



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

بهره‌برداری و پرورش آبزیان

جلد سوم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۳

<http://japu.gau.ac.ir>

## اثر عصاره خیار دریایی (*Holothuria leucospilota*) بر کیفیت شیمیایی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در یخچال ( $4 \pm 1$ درجه سانتی‌گراد)

حنانه رضائیان<sup>۱</sup>، \*سیدولی حسینی<sup>۲</sup>، عباسعلی مطلبی مغانجوقی<sup>۳</sup> و علیرضا میرواقفی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.

<sup>۲</sup>گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.

<sup>۳</sup>موسسه تحقیقات شیلات ایران، تهران، ایران، <sup>۴</sup>گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۹/۲۴

### چکیده

در این پژوهش اثر عصاره حاصل از خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* بر کیفیت شیمیایی فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مورد بررسی قرار گرفت. عصاره خیار دریایی با استفاده از حلال متانول استخراج و با غلظت‌های مختلف (۰ (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد) تهیه گردید. فیله‌های ماهی قزل‌آلای پس از غوطه‌ور شدن در عصاره، در خلاء بسته‌بندی شدند. هر ۴ روز یک‌بار آزمایشات شیمیایی شامل بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)، تیوباربیتوریک اسید (TBA) و pH بر روی نمونه‌ها انجام شد. نتایج نشان داد در نمونه‌های تیمار شده با عصاره خیار دریایی، میزان TVB-N در تمام مدت نگهداری (۱۶ روز) از حد قابل قبول بیشتر نشد میزان TBA در همه تیمارها، از روز ۱۲ به بعد از حد قابل قبول تجاوز کرد اما همواره میزان این شاخص در نمونه شاهد بیش از نمونه‌های تیمار شده با عصاره بود. میزان pH دارای نوساناتی در طی مدت نگهداری بود، اما همواره pH نمونه‌های شاهد بیش از نمونه‌های تیمار شده با عصاره خیار دریایی بود ( $P < 0/05$ ). نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره جدا شده از این گونه خیار دریایی می‌تواند در کوتاه مدت کیفیت شیمیایی ماهی را حفظ نماید.

واژه‌های کلیدی: *Holothuria leucospilota*، قزل‌آلای رنگین کمان، مدت ماندگاری، کیفیت شیمیایی

\*مسئول مکاتبه: [hosseinisv@ut.ac.ir](mailto:hosseinisv@ut.ac.ir)

## مقدمه

خیار دریایی گروه بزرگی از آبزیان را تشکیل می‌دهد و از نظر رده‌بندی جزء راسته خارپوستان بوده و به زیرشاخه خارزیان تعلق دارد. این جاندار دارای بدنی چرم مانند و کشیده بوده و معمولاً به صورت گوشتی و نرم هستند (کاسترو و هوبر، ۲۰۰۰). در پژوهش‌هایی که اخیراً روی عصاره‌ها و ترکیبات بدست آمده از خیار دریایی صورت گرفته است، خواص سیتوتوکسیسیستی (هاوا و همکاران، ۱۹۹۹؛ سوگاوارا و همکاران، ۲۰۰۶)، آنتی‌اکسیدانی (دینگ و همکاران، ۲۰۰۳)، ضدباکتریایی، ضد التهابی، ضد ویروسی، ضد توموری و ضد سرطانی آن به اثبات رسیده است (چن، ۲۰۰۳؛ فاروک و همکاران، ۲۰۰۷).

در بررسی‌های انجام شده بر ترکیبات بدست آمده از لوله گوارشی، غدد جنسی، ماهیچه و غدد تولیدمثلی و دیگر قسمت‌های بدن خیار دریایی کوکوماریا فروندوزا (*Cucumaria frondosa*)، علاوه بر اثرهای ضد باکتریایی، اثر آنتی‌اکسیدانی این عصاره‌ها نیز نشان داده شده است (هاوا و همکاران، ۱۹۹۹؛ سوگاوارا و همکاران، ۲۰۰۶).

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از خانواده آزاد ماهیان و از ماهیان پرورشی بسیار با ارزش در بسیاری از نقاط جهان، به ویژه ایران محسوب می‌شود. سرعت رشد بالا، مقاومت بسیار خوب آن با شرایط محیط و بیماری‌ها و بویژه تقاضای روز افزون آن از سوی بازار بخاطر توزیع آن در اکثر نقاط کشور موجب افزایش تولید آن گردیده است (وثوقی و مستجیر، ۱۹۹۱). امروزه آنچه در مورد غذاهای آبی، مخصوصاً ماهیان پرورشی، اهمیت پیدا کرده است، عرضه آنها به صورت تازه و غیر منجمد می‌باشد (بارات و همکاران، ۲۰۰۶).

امروزه از افزودنی‌های سنتتیک بدلیل دارا بودن عوارض ناگوار کاسته شده و تمایل به نگهدارنده‌های طبیعی جهت افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی افزایش یافته است. به همین دلیل اخیراً استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به عنوان نگهدارنده مورد توجه خاصی قرار گرفته است (امیدیگی و همکاران، ۲۰۰۷). پژوهش‌های بسیاری در زمینه بررسی کیفیت آبزیان تحت تاثیر عصاره‌های طبیعی انجام شده است، از جمله این پژوهش‌ها می‌توان به پژوهش اعتمادی و همکاران (۲۰۰۸) اشاره کرد که اثر آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری را در افزایش ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی کردند. طبق بررسی‌های حسی و آنالیزهای میکروبی، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تیمار شده با عصاره رزماری تا انتهای دوره نگهداری قابل مصرف بودند، بطوری‌که

عصاره رزماری توانست عمر ماندگاری نمونه‌ها را نسبت به نمونه شاهد ۴ روز افزایش دهد. همچنین پزشک و همکاران (۲۰۱۰) اثر عصاره موسیر را بر ماندگاری فیله قزل‌آلای رنگین کمان مورد مطالعه قرار دادند. نتایج حاصل از پژوهش آنها نشان‌دهنده تاثیر آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریایی عصاره موسیر در مدت ذخیره‌سازی و افزایش مدت ماندگاری نمونه‌های غوطه ور شده در عصاره موسیر بوده است. طی نگهداری ماهی در یخ، رشد ارگانیزم‌های فاسد کننده ماهی و نیز سرعت فعالیت‌های آنزیمی و شیمیایی کاهش می‌یابد، اما فرایندهای اکسیداسیونی و هیدرولیزی چربی ماهیان متوقف نشده، بلکه به آرامی پیش می‌روند. این فرایندها منجر به بروز تغییرات ناخواسته‌ای در زمان نگهداری و در نتیجه کاهش کیفیت محصول می‌شوند. از این رو فساد چربی به عنوان مهم‌ترین عامل افت کیفیت ماهیان در نظر گرفته می‌شود (آکمان، ۱۹۸۸).

هدف از انجام این پژوهش بررسی کیفیت شیمیایی فیله‌های قزل‌آلای رنگین کمان بسته‌بندی شده در خلا تحت تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره خیار دریایی گونه *Holothuria leucospilota* می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی ماهی: ۱۵ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزن  $350 \pm 20$  گرم از کارگاه پرورش ماهی واقع در مهرشهر کرج، بصورت زنده و تصادفی در آذر ماه ۱۳۹۱ تهیه گردید. سپس ماهیان با نسبت ۱ به ۳ (ماهی به یخ) در داخل جعبه یونولیت قرار داده شد و طی مدت ۳۰ دقیقه به آزمایشگاه فرآوری آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل گردید. به منظور جداسازی مواد زائد خارجی از سطح بدن ماهیان، شستشوی آنها با آب شیرین انجام پذیرفت. پس از سرزنی، تخلیه شکمی و فیله کردن، نمونه‌ها مجدداً شسته شده و در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ درصد عصاره خیار دریایی به مدت ۶۰ ثانیه غوطه‌ور و آنگاه بر روی توری گذاشته شد تا محلول اضافی از فیله‌ها جدا شود. سپس نمونه‌ها در خلاء بسته‌بندی و آنگاه به مدت ۱۶ روز در یخچال در دمای  $(1 \pm 4)$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در طی دوره نگهداری، در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ نگهداری، از هر گروه نمونه‌هایی بطور تصادفی انتخاب شده و آزمایشات شیمیایی بر روی آن انجام گرفت.

آماده‌سازی نمونه‌ها جهت عصاره‌گیری: ۱۵ کیلو از خیار دریایی مورد نظر از عمق ۳۰ متری اطراف جزیره قشم جمع‌آوری و با استفاده از یخ به ساحل منتقل گردید. پس از انتقال به آزمایشگاه، نمونه‌ها

در فریز در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان عصاره‌گیری نگهداری شدند. برای تهیه عصاره، ابتدا نمونه‌ها در دمای اتاق انجمادزدایی گردید. ارگان‌های داخلی بدن آن جدا و دیواره بدن پاک شده و جهت استخراج عصاره آماده گردید. جهت استخراج، ابتدا نمونه‌ها شسته شده و به تکه‌های کوچک ۱ سانتی‌متری خرد گردید. نمونه‌های خرد شده به ارلن منتقل شده و به آنها ۱۰۰۰ سی‌سی متانول (شرکت دکتر مجللی، ایران) اضافه شد و به مدت ۷۲ ساعت در آزمایشگاه در دمای اتاق قرارداد شد. پس از ۷۲ ساعت محلول به دست آمده صاف شده تا ذرات نمونه از آن جدا شود، آنچه باقی می‌ماند، حلال متانولی و ترکیبات آلی موجود در نمونه است. حلال عصاره قطبی بدست آمده با دستگاه تبخیر در خلا (BUCHI، سوئیس) در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و دور ۱۴۵، حذف شد. سپس هم حجم نمونه به دست آمده اتر اضافه کرده تا دو فاز آبی و اتری تشکیل شود. توسط دکانتور دو فاز فوق جدا شد و به فاز آبی به طور هم حجم ۱- بوتانول اضافه گردید، سپس فاز رویی عصاره آبی جدا شده و از عصاره حاصله جهت تهیه محلول‌هایی با درصدهای مختلف استفاده گردید.

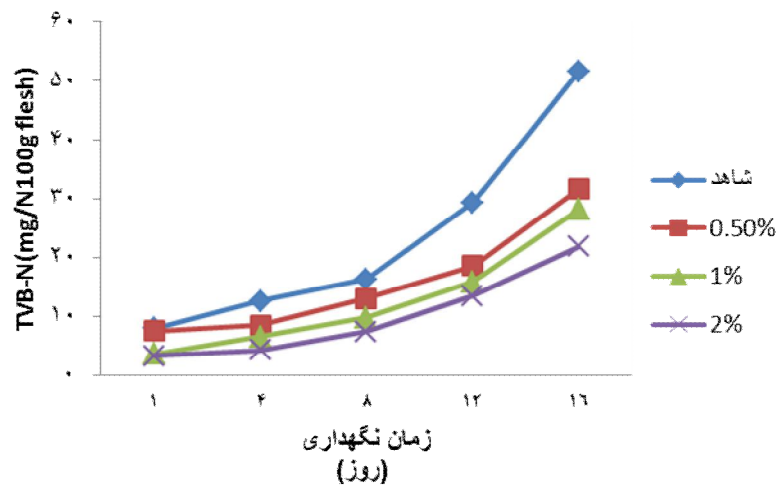
آزمایشات شیمیایی: مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) مطابق روش AOAC (۱۹۹۰) و شاخص تیوباریتوریک اسید براساس روش نامولما و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد. میزان pH نیز به براساس روش AOAC (۱۹۹۰) به این ترتیب سنجش گردید که ۱۰ گرم از هر نمونه با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر در یک مخلوط‌کن به مدت ۳۰ ثانیه هموزن شد سپس با pH متر (HANNA instruments, Italy) میزان pH اندازه‌گیری گردید.

آزمون‌های آماری: جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. آزمون کولموگروف-اسمیرنف برای تعیین نرمال بودن داده‌ها و تجزیه واریانس یکطرفه برای تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف بین تیمارها انجام شد. در مواردی که اختلاف وجود داشت از آزمون دانکن در سطح اعتماد ۵ درصد جهت تعیین وجود تفاوت معنی‌دار استفاده شد.

## نتایج

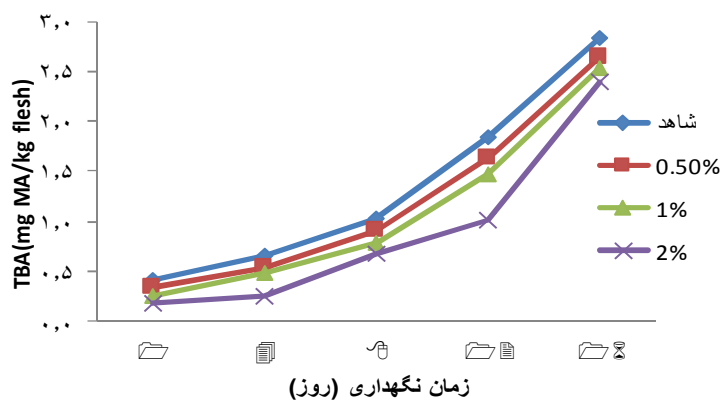
نتایج به‌دست آمده از این پژوهش در شکل‌های ۱ تا ۳ نشان داده شده است. همانگونه که در شکل ۱ نشان داده شده است تغییرات TVB-N افزایش ویژه‌ای را در گروه شاهد و بقیه گروه‌ها تا روز ۸

نشان نداد. بیشترین میزان TVB-N برای گروه شاهد در روز ۱۶ نگهداری در یخچال مشاهده گردید. بعد از روز ۸ مقدار TVB-N برای گروه کنترل به تدریج افزایش یافت در حالی که برای سایر گروه‌ها این افزایش چندان محسوس نبود. همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین TVB-N بین غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ درصد به جز گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ( $P > 0/05$ ).

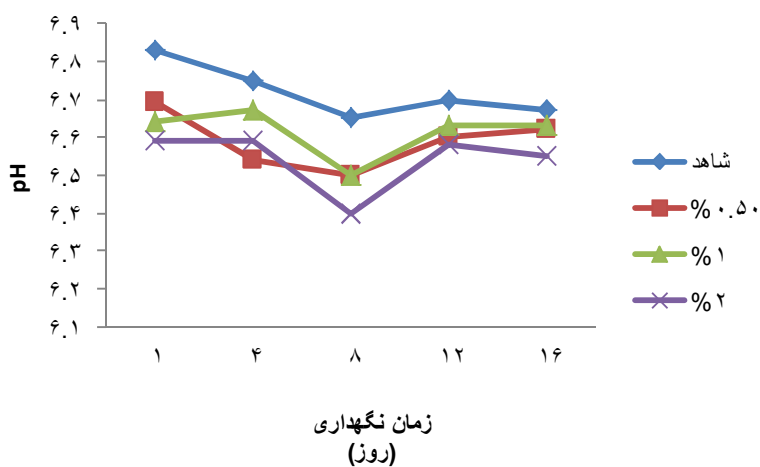


شکل ۱. تغییرات مجموع بازهای نیتروژنی فرار در نمونه‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان غوطه‌ور شده در محلول حاوی غلظت‌های مختلف عصاره خیار دریایی (۰، ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ درصد) در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد)

مقدار TBA برای گروه شاهد قزل‌آلای رنگین کمان از مقادیر اولیه ۰/۴۱ میلی‌گرم مالون آلدهید در کیلوگرم گوشت ماهی تا ماکزیمم مقدار ۲/۸۴ (شاهد) در روز ۱۶ نگهداری در یخچال به تدریج افزایش یافت (شکل ۲). تغییرات TBA در دیگر گروه‌ها به تدریج تا روز ۱۲ افزایش یافت در حالی که در گروه ۲ درصد بعد از روز ۱۲ یک افزایش ناگهانی مشاهده گردید در حالی که برای سایر گروه‌ها این افزایش چندان محسوس نبود.



شکل ۲. تغییرات تیوباریتوریک اسید در نمونه‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان غوطه‌ور شده در محلول حاوی غلظت‌های مختلف عصاره خیار دریایی (۰، ۰/۵، ۱، ۲ و ۲ درصد) در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد)



شکل ۳. تغییرات pH در نمونه‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان غوطه‌ور شده در محلول حاوی غلظت‌های مختلف عصاره خیار دریایی (۰، ۰/۵، ۱، ۲ و ۲ درصد) در زمان‌های مختلف نگهداری در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد)

بیشترین میزان pH در روز اول در گروه شاهد به میزان ۶/۸۳ مشاهده شد و کمترین آن در روز ۸ نگهداری برای گروه ۲ درصد به مقدار ۶/۴۰ مشاهده گردید. با توجه به نتایج به دست آمده افزودن عصاره به فیله ماهی باعث کاهش میزان pH در آن شد و در روز ۸ در تمام گروه‌ها کاهش ویژه‌ای در میزان pH مشاهده شد ( $P < 0/05$ ).

### بحث

طبق گزارشات موجود میزان ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم، بالاترین سطح مورد قبول برای TVB-N می‌باشد (گیمنز و همکاران، ۲۰۰۲؛ آراشیسارا و همکاران، ۲۰۰۴). افزایش TVB-N به فعالیت باکتری‌ها و آنزیم‌های موجود در گوشت ارتباط دارد (رضوی شیرازی، ۲۰۰۱). برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان میزان TVB-N گروه شاهد در روز ۱۲ نگهداری و برای ۰/۵ درصد روز ۱۶ به بعد به حد غیر قابل پذیرش رسیدند. وجود ترکیباتی مانند فنول و اثر آنتی‌اکسیدانی در دیواره و ماهیچه‌های خیار دریایی باعث افزایش ماندگاری ماهی و جلوگیری از فساد ماهی شد و گروه ۱ درصد و ۲ درصد هرگز به مقدار غیر مجاز نرسیدند. طی پژوهشی مملونا و همکاران (۲۰۰۷) نتایج مشابهی در این رابطه بدست آوردند. آنها روی گونه‌ای از خیار دریایی به نام *Cucumaria frondosa* پژوهش کردند و رابطه بین مقدار فنول و اثر آنتی‌اکسیدانی در قسمت‌های مختلف بدن خیار دریایی چون ماهیچه، دستگاه تنفسی، گنادها و دستگاه گوارش مشاهده گردید و نتایج نشان دادند در ماهیچه‌ها و گنادها مقدار فنول بیشتر و در نتیجه اثر آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های حاصل از این قسمت‌های بدن جانور بیشتر است. وجود یکسری ترکیبات مانند ساپونین‌ها در پیکره خیار دریایی می‌تواند عامل فعالیت ضد باکتریایی در عصاره‌های حاصل از خیار باشد.

در منابع مختلف مقدار مجاز TBA، ۱-۲ میلی‌گرم مالون آلدئید بر ۱۰۰ گرم گوشت ذکر شده است (لاکشانان، ۲۰۰۰). در این پژوهش عصاره خیار دریایی گروه شاهد، ۰/۵ درصد و ۱ درصد و ۲ درصد در روز ۱۶ نگهداری در یخچال به این مقدار رسیدند. در یک مطالعه آلتونیبات و همکاران (۲۰۰۹) بر روی سه گونه از خیار دریایی به نام‌های *Holothuria scabra*, *Holothuria leucospilota* و *Stichopus chloronotus* پژوهش کرده و اثر سیتوتوکسیکی و آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراج شده از این موجودات را اثبات کردند.

نتایج این پژوهش نشان داد که pH در برخی روزها افزایش و در برخی روزها کاهش یافت اما در طول دوره نگهداری میزان این شاخص در نمونه‌های تیمار شده با عصاره خیاردریایی کمتر از نمونه‌های شاهد بود. اعتمادی و همکاران، (۲۰۰۸). افزایش pH گوشت ماهی در برخی روزهای نگهداری ممکن است بخاطر تولید ترکیبات بازی مانند آمونیاک، تری متیل آمین‌ها و دیگر آمین‌های بی‌وزنی باشد که توسط باکتری‌هایی عامل فساد در ماهی تولید می‌شود (گرام و هوس، ۱۹۹۶). بنابراین کمتر بودن مقدار اسیدیته در نمونه‌های تیمار شده با عصاره خیار دریایی نسبت به شاهد در این پژوهش می‌تواند دلیلی بر خاصیت آنتی‌باکتریایی عصاره خیار دریایی باشد. فعالیت آنتی‌باکتریایی خیار بدلیل وجود یکسری ترکیبات بیولوژیک در بدن این موجود می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

براساس نتایج پژوهش حاضر عصاره خیار دریایی دارای خاصیت ضدباکتریایی و تا حدی آنتی‌اکسیدانی می‌باشد بنابراین می‌تواند برای نگهداری کوتاه مدت فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در یخچال استفاده شود. با توجه به یافته‌های این بررسی غلظت‌های ۱ و ۲ درصد نسبت به غلظت ۰/۵ درصد عصاره اثر بهتری بر فیله‌ها داشتند و از آنجا که بین نتایج مربوط به نمونه‌های تیمار شده با عصاره ۱ و ۲ درصد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت با رعایت شرایط اقتصادی عصاره ۱ درصد جهت نگهداری کوتاه مدت فیله‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان در یخچال پیشنهاد می‌شود.

### منابع

1. Ackman, R.G., and McLeod, C. 1988. Total lipids and nutritionally important fatty acids of some Nova Scotia fish and shell fish food products. Jour. Can. Sci. Technol. 21: 309-398.
2. Althunibat, O., Hashim, R.B., Taher, M., Daud, J., Iked, M.A., and Zali, B.I. 2009. In Vitro Antioxidant and Antiproliferative Activities of Three Malaysian Sea Cucumber Species. Eur. J. Sci. Res. 37: 376-387.
3. AOAC, 1990. Methods of Analysis (15<sup>th</sup> Ed). Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
4. Arashisara, S., Hisara, O., Kayab, M. and Yanik, T. 2004. Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. Food Microb. 97: 109-114.



5. Barat, J. M., Gallart-Jornet, L., Andres, A., Akse, L., Carlehog, M. and Skjerdal, O.T. 2006. Influence of cod freshness on the salting, drying and desalting stages. *J. Food eng.* 73: 9-19.
6. Castro, P. and Huber, M.E. 2000. *Marine biology* 3edition. McGraw-Hill Higher Education. 444p
7. Chen, J. 2003. Overview of sea cucumber farming and sea ranching practices in China. *SPC Bechedemer Information Bulletin.* 18: 1823.
8. Ding, X. Z., Witt, R., Tong, W. G., Li, X. Q., Betts, H., Collin, P. and Adrian, T. E. 2003. AntiPancreatic Cancer Effects of Myristoleic Acid. *Pancre.* 3: 209–69.
9. Etemadi, H., Rezaei, M. and Abediyan, A. 2008. Anti-bacterial and antioxidant potential of extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on the shelf-life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Food Sci.* 5: 67-77.
10. Farouk, A.E.A., Abd, F., Ghouse, H. and Ridzwan, B.H. 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted Antibacterial Activity. *Am J Biochem & Biotech.* 3: 605.
11. Gram, L. and Huss, H. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. *Int. J. Food Microbiol.* 33: 589-595.
12. Gimenez, B., Roncales, P. and Beltran, J.A. 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Sci Food Agri.* 84: 1154-1159.
13. Hawa, I., Zulaikah, M., Jamaludin, M., Zainal Abidin, A.A., Kaswandi, M.A. and Ridzwan, B.H. 1999. The potential of the coelomic fluid in sea cucumber as an antioxidant. *Mal J Nutr.* 5: 559.
14. Lakshmanan, P.T. 2000. Fish spoilage and quality assessment. In T. S. G. Iyer, M.K. Kandoran, Mary Thomas, & P.T. Mathew (Eds.), *Quality assurance in seafood processing* (pp. 26–40). Cochin: Society Fisher Technology (India).
15. Mamelona, J., Pelletier, E., Girard-Lalancette, K., Legault, J., Karboune, S. and Kermasha S. 2007. Quantification of phenolic contents and antioxidant capacity of Atlantic sea cucumber, *Cucumaria frondosa*. *Food Chem.* 104: 1040-1047.
16. Namulema, A., Muyonga, J. H. and Kaaya, A. N. 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at -13 and -27°C. *Jour. Food Res Int.* Pp: 151-156.
17. Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z. and Naghdibadi, H. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus Xavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control.* 18: 1518-1523.
18. Pezeshk, S., Rezaei, M. and Hosseini, H. 2011. Antibacterial and antioxidant shallot extract on shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in cold storage (1±4°C). *Food Science and Nutrition.* 6: 11-19.
19. Razavi Shirazi, H. 2001. *Sea Products Technology*, Vol. 2, Tehran: Naghshe Mehr. Pp: 173-215 (In persion)

20. Sugawara, T., Zaima, N., Yamamoto, A., Sakai, S., Noguchi, R. and Hirata, T. 2006. Isolation of sphingoid bases of sea cucumber cerebroside and their cytotoxicity against human colon cancer cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* 70: 2906-2912.
21. Vosoghi, Gh. H., and Mostajir, B. 1991. Fish of freshwater. University of Tehran press. 317p. (In Persian)