بررسی اثر عصاره خیار دریایی (*Holothuria leucospilota*) بر کیفیت میکروبی فیله ماهی شوریده (*Otolithes rubber*) در شرایط نگهداری در یخچال

حنانه رضائیان[1]، سید ولی حسینی[1*]، عباسعلی مطلبی مغانجوقی[2]، علیرضا میرواقفی[1]، کبری ضیایی[1]

[1]گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

[2]موسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: hosseinisv@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۳/۷

چکیده

در این پژوهش فیله‌های ماهی شوریده تحت تأثیر غلظت‌های مختلف (۰/۵، ۱ و ۲ درصد) عصاره الکلی‌خیار دریایی *Holothuria leucospilota* قرار گرفت و سپس تحت خلأ بسته‌بندی شد. فیله‌های بسته‌بندی شده به‌مدت ۱۶ روز در یخچال در دمای ۴ سانتی‌گراد نگهداری شد و هر ۴ روز یک-بار آزمایش‌های میکروبی شامل شمارش مجموع باکتری‌های کل، باکتری‌های سودوموناس، انتروباکتریاسه و باکتری‌های تولیدکننده سولفید هیدروژن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مجموع باکتری‌های کل در همه تیمارها با گذشت زمان افزایش یافت و بیشترین مقدار این شاخص در همه تیمارها در روز ۱۲ نگهداری مشاهده شد. باکتری سودوموناس، انتروباکتریاسه و باکتری‌های تولیدکننده سولفید هیدروژن در طول دوره نگهداری در نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری بیش از نمونه‌های تیمار شده با عصاره بود. در نمونه‌های تیمار شده با عصاره ۲ درصد تا روز ۴ نگهداری باکتری سودوموناس مشاهده نشد. انتروباکتریاسه نیز در تیمارهای ۱ و ۲ درصد تا روز ۸ نگهداری دیده نشد. در تیمار ۲ درصد تا روز ۱۲، در تیمار ۱ درصد تا روز ۸ و در تیمار ۰/۵ درصد تا روز ۴ هیچ‌گونه باکتری تولیدکننده سولفید هیدروژن مشاهده نشد. نتایج حاکی از آن است که عصاره خیار دریایی بر روی نمونه‌های ماهی در حفظ کیفیت مطلوب آن‌ها و افزایش مدت زمان نگهداری در شرایط سرد، تأثیر بسزایی دارد. شایان ذکر است که عصاره ۲ درصد نسبت به سایر غلظت‌های عصاره در افزایش ماندگاری فیله‌های ماهی شوریده اثر بیشتری داشت.

واژگان کلیدی: خیار دریایی، عصاره، فعالیت ضدمیکروبی، نگهداری در یخچال.

مقدمه

استفاده از محصولات دریایی به‌عنوان منبع غنی غذایی مناسب و تأثیرات مثبت آن بر سلامتی و تغذیه انسان مورد توجه مصرف‌کنندگان قرار گرفته است (Aubourg *et al*., 2005). ماهی از دسته غذاهای بسیار فسادپذیر می‌باشد. کیفیت ماهی بعد از مرگ به‌واسطه واکنش‌های شیمیایی و فساد میکروبی کاهش می‌یابد (Ozogul *et al*., 2004) و در نتیجه کیفیت حسی و ارزش تغذیه‌ای آن از بین می‌رود (Rasoarahona *et al*., 2005; Ozogul *et al*., 2006). از زمانی که ماهی می‌میرد، فساد آن شروع می‌شود و تغییرات پیچیده‌ای در اثر فعالیت‌های آنزیمی، شیمیایی و میکروبی رخ می‌دهد. با مرگ ماهی و تضعیف سیستم ایمنی بدن، باکتری‌ها به راحتی تکثیر یافته و به‌سرعت به بافت‌ها هجوم می‌آورند و باکتری‌های ویژه فساد با استفاده از مواد حاصل از خود هضمی، رشد و تکثیر می‌یابند. این ارگانیزم‌ها با تولید متابولیت‌هایی در ماهی باعث به وجود آمدن ترکیبات نامطبوع مرتبط با فساد می‌شوند به‌طوری که در اغلب موارد تولید بو یا طعم نامطبوعی حاصل از فساد است که توسط متابولیسم باکتریایی رخ می‌دهد، گاهی نیز همبستگی بین تعداد کل باکتری‌ها و فساد وجود ندارد چون تنها بخشی از کل فلور در فساد نقش دارند (Gram and Huss, 1996).

جهت جلوگیری یا به تعویق انداختن فساد ماهی و فرآورده‌های آن راهکارهای متعددی ارائه شده است که از آن جمله می‌توان به کنترل درجه حرارت و کاهش آن، بسته‌بندی تحت خلأ، بسته‌بندی در اتمسفر اصلاح شده اشاره کرد (Lin and Lin, 2004). اخیراً استفاده از نگه‌دارنده‌های شیمیایی جهت افزایش ماندگاری محصولات شیلاتی مورد

توجه قرار گرفته است. در تحقیقی پزشک و همکاران (۱۳۹۱) اثر ضد باکتریایی و ضد اکسیداسیونی عصاره زردچوبه را در شرایط آزمایشگاهی بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار دادند. طبق بررسی‌های حسی و آنالیزهای میکروبی، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تیمار شده با عصاره زردچوبه نسبت به نمونه شاهد تا انتهای دوره نگهداری قابل مصرف بود. در پژوهشی دیگر اعتمادی و همکاران (۱۳۸۷) پتانسیل آنتی باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری را در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مطالعه نمودند، نتایج نشان داد که عصاره رزماری توانست عمر ماندگاری نمونه‌ها را نسبت به نمونه شاهد ۴ روز افزایش دهد.

ماهی شوریده با نام علمی *Otolithes rubber* از خانواده Sciaenidae است. این ماهی از ممتازترین آبزیان تجاری در جنوب کشور می‌باشد که در بنادر مختلف صید شده و در تمامی نقاط کشور طرفداران بسیار زیادی دارد. گوشت آن‌ها طعم عالی و به‌صورت تازه، شور و خشک مصرف می‌شود.

خیار دریایی جانوری با پوسته پوشیده شده از خار است و در شاخه خارپوستان، رده خیارسانان قرار می‌گیرد. این موجود از جمله بی‌مهرگانی است که استفاده‌های سنتی، پزشکی و تغذیه‌ای از آن دارای قدمت بالایی است. در تحقیقاتی که روی عصاره‌ها و ترکیبات بدست آمده از خیار دریایی صورت گرفته است، خواص سیتوتوکسیسیتی (Hawa *et al.*, 1999; Sugawara *et al.*, 2006)، آنتی‌اکسیدانی (Ding *et al.*, 2003)، ضد باکتریایی، ضدالتهابی، ضد ویروسی، ضد توموری (Farouk *et al.*, 2007) آن به اثبات رسیده است. هدف از این پژوهش بررسی اثر عصاره خیار دریایی *Holothuria leucospilota* بر کیفیت میکروبی فیله ماهی شوریده بسته‌بندی شده در خلأ در زمان نگهداری در شرایط سرد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها جهت عصاره‌گیری: خیار دریایی مورد نظر از عمق ۳۰ متری اطراف جزیره هِنگام جمع‌آوری و با استفاده از یخ به ساحل منتقل گردید. پس از انتقال به آزمایشگاه، نمونه‌ها در فریز در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان عصاره‌گیری نگهداری شدند. استخراج عصاره براساس روش Naik و همکاران (۱۹۸۹) انجام گرفت. برای تهیه عصاره، ابتدا نمونه‌ها با استفاده از آب سرد، انجمادزدایی گردید. ارگان‌های داخلی بدن آن جدا و دیواره بدن پاک شده و سپس به تکه‌های کوچک ۱ سانتیمتری خرد گردید. نمونه‌های خرد شده به ارلن منتقل شده و به آن‌ها ۱۰۰۰ سی‌سی متانول اضافه شد و به‌مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه در دمای اتاق قرارداده شد. پس از ۷۲ ساعت محلول به دست آمده صاف شده تا ذرات نمونه از آن جدا شود. حلال عصاره بدست آمده با دستگاه روتاری (BUCHI، سوئیس)، در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و دور ۱۴۵، حذف شد. سپس هم حجم نمونه به‌دست آمده اتر اضافه کرده تا دو فاز آبی و اتری تشکیل شود. توسط دکانتور دو فاز فوق جدا شد و هم فاز آبی حلال ۱-بوتانول اضافه گردید، سپس فاز رویی عصاره آبی جدا شده و از عصارهٔ حاصله جهت تهیه محلول‌هایی با درصدهای مختلف استفاده گردید.

آماده‌سازی ماهی و تهیه عصاره خیار دریایی: ۱۵ عدد ماهی شوریده از بندر صیادی آبادان در فروردین ۱۳۹۲ از میان ماهیان صید شده به‌طور تصادفی تهیه گردید. سپس ماهیان تازه در داخل جعبه‌های یونولیت همراه با یخ قرار داده شد و طی مدت ۱ روز به آزمایشگاه فرآوری آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل گردید. به‌منظور جداسازی مواد زائد خارجی از سطح بدن ماهیان، شستشوی آن‌ها با آب شیرین انجام پذیرفت. پس از سرزنی، تخلیه شکمی و فیله نمودن ماهیان مجدداً شسته به‌منظور جداسازی مواد زائد خارجی از سطح بدن ماهیان، شستشوی آن‌ها با آب شیرین انجام پذیرف و در محلول‌های آماده عصاره خیار دریایی ۰،

۰/۵، ۱ و ۲ درصد به مدت ۶۰ ثانیه غوطه‌ور شدند. آنگاه با دستگاه وکیوم بسته‌بندی در خلاء شده و سپس کلیه‌ی نمونه‌های مربوط به هر تیمار در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ روز نگهداری شدند. در طی دورهٔ نگهداری، در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ نگهداری، از هر گروه نمونه‌هایی به‌طور تصادفی انتخاب شده و آزمایش‌های میکروبی بر روی آن انجام گرفت.

آزمون‌های میکروبی: برای بررسی وضعیت میکروبی نمونه در طی دورهٔ نگهداری باکتری‌های *Pseudomonas* spp., H_2S-producing، Enterobacteriaceae و همچنین Total viable counts مورد بررسی قرار گرفتند. براساس روش APHA بعد از آماده‌سازی نمونه ها به منظور تهیه رقت‌های سریال از نمونه‌های مورد نظر با استفاده از سمپلر مقدار ۱ میلی‌لیتر از نمونه هموژن برداشته شده و به لوله آزمایش حاوی ۹ میلی لیتر آب مقطر استریل منتقل گردید تا رقت ۰/۱ بدست آید و سپس از رقت‌های مورد نظر بر روی Plate count agar کشت داده شد و به‌مدت ۱ روز در گرمخانه ۳۰ درجه سانتی-گراد نگهداری و سپس پلت‌های مذکور مورد شمارش باکتریایی طبق قوانین شمارش قرار گرفتند. که سودوموناس ها بر روی Pseudomonas Agar Base که با مکمل‌های cetrimide, fusidin cepHaloridine به‌صورت یک محیط کشت انتخابی درآمده کشت داده شده و بعد از ۲ روز انکوباسیون در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد کلنی ها شمارش گردید. برای شمارش باکتری‌های H_2S-producing مانند *Shewanella putefaciens* مانند روش فوق نمونه-ها آماده شد و در محیط کشت iron agar کشت داده و این پلیت‌ها در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ روز انکوبه شدند سپس کلنی‌های سیاه رنگ تولید شده توسط این باکتری‌ها بعد از ۳-۲ روز شمارش گردیدند.

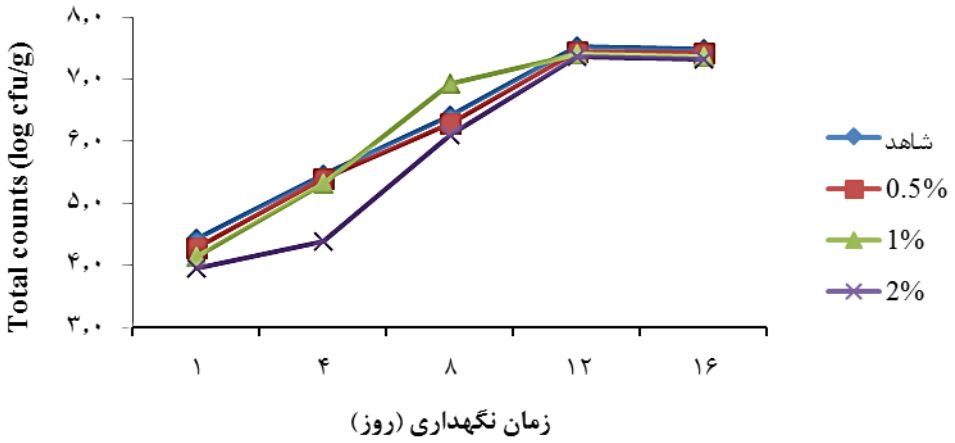
جهت کشت باکتری‌های انتروباکتریاسه کشت صفحه‌ای با استفاده از محیط کشت VRBGA (Violet red bile glucose agar) شد. مقدار یک میلی‌لیتر از رقت‌های مختلف را بر حسب ضرورت در پتری دیش ریخته و مقدار ۱۰ تا ۱۵ میلی لیتر محیط VRBGA را که حرارت ۴۵ درجه سانتی‌گراد دارد به آن اضافه شد. محیط را با نمونه به‌وسیله حرکات چرخشی خوب مخلوط کرده و گذاشته تا خنک شود. بعد از اینکه محیط به صورت جامد در آمد یک لایه دیگر از محیط VRBGA را به مقدار ۳ تا ۴ میلی‌لیتر روی آن ریخته پلیت-های وارونه شده را در حرارت ۳۵ درجه سانتی-گراد به‌مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت قرار داده سپس کلنی‌های بزرگ با هاله‌های بنفش رنگ مورد شمارش قرار گرفت.

آنالیز آماری: جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. آزمون کولموگروف-اسمیرنف برای تعیین نرمال بودن داده‌ها و تجزیه واریانس یک‌طرفه برای تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین هر شاخص انجام شد. آزمون دانکن در سطح اعتماد ۵ درصد نیز صورت پذیرفت.

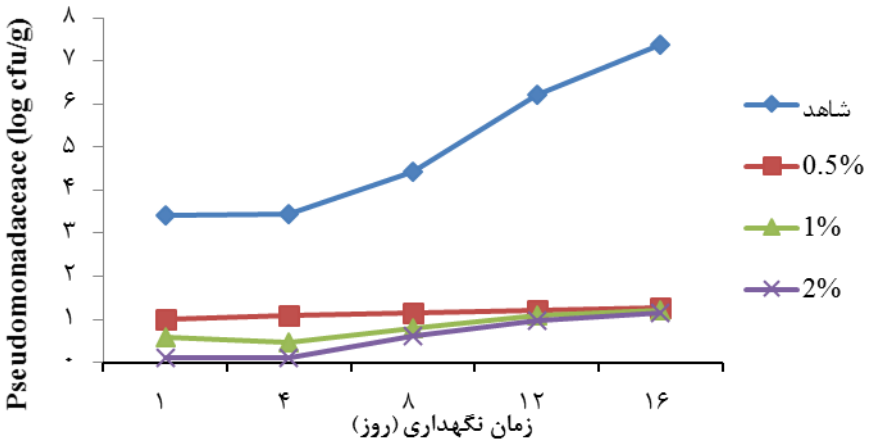
نتایج

مقادیر شمارش کل باکتری‌های قابل رؤیت (TVC) در فیله‌های وکیوم و مواجهه با عصاره خیار دریایی ماهی شوریده در شرایط نگهداری در یخچال در شکل ۱ آمده است. واضح است که استفاده از عصاره باعث می‌شود مجموع کل باکتری‌ها کمتر از نمونه‌های شاهد باشد ($P<۰/۰۵$). افزایش میزان کل بار باکتریایی (Total viable counts) با گذشت زمان ماندگاری نشان‌دهنده‌ی آن است که حتی در غلظت بالا بر مقدارش افزوده شده است. به گونه‌ای که تعداد کل باکتری‌ها در گروه کنترل به‌تدریج با سپری شدن دوره نگهداری افزایش پیدا کرد و در روز ۱۲ نگهداری به بالاترین میزان خود رسید.

در این گروه از باکتری‌ها نیز تعداد کلنی‌ها در گروه شاهد با گذشت زمان روند صعودی دارد و بیشترین تعداد نیز در همین گروه یعنی log cfu/ g



شکل ۱ - تغییرات بار کل باکتریایی در نمونه‌های ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان غوطه‌ور شده در محلول حاوی غلظت‌های مختلف عصاره خیار دریایی (♦)۰، ۰/۵ درصد (■)، ۱ درصد (▲) و ۲ درصد (×) در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (۴°C).

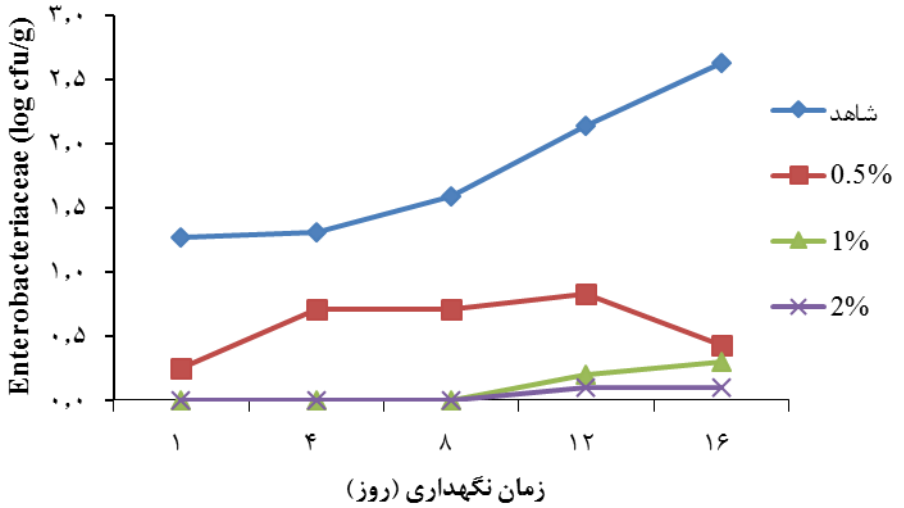


شکل ۲ - تغییرات بار باکتریایی سودوموناس در نمونه‌های ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان غوطه‌ور شده در محلول حاوی غلظت‌های مختلف عصاره خیار دریایی (♦)۰، ۰/۵ درصد (■)، ۱ درصد (▲) و ۲ درصد (×) در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (۴°C).

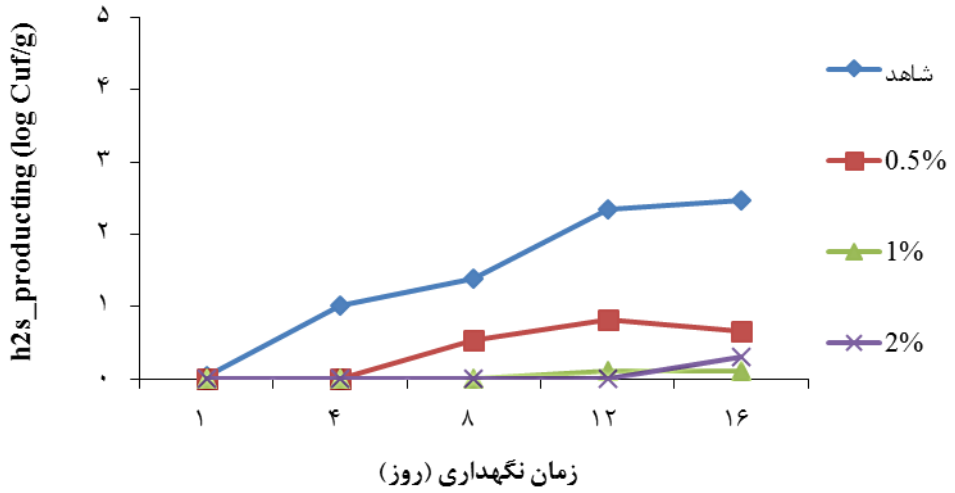
۶/۹۶ در روز ۱۶ نگهداری مشاهده شد (شکل ۲). نکته جالب در اینجا در غلظت ۲ درصد تا روز ۴ هیچ کلنی مشاهده نشد. بیشترین مقدار متعلق به گروه شاهد در روز ۱۶ ۷/۳۹ بوده است و کمترین مقدار برای گروه ۲ درصد در روز اول است.

در غلظت ۰/۵ درصد باکتری‌های انتروباکتریاسه به تدریج افزایش‌یافته و به حداکثر مقدار خود یعنی ۰/۸۳ log cfu/ g رسید و بعد از روز ۱۲ شاهد کاهش آن بودیم. در حالی‌که برای غلظت‌های ۱ درصد و ۲ درصد در حد بسیار کم باقی می‌ماند. تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه چه در گروه شاهد و چه در گروه‌های مواجه با عصاره خیار دریایی افزایش چشمگیری ندارد به گونه‌ای که در گروه کنترل در روز ۱۶ نگهداری در یخچال به حداکثر مقدار خود یعنی ۲/۶۳ log cfu/ g می‌رسد (شکل ۳). باید توجه داشت که در غلظت‌های ۱ درصد و ۲ درصد تا روز ۸ هیچ کلنی مشاهده نشد. بین گروه ۱ درصد و ۲ درصد در طول دوره نگهداری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P<۰/۰۵$).

در این گروه از باکتری‌ها نیز تعداد کلنی‌ها در گروه شاهد با گذشت زمان روند صعودی دارد و بیشترین تعداد نیز در همین گروه یعنی log cfu/ g ۲/۴۷ در روز ۱۶ نگهداری مشاهده شد (شکل ۴). نکته قابل توجه در قسمت غلظت ۱ درصد تا روز ۸ نگهداری و در غلظت ۲ درصد تا روز ۱۲ هیچ کلنی مشاهده نشد. همچنین در غلظت ۰/۵ درصد افزایش



شکل ۳ - تغییرات بار باکتریایی انتروباکتریاسه در نمونه‌های ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان غوطه‌ور شده در محلول حاوی غلظت‌های مختلف عصاره خیار دریایی (۰(♦)، ۰/۵درصد (■)، ۱ درصد (▲) و ۲ درصد (×)) در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (۴°C).



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

ویژه‌ای بعد از روز ۴ تا ۱۲ مشاهده شد و از بعد آن کاهش یافت. بین گروه ۱ درصد و ۲ درصد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P<۰/۰۵$).

بحث

با توجه به شرایط نگهداری و استفاده از محولات خام جمعیت میکروبی آن تغییر می کند (Gonzalez-Fandosa *et al.*, 2004). در این تحقیق با گذشت زمان میزان بار باکتریایی کل نیز افزایش یافت و همواره میزان آن در نمونه‌های شاهد بیش از نمونه‌های تیمار شده با عصاره خیار دریایی بود. در پژوهشی محمدزاده و رضائی (۱۳۹۲) اثر پلی فنل‌های چای سبز بر تغییرات میکروبی و شیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان را به هنگام نگهداری در یخ بررسی کردند، نتایج پژوهش آن‌ها نیز مطابق با پژوهش حاضر بود به این ترتیب که بار باکتریایی کل در گروه شاهد بیش از نمونه‌های تیمار شده با پلی فنل‌های چای سبز بود.

باکتری‌های سرمادوست گرم منفی گروه اصلی میکروارگانیزم‌های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد هستند (Ibrahim Sallam, 2007). در مطالعه حاضر میزان باکتری سودوموناس

در نمونه شاهد در تمام طول دوره به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه‌های تیمار شده با عصاره بیشتر بود و تا روز ۴ نگهداری در نمونه‌های تیمار شده با عصاره ۲ درصد مشاهده نشد. نظر به آن‌که سودوموناس یکی از مهم‌ترین باکتری‌های سرمادوست است که در طی نگهداری محصولات شیلاتی در شرایط سرد موجب فساد محصولات شیلاتی می‌شود (Rasmussen *et al.*, 2002). بنابراین حذف آن از طریق نگه‌دارنده‌های طبیعی مانند عصاره خیار دریایی می‌تواند برای حفظ محصولات شیلاتی مهم باشد.

پتانسیل فساد انتروباکتریاسه به‌ویژه در مواردی که آلودگی آب یا تأخیر در سردسازی بعد از صید اتفاق افتد، قابل توجه و دارای اهمیت است. در این پژوهش انتروباکتریاسه در نمونه‌های شاهد نسبت به نمونه‌های تیمار شده با عصاره خیار دریایی در طول دوره نگهداری به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. این نتایج با نتایج پژوهش اعتمادی و همکاران (۱۳۸۷) که اثر ضد باکتریایی عصاره رزماری را در افزایش ماندگاری قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی کردند، مطابقت دارد. اگرچه انتروباکتریاسه می‌توانند در دمای پایین رشد کنند، اما در طی دوره نگهداری فراوانی آن‌ها در مقایسه با سایر باکتری‌های سرمادوست چندان افزایش نمی‌یابد. چنین حالتی احتمالاً می‌تواند به رشد کندتر آن‌ها در مقایسه با سایر باکتری‌های گرم منفی سایکروتروفیک عامل فساد و فقدان اکسیژن مربوط باشد (حسینی و همکاران، ۱۳۹۲). نتایج آنالیز آماری نشان داد که عصاره خیار دریایی تأثیر شگرفی در جمعیت انتروباکتریاسه دارد به گونه‌ای که در نمونه‌های تیمار شده با عصاره ۱ و ۲ درصد تا روز ۸ نگهداری جمعیت انتروباکتریاسه صفر بود. محققان حضور این باکتری‌ها را در آبزیان به دلایل نظیر صید از مناطق آلوده و تأخیر در یخ گذاری آبزیان صید شده در کنار دستکاری‌های پس از صید (آلودگی ثانویه) مربوط دانسته‌اند (Jeevanandam *et al.*, 2001; Papadopoulos *et al.*, 2003; Shakhawat *et al.*, 2006).

براساس نتایج این پژوهش میزان باکتری‌های تولیدکننده سولفید هیدروژن در تمام طول دوره نگهداری در نمونه‌های تیمار شده با عصاره خیار دریایی به‌طور معنی‌داری کمتر از نمونه‌های شاهد بود. این باکتری‌ها در نمونه‌های تیمار شده با عصاره ۲ درصد تا روز ۱۲ نگهداری مشاهده نشد. محققان هرچند ترکیب جمعیتی باکتری‌های ماهی در اکوسیستم نتیجه‌ای از شرایط محیط و رقابت بین گونه‌های باکتری‌های موجود در محل است، اما در محصولات بسته‌بندی شده شیلاتی ترکیب باکتریایی بیشتر به رقابت بین‌گونه‌ای و حضور یا فقدان اکسیژن در بسته مربوط است (Sathivel *et al.*, 2007).

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که عصاره خیار دریایی دارای اثر ضد میکروبی بوده و فساد میکروبی فیله‌های ماهی شوریده را در شرایط نگهداری در یخچال به تعویق می‌اندازد. در واقع عصاره‌های خیار دریایی دارای ترکیبات زیستی با توان ضد باکتریایی متفاوت هستند که می‌تواند به‌عنوان ترکیبات آنتی‌بیوتیکی مطرح شود. مقالات متعددی در مورد فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی عصاره‌های خیار دریایی منتشر شده که خواص ضد میکروبی، ضد سرطانی و تنظیم سیستم ایمنی را نشان می‌دهد (Aminin *et al.*, 2001; Kuznetsova *et al.*, 1982; Fredalina *et al.*, 1999; Ridzwan *et al.*, 1995; Tian *et al.*, 2005).

براساس نتایج پژوهش حاضر عصاره خیار دریایی *Holothuria leucospilota* می‌تواند به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی در نگهداری کوتاه مدت فیله‌های ماهی در شرایط سرد مورد توجه قرار گیرد. از بین غلظت‌های مختلف مورد بررسی عصاره، عصاره ۲ درصد بیشترین اثر را داشته و این غلظت از عصاره جهت نگهداری در یخچال پیشنهاد می‌گردد.

منابع

اعتمادی، ح.، رضائی، م و عابدیان، ع. م.، ۱۳۸۷. پتانسیل آنتی باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری

(*Rosmarinus officinalis*) در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره ۵، شماره ۴، ص ۶۷ تا ۷۷.

پزشک، س.، رضائی، م.، راشدی، ح و حسینی، ه.، ۱۳۹۱. مطالعه اثر ضد باکتریایی و ضد اکسیداسیونی عصاره زردچوبه (*Curcuma longa*) در شرایط آزمایشگاهی بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه علوم و صنایع غذایی، شماره ۳۵، دوره ۹، ص ۷۷ تا ۸۷.

حسینی، س؛ و.، طاهری، ع و اوجی فرد، ا.، ۱۳۹۲. بررسی تأثیر پرتودهی با اشعه گاما بر بار میکروبی فیله ماهی کفال طلائی (*Liza aurata*) طی دوره نگهداری در یخچال (۴°C+). مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۶، شماره ۱، ص ۲۷ تا ۳۹.

محمدزاده، ب و رضائی، م.، ۱۳۹۲. اثر پلی فنل‌های چای سبز بر تغییرات میکروبی و شیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به هنگام نگهداری در یخ. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، شماره ۳۸، دوره ۱۰، ص ۱ تا ۹.

Aminin, D.L., Agafonova, I.G., Berdyshev, E. V., Isachenko, E. G., Avilov, S. A., and Stonik V. A., 2001. Immunomodulatory Properties of Cucumariosides from the Edible Far-Eastern Holothurian Cucumaria japonica. *Journal of Medicinal Food*, 4: 127-135.

Aubourg, S.P., Vinagre, J., Rodriguez, A., Losada, V., Angelica, Larrain M., Quitral V., Gomez J., Maier L., Wittig E. 2005. Rancidity development during the chilled storage of farmed Coho salmon (*Oncorhynchus Kisutch*). *European Journal of Lipid Science Technology* 107, 411-417.

Ding, X.Z., Witt, R., Tong, W.G., Li, XQ Betts, H., Collin, P., Adrian, T.E. 2003. AntiPancreatic Cancer Effects of Myristoleic Acid. *Pancreatology* 3, 209-269.

Farouk, A.E.A., Abd, F., Ghouse, H., Ridzwan, B.H. 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted Antibacterial Activity. *American Journal of Biochemistry & Biotechnology* 3, 60-65.

Gonzalez-Fandosa, E., Garcia-Linares, M.C., Villarino-Rodrıguez, A., Garcha-Arias, M.T., Garcıa-Fernandez, M.C. 2004. Evaluation of the microbiological safety and sensory quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processed by the sous vide method. *Journal of Food Microbiology* 21, 193-201.

Gram, L., Huss, H.H. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. International *Journal of Food Microbiology* 33, 121 137.

Hawa, I., Zulaikah, M., Jamaludin, M., Zainal Abidin, A.A., Kaswandi, M.A., Ridzwan, B.H. 1999.The potential of the coelomic fluid in sea cucumber as an antioxidant. Malaysian Journal of Nutrition 5, 559.

Ibrahim Sallam, K., 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Journal of Food Control* 18, 566-575.

Jeevanandam, K., Kakatkar, A., Doke, S.N., Bongirwar, D.R., Venugopal, V. 2001. Influence of salting and gamma irradiation on the shelf-life extension of threadfin bream in ice. *Journal of Food Research International* 34, 739-746.

Kuznetsova, T.A., Anisimov, M.M., Popov, A. M., Baranova, S.I., Afiyatullov, S.S. 1982. A comparative study in vitro of physiological activity of triterpene glycosisdes of marine invertebrates of echinoderm type. *Comparative Biochemistry and Physiology* 73, 41-43.

Lin, C.C., Lin, C.S. 2004. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea. *Food Chemistry* 16, 169-175.

Naik C.G., Kamat S.Y., Parameswaran P.S., Das B., Bhattacharya S., Ramani P., Bhakuni D.S., Goel A.K., Jain S., rimal R.C. 1989. Bioactivity of marine organisms. IV- S creening of some marine animals from the Indian Ocean.

Ozogul, Y., Ozogul, F., Gokbulut, C. 2006. Quality assessment of wild European eel (*Anguilla anguilla*) stored in ice. *Food Chemistry* 95, 458-465.

Ozogul, F., Polat, P., Ozogul, Y. 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vaccum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchadus*). *Food Chemistry* 85, 49-57.

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 (*Dicentrarchu labrax*) stored in ice. *Food Microbiology* 20, 411-420.

Rasmussen, S. K. J., Ross, T., Olley, J., and McMeekin, T., 2002. A process risk model for the shelf life of Atlantic salmon fillets. *International Journal Food Microbiology* 73, 47-60.

Rasoarahona, J.R.E., Barnathan, J., Bianchini, J.P., Gaydou, E.M. 2005. Influence of season on the lipid content and fatty acid profiles of three tilapia species (*Oreochromis niloticus, O. macrochir* and *Tilapia rendalli*) from Madagascar. *Food Chemistry* 91, 683-694.

Ridzwan, B.H., Kaswandi, M.A., Azman, Y., Fuad, M. 1995. Screening for antibacterial agents in three species of sea cucumbers from coastal areas of Sabah. *General Pharmacology* 26, 1539-1543.

Sathivel S., Liu Q., Huang J., Prinyawiwatkul W., 2007. The Influence of chitosan glazing on the quality of skinless Pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. *Journal of Food Engineering* 83, 366-373.

Shakhawat, H.M., Akter-Uzzaman, M., Afzal-Hossain, M., Shamsul-Islam, M. 2006. Effect of gamma irradiation and vacuum packaging on the shelf life extension of beef kebab during refrigerated storage. *Journal of Bangladesh Microbiology* 23, 156-158.

Sugawara, T., Zaima, N., Yamamoto, A., Sakai, S., Noguchi, R., Hirata, T. 2006. IIsolation of sphingoid bases of sea cucumber cerebrosides and their cytotoxicity against human colon cancer cells. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 70, 2906-12.

Tian, F., Zhang, X., Tong, Y., Yi, Y., Zhang, S., Li, L., Sun, P., Lin, L., Ding J. 2005. A new sulfated saponin from sea cucumber, exhibits anti-angiogenic and anti-tumor activities in *vivo* and in *vitro*. *Cancer Biology and Therapy*, 4, 874-882.

Effect of sea cucumber extract (*Holothuria leucospilota*) on the microbial quality of *Otolithes rubber* fillets in refrigerated storage

Hannaneh Rezaeeian[1], Seyed Vali Hosseini[*1], Abbas Ali MotalebiMoghanjoghi[2], Ali Reza Mirvaghefi[1], Kobra Ziyaei[1]

[1]Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
[2]Iranian Fisheries Research Organization, Tehran, Iran, Iran.
*Corresponding author: hosseinisv@ut.ac.ir

Received: 27 February 2018 Accepted: 28 May 2018

Abstract

In this study, *Otolithes rubber* fillets were treated by sea cucumber *Holothuria leucospilota* extraction and then they were vacuum packed. Packed fillets were refrigerated at 4 centigrade for sixteen days. As an evaluation, microbial tests every four days including counting total bacteria, *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae* and hydrogen sulfide-producing bacteria were done. The results declared that during the period, the sum of the total bacteria in all treatments has increased and the maximum value of this index was maintained at 12th day in all treatments. Furthermore during the storage period, the number of bacteria which produce hydrogen sulfide and *Pseudomonas* and *Enterobacteriaceae*, were significantly greater than samples which were treated by sea cucumber *Holothuria leucospilota* extraction. Interestingly, there were no bacteria in the samples that were treated by sea cucumber *Holothuria leucospilota* 2% extraction for first four days. Also *Enterobacteriaceae* weren't found in 1% and 2% extraction treatments until the 8th day of storage and the bacteria producing hydrogen sulfide weren't seen in 2%, 1% and 0.5% extraction treatment until 12th, 8th and 4th day respectively. Results indicate dramatically that sea cucumber extraction has a considerable impact on samples including maintaining quality and increasing storage time of fish fillets in cold conditions. Notably 2% extract was more effective than other extracts concentrations in increasing survival of fillets.

Keywords: Sea cucumber, Extract, Antimicrobial activity, Refrigerated storage.