

اثرات آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی ماکرو جلبک سبز *Ulva intestinalis* بر گوشت چرخ شده فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) نگهداری شده در یخچال

میترا دانشور قربانی^۱، سید پژمان حسینی شکرابی^{۲*}، سید ابراهیم حسینی^۱

^۱گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

^۲گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: hosseini@srbiau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۳۱

تاریخ دریافت: ۹۷/۵/۲۲

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی تغییرات فیزیوشیمیایی گوشت چرخ شده فیل ماهی پرورشی در طی دوره نگهداری در یخچال، تحت تأثیر عصاره هیدروالکلی ماکرو جلبک *Ulva intestinalis* به عنوان یک نگهدارنده طبیعی انجام شد. بدین منظور گوشت چرخ شده ماهی با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵ و ۳۶/۵ میلی گرم عصاره ماکرو جلبک در کیلوگرم و نمونه ۰ (شاهد)، تهیه شد. همچنین یک تیمار واجد آنتی اکسیدان سنتتیک (BHT) نیز تهیه شد. خصوصیات فیزیوشیمیایی (شامل پراکسید، بازهای ازته فرار، اسیدهای چرب آزاد، تیوباربتوریک اسید و رنگ) نمونه‌ها در روزهای ۰، ۴، ۸ و ۱۲ نگهداری در یخچال مورد سنجش قرار گرفت. در روز دوازدهم نگهداری، کمترین مقادیر شاخص پراکسید (۵/۱ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی)، تیوباربتوریک اسید (۰/۲۳ میلی گرم مالون دی‌آلدهید بر کیلوگرم گوشت)، بازهای ازته فرار (۲۵/۵۰ میلی گرم ازت در ۱۰۰ گرم گوشت) و اسیدهای چرب آزاد (۰/۴۷ درصد اولئیک اسید) در نمونه‌های تیمار شده با ۳۶/۵ میلی گرم عصاره ماکرو جلبک نسبت به تیمارهای شاهد و BHT مشاهده شد ($P < 0.05$). در رابطه با نتایج رنگ نمونه‌ها، افزایش شاخص قرمزی و زردی در طول دوره نگهداری در تمام نمونه‌ها مشاهده شد، اما مقدار این دو شاخص برای تیمارهای واجد عصاره، بیشتر از تیمارهای شاهد و BHT بود. بنابراین، عصاره این ماکرو جلبک احتمالاً گزینه مناسبی برای استفاده به منزله یک نگهدارنده طبیعی بوده و بهترین اثرات آنتی اکسیدانی در تیمار واجد ۳۶/۵ میلی گرم عصاره در کیلوگرم گوشت چرخ شده فیل ماهی حاصل شد که با استفاده از آن می‌توان دوره نگهداری گوشت چرخ شده فیل ماهی را تا ۱۲ روز افزایش داد.

واژگان کلیدی: جلبک، *Ulva intestinalis*، گوشت چرخ شده، خصوصیات فیزیوشیمیایی.

مقدمه

ماهیان خاویاری دارای قدمت زیادی بوده و از عصر ژوراسیک (دوره تریاسه) با پراکندگی گسترده در نیمکره شمالی و بالاخص دریای خزر زیست می‌کنند. فیل ماهی یا بلوگا (*Huso huso*) بزرگ‌ترین موجود زنده دریای خزر است که علاوه بر اهمیت بالای اکولوژیک و ضرورت حفظ نسل، به لحاظ اقتصادی نیز واجد رشد بالایی نسبت به دیگر گونه‌های ماهیان خاویاری در شرایط پرورش بوده که اهمیت این گونه را دو چندان کرده است (کلنگی میاندره و همکاران، ۱۳۹۴).

فرآورده‌های شیلاتی جزء مواد غذایی با فسادپذیری بالا تقسیم شده و زمان ماندگاری کوتاه آن‌ها یک مشکل اصلی در صنعت غذا مطرح است (Schirmer et al., 2009). در این میان، گوشت

چرخ شده ماهی یکی از متداول‌ترین مواد اولیه و پایه جهت تولید انواع محصولات غذایی بوده و تولید آن از اهمیت بالایی برخوردار بوده و از طرفی به دلیل تماس بیشتر و مستقیم با هوا فرآیندهای اکسیداسیون چربی‌ها با نرخ بیشتری رخ می‌دهد (Tang et al., 2001). اغلب به‌منظور افزایش مدت زمان نگهداری مواد غذایی، از مواد ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی که اکثراً مصنوعی هستند، استفاده می‌شود (Imaida et al., 1983). این در حالی است که امروزه مصرف کنندگان در مورد عوارض استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی نگران بوده و همواره تقاضای غذاهای تازه‌تر و با منشاء طبیعی را دارند (Demirbas et al., 2017). بنابراین یکی از نیازهای جامعه کاهش یا حذف ترکیبات نگهدارنده شیمیایی در مواد غذایی می‌باشد که این امر تاحدودی منجر به

جایگزینی این نگهدارنده‌ها با انواع طبیعی با اثرات مشابه شده است (نوری و همکاران، ۱۳۸۸).

مطالعات زیادی خواص آنتی اکسیدانی بسیار قوی گیاهان خشکی‌زی مانند رزماری، مریم‌گلی و عصاره چای سبز را در سیستم‌های غذایی بیان نموده است (Tang et al., 2011). درحالی‌که جلبک‌های دریایی نیز سرشار از مواد فنولی بوده و می‌توانند به عنوان آنتی اکسیدان در مواد غذایی مورد توجه قرار گیرند (Onofrejová et al., 2010). علاوه بر این جلبک‌ها حاوی چندین ماده شیمیایی مثل ویتامین‌ها، کارتنوئیدها، پیکوبیلی پروتئین‌ها، پلیول‌ها، پلی-ساکاریدها و اسیدهای چرب می‌باشند که دارای خواص ضدالتهابی، ضد سرطانی، ضد قارچی، ضد میکروبی و محرک ایمنی نیز می‌باشند (Hanna et al., 2008). تحقیقات متعددی خاصیت آنتی-اکسیدانی عصاره‌های ماکرو جلبک‌های قرمز (Kumar et al., 2008; Duan et al., 2006)، ماکرو جلبک‌های قهوه‌ای (Chandini et al., 2008; Kuda et al., 2005) و ماکرو جلبک‌های سبز (Hanna et al., 2008; Tierney et al., 2013; Peasura et al., 2015) را تأیید کرده است.

ماکرو جلبک سبز *Ulva intestinalis*، متعلق به خانواده Ulvacea، ساکن منطقه بالای جزر و مدی آب‌های گرم دریایی بوده و واجد رنگدانه‌های بتاکاروتن، آلفاکاروتن، لوتئین و گزانتین می‌باشد (حیدری و همکاران، ۱۳۹۲). همچنین پژوهش‌های زیادی، پتانسیل آنتی اکسیدانی، آنتی باکتریال و خواص تغذیه‌ای مفید این جلبک را گزارش کرده‌اند (Soltani and Khosravy, 2014; Peasura et al., 2015; Sahnouni et al., 2016) اما تا کنون پژوهشی در رابطه با اثرات آنتی اکسیدانی این عصاره در سیستم‌های مواد غذایی گزارش نشده است. بنابراین انتظار می‌رود که استفاده از این ماکرو جلبک در ماهی و فرآورده‌های گوشتی بتواند روش موثری در افزایش نگهداری این محصول باشد، اما قبل از بکارگیری هر نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی، لازم

است اثرات آن روی فساد از طریق فعالیت‌های میکروبی و فعالیت‌های شیمیایی-بیوشیمیایی مطالعه شود. از این‌رو هدف از تحقیق حاضر، مطالعه اثرات آنتی اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی ماکرو جلبک سبز *U. intestinalis* به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در گوشت چرخ شده فیل ماهی طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ روز بود، تا بدین وسیله بتوان پتانسیل آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی این ماکرو جلبک را به منظور جایگزینی با نگهدارنده‌های مصنوعی مورد سنجش قرار داد.

مواد و روش‌ها

تهیه جلبک و عصاره: جلبک *U. intestinalis* از سواحل استان بوشهر بصورت تازه تهیه و در کنار یخ به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات جهت آزمایشات بعدی منتقل گردید. جلبک‌ها در آزمایشگاه، در آب شیرین (به مدت ۲ ساعت) خیسانده شده تا گل و لای و اپی فیت‌های متصل به آن‌ها زدوده شود. سپس در دمای اتاق به مدت ۱۰ روز خشک شدند. نمونه‌های خشک شده توسط خردکن به صورت پودر درآمده و به ارلن یک لیتری منتقل شدند. سپس جلبک خشک شده با نسبت ۱ به ۱۰ با الکل مطلق سفید (مجللی، ایران) کاملاً مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت در دمای یخچال قرار داده شد. پس از مدت زمان طی شده مخلوط به دست آمده صاف شده تا ذرات نمونه از آن جدا شود. حلال عصاره بدست آمده با روتاری (Heidolph Laborato 4000, Germany) تحت شرایط نسبی خلاء در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد و ۲۰۰ دور در دقیقه جدا شد تا عصاره ۱۰ درصد تولید شود. در ادامه از آب مقط جهت تهیه رقت‌های مورد نظر (۱/۲۵، ۲/۵ و ۳/۶۵ درصد) استفاده گردید (Soltani et al., 2012).

تهیه گوشت چرخ شده ماهی و آماده‌سازی

نمونه‌ها: فیل ماهی پرورشی از مزرعه پرورش ماهی شرکت آبی اکسیر کوثر (احمدآباد مستوفی، تهران) به صورت تازه تهیه شد. ماهیان پس از شست و شو درون جعبه‌های یونولیت حاوی یخ (نسبت ۳ به ۱ از یخ به ماهی) قرار گرفتند و به آزمایشگاه دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات منتقل شدند. در آزمایشگاه از ماهیان پس از تخلیه شکم، سر و دم زنی به صورت دستی فیله تهیه شده و مجدداً با آب سرد شست و شو شدند. سپس فیله ماهیان (در مجموع ۲ کیلوگرم) با دستگاه چرخ گوشت (پارس خزر، ایران) با مش ۳ میلی‌متر یک بار چرخ شدند. نمونه‌های چرخ شده در ظرف‌های استیل استریل جدا ریخته شدند و عصاره جلبک در غلظت‌های مختلف شامل ۱۲/۵ (تیمار ۱)، ۲۵ (تیمار ۲) و ۳۶/۵ (تیمار ۳) میلی‌گرم عصاره در کیلوگرم گوشت چرخ شده ماهی افزوده و کاملاً هموزن شدند. معیار انتخاب غلظت پایه عصاره جلبک در این تحقیق براساس گزارشات قبلی مبنی بر حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی در برابر عوامل پاتوژن مختلف می‌باشد (Soltani and Khosrave, 2014; Peasura et al., 2015; Sahnouni et al., 2016). همچنین یک تیمار حاوی ۰/۲ گرم بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) در کیلوگرم تولید شد. ابتدا غلظت‌های مختلف عصاره و BHT در میزان معین آب مقطر (نسبت حجمی آب به گوشت چرخ شده: ۱ به ۱۰) حل شدند و سپس به گوشت چرخ شده اضافه شدند. در تیمار فاقد افزودنی (شاهد) نیز به میزان مشابه سایر تیمارها ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. سپس نمونه‌ها در ظروف استریل پلی‌اتیلنی درب دار قرار گرفتند و برای انجام آزمایشات فیزیوشیمیایی در روزهای مختلف در شرایط یخچال (۴±۲ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند (Maqsood et al., 2013).

اندازه‌گیری شاخص پراکسید: به منظور اندازه‌گیری اندیس پراکسید (PV)، حدود ۵۰ گرم نمونه درون ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری توزین و برای استخراج چربی از نمونه‌ها از ۲۰۰ میلی‌لیتر برای هر نمونه استفاده

شد. سپس ارلن‌ها را روی شیکر به مدت یک ساعت با دور متوسط تکان داده شدند. پس از آن محتویات داخل ارلن صاف و محتویات صاف شده توسط دستگاه روتاری حلال پرانی شد. پس از تبخیر حلال، وزن روغن باقیمانده در ارلن تعیین شد. حدود ۲۰ میلی‌لیتر از روغن استخراج شده در ارلن‌مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری سر سمباده‌ای ریخته و حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسیداستیک کلروفرمی به محتویات ارلن اضافه شد. پس از آن ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدورپتاسیم اشباع، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته ۱ درصد به مجموعه افزوده و مقدارید آزاد شده با محلول تیوسولفات-سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتیر شد، سپس میزان پراکسید بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (Pearson, 1976).

$$pv = \frac{1000 \times \text{نرمالیتة} \times \text{حجم مصرفی تیوسولفات}}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار: جهت اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) ۱۰ گرم از نمونه گوشت چرخ شده ماهی را همراه با ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل بالن کلدال ریخته، سپس بالن را به دستگاه وصل کرده و از زیر به آن حرارت داده شد. در انتهای دستگاه یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۵ سی‌سی از محلول اسیدبوریک ۲ درصد (۲ گرم اسید بوریک در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر به حجم رسانده) به همراه چند قطره معرف متیل رد (۰/۱ گرم متیل رد در ۱۰۰ سی‌سی اتانول به حجم رسانده) قرار داده شد. عمل تقطیر تا گذشت ۴۵ دقیقه از زمان جوشش مواد درون بالن، یا جمع شدن حدود ۵±۱۰۰ میلی‌لیتر مایع در ارلن مایر ادامه یافت. محلول اسید بوریک به محض قلیایی شدن توسط بازهای ازته فرار تقطیر شده زرد رنگ شد. عمل تیتراسیون این محلول توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا جایی ادامه یافت که اسید بوریک دوباره قرمز شود. مقدار TVB-N به صورت میلی‌گرم در صد گرم گوشت ماهی با توجه به

سنج (Color flex, Hunter Lab, USA) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. متغیر L^* برای بیان شاخص روشنایی (از ۰ بُعد سیاهی تا ۱۰۰ بُعد روشنایی)، شاخص a^* برای بیان بُعد قرمزی - سبزی (a^* + نشان‌دهنده قرمزتر بودن و a^* - نشان‌دهنده سبزتر) و شاخص b^* برای بیان بُعد زردی - آبی (b^* + نشان‌دهنده زردتر و b^* - آبی‌تر بودن) بود (Clydesdale and Ahmed, 1987). برای کالیبره کردن دستگاه از یک کاشی سفید رنگ و سیاه رنگ که مقادیر پارامترهای رنگی آن‌ها توسط شرکت تولید کننده مشخص شده بود، استفاده شد.

آنالیز آماری: تمامی اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام شد و داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش گردید. در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون آماری کمولوگراف-اسمینوف و همچنین همگن بودن واریانس‌ها توسط آزمون لون بررسی شد. جهت بررسی اثر همزمان دو عامل زمان و غلظت‌های مختلف عصاره ماکروجلبک سبز روی شاخص‌های فیزیکیوشیمیایی در تیمارهای مورد نظر و بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری، بین مقادیر حاصل از هر شاخص در زمان‌های مختلف نگهداری، از آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون تکمیلی دانکن به کار رفت. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد H_0 میزان ۹۵ درصد در نظر گرفته شد.

نتایج

شاخص PV: تغییرات مقادیر پراکسید در بازه‌های زمانی مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. این شاخص از یک روند افزایشی در طول زمان نگهداری برخوردار بوده و اثر متقابل زمان و غلظت، بیانگر این بود که در بازه چهارم آزمایش، تیمار شاهد (۳۰/۱۷±۰/۲۹ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی) بیشترین و به‌طور همزمان تیمار ۳ (۵/۱±۰/۱۱ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی) و ۲

رابطه زیر به دست آمد (Goulas and Kontaminas, 2005).

$$TVB - N = ۱۴ \times \text{حجم اسید سولفوریک مصرفی}$$

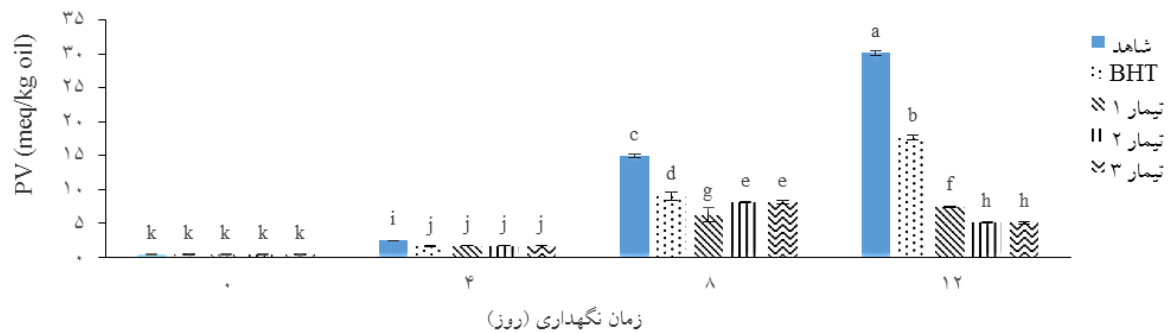
اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد: جهت اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد (FFA) ۲ میلی‌لیتر از الکل اتیلیک خنثی شده به وسیله سود نرمال به نمونه روغن استخراج شده اضافه شد. سپس در مرحله بعد به کمک ۲ یا ۳ قطره معرف فنل‌فتالین و میزان مصرفی سود نرمال مقدار اسیدیته بر حسب درصد اولئیک بر طبق رابطه زیر سنجش شد (Egan et al., 1997).

$$FFA = \frac{۲/۲۸ \times N \times \text{حجم سود}}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

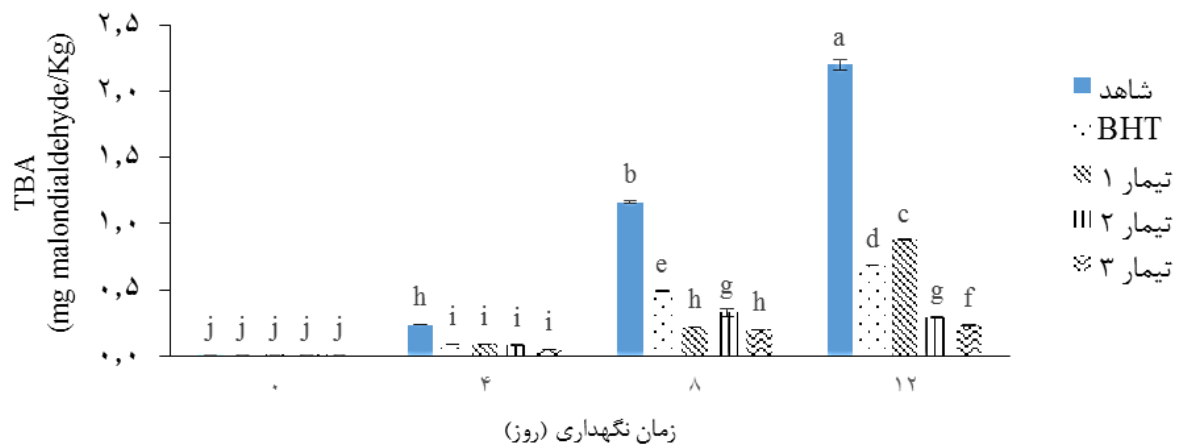
اندازه‌گیری تیوباریتوریک اسید: اندازه‌گیری شاخص تیوباریتوریک اسید (TBA) به وسیله روش رنگ‌سنجی مطابق توضیحات Namulema و همکاران (۱۹۹۹) انجام گرفت. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه گوشت چرخ شده ماهی به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری انتقال یافت و سپس با ۱-بوتانل به حجم رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک و درب‌دار وارد شد و به آن ۵ میلی‌لیتر از معرف TBA افزوده شد (معرف TBA به وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی‌گرم از TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال ۱-بوتانل پس از فیلتر شدن به دست می‌آید). لوله‌های درب‌دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت قرار گرفتند و پس از آن در دمای محیط سرد شدند. سپس مقدار جذب (As) در ۵۳۲ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد. مقدار TBA برحسب میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم گوشت ماهی براساس رابطه زیر محاسبه شد.

$$TBA = \frac{(As - Ab)}{۲۰۰} \times ۵۰$$

رنگ‌سنجی: رنگ نمونه‌های فیل ماهی نگهداری شده در یخچال در طی دوره نگهداری، توسط دستگاه رنگ



شکل ۱ - نمودار تغییرات پراکسید در گوشت چرخ شده فیل ماهی واجد مقادیر مختلف عصاره ماکروجلبک *Ulva intestinalis* طی ۱۲ روز نگهداری در شرایط یخچال. آنتنک‌ها نشان دهنده انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری است ($P < 0.05$, $n=3$).



شکل ۲ - نمودار تغییرات تیوباربیتوریک اسید در گوشت چرخ شده فیل ماهی واجد مقادیر مختلف عصاره ماکروجلبک *Ulva intestinalis* طی ۱۲ روز نگهداری در شرایط یخچال. آنتنک‌ها نشان دهنده انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری است ($P < 0.05$, $n=3$).

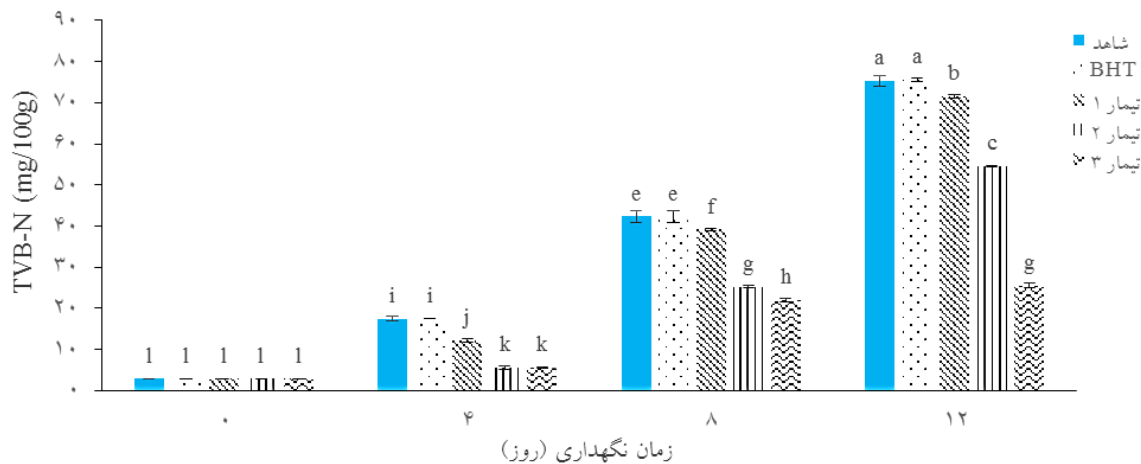
فرار در تمامی تیمارها افزایش یافته بود ولی شدت افزایش برای تیمارهای شاهد، بیشتر از تیمارهای واجد عصاره جلبک بود. مطابق نتایج اثر متقابل زمان نگهداری و غلظت‌های مورد استفاده روی شاخص TVN، معنی‌دار بود ($P < 0.05$) به‌طوری‌که در بازه چهارم آزمایش، تیمار شاهد ($75/26 \pm 1/25$) میلی گرم در ۱۰۰ گرم) و BHT ($75/6 \pm 0/4$) میلی گرم در ۱۰۰ گرم) به‌طور همزمان بیشترین و تیمارهای واجد عصاره جلبک کمترین مقدار TVN را به خود اختصاص داده بودند، که در بین تیمارهای واجد عصاره جلبک، تیمار ۳ ($25/50 \pm 0/50$) میلی گرم در ۱۰۰ گرم) کمترین مقدار را به خود اختصاص داده بود.

تغییرات FFA: مطابق شکل ۴، با افزایش زمان نگهداری، مقدار اسیدهای چرب آزاد روند افزایشی داشت و بین بازه‌های زمانی و غلظت‌های مختلف

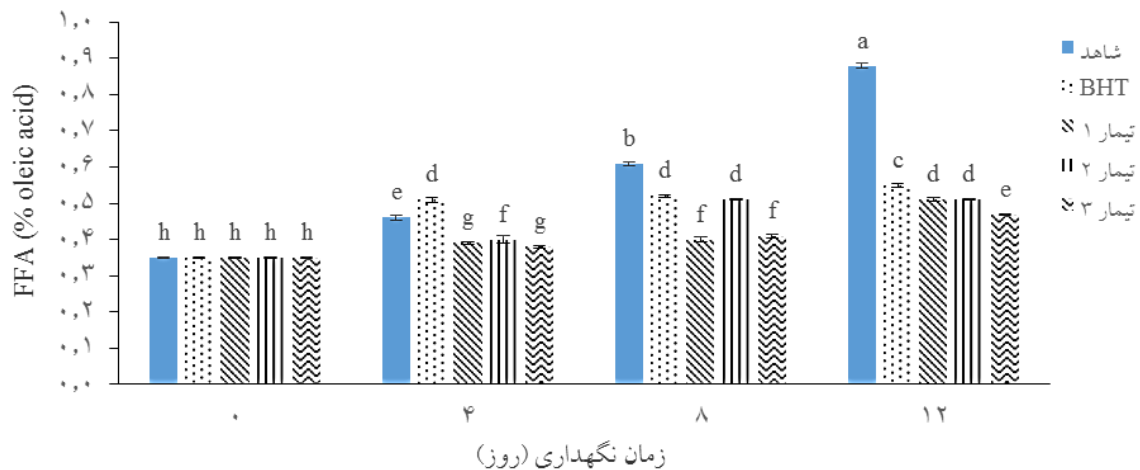
($5/1 \pm 0/12$) میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی)، کمترین مقدار PV را به خود اختصاص داده بودند ($P < 0.05$).

تغییرات TBA: مطابق شکل ۲، مقدار TBA با گذشت زمان نگهداری، افزایش یافت. نتایج حاصل از بررسی اثر متقابل زمان و غلظت، مؤید تأثیر معنی‌دار زمان نگهداری و غلظت‌های استفاده شده، روی این شاخص بود ($P < 0.05$) به‌طوری‌که در بازه چهارم آزمایش، تیمار شاهد ($2/206 \pm 0/42$) میلی گرم مالون دی‌آلدهید بر کیلوگرم گوشت) بیشترین و تیمار ۳ ($0/23 \pm 0/01$) میلی گرم مالون دی‌آلدهید بر کیلوگرم گوشت)، کمترین مقدار TBA را به خود اختصاص داده بودند و بین تیمارهای شاهد، با تیمارهای واجد عصاره جلبک، اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$).

تغییرات TVN: مطابق شکل ۳، مقادیر بازه‌های ازته



شکل ۳ - نمودار تغییرات مواد ازته فرار در گوشت چرخ شده فیل ماهی واجد مقادیر مختلف عصاره ماکرو جلبک *Ulva intestinalis* طی ۱۲ روز نگهداری در شرایط یخچال. آنتنک‌ها نشان دهنده انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری است ($n=3$, $P<0.05$).



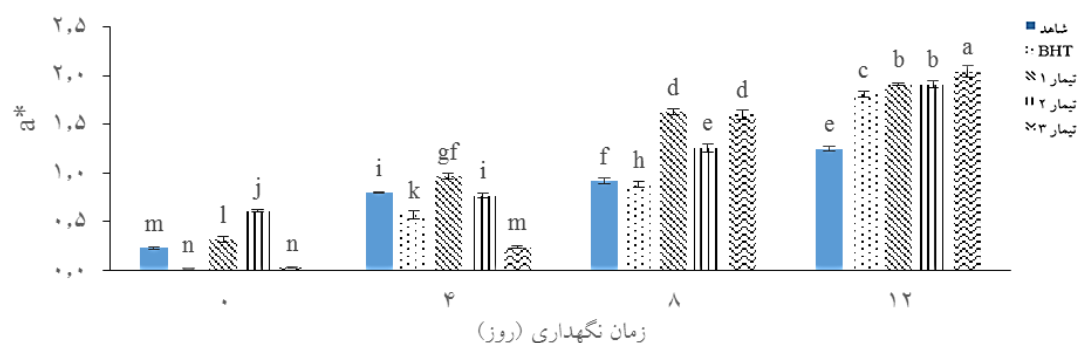
شکل ۴ - نمودار تغییرات اسید چرب آزاد در گوشت چرخ شده فیل ماهی واجد مقادیر مختلف عصاره ماکرو جلبک *Ulva intestinalis* طی ۱۲ روز نگهداری در شرایط یخچال. آنتنک‌ها نشان دهنده انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری است ($n=3$, $P<0.05$).

دست آمده بود (شکل ۵) ($P<0.05$). همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره جلبک سبز مؤید این بود که کمترین شاخص مربوط به تیمار شاهد و بیشترین آن مربوط به تیمار ۳ بود (شکل ۵) ($P<0.01$). همچنین نتایج حاصل از اثر متقابل زمان و غلظت روی شاخص مؤید این بود که بیشترین این شاخص مربوط به تیمار ۳ در زمان چهارم ($2/04 \pm 0/06$) بود ($P<0.05$).

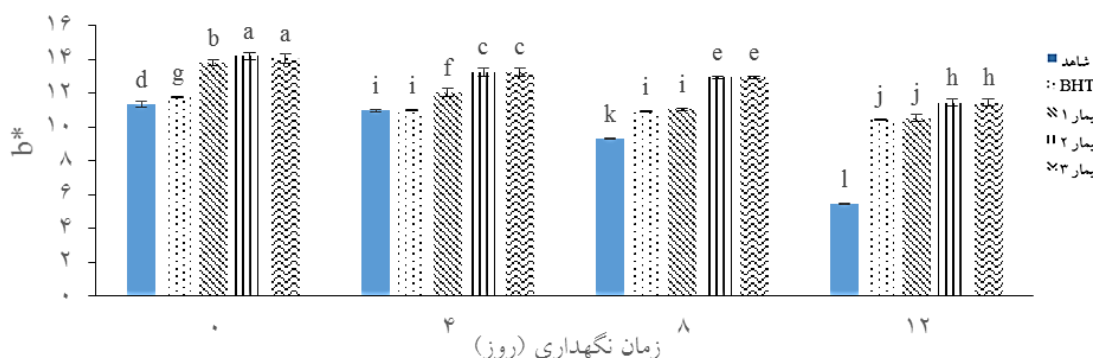
شاخص زردی (b): نتایج حاصل از مقایسه میانگین تأثیر زمان‌های مختلف نگهداری روی تغییرات شاخص b بیانگر این بود که با گذشت زمان شاخص زردی فیل ماهی‌های نگهداری شده در یخچال افزایش

مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید ($P<0.05$). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل زمان نگهداری و غلظت، بیانگر این بود که در بین تیمارهای مورد مطالعه در بازه چهارم آزمایش، تیمار شاهد ($0/88 \pm 0/07$ درصد اولئیک اسید) و تیمار ۳ ($0/47 \pm 0/01$ درصد اولئیک اسید) به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار اسیدهای چرب آزاد را به خود اختصاص داده بودند.

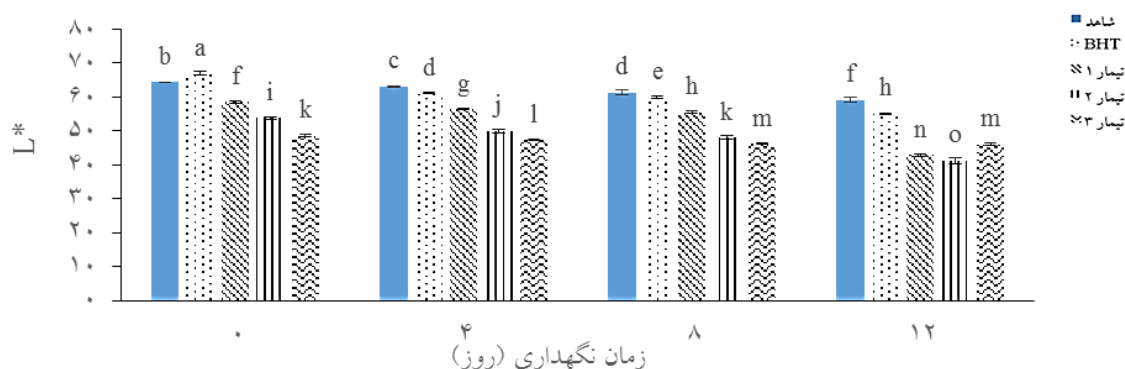
شاخص قرمزی (a): نتایج حاصل از آزمون مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن بیانگر این بود که با گذشت زمان میزان شاخص a در تمامی تیمارها افزایش یافته بود. کمترین میزان شاخص a مربوط به بازه اول و بیشترین آن در بازه چهارم به-



شکل ۵ - نمودار تغییرات شاخص قرمزی در گوشت چرخ شده فیل ماهی واجد مقادیر مختلف عصاره ماکرو جلبک *Ulva intestinalis* طی ۱۲ روز نگهداری در شرایط یخچال. آنتنک‌ها نشان دهنده انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری است ($n=3$, $P<0.05$).



شکل ۶ - نمودار تغییرات شاخص زردی در گوشت چرخ شده فیل ماهی واجد مقادیر مختلف عصاره ماکرو جلبک *Ulva intestinalis* طی ۱۲ روز نگهداری در شرایط یخچال. آنتنک‌ها نشان دهنده انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری است ($n=3$, $P<0.05$).



شکل ۷ - نمودار تغییرات شاخص روشنایی در گوشت چرخ شده فیل ماهی واجد مقادیر مختلف عصاره ماکرو جلبک *Ulva intestinalis* طی ۱۲ روز نگهداری در شرایط یخچال. آنتنک‌ها نشان دهنده انحراف معیار و حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف آماری است ($n=3$, $P<0.05$).

یافته و بین بازه‌های مختلف نگهداری اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد (شکل ۶) ($P<0.05$). همچنین نتایج حاصل از بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره جلبک سبز، روی تغییرات شاخص b، مؤید این بود که تیمارهای واجد عصاره جلبک در مقایسه با تیمارهای شاهد از شاخص زردی بیشتری برخوردار بودند ($P<0.05$). نتایج حاصل از بررسی اثر متقابل غلظت در زمان، بیانگر این بود که در بازه چهارم آزمایش، بیشترین مقدار شاخص b مربوط به تیمارهای ۲ و ۳ بود و بین این دو تیمار در بازه چهارم اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید ($P>0.05$). همچنین بین تیمارهای ۲ و ۳ در زمان‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۶).

متقابل غلظت در زمان، بیانگر این بود که در بازه چهارم آزمایش، بیشترین مقدار شاخص b مربوط به تیمارهای ۲ و ۳ بود و بین این دو تیمار در بازه چهارم اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید ($P>0.05$). همچنین بین تیمارهای ۲ و ۳ در زمان‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۶).

شاخص روشنایی (L): نتایج حاصل از مطالعه شاخص L گوشت چرخ شده فیل ماهی در طول بازه‌های زمانی مورد مطالعه، بیانگر روند کاهشی این شاخص بود و بین بازه‌های مختلف نگهداری اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده گردید (شکل ۷) ($P < 0.05$). در بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره جلبک سبز روی تغییرات شاخص L، نتایج حاکی از این بود که تیمارهای دارای عصاره جلبک سبز در مقایسه با تیمارهای شاهد آزمایش، روشنایی کمتری داشتند ($P < 0.05$). همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین تأثیر زمان و غلظت روی شاخص روشنایی، مؤید این بود که در بازه چهارم نگهداری فیل ماهی در یخچال، تیمار ۲ (41.29 ± 0.96) کمترین مقدار شاخص L را به خود اختصاص داده بود و بین تیمارهای مورد مطالعه در این بازه زمانی اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید (شکل ۷) ($P < 0.05$).

بحث

اندازه‌گیری شاخص پراکسید در مواد غذایی و بالاخص فرآورده‌های گوشتی از اهمیت خاصی برخوردار است. حد مجاز شاخص پراکسید برای ماهی و فرآورده‌های آن، حداکثر ۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم گوشت ماهی گزارش شده است (Yanar, 2007; Hung et al., 1980). مطابق نتایج در بازه چهارم آزمایش، فقط تیمارهای ۲ و ۳ در حدود استاندارد تعریف شده بودند و سایر تیمارها از حد مجاز ذکر شده بطور معنی‌داری عبور کرده بودند. از شاخص پراکسید به‌منظور اندازه‌گیری هیدرو-پراکسیدها که محصول اولیه اکسیداسیون چربی و اسیدهای چرب چندغیراشباعی هستند استفاده می‌شود (زرگر و همکاران، ۱۳۹۰). در واقع اکسیداسیون چربی یک مشکل اصلی در غذاهای شیلاتی و به‌ویژه غذاهایی با چربی واجد اسیدهای چرب غیر اشباع محسوب شده که به ایجاد بو و طعم نامطلوب در فرآورده منجر می‌شود، در مراحل اولیه اکسیداسیون، به دلیل اتصال اکسیژن به پیوند دوگانه

اسیدهای چرب غیراشباع، پراکسیدها تشکیل می‌شوند (Yanar, 2007). هیدروپراکسید محصول اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب چند غیراشباعی است و به همین خاطر اکسیداسیون اولیه چربی با استفاده از اندازه‌گیری میزان پراکسید ارزیابی می‌شود (Tocher, 2003). پراکسیدها باعث به وجود آمدن ترکیبات ثانویه مثل آلدئیدها و کتون‌ها می‌شوند که در نهایت سبب ایجاد تند شدن اکسیداسیونی چربی‌ها می‌شود (حمزه و رضائی، ۱۳۹۰). کاهش مقادیر پراکسید برای فیل ماهی‌های تیمار شده با عصاره جلبک سبز و مقایسه آن با تیمار شاهد و BHT، بیانگر توسعه کمتر و محدودتر فساد تندی در هنگام نگهداری ماهی‌ها بود. مقادیر پراکسید در نمونه‌های تیمار شده با عصاره جلبک سبز کمتر از شاهد و BHT بود که دلیل اصلی آن را می‌توان به وجود ترکیبات فنلی موجود در عصاره جلبک سبز مربوط دانست. به‌طوری که مطابق با یافته‌های پیشین، جلبک سبز از ترکیبات فنولی زیادی برخوردار بوده (حیدری و همکاران، ۱۳۹۴؛ هاشم دباغیان و همکاران، ۱۳۹۵) و در واقع پلی‌فنول‌ها توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد را دارند، خصوصاً رادیکال‌های پروکسی که یکی از کلیدی‌ترین واکنش‌دهنده‌های زنجیره‌ی میانی‌اند، در نتیجه باعث خاتمه دادن چرخه‌ی واکنش‌های فساد اکسیداسیونی و کاهش نرخ افزایش شاخص PV در طول نگهداری می‌شوند (Siddaiah et al., 2001; Peasura et al., 2015). ترکیبات فنولی می‌توانند به راحتی یک اتم هیدروژن را به رادیکال‌های پروکسید چربی انتقال دهند و رادیکال‌های پایدار فنوکسیل و هیدروپروکسیدهای سیس و ترانس چربی را که کم‌اثرترند تولید کنند. همچنین، مشخص شده است که ترکیبات فنولی می‌توانند رادیکال‌های پروکسید چربی را با انتقال الکترون منفرد بی‌اثر کنند (Ou et al., 2002). مواد آنتی اکسیدانی در ماکروجلبک *U. intestinalis* دارای ماهیت‌های متفاوتی هستند به‌طوری که ویتامین E

(آلفاتوکوفرول) و کاروتنوئیدها در بخش محلول در چربی و ترکیبات فنولی در بخش محلول در آب شاخص این مواد هستند (هاشم دباغیان و همکاران، ۱۳۹۵). تحقیقات نشان داده است که جلبک‌های دریایی از جمله جلبک *U. intestinalis* منبع غنی از آنتی اکسیدان‌های طبیعی همانند فنول‌ها نیز می‌باشند که نقش مهمی در جلوگیری از اکسیداسیون چربی ایفا می‌کنند (Maqsood et al., 2016; Fernando et al., 2013). کلیه این ترکیبات می‌توانند شروع اکسیداسیون چربی و تجزیه هیدروپروکسیدها را در محصولات غذایی به تأخیر بباندازند.

ترکیبات فنولی از طریق مکانیسم‌های مختلفی مثل جذب رادیکال‌های آزاد، مهار کردن انواع اکسیژن یگانه، بازدارندگی آنزیم‌های اکسیدکننده و شلاته کردن فلزات می‌توانند به عنوان آنتی اکسیدان عمل کنند (Dinis et al., 1994). حیدری و همکاران (۱۳۹۴) در بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جلبک سبز در مقایسه با جلبک‌های قهوه‌ای *Gracilaria* و *Cystoseira myrica* و قرمز *corticata* گزارش کردند که فعالیت آنتی اکسیدانی جلبک *U. intestinalis* از بقیه جلبک‌های مورد مطالعه بالاتر بوده که دلیل آن، بالا بودن ترکیبات فنولی در این جلبک گزارش شده است. همچنین نتایج حاصل از یافته‌های تحقیق حاضر با نتایج باباخانی لشکان و همکاران (۱۳۹۲) مطابقت داشت، این محققان در بررسی اثر عصاره جلبک قهوه‌ای سارگاسوم در نگهداری گوشت چرخ شده ماهی به این نتیجه رسیدند که مقدار پراکسید با افزایش روزهای نگهداری روند افزایشی داشت و اما نرخ آن در تیمارهای واجد عصاره جلبک نسبت به شاهد کمتر بود.

به منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون چربی‌ها در ماهیان بطور متداول از شاخص TBA استفاده می‌شود که نشان دهنده میزان محصولات ثانویه حاصل از اکسیداسیون به ویژه مالون آلدهید می‌باشد

(صفری و همکاران، ۱۳۹۴). در حقیقت این شاخص از شکست هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شود (زرگر و همکاران، ۱۳۹۰). محدوده ۱-۲ میلی گرم مالون دی آلدهید بر کیلوگرم گوشت را به عنوان حد قابل قبول شاخص تیوباربتوریک اسید در ماهیان معرفی کرده‌اند (Botsoglou et al., 1994; Connell, 1975). همچنین اگر مقدار TBA در گوشت ماهی به ۱-۲ میلی گرم مالون دی آلدهید برسد باعث ایجاد بوی نامطبوع نموده و امتیازات ارزیابی حسی را کاهش می‌دهد. مقدار این شاخص در این مطالعه در تمامی بازه‌های مورد مطالعه در تیمارهای واجد عصاره جلبک و BHT کمتر از حد استاندارد تعریف شده بود. درحالی‌که در تیمار شاهد مقدار این شاخص از روز هشتم نگهداری از یک عبور کرد. تیوباربتوریک اسید به‌طور گسترده به‌عنوان شاخص نشان‌دهنده میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد و ناشی از وجود مواد واکنش‌دهنده با TBA حاصل از مرحله دوم اتواکسیداسیون چربی‌ها است که طی آن پراکسیدها به موادی مثل آلدهیدها و کتون‌ها اکسید می‌شوند (حمزه و رضائی، ۱۳۹۰). البته طبق گزارش Auburg (۱۹۹۹) در زمانی که مالون‌آلدهیدها بتوانند با سایر ترکیبات واکنش انجام بدهند، مقدار TBA ممکن است نشان‌دهنده درجه واقعی اکسید شدن چربی‌ها نباشد (Aubourg, 1999). چنین ترکیباتی می‌توانند شامل آمین‌ها، نوکلئوتیدها و اسیدنوکلئیک، پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و دیگر آلدئیدهای تولیدی در پایان اکسیداسیون چربی باشند. چنین رویکردی در بسیاری از گوشت خام ماهی‌های نگهداری شده در سرما دیده شده است (حمزه و رضائی، ۱۳۹۰). مقادیر TBA در تیمار شاهد در بازه چهارم در مقایسه با تیمارهای حاوی ماکروجلبک سبز با تفاوت معنی‌داری در سطح بالاتری نسبت به تیمار حاوی جلبک بود که می‌تواند تأییدی بر تأثیر عصاره جلبک (خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا) در ممانعت از اکسیداسیون چربی در گوشت چرخ شده فیل‌ماهی

باشد. این نتایج می‌تواند با نتایج دباغیان و همکاران (۱۳۹۵) که یک رابطه قوی بین ترکیبات فنلی کل و فعالیت ضد اکسیداسیونی را در عصاره ماکرو جلبک *U. intestinalis* گزارش کرده بودند، اثبات گردد. بطور کلی، فنول‌ها جزء عوامل مهم در مهار رادیکال‌های آزاد بوده اما در برخی از گونه‌های گیاهی و جلبکی اثرات ضد اکسیداسیونی ترکیبات زیست فعالی مثل کاروتنوئیدها، پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، پپتیدها و رنگدانه‌ها ممکن است در مهار این رادیکال‌های آزاد دخالت داشته باشند (Farasat et al., 2013; Küçük et al., 2007). نتایج حاصل از یافته‌های این مطالعه همسو با نتایج باباخانی لشکان و همکاران (۱۳۹۲) بود که از عصاره ماکرو جلبک قهوه‌ای سارگاسوم با غلظت ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی گرم در کیلوگرم در گوشت چرخ شده ماهی کلیکای معمولی است. از طرف دیگر، استفاده‌ی بیش از حد از ترکیبات فنولی، به منزله‌ی نگهدارنده، حتی در سلول‌های انسانی تأثیرات نامطلوبی می‌گذارد. به‌طور کلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی موجود در عصاره جلبک سبز، مانع از اکسیداسیون چربی شده و میزان شاخص TBA نسبت به شاهد کمتر مشاهده شد که با یافته‌های حیدری و همکاران (۱۳۹۲) مبنی بر بالا بودن مقدار ترکیبات فنل تام و فعالیت آنتی اکسیدانی *U. intestinalis* مطابقت دارد.

مجموع بازهای نیتروژنی فرار یک اصطلاح عمومی است که شامل تری‌متیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین و دیگر بازهای نیتروژنی که با فساد غذاهای شیلاتی در اثر فعالیت باکتری‌ها همراه است. ایجاد این ماده سبب ایجاد بوی نامطبوع فساد می‌گردد و قابلیت پذیرش توسط مصرف‌کننده را کاهش می‌دهد (زرگر و همکاران، ۱۳۹۰). به طور کلی از آنجایی که TVB-N به‌طور عمده در اثر تجزیه باکتریایی پروتئین گوشت ماهی ایجاد می‌شود، افزایش بار باکتریایی در طول دوره دلیلی برای افزایش TVB-N خواهد بود (Ronald and Ronald, 1991; Ojagh et al.,)

واجد عصاره جلبک سبز در مقایسه با تیمارهای شاهد کمتر بود و غلظت بالاتر عصاره سبب ممانعت بیشتر از تشکیل FFA گردید. اگرچه در این مطالعه طی دوره نگهداری میزان FFA در تیمارهای مورد بررسی افزایش یافت.

رنگ گوشت ناشی از عملکرد دو عامل رنگدانه‌های گوشت (عمدتاً میوگلوبین و هموگلوبین) است و یکی از شاخص‌های تأثیرگذار در انتخاب مصرف‌کننده است (Jeddi et al., 2018). مطابق نتایج، شاخص a که نشان‌دهنده قرمزی گوشت چرخ شده ماهی است، در طول دوره نگهداری در تیمار ۳ بیشتر از سایر تیمارها بود، به‌طور کلی میزان شاخص قرمزی برای تمامی تیمارها در طول دوره نگهداری افزایش یافته بود، یکی از دلایل اصلی افزایش شاخص قرمزی را می‌توان به رنگدانه‌های کاروتنوئیدی موجود در جلبک *U. intestinalis* ربط داد (علیزاده و همکاران، ۱۳۹۴). لازم به ذکر است که شاخص قرمزی گوشت ماهی بسته به نوع تغذیه آن متفاوت است و هرچه این شاخص بالاتر باشد مقبولیت فرآورده گوشتی در نزد مصرف‌کننده بالاتر می‌رود (Wang et al., 2006). همچنین نتایج حاصل از این پژوهش با یافته‌های علوی و همکاران (۱۳۹۴) مطابقت داشت به‌طوری‌که این محققان با استفاده از ریزجلبک اسپیرولنا به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی در بهبود پایداری اکسیداتیو روغن زیتون به این نتیجه رسیدند که افزودن اسپیرولنا به روغن باعث افزایش شاخص a می‌شود. شاخص b هم مشابه شاخص قرمزی، در طول دوره نگهداری افزایش یافته بود به طوری که مقدار این شاخص برای تیمارهای واجد عصاره جلبکی در مقایسه با شاهد و BHT بیشتر بود که با یافته‌های طولابی دزفولی و همکاران (۱۳۹۴) مبنی بر افزایش شاخص زردی در تیمارهای تغذیه شده با عصاره الکلی جلبک‌های قهوه‌ای (*Sargassum angustifolium*) و قرمز (*Laurencia snyderia*) در ماهی ماکرو (*Labidochromis caeruleus*) همسویی دارد. در

واقع جلبک‌ها به دلیل غنی بودن از کاراتنوئیدها می‌توانند میزان رنگدانه‌ها را در ماهیان افزایش دهند و به‌عنوان یک منبع غنی از رنگدانه‌های طبیعی مورد استفاده قرار بگیرند (Baghel et al., 2014). اما نتایج حاصل از یافته‌های تحقیق حاضر، مؤید کاهش شاخص روشنایی در تیمارهای واجد عصاره جلبک در مقایسه با شاهد و BHT در طول دوره نگهداری بود. به طور کلی احتمالاً افزایش شاخص a سبب کاهش شاخص سفیدی در این تحقیق شده است. نتایج حاصل از یافته‌های تحقیق حاضر با یافته‌های علوی و همکاران (۱۳۹۴) مبنی بر کاهش شاخص L تحت تأثیر استفاده از عصاره جلبک اسپیرولینا در روغن زیتون مطابقت دارد.

براساس نتایج حاصل از این تحقیق، اثرات آنتی‌اکسیدانی حاصل از ماکروجلبک *U. intestinalis* توانایی ممانعت از اکسیداسیون چربی در گوشت چرخ شده فیل‌ماهی را دارند و در این پژوهش تیمارهای محتوی عصاره جلبک شرایط بهتری از سایر تیمارها در طول زمان نگهداری از خود نشان دادند. همچنین در بین تیمارهای محتوی عصاره جلبک، تیمار ۳۷/۵ میلی‌گرم عصاره در کیلوگرم گوشت چرخ شده، نسبت به سایر تیمارها، تأثیر بیشتری در کاهش نرخ فساد از طریق فعالیت‌های بیوشیمیایی و شیمیایی و احتمالاً میکروبی داشته و سبب افزایش ماندگاری گوشت چرخ شده فیل‌ماهی در شرایط یخچال شد.

منابع

باباخانی لشکان آ.، رضائی م.، رضایی ک.، سیف‌آبادی س.ج. ۱۳۹۲. استفاده از عصاره جلبک قهوه‌ای سارگاسوم (*Sargassum angustifolium*) به منزله آنتی‌اکسیدان در نگهداری گوشت چرخ شده ماهی کلیکای معمولی (*Cultiventris Clupeonella*) در یخچال. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی، ۶۶(۱): ۱-۱۲.

حمزه ع.، رضایی م. ۱۳۹۰. اثرات ضد اکسیداسیونی و

۴۳. علوی ن.، کرامت م.، گلمکانی م.ت.، امین لاری م.، شکر فروش ش.، نوروزی م. ۱۳۹۴. بهبود پایداری اکسیداسیون روغن زیتون بکر با استفاده از ریز جلبک اسپیرولنا به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۱۰(۴): ۷۴-۶۳.
- علیزاده ش.، مهدی اجاق س.م.، عالیشاهی ع.، میرصادقی س.ح. ۱۳۹۴. اثر جیره غذایی حاوی آستاگزانتین بر کیفیت و ماندگاری گوشت ماهی قزل آلا رنگین کمان در یخچال. بهره برداری و پرورش آبزیان، ۵(۱): ۹۵-۱۱۰.
- کلنگی میاندره ح.، جعفری ا.، اکبرزاده آ. ۱۳۹۴. مطالعه الگوی بیان ژن های کدکننده فاکتور القایی هایپوکسی (hif-1, hif-2) در دوره تکامل لاروی فیل ماهی (*Huso huso* Linnaeus, 1785). مجله بوم شناسی آبزیان، ۴(۴): ۸۷-۸۰.
- نوری ن.، توریان ف.، رکنی ن.، آخوندزاده ا.، میثاقی ع. ۱۳۸۸. بررسی اثر نگهدارندگی اسانس دارچین و درجه حرارت نگهداری بر روی میزان رشد: O157 H7 در همبرگر با استفاده از تکنولوژی ترکیبی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۷(۴): ۴۲-۳۵.
- هاشم دباغیان ا.، رضائی م.، طبرسا م. ۱۳۹۵. استخراج اتانولی و جزءگیری حلال-حلال ترکیبات ضد اکسیداسیونی جلبک سبز *Entromorpha intestinalis*. شیلات مجله منابع طبیعی ایران، ۶۹(۳): ۳۸۵-۳۹۶.
- Baghel R.S., Kumari P., Reddy C.R.K., Jha B. 2014. Growth, pigments, and biochemical composition of marine red alga *Gracilaria crassa*. *Journal of Applied Phycology* 26(5), 2143-2150.
- Botsoglou N.A., Fletouris D.J., Papageorgiou G.E., Vassilopoulos V.N., Mantis A.J., Trakatellis A.G. 1994. Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42(9), 1931-1937.
- Chandini S.K., Ganesan P., Bhaskar N. 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry* 107(2), 707-713.
- Clydesdale F.M., Ahmed E.M. 1978. ضدباکتریایی پوشش آلژینات سدیم به همراه اسانس آویشن بر فیل ماهی قزل آلا رنگین کمان نگهداری شده در یخچال. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۶(۳): ۲۰-۱۱.
- حیدری م.، ذوالقرنین ح.، سخایی ن.، میرزایی ع.، موحدی نیا ع. ۱۳۹۴. مقایسه قدرت ضد رادیکالی و ضدباکتریایی ماکرو جلبک ها در سواحل شمالی خلیج فارس. مجله علمی شیلات ایران، ۲۴(۲): ۶۴-۵۳.
- حیدری م.، ذوالقرنین ح.، سخایی ن.، میرزایی ع.، موحدی نیا ع. ۱۳۹۲. بررسی اکولوژیکی جلبک های سبز ماکروسکوپی سواحل استان بوشهر. مجله علمی و پژوهشی زیست شناسی دریا، ۵(۱۹): ۲۴-۱۵.
- حیدریان م.ت.، جبلی جوان ا.، جوکار م. ۱۳۹۴. بررسی تأثیر آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره رزماری بر کیفیت و زمان ماندگاری گوشت مرغ نگهداری شده در دمای یخچال. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۴(۲): ۱۴۲-۱۳۱.
- زرگر م.، یگانه س.، رضوی س.ه.، اجاق س.م. ۱۳۹۰. تأثیر پوشش خوراکی کارژینات سدیم بر کیفیت ماهی قزل آلا رنگین کمان در طی نگهداری در یخچال. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۴۴(۱۱): ۸۱-۷۱.
- سلحشوری ا.، فلاحتکار ب.، عفت پناه ا. ۱۳۹۶. تأثیر سطوح پروتئین جیره بر عملکرد و شاخص های خونی بچه فیل ماهی (*Huso huso*). نشریه توسعه آبزی پروری، ۱۱(۱): ۶۲-۵۲.
- شعبان پور ب.، جمشیدی ا. ۱۳۹۲. تأثیر پیش تیمار نمک سود و خشک کردن مقدماتی بر ویژگی های فیزیکی و مقدار جذب روغن در ناگت ماهی قزل آلا رنگین کمان. بهداشت مواد غذایی، ۳(۴): ۵۷-۴۱.
- صفری ر.، یعقوبزاده ز. ۱۳۹۴. اثر ترکیبی نایسین و استات سدیم بر افزایش ماندگاری ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) شکم خالی، مجله علمی شیلات ایران، ۲۴(۴): ۱۶۸-۱۵۴.
- طولابی دزفولی ز.، مصباح م.، پیغان ر.، فضل آرا ع.، زارعی م. ۱۳۹۴. تأثیر مصرف خوراکی عصاره الکلی جلبک *Sargassum* و *Laurencia snyderia* و *angustifolium* بر میزان رشد، بازماندگی و رنگدانه های پوست ماهی ماکرو (*Labidochromis caeruleus*). مجله دامپزشکی ایران، ۱۲(۱): ۵۴-

- Hanna H., El-Baky A., Hussein M.M., El-Baroty G. 2008. Algal extracts improve antioxidant defence abilities and salt tolerance of wheat plant irrigated with sea water. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* 7, 2812-2832.
- Hung S.S.O., Cho C.Y., Slinger S.J. 1980. Measurement of oxidation in fish oil and its effect on vitamin E nutrition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37(8), 1248-1253.
- Imaida K., Fukushima S., Shirai T., Ohtani M., Nakanishi K., Ito N. 1983. Promoting activities of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on 2-stage urinary bladder carcinogenesis and inhibition of γ -glutamyl transpeptidase-positive foci development in the liver of rats. *Carcinogenesis* 4(7), 895-899.
- Jeddi S., Jafarpour S. A., Yeganeh S., Naseri M. 2018. Evaluation of color and tissue of rainbow trout fillet by chitosan edible coating incorporated with marjoram essential oil during refrigerated storage. *Fisheries Science and Technology* 7(1), 33-39.
- Aubourg S.P. 1999. Lipid damage detection during the frozen storage of an underutilized fish species. *Food Research International* 32(7), 497-502.
- Küçük M., Kolaylı S., Karaoğlu Ş., Ulusoy E., Baltacı C., Candan F. 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry* 100(2), 526-534.
- Kuda T., Tsunekawa M., Goto H., Araki Y. 2005. Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. *Journal of Food Composition and Analysis* 18(7), 625-633.
- Kumar K.S., Ganesan K., Rao P.S. 2008. Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty-An edible seaweed. *Food Chemistry* 107(1), 289-295.
- Maqsood S., Benjakul S., Shahidi F. 2013. Emerging role of phenolic compounds as natural food additives in fish and fish products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 53(2), 162-179.
- Namulema A., Muyonga J.H., Kaaya A.N. 1999. Quality deterioration in frozen Nile Colorimetry-methodology and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 10(3), 243-301.
- Connell J.J. 1975. Control of fish quality, fourth ed. Fishing News Books, Farnham, Surrey, UK, 256 p.
- Demirbas A., Yavuz Y., Ziyet B., Bruce A.W., Eric McLamore M.M., William P., Amarat S. 2017. Effect of red cabbage extract on minced Nile perch fish patties vacuum packaged in high and low oxygen barrier films. *Journal of Applied Packaging Research* 9(2), 35-46.
- Dinis T.C., Madeira V.M., Almeida L.M. 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 315(1), 161-169.
- Duan X.J., Zhang W.W., Li X.M., Wang B.G. 2006. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. *Food Chemistry* 95(1), 37-43.
- Farasat M., Khavari-Nejad R.A., Nabavi S.M.B., Namjooyan F. 2013. Antioxidant properties of two edible green seaweeds from northern coasts of the Persian Gulf. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products* 8(1), 47.
- Fernando I.S., Kim M., Son K.T., Jeong Y., Jeon Y.J. 2016. Antioxidant activity of marine algal polyphenolic compounds: a mechanistic approach. *Journal of Medicinal Food* 19(7), 615-628.
- Gimenez B., Roncales P., Beltran J.A. 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82(10), 1154-1159.
- Goulas A.E., Kontominas M.G. 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry* 93(3), 511-520.
- Goulas A.E., Kontominas M.G. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry* 100(1), 287-296.
- Hamilton R.J., Kalu C., Prisk E., Padley F.B., Pierce H. 1997. Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chemistry* 60(2), 193-199.

- dissolving CO₂ headspace combined with organic acids prolongs the shelf life of fresh salmon. *International Journal of Food Microbiology* 133(1), 154-160.
- Siddaiah D., Reddy G.V.S., Raju C.V., Chandrasekhar T.C. 2001. Changes in lipids, proteins and kamaboko forming ability of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) mince during frozen storage. *Food Research International* 34(1), 47-53.
- Soltani S., Khoshrooei R. 2014. Evaluation of antibacterial activities in *Cladophora glomerata* and *Enteromorpha intestinalis*. *International Journal of Molecular and Clinical Microbiology* 1, 371-376.
- Soltani S., Ebrahimzadeh M.A., Khoshrooei R., Rahmani Z. 2012. Antibacterial and antihemolytic activities of *Enteromorpha intestinalis* in Caspian Sea Coast, Iran. *Journal of Medicinal Plants Research* 6(3), 530-533.
- Tang S., Sheehan D., Buckley D.J., Morrissey P.A., Kerry J.P. 2001. Anti-oxidant activity of added tea catechins on lipid oxidation of raw minced red meat, poultry and fish muscle. *International Journal of Food Science and Technology* 36(6), 685-692.
- Tierney M.S., Smyth T.J., Hayes M., Soler-Vila A., Croft A.K., Brunton N. 2013. Influence of pressurised liquid extraction and solid-liquid extraction methods on the phenolic content and antioxidant activities of Irish macroalgae. *International Journal of Food Science and Technology* 48(4), 860-869.
- Tocher D.R. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science* 11(2), 107-184.
- Wang Y.J., Chien Y.H., Pan C.H. 2006. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus*. *Aquaculture* 261(2), 641-648.
- Yanar Y. 2007. Quality changes of hot smoked catfish (*Clarias gariepinus*) during refrigerated storage. *Journal of Muscle Foods* 18(4), 391-400.
- perch (*Lates niloticus*) stored at -13 and -27°C. *Food Research International* 32(2), 151-156.
- Ojagh S.M., Rezaei M., Razavi S.H., Hosseini S.M.H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry* 120(1), 193-198.
- Onofrejevá L., Vašíčková J., Klejdus B., Stratil P., Mišurcová L., Kráčmar S., Vacek J. 2010. Bioactive phenols in algae: The application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 51(2), 464-470.
- Ou B., Huang D., Hampsch-Woodill M., Flanagan J.A., Deemer E.K. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(11), 3122-3128.
- Özogul F., Polat A., Özogul Y. 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry* 85(1), 49-57.
- Pearson D. 1976. The chemical analysis of foods, seventh ed. Longman Group Ltd, New York, 575 p.
- Peasura N., Laohakunjit N., Kerdchoechuen O., Wanlapa S. 2015. Characteristics and antioxidant of *Ulva intestinalis* sulphated polysaccharides extracted with different solvents. *International Journal of Biological Macromolecules* 81, 912-919.
- Ronald S.K., Ronald S. 1991. Pearson's composition and analysis of foods. Longman Scientific and Technical. *American Journal of Food and Nutrition* 3(2), 56-63.
- Sahnouni F., Benattouche Z., Matallah-Boutiba A., Benchohra M., Moumen Chentouf W., Bouhadi D., Boutiba Z. 2016. Antimicrobial activity of two marine algae *Ulva rigida* and *Ulva intestinalis* collected from Arzew gulf (Western Algeria). *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences* 6(1), 242-248.
- Schirmer B.C., Heiberg R., Eie T., Møretro T., Maugesten T., Carlehög M., Langsrud S. 2009. A novel packaging method with a

The antioxidant effects of green macroalgae *Ulva intestinalis* hydroalcoholic extract on farm-raised Beluga minced meat during refrigerated storage

Mitra Daneshvar Ghorbani¹, Seyed Pezhman Hosseini Shekarabi^{*2}, Seyed Ebrahim Hoseini¹

¹Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

²Department of Fisheries Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding author: hosseini@srbiau.ac.ir

Received: 2018/8/13

Accepted: 2018/9/22

Abstract

The present study was carried out to investigate the physicochemical changes of farm-raised Beluga minced meat during the storage period in the refrigerator under the influence of hydroalcoholic extract of *Ulva intestinalis* macroalgae as a natural preservative. The minced fish was prepared with concentrations of 0 (control), 12.5, 25 and 37.5 mg/kg of the macroalgae extract. A sample with synthetic antioxidant (BHT) was included. Physicochemical properties (peroxide, volatile nitrogen, free fatty acids, thiobarbituric acid and color) of the samples were measured on 0, 4, 8 and 12 days. On the fourth day of the storage, the lowest values of peroxide index (5.1 meq/kg oil), thiobarbituric acid (0.23 mg malondialdehyd/ kg of meat), volatile nitrogen (25.55 mg N/100 g) and free fatty acids (0.47% oleic acid) was measured in treated samples with 36.5 mg of macroalgae extract compared to control and BHT treatments ($P<0.05$). The results of color indicated that the red and yellow indexes were increased during the storage period, while the highest amount of them were observed in treated samples with the macroalgae extract compared to control and BHT samples. Therefore, this algal extract might be considered a natural preservative and the best antioxidant effects was obtained in 37.5 mg of the extract per kilogram of the minced meat, which can be prolonged Beluga minced meat up to 12 days.

Keywords: Algae, *Ulva intestinalis*, Minced meat, Physicochemical characteristics.