

## تأثیر غوطه‌وری ماهی کامل و تخلیه شکمی شده قزل‌آلای رنگین‌کمان در عصاره چای سبز بر کیفیت ماندگاری

### به هنگام نگهداری در بخش

\* بهروز محمدزاده<sup>۱</sup> - مسعود رضایی<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۲۳

تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۲۳

### چکیده

در این پژوهش عصاره چای سبز به‌وسیله آب استخراج گردیده و پس از غوطه‌وری ماهیان به دو صورت کامل و شکم خالی در محلول ۶۰۰ ppm به مدت ۹۰ دقیقه، اثر عصاره مذکور بر کیفیت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به هنگام نگهداری در بخش مطالعه گردید. شاخص‌های شیمیایی و میکروبی فساد چربی شامل عدد پراکسید (Peroxide) (Thiobarbituric acid), اسیدهای چرب آزاد (Free fatty acid), مجموع بازهای نیتروژن فرار (TVB-N), شمارش کل باکتری‌ها (Total Viable Counts) و شمار باکتری‌های سرمادوست (Pseudomonas viable count) و همچنین ارزیابی حسی در زمان‌های ۰، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ روز پس از بین‌گذاری اندازه‌گیری و با نمونه شاهد مقایسه شدند. براساس نتایج آماری در طی دوره نگهداری، مقادیر شاخص‌های PV, TVC, TVB-N, TBA, FFA و PVC نمونه‌های غوطه‌ور شده در عصاره چای سبز، در مقایسه با نمونه شاهد به شکل معنی‌داری کمتر بود و غوطه‌وری به صورت ماهی شکم خالی در عصاره چای سبز موجب تاخیر بیشتر در روند اکسیداسیون چربی و فساد میکروبی شد. نتایج ارزیابی حسی نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف بود. به عنوان یک نتیجه‌گیری کلی غوطه‌وری ماهی قزل‌آلای شکم خالی در غلاظت 600 ppm عصاره چای سبز، جهت جلوگیری و تاخیر فساد میکروبی و اکسیداسیون چربی به هنگام نگهداری در بخش توصیه می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** عصاره چای سبز، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*), تخلیه شکمی، نگهداری در بخش

صورت سرد گزارش کرده‌اند (Lehmann & Aubourg, 2008). گرچه برخی محققین ادعا می‌کنند که تخلیه شکمی موجب افزایش سطحی از گوشت می‌شود که در معرض باکتری‌های آلووده کننده قرار می‌گیرد و در نتیجه موجب کاهش عمر ماندگاری محصول تخلیه شکمی شده می‌شود (Ravesi *et al.*, 1985). امروزه با توجه به وجود عوارض استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی (Lin & Lin, 2004; Navarro-Garcia *et al.*, 2004; Navarro-Garcia *et al.*, 2005) و اثرات نامطلوب آن‌ها مانند اثر جهش‌زایی، ایجاد سمومیت، سرطان‌زایی و... استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند ترکیبات پلی‌فنل موجود در چای سبز و برخی گیاهان دیگر که آثار محافظتی در برابر بیماری‌های مزمن، سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی و جهش‌زایی دارند، توصیه می‌شود. چای سبز حاوی گروه‌هایی از ترکیبات پلی‌فلنی می‌باشد که به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و از تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کنند. این ترکیبات فلزات را کلاته می‌کنند و مانع واکنش‌های فساد آنزیمی می‌شوند (Hara, 2001).

### مقدمه

مزارع پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دهه اخیر توسعه یافته‌اند و تولید این ماهی پرورشی در کشور، دارای روند رو به رشدی می‌باشد. سوپر مارکتها و فروشگاه‌های خردۀ فروش معمولاً این ماهی را به صورت شکم خالی و یا به صورت فیله می‌فروشنند. در حوضه صنعت نیز ماهیان قبل از استفاده عمدها تخلیه شکمی می‌شوند (Kolakowska *et al.*, 2006). اماء و احتشای ماهی به عنوان یک منع قوی از انزیم‌های هاضمه و باکتری‌هایی هستند که می‌توانند موجب فساد گوشت تازه ماهی شوند و نهایتاً منجر به ایجاد بو و طعم غیر قابل پذیرش شوند. مطالعات بسیاری افزایش عمر ماندگاری گونه‌هایی که تخلیه شکمی شده‌اند را طی نگهداری به

۱ و ۲- کارشناسی ارشد شیلات و دانشیار دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی  
دانشگاه تربیت مدرس  
(Email: rezai\_ma@modares.ac.ir)  
\*(\*)- نویسنده مسئول:

غلظت ۶۰۰ ppm (Mahdavi *et al.*, 1995) به مدت ۹۰ دقیقه غوطه‌ور کرده و سپس آن‌ها را در بسته‌های سلفون قرار داده و بالاً فاصله بسته‌ها در جعبه‌های یونولیت که در کف آن‌ها سوراخی چهت خروج احتمالی آب حاصل از ذوب بخ ها تعییه شده است به صورت یک لایه بخ و یک لایه ماهی قرار گرفتند (Fan *et al.*, 2008). در ادامه چهت بررسی تاثیرگذاری عصاره چای سبز بر روند فساد و کیفیت ماندگاری شاخص‌های مربوطه به فاصله ۴ روز یکبار مورد سنجش قرار گرفتند.

### آزمایش‌های شیمیایی

**مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار TVB-N**

۱۰ گرم گوشت چرخ شده ماهی را همراه با ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل بالن کلدال ریخته، سپس چند عدد پرل شیشه‌ای به همراه اکتان نرمال (ضد کف) به آن اضافه می‌گردد. سپس بالن را به دستگاه وصل کرده و از زیر به آن حرارت داده می‌شود. در انتهای دستگاه یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری نیز حاوی ۲۵ سی از محلول اسیدبوریک ۲ درصد به همراه چند قطره معرف متیل رد قرار داده شد. عمل تقطیر تا گذشت ۳۰ دقیقه از زمان جوشش مواد درون بالن، یا جمع شدن حدود ۱۲۵ سی سی مایع در ارلن مایر ادامه می‌یابد. محلول اسیدبوریک به محض قلیای شدن توسط بازهای ازته فرار تقطیر شده زرد رنگ می‌شود. عمل تیتراسیون این محلول توسط اسید سولفوریک ۱/۰ نرمال تا جایی ادامه می‌یابد که اسیدبوریک دوباره قرمز شود. مقدار TVB-N به صورت میلی-گرم درصد گرم گوشت ماهی با توجه به رابطه ۱ به دست می‌آید (Goudlas & Kontominas, 2005).

$$V = \frac{1}{4} \times M \times \text{میزان اسید}$$

وزن نمونه

(۱)

### مقادیر پراکساید

ابتدا روغن نمونه مورد نظر استخراج گردید، بدین منظور مقدار ۱۵ گرم نمونه را وزن کرده و به همراه ۶۰ سی سی متانول در دکانتور ریخته و به خوبی هموژن می‌شود. سپس مقدار ۳۰ سی سی کلروفرم افزوده و دکانتور تکان داده می‌شود. پس از ۵ دقیقه دوباره ۳۰ سی سی کلروفرم اضافه شده و به مدت ۲۴ ساعت در این حالت قرار گرفت تا چربی استخراج شود. بعد از ۲۴ ساعت برای جداسازی فازها ۳۶ سی سی آب مقطر اضافه شد. بعد از ۲ ساعت فاز زیرین در بالن سرسمباده‌ای جمع شده و در روتاری قرار گرفت تا حلال آن تبخیر شود و فقط روغن باقی بماند. روغن استخراج شده برای

فنولی چای اثرات بازدارندگی بسیار شدیدی در برابر گونه‌های مختلف باکتری‌های پاتوژن موجود در مواد غذایی دارد (Hara, 2001). اثر بازدارندگی پلی فنلهای چای سبز در برابر رشد میکروبی و میزان بازهای نیتروژنی فرار در عضله تون زردباله طی نگهداری در بین توسط Noriyuki و همکاران (۲۰۰۱) مطالعه شد. در زمینه استفاده از عصاره چای سبز در نگهداری فراورده‌های شیلاتی می‌توان به بررسی تأثیر عصاره‌های مختلف چای روی کیفیت نگهداری فیله‌های Lin & Lin (Katsuwons pelamis) (2005)، تاخیر در اکسیداسیون چربی در ماهی Blue sprat (Spratelloides gracilis) (Seto *et al.*, 2005) و اثر آنتی-اکسیدانی پلی‌فنلهای چای سبز بر کیفیت ماهی کیلکای معمولی (Clupeonella cultriventris caspia) (Ajac and همکاران، ۱۳۸۳) اشاره کرد. ماهی قزل آلای رنگین کمان یکی از مهمترین گونه‌های پرورشی با تولید سالیانه بالا در دنیا و ایران می‌باشد که عموماً با استفاده از بخ نگهداری و حمل و نقل می‌شود (Rezaei *et al.*, 2008). با توجه به افزایش تقاضای مصرف کنندگان به خصوص مصرف کنندگان خانگی درخصوص استفاده از محصولاتی که علاوه بر دارا بودن کیفیت مطلوب دارای فرم و شکل ساده‌ای چهت پخت و پز باشند و با عنایت به گرایش‌های موجود در استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در سال‌های اخیر افزایش ماندگاری ماهی قزل آلای رنگین کمان با استفاده از نگهدارندگهای طبیعی در بخ و ارائه راهکاری مناسب درخصوص کیفیت و سلامت غذایی این ماهی بیش از پیش جلوه می‌نماید. هدف این مطالعه بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره چای سبز بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان به صورت غوطه‌وری ماهی به دو شکل کامل و شکم خالی در عصاره مذکور می‌باشد تا میزان تاثیرگذاری غوطه‌وری عصاره چای سبز در دو شکل مذکور مشخص شود.

### مواد و روش‌ها

به میزان ۱۰ کیلوگرم ماهی قزل آلای رنگین کمان با وزن متوسط  $\pm 300$  گرم در فصل پاییز به صورت زنده از مجتمع پرورش ماهی (رویان) تهیه گردید. نمونه چای سبز (چین تابستانه) خشک شده، از پژوهشکده چای شهر لاهیجان تهیه شد. چهت تهیه عصاره چای سبز، ۵ گرم چای سبز خشک شده به ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شده و سپس به مدت ۱۲ دقیقه در درجه حرارت ۹۰ درجه سانتی‌گراد حرارت دیده و در ادامه به وسیله کاغذ صافی  $0.45\mu\text{m}$  صاف می‌گردد (Seto *et al.*, 2005). ماهیان را به دو صورت کامل و تخلیه شکمی شده در محلول حاوی عصاره چای سبز با

درصد ضد عفنونی شد. سپس با انبرک و اسکالالپ استریل قسمت ضد عفنونی شده پوست کنی شد و ۱۰ گرم از گوشت زیرین برداشته شده و در ۹۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل ۸۵/۰ درصد قرارداده شده و به مدت ۶۰ ثانیه در یک مخلوط کن آزمایشگاهی هموزن شد (هموژنایزر Wiggen Hauser, مدل D500). در ادامه رقت‌های استاندارد ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ جهت کشت تهیه شد و در طول دوره و در صورت نیاز (بالا بودن بار باکتری و بالا بودن تراکم کلنی‌ها درون پلیت‌ها) کشت از رقت‌های بالاتر نیز استفاده گردید. سه ماهی از هر تیمار به طور جداگانه نمونه برداری شد (استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۱).

#### تهیه محیط‌های کشت، انکوباسیون و شمارش باکتری

برای شمارش کل باکتری‌ها و باکتری‌های سرما دوست در نمونه‌های تهیه شده، از محیط کشت پلیت کانت آگار (Plate count agar) استفاده شد، بعد از ساخت محیط کشت، با میکرو سملپر (count agar) تهیه شده، از میکرو لیتر مخلوط نشاسته یک درصد به ۱/۰ از نمونه‌های تهیه شده طبق دستورالعمل بالا، بر روی محیط کشت به طور سطحی پخش شد در صورت نیاز (بالا بودن تعداد باکتری در یک پلیت) رقیق سازی نمونه‌ها با رقت ۱:۱۰ در محلول سرم فیزیولوژی درون لوله‌های آزمایش استریل در مراحل بعدی نمونه برداری انجام می‌شد. پلیت کانت‌های کشت داده شده مربوط به کل باکتری‌ها بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷°C شمارش شدند (استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۱) و پلیت‌های مربوط به باکتری‌های سرما دوست بعد از ۱۰ روز انکوباسیون در ۷°C شمارش شدند (استاندارد ملی ایران، ۱۳۷۱). شمارش کلنی‌های باکتری کل روی هر پلیت با استفاده از رابطه ۴ صورت پذیرفت:

$$(4) \quad \text{تعداد کلنی در یک گرم} = \frac{\text{تعداد کلنی در یک گرم}}{\text{تعداد کلنی در ۱۰ وزن}} \times \text{عکس رقت} \times \text{عکس حجم استفاده شده}$$

از عدد به دست آمده لگاریتم گرفته می‌شود تا لگاریتم تعداد کلنی در واحد وزن (Log cfu/g) به دست آید.

#### ارزیابی حسی

ارزیابی حسی از طریق ۶ داور نیمه آموزش دیده از دانشجویان کارشناسی ارشد و دکتری رشته شیلات داشتگاه تربیت مدرس انجام شد. نحوه ارزیابی حسی که بررسی برخی صفات از جمله: بافت، ظاهر عمومی، ظاهر آبیشش، بوی آبیشش و وضعیت چشم در تیمارهای مورد آزمایش می‌باشد و نحوه امتیازدهی به این صفات جهت بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره چای سبز بر صفات حسی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بر طبق روش Lin و Morrissey (۱۹۹۴) انجام پذیرفت (جدول ۱).

Banerjee, ۲۰۰۶) به منظور تعیین میزان پراکساید گوشت ماهی نمونه‌ای از روغن استخراج شده از ماهی را به دقیق در ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری سر سمباده‌ای وزن نموده و حدود ۲۵ میلی لیتر از محلول اسیداستیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۵/۰ میلی لیتر از محلول یدورپتاسیم اشباع، ۳۰ میلی لیتر از آب مقطر و ۵/۰ میلی لیتر محلول نشاسته یک درصد به مجموعه افزوده و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات‌سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر گردید و میزان پراکساید از طریق رابطه ۲ به دست آمد و به صورت fat meq oxygen/kg بیان شد (Egan et al., 1997).

$$(2) \quad \text{PV} = \frac{1000 \times \text{نرمالیته} \times \text{حجم مصرفی تیوسولفات}}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

#### مقادیر تیوباربیتوریک اسید

Mیزان TBA با دستگاه اسپکتروفوتومتر و به روش Natseba و همکاران (۲۰۰۵) تعیین و به صورت میلی گرم مالونوآلائید در هر کیلوگرم بافت بیان گردید. اندازه گیری TBA به وسیله روش رنگ سنجی صورت گرفت. مقدار ۲۰۰ میلی گرم از نمونه چرخ شده ماهی به یک بالن ۲۵ میلی لیتری انتقال یافت و سپس با ۱-بوتانول به حجم رسانده شد. ۵ میلی لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک درب‌دار وارد شده و به آن ۵ میلی لیتر از معرف TBA افزوده گردید (معرف TBA به وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی گرم از TBA در ۱۰۰ میلی لیتر حلال ۱-بوتانول پس از فیلتر شدن به دست می‌آید). لوله‌های درب‌دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفته و پس از آن در دمای محيط سرد شدند. سپس مقدار جذب (As) در ۵۳۲ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد (Natseba et al., 2005).

#### مقادیر اسیدهای چرب آزاد

۲۵ میلی لیتر از الکل اتیلیک خنثی شده به وسیله سود نرمال به نمونه روغن اضافه گردید. سپس در مراحل بعدی با کمک ۲ تا ۳ قطره معرف فنل فتالین و میزان مصرفی سود نرمال مقدار اسیدیته بر حسب درصد اسید اولتیک بر طبق رابطه ۳ زیر مشخص گردید (Natseba et al., 2005).

$$(3) \quad \text{FFA} = \frac{N/10 \times ۲۸/۲ \times N}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

#### آنالیزهای میکروبیولوژی

#### آماده‌سازی نمونه‌ها

۲۵ سانتی‌متر مربع از پوست ناحیه قدامی پشت ماهی با اتانول ۷۰

جدول ۱ - معیار جهت اندازه‌گیری فاکتورهای حسی مورد آزمون (Lin و Morrissey، ۱۹۹۴)

نمره	چشم	اظاهر آبیشن	بوی آبیشن	اظاهر عمومی	بافت
	چشم شفاف و روشن	آبیشن به رنگ قرمز روشن	آبیشن ماهی بوی تازگی و خاص گونه را بوده و اندکی موکوس دارد.	اظاهر عمومی خوب بوده و پوست تازگی و شفاف است.	بافت سفت و دارای قابلیت ارتجاعی است. فروزنگی ناشی از فشار دست به سرعت درخششیده و شفاف است. برطرف می‌گردد.
۱	چشم اندکی کدر گشته و تا حدی تحدب آن کم شده است.	آبیشن به رنگ قرمز بوده و مقداری موکوس دارد.	بوی خاص ماهی از بین رفته و آبیشن فاقد بوی می‌گردد.	اظاهر عمومی خوب بوده و پوست تا حدی درخششیدگی خود را از دست داد. فروزنگی ناشی از فشار دست به آهستگی برطرف می‌گردد.	بافت سفید و تا حدی قابلیت ارتجاعی خود را از دست داد. فروزنگی ناشی از فشار دست ممکن است در بافت باقی بماند.
۲	تحدب چشم از بین رفته و چشم متمایل به شیری رنگ شده است.	رنگ آبیشن قرمز صورتی تا قهوه‌ای بوده و دارای مقداری موکوس است.	بوی آبیشن تندی کم تا متوسطی دارد.	درخششیدگی ماهی و رنگ پوست آن کم شده است.	بافت سفتی کمی دارد. فروزنگی ناشی از فشار دست ممکن است در بافت باقی بماند.
۳	چشم بدون تحدب، فرو رفته و شیری رنگ است. می‌باشد.	رنگ آبیشن قهوه‌ای بوده و دارای موکوس زیادی	بوی آبیشن خیلی تند و تعفن اور است.	پوست ماهی فاقد درخششیدگی بوده و رنگ آن محو گشته است.	بافت کاملاً نرم است.

ترکیبات غالب پلی‌فلل‌های چای می‌باشند و به عنوان آنتی‌اکسیدان-های موثر در حمله به رادیکال‌های اکسیژن و متصل کردن یون‌های فلزی شناخته شده‌اند (Lin & Lin, 2005; Bellus, 1979). خصوص مکانیسم تاثیرگذاری پلی‌فلل‌های چای سبز در ممانعت از تشکیل رادیکال‌های آزاد و ایجاد اکسیداسیون اثبات شده که کاتکین‌ها توپایی مهار سوپراکسیدها و رادیکال‌های هیدروکسیل را دارا می‌باشند (Sutherland *et al.*, 2006). شکل‌گیری FFA (Free Radical) از نگهداری کوتاه‌مدت به علت کاتالیز شدن چربی‌ها توسط آنزیم‌های داخلی (عمدتاً لیپاز و فسفولیپاز) صورت می‌گیرد (Sutherland *et al.*, 2006). کاتکین‌های موجود در چای سبز علاوه بر مهار مستقیم رادیکال‌های آزاد می‌توانند از تجمع سوپراکسید و رادیکال آزاد هیدروکسی از طریق ممانعت از فعالیت آنزیم اکسیداز گزانتین<sup>۱</sup> جلوگیری کنند. این آنزیم طی روند تولید اسیداواریک، بازهای آلی پورین را به سوپراکسید و رادیکال‌های آزاد هیدروکسی تغییر می‌دهد (Sutherland *et al.*, 2006). در مطالعه بازدارندگی از فعالیت آنزیم لیپواکسیژن‌ناز در عضله ماهی ماکرل (*Scomber scomber*) (Banerjee, 2006) استفاده از پلی‌فلل‌های چای سبز که توسط Banerjee, در سال (بررسی شد) ۲۰۰۶)، نتایج نشان دهنده تاثیر پلی‌فلل‌های چای سبز بر ممانعت از فعالیت آنزیم لیپواکسیژن‌ناز که یک اکسیدکننده قوی چربی‌ها بهویژه اسیدهای چرب غیراشبعان می‌باشد، بود. نتایج تحقیق حاضر با نتایج مطالعات دیگر محققین همسو و منطبق بر آن‌هاست، به طوری که براساس نتایج این تحقیق پلی‌فلل‌های عصاره چای سبز موجب کاهش سرعت تولید پراکساید و همچنین کاهش هیدرولیز چربی‌ها شدند. تیوباریتوريک اسید به طور

## روش آماری

به منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی به دست آمده از تجزیه واریانس دو طرفه در قالب طرح آماری فاکتوریل کاملاً تصادفی استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار شناخته شد از آزمون Duncan در سطح ۵ درصد به کمک نرم افزار SPSS ۱۱.۵ استفاده گردید (Zar, 1999).

## نتایج و بحث

تغییرات مقادیر عدد پراکساید (PV)، اسیدهای چرب آزاد (FFA)، تیوباریتوريک اسید (TBA)، مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVC)، شمارکل باکتری (TVB-N) و شمار باکتری‌های سرمادوست (PVC) در شکل‌های ۱ الی ۶ مشاهده می‌شود، همچنین نتایج ارزیابی حسی در جدول ۲ آورده شده است. براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس دو طرفه داده‌های PV، TVC، FFA، TBA، TVB-N، PVC از تجزیه واریانس دو طرفه چای سبز، اثر زمان به همراه اثر متقابل سطوح مختلف عصاره چای سبز و زمان بر مقادیر شاخص‌های ذکر شده معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). به طور کلی نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با گذشت زمان در تمامی تیمارها شاخص‌های کیفی فساد چربی افزایش یافته است، لیکن این افزایش در تیمارهای مختلف متفاوت بوده به طوری که تیمار شاهد در انتهای دوره دارای بیشترین میزان در تمامی شاخص‌ها نسبت به دو تیمار دیگر بود. تفاوت معنی دار در مقادیر پراکساید، تیوباریتوريک اسید و اسیدهای چرب آزاد در نمونه شاهد نسبت به نمونه‌های تیمار شده با عصاره چای سبز بیانگر تأثیر پلی‌فلل‌های موجود در عصاره در کم کردن توسعه فساد چربی در مطالعه موجود است. کاتکین‌ها جزء

سطح برش خورده بدن ماهی بیشتر در معرض هوا قرار گرفته و در نتیجه بیشتر در خطر اکسیده شدن قرار گیرد و همچنین رنگ ظاهری خود را سریع‌تر از دست دهد (Huss *et al.*, 1974). لیکن در مطالعه موجود هیدرولیز چربی و اکسیداسیون در ماهی تخیله شکمی شده نسبت به شکل کامل کمتر بوده و دارای سرعت کمتری است که می‌تواند بر نفوذ بیشتر عصاره چای سبز و تاثیرگذاری بیشتر آن روی عضله ماهی نسبت به شکل کامل ماهی باشد. در خصوص شاخص‌های فساد میکروبی نیز به طور کلی نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با گذشت زمان در تمامی تیمارها مقادیر شاخص‌های مذکور افزایش یافته است لیکن این افزایش در تیمارهای مختلف متفاوت بوده به طوری که تیمار شاهد در انتهای دوره دارای بیشترین میزان در این شاخص‌ها نسبت به دو تیمار دیگر بود. مقایسه بین تیمارها نیز نشان‌دهنده این بود که از روز ۸ به بعد تیمار شاهد نسبت به سطوح مختلف عصاره چای سبز دارای میزان شمارکل باکتری بیشتری داشته که این افزایش معنی‌دار بوده است ( $p < 0.05$ ). همچنین میزان مجموع بازهای نیتروژنی و شمار باکتری‌های سرمادوست در تیمار شاهد از روز ۱۲ به بعد به طور معنی‌داری بیشتری از دو تیمار دیگر بود. همچنین میزان مجموع بازهای نیتروژنی (TVB-N) نیز در انتهای دوره در تیمار ماهی شکم خالی به طور معنی‌داری کمتر از تیمار ماهی کامل بود. میزان شمار باکتری‌های سرمادوست در ماهی تخیله شکمی کمتر از ماهی کامل بود گرچه این اختلاف معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). دامنه وسیعی از ترکیبات پایه‌ای فرار از جمله آمونیاک، متیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین، تری‌متیل‌آمین و دیگر ترکیبات مشابه که در اثر فعالیت‌های میکروبی تولید می‌شوند، تحت عنوان TVB-N جهت نشان دادن فساد گوشت مورد استفاده قرار می‌گیرد و معمولاً سطحی معادل ۳۵–۴۰ میلی گرم آن در ۱۰۰ گرم عضله ماهی معیار فساد گوشت است (Fan *et al.*, 2008). همان‌طور که نتایج تحقیق حاضر (شکل ۴) نشان داد مقادیر TVB-N همراه با افزایش مدت زمان نگهداری در تمامی تیمارها افزایش یافته است، در بین تیمارهای مورد آزمایش تنها تیمار شاهد در انتهای دوره از لحاظ میزان این شاخص در محدوده مجاز قرار نداشت (37/00mg/kg)، در حالی که دو تیمار دیگر و به خصوص تیمار ماهی شکم خالی دارای میزان کمتری از میزان مجاز بودند. اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای حاوی عصاره‌های چای سبز با تیمار شاهد می‌تواند ناشی از تاثیر پلی فنل‌های چای سبز باشد، به طوری که Fan و همکاران (2008) نیز در تیمارهای غوطه‌ور شده از فنل‌های *Hypophthalmichthys molitrix* نتایج مشابهی را به دست آورده‌اند، آن‌ها کاهشی سریع در جمعیت باکتری‌ها و یا کاهش ظرفیت و توانایی باکتری‌ها در اکسیداسیون و دامینیشن ترکیبات ازته غیر پروتئینی و یا رخ دادن همزمان دو علت فوق با یکدیگر که به طور کلی ناشی از تاثیر غوطه‌وری نمونه‌های

گسترده به عنوان شاخص نشان‌دهنده میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد و ناشی از وجود مواد واکنش دهنده با TBA به دست آمده از مرحله دوم اتواکسیداسیون است که طی آن پراکسیدها به موادی چون آلدئیدها و کتون‌ها اکسید می‌شوند (Natseba *et al.*, 2005). با توجه نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر (شکل ۳) مقادیر TBA با گذشت زمان در تمامی تیمارها افزایش یافت و البته این افزایش در تیمار شاهد باشد بیشتری صورت گرفت، به طوری که از روز ۴ به بعد بین تیمار شاهد با تیمارهای غوطه‌ور شده در محلول حاوی عصاره چای سبز اختلاف معناداری وجود داشت ( $p < 0.05$ ). Fan تاثیر پلی فنل‌های چای سبز (TBA) در ممانعت از افزایش تیوبار بیتورویک اسید (Hypophthalmichthys molitrix) به صورت غوطه‌ور کردن این ماهی در محلول حاوی پلی فنل‌های چای سبز طی نگهداری در بیخ توسط Fan و همکاران (2008) اثبات و گزارش شده است. با توجه به اینکه میزان مجاز مقدار پراکسید در ماهی حدکثر ۵ میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم بافت ماهی است در کیلوگرم گوشت ماهی گزارش شده است (Yanar, 2007)، از لحاظ فراتر رفتن از حد مجاز در مقدار پراکسید تیمارهای شاهد و ماهی کامل غوطه‌ور شده در عصاره چای سبز در روز ۱۲ از حد مجاز فراتر رفتد، در حالی که تیمار ماهی شکم خالی غوطه‌ور شده در عصاره چای سبز در انتهای دوره از میزان مجاز فراتر رفت. در شاخص TBA تنها تیمار شاهد در انتهای دوره از میزان مجاز فراتر رفت، در حالی که تیمارهای غوطه‌ور شده در سطوح مختلف عصاره چای سبز، از حد مجاز فراتر نرفتند و در بین آن‌ها تیمار ماهی شکم خالی به طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) کمتر از تیمار ماهی شکم خالی غوطه‌ور شده در مختص در خصوص تاثیر تخیله شکمی بر فساد چربی در گونه‌های مختلف متفاوت می‌باشد به طوری که در مطالعه Tejada و Huidobro (2002) عمل تخیله شکمی بر روی کیفیت نگهداری و اکسیداسیون چربی در ماهی *Sparus aurata* Sea bream اثربخش است. در حالی که در مطالعه Papadopoulos و همکاران (2003) نتایج تاثیر عمل تخیله شکمی بر ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی ماهی *Dicentrarchus labrax* Sea bass نشان‌دهنده افزایش عمر ماندگاری به میزان ۵ روز در شکل شکم خالی نسبت به شکل کامل این ماهی در بیخ بود. از سویی دیگر افزایش در میزان اتوکلیز در ماهی کامل می‌تواند ناشی از فعالیت پیتیدهای خارجی منتشر شده از ارگان‌های داخلی به درون بافت عضلات پیش از تیمار کردن اولیه ماهیان باشد (Kolakowska *et al.*, 2006). گرچه در مطالعات مختلفی که بر تاثیر تخیله شکمی بر روند اکسیداسیون چربی در ماهی نگهداری شده در بیخ صورت گرفته بیان شده است که عمل تخیله محوطه شکمی، موجب می‌شود که

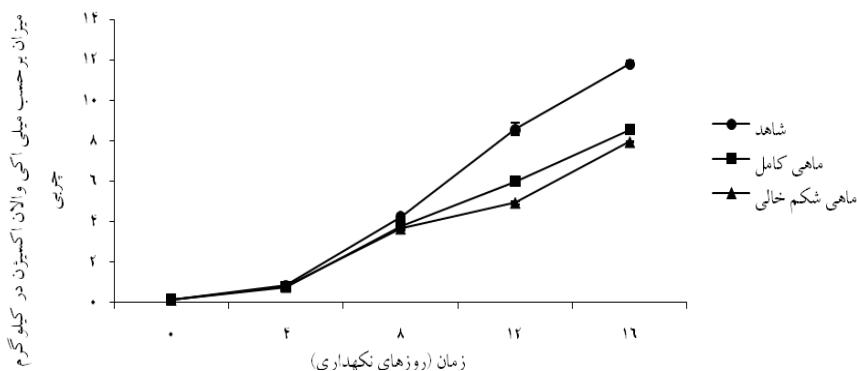
قزل آلای رنگین کمان می‌باشدند که به فساد گوشت نگهداری شده در شرایط هوایی کمک می‌کنند (ICMSF, 1986). بار باکتریایی مجاز برای سایکروتروفیک‌های هوایی (سرمادوست‌ها)  $7 \log \text{cfu/g}$  (Goudlas & Kontominas, 2005) در گزارش شده است (شکل ۶) شمار باکتری‌های سرمادوست با گذشت زمان تحقیق حاضر به طوری که تیمار شاهد در روز ۱۲، از محدوده مجاز بار افزایش یافت. به طوری که تیمار شاهد در این محدوده مجاز بار باکتریایی گذشت که نشان دهنده ایجاد فساد میکروبی از لحاظ این شاخص بود در حالی که دو تیمار دیگر در انتهای دوره به این میزان نزدیک شدند و تقریباً از این لحظه هنوز به مرحله فساد نرسیدند. در مطالعه Chytiri و همکاران (۲۰۰۴) در مدت ۱۸ روز نگهداری ماهی کامل قزل آلای رنگین کمان در بیخ شمار باکتری‌های سودوموناس در انتهای دوره نگهداری به میزان  $\log \text{cfu/g} = 6$  رسید. در مطالعه Kumudavally و همکاران (۲۰۰۸) گوشت قرمز تیمار شده با عصاره چای سبز در شرایط نگهداری هوایی در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی گراد نسبت به تیمار شاهد به طور معناداری دارای شمار سودوموناس‌های کمتری بود. در خصوص تاثیر عمل تخلیه شکمی بر تغییرات میکروبی ماهیان در هنگام نگهداری در بیخ مطالعات متعددی صورت گرفته که در اغلب آنها کاهش بار میکروبی به علت تخلیه امعاء و احشا گزارش شده است، به طوری که در بررسی تاثیر روش‌های کشتار و تخلیه شکمی بر کیفیت ماهی Gilthead seabream (Sparus aurata) (Tejada et al., 2002) نتایج نشان دهنده تاثیر تخلیه شکمی به صورت کاهشی در شدت جمود نعشی و کاهش در بار میکروبی به خصوص در آغاز عمر ماندگاری این ماهی در بیخ بود. در مطالعه‌ای Karacam و Boran (۱۹۹۶) که به بررسی کیفیت ماهی منجمد آنچوی که به صورت کامل و تخلیه شکمی شده در دمای  $-18$  درجه سانتی گراد نگهداری شده پرداخته بود طی مدت نگهداری شمار باکتری‌های سایکروتروفیک و مزووفیلیک در ماهی کامل بیشتر از ماهی تخلیه شکمی بود. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که اختیاراتی مربوط به صفات مختلف مورد بررسی در هر ۳ تیمار با گذشت زمان افزایش یافت و گرچه بین تیمارها نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد لیکن تیمار ماهی شکم خالی غوطه‌ور شده در عصاره چای سبز نسبت به دو تیمار دیگر دارای میانگین اختیار کمتری بود و مقبولیت بیشتری داشت. بر اساس نتایج مطالعه Karacam و Boran (۱۹۹۶) عمل تخلیه شکمی تاثیر معنی‌داری را بر کیفیت حسی ماهی آنچویی که به صورت منجمد نگهداری می‌شد نداشت. در بررسی Koakowski و همکاران (۲۰۰۶) نتایج مطالعه نشان داد که ماهی قزل آلای نگهداری شده در دمای پائین ( $2$  درجه سانتی گراد) حداقل به مدت ۲ هفته قابل خودن است و اگر این ماهیان پیش از نگهداری تخلیه شکمی شوند کیفیت حسی و خوارکی می‌تواند  $2$  الی  $3$  روز

ماهی در محاول حاوی پلی فنل می‌باشد را علت کاهش TVB-N می‌یابان کردند. همچنین استفاده از عصاره‌های چای سبز در فیله‌های ماهی بونیتو به صورت ترکیب در لعاب یخی سبب پایین نگهداشتن سطح TVB-N نسبت به تیمار شاهد طی ۱۶ هفته نگهداری به صورت منجمد گردید (Bellus, 1979). از آنجایی که TVB-N تولید شده احتمالاً به علت تجزیه باکتریایی در عضله ماهیان می‌باشد، مقادیر بالای بار باکتریایی (شمار کل باکتری‌ها) نمونه‌های تیمار شاهد نسبت به بقیه تیمارها طی مدت نگهداری در تحقیق حاضر می‌تواند دلیل برای مقادیر بالای زیاد TVB-N تیمار شاهد باشد. به طوری که وجود همیستگی بالایی به دست آمده بین این دو شاخص گواه این موضوع است ( $P = 0.079$ ) (در حالی که در تیمار ماهی کامل این میزان  $0.984$  و در تیمار ماهی شکم خالی معادل  $0.904$  بود). مقایسه نتایج تحقیق ما با مطالعات دیگران نشان داد که پلی‌فنل‌های چای سبز در ممانعت از افزایش TVB-N نقش واضح و مشخصی دارد و در این خصوص نتایج این پژوهش منطبق بر نتایج دیگر محققین است. با این وجود برخی محققین در مطالعات خود ذکر کرده‌اند شاخص TVB-N نمی‌تواند معیار مناسبی جهت قضاوت Rezaei et al., 1995; Chytiri et al., 2004; Kyранا et al., 1997; 2008; (؛). مهمترین گروه‌های باکتریایی که از گوشت خام قزل آلا جدا شده Aeromonas Pseudomonas- Moraxella- شامل می‌باشد (Sousa et al., 1996) و میزان مجاز شمار کل باکتری برای ماهی قزل آلای رنگین کمان  $\log \text{cfu/g} = 7$  پیشنهاد شده است (ICMSF, 1986). طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های ضد-باکتریایی عصاره چای سبز به خاطر وجود ترکیبات پلی‌فنل بویژه کاتکین‌ها است که بر سلول‌های میکروبی تاثیرمی‌گذارد و با نفوذ عصاره به درون سلول بر متابولیسم RNA و DNA اثر گذاشته و از Kumudavally et al., 2008 (.) بر اساس نتایج مطالعه حال حاضر (شکل ۵) شمار کل باکتری‌ها با گذشت زمان در تمامی تیمارها افزایش یافت، اما روند در تیمار شاهد به گونه‌ایست که از روز  $8$  به بعد بار میکروبی به طور معنی‌داری بیشتر از دو تیمار دیگر است ( $P < 0.05$ ) و شمار کل باکتری در تیمار شاهد در روز  $12$  دوره از حد مجاز ( $10^7 \log \text{cfu}/\text{g}$ ) فراتر رفت ( $7.62 \log \text{cfu}$ ) در مقایسه بین دو تیمار دیگر نیز مشاهده می‌شود که تیمار ماهی کامل غوطه‌ور شده در عصاره چای سبز در انتهای دوره از میزان مجاز فراتر رفت، در حالی که در تیمار ماهی شکم خالی غوطه‌ور شده در عصاره چای سبز در انتهای دوره معادل  $\log \text{cfu}/\text{g} = 6$  بود. در مطالعه Fan و همکاران (۲۰۰۸) غوطه‌وری در محلول پلی‌فنل سبب به تاخیر اندختن فساد میکروبی شد، شمار کل باکتری‌های هوایی از قبیل گونه‌های Pesudomonas جزء گروه‌های باکتریایی غالب در گوشت

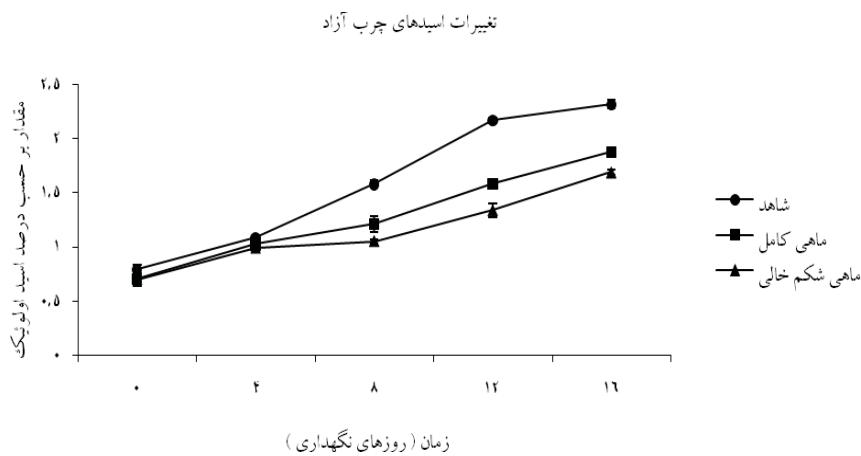
حسی در این مطالعه نشان دهنده عدم تاثیرگذاری معنی داری عمل تخلیه شکمی بر حفظ کیفیت حسی محصول نگهداری شده در بین نسبت به نمونه شاهد غوطه ور نشده در بین بود. از سویی دیگر با توجه به نتایج به دست آمده در مورد تاثیر تخلیه شکمی بر میزان نفوذ و اثر بخشی عصاره چای سبز می توان اظهار داشت گرچه با تخلیه شکمی ماهی خطر اکسیداسیون چربی برای سطح داخلی بدن ماهی افزایش خواهد یافت لیکن همین این عمل موجب نفوذ بیشتر عصاره چای سبز در عضلات ماهی شده و در مجموع می تواند اثر در معرض قرار گیری عضلات ماهی را در برابر هوا را خنثی کند. علاوه بر این تخلیه امعاء و احشای ماهی خود سبب کاهش بار میکروبی شده و غوطه وری در عصاره چای سبز این اثر بازدارنگی تشید می کند. بنابراین با درنظر گرفتن اینکه در هنگام پرسوسه تخلیه شکمی بایستی اصول بهداشت رعایت گردد تا آلودگی های میکروبی کاهش یابد، در مجموع می توان غوطه وری ماهی قزلآلای رنگین کمان را به صورت شکم خالی در عصاره چای سبز دارای غلظت  $60\text{ ppm}$  را جهت افزایش عمر ماندگاری این ماهی به هنگام نگهداری در بین را توصیه کرد. چنانچه که در مطالعه حاضر نیز این افزایش به مدت ۴ روز نسبت به شکل کامل و تقریباً ۸ روز نسبت به ماهی کامل غوطه ور شنده در عصاره چای سبز حاصل گردید.

بیشتر خود را حفظ کند. نتایج ارزیابی حسی مطالعه حال حاضر نشان دهنده عدم تاثیر عمل تخلیه شکمی بر اثر بخشی بیشتر عصاره چای سبز در حفظ کیفیت حسی ماهی قزلآلای رنگین کمان نگهداری شده در بین بود، گرچه که میانگین امتیازات صفات مورد بررسی در تیمار ماهی شکم خالی غوطه ور شده در عصاره چای سبز کمتر از دو تیمار دیگر بود. در مجموع و براساس نتایج به دست آمده، در مطالعه حال حاضر نمونه شاهد به دلیل بالا رفتن بیشتر میزان پراکسید و افزایش میزان TBA و همچنین اسیدهای چرب آزاد دارای روند سریع تری در فساد چربی نسبت به نمونه حاوی عصاره چای سبز بود. همچنین نتایج تجزیه و تحلیل های میکروبی بیانگر این موضوع بود که در تمامی تیمارها، بار میکروبی همراه با گذشت زمان افزایش یافت، ولی این افزایش در تیمارهای غوطه ور شده در محلول حاوی عصاره چای سبز و بخصوص برای ماهی شکم خالی کنترل صورت گرفت، به طوری که تیمار ماهی شکم خالی غوطه ور شده در عصاره چای سبز در هر دو شاخص بار میکروبی در انتهای دوره وضعيت قابل قبولی نسبت به دو تیمار دیگر تیمار شاهد داشت. بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که به طور کلی تیمار کردن ماهی قزلآلای رنگین کمان به صورت غوطه ور در محلول حاوی عصاره چای سبز سبب حفظ کیفیت ماهی از لحاظ شاخص های شیمیایی فساد چربی و میکروبی در نتیجه افزایش ماندگاری این ماهی می شود. نتایج ارزیابی

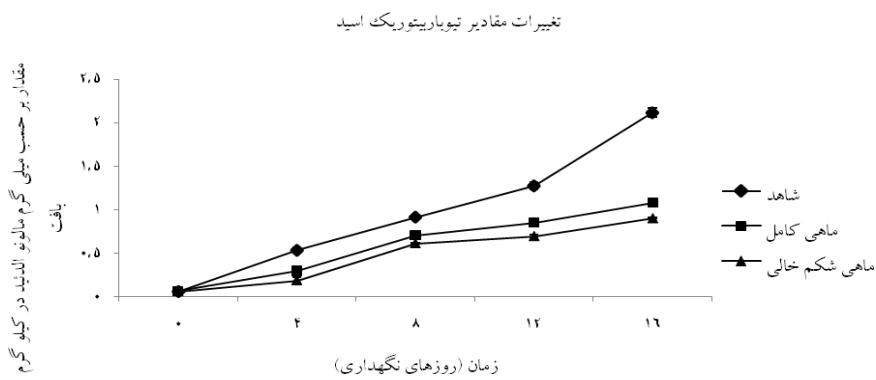
تغییرات عدد پراکسید



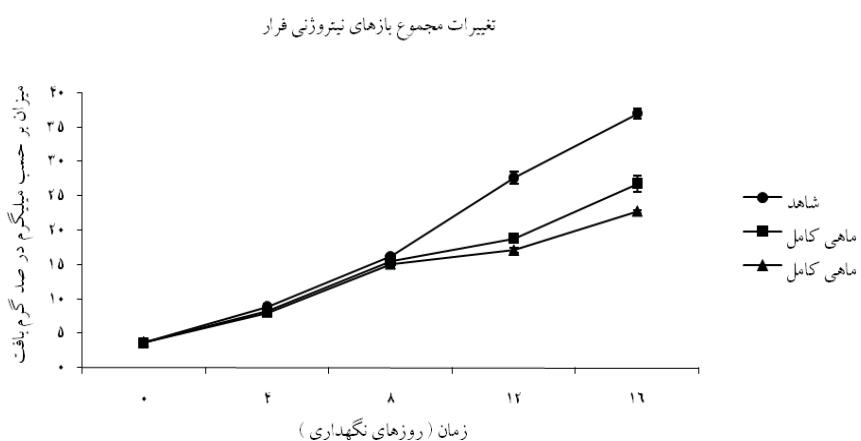
شکل ۱- تغییرات مقادیر عدد پراکسید (PV) برای تیمارهای مختلف آنتی کسیدان نسبت به زمان طی ۱۶ روز نگهداری در بین



شکل ۲- تغییرات مقادیر عدد اسیدهای چرب آزاد (FFA) برای تیمارهای مختلف آنتیاکسیدان نسبت به زمان طی ۱۶ روز نگهداری در یخ

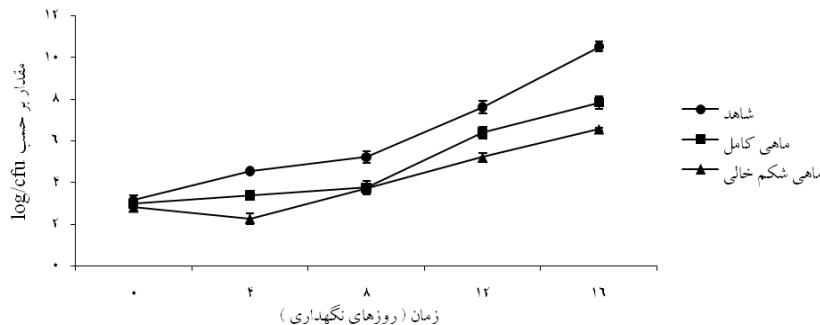


شکل ۳- تغییرات مقادیر عدد تیوبارتیوریک اسید (TBA) برای تیمارهای مختلف آنتیاکسیدان نسبت به زمان طی ۱۶ روز نگهداری در یخ



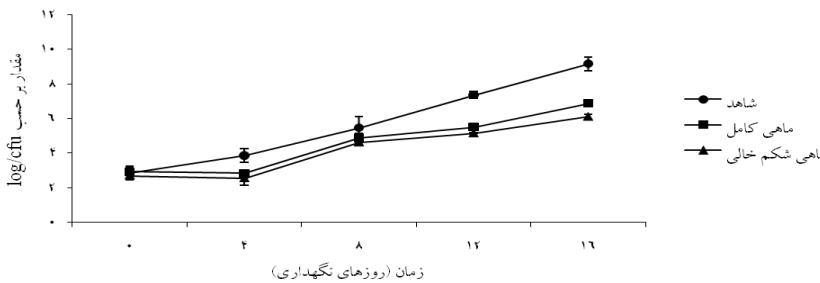
شکل ۴- تغییرات مقادیر عدد بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) برای تیمارهای مختلف آنتیاکسیدان نسبت به زمان طی ۱۶ روز نگهداری در یخ

## تغییرات مقدار شمارش کل باکتری



شکل ۵- تغییرات مقدار شمارش کل باکتری برای تیمارهای مختلف آنتی اکسیدان نسبت به زمان طی ۱۶ روز نگهداری در بخش

## تغییرات مقداری باکتریهای سرمادوست



شکل ۶- تغییرات مقداری باکتریهای سرمادوست برای تیمارهای مختلف آنتی اکسیدان نسبت به زمان طی ۱۶ روز نگهداری در بخش

جدول ۲- امتیاز ارزیابی حسی در تیمارهای مختلف ماهی قزلآلای رنگین کمان در طی زمان نگهداری در بخش.  
زمان نگهداری (روز)

تیمار	بافت	شاهد	ماهی کامل	ماهی شکم خالی	ظاهر عمومی	ماهی کامل	ماهی شکم خالی	ظاهر آیشنس	ماهی کامل	ماهی شکم خالی	بوی آبشش	ماهی کامل	ماهی شکم خالی	چشم
۱۶														
۳±/۰۰ <sup>cA</sup>	۲±/۰۰ <sup>bA</sup>	۱±/۰۰ <sup>aA</sup>	۱±/۰۰ <sup>aA</sup>	/۳۳±/۲۱ <sup>aA</sup>										
۲/۳۳±/۲۱ <sup>cA</sup>	۲±/۰۰ <sup>bA</sup>	/۳۳±/۲۱ <sup>aA</sup>	/۳۳±/۲۱ <sup>aA</sup>	+±/۰۰ <sup>aA</sup>										
۱/۶۶±/۲۱ <sup>bA</sup>	۱/۶۶±/۲۱ <sup>bA</sup>	۱/۳۳±/۲۱ <sup>bA</sup>	/۶۶±/۲۱ <sup>abAB</sup>	+±/۰۰ <sup>aA</sup>										
۱/۳۳±/۲۱ <sup>bcA</sup>	۱/۳۳±/۲۱ <sup>bcA</sup>	۲±/۰۰ <sup>bA</sup>	۲±/۰۰ <sup>bBC</sup>	/۳۳±/۲۱ <sup>aA</sup>										
۱/۳۳±/۲۱ <sup>bA</sup>	۲±/۰۰ <sup>bA</sup>	۱/۳۳±/۲۱ <sup>bA</sup>	/۳۳±/۲۱ <sup>aA</sup>	/۳۳±/۲۱ <sup>aA</sup>										
۲/۶۶±/۲۱ <sup>cA</sup>	۲±/۰۰ <sup>cA</sup>	۲±/۰۰ <sup>cA</sup>	۱±/۰۰ <sup>bAB</sup>	+±/۰۰ <sup>aA</sup>										
۲/۳۳±/۲۱ <sup>bcdA</sup>	۱/۳۳±/۲۱ <sup>bcAC</sup>	۱±/۰۰ <sup>acC</sup>	۲±/۰۰ <sup>bA</sup>	/۳۳±/۲۱ <sup>acA</sup>										
۲/۳۳±/۲۱ <sup>bA</sup>	۲/۶۶±/۲۱ <sup>bcAC</sup>	۲±/۰۰ <sup>bcAB</sup>	۱±/۰۰ <sup>aAB</sup>	/۳۳±/۲۱ <sup>aA</sup>										
۳±/۰۰ <sup>dA</sup>	۳±/۰۰ <sup>dA</sup>	۱/۳۳±/۲۱ <sup>bA</sup>	۱±/۰۰ <sup>abA</sup>	/۳۳±/۲۱ <sup>aA</sup>										
۳±/۰۰ <sup>cA</sup>	۲/۳۳±/۲۱ <sup>cAB</sup>	۱/۳۳±/۲۱ <sup>bA</sup>	۱±/۰۰ <sup>abA</sup>	/۳۳±/۲۱ <sup>aA</sup>										
۲/۳۳±/۲۱ <sup>cA</sup>	۲±/۰۰ <sup>bcDB</sup>	۱/۳۳±/۲۱ <sup>bA</sup>	۱/۳۳±/۲۱ <sup>bA</sup>	+±/۰۰ <sup>aA</sup>										
۳±/۰۰ <sup>cA</sup>	۲±/۰۰ <sup>bA</sup>	۱/۳۳±/۲۱ <sup>aA</sup>	۱±/۰۰ <sup>aA</sup>	/۶۶±/۲۱ <sup>aA</sup>										
۳±/۰۰ <sup>cA</sup>	۱/۳۳±/۲۱ <sup>abA</sup>	۱/۶۶±/۲۱ <sup>bA</sup>	۱/۶۶±/۲۱ <sup>bA</sup>	/۶۶±/۲۱ <sup>aA</sup>										
۲/۳۳±/۲۱ <sup>bA</sup>	۲±/۰۰ <sup>bA</sup>	۱±/۰۰ <sup>aA</sup>	۱±/۰۰ <sup>aA</sup>	/۳۳±/۲۱ <sup>aA</sup>										

p < 0.05 و c حروف کوچک در هر ردیف، نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح a و b حروف بزرگ در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح C و B، A

## منابع

- اجاق، م. سحری، م.ع. رضایی، م.، ۱۳۸۳، اثر آنتی اکسیدان‌های طبیعی بر کیفیت ماهی کیلکا معمولی، مجله علوم دریایی ایران، جلد ۳، شماره ۴، ص ۱ تا ۷.
- استاندارد ملی ایران ۱۳۷۱، روش آماده کردن نمونه‌های مواد غذایی و شمارش میکروارگانیزمهای، شمارش کلی میکروب، شماره ۳۵۶.
- استاندارد ملی ایران ۱۳۷۱، روش‌های آزمون میکروبی گوشت و فرآورده‌های آن، شمارش سودوموناس‌ها، شماره ۴۷۹۱.
- Almajano, M. P., Carbo, R., Jimenez, J. A. L., Gordon, M. H., 2008, Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Journal of Food Chemistry*, 108, 55–63.
- Banerjee, S., 2006, Inhibititon of mackerel (*Scomber scomberus*) muscle lipoxygenase by green tea polyphenols, *Food Research International*, 39, 486-491.
- Bellus, D., 1979, Physical quenchers of molecular oxygen. *Adv. Photochem*, 11, 105-205.
- Chytiri S., Chouliara I., Savvaidis I.N., Kontominas M.G., 2004, Microbiological, Chemical and Sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Journal of Food Microbiology*, 21, 157-165.
- Dawood A. A., Roy R. N., WilliamsC. S., 1986, Quality of rainbow trout chilled-stored after post-catch holding. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37, 421–427.
- Egan, H., Krik, R.S., Sawyer, R., 1997, Pearson's chemical analysis of foods. 9(edn), 609-634.
- Fan W., Chi Y., Zhang S., 2008, The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Journal of Food Chemistry*, 108, 148–153.
- Gimenez B., Roncales P., and Beltran J.A., 2002, Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1154–1159.
- Goudlas, A. E. and Kontominas, M. G., 2005, Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Journal of Food Chemistry*, 93, 511–520.
- Huss, H. H., Dalsgaard, D., Hansen, L., Ladefoged, H., Pedersen and L. Zittan. 1974, The influence of hygiene in catch handling on the storage life of iced cod and plaice. *Journal of food science technology*, 9, 213-221.
- ICMSF “International Commissionon Microbiological Specification Foods” 1986, Microorganisms infooods.
- Karacam, H., Boran, M., 1996, Quality changes in frozen whole and gutted anchovies during storage at -18 0C. *International Journal of Food Science and Technology*, 31, 527-531.
- Kolakowska, A., Zienkowicz, L., Domiszewski, Z., Bienkiewicz, G., 2006, Lipid changes and Quality of whole of whole- and gutted Rainbow trout during storage in ice. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 36, (1), 39-47.
- Kumudavally K. V., phanindrakumar H. S., Tabassum A., Radhakrishna K., Bawa A. S., 2008, Green tea – A potential preservative for extending the shelf life of freash mutton at ambient temperature (25±2 0C). *Journal of Food Chemistry*, 107, 426-433.
- Kyrana V.R., Lougovois V., P., Valsamis D. S., 1997, Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *International Food Science and Technology*, 32, 339–347.
- Lehmann, I and. Aubourg, S. P., 2008, Effect of previous gutting on rancidity development in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) during frozen storage at 20 0C. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 270–275.
- Lin, C. C. and Lin, C. S. 2005, Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea extracts. *Journal of Food Chemistry*, 16,(2),169-175.
- Lin, D., Morrisse, M.T., 1994, Iced Storage Characteristis of Northern Squawfish (*Ptychochelius foregoness*).J. Aquat, Food Prod.Tech, 3, 25-43.
- Lindsay, R.C., 1991, Flavour of fish. Paper presented at 8th World Congress of Food Science and Technology, 29th September–4th October, Toronto, Canada.
- Losada, V., Barros-Velazquez, J.P., Aubourg, S., 2007, Rancidity development in frozen pelagic fish: Influence of slurry ice as preliminary chilling treatment. *LWT*, 40, 991-999.
- Mahdavi D. L., Deshpande S. S., Salunkhe D. K. 1995, *Journal of Food Antioxidant*. 1st edn. New York: Marcel Dekker, Inc, USA. 378.
- Natseba, A., Lwalinda, I., Kakura, E., Muyanja, C.K., Muyonga, J.H., 2005, Effect of pre-freezing icing

- duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*). Food Research International, 38, 469-474.
- Navarro-Garcia, G., Pacheco-Aguilar, R., Bringas-Alvaradol, L., Ortega-Garcia, J., 2004, Characterization of the lipid composition and natural antioxidants in the liver of *Dasyatis brevis* and *Gymnuram armorata* rays. Food Chemistry, 87, 89-96.
- Papadopoulos, V., Chouliara, I., Badeka, A., Savvaidis, I. N., Kontominas, M. G., 2003, Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. Journal of Food Microbiology, 20, 411-420.
- Ravesi, E., Licciardello, J., Tuhkunen, B., Lundstrom, R., 1985, The effect of handling or processing treatments on storage characteristics of fresh spiny dogfish. Marine Fisheries Reviews, 47, 48-67.
- Rezaei M., Hosseini S.F., Ershad Langrudi H., Safari R., Hossein s.v., 2008, Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Food Chemistry, 106, 1161-1165.
- Rezaei, M., Hosseini, S.F., Ershad Langrudi, H., Safari, R., Hosseini, S.V., 2008, Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Food Chemistry, 106, 1161-1165.
- Seto Y., Lin C., Endo Y., Fulimoto K., 2005, Retardation of lipid oxidation in blue spart by hot water tea extracts. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85, 1119-1124.
- Sousa J. A., Romalde J.L., Ledo A., Eiras J. C., Barja J.L., Toranzo A. E., 1996, Health status of two salmonid aquaculture facilities in North Portugal: characterization of the bacterial and viral pathogens causing notifiable diseases. Journal of Fish Diseases, 19, 83-89.
- Sutherland, B.A., Rahman, R.M.A., Appleton, I., 2006, Mechanisms of action of green tea catechins, with a focus on ischemia-induced neurodegeneration. Journal of Nutritional Biochemistry, 17, 291-306.
- Tall, J., Harris, P., 1995, Rancidity in frozen fish. In: Technology Nutrition and Marketing Hamilton, Rj. Rice, RD. eds. P. J. Barnes and Associates. Sharnbrook, UK, 138.
- Tejada, M., Huidobro, A., 2002, Quality of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*) during ice storage related to the slaughter method and gutting. Eur Food Res Technol, 215, 1-7.
- Yanar, Y., 2007, Quality Changes of Hot Smoked Catfish (*Clarias Gariepinus*) During Refrigerated Storage. Journal of Muscle Foods, 18, 391-400.
- Yukihiko Hara, 2001, Green tea Tokyo Food Techno Co., Ltd. (Mitsui Nor in Co., Ltd.) Tokyo, Japan.pp:264.
- Zar J. H. 1999, Biostatistical Analysis. Prentice Hall International, Inc. 660.