روز ۲۱) مقدار عدد پراکساید در تیمار ۱/۵ درصد سیر کم‌ترین میزان ۲/۳۵۰ (میلی-

اکی‌والان‌گرم پراکساید در کیلوگرم) و پس از آن در تیمارهای ۱ و ۰/۵ درصد سیر و سپس بیش‌ترین میزان پراکسید ۴/۸۸ (میلی‌اکی‌والان‌گرم پراکساید در کیلوگرم) در تیمار شاهد مشاهده شد که بین کم‌ترین و بیش‌ترین اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵).



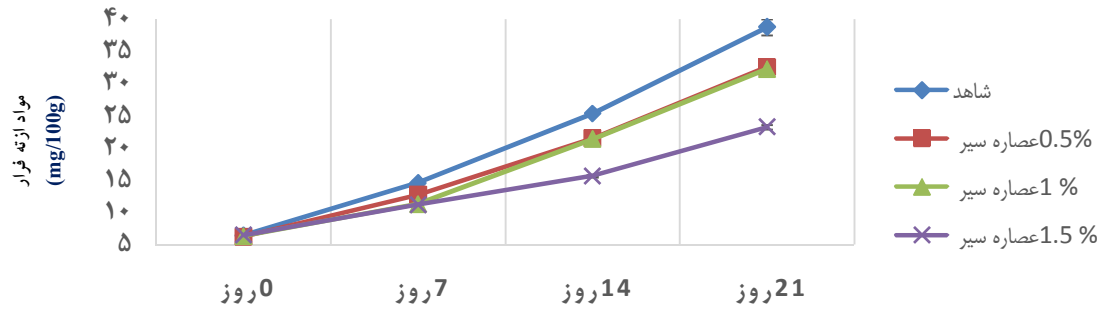

**نمودار ۳: مقایسه‌ی میانگین مقادیر تأثیر تیمارهای عصاره‌ی سیر بر عدد پراکساید (میلی‌ایکی‌والان‌گرم پراکساید در کیلوگرم) در فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای طی دوره‌های نگهداری در یخچال**

در نمودار ۴ شاخص تیوباربیتوریک اسید در ابتدای آزمایش در روز صفر در تمامی تیمارها مقدار پایین حدود ۰/۳ نشان داد که مؤید تازه بودن نمونه‌ها بوده و فاقد اختلاف معنی‌دار بودند (P>۰/۰۵) است. کاربرد عصاره‌ی سیر در مقادیر مختلف توانست شدت افزایش شاخص تیوباربیتوریک اسید را در روزهای هفتم و چهاردهم کاهش دهد. در این میان دو تیمار ۰/۵ و ۱ درصد مقادیر بسیار نزدیکی را نشان دادند و بر اساس تجزیه و تحلیل آماری نیز اختلاف معنی‌داری را با هم نشان ندادند (P>۰/۰۵)، و از طرفی تیمار ۱/۵ درصد عصاره‌ی سیر به خوبی توانست افزایش شاخص تیوباربیتوریک اسید را در روز ۲۱ نسبت به تیمار شاهد کنترل کند و اختلاف معنی-داری را نشان دهد (P<۰/۰۵).



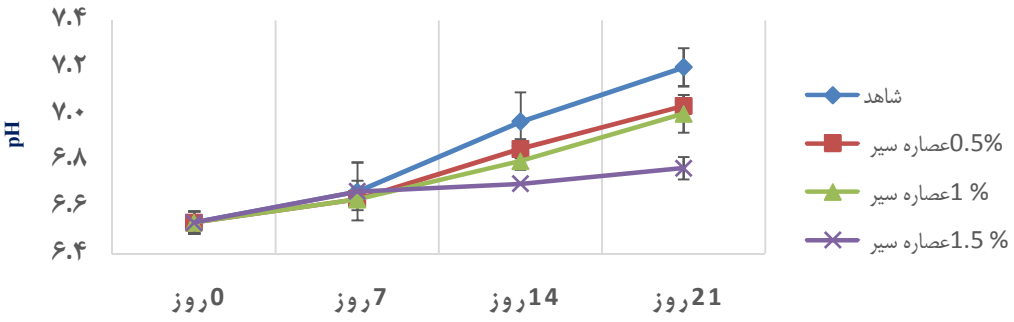

**نمودار ۴: مقایسه‌ی میانگین مقادیر تأثیر تیمارهای عصاره‌ی سیر بر شاخص تیوباربیتوریک اسید (میلی‌گرم معادل مالون‌آلدهید بر کیلوگرم بافت مورد مطالعه) در فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای طی دوره‌های نگهداری در یخچال**

مطابق نمودار ۵، در ابتدای آزمایش (روز صفر) در مقایسه‌ی تیمار شاهد با تیمارهای حاوی عصاره‌ی سیر، در میزان مواد ازته فرار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در پایان دوره‌ی آزمایش (روز ۲۱) بیش‌ترین میزان مواد ازته فرار در تیمار شاهد (۳۸/۸۳۳) (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم بافت مورد مطالعه) و کم‌ترین در تیمار حاوی عصاره‌ی سیر ۱/۵ درصد (۲۳/۳۰۰) (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم بافت مورد مطالعه) مشاهده شد و بین این دو اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).



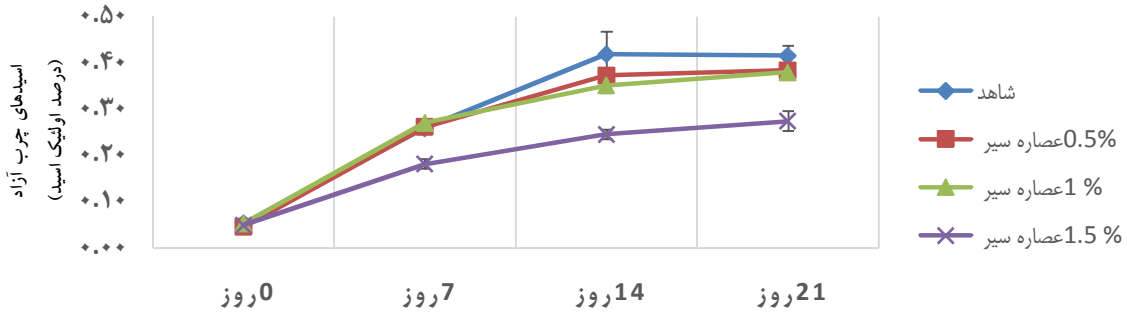

**نمودار ۵: مقایسه‌ی میانگین مقادیر تأثیر تیمارهای عصاره‌ی سیر بر مقدار مواد ازته فرار (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم بافت مورد مطالعه) در فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای طی دوره‌های نگهداری در یخچال**

در نمودار ۶، بررسی روند تغییرات pH در نمونه‌ی بافت فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای نشان داد که این فاکتور تا روز هفتم آزمایش در تمامی تیمارها یک روند نسبتاً ثابت را داشته و در بین تیمارهای مختلف در محدوده‌ی ۷-۶/۳ قرار داشت. با گذشت مدت زمان بیش‌تر و در روز چهاردهم نوساناتی در مقدار pH مشاهده گردید بدین شکل که در تیمار شاهد pH افزایش داشته و بعد از آن به ترتیب تیمارهای ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد سیر قرار گرفتند (جدول ۶). بر اساس نتایج حاصل تیمار عصاره‌ی سیر ۱/۵ درصد کم‌ترین میزان نوسانات pH را نشان داد. مقایسه‌ی آماری داده‌های pH نیز تا روز چهاردهم هیچ اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارهای شاهد و آزمایشی نشان نداد (P>۰/۰۵). اما در روز بیست و یکم از نظر pH بین تیمارها تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده گردید (P<۰/۰۵).




**نمودار ۶: مقایسه‌ی میانگین مقادیر تأثیر تیمارهای عصاره‌ی سیر بر pH فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای طی دوره‌های نگهداری در یخچال**

مقدار اسیدهای چرب آزاد (درصد اسیدهای چرب آزاد ) در ابتدای آزمایش حدود ۰/۰۵ درصد نشانه‌ی تازگی نمونه‌های ماهی مورد مطالعه است زیرا هنوز فرآیندهای فساد و اکسایش چربی در آن‌ها آغاز نشده است (نمودار ۷). در روز هفتم آزمایش مقدار اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌های شاهد، تیمار ۰/۵ و ۱ درصد عصاره‌ی سیر روند تصاعدی افزایشی را نشان دادند و این روند با شیب ملایم‌تری در روزهای چهاردهم و به خصوص در روز بیست و یکم ادامه یافت تا این که در پایان آزمایش به رقم ۰/۴۱۷ رسید. مقایسه‌ی آماری نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین مقدار اسیدهای چرب فرار در تیمار عصاره‌ی سیر ۱/۵ درصد با سایر تیمارهاست (P<۰/۰۵).




**نمودار ۷: مقایسه‌ی تأثیر میانگین مقادیر تیمارهای عصاره‌ی سیر بر مقدار اسیدهای چرب آزاد (درصد اولئیک اسید) فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای طی دوره‌های نگهداری در یخچال**

## بحث

بر اساس مطالعاتی که در مورد اثرات عصاره‌ی سیر بر روی برخی باکتری‌ها انجام شده، مشخص گردید که عصاره‌ی سیر به نحو چشم‌گیری سبب ممانعت از رشد و تکثیر آن‌ها شد (Ojagh et al. 2010, Qiu et al. 2014). در این تحقیق کاربرد عصاره‌ی سیر به طور کلی توانست از افزایش تصاعدی تعداد کل باکتری‌ها بکاهد. تأثیر تیمارهای عصاره‌ی سیر در این تحقیق از روز هفتم تا پایان آزمایش مشهود است اما بهترین نتیجه در تیمار ۱/۵ سیر به دست آمد. نقش اسانس‌های گیاهی و ادویه‌جات در محدود کردن فعالیت‌های باکتریایی در مطالعات مختلف تأیید شده است ( Sallam 2007, Savvaidis et al. 2002). ترکیبات فنولی و ترپن‌ها می‌تواند در مهار عوامل میکروبی بر روی مواد غذایی مؤثر باشند و به نظر می‌رسد خواص ضدمیکروبی عصاره‌ی سیر بر کاهش تعداد کل باکتری‌های قابل مشاهده به واسطه‌ی تأثیر ترکیبات فنولی و ترپن‌ها در آن باشد (Ranasinghe et al. 2002). همچنین مکانیسم محدودکنندگی عصاره‌ی سیر بر روی باکتری‌ها به خاطر آلیسین موجود در آن است که سبب ممانعت از سنتز RNA باکتری‌ها می‌شود ( Feldberg et al. 1988) البته با توجه به این که مقدار این عناصر در عصاره‌ی سیر مورد مطالعه اندازه‌گیری نشده است، تأیید این مسئله نیازمند مطالعات تکمیلی در خصوص مقادیر و میزان تأثیر این ترکیبات در عصاره‌ی سیر است. باکتری-های سرمادوست گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیزم-های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده در دمای یخچال هستند (Gram and Huss 1996). از جمله مطالعات مربوط به اثرات ضدباکتریایی (سرمادوست) سیر برای نگهداری مواد غذایی توسط Delaha و Garagusi در سال ۱۹۸۵ انجام گرفت. آن‌ها اثرات ضدباکتریایی سیر را بر ۱۷ گونه از باکتری‌های جنس مایکوباکتریوم اثبات کردند. در تحقیق حاضر تعداد باکتری‌های سرمادوست در تیمار شاهد در روز بیست و یکم معادل ۸

گزارش شد که خیلی بیش‌تر از تعداد قابل قبول برای محصولات شیلاتی می‌باشد (Savvaidis et al. 2002). هرچند در تیمارهای سیر ۰/۵ و ۱ درصد نیز نتایج مناسبی از نظر کنترل فراوانی باکتری‌های سرمادوست به دست آمد، اما در تیمار عصاره‌ی سیر ۱/۵ درصد، تعداد باکتری‌ها، ۵/۱۵۳ به دست آمد که یک مقدار قابل قبول برای مصرف انسانی است و از این نظر یک نتیجه‌ی مطلوب محسوب می‌گردد.

عدد پراکساید به عنوان شاخص میزان هیدروپراکسیدها مطرح است که محصول اولیه‌ی اکسایش چربی‌ها بوده و وضعیت پیشرفت اکسیداسیون چربی‌ها را نشان می‌دهند (Lin and Lin 2005). کاهش این عدد به عنوان علامتی از کاهش میزان اکسیداسیون چربی‌ها و در نتیجه‌ی کاهش فساد ماده‌ی غذایی در نظر گرفته می‌شود، بنابراین اندازه‌گیری آن می‌تواند تصویری از روند فساد چربی در بافت ماهی را ارائه دهد. در مطالعه‌ای که پزشک و همکاران در سال ۱۳۹۰ انجام دادند، گزارش کردند که طی نگهداری فیله‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در سرما و عصاره‌ی موسیر، از روز دهم به بعد یک کاهش ناگهانی در مقدار عدد پراکساید مشاهده شد. آن‌ها علت بروز این کاهش ناگهانی عدد پراکساید را به دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تولید ترکیبات کربنیلی، استن و اسیدهای چرب فرار دانستند. با توجه به این که دامنه‌ی قابل قبول پراکساید برای مصرف انسانی بین ۲۰-۱۰ میلی ایکی‌والان‌گرم پراکساید در کیلوگرم است (Huss 1988)، به نظر می‌رسد فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای در این آزمایش حتی در تیمار شاهد نیز در وضعیت مطلوبی است، اما مسلم است هر اندازه بتوان میزان اکسایش چربی‌ها را کاهش داد، در نهایت سبب افزایش کیفیت محصول غذایی شده و از این نظر برای ما اهمیت دارد. بر اساس نتایج این مطالعه زمان بهینه‌ی نگهداری فیله ماهی در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و مقدار عصاره‌ی سیر پیشنهادی به ترتیب در روز ۱۴ و عصاره‌ی ۱/۵ درصد به دست آمد.

در این مطالعه شاخص تیوباربیتوریک اسید به منظور بررسی کیفیت بیوشیمیایی فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای انجام گرفت. گزارش‌های متعددی در مورد استفاده از شاخص تیوباربیتوریک اسید در تشخیص میزان فساد چربی‌ها وجود دارد (Jeon et al. 2002, Sallam 2007). در مورد نمونه‌هایی که هیچ تیمار نگهدارنده خاصی بر روی آن‌ها اعمال نشده است، عدد شاخص تیوباربیتوریک اسید در حدود ۵ نشان دهنده‌ی شرایط مناسب نگهداری در یخچال برای آن‌هاست (Ojagh et al. 2010). بر اساس نتایج تحقیق حاضر شدت فساد چربی در بافت ماهی به گونه‌ای است که از روز ۱۴ و بر اساس مطالعات Sallam در سال ۲۰۰۷ دیگر قابلیت مصرف انسانی ندارد. با توجه به این که از روز چهاردهم به بعد افزایش ناگهانی شاخص تیوباربیتوریک اسید در تمامی تیمارهای آزمایشی مشاهده شد و از آن جا که مقدار این شاخص در تیمار شاهد بسیار بیش‌تر از مقدار بیشینه قابل مصرف انسان است، لذا می‌توان پیشنهاد کرد که مدت زمان بهینه و مقدار مناسب عصاره‌ی سیر برای نگهداری کوتاه مدت فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای در یخچال به ترتیب کم‌تر از ۱۴ روز و ۱/۵ درصد است. مقایسه‌ی داده‌های تیمارهای مختلف نشان داد که کاربرد عصاره‌ی سیر به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) قادر است از فساد چربی‌ها تا حدودی ممانعت کرده و بدین ترتیب از افزایش سریع شاخص تیوباربیتوریک اسید جلوگیری کند. وجود خاصیت آنتی‌اکسیدانی در سیر و موسیر و تأثیر آن‌ها بر کاهش فرآیند اکسیداسیون چربی‌ها اثبات شده است (پزشک و همکاران ۱۳۹۰).

در مطالعات مختلف بر روی نمونه‌های مختلف ماهی افزایش چشم‌گیر مقدار مواد ازته فرار با افزایش مدت ماندگاری گزارش شده است (Gómez-Estaca et al. 2010). افزایش مقدار مواد ازته فرار در محصولات گوشتی نگهداری شده سبب ایجاد بو، طعم و رنگ نامطلوب در آن‌ها می‌شود (Rezaei et al. 2008). لذا یافتن راهکارهای مؤثر و مقرون به صرفه برای جلوگیری

از تشکیل چنین ترکیباتی بسیار مورد توجه محققین این زمینه است. در تحقیق پیش رو در روز بیست و یکم، مقادیر مواد ازته فرار در تیمار شاهد و هر دو تیمار ۰/۵ و ۱ درصد سیر بسیار بیش‌تر از دامنه‌ی قابل مصرف برای انسان رسید اما در تیمار ۱/۵ درصد عصاره‌ی سیر، به رقم میانگین ۲۳/۳۰ رسید که در محدوده‌ی قابل مصرف برای انسان قرار دارد. حد قابل قبول مواد ازته فرار بر حسب میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی مقدار ۲۵ پیشنهاد شده است. تولید ترکیبات ازته فرار عمدتاً در اثر فعالیت‌های منجر به فساد باکتریایی ایجاد می‌گردد (Ojagh et al. 2010). در تحقیق حاضر تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که کاهش مقدار مواد ازته فرار در تمامی تیمارهای آزمایشی به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) با تیمار شاهد تفاوت دارد. به علاوه چنین تفاوت معنی‌داری حتی در بین تیمارهای آزمایشی نیز مشاهده شد. با توجه به این که مقدار مواد ازته فرار در روز چهاردهم در تمامی تیمارهای آزمایشی در محدوده‌ی قابل مصرف برای انسان است، لذا زمان و مقدار بهینه‌ی عصاره‌ی سیر برای نگهداری فیله‌ی کپور نقره‌ای به ترتیب ۱۴ روز و ۱/۵درصد پیشنهاد می‌گردد.

بر اساس مطالعات مختلف pH عضله‌ی ماهی زنده نزدیک ۷ است و بسته به گونه‌ی ماهی و شرایط پس از مرگ ممکن است این مقدار بین ۷-۶ متغیر باشد. بر این اساس pH نمونه شاهد بیش‌ترین مقدار و تیمار عصاره‌ی سیر ۱/۵ درصد کم‌ترین میزان pH را نشان دادند و دو تیمار آزمایشی دیگر حد وسط بودند. افزایش pH در نمونه‌های آزمایشی و به ویژه در نمونه‌ی شاهد می‌تواند به واسطه‌ی فعالیت‌های فساد بافت فیله‌ی ماهی و رهاسازی ترکیبات نیتروژنی (آمونیاک و تری‌متیل‌آمین) باشد. چنین وضعیتی توسط محققین مختلف نیز گزارش و تأیید شده است (Ojagh et al. 2010). افزایش مواد ازته فرار و فراوانی باکتری‌ها از طریق رهاسازی ترکیبات آمینی حاصل از فساد پروتئین‌ها معمولاً سبب افزایش pH می‌گردد. مطالعه‌ی مشابهی توسط Mah و همکاران در سال ۲۰۰۹ نیز نقش ضدمیکروبی و کاهش pH را برای عصاره‌ی سیر بر روی ماهی آنچوی نشان داد که عصاره‌ی سیر دارای خاصیت ضدباکتریایی است و این خاصیت از طریق کاهش جمعیت باکتری‌ها موجب کاهش فرآیند فساد پروتئینی و در نهایت کاهش تولید ترکیبات آمینی می‌گردد. بنابراین عدم افزایش pH در تیمار عصاره‌ی ۱/۵ درصد می‌تواند در نتیجه‌ی خصوصیت ضدباکتریایی عصاره‌ی سیر باشد. براساس نتایج این مطالعه زمان و نسبت بهینه‌ی استفاده از عصاره سیر برای نگهداری فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای در شرایط آزمایشگاهی به ترتیب ۲۱ روز و ۱/۵ درصد پیشنهاد می‌گردد.

هرچند درصد اسیدهای چرب آزاد به تنهایی نمی‌تواند نمایش‌دهنده‌ی میزان فساد چربی باشد (Rezaei et al. 2008)، اما مقدار اسیدهای چرب آزاد (درصد اسیدهای چرب آزاد) در ابتدای آزمایش حدود ۰/۰۵ درصد نشانه‌ی تازگی نمونه‌های ماهی مورد مطالعه است زیرا هنوز فرآیندهای فساد و اکسایش چربی در آن‌ها آغاز نشده است. مقایسه‌ی آماری نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) بین مقدار اسیدهای چرب فرار در تیمار عصاره‌ی سیر ۱/۵ درصد با سایر تیمارهاست که مؤید نقش مثبت عصاره‌ی سیر در کاهش روند اکسایش و فساد چربی‌ها باشد. Rezaei و همکاران در سال ۲۰۰۸ کاهش شدید اسیدهای چرب آزاد در انتهای آزمایش را به دلیل افزایش انحلال‌پذیری آن‌ها دانسته‌اند. کند شدن روند افزایشی اسیدهای چرب آزاد در مورد عصاره‌ی سیر ۱/۵ درصد بیان‌گر نقش مؤثر مقادیر بالای سیر بر جلوگیری از فساد چربی‌هاست. بر اساس مطالعات انجام شده، روند افزایش اسیدهای چرب آزاد ارتباط نزدیکی با کاهش تازگی فیله‌ی ماهی دارد. مقدار اسیدهای چرب آزاد می‌توانند روی پایداری ساختار پروتئین‌ها اثرگذار باشند و سبب تسریع فرآیند فساد پروتئین‌ها گردند (Rodríguez et al. 2008). در نهایت با توجه به تأثیر عصاره‌ی سیر بر مقدار اسیدهای چرب آزاد می‌توان زمان و مقدار بهینه‌ی عصاره‌ی سیر را برای نگهداری فیله‌ی

ماهی کپور نقره‌ای در یخچال به ترتیب ۱۴ روز و ۱/۵ درصد پیشنهاد کرد.

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان نقش مؤثر استفاده از عصاره‌ی سیر را بر شاخص‌های کیفی (میکروبی و بیوشیمیایی) فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای طی دوران یخچال‌گذاری تأیید کرد. بر این اساس شاخص‌های میکروبی همچون تعداد کل باکتری قابل شمارش و تعداد باکتری‌های سرمادوست تا روز هفتم در حد بسیار پایینی ماندند و متعاقب آن براساس پایین بودن شاخص‌هایی همچون عدد پراکساید، شاخص تیوباربیتوریک اسید، مواد ازته فرار و اسیدهای چرب آزاد، فرآیندهای تجزیه‌ی چربی‌ها و مواد پروتئینی بافت ماهی لااقل تا روز چهاردهم آزمایش در حد قابل قبولی پایین نگه داشته شد. هرچند در برخی خصوصیات کیفی مانند pH و تعداد باکتری‌ها، فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای حتی تا روز بیست و یکم هم در محدوده‌ی قابل قبول بود، اما با توجه به افزایش مواردی همچون شاخص تیوباربیتوریک اسید و اسیدهای چرب آزاد که می‌توانند بر خصوصیات حسی بافت فیله اثرگذار باشند، با اندکی محافظه‌کاری طول دوره‌ی ۱۴ روزه و نسبت عصاره‌ی سیر ۱/۵ درصد را طی دوره‌ی یخچال‌گذاری پیشنهاد می‌کنیم. بدیهی است قضاوت در مورد خصوصیات حسی فیله‌ی ماهی کپور نقره‌ای در تمام روزها نیازمند مطالعه‌ی تکمیلی در این خصوص است. همچنین جهت کامل‌تر شدن این مطالعه پیشنهاد می‌شود که این عصاره در زمان انجماد ماهی نیز مورد بررسی قرار بگیرد و با نتایج نگهداری در یخچال مقایسه گردد.

## منابع


پزشک، سمانه؛ رضایی، مسعود و حسینی، هدایت (۱۳۹۰). اثر ضد باکتریایی و ضد اکسیداسیونی عصاره موسیر بر زمان ماندگاری ماهی قزل آلای رنگین کمان در شرایط نگهداری سرد (۱ ±۴ درجه سانتی‌گراد). مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال ششم، شماره ۲، صفحات ۱۹- ۱۱.

رضوی‌شیرازی، حسن (۱۳۸۰). تکنولوژی فراورده‌های دریایی، تهران، انتشارات نقش مهر، صفحه ۲۹.

سلطانی، مهدی؛ آخوندزاده‌بستی، افشین؛ چوبکار، نسرین؛ رویانی، لاله؛ قائنی، منصوره؛ عباس‌زاده، سپیده و یدالهی، فرود (۱۳۹۲). اصول ایمنی و کیفیت در فرآورده‌های ماهیان، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۵۵۶.

علی‌بیگی، طیبه؛ علیزاده‌دوغیکلائی، ابراهیم و زکی‌پور رحیم‌آبادی، اسحق (۱۳۹۲). بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره پوست پرتقال بر کیفیت فیله کپور معمولی هنگام نگهداری در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد، نشریه شیلات مجله منابع طبیعی، سال ششم، شماره ۲، صفحات ۱۹۷-۱۸۵.

علی‌پوریگانه، مهری؛ تاجیک، حسین؛ زاده‌هاشم، الهام؛ فرخنده، طاهره؛ صدیق‌آرا، پریسا و صباح، سمیرا (۱۳۸۸). اثر ممانعت کنندگی عصاره سیر بر رشد باکتری‌های سالمونلا تیفی موریوم و شیگلا دیسانتری، فصلنامه دانش و تندرستی، دوره ۴، شماره ۲، صفحات ۹-۶.

Banerjee, M. and Sarkar, P. (2003). Inhibitory effect of garlic on bacterial pathogens from spices. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 19: 565-569.

Bassolé, I.H.N.; Lamien-Meda, A.; Bayala, B.; Obame, L.C.; Ilboudo, A.J.; Franz, C. et al.. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. Phytomedicine, 18: 1070-1074.

Bernbom, N.; Ng, Y.Y.; Paludan-Müller, C. and Gram, L. (2009). Survival and growth of Salmonella and Vibrio in som-fak, a Thai low-salt garlic containing fermented fish product. International Journal of Food Microbiology, 134: 223-229.

Campos, C.; Gerschenson, L. and Flores, S. (2011). Development of adible films and coatings with antimicrobial activity. Food and Bioprocess Technology, 4: 849-875.

Delaha, E.C. and Garagusi, V.F. (1985). Inhibition of mycobacteria by garlic extract (*Allium sativum*). Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 27: 485-486.

Egan, H.; Kirk, R.S. and Sawyer, R. (1981). Pearson's Chemical Analysis of Foods, Churchill Livingstone. 60: 260-267.

Feldberg, R.S.; Chang, S.C.; Kotik, A.N.; Nadler, M.; Neuwirth, Z.; Sundstrom, D.C. and Thompson, N.H. (1988). In vitro mechanism of inhibition of bacterial cell growth by allicin. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 32: 1763-1768.

Gómez-Estaca, J.; López de Lacey, A.; López-Caballero, M.E.; Gómez-Guillén, M.C. and Montero, P. (2010). Biodegradable gelatin–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. Int J Food Microbiol, 33(1): 121-137.

Haghparast, S.; Kashiri, H.; Shabanpour, B. and Pahlavani, M.H. (2010). Antioxidant properties of sodium acetate, sodium citrate and sodium lactate on lipid oxidation in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) sticks during refrigerated storage (4°C). Iranian Journal of Fisheries Sciences, 9(1): 73-86.

Huss, H.H. (1988). Fresh Fish--quality and Quality Changes: A Training Manual Prepared for the FAO/DANIDA Training Programme on Fish Technology and Quality Control, Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Jeon, Y.J.; Kamil, J.Y.V.A. and Shahidi, F. (2002). Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and atlantic cod. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 5167-5178.

Jrah Harzallah, H.; Kouidhi, B.; Flamini, G.; Bakhrouf, A. and Mahjoub, T. (2011). Chemical composition, antimicrobial potential against cariogenic bacteria and cytotoxic activity of Tunisian Nigella sativa essential oil and thymoquinone. Food Chemistry, 129: 1469-1474.

Kongkiattikajorn, J. (2013). Potential of Fermented Sausage-Associated Lactic Acid Bacteria to Degrade Biogenic Amines During Storage, INTECH Open Access Publisher.

Kuorwel, K.K.; Cran, M.J.; Sonneveld, K.; Miltz, J. and Bigger, S.W. (2011). Antimicrobial activity of biodegradable polysaccharide and protein-based films containing active agents. Journal of Food Science, 76: R90-R102.

Lin, C.C. and Lin, C.S. (2005). Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. Food Control, 16: 169-175.

Lu, X.; Rasco, B.A.; Jabal, J.M.F.; Aston, D.E.; Lin, M. and Konkel, M.E. (2011). Investigating antibacterial effects of garlic (*Allium sativum*) concentrate and garlic-derived organosulfur compounds on *Campylobacter jejuni* by Using fourier transform infrared spectroscopy, raman spectroscopy, and electron microscopy. Applied and Environmental Microbiology, 77: 5257-5269.

Mah, J.H.; Kim, Y.J. and Hwang, H.J. (2009). Inhibitory effects of garlic and other spices on biogenic amine production in Myeolchi-jeot, Korean salted and fermented anchovy product. Food Control, 20: 449-454.

Mahmudzadeh, M.; Motallebi, A.A.; Hosseini, H.; Haratian, P.; Ahmadi, H. and Mohammadi, M. (2010). Quality assessment of fish burgers from deep flounder (*Pseudorhombus elevatus*) and brushtooth lizardfish (*Saurida undosquamis*) during storage at -18 C. Iranian Journal of Fisheries Science, 9(1): 111-126.

Mejlholm, O. and Dalgaard, P. (2002). Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. Letters in Applied Microbiology. 34(1): 27-31.

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

Oussalah, M.; Caillet, S.; Saucier, L. and Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control, 18: 414-420.

Paludan-Müller, C.; Huss, H.H. and Gram, L. (1999). Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Thai low-salt fermented fish product and garlic as substrate for fermentation. International Journal of Food Microbiology, 46: 219-229.

Qiu, X.; Chen, S.; Liu, G. and Yang, Q. (2014). Quality enhancement in the Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*) fillets stored at 4 °C by chitosan coating incorporated with citric acid or licorice extract. Food Chemistry, 162: 156-160.

Ranasinghe, L.; Jayawardena, B. and Abeywickrama, K. (2002). Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M.Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. Letters in Applied Microbiology, 35: 208-211.

Rezaei, M.; Hosseini, S.F.; Langrudi, H.E.; Safari, R. and Hosseini, S.V. (2008). Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). Food Chemistry, 106: 1161-1165.

Rodríguez, A.; Carriles, N.; Cruz, J.M. and Aubourg, S.P. (2008). Changes in the flesh of cooked farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice (−1.5 °C). LWT - Food Science and Technology, 41: 1726-1732.

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

Sánchez-González, L.; Vargas, M.; González-Martínez, C.; Chiralt, A. and Cháfer, M. (2011). Use of essential oils in bioactive edible coatings: a review. Food Engineering Reviews, 3: 1-16.

Savvaidis, I.N.; Skandamis, P.; Riganakos, K.A.; Panagiotakis, N. and Kontominas, M.G. (2002). Control of natural microbial flora and *Listeria monocytogenes* in Vacuum-Packaged Trout at 4 and 10°C Using Irradiation. Journal of Food Protection, 65: 515-522.

Weerakkody, N.S.; Caffin, N.; Turner, M.S. and Dykes, G.A. (2010). In vitro antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. Food Control, 21: 1408-1414.

Wong, D.W.S.; Gastineau, F.A.; Gregorski, K.S.; Tillin, S.J. and Pavlath, A.E. (1992). Chitosan-lipid films: microstructure and surface energy. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40: 540-544.