بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاهان کلپوره (*Teucrium polium* L.) و برگ چای سبز (*Camellia sinensis* L) بر شاخص‌های شیمیایی و میکروبی فیله ماهی کپور در طول مدت نگهداری در دمای یخچال

طاهره تبیریی [۱]، شادی مهدیخانی [۲*]، فاطمه حسینمردی [۳]

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: dr_sh_112@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۹/۲۰، پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۱۰/۳

چکیده

آبزیان یکی از مهم‌ترین موادغذایی موجود در سفره غذایی مردم دنیا و بخصوص ایران می‌باشد. افزایش عمر انبارمانی ماهی‌ها یکی از مهم‌ترین چالش‌های امروزه محققان صنعت غذایی می‌باشد. در این مطالعه اثر عصاره چای سبز و گیاه کلپوره بر روی تغییرات کیفی و میکروبی ماهی کپور طی ۲۰ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه ابتدا عصاره برگ چای سبز و گیاه کلپوره با استفاده از اولتراسوند استخراج و در سه غلظت ۱، ۱/۵ و ۲ درصد حجمی/حجمی تحت آزمون سنجش قدرت آنتی‌اکسیدانی (تعیین فنول کل و DPPH) و میکروبی قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمون‌های سنجش قدرت آنتی‌اکسیدانی و میکروبی نشان داد که عصاره با غلظت ۲ درصد بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضدمیکروبی را نسبت به سایر عصاره‌های حاصل دارد. در ادامه از عصاره حاصل از روش اولتراسوند چهار غلظت ۰، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد (حجمی/حجمی) تهیه و به ماهی کپور اضافه شد. ماهی در مدت ۲۰ روز و هر ۵ روز یک‌بار تحت آزمون‌های TVC، TVB-N، عدد پراکسید، تیوباربیتوریک اسید و pH قرار گرفت. در پایان روز ۲۰، نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره میزان پارامتری‌های pH، عدد پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، ازت پایه فرار کل و شمارش کلی باکتری کاهش معنی‌داری را نسبت به نمونه شاهد و غلظت‌های پایین‌تر نشان است ($P<0/05$). به‌طوری‌که در پایان مطالعه ماهی‌های تیمار شده با ۲ درصد عصاره بهترین عملکرد کیفی و میکروبی را نشان دادند. لذا این مطالعه استفاده از عصاره چای سبز و کلپوره را برای نگهداری ماهی کپور مناسب می‌داند.

واژه‌های کلیدی: چای سبز، کلپوره، ماهی کپور، نگهداری

مقدمه

ماهیان و فرآورده‌های آن‌ها، با وجود ارزش غذایی بالا، در برابر فساد اکسیداتیو بسیار حساس‌اند و ویژگی‌های کیفی آن‌ها طی نگهداری در اثر فساد باکتریایی و اکسیداتیو کاهش می‌یابد (۱). ماهی کپور از خانواده‌ای است که دارای دو جفت سبیلک بوده و دهان آن کشویی بوده و قابل بیرون زدن است (۲). کپور معمولی بومی آسیا است و امروزه در تمام نقاط دنیا ازجمله اروپا، آسیا، آفریقا، شمال و جنوب آمریکا و استرالیا یافت می‌شود. محدودیت در پراکنش و پرورش این‌گونه در خطوط دمایی ۱۸ درجه سانتی‌گراد ظاهر می‌شود ماهی کپور در طبیعت در مناطق میانی و یا پایین‌دست رودخانه یا مرداب که آب به آرامی جریان دارد، زندگی می‌کند (۳). زیستگاه این ماهیان بستری گل‌آلود با پوشش علف‌های

هرز است. معمولاً نرها با رشد سریع در سن یک سالگی به بلوغ می‌رسند و ماده‌ها به‌طورمعمول بین ۵-۳ سالگی بالغ می‌شوند حداکثر وزن کپور بالغ ۳۷/۴ کیلوگرم در جنوب آفریقا و ۴۲/۱ کیلوگرم در شمال آمریکا گزارش شده است (۵ و ۴). چای گیاهی است از شاخه نهاندانگان یک پایه و از رده دولپه‌ای‌ها هست که خزان‌ناپذیر و همیشه سبز می‌باشد. گل‌های چای سفید معطر و به‌طور خوشه‌ای و مجتمع و یا تک گل در کنار برگ‌ها ظاهر می‌شوند. دارای ۵ تا ۷ گلبرگ و کاسبرگ و مقدار زیادی پرچم می‌باشند. تخمدان دارای ۳ تا ۴ حجره بوده که در هر کدام یک تا سه دانه مشاهده می‌شود (۶). برگ‌های سبز چای غنی از فلاوونوئیدهاست که شامل کاتچین، اپی‌کاتچین، اپی‌گالوکاتچین، اپی‌گالوکاتچین گالات می‌باشد که گالات‌های کاتچین نامیده می‌شوند. از یک اسکلت بنزوپیرانی با یک گروه فنیل جانشین شده در موقعیت ۲ و یک گروه عاملی هیدروکسیل (یا استر) در موقعیت ۳ تشکیل شده‌اند (۷). چای سبز، به‌عنوان منبع قوی از آنتی‌اکسیدان شناخته شده است. چای غنی از پلی‌فنل‌ها، ازجمله کاتچین‌ها، تئافلاوین‌ها و تئاروبیگین‌ها می‌باشد که در خواص سلامتی‌زای چای نقش دارند (۸). کلپوره گیاهی است علفی به ارتفاع ۳۵-۱۰ سانتی‌متر که برگ‌های باریک و پوشیده از کرک‌های پنبه‌ای شکل دارد. این گیاه از تیره نعناع بوده و در ایران در نواحی کوهستانی البرز و زاگرس می‌روید. مصرف دارویی کلپوره به زمان بقراط و جالینوس برمی‌گردد. در کشور ما به آن مریم‌نخودی نیز می‌گویند. نوری و همکاران (۱۳۹۰) اثر آنتی‌اکسیدانی استخراج شده از چای سبز را بر روی ویژگی‌های کاغذ بسته‌بندی چای کیسه‌ای سیاه و مدت ماندگاری آن مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که غلظت آنتی‌اکسیدان در تیمارها نسبت به شاهد ۴۵-۵۰ درصد افزایش داشت. نفوذ هوا در فیلتر تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. استحکام پوششی در تیمارها نسبت به نمونه تیمار شده ۱/۵-۱ درصد کاهش را نشان داد. ارزیابی حسی نیز نشان داد نمونه‌های تولید شده نسبت به نمونه شاهد کمی‌گستر بودند (۹). چوبکار و همکاران (۱۳۹۱) اثرات نگهدارندگی اسانس آویشن شیرازی و نیسینرا بر فاکتورهای کنترل کیفی فیله‌های سبک شور شده‌ی ماهی کپور نقره‌ای مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل، استفاده از غلظت های بالای اسانس آویش (۰/۱۳۵، ۰/۴۰۵ و ۰/۸۱۰ درصد) و نایسین (۰/۲۵ درصد) دارای تأثیر معنی‌دار بر افزایش مدت‌زمان نگهداری فیله‌های ماهی سبک شور بوده است (۱۰). ابو-سالم و همکاران (۲۰۱۱) در پژوهشی اثر عصاره‌های چای سبز، آویشن و مخلوط آن‌ها را بر ویژگی‌های شیمیایی و حسی گوشت در طی ۴ ماه در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد مورد مطالعه قرار دادند. در نمونه‌های تیمار شده با عصاره‌ی چای سبز و آویشن کاهش قابل‌توجهی در میزان مجموع بازهای نیتروژنی فرار، تشکیل آمین‌های بیوژن، تیوباربیتوریک اسید و اسیدیته نسبت به نمونه‌های کنترلی مشاهده شد. میزان موارد نام برده به ترتیب در تیمارهای مخلوط عصاره‌ی آویشن و چای سبز، عصاره‌های چای سبز و عصاره‌ی آویشن کمتر از سایر تیمارها بود. میزان ترکیبات فنلی در عصاره‌ی چای سبز به میزان زیادی بیشتر از عصاره‌ی آویشن بود. این مطالعه نشان داد که افزودن عصاره‌های طبیعی در طی فرآیند گوشت می‌تواند موجب بهبود کیفیت و فراهم آوردن محصولی ایمن‌تر گردد (۱۱). سونکو و کولساریسی (۲۰۱۷) تأثیر عصاره چای سبز را بر تشکیل اکریل آمید در برگر مرغ و ناگت مرغ مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که عصاره چای سبز در طی زمان فرآوری ناگت و برگر مرغ به‌طور معنی‌داری سبب کاهش اکریل آمید شده است (۱۲). بلیز و همکاران (۲۰۱۷) تأثیر عصاره آبی چای سبز و

گل‌گاوزبان را بر عمر نگهداری گوشت بره مورد بررسی قرار داد. نتایج بررسی‌ها نشان داد که با افزایش غلظت عصاره تا ۰/۵ درصد تأثیرگذاری آن بر روی بهبود شرایط میکروبی، فیزیکی و شیمیایی افزایش یافته است. عصاره چای سبز تا ۰/۵ درصد و گل‌گاوزبان تا ۱۰ درصد اکسیداسیون و فساد را در گوشت بره به‌طور معنی‌داری کاهش داد. عصاره چای تا ۰/۵ درصد و گل‌گاوزبان تا ۱۰ درصد طول عمر گوشت را تا ۱۱ روز افزایش داد (۱۳). ال‌هاواری و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر عصاره آویشن را بر کاهش رشد میکروبی انتروباکتریاسه جدا شده از گوشت مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه تأثیر عصاره اتانولی آویشن بر روی *اشرشیاکلی*، کلبسیلا پنومونیه، سیتروباکتر فرنودی، انتروباکتر کلاگاسه وانتروباکترآئرژینس مورد بررسی قرار گرفت. عصاره آویشن به‌طور معنی‌داری از رشد باکتری‌ها جلوگیری کرد. در میان باکتری‌های مورد مطالعه عصاره آویشن بیشترین مهارکنندگی را بر روی کلبسیلا پنومونیه نشان داد (۱۴). هوت و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر اسانس آویشن، دارچین و پونه را بر بهبود کیفی و عمر نگهداری ماهی و محصولات گوشتی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که تمامی اسانس به‌طور معنی‌داری سبب کاهش رشد میکروبی محصولات گوشتی و ماهی شده است. اسانس آویشن سبب کاهش معنی‌داری در عدد پراکسید، تیوباربیتوریک اسید در طی نگهداری یخچالی شد. همچنین در میان نمونه‌های مورد بررسی نمونه‌های تیمار شده با اسانس آویشن بالاترین ارزیابی حسی را نشان داد. در طی نگهداری یخچالی نمونه‌های حاوی اسانس بافت خود را بهتر حفظ نمود (۱۵). شریفی‌فر و همکاران (۲۰۰۹) جهت تعیین حداکثر ترکیبات فلاونوئیدی گیاه کلپوره با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بررسی را انجام دادند. استخراج ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از حلال‌های متانول، پترولئوم اتر، کلروفرم انجام گرفت که در این میان حلال متانول در بین سایر حلال‌ها دارای بالاترین بازده استخراج و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود (۱۶). با توجه به اینکه چای سبز و عصاره حاصل از آن دارای اثرات مطلوب سلامتی بخش و تکنولوژیکی مانند اثرات ضدمیکروبی بوده و همچنین با قیمت پایین در دسترس می‌باشد، در این پژوهش از آن استفاده شد. همچنین در این تحقیق از گیاه کلپوره به دلیل خواص ضدمیکروبی بالا استفاده شد. هدف این پژوهش بررسی اثر عصاره هیدروالکلی استخراجی از گیاه کلپوره و چای سبز بر شاخص‌های شیمیایی و میکروبی فیله گوشت ماهی کپور در طول مدت نگهداری در دمای یخچال می‌باشد تا فیله گوشت ماهی کپور با کیفیت تغذیه‌ای مطلوب و ماندگاری بالا به بازار ارائه گردد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره از برگ چای سبز و گیاه کلپوره

برگ چای سبز و گیاه کلپوره از موسسه بذر و نهال استان البرز تهیه شد. گیاه‌های تهیه شده پس از آماده‌سازی با اولتراسوند و حلال (آب-اتانول (۱:۱)) عصاره‌گیری شد. برای استخراج ۲۰ گرم از هریک از نمونه‌ها به نسبت ۱ به ۵ با حلال هیدروالکلی مخلوط شد. سپس در حمام فراصوت به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد با فرکانس ۳۵ کیلوهرتز قرار داده شد عصاره‌های استخراجی صاف و پس از جداسازی حلال در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و مقادیر ترکیبات فنولیک عصاره اندازه‌گیری و مقایسه شد (۱۷).

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل

محتوای فنلی کل عصاره از روش فولین-سیوکالتیو مورد بررسی قرار گرفت و از گالیک اسید به‌عنوان استاندارد در این آزمون استفاده شد (۱۷).

آزمون ۲ و ۲ – دی‌فنیل ۱ – پیکریل هیدرازین (DPPH)

در این روش به‌عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده DPPH به‌عنوان معرف استفاده شد. بدین ترتیب که ۵۰ میکرولیتر از عصاره در متانول به ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH در متانول اضافه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتری بر علیه بلانک قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$I\% = (Ablank- Asample / Ablank) \times 100$$

در این فرمول Ablank جذب نوری کنترل منفی را که فاقد عصاره می‌باشد نشان می‌دهد و Asample میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره بیان می‌کند (۱۸).

ارزیابی اثرات ضدمیکروبی عصاره برگ سبز چای و کلپوره

برای تعیین فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی از روش نفوذ در محیط آگاردار استفاده شد. ابتدا میزان ۱۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی به دیسک‌های کاغذی با قطر ۱۰ میلی‌متر، انتقال یافت و دیسک‌ها در شرایط استریل بر روی محیط‌های کشت قرار داده شدند. قبل از قرار دادن دیسک‌ها بر روی سطح محیط‌های کشت، عمل کشت سطحی با استفاده از ۰.۱ میلی‌لیتر کشت مایع حاوی $۱*۱۰^{۶}$ از هر باکتری انجام گرفت. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از انکوباسیون میزان رشد باکتری‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته و میزان ممانعت از رشد تعیین شدند (۱۹).

تعیین حداقل غلظت کشندگی و مهارکنندگی (MBC[1] و MIC[2])

به‌منظور تعیین حداقل غلظت‌کشندگی، از روش ۹۶ خان‌های استفاده و MIC تعیین شد. نتیجه MIC بر اساس کدورت محیط کشت که نشان‌دهنده رشد باکتری است بررسی گرید. پایین‌ترین غلظت عصاره که هیچ باکتری نتواند در آن‌ها رشد کند، به‌عنوان مقادیر MBC گزارش شد (۲۰).

غوطه‌وری ماهی در عصاره‌ها

ماهی کپور مورد نیاز از مزارع پرورش ماهی کپور تهیه و به همراه یخ به آزمایشگاه منتقل شد. سر و باله‌های ماهی و محتویات شکمی خارج شد. نمونه‌های ماهی به‌صورت پروان‌های برش داده شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در محلول‌های حاوی عصاره با درصدهای ۱، ۱/۵ و ۲ درصد حجمی/حجمی عصاره کلپوره و چای سبز غوطه‌ور شدند. سپس در بسته‌بندی‌های پلی‌اتیلنی استریل قرار گرفتند و به مدت ۲۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. آزمون‌های شیمیایی و میکروبی در روزهای ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ نگهداری بر روی ماهی‌ها انجام شد (۲۰). جهت اندازه‌گیری pH، نمونه‌ها توسط یک هموژنایزر به‌صورت هموژن درآمد و سپس با استفاده از یک گاز استریل صاف گردیدند. ۵ گرم از نمونه خمیر شده در ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر کاملاً همگن می‌شود و بلافاصله pH تعیین گردید (۲۱).

تعیین اندیس پراکسید

۱۰ گرم از فیله در ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول کلروفرم و متانول (به نسبت ۲ به ۱) در مخلوط‌کن هموژن شد. پس

[1] Minimum bactericidal concentration
[2] Minimum inhibitory concentration

از صاف شدن مخلوط حاصل به‌وسیله کاغذ صافی، ۵۰ میلی‌لیتر محلول پتاسیم کلرید ۰/۸۸٪ به آن اضافه گردید. سپس به‌وسیله دکانتور پس از ۲۰ دقیقه فاز آبی (فاز پایین‌تر) جمع‌آوری شد و سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول متانول/پتاسیم کلرید ۰/۸۸٪ (به نسبت ۱ به ۱) به آن اضافه شد و برای بار دوم جداسازی به‌وسیله دکانتور انجام و فاز پایینی جدا شد. حلال به‌وسیله بن‌ماری در دمای ۳۵ درجه‌ی سلسیوس تبخیر و درنهایت روغن به‌دست‌آمده برای آزمایش عدد پراکسید مورد استفاده قرار گرفت. میزان پراکسید در نمونه روغن بر اساس میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن مصرفی با استفاده از فرمول زیر تعیین شد (۲۲):

عدد پراکسید=

(حجم تیوسولفات مصرفی × مولاریته تیوسولفات سدیم × ۱۰۰۰) /وزن نمونه

تعیین عدد تیوباربیتوریک اسید

بدین منظور ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه فیله تیمار شده توزین و در یک بالن حجمی۲۵ میلی‌لیتری منتقل شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول ۱-بوتانول به نمونه‌ها اضافه و نمونه‌ها به‌خوبی در آن حل شد. سپس به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از محلول نمونه به همراه ۵ میلی‌لیتر از واکنشگر TBA در لوله مخصوص ریخته و با شیکر به‌خوبی با یکدیگر ترکیب شد. سپس لوله‌ها به مدت ۲ ساعت در بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سلسیوس نگهداری و جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفتومتر قرائت شد عدد تیوباربیوتوریک اسید بر مبنای گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم روغن تعیین شد (۲۳).

اندازه‌گیری بازهای نیتروژنی فرار

۱۰ گرم نمونه چرخ شده گوشت در بالن حاوی ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و سنگ جوش قرار داده شد. در یک ارلن مایر به ظرفیت ۵۰۰ تا ۷۰۰ سانتی‌متر مکعب که به‌عنوان ظرف گیرنده زیر قسمت سردکننده دستگاه تقطیر قرار گرفت. ۲۵ سانتی‌متر مکعب از محلول ۲ درصد اسید بوریک و چند قطره متیل قرمز بروموکروزول سبز به‌عنوان معرف اضافه شد. این محلول سپس توسط اسید سولفوریک ۰.۱ نرمال شد. نتایج آزمایش بر مبنای میلی‌گرم ازت فرار در ۱۰۰ گرم گوشت گزارش شد (۲۴).

= بازهای نیتروژنی فرار

وزن نمونه/ (۱۰۰×۱/۴) × اسید سولفوریک مصرفی

آزمون‌های میکروبی

بدین منظور ۱۰ گرم نمونه با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر به کیسه استریل استومیکر منتقل گردید و توسط دستگاه استومیکر طی مدت دو دقیقه به‌صورت هموژن درآمد. سپس تا رقت 10^{-5} گرم در میلی‌لیتر از هر رقت در پلیت قرار داده شد و محیط کشت PCA[1] با آن افزوده شد. هر پلیت به‌منظور توزین همگن نمونه به‌دقت تکان داده شد بعد از چند دقیقه همه پلیت‌ها وارونه شده و در انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۳۷ درجه قرار داده شدند. بعد از ۴۸ ساعت همه کلونی‌ها شمارش و به‌صورت log CFU/gr محاسبه شدند (۲۵).

آنالیز آماری

این پژوهش در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی و در سه تکرار و با ماهی‌های تیمارشده با عصاره چای سبز و

[1] Plate count agar

گیاه کلپوره با غلظت ۱، ۱/۵ و ۲ درصد و نمونه شاهد انجام شد. میانگین‌ها با نرم‌افزار SPSS ۲۱ و بر اساس آزمون‌های دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. اختلاف معنی‌دار یا غیر معنی‌دار مقادیر میانگین در جداولی با حروف انگلیسی به همراه میزان انحراف داده‌ها از میانگین آورده شد و نمودارهای حاصل در نرم‌افزار excel ۲۰۱۳ رسم گردید و مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

ارزیابی ترکیبات فنولی

ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های گیاهی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که از این خواص برای جلوگیری از اکسیداسیون چربی و لیپیدها در موادغذایی استفاده می‌گردد. در این مطالعه از روش نوین اولتراسوند جهت استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی استفاده شد. ترکیبات فنولی توزیع گسترده‌ای در بسیاری گیاهان دارند. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی عمدتاً ناشی از قدرت احیاءکنندگی و ساختار شیمیائی آن‌هاست که آن‌ها را قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه می‌سازد (۲۶). ترکیبات فنولی از طریق اهداء الکترون به رادیکال‌های آزاد واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کنند (۲۷). ترکیبات شیمیایی چای عبارتند از پلی‌فنل‌ها (کاتچین‌ها و فلاونوئیدها)، آلکالوئیدها (کافئین، تئوروبین، تئوفیلین و غیره) روغن‌های فرار، پلی‌ساکاریدها، آمینواسیدها، چربی‌ها، ویتامین‌ها و عناصر معدنی. پلی‌فنول‌ها از فلاونوئیدهای موجود در چای بوده و مسئول سلامت بخشی آن هستند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنل‌های چای تنها مربوط به توانایی آن‌ها در جدا کردن سوپراکسیدها نیست بلکه مربوط به افزایش فعالیت بعضی از آنزیم‌ها مثل گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون اس ترانسفراز، کاتالاز و غیر نیز می‌باشد (۲۸). در تحقیق کومز و همکاران (۲۰۰۹) و کاروری و همکارانش (۲۰۰۷) بر روی نمونه‌های چای کشورهای چین، ژاپن و کنیا نیز نشان دادند که میزان پلی‌فنلی کل نمونه‌های چای سبز بیشتر از انواع چای سیاه بوده است. نتایج این پژوهش ازنظر میزان ترکیبات فنلی کل به‌دست‌آمده با پژوهش حاضر همخوانی دارد (۳۰ و ۲۹). در تحقیق انجام شده توسط آستیل و همکاران (۲۰۰۱) میزان پلی‌فنل کل موجود در ۹۵ درصد نمونه چای سبز اختلاف معنی‌داری داشته و بین ۱۱/۹ تا ۲۵/۲ درصد وزن خشک با میانگین ۱۷/۵ درصد و در ۵۵ نمونه چای سیاه مقادیر ۷/۳ تا ۲۱/۹ درصد وزن خشک با میانگین ۱۴/۴ درصد متغیر بوده است (۳۱). در مقایسه‌ی روش‌های استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، از دانه گیاهان با روش‌های استخراج مختلف (سوکسله، اولتراسونیک، شیک، مایکروویو) در سال ۲۰۱۲، با استفاده از سه حلال (آب، اتانول ۵۰٪ و متانول)، بهترین روش استخراج مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج حاصل نشان دادند که روش سوکسله دارای بالاترین بازدهی استخراج، اولتراسوند دارای بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، روش اولتراسوند و مایکروویو دارای بیشترین ترکیبات فلاونوئید کل، سوکسله دارای بالاترین فنل کل و اولتراسوند بالاترین فعالیت آنتی‌باکتریایی را در مقایسه با سایر روش‌های دیگر دارند و از میان حلال‌های استفاده شده آب و متانول دارای بالاترین بازدهی استخراج و در مورد سایر پارامترها بهترین نوع حلال متانول می‌باشد (۳۲). نتایج میزان ترکیبات فنولی کل عصاره چای سبز و گیاه کلپوره استخراج شده توسط روش التراسوند و با حلال آب/اتانول در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- میزان ترکیبات فنولی در عصاره‌های استخراجی (mg/g عصاره)

عصاره استخراجی	میزان ترکیبات فنولی (mg/g)
کلپوره	۱۱۶/۴۴ ± ۰/۱۲[b]
چای سبز	۱۲۴/۳۶ ± ۰/۹۱[a]

*حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵)

ارزیابی مهار رادیکالی آزاد DPPH

یکی از مهم‌ترین آزمون‌های تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره می‌باشد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده غلظت ۱/۵ درصد عصاره کلپوره و چای سبز به ترتیب ۷۹/۰±۲۵/۳۰ و ۸۱/۰۲±۰/۱۹ بالاترین درصد مهار را نسبت به غلظت دیگر نشان داده است ولی نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ مقدار پایین‌تری (۰/۸۰± ۷۷/۱۳) داشته است. این آزمون برای بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارای سازوکار ساده‌ای می‌باشد. ۲ و ۲- دی‌فنیل- ۱-پیکریل هیدرازین یا DPPH یک ترکیب رادیکالی پایدار با رنگ بنفش می‌باشد که با احیا شدن توسط عناصردهنده الکترون یا هیدروژن (ترکیبات آنتی‌اکسیدانی) به دی‌فنیل پیکریل هیدرازین زرد رنگ تبدیل می‌شود. بنیان آزاد DPPH جذب قوی و مشخص در ۵۱۷ نانومتر دارد و بعد از تبدیل به دی‌فنیل پیکریل هیدرازین به سادگی با اسپکتروفتومتر قابل بررسی است. خاصیت مهار رادیکال‌های آزاد یکی از سازوکارهای شناخته شده در جلوگیری از اکسایش لیپید توسط آنتی‌اکسیدان است (۳۳). در این مطالعه نتایج نشان‌دهنده آن بود که با افزایش غلظت عصاره‌ها تا ۲ درصد مهار رادیکالی آزادDPPH افزایش معنی‌داری را نشان داده است. در کل از بین عصاره‌های مختلف، عصاره با غلظت یک درصد حجمی/ حجمی عملکرد ضعیف‌تری در ارتباط با مهار رادیکال‌های آزاد داشت. افزایش غلظت ترکیبات فنولی به‌طور مستقیم میزان توانائی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (۳۴). قدرت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف به میزان زیادی به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنولی بستگی دارد. در ترکیبات فنولی با وزن مولکولی پایین‌تر گروه‌های هیدروکسیل راحت‌تر در دسترس قرار می‌گیرند (۳۵). محققین دیگری نیز توانائی عصاره‌های گیاهی مختلف را در مهار رادیکال‌ها مورد بررسی قرار دادند. در بررسی انجام شده توسط راکیک و همکاران (۲۰۰۷) دو گونه‌ی بلوط کوئرکوس کریس و کوئرکوس روبور از نظر میزان مهار در غلظت‌های مختلف مورد ارزیابی DPPH قرار گرفتند. نتایج نشان داد، با افزایش غلظت عصاره متانولی از ۱۰۰- ۱۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر درصد مهار رادیکال‌های آزاد به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافت که با این پژوهش همخوانی دارد (۳۶).

جدول ۲- میزان درصد مهار رادیکالی آزاد عصاره‌های استخراجی (درصد)

عصاره استخراجی	۱ درصد	۱/۵ درصد	۲ درصد
چای سبز	۶۶/۱ ± ۶۱/۴۵[b]	۷۲/۰ ± ۴۱/۸۱[b]	۸۱/۰ ± ۲/۱۹[b]
کلپوره	۶۱/۳ ± ۳۸/۵۰[c]	۶۶/۱ ± ۷۵/۱۲[c]	۷۹/۰ ± ۲۵/۳۰[c]
TBHQ (100 ppm)	۸۸/۲ ± ۲۰/۸۸[a]	۸۸/۲ ± ۲۰/۸۸[a]	۸۸/۲ ± ۲۰/۸۸[a]

*حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵)

ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها

در جدول ۳ عصاره هر دو گیاه چای سبز و کلپوره با غلظت ۱/۵ درصد نسبت به دو غلظت دیگر اثر

مهارکننـدگی بیشـتری را ایجـاد نمـوده اسـت. در ایـن مطالعه از دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی استفاده شد کـه نتـایج حاصـل نشـان‌دهنده ایـن موضـوع بـود کـه عصاره‌های استخراجی بـر روی باکتری‌هـای گـرم منفـی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت تأثیر کمتـری را نشـان داده‌اند. نتایج بررسی نیز نشان داد که عصاره چـای سـبز نسبت به عصاره کلپوره قدرت بـالاتری را در مهـار رشـد باکتری‌ها نشان داد.

جدول ۳- میزان تغییرات آزمون انتشار در آگار با استفاده دیسک عصاره‌های استخراجی (میلی‌متر)

عصاره استخراجی	*اشرشیا کلی*	*لیستریا مونوسیتوژنز*
عصاره کلپوره ۱٪	۲۴/۰ ± ۸۵/۱۱[a]	۲۹/۰ ± ۱۰/۰۱ [a]
عصاره کلپوره ۱/۵٪	۲۱/۰ ± ۱۳/۰۱[b]	۲۴/۰ ± ۴۲/۸ [b]
عصاره کلپوره ۲٪	۱۸/۰ ± ۴۱/۱۹[c]	۲۰/۰ ± ۵۰/۰۰ [c]
عصاره چای سبز ۱٪	۲۳/۰ ± ۱۹/۰۲[a]	۲۸/۰ ± ۸۲/۱۶ [a]
عصاره چای سبز ۱/۵٪	۲۰/۰ ± ۳۷/۰۰[b]	۲۴/۰ ± ۱۹/۴۱ [b]
عصاره چای سبز ۲٪	۱۶/۰ ± ۸۵/۰۰[d]	۱۹/۰ ± ۷۷/۲۵ [c]

* حـروف متفـاوت در هـر سـتون نشـان‌دهنده اخـتلاف معنـی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

همـانطور کـه در جـدول ۴ نشـان داده شـده اسـت عصاره‌های استخراجی بر روی باکتری‌هـای گـرم مثبـت تأثیر مهارکنندگی بیشتری را نشـان داده اسـت در بـین تمامی تیمارهـای مـورد مطالعـه عصـاره بـا غلظـت ۱/۵ درصد بیشترین میزان تأثیر را نشـان داده اسـت. نتـایج بررسی نیز نشان داد کـه عصـاره چـای سـبز نسـبت بـه عصاره کلپوره قدرت بالاتری را در مهـار رشـد باکتری‌هـا نشان داد.

جدول ۴- میزان MIC عصاره‌های استخراجی بر روی میکروارگانیسم‌های عامل فساد (میلی‌گرم/میلی‌لیتر)

عصاره استخراجی	*اشرشیا کلی*	*لیستریا مونوسیتوژنز*
عصاره کلپوره ۱ درصد	۱۰/۰ ± ۸۹/۱۱ [a]	۸/۰ ± ۴۱/۷۵[a]
عصاره کلپوره ۱/۵ درصد	۱۰/۰ ± ۴۰/۰۱ [ab]	۷/۰ ± ۵۷/۶۲[c]
عصاره کلپوره ۲ درصد	۸/۰ ± ۶۶/۰۱ [d]	۶/۰ ± ۳۳/۴۴[d]
عصاره چای سبز ۱ درصد	۱۰/۰ ± ۵۲/۰۰ [ab]	۷/۰ ± ۸۹/۱۹[ab]
عصاره چای سبز ۱/۵ درصد	۹/۰ ± ۸۵/۰۰ [c]	۷/۰ ± ۴۷/۰۱[c]
عصاره چای سبز ۲ درصد	۸/۰ ± ۱۸/۰۰ [e]	۶/۰ ± ۱۹/۰۱[d]

*حـروف متفـاوت در هـر سـتون نشـان‌دهنـده اخـتلاف معنـی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

در جـدول ۵ نشـان داده شـده اسـت در میـان تمـامی عصاره‌های استخراجی عصاره با غلظت ۱/۵ درصـد دارای میزان حـداقل کشـندگی پـایین‌تر و درنتیجـه بیشـترین قدرت کشندگی بوده است. در قیـاس باکتری‌هـای گـرم منفی و گرم مثبت نیز سـایر دو آزمـون میکروبـی دیگـر بـاکتری گـرم مثبـت لیسـتریا مونوسـیتوژنز نسـبت بـه عصاره‌ها مقاومت کمتری را نشان داده‌اند. نتـایج بررسـی نیز نشان داد کـه عصـاره چـای سـبز نسـبت بـه عصـاره کلپوره قدرت بالاتری را در مهـار رشـد باکتری‌هـا نشـان داد.

جدول ۵- میزان MBC عصاره‌های اسـتخراجی بـر روی میکروارگانیسم‌های عامل فساد (میلی‌گرم/میلی‌لیتر)

عصاره استخراجی	*اشرشیا کلی*	*لیستریا مونوسیتوژنز*
عصاره کلپوره ۱ درصد	۱۸/۰ ± ۳۳/۲۸[a]	۱۴/۰ ± [۸۵/۰۰a]
عصاره کلپوره ۱/۵ درصد	۱۶/۰ ± ۸۴/۰۱ [b]	۱۳/۰ ± ۱۹/۰۲[b]
عصاره کلپوره ۲ درصد	۱۵/۰ ± ۱۹/۲۸[c]	۱۰/۰ ± ۲۰/۰۹[d]
عصاره چای سبز ۱ درصد	۱۸/۰ ± ۴۵/۰۰[a]	۱۴/۰ ± ۶۶/۴۲[a]
عصاره چای سبز ۱/۵ درصد	۱۶/۰۰ ± ۷۵/۱۸ [b]	۱۲/۰ ± ۸۴/۱۵[c]
عصاره چای سبز ۲ درصد	۱۵/۰ ± ۱۱/۴۵[c]	۱۰/۰ ± ۰۰/۰۰[d]

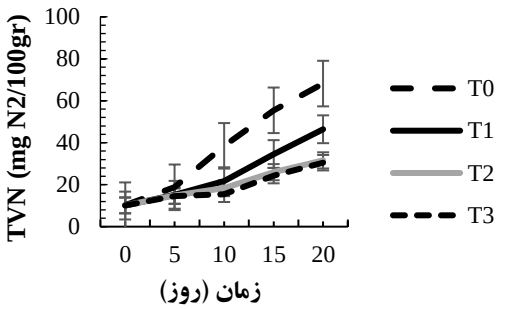
* حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

نتایج نشان داد عصاره‌های مورد بررسی توانستند روی باکتری‌های مورد بررسی اثرات مهارکنندگی و کشندگی داشته باشند. در کل باکتری گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری نشان دادند. وجود مقادیر زیادی از ترکیبات فنولی در عصاره برگ چای سبز و گیاه کلپوره بدون تردید محکم‌ترین دلیل برای اثر ضدمیکروبی این عصاره بر روی میکروارگانیسم‌های عامل فساد می‌باشد (۳۷). برگ‌های سبز چای غنی از فلاوونوئیدهاست که شامل کاتچین، اپی‌کاتچین، اپی‌گالو کاتچین، اپی‌گالو کاتچین گالات می‌باشد که گالات‌های کاتچین نامیده می‌شوند. از یک اسکلت بنزوپیرانی با یک گروه فنیل جانشین شده در موقعیت ۲ و یک گروه عاملی هیدروکسیل (یا استر) در موقعیت ۳ تشکیل شده‌اند (۳۸). در مطالعه‌ای در سال ۱۹۹۹ مشخص شد که کاتکین‌ها مانع آزاد شدن ورو توکسی از *اشرشیا کلی* انتروهموراژیک و درنتیجه مهار بیماری‌زایی باکتری می‌شود. گفته شده است که پلی‌فنول‌های گیاهی یا اصطلاحاً تانن‌ها از طریق اتواکسیداسیون و تولید هیدروژن پراکسید اثرات مهاری خود را بر رشد یاخته اعمال می‌کنند. حسنی و همکاران به بررسی اثر چای سیاه و سبز بر رشد و تشکیل بیوفیلم در میکروارگانیسم‌های خانواده انتروباکتریاسه پرداختند، آن‌ها در طی نتایج خود بیان کردند، از آنجا که چای به‌طور مستقیم پس از نوشیدن بر دستگاه گوارش اثر می‌گذارد، منجر به کاهش انتروباکتریاسه‌ها و کاهش کلونیزاسیون آن‌ها بر سطح سلول‌های اپی‌تلیال دستگاه گوارشی، کاهش خطر عفونت‌های روده‌ای و کاهش تولید مواد سرطان‌زا از قبیل اسکاتول در اثر متابولیسم ای باکتری‌ها در روده می‌شود و همچنین از پلی‌فنول‌های چای می‌توان به‌عنوان نگهدارنده موادغذایی در صنعت بهره گرفت. در تحقیق هاشمی و همکاران به اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی چای سبز و سیاه روی سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* حاوی بتالاکتاماز پرداخته شد و نشان داده شده است که چای سبز در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر سفوتاکسیم و سفتازیدیم دارای اثرات ضدباکتریایی مؤثرتری در برابر *سودوموناس آئروژینوزا* حاوی بتالاکتاماز می‌باشد. مارینو و همکاران (۲۰۱۲) جهت استخراج ترکیبات فنولیکی از گیاه کلپوره با استفاده از حلال متانول مطالعه‌ای را انجام دادند. نتایج این بررسی نشان داد که در عصاره‌ی استخراج شده چهار گروه فنولیکی شناخته شده و یک ترکیب گلیکوزیدی فنیل اتانوئیدی جدید به نام Poliumoside وجود دارند؛ که ترکیبات فنولیکی و گلیکوزیدی فنیل اتانوئیدی مذکور با استفاده تست‌های سنجش قدرت آنتی‌اکسیدانی (بتاکاروتن – لینولاییک اسید، DPPH) دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد و این ظرفیت را دارا می‌باشند که برای استفاده در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرند (۳۹). نیستانی و همکاران به بررسی اثر مهاری چای سبز و سیاه بر رشد باکتری *اشرشیا کلی* پرداختند. نتایج حاصل از تحقیقات آن‌ها این بود که عصاره‌های چای سیاه و سبز به‌طور انتخابی و وابسته به دوز روی آنتی‌بیوتیک‌ها اثرات هم افزاینده یا مهاری داشتند و توان آنتی‌اکسیدانی عصاره چای سبز در مقایسه با چای سیاه به طرز معنی‌داری بالاتر بود. به نظر می‌رسد اثرات مهاری چای مستقیماً به توان آنتی‌اکسیدانی آن مربوط است و پلی‌فنول‌های چای در شرایط خاصی به‌صورت اکسیدان عمل کرده و از این طریق اثرات مهاری خود را بر رشد سلولی اعمال می‌کنند. یافته‌های این مطالعه امکان استفاده از مقادیر چای یا پلی‌فنل‌های حاصل از آن به‌عنوان درمان کمکی در بیماران تحت درمان یا دیابت

بیان می‌کند و این پژوهش با پژوهش حاضر تطابق دارد (۴۰).

ارزیابی میزان کل ازت پایه فرار

مطابق با نمودار ۱، تغییرات میزان ازت پایه فرار نمونه‌های ماهی در طی زمان روندی صعودی را طی نموده است و در ۲۰ روز بعد از نگهداری به بالاترین مقدار خود رسیده است، به‌طوری‌که بعد از ۲۰ روز نگهداری نمونه حاوی ۱.۵ درصد عصاره کلپوره و چای سبز (T_3) و نمونه شاهد (T_0) به ترتیب پایین‌ترین و بالاترین میزان ازت پایه فرار را نشان دادند. زمان نگهداری نیز بر روی تغییرات میزان ازت پایه فرار نمونه‌های ماهی معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$) و با گذشت ۲۰ روز از نگهداری ماهی، تغییرات میزان ازت پایه فرار افزایش قابل‌توجهی را نشان داده است. به‌طورکلی بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، در این مطالعه پارامترهای زمان و درصد عصاره به‌عنوان متغیرهای مؤثر بر تغییرات میزان ازت پایه فرار مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد که با افزایش درصد عصاره به‌طور معنی‌داری تغییرات میزان ازت پایه فرار نسبت به غلظت‌های پایین‌تر و نمونه‌های شاهد کاهش یافته است. افزایش میزان مجموع بازهای نیتروژنی فرار طی دورهٔ نگهداری را می‌توان با فعالیت‌های باکتریایی مولد فساد و آنزیم‌های درونی مرتبط دانست (۴۱). از آنجا که مجموع بازهای نیتروژنی فرار به‌طور عمده در اثر تجزیهٔ باکتریایی گوشت ماهی ایجاد می‌شود، افزایش بار باکتریایی طی دوره را نیز می‌توان دلیلی برای این مورد دانست (۴۲). تشکیل مجموع بازهای نیتروژنی فرار در گوشت ماهی به‌طور عمده نتیجهٔ شکستن پروتئین‌هاست که مربوط به فعالیت‌ها میکروبی و آنزیم‌های پروتئولیتیک است (۴۳). در این آزمایش در روز صفر میزان اولیه کل ازت پایه فرار برابر ۱۰ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم نمونه بود که از میزان اولیه کل ازت پایه فرار در کپور نقره‌ای تازه که توسط فن و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش شد و برابر ۷/۳ بود بیشتر بود. البته تنوع در میزان کل ازت پایه فرار گونه‌های ماهی می‌تواند به علت ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی ماهی باشد که آن نیز به نوع تغذیه ماهی، فصل صید، اندازه ماهی و نیز فاکتورهای محیطی دیگر و به‌طور مستقیم به فعالیت میکروبی در بافت ماهی بستگی دارد. در آزمایش ما، در طول ۲۰ روز نگهداری، میزان این پارامتر در نمونه‌های تیمار شده با عصاره اولتراسوندی چای سبز و کلپوره از حد مجاز بالاتر رفت. این امر می‌تواند به علت کاهش سریع جمعیت باکتری یا کاهش توانایی باکتری برای دامیناسیون اکسیداتیو ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی در نمونه تیمار با عصاره گیاهان موردنظر باشد. مقدار کل ازت پایه فرار پایین‌تر در نمونه‌های تیمار با عصاره گیاهان موردنظر را می‌توان به علت ویژگی‌های آنتی‌باکتریایی گیاه و به‌خصوص ترکیبات فنلی دانست (۴۴). که ماهیت هیدروفوبیک این ترکیبات فنلی باعث می‌شود این ترکیبات در فاز لیپیدی سلول باکتری با به عبارتی فسفولیپیدی غشا سلولی اختلال ایجاد نمایند و سبب افزایش در نفوذپذیری و از دست رفتن محتویات سلول شوند (۴۵). مکانیسم دیگری که برای فعالیت آنتی‌باکتریایی ترکیبات فنلی در منابع ذکر شده است اختلال در سیستم آنزیمی و غیرفعال کردن آن یا تخریب مواد ژنتیکی می‌باشد که با تحقیق محمدزاده و همکاران (۱۳۹۲) با موضوع اثر پلی‌فنل‌های چای سبز بر تغییرات میکروبی و شیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به هنگام نگهداری در یخ مطابقت دارد که با گذشت زمان مجموع بازهای نیتروژنی فرار به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (۴۶).



.

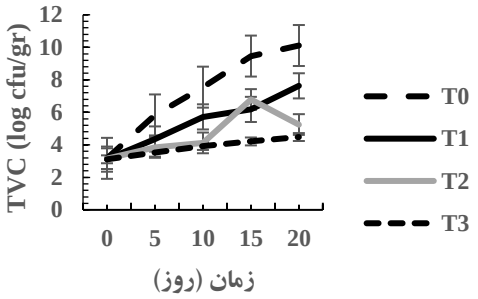
نمودار ۱- تأثیر درصدهای مختلف عصاره سبز و کلپوره بر روی تغییرات کل ازت پایه فرار در طی زمان نگهداری ماهی

T_0 (نمونه شاهد)، T_1 (ماهی تیمار شده با یک درصد عصاره چای سبز و کلپوره)، T_2 (ماهی تیمار شده با یک و نیم درصد عصاره چای سبز و کلپوره)، T_3 (ماهی تیمار شده با دو درصد عصاره چای سبز و کلپوره).

ارزیابی شمارش کلی باکتری

مطابق با نمودار ۲، تغییرات میزان شمارش کلی باکتری نمونه‌های ماهی در طی زمان روندی صعودی را طی نموده است و در ۲۰ روز بعد از نگهداری به بالاترین مقدار خود رسیده است، به‌طوری‌که بعد از ۲۰ روز نگهداری نمونه حاوی ۱/۵ درصد عصاره کلپوره و چای سبز (T_3) و نمونه شاهد (T_0) به ترتیب پایین‌ترین و بالاترین میزان شمارش کلی باکتری را نشان دادند. زمان نگهداری نیز بر روی تغییرات میزان شمارش کلی باکتری نمونه‌های ماهی معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$) و با گذشت ۲۰ روز از نگهداری ماهی، تغییرات میزان شمارش کلی باکتری افزایش قابل‌توجهی را نشان داده است. به‌طورکلی بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، در این مطالعه پارامترهای زمان و درصد عصاره به‌عنوان متغیرهای مؤثر بر تغییرات میزان شمارش کلی باکتری مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد که با افزایش درصد عصاره به‌طور معنی‌داری تغییرات میزان شمارش کلی باکتری نسبت به غلظت‌های پایین‌تر و نمونه‌های شاهد کاهش یافته است. میزان ابتدایی شمارش کلی باکتری‌ها در مطالعه حاضر در هر چهار گروه ۳/۱۵ log CFU/gr بود که بیانگر کیفیت خوب ماهی مورد مطالعه می‌باشد. با توجه به اینکه بار میکروبی اولیه ماهیان آب شیرین، بسته به عواملی چون وضعیت آب و دمای محیط پرورش تغییر می‌کند، محققان مقدار شمارش کلی باکتری‌ها log CFU/gr ۶-۲ را برای گونه‌های مختلف آب شیرین (تیلاپیا، باس راه‌راه، قزل‌آلای رنگین‌کمان، سوف نقره‌ای) پیشنهاد داده‌اند (۴۸ و ۴۷). حداکثر میزان قابل‌قبول شمارش کلی باکتری‌ها، برای ماهیان آب شیرین توسط کمیته بین‌المللی ویژگی‌های میکربی غذاها ۷ log CFU/g پیشنهاد شده است (۴۹). میزان شمارش کلی باکتری‌ها برای هر چهار تیمار با گذشت زمان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. افزایش بار باکتریایی با گذشت زمان نگهداری ماهی در دمای یخچال به اثبات رسیده است (۵۰). میزان شمارش کلی باکتری‌ها در تیمار کنترل تا روز دهم ۷/۵۵ log CFU/gr بود درحالی‌که بعد از آن در روز ۱۵ به ۹/۴۶ log CFU/gr رسید. در تیمار حاوی عصاره ۲ درصد تا پایان دوره ۴/۴۸ log CFU/gr بود که دست آورد حاصل با نتایج تحقیق برکت و همکاران که اثر محلول کاروآکرول و تیمول را بر روی فیله‌های ماهی کپور معمولی بررسی کردند، مطابقت دارد (۵۱). باکتری‌های سرمادوست گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیسم‌های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به‌صورت سرد هستند (۵۲). این باکتری‌ها به‌ویژه گونه‌های سودوموناس آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز تولید می‌کنند که سبب افزایش اسیدهای چرب آزاد می‌گردند (۵۳). کاهش شمارش باکتری‌های و درنتیجه افزایش زمان ماندگاری در نمونه‌های تیمار شده با عصاره، نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار عصاره گیاهی به کار برده شده به‌عنوان ترکیب ضدباکتریایی می‌باشد. نتایج این

تحقیق همچنین با نتایج تحقیقات اجاق و همکاران بر روی فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تیمارشده با کیتوزان و اسانس دارچین مطابقت دارد (۴۲).

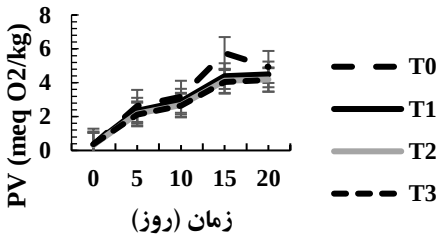


نمودار ۲- تأثیر درصدهای مختلف عصاره سبز و کلپوره بر روی تغییرات شمارش کلی باکتری در طی زمان نگهداری ماهی

T_0 (نمونه شاهد)، T_1 (ماهی تیمار شده با یک درصد عصاره چای سبز و کلپوره)، T_2 (ماهی تیمار شده با یک و نیم درصد عصاره چای سبز و کلپوره)، T_3 (ماهی تیمار شده با دو درصد عصاره چای سبز و کلپوره).

ارزیابی عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید

مطابق با نمودار ۳ تغییرات میزان عدد پراکسید نمونه‌های ماهی در طی زمان روندی صعودی را طی نموده است و در ۲۰ روز بعد از نگهداری به بالاترین مقدار خود رسیده است، به‌طوری‌که بعد از ۲۰ روز نگهداری نمونه حاوی ۱/۵ درصد عصاره کلپوره و چای سبز (T_3) و نمونه شاهد (T_0) به ترتیب پایین‌ترین و بالاترین میزان عدد پراکسید را نشان دادند. زمان نگهداری نیز بر روی تغییرات میزان عدد پراکسید نمونه‌های ماهی معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$) و با گذشت ۲۰ روز از نگهداری ماهی، تغییرات میزان عدد پراکسید افزایش قابل‌توجهی را نشان داده است. به‌طورکلی بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، در این مطالعه پارامترهای زمان و درصد عصاره به‌عنوان متغیرهای مؤثر بر تغییرات میزان عدد پراکسید مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد که با افزایش درصد عصاره به‌طور معنی‌داری تغییرات میزان عدد پراکسید نسبت به غلظت‌های پایین‌تر و نمونه‌های شاهد کاهش یافته است.

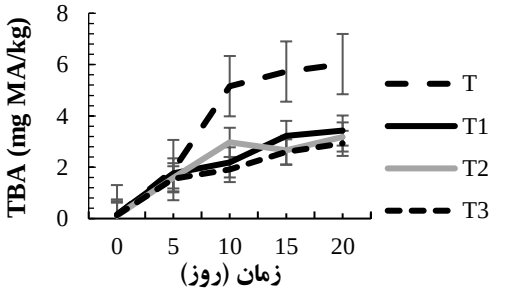


نمودار ۳- تأثیر درصدهای مختلف عصاره سبز و کلپوره بر روی تغییرات عدد پراکسید در طی زمان نگهداری ماهی

T_0 (نمونه شاهد)، T_1 (ماهی تیمار شده با یک درصد عصاره چای سبز و کلپوره)، T_2 (ماهی تیمار شده با یک و نیم درصد عصاره چای سبز و کلپوره)، T_3 (ماهی تیمار شده با دو درصد عصاره چای سبز و کلپوره).

مطابق با نمودار ۴ تغییرات میزان عدد تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های ماهی در طی زمان روندی صعودی را طی نموده است و در ۲۰ روز بعد از نگهداری به بالاترین مقدار خود رسیده است، به‌طوری‌که بعد از ۲۰ روز نگهداری نمونه حاوی ۱/۵ درصد عصاره کلپوره و چای سبز (T_3) و نمونه شاهد (T_0) به ترتیب پایین‌ترین و بالاترین میزان عدد تیوباربیتوریک اسید را نشان دادند. زمان نگهداری نیز بر روی تغییرات میزان عدد تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های ماهی معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$) و با گذشت ۲۰ روز از نگهداری ماهی، تغییرات میزان عدد تیوباربیتوریک اسید افزایش قابل‌توجهی را نشان داده است. به‌طورکلی بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، در این مطالعه پارامترهای زمان و درصد عصاره به‌عنوان متغیرهای مؤثر بر تغییرات میزان عدد تیوباربیتوریک اسید مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد که با افزایش درصد عصاره به‌طور معنی‌داری

تغییرات میزان عدد تیوباربیتوریک اسید نسبت به غلظت‌های پایین‌تر و نمونه‌های شاهد کاهش یافته است.



نمودار ۴- تأثیر درصدهای مختلف عصاره سبز و کلپوره بر روی تغییرات عدد تیوباربیتوریک اسید در طی زمان نگهداری ماهی

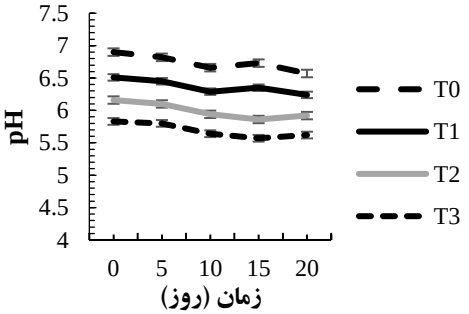
T_0 (نمونه شاهد)، T_1 (ماهی تیمار شده با یک درصد عصاره چای سبز و کلپوره)، T_2 (ماهی تیمار شده با یک و نیم درصد عصاره چای سبز و کلپوره)، T_3 (ماهی تیمار شده با دو درصد عصاره چای سبز و کلپوره).

در مطالعه حاضر نشان داده شده است که هم اکسیداسیون اولیه و هم اکسیداسیون ثانویه توسط عصاره گیاه چای سبز و کلپوره مهار می‌گردد. بر اساس مطالعات کونل و همکاران در سال ۱۹۹۰ حد مجاز عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در فیله ماهی به ترتیب ۵ میلی‌اکی‌والان در هر کیلوگرم روغن و ۲ میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در هر کیلوگرم فیله ماهی بیان شد (۵۴). نتایج داده‌ها حاکی از آن است که نمونه‌های تیمار با عصاره‌های گیاه چای سبز و کلپوره با مهار اکسیداسیون لیپیدها در حفاظت گوشت ماهی نقش عمده دارند چای سبز به علت دارا بودن ترکیبات فنولی با بنیان حلقوی باعث جذب رادیکال آزاد می‌شود؛ درنتیجه با ممانعت از اکسیداسیون از فساد، تغییر رنگ یا تند شدن چربی‌ها جلوگیری می‌کند و نقش مهمی در پیشگیری از اکسیداسیون چربی‌ها دارد (۵۵). اجاق و همکاران (۱۳۹۰) اثر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بتاکاروتن، اسید اسکوربیک به‌عنوان سینرژیست و پلی‌فنول‌های چای را بر کیفیت ماهی کیلکای معمولی به هنگام نگهداری در یخ مورد بررسی قرار دادند. شاخص‌های عدد پراکسید و اسید تیوباربیتوریک در زمان‌های ۱۴، ۳۸ و ۶۲ ساعت پس از صید اندازه‌گیری و با نمونه‌ی مشابه بدون آنتی اکسیدان شاهد مقایسه شدند. نتایج نشان داد در همه‌ی تیمارها با گذشت زمان مقادیر عدد پراکسید و اسید تیوباربیتوریک به شکل معنی‌داری افزایش یافت اما نمونه‌های حاوی آنتی‌اکسیدان در مقایسه با نمونه‌ی شاهد در هر سه زمان (۱۴، ۳۸ و ۶۲ ساعت) به شکل معناداری عدد پراکسید و اسید تیوباربیتوریک کمتری داشت (۴۲)؛ که نتایج آن با این تحقیق همخوانی دارد. در مطالعه‌ای محمد زاده و رضائی (۱۳۹۱) در پژوهشی تأثیر غوطه‌وری ماهی کامل و تخلیه‌ی شکمی‌شده‌ی قزل‌آلای رنگین‌کمان در عصاره‌ی چای سبز را بر کیفیت ماندگاری به هنگام نگهداری در یخ مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد در طی دوره‌ی نگهداری، مقادیر شاخص‌های PV، FFA، TBA، TVB-N، TVC و PVC نمونه‌های غوطه‌ور شده در عصاره‌ی چای سبز، در مقایسه با نمونه‌ی شاهد به شکل معنی‌داری کمتر بود و غوطه‌وری به‌صورت ماهی شکم خالی در عصاره‌ی چای سبز موجب تأخیر بیشتر در روند اکسیداسیون چربی و فساد میکروبی شد و با تحقیق حاضر همخوانی دارد (۴۶). حق‌پرست و همکاران (۲۰۱۱) اثر آب پیاز قرمز و عصاره‌ی چای سبز را بر اکسیداسیون چربی و خصوصیات حسی فیله‌ی تاس‌ماهی ایرانی نگهداری شده در دمای یخچال بررسی کردند. آن‌ها گزارش کردند میزان شاخص‌های شیمیایی اکسیداسیون چربی مانند تیوباربیتوریک اسید و اسیدهای چرب آزاد در تیمارهای ۲.۵ درصد و ۵ درصد عصاره‌ی چای سبز و ۵ درصد آب

پیاز قرمز نسبت به نمونه‌های دیگر بسیار کمتر بود و با تحقیق حاضر همخوانی دارد (۵۶).

ارزیابی نتایج pH

مطابق نمودار ۵ تغییرات میزان pH نمونه‌های ماهی در طی زمان روندی نزولی را طی نموده است و در ۲۰ روز بعد از نگهداری به کمترین مقدار خود رسیده است، به‌طوری‌که بعد از ۲۰ روز نگهداری نمونه حاوی ۱/۵ درصد عصاره کلپوره و چای سبز (T_3) و نمونه شاهد (T_0) به ترتیب پایین‌ترین و بالاترین میزان pH را نشان دادند. زمان نگهداری نیز بر روی تغییرات میزان عدد pH نمونه‌های ماهی معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$) و با گذشت ۲۰ روز از نگهداری ماهی، تغییرات میزان عدد pH کاهش قابل‌توجهی را نشان داده است. به‌طورکلی بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، در این مطالعه پارامترهای زمان و درصد عصاره به‌عنوان متغیرهای مؤثر بر تغییرات میزان pH مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد که با افزایش درصد عصاره به‌طور معنی‌داری تغییرات میزان عدد pH نسبت به غلظت‌های پایین‌تر و نمونه‌های شاهد کاهش یافته است. تجزیهٔ ترکیبات نیتروژنی طی نگهداری ماهی به افزایش pH گوشت منجر می‌شود که بخشی از این افزایش ممکن است با تولید ترکیبات قلیایی مرتبط باشد. چنین افزایشی در pH می‌تواند نشان‌دهندهٔ رشد باکتری‌ها، کاهش کیفیت و درنهایت فساد ماهی باشد (۵۷). pH اولیه فیله‌ها در روز اول ۵/۸۳ – ۶/۹ بود که از میزان pH که توسط فن و همکاران در سال ۲۰۰۹ از فیله‌ی ماهی ۶ گزارش شده بود بیشتر بود. در همه‌ی نمونه‌های ماهی میزان pH در ابتدا کاهش پیدا کرد که با نتایج حاصل از تحقیق مانجو و همکاران در سال ۲۰۰۷ همخوانی داشت (۵۸). بررسی نتایج حاصل از آزمایش pH نشان داد که نمونه‌ی تیمار شده با ۲ درصد عصاره چای سبز و کلپوره با pH پایین‌تر در مهار فعالیت پروتئازهای اندوژن و ممانعت میکروبی نقش بیشتری دارند و بدین ترتیب باعث افزایش حفاظت نمونه‌های ماهی می‌شوند. در مطالعه‌ی حق‌پرست و همکاران (۲۰۱۱) اثر آب پیاز قرمز و عصاره‌ی چای سبز را بر اکسیداسیون چربی و خصوصیات حسی فیله‌ی تاس‌ماهی ایرانی نگهداری شده در دمای یخچال بررسی کردند. آن‌ها گزارش کردند تفاوت معنی‌داری در میزان pH بین تیمارها و نمونه‌های کنترلی در طی دو روز نگهداری مشاهده شد. در تیمار ۵ درصد آب پیاز pH در طی دوره‌ی نگهداری ثابت ماند؛ درحالی‌که در تیمارهای دیگر کاهش تدریجی مشاهده گردید، با پژوهش حاضر همخوانی دارد (۵۶). با تحقیق محمدزاده و همکاران (۱۳۹۲) با موضوع اثر پلی‌فنل‌های چای سبز بر تغییرات میکروبی و شیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به هنگام نگهداری در یخ که مقدار pH در تمامی گروه‌ها دارای روند افزایشی بوده است، همخوانی ندارد (۴۶).



نمودار ۵- تأثیر درصدهای مختلف عصاره سبز و کلپوره بر روی تغییرات pH در طی زمان نگهداری ماهی

T_0 (نمونه شاهد)، T_1 (ماهی تیمار شده با یک درصد عصاره چای سبز و کلپوره)، T_2 (ماهی تیمار شده با یک و نیم درصد عصاره چای سبز و کلپوره)، T_3 (ماهی تیمار شده با دو درصد عصاره چای سبز و کلپوره).

نتیجه‌گیری

با توجه بـه اثـرات زیان‌بـار آنتی‌اکسـیدانی مصـنوعی بـر سلامت انسان استفاده از عصاره‌های گیاهان بـا ترکیبـات آنتی‌اکسیدانی امری است مهم که سبب ارتقای سـلامت جامعه می‌گردد. لذا استفاده از عصاره گیاه چـای سـبز و کلپوره سبب بهبود خواص کیفی و میکروبی ماهی کپـور در طی زمان نگهداری سرد گردید. عصاره کلپوره و چای سبز با توجه به تست‌های تعیین قدرت آنتی‌اکسـیدانی و ضـدمیکروبی دارای قـدرت بـالای آنتی‌اکسـیدانی و ضدباکتریایی هستند. غلظت‌هـای مختلـف عصـاره چـای سبز و کلپوره و همچنین مدت‌زمان نگهداری بـر میـزان ازت پایه فـرار کـل، شـمارش بـاکتری کـل، pH، عـدد پراکسید، عدد تیوباربیتوریک اسید اثرگذار است. مـاهی پوشش داده شده با ۲ درصد عصاره چای سـبز و کلپـوره کمترین pH، عدد پراکسید، ازت پایه فرار کـل، شـمارش بـاکتری کـل، تیوباربیتوریـک اسـید را در طـی زمـان ماندگاری نسبت به نمونـه شـاهد و غلظت‌هـای پـایین‌تر نشـان دادنـد. درنهایـت می‌تـوان نتیجـه گرفـت کـه از عصاره‌ی موجود می‌توان برای افزایش طول عمر نگهداری ماهی کپور استفاده کرد.

References

1. Saelens G, Houf K. Systematic review and critical reflection on the isolation and identification methods for spoilage associated bacteria in fresh marine fish. Journal of microbiological methods. 2022; 203:106599.

2.Jianyun C S, Xiaofei C, Yongkang Y,Zhou L Z. Grape seed and clove bud extracts as natural antioxidants in silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) fillets during chilled storage Effect on lipid and protein oxidation. Food Control.2014;40(1): 134-139.

3.Rocha M, Alemán A, Patríci V, ElviraLópez-Caballero R M, Gómez-Guillénb MC, Prenticea P M C. Effects of agar films incorporated with fish protein hydrolysate or clove essential oil on flounder (*Paralichthys orbignyanus*) fillets shelf-life. Food Hydrocolloids.2018;81(1): 351-363.

4.Raeisi S, Ojagh S M,Sharifi-Rad, M, Sharifi-Rad J, Quek S Y. Evaluation of *Allium paradoxum*(M.B.) G. Don. and *Eryngium caucasicum* trauve. Extracts on the shelf-life and quality of silver carp(Hypophthalmichthys molitrix) fillets during refrigerated storage. Journal of Food Safety.2016;1(1): 52-81.

5.Song Y,Liu L, Shen H, You J, Luo Y k.Effect of sodium alginate-based edible coating containingdifferent anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). Food Control.2011;*22*(3-4):608-615.

6.Nirmal, Benjakul. Retardation of quality changes of pacific white shrimp by green tea extract treatment and mofified atmosphere packaging during refrigerated storage. international journal of food microbiology.2011;24:53-72.

7. Mondal S, Soumya NP, Mini S, Sivan SK. Bioactive compounds in functional food and their role as therapeutics. Bioactive Compounds in Health and Disease-Online. 2021;4(3):24-39.

8.Sharangi.Edicinal and therapeutic potentialities of tea. Food Research International.2009;42: 529-535.

9. Bai S. H, Darby I, Nevenimo T, Hannet G, Hannet D, Poienou M.et al. Effects of roasting on kernel peroxide value, free fatty acid, fatty acid composition and crude protein content. Plos.2018; 1(1):25-50.

10.Choobkar N, Akhondzadeh A, Sari A, Gandomi H, Emamirad A.Effect of

Zataria multiflora boiss essential oil and nisin on shelf life in light salted fish filler of silver carp *(Hypophthalmichthys molitrix*). Journal of medicinal plants.2012;11(2):205-215.

11.Abu-Salem, Abou-Arab Ibrahim. Effect of adding green tea extract, thyme oil and/or their combination to luncheon roll meat during refrigerate storage. Journal of American Science.2011;7 (7): 538- 548.

12.Soncu E D, Kolsarici N. Microwave thawing and green tea extract efficiency for the formation of acrylamide throughout the production process of chicken burgers and chicken nuggets. J. Sci. Food Agric.2017;1002(1):1790-1797.

13.Bellés M, Alonso V, Roncalés P,Beltrán J A. Effect of borage and green tea aqueous extracts on the quality of lamb leg chops displayed under retail conditions. Meat Science.2017; 129(1):153-160.

14. Elhawary S F, Hassanein R,Agban M Z, Ibrahim K. Effect of Thyme extract on some Enterobacteriaceae isolated from some meat products in Assiut city. International Clinical Pathology Journal.2016; 3(1).

15.Haute S V, Raes K, Meeren P V d, Sampersa I. The effect of cinnamon, oregano and thyme essential oils in marinade on the microbial shelf life of fish and meat products. Food Control.2016; 68(1): 30-39.

16. Sharififar F, Dehghn-Nudeh G, Mirtajaldini M. Major flavonoids with antioxidant activity from Teucrium polium L. Food Chemistry.2009;112: 885–888.

17.Shen Y, Zhang H, Mia X, Zhang H, Cheng L, Zhang, H. Effects of extraction solvents on antioxidant activities and total phenolic contents of four whole grains. European Journal of Bio Medical Research. 2017; 1(1):2428-5544.

18.Oliveira G K F, Sousa R M F, Morais S A L d, Muno R A A. Batch-injection analysis with amperometric detection of the DPPH radical for evaluation of antioxidant capacity Food Chemistry.2016;192(1): 691-697.

19.Gómez-Estaca, Lacey L d, Gómez-Guillén, Montero. Biodegradable gelatine-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. Food Microbiology.2010; 27(1): 889 896.

20. Abdollahzadeh E, Rezaei M, Hosseini H. Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control Listeria monocytogenes inoculated in minced fish meat. Food control. 2014;35(1):177-83.

21. Haute S V, Raes K, Meeren P V. d, Sampersa I. The effect of cinnamon, oregano and thyme essential oils in marinade on the microbial shelf life of fish and meat products. Food Control.2016; 68(1):30-39.

22.Bai S H, Darby I, Nevenimo T, Hannet G, Hannet D, Poienou M, et al. Effects of roasting on kernel peroxide value, free fatty acid, fatty acid composition and crude protein content. Plos.2017; 1(1):25-50.

23.Javan J, Ghazvinian, Mahdavi, Vayeghan J, Steji, Ghaffari Khaligh S. The effect of dietary Zataria multiflora Boiss. essential oil supplementation on microbial growth and lipid peroxidation

31 .Elhawary S F ,Hassanein R, Agban M Z, Ibrahim K. Effect of Thyme Extract on Some Enterobacteriaceae Isolated from Some Meat Products in Assuit City. International Clinical Pathology Journal.2018; 3(1): 114-121.

32.Kothari V,Gupta A, Naraniwal M. Comparative study of various methods for extraction of antioxidant and antibacterial compounds from plant seeds. Journal of Natural Remedies. 2012; 162 - 173.

33.Jordána M J, Laxa V, Rotab M. C, Loránb S, Sotomayora J A. Effect of the phenological stage on the chemical composition, and antimicrobial and antioxidant properties of Rosmarinus officinalis L essential oil and its polyphenolic extract. Industrial Crops and Products.2013; 48:144-152.

34.Luo, Zhang J. R, Li H B, Wu D T, Geng F, Corke H, et al. Green Extraction of Antioxidant Polyphenols from Green Tea.Antioxidant.2020; 9(9): 785.

35.Bonacci S, Di Gioia M L, Costanzo P, Maiuolo L, Tallarico S, Natural Deep Eutectic Sovlent as Extraction Media from olive oil Processing Wastes.Antioxidant.2020; 9: 513.

36. RakicS P, J K, M J. Influence of thermal treatment on phenolic compouds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chemistry.2007;104: 830-834.

37.Rop, Sochor J, Jurikova, Zitka, Skutkova H, Mlcek . Effect of Five Different Stages of Ripening on Chemical Compounds in Medlar (Mespilus germanica L.). Molecules.2011; 16:74-91.

38. Angis, O. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on chemical of broiler breast fillets during refrigerated storage. Journal of Food Processing and Preservation.2012; 1745-4549.

24.Chengb J H, Sun DW, Wei Q. Enhancing visible near-infrared hyperspectral imaging prediction of tvb-n level for fish fillet freshness evaluation by filtering optimal variables. Food Analytical Methods.2017; 10(6):1888-1898.

25.Siskos, Zotos S, Melidou, Tsikritzi. The effect of liquid smoking of fillets of trout (Salmo gairdnerii) on sensory, microbiological and chemical changes during chilled storage. Journal of Foodchemistry.2007; 101(1): 458 464.

26.Farhoosh R, Tavassoli-Kafrani M H. Polar compounds distribution of sunflower oil as affected by unsaponifiable mattersof Bene hull oil (BHO) and tertiary-butylhydroquinone (TBHQ) during deep-frying. Food Chemistry.2010; 122: 381-385.

27.Farhoosh, KHodaparast M A. Olive oil oxidation: rejection points in terms of polar, conjugated diene, and carbonyl values. Food Chemistry2012; 131:9211-9245.

28.Fernandez, Perez-Alvarez J A,Fernandez-Lopez J A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat.Food Chemistry. 1998;59(3): 345-353.

29.Komes D H, Belscak K K, Baljak. Determination of caffeine content in tea and mate tea by using different methods. Czech Journal of Food Science.2009; 27(1): 213- 216.

30.Karori FN, W Wanyoko, RM N. Antioxidant capacity of different types of tea products. African Journal of Biotechnology,2009; 6(19):2287- 2296.

and microbiological properties of fresh rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during storage at refrigerator temperatures. African Journal of Microbiology Research.2013; 7 (13): 1136-1143.

39.Marino S D, Festa C, Zollo F, Incollingo F, Raimo G, Evangelista G, et al. Antioxidant activity of phenolic and phenylethanoid glycosides from *Teucrium polium* L. Food Chemistry. 2012; 133: 21-28.

40.Neistani T, Khalaji N. Study of the inhibitory effect of black tea and green tea on the growth of *Escherichia coli* pathogenic in laboratory environment. Iranian journal of nutrition sciences and food industry. 2006; 3:33-38.

41.Yilmaz C, Kocaman K M, Yilmaz H. The effect of vacuum and modified atmosphere packaging on growth of Listeria in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. Journal of Muscle Foods,.2009;20(4): 465-477.

42.Ojagh Rezaei, SH R, S M H H. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. J Food Chem.2010; 120: 193-198.

43.Yasin T, Abou-Taleb S. Antioxidant and antimicrobial effects of marjoram and thyme in coated refrigerated semi fried mullet fish fillets. World Journal of Dairy and Food Sciences.2007; 2(1): 1-9.

44.Baydar, Sagdic, Ozkan G, Karadogan T. Antibacterial activity and composition of essential oils From *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. Food Chemistry.2004;15:169-172.

45.Mahmoud, Yamazaki, Miyashita K, II-Shik S, Dong-Suk C, Suzuki. Bacterialmicroflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. Food Microbiology.2004; 21:657-666.

46. Mohammadzadeh B, Rezaei M. Effective of green tea extract on lipid quality of rainbow trout during in ice storage. Journal of fisheries.2011; 64:85-93.

47. Soncu E D, Kolsarici N. Microwave thawing and green tea extract efficiency for the formation of acrylamide throughout the production process of chicken burgers and chicken nuggets. J. Sci. Food Agric.2017; 1002(1):1790-1797.

48.Arashisara, Hisara, Kaya, Yanik. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) fillets. Int J Food Microbiol.2004;97:209-214.

49.food, I c o m s f. Microorganisms in foods 2 Sampling for microbiological analysis: Principles and scientific applications. 2nd ed. Buffalo, NY:1999. University of Toronto Press.

50.Mexis, Chouliara, Kontominas. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf-life extension of rainbow trout fillets stored at 4 degrees C. Food Microbiology.2009; 26(6): 598-605.

51.Barakat, Koji, Kazuo, Shin. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. J Food Microb.2004; 21:657-666.

52. KhI S, Ahmed MM, E, EA E. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage

at 4°C. J Food Chemistry. 2007; 102: 1061-1070.
53.Kykkidou, Giatrakou, Papavergou, Kontominas. Savvaidis In: Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4°C. J Food Chemistry.2009;115: 169-175.
54.Connell. Methods of assessing and selecting for quality. In control of fish quality.1990; (3rd ed.). Berlin, Springer.
55.Fennema. New York Marcel Dekker, U.S.A.1996; Food Chemistry.
56.Haghparast, Kashiri, Alipour, Shabanpour. Evaluation of green tea (*Camellia sinenses*) extract and onion (*Allium cepa* L.) juice effects on lipid degradation and sensory acceptance of persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) *Fillets.* A Comparative Study. J. Agr. Sci. 2011;13: 855-868.
57.Gram, Huss. Microbiological spoilage of fish and fish products. International Journal of Food Microbiology.1996; 33(1): 121-137.
58.Fan, Sun, Junxiu, Chen Y, Qiu. Effects of Chitosan coating on qualitynand shelflife of silver carp during frozen storage. Food Chemistry,.2009;115: 66-70.
59.Manju, Jose, Srinivasa Gopal T K, Ravishankar C N. Effects of sodium acetate dip treatmentand vacuum-packaging on chemical, mirobiological, textural and sensory changes of pearls pot (*Etroplus suratensis*) during chill storage. Food Chemistry.2007;102: 27-35.

Investigating the effect of hydroalcoholic extract of Germanders (*Teucrium polium* L.) and green tea leaves (*Camellia sinensis* L.) on the chemical and microbial parameters of carp fish fillet during storage at refrigerator temperature

Tahereh Tabiree[1], Shadi Mehdikhani[2*], Fatemeh Hoseinmoradi[3]

1-M. Sc, Department of Food and Technology, Faculty of Agricultural, Shahre-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Assistant professor, Department of Food and Technology, Faculty of Agricultural, Shahre-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3- Ph.D. student, Department of Food and Technology, Faculty of Agricultural, Shahre-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding Author: dr_sh_112@yahoo.com

Received: 11/12/2023, Accepted: 20/01/2024

Abstract

Aquatic is one of the most important food items in the food table of the people of the world and especially in Iran. Increasing the shelf life of fish is one of the most important challenges faced by food industry researchers today. In this study, the effects of green tea extract and Germanders extract on microbial and qualitative changes of carp were monitored for 20 days at 4°C. In this study, extracts of green tea leaves and tuberose plants were extracted by ultrasound. At three concentrations of 1, 1.5 and 2 volumes / volumes, an antioxidant strength (total phenol and DPPH) and microbial. The results of antioxidant and microbial strength tests showed that extract with 2% concentration had the most antioxidant and antimicrobial properties compared to other extracts. Four concentrations of zero, 1, 1.5 and 2% (v/v) were prepared from the extracts from the ultrasound method and added to the carp. The fish were subjected to TVB-N, TVC, peroxide number, thiobarbituric acid and pH tests for 20 days and every 5 days. At the end of the day, 20 results showed that with increasing concentrations of extract, pH, peroxide, thiobarbituric acid, total ester and total bacterial count decreased significantly, compared to the control and lower concentrations (P<0/05). At the end of the study, the treated fish with 2% extract showed the best quality and microbial yield. Therefore, this study considers the use of green tea extract and Germanders extract for keeping carp.

Keywords: Green tea, *Teucrium polium* L., Carp fish, Storage