نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۵ شماره ۱/ سال ۱۳۹۴

تاثیر اسید فرولیک روی زمان ماندگاری میگوی وانامی پرورشی در شرایط نگهداری در سردخانه C ° ۱۸-

مینا سیف زاده*[۱] و علی اصغر خانی پور[۱]

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۱۹

[۱] به ترتیب مربی پژوهشی و دانشیار موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبزی پروری آب های داخلی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، انزلی، ایران

* مسئول مکاتبه: Email: M_seifzadeh_ld@yahoo.com

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی امکان استفاده از اسید فرولیک در جلوگیری از ایجاد لکه سیاه در میگوی پرورشی، بررسی امکان جایگزینی آن بجای ترکیبات سنتزی و تعیین مدت زمان ماندگاری میگو در سردخانه انجام شد. برای اجرای این پروژه، چهار تیمار اسید فرولیک ٤ درصد و ۲ درصد، متا بی سولفیت سدیم ۳ درصد و میگوی بدون اسید فرولیک در نظر گرفته شد. نتایج آزمون‌های پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، اسید چرب آزاد، تری متیل آمین در تیمارهای ٤ درصد و ۲ درصد اسید فرولیک و متا بی‌سولفیت سدیم در مقایسه با نمونه بدون اسید فرولیک تفاوت معنی‌دار داشتند ($P<۰/۰۵$). ولی PH بازهای ازت دار فرار قابل تقطیر و پروتئاز در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با نمونه‌های بدون اسید فرولیک کاهش معنی‌دار نشان ندادند ($P>۰/۰۵$). رنگ در تیمار اسید فرولیک ٤ درصد در قیاس با تیمار ۲ درصد تفاوت معنی‌دار نشان داد ($P<۰/۰۵$). اما، در تیمار اسید فرولیک ٤ درصد در مقایسه با تیمار متابی‌سولفیت سدیم تفاوت معنی‌دار نشان نداد ($P>۰/۰۵$). شاخص رنگ در تیمارهای اسید فرولیک ٤ درصد و ۲ درصد و متا بی سولفیت سدیم در مقایسه با نمونه بدون اسید فرولیک تفاوت معنی‌دار نشان داد ($P<۰/۰۵$). علیرغم تیمارهای اسید فرولیک ٤ درصد و متا بی‌سولفیت سدیم، در تیمار اسید فرولیک ۲ درصد طی ۳ ماه ماندگاری در سردخانه لکه‌های سیاه مشاهده شد. در میگوی بدون اسید فرولیک در مدت کمتر از یک ماه ماندگاری در سردخانه لکه سیاه ظاهر شد. بر اساس نتایج به دست آمده اسید فرولیک ٤ درصد می‌تواند جایگزین مناسبی برای متابی‌سولفیت سدیم جهت جلوگیری از بروز لکه سیاه در میگوی پا سفید غربی پرورشی طی شش ماه نگهداری در سردخانه باشد.

واژگان کلیدی: اسید فرولیک، آنزیم پلی فنل اکسیداز، لکه سیاه، متا بی سولفیت سدیم، میگوی پا سفید غربی پرورشی

مقدمه

با توجه به تاثیر عمل آوری در بازاریابی و صید میگو انتخاب تکنولوژی عمل آوری در صنعت فرآوری میگو برای صادرات و کشورهای وارد کننده حائز اهمیت است. تکنولوژی عمل آوری بایستی بر اساس نیاز بازار و بهداشت مواد غذایی در نظر گرفته شده و توسط سازمان ایمنی غذای هر کشور پذیرفته شود. در تهیه محصول مناسب ویژگی های محصول بایستی در نظر گرفته شده و مناسب ترین تکنولوژی جهت تهیه این محصول انتخاب شود. بر این اساس بهره برداری مناسب از میگوی پرورشی با بکارگیری روش های بهینه جابجایی و فرآوری میگو و توجه به تغییرات پس از برداشت از اهمیت ویژه ای برخوردار است (راکوو ۱۹۹۲).

میگوی تازه به آسانی به دلایل مختلف میکروبی، شیمیایی و ملانوزیز فاسد می شود. کنترل قهوه ای شدن یکی از مهمترین مسائل در صنعت غذا است. چون رنگ فاکتور مهمی در ظاهر غذا است که روی تصمیم مصرف کننده تاثیر دارد و غذاهای تغییر رنگ یافته قاسد به نظر می رسند. با در نظر گرفتن ویژگی های محصول و نوع تکنولوژی جهت تهیه آن بهره برداری مناسب و بهینه از میگوی پرورشی با بکارگیری روش های بهینه جابجایی، فرآوری و توجه به تغییرات پس از برداشت میگواز اهمیت ویژه ای برخوردار است (کانکالوز و همکاران ۲۰۰۹).

هم اکنون در بازارهای جهانی میگو به اشکال مختلف بلوک شده، انجماد سریع انفرادی و میگوی خشک منجمد[1] منجمد و عرضه می گردد. با توجه به قیمت مناسب و طول دوره نگهداری طولانی میگوی منجمد، این فرآورده از ارزش تجاری بالا و تقاضای زیاد مصرف کننده برخوردار است. مهمترین تغییرات کیفیت این محصول طی نگهداری طولانی لکه سیاه ، اکسیداسیون چربی، دناتوره شدن پروتئین و تشکیل بلورهای یخ می باشد (مناچ و همکاران ۲۰۰٤). با توجه به تاثیراکسیژن، دما و نور خورشید در بروز لکه های سیاه و عدم امکان حذف اکسیژن و دما در زمان عمل آوری و استفاده از بسته بندی معمولی (غیر وکیوم) برای بسته بندی میگو طی زمان سردخانه گذاری بروز لکه های سیاه در میگو اجتناب ناپذیر است. لکه سیاه یا ملانوزیز پیگمان سیاه غیر محلول ملانین روی سطح پوسته داخلی میگو است. بروز این لکه ها به اکسیداسیون آنزیماتیک پیش سازهای فنولیک موجود در بدن میگو مرتبط است. اکسیداسیون سبب تیره شدن غشاء زیر پوست و بروز لکه های سیاه روی سطح بدن میگو می شود (معینی و پذیرا ۲۰۰۱). پدیده ملانوزیز یک مشکل آنزیماتیک است که به وسیله آنزیم پلی فنل اکسیداز ایجاد می شود. پلی فنل اکسیداز آنزیم داخلی بدن میگو بوده و در پاسخ ایمنی، استحکام کوتیکول، ترمیم زخم ها و افزایش مقاومت به بیماری ها در سخت پوستان نقش دارد. این آنزیم در دمای یخچال، یخ و انجماد فعال بوده و در گونه های تجاری میگو هستند و می توانند تاثیر منفی روی ظاهر، کیفیت میگو، مدت زمان ماندگاری، بازار پسندی، ارزش اقتصادی و پذیرش محصول توسط مصرف کننده داشته باشند. بنابراین یکی از مهمترین مراحل در صنعت عمل آوری میگو به لحاظ بالا بردن کیفیت محصول اولیه غیر فعال کردن آنزیم پلی فنل اکسیداز است (فیگر ۱۹۵۰). در جهان برای جلوگیری از ملانوزیز از روش های مختلفی مانند حرارت مایکروویو، بخار (روش حرارتی)، آنتی اکسیدان، حذف اکسیژن یا کاربرد گاز دی اکسید کربن متراکم و غیر فعال کردن آنزیم پلی فنل اکسیداز استفاده می شود. از روش های معمول برای غیر فعال کردن این آنزیم کاربرد روش‌های شیمیایی مانند ترکیبات احیاء کننده قوی

[1] Accelerated freeze drying (AFD) (یک نوع متد حفاظت غذا)

است. از این ترکیبات می توان از میموزین[۲]، اسید سیناپیک[۳]، پی کوماریک[٤]، اسید کوجیک[٥]، اسید های آلی، عامل های سولفاته, سدیم بنزوات[٦]، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید[۷]، سدیم هیدروژن پیرو فسفات[۸]، و غیره را نام برد (فلیک و لاول ۱۹۷۲ و نسترور ۲۰۰۸). در حال حاضر جهت جلوگیری از تشکیل لکه سیاه[۹] از متابی سولفیت سدیم استفاده می شود. این ترکیب آنتی اکسیدان مصنوعی و حساسیت زا بوده، سبب آزاد سازی گاز دی اکسید گوگرد طی عمل آوری شده و در مواردی مرگ کارگران نیز از استشمام آن گزارش شده است . کاربرد متا بی سولفیت سدیم پروسه طبیعی بعد از برداشت میگو است و سبب شفاف شدن پوست میگو می گردد. اما، به دلیل باقی ماندن آن در بافت میگو و عوارض مصرف آن ممنوعیت قانونی استفاده از این ترکیب در بسیاری از کشورها وجود دارد. علاوه بر این، خورنده بوده و سبب آسیب رساندن به تجهیزات عمل آوری در کارخانه های عمل آوری میگو می شود (ابیو بیکر ۱۹۹٦ و روتلنت و همکاران ۲۰۰۲).

پلی فنل‌ها به عنوان قوی‌ترین ریز مغذی در برنامه غذایی انسان محسوب می‌شوند. اسید فرولیک یک نوع اسید هیدروکسی سینامیک است. این اسید یک ترکیب لیگنوسلولزی، براق کننده پوست، مکمل گیاهی و ترکیب آلی است که با رادیکال های آزاد واکنش می دهد. این ترکیب سرشار از ترکیبات فنولیک دیواره سلول گیاهی مانند آرابینوکسی لانز است. اسید فرولیک آنتی اکسیدان طبیعی و خوش بو بوده و در برگ ها و دانه های گزنه، گندم، برنج، جوی صحرایی، تمشک، ذرت و توت فرنگی و غیره وجود دارد. وجود هسته فنولیک و ترکیب زنجیره جانبی گسترش یافته آن سبب تشکیل رادیکال فنوکسی و خاصیت آنتی اکسیدانی قوی اسید فرولیک می شود. این خاصیت آنتی اکسیدانی اسید فرولیک سبب حفاظت فیزیولوژیکی میگوهای قرار گرفته در معرض اکسیژن و نور می شود (چن و هو ۱۹۹۵ و گومز و مونترو ۲۰۰۷).

تاکنون در زمینه کاربرد اسید فرولیک برای جلوگیری از ایجاد لکه سیاه در میگو در داخل کشور تحقیقی انجام نشده است. اما در سایر کشورها از کاتچین توسط نیرمال (۲۰۰۹ و ۲۰۱۰) جهت جلوگیری از ملانوزیز در میگو استفاده شده است. این مطالعه با هدف بررسی امکان استفاده از اسید فرولیک در جلوگیری از ایجاد ملانوزیز یا لکه سیاه در میگوی پرورشی، تعیین مدت زمان ماندگاری میگو در سردخانه و بررسی امکان جایگزینی آن بجای ترکیبات سنتتیک انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه محلول اسید فرولیک[۱۰] (آمریکا - سیگما)

برای تهیه محلول ۲ و ٤ درصد از پودر اسید فرولیک تجاری به ترتیب مقادیر ٤٤۰ و ۸۸۰ گرم از این ترکیب در ۲۲ لیتر آب فیلتر شده دریا حل شد. محلول ها با استفاده از سود ٦ نرمال به PH ۸ رسانده شدند. سپس محلول ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفته و با استفاده از اسید کلریدریک ٦ نرمال به PH ۷ رسانده شدند (نیرمال و بنجاکول ۲۰۱۰).

تهیه محلول متا بی سولفیت سدیم (۳٪)

برای تهیه محلول متابی‌سولفیت سدیم مقدار ٦۰۰ گرم از این ترکیب در ۲۰ لیتر آب استخر و پودر یخ حل شد (استادارد ملی ایران شماره ۹۵۰ ۱۳۷٤).

[2] Mimosin
[3] Sinapic acid
[4] Picomaric
[5] Kogic acid
[6] Sodium benzoate
[7] Ethylene diamine tetra-acetic acid
[8] Sodium hydrogen pyrophosphate
[9] Blackspots

[10] $C_{10}H_{10}O_4$

عمل آوری

عمل آوری (اواخر آبان سال ۹۰) در سایت پرورش میگو در تیاپ جنوبی از شهرستان میناب واقع در استان هرمزگان انجام شد. این پروژه در ٤ تیمار و ۳ تکرار عمل آوری شد. تیمارها شامل میگوی عمل آوری شده با اسید فرولیک ۲ درصد، میگوی عمل آوری شده با اسید فرولیک ٤ درصد، میگوی عمل آوری شده با متا بی سولفیت سدیم ۳ درصد و میگوی بدون اسید فرولیک (نمونه های شاهد) هستند. میگوها بعد از برداشت دریچه ای و با استفاده از آب یخ به مدت ۳ دقیقه سرد شدند. سپس میگوهای سرد شده در داخل محلول اسید فرولیک با غلظت های ۲ و ٤ درصد به نسبت ۲ به ۱ به مدت ۱۵ دقیقه و در محلول متا بی سولفیت سدیم به مدت ۱۰ دقیقه (در دمای C ° صفر) قرار داده شدند. میگوهای پوشش شده تحت شرایط بهداشتی و دمای صفر درجه سانتیگراد زیر پوششی از یخ به نسبت ۲ به ۱ بوسیله سبد به کارخانه عمل آوری بندر کلاهی از شهرستان میناب واقع در استان هرمزگان انتقال داده شدند. بعد از این مرحله میگو با استفاده از پلاستیک پلی اتیلن در اوزان ۵۰۰ گرمی بسته بندی شده، سپس جعبه گذاری شده و به مدت ۸ – ۱۲ ساعت در داخل تونل انجماد با دمای C ° ٤۰ –قرار داده شدند. میگوهای بسته بندی شده به سردخانه C ° ۱۸ – تا ۲۵ – انتقال داده شدند (انجماد سریع). برای تهیه نمونه شاهد بدون اسید فرولیک میگوها مشابه با تیمار آزمایشی و بدون غوطه وری تهیه شدند. کیفیت نمونه های آزمایشی و شاهد در سردخانه به مدت شش ماه مورد ارزیابی قرار گرفت.

آزمایشات شیمیایی و حسی برای بررسی کیفیت نمونه-های منجمد آزمایشی و شاهد در طی هفت مرحله انجام شد. مرحله اول قبل ازسرد خانه گذاری، مرحله دوم یک ماه بعد از سردخانه گذاری و سایر مراحل هر ماه یک بار در زمان های معین به مدت شش ماه انجام شد. همچنین میگوهای برداشت شده قبل از انجام پروسس عمل آوری از نظر شیمیایی و حسی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه برداری برای انجام این آزمایشات به روش تصادفی انجام شد.

آزمایشات شیمیایی برای نمونه های آزمایشی و شاهد منجمد شامل پراکسید به روش تیتراسیون یدومتریک (روش رسمی تجزیه و تحلیل شیمی ۲۰۰۲)، بازهای ازت دار فرار قابل تقطیر به روش ماکروکجلدال (روش رسمی تجزیه و تحلیل شیمی ۱۹۹۰)، تری متیل آمین به روش اصلاح شده (بولارد و کولین ۱۹۸۰)، تیوباربیتوریک اسید به روش مستقیم (پیرسون ۱۹۹۷)،PH به روش الکترومتریک (روش رسمی تجزیه و تحلیل شیمی ۱۹۹۷)، و آنزیم پروتئاز به روش اندازه گیری فعالیت آنزیم با استفاده از آزوکازئین به عنوان سوبسترانجام شد (موهیلا آلمازان و گارسیا کارنو ۲۰۰۲).

آزمایش حسی ملانوزیز (رنگ) برای نمونه های آزمایشی و شاهد از جدول امتیاز بندی کیفی میگوهای خام (با ۱۰ امتیاز و ٤ سطح کیفی) استفاده شد. برای هر تیمار ۱۰ نمونه مورد بررسی قرار گرفت. این پارامتر به روش شاخص کیفی امتیاز دهی[11] بررسی شد (لوتن ۲۰۰۰). در هر مرحله آزمایشات شیمایی و حسی در ۳ تکرار انجام شد.

تجزیه و تحلیل اطلاعات خام بدست آمده از آزمایشات شیمیایی و حسی برای مقایسه تیمارهای آزمایشی و شاهد با همدیگر بوسیله نرم افزار آماری SPSS و تست آنالیز واریانس یک طرفه و جهت مقایسه تیمارها طی مدت زمان نگهداری در سردخانه از تست آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد.

بحث و نتایج

[11] Quality index method scoring

یکی از مکانیسم‌های جلوگیری از بروز ملانوزیز (لکه سیاه) جلوگیری از فعالیت آنزیم پروتئاز است. با توجه به این که پلی فنل اکسیداز به شکل پیش ساز در بدن میگو سنتز می شود، این شکل آنزیم قادر به ایجاد لکه سیاه نمی باشد. بنابراین جهت ایجاد این لکه ها تبدیل شکل غیر فعال آنزیم پلی فنل اکسیداز به شکل فعال آن ضروری است. فعال سازی آنزیم پلی فنل اکسیداز تحت تاثیر آنزیم پروتئاز ترشح شده از هپاتوپانکراس میگوی وانامی انجام می شود. تغییر شکل این آنزیم هنگام پروسه بعد از جمود نعشی اتفاق می افتد. محصولات تولید شده از هیدرولیز پروتئین بوسیله آنزیم پروتئاز برای فعالیت پلی فنل اکسیداز سوبسترا محسوب می شوند. اسیدفرولیک قادر است که از فعالیت آنزیم پروتئاز و بالطبع تولید سوبسترا برای فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و بروز لکه سیاه جلوگیری کند. این آنزیم در نمونه های تیمار ٤ درصد در قیاس با تیمار ۲ درصد کاهش معنی دار نشان نداد. متا بی سولفیت سدیم قادر به جلوگیری از بروز لکه سیاه با این مکانیسم نمی باشد (نیرمال و بنجاکول ۲۰۰۹ و کاسیایماه ۲۰۱۱).

فرولیک اسید با غیر فعال کردن آنزیم های پروتئولیتیک (پروتئاز) می توانند از تولید سوبسترا برای فعالیت این آنزیم جلوگیری کنند. علاوه بر موارد فوق اسیدهای کربوکسیلیک آروماتیک از سینامیک اسید قادر هستند به روش رقابتی از فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز ممانعت کنند. اما متا بی سولفیت سدیم قادر به جلوگیری از فعالیت آنزیم های پروتئولیتیک (پروتئاز) و غیر فعال کردن پلی فنل اکسیداز به این روش نیست (کاسیایماه ۲۰۱۱).

اسید چرب آزاد در تیمارهای اسید فرولیک ٤ درصد (۰/٦۹ گرم/۱۰۰)، اسید فرولیک ۲ درصد (۰/۸۲ گرم/۱۰۰) و متا بی سولفیت سدیم (۰/٦۲ گرم/۱۰۰) در مقایسه با شاهد بدون اسید فرولیک (٤/۵۷ گرم/۱۰۰) تفاوت معنی دار نشان داد ($P < ۰/۰۵$). این فاکتور در تیمار اسید فرولیک ٤ درصد و تیمار متا بی سولفیت سدیم تفاوت منی دار نشان نداد ($P>۰/۰۵$) . اسید چرب آزاد در تیمارهای ٤ درصد و ۲ درصد اسید فرولیک تفاوت معنی دار نداشت ($P>۰/۰۵$).

جدول ۱ – نتایج آزمایش پروتئاز در میگوهای کامل آزمایشی و شاهد قبل از سردخانه گذاری (واحد/ میلی گرم)

تیمار آزمایش	اسید فرولیک ٤ درصد	اسید فرولیک ۲ درصد	متا بی سولفیت سدیم	بدون اسید فرولیک
پروتئاز	۲/۲۰ns	۲/۵۰ns	۲/۹۰ns	۲/۹۰ns

*معنی دار در سطح ۵٪ ns : غیر معنی دار

علیرغم سایر تیمارها، این فاکتور در تیمار اسید فرولیک ٤ درصد طی مدت زمان سردخانه گذاری تفاوت معنی دار نشان نداد ($P>۰/۰۵$). تاثیر فرولیک اسید روی این فاکتور تحقیق نشده است. آنزیم های لیپولیتیک، آنزیم لیپاز بافت، آنزیم لیپولیتیک ترشح شده از باکتری های استافیلوکوک و آنزیم هایی که از باکتری های مرده و تجزیه شده آزاد می شوند قادر به فعالیت در فاکتور آبی پائین بوده و می توانند طی فرآیند لیپولیز سبب هیدرولیز چربی ها و تولید اسیدهای چرب غیر اشباع در شاهد بدون اسید فرولیک شوند.

جدول ۲ - نتایج تغییرات فاکتورهای شیمیایی میگوهای کامل عمل آوری شده با غلظت های ۲ درصد و ۴ درصد اسید فرولیک طی زمان نگهداری در سردخانه (۱۸ – C °) به مدت شش ماه

ویژگی	پراکسید (میلی اکی والان گرم /کیلوگرم روغن)		اسید چرب آزاد (گرم/۱۰۰)		تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم/کیلوگرم)		بازهای ازت دار فرار قابل تقطیر (میلی گرم/۱۰۰ گرم)		PH		تری متیل آمین (میکروگرم/گرم)	
زمان سردخانه گذاری	تیمار ٤ درصد	تیمار۲ درصد	تیمار ٤ درصد	تیمار ۲ درصد	تیمار ٤ درصد	تیمار ۲ درصد	تیمار ٤ درصد	تیمار۲ درصد	تیمار ٤ درصد	تیمار۲ درصد	تیمار ٤ درصد	تیمار۲ درصد
قبل از	۰/۱۵±۰/۲٤ ns	۰/۱۵±۰/۱۵ns	۰/۶۱±۰/۱۳ ns	۰/۶۱±۰/۱۲ns	۰/۰۸ ±۰/۲۳ns	۰/۰۸ ±۰/۲۹ns	۱۱/۸ ±۱/۷۳ ns	۱۱/۸ ±۱/۷۳ns	٦/۹۹ ±۱/٦۷ ns	٦/۹۹ ±۱/٦۷ns	۰/٥۱ ±۰/۳۷ ns	۰/٥۱ ±۰/۳۹ns
ماه ۱	۰/۲۸ ±۰/۳۱ns	۰/٤٦ ±۰/۲۸ns	۰/٦٦ ±۰/ ۲٥ns	۰/٦٦ ±۰/۳٤ns	۰/۱۳ ±۰/۱۸ ns	۰/۱٥ ±۰/۱٤ns	۱۲/٤ ±۲/۷۸ *	۱۲/٤ ±۱/۲۱*	۷/۰۹ ±۱/۳۸ ns	۷/۰۹ ±۱/۹٥ns	۰/۸٦ ±۰/٤۲ ns	۱/۱٥ ±۰/۲۸ns
ماه ۲	۰/۵٤ ±۰/ ۲۸ ns	۰/۷۱ ±۰/۳۲ns	۰/٦۷ ±۰/٤۱ ns	۰/۷۹ ±۰/٤۸ns	۰/۱٦±۰/۱۳ ns	۰/۱۸±۰/۲۱ns	۱۲/٦±۲/٦۷ ns	۱۲/۷±۲/٦٥ns	۷/۱٦ ±۱/۹٤ ns	۷/۱٦ ±۲/۹٤ns	۲/٤٤ ±۰/۲۳*	۲/٤٤ ±۰/ ۳٤*
ماه ۳	۰/۵۱ ±۰/ ۱٦ ns	۰/٦۹ ±۰/٤۹ns	۰/۷۱±۰/٤۲ ns	۰/۸٥±۰/٥۱ns	۰/۲۷ ±۰/۱۱ns	۱٤/۳ ±۲/۹۷*	۱٤/۲ ±۱/۸٦ *	۱٤/۳ ±۲/۹۷*	۷/۲٤ ±۷۱ ns	۷/۲٥ ±۱/۲۸ns	٥/٦۹ ±۰/٤۲*	٤/٥۸ ±۰/۳۷ *
ماه ٤	۰/٤٥ ±۰/ ۱٤ ns	۰/٦٤ ±۰/٥٤ns	۰/۷۳±۰/۳۷ ns	۰/۹٤±۰/۱۲ns	۰/۲۳ ±۰/ ۱۷ns	۰/۳٥ ±۰/۱۲ns	۱٥/٦ ± ۱/۹٤ *	۱٥/٦ ±۲/۸۱*	۷/۲۹ ±۱/۹۱ ns	۷/۳۱ ±۱/۹٤ns	٦/۹٦ ±۰/۱۷ *	۷/۱۱ ±۰/۱۹*
ماه ٥	۰/۳۹±۰/ ۱٦ ns	۰/٥۷±۰/۳۹ns	۰/۷٥ ±۰/ ۳٦ns	۰/۹٦ ±۰/۲۸ns	۰/٤۱ ±۰/ ۱٤ns	۰/٤٤ ±۰/۲۹*	۱٦/۸ ±۱/۷٦ *	۱۷/۲ ±۱/۸۹*	۷/۳٥ ±۱/۳۷*	۷/۳۹ ±۲/۳۱*	۷/۳۱ ±۰/۱۹ *	۹/۳۱ ±۰/۳٥*
ماه ٦	۰/۳۲ ±۰/ ۲٤ ns	۰/٤٥ ±۰/٤۱ns	۰/۷٦ ±۰/ ۱۷ns	۰/۹۸ ±۰/۱۹*	۰/٤٤ ±۰/۳٤ ns	۰/٤۹ ±۰/۲٥ns	۱۸/۲ ±۲/٤٤*	۱۸/٤ ±۱/۲۹*	۷/٤۳ ±۱/۲۲ns	۷/٤٦ ±۲/۱٥ns	۹/٤۳ ±۰/٤۸*	۱۱/٥٦ ±۰/٤۹*

*معنی دار در سطح ۵٪ ns : غیر معنی دار

اما، در نمونه های آزمایشی و تیمار شاهد متا بی سولفیت سدیم به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی اسید فرولیک و متا بی سولفیت سدیم و جلوگیری از هیدرولیز چربی این فاکتور کاهش نشان داد (بوتینو و همکاران ۱۹۷۹).

تیوباربیتوریک اسید و پر اکسید در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد کاهش نشان دادند. میانگین فاکتورهای پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در تیمار اسید فرولیک ٤ درصد به ترتیب ۰/۳۷ میلی اکی والان گرم /کیلوگرم روغن و ۰/۲۵ میلی گرم/کیلوگرم، تیمار اسید فرولیک ۲ درصد به ترتیب ۰/۵۲ میلی اکی والان گرم /کیلوگرم روغن و ۰/۲۸ میلی گرم/کیلوگرم، تیمار متا بی سولفیت سدیم به ترتیب ٦۱ /۰ میلی اکی والان گرم/کیلوگرم روغن و ۰/۳۳ میلی گرم/کیلوگرم و تیمار بدون اسید فرولیک به ترتیب ۱/۹۲ میلی اکی والان گرم /کیلوگرم روغن و ۰/٤۷ میلی گرم/کیلوگرم است. فاکتور پراکسید در نمونه های آزمایشی، متا بی سولفیت سدیم و شاهد بدون اسید فرولیک تفاوت معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵). تیوباربیتوریک اسید در نمونه های آزمایشی، متا بی سولفیت سدیم و شاهد بدون اسید فرولیک تفاوت معنی دار نشان نداد (P>۰/۰۵). تیوباربیتوریک اسید و پراکسید در تیمارهای ٤ درصد و ۲ درصد اسید فرولیک تفاوت معنی دار نداشتند (P>۰/۰۵). پراکسید در تیمارهای اسید فرولیک ٤ درصد و ۲ درصد طی مدت زمان سردخانه گذاری تفاوت معنی دار نشان نداد (P>۰/۰۵). تیوباربیتوریک اسید در تیمار اسید فرولیک ٤ درصد طی مدت زمان سردخانه گذاری تفاوت معنی دار نشان داد (P< ۰/۰۵). این فاکتورها در تیمار شاهد بدون اسید فرولیک تفاوت معنی دار نشان دادند (P<۰/۰۵). در نمونه های آزمایشی و شاهد از ماه اول تا دوم پر اکسید افزایش داشته اما از از ماه دوم به بعد کاهش نشان داده است. نتایج به دست آمده از این آزمایش با نتایج به دست آمده توسط نیرمال و بنجاکول در سال های ۲۰۰۹ و ۲۰۱۰ مطابقت دارد. در نمونه شاهد بدون اسید فرولیک تاثیر انجماد بر بافت میگو، کاهش رطوبت و افت وزنی در زمان سردخانه گذاری سبب افزایش نفوذ اکسیژن به داخل بافت و در نتیجه اکسید شدن چربی های غیر اشباع و افزایش پراکسید می گردد. پراکسید ناپایدار بوده و با گذشت زمان شروع به تجزیه شدن می نماید که منجر به تولید آلدئید، کتون و ستن می گردد. تجزیه پراکسید به محصولات ثانویه منجر به کاهش این فاکتور و افزایش تیوباربیتوریک اسید می گردد. علاوه بر این، با توجه به نقش ترکیبات آلدئیدی در افزایش تیوباربیتوریک اسید به نظر می رسد ترکیبات آلدئیدی حاصل از تجزیه تری متیل آمین تحت تاثیر فعالیت میکرواورگانیسم ها نیز از عوامل موثر در افزایش این فاکتور باشند. اما در تیمارهای اسید فرولیک و متا بی سولفیت سدیم تحت تاثیر خواص آنتی اکسیدانی این ترکیبات از هیدرولیز چربی، افزایش اکسیداسیون و پراکسید، تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون و افزایش تیوباربیتوریک اسید جلوگیری می شود. افزایش این فاکتورها در تیمار شاهد بدون اسید فرولیک در قیاس با آزمایشی به دلیل افزایش اکسیداسیون و تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون می باشد (هوی و همکاران ۲۰۰٤).

PH در تیمارهای اسید فرولیک ٤ درصد (۷/۲۲)، اسید فرولیک ۲ درصد (۷/۲۳) و متا بی سولفیت سدیم (۷/۲٤) در مقایسه با شاهد بدون اسید فرولیک (۷/۳۱) تفاوت معنی دار نشان نداد (P < ۰/۰۵). این فاکتور در تیمار اسید فرولیک ٤ درصد و تیمار متا بی سولفیت سدیم تفاوت منی دار نشان نداد (P>۰/۰۵) . PH در تیمارهای ٤ درصد و ۲ درصد اسید فرولیک تفاوت معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵) . فاکتور PH در تیمارهای اسید فرولیک ٤ درصد، اسید فرولیک ۲ درصد، متا بی سولفیت سدیم و

شاهد بدون اسید فرولیک طی مدت زمان سردخانه گذاری تفاوت معنی دار تشان داد (P<۰/۰۵). نتایج به دست آمده از این آزمایش با نتایج به دست آمده توسط نیرمال و بنجاکول در سال های ۲۰۰۹ و ۲۰۱۰ مطابقت دارد. علاوه بر تولید بازهای فرار (آمونیاک و تری متیل آمین) و بازهای فرار قابل تقطیر با گذشت زمان محصولات اولیه اکسیداسیون چربی مانند هیدروپراکسیدها تجزیه شده و ترکیباتی مثل آلدئیدها و غیره تولید می گردند. این ترکیبات دارای خواص بازی بوده و سبب افزایش PH در نمونه شاهد می گردند. در نمونه های عمل آوری شده با فرولیک اسید و متا بی سولفیت سدیم به دلیل کاهش تعداد میکرواورگانیسم ها، کاهش تری متیل آمین، کاهش بازهای فرار قابل تقطیر و تشکیل محلول اسیدی بوسیله متا بی سولفیت سدیم این فاکتور در قیاس با شاهد کاهش نشان داد (هوس ۱۹۹٤).

بازهای فرار قابل تقطیر در نمونه های آزمایشی در مقایسه با شاهد افزایش کمتری داشت. این فاکتور در تیمارهای اسید فرولیک ٤ درصد (۱۳/۳۷ میلی گرم/۱۰۰گرم گوشت) و اسید فرولیک ۲ درصد (۱٤/٦ میلی گرم/۱۰۰ گرم گوشت) در مقایسه با تیمار متا بی سولفیت سدیم (۱۵/۳ میلی گرم/۱۰۰گرم گوشت) و شاهد بدون اسید فرولیک (۱۵/٤۰ میلی گرم/۱۰۰گرم گوشت) تفاوت معنی دار نداشت (P>۰/۰۵). بازهای فرار قابل تقطیر در تیمار اسید فرولیک ٤ درصد در مقایسه با تیمار ۲ درصد تفاوت معنی دار نشان نداد (P>۰/۰۵). این فاکتور در تیمارهای اسید فرولیک ٤درصد، اسید فرولیک ۲ درصد، متا بی سولفیت سدیم و بدون اسید فرولیک طی مدت زمان نگهداری در سردخانه تفاوت معنی دار نشان داد (P<۰/۰۵). نتایج به دست آمده از این آزمایش با نتایج به دست آمده توسط نیرمال و بنجاکول در سال-های ۲۰۰۹ و ۲۰۱۰ مطابقت دارد. شاخص بازهای فرار قابل تقطیر در مجموع شامل تری متیل آمین، دی متیل آمین، آمونیاک و سایر ترکیبات آمین دار (حاصل فساد باکتریایی و آنزیمی) در ارتباط با فساد فرآورده های دریائی می باشد. در نمونه شاهد کاهش رطوبت سبب شکسته شدن ساختار پروتئین و تولید ترکیب های ازت دار فرار قابل تقطیر شده و در نتیجه سبب افزایش بازهای فرار قابل تقطیر می گردد. علاوه بر این، تولید اسیدهای چرب آزاد و تاثیر آن بر دناتوره شدن پروتئین، آنزیم پروتئاز و تجزیه اسید آمینه هایا انواع متیل آمین ها و سایر نیتروژ های غیر پروتئینی نیز می‌توانند باعث افزایش بازهای فرار قابل تقطیر گردند. اما در تیمارهای فرولیک اسید و متا بی سولفیت سدیم به دلیل کاهش تشکیل اسیدهای چرب آزاد و میکرواورگانیسم ها این فاکتور در مقایسه با نمونه شاهد طی مدت زمان سردخانه گذاری پائین تر بود. در تیمار های فرولیک اسید جلوگیری از فعالیت آنزیم پروتئاز هپاتوپانکراس میگو نیز در کاهش بازهای فرار قابل تقطیر موثر بوده است (کوب و همکاران ۱۹۷۳ و زیونگ ۱۹۹۷).

تری متیل آمین در نمونه های آزمایشی در مقایسه با نمونه‌های بدون اسید فرولیک و متا بی سولفیت سدیم افزایش کمتری داشت. تری متیل آمین در تیمار ٤ درصد اسید فرولیک و تیمار متا بی سولفیت سدیم تفاوت معنی-دار نشان نداد (P>۰/۰۵) . تری متیل آمین در تیمارهای ٤ درصد و ۲ درصد اسید فرولیک تفاوت معنی دار نداشت (P>۰/۰۵) . این فاکتور در تیمارهای اسید فرولیک ٤ درصد (٤/۵۷ میکروگرم/گرم روغن) در قیاس با اسید فرولیک ۲ درصد (۵/۳۹ میکروگرم/گرم) و همچنین در تیمار متا بی سولفیت سدیم (٦/٤٦ میکروگرم/گرم روغن) در قیاس با شاهد بدون اسید فرولیک (۷/۹۵ میکروگرم/گرم روغن) تفاوت معنی دار نشان نداد (P>۰/۰۵) . تری متیل آمین در تیمارهای فرولیک اسید، متا

بی سولفیت سدیم و شاهد بدون اسید فرولیک طی مدت زمان نگهداری در سردخانه تفاوت معنی دار نشان داد (P<۰/۰۵). تاثیر فرولیک اسید و عصاره دانه انگور روی این فاکتور تحقیق نشده است. تری متیل آمین اکساید فاکتور فساد نبوده بلکه عاملی مهم درتغییر کیفیت میگو می باشد. این فاکتورحدود ۱ تا ۷ درصد وزن خشک بافت را تشکیل می‌دهد. تری متیل آمین اکساید عامل مهمی جهت تنظیم فشار اسمزی بوده و بطور طبیعی در میگوهای زنده و تازه صید شده وجود دارد. بنابراین، فسفولیپیدهای چربی میگو بطور طبیعی از تری متیل آمین اکساید غنی هستند. از تجزیه این فسفولیپیدها تحت تاثیر فعالیت باکتری ها و آنزیم های داخلی بدن میگو مقدار کمی تری متیل آمین حاصل می شود. علاوه بر این، تری متیل آمین اکساید (دارای ساختار نیتروژنی) توسط فعالیت آنزیمی باکتریایی مانند آنزیم های تری متیل آمین اکسیداز و پروتئولیتیک احیاء شده و به ترکیبات ساده تر نظیر تری متیل آمین و دی متیل آمین اکساید تبدیل می شود. دی متیل آمین اکساید بوسیله آنزیم های باکتریایی به تری متیل آمین تبدیل می شود. سپس تری متیل آمین تولید شده از فساد باکتری ها به آلدئید فرمیک و دی متیل آمین (حاصل خود هضمی آنزیمی) تبدیل می گردد. در نمونه های شاهد به دلیل وجود باکتری ها روی سطح بدن میگو، امعاء و احشاء و سفالوتراکس و آنزیم های مترشحه از آن ها فسفولیپیدها تجزیه شده و در نهایت تری میتل آمین تولید می شود که سبب افزایش این فاکتور در نمونه ها می شود. احتمالاً در نمونه های آزمایشی فعالیت ضد باکتریایی فرولیک اسید و عصاره دانه انگور سبب کاهش در تعداد باکتری ها ، آنزیم های مترشحه آن ها و در نهایت کاهش تری متیل آمین در مقایسه با نمونه های شاهد شد (سوتلو و رحبن ۲۰۰۰ و هارد و سیموس ۲۰۰٤).

باقی مانده متا بی سولفیت سدیم در نمونه‌های عمل آوری شده با این ترکیب در زمان صفر۹۰ میلی گرم/ کیلوگرم بود.

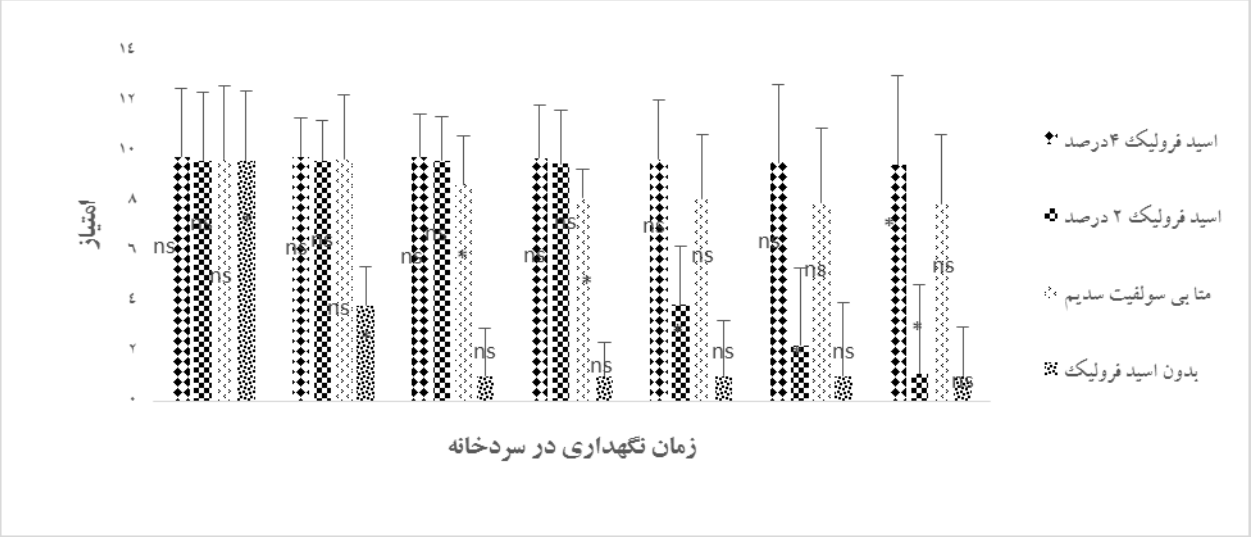
میانگین شاخص رنگ در تیمار اسید فرولیک ٤ درصد (۹/٦۸)، اسید فرولیک ۲ درصد (٦/۵۲)، متا بی سولفیت سدیم (۸/٦۰) و شاهد بدون اسید فرولیک (۲/٦٤) بود. آنالیز حسی رنگ در نمونه های آزمایشی و شاهد بدون اسید فرولیک تفاوت معنی دار نشان داد (P<۰/۰۵). اما بین تیمار اسید فرولیک ٤ درصد و متا بی سولفیت سدیم تفاوت معنی دار مشاهده نشد (P>۰/۰۵). این شاخص در تیمار اسید فرولیک ۲ درصد در مقایسه با تیمارهای اسید فرولیک ٤ درصد و متا بی سولفیت سدیم تفاوت معنی دار نشان داد (P<۰/۰۵). این پارامتر در تیمار اسید فرولیک ٤ درصد تا پایان ماه پنجم نگهداری در سردخانه تفاوت معنی‌دار نشان نداد (P>۰/۰۵). تیمار متا بی سولفیت سدیم تا پایان ماه اول نگهداری در سردخانه تفاوت معنی دار نشان نداد (P>۰/۰۵). در تیمار اسید فرولیک ۲ درصد بعد از سه ماه ماندگاری در سردخانه و در تیمار بدون اسید فرولیک کمتر از یک ماه ماندگاری در سردخانه ملانوزیز مشاهده شد (نیرمال و بنجاکول ۲۰۰۹).

از سایر مکانیسم های غیرفعال سازی آنزیم پلی فنل اکسیداز و جلوگیری از بروز لکه سیاه با استفاده از اسید فرولیک می توان به ممانعت کننده های رقابتی، تغییر PH، جلوگیری از تشکیل کوئینون کاتالیز شده بوسیله آنزیم پلی فنل اکسیداز، واکنش با محصولات حد واسط واکنش های مولد قهوه ای شدن، جلوگیری از تشکیل دوپاکروم و حذف اکسیژن اشاره کرد.

جدول ۳ - نتایج تغییرات فاکتورهای شیمیایی میگو های کامل شاهد (میگوهای عمل آوری شده با متا بی سولفیت سدیم و بدون اسید فرولیک) طی زمان نگهداری در سردخانه (۱۸ ° C –) به مدت شش ماه

ویژگی	پراکسید (میلی اکی والان گرم /کیلوگرم روغن)		اسید چرب آزاد (گرم/۱۰۰)		تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم/کیلوگرم)		بازهای ازت دار فرار قابل تقطیر(میلیگرم/ ۱۰۰گرم)		PH		تری متیل آمین (میکروگرم/گرم)	
زمان سردخانه گذاری	متا بی سولفیت سدیم	بدون اسید فرولیک	متا بی سولفیت سدیم	بدون اسید فرولیک	متا بی سولفیت سدیم	بدون اسید فرولیک	متا بی سولفیت سدیم	بدون اسید فرولیک	متا بی سولفیت سدیم	بدون اسید فرولیک	متا بی سولفیت سدیم	بدون اسید فرولیک
قبل از	٠/١٣ ±٠/١٤ *	٠/١٤ ±٠/١٤ *	٠/١٤ ±٠/٢٣*	٠/٧٦ ±٠/٢٥ *	٠/٠٩ ±٠/١٧*	٠/٠٨ ±٠/١٢ns	١١/٨ ±٢/١٦ns	١١/٨ ±٢/١٦ns	٦/٩٩ ±١/٤٣**ns**	٦/٩٨ ±١/٤٣ns	٠/٥٤ ±٠/١٩*	٠/٥٦ ±٠/٤٨ *
ماه ١	٠/٣٩±٠/١٧*	١/٢٥ ±٠/١١ *	٠/٤٣±٠/١٩ns	٣/٧٣ ±٠/١٢ *	٠/١٧ ±٠/١٤ns	٠/٢١ ±٠/٢٥ns	١٢/٤ ±١/٥١ *	١٢/٤ ±٢/٨٦*	٧/١١ ±١/٤٦ns	٧/١١ ±١/٨٥ns	٠/٩٧ ±٠/٣٤*	٣/٢٤ ±٠/٣٥ *
ماه ٢	٠/٨٥ ±٠/٢٨ns	٢/٩٧ ±٠/٢٣ *	٠/٥١ ±٠/١٤*	٥/٤٦±٠/١٨ *	٠/٢٥ ±٢٦٠ns	٠/٣٤ ±/٢٢ns	١٣/٨ ±١/٢١ *	١٣/٨ ±٣/٣٢*	٧/١٧ ±١/٣٨ns	٧/١٧ ±٢/٢١ns	٤/٨٦ ±٠/٩٧*	٤/٨٥ ±٠/٥٦*
ماه ٣	٠/٨٢ ±٠/٣١ns	٢/٨٦ ±٠/١٥ *	٠/٥٧ ±٠/٢٨ns	٥/٤٨±٠/٣٧ ns	٠/٣١ ±٠/١١ns	٠/٤٧ ±٠/١٦*	١٥/٢ ±١/٩٧ *	١٥/٢ ±٢/٣٥*	٧/٢١ ±١/٨٤ns	٧/٢٩ ±١/٩٤ns	٦/٩٣ ±١/١٢*	٧/٦٣ ±٠/٢٨ *
ماه ٤	٠/٧٨ ±٠/٣٩ns	٢/٤٥ ±٠/١٩ ns	٠/٧٩ ±٠/٣٧ns	٥/٤٩ ±٠/٤٥ ns	٠/٢٩ ±٠/٢١ns	٠/٦١ ±٠/١٧ns	١٦/٦ ±١/٨٦ *	١٦/٦ ±٢/٦٢*	٧/٣٢ ±١/٩٧ns	٧/٤٣ ±١/٧٣ *	٨/٤٦ ±٠/٩٥*	٩/٠٣ ±٠/٤٣ *
ماه ٥	٠/٦٩ ±٠/٢٥ns	٢/١٢ ±٠/٢١ ns	٠/٨٥ ±٠/٣٥ns	٥/٤٩ ±٠/٢٨ ns	٠/٥١ ±٠/٢٨*	٠/٧٨ ±٠/١٩ns	١٨/٢ ±١/٤٧ *	١٧/٨ ±١/٦٥*	٧/٤٣ ±١/١٤*	٧/٥٤ ±٢/١٤ns	١٠/٣٥ ±١/٣٦*	١٣/٦٢±٠/٢٤ *
ماه ٦	٠/٦٧ ±٠/١٩ns	١/٧٩ ±٠/١٢ ns	١/١١ ±٠/٣٣*	٥/٥٣ ±٠/٤١ ns	٠/٦٤ ±٠/٣٤*	٠/٨٥ ±٠/٣٤ns	١٩/٨ ±١/٨١ *	١٩/٦ ±٣/١٦*	٧/٤٨±١/٤ns	٧/٦٧±٢/٤٦ns	١٣/١١ ± ١/٦٨*	١٦/٥٨ ±١/٠٣*

*معنی دار در سطح ٥٪ ns : غیر معنی دار



*معنی دار در سطح ۵٪ ns: غیر معنی دار

شکل۱ - نتایج تغییرات فاکتور حسی رنگ در میگو های کامل شاهد (میگوهای عمل آوری شده با متا بی سولفیت سدیم و بدون اسید فرولیک) طی زمان نگهداری در سردخانه (C ° ۱۸ -) به مدت شش ماه

آنزیم ایجاد کننده لکه های سیاه کاتالیز کننده واکنش تبدیل اسید آمینه تیروزین به رنگدانه غیر محلول ملانین و ایجاد لکه سیاه در میگو است. تیروزین سوبسترای منوفنولیک اساسی محسوب شده است. این اسید آمینه بطور طبیعی در میگو وجود داشته و به عنوان سوبسترا برای آنزیم پلی فنل اکسیداز (کمپلکس آنزیمی درگیر در اکسیداسیون فنل شامل تیروزیناز و کاتکول اکسیداز) عمل می کند. این اسید آمینه شامل یک حلقه فنولیک است که می تواند بوسیله آنزیم پلی فنل اکسیداز از کاراپاس سفالوتراکس میگو، ناحیه کودال و کوتیکل شکم اکسیده شود (فیگر ۱۹۵۰). تیروزین طی مراحل مختلفی و تحت تاثیر اکسیژن به ترکیباتی مانند دوپا، دوپاکوئینون، ترکیب لوکو، دوپا کروم، ۵ و ٦ دی هیدروکسی اندول بانضمام دی اکسید کربن، اندول ۵ و ٦ کوئینون و در نهایت به پیگمان با وزن مولکولی بالا و سیاه رنگ ملانین تبدیل می شود (نیرمال و بنجاکول ۲۰۱۰). اسید فرولیک از تشکیل کوئینون کاتالیز شده بوسیله آنزیم پلی فنل اکسیداز و دوپاکروم جلوگیری کرده با با محصولات حد واسط واکنش های تبدیل تیروزین به ملانین واکنش کرده و باین ترتیب قادر است از بروز ملانوزیز و تغییر رنگ سطحی در میگو جلوگیری کند (فلورس و کراوفورد ۱۹۷۳).

حذف اکسیژن یکی دیگر از مکانیسم های جلوگیری از ایجاد ملانوزیز می باشد (منچ ۲۰۰٤). زیرا آنزیم پلی فنل اکسیداز (وزن مولکولی ۲۱۰ تا ۲۲۰ کیلودالتون) از اکسیژن مولکولی به عنوان کوسوبسترا استفاده می کند. این آنزیم در نوع مت با اکسیژن مولکولی واکنش کرده و سبب تشکیل پلی فنل اکسیداز در حالت اکسی می شود. این شکل آنزیم مستعد کاتالیز واکنش های مونو دی فنل است. آنزیم پلی فنل اکسیداز در نوع مت (مونوفنل اکسیداز یا تیروزیناز) هیدروکسیلاسیون تیروزین را به دی فنل ها کاتالیز کرده و سبب بروز ملانوزیز در میگو می شود. اکسیداسیون سوبسترای دی فنولیک به

کوئینون‌ها به وسیله آنزیم دی فنل اکسیداز و در حضور اکسیژن کاتالیز می شود که تحت تاثیر اتواکسیداسیون و پلی مریزاسیون به تشکیل ملانین و تولید رنگدانه سیاه منجر می‌شود. اسید فرولیک با چسبیدن به سطح میگو، پوشاندن سطح فعالیت آنزیم و بروز تغییر رنگ جلوگیری می کند (هووگیت ۲۰۰۸ و نیرمال وبناکول ۲۰۰۹).

PH نیز از مکانیسم های جلوگیری از ایجاد ملانوزیز می باشد. واکنش های اساسی پلی فنل اکسیداز برای ایجاد ملانوزیز شامل کاتالیز هیدروکسیلاسیون و اکسیداسیون است. این واکنش ها تحت تاثیر اکسیژن مولکولی به عنوان کوسوبسترا انجام پذیر هستند. واکنش های پلی فنل اکسیداز در شرایط اسیدی (PH کمتر از ۵) و شرایط قلیایی (PH بیشتر از ۸) قابل انجام نیستند. بنابراین تنظیم PH محلول اسید فرولیک روی ۸ نیز سبب جلوگیری از فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و جلوگیری از بروز ملانوزیز می شود (کامینو ۲۰۰٤).

علاوه براین کمپلکس آنزیمی پلی فنل اکسیداز یک آنزیم تترامر، متالوپروتئین و از پروتئین های وابسته به مس است. این کمپلکس دارای ٤ اتم مس مولکولی بوده که ۲ اتم مس آن در جایگاه فعال آنزیم دارد. با توجه به خاصیت جذب فلزات اسید فرولیک، این ترکیب از عوامل چلاته کننده محسوب شده و قادر به احیاء، کاهش سطح مس در دسترس، حذف فلز مس از آنزیم پلی فنل اکسیداز و غیر فعال کردن این آنزیم هست (هی و شهیدی ۱۹۹۷). اسید فرولیک به دلیل دارا بودن گروههای هیدروکسیل و تشکیل باز های شیف با استفاده از گروههای آلدئیدی نیز در چلاته کردن مس نقش دارد.این بازها به وسیله واکنش بین آمین نوع اول با کربونیل فعال تشکیل می شوند. بازهای شیف دارای یک گروه عاملی آمین یا آزومتین می باشند که از طریق زوج الکترون غیر پیوندی روی نیتروژن مستعد برای حمله نوکلئوفیلی به فلزات مانند فلز مس آنزیم پلی فنل اکسیداز می باشند. علاوه بر این، اسیدهای کربوکسیلیک آروماتیک از سینامیک اسید موجود در اسید فرولیک قادر هستند از فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز جلوگیری کنند (رئوف ۲۰۰۵).

متا بی سولفیت سدیم با استفاده از مکانیسم های متعددی از بروز ملانوزیز جلوگیری می کند. این آنتی اکسیدان یک نگهدارنده غذایی سنتتیک محسوب شده است. متا بی سولفیت سدیم همانند اسید فرولیک با استفاده از مکانیسم های حذف اکسیژن و واکنش با کوئینون های حد واسط واکنش تبدیل تیروزین به ملانین سبب جلوگیری از بروز ملانوزیز می شود. علاوه بر مکانیسم های فوق، این آنتی اکسیدان با استفاده از روش هایی مانند تشکیل سولفو کوئینون ها بوسیله واکنش برگشت پذیر با آنزیم پلی فنل اکسیداز و غیر فعال کردن آن می تواند از بروز واکنش ملانوزیز جلوگیری کند. متا بی سولفیت سدیم قادر است مستقیماً روی ساختمان آنزیم پلی فنل اکسیداز عمل کرده و سبب غیر فعال شدن آن شود.

بروز ملانوزیز در میگوی شاهد بدون اسید فرولیک تحت تاثیر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز می باشد. در نمونه شاهد فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در سرما کند شده اما از بین نرفته و به مرور زمان سبب تغییر رنگ و ایجاد لکه‌های سیاه می شود (نیرمال و بنجاکول ۲۰۰۹).

علیرغم تیمارهای اسید فرولیک ٤ درصد و متا بی سولفیت سدیم تیماراسید فرولیک ۲ درصد از کیفیت رنگ مطلوبی تا پایان مدت زمان ماندگاری در سردخانه برخوردار نبود. در تیمار اسید فرولیک ۲ درصد طی ۳ ماه ماندگاری در سردخانه لکه های سیاه مشاهده شد. در تیمار های اسید فرولیک ٤ درصد و متا بی سولفیت سدیم تا پایان مدت زمان سردخانه گذاری لکه های سیاه ظاهر نشد. اما در میگوی بدون اسید فرولیک در مدت کمتر از یک ماه ماندگاری در سردخانه ملانوزیز ظاهر شد. بر

اساس نتایج به دست آمده و با توجه به عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمار اسید فرولیک ٤ درصد در قیاس با تیمار متا بی سولفیت سدیم از حیث مدت زمان ماندگاری در سردخانه اسید فرولیک با غلظت ٤ درصد می تواند جایگزین مناسبی برای متا بی سولفیت سدیم جهت جلوگیری از بروز لکه سیاه در میگوی پاسفید غربی پرورشی طی شش ماه نگهداری در سردخانه باشد.

تشکر و قدردانی

از آقای دکتر مطللبی ریاست محترم اسبق موئسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، آقای دکتر شریف روحانی معاونت محترم اسبق تحقیقاتی موئسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، آقای دکتر مرادی رئیس بخش زیست فن آوری موئسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، آقای دکتر خانی پور رئیس پژوهشکده آبزی پروری آب های داخلی کشور، آقای دکتر جلیلی ریاست محترم اسبق مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان، آقای دکتر مرتضوی ریاست محترم و آقای مهندس دهقانی معاونت محترم تحقیقاتی پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، آقای مهندس فروغی رئیس محترم بخش تکثیر و پرورش وآقای مهندس غریب نیا کارشناس محترم بخش تکثیر و پرورش پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس، آقای مهندس زارع معاوننت محترم تحقیقاتی مرکز ملی تحقیقات فرآوری آبزیان، همکاران محترم آزمایشگاههای شیمی و حسی مرکز ملی تحقیقات فراوری آبزیان، همکاران محترم خط تولید مرکز ملی تحقیقات فراوری آبزیان و کلیه همکارانی که در اجرای این پروژه همکاری داشته‌اند سپاسگزاری می‌نمایم.

منابع مورد استفاده

بی نام،١٣٧٤. نگهدارنده های غذایی. بخش علوم و صنایع غذایی موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۹۵۰. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، کرج.

معینی س و پذیرا ع. ۱۳۹۰. تاثیر زمان ذخیره برکیفیت میگوی دریایی و پرورشی. مجله منابع طبیعی ایران. ۵۷: ٤٦٩ – ٤٧٨.

Abu Baker F, 1996. Effectiveness of chemical preservatives in preventing melanosis in prawns. Asean Food Journal 11: 363 - 369.

Anonymous, 1990. Determination of total volatile nitrogen by distillation method. AOAC Fisheries Department, No. 920.03. North Carolina: AOAC.

Anonymous, 1997. Official Methods of Analysis. AOAC Fisheries Department, No. 981.12. North Carolina: AOAC.

Anonymous, 2002. Peroxide value of oils and fats. AOAC Fisheries Department, No. 965.33, North Carolina: AOAC.

Bottino N R, Lilly M L and Finne G, 1979. Fatty acid stability of Gulf of Mexico brown shrimp held on ice and in frozen storage. Journal of Food Science 4: 123 – 127.

Bullard F A and Collins J, 1980. An improved method to analyze trimethylamine in fish and the interference of ammonia and in shrimp. New York: Food and Drug Administration.

Chen C W and Ho C T, 1995. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black tea. Journal Food Lipids. 1: 125 -132.

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

Concalves A A and Gindri Junior C S G, 2009. The effect of uptake on storage quality of frozen shrimp. Journal of Food Engineering 90: 344 – 351.

Fieger E A, 1950. Problems In Handling Fresh And Frozen Shrimp. Food Technology 4: 250 – 256

Flick G J and Lovell R T, 1972. Post-mortem biochemical changes in the muscle of gulf shrimp, Penaeus Aztecus. Journal of Food Science 37: 132 - 136.

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

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

Haard N F and Simos B K, 2004. Seafood Enzymes. New York: Marcle Dekker.

He Y and Shahidi F, 1997. Antioxidant activity of green tea and its catechins in a fish meat model system. Journal Agricultural Food Chemistry 45: 116 – 123.

Howgate P, 2008. Melanosis in shrimp. New York: Food and Drug Administration.

Hui Y H, Cornillon P, Legarreta I. G, Lim M, Murrell K D and Nip W K, 2004. Handbook of Frozen Foods. New York: Marcel Dekker Incorporated.

Huss H H, 1994. Assurance of seafood quality. FAO Fisheries Department. No. 334. Rome: FAO.

Kusaimah M, Soottawat B and Kongkarn K, 2011. Polyphenol oxidase, proteases, melanosis and properties of pre-cooked Pacific White Shrimp as affected by heating conditiond. Pp 485 - 489. Proceeding The 12 th Asean Food Conference. Bangkok, Thiland.

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

Manach C, Scalbert A, Morand C, Remecy C and Jimenez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability1,2. The American Journal Clinical Nutrition 79: 5727 - 747.

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

Nesteror A, Zhao J and Jia Q, 2008. Natural tyrosinase inhibitors for skin hyperpigmentation. New York: MatTek Corporation.

Nirmal N P and Benjakul S, 2009. Melanosis and Quality Changes of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Treated with Catechin during Iced Storage. Journal Agricultural Food Chemistry 57: 224 – 227.

Nirmal P and Benjakul S. 2010. Effect of catechin and ferulic acid on melanosis and quality of Pacific white shrimp subjected to prior freeze-thawing during refrigerated storage. Food Control 21: 1263 – 1271.

Pearson D, 1997. Laboratory Techniques in food analysis. London: Butter Worth.

Rackowe R, 1992. Shrimp processing. Portland: International Marine Fisheries Company.

Rauf A, 2005. Synthesis and biological studies of some Schiff base compounds and their transition metal complexes. Chemistry MS Thesis. University Multan of Pakistan.

Rotllant G, Arnau F and Garcia J A, 2002. Rodrigues, M and Sarda, F. Note. Effect of Metabisulphite Treatments and Freezing on Melanosis Inhibition in Rose Shrimp Aristeus antennatus. Food Science and Technology International 34: 245 – 252.

Sotelo C G, Rehben H, 2000. TMAO Degrading Enzyme. New York: Marcel Dekker Inc.

Xiong Y L, 1997. Protein denaturation and functionality losses. In Quality in Frozen Food. New York: Chapman Hall/International Thomson Publishing.

Effects of ferulic acid on shelf life of whiteleg shrimp in the storage conditions of -18 °C

M Seifzadeh, *[1] and A A Khanipour [1]

Received: February 14, 2014 Accepted: October 11, 2014
[1]Scientific Board and Associate Professor, respectively, Iranian Fisheries Science Research Institute, National Inland Water Aquaculture Institute, Agricultural Research Education and Extention Organization (AREEO), Anzali, Iran
*Corresponding author: M_seifzadeh_ld@yahoo.com

Abstract
Effects of ferulic acid for preventing black spots forming or melanosis in whiteleg shrimps *(Litopenaeus vannamei)*, and its replacement by synthetic compounds and determining the shelf life of shrimp in cold storage were evaluated. Four treatments were immersed shrimp in ferulic acid at two concentration of 2 % and 4% in sodium metabisulfite at a concentration of 3 % without ferulic acid. Peroxide value, thiobarbituric acid, free fatty acids and trimethylamine factors showed significant differences in 4% and 2% ferulic acid and sodium metabisulfite treatments compared to without ferulic acid ($P<0.05$). However, pH, protease and TVB-N showed no significant differences in experimental samples compared samples including of sodium metabisulfite and without ferulic acid ($P>0.05$). Sensory factors including color of 4% and 2% ferulic acid treatment showed significant difference compared to without antioxidant treatment ($P<0.05$). Sensory quality showed no significant difference in 4% ferulic acid treatment compared to sodium metabisulfite treatment ($P>0.05$). Color factor showed significant difference in 4% and 2% ferulic acid and sodium metabisulfite treatments compared to without ferulic acid control samples ($P<0.05$). Despite 4% ferulic acid and sodium metabisulfite treatments, black spot was formed in 2% ferulic acid treatments during 3 months storage. It was formed in without ferulic acid treatment in less than a month. According to the results, ferulic acid at a concentration of 4 % could be a proper substitute for sodium metabisulfite for preventing black spots forming in whiteleg shrimp during 6 months storage.

Key words: Ferulic acid, Black spot, Polyphenol oxidase enzyme, Sodium metabisulfite, Farmed whiteleg shrimp