



پیش‌بینی ماندگاری میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*)

تحت تاثیر اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)،

دما و زمان نگهداری به روش تحلیل سطح پاسخ

فاطمه شمعی^۱ و لاله رومیانی^{۲*}

۱. دانشیار گروه مهندسی شیمی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۱۳

چکیده

در مطالعه حاضر تاثیر اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در غلظت‌های ۰، ۰/۵ و ۱ درصد و در دماهای ۴، ۳- و ۱۰- درجه سانتی‌گراد روی ماندگاری میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) طی ۱۵ روز نگهداری، با استفاده از تحلیل سطح پاسخ، مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه ترکیب اسانس با استفاده از دستگاه GC-MS، منتول را به عنوان فراوان‌ترین ترکیب موجود در اسانس نشان داد. در مورد شاخص‌های میزان کل باکتری‌های زنده (TVC)، میزان کل بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)، پراکسید (PV)، تیوباربیتوریک‌اسید (TBA) و اسیدهای چرب فرار (FFA) غلظت اسانس با سطح بالای F-Value در مقایسه با زمان و دما، به عنوان مهم‌ترین عامل موثر بر ماندگاری میگو بود ($p < 0.05$). میگوهای نگهداری شده در دمای ۱۰- درجه‌سنتی‌گراد در روزهای هفتم و پانزدهم نگهداری، به ترتیب در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد، در محدوده مجاز برای مصارف انسانی قرار داشتند. بر اساس نتایج میزان کل باکتری‌های زنده و سپس میزان کل بازهای نیتروژنی فرار مهم‌ترین فاکتورها در تعیین ماندگاری میگو بودند. ضریب تعیین یا همبستگی رگرسیونی (R^2 , R^2 -adj) نشان داد که مدل رگرسیونی به خوبی قادر به تشریح روابط بین متغیرهای زمان، دما و غلظت اسانس و متغیرهای وابسته مورد بررسی است و مدل‌های بدست آمده مقادیر نزدیک به واقعیت را پیش‌بینی کردند که می‌توان از آنها به عنوان روشی جهت کاهش هزینه آزمایش استفاده کرد.

واژگان کلیدی: مدل‌سازی، نعناع فلفلی، ماندگاری، روش سطح پاسخ، میگوی وانامی.



Prediction of *Litopenaeus vannamei* under the influence of Peppermint (*Mentha piperita*) essential oil, temperature and storage by response surface methodology

Fatemeh Shamaei¹ and Laleh Roomiani^{2*}

1. Associate professor, Department of Chemical Engineering, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

2. MSc. Student, Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

Received: 02-May-2021

Accepted: 18-Jul-2021

Abstract

In the present study, the effect of alcoholic essential oil of *Mentha piperita* at concentrations of 0, 0.5 and 1% and at 4, -3 and -10 °C on the shelf-life of *Litopenaeus vannamei* during 15 days of storage, using by response surface method was analyzes. Essential oil analysis using GC-MS showed the menthol as the most abundant compound in essential oil. About total viable count (TVC), the total volatile nitrogen bases (TVB-N), peroxide value (PV), thiobarbituric acid (TBA) and free fatty acid (FFA) concentration of essential oil, with high level of F-value compared to time and temperature, was the most important factor affecting the shelf life of shrimp ($P < 0.05$). Shrimp kept at -10°C on the 7 and 15th days of storage at 0.5 and 1% concentrations, respectively, were within the allowable range for human consumption. Based on the results, TVC and then TVB-N were the most important factors in determining the shelf life of shrimp. The regression coefficient (R^2 , R^2 -adj) showed that, the regression model was able to describe the relationships between the various variables of time, temperature and essential oil concentration and the dependent variables and the obtained models predicted near-realistic values that could be they used it as a way to reduce the cost of testing.

Keywords: Modelling, *Mentha piperita*, Shelf-life, Response surface method, *Litopenaeus vannamei*.

۱. مقدمه

میگو به دلیل داشتن اسید چرب با چند پیوند دوگانه و درصد بالای پروتئین جزو مواد غذایی با فساد سریع است و با نگهداری در شرایط نامناسب فعالیت‌های آنزیمی و میکروبی باعث بروز فساد و کاهش کیفیت بافت میگو می‌شوند و از مهمترین آنها فساد اتولیتیکی، فساد باکتریایی و فساد شیمیایی‌اند. لذا، کنترل کیفیت آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و قوانین و استانداردهای خاصی را می‌طلبد (Espe et al., 2004). به دلیل تقاضای مصرف‌کنندگان برای افزودنی‌های طبیعی و استفاده کمتر از افزودنی‌های شیمیایی، استفاده از عوامل ضد میکروبی طبیعی برای افزایش ماندگاری مواد غذایی رو به افزایش گذاشته است (Calo et al., 2015). اسانس‌های گیاهی، ترکیبات زیست‌فعال فرار هستند که دارای ترکیبات فنولیک‌اند (Burt, 2004). فعالیت ضد میکروبی این ترکیبات شناخته شده و این ترکیبات به عنوان حفاظت‌کننده‌های طبیعی برای افزایش ماندگاری مواد غذایی بکار می‌روند (Teixeira et al., 2013). اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) یک گیاه معطر از خانواده *Lamiaceae* است که ترکیبات منتولی آن دارای خواص ضدباکتریایی است. در مطالعات مختلف تاثیرات ضدباکتریایی، ضدویروسی و آنتی‌اکسیدانی این گیاه تأیید شده است (Das et al., 2020; Chagas et al., 2020).

مدل سازی ریاضی یکی از مهمترین ابزار برای تشریح ماندگاری مواد غذایی است (Mataragas et al., 2019; Koutsoumanis and Nychas, 2000). دما یکی از مهمترین شاخص‌های محیطی است که از نقطه نظر امنیت و ماندگاری مواد غذایی اهمیت زیادی دارد (Liu et al., 2016). شاخص‌های رشد باکتری نظیر حداکثر رشد ویژه و فازهای تاخیری به مقدار زیادی به دما وابسته هستند و افزایش دما سبب کاهش ماندگاری و کیفیت ماده غذایی می‌شود. تغییر دما، دینامیک رشد باکتری‌ها را در طول نگهداری مواد غذایی تغییر می‌دهد، از این رو می‌توان از مدل ریاضی برای برآورد این تغییرات مبتنی بر تاثیر و پیش‌بینی و ماندگاری مواد غذایی،

استفاده کرد (Longhi et al., 2013). استفاده از مدل‌های پیش‌بینی به دلیل توانایی پیش‌گویی رشد باکتری در شرایط ویژه و به دلیل آسانی شبیه‌سازی از طریق نرم‌افزارها رو به گسترش است (Mafart, 2005; Menezes et al., 2018).

Hong و همکاران (۲۰۱۷) مدل کیفی پیش‌بینی برای بررسی تازگی کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) در دماهای مختلف را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که مدل‌ها بر اساس امتیازات حسی، TVB-N، K-value و میکروبی به طور کارآمدی می‌توانند شاخص تازگی را در فیله کپور در محدوده ۳- تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد پیش‌بینی کنند. Menezes و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی مدل‌سازی ریاضی تاثیر اسانس نارنج روی افزایش ماندگاری و رشد باکتری‌ها در گوشت بسته‌بندی شده در شرایط خلاء را عنوان کردند و اضافه کردن اسانس نارنج، فاز تاخیری را افزایش داد، نرخ رشد را کاهش و ماندگاری گوشت را در ۵، ۶، ۱۲، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد افزایش داد. ماندگاری گوشت *chevon* با استفاده از عصاره برگ‌های *Origanum vulgare* از طریق روش آنالیز سطح پاسخ انجام شد. غلظت ۱ درصد عصاره توانست ماندگاری را افزایش دهد و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی عمل کند (Jagtap et al., 2020). استفاده از روش تحلیل سطح پاسخ برای بررسی تاثیر استفاده از میزان روغن در دماهای مختلف در پخت فیله کپور معمولی مطالعه شد و نتایج نشان داد که این روش برای تعیین دما، زمان و میزان روغن مورد استفاده موفقیت‌آمیز بود. لذا، در این پژوهش سعی شد تاثیر دماهای مختلف بر پتانسیل اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در افزایش ماندگاری میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) مورد بررسی قرار گیرد.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. تعیین ترکیب اسانس نعناع فلفلی

اسانس از سرشاخه‌های هوایی گیاه نعناع فلفلی (از شهرستان دزفول تهیه شد) و به روش تقطیر با بخار و با

Worsfold و Redmond (۲۰۱۵) و طبق مطالعات Griffith و Staskel (۱۹۹۷)، همکاران (۲۰۰۹) و Geppert و همکاران (۲۰۱۰) دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد به عنوان متوسط دمای سردخانه‌ها و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بر اساس مطالعه Geppert و همکاران (۲۰۱۰) به عنوان حداکثر دمای یخچال انتخاب شد. میگوها در تیمارهای مختلف در انکوباتورهای یخچال‌دار نگهداری شدند و بدین صورت دماها تنظیم شدند. نمونه‌ها در روزهای صفر، ۷ و ۱۵ مورد بررسی قرار گرفتند. تیماربندی آزمایش در جدول ۱ ذکر شده است.

۲.۳. میزان کل باکتری‌های زنده (TVC)

تعیین بار میکروبی بر طبق استاندارد شماره ۲۳۲۵ انجام شد (National Standard of Iran. Microbiology, 2001). به این منظور ۵ گرم نمونه میگو با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر به کیسه استریل استومی‌میکر منتقل و به صورت هموزن درآمدند. سپس نمونه تا رقت 10^5 میلی‌لیتر رقیق شد. ۱ میلی‌لیتر از هر رقت در پلت حاوی محیط کشت کانت آگار قرار داده شد. بعد از چند دقیقه همه پلت‌ها وارونه و در انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. شمارش باکتری‌ها در روزهای صفر، ۷ و ۱۵ انجام گردید.

۲.۴. اندازه‌گیری بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

اندازه‌گیری TVB-N به کمک دستگاه کج‌لدال (K1100 Hanon ساخت کشور چین) صورت گرفت. ۱۰ گرم نمونه به یک بالن ۵۰۰ میلی‌لیتری انتقال یافت. سپس ۲ گرم اکسیدمنیزیم به عنوان کاتالیزور به آن اضافه و در نهایت ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر برای تقطیر به آن اضافه شد. در مرحله بعد ۲۵ میلی‌لیتر اسید بوریک ۲ درصد نرمال به آن افزوده شد. بعد از نصب سیستم، دستگاه کلدال را روشن کرده و به مدت ۴۵ دقیقه حرارت داده شد تا زمانیکه محلول داخل ارلن مایر به رنگ زرد درآمد. سپس با اسید سولفوریک ۰/۰۱ نرمال تیتراژ شد تا به رنگ اولیه (ارغوانی) درآمد (AOAC, 2000).

= میزان مواد از ته فرار

$100 \times \frac{1}{4} \times \text{میزان تیتراژول نمونه شاهد} - \text{نمونه مصرفی (میلی‌لیتر)}$

استفاده از دستگاه کلونجر و در آزمایشگاه دانشگاه ساری به دست آمد. پس از آماده‌سازی اسانس، به دستگاه GC/MS تزریق گردید تا نوع ترکیبات تشکیل‌دهنده آن مشخص شود. دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید، که دمای اولیه آن ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۳ دقیقه توقف در این دما باشد (Nelson and Onyeagba, 2007). شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع، مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات به صورت کتابخانه دیجیتال دستگاه GC صورت گرفت.

۲.۲. آماده‌سازی میگوی وانامی و شرایط آزمایش

میگوهای تازه از بازار آبادان خریداری و بعد از پاک کردن، در جعبه‌های حاوی یخ بسته‌بندی و به آزمایشگاه منتقل شدند. جهت تهیه محلول حاوی اسانس در دمای اتاق، ۱ میلی‌لیتر اسانس به ۱ لیتر آب خنک تازه جوشیده افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه به وسیله هموزن‌نایزر اولتراتراکس IKAT25 یکنواخت شدند. ۲۰ گرم عضله میگو در محلول‌های حاوی ۰/۵ و ۱ (Roomiani et al., 2020; Roomiani et al., 2015) در صد اسانس و بدون اسانس (تیمار شاهد) به مدت ۴ تا ۵ دقیقه غوطه‌ور شدند. سپس به مدت ۳۰ ثانیه آویخته شد تا خشک شوند و پوشش مناسب روی آنها ایجاد شود. سپس در صفحات مشبک استریل تحت جریان هوا به مدت ۱ ساعت قرار گرفت تا خشک شوند و بعد در ظروف دردار و استریل قرار گرفتند. سه سطح دمایی برای انعکاس شرایط متفاوت نگهداری غذا در یخچال، فریزر خانگی و سردخانه انتخاب شد. دمای ۳- درجه سانتی‌گراد بر اساس مطالعات Worsfold و Griffith (۱۹۹۷) و

جدول ۱- تیمار بندی آزمایش

ردیف	روز	دما (درجه سانتی‌گراد)	اسانس (درصد)
۱	۰	-۱۰	۰
۲	۰	-۱۰	۱
۳	۰	-۳	۰/۵
۴	۰	۴	۰
۵	۰	۴	۱
۶	۷	-۱۰	۰/۵
۷	۷	-۳	۰
۸	۷	-۳	۰/۵
۹	۷	-۳	۱
۱۰	۷	۴	۰/۵
۱۱	۱۵	-۱۰	۰
۱۲	۱۵	-۱۰	۱
۱۳	۱۵	-۳	۰/۵
۱۴	۱۵	۴	۰
۱۵	۱۵	۴	۱

۲.۵. اندازه‌گیری تیوباریتوریک اسید (TBA)

اندازه‌گیری TBA به وسیله روش رنگ سنجی صورت گرفت. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری انتقال داده و با بوتانول-۱ به حجم رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک درب‌دار وارد و به آن ۵ میلی‌لیتر از معرف TBA افزوده شد (معرف TBA به وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی‌گرم از TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال بوتانول-۱ پس از فیلتر شدن به دست آمد). لوله‌های درب‌دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت و پس از آن در دمای محیط سرد شد. سپس توسط دستگاه اسپکتروفتومتری مقدار جذب (As) در ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد. مقدار TBA (میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم بافت ماهی) بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Pearson, 1997).

$$TBA = \frac{(As - Ab) * 50}{200}$$

۲.۶. اندازه‌گیری پراکسید (PV)

جهت روغن‌گیری، ۱۵ گرم میگو با ۶۰ سی‌سی متانول و ۶۰ سی‌سی کلروفرم در دکانتور مخلوط و پس از اضافه کردن ۳۶ سی‌سی آب مقطر، جداسازی روغن انجام شد. برای اندازه‌گیری پراکسید ۱۵ گرم نمونه میگو به همراه ۶۰ سی‌سی متانول و ۶۰ سی‌سی کلروفرم به دقت در ارلن‌مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری سر سمباده‌ای وزن و حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسیداستیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسیداستیک ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدورپتاسیم 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 تیترا شد. میزان پراکسید از رابطه زیر مورد محاسبه قرار گرفت (AOAC, 2000).

$$PV = \frac{100 \times \text{نرمالیتة} \times \text{حجم مصرفی}}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

فرآیند پیش‌بینی تاثیر اسانس نعناع فلفلی در دماها و زمان‌های مختلف بر ماندگاری میگوی وانامی از نرم‌افزار State-Ease Design Expert V7 و تکنیک طراحی مرکب مرکزی استفاده شد. مناسب بودن مدل با استفاده از آنالیز تجزیه و تحلیل واریانس برازش و کفایت مدل برازش شده توسط شاخص ضریب تبیین (R-Squared: R²) بررسی شد.

۳. نتایج

ترکیب شیمیایی اسانس نعناع فلفلی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی دارای طیف‌سنج جرمی در جدول ۲ مشخص شده است. منتول فراوان‌ترین ترکیب شیمیایی موجود در اسانس بود.

جدول ۲- ترکیبات شیمیایی اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)

ترکیبات	درصد	شاخص بازداری (دقیقه)
لیمونین	۱/۲۷	۱۶/۷۶
۱،۸-سینئول	۷/۱۸	۱۶/۹۵
منتون	۱۲/۴۴	۲۳/۵۳
ایزو- منتون	۲/۸۶	۲۳/۹۶
نتو - منتول	۳/۳۶	۲۴/۱۶
منتول	۴۹/۷۰	۲۴/۶۹
منتیل استات	۵/۷۵	۲۹/۷۲
E-کارپوفیلین	۲/۹۷	۳۵/۴۷
ژرمانسین D	۲/۰۷	۳۸/۰۹

با توجه به مدل پیشنهادی تجزیه واریانس (جدول ۴)، شاخص خطی دما، زمان و غلظت اسانس بر مقدار بار باکتریایی و بازهای نیتروژنی فرار میگوی وانامی موثر بودند ($p < 0/01$). همچنین اثر توانی دما و اثر متقابل دما- زمان و دما- غلظت بر تغییرات این دو فاکتور تاثیر معنی‌دار داشتند ($p < 0/01$). میزان F-Value (۱۸۵/۸۲) در بار باکتریایی و F-Value (۲۵۴/۵۶) در مقدار بازهای نیتروژن فرار، نشان‌دهنده اهمیت غلظت اسانس روی این دو شاخص در مقایسه با زمان و دما بود ($p < 0/01$). زمان کمترین اثر را بر این دو پارامتر نشان داد (شکل ۱).

۲.۷. اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد (FFA)

۲۵ سی‌سی از الکل اتیلیک خنثی شده به وسیله سود نرمال به نمونه روغن میگو (درج شده در روش اندازه‌گیری پراکسید) اضافه شد. در مرحله بعدی با کمک ۲ تا ۳ قطره معرف فنیل‌فتالین و میزان مصرفی سود نرمال مقدار اسیدیته برحسب درصد اسیداولئیک بر طبق رابطه زیر مشخص شد (Pearson, 1997).

$$FFA = \frac{\text{حجم سود} \times \frac{28}{2} \times \frac{N}{10}}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

۲.۸. تجزیه و تحلیل آماری

به منظور مدلسازی و بهینه‌سازی عوامل مؤثر در

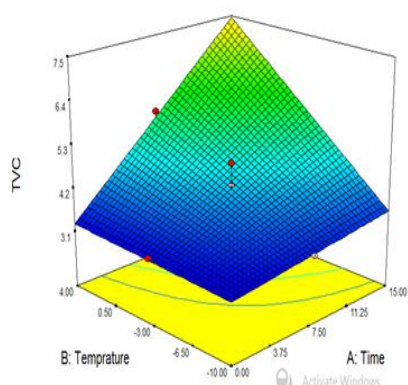
نتایج مربوط به شاخص‌های TBA، TVB-N، PV، FFA و بار میکروبی مورد بررسی در هر یک از تیمارهای تعریف شده در جدول ۳ نشان داده شده است. با توجه به شاخص‌های اندازه‌گیری شده در انتهای دوره نگهداری (روز پانزدهم)، میگوهای نگهداری شده در دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد و غلظت اسانس نعناع فلفلی ۱ درصد (تیمار ۱۲) و تیمار ۱۵ با دمای نگهداری ۴ درجه سانتی‌گراد، زمان نگهداری ۱۵ روز و غلظت اسانس ۰ درصد (تیمار ۱۴) به ترتیب بیشترین و کمترین ماندگاری را داشتند.

جدول ۳- نتایج میزان شاخص‌های مورد بررسی تحت تاثیر اسانس نعنای فلفلی بر ماندگاری میگوی وانامی

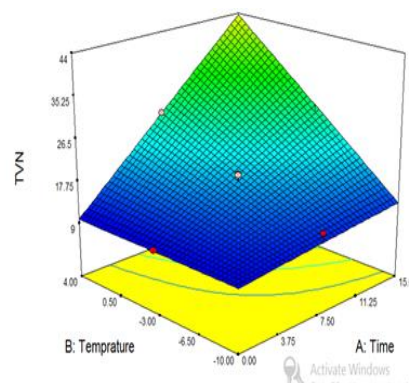
TVC (Log cfu/ g)	FFA (%)	PV (mEq/ kg)	TVB-N (mgN/100)	TBA (mg mlondialdehyde/kg sample)	تیمار
۱/۹۳	۰/۴۸	۰/۶۹	۷/۲۸	۰/۵۰	۱
۱/۱۰	۰/۵۲	۰/۵۱	۷/۵۰	۰/۴۳	۲
۱/۴۷	۰/۴۸	۰/۶۲	۷/۴۶	۰/۶۱	۳
۱/۹۲	۰/۶۲	۰/۸۳	۷/۱۱	۰/۷۲	۴
۱/۴۶	۰/۴۷	۰/۷۵	۸/۳۴	۰/۵۵	۵
۴/۴۰	۱/۰۱	۲/۱۱	۱۶/۱۰	۰/۹۹	۶
۵/۶۰	۱/۶۰	۳/۲۱	۲۴/۲۵	۱/۶۹	۷
۴/۹۸	۱/۲۸	۳/۰۲	۲۰/۹۸	۱/۴۹	۸
۳/۲۲	۱/۱۹	۲/۹۱	۱۹/۶۱	۱/۰۲	۹
۶/۵۵	۱/۴۶	۳/۸۷	۳۲/۰۱	۲/۰۴	۱۰
۶/۸۶	۲/۰۲	۳/۲۹	۲۴/۱۶	۲/۷۹	۱۱
۴/۶۰	۱/۸۸	۲/۳۱	۲۲/۱۸	۱/۸۰	۱۲
۶/۲۳	۱/۹۹	۳/۰۵	۳۸/۳۶	۲/۱۱	۱۳
۷/۴۵	۲/۲۰	۴/۸۲	۴۲/۱۴	۳/۳	۱۴
۷/۰۸	۲/۱۲	۴/۱۲	۴۰/۵۲	۳/۰۷	۱۵

جدول ۴- تجزیه واریانس فاکتورهای مؤثر بر ماندگاری میگوی وانامی تحت تاثیر اسانس نعنای فلفلی

Average of Squares مربعات میانگین										df	Source
p-value	TBA	p-value	PV	p-value	FFA	p-value	TVB-N	p-value	TVC		
<۰/۰۰۰۱	۱۲/۲۷	<۰/۰۰۰۱	۲۲/۹۱	<۰/۰۰۰۱	۵	<۰/۰۰۰۱	۲۱۴۰/۴۱	<۰/۰۰۰۱	۳۱/۳۸	۶	Model
<۰/۰۰۰۱	۶/۳۷	<۰/۰۰۰۱	۱۴/۴۰	<۰/۰۰۰۱	۲/۸۵	<۰/۰۰۰۱	۸۵۶/۹۲	<۰/۰۰۰۱	۱۳/۳۶	۱	A-Temperature
<۰/۰۰۰۱	۳/۵۹	۰/۰۰۰۱	۵/۱۰	<۰/۰۰۰۱	۱/۲۴	<۰/۰۰۰۱	۵۵۹/۳۵	<۰/۰۰۰۱	۹/۷۸	۱	B-Time
۰/۱۰۳۳	۰/۰۸۳	۰/۴۱۶۳	۰/۱۲	۰/۵۳۳۸	۰/۰۱۴	۰/۰۱۱۱	۱۲۳/۱۳	۰/۰۱۱۱	۰/۶۳	۱	C-Essential oil
<۰/۰۰۰۱	۲/۱۹	۰/۰۰۰۸	۳/۱۹	۰/۰۰۰۲	۰/۸۹	<۰/۰۰۰۱	۴۷۶/۶۳	<۰/۰۰۰۱	۶/۸۸	۱	AB
۰/۲۵۷۶	۰/۰۳۸	۰/۴۴۱۷	۰/۱۱	۰/۸۳۵۰	۰۰۰۳E۱/۵۱۲	۰/۰۱۵۲	۱۰۰/۳۲	۰/۰۱۵۲	۰/۵۶	۱	AC
۰/۷۲۰۳	۳/۶۱۳E-۰۰۳	۰/۹۸	۱/۱۲۵E-۰۰۳	۰/۹۲۴۵	۳/۱۲۵E-۰۰۳	۰/۱۶۳۶	۲۴/۰۵	۰/۱۶۳۶	۰/۱۶	۱	BC
	۰/۳۵		۲/۲۳		۰/۴۴		۴۳/۷۶		۰/۹۲	۱۳	Residual
۰/۴۱۰۴	۰/۲۴	۰/۴۹۹	۱/۴۰	۰/۷۷	۰/۲۱	۰/۵۱۵۶	۳۸/۶۲	۰/۵۱۵۶	۰/۵۸	۸	Lack of Fit
	۰/۱۲		۰/۸۳		۰/۲۳		۵/۱۴		۰/۳۶	۵	Pure Error
	۱۲/۶۳		۲۵/۱۵		۵/۴۳		۲۱۸۴/۱۷		۲۲/۳۱	۱۹	Cor Total
	۱۱/۹۹		۱۸/۳۰		۵۰/۵۹		۹/۵۰		۶/۱۱		C.V%
	۰/۹۷		۰/۹۱		۰/۹۱		۰/۹۸		۰/۹۷		R-Squared
	۰/۹۵		۰/۸۷		۰/۸۸		۰/۹۷		۰/۹۵		Adj R-Squared



$$Y_{TVC} = 0.39 + 25.12A + 1.17B + 28.12C + 0.17AB + 0.79AC$$

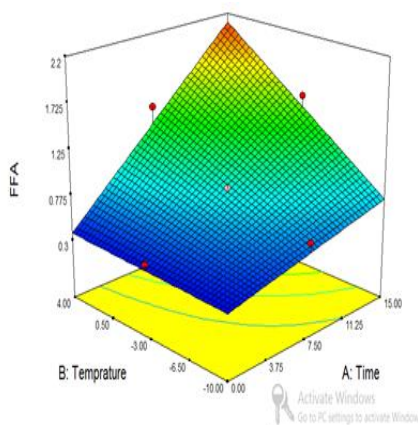


$$Y_{TVN} = 48.25 + 2.17A + 21.9B + 0.098C + 0.874AB - 0.157AC$$

شکل ۱ - نمودار معادله و اثر سه بعدی متغیرهای ورودی بر تغییرات مقدار بار باکتریایی و تغییرات بازهای نیتروژنی فرار در میگوی وانامی تحت تاثیر اسانس نعناع فلفلی

تاثیر مستقیمی نداشت ($p > 0.01$). در بررسی اثرات متقابل، زمان - سطح اسانس و دما - سطح اسانس در سطح اطمینان ۹۵ درصد بر تولید اسیدهای چرب آزاد معنی دار بود ($p < 0.01$) و افزایش دما و زمان سبب افزایش تولید اسیدهای چرب آزاد شد.

نتایج حاصل از آزمون تجزیه واریانس تولید اسیدهای چرب آزاد در شکل ۲ آورده شد. در این آزمون اثر خطی دما با F-Value بالا (۸۵/۱۱) در سطح اطمینان ۹۹ درصد بر تولید اسیدهای چرب آزاد موثر بود. شاخص خطی زمان با شیب انحنای کمتری نسبت به دما، تولید اسیدهای چرب آزاد را تحت تاثیر قرار داد ($p < 0.01$). سطح اسانس نعناع فلفلی روی میزان اسیدهای چرب آزاد



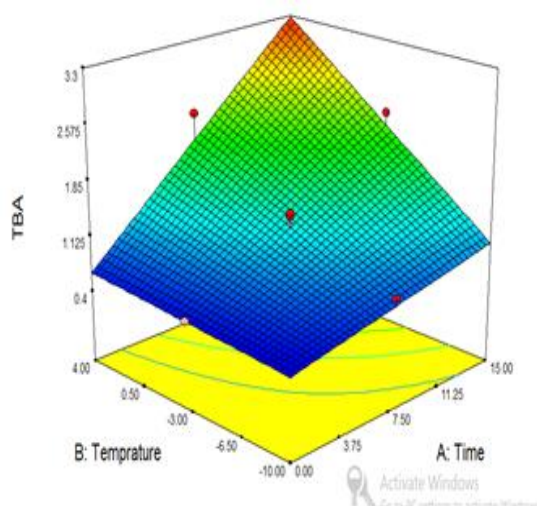
$$Y_{FFA} = 0.27 + 8.17A + 5.19B + 4.58C - 1.89AC - 0.85BC$$

شکل ۲ - نمودار معادله و اثر سه بعدی متغیرهای ورودی بر تغییرات اسیدهای چرب آزاد در میگوی وانامی تحت تاثیر اسانس نعناع فلفلی

عدم برازش غیرمعنی دار بود که نشان می‌دهد این مدل جهت پیش‌بینی در دامنه متغیر مورد استفاده مناسب است. در این آزمون شاخص خطی دما و زمان در سطح

طبق نتایج حاصل از آزمون تجزیه واریانس (جدول ۳)، تولید پراکسید در میگوی وانامی، تحت تاثیر تیمارهای حاوی اسانس نعناع فلفلی معنی دار بود ($p < 0.01$). آزمون

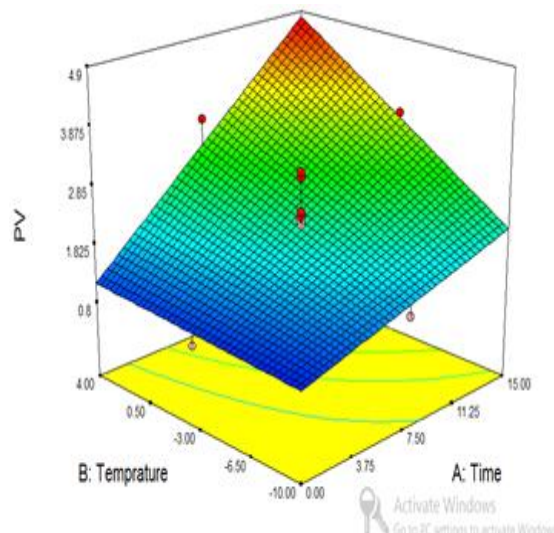
بیشتری نسبت به فاکتور زمان در تولید پراکسید موثر بود به طوری که در دمای پایین در مدت زمان کمتر میزان پراکسید میگوها، مقدار کمتری را نشان داد (شکل ۳).



$$YTBA=0.11+3.61A+0.72B+4.39C+2.37AB$$

شکل ۴- نمودار اثر متغیرهای ورودی بر تولید تیوباربیتوریک اسید در میگوی وانامی تحت تاثیر اسانس نعناع فلفلی

اطمینان ۹۹ درصد بر تولید پراکسید موثر بود ($p < 0.01$). غلظت اسانس با توجه به ($p = 0.163$) روی پراکسید در دماها و زمان‌های مورد بررسی تاثیر معنی‌داری داشت ($p < 0.01$). فاکتور دما با خط انحنای



$$YPV=0.91+10.5A+17.3B+54.17C+0.40AB$$

شکل ۳- نمودار اثر متغیرهای ورودی بر تولید پراکسید در میگوی وانامی تحت تاثیر اسانس نعناع فلفلی

واریانس مدل پیشنهادی مربوط به بار باکتریایی و بازهای نیتروژنی فرار نشان داد که در هر دو شاخص، سطح اسانس عامل موثرتری در مقادیر بدست آمده بود. با افزایش فعالیت باکتری‌های مولد فساد، ترکیباتی نظیر تری‌متیل‌آمین‌اکساید، پپتیدها و آمینواسیدها به بازهای نیتروژنی فرار تبدیل می‌شوند (Chakraborty and Chakraborty, 2017). براساس نتایج GC-MS اسانس نعناع فلفلی، منتول با ۴۹/۷۰ درصد فراوان‌ترین ترکیب موجود در این اسانس بود و این ترکیب در کنار سایر ترکیبات فنلی از طریق مهار باکتری‌های پروتئولیتیک عامل فساد، مانع از فعالیت این باکتری‌ها شد و از شکسته شدن پروتئین‌ها و در نتیجه آزاد شدن ترکیبات نیتروژنی جلوگیری می‌کند که این موضوع در مورد بار باکتریایی و میزان بازهای نیتروژنی آزاد در مطالعه حاضر قابل مشاهده است.

آزمون مدل آماری در ارتباط با تولید تیوباربیتوریک اسید معنی‌دار بود ($p < 0.01$)، و نشان داد که با احتمال ۹۹ درصد بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در این آزمون شاخص خطی دما و زمان در تولید تیوباربیتوریک اسید در میگوی وانامی و اثر سطح اسانس روی تولید تیوباربیتوریک اسید معنی‌دار بود ($p < 0.01$). مطابق با نمودار شکل (۴) خط انحنای فاکتور دما با شیب بیشتری از متغیر زمان در تولید تیوباربیتوریک اسید موثر بود.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

گوشت ماهی و میگو حاوی ترکیبات مناسبی برای رشد میکروب‌هایند و حضور باکتری‌ها یکی از دلایل کاهش کیفیت در طول دوره نگهداری است. نتایج تجزیه

(۱۲) و ۳- (تیمار ۱۳) درجه سانتی‌گراد در محدوده مجاز، ولی در میگوهای نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد از حد مجاز عبور کرد.

سطح استاندارد میزان کل بازهای نیتروژنی فرار به عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های تشخیص تازگی ماهی، $25 \text{ mg TVB-N}/100\text{g}$ تعیین شده است (Gimenez et al., 2002) که در تیمار ۱ (دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد، غلظت ۱ درصد اسانس در روز پانزدهم) به عنوان بهترین تیمار با مقدار $0/865 \text{ mg TVB-N}/100\text{g}$ در محدوده مجاز قرار داشت. Bao و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی مدل‌سازی فساد فیله (*Cyprinus carpio*) و Zhang و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی تغییرات فیله کپور علفخوار نگهداری شده در سردخانه نقش زمان و دما روی مقادیر بازهای نیتروژنی فرار را مورد تایید قرار دادند. Gimenez و همکاران (۲۰۰۲) علت اصلی افزایش میزان TVB-N در گوشت را تخریب پروتئین‌ها توسط باکتری‌ها و افزایش آن را هم‌سو با افزایش شمار باکتری‌ها بیان کردند. در مطالعه حاضر، میگوهای نگهداری شده در روز پانزدهم، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و سطح اسانس صفر درصد با $55/43 \text{ mgTVB-N}/100\text{g}$ بالاترین میزان TVB-N به دست آمد. Rezaie و همکاران (۲۰۱۱) حضور ترکیبات فنولی در اسانس نعنای را عامل کاهش فعالیت باکتری‌ها دانستند. با مشاهده نتایج مدل پیشنهادی برای بار باکتریایی $Y_{\text{TVB-N}}=0.39+25.12A+1.17B+28.12C+0.17AB+0.79AC$ و $Y_{\text{TVB-N}}=48.25+2.17A+21.9B+0.098 C+0.874AB-0.157AC$ و با توجه به آزمون عدم برازش، مدل بکار رفته به خوبی قادر به پیشگویی این دو شاخص است.

وجود اسید چرب آزاد به واسطه اکسایش و آبکافت آنزیمی چربی‌های استری بوده و یک ترکیب نامطلوب محسوب می‌شود (Ojagh et al., 2010)، زیرا حضور اسیدهای چرب ناشی از اکسیداسیون و هیدرولیز لیپیدها، باعث ایجاد بوی بد در محصول می‌شود (Khorramgah and Rezaei, 2012). در مطالعه حاضر در مورد شاخص پیشنهادی برای اسیدهای چرب آزاد مدل $Y_{\text{FFA}}=0.27+8.17A+5.19B +4.58C-1.89AC-0.85BC$ نشان داد که غلظت اسانس، دما و زمان عامل موثری روی

فعالیت ضد میکروبی اسانس نعنای فلفلی مربوط به حساسیت فسفولیپیدهای غشای سلول، سرکوب سیستم‌های آنزیم میکروبی، افزایش نفوذپذیری سلول یا نشئت بیش از حد مواد داخل سلولی است (Bao et al., 2013). Alboofetileh و همکاران (۲۰۱۴) افزایش سطح اسانس‌های گیاهی نظیر میخک، مرزنجوش، دارچین و زیره سیاه را عامل کاهش فعالیت باکتریایی معرفی کردند که با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. در بررسی اثر متقابل شاخص‌ها روی بار میکروبی و بازهای نیتروژنی فرار، اثر متقابل دما و زمان و اثر متقابل دما و غلظت اسانس عوامل موثر بودند. در مطالعه Yasemi و همکاران (۲۰۱۶) تغییرات بار میکروبی را تابعی از کاهش دما به زیر صفر، زمان و سطح اسانس سیر دانستند که با نتیجه مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. Bao و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی مدل‌سازی فساد فیله کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) افزایش زمان و دما و Alboofetileh و همکاران (۲۰۱۴) زمان و غلظت اسانس را عامل موثری روی افزایش بار باکتریایی پاتوژن‌های غذازاد ذکر و عنوان کردند و نشان دادند که کاهش دما و افزایش غلظت اسانس سرعت رشد باکتری را کاهش و زمان ماندگاری را طولانی می‌کند. Yasemi و همکاران (۲۰۱۶) کاهش بار میکروبی برگر ماهی در طی نگهداری در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد را گزارش کردند و عنوان کردند که نگهداری در فریزرهای زیر صفر با ایجاد شوک سرمایی باعث از بین رفتن تعداد زیادی از باکتری‌ها می‌شود که این موضوع کمتر بودن بار باکتریایی در ۱۰- درجه سانتی‌گراد در مطالعه حاضر را تایید می‌کند. در مطالعه حاضر، در روز پانزدهم، بالاترین بار میکروبی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و غلظت اسانس صفر درصد ($8/45 \text{ Log cfu/g}$) و کمترین رشد باکتری در این روز ($3/57 \text{ Log cfu/g}$) در دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد و سطح اسانس ۱ درصد بود. ICMSF (۱۹۸۶) محدوده 7 Log cfu/g را به عنوان محدوده قابل قبول استفاده از آبزیان برای مصرف انسان تعیین کرده است، که در انتهای دوره، میگوهای تیمار شده در دمای ۱۰- (تیمارهای ۱۱ و

و آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های سیر، آویشن و سبزیجات معطر در گوشت چرخ کرده، گزارش کردند که این روغن‌ها اثر قابل توجهی در کاهش بار میکروبی و شاخص‌های شیمیایی داشته و این فاکتورها با یکدیگر دارای همبستگی بودند و تمامی آن‌ها تحت اثر اسانس‌های مورد مطالعه میزان کمتری را نشان دادند، که با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. Raeisi و همکاران (۲۰۲۰) اسانس آویشن و عصاره دانه انار را عامل مهم روی کاهش میزان TBA در گوشت قزل‌آلای رنگین‌کمان ذکر کردند. تیوباربتور یک اسید یکی از شاخص‌های اندازه‌گیری اکسیداسیون چربی‌ها بر اساس محتوی مالون‌دی‌آلدئید است. مالون‌دی‌آلدئید توسط هیدروپراکسیدها تشکیل می‌شود که حاصل واکنش اولیه اسیدهای چرب با اکسیژن است. پپتیدهای حاوی آمینواسیدهای بازی می‌توانند پذیرنده الکترون از رادیکال‌های آزاد در هنگام اکسیداسیون اسیدهای چرب باشند (Rezaie et al., 2020). در این مطالعه، افزایش زمان و دما سبب کاهش مقادیر TBA شد و بالاترین سطح این پارامتر در غلظت اسانس صفر، روز پانزدهم و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و کمترین میزان این شاخص در روز صفر، دمای ۱۰- درجه سانتی‌گراد و سطح اسانس ۱ درصد ثبت گردید. Khodanazary و Pourashouri (۲۰۱۶) در بررسی تغییرات شیمیایی، میکروبی و حسی ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) افزایش میزان این شاخص را با افزایش مدت زمان نگهداری در یخ گزارش کردند. مقدار TBA بالاتر از ۳-۴ میلی‌گرم مالون‌آلدئید در کیلوگرم کیفیت پایین‌تری را نشان می‌دهد (Rezaie et al., 2020) که در هیچ یک از تیمارها TBA از محدوده مجاز عبور نکرد.

ضریب تبیین نشان می‌دهد که متغیرهای مستقل چقدر قدرت توضیح‌دهندگی سطح پاسخ (متغیر وابسته) را دارند. با توجه به نتایج جدول ۵، مدل‌های ارائه شده برای ۵ شاخص بار باکتریایی، بازهای نیتروژنی فرار، تیوباربتوریک اسید، پراکسید و اسیدهای چرب آزاد می‌توانند بخوبی پاسخ مورد نظر را پیش‌بینی نماید. مقایسه ضریب تعیین یا همبستگی رگرسیون در

این شاخص بودند که ادامه روند کاهش کیفیت در مطالعه حاضر نیز تأییدکننده یافته‌های بالاست. غلظت اسانس با توجه به $F\text{-Value}=5338.10$ بیشترین تاثیر را روی اسید چرب آزاد داشت. Taghizadeh Andvari و Rezaei (۲۰۱۲) افزایش میزان اسیدهای چرب آزاد تحت تاثیر زمان نگهداری را مورد تأیید قرار دادند، همچنین آن‌ها غلظت اسانس را عامل موثری روی کاهش میزان اسیدهای چرب عنوان کردند که با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. اکسیداسیون چربی یکی از مهم‌ترین دلایل فساد گوشت و کاهش کیفیت آن است که سبب کاهش ارزش غذایی و تولید ترکیبات سمی می‌شود (Zhang et al., 2011). در اثر اکسیداسیون چربی، هیدروپراکسیدها تولید می‌شوند که در اثر واکنش با دیگر مولکول‌ها، سبب از بین رفتن رنگ و ایجاد بوی نامطلوب می‌شوند (Sahoo et al., 2004). نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش دما تا ۴ درجه سانتی‌گراد و افزایش زمان تا روز پانزدهم و غلظت اسانس صفر درصد به شکل معنی‌داری میزان پراکسید را افزایش داد که با مدل $Y_{PV}=0.91+10.5A+17.3B+54.17C+0.40AB$ بدست آمده و تاثیر غلظت اسانس، زمان و دما را مورد تأیید قرار می‌دهد. Shokri و همکاران (۲۰۱۵) در مورد قزل‌آلای رنگین‌کمان (طی ۹۰ روز نگهداری در دمای فریزر) و Khorramgah و Rezaei (۲۰۱۲) در ماهی سفید (طی ۱۸۰ روز نگهداری در دمای فریزر) نیز تاثیر دما و دما روی پراکسید را تایید کردند. Boran و Karacam (۱۹۹۶) گزارش کردند میزان پراکسید در ماهی و یا میگوی بسیار تازه باید کمتر از ۲ میلی‌اکی‌والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم چربی باشد و نباید از ۵ میلی‌اکی‌والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم چربی تجاوز کند که این امر در تیمار یازدهم (۱۰- درجه سانتی‌گراد، سطح اسانس صفر درصد و روز پانزدهم) نیز مشاهده شد.

میزان شاخص TBA بالاترین تاثیرپذیری را از غلظت اسانس ($F\text{-Value}=986.13$) و سپس دما ($F\text{-Value}=113.13$) و زمان ($F\text{-Value}=98.13$) داشت. Amany و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی اثرات ضد میکروبی

باکتریایی، بازهای نیتروژنی فرار، پراکسید، تیوباریتوریک اسید و اسیدهای چرب فرار) را نشان دهد و پیش‌بینی کند که می‌توان با استفاده از مدل‌های بدست آمده مقادیری نزدیک به واقعیت را پیش‌بینی کرد.

نمونه‌های پیش‌بینی شده و نمونه‌های آزمایش شده مقادیر بالایی را نشان داد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مدل رگرسیونی توانسته رابطه بین متغیرهای مستقل (زمان، دما و غلظت اسانس) و متغیرهای وابسته (بار

جدول ۵- مدل‌های برازش شده برای شاخص‌های شیمیایی و میکروبی میگوی وانامی تحت تاثیر اسانس نعناع فلفلی

متغیر اندازه‌گیری شده	-adjR ²	R ²
میزان باکتری	۰/۹۷	۰/۹۵
بازهای نیتروژنی فرار	۰/۹۸	۰/۹۷
تیوباریتوریک اسید	۰/۹۷	۰/۹۵
پراکسید	۰/۹۱	۰/۸۷
اسیدهای چرب آزاد	۰/۹۱	۰/۸۸

نتیجه گیری نهایی

چرب آزاد، پراکسید، میزان کل بازهای نیتروژنی فرار و تیوباریتوریک اسید داشت. از نظر محدوده‌های مجاز تعیین شده، تیمار میگوی وانامی نگهداری شده در دمای ۱۰- درجه‌سانتی‌گراد در روزهای ۷ و ۱۵ نگهداری و به ترتیب در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد از نظر مصرف انسان در محدوده مجاز قرار داشتند.

در این مطالعه نقش و اهمیت دما، غلظت اسانس نعناع فلفلی و زمان روی ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی فیله میگوی وانامی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد غلظت اسانس به عنوان مهمترین شاخص و به دنبال آن دما، بیشترین تاثیر را بر شاخص‌های میکروبی، اسیدهای

۵. منابع

References

- Alboofetileh, M., Rezaei, M., Hosseini, H., Abdollahi, M., 2014. Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogens. *Food Contro* 3, 1-7.
- Amany, M.S., Reham, A., Gehan, S.A., 2010. Studies on antimicrobial and antioxidant efficiency of some essential oil on minced beef. *American Sciences* 6(12), 691-700.
- AOAC, 2002. Official Methods of Analysis of AOAC International (17thed.). MD, Gaithersburg, USA Association of Official Analytical Chemistry.
- Bao, Y., Zhou, Z., Lu, H., Luo, Y., Shen, H., 2013. Modelling quality changes in Songpu mirror carp (*Cyprinus carpio*) fillets stored at chilled temperatures: Comparison between Arrhenius model and log-logistic model. *Food Science and Technology* 48(2), 387-393.
- Burt, S., 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Food Microbiology* 94(3), 223-253.
- Can, O.P., Ersan, M., 2013. Use of response surface methodology (RSM) to investigate the effect of carp (*Cyprinus carpio*) fillets cooked at different temperature and oil amount. *African Journal of Microbiology Research*, 7, 449-459. DOI: 10.5897/AJMR12.1363

- Calo, J.R., Crandall, P.G., O'Bryan, C.A., Ricke, S.C., 2015. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. *Food Control* 54, 111–119.
- Chagas, E.S., Majolo, C., Monteiro, P.C., Oliveira, M., Gama, P., Bizzo, H.R., Chaves, F.C.M., 2020. Composition of essential oils of *Mentha* species and their antimicrobial activity against *Aeromonas* spp. *Essential oil Research* 5, 11-19.
- Chakraborty, T., Chakraborty, S.C., 2017. Effect of storage temperature on the quality and microbial content of salt-smoke-dried shoal (*Ophiocephalus striatus*). *Fisheries and Livestock Production* 5, 217- 230.
- Das, S., Das, A., Selvan, R.T., Raj, S.A., Bindhu, J., 2020. The antibacterial and aroma finishing of cotton fabrics by *Mentha pipertia* extract. *The Textile Institute* 6: 23-32.
- Espe, M., Ruohonen, K., Bjørnevik, M., Frøyland, L., Nortvedt, R., Kiessling, A., 2004. Interactions between ice storage time, collagen composition, gaping and textural properties in farmed salmon muscle harvested at different times of the year. *Aquaculture* 240, 489–504.
- Evans, E.W., Redmond, E.C., 2015. Analysis of older adults' domestic kitchen storage practices in the United Kingdom: Identification of risk factors associated with Listeriosis. *Food Protection* 78, 738–745.
- Geppert, J., Reger, O., Bichler, S., Stamminger, R., 2010. Cold storage private households: Recommendation of consumer real life behavior. Publication and presentation at the 4th international workshop cold chain management. University of Bonn, 118 p.
- Gimenez, B., Roncales, P., Beltran, J.A., 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Science Food and Agriculture* 84, 1154-1159.
- Hong, H., Regenstein, M., Yongkang, L., 2017. The importance of ATP-related compounds for the freshness and flavor of post-mortem fish and shellfish muscle: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57, 1787-1798
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for food), 1986. Microorganism in foods 2, sampling for microbiological Analysis. Principles and specific Application, 2th edn, Oxford: Blackwell Science. UK. pp, 28-30.
- Jagtap, N.S., Wagh, R.V., Chatli, M.K., Malav, O.P., Kumar, P., Mehta, N., 2020. Chevron meat storage stability infused with response surface methodology optimized *Organum vulgare* leaf extracts. *Agriculture Research*, doi.org/10.1007/s40003-020-00464-5.
- Karacam, H., Boran, M., 1996. Quality changes in frozen whole and gutted anchovies during storage at – 18 C. *Food Science and Technology* 31, 527-531.
- Khodanazary, A., Pourashouri, P., 2016. Complete chemical, microbial and sensory changes of *Otolithes ruber* and empty stomach during refrigeration. *Veterinary Researches and Biological Products* 117, 167-155. (In Persian).
- Khorramgah, M., Rezaei, M., 2012. Chemical and sensory changes of kutum (*Rutilus frisii kutum*) during frozen storage (-18 °C). *Food Science and Technology* 37(9), 101-107. (In Persian)
- Koutsoumanis, K., Nychas, G.J., 2000. Application of a systematic experimental procedure to develop a microbial model for rapid fish shelf life predictions. *Food Microbiology* 60(2–3), 171–184.
- Liu, X., Qin, N., Luo, Y., 2016. Application of a combination model based on an error-correcting technique to predict quality changes of vacuum-packed bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets. *LWT - Food Science and Technology* 74, 514-520
- Longhi, D.A., Dalcanton, F., Aragao, G., Carciofi, B., Lsurindo, J., 2013. Assessing the prediction ability of different mathematical models for the growth of *Lactobacillus plantarum* under non-isothermal conditions. *Theoretical Biology* 21, 88-96.
- Mafart, P., 2005. Food engineering and predictive microbiology: on the necessity to combine biological and physical kinetics. *Food Microbiology* 100, 239-251

- Mataragas, M., Drosinos, E.H., Vaidanis, A., Metaxopoulos, I., 2019. Development of a predictive model for spoilage of cooked cured meat products and its validation under constant and dynamic temperature storage conditions. *Food Science* 71(6), 157–167.
- Menezes, N., Martins, W.F., Longhi, D.A., Araagao, G., 2018. Modeling the effect of oregano essential oil on shelf-life extension of vacuum-packed cooked sliced ham. *Meat Science* 139, 113-119.
- National Standard of Iran, 2001. Microbiology. Ritual of application of general methods of microbiological experiments. Iran Institute of Standards and Industrial Research. (In Persian).
- Nelson, C.A., Onyeagba, R.A., 2007. Antimicrobial properties of extracts of *Allium cepa* (onions) and *zingiber officinale* (ginger) on escherichia coli, salmonella typhi and bacillus subtilis. *Tropical Medicine* 3(2), 1540-2681
- 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, 193–198.
- Pearson, D., 1997. Laboratory technic in food analysis, Butter Worth. London, UK, pp. 256-270.
- Raiesi, M., Tajik, H., Aliakbarlu, J., Mirhosseini, S.H., Hosseini, S.M.H., 2015. Effect of carboxy-methyl cellulose-based coatings incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract on the shelf life of rainbow trout fillets. *LWT-Food Science and Technology* 64(2), 898-904.
- Rezaie, E., Bayani, M., Arjomandzadegan, M., 2020. The inhibitory and antibacterial effects of peppermint essential oil on periodontal photogenes. *Arak University of Medical Sciences* 23(2), 172- 183.
- Roomiani, L., Khabazi, M., Ghaeni, M., 2015. The effect of nisin and peppermint essential oil on growth of *Streptococcus iniae* in rainbow trout fillet. *Fisheries* 4, 471-480. (In Persian)
- Roomiani, L., Bovard R., 202. Antimicrobial activity of agar-gelatin Nano-composite film in combination peppermint essential oil (*Mentha piperita*) and its effect on the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Fisheries Science* 4, 213-219. (In Persian)
- Sahoo, J., Kawasra, R.K., Hooda, S., 2004. Studies on a-tocopherol acetate as an antioxidant in chicken mince on its quality during refrigerated storage. *Food Science and Technology* 41 (3),140-243
- Shokri, F., Hedayatifard, M., Raftani-Amiri, Z., 2015. The effect of gutting on the sensory attributes microbial load, chemical characteristics and fatty acid profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during storage at -18°C. *Food Hygiene* 5(1), 33-51. (In Persian)
- Staskel, D., Sweitzer, S., Briley, M., Roberts-Gray, C., Almansour, F., 2009. Food safety temperatures and storage methods of preschool children's packed meals. *American Dietetic Association* 109(9), 231-257.
- Taghizadeh Andvari, Q., Rezaei, M., 2012. The effect of gelatin coating with cinnamon essential oil on the shelf life of rainbow trout fillet at refrigerator temperature. *Fisheries Science* 21(1), 24-13. (In Persian).
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N.R., Nogueira, J.M.F., Saraiva, J.A., Nunes, M.L., 2013. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Crop. Production* 43, 587–595.
- Worsfold, D., Griffith, C., 1997. Food safety behavior in the home. *British Food* 93, 97–104.
- Yasemi, M., Mohammadzadeh, B., Parsa, M., 2016. Evaluation of qualitative and biochemical parameters of fish burgers prepared from white-finned urchin (*Chirocentrus nudus* Swainson, 1839) during storage in freezing conditions (-18 °C). *Aquatic Animal Nutrition* 2, 1-11. (In Persian).
- Zhang, L., Li, X., Lu, W., Shen, H., Luo, Y., 2011. Quality predictive models of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) at different temperatures during storage. *Food Control* 22(8), 1197-1202.