اثر پوشش ترکیبی کربوکسی متیل سلولز - صمغ دانه شاهی بهمراه اسانس علف چشمه (*Nasturtium officinale*) بر ماندگاری فیله کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) در شرایط نگهداری سرد

سید زمان شاه حسینی [۱]، سیدروح ا...جوادیان [۲*]، سید رسول شاه حسینی [۳]

[۱] دانشجوی دکتری، گروه شیلات، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

[۲] گروه شیلات، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

[۳] گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران

[*] مسئول مکاتبه:ro.javadian@gmail.com

چکیده

گوشت ماهی مستعد فساد شیمیایی و آلودگی میکروبی می‌باشد. لذا استفاده از نگهدارنده با خصوصیات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی ضروری به نظر می‌رسد. در این پژوهش تاثیر پوشش ترکیبی کربوکسی متیل سلولز - صمغ دانه شاهی حاوی اسانس گیاه علف چشمه بر کیفیت و ماندگاری فیله کپور سرگنده نگهداری شده در یخچال طی مدت زمان ۱۶ روز مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا اسانس علف چشمه به روش کلونجر استخراج شد. مقادیر ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس تعیین شد. مقادیر ترکیبات فنلی برابر با ۹/۸۵±۳۸۸/۵۷ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک بود. بالاترین میزان فعالیت رادیکال آزاد ABTS در غلظت ppm ۱۰۰۰ مشاهده شد(۸۳/۴۷درصد). همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس علف چشمه اختلافی با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA (غلظت ppm۱۰۰) نداشت (P>۰/۰۵).بنابراین اسانس علف چشمه در دو غلظت ppm ۵۰۰ و ۱۰۰۰ به پوشش ترکیبی اضافه شد. ۴ تیمار فیله کپور سرگنده شامل شاهد، پوشش کربوکسی متیل سلولز - صمغ دانه شاهی ، پوشش+ اسانس با غلظت ppm ۵۰۰، پوشش+ اسانس با غلظت ppm ۱۰۰۰، تولید و به صورت دوره‌ای مورد ارزیابی شیمیایی و میکروبی قرار گرفتند،که شامل بررسی مقادیر عدد پراکسید (PV)، مقادیر تیوباربیوتیک اسید (TBA)، pH ، مقادیر کلی باکتری و باکتری سرمادوست بود. نتایج مطالعه حاضر که مربوط به ماندگاری فیله کپور سرگنده می‌باشد، نشان داد تیمارهای حاوی اسانس گیاه علف چشمه، فساد اکسیداسیونی و میکروبی را در فیله ماهی به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش می‌دهد و نتایج مشاهده شده در تیمار ترکیبی کربوکسی متیل سلولز - صمغ دانه شاهی + اسانس ppm ۱۰۰۰ نسبت به سایر تیمارها بهتر بوده است و تا پایان دوره نگهداری از محدوده مجاز شیمیایی و میکروبی برخوردار بود. بنابراین به نظر می‌رسد پوشش مرکب کربوکسی متیل سلولز - صمغ دانه شاهی و اسانس علف چشمه در غلظت ppm ۱۰۰۰ می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در فرآورده‌های دریایی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: فیله، کپور سرگنده ، پوشش مرکب ، کربوکسی متیل سلولز - صمغ دانه شاهی ، اسانس علف چشمه

۱- مقدمه

ماهی نقش بسیار مهمی را در رژیم غذایی بسیاری از جوامع درکشورهای توسعه یافته و درحال توسعه تشکیل می‌دهد. گوشت آبزیان به دلیل داشتن پروتئین‌های با قابلیت هضم بالا و ترکیب مناسب از اسیدآمینه‌های ضروری مثل لیزین و متیونین برای تغذیه انسان بسیار مفیدند (۶). گوشت ماهی به دلیل ترکیب بیولوژیکی آن بسیار فسادپذیراست. فسادعضله ماهی ناشی از تغییرات ایجاد شده طی واکنش‌های شیمیایی ازقبیل اکسیداسیون چربی، واکنش‌های ناشی از آنزیم‌های طبیعی ماهی (اتولیز) و فعالیت متابولیکی میکروارگانسیم‌ها است. اتولیز ماهی منجر به تشکیل پپتیدها و اسیدهای آمینه آزاد می‌شود که به عنوان اجزای مناسب برای رشد میکروب‌ها و تولید آمین‌های بیوژن عمل می‌کنند و ایمنی گوشت ماهی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱۹). بنابراین استفاده از موادی مناسب با فعالیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی به منظور بهبود کیفیت، افزایش عمرماندگاری ماهی و درعین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی ضروری و مفید می‌باشد. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و نگهدارنده‌های میکروبی یکی از مهم‌ترین روش‌های جلوگیری از فساد اکسیداتیو و باکتریایی ماهی و محصولات دریایی می‌باشد. در این ارتباط آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات نگهدارنده سنتزی سال‌هاست که برای کنترل فساد مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. امروزه مصرف‌کنندگان خواهان مصرف فرآورده‌هایی با منشاء طبیعی و با حداقل فرآوری هستند، یک رویکرد ایمن و قابل قبول برای افزایش ایمنی و ماندگاری مواد غذایی، استفاده از اسانس‌های گیاهی می‌باشد(۲۸). علف چشمه با نام علمی *Nasturtium officinale* می‌باشد. ترکیب اصلی اسانس این گیاه شامل فنل‌هایی مثل تیمول و کارواکرول می‌باشد. اسانس‌ها حاوی ترکیبات موثری هستند که نحوه عملکرد آنها در سلول باکتری اختصاصی است. اثر بازدارندگی اسانس‌ها در شرایط آزمایشگاهی در برابر باکتری‌های عامل فساد گوشت و ماهی و نیز افزایش زمان ماندگاری ماهی مطالعه شده است (۲۹). با وجود پتانسیل بالای اسانس‌های گیاهی، استفاده آنها در حفظ کیفیت مواد غذایی عمدتا به دلیل عطر و مشکلات شدید سمی آنها محدود می‌باشد. برای به حداقل رساندن دوزهای مورد نیاز، یکی از گزینه‌های جالب استفاده از روکش و فیلم‌های خوراکی به عنوان حامل این ترکیبات طبیعی می‌باشد. پوشش‌های خوراکی اخیراً به دلیل نتایج امیدوارکننده، مورد توجه بیشتری در زمینه حفظ مواد غذایی قرار گرفته‌اند (۳۰). کربوکسی متیل سلولز(CMC)مشتق شده از سلولز است و در آب گرم و سرد محلول است و پراکندگی شفاف و بی رنگ، با طعم خنثی، ویسکوزیته محلول کم تا زیاد و قابلیت تشکیل فیلم خوب دارد. به دلیل خواص مفید آن از جمله کاهش جذب روغن، به طور گسترده‌ای در فرمولاسیون مواد غذایی استفاده می‌شود (۱۸، ۳۰). هر چند پوشش‌های خالص کربوکسی متیل سلولز به تنهایی خواص مکانیکی، بازدارندگی نسبت به رطوبت، و ویژگی‌های ظاهری مناسبی نشان نمی‌دهد. همچنین قیمت بالای کربوکسی متیل سلولز در مقایسه با سایر پلیمرهای زیستی، باعث یافتن راه حل مناسب برای این پوشش‌ها شده است. اختلاط کربوکسی متیل سلولز با سایر پلیمرها یا صمغ‌ها می‌تواند روش مناسبی به منظور بهبود ویژگی‌های آن به شمار رود (۲۹). به همین ترتیب در این پژوهش کربوکسی متیل سلولز با صمغ دانه شاهی ترکیب می‌شود. شاهی از خانواده کروسیفرا با نام علمی *Lepidiurn sativum*، گیاهی کوچک، علفی، بدون کرک و یک ساله با ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر است. قسمت‌های مختلف این گیاه، مانند دانه‌ها و برگ‌ها حاوی مواد شیمیایی مختلف (فلاونوئیدها، گلیکوزیدها، آلکالوئیدها و پلی‌کتیدها) و ویتامین‌ها، مواد معدنی، پروتئین‌ها، چربی‌ها و کربوهیدرات‌ها می‌باشد. صمغ دانه‌شاهی یک هیدروکلوئید جدید، استخراج شده از دانه‌های گیاه شاهی است که در سال‌های اخیر به خاطر رفتار

خاص رئولوژیکی و راحتی استخراج، محققان سعی در به کار بردن آن به عنوان عامل تغلیظ کننده و ژل کننده در صنعت غذا داشته‌اند (۷).

با توجه به مطالب بیان شده، هدف از این پژوهش بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی پوشش ترکیبی کربوکسی متیل سلولز - صمغ دانه شاهی و اسانس علف چشمه جهت افزایش عمر نگهداری فیله کپور سرگنده طی دوره نگهداری است.

۲-مواد و روش ها

۲-۱-مواد اولیه

علف چشمه از ییلاقات شهرستان آمل ازتوابع استان مازندران تهیه، بعد از تأیید نام علمی از سوی گروه کشت و توسعه انستیتو گیاهان دارویی(گروه زارعت آقای دکتر محمودی)قسمت‌های زائد آن جدا و بلافاصله پس ازشستشوخشک شد.سپس در آون تحت خلأ با درجه حرارت ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه خشک و توسط خردکن کاملا پودر و تا زمان انجام آزمایش در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. ماهی کپور سرگنده مورد نیاز از مرکز فروش شهرستان محمودآباد خریداری شد در ظروف عایق درمجاورت یخ نگهداری و درکیسه‌های پلی اتیلنی برای فیله‌گیری به آزمایشگاه انتقال داده شد. فیله‌ها به طور کامل با آب سرد تمیز شسته تا کاملا تمیز و خونآبه‌ها و سایر ضایعات از آن ها جدا شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده با درجه خلوص تجزیه‌ای از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

۲-۲- تهیه اسانس و اندازه‌گیری ترکیبات فنولی

۱۰۰ گرم از پودر گیاه علف چشمه با یک لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۳/۵ ساعت بوسیله دستگاه کلونجر، اسانس‌گیری انجام شد و اسانس حاصل با استفاده از سولفات سدیم آب‌گیری و تا زمان انجام آزمایش در ظروف تیره رنگ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. محتوی فنول کل با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. به ۰/۵ میلی لیتر از هر اسانس، ۲/۵ میلی لیترمعرف فولین-سیوکالتیو ۰/۲ نرمال اضافه شد، پس از ۵ دقیقه، ۲ میلی لیتر از محلول ۷۵ گرم بر لیتر کربنات سدیم به آن اضافه و جذب مخلوط ۲ ساعت بعد در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر در مقابل بلانک قرائت شد. میزان فنول کل بر اساس میزان میلی گرم اسید گالیک درگرم اسانس گزارش گردید (۲۱).

۲-۳-اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش ABTS

۶۵ میکرو مولار نمونه محلول با ۶۵ میکرو مولار بافر فسفات ترکیب شد ۶۶/۶۷ میکرو مولار از این مخلوط با ۹۱۰ میکرو مولار محلول ABTS ترکیب و ۶۶/۶۷ میکرو مولار بافر فسفات به عنوان شاهد با ۹۱۰ میکرو مولار محلول ABTS ترکیب شد و پس از ۱۰ دقیقه در دمای محیط در تاریکی قرار گرفت و جذب در ۷۳۴ نانومتر قرائت شد (۲۷).

تعیین فعالیت پاک کنندگی رادیکال آزادABTS با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

۱۰۰×[(میزان جذب کنترل / میزان جذب نمونه)- ۱] =درصدپاک کنندگی رادیکال آزادABTS

۲-٤-تهیه پوشش

برای تهیه محلول ۲درصد وزنی- حجمی پوشش کربوکسی متیل سلولز ابتدا ۲۰ گرم پودر کربوکسی متیل سلولز به یک لیتر آب مقطر اضافه گردید و عمل هم زدن با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه انجام شد و در ادامه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه‌سانتی‌گرادحرارت‌دهی شد. محلول صمغ دانه شاهی در سطح ۱/۵ وزنی- وزنی از طریق انحلال صمغ در آب مقطر و هم زدن شدید با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه با همزن مغناطیسی به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط تهیه گردید. در مرحله بعد ۲۰۰ میلی‌لیترازمحلول کربوکسی متیل سلولز به آرامی به محلول صمغ اضافه شده و به مدت ۴ ساعت عمل هم‌زدن ادامه یافت. پس از گذشت این مدت ابتدا میزان ۰/۲درصد حجمی- حجمی نسبت به میزان اسانس، توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر با اسانس گیاهی علف چشمه دو سطح ۵۰۰ppm و ۱۰۰۰ به صورت حجمی- حجمی محلول کربوکسی متیل سلولز به صورت مکانیکی مخلوط گشته و بعد از یکنواخت شدن به محلول‌های پوشش ترکیبی اضافه گردید و به مدت دو دقیقه عمل همزدن به کمک دستگاه هموژنایزر و با دور ۹۰۰۰ دور در دقیقه صورت گرفت تا اسانس‌ها به طور یکنواخت در ماتریس پوشش پخش شدند (۲۲).

۲-۵-آماده سازی نمونه‌ها

فیله‌های ماهی (۸۰-۱۰۰ گرم) به مدت ۱ دقیقه در پوشش ترکیبی (کربوکسی متیل سلولز - صمغ دانه شاهی (۱/۵ درصد)) و همچنین پوشش ترکیبی (کربوکسی متیل سلولز - صمغ دانه شاهی (۱/۵ درصد) غنی شده با اسانس علف چشمه در غلظت ۵۰۰ppm و پوشش ترکیبی (کربوکسی متیل سلولز - صمغ دانه شاهی (۱/۵ درصد)) غنی شده با اسانس علف چشمه در غلظت۱۰۰۰ppm غوطه‌ور شدند، سپس آنها را از محلول خارج نموده و به مدت ۳۰ ثانیه اجازه داده شد تا آب چک انجام شود و بعد از آن به مدت ۳۰ ثانیه در محلول ۲ درصد کلرید کلسیم غوطه‌ور شدند تا پیوند متقاطع در پوشش القا شد. بعد از ایجاد پوشش، نمونه‌ها در یخچال نگهداری (۱±۴ $^{\circ}$C) و نمونه‌برداری به صورت کاملا تصادفی (۳ نمونه از هر بخش) طی فواصل زمانی ۴ روز یکبار (صفر، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶) از آنها صورت گرفته و جهت آزمون‌های شیمیایی، میکروبی نمونه‌برداری گردید.

در مجموع این مطالعه شامل ۴ تیمار بود:

۱: تیمار شاهد

۲: تیمار پوششی (کربوکسی متیل سلولز - صمغ دانه شاهی)

۳: پوشش+ اسانس علف چشمه ۵۰۰ppm

۴: پوشش+ اسانس علف چشمه ۱۰۰۰ppm

۲-٦-آزمایشات

۲-٦-۱-عدد پراکسید

آزمون پراکسید میزان محصولات اولیه اکسیداسیون (هیدروپراکسیدها) را اندازه‌گیری می‌کند. روند تغییرات عدد پراکسید نمونه‌ها مطابق روش AOAC (۲) تعیین شد.

۲-٦-۲-عددتیوباربیتوریک اسید

آزمون تیوباربیتوریک اسید محصولات ثانویه اکسیداسیون (مالون دی آلدهید) را اندازه‌گیری می‌کند. این آزمون بر اساس روش AOAC (۲) انجام شد.

۲-٦-۳-اندازه‌گیری pH

۵ گرم از هر نمونه به ۴۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه در یک مخلوط‌کن قرار داده شد سپس pH نمونه‌ها با pH متر دیجیتالی که با استانداردهایی در pH ۴ و ۷ کالیبره (تنظیم) گردیده بود، اندازه‌گیری شد (۳۰).

۲-٦-٤-اندازه‌گیری شاخص‌های میکروبی

برای شمارش باکتریایی نمونه‌ها،۱۰گرم از نمونه فیله ماهی در شرایط استریل با۹۰میلی‌لیتر محلول کلریدسدیم۰/۸۵مخلوط و هموژن شد و متعاقب آن رقت‌های متوالی($۱۰^{-۲}$ تا $۱۰^{-۱۰}$) تهیه گردید.یک میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت[1]مورداستفاده قرارگرفت. شمارش تعداد باکتری‌های کل و باکتری‌های سرمادوست در محیط پلیت کانت آگار[2]به ترتیب در دماهای۳۷درجه‌سانتی‌گراد به مدت۲روز و۷درجه‌سانتی‌گراد به مدت۱۰روز با شمارش کلنی‌های موجود بر روی پلیت انجام گرفت. تمامی شمارش‌ها به صورت log CFU/g گزارش گردید (۱۴).

۲-۷-تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها در طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد و نتیجه به صورت میانگین با انحراف معیار گزارش گردید. آنالیز آماری تیمارها توسط جدول آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده ازنرم افزار (SPSS version 18)صورت گرفت. برای بیان تفاوت معنی داری میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ استفاده شد و نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel ترسیم شد.همچنین متغییر زمان هم در ارتباط با هر تیمار به طور جداگانه در سطح اعتماد ۰/۰۵ مورد بررسی قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مقادیر ترکیبات فنلی

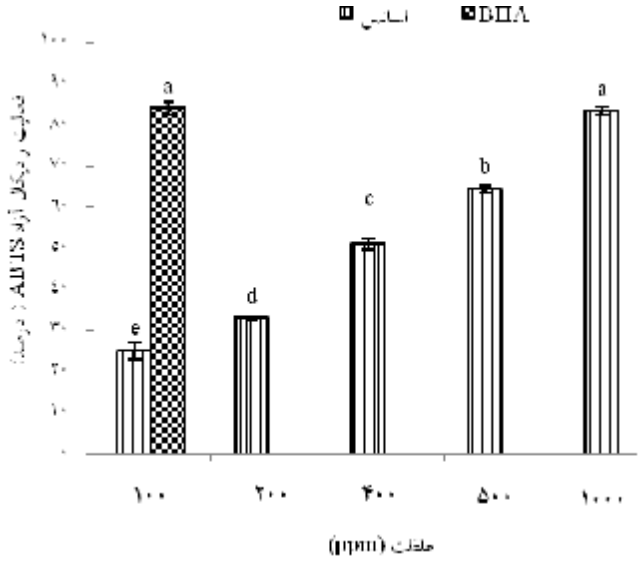
میزان ترکیبات فنلی اسانس علف چشمه در مطالعه حاضر برابر با ۹/۸۵±۳۸۸/۵۷ میلی‌گرم/گرم گالیک اسید بوده است. Khodjaو همکاران (۱۶) مقادیر ترکیبات فنلی عصاره علف چشمه استخراجی با حلال‌های مختلف را ما بین ۳۸۰ تا ۵۱۰ میلی‌گرم/گرم گالیک اسید گزارش نمودند. Kıvrakو همکاران (۱۷) مقادیر ترکیبات فنلی اسانس علف چشمه استخراجی با حلال‌های مختلف را مابین ۱۱۰ تا ۵۴۰ میلی‌گرم/گرم گالیک اسید اعلام نمودند. همانطور که مشاهده می شود در مقدار ترکیبات اسانس در مطالعات متنوع تفاوت‌هایی وجود دارد، به طور کلی مقادیر ترکیبات فنلی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش، رقم گیاه، سن گیاه در هنگام تهیه اسانس، شرایط محیطی و فصلی، نوع کشت، زمان برداشت و در نهایت تفاوت ژنتیکی گیاه می‌تواند تغییر کند (۵).

۳-۲- تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی

با توجه به نتایج میزان فعالیت رادیکال آزاد ABTS(نمودار ۱) تحت تاثیر غلظت اسانس بود و با افزایش غلظت میزان فعالیت رادیکال آزاد ABTSافزایش یافت. بالاترین میزان فعالیت رادیکال آزاد ABTS در غلظت ppm ۱۶۰۰ مشاهده شد(۸۳/۴۷درصد). مقادیر فعالیت آنتی اکسیدانی در این غلظت اختلافی با آنتی اکسیدان سنتزی BHA نداشت. همانطورکه مشخص است با افزایش غلظت اسانس، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن افزایش می‌یابد که علت این امر، به دلیل بالاتر بودن ترکیبات فنلی در این روش می باشد. ویژگی‌های آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی عمدتا ناشی از قدرت احیاء کنندگی و ساختار شیمیائی آنهاست که آنها را

[1] Pour plat
[2] Plate count agar

قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه می‌سازد. ترکیبات فنولی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند. فلاونوئیدهای موجود در رژیم غذایی که دارای یک گروه کاتکول (۲، ۱- دی هیدروکسی بنزن) هستند از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله: (۱) عمل کردن به عنوان بازدارنده رادیکال آزاد از طریق دادن اتم هیروژن یا الکترون (۲) پیوند با پروتئین‌ها و آنزیم‌های شرکت کننده در تولید گونه‌های فعال اکسیژن (۳) تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزات انتقالی که قادرند تولید گونه‌های فعال اکسیژن از طریق چرخه‌های ردوکس را کاتالیز کنند (۴) باز تولید آنتی‌اکسیدان‌های خارجی قوی مانند آلفا توکوفرول، قادر به مهار اکسیداسیون مولکول‌های زیستی هستند (۱۵).



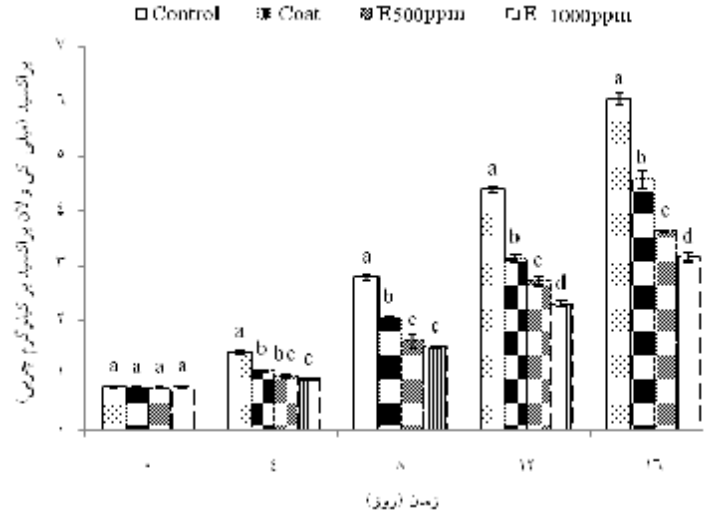
نمودار۱: فعالیت رادیکال آزاد ABTS

۳-۳- بررسی مقادیر عدد پراکسید

نتایج مربوط به عدد پراکسید (نمودار ۲)، نشان داد که در طول زمان در همه تیمارها افزایش یافت و مقایسه میزان عدد پراکسید نمونه شاهد نسبت به مابقی تیمارها در دوره‌های مختلف نگهداری حاکی از آن بود که تیمارهای حاوی نگهدارنده، روند افزایش عدد پراکسید را نسبت به تیمار شاهد کند کرد ($P<۰/۰۵$). روند افزایش سبب کند شدن روند افزایشی عدد پراکسید در تیمارهای حاوی پوشش کربوکسی متیل سلولز- صمغ دانه شاهی کندتر از تیمار شاهد بود، Bingöl و همکاران (۴) اعلام کردند که کیتوزان دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی برای نگهداری چربی های درون مواد غذایی است. Valipour و همکاران (۳۰) نیز اعلام نمودند پوشش دهی فیله فیتوفاگ با کیتوزان سبب کند شدن روند افزایشی عدد پراکسید نسبت به تیمار شاهد می شود. همچنین دانه‌شاهی منبعی غنی از آنتی‌اکسیدان‌های سینرژیک و اصلی نظیرفلاونول‌ها،کلروژنیک اسید،کافئیک اسید، میرستین، کوئرستین،کامفرول و نیزآنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نظیرتوکوفرول‌ها، فیتواسترول‌ها،کاروتنوئیدها بوده که وجود این ترکیبات نقش مهمی در پایین نگهداشتن سطح اتواکسیداسیون وافزایش زمان ماندگاری مواد غذایی می‌شود (۷). همچنین مقادیر عدد پراکسید در تیمارهای حاوی اسانس کمتر بود، کمتر بودن مقادیر عدد پراکسید به علت ترکیبات فنلی موجود در اسانس می باشد، زیرا ترکیبات فنولیک با غیر فعال کردن رادیکال های آزاد چربی و رادیکال های پراکسی از اکسیداسیون جلوگیری می کنند، بعضی از

گونه‌های گیاهان دارویی دارای ترکیبات متفاوتی هستند ولی به طور عمده حاوی پلی فنول ها می باشند، که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند و به همین دلیل می توانند زمان نگهداری گوشت را بالا ببرند (۲۶،۲۴). با افزایش درصد اسانس این خاصیت افزایش یافت. مطالعات متعددی گزارش شده است که اثرآنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی وابسته به میزان دوزشان است (۱۳، ۲۵).

میزان مجاز پراکسید در گوشت برای مصرف انسانی ۵ است (۳۱). در روز دوازدهم دوره نگهداری میزان پراکسید درتیمار شاهد بیشترازحد قابل قبول پیشنهادی بود و در سایر تیمارها تا انتهای دوره نگهداری از محدوده مجازی برخوردار بود.

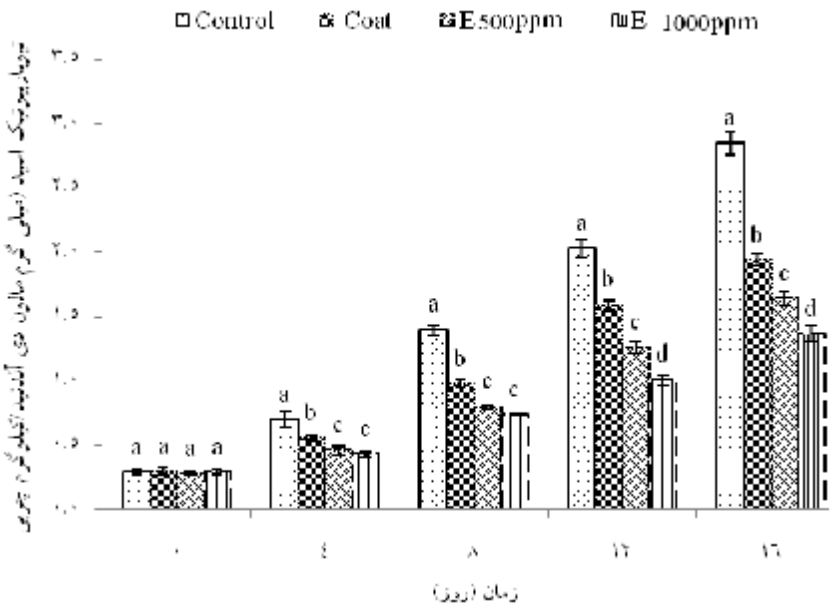


نمودار۲: تغییرات پراکسیددر تیمارهای مختلف طی فرآیند نگهداری

حروف متفاوت در یک روز نشان دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در بین تیمارهای مختلف می باشد (P<۰/۰۵).

۳-٤- بررسی مقادیر عدد تیوباربیوتیک اسید

با افزایش زمان مقادیر تیوباربیوتیک اسید (نمودار ۳) در تمامی تیمارها افزایش یافت. روند افزایشی این شاخص به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در ماهیچه و همچنین تولید آلدئیدها از محصولات ثانویه حاصل از شکست هیدروپراکسیدها است (۱۰). با توجه به نتایج آنالیز آماری در اکثر روزها بیشترین مقادیر در تیمار شاهد، مشاهده شد(P<۰/۰۵). بطورکلی پوشش‌های زیست تخریب پذیر نفوذپذیری بسیارکمی نسبت به اکسیژن و دی اکسیدکربن دارند. بنابراین پوشش تشکیل شده روی سطح فیله‌های ماهی بطور قابل ملاحظه‌ای نرخ تماس محصول را با اکسیژن کاهش داده که از سرعت اکسیداسیون اولیه چربی‌ها و متعاقب آن تشکیل هیدروپرواکسیدها کاسته می‌شود (۱۸). اسانس‌های گیاهی توانایی شکستن رادیکال های آزاد، به وسیله دادن یک اتم هیدروژن را دارا می‌باشد و به علت دارا بودن مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنلی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که فساد اکسیداتیو در ماهی‌ها را به تاخیر می‌اندازد (۱۳).

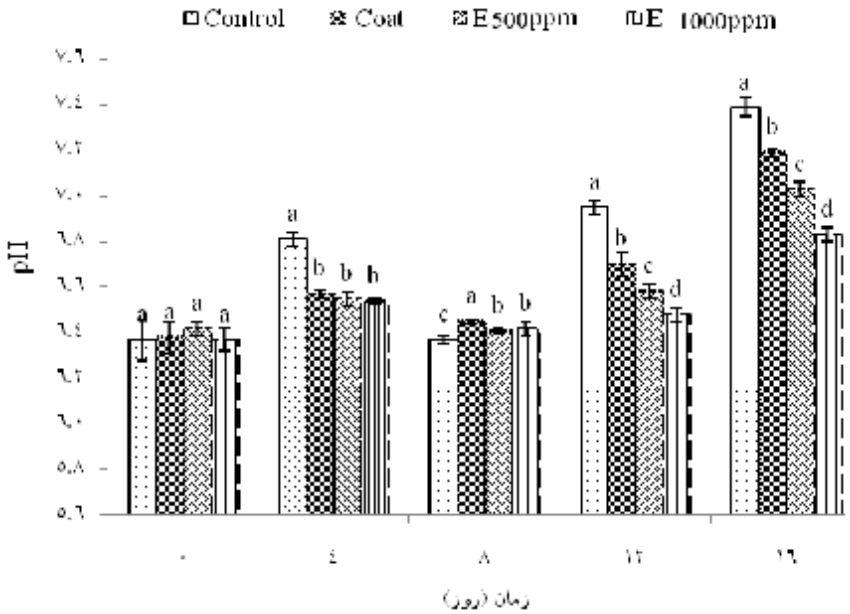


نمودار۳: تغییرات عدد تیوباربیوتیک اسید در تیمارهای مختلف طی فرآیند نگهداری

۳-۵-بررسی مقادیر pH

از جمله فاکتورهای تغییر پذیر در مدت زمان نگهداری فرآورده‌های گوشتیpH می باشد که می‌توان آن را به عنوان شاخص از تازگی فرآورده‌های دریایی در نظر گرفت. در مطالعه حاضر نیز با افزایش زمان (نمودار ۴) مقادیر pH در تمامی تیمارها در ابتدای دوره نگهداری کاهش و سپس افزایش یافت($P<۰/۰۵$). کاهش ابتدایی در میزان pH ممکن است به علت فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک و اسیدی کردن محیط باشد. افزایش pH در طی دوره نگهداری را می‌توان به دلیل افزایش تولید بازهای ازته فرار (مانند آمونیاک، تری میتل آمین) حاصل از فعالیت باکتری‌های فاسد کننده گوشت فیله ماهی نیز نسبت داد (۱).

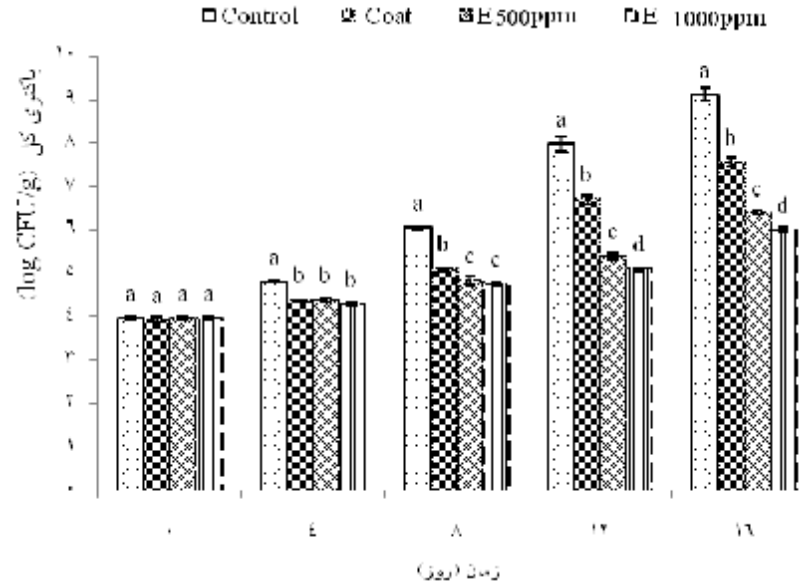
با توجه به نتایج آنالیز آماری در اکثر روزها بیشترین مقادیر در تیمار شاهد، مشاهده شد. افزودن کربوکسی متیل سلولز- صمغ دانه شاهی طی زمان‌های نگهداری سبب کند شدن روند افزایشی pH شد و با افزودن اسانس نتایج بهتری مشاهده شد و همچنین با افزایش غلظت نیز تاثیر مثبتی در این رابطه داشت علت این امر ممکن است بدلیل اثرات مهاری اسانس در برابر رشد باکتری‌ها، گلیکوژنولیز و انحلال دی اکسید کربنو تبدیل آن به اسید کربنیک طی دوره نگهداری نسبت داده شود (۲۶).



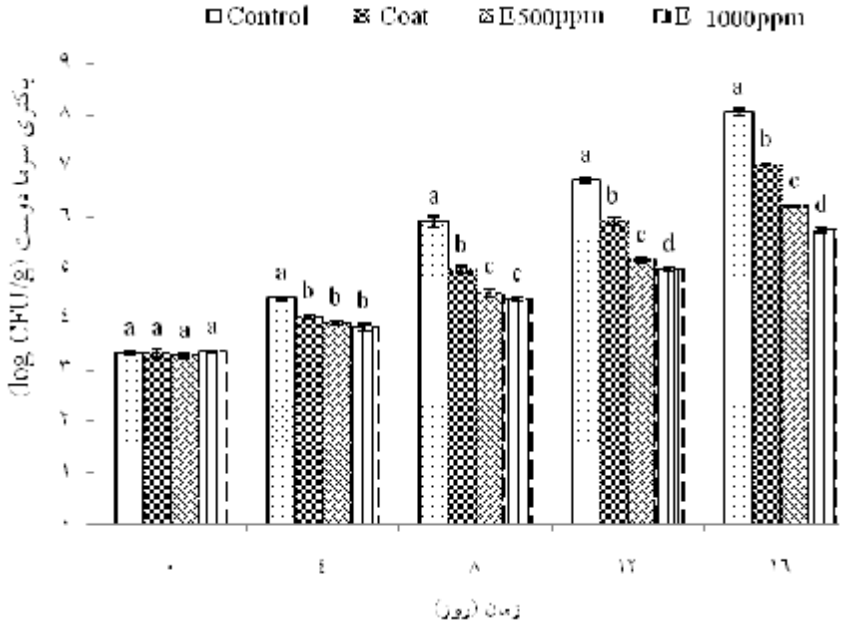
نمودار ۴: تغییرات pHدر تیمار های مختلف طی فرآیند نگهداری

۳-۶-مقادیر باکتری کل و باکتری سرما دوست طی مدت نگهداری

در مطالعه حاضر نتایج مربوط به باکتری کل (نمودار ۵) و باکتری سرمادوست (نمودار ۶) با هم، هم‌خوانی داشت، به طوریکه با توجه به نتایج در اکثر روزها بیشترین مقادیر باکتری سرمادوست و باکتری‌کل در تیمار شاهد، مشاهده شد پوشش‌دهی با کربوکسی متیل سلولز- صمغ دانه شاهی سبب کند شدن روند افزایشی مقادیر باکتری شد($P<۰/۰۵$). فاکتورهای متعددی بر فعالیت ضدباکتریایی کربوکسی متیل سلولز اثرگذار است. گرچه مکانیسم دقیق آن هنوز به روشنی مشخص نشده اما نظرات متفاوتی برای آن ارائه شده است. نظریه ای این اثر کربوکسی متیل سلولز را به وجود گروه‌های آمینوی با بار مثبت نسبت داده است که با درشت ملکول‌های دارای بار منفی در سطح سلول میکروبی پیوند ایجاد نموده و منجر به گسیختگی غشای سلول باکتری، نشت مواد درون سلولی و در نهایت مرگ آن می‌شود (۲۰). همچنین دانه شاهی منبعی به علت دارد بودن ترکیباتی نظیر فلاونول‌ها، کلروژنیک اسید، کافئیک اسید، میرستین، کوئرستین،کامفرول دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشد (۷). همچنین افزودن اسانس سبب کند شدن روند افزایش باکتری‌کل و باکتری سرمادوست شد کمتر بودن بار کل باکتری در تیمارهای حاوی اسانس می‌تواند ناشی از ترکیبات فنولی نظیر سینول می‌باشد. ترکیبات فنولی موجود در اسانس‌های گیاهی غشای خارجی میکروارگانیسم‌ها را تخریب کرده و سبب خروج لیپوساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی به ATP می‌شود. خروج ATP منجر به تمام شدن ذخیره انرژی سلول و مرگ سلول می‌شود (۱۲). خاصیت ضد میکروبی نگهدارنده های طبیعی به غلظت مورد استفاده آنها بستگی دارد و با افزایش غلظت، خاصیت ضد میکروبی آنها افزایش می‌یابد (۳، ۱۴، ۲۳). میزان مجاز باکتری‌کل و باکتری سرمادوست برای گوشت ۷log CFU/g پیشنهاد شده است (۱۱). در انتهای دوره نگهداری میزان باکتری‌های مذکور در تیمارهای حاوی اسانس حد قابل قبول پیشنهادی برخودار بود.



نمودار ۵:تغییرات مقادیر باکتری کل در تیمار های مختلف طی فرآیند نگهداری

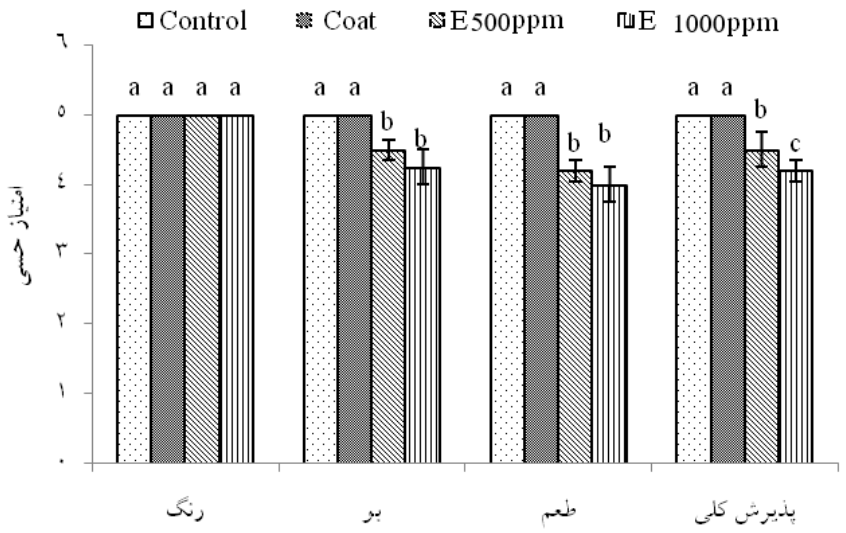


نمودار ۶: تغییرات مقادیر باکتری سرمادوست در تیمار های مختلف طی فرآیند نگهداری

۳-۷-بررسی ویژگی‌های حسی در ابتدای دوره نگهداری

بی شک ویژگی‌های حسی نظیر طعم و بافت از مهمترین فاکتورهای پذیرش محصول ازدیدگاه مصرف کننده می‌باشند. لذا بررسی ویژگی‌های حسی با در نظر گرفتن بازار پسندی محصول تولیدی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. با توجه به نتایج با افزودن نگهدارنده‌ها امتیاز حسی (نمودار ۷) به طور معنی‌داری کاهش یافت. اما تمامی تیمارها از امتیاز حسی مورد تایید ارزیاب‌ها برخوردار بودند.

Tometri و همکاران (۲۹) نیز اعلام نمودند استفاده از عصاره ریز پوشانی شده با نانو لیپوزوم و عصاره آزاد برگ بو رانسبت به تیمار شاهد کاهش می‌دهد. اما در مجموع تمامی تیمارها در مطالعه آنها از امتیاز حسی مورد تایید ارزیاب‌ها برخوردار بودند.



نمودار ۷: ارزیابی حسی در تیمارهای مختلف در ابتدای دوره نگهداری

٤- نتیجه گیری نهایی

نتایج مربوط به مطالعه حاضر نشان داد که اسانس علف چشمه دارای ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد و همچنین نتایج مربوط به کیفیت فیله کپور سرگنده نشان داد که پوشش مرکب کربوکسی متیل سلولز- صمغ دانه شاهی به همراه اسانس سبب کند شدن روند افزایشی شاخص‌های فساد اکسیداسیونی و میکروبی در طول زمان شد و با افزایش غلظت نتایج بهتری مشاهده شد. در مجموع، پوشش مرکب کربوکسی متیل سلولز در سطح ۲ درصد- صمغ دانه شاهی در سطح ۱/۵ درصد به همراه اسانس علف چشمه در غلظت ppm ۱۰۰۰ می‌تواند سبب افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت فیله کپور سرگنده شود. مطالعات بیشتر با سایر فرآورده‌های دریایی و پوشش‌های دیگر کامپوزیت با اسانس‌های بومی ممکن است نتایج امیدوار کننده‌ای در این زمینه ارائه دهد.

٥- منابع:

1. Abodollahi, M., Rezaie, M. and Farazi, G., 2014. Original article Influence of chitosan /clay functional bionanocomposite activated with rosemary essential oil on the shelf life of fresh silver carp. *International Journal of Food Science*, 82, pp.811–818. https://doi.org/10.1111/ijfs.12369.
2. AOAC, 2005. Official Method of Analgsis (17th ed). Washington, DC: Association of Official Analytical chemists.
3. Bagheri, R., Izadi Amoli, R., Tabari Shahndash, N. and Shahosseini, S. R., 2016. Comparing the effect of encapsulated and unencapsulated fennel extracts on the shelf life of minced common kilka (*Clupeonella cultriventris* caspia) and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in the mince. *food science and nutrition*, 4(2),pp. 216–222. https://doi.org/10.1002/fsn3.275.
4. Bingöl, B., Bostan, K., Varlık, C., Uran, H., Üçok Alakavuk, D. and Sivri, N., 2015. Effects of Chitosan Treatment on the Quality Parameters of Shrimp (*Parapenaeus longirostris*) during Chilled Storage. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15,pp. 821-831. http://doi.org/10.4194/1303-2712-v15_4_05.

5. Burt, S., 2004. Essentialoils: their antibacterial propertied and potential application in foods-a review. *International Food Mashinicrobiology*, 94 (3),pp. 223- 253. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.
6. Derakhshan, Z., Oliveri, G., Heydari, A., Hosseini, M. S., Akrami, F., Gheisari, H., Kargar, S., Karimi, E. and Ferrante, M., 2018. Survey on the effects of electron beam irradiation on chemical quality and sensory properties on quail meat. *Food and Chemical Toxicology*, 112,pp. 416-420. https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.12.015.
7. Dick, M., Costa, T. M. H., Gomaa, A., Subirade, M., Rios, A. D. and Flores, S. H., 2015. Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. *Carbohydrate Polymers*, 130, pp.198–205. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.040.
8. Fatima, Z., Tazerouti, F., Belkhelfa-Slimani, R., Djerdjouri,B., Brahim, Y. and Meklati, M., 2016. Phytochemical composition of the Algerian Laurus nobilis L. leaves extracts obtained by solvent-free microwave extraction and investigation of their antioxidant activity. *Journal of Essential Oil Research*, 22,pp.156-168. https://doi.org/10.1080/10412905.2015.1129992.
9. Fidan, H., Stefanova, G., Kostova, L., Stankov, S., Damyanova, S., Stoyanova, A. and Zheljazkov, V., 2019. Chemical Composition and Antimicrobial Activityof *Laurus nobilis* L. Essential Oils from Bulgaria. *Molecules*, 24, pp.804-812. https://doi.org/10.3390/molecules24040804.
10. Gomez Estaca,J., lopez de Lacy, A., Lopez caballero, M.E., Gamez. Guillen, M.C.and Montero, P., 2010. Biodegradable gelatin- chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food microbiology*, 27, pp.889-896. https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.012.
11. ICMSF, 2005. Microorganisms in foods 6: microbial ecology of food commodities, 2nd edn (1st edn published 1998). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
12. Jalali, M., Ariiai, P. and Fattahi, E., 2016. Effect of alginate/carboxyl methyl cellulose composite coating incorporated with clove essential oil on the quality of silver carp fillet and *Escherichia coli* O157:H7 inhibition during refrigerated storage. *Journal Food Sci Technol*, 53 (7), pp. 757-765. https://doi.org/10.1007%2Fs13197-015-2060-4.
13. Jan Khan, N., Khan, Z. and Sukhcharn, S., 2017. Stinging nettle (*Urtica dioica* L.): a reservoir of nutrition and bioactive components with great functional. J*ournal Of Food Measurement*, 11, pp.423–433. https://doi.org/10.1007/s11694-016-9410-4.
14. Javadian, S. R., Shahoseini, S. R. and Ariaii, P., 2017. The effects of liposomal encapsulated thyme extract on the quality of fish mince and *Escherichia coli* O157: H7 inhibition during refrigerated storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26 (1), pp.115-123. https://doi.org/10.1080/10498850.2015.1101629.
15. Khalighi-Sigaroodi, F., Ahvazi, M., Ebrahimzadeh, H. and Rahimifard, N., 2013.Chemical Composition of the Essential Oil and Antioxidant Activities, Total Phenol and Flavonoid Content of the Extract of Nepeta pogonosperma. *Journal of Medicinal Plants*, 12 (48), pp.185-198. http://dorl.net/dor/20.1001.1.2717204.2013.12.48.10.7.
16. Khodja, Y., Dahmoune, F., Bachir bey, M., Madani, K. and Khetta, B., 2020. Conventional method and microwave drying kinetics of *Laurus nobilis* leaves: effects on phenolic compounds and antioxidant activity. *Journal Food Technology*,23, pp.216-229. https://doi.org/10.1590/1981-6723.21419.
17. Kivrak, Ş., Göktürk, T. and Kivrak, İ., 2017. Assessment of Volatile Oil Composition, Phenolics and Antioxidant Activity of Bay (*Laurus nobilis*) Leaf and Usage in Cosmetic Application. *Journal science Metabolite*, 4(2), pp.148–148. DOI: 10.21448/ijsm.323800.

18. Mahdavi, V., Hosseini, E. and Sharifian, A., 2018. Effect of edible chitosan film enriched with anise (*Pimpinella anisum* L.) essential oil on shelf life and quality of the chicken burger. *Food science and nutrition*, 6 (2), pp. 269- 279. doi: 10.1002/fsn3.544.
19. Moawad, R., Abdelmonem El-Banna, H., Saleh Mohamed, O. and Aboelsood Ibrahim, V., 2018. Improving the Quality and Shelf-life of Refrigerated Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) Carcasses by Oregano/Citrate Dipping. *Journal of Biological Sciences*, 18, pp. 389-398. DOI: 10.3923/jbs.2018.389.398.
20. No, H. K., Meyers, S.P., Prinyawiwatkul, W. and Xu, Z., 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review. *Journal of Food Science,* 72, pp. 87- 100. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00383.x.
21. Ojagh, S., Rezaei, M., Razavi, S. and Hosseini, S., 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 1, pp. 193-198. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.006.
22. Ordoñez, A., AL, Gomez, J. D., Vattuone, M. A. and lsla, M.I., 2006. Antioxidant activities of sechiumedule(Jacq) Swartz extracts. *Food Chemistry,* 97, pp.452-458. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.024.
23. Rashidaie Abandansarie, S. S., Ariaii, P. and Charmchian Langerodi, M., 2019. Effects of encapsulated rosemary extract on oxidative and microbiological stability of beef meat during refrigerated storage. *Food Science & Nutrition*, 7, pp. 3969- 3978. https://doi.org/10.1002/fsn3.1258.
24. Sathivel, S., Liu, Q., Huang, J. and Prinyawiwatkul, W., 2007. The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. *Journal of Food Engineering*, 83, pp. 366–373. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.03.009.
25. Shah, M.A., Bosco, S.J.D. and Mir, S.A., 2014. Plant extract as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98(1), pp. 21-33. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.03.020.
26. Shahosseini, S.R., Safari, R. and Javadian, S.R., 2021. Evaluation antioxidant effects of Pullulan edible coating with watercress extract (*Nasturtiumn officinale*) on the chemical corruption of fresh beluga sturgeon fillet during storage in a refrigerator. *Iranian Scientific Fisheries Journal,* 30 (2), pp. 123-146. http://dorl.net/dor/20.1001.1.10261354.1400.30.2.1.8.
27. Shakour, N., Khoshkhoo, Z., Akhondzadeh Basti, A., Khanjari, A. and Mahasti Shotorbani, P., 2021. Investigating the properties of PLA-nanochitosan composite films containing Ziziphora Clinopodioides essential oil and their impacts on oxidative spoilage of Oncorhynchus mykiss fillets.*FoodScience&Nutrition*,9, pp.1–13. https://doi.org/10.1002/fsn3.2053.
28. Shan, B., Cai, Y., Brooks, J. D. and Corke, H., 2007.Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. *Food Chemistry*, 55 (14), pp. 5484-5490. https://doi.org/10.1021/jf070424d.
29. Tometri, S.S., Ahmady, M. and Ariaii, P., 2020. Extraction and encapsulation of *Laurus nobilis* leaf extract with nano-liposome and its effect on oxidative, microbial, bacterial and sensory properties of minced beef. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 26, pp. 156-187. https://doi.org/10.1007/s11694-020-00578-y.
30. Valipour, F., Ariaii, P., Khademi, D. and Nemati, M., 2017.Effect of chitosan edible coating enriched with eucalyptus essential oil and α-tocopherol on silver carp fillets quality during refrigerated storage. *Journal of Food Safety*, 37(1),pp. 122-137. https://doi.org/10.1111/jfs.12295.

31. Yanar, Y., 2007. Quality Changes of Hot Smoked Catfish (*Clarias Gariepinus*) During Refrigerated storage. *Journal of Muscle Foods*, 18, pp. 391-400. https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.2007.00094.x.

Evaluation of the effect of Carboxymethyl Cellulose- *Lepidium sativum* seed gum with *Nasturtium officinalis* essential oil on the fillet Bighead carp (*Aristichthys nobilis*) shelf life during refrigerated storage

Seyed Zaman Shahosseini[1], Seyed Rohollah Javadian[2*], Seyed Rasoul Shahosseini [3]

[1] 1PhD student, Department of Fisheries, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

[2] Department of Fisheries, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

[3] Department of Food Science and Technology, Nour Branch, Islamic Azad University, Nour. Iran

Abstract

Fish meet is prone to both microbial and chemical spoilage.Therefore, it is desirable to use a preservative with both antioxidant and antimicrobial properties..In this study, the effect of Carboxymethyl Cellulose- *Lepidium sativum* seed gum with *Nasturtium officinalis* essential oil on the shelf life of Bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillet during a 16-day refrigeration period was investigated. First, the essential oil of *Nasturtium officinalis* was extracted by Cloninger method. The phenolic compounds of *Nasturtium officinalis* essential oil were equal to 388.57±9.85 mg / g gallic acid compounds were. The highest free radical scavenging activity was observed at 1000 ppm (83.47%). The levels of antioxidant activity at this concentration did not siggnifacnt different with synthetic antioxidant BHA (concentration 100 ppm) ($P < 0.05$). Therefore, *Nasturtium officinalis* essential oil was added to the composite coating at two concentrations of 500 and 1000 ppm. 4 treatments fillet Bighead carp including control, Carboxymethyl Cellulose- Lepidium sativum seed gum coating, Carboxymethyl Cellulose- *Lepidium sativum* seed gum coating + essential oil with 500 ppm concentration, Carboxymethyl Cellulose- *Lepidium sativum* seed gum coating + essential oil At a concentration of 1000 ppm were produced. were analyzed by Chemical and microbial parameters such as peroxide value (PV), thiobarbithic acid (TBA), total viable counts (TVC) and total psychrotrophic counts (TPC). The results of shelf life of Bighead carp showed that, the treatments with essential oil *Nasturtium officinalis* slowed down the upward trend of oxidation and microbial indices compared to the control treatment, and these changes in treatment Carboxymethyl Cellulose- *Lepidium sativum* seed gum coating + essential oil with At a concentration of 1000 were less than other treatments and until the end of the storage period of the range of chemical and microbial index were acceptable. Therefore, it seems that the combined coating of Carboxymethyl Cellulose- *Lepidium sativum* seed gum and essential oil of *Nasturtium officinalis* can be used as a natural preservative in and Seafood products.

Keywords: fillet, Bighead carp (*Aristichthys nobilis*), composite coating, Carboxymethyl Cellulose- Lepidium sativum seed gum, *Nasturtium officinalis* essential oil