



تأثیر پد جاذب حاوی اسانس دانه زنیان (*Carum copticum*) بر زمان ماندگاری فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در یخچال

ظاهره بختیاری^۱، ابراهیم علیزاده دوغیکلای^{۲*}، محسن شهریاری مقدم^۳، احسان احمدی فر^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۳. دانشیار گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۴. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۱۰

چکیده

هدف این مطالعه بررسی تأثیر پد جاذب حاوی اسانس دانه زنیان بر خصوصیات شیمیایی و میکروبی فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال می‌باشد. بدین منظور ۱۰ میلی لیتر اسانس ۱/۵ درصد دانه زنیان در تیمارهای مختلف به پد و فیله‌ها اضافه، سپس بسته‌بندی و در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. فراسنجه‌های شیمیایی (پراکسید (PV)، تیوباربتوریک اسید (TBA) و مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)) و میکروبی (شمارش باکتری‌های کل (TVC) و باکتری‌های سرماگرا (PTC)) در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که تیمار نمودن فیله‌ها با پد جاذب و اسانس دانه زنیان موجب کند شدن روند افزایش میزان PV، TBA و TVB-N هنگام نگهداری گردید. میزان بار باکتریایی کل (TVC) و سرماگرا (PTC) فیله‌ها هنگام نگهداری در یخچال به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$). اما این افزایش در فیله‌های تیمار شده نسبت به شاهد کمتر بوده و سبب افزایش زمان ماندگاری فیله‌های تیمار شده گردید. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پد جاذب حاوی اسانس دانه زنیان سه روز بر زمان ماندگاری فیله‌ها افزوده و می‌توان از آن به همراه یک نگهدارنده طبیعی در محصولات شیلاتی استفاده نمود.

واژگان کلیدی: پد جاذب، اسانس، دانه زنیان، قزل‌آلای رنگین‌کمان



Effect of absorbent pad containing *Carum copticum* seed essential oil on the shelflife of *Oncorhynchus mykiss* fillet during refrigerated storage

**Tahereh Bakhtiari¹, Ebrahim Alizadeh Doughikollae²,
Mohsen Shahriari Moghadam^{3*}, Ehsan Ahmadifar⁴**

1. MSc. in Fish product processing, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Iran
2. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Iran
3. Associate Professor, Department of Environmental Science, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Iran
4. Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Iran

Received: 30-Mar-2020

Accepted: 15-May-2020

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of absorbent pad containing *Carum copticum* seed essential oil on chemical and microbial properties of *Oncorhynchus mykiss* fillet during storage in refrigerator. 10 ml of *Carum copticum* seed essential oil 1.5 % were added to pad and fish fillets in different treatments, then packed and stored in a refrigerator (4°C). The chemical (Peroxide value (PV), thiobarbituric acid (TBA) and total volatile base nitrogen (TVB-N)) and microbial parameters (total viable count (TVC) and psychrotrophic count (PTC)) were measured on days 0, 3, 6, 9 and 12. The results showed that fillets treated with absorbent pad and *Carum copticum* seed essential oil caused slows the increase process of PV, TBA and TVB-N during storage. The TVC and PTC count of fillets significantly increased during refrigerated storage ($P < 0.05$). But, this increase was less in the treated fillets than the control and increased the shelf life of treated fillets. The results of this study, concluded that the absorbent pad containing *Carum copticum* seed essential oil increased the shelf life of fillet for 3 days and it can be used with a natural preservative in fisheries products.

Key words: Absorbent pad, Essential oil, *Carum copticum* seed, *Oncorhynchus mykiss*

۱. مقدمه

ماهی منبع غنی از پروتئین برای مصرف کنندگان بوده و دارای مقادیر بالای ویتامین‌های محلول در آب و چربی، مواد معدنی و اسیدهای چرب غیر اشباع است. ماهی در مقایسه با گوشت مرغ و گوشت قرمز فسادپذیر تر بوده و حاوی مقادیر بیشتری اسیدهای آمینه آزاد و بازهای نیتروژنی فرار است و در طول دوره نگهداری کیفیت آن به دلیل فرایندهای پیچیده فیزیکی، شیمیایی و میکروبی کاهش می‌یابد (Sallam et al., 2007).

اگر چه به صورت سنتی ماهی به صورت کامل به فروش می‌رسد، امروزه عرضه محصولات بسته‌بندی شده آبزیان رونق یافته است. از روش‌های معمول بسته‌بندی آبزیان استفاده از پوشش‌های پلاستیکی بر روی ظروف مخصوص است تا برای دوره ایی کوتاه تازگی محصول حفظ شود. طی زمان نگهداری وجود ترشحات و آبچلینگ جمع شده در بسته‌بندی، موجب کاهش کیفیت محصول می‌شود. برای حل این مشکل امروزه استفاده از پدهای جاذب در بسته‌بندی جایگاه ویژه‌ای یافته است. استفاده از پد جاذب موجب تازه ماندن محصول، محافظت از محصول در برابر ترشحات و در نتیجه موجب حفظ بازار پسندی محصول می‌شود (Fernández et al., 2010). علی‌رغم محاسن ذکر شده، از آنجایی که ترشحات جمع شده در پد جاذب محیطی مغذی می‌باشد، لذا شرایط لازم را برای افزایش رشد میکروارگانیسم‌ها در محیط بسته‌بندی فراهم کرده و موجب ایجاد بوی بد و فساد محصول می‌گردد. بنابراین کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها در پد جاذب از عوامل موثر در حفظ کیفیت و سلامت محصول می‌باشد (Ren et al., 2018). از مهمترین روش‌های پیشنهاد شده برای حل این معضل استفاده از بسته‌بندی‌هایی است که نه تنها به صورت غیر فعال بلکه به صورت فعال از محصول محافظت کنند، که در اصطلاح به آن بسته‌بندی فعال گفته می‌شود (Kerry et al., 2006). استفاده از بسته‌بندی فعال (که در آن از ترکیبات ضد میکروبی به منظور افزایش زمان ماندگاری محصولات استفاده می‌شود)

موجب افزایش زمان ماندگاری محصول و همچنین کاهش ریسک عوامل میکروبی می‌شود (Gouvêa et al., 2016; Hauser and Wunderlich, 2011).

اگر چه آنتی‌اکسیدانها و نگه دارنده‌های سنتزی قیمت کم و کارایی بالایی دارند، اما امروزه مردم در زمینه مصرف غذاهای دارای افزودنی‌های شیمیایی نگرانی‌هایی داشته، در نتیجه تحقیق برای یافتن ترکیبات جایگزین با عملکرد مشابه اهمیت دارد. اسانس‌ها از جمله نگه دارنده‌های طبیعی بوده و با توجه به داشتن خواص ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی توسط سازمان غذا و دارو به عنوان مواد ایمن شناخته شده و می‌توان از آنها به عنوان مواد افزودنی استفاده نمود (واحدی سرریگانی و همکاران، ۱۳۹۶). گیاه زنیان (*Carum copticum*) که به *Ajowan* معروف می‌باشد متعلق به خانواده *Apiacea* می‌باشد. میوه‌های این گیاه بالغ بر ۵ درصد اسانس را در خود جمع می‌کند و در صنایع غذایی اهمیت ویژه‌ای دارد. همچنین زنیان دارای خواص دارویی مختلفی از قبیل ضد التهابی، مسکن، ضد باکتریایی و کاهش دهنده فشار خون می‌باشد (Zarshenas et al., 2014). مطالعات محدودی در زمینه استفاده از اسانس گیاه زنیان برای افزایش زمان ماندگاری محصولات و فرآورده‌های آبزیان انجام شده است که از آنها می‌توان به مطالعه اثر اسانس دانه زنیان بر باکتری اشیشیالکی تلقیح شده در گوشت چرخ شده کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (فرامرزیپور دارزینی و همکاران، ۱۳۹۷) و بررسی تاثیر اسانس زنیان بر رشد و بیان ژنی انتروتوکسین‌های باکتری استافیلوکوکوس در سوریمی ماهی کیلکا (*Cupeonella cultriventris caspia*) (عزیزخانی و توریان، ۱۳۹۵) اشاره نمود.

به طور کلی مطالعات انجام شده بر روی پدهای جاذب حاوی ترکیبات ضد باکتریایی محدود بوده که از آنها می‌توان به استفاده از پد جاذب حاوی N-Halamine به عنوان ماده ضد باکتری برای افزایش زمان ماندگاری سینه مرغ (Ren et al., 2018)، کاهش میزان فساد گوشت گاو با استفاده از پد جاذب حاوی نانوذرات نقره

۳، ۶، ۹ و ۱۲ اندازه‌گیری شدند. تمامی آزمایش‌ها با سه تکرار انجام گرفت.

۲.۲. تهیه اسانس

دانه گیاه زنیان (*Carum copticum*) از بازار زابل تهیه و پودر شد. پس از توزین، با استفاده از دستگاه کلونجر (شرکت پیرکس، تهران) اسانس‌گیری به روش تقطیر آبی انجام شد. اسانس حاصل در ویال‌های شیشه‌ای تیره تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (فرامرزیپور داریزینی و همکاران ۱۳۹۷).

۲.۳. اندازه‌گیری پراکسید (PV)

چربی از ۵۰ گرم نمونه با مخلوط آب، متانول و کلروفرم (۲۵:۱۰۰:۱۰۰) استخراج شد. یک گرم از عصاره حاصل در ۲۵ میلی‌لیتر حلال (۲ قسمت کلروفرم: ۳ قسمت اسیداستیک) حل شد. سپس ۱ میلی‌لیتر یدورپتاسیم اشباع اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. پس از تثبیت ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر از محلول نشاسته (۱ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) به محلول اضافه شد و با تیوسولفات سدیم ۰/۱ مولار تا بی‌رنگ شدن تیتراژ شد. میزان پراکسید از رابطه زیر محاسبه گردید (Li et al., 2012).

$$PV = (S-B) \times F \times \text{mol equiv/L(N)} \times 1000/W$$

۲.۴. اندازه‌گیری تیوباربتوریک اسید (TBA)

مقدار TBA به روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد. ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه به ارلن ۲۵ میلی‌لیتری انتقال یافت و ۱ میلی‌لیتر ۱- بوتانول برای حل شدن نمونه اضافه و مخلوط به حجم رسانده و مخلوط شد. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط به لوله آزمایش منتقل شد و به آن معرف TBA (۲۰۰ میلی‌گرم از TBA-۲ در ۱۰۰ میلی‌لیتر ۱- بوتانول) تهیه و فیلتر شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد حداکثر تا ۷ روز نگهداری شد (اضافه شد و لوله‌های آزمایش به مدت ۱۲۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در یک

(Fernández et al., 2010) و استفاده از پد جاذب حاوی باکتریوفاج برای نگه داری غذا در محیط یخچال (Gouvea et al., 2016) اشاره نمود. همچنین از محدود مطالعات انجام شده بر روی محصولات شیلاتی می‌توان به استفاده از پد جاذب حاوی اسانس سیاه دانه و یا رزماری به منظور افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی ساردین (Kilinc and Altas, 2016) اشاره کرد.

لذا این تحقیق به منظور بررسی تاثیر پد حاوی اسانس دانه گیاه زنیان بر تغییرات شیمیایی و میکروبی فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال و مقایسه نتایج بدست آمده با روش اضافه کردن اسانس دانه زنیان به صورت مستقیم به فیله‌ها می‌پردازد.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. تهیه ماهی و تیمارها

۳۰ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) از یکی از مزارع پرورشی شهرستان زابل با وزن متوسط ۲۵۰ گرم در اسفند ماه ۱۳۹۷ خریداری گردید و با استفاده از یونولیت حاوی مقادیر کافی پودر یخ به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه زابل انتقال داده شد. ماهی‌ها پس از تخلیه امعاء و احشاء با آب شستشو و سپس فیله (۱۰۰ گرم) شدند. سپس فیله‌ها با پد (۱۰ × ۱۰ سانتی‌متر) و اسانس (اسپری کردن) بدین صورت تیمار گردیدند: تیمار شاهد) فیله ماهی + پد فاقد اسانس تیمار ۱) فیله ماهی + پد حاوی ۱۰ میلی‌لیتر اسانس ۱/۵ درصد دانه زنیان (Kilinc and Altas, 2016) تیمار ۲) فیله ماهی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر اسانس ۱/۵ درصد دانه زنیان در یک سمت فیله + پد فاقد اسانس تیمار ۳) فیله ماهی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر اسانس ۱/۵ درصد دانه زنیان در دو سمت فیله + پد فاقد اسانس. فیله‌ها پس از تیمار بسته‌بندی و در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. فراسنجه‌های شیمیایی و میکروبی در روزهای ۰،

سپس پلیت‌های کشت داده شده برای شمارش باکتری‌های کل (TVC) پس از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (Li *et al.*, 2012) و پلیت‌های مربوط به باکتری‌های سرماگرا (PTC) پس از ۷ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد شمارش شدند (Smaoui *et al.*, 2016).

۲.۷. تجزیه و تحلیل آماری

پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، برای بررسی تأثیر تیمارها و زمان نگهداری از طرح کاملاً تصادفی و تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. در صورت وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها از آزمون دانکن در سطح معنی‌دار پنج درصد استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گرفت.

۳. نتایج

۳.۱. فراسنجه‌های شیمیایی

در مطالعه حاضر مقادیر PV نمونه شاهد با سایر تیمارها در روز صفر تفاوت معنی‌داری ($P < 0/05$) مشاهده نگردید (جدول ۱). اما با گذشت زمان مقدار PV نمونه شاهد نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. نتایج نشان داد که مقدار PV همه تیمارها هنگام نگهداری به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/05$)، ولی این افزایش در تیمار ۳ نسبت به سایر تیمارها کمتر بود.

نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که با گذشت زمان میزان TBA در تیمارهای مختلف افزایش یافته است. بیشترین میزان TBA در تیمار شاهد و کمترین میزان آن در تیمار ۳ مشاهده گردید. در طی دوره آزمایش تقریباً تمامی تیمارها با همدیگر تفاوت معنی‌داری ($P < 0/05$) را نشان دادند. میزان TBA تیمارهای مختلف نشان داد که استفاده از اسانس دانه زنیان تأثیر معنی‌داری ($P < 0/05$) بر میزان آن طی نگهداری در یخچال داشته است.

حمام آب گرم قرار داده شدند و سپس لوله‌ها خنک شدند. مقدار جذب (As) در طول موج ۵۳۰ نانومتر در برابر آب خالص (Ab) خوانده شد. مقدار TBA (میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم گوشت ماهی) بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Li *et al.*, 2012).

$$TBA = 200 / (\text{جذب بلانک} - \text{جذب نمونه}) \times 50$$

۲.۵. اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

۱۰ گرم نمونه با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به وسیله دستگاه هموژنایزر به خوبی مخلوط شد. مخلوط به دست آمده به همراه ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به بالن ته‌گرد ۵۰۰ میلی‌لیتری اضافه گردید. سپس ۲ گرم اکسید منیزیم و یک قطره سیلیکون اضافه گردید. یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۵ میلی‌لیتر مخلوط محلول آبی اسیدبوریک ۰/۳٪، ۰/۰۴ میلی‌لیتر متیل رد و متیل بلو به عنوان اندیکاتور برای تیتراسیون آمونیاک استفاده شد. عمل تقطیر تا رسیدن به حجم نهایی ۱۲۵ میلی‌لیتر ادامه یافت. محلول اسیدبوریک به رنگ سبز تغییر پیدا کرد. سپس به وسیله محلول ۰/۱ نرمال اسید هیدروکلریک تیتراسیون انجام گرفت. پایان تیتراسیون زمانی بود که رنگ اسیدبوریک به صورتی تغییر کرد. میزان TVB-N (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی) بر اساس فرمول زیر اندازه‌گیری شد (Goulas and Kontominas, 2007).

$$TVB-N = (V \times C \times 14 \times 100) / 10$$

$$V = \text{مقدار مصرفی اسید کلریدریک}$$

$$C = \text{غلظت اسید هیدروکلریک}$$

۲.۶. فراسنجه‌های میکروبی

۱۰ گرم نمونه در شرایط استریل با ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به مدت ۶۰ ثانیه هموژن گردید. پس از تهیه رقت سریالی، نمونه‌های تهیه شده بر روی محیط کشت نوترینت آگار به طور سطحی پخش و کشت داده شدند.

جدول ۱- میزان PV (میلی‌اکی‌والان O₂ در کیلوگرم چربی) تیمارهای مختلف فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال

تیمارها				زمان (روز)
تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	شاهد	
۰/۶۶ ± ۰/۰۴ ^{Aa}	۰/۷۱ ± ۰/۰۶ ^{Aa}	۰/۶۹ ± ۰/۰۸ ^{Aa}	۰/۶۷ ± ۰/۰۳ ^{Aa}	۰
۱/۰۷ ± ۰/۰۷ ^{Ab}	۱/۳۳ ± ۰/۱۴ ^{ABb}	۱/۶۰ ± ۰/۲۰ ^{Bb}	۲/۴۸ ± ۰/۲۴ ^{Cb}	۳
۱/۴۰ ± ۰/۱۰ ^{Ab}	۲/۰۶ ± ۰/۱۹ ^{Bc}	۲/۵۵ ± ۰/۳۰ ^{Cc}	۳/۸۰ ± ۰/۱۳ ^{De}	۶
۲/۲۸ ± ۰/۴۵ ^{Ac}	۳/۳۸ ± ۰/۴۲ ^{Bd}	۴/۲۴ ± ۰/۴۵ ^{Cd}	۵/۲۸ ± ۰/۲۰ ^{Dd}	۹
۲/۷۰ ± ۰/۱۷ ^{Ad}	۳/۴۴ ± ۰/۴۰ ^{Ad}	۴/۴۰ ± ۰/۵۳ ^{Bd}	۵/۱۹ ± ۰/۴۸ ^{Ce}	۱۲

داده‌ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار سه تکرار می‌باشد.

حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) بین تیمارهای مختلف می‌باشد.

حروف کوچک متفاوت (a, b, c, d, e) در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) در زمان‌های مختلف می‌باشد.

شاهد) فیله + پد فاقد اسانس؛ تیمار (۱) فیله + پد حاوی اسانس؛ تیمار (۲) فیله حاوی اسانس در یک سمت + پد فاقد اسانس؛ تیمار (۳) فیله حاوی اسانس در دو سمت + پد فاقد اسانس

جدول ۲- میزان TBA (میلی گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم گوشت) تیمارهای مختلف فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال

تیمارها				زمان (روز)
تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	شاهد	
۰/۰۰۹ ± ۰/۰۱ ^{Aa}	۰/± ۰ ۱۰/۰۱ ^{Aa}	۰/۰ ± ۰۹/۰۱ ^{Aa}	۰/۰۰۹ ± ۰/۰۲ ^{Aa}	۰
۰/۰ ± ۱۴/۰۲ ^{Aa}	۰/۰ ± ۱۶/۰۱ ^{Aa}	۰/۰ ۲۴ ± ۰/۰۱ ^{Bb}	۰/۰ ± ۴۴/۰۵ ^{Cb}	۳
۰/± ۰ ۱۹/۰۱ ^{Aa}	۰/± ۰ ۴۷/۰۶ ^{Bb}	۰/± ۰ ۸۸/۰۸ ^{Cc}	۱/± ۰ ۰۳/۰۸ ^{De}	۶
۰/± ۰ ۳۹/۰۵ ^{Ab}	۰/± ۰ ۸۹/۰۹ ^{Bc}	۱/± ۰ ۱۹/۱۰ ^{Cd}	۱/± ۰ ۶۷/۱۴ ^{Dd}	۹
۰/۰ ۶۴ ± ۱/۲ ^{Ac}	۱/± ۰ ۲۶/۱۴ ^{Bd}	۱/± ۰ ۸۳/۰۸ ^{Ce}	۲/۰ ± ۲۹/۱۵ ^{De}	۱۲

داده‌ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار سه تکرار می‌باشد.

حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) بین تیمارهای مختلف می‌باشد.

حروف کوچک متفاوت (a, b, c, d, e) در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) در زمان‌های مختلف می‌باشد.

شاهد) فیله + پد فاقد اسانس؛ تیمار (۱) فیله + پد حاوی اسانس؛ تیمار (۲) فیله حاوی اسانس در یک سمت + پد فاقد اسانس؛ تیمار (۳) فیله حاوی اسانس در دو سمت + پد فاقد اسانس

۳.۲. فراسنجه‌های میکروبی

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تیمار نمودن فیله‌ها با اسانس دانه زنیان باعث کند شدن روند افزایش TVC نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری گردید ($P < 0.05$). ولی با افزایش زمان نگهداری بار باکتریایی کل به طور معنی‌داری در همه تیمارها افزایش یافت (شکل ۱).

مقدار TVB-N تیمارهایی که اسانس بطور مستقیم به فیله اضافه گردید کمتر از سایر تیمارها بود اما تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) بین آنها در روز صفر مشاهده نگردید. مقدار TVB-N تیمارهای مختلف با گذشت زمان افزایش یافت که این افزایش معنی دار ($P < 0.05$) بود. کمترین میزان این شاخص در پایان دوره آزمایش در تیمار ۳ و ۲ مشاهده گردید (جدول ۳).

جدول ۳- میزان TVB-N (میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت) تیمارهای مختلف فیله قزل آلابی رنگین کمان طی نگهداری در یخچال

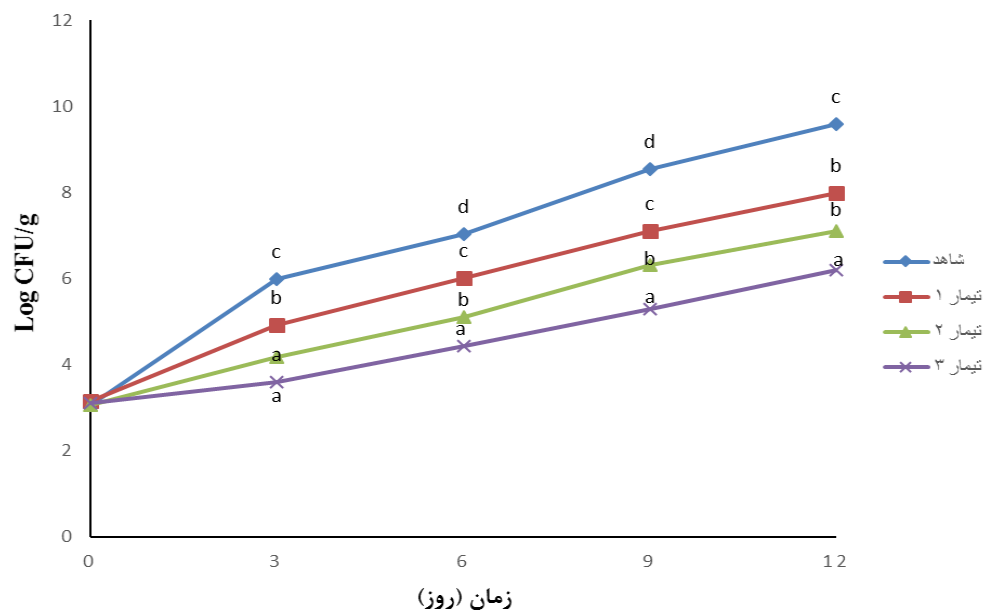
تیمارها				زمان (روز)
تیمار ۳	تیمار ۲	تیمار ۱	شاهد	
۹/۶۶ ± ۰/۶۲ ^{Aa}	۹/۰ ± ۵۵/۵۶ ^{Aa}	۱۰/± ۰ ۰۱/۳۳ ^{Aa}	۹/۶۸±۰/۲۹ ^{Aa}	۰
۱۱/۰ ± ۸۵/۳۳ ^{Ab}	۱۲/±۰ ۹۲/۳۵ ^{Bb}	۱۵/۰ ± ۱۹/۳۴ ^{Cb}	۷۴/±۰ ۱۶/۴۴ ^{Db}	۳
۱۳/±۱ ۲۴/۰۵ ^{Ab}	۱۶/±۱ ۰۱/۴۲ ^{Bc}	۱۸/۱ ± ۷۱/۸۰ ^{Bc}	۲۲/۱ ± ۴۱/۴۲ ^{Cc}	۶
۱۵/۱ ± ۲۵/۳۰ ^{Ac}	۲۰/±۱ ۰۶/۰۴ ^{Bd}	۲۳/۱ ± ۸۳/۹۹ ^{Cd}	۲۶/۲ ± ۷۶/۱۶ ^{Cd}	۹
۱۷/۱ ± ۶۲/۳۳ ^{Ad}	۲۲/۹۲ ± ۲/۴۲ ^{Be}	۲۷/۲ ± ۵۸/۰۶ ^{Ce}	۳۱/۲ ± ۲۰/۸۱ ^{Ce}	۱۲

داده‌ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار سه تکرار می‌باشد.

حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) بین تیمارهای مختلف می‌باشد.

حروف کوچک متفاوت (a, b, c, d, e) در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار ($P < 0.05$) در زمان‌های مختلف می‌باشد.

شاهد) فیله + پد فاقد اسانس؛ تیمار ۱) فیله + پد حاوی اسانس؛ تیمار ۲) فیله حاوی اسانس در یک سمت + پد فاقد اسانس؛ تیمار ۳) فیله حاوی اسانس در دو سمت + پد فاقد اسانس



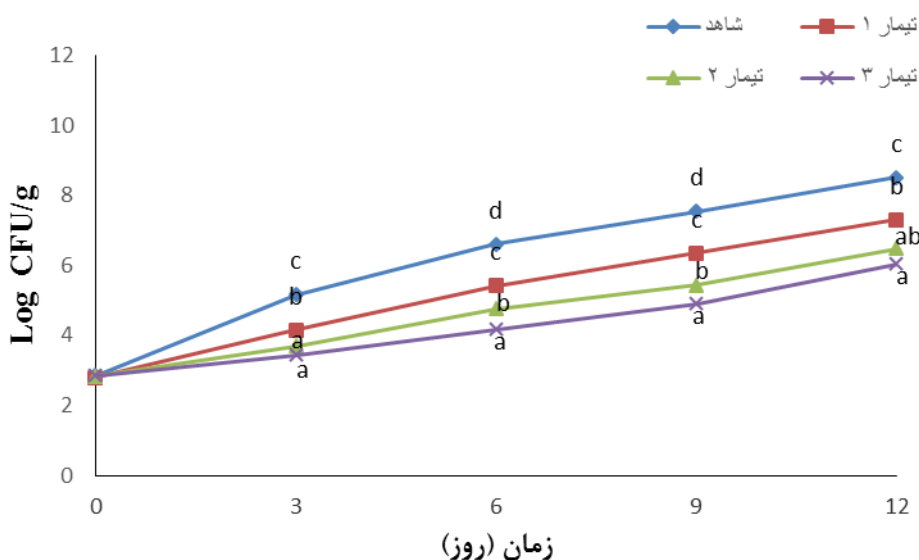
شکل ۱- میزان TVC (Log CFU/g) تیمارهای مختلف فیله قزل آلابی رنگین کمان طی نگهداری در یخچال

شاهد) فیله + پد فاقد اسانس؛ تیمار ۱) فیله + پد حاوی اسانس؛ تیمار ۲) فیله حاوی اسانس در یک سمت + پد فاقد اسانس؛

تیمار ۳) فیله حاوی اسانس در دو سمت + پد فاقد اسانس

مقدار PTC کمترین مقدار PTC مربوط به تیمار ۳ می‌باشد. مقدار PTC فیله‌ها هنگام نگهداری در همه تیمارها افزایش یافت.

مقدار PTC تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارهای حاوی اسانس در کل دوره نگهداری بیشتر بود. تفاوت معنی داری بین تمامی تیمارها مشاهده گردید



شکل ۲- میزان PTC (Log CFU/g) تیمارهای مختلف فیله قزل آلائی رنگین کمان طی نگهداری در یخچال

شاهد) فیله + پد فاقد اسانس؛ تیمار ۱) فیله + پد حاوی اسانس؛ تیمار ۲) فیله حاوی اسانس در یک سمت + پد فاقد اسانس؛ تیمار ۳) فیله حاوی اسانس در دو سمت + پد فاقد اسانس

این آنزیم‌ها موجب تجزیه اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌شوند (Shahbazi *et al.*, 2018). در مطالعه حاضر با استفاده از اسانس دانه زنیان به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان روند تجزیه اسیدهای چرب غیر اشباع نسبت به تیمارهای فاقد اسانس به میزان قابل ملاحظه‌ای کمتر بود، که نشان دهنده کارایی استفاده از پد حاوی اسانس و همچنین اضافه کردن مستقیم اسانس به فیله‌ها بوده است. کمتر بودن عدد پراکسید در تیمارهای حاوی اسانس می‌تواند به علت خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس و مهار رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش اکسیداسیون باشد (Gao *et al.*, 2014).

کمتر بودن میزان TBA در تیمارهای حاوی اسانس دانه زنیان می‌تواند به علت ترکیبات فنولی موجود در اسانس بوده که موجب کاهش اکسیداسیون چربی می‌شود (Burt, 2004). همچنین مطالعات Kostaki و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که تیمارهای حاوی اسانس آویشن شیرازی و ویتامین C دارای TBA کمتری به علت اثر آنتی‌اکسیدانی این افزودنی‌ها می‌باشد.

۴. بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات مختلف نشان داده است که برای ارزیابی میزان اکسیداسیون لیپیدها، تعیین عدد پراکسید اهمیت ویژه‌ای دارد. ترکیباتی که هنگام فساد در اثر اکسید شدن اسیدهای چرب موجود تولید می‌شوند، موجب ایجاد بو و طعم نامطلوب می‌شوند (Sallam *et al.*, 2007). همانطور که نتایج نشان می‌دهد میزان PV با گذشت زمان افزایش یافته است (جدول ۱). به طوری که در تیمار شاهد در روز ۹ از ۵ میلی‌اکی‌والان O₂ در کیلوگرم چربی فراتر رفته، که نشان‌دهنده شروع فساد است (Ozogul *et al.*, 2017). در حالی که در سایر تیمارها تا پایان دوره آزمایش میزان PV از حد مجاز فراتر نرفته است. همچنین نتایج نشان داد که در پایان دوره آزمایش تیمار ۲ و ۳ تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) را نشان ندادند. در حالی که نمونه شاهد و تیمار ۱ با یکدیگر و با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) داشتند. براساس مطالعات انجام شده افزایش رشد باکتری‌ها در محصول طی دوره نگهداری منجر به تولید آنزیم‌هایی از قبیل پروتئاز و لیپاز می‌شود، وجود

مستقیم به فیله اضافه گردید کمتر از این حد بودند. نتایج مطالعه حاضر در راستای دیگر مطالعاتی است که نشان داده اند استفاده از اسانس گیاهان می‌تواند منجر به کنترل افزایش میزان TVB-N محصولات شیلاتی گردد (فرامرزیور دازینی و همکاران ۱۳۹۷، واحدی سریگانی و همکاران ۱۳۹۶).

همانطور که نتایج نشان داد تعداد باکتریهای کل (TVC) در تیمارهای مختلف افزایش یافته است. این افزایش در تیمار شاهد و تیمار ۱ نسبت به دو تیمار دیگر بیشتر بوده است. بطوریکه تعداد آن در تیمار شاهد، تیمار ۱ و ۲ به ترتیب در روزهای ۶، ۹ و ۱۲ نگهداری بیشتر از حد مجاز (7 Log CFU/g) گردید. در حالیکه در تیمار ۳ تا پایان دوره در محدوده مجاز قرار داشت. کمتر بودن بار باکتریهای کل در تیمارهای حاوی اسانس را می‌توان به خاطر اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی اسانس دانه زنیان دانست. تحقیقات نشان می‌دهد که اسانس‌ها می‌توانند دیواره سلولی میکروارگانیسمها را تجزیه، لایه سلولی فسفولیپیدی غشاء سلولی را تخریب کرده و به پروتئین‌های غشاء آسیب وارد می‌کنند که منجر به افزایش نفوذپذیری غشاء سلولی و از بین رفتن اجزاء سلولی می‌شوند. به این ترتیب، مقادیر کم تر اسانس‌ها می‌تواند در ترکیب با روش‌های نگه‌داری متداول و به کار رود (پاسبانی و امیری، ۱۳۹۶). بر اساس نتایج بدست آمده توسط Kilinc و Altas (۲۰۱۶) استفاده از پدهای حاوی اسانس رزماری و دانه سیاه دانه (۱۰ میلی لیتر اسانس ۱/۵ درصد) اثر مثبتی بر افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی ساردین داشتند. همچنین این محققین نشان دادند زمانی که اسانس این گیاهان (۱۰ میلی لیتر اسانس ۱/۵ درصد) به صورت مستقیم بر روی فیله‌ها اسپری شده است اثرات ضد باکتریایی قوی تری را نشان داده اند، و موجب کاهش رشد باکتری‌های کل و باکتری‌های سرما گرا شده اند. در نتیجه این محققین نشان دادند استفاده از اسانس این گیاهان به صورت مستقیم و یا به صورت مستقیم و بر روی پد جاذب روش کارآمدی برای افزایش

افزایش مقدار TBA طی نگهداری در یخچال ممکن است ناشی از دهیدروژنه شدن بافت ماهی و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع باشد. میزان ۱ تا ۲ میلی گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم گوشت ماهی را به عنوان حد قابل قبول مقادیر تیوباربیتوریک اسید در ماهیان گزارش کردند (Ozogul *et al.*, 2017). این مقدار در تیمار شاهد در روز دوازدهم مشاهده گردید (جدول ۲). براساس مطالعات انجام شده توسط Kavooosi و همکاران (۲۰۱۳) اسانس زنیان توان بالایی در تخریب رادیکال‌های آزاد دارا است. همچنین اسانس دانه زنیان طیف وسیعی در کاهش رادیکال‌های پراکسید هیدروژن و DPPH موثر بوده است (Samojlik *et al.*, 2010). خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد رادیکالی اسانس زنیان وابسته به مونوترپن‌هایی از قبیل تیمول، گاما-ترپنین و بتا-پیرین است که در اسانس زنیان وجود دارد. همچنین تیمول موجود در اسانس دانه زنیان دارای خواص زیستی زیادی از قبیل فعالیت ضد رادیکال می‌باشد.

در پایان دوره آزمایش تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) بین تیمار شاهد و تیمار ۱ مشاهده نشد. در حالی که تیمار ۲ و ۳ با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) را نشان دادند (جدول ۳). همانطور که نتایج نشان می‌دهد علی‌رغم آنکه اضافه کردن اسانس به پد جاذب موجب افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌شود ولی اضافه کردن اسانس بطور مستقیم به فیله‌ها اثرات بهتری نشان داد. TVB-N به طور عمومی وابسته به فساد میکروبی می‌باشد. مقادیر بالای بار باکتریایی تیمارها سبب تولید بیشتر ترکیباتی نظیر تری‌متیل‌آمین اکسیدها، پپتیدها و آمینواسیدها شده که موجب افزایش میزان TVB-N می‌گردد. حداکثر میزان قابل قبول مجموع بازهای نیتروژنی فرار ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی اعلام شده است (Ojagh *et al.*, 2010). در تحقیق حاضر میزان TVB-N تیمار شاهد در روز ۹ و تیمار ۱ در روز ۱۲ از این حد فراتر بودند. اما سایر تیمارها که اسانس بطور

بین تیمارهای ۱ و ۲ مشاهده نشد. در حالی که تیمار ۳ با تیمار ۲ و ۱ تفاوت معنی‌داری ($P < 0/05$) را نشان داد. باکتری‌های سرماگرا از عوامل اصلی فساد ماهی تازه هنگام نگهداری در یخچال هستند. این باکتری‌ها با تولید کتون‌ها و آلدئیدها موجب ایجاد تغییرات در مزه، بافت و بوی محصول شده و در نتیجه کیفیت آن را کاهش می‌دهند (Gram and Huss, 1996). مطالعات انجام شده بیانگر خواص ضد میکروبی اسانس دانه زنیان می‌باشند. خواص ضد باکتری اسانس دانه زنیان را می‌توان به میزان بالای منوترپن‌های اکسیژنه به ویژه تیمول و ترکیباتی مانند پی-سیمن و گاما ترپینن دانست. مولکول‌های آبدوست از قبیل گاما- ترپینن و پی- سیمن با بخش لیپیدی غشای پلاسمایی هم‌کنش داده و منجر به نشت مواد خارج سلولی و همچنین به همراه دیگر مونوترپن‌های اکسیژنه، پی- سیمن تسهیل کننده انتقال مواد فنولی است (Snoussi *et al.*, 2018).

نتیجه گیری کلی این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از اسانس دانه زنیان می‌تواند روش مفیدی برای افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلا طی نگهداری در یخچال باشد. بر اساس نتایج بدست آمده اضافه کردن اسانس به هر دو سمت فیله، اضافه کردن اسانس به یک سمت فیله و اضافه کردن اسانس به پد جاذب به ترتیب بیش‌ترین اثرات را نشان دادند. علی‌رغم آنکه اضافه کردن اسانس به صورت غیر مستقیم به فیله (استفاده از پد جاذب حاوی اسانس) در مقایسه با روش مستقیم اضافه کردن اسانس اثرات کمتری را نشان داد، اما پد جاذب حاوی اسانس دانه زنیان سبب افزایش زمان ماندگاری فیله به مدت سه روز در مقایسه با تیمار شاهد گردید، لذا استفاده از این روش برای افزایش زمان نگهداری فیله ماهی توصیه می‌گردد.

زمان ماندگاری فیله‌ها است. در مطالعه حاضر بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نیز اضافه کردن اسانس به صورت مستقیم بر روی فیله‌ها نسبت به اضافه کردن اسانس به صورت غیر مستقیم (پد حاوی اسانس دانه زنیان) اثرات ضد باکتریایی قوی‌تری نشان داد، که تایید کننده نتایج دیگر محققین است. هم‌راستا با نتایج مثبت بدست آمده در تحقیق حاضر که در آن از پد حاوی ماده ضد باکتریایی (اسانس دانه زنیان) استفاده شده است، مطالعات انجام شده توسط دیگر محققین نیز نشان دهنده اثرات مثبت پد جاذب در کاهش بار باکتریایی می‌باشد. Fernández و همکاران (۲۰۱۰) از پدهای جاذب‌های حاوی نانوذرات نیترات نقره برای کاهش بار میکروبی در بسته‌بندی‌های گوشت گاو استفاده کردند. بر اساس نتایج این محققین تعداد کل باکتری‌های هوازی، باکتری‌های اسید لاکتیک، جنس سودوموناس و جنس انتروباکتریاسه در حضور نانوذرات نیترات نقره کاهش یافت. همچنین Ren و همکاران (۲۰۱۸) از پد جاذب به همراه نوعی از ترکیبات N-halamine برای افزایش زمان ماندگاری سینه مرغ استفاده کردند. نتایج این محققین نیز نشان داد که تعداد باکتری‌های کل و باکتری‌های سرماگرا نسبت به تیمار شاهد به صورت معنی‌داری ($P < 0/05$) کاهش یافت.

همانطور که نتایج نشان می‌دهد تعداد PTC در تیمارهای مختلف با گذشت زمان افزایش یافت، به طوری که بیشترین تعداد در تیمار شاهد و کمترین تعداد در تیمار ۳ مشاهده گردید (شکل ۲). تعداد باکتری‌های سرماگرا در نمونه شاهد و تیمار ۱ به ترتیب در روزهای ۹ و ۱۲ بیشتر از حد مجاز (7 Log CFU/g) گردید. در حالی که در سایر تیمارها تا پایان دوره نگهداری در حد مجاز بود. همچنین در پایان دوره نگهداری تفاوت معنی‌داری

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه زابل (Grant code: UOZ-GR-9517-26) و همکاری کارشناسان محترم گروه شیلات و محیط زیست برای انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌گردد.

۵. منابع

References

- Azizkhani, M., Tooryan, F., 2016. Effects of *Carum Copticum* essential oil on growth and gene expression of enterotoxins A and C in *Staphylococcus aureus* in Kilka fish (*Clupeonella cultriventris caspia*) surimi. *Fisheries Science and Technology* 5(1), 141-152. [In Persian].
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology* 94(3), 223-253.
- Faramarzpour Darzini, S., Alizadeh Doughikollaee, E., Shahriari Moghadam, M., Yousef Elahi, M., 2018. Effect of *Carum copticum* seed essential oil on the *Escherichia coli* inoculated in minced *Cyprinus carpio*. *Journal of Aquaculture Sciences* 6(1), 92-104. [In Persian].
- Fernández, A., Picouet, P., Lloret, E., 2010. Reduction of the spoilage related microflora in absorbent pads by silver nanotechnology during modified atmosphere packaging of beef meat. *Journal of Food Protection* 73(12), 2263-2269.
- Gao, M., Feng, L., Jiang, T., Zhu, J., Fu, L., Yuan, D., Li, J., 2014. The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano (*Trachinotus ovatus*) fillet during chilled storage. *Food Control* 37, 1-8.
- Goulas, A.E., Kontominas, M.G., 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry* 100(1), 287-296.
- Gouvêa, D.M., Mendonça, R.C.S., Lopez, M.E.S., Batalha, L.S., 2016. Absorbent food pads containing bacteriophages for potential antimicrobial use in refrigerated food products. *LWT - Food Science and Technology* 67, 159-166.
- Gram, L., Huss, H.H., 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology* 33(1), 121-137.
- Hauser, C., Wunderlich, J., 2011. Antimicrobial packaging films with a sorbic acid based coating. *Procedia Food Science*, 1, 197-202.
- Kavoosi, G., Tafsiry, A., Ebdam, A.A., Rowshan, V., 2013. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of essential oils from *Carum copticum* seed and *Ferula assafoetida* latex. *Journal of Food Science* 78(2) T356-T361.
- Kerry, J.P., O'grady, M.N., Hogan, S.A., 2006. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Science*, 74(1), 113-130.
- Kilinc, B., Altas, S., 2016. Effect of absorbent pads containing black seed or rosemary oils on the shelf life of sardine [*Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792)] filets. *Journal of Applied Ichthyology* 32(3), 552-558.
- Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G., 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) filets. *Food Microbiology* 26(5), 475-482.
- Li, T., Hu, W., Li, J., Zhang, X., Zhu, J., Li, X., 2012. Coating effects of tea polyphenol and rosemary extract combined with chitosan on the storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Food Control* 25(1), 101-106.
- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., Hosseini, S.M.H., 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120(1), 193-198.
- Ozogul, Y., Yuvka, İ., Ucar, Y., Durmus, M., Kösker, A.R., Öz, M., Ozogul, F., 2017. Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) filets during ice storage. *LWT - Food Science and Technology* 75, 677-684.
- Pasbani, E., Amiri, S., 2017. Evaluating the Effect of Aleo Vera gel coating and solid lipid Nano-particles containing Thymol seed (*Carum copticum*) Essential oil on shelf life of fresh beef. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology* 12(2), 75-86. [In Persian].
- Ren, T., Hayden, M., Qiao, M., Huang, T.S., Ren, X., Weese, J., 2018. Absorbent Pads Containing N-Halamine Compound for Potential Antimicrobial Use for Chicken Breast and Ground Chicken. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66(8), 1941-1948.

- Sallam, Kh.I., Ahmed, A.M., Elgazzar, M.M., Eldaly, E.A., 2007. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4° C. *Food Chemistry* 102(4), 1061-1070.
- Samojlik, I., Lakić, N., Mimica-Dukić, N., Daković-Svajcer, K., Bozin, B., 2010. Antioxidant and hepatoprotective potential of essential oils of coriander (*Coriandrum sativum* L.) and caraway (*Carum carvi* L.)(Apiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(15), 8848-8853.
- Shahbazi, Y., Karami, N., Shavisi, N., 2018. Effect of *Mentha spicata* essential oil on chemical, microbial, and sensory properties of minced camel meat during refrigerated storage. *Journal of Food Safety* 38 (1), e12375.
- Smaoui, S., Hsouna, A.B., Lahmar, A., Ennouri, K., Mtibaa-Chakchouk, A., Sellem, I., Najah, S., Bouaziz, M., Mellouli, L., 2016. Bio-preservative effect of the essential oil of the endemic *Mentha piperita* used alone and in combination with BacTN635 in stored minced beef meat. *Meat Science* 117, 196-204.
- Snoussi, M., Noumi, E., Punchappady-Devasya, R., Trabelsi, N., Kanekar, S., Nazzaro, F., Fratianni, F., Flamini, G., De Feo, V., Al-Sieni, A. 2018. Antioxidant properties and anti-quorum sensing potential of *Carum copticum* essential oil and phenolics against *Chromobacterium violaceum*. *Journal of Food Science and Technology* 55(8), 2824-2832.
- Vahedi Sarrigani, M., Alizadeh Doughikollae, E., Shahriari Moghadam, M., Yousef Elahi, M., 2018. Effect of *Rosmarinus officinalis* essential oil on the quality of *Hypophthalmichthys molitrix* surimi inoculated with *Escherichia coli* during refrigerated storage. *Journal of Aquaculture Sciences*, 5(2) 50-63. [In Persian].
- Zarshenas, M.M., Samani, S.M., Petramfar, P., Moein, M., 2014. Analysis of the essential oil components from different *Carum copticum* L. samples from Iran. *Pharmacognosy Research* 6(1), 62-66.