تاثیر غلظت هگزیل رزورسینول بر تغییرات شیمیایی، باکتریایی، حسی و مدت زمان ماندگاری میگوی سفید غربی پرورشی (*Litopenaeus vannamei*) منجمد

مینا سیف زاده[1*]، علی اصغر خانی پور[1]، یزدان مرادی[2]

* m_seifzadeh_ld@yahoo.com

۱ – پژوهشکده آبزی پروری آب های داخلی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، انزلی، ایران
۲ – موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹٤

چکیده

تکنولوژی عمل آوری برای صادرات و واردات میگو حائز اهمیت بوده، بایستی بر اساس نیاز بازار انتخاب شده و توسط سازمان امنیت غذاها پذیرفته شود. بنابراین جهت حصول به یک تکنولوژی مناسب، حفظ کیفیت شیمیایی، باکتریایی، حسی، سلامت میگو از حیث بهداشت مواد غذایی، افزایش مدت زمان ماندگاری میگو و تعیین غلظت مناسب از ۴- هگزیل رزورسینول برای عمل آوری میگوی وانامی پرورشی تحقیق فوق استفاده شد. این تحقیق با فرض بررسی توانایی ۴ - هگزیل رزورسینول برای حفظ یا عدم حفظ کیفیت میگوی وانامی پرورشی منجمد اجرا شد. تیمارها شامل میگوهای غوطه ور شده در غلظت های ۰/۱۵٪ و ۰/۰۵٪، ۴- هگزیل رزورسینول به مدت ۱۰ دقیقه و میگوی بدون آنتی اکسیدان بودند. باکتری های *Pseudomonas aeroginosa*، *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli* و تولید کننده دی سولفید هیدروژن در نمونه های آزمایشی و شاهد مشاهده نشدند. باکتری های *Coliform* در نمونه های آزمایشی در قیاس با شاهد مشاهده نشد. فاکتورهای TVB-N، تری متیل آمین، پراکسید، رطوبت، شمارش کلی باکتری ها و باکتری های *Staphylococcus* در نمونه های آزمایشی و شاهد طی مدت زمان سردخانه گذاری تفاوت معنی دار نشان دادند($p<۰/۰۵$). علیرغم فاکتورهای پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، TVB-N، تری متیل آمین، اسید چرب آزاد، شمارش کلی باکتری ها، باکتری های *Staphylococcus* و *Coliform* در فاکتورهای pH و رطوبت بین نمونه های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار مشاهده نشد($p>۰/۰۵$). کیفیت حسی و مدت زمان ماندگاری در نمونه های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار نشان دادند($p<۰/۰۵$) . فاکتورهای شیمیایی، باکتریایی، حسی و مدت زمان ماندگاری بین غلظت های ۴ – هگزیل رزورسینول تفاوت معنی دار نشان ندادند($p>۰/۰۵$). بر اساس استاندارد ملی ایران تیمار آزمایشی به مدت شش ماه در سردخانه ۱۸- درجه سلسیوس از کیفیت خوبی برخوردار بود اما میگوهای شاهد کمتر از یک ماه ماندگاری در سردخانه کیفیت حسی خود را از دست دادند.

لغات کلیدی : میگوی سفید غربی، ارزیابی حسی، فاکتورهای شیمیایی، تغییرات باکتریایی، ۴- هگزیل رزورسینول

*نویسنده مسئول

مقدمه

میگو در بازارهای جهانی به اشکال مختلف مانند منجمد، بلوک شده بدون سر و با سر عرضه می گردد. میگوی منجمد به دلیل قیمت مناسب و مدت زمان نگهداری طولانی در سردخانه از ارزش تجاری بالا و تقاضای زیاد مصرف کنندگان برخوردار است. از مهمترین تغییرات کیفی که طی نگهداری طولانی میگوی منجمد در سردخانه اتفاق می افتد می توان به از بین رفتن رنگ، اکسیداسیون چربی، دناتوره شدن پروتئین و تشکیل بلورهای یخ اشاره کرد. بنابراین کاربرد آنتی اکسیدان های فاقد عوارض جانبی برای سلامت انسان هنگام عمل آوری میگو جهت حفظ کیفیت آن و جلوگیری از تغییرات فوق طی زمان سردخانه گذاری ضروری به نظر می رسد (Fieger, 1950) .

میگوی تازه به آسانی به دلایل میکروبی، شیمیایی و تغییر رنگ فاسد می شود. کنترل تغییر رنگ یکی از مهمترین مسائل در صنعت غذا است. چون رنگ فاکتور مهمی در ظاهر غذا است که روی تصمیم مصرف کننده تاثیر دارد و غذاهای تغییر رنگ یافته فاسد به نظر می رسند. تجربه ثابت نموده است که مصرف کنندگان به رنگ مواد غذایی حساس بوده و رنگ با کیفیت و ویژگی‌های حسی رابطه‌ی مستقیم دارد. با توجه به این که مصرف کننده ابتدا کیفیت هر نوع ماده غذایی را به وسیله‌ی رنگ آن ارزیابی می‌نماید، رنگ را می توان به عنوان فاکتوری که نشان دهنده کیفیت مواد غذایی بوده و کیفیت خوب و یا بد مواد غذایی را نشان می‌دهد، مطرح کرد. بنابراین بروز تغییر رنگ در سطح بدن میگو، لابستر و خرچنگ بدلیل تیره شدن غشاء زیر پوست به عنوان فاکتور اساسی برای بررسی کیفیت میگو مطرح می باشد. ظهور این تغییر در سطح بدن میگو پدیده آنزیمی است که به وسیله آنزیم پلی فنل اکسیداز ایجاد می شود (Concalves & Grindi, 2009). این آنزیم، بطور طبیعی در میگو وجود داشته، طی نگهداری در یخچال و یخ فعال بوده و حتی بعد از انجماد نیز فعال باقی مانده و می تواند سبب تغییر رنگ و کاهش کیفیت حسی میگو شود. تغییر رنگ و کاهش کیفیت حسی میگو یک مشکل مهم در گونه های تجاری میگو بوده و می تواند تاثیر منفی روی ظاهر، مدت زمان ماندگاری، بازار پسندی، ارزش اقتصادی و پذیرش محصول توسط مصرف کننده داشته باشد (Gomez & Monters, 2007; Flores & Crawford, 1973).

۴ - هگزیل رزورسینول پودر سفید رنگ، فنولیک، محلول در اتر ، الکل، کلروفرم و استن، خیلی به کندی محلول در آب < ۰/۱ g/۱۰۰۰ ml آب، دارای نقطه ذوب: ۶۷ – ۶۲ درجه سلسیوس، خلوص: ۹۸ ٪، خاکستر: حداکثر ۲ درصد، اسیدیته: کمتر از ۰/۰۵ درصد، خاکستر سولفاته: کمتر از ۰/۱ درصد، نیکل: کمتر از ۲ mg/kg ، جیوه: کمتر از ۳ mg/kg، سرب: کمتر از ۲ mg/kg، وزن مولکولی: ۱۹۷/۲۴، LD۵۰: ۵۵۰ mg/kg ، امولیسیفایر، آنتی اکسیدان، تثبیت کننده رنگ و سنتتیک بوده که از سدیم کلراید و تری کلسیم فسفات تشکیل شده است. این ترکیب به عنوان افزودنی غذایی و ضد عفونی کننده خوراکی توسط سازمان بهداشت جهانی پذیرفته شده است. ۴ - هگزیل رزورسینول بوسیله جوشاندن به مدت ۵ دقیقه در آب گرم غیر فعال شده و فاقد اثرات سمی برای انسان می باشد(Frankos *et al.* , 1997 ; 1991 , Otwell *et al.*,).

با توجه به اهمیت تکنولوژی عمل آوری در صنعت فرآوری میگو برای صادرات و واردات مواد غذایی، نیاز بازار و سازمان امنیت غذاها و جهت حصول به یک تکنولوژی مناسب با این ویژگی ها، حفظ کیفیت شیمیایی، باکتریایی، حسی، حفظ سلامت میگو از حیث بهداشت

مواد غذایی، افزایش مدت زمان ماندگاری میگو و تعیین غلظت مناسب از ۴- هگزیل رزورسینول برای عمل آوری میگوی وانامی پرورشی تحقیق فوق انجام شد. این تحقیق با فرض بررسی توانایی ۴ هگزیل رزورسینول برای حفظ یا عدم حفظ کیفیت میگوی وانامی پرورشی منجمد اجرا شد.

تاکنون در زمینه کاربرد ۴- هگزیل رزورسینول برای جلوگیری از تغییر رنگ میگو در داخل کشور تحقیقی انجام نشده است. اما در سایر کشورها از ۴- هگزیل رزورسینول توسط Otwell و همکاران در سال ۱۹۹۱ ، Frankos و همکاران در سال ۱۹۹۱، Guandalini و همکاران در سال ۱۹۹۸، Martinez Alvarez و همکاران در سال ۲۰۰۵، Mendes و همکاران در سال ۲۰۰۶، Montero و همکاران در سال ۲۰۰۴ و ۲۰۰۵، Lopez- Cabahero در سال ۲۰۰۰، Thepnuan در سال ۲۰۰۸ و Slattery در سال ۲۰۰۹ جهت جلوگیری از سیاه شدن آنزیمی میگو استفاده شده است.

مواد و روش کار

روش تهیه محلول ۴ – هگزیل رزورسینول

برای آماده سازی محلول ۴ - هگزیل رزورسینول از آب فیلتر شده دریا استفاده شد. بتدریج محلول فوق با سود ۶ نرمال مخلوط شد تا pH آن به ۸ – ۷/۵ رسانده شد(Martinez-Alvarez *et al*., 2005b).

آماده سازی نمونه ها

میگوی وانامی اواخر ماه آبان از مزارع پرورشی تیاب جنوبی در استان هرمزگان تهیه شد. استخرها با استفاده از آب خلیج فارس آبگیری شده و به صورت دستی تغذیه شدند. این پروژه در ۳ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار عمل آوری شد. مقدار ۴۴ کیلوگرم میگو با میانگین وزن و طول ۸/۴ گرم و ۱۰/۶۱ سانتی متر برای عمل آوری استفاده شد. ۸۰ درصد میگو ها نر بودند. مقادیر غلظت های ۰/۱۵ و ۰/۰۵ ٪ برای تیمارها بر اساس تحقیقات انجام شده توسط سایر محققین (Guandalini, Mendes, Montero, Otwell, Thepnuan) تعیین شد. تیمارها شامل میگوی عمل آوری شده با غلظت های ۰/۱۵ و ۰/۰۵٪ ۴ - هگزیل رزورسینول و میگوی بدون آنتی اکسیدان (نمونه شاهد) تهیه شدند. میگوها بعد از برداشت با استفاده از آب یخ به مدت ۳ دقیقه سرد شدند. میگوهای سرد شده در داخل محلول های ۰/۱۵ و ۰/۰۵ ٪ ۴ - هگزیل رزورسینول به نسبت ۲ به ۱ (نسبت محلول به میگو) به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند(Martinez-Alvarez *et al*., 2005b). میگوهای تیمار شده زیر پوششی از یخ به نسبت ۲ به ۱ (دمای صفر درجه سلسیوس) بوسیله سبد به کارخانه عمل آوری بندر کلاهی انتقال داده شدند. بعد از این مرحله میگو با استفاده از پلاستیک پلی اتیلن در مقادیر ۵۰۰ گرمی بسته بندی شده، جعبه گذاری شده و به مدت ۸ ساعت در تونل انجماد قرار داده (۴۰ - درجه سلسیوس) شدند. میگوهای عمل آوری شده به مدت شش ماه در سردخانه ۱۸ – درجه سلسیوس نگهداری شدند.

برای تهیه نمونه شاهد، میگوها به همین روش بدون استفاده از آنتی اکسیدان عمل آوری شدند.

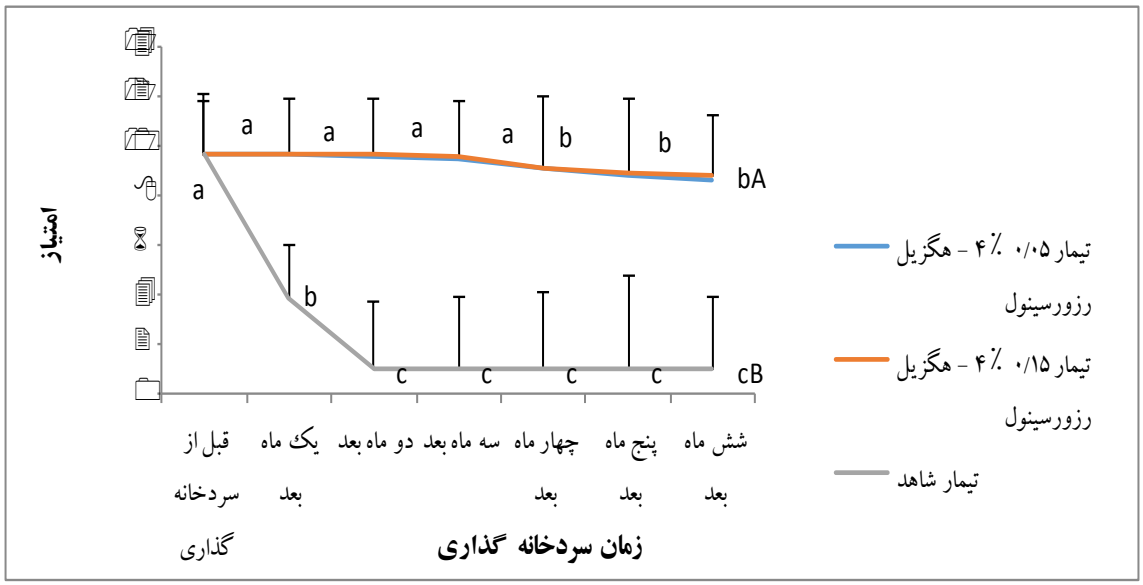
کیفیت نمونه های منجمد آزمایشی و شاهد با استفاده از آزمایشات میکروبی، شیمیایی و حسی بررسی شد. برای بررسی کیفیت حسی (۱۰ نمونه از هر تیمار) از جدول امتیاز بندی کیفی میگوهای خام (با ۱۰ امتیاز و ۴ سطح کیفی) استفاده شد. پارامتر حسی رنگ به روش Quality

index method scoring (متد شاخص کیفی امتیاز دهی) بررسی شد. آزمایش حسی با استفاده از سی ارزیاب مرد و زن در سردخانه بندر کلاهی انجام شد. این افراد بطور تصادفی از کارشناسان و متخصصین فرآوری میگو انتخاب شدند. نمونه ها به شکل منجمد مورد ارزیابی قرار گرفتند (Luten, 2000). آزمایشات شیمیایی شامل اندازه گیری پراکسید به روش تیتراسیون یدومتریک(A.O.A.C. 2002)، TVB-N به روش ماکروکجلدال (A.O.A.C. 1990)، تری متیل آمین به روش اصلاح شده (Bullard & Collins, 1980) تیوباربیتوریک اسید به روش مستقیم(Pearson, 1997) و pH به روش الکترومتریک(A.O.A.C. 1997) انجام شد. آنزیم پروتئاز در این نمونه ها به روش اندازه گیری فعالیت آنزیم با استفاده از آزو کازئین به عنوان سوبسترا انجام شد(Muhila & Garcia – Careeno, 2002). آزمایشات میکروبی شامل شمارش کلی باکتری ها به روش کشت پورپلیت (Andrews & Hammack, 2003; Maturin & Peeler, 2001) *Staphylococcus* به روش کشت سطحی (Bennett & Lancette, 2001)، *Pseudomonas aeroginosa* به روش کشت سطحی(Holt *et al*., 1994)، باکتری های تولید کننده دی سولفید هیدروژن به روش کشت اسلنت و استب(Holt *et al*, 1994)، *Coliform* و *Escherichia coli* به روش کشت پورپلیت (Feng *et al*, 2002) *Vibrio parahaemolyticus* به روش کشت سطحی (Depaolajr & Kysner , 2004) است. آزمایشات میکروبی، شیمیایی و حسی طی هفت مرحله انجام شد. مرحله اول قبل ازسرد خانه گذاری، مرحله دوم یک ماه بعد از سردخانه گذاری و سایر مراحل هر ماه یک بار در زمان های ثابت ماهیانه به مدت شش ماه انجام شد. آنزیم پروتئاز فقط یک مرحله قبل از سردخانه گذاری بررسی شد. میگوها قبل از آغاز عمل آوری از نظر میکروبی، شیمیایی و حسی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه برداری برای انجام این آزمایشات به روش تصادفی انجام شد.

تجزیه و تحلیل اطلاعات خام بدست آمده از آزمایشات میکروبی، شیمیایی و حسی در میگوهای آزمایشی و شاهد بوسیله نرم افزار آماری SPSS و تست آنالیز واریانس دو طرفه در سطح معنی دار (٪۵) طی مدت زمان نگهداری در سردخانه انجام گرفت و تغییرات نتایج نمونه های آزمایشی و شاهد طی زمان مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی تفاوت و مقایسه بین نمونه های آزمایشی و شاهد از آنالیز T test استفاده شد.

نتایج

بر اساس شکل ۱ تغییر رنگ در میگوی آزمایشی تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه مشاهده نشد اما در میگوهای شاهد کمتر از مدت زمان ماندگاری یک ماه در سردخانه مشاهد شد($p<۰/۰۵$). در کیفیت حسی و مدت زمان ماندگاری در سردخانه بین نمونه های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار مشاهده شد($p<۰/۰۵$). شاخص حسی رنگ در نمونه های آزمایشی در قیاس با شاهد از کیفیت بهتری برخوردار بودند. کیفیت رنگ در نمونه های آزمایشی از قبل از زمان سردخانه گذاری تا پایان ماه سوم تفاوت معنی دار نشان نداد($p>۰/۰۵$) . از ماه سوم تا ماه چهارم اندکی کاهش یافت ($p<۰/۰۵$) و تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه تفاوت معنی دار مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$) .



شکل ۱: ارزیابی حسی رنگ میگوی غوطه ورشده در غلظت های مختلف۴- هگزیل رزورسینول و شاهد طی شش ماه نگهداری در سردخانه

حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در زمان و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها می باشد($p<۰/۰۵$) . حروف غیر مشابه نشانه وجود تفاوت معنی دار در هر ردیف و هر ستون می باشد($p<۰/۰۵$) .

مطابق جدل ۱ در نمونه های آزمایشی و شاهد ارزش پراکسید از قبل از سردخانه گذاری تا ماه دوم افزایش و از ماه سوم تا پایان مدت زمان سردخانه گذاری کاهش داشته است. در این فاکتور تفاوت معنی دار بین نمونه های آزمایشی و شاهد مشاهده شد($p<۰/۰۵$). در فاکتور اسید چرب آزاد طی مدت زمان نگهداری در سردخانه سیر افزایشی نشان داد. در این فاکتور در نمونه های آزمایشی از قبل از سردخانه گذاری تا ماه چهارم تفاوت معنی دار مشاهده نشد($p>۰/۰۵$). در نمونه های شاهد از ماه اول تا پایان مدت زمان نگهداری در سردخانه تفاوت معنی دار مشاهده شد($p<۰/۰۵$). فاکتور تیوباربیتوریک اسید در نمونه های آزمایشی و شاهد سیر صعودی نشان داد. این فاکتور در نمونه های آزمایشی در طی زمان نگهداری در سردخانه تفاوت معنی دار نشان نداد. اما، در نمونه های شاهد تفاوت معنی دار نشان داد($p<۰/۰۵$). فاکتور TVB-N طی زمان نمونه برداری (ماههای مختلف) در نمونه های آزمایشی و همینطور شاهد افزایش معنی دار نشان داد($p<۰/۰۵$). فاکتور pH در نمونه های آزمایشی و شاهد طی مدت زمان سردخانه گذاری سیر افزایشی نشان داد. این فاکتور طی مدت زمان نگهداری در سردخانه در نمونه های آزمایشی تفاوت معنی دار نشان نداد. در نمونه های شاهد تا پایان ماه چهارم تفاوت معنی دار مشاهده نشد($p>۰/۰۵$) . فاکتور تری متیل آمین در نمونه های آزمایشی و شاهد طی مدت زمان نگهداری در سردخانه سیر افزایشی نشان داد. این فاکتور طی مدت زمان سردخانه گذاری تا ماه اول در تیمار ۰/۱۵ تا ماه دوم و در تیمار ۰/۰۵ تا ماه اول تفاوت معنی دار نشان نداد($p>۰/۰۵$) و سپس تفاوت معنی دار مشاهده شد.

جدول ۱: نتایج فاکتورهای شیمیایی میگوی غوطه ورشده در غلظت های مختلف۴ - هگزیل رزورسینول و شاهد طی مدت شش ماه نگهداری در سردخانه

ویژگی	پراکسید (meqO۲/kg)			اسید چرب آزاد (g/۱۰۰)			تیوباربیتوریک اسید(mg/kg)			TVB-N (mg/۱۰۰g)			pH			تری متیل آمین (µg/g)		
تیمار / زمان	غلظت ٪۰/۱۵	غلظت ٪۰/۰۵	شاهد	غلظت ٪۰/۱۵	غلظت ٪۰/۰۵	شاهد	غلظت ٪۰/۱۵	غلظت ٪۰/۰۵	شاهد	غلظت ٪۰/۱۵	غلظت ٪۰/۰۵	شاهد	غلظت ٪۰/۱۵	غلظت ٪۰/۰۵	شاهد	غلظت ٪۰/۱۵	غلظت ٪۰/۰۵	شاهد
فاز	۰/۱۳aA	±۰/۱۳aA	/۱۴±۰/۱۳	±۰/۲۴aA	±۰/۱۳aA	±۰/۲۳aA	۰/۱۲aA	۰/۱۳aA	۰/۱۷aA	۱/۸aA	۱/۴aA	±۱/۹aA	۱/۷aA	±۱/۳aA	±۱/۴aA	±۱/۵aA	±۱/۳aA	۰/۴۸aA
صفر	± ۰/۱۴	۰/۱۴	۰ aA	۰/۵۳	۰/۵۳	۰/۵۳	± ۰/۰۸	± ۰/۰۸	± ۰/۰۸	± ۱۱/۸	۱۱/۸	۱۱/۸	± ۶/۹۹	۶/۹۹	۶/۹۸	۰/۵۶	۰/۵۶	± ۰/۵۶
ماه اول	/۱۷abA ۰/۴۹±	/۸۱abA ۰/۴۹±	/۲۵±۰/۱۷ ۱ bB	±۰/۳۱aA ۰/۶۱	±۰/۴۷aA ۰/۶۱	±۰/۱۲bB ۳/۷۳	۰/۱۷aA ± ۰/۱۵	۰/۱۲aA ۰/۱۷±	aB ±۰/۲۵ ۰/۲۱	۲/۱bA ± ۱۲/۴	۱/۵bA ۱۲/۴ ±	۴±۱/۸bA ۱۲/	۱/۷aA ± ۷/۱۱	۱±۱/۸aA ۷/۲	±۱/۸aA ۷/۱۱	±۲/۴aA ۰/۶۵	±۱/۱abA ۰/۸۹	۰/۳۵bB ۳/۲۳ ±
ماه دوم	۰/۱۹bA ± ۰/۷۱	±۰/۳۵bA ۰/۷۱	/۹۷±۰/۲۳ ۲ bB	±۰/۲۴aA ۰/۷۹	±۰/۳۹aA ۰/۷۹	±۰/۱۸cB ۵/۴۶	۰/۱۱aA ± ۰/۲۸	۰/۲۵aA ± ۰/۲۶	۰/۲۲aB ± ۰/۳۴	۲/۸cA ± ۱۳/۱	۱/۲cB ۱۳/۸ ±	±۲۰/۴cA ۱۳/۲	۳/۳aA ± ۷/۱۶	±۲/۴aA ۷/۱۵	±۲/۲aA ۷/۱۷	±۱/۹aA ۰/۸۴	±۱/۸bA ۱/۳۵	۰/۵۶bB ۴/۸۵ ±
ماه سوم	۰/۲۱bA ± ۰/۶۷	±۰/۴۳bA ۰/۶۷	/۸۶±۰/۳۶ ۲ bB	A ±۰/۱۲a ۰/۸۷	±۰/۲۷aA ۰/۸۷	±۰/۳۷cB ۵/۴۸	۰/۳۱aA ± ۰/۳۴	۰/۳۳aA ± ۰/۳۵	aB ±۰/۱۶ ۰/۴۷	۳/۱dA ± ۱۴/۸	۱/۹dB ۱۵/۲±	±۲/۶dA ۱۴/۲	۲/۲aA ± ۷/۲۲	±۱/۹aA ۷/۱۹	±۱/۹aA ۷/۲۹	±۱/۷bA ۱/۴۵	±۱/۹bA ۱/۹۶	۰/۲۸cB ۵/۶۳ ±
ماه چهارم	۰/۲۸bA ± ۰/۶۱	±۰/۱۱bA ۰/۶۱	/۴۵±۰/۴۱ ۲ bcB	۰/۱۹abA ± ۰/۹۱	a ±۰/۲۵bA ۰/۹۱	±۰/۴۵cB ۵/۴۹	۰/۱۱aA ± ۰/۳۸	۰/۱۲aA ± ۰/۳۹	/۱۷abB ±۰ ۰/۶۱	۲/۹eA ± ۱۴/۴	۱/۸eB ۱۶/۶ ±	±۲/۷eA ۱۵/۸	۱/۶aA ± ۷/۲۸	±۱/۳aA ۷/۲۵	±۱/۷aA ۷/۴۳	±۲/۱cA ۱/۹۷	±۲/۳bA ۲/۸۷	۰/۴۳dB ۷/۰۳ ±
ماه نجم	۰/۳۱bA ± ۰/۵۹	±۰/۲۸bA ۰/۵۹	±۰/۲۸ ۲/۱۲ cB	±۰/۱۵bA ۱/۱۵	±۰/۱۱bA ۱/۱۵	±۰/۲۸cB ۵/۴۹	۰/۲۷aA ± ۰/۴۸	۰/۳۲aA ± ۰/۴۸	۰/۱۹ bB ± ۰/۷۸	۳/۴fA ± ۱۵/۲	±۱/۷fB ۱۸/۲	±۱/۷fA ۱۶/۴	۲/۸aA ± ۷/۳۱	±۲/۱bA ۷/۳۳	±۲/۴abA ۷/۵۴	±۲/۶cA ۲/۶۴	±۲/۸bA ۳/۳۴	۰/۲۴eB ۷/۸۲±
ماه ششم	۰/۲۳bA ± ۰/۵۷	±۰/۳۲bA ۰/۵۷	/۷۹±۰/۱۹ ۱ cB	±۰/۱۲bA ۱/۳۴	±۰/۴۵bA ۱/۱۸	±۰/۴۱cB ۵/۵۳	۰/۳۴aA ± ۰/۴۵	۰/۱۴aA ± ۰/۵۳	۰/۳۴ bB ± ۰/۸۵	۱/۹gA ± ۱۶/۴	۱/۱gB ۱۹/۸ ±	±۲/۵gA ۱۷/۴	۱/۷aA ± ۷/۴۷	±۱/۹bA ۷/۴۱	۶±۲/۶bA ۷/۷	±۳/۱dA ۳/۰۸	±۱/۷bA ۴/۲۴	۱/۰۳fB ۸/۵۶ ±

حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در ردیف است. حروف مشابه نشانه عدم وجود تفاوت معنی دار در هر ردیف و هر ستون می باشد (P>۰/۰۵) . حروف غیر مشابه نشانه وجود تفاوت معنی دار در هر ردیف و هر ستون می باشد(P<۰/۰۵) .

اما، در نمونه های شاهد تفاوت معنی دار نشان داد (p<۰/۰۵). در فاکتورهایTVB-N، تیوباربیتوریک اسید، پراکسید، تری متیل آمین و اسید چرب آزاد بین نمونه های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار مشاهده شد (p<۰/۰۵). اما، در فاکتور pH بین نمونه های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار مشاهده نشد(p>۰/۰۵). در فاکتورهایTVB-N، تیوباربیتوریک اسید، پراکسید، تری متیل آمین، اسید چرب آزاد و pH بین تیمارهای ۴ – هگزیل رزورسینول تفاوت معنی دار مشاهده نشد(p>۰/۰۵). آنزیم پروتئاز در تیمارهای۴ - هگزیل رزورسینول ۰/۱۵٪ ، ۰/۰۵٪ و شاهد۲/۱۰ ، ۲/۲۰ و ۲/۹۰واحد/میلی گرم بود.

جدول شماره ۲: میزان رطوبت (٪) در تیمارهای ۴- هگزیل رزورسینول و شاهد طی مدت زمان سردخانه گذاری به مدت شش ماه

تیمار زمان سردخانه گذاری	غلظت۰/۱۵٪	غلظت ۰/۰۵٪	شاهد
فاز صفر	۷۷/۹۸ ±۱/۸aA	۷۷/۹۸ ±۱/۸aA	۷۷/۹۸ ±۱/۸aA
ماه اول	۷۷/۳۴ ±۲/۹bA	۷۷/۳۴ ±۲/۱bA	۷۷/۶۱ ±۱/۸abA
ماه دوم	۷۶/۸۴ ±۲/۳bA	۷۶/۸۴ ±۳/۲bA	۷۷/۱۶ ±۱/۸bA
ماه سوم	۷۶/۱۵ ±۱/۵cA	۷۶/۱۵ ±۱/۹cA	۷۶/۹۵ ±۱/۸bA
ماه چهارم	۷۵/۸۳ ±۲/۴dA	۷۵/۸۳ ±۱/۷dA	۷۶/۷۵ ±۱/۸bcA
ماه پنجم	۷۴/۷۹ ±۲/۷eA	۷۴/۵۹ ±۱/۴eA	۷۶/۳۹ ±۱/۸cA
ماه ششم	۷۴/۴۲ ±۱/۹fA	۷۴/۴۲ ±۱/۲fA	۷۶/۱۸ ±۱/۸cA

حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در ردیف است. حروف مشابه نشانه عدم وجود تفاوت معنی دار در هر ردیف و هر ستون می باشد (p>۰/۰۵) . حروف غیر مشابه نشانه وجود تفاوت معنی دار در هر ردیف و هر ستون می باشد(p<۰/۰۵) .

مطابق جدول ۲ فاکتور رطوبت در نمونه های شاهد و آزمایشی از قبل از سردخانه گذاری تا پایان مدت زمان نگهداری در سردخانه تفاوت معنی دار مشاهده شد. مطابق جدول ۳ درنتایج شمارش کلی باکتری ها، باکتری-هایStaphylococcus و Coliform در نمونه های آزمایشی و شاهد طی مدت زمان ماندگاری در سردخانه تفاوت معنی دار مشاهده شد(P<۰/۰۵) . در شمارش کلی باکتری ها، باکتری هایStaphylococcus و بین نمونه های آزمایشی و شاهد تفاوت معنی دار مشاهده شد(p<۰/۰۵) . این فاکتورها در تیمارهای ۴ – هگزیل رزورسینول تفاوت معنی دار نداشتند (p>۰/۰۵). شمارش (p<۰/۰۵). در این فاکتور بین نمونه های آزمایشی و شاهد و همچنین بین نمونه های آزمایشی تفاوت معنی دار مشاهده نشد(p>۰/۰۵).

کلی باکتری ها، باکتری هایStaphylococcus و Coliform در نمونه های آزمایشی در قیاس با شاهد کاهش نشان دادند. آلودگی به باکتری های Coliform در نمونه های آزمایشی کمتر از ده عدد در هر گرم بود. آلودگی به باکتریهایVibrio parahaemolyticus، باکتری های تولید کننده دی سولفید هیدروژن و Escherichia coli در نمونه های آزمایشی و شاهد مشاهده نشد.

جدول ۳: بار میکروبی میگوی غوطه ورشده در غلظت های مختلف ۴- هگزیل رزورسینول و شاهد طی شش ماه نگهداری در سردخانه (لگاریتم واحد تشکیل دهنده کلنی در هر گرم)

ویژگی	شمارش کلی باکتری ها			*Staphylococcus*			*Coliform*		
نمونه / زمان	غلظت ۰/۱۵	غلظت ۰/۰۵	نمونه شاهد	غلظت ۰/۱۵	غلظت ۰/۰۵	نمونه شاهد	غلظت ۰/۱۵	غلظت ۰/۰۵	نمونه شاهد
فاز صفر	۲/۹۱±۰/۸۴ cA	۳/۳۰±۰/۲۴ cA	۵/۶۷ ±۰/۴۳ cB	۱/۶۵ ±۰/۱۷ cA	±۰/۲۹ bA ۱/۳۳	۲/۹۶ ±۰/۳۲ dB	کمتر از ده عدد در هر گرم A	کمتر از ده عدد در هر گرم A	۱/۲۳±۰/۱۶ bB
ماه اول	۲/۷۹±۰/۵۱ cA	۳/۱۶±۰/۶۴ cA	۵/۵۱ ±۰/۳۵ cB	۱/۳۴±۰/۷۴ bcA	۱/۰۵ ±۰/۷۹b	۲/۵۴ ±۰/۱۲ dB	کمتر از ده عدد در هر گرم A	کمتر از ده عدد در هر گرم A	۱/۱۱ ±۰/۱۱ bB
ماه دوم	۲/۴۲±۰/۲۹ cA	۲/۹۹±۰/۲۵ cA	۵/۱۳ ±۰/۱۳ bcB	۱/۰۷ ±۰/۶۷ bA	aکمتر از ده عدد در هر گرم	۱/۹۹ ±۰/۳۴ cB	کمتر از ده عدد در هر گرم A	کمتر از ده عدد در هر گرم A	۰/۹۵±۰/۱۱ bB
ماه سوم	۲/۶۸±۰/۱۹ bcA	۲/۱۸±۰/۳۷ bcA	۴/۷۹ ±۰/۴۴ bB	کمتر از ده عدد در هر گرم aA	//	۱/۲۷ ±۰/۷۴ bB	کمتر از ده عدد در هر گرم A	کمتر از ده عدد در هر گرم A	۰/۳۵±۰/۱۲ aB
ماه چهارم	۲/۴۹±۰/۲۷ bA	۱/۸۷±۰/۱۹ bA	۴/۳۱ ±۰/۲۴ bB	کمتر از ده عدد در هر گرم a	//	a کمتر از ده عدد در هر گرم	کمتر از ده عدد در هر گرم	کمتر از ده عدد در هر گرم	a کمتر از ده عدد در هر گرم
ماه پنجم	۲/۱۱±۰/۱۸ abA	۱/۵۹±۰/۴۳ abA	۳/۹۱ ±۰/۴۶ abB	کمتر از ده عدد در هر گرم a	//	کمتر از ده عدد در هر گرم a	کمتر از ده عدد در هر گرم	کمتر از ده عدد در هر گرم	کمتر از ده عدد در هر گرم a
ماه ششم	۱/۷۴±۰/۶۵ aA	۱/۲۷±۰/۵۴ aA	۳/۵۳ ±۰/۶۳ aB	کمتر از ده عدد در هر گرم a	//	کمتر از ده عدد در هر گرم a	کمتر از ده عدد در هر گرم	کمتر از ده عدد در هر گرم	کمتر از ده عدد در هر گرم a

حروف مشابه نشانه عدم وجود تفاوت معنی دار در هر ردیف و ستون می باشد ($p>0/05$) .حروف غیر مشابه نشانه وجود تفاوت معنی دار در هر ردیف و ستون می باشد($p<0/05$) . حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در ردیف است

بحث

تغییر رنگ در میگوی آزمایشی تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه مشاهده نشد اما در میگوهای شاهد کمتر از مدت زمان ماندگاری یک ماه در سردخانه مشاهد شد. از حیث مدت زمان ماندگاری در سردخانه نمونه های عمل آوری شده با ۴ - هگزیل رزورسینول و نمونه های کنترل تفاوت معنی دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). در این فاکتور بین تیمارهای ۴ – هگزیل رزروسینول تفاوت معنی دار مشاهده نشد. نتایج به دست آمده از این تحقیق برای حفظ کیفیت حسی میگو با تحقیقات انجام شده توسط Otwell و همکاران در سال ۱۹۹۱و ۲۰۰۴ ، Frankos و همکاران در سال۱۹۹۱، Guandalini و همکاران در سال۱۹۹۸ ،Martinez Alvarez در سال ۲۰۰۵،Mendes و همکاران در سال ۲۰۰۶، Montero و همکاران در سال۲۰۰۴ و ۲۰۰۵، Cabahero-Lopez در سال ۲۰۰۰،Arias در سال ۲۰۰۷، Thepnuan در سال ۲۰۰۸ و Slattery در سال ۲۰۰۹ مطابقت دارد.

۴ هگزیل رزورسینول با استفاده از مکانیسم های مختلف مانند تغییر pH، حذف اکسیژن، تاثیر مستقیم روی آنزیم پلی فنل اکسیداز و غیر فعال کردن آنزیم پروتئاز از فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز جلوگیری می کند (Arias *et al*., 2007).

شکل مت آنزیم پلی فنل اکسیداز با استفاده از اکسیژن مولکولی قادر است هیدروکسیلاسیون تیروزین را به دی فنل ها کاتالیز کرده و سبب بروز تغییر رنگ در میگو شود (Iyengar *et al*., 1991). با توجه به ساختار فنولیک ۴ - هگزیل رزورسینول و این که ترکیب فوق جزء ترکیبات دی فنل می باشد به نظر می رسد که این آنتی اکسیدان بوسیله رقابت با دی فنل های های حاصل از هیدروکسیلاسیون تیروزین می تواند بجای آنها با آنزیم واکنش داده و مانع از ادامه فعالیت آنزیم شود. علاوه بر این، اکسیداسیون سوبسترای دی فنولیک به کوئینون ها به وسیله آنزیم دی فنل اکسیداز و در حضور اکسیژن منجر به تغییر رنگ میگو می شود. ۴ - هگزیل رزورسینول اکسیژن را حذف کرده، از تشکیل پلی فنل اکسیداز در شکل اکسی و ادامه فعالیت آنزیم جلوگیری می کند(Concalves & Gindri Junior, 2009). حذف اکسیژن از طریق مکانیسم دیگری مانند جلوگیری از واکنش تبدیل تیروزین به ملانین نیز عمل می کند (Guandalini *et al*., 1998).

واکنش های اساسی پلی فنل اکسیداز برای بروز تغییر رنگ میگو در شرایط اسیدی و قلیایی قابل انجام نیستند. بنابراین به وسیله تنظیم pH محلول ۴ - هگزیل رزورسینول روی ۸ نیز می توان سبب جلوگیری از فعالیت آنزیم و تغییر رنگ میگو شد (Mendes *et al*., , 2006).

بر اساس واکنش ۴ - هگزیل رزورسینول با فرم های مت و داکسی آنزیم پلی فنل اکسیداز، نقش دو منظوره این آنتی اکسیدان و نقش سوبسترا در نحوه عملکرد ۴ - هگزیل رزورسینول برای غیر فعال سازی آنزیم پلی فنل اکسیداز، تاثیر این ترکیب روی کاهش فعالیت آنزیم پروتئاز و کاهش سوبستراهای حاصل از فعالیت آنزیم پروتئاز ۴ هگزیل رزورسینول با استفاده از متد ممانعت آنزیماتیک بوسیله رقابت با سوبستراهای موجود برای اتصال به سایت های کاتالیزوری آنزیم قادر به غیر فعال کردن آنزیم می باشد. علاوه بر این، آنتی اکسیدان ۴ - هگزیل رزورسینول به عنوان مهار کننده آنزیم پلی فنل اکسیداز عمل کرده و قادر به اتصال به شکل مت این

آنزیم و غیر فعال سازی آن می باشد(2006 , Arias, 2007; Caballero) .

با توجه به پایداری آنزیم پروتئاز در انجماد (Omondi & Stark, 2001)، سنتز پلی فنل اکسیداز به شکل پیش ساز در بدن میگو (Thepnuan, 2008) و تبدیل آن به شکل فعال آنزیم تحت تاثیر آنزیم های پروتئولیتیک ۴ - هگزیل رزورسینول بوسیله جلوگیری از فعالیت آنزیم پروتئاز قادر است که از فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز جلوگیری کند (Kusaimah, 2001) .

بروز تغییر رنگ و کاهش کیفیت حسی در میگوی شاهد تحت تاثیر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز می باشد. در نمونه شاهد فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در سرما کند شده اما از بین نرفته و به مرور زمان سبب تغییر رنگ می شود (Lopez- Cabahero, 2000).

اسید چرب آزاد در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش کمتری داشت. در نمونه شاهد به دلیل تاثیر آنزیم های لیپولیتیک بر روی چربی ماهی، آنزیم لیپاز بافت، آنزیم لیپولیتیک ترشح شده از باکتری های استافیلوکوک، باکتری های مرده و تجزیه شده قادر به فعالیت در فاکتور آبی پائین بوده و می توانند طی فرآیند لیپولیز سبب هیدرولیز چربی ها و تولید اسیدهای چرب غیر اشباع شوند اما در نمونه های آزمایشی به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی ۴ - هگزیل رزورسینول و جلوگیری از هیدرولیز چربی این فاکتور کاهش نشان داد(Bottino *et al*., 1979).

مقادیر TBA و پر اکسید در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش کمتری طی مدت زمان نگهداری در سردخانه نشان داد. در نمونه ها از ماه اول تا دوم مقدار پر اکسید افزایش داشته اما از از ماه دوم به بعد کاهش نشان داده است. در نمونه شاهد تاثیر انجماد بر بافت میگو، سبب کاهش رطوبت در زمان سردخانه گذاری، افزایش امکان نفوذ اکسیژن به داخل بافت و در نتیجه اکسید شدن چربی های غیر اشباع و افزایش پراکسید شد. ولی با گذشت زمان تجزیه پراکسید منجر به تولید آلدئید و کتون می گردد که منجر به کاهش مقدار پراکسید و افزایش مقدار TBA می گردد. علاوه بر این، با توجه به نقش ترکیبات آلدئیدی در افزایش این فاکتور به نظر می رسد ترکیبات آلدئیدی حاصل از تجزیه تری متیل آمین نیز از عوامل موثر در افزایش این فاکتور باشند. اما در تیمارهای عمل آوری شده با ۴ - هگزیل رزورسینول تحت تاثیر خاصیت آنتی اکسیدانی این ترکیب از هیدرولیز چربی، افزایش اکسیداسیون و تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون، و تاثیر خاصیت ضد باکتریایی آن از تولید ترکیبات آلدئیدی حاصل از تجزیه تری متیل آمین و افزایش مقدار TBA جلوگیری شد (Hui *et al*., 2004).

pH در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد طی مدت زمان نگهداری در سردخانه افزایش کمتری نشان داد. علاوه بر تولید بازهای فرار (آمونیاک و تری متیل آمین) و TVB-N خاصیت بازی ترکیبات آلدئیدی تولید شده از تجزیه محصولات اولیه اکسیداسیون چربی مانند هیدروپراکسیدها و ترکیبات آلدئیدی، آلدئید فرمیک و هیدروژن تولید شده از تجزیه تری متیل آمین سبب افزایش pH در نمونه شاهد می گردند. در نمونه های آزمایشی به دلیل کاهش تری متیل آمین، جلوگیری از اکسیداسیون چربی توسط ۴ - هگزیل رزورسینول،کاهش تجزیه محصولات ثانویه اکسیداسیون چربی به ترکیباتی مانند آلدئیدها و TVB-N این فاکتور در قیاس با شاهد کاهش داشت(Huss, 1994).

مقدار رطوبت در نمونه های آزمایشی در قیاس با شاهد کاهش کمتری نشان داد. در میگوهای شاهد علاوه بر وجود فضای خالی بین میگوها و نیز نوسانات دمایی

سردخانه، تشکیل کریستال های یخ در فرآورده و جریان هوا در سردخانه طی زمان سردخانه گذاری تولید آلدئید فرمیک حاصل از تجزیه تری متیل آمین اکسید باعث کاهش قدرت نگهداری آب و افزایش خروج آب از ماهی و کاهش رطوبت شد(جانستون و نیکلسون، ۱۳۸۴). در نمونه های عمل آوری شده با ۴ - هگزیل رزورسینول، این ترکیب علاوه بر افزایش ظرفیت نگهداری آب بافت نمونه ها، تحت تاثیر خاصیت ضد باکتریایی این ترکیب مقدار تولید تری متیل آمین و آلدئید فرمیک در این نمونه ها کاهش یافته و در نتیجه مقدار رطوبت در نمونه های عمل آوری شده با این آنتی اکسیدان در مقایسه با نمونه شاهد افزایش جزئی نشان داد (Noobmorm & Vongsmasdi, 1998).

مقدار TVB-N در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش کمتری داشت. در نمونه شاهد علاوه بر کاهش رطوبت که سبب شکسته شدن ساختار پروتئین و تولید ترکیب های ازت دار فرار قابل تقطیر می شود، تولید اسیدهای چرب آزاد و تاثیر آن بر دناتوره شدن پروتئین، آنزیم پروتئاز و تجزیه اسیدهای آمینه یا انواع متیل آمین ها و سایر نیتروژن های غیر پروتئینی نیز می توانند باعث افزایش TVB-N گردند. اما در نمونه های آزمایشی به دلیل کاهش تشکیل اسیدهای چرب آزاد، کاهش تعداد میکرواورگانیسم ها و جلوگیری از فعالیت آنزیم پروتئاز هپاتوپانکراس میگو مقدار این فاکتور در مقایسه با نمونه شاهد طی مدت زمان سردخانه گذاری پائین تر بود(Cobb *et al*., 1973).

تری متیل آمین در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش کمتری داشت. با توجه به تاثیر جزئی ۴ - هگزیل رزورسینول مستقیماً روی تجزیه تری متیل آمین در میگوی منجمد، این ترکیب از تجزیه تری متیل آمین اکساید توسط فعالیت آنزیمی باکتریایی تولید شده و در نهایت به آلدئید فرمیک و دی متیل آمین تبدیل می گردد(Cintra *et al*., 1999). در نمونه های شاهد به دلیل وجود باکتری ها در روی سطح بدن، امعاء و احشاء و سفالوتراکس و آنزیم های مترشحه از آن ها فسفولیپیدها تجزیه شده و در نهایت تری میتل آمین تولید می شود که سبب افزایش این فاکتور طی مدت زمان سردخانه گذاری در نمونه ها شده است. در نمونه های آزمایشی تحت تاثیر فعالیت ضد باکتریایی ۴ - هگزیل رزورسینول در تعداد باکتری ها کاهش مشاهده شده است که سبب کاهش در آنزیم های مترشحه و تری متیل آمین در مقایسه با نمونه های شاهد شد (Haard &Simos, 2004; Haard & Simpson, 2000)

شمارش باکتری ها در نمونه های عمل آوری شده با ۴ - هگزیل رزورسینول در مقایسه با شاهد کاهش داشت. ۴ - هگزیل رزورسینول با مکانیسم های مختلفی مانند جذب اکسیژن و تغییر شرایط برای بقای میکرواورگانیسم ها سبب از بین رفتن آن ها می شود. ۴ - هگزیل رزورسینول با مکانیسم جذب اکسیژن سبب نامساعد شدن شرایط برای بقای باکتری های هوازی می گردد. با توجه به این که سدیم کلراید یکی از ترکیبات تشکیل دهنده ۴ - هگزیل رزورسینول می باشد، به دلیل تغییر شرایط محلول ۴ - هگزیل رزورسینول از حالت ایزوتونیک، سبب نامساعد شدن شرایط برای بقای میکرواورگانیسم ها، پاره شدن غشای سیتوپلاسمی و از بین رفتن میکرواورگانیسم ها می شود. علاوه بر این، ۴ - هگزیل رزورسینول ضد عفونی کننده قوی بوده و سبب کاهش میکرواورگانیسم ها در نمونه های آزمایشی می شود (Rauf, 2005; Martinez-Alvarez, 2005b; Green, 1949).

سرانجام با توجه به تاثیر ۴ - هگزیل رزورسینول برای جلوگیری از فعالیت آنزیم

پلی فنل اکسیداز نمونه های آزمایشی تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه از کیفیت باکتریایی، شیمیایی و حسی مطلوبی برخوردار بودند اما نمونه های شاهد کمتر از یک ماه کیفیت ماندگاری در سردخانه کیفیت حسی خود را از دست دادند. با توجه به عدم وجود تفاوت معنی دار بین غلظت های مختلف ۴ هگزیل رزورسینول در کیفیت حسی، افزایش مدت زمان ماندگاری میگوهای عمل آوری شده، وجود تفاوت معنی دار بین تیمارهای ۴ هگزیل رزورسینول و نمونه شاهد و در نظر گرفتن ارزش اقتصادی غلظت ۰/۰۵ درصد از این ترکیب را می توان برای نگهداری میگوی وانامی پرورشی به مدت شش ماه در سردخانه پیشنهاد کرد.

منابع

جانستون، وی. ای. و نیکلسون، اف. جی.، ۱۳۸۴. انجماد و نگهداری محصولات شیلاتی در سردخانه ها. جان فدا، ترانه سادات. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی. تهران، ایران. ۲۷۰ صفحه.

Andrews, W.H. and Hammack, T.S., 2003. Food sampling and preparation of sample homogenate. In: Bacteriological analytical manual online, 8th edn. Food and Drug Administration. US.

A.O.A.C., 1990. Official Methods of Analysis, 920.03. Determination of total volatile nitrogen by distillation method. AOAC international.USA.

A.O.A.C., 1997. Official methods of analysis, 981.12. AOAC international, USA.

A.O.A.C., 2002. Official Method of Analysis, 965.33, Peroxide value of oils and fats. AOAC International . USA.

Arias, E., González, J., Oria, R. and Lopez-Buesa, P., 2007. Ascorbic acid and 4-hexylresorcinol effects on pear PPO and PPO catalyzed browning reaction. Journal of Food Science. 72:C422-9

Bennett, R. and Lancette W., 2001. *Staphylococcus aureus*, In: Bacteriological analytical manual online, 8th ed. Food and Drug Administration. US.

Bottino, N.R., Lilly, M.L. and Finne, G., 1979. Fatty acid stability of Gulf of Mexico brown shrimp held on ice and in frozen storage. Journal of Food Science. 44: 123 – 127

Bullard FA. and Collins J.,1980. An improved method to analyze trimethylamine in fish and the interference of ammonia and dimethylamine. Fishery Bulletin. 78: 314 – 318.

Cintre IHA., Ogawa NBP., Souza MR., Diniz FM and Ogawa M., 1999. Decomposition of trimethylamine oxide related to the use of sulfites in shrimp. Food Science and Technology. 19: 415 – 423.

Cobb, III BFI. and Alaniz, C.A., Thrompson Jr. and 1973. Biochemical and microbial studies on shrimp: volatile nitrogen and amino nitrogen analysis. Journal of Food Science. 38: 225 – 229.

Concalves, A.A. and Gindri Junior, CSG., 2009. The effect of uptake on storage quality of frozen shrimp. Journal of food engineering. 90: 344 – 351.

Depaolajr, A. and Kysner, C.A., 2004. *Vibrio*, In: Bacteriological analytical manual online, 8th ed. Food and Drug Administration. US.

Erickson, M., Hung, Y.C., 1997. (ed), Protein denaturation and functionality losses. In Quality in Frozen Food.

Chapman Hall/International Thomson Publishing, New York, USA. pp. 111–140

Feng, P., Weagant, SD. and Grant, MA., 2002. Enumeration of *Escheria coli* and the *Coliform* bacteria, In: Bacteriological analytical manual online, 8th ed. Food and Drug Administration. US.

Fieger, E.A., 1950. Problems in handling fresh and frozen shrimp. Food Technology .4: 250 – 256

Flores, S.C. and Crawford, D.L., 1973. Postmortem quality changes in iced Pacific shrimp (Pandalus jordani). Journal of Food Science. 38: 146 – 152.

Frankos, V.H., Schemitt, D.F., Haws, L.C. and McEvily, A.J.,. 1991.Generally recognized as safe (GRAS) evaluation of 4-hexylresorcinol for use as a processing aid for prevention of melanosis in shrimp. Regul Toxicol Pharmacol. 14: 202 – 212.

Gomez-G-uillén, M.C. and Montero, M.P., 2007. Polyphenol Uses in Seafood Conservation. 2: American Journal of Food Technology. 2: 365 – 369.

Green, M., 1949. Bacteriology of shrimp. and. quantitative studies on freshly caught and iced shrimp. Food Research 14:372 – 377.

Guandalini, E., Ioppolo, A., Mantovani, A., Stacchini, P. and Giovannini, C., 1998. 4-Hexylresorcinol as inhibitor of shrimp melanosis: efficacy and residues studies; evaluation of possible toxic effect in a human intestinal in vitro model (Caco-2); preliminary safety assessment. Food Addit Contam 15:171 – 180.

Haard, N.F. and Simos, B.K., 2004. Seafood enzymes. Marcle Dekker, New York , USA, 257 P.

Holt, J.G., Krieg, R.N., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S.T., 1994. Bergeys manual of determinative bacteriology. Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland. 787P.

Hui, Y.H., Cornillon, P., Legarreta, I.G., Lim, M., Murrell, K.D. and Nip, W.K., Freezing seafood products principals' and applications, 133 ed. In: Jiang St., Lee TC., 2004. Hand book of frozen foods. Marcel Dekker Incorporated, New York, USA. pp. 245- 294.

Huss, H.H., 1994. Assurance of seafood quality. Fisheries Technical paper 334.FDA.

Iyengar, R., Bohmont, C.W. and Mcevily, A.J., 1991. 4-Hexylresorcinol and prevention of shrimp blackspot: residual analyses. Journal of Food Composition and Analysis. 4: 148-157.

Kusaimah, M., Soottawat, B. and Kongkarn, K., 2011. Polyphenol oxidase, proteases, melanosis and properties of pre-cooked Pacific White Shrimp as affected by heating conditioned. Paper presented at the 12 th Asian food conference, BITEC Bangna, Bangkok, 16 – 18 June 2011.

López-Caballero, M.E., Martínez-Álvarez, O., Carmen Góme Guillén, M. and Montero, P., 2006. Quality of Norway lobster treated with a 4-hexylresorcinol-based formulation. European Food Research and Technology. 222: 425 -431.

Lopez-Caballero, M.E., Perez , M., Borderias, J.E. and Montero, P., 2000. Extension of shelf life of prawns vacuum packaging and high pressure treatment. Journal Food Protect. 63: 1381 – 1388.

Martinez, O.M., Gomez, C. and Montero, P., 2005a. Role of sulfites and 4 - hexylresorcinol on microbial growth and melanosis prevention in shrimps using controlled atmosphere. J. Food Protect., 68: 103-110.

Martinez-Alvarez, O., Lopez-Caballero, M.E., Montero, P. and Gomez-Guillén, M.C., 2005b. A 4-hexyl-resorcinol based formulation to prevent melanosis and

microbial growth in chilled tiger prawns fiom aquaculture. Journal Food Science, 70: 415-422.

Maturin, L.J. and Peeler, J.T., 2001. Aerobic plate counts. In: Bacteriological analytical manual online, 16th ed. Food and Drug Administration. US.

Mendes, M., Pestana, J. and Pestana, C., 2006. Changes in 4-hexylresorcinol residues during processing of deep water pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*). European Food Research and Technology, 223: 509 – 515.

Montero, P., Martil, O., Nez-Alvarez, O. and Gomez –Guillen, M.C., 2004. Effectiveness of onboard application of 4-hexylresorcinol in inhibiting melanosis in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). Journal of Food Science, 69: C643-C647

Montero, O., Martínez-Álvarez, J., Zamorano, P., Alique, R. and Gómez-Guillén, M.C., 2005. Melanosis inhibition and 4-hexylresorcinol residual levels in deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) following various treatments. Food Research and Technology, 223: 16 – 21.

Haard, F.N. and Simpson, B.K. 2000. TMAO-degrading enzymes. In. Sotelo CG and Rehbein H. Seafood enzymes. New York, NY,

Luten, J.B., 2000. 'Development and implementation of a computerized sensory system (QIM) for evaluating fish freshness. CRAFT FAIR CT97 9063. Final Report for the period from 01-01-98 to 31-03-00'. RIVO The Netherlands Institute for Fisheries Research, Wageningen, The Netherlands, p 18.

Muhila, A. and Garcia – Careeno, F. L., 2002. Influence of molting and starvation on the synthesis of photolytic enzymes in the midgut gland of the white shrimp *Penaeus vannamei*. Comp Biochemistry and Physiology 133:383 - 393.

Noobmorm, A. and Vongsmasdi, P., 1998. Effect of method on qualities of guiant fresh water prawns. Journal Food Qualities 21: 145 – 154.

Omondi, J.G. and Stark, J.R., 2001. Studies on digestive proteases from midget glands of a shrimp, *Penaeus indicus, lobster, Nephrops norvegicus*: Proteolytic activity. Applied Biochemistry Biotechnology. 90:137-53.

Otwell, W.S., Lyengar, R. and McEvily, A.J., 1991. Inhibition of shrimp melanosis by 4 – Hexylresorsinol. Journal of Aquatic Food Product Technology, 1: 53 – 65.

Pearson, D., 1997. Laboratory Techniques in food analysis. Butter worth. Co. LtD. London, UK: 325P.

Rauf A., 2005. Synthesis and biological studies of some Schiff base compounds and their transition metal complexes. Department of Chemistry/ Bahauddin Zakariya University Multan of Pakistan.

Slattery, S.L., Williams, D.J. and Torrisi, C., 2009. New modified dipping method using 4-hexylresorcinol for preventing black spot formation in Prawns . Journal of Aquatic Food Product Technology. 18: 284 – 293.

Thepnuan, R., Benjakul, S. and Visessanquan, W., 2008. Effect of pyrophosphate and 4-hexylresorcinol pretreatment on quality of refrigerated white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) kept under modified atmosphere packaging. Journal Food Seience. 73: 124 -133.

Xiong, Y. L., 1997. Protein denaturation and functionality losses. Eds. In: Erickson M, Hung YC. Quality in frozen food. Chapman Hall/Internacional Thomson Publishing, New York, pp. 111–140.

Effects of ferulic acid and grape seed extract treatment on black spot of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during freezing period

Seifzade M.[1*]; Khanipoor A.A.[1]; Moradi Y.[2]

[*]M_seifzadeh_ld@yahoo.com

1-National Inland Water Aquaculture Institute, Iranian Fisheries Research Institute (IFRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Anzali
2- Iranian Fisheries Research Institute (IFRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO)

Received: November 2014 Accepted: September 2015

Keywords: Whiteleg shrimp, Being kept in frozen storage, Black spot, Ferulic acid, Grape seed extract

Abstract:

Aims and literature review: Effects of ferulic acid and grape seed extract for preventing black spots forming in whiteleg shrimps and its replacement rather than by synthetic compounds. So far to prevent black spots on shrimp by grape seed extract and Frulic acid has not been investigated in Iran. Material and methods: Three treatments were used to implement this study. The treatments contained immersed shrimp ferulic and and grape seed extract (at a concentration of 3 % and 1.5%, respectively) for 15 minutes and without antioxidant shrimp. Qualities of samples had been evaluated by chemical and sensory tests at a temperature of -18 °C in frozen storage for 6 months.
Results: Peroxide value, Thiobarbituric acid, free fatty acids and TVB-N factors showed significant differences compared to control samples ($p<0.05$). pH, protease and trimethylamine no significant difference in experimental samples compared to control samples ($p>0.05$). Sensory factors including color (melanosis) of ferulic acid and grape seed extract treatment showed significant difference compared to control samples. Sensory quality and shelf life of no observed significant difference in ferulic acid compared to grape seed extract ($p>0.05$). Black spot wasn't formed in the experimental treatments till the end of the storage period but melanosis was formed in the control samples in less than a month being kept in frozen storage.

* Corresponding author