

(مقاله پژوهشی)

بررسی اثر هم‌افزایی عصاره‌های آویشن دناپی و چای سبز بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان منجمد

سید خدارحم موسوی نژاد^۱، امیر شاکریان^{۲*}، رضا شرافتی چالشتی^۳، ابراهیم رحیمی^۲

۱- دانش‌آموخته دکتری بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۳- استادیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۰۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۰۲

چکیده

گوشت ماهی یکی از مهم‌ترین منابع پروتئینی است که سریعاً دچار فساد خواهد شد. لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر هم‌افزایی عصاره‌های آویشن دناپی و چای سبز بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در زمان نگه‌داری در حالت انجماد بود. در این مطالعه عصاره هیدروآتانولی برگ چای سبز و آویشن دناپی با استفاده از روش خیساندن استخراج و ترکیبات آن‌ها با روش HPLC شناسایی شدند. عصاره‌ها در غلظت‌های ۰/۵ درصد به صورت تکی و ترکیبی جهت پوشش‌دهی گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌ها به مدت ۶۰ روز در دمای ۱۸- درجه سلسیوس در فریزر نگه‌داری شدند. نمونه‌ها در فواصل ۱۰ روز از نظر pH، ازت تام فرار، میزان تیوباربتوریک اسید، شمارش لیستریا منوسیترنز و خصوصیات حسی مورد ارزیابی قرار گرفتند. بیشترین ترکیبات موجود در آویشن دناپی و چای سبز به ترتیب تیمول ۳۹/۴، کارواکرول ۳۶/۲۷ میلی‌گرم در گرم و اپی‌گالوکاتچین گالات ۱۰۵/۸۸، اپی‌کاتچین گالات ۴۱/۲، اپی‌گالوکاتچین ۲۹/۵۵ و کافئین ۲۹/۴۵ میلی‌گرم در گرم بود. نتایج نشان داد که در طی زمان نگه‌داری، تمام تیمارها سبب کاهش میزان ازت تام فرار، pH، تیوباربتوریک اسید، شمارش لیستریا منوسیترنز نسبت به نمونه شاهد شدند. همچنین تیمار ترکیبی (۰/۵ درصد آویشن دناپی و ۰/۵ درصد چای سبز) بطور معنی‌داری سبب بهبود ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی نمونه‌ها در طی زمان نگه‌داری شدند. لذا این عصاره‌ها می‌توانند به عنوان ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی در صنایع گوشت مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: آویشن دناپی، چای سبز، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، خاصیت ضدباکتریایی، ماهی قزل‌آلای منجمد.

۱- مقدمه

گوشت ماهی منبع غذایی مهمی از پروتئین، ویتامین‌های گروه B و املاحی مانند آهن، روی، منیزیم و فسفر است. حضور و رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد در ماهی در زمان نگهداری آن می‌تواند سبب تغییرات حسی به واسطه تخریب ترکیبات مغذی شوند (۱۳). در حال حاضر افزایش آگاهی عموم مردم نسبت به مضرات افزودنی‌های شیمیایی، تصویری منفی از آن‌ها را در مصرف‌کنندگان ایجاد کرده است. بنابراین سبب توجه بیشتر محققان و صنعت، به جایگزینی چنین ترکیباتی با نگه‌دارنده‌های طبیعی مشتق شده از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی برای افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی شده، تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات سوء نگه‌دارنده‌های مصنوعی مصون باشند (۱۳-۲۰). در دهه‌های اخیر استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به دلیل دارا بودن خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی به عنوان نگه‌دارنده طبیعی جهت افزایش زمان ماندگاری انواعی از مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱۲-۸). آویشن دناپی (*Thymus daenensis*) از گیاهان تیره نعناعیان و حاوی ترکیبات تانن، فلاونوئید گلیکوزید، کافنیک و رزمارینگ اسید می‌باشد. این گیاه در طب سنتی به عنوان هضم‌کننده، ضد اسهال، ضد تشنج، بادشکن، خلط‌آور، ضد رماتیسم، آنتی‌اکسیدان و ضد میکروبی مورد استفاده می‌باشد (۱۰). مطالعات پیشین مشخص نمودند که بیشترین ترکیبات موجود در اسانس آویشن دناپی تیمول، کارواکرول و پاراسیمین بودند (۱، ۱۴). چای سبز به عنوان یکی از پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی با نام علمی *Camellia sinensis* در بخش‌های مختلفی از جهان استفاده می‌شوند. چای سبز حاوی ترکیبات کاتچین، اپیکاتچین، اپیگالو کاتچین و اپیگالو کاتچین گالات بوده و در ایران و بسیاری از کشورهای آسیایی، اروپایی و آمریکای شمالی به عنوان گیاه دارویی استفاده می‌شوند. ترکیبات موجود در چای سبز به

عنوان ماده ضدالتهاب، آنتی‌اکسیدان، ضد میکروبی، ضد موتاژن و ضد سرطان شناخته شده‌اند (۱۸). در مطالعه ای نشان داده شد استفاده از عصاره‌های چای سبز، دانه انگور و انار سبب بهبود خواص حسی و فیزیکی فیله ماهی بونیتو^۱ شد. به طوری که استفاده از عصاره‌ها قبل از لعاب پوشی با یخ سبب کاهش معنی‌دار بد شکلی، در این نوع از فیله ماهی شده بود (۲۶). در مطالعه Mazandrani و همکاران (۲۰۱۶) عصاره انگور کپسوله شده بر روی فیله کپور نقره‌ای در دمای یخچالی بررسی شد و نتایج نشان داد که استفاده این ترکیب، سبب مهار افزایش ازت تام فرار، اکسیداسیون لیپیدی و مهار رشد میکروبی شد، همچنین پذیرش کلی مصرف ماهی در شرایط نگهداری یخچالی تا ۱۵ روز افزایش داشته است (۹). در بررسی دیگری اثر عصاره گوجه همراه با کیتوزان بر روی فیله ماهی سیرا^۲ در داخل یخ، بررسی شد و نتایج نشان دهنده بهبود کیفیت و زمان ماندگاری فیله ماهی شده بود (۱۷). بنابراین با توجه به افزایش علاقه مندی صنعت و مردم در جایگزینی ترکیبات نگه‌دارنده شیمیایی با ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان، این مطالعه به منظور بررسی اثر منفرد و هم‌افزایی عصاره‌های آویشن دناپی و چای سبز بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در زمان نگهداری در حالت انجماد انجام گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه برداری گیاهان

در این مطالعه برگ چای سبز (*Camellia sinensis*) و آویشن دناپی (*Thymus daenensis Celak*) از بازار محلی شهر یاسوج تهیه شدند. گیاهان تهیه شده توسط هرباریم دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد از نظر گونه و جنس تایید شدند. در ادامه پس از خشک کردن در دمای محیط و سایه، توسط آسیاب به صورت کامل پودر شدند و عصاره‌های چای سبز و آویشن دناپی با استفاده از روش خیساندن و اتانول ۷۰

1- Bonito

2- Sierra Fish

لیستریا منوسی‌توزنز و خصوصیات حسی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

۲-۴- اندازه‌گیری pH نمونه‌های ماهی

جهت اندازه‌گیری pH، نمونه‌های ماهی توسط یک هموژنایزر به طور کامل همگن شدند و سپس ۵ گرم از نمونه‌ها به ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و pH نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (۶).

۲-۵- اندازه‌گیری ازت تام فرار

جهت اندازه‌گیری ازت تام فرار، ۱۰ گرم نمونه چرخ شده ماهی در بالن حاوی ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد. در یک ارلن مایر به ظرفیت ۵۰۰ تا ۷۰۰ سانتی‌متر مکعب که بعنوان ظرف گیرنده زیر قسمت سرد کننده دستگاه تقطیر قرار گرفت. ۲۵ سانتی‌متر مکعب از محلول ۲ درصد اسید بوریک و چند قطره متیل قرمز بروموکروزول سبز به عنوان معرف اضافه شد. این محلول سپس توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیترا شد. نتایج آزمایش بر مبنای میلی‌گرم ازت فرار در ۱۰۰ گرم گوشت گزارش شد (۷).

TVN = (اسیدسولفوریک مصرفی $\times 1/4 \times 100$) / وزن نمونه

۲-۶- اندازه‌گیری تیوباریتوریک اسید

جهت اندازه‌گیری تیوباریتوریک اسید، ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه چرخ شده ماهی توزین و در یک بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتری منتقل شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول ۱-بوتانول به نمونه‌ها اضافه و نمونه‌ها بخوبی 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 بخوبی با یکدیگر ترکیب گردید. سپس لوله‌ها به مدت ۲ ساعت در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سلسیوس نگاه‌داری و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر بوسیله اسپکتروفوتومتر قرائت شدند. عدد تیوباریتوریک اسید بر مبنای گرم مالون دی‌آلدئید (به عنوان استاندارد) در ۱۰۰۰ گرم روغن تعیین گردید (۶).

درصد استخراج گردیدند. جهت تهیه عصاره ۲۵ گرم پودر گیاه چای سبز و آویشن دنایی به مدت ۷۲ ساعت در اتانول (۷۰ درصد) قرار داده شد. سپس محلول عصاره‌ها از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شدند و در نهایت محلول صاف شده در دمای اتاق (۲۵ درجه سلسیوس) خشک شدند (۲۲).

۲-۲- شناسایی ترکیبات موجود در عصاره‌ها

جهت شناسایی ترکیبات موجود در عصاره‌های هیدروالکلی آویشن دنایی و چای سبز از دستگاه HPLC (Young lin-) RP-100 ساخت کشور آمریکا و ستون Lichrosphere V18 (250mm \times 4/6 ID \times 4 μ m) استفاده شد. فاز متحرک، استونیتریل-آب (۶۰:۴۰) با شدت جریان ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه بود. شناسایی بوسیله دکتور فرابنفش (مدل UV/VIS-YL 9120) در طول موج ۲۱۵ نانومتر انجام شد. ترکیبات موثره در عصاره بدست آمده از طریق مقایسه با اسید سیرینجیک به عنوان استاندارد داخلی تعیین مقدار شدند.

۲-۳- تهیه نمونه‌های ماهی قزل‌آلا رنگین کمان

ماهی قزل‌آلا رنگین کمان به صورت تازه و زنده با میانگین وزنی ۳۰۰-۳۵۰ گرم از مزرعه پرورش ماهی قزل‌آلا در استان کهگیلویه و بویر احمد تهیه شد. سپس ماهی در زیر هود لامینار و شرایط سترون به ابعاد ۳ \times ۴ \times ۰/۵ سانتی‌متر قطعه قطعه شدند و به صورت غوطه‌وری داخل عصاره‌ها قرار گرفتند. گروه‌ها شامل کنترل (بدون افزودن عصاره)، عصاره ۰/۵ درصد آویشن دنایی، عصاره ۰/۵ درصد چای سبز و عصاره‌های ۰/۵ درصد آویشن دنایی همراه با ۰/۵ درصد چای سبز بودند. سپس نمونه‌ها در کیسه‌های پلاستیکی سترون مخصوص استومیتر قرار داده شدند و همه کیسه‌ها به مدت ۶۰ روز در دمای ۱۸- درجه‌ی سلسیوس در فریزر نگاه‌داری شدند. نمونه‌های گوشت ماهی در فواصل ۱۰ روزه از نظر شاخص‌های pH، ازت تام فرار، عدد تیوباریتوریک اسید، شمارش باکتری

۲-۷- تلقیح و شمارش باکتری لیستریا منوسیوتوزنر

برای تلقیح و شمارش باکتری لیستریا منوسیوتوزنر، سویه استاندارد *Listeria monocytogenes* PTCC 1163 از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. باکتری به محیط کشت مایع ترپتیک سوی براث انتقال و به مدت ۴۸ ساعت در ۳۰ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. سپس محیط کشت حاوی باکتری به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی با محلول رینگر جایگزین گردید. به منظور جداسازی کامل محیط کشت از باکتری محلول حاصل دوباره به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. تعداد باکتری‌ها در مایع زیرین توسط روش کدورت سنجی در طول موج ۵۷۰ نانومتر به دست آمد، به طوری که جذب نوری ۰/۰۸ تا ۰/۱ تقریباً معادل 1×10^8 واحد تشکیل دهنده ی پرگنه از باکتری در هر میلی‌لیتر در نظر گرفته شد. به منظور تأیید نتایج، شمارش باکتریایی به روش کشت سطحی بر روی محیط مولر هیتون آگار (ساخت شرکت مرک آلمان) انجام پذیرفت. سپس به نمونه‌های گوشت ماهی میزان 1×10^6 CFU/g باکتری لیستریا منوسیوتوزنر تلقیح شد. شمارش باکتری لیستریا منوسیوتوزنر هر ۱۵ روز یک بار انجام پذیرفت. در این آزمایش به منظور شمارش جمعیت لیستریا منوسیوتوزنر از محیط Agar TM Listeria CHROM (محیط کشت کروموزنیکی، شرکت میکروبیولوژی کروم آگار فرانسه) و مکمل آن CHROMagar Listeria supplement استفاده شد. به این منظور، به ۵ گرم گوشت ماهی مقدار ۴۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی اضافه و پس از هموژن‌سازی رقت‌های سریالی (۱:۱۰) تهیه شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه رقیق شده را بر روی محیط کشت Agar TM Listeria CHROM با دو تکرار، کشت سطحی داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. پس از

گرمخانه‌گذاری پرگنه‌های آبی با هاله سفید شمارش شدند (۳).

۲-۸- تعیین خصوصیات حسی

جهت بررسی خصوصیات حسی، نمونه‌های گوشت ماهی بعد از پخت (به صورت سرخ کردن) به طور تصادفی رمزگذاری شدند و توسط یک گروه حسی ۱۰ نفره نیمه آموزش دیده مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه‌های گوشت از دیدگاه طعم، بافت و پذیرش کلی براساس مقیاس هدونیک ۵ امتیازی (یک=نامطلوب‌ترین، ۵=مطلوب‌ترین) مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. قطعه‌های گوشت به تکه‌هایی با اندازه ی استاندارد برای گاز زدن بریده شده و در داخل ظرف‌های پلاستیکی غیر قابل نفوذ به هوا قرار داده شد تا پیش از ارزیابی، به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق به تعادل برسند. ارزیاب‌ها برای شست و شوی دهان در بین نمونه‌ها از آب مقطر در دمای محیط استفاده کردند. ارزیابی حسی تیمارها نیز پس از طی ۱۵، ۳۰ و ۶۰ روز انجام شد. مراحل ارزیابی بر روی کلیه تیمارها برای زمان‌های مختلف نگه‌داری اجرا خواهد گردید و نمره ۲/۵ (از ۵) به عنوان نقطه انقطاع برای پذیرش نمونه‌ها و پایان زمان ماندگاری محصول انتخاب شد (۳).

۲-۹- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار گزارش شدند. میانگین‌ها با نرم‌افزار SPSS ۲۱ و آزمون ANOVA با سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ گزارش شدند.

۳- نتایج و بحث

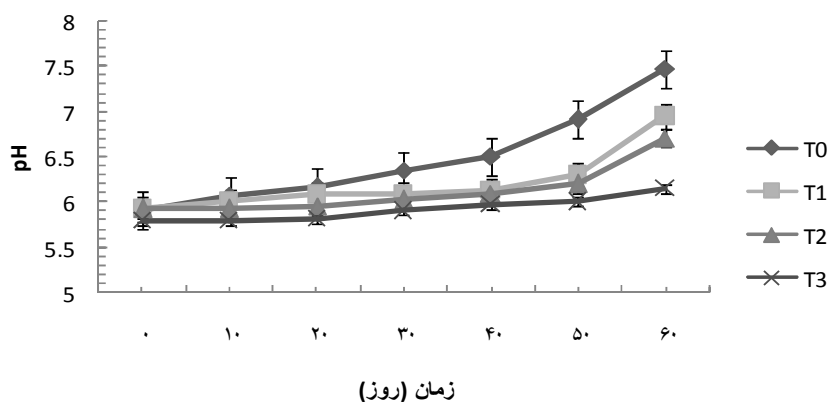
نتایج شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره های هیدروآتانولی آویشن دناپی و چای سبز در جدول شماره ۱ قابل مشاهده است.

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی عصاره هیدروآتانولی آویشن دنايي و چای سبز

آویشن		چای سبز	
mg/g	ترکیب	mg/g	ترکیب
۰/۳۲	آلفا پینن	۶/۴۴	تیانین
۰/۴۸	مایرسین	۷/۱۸	تئوبرومین
۷/۸۲	پارا - سیمین	۲۹/۴۵	کافئین
۰/۴۴	۱، ۸ سینئول	۲/۲۵	گالوکاتچین
۰/۳۸	لاندا - ترپینن	۲۹/۵۵	اپی گالوکاتچین
۰/۱۱	متا - سیمین	۴۱/۲	اپی کاتچین گالات
۱/۶۶	لینالول	۲/۴۸	کاتچین
۰/۳۲	برونئول	۱۱/۱۱	اپی کاتچین
۱/۱۰	آلفا ترپینول	۱۰۵/۸۸	اپی گالوکاتچین گالات
۱/۰۴	تیمول متیل اتر	۵/۹۲	گالوکاتچین گالات
۱/۶۸	کارواکرول متیل اتر	۵/۰۱	بنزوئیک اسید
۳۹/۴۰	تیمول	۱/۵۷	سیرینج آلدهید
۳۶/۲۷	کارواکرول	۱۱/۱۱	دهیدرو کونفریل الکل
۱/۲۴	تیمول استات	۰/۹۱	گالیک اسید
۲/۶۸	بتا کارافیلن	۳/۷۴	سیناپ آلدهید

صعودی داشت و در ۶۰ روز بعد از نگهداری به بالاترین مقدار خود رسید. بعد از ۶۰ روز نگهداری نمونه ترکیبی حاوی عصاره برگ چای و آویشن دنايي و نمونه شاهد به ترتیب پایین‌ترین و بالاترین pH را نشان دادند (شکل ۱).

بیشترین ترکیبات موجود در آویشن دنايي و چای سبز به ترتیب تیمول ۳۹/۴، کارواکرول ۳۶/۲۷ میلی گرم در گرم و اپی گالوکاتچین گالات ۱۰۵/۸۸، اپی کاتچین گالات ۴۱/۲، اپی گالوکاتچین ۲۹/۵۵ و کافئین ۲۹/۴۵ میلی گرم در گرم بود. بر اساس نتایج، pH نمونه‌های ماهی در طی زمان روندی

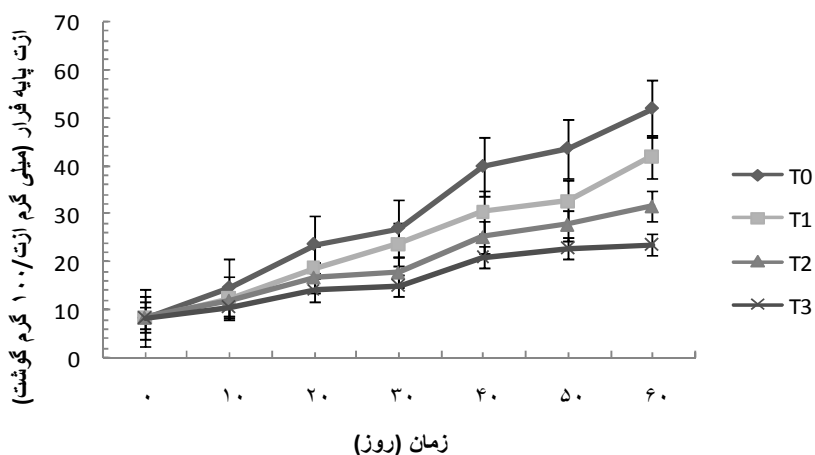


شکل ۱- تاثیر عصاره آویشن و برگ چای سبز بر روی تغییرات pH ماهی قزل آلا طی دوره انجماد

T₀ (نمونه شاهد)، T₁ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد برگ چای سبز)، T₂ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد آویشن)، T₃ (نمونه ترکیبی حاوی هر دو عصاره)

شاهد به ترتیب پایین ترین (۲۳/۵۹±۲/۸۰) میلی گرم ازت فرار در ۱۰۰ گرم) و بالاترین (۵۱/۹۹±۰/۸۹) میلی گرم ازت فرار در ۱۰۰ گرم) ازت تام فرار را نشان دادند (شکل ۲).

نتایج نشان داد که ازت تام فرار نمونه های ماهی در طی زمان روندی صعودی داشتند و در ۶۰ روز بعد از نگهداری به بالاترین مقدار خود رسید. بعد از ۶۰ روز نگهداری نمونه ترکیبی حاوی عصاره برگ چای و آویشن دناپی و نمونه

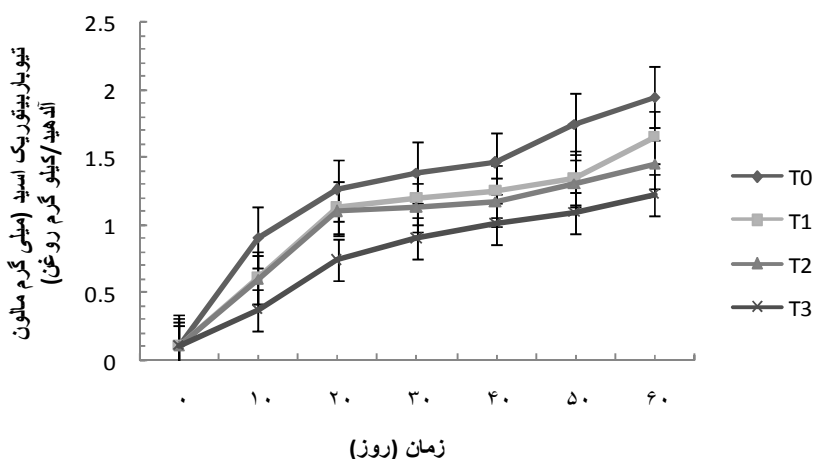


شکل ۲- تاثیر عصاره آویشن و برگ چای سبز بر روی تغییرات ازت تام فرار ماهی طی دوره انجماد

T₀ (نمونه شاهد)، T₁ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد برگ چای سبز)، T₂ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد آویشن)، T₃ (نمونه ترکیبی حاوی هر دو عصاره)

آویشن (۰/۰۴±۱/۴۵ میلی گرم مالون آلدهید/کیلوگرم)، نمونه حاوی چای سبز (۰/۰۲±۱/۶۵ میلی گرم مالون آلدهید/کیلوگرم) و نمونه شاهد (۰/۰۴±۱/۹۵ میلی گرم مالون آلدهید/کیلوگرم) به ترتیب پایین‌ترین و بالاترین میزان مالون دی آلدهید را نشان دادند (شکل ۳).

طبق نتایج بدست آمده میزان مالون دی آلدهید نمونه‌های ماهی در طی زمان افزایش داشت و در ۶۰ روز بعد از نگهداری به بالاترین مقدار خود رسیدند. بعد از ۶۰ روز نگهداری به ترتیب نمونه ترکیبی حاوی عصاره برگ چای و آویشن دناپی (۰/۰۵±۱/۲۳ میلی گرم مالون آلدهید/کیلوگرم)، نمونه حاوی



شکل ۳- تاثیر عصاره آویشن و برگ چای سبز بر روی تغییرات تیوباریتوریک اسید ماهی طی دوره انجماد

T₀ (نمونه شاهد)، T₁ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد برگ چای سبز)، T₂ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد آویشن)، T₃ (نمونه ترکیبی حاوی هر دو عصاره)

برگ چای و آویشن دناپی پایین‌ترین تعداد باکتری لیستریا منوسیتوژنز را نشان داد و افزایش ۰/۴۶ لگاریتمی نسبت به زمان صفر داشت. همچنین تیمار حاوی عصاره آویشن نیز تنها ۲ لگاریتم افزایش باکتری را نسبت به روز صفر نشان داد. در حالی که در نمونه کنترل این افزایش حدود ۵ لگاریتم بود (جدول ۲).

بر اساس نتایج آماری بدست آمده اثر عصاره‌های مختلف برگ چای سبز و آویشن دناپی بر روی تغییرات باکتری لیستریا منوسیتوژنز نمونه‌های ماهی معنی‌دار بود ($p < 0/05$). باکتری لیستریا منوسیتوژنز نمونه‌های ماهی در طی زمان نگهداری افزایش داشتند و در ۶۰ روز بعد از نگهداری به بالاترین مقدار خود رسیدند. با این وجود نمونه حاوی عصاره

جدول ۲- تاثیر عصاره آویشن دناپی و برگ چای سبز بر روی تغییرات شمارش باکتری لیستریا مونوسیژنوز ماهی طی دوره انجماد

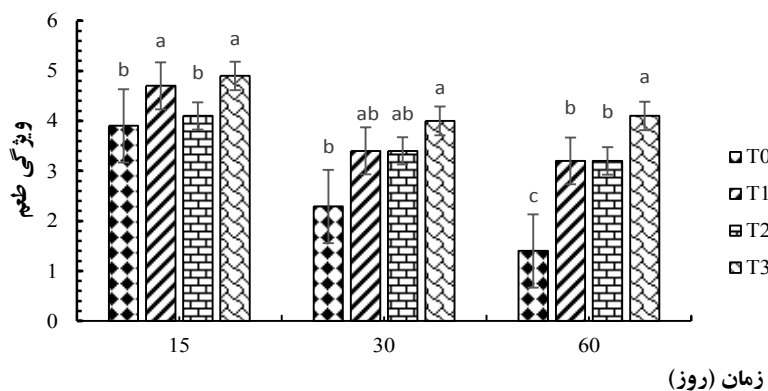
تیمار	روز ۰	روز ۱۰	روز ۲۰	روز ۳۰	روز ۴۰	روز ۵۰	روز ۶۰
T ₀	۴/۰±۰/۱ ^a	۱/۵۷±۰/۳۶ ^a	۲/۳۵±۰/۹۷ ^a	۳/۲۳±۰/۹۹ ^a	۴/۹۹±۱/۳۱ ^a	۵/۳۲±۰/۹۷ ^a	۷/۶±۰/۶۳ ^a
T ₁	۴/۰±۰/۱ ^a	۰/۰±۰/۰ ^b	۱/۴۶±۰/۳۹ ^b	۲/۶۱±۰/۳۴ ^b	۳/۳۵±۰/۳۱ ^b	۴/۱۲±۱/۳۱ ^b	۶/۹۰±۰/۵۲ ^b
T ₂	۴/۰±۰/۱ ^a	۰/۰±۰/۰ ^b	۰/۳۲±۰/۲۲ ^c	۲/۳۳±۰/۳۹ ^b	۳/۶۵±۰/۲۷ ^b	۵/۶۵±۰/۱۶ ^c	۶/۳۲±۰/۴۳ ^c
T ₃	۴/۰±۰/۱ ^a	۰/۰±۰/۰ ^b	۰/۰±۰/۰ ^c	۱/۶۱±۰/۵۳ ^c	۲/۸۳±۰/۰۶ ^c	۳/۶۱±۰/۲۶ ^d	۴/۴۶±۰/۱۷ ^d

حروف کوچک به ترتیب در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد (P<0.05).

* T₀ (نمونه شاهد)، T₁ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد برگ چای سبز)، T₂ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد آویشن)، T₃ (نمونه ترکیبی حاوی هر دو عصاره)

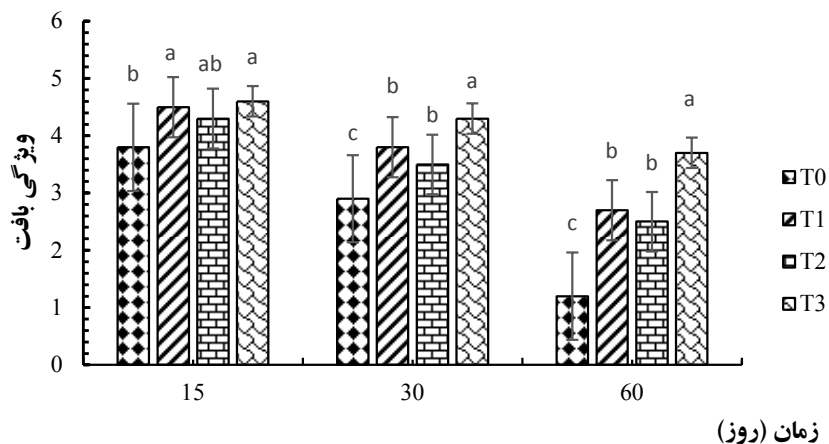
امتیاز حسی را در سه ویژگی مذکور بدست آورد. در روز ۱۵ پس از انجماد نیز تیمار چای سبز تفاوت معنی داری با تیمار ترکیبی چای سبز و آویشن دناپی در مورد ویژگی های طعم و بافتی نشان ندادند (شکل های ۴-۶).

نتایج آزمون های حسی نشان دادند که ویژگی طعم، بافت و پذیرش کلی نمونه های گوشت ماهی در طی زمان روندی نزولی داشتند، با این حال بعد از ۶۰ روز نگهداری در شرایط انجماد نمونه حاوی عصاره برگ چای و آویشن دناپی بالاترین



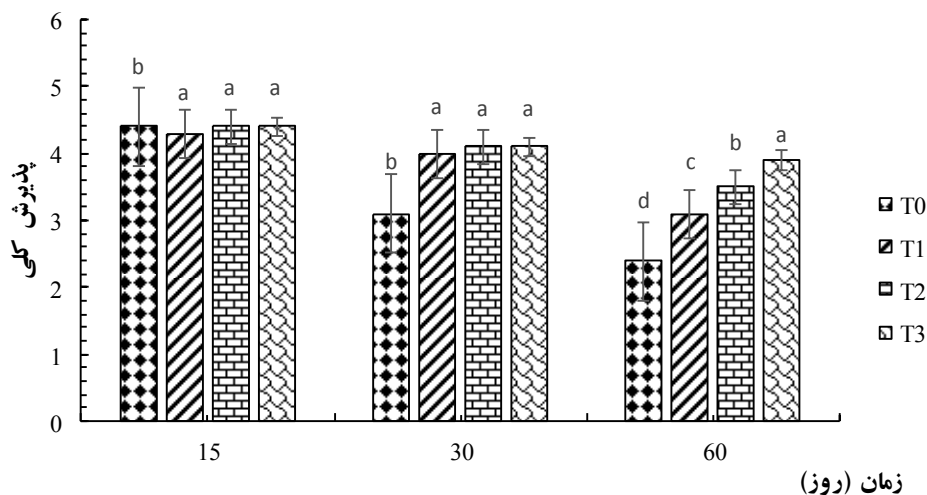
شکل ۴- تاثیر عصاره آویشن و برگ چای سبز بر روی تغییرات حسی (طعم) ماهی طی دوره انجماد

T₀ (نمونه شاهد)، T₁ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد برگ چای سبز)، T₂ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد آویشن)، T₃ (نمونه ترکیبی حاوی هر دو عصاره)



شکل ۵- تاثیر عصاره آویشن و برگ چای سبز بر روی تغییرات حسی (بافت) ماهی طی دوره انجماد

T₀ (نمونه شاهد)، T₁ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد برگ چای سبز)، T₂ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد آویشن)، T₃ (نمونه ترکیبی حاوی هر دو عصاره)



شکل ۶- تاثیر عصاره آویشن و برگ چای سبز بر روی تغییرات حسی (پذیرش کلی) ماهی طی دوره انجماد

T₀ (نمونه شاهد)، T₁ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد برگ چای سبز)، T₂ (نمونه حاوی ۰/۵ درصد آویشن)، T₃ (نمونه ترکیبی حاوی هر دو عصاره)

۴- نتیجه گیری

روش ها جهت کنترل این مخاطرات شده است (۱۸). در مطالعه حاضر تاثیر عصاره های هیدروآتانولی آویشن دنیایی و چای سبز جهت افزایش زمان ماندگاری قزل آلائی رنگین کمان بررسی شد و نتایج حاکی از حفظ کیفیت گوشت ماهی

ماهیان و فراورده های آن از تولیدات اقتصادی بسیاری از کشورها هستند. سرعت فسادپذیری بالا، تغییرات اکسیداسیون، بافت و رنگ آن ها در زمان نگهداری، سبب استفاده از انواع

در دمای انجماد در یک دوره ۶۰ روزه شد. طبق نتایج به ترتیب بهترین اثر را تیمار ترکیبی ۰/۵ درصد آویشن و ۰/۵ درصد چای سبز، تیمار عصاره ۰/۵ درصد آویشن و سپس تیمار عصاره ۰/۵ درصد چای سبز بر روی ماهی داشتند. در مطالعه‌ای توسط Haghparast 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؛ در حالی که در تیمارهای دیگر افزایش تدریجی مشاهده گردید (۵). تاثیر عصاره چای سبز بر ویژگی‌های بیوشیمیایی، میکروبی و حسی ماهی در طی نگه‌داری یخچالی توسط El-Hanafy و همکاران (۲۰۱۱) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد ماهی‌های حاوی عصاره تا ۱۴ روز نگه‌داری هنوز ویژگی‌های کیفی و حسی خود را حفظ نموده‌اند ولی نمونه‌های شاهد تنها ۶ روز این قابلیت رو حفظ نمودند. همچنین نتایج نشان داد که pH تمامی تیمار مورد مطالعه مطابق با نتایج مطالعه حاضر افزایش یافته است. آن‌ها این دلیل افزایش pH را تجزیه ترکیبات آمینی توسط آنزیم‌ها و یا میکروب‌ها گزارش نمودند (۴). Van Haute و همکاران (۲۰۱۶) تاثیر اسانس آویشن، دارچین و پونه را بر بهبود کیفی و عمر نگه‌داری ماهی و محصولات گوشتی را در دمای ۴ درجه سلسیوس مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که تمامی اسانس‌ها به طور معنی‌داری سبب کاهش رشد میکروبی محصولات گوشتی و ماهی شده است. اسانس آویشن سبب کاهش معنی‌داری در عدد پراکسید و ازت پایه فرار در طی نگه‌داری یخچالی شد (۲۵)، که با نتایج مطالعه حاضر مشابهت دارد. Angis and Oguzhan (۲۰۱۳) اثر اسانس آویشن و بسته‌بندی و کیوم و بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده را بر فیله‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طی نگه‌داری به مدت ۱۸ روز

در دمای ۴ درجه‌ی سلسیوس بررسی کردند. میزان تیوباریتوریک اسید و مجموع بازهای نیتروژنی فرار در طی مدت نگه‌داری افزایش یافت. در نمونه‌های حاوی غلظت بالای اسانس آویشن از رشد میکروبی جلوگیری شد. به طور کلی ترکیب اسانس آویشن به همراه بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده اثر سینرژیستی بر افزایش مدت ماندگاری فیله‌ی ماهی نشان داد (۲). این نتایج با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. در مطالعه‌ی اثر ضد لیستریایی اسانس زنیان بر روی ماهی قزل‌آلا در دمای یخچالی بررسی شد و نتایج نشان داد اسانس‌ها در غلظت‌های ۰/۱۵ و ۰/۳ درصد در روز چهارم کاملاً رشد باکتری را نشان دادند و در غلظت ۰/۰۵ درصد سبب کاهش ۳ لگاریتمی باکتری نسبت به گروه کنترل شد (۱۵). در مطالعه Tosun و همکاران در سال ۲۰۱۸، اثر ضد لیستریایی اسانس‌های رزماری، دانه پرتقال و سیر بر روی ماهی قزل‌آلاتتیک در دمای ۲ درجه سلسیوس بررسی شد و اثر مهار رشد اسانس‌ها در مدل غذایی ماهی نشان داده شد (۲۴). وجود فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی در خصوص اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مربوط به ترکیبات فنولی می‌باشد. مکانیسم اثر این ترکیبات اختلال در غشاء فسفولیپیدی سلول و افزایش نفوذپذیری سلول و از دست دادن برخی اجزاء سلولی، تخریب سیستم آنزیمی و مواد ژنتیکی سلول می‌باشند (۲۳، ۱۱). در مطالعه‌های گذشته افزودن انواعی از عصاره‌ها و اسانس‌ها به عنوان طعم دهنده به دلیل بهبود کیفیت طعم و مزه و نهایتاً پذیرش کلی انواعی از مواد غذایی مانند ماهی، گوشت و فراورده‌های آن توصیه شده است (۶، ۷، ۴). نتایج بدست آمده در مطالعه ما نیز مطابق با بررسی‌های محققان دیگر، استفاده از عصاره‌های آویشن دنیایی و چای سبز را جهت بهبود پذیرش کلی ماهی پیشنهاد می‌کند. نتیجه‌گیری می‌شود با توجه به تاثیرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دو عصاره آویشن دنیایی و چای سبز می‌توان از این عصاره‌ها به عنوان یک نگه‌دارنده در صنایع آبزیان و گوشت مورد استفاده قرار داد.

microbial growth, proteolytic spoilage, lipid oxidation and sensory attributes of chicken fillet during refrigerated storage. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 12 (1): 69-78.

8. Kakaei, S. and Shahbazi, Y. 2016. Effect of chitosan-gelatin film incorporated with ethanolic red grape seed extract and ziziphora clinopodioides essential oil on survival of *Listeria monocytogenes* and chemical, microbial and sensory properties of minced trout fillet. *LWT-Food Science and Technology*, 72:432-438.
9. Mazandrani, H.A., Javadian, S. and Bahram, S. 2016. The effect of encapsulated fennel extracts on the quality of silver carp fillets during refrigerated storage. *Food Science & Nutrition*, 4 (2):298-304.
10. Nazari, M., Monajemi, R., Ghasemi Pirbalouti, A., Jafarian Dehkordi, M. and Riahi Dehkordi, M. 2013. Effects of essential oils of thymus deanensis and satureja bachtiarica on plasma lipoproteins in rats feeding with a fatty diet. *Journal of Herbal Drugs*, 3 (4): 243-248.
11. Nieto, G., Ros, G. and Castillo, J. 2018. Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*rosmarinus officinalis*, L.): A Review. *Medicines*, 5 (3): doi: 10.3390/medicines5030098.
12. Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. and Hosseini, S.M.H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 20 (1):193-198.
13. Oladosu-Ajayi, R., George, F., Obasa, S. and Bankole, M. 2013. Effects of some plant extracts on some biological parameters of catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8 (1):142-147.
14. Pirbalouti, A.G., Hashemi, M. and Ghahfarokhi, F.T. 2013. Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated thymus daenensis celak and thymus vulgaris L. *Industrial Crops and Products*, 48: 43-48.
15. Rabiye, S., Hosseini, H. and Rezaei, M. 2014. Use Carum copticum essential oil for controlling the listeria monocytogenes growth in fish model system. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45 (1):89-96.
16. Raeisi, M., Tajik, H., Aliakbarlu, J., Mirhosseini, S.H. and Hosseini, S.M.H. 2015. Effect of carboxymethyl cellulose-based coatings incorporated with zataria multiflora

۵- سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که در انجام این پژوهش یاری نمودند تقدیر و تشکر می‌گردد.

۶- منابع

1. Akbarinia, A., Ashoorabadi, E.S., Mirza, M. 2010. Study on drug yield and essential oil content and composition of thymus daenensis celak. under cultivated condition. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 26 (2):205-212.
2. Angis, S. and Oguzhan, P. 2013. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on chemical and microbiological properties of fresh rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) fillets during storage at refrigerator temperatures. *African Journal of Microbiology Research*, 7 (13):1136-1143.
3. Dimitrijevic, M., Grkovic, N., Boskovic, M., Baltic, M.Z., Dojcinovic, S., Karabasil, N. et al. 2019. Inhibition of listeria monocytogenes growth on vacuum packaged rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) with carvacrol and eugenol. *Journal of Food Safety*, 39 (1): e12553.
4. El-Hanafy, A.E.A., Shawky, H.A. and Ramadan, M.F. 2011. Preservation of oreochromis niloticus fish using frozen green tea extract: Impact on biochemical, microbiological and sensory characteristics. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35(5):639-646.
5. Haghparast, S., Kashiri, H., Alipour, G. and Shabanpour, B. 2011. 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. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13 (6):855-868.
6. Hassanzadeh, P., Moradi, M., Vaezi, N., Moosavy, M.H. and Mahmoudi, R. 2018. Effects of chitosan edible coating containing grape seed extract on the shelf-life of refrigerated rainbow trout fillet. *Veterinary Research Forum*, 9 (1):73-79.
7. Jebelli Javan, A., Moslemi, M., Salimirad, S. and Soleymanpour, S. 2018. Effect of chitosan and trachyspermum ammi essential oil on

22. Sharafati-Chaleshtor, F. and Sharafati-Chaleshtori, R. 2017. In vitro antibacterial and antioxidant properties of elettaria cardamomum maton extract and its effects, incorporated with chitosan, on storage time of lamb meat. *Veterinary Archives*, 87 (3): 301-315.
23. Sharafati Chaleshtori, F., Saholi, M. and Sharafati Chaleshtori, R. 2018. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activity of bunium persicum, eucalyptus globulus, and rose water on multidrug-resistant listeria species. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 23:2515690X17751314.
24. Tosun, S.Y., Ucok Alakavuk, D., Ulusoy, S. and Erkan, N. 2018. Effects of essential oils on the survival of salmonella enteritidis and listeria monocytogenes on fresh atlantic salmon (salmo salar) during storage at $2\pm 1^{\circ}C$. *Journal of Food Safety*, 38 (1): e12408.
25. Van Haute, S., Raes, K., Van Der Meeren, P. and Sampers, I. 2016. The effect of cinnamon, oregano and thyme essential oils in marinade on the microbial shelf life of fish and meat products. *Food Control*, 68:30-39.
26. Yerlikaya, P. and Gokoglu, N. 2010. Effect of previous plant extract treatment on sensory and physical properties of frozen bonito (sarda sarda) filllets. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10 (3):341-349.
- boiss. essential oil and grape seed extract on the shelf life of rainbow trout fillets. *LWT-Food Science and Technology*, 64 (2):898-904.
17. Ramirez-Guerra, H., Castillo-Yanez, F., Montano-Cota, E., Ruiz-Cruz, S., Marquez-Rios, E., Canizales-Rodriguez, D. et al. 2018. Protective Effect of an edible tomato plant extract/chitosan coating on the quality and shelf life of sierra fish fillets. *Journal of Chemistry*, 1-6. doi.org/10.1155/2018/2436045
18. Rasouli, L., Fallah, F., Huseini, H. and Hoseini, S. 2014. Effect of kombucha prepared from green tea on blood glucose level and lipid profile in diabetic rats. *Journal of Medicinal Plants*, 2 (50): 45-53.
19. Rezaeeian, H., Hosseini, S.V., Motalebi, M.A.A. and Mirvaghefi, A.R. 2016. Evaluation of the antimicrobial activity of sea cucumber (holothuria leucospilota) extract on the shelf-life of rainbow trout (oncorhynchus mykiss) fillets during refrigerated storage. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 69 (1):29-37.
20. Sharafati Chaleshtori, R., Mardani, G., Rafieian-Kopaei, M., Sharafati-Chaleshtori, A. and Drees, F. 2013. Residues of oxytetracycline in cultured rainbow trout. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 16 (21):1419-1422.
21. Sharafati Chaleshtori, R., Rafieian-Kopaei, M. and Salehi, E. 2015. Bioactivity of apium petroselinum and portulaca oleracea essential oils as natural preservatives. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8 (3): e20128.

(Original Research Paper)

The Synergistic Effects of *Thymus daenensis* and *Camellia sinensis* Hydroalcoholic Extracts on Chemical and Microbial Properties of Frozen Rainbow Trout

Seyyed Khodarahm Moosavi Nezhad¹, Amir Shakerian^{2*}, Reza Sherafati Chaleshtori³, Ebrahim Rahimi²

1-Ph.D Graduated of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2- Professor, Department of Food Hygiene Department, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

3- Assistant Professor, Biochemistry and Nutrition Research Center in Metabolic Disorders, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

Received:23/06/2019

Accepted:01/10/2019

Abstract

Fish meat is as one the most important source of protein and high spoilage feature. Therefore, the aim of this study was to evaluate the synergistic effects of *Thymus daenensis* (TD) and *Camellia sinensis* (CS) hydro-alcoholic extracts on chemical and microbial properties of rainbow trout during frozen storage. In this experimental study, hydro-alcoholic extracts of TD and CS were extracted using maceration method and determined their compounds by HPLC. Extracts in 0.5% concentrations were studied separately and in combination for coating rainbow trout meat. The coated fish fillet was kept at -18 °C for 60 days and subjected to pH-testing, total volatile nitrogen (TVN), thiobarbituric acid (TBA), count of *Listeria monocytogenes* and sensory evaluation every 10 days. Major compounds in *Thymus daenensis* and *Camellia sinensis* extracts were thymol (39.4 mg/g), carvacrol (36.27 mg/g) and epigallocatechin gallate (105.88 mg/g), epicatechin gallate (41.2 mg/g), epigallocatechin (29.55 mg/g) and caffeine (29.45 mg/g), respectively. The results showed that during the storage period, all treatments reduced TVN, pH, TBA, count of *L. monocytogenes* compared to the control sample. Also, combination treatment (0.5% thyme and 0.5% green tea) significantly improved the chemical, microbial and sensory properties of fish fillet during storage. Therefore, green tea and thyme can be used as antimicrobial and antioxidant compounds in meat industry.

Keywords: Thyme, Green Tea, Antioxidant Activity, Antibacterial Activity, Rainbow Trout.

*Corresponding Author: amshakerian@yahoo.com