اثر ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسید اسکوربیک بر فیله ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نگهداری شده در یخچال

فریبرز قجقی[1]، سیدپژمان حسینی شکرابی[2*]، آتوسا محمدی[1]

۱. گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، گلستان، ایران.

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

***نویسنده مسئول:** *hosseini@srbiau.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/۱/۱۵

چکیده

در این مطالعه اثر خیساندن اولیه فیله کپور معمولی در اسید اسکوربیک با دو غلظت ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر رشد میکروبی و پیشرفت فساد چربی آن طی نگهداری یخچالی (۴±۱°C) به مدت ۲۱ روز بررسی شد. آزمایش‌های میکروبی شامل میزان بار باکتریایی کل و میزان باکتری‌های سرمادوست بود و همچنین شاخص‌های پراکسید، مجموع مواد ازته فرار، اسیدهای چرب آزاد، تیوباربیتوریک اسید و pH در تناوب زمانی ۷ روزه طی مدت زمان نگهداری اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که نمونه ۳۰۰ میلی‌گرم اسید اسکوربیک تعداد بار باکتریایی کل و سرمادوست را به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها کاهش داد ($p<۰/۰۵$). حداکثر و حداقل مقدار پراکساید به ترتیب در تیمارهای شاهد و اسیداسکوربیک ۳۰۰ میلی‌گرم به ترتیب ۶/۱۳۳±۰/۴۷۱ و ۳/۹۳۳±۰/۰۴۵ میلی‌اکی والان گرم در کیلوگرم بدست آمد ($p<۰/۰۵$). در انتهای مدت نگهداری تنها تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم اسید اسکوربیک توانست مقدار مواد ازته فرار را در سطح قابل‌قبولی نسبت به سایر تیمارها کنترل کند ($p<۰/۰۵$). روند افزایشی شاخص تیوباربیتوریک اسید در طی نگهداری در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم اسید اسکوربیک نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری مهار شد ($p<۰/۰۵$). حداکثر مقدار شاخص اسیدهای چرب آزاد در تیمار شاهد به ۱۸/۳۷۸±۰/۹۶۶٪ رسید ($p<۰/۰۵$)، در حالی‌که این مقدار در تیمارهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم اسیداسکوربیک به ترتیب ۹/۹۶۷±۰/۹۱۱ و ۷/۰۱۷±۰/۲۶۷ درصد بدست آمد. نتایج آزمایشات میکروبی و شیمیایی نشان داد که افزایش غلظت اسید اسکوربیک منجر به کنترل بیشتر بار باکتریایی و تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون چربی‌ها شده که این امر زمان ماندگاری فیله را افزایش می‌دهد.

واژگان کلیدی: اسید اسکوربیک، آنتی اکسیدان، ضدباکتریایی، کپور معمولی.

مقدمه

ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی در سراسر جهان به‌خصوص آسیا و اروپا تلقی می‌شود. تولید این گونه ماهی از سال ۱۹۵۰ میلادی به‌طور فزاینده‌ای به‌دلیل پیشرفت صنعت آبزی پروری در آب‌های شیرین رشد نموده و در آخرین سالنامه آماری به عنوان سومین آبزی پرورشی جهان معرفی شده‌است (FAO, 2012). فیله ماهی کپور معمولی سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع بوده که البته این نوع از اسیدهای چرب ضروری بسیار مستعد اکسیداسیون و فساد هستند (Jiang et al., 2010; Sequeira-Munoz et al., 2005). فساد میکروبی و هیدرولیز چربی‌ها در ماهی کپور معمولی منجر به تولید مواد ناخوشایند و نامطبوع از جمله فرمالدهید، کتون‌ها و بازهای نیتروژنی فرار می‌شود (Jiang et al., 2010). برای به حداقل رساندن این اثرات نامطلوب در گوشت ماهیان، روش‌های مختلف از جمله استفاده از سرما به همراه مواد ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی توصیه شده‌است (Pirini et al., 2000; Scaife et al., 2000).

اسیدهای آلی طبیعی به‌دلیل برخی خصوصیات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی، هزینه‌های دسترسی و تولید کم در طیف گسترده‌ای از مواد غذایی به عنوان مواد نگهدارنده استفاده می‌شود (Rey et al., 2012; Gould, 1996). اسید اسکوربیک (ویتامین ث) جزء

اسیدهای آلی بوده که علاوه بر نقش تغذیه‌ای در بدن، در مواد غذایی به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی به عنوان یک ماده افزودنی و نگهدارنده طبیعی به‌طور گسترده استفاده می‌شود (Min and Krochta, 2007). ترکیباتی مانند پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شوند. علاوه‌براین، عملکرد آنتی اکسیدانی ویتامین‌ها خصوصاً اسید اسکوربیک به واسطه حذف رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش فعالیت‌های اکسیداسیون چربی‌ها اثبات شده است (Liao and Seib, 1988; Zhang and Hamauzu, 2004; Benvenuti et al., 2004). اثرات مهارکنندگی اکسیداسیون چربی‌ها توسط اسید اسکوربیک و نمک‌های آن به عنوان یک ماده افزودنی در روغن ماهی (Kelleher et al., 1992; Osborn-Barnes and Akoh, 2003)، گوشت چرخ شده ماهی (Hwang and Regenstein, 1988; Stodolnik et al., 1992)، فیله ماهی (Badii and Howell, 2002; Pourashouri et al., 2009) و ماهی کامل (Aubourg et al., 2004) گزارش شده‌است. همچنین اجاق و همکاران (۱۳۸۳) طی تحقیقی افزایش زمان ماندگاری ماهی کیلکای معمولی را با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مطالعه و نشان دادند که تیمار حاوی اسیدآسکوربیک بیشترین تاثیر را در تعویق فساد اکسیداسیونی ماهی به خود اختصاص می‌دهد.

رشد میکروبی یکی از عوامل اصلی فساد در آبزیان مطرح بوده که برخی از مواد شیمیایی از جمله اسیدهای آلی می‌توانند این نوع فساد را به تأخیر بیاندازند (Kilinc et al., 2009). اثر ضد میکروبی اسید اسکوربیک در محصولات غذایی مختلف بررسی شده‌است (Giannuzzi and Zaritzky, 1996; Ogden et al., 1996; Aubourg et al., 2004; Torregrosa et al., 2006; Fujimoto et al., 2006). برای مثال، Zambuchini و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که استفاده از اسید اسکوربیک به‌طور معنی‌داری رشد باکتری‌های هوازی را در فرآورده‌های تازه ماهی کاهش می‌دهد. همچنین طی یک مطالعه مشخص شد که فیله ماهی قزل‌آلا پوشش داده شده با اسیدآسکوربیک واجد بار باکتریایی کل، باکتری‌های سرمادوست و بازهای نیتروژنی فرار کمتری نسبت تیمار حاوی پروتئین آب پنیر می‌باشد (خضری احمدآباد و همکاران، ۱۳۹۱).

از آنجایی که فیله ماهی به دلیل برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی منحصر به فرد، جزء محصولات غذایی بوده که به سرعت فاسد می‌شود، بهره‌گیری از روش‌های مختلف جهت حفظ کیفیت آن امری ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین هدف از انجام این تحقیق، مطالعه اثرات ضد میکروبی (شامل تعداد کل باکتری‌های هوازی و سرمادوست) و آنتی‌اکسیدانی (شامل شاخص‌های پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، مواد ازته فرار، pH و اسیدهای چرب آزاد) اسید اسکوربیک به عنوان یک ماده نگهدارنده در فیله ماهی کپور معمولی بود.

مواد و روش کار

تعداد ۲۰ عدد ماهی کپور معمولی تازه (میانگین وزن ۰/۲±۱ کیلوگرم) از بازار ماهی فروشان شهرستان گنبدکاووس خریداری شد و و درون جعبه‌های حاوی یخ (نسبت ماهی به یخ برابر ۲:۱) در مدت زمان کمتر از یک ساعت به آزمایشگاه منتقل شد. سپس نمونه‌های ماهی با آب قابل شرب چندین بار شست و شو شده، تخلیه شکمی و فلس‌کنی انجام شد و در نهایت با خارج کردن ستون فقرات از ماهیان، فیله به‌صورت دستی تهیه شد. وزن هر فیله بین ۸۰-۱۰۰ گرم بود.

اسید آسکوربیک با خلوص ۹۹/۷ درصد (Merck KGaA - Darmstadt, Germany) با نسبت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در آب مقطر سرد شده (۴±۱°C) به‌طور جداگانه تهیه شد و سپس فیله‌های ماهی کپور به نسبت ۱:۱ وزن ماهی در محلول‌های تهیه شده قرار داده شدند. تیمار شاهد نیز در آب مقطر سرد شده غوطه‌ور شد (Kilinc et al., 2009). پس از سپری شدن ۱۰ دقیقه در دمای محیط (۱۸±۳ °C)، فیله‌ها از داخل محلول‌ها خارج شدند، در کیسه‌های پلی‌اتیلن (ضخامت ۷۵μm) به‌صورت انفرادی بسته‌بندی و در یخچال (۴±۱°C) به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. نمونه‌ها به‌صورت دوره‌ای در فواصل زمانی معین ۷ روزه (در روزهای ۰، ۷، ۱۴و ۲۱) به‌منظور تعیین شاخص‌های کیفی (میکروبی و شیمیایی) مورد آزمایش قرار گرفتند.

آزمون‌های میکروبی

شمارش تعداد کل باکتری‌ها (TPC) و باکتری‌های سرمادوست (PTC) به روش شمارش روی پلیت و با استفاده از محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA) و به ترتیب با انکوباسیون در دمای ۳۷°C به مدت ۲ روز و ۷°C به مدت ۱۰ روز انجام شد (APHA, 1984). بدین نحو که ابتدا ۱۰ گرم از نمونه در شرایط استریل با ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک (محلول کلریدسدیم ۰/۸۵ درصد) هموژن شد و از این محلول برای تهیه رقت‌های متوالی استفاده شد. پس از تهیه رقت‌ها، نمونه‌ها به‌صورت کشت عمقی کشت داده، کدگذاری و در گرم‌خانه معمولی و یخچال‌دار (Binder, Germany) نگهداری شدند. پس از طی شدن مدت زمان نگهداری، تعداد پرگنه‌های رشد یافته شمارش و در عکس رقت مربوطه ضرب تا تعداد پرگنه‌ها در گرم نمونه به‌دست آید.

آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV)

ابتدا روغن از ۲۵ گرم نمونه گوشت ماهی توسط محلول‌های متانول و کلروفرم طبق روش Bligh and Dyer (1959) استخراج شد و سپس آن را به دقت در ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری سر سمباده‌ای وزن نموده و حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسید استیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی‌لیتر از آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته یک درصد به مجموعه اضافه و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر گردید و میزان پراکساید به‌صورت میلی اکی والان گرم در هزار گرم چربی نمونه گزارش شد (Egan et al., 1997).

اندازه‌گیری شاخص تیوباربیتوریک اسید

شاخص مواد واکنش‌پذیر تیوباربیتوریک اسید (TBARs) توسط روش Benjakul و Bauer (2000) با اندکی تغییرات محاسبه شد و جذب رنگ زرد محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. مقادیر TBARS به عنوان میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به ازای هر کیلوگرم از نمونه بیان شد.

اندازه‌گیری کل مواد ازته فرار

میزان ازت‌های فرار کل (TVB-N) با تقطیر ۱۰ گرم از نمونه‌های فیله ماهی پس از افزودن ۲ گرم از اکسید منیزیم توسط دستگاه نیمه اتوماتیک تقطیر کلدال اندازه‌گیری شد (AOAC, 1995).

مقدار اسیدهای چرب آزاد (FFA)

ابتدا مقدار ۲۵ میلی‌لیتر از الکل اتیلیک خنثی‌شده با سود نرمال را به نمونه روغن که قبلاً استخراج شده بود، اضافه و در مراحل بعدی با کمک ۲ تا ۳ قطره معرف

فنل فتالئین و میزان مصرفی سود نرمال مقدار اسیدیته بر حسب درصد اسید اولئیک بر طبق فرمول زیر اندازه‌گیری شد (Natseba et al., 2005).

$$FFA = \frac{N \times ۲/۲۸ \times \text{سود حجم} \times ۱۰/N}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

اندازه‌گیری pH

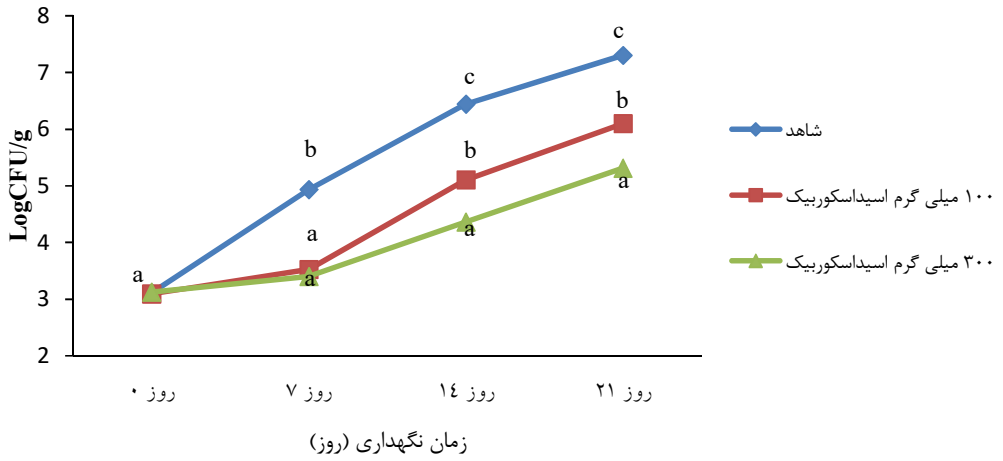
۵ گرم از نمونه ماهی با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر هموژن شد و مخلوط از فیلتر کاغذ صافی شماره ۱ به کمک پمپ خلاء عبور داده و pH محتویات عبور داده‌شده از کاغذ صافی توسط pH متر دیجیتالی (Metrohm, Germany) در دمای اتاق (۲۶-۲۸°C) ثبت شد (Goulas and Kontominas, 2005).

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی تجزیه و تحلیل‌های آماری و ترسیم نمودارها به ترتیب با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ و نرم‌افزار اکسل نسخه ۲۰۱۳ انجام گرفت. قبل از انجام تجزیه و تحلیل داده‌ها ابتدا از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف برای سنجش نرمالیته داده‌ها استفاده شد. سپس تفاوت بین میانگین داده توسط آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج

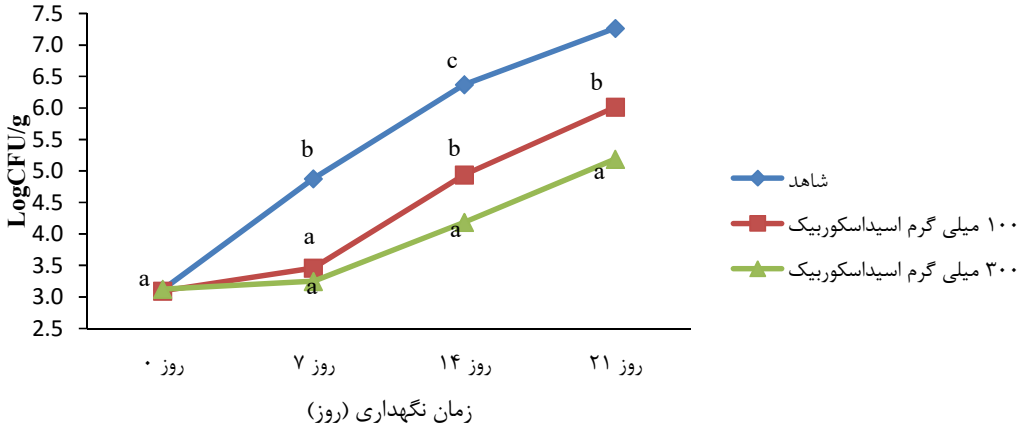
بر اساس نتایج شمارش بار باکتریایی کل، تعداد باکتری کل در فیله ماهی کپور معمولی در ابتدای آزمایش در کلیه تیمارها حدود ۳/۱ واحد تشکیل‌دهنده کلنی بود و این مقدار با گذشت زمان در تمامی تیمارها روند صعودی نشان داد (شکل ۱). به‌طوری‌که در روز بیست و یکم به حداکثر میزان در تیمار شاهد به ۷/۳ واحد تشکیل دهنده کلنی در گرم و در حداقل میزان در تیمار اسید اسکوربیک ۳۰۰ میلی‌گرم به ۵/۳ واحد تشکیل دهنده کلنی در گرم رسید ($p<۰/۰۵$).



شکل ۱- تاثیر اسید اسکوربیک بر تعداد کل باکتری‌های قابل شمارش (واحد تشکیل دهنده کلنی) در فیله ماهی کپور معمولی طی دوره‌های نگهداری

تغییر تعداد باکتری‌های سرمادوست در این مطالعه حاکی از افزایش تعداد باکتری‌ها در تمامی تیمارهای مورد مطالعه بوده، اما روند این تغییرات در تیمارهای واجد اسید اسکوربیک با آهنگ کندتری مشاهده شد (شکل ۲). بطوری‌که تعداد باکتری‌های سرمادوست در تیمار شاهد در ابتدای آزمایش از ۳/۱۱۳ به ۷/۲۹۱

واحد تشکیل دهنده کلنی در گرم در پایان روز بیست و یکم رسید. درحالی که کمترین تعداد باکتری‌های سرمادوست در تیمار اسید اسکوربیک ۳۰۰ میلی‌گرم ثبت شد (p<۰/۰۵).



شکل ۲- تاثیر اسید اسکوربیک بر تعداد کل باکتری‌های سرمادوست (واحد تشکیل دهنده کلنی) در فیله ماهی کپور معمولی طی دوره‌های نگهداری در یخچال

تمامی شاخص‌های شیمیایی اندازه‌گیری شده در این تحقیق در جدول ۱ خلاصه شده است. مقدار عدد پراکساید در ابتدای آزمایش غیرقابل سنجش بوده و معادل صفر در نظر گرفته شد. در تیمار شاهد حداکثر مقدار پراکساید مشاهده گردید که طی ۲۱ روز یخچال‌گذاری از مقدار غیرقابل تشخیص (معادل صفر) به مقدار ۶/۱۳۳±۰/۴۷۱ میلی‌اکی والان گرم در کیلوگرم نمونه رسید (p<۰/۰۵). در تیمار اسیداسکوربیک ۳۰۰ میلی‌گرم، مشخص شد که روند مهار تولید پراکساید از روز هفتم تا پایان آزمایش به‌خوبی انجام شده و مقدار پراکساید تولیدی در پایان آزمایش معادل تقریبا نصف تیمار شاهد بود (جدول ۱).

جدول ۱- اثر اسید اسکوربیک بر برخی شاخص‌های شیمیایی فیله کپور معمولی طی دوره‌های نگهداری در یخچال.

زمان نگهداری (روز)	تیمارها	PV (meq/kg)	TBARs (mgMAD/kg)	TVB-N (mg/100 g)	pH	FFA (٪)
	شاهد	n/a	۰/۳۸۰±۰/۰۳۹^{a}	۳/۹۰۰±۰/۰۸۲^{a}	۶/۵۸۷±۰/۰۱۹^{a}	۰/۰۶۹±۰/۰۰۶^{a}
۰	۱۰۰ میلی‌گرم اسیداسکوربیک	n/a	۰/۴۰۲±۰/۰۱۹^{a}	۳/۹۱۷±۰/۰۶۲^{a}	۶/۵۶۰±۰/۰۴۳^{a}	۰/۰۷۰±۰/۰۰۷^{a}
	۳۰۰ میلی‌گرم اسیداسکوربیک	n/a	۰/۴۰۲±۰/۰۱۴^{a}	۳/۹۵۰±۰/۱۷۸^{a}	۶/۵۵۰±۰/۰۴۱^{a}	۰/۰۷۳±۰/۰۱۰^{a}
	شاهد	۱/۸۵۰±۰/۰۴۱^{a}	۳/۷۸۳±۰/۰۲۴^{c}	۹/۴۳۳±۰/۵۹۱^{b}	۶/۲۶۰±۰/۰۴۳^{b}	۳/۹۱۷±۰/۴۸۲^{b}
۷	۱۰۰ میلی‌گرم اسیداسکوربیک	۱/۵۱۷±۰/۱۰۳^{b}	۰/۸۵۵±۰/۰۰۴^{b}	۶/۳۶۸±۰/۱۴۶^{c}	۶/۲۷۷±۰/۰۵۶^{b}	۲/۹۷۰±۰/۴۰۸^{b}
	۳۰۰ میلی‌گرم اسیداسکوربیک	۱/۴۳۵±۰/۰۶۳^{b}	۰/۶۷۵±۰/۰۲۰^{ab}	۵/۷۲۲±۰/۱۲۹^{c}	۶/۰۸۳±۰/۰۶۲^{c}	۱/۶۶۰±۰/۲۴۵^{aa}
	شاهد	۳/۹۳۳±۰/۰۴۷^{c}	۵/۶۶۷±۰/۱۷۰^{d}	۱۸/۲۰۰±۰/۴۹۰^{d}	۶/۵۸۳±۰/۰۶۲^{dd}	۱۲/۱۵۶±۰/۴۷۸^{c}
۱۴	۱۰۰ میلی‌گرم اسیداسکوربیک	۳/۱۵۲±۰/۰۴۱^{d}	۳/۵۱۸±۰/۱۰۵^{cc}	۱۱/۰۶۷±۰/۱۹۳^{cd}	۶/۲۵۳±۰/۰۴۱^{d}	۵/۹۲۳±۰/۵۰۰^{cc}
	۳۰۰ میلی‌گرم اسیداسکوربیک	۲/۶۱۷±۰/۲۲۵^{ac}	۲/۸۵۰±۰/۰۷۱^{cd}	۸/۸۵۷±۰/۳۰۷^{cb}	۶/۱۱۷±۰/۰۲۴^{f}	۴/۷۳۰±۰/۳۷۵^{d}
	شاهد	۶/۱۳۳±۰/۴۷۱^{f}	۱۳/۶۸۳±۰/۲۳۲^{f}	۳۰/۲۰۰±۰/۹۹۵^{f}	۶/۸۰۱±۰/۰۴۱^{c}	۱۸/۳۷۸±۰/۹۶۶^{dd}
۲۱	۱۰۰ میلی‌گرم اسیداسکوربیک	۵/۴۳۳±۰/۱۲۵^{df}	۸/۸۶۷±۰/۸۷۸^{df}	۲۵/۴۷۷±۰/۶۷۲^{dd}	۶/۲۸۳±۰/۰۲۴^{df}	۹/۹۶۷±۰/۹۱۱^{f}
	۳۰۰ میلی‌گرم اسیداسکوربیک	۳/۹۳۳±۰/۰۴۵^{c}	۴/۳۳۰±۰/۰۹۹^{dd}	۱۳/۵۲۸±۰/۳۲۷^{bf}	۶/۱۲۳±۰/۰۴۷^{f}	۷/۰۱۷±۰/۲۶۷^{f}

میانگین±انحراف معیار (p<۰/۰۵، n=۳). حروف مختلف در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها است.

مقدار شاخص تیوباربیتوریک اسید در روز صفر حدود ۰/۴ میلی‌گرم مالون‌آلدهید بر کیلوگرم محاسبه شد که در طی نگهداری روند تغییرات این شاخص نشان داد که از همان ابتدای آزمایش تا روز هفتم، اسیداسکوربیک به‌خوبی توانست روند اکسایش چربی‌ها را نسبت به تیمار شاهد کنترل کند (جدول ۱). روند تغییرات مواد ازته فرار طی نگهداری روند صعودی داشته که در پایان نگهداری میزان حداکثری و حداقلی به ترتیب در تیمارهای شاهد (۰/۹۹۵±۳۰/۲۰۰ میلی‌گرم/۱۰۰گرم) و اسیداسکوربیک ۳۰۰ میلی‌گرم (۰/۳۲۷±۱۳/۵۲۸ میلی‌گرم/۱۰۰گرم) مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). شاخص pH در تمام تیمارهای مورد مطالعه در روز هفتم کاهش یافته درحالی که از روز هفتم به بعد یک افزایش ناگهانی و معنی‌داری در تیمار شاهده ثبت شد. اما روند افزایش pH طی نگهداری در تیمارهای اسیداسکوربیک اندک و در تیمار اسیداسکوربیک ۳۰۰ میلی‌گرم اختلاف معنی‌داری بین pH زمان ۱۴ و ۲۱ مشاهده نشد (جدول ۱؛ $p>۰/۰۵$). مقدار شاخص اسیدهای چرب آزاد در تیمار شاهد فیله ماهی کپور معمولی در روز ۲۱ به حداکثر مقدار (۰/۹۶۶±۱۸/۳۷۸٪) رسید ($p<۰/۰۵$)، در حالی‌که این مقدار در تیمارهای ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم اسیداسکوربیک به ترتیب ۰/۹۱۱±۹/۹۶۷ و ۰/۲۶۷±۷/۰۱۷ درصد به‌دست آمد.

بحث

فعالیت ضدباکتریایی اسید اسکوربیک

مطالعات نشان داده که یکی از مهمترین عوامل فساد مواد غذایی شیلاتی باکتری‌ها هستند (Weng et al., 1999) و استفاده از شاخص‌هایی همچون بار باکتریایی کل و باکتری‌های سرمادوست شاخص‌های مناسب برای ارزیابی کیفیت مواد غذایی طی دوران نگهداری در یخچال است (Ojagh et al., 2010; Qiu et al., 2014). حد مجاز بار میکروبی کل در هر گرم از ماهیان تازه برای مصرف انسانی تا تعداد $۱۰^{۷}$ کلنی پیشنهاد شده‌است (Huss, 1995). در این مطالعه بار باکتریایی نمونه‌ها در ابتدای آزمایش در حد پایینی بوده که ممکن است نشان‌دهنده وضعیت بهداشتی مناسب تهیه و فرآوری آن‌ها باشد. به‌طور طبیعی پس از مرگ ماهی و افزایش مدت زمان ماندگاری آن‌ها، فرایند رشد و تکثیر باکتری‌ها به‌صورت لگاریتمی شروع می‌شود (Gelman et al., 2001). نتایج نشان داد که کاربرد اسید اسکوربیک به ترتیب مقادیر ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم توانست تا روز بیست و یکم وضعیت مطلوبی را در هر دو تیمار آزمایشی حفظ کند. اما میزان تعداد کل باکتری‌های قابل شمارش و سرمادوست در تیمار فاقد ماده نگهدارنده در پایان مدت زمان نگهداری بیش‌تر از حد مجاز مشاهده شد.

خواص ضدباکتریایی اسید اسکوربیک توسط محققین مختلف تایید شده‌است (Torregrosa et al., 2006; Zambuchini et al., 2008). احتمالاً ویژگی جذب اکسیژن توسط اسید اسکوربیک در مواد غذایی و درنتیجه از دسترس خارج نمودن اکسیژن مورد نیاز میکروارگانیزم‌ها به عنوان یکی از مهمترین علل ویژگی ضدمیکروبی اسید اسکوربیک تلقی شود (Court,1974; Salo and Cliver, 1978). اسید اسکوربیک علاوه براینکه خاصیت اسیدی دارد، از طریق تشکیل کمپلکس با ترکیباتی همچون یون‌های فلزی، گروه‌های آمینی و سولفیدریلی پروتئین‌ها خصوصیات ضدباکتریایی خود را اعمال می‌کند (Giroux et al., 2001). علاوه بر این درخصوص خواص آنتی باکتریال اسید آسکوربیک در مواد غذایی، Ibrahim and Tajkarimi (2011) نشان دادند که اسید اسکوربیک (۰/۲ درصد) به همراه اسیدلاکتیک (۰/۲ درصد) قابلیت

مهار رشد باکتری *Escherichia coli* سویه O_{157} را در آب هویج دارد. همچنین Giannuzi and Zaritzky (1996) گزارش کردند که اسید اسکوربیک به عنوان یک ماده افزودنی ضدباکتریایی رشد جمعیت باکتری لیستریا مونوسیتوژنز را در طول انکوباسون آن در یخچال کاهش می‌دهد. در تحقیقی مشخص شد که فیله ماهی قزل‌آلا پوشش داده شده با اسید اسکوربیک توانست بار باکتریایی کل را در حد قابل قبولی نسبت به تیمار شاهد کنترل کند (خضری احمد آباد و همکاران، ۱۳۹۱) که این یافته همسو با نتایج این مطالعه است.

تولید ترکیبات ازته فرار به‌دلیل فعالیت‌های پروتئولتیک میکروارگانیزم‌ها بوده که عمدتاً بستگی به تعداد باکتری و میزان فعالیت آن‌ها دارد (Ocaño-Higuera et al., 2009). حد قابل قبول مواد ازته فرار مقدار ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی پیشنهاد شده‌است (Imenez et al., 2002). مقدار مواد ازته فرار در تمام تیمارهای فیله ماهی کپور معمولی روند صعودی داشته اما برخلاف تیمارهای اسیداسکوربیک به‌خصوص تیمار با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم، این روند در تیمار شاهد به شکل تصاعدی افزایش یافت و به مقداری بسیار بیشتر از حد قابل‌قبول برای مصرف انسانی در پایان زمان نگهداری رسید.

در هر سه تیمار مورد مطالعه روند کاهشی در مقدار اولیه pH تا روز هفتم و اما این روند کاهشی از روز هشتم یک سیر صعودی را نشان داد. اسید اسکوربیک خاصیت اسیدی داشته (Giannuzi and Zaritzky, 1996) و ممکن است به واسطه این خاصیت سبب کاهش pH شود. چنین کاهش اولیه و افزایش بعدی در مقدار pH در مطالعات متعدد مشاهده و گزارش شده‌است (Fan et al., 2009; Lu et al., 2009). افزایش pH در نمونه‌های آزمایشی و به‌ویژه در نمونه شاهد می‌تواند به واسطه طی شدن روند فساد بافت فیله ماهی و رهاسازی ترکیبات نیتروژنی (آمونیاک، منومتیل آمین، دی‌متیل آمین و تری‌متیل آمین) باشد (Vareltzis et al., 1997; Ozogul et al., 2004; Ruiz-Capillas and Moral, 2005). البته گزارش شده است که pH تاثیر کلیدی برای عملکرد ضدباکتریایی اسیداسکوربیک ندارد زیرا این ماده قابلیت کنترل باکتری *E. coli* حتی در pH زیر ۳/۴ داشته و سایر عامل دیگری غیر از pH نیز در خاصیت ضدباکتریایی آن دخیل می‌باشد (Tajkarimi and Ibrahim, 2011).

فعالیت ضداکسیداسیونی اسید اسکوربیک

خاصیت آنتی‌اکسیدانی و قابلیت مهارکنندگی فساد چربی‌ها توسط اسید اسکوربیک در بافت ماهی ماکرل (Aubourg et al., 2004)، فیله ماهی اسبله (Pourashouri et al., 2009)، گوشت چرخ شده ماهی ماکرل (Hwang and Regenstein, 1988) و فیله ماهی قزل‌آلا (خضری احمد آباد و همکاران، ۱۳۹۱) گزارش شده‌است.

عدد پراکساید وضعیت پیشرفت اکسیداسیون چربی‌ها را نشان می‌دهند (Lin and Lin, 2004). کاهش این عدد نشان دهنده کاهش تولید هیدروپراکسیدها (محصول اولیه اکسایش چربی‌ها) و در نتیجه کاهش میزان اکسیداسیون چربی‌ها است. در این مطالعه، مقدار عدد پراکساید در ابتدای آزمایش غیرقابل سنجش بوده و در تیمار شاهد روند افزایش سریعی در مقدار پراکسایدها مشاهده گردید با توجه به اینکه دامنه قابل قبول پراکساید برای مصرف انسانی بین ۲۰-۱۰ میلی ایکی والان گرم در کیلوگرم روغن پیشنهاد شده‌است (Huss, 1995)، به نظر می‌رسد فیله ماهی کپور معمولی در این آزمایش حتی در تیمار شاهد نیز در وضعیت مطلوبی است. اما در تیمارهای اسید اسکوربیک

مقادیر عدد پراکساید در تمامی روزهای نگهداری نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری کمتر بود (جدول ۱؛ p<۰/۰۵). مشابه با این نتایج، نقش اسید اسکوربیک در کاهش فرآیند اکسایش چربی‌ها در فیله تاس‌ماهی ایرانی (Rostamzad et al., 2011) گزارش شده‌است. به‌طورمشابه در تحقیق دیگری بیان شد که استفاده از اسید اسکوربیک در ماهی ماکرل نگهداری شده در فریزر مقادیر عدد پراکساید را به خوبی کاهش می‌دهد (Aubourg et al., 2004).

شاخص تیوباربیتوریک به‌طور گسترده‌ای به عنوان شاخص میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد و ناشی از وجود آمدن مواد واکنش‌دهنده با تیوباربیتوریک اسید به وجود آمده از مرحله دوم اتواکسیداسیون است که طی آن پراکسیدها به موادی چون آلدئیدها و کتون‌ها اکسید می‌شوند (Yanar, 2007; Connell, 1990). روند تغییرات شاخص تیوباربیتوریک اسید در این مطالعه نشان داد که از همان ابتدای آزمایش تا روز هفتم، اسید اسکوربیک به‌خوبی توانسته روند اکسایش چربی‌ها را در مقایسه با تیمار شاهد کنترل کند (جدول ۱). همسو با این نتایج، Rostamzad و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که اسید اسکوربیک با کاهش شاخص تیوباربیتوریک اسید روند اکسایش چربی‌ها را در بافت فیله ماهی خاویاری کنترل کند. اسید اسکوربیک با جذب اکسیژن می‌تواند اکسیژن در دسترس برای فرایند اکسایش چربی‌ها را محدود کند (Tajkarimi and Ibrahim, 2011).

نتایج این مطالعه نشان داد استفاده از ویتامین اسیداسکوربیک می‌تواند سبب کاهش اسیدهای چرب آزاد در فیله‌ماهی کپور معمولی طی دوره نگهداری در یخچال گردد. هرچند صرفاً اندازه‌گیری درصد اسیدهای چرب آزاد نمی‌تواند مستقیماً نشان دهنده میزان فساد چربی باشد اما ارتباط نزدیکی با کاهش تازگی فیله ماهی دارد (Lugasi et al., 2007). تولید و رها شدن اسیدهای چرب آزاد منجر به کاهش کیفیت و ارزش غذایی محصولات و همچنین تشکیل ترکیبات ثانویه که تاثیر منفی بر شاخص‌های حسی ماهی دارد، می‌شود (Losada et al., 2004). علاوه بر این این ترکیبات ثانویه روی پایداری ساختار پروتئین‌ها اثرگذار گذاشته و فرآیند دناتوره شده پروتئین‌ها را شدت می‌بخشند (Lugasi et al., 2007; Abourg, 2001).

نتایج آزمایشات میکروبی و شیمیایی نشان داد که افزایش غلظت اسید اسکوربیک منجر به کنترل بیشتر بار باکتریایی و تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون چربی‌ها شده که این امر زمان ماندگاری فیله را افزایش می‌دهد.

منابع

۱. اجاق، سیدمهدی.، سحری، محمدعلی و رضایی، مسعود. (۱۳۸۳). آنتی اکسیدان‌های طبیعی بر کیفیت ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultriventris* caspia) به هنگام نگهداری در یخ. مجله علوم و فنون دریایی ایران، سال سوم، شماره ۴، صفحه ۷-۱.

۲. خضری احمد آباد، محمد.، رضایی، مسعود و اجاق، سید مهدی. (۱۳۹۱). اثر اسید آسکوربیک به همراه پوشش پروتئین آب پنیر بر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دمای یخچال: ارزیابی بار میکروبی و ویژگی‌های شیمیایی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال هفتم، شماره ۳، صفحه ۷۸-۶۹.

3. AOAC 1995. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15 ed. Washington, DC, USA.

4. APHA (American Public Health Association) 1984. Compendium of Methods for the Microbiological

Examination of Foods, 2nd ed. APHA, Washington, DC.

5. Aubourg, S. 2001. Fluorescence study of the proxidant activity of free fatty acids on marine lipids. J Sci Food Agri. 81: 385-390.
6. Aubourg, S., Pérez-Alonso, F., and Gallardo, J. 2004. Studies on rancidity inhibition in frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*) by citric and ascorbic acids. Eur J Lipid Sci Technol. 106 232-240.
7. Badii, F., and Howell, N. 2002. Effect of antioxidants, citrate, and cryoprotectants on protein denaturation and texture of frozen cod (*Gadus morhua*). J Agri Food Chem. 50: 2053-2061.
8. Bligh, E.G., and Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Biochem Physiol. 37: 911-917.
9. Benjakul, S., and Bauer, F. 2000. Physicochemical and enzymatic change of cod muscle protein subjected to freeze-thaw cycle. J Sci Food Agric. 80: 1143-1150.
10. Benvenuti, S., Pellati, F., Melegari, M., and Bertelli, D. 2004. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. J Food Sci. 69: 164-169.
11. Connell, J.J. 1959. Aggregation of cod myosin during frozen storage. Nature, 183: 664-668.
12. Court, W.M. 1974. Antioxidant activity of tocopherols, Ascorbyl palmitate and ascorbic acid and their mode of action heir mode of action. J Am Chem Soc. 51: 321-325.
13. Fan, W., Chi, Y., and Zhang, S. 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmicthys molitrix*) during storage in ice. J Food Chem. 108: 148-153.
14. FAO (Food and Agriculture Organization) 2012. Yearbook, fishery and aquaculture statistics. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, pp. 219.
15. Fujimoto, T., Tsuchiya, Y., Terao, M., Nakamura, K., and Yamamoto, M. 2006. Antibacterial effects of chitosan solution against *Legionella pneumophila*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Int J Food Microbiol. 112: 96-101.
16. Gelman A., Glatman L., Drabkin V., and Harpaz, S. 2001. Effects of storage temperature and preservative treatment on shelf life of the pond-raised freshwater fish, silver perch (*Bidyanus bidyanus*). J Food Prot. 64: 1584-1591.
17. Giannuzzi, L., and Zaritzky, N.E. 1996. Effect of ascorbic acid in comparison to citric and lactic acid on *Listeria monocytogenes* inhibition at refrigeration temperatures. LWT-Food Sci Technol. 29: 278-285.
18. Giroux, M., Ouattara, B., Yefsah, R., Smoragiewicz, W., Saucier, L., and Lacroix, M. 2001. Combined effect of ascorbic acid and gamma irradiation on microbial and sensorial characteristics of beef patties during refrigerated storage. J Agri Food Chem. 49: 919-925.
19. Goulas, A.E., and Kontominas, M.G. 2005. Effect of salting and smoking-method on the

keeping quality of chup mackerel (*Scomber japonicus*): Biochemical and sensory attributes. J Food Chem. 93: 511-520.

20. Gould, G.W. 1996. Methods for preservation and extension of shelf life. Int Food Microbiol. 33: 51-64.
21. Huss, H.H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish. FAO fisheries technical paper No. 348. FAO, Rome.
22. Hwang, K., and Regenstein, J. 1995. Hydrolysis and oxidation of mackerel (*Scomber scombrus*) mince lipids with NaOCl and NaF treatments. J Aquatic Food Product Tech. 4: 19-30.
23. Jiang, W.D., Feng, L., Liu, Y., Jiang, J., Hu, K., Li, S.H., and Zhou, X.Q. 2010. Lipid peroxidation, protein oxidant and antioxidant status of muscle, intestine and hepatopancreas for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of myo-inositol. J Food chem. 120: 692-697.
24. Kelleher, S., Silva, L., Hultin, H., and Wilhelm, K. 1992. Inhibition of lipid oxidation during processing of washed, minced Atlantic mackerel. J Food Sci. 57: 1103-1108.
25. Kilinc, B., Cakli, S., Dincer, T., and Tolasa, S. 2009. Microbiological, chemical, sensory, color, and textural changes of rainbow trout fillets treated with sodium acetate, sodium lactate, sodium citrate, and stored at 4 C. J Aquatic Food Product Tech. 18: 3-17.
26. Liao, M.L., and Seib, P.A. 1988. Chemistry of L-ascorbic acid related to foods. J Food Chem. 30: 289-312.
27. Losada, V., Barrose-Velazquez, J., Gallardo, J.M., and Aubourg, S.P. 2004. Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sardina pilchardus*) storage. J Food Sci. 63: 40-47.
28. Lu F., F., Liu D., Ye X., Wei Y., Liu F. (2009). Alginate–calcium coating incorporating nisin and EDTA maintains the quality of fresh northern snakehead (*Channa argus*) fillets stored at 4 °C. J Food Sci Agri. 89: 848-854.
29. Lugasi, A., Losada, V., Hovari, J., Lebovics, V., Jakoczi, I., and Aubourg, S. 2007. Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. J Food Sci Tech. 40: 930-936.
30. Min, S., and Krochta, J.M. 2007. Ascorbic acid-containing whey protein film coatings for control of oxidation. J Agri Food Chem. 55: 2964-2969.
31. Natseba, A., Lwalinda, I., Kakura, E., Muyanja, C.K., and Muyonga, J.H. 2005. Effect of pre-freezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*). J Food Res Int. 38: 469474.
32. Ogden, S.K., Taylor, A.J., Dodd, C.E.R., Guerrero, I., Buendia, H.E., and Gallardo, F. 1996. The effect of combining prop ionic and ascorbic acid on the keeping qualities of fresh minced pork during storage. LWT-Food Sci Technol. 29: 227-233.
33. Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., and Hosseini, S.M.H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the

quality of refrigerated rainbow trout. J Food Chem. 120: 193-198.

34. Osborn-Barnes, H., and Akoh, C. 2003. Copper-catalyzed oxidation of a structured lipid-based emulsion containing a-tocopherol and citric acid: influence of pH and NaCl. J Agri Food Chem. 51: 6851-6855.
35. Ozogul, F., Polat, A. and Ozogul, Y. 2004. The effect of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). J Food Chem. 85: 49-57.
36. Pirini, M., Gatta, P.P., Testi, S., Trigari, G., and Monetti, P.G. 2000. Effect of refrigerated storage on muscle lipid quality of sea bass (*Diaentrachus labrax*) fed on diets containing different levels of vitamin E. J Food Chem. 68: 289-293.
37. Pourashouri, P., Shabanpour, B., Aubourg, S., Rohi, J., and Shabani, A. 2009. An investigation of rancidity inhibition during frozen storage of Wels catfish (*Silurus glanis*) fillets by previous ascorbic and citric acid treatment. Int J Food Sci Tech. 44: 1503-1509.
38. Qiu, X., Chen, S., Liu, G., and Yang, Q. 2014. Quality enhancement in the Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicas*) fillets stored at 4°C by chitosan coating incorporated with citric acid or licorice extract. J Food Chem. 162: 156-160.
39. Rey, M.S., García-Soto, B., Fuertes-Gamundi, J.R., Aubourg, S., and Barros-Velázquez, J. 2012. Effect of a natural organic acid-icing system on the microbiological quality of commercially relevant chilled fish species. LWT-Food Sci Technol. 46: 217-223.
40. Rostamzad, H., Shabanpour, B., Kashaninejad, M., and Shabani, A. 2011. Antioxidative activity of citric and ascorbic acids and their preventive effect on lipid oxidation in frozen Persian sturgeon fillets. Latin Am Appl Res. 41: 135-140.
41. Ruiz-Capillas, C., and Moral, A. 2005. Sensory and biochemical aspects of quality of whole bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. J Food Chem. 89: 347-354.
42. Sallam, K.I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. J Food control. 18: 566-575.
43. Salo, R.J., and Cliver, D.O. 1978. Inactivation of enteroviruses by ascorbic acid and sodium Bisulfite. Appl. Enviro Microbiol. 38: 68-75.
44. Scaife, J.R., Onibi, G.E., Murray, I., Fletcher, T.C., and Houlihan, D.F. 2000. Influence of tocopherol acetate on the short- and long-term storage properties of fillets from Atlantic salmon *Salmo salar* fed a high lipid diet. J Nutr. 6: 65-71.
45. Sequeira-Munoz, A., Chevalier, D., Simpson, B. K., Le Bail, A., and Ramaswamy, H.S. 2005. Effect of pressure-shift freezing versus air-blast freezing of carp (*Cyprinus carpio*) fillets: a storage study. J Food Biochem. 29: 504-516.

46. Stodolnik, L., Blasiak, E., and Broszedzka, H. 1992. Effect of Tween 80, citric acid and acetylsalicylic acids on changes in muscle tissue lipids of Baltic herrings during storage. J Chlodnictwo. 27: 29-35.
47. Tajkarimi, M., and Ibrahim, S.A. 2011. Antimicrobial activity of ascorbic acid alone or in combination with lactic acid on *Escherichia coli* O157: H7 in laboratory medium and carrot juice. J Food Contam. 22: 801-804.
48. Torregrosa, F., Esteve, M.J., Frigola, A., and Cortes, C. 2006. Ascorbic acid stability during refrigerated storage of orangeecarrot juice treated by high pulsed electric field and comparison with pasteurized juice. J Food Eng. 73: 339-345.
49. Vareltzis, K., Koufidis, D., Gavriilidou, E., Papavergou, E., and Vasiliadou, S. 1997. Effectiveness of a natural Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage. Eur Food Res Technol. 205: 93-96.
50. Weng, Y.M., Chen, M.J., and Chen, W. 1999. Antimicrobial food packaging materials from Polyethylene-comethacrylic acid. LWT-Food Sci Technol. 32: 191-195.
51. Yanar, Y. 2007. Quality Changes of Hot Smoked Catfish (*Clarias gariepinus*) During Refrigerated Storage. J Muscle Foods. 18: 391-400.
52. Zambuchini, B., Fiorini, D., Verdenelli, M.C., Orpianesi, C., and Ballini, R. 2008. Inhibition of microbiological activity during sole (*Solea solea* L.) chilled storage by applying ellagic and ascorbic acids. LWT-Food Sci Technol. 41: 1733-1748.

Antimicrobial and antioxidant properties of ascorbic acid on common carp (*Cyprinus carpio*) fillet during refrigerated storage

Ghojoghi F[1], Hosseini-Shekarabi S.P [2*], Mohamadi A[1]

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

[*]**Corresponding author**: *hosseini@srbiau.ac.ir*

Received: 14 February 2015 Accepted: 4 April 2015

Abstract

In this study the effect of preliminary ascorbic acid soaking treatments with two concentration 100 and 300 mg on the microbial growth and rancidity development in common carp fillet during refrigerated storage (4±1ºC) up to 21 days was investigated. Microbial analysis including total viable counts and psychrophilic bacteria counts as well as the peroxide, total volatile basic-nitrogen, free fatty acids, thiobarbituric acid and pH were periodically measured every 7 days during storage period. According to the results, the treated sample with 300 mg ascorbic acid significantly reduced the total viable counts as well as psychrotrophic bacteria counts in comparison to other groups ($p<0.05$). The maximum and minimum amounts of peroxide value was calculated in the control (6.113±0.471 meq/kg) and 300 mg of ascorbic acid (3.933±0.045 meq/kg), respectively ($p<0.05$). The amount of total volatile base nitrogen was controlled just in 300 mg of ascorbic acid treatment than other treatments at the end of storage day ($p<0.05$). Increasing trend of thiobarbituric acid was significantly inhibited in 300 mg ascorbic acid treatment compared to control group during storage ($p<0.05$). The maximum value of free fatty acids (FFA) was obtained in the control (18.378±0.966%) ($p<0.05$), while the amount of FFA in 100 and 300 mg of ascorbic acid treatments were reached 9.967±0.911% and 7.017±0.267%, respectively. Results of bacterial and chemical analyses showed that bacterial growth and formation of primary and secondary lipid oxidation compounds were controlled by increasing ascorbic acid concentration which was corroborated by a longer shelf-life time.

Keywords: Ascorbic acid, antioxidant, antibacterial, common carp.