

تأثیر عصاره لیموترش (*Citrus limonum*) بر ماندگاری فیله فیل ماهی (*Huso huso*) طی دوره نگهداری در شرایط سرد

باقری آستانی، ز^۱ و فهیم دژبان، ی^{۲*}

۱- کارشناس ارشد، گروه کشاورزی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران

۲- استادیار، گروه منابع طبیعی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران

* نویسنده مسئول: Dr.Fahim79@Yahoo.Com

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۵/۲۸، پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۶/۱۹

چکیده

در این تحقیق تأثیر عصاره لیموترش (*Citrus limonum*) بر ماندگاری فیله فیل ماهی (*Huso huso*) طی دوره نگهداری در شرایط سرد مورد بررسی قرار گرفت. تأثیر سطوح مختلف عصاره طی یک دوره نگهداری دوازده روز بر شاخصهای فساد اکسیداتیو و تعداد باکتری‌های (کل و سرمادوست) فیله ماهی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و سه تکرار برای هر تیمار انجام شد. طبق یافته‌های پژوهش، روند تغییرات شاخصهای فساد اکسیداتیو در هر تیمار طی دوره نگهداری بیانگر آنست که اثر غلظت‌های مختلف عصاره لیموترش و اثر زمان نگهداری بر روی فیله‌های ماهی از نظر آماری معنی‌دار بود. در بازه‌های زمانی مورد بررسی، تیمارهای آزمایشی بطور معنی‌داری ($P < 0/05$) موجب تغییر شاخص اسیدتیوباربیتوریک شدند و سرعت افزایش بار میکروبی در تیمار شاهد به مراتب بیش از تیمارهای آزمایشی بود و استفاده از عصاره در غلظت ۰/۵ درصد تأثیر معنی‌داری بر تعداد باکتری‌های طی دوره نگهداری ندارد در حالیکه استفاده از سطح ۱ درصد عصاره بطور معنی‌داری ($P < 0/05$) موجب کاهش تعداد باکتری‌های سرمادوست شده است. با توجه به نتایج حاصله، استفاده از عصاره و زمان نگهداری فیله‌ها به طور معنی‌داری بر اغلب شاخص‌های فساد باکتریایی و اکسیداتیو مؤثر است. یافته‌های این پژوهش نشان داد بکارگیری عصاره لیموترش در غلظت‌های ۱ و ۱/۵ درصد، بهترین اثربخشی را در نگهداری فیله ماهی داشته است و دارای آثار ضد اکسیداسیونی و ضدباکتریایی است و می‌توان از آن بعنوان یک عصاره زیست تخریب‌پذیر استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: فیل ماهی، عصاره لیموترش، ماندگاری، اکسیداسیون

مقدمه

عنوان بزرگترین گونه ماهیان خاویاری، در فصل تولید به میزان انبوه از مزارع پرورشی برداشت می‌شود و معمولاً به شکل تازه یا منجمد، کامل یا فیله شده به فروش می‌رسد (۱۲). با توجه به تولید بالای این گونه و شیوه مصرف و نگهداری این ماهی که به صورت سرد می‌باشد و با عنایت به تغییرات کیفی ماهیان در هنگام نگهداری به روش سرد و مشکلات استفاده از نگهدارنده‌های مصنوعی، کاربرد مواد طبیعی در حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری قابل بررسی است (۳۷). عصاره‌های گیاهی از جمله این مواد طبیعی می‌باشند که بسته به گروه‌های فنولی خود، دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند (۳۶).

لیموترش، محصول درخت لیمو با نام علمی *Citrus limonum* و از مرکبات است. لیموها حاوی مقدار زیادی اسید سیتریک هستند که موجب طعم ترش در آنها می‌گردد. ترکیبات فنلی و یا پلی‌هیدروکسی فنلی موجود در عصاره به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های اولیه یا زنجیرشکن عمل می‌نمایند. ترکیبات حاوی اسیدسیتریک، اسیداسکوربیک، اسیدفسفریک، اسیدمالیک موجود در عصاره گیاهی نقش آنتی‌اکسیدان‌های ثانویه یا ممانعتی را دارند. برخی از عصاره‌ها هم نقش ضد میکروبی خوبی ایفاء می‌نمایند. لیمو از خانواده روتازا که حاوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی با خواص ضدباکتری، ضدقارچی، و ضدسرطانی می‌باشد و همچنین دارای خواص ضداکسیداسیونی بالا بوده، که در صنایع داروسازی جایگاه مناسبی دارد (۳۱).

آبزیان همواره به عنوان یکی از منابع مهم تأمین پروتئین حیوانی در تغذیه انسان جایگاه مهمی داشته‌اند. سطح مصرف ماهی و غذاهای دریایی در سال‌های اخیر افزایش یافته و تقاضا برای محصولات دریایی همراه با رشد جمعیت، درآمد و همچنین اولویت قرار دادن محصولات دریایی نسبت به سایر غذاها افزایش یافته است. چربی ماهیان به دلیل داشتن مقدار قابل توجهی از اسیدهای چرب با پیوند دوگانه در مقابل فساد اکسیداتیو بسیار حساس هستند (۱۶). نگهداری ماهی در یخچال موجب کاهش سرعت فعالیت‌های آنزیمی و میکروبی می‌شود اما آنها را به طور کامل متوقف ننموده و تغییرات نامطلوبی از جمله اکسیداسیون چربی و فساد میکروبی به آرامی صورت گرفته (۲۶). این تغییرات، کیفیت را دستخوش تغییر کرده و باعث عدم پذیرش مصرف‌کنندگان این منبع مهم غذایی می‌شود. علاوه بر اکسیداسیون چربی، یکی دیگر از دلایل مهم فساد ماهی، فعالیت میکروبی است که منجر به تشکیل ترکیباتی با بوی نامطلوب و ناخوشایند می‌شود (۱۷). گوشت ماهی به دلیل فعالیت آبی بالا، مقادیر نسبتاً بالای اسیدهای آمینه آزاد و حضور آنزیم‌های اتولیزکننده، نسبت به تجزیه باکتریایی آسیب پذیر است (۱۵).

ماهیان خاویاری به دلیل داشتن گوشت بسیار لذیذ و خاویار و غنی از پروتئین و اسیدهای چرب اشباع نشده به خصوص اسیدهای چرب خانواده امگا۳ از ارزش اقتصادی و شیلاتی بسیار بالایی برخوردارند (۱۴)، بنابراین با توجه به ارزش بسیار بالای این ماهیان و کاهش میزان ذخایر آنها در تمام زیستگاه‌های طبیعی، تکثیر و پرورش مصنوعی آنها از سال‌ها پیش مورد توجه بسیاری از کشورهای جهان بویژه ایران قرار گرفته است که تقاضای مصرف آن روز به روز در حال افزایش است. در این بین فیل ماهی *Huso huso* به

غوطه ور شدند. در مجموع ۴ تیمار به صورت جداگانه تهیه گردید. فیله ماهی فاقد عصاره (شاهد)؛ فیله ماهی غوطه ور در عصاره لیموترش ۰.۵ درصد؛ فیله ماهی غوطه ور در عصاره لیموترش ۱ درصد و فیله ماهی غوطه ور در عصاره لیموترش ۱.۵ درصد، که پس از پایان فرآیند آب چک در دمای آزمایشگاه و اطمینان از پوشش مناسب، هر یک جداگانه در کیسه‌های زیپ کیپ استریل قرار گرفت و به یخچال ($4 \pm 1^{\circ}\text{C}$) منتقل شد و به مدت ۱۲ روز نگهداری گردید و در فواصل زمانی هر ۴ روز یکبار، شاخص‌های میکروبی و شیمیایی فساد مورد ارزیابی قرار گرفت.

آزمایش‌های میکروبی

جهت ارزیابی میکروبی پس از تهیه رقت‌های اعشاری، از هر رقت ۱ میلی‌لیتر برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلت به محیط کشت پلت کانت آگار (PCA) اضافه شد. برای شمارش باکتری‌های کل و باکتری‌های سرماگرا پلت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و ۱۰ روز در دمای ۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. شمارش به صورت $\log \text{cfu/g}$ گزارش گردید (۳۳).

آزمایش‌های شیمیایی

جهت اندازه‌گیری شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA) مقدار ۲۰۰ گرم از نمونه چرخ شده فیله ماهی به بالن انتقال سپس با ۱- بوتانل به حجم رسانده شد. ۱۲/۵ میلی‌لیتر از محلول فوق به لوله‌های دردار منتقل و به آن معرف تیوباربتوریک اسید افزوده شد. مقدار جذب در حضور شاهد آب مقطر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت گردید. نتایج بر اساس میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی ماهی

فیل ماهی مورد نیاز از شرکت آبی گستران مازند در شهرستان ساری با وزن تقریبی ۶ کیلوگرم تهیه گردید و درون جعبه در مجاورت یخ قرار داده شد و در کوتاه‌ترین زمان در زنجیره سرد به آزمایشگاه مرکزی ساری منتقل گردید. سپس عملیات شستشو با آب تمیز بهداشتی، سر و دم زنی، تخلیه امعاء و احشاء، استخوان‌گیری ماهی و تهیه فیله‌های وزن تقریبی ۱۰۰ گرمی از فیل ماهی انجام شد.

تهیه عصاره لیموترش

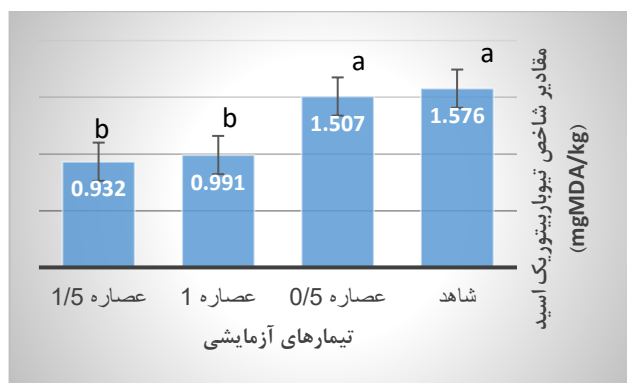
برای تهیه عصاره، از روش بکری و داگلاس استفاده شد (۴). بدین ترتیب که ۱۰۰ گرم لیمو کامل بدون هسته پس از توزین و شستشو، در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر کاملاً مخلوط و با آسیاب مخلوط شد. این مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ ۸ شاخه مدل EBA200 برند ELMINO قرار گرفت. مایع سطحی حاصله، با فیلتر واتمن شماره یک صاف شد. مایع صاف شده بعد از ۱۲ ساعت نگهداری در فریزر منفی ۸۰، توسط دستگاه خشک کن انجمادی (فریز درایر) مدل Freeze dryer FD10 به مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت خشک گردید و سپس عصاره بدست آمده تا قبل از استفاده، در یخچال نگهداری شد (۲۵).

آماده‌سازی تیمارهای آزمایشی و پوشش -

دهی فیله‌ها

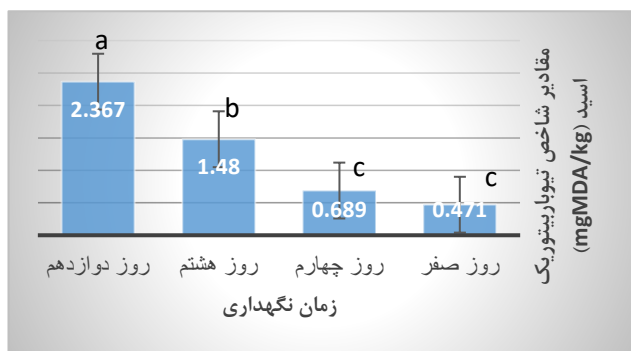
محلول‌ها در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد عصاره لیموترش تهیه و فیله‌ها جهت پوشش‌دهی به مدت ۱۵ دقیقه در محلول‌های آزمایشی غوطه‌ور شدند. فیله‌های گروه شاهد نیز در مدت مشابه در آب مقطر

¹ Thiobarbituric acid



شکل ۱- میانگین تغییرات شاخص تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم) فیله فیل-ماهی در تیمارهای آزمایشی

شکل (۱) نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، بطور معنی داری از میانگین این شاخص به خصوص در زمان بکارگیری عصاره به مقدار ۱ درصد آماری کاسته شده است. داده‌ها همچنین نشان دادند که استفاده از عصاره در غلظت ۵/۰ درصد کارایی لازم در کاهش مقدار این شاخص نداشته و از طرفی بکارگیری سطوح بالاتر عصاره (۱/۵ درصد) از نظر آماری موجب ایجاد تفاوت معنی داری با سطح ۱ درصد مورد استفاده نشد ($P < 0.05$).



شکل ۲- میانگین تغییرات شاخص تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم) فیله فیل-ماهی طی دوره نگهداری

شکل (۲) زمان نگهداری فیله‌های ماهی نشان داد که افزایش شاخص تیوباربیتوریک اسید تا چهار روز پس از نگهداری در فیله‌های ماهی از نظر آماری تفاوت

در کیلوگرم بافت ماهی بیان گردید (۳۲). به منظور اندازه‌گیری مجموع ترکیبات ازته فرار (TVN) از دستگاه کدال (۷۴۰ - بخشی، ایران) و روش تیتراسیون استفاده گردید. نتایج بر اساس میزان مواد ازته فرار برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم فیله محاسبه گردید (۱۹). برای اندازه‌گیری میزان عدد پراکساید^۲ (PV) مقدار ۲۰ میلی‌لیتر از فاز زیرین دکانتوری که از آن جهت استخراج چربی ماهی استفاده شد، به ارلن مایر منتقل و با ۲۵ میلی‌لیتر مخلوط اسیداستیک و کلروفرم مخلوط شد، سپس یدورپتاسیم اشباع، آب مقطر و محلول نشاسته ۱ درصد اضافه شد. بعد از مخلوط‌شدن، عمل تیتراسون با تیوسولفات سدیم تا بی‌رنگ شدن ادامه یافت و نتایج بر اساس میلی‌اکی-والان اکسیژن در کیلوگرم بافت ماهی بیان گردید (۲).

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش فوق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار (گروه شاهد و فیله‌های غوطه‌ور در محلول‌های ۱/۵، ۱، ۰/۵ و ۱/۵ درصد عصاره) و سه تکرار برای هر تیمار به مورد اجرا درآمد. داده‌های حاصل با استفاده از بسته نرم‌افزاری MSTATC به روش تجزیه واریانس دو طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی داری ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

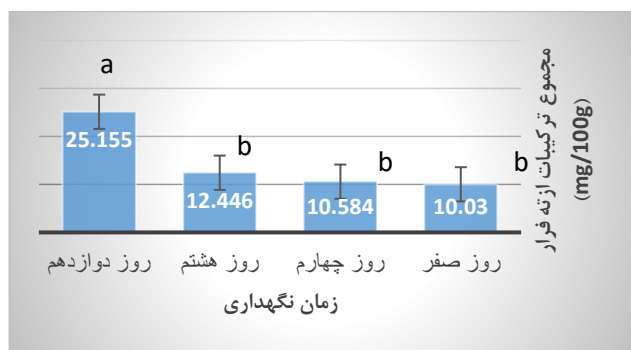
نتایج

شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBA)

نتایج شاخص تیوباربیتوریک اسید نشان می‌دهد اثر تیمار (غلظت عصاره مورد استفاده) و اثر بلوک (زمان نگهداری) بر روی فیله‌های ماهی از نظر آماری معنی دار بود. ($P < 0.05$)

¹ Total Volatile nitrogen

² Peroxide Value



شکل ۴- میانگین تغییرات مجموع ترکیبات ازته فرار (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) فیله فیل ماهی طی دوره نگهداری

از سوی دیگر صرفنظر از نوع تیمار اعمال شده، در شکل (۴) تفاوت آماری معنی‌داری بین میانگین TVN فیله ماهی تا پایان روز هشتم نگهداری دیده نشد اما پس از آن این شاخص بطور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش نشان داد و بیشترین مقدار عددی میانگین TVN در پایان روز دوازدهم آزمایش به مقدار ۲۵/۱۵۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم فیله مشاهده گردید.

میزان عدد پراکساید (PV)

براساس بررسی نتایج مشخص شد که اثر تیمار (غلظت عصاره مورد استفاده) بر میانگین عدد پراکساید از نظر آماری معنی‌دار بود ($P=0.897$). این در حالی است که اثر بلوک (دوره زمانی نگهداری فیله‌ها) بطور معنی‌داری بر این شاخص تأثیر گذاشت.

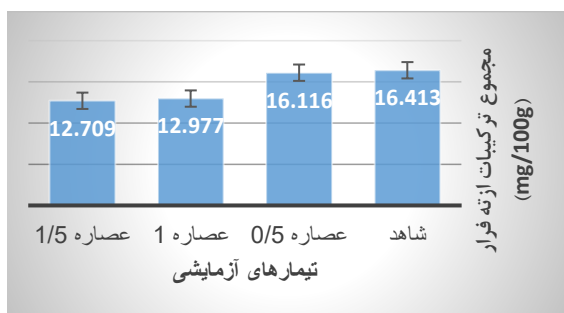


شکل ۵- میانگین تغییرات عدد پراکساید (میلی‌اکی والان در کیلوگرم) (میلی‌اکی والان در کیلوگرم چربی) فیله فیل ماهی در تیمارهای آزمایشی

معنی‌داری نشان نداد لذا پس از این مدت، شاخص به طور معنی‌داری روند صعودی داشت به طوری که بیشترین مقدار این شاخص در روز پایانی دوره مشاهده شد و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ملاحظه شد ($P < 0.05$).

مجموع ترکیبات ازته فرار (TVN)

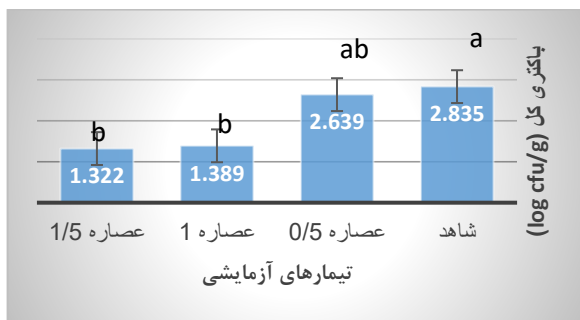
با توجه به نتایج، اثر غلظت‌های مختلف عصاره مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر این شاخص نداشت. در حالی که زمان نگهداری فیله‌ها بطور معنی‌داری بر مجموع ترکیبات ازته فرار فیله‌ها مؤثر بود ($P < 0.05$).



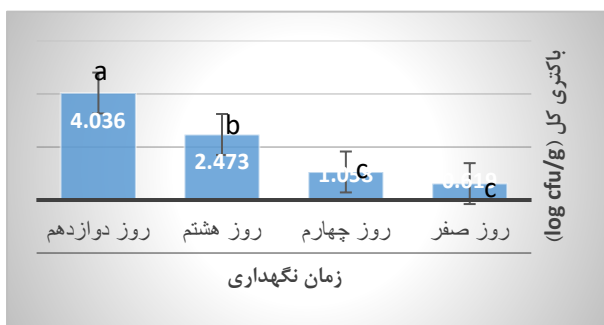
شکل ۳- میانگین تغییرات مجموع ترکیبات ازته فرار (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) فیله فیل ماهی در تیمارهای آزمایشی

با مشاهده شکل (۳) اگرچه شاهد کاهش مقدار عددی میانگین TVN در فیله‌های تیمار شده نسبت به گروه شاهد هستیم لیکن همانطوری که گفته شد این اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نیست ($P=0.917$).

در بررسی تأثیر سطوح عصاره مورد استفاده بر میانگین تعداد کل باکتری که در شکل (۷) آمده نشان داد بکارگیری عصاره بطور معنی داری ($P < 0/05$) بر کاهش تعداد کل باکتری مؤثر بود. روند کاهش تعداد کل باکتری با غلظت عصاره مورد استفاده خطی بود به طوری که کمترین تعداد باکتری کل (۱/۳۲۲) لگاریتم کلنی در گرم) در فیله‌های حاوی غلظت ۱/۵ درصد عصاره و بیشترین مقدار (۲/۸۳۵) لگاریتم کلنی در گرم) در تیمار شاهد دیده شد. اگرچه اختلاف بین میانگین تعداد کل باکتری در زمان بکارگیری سطوح ۱ و ۱/۵ درصد عصاره از نظر آماری معنی دار نبود.



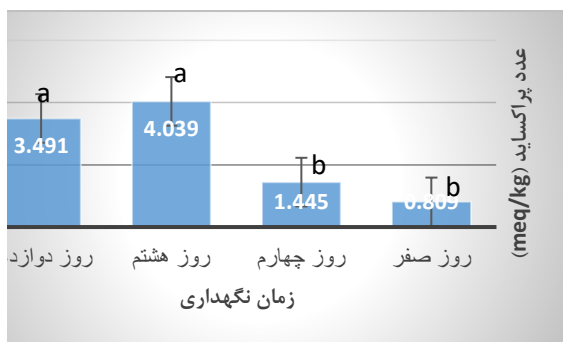
شکل ۷- میانگین تغییرات باکتری کل در فیله فیل-ماهی در تیمارهای آزمایشی



شکل ۸- میانگین تغییرات باکتری کل در فیله فیل-ماهی طی دوره نگهداری

شکل (۸) نشان می‌دهد با گذشت زمان، بطور معنی داری ($P < 0/05$) بر شمار باکتری کل فیله‌ها افزوده شد. همانطوری که مشاهده شد تا پایان روز چهارم نگهداری، افزایش تعداد باکتری‌های کل از نظر آماری

اگرچه به کارگیری سطوح مختلف عصاره موجب کاهش مقدار عددی پراکساید شد، لیکن این کاهش میانگین از نظر آماری معنی دار نبود (شکل ۵).



شکل ۶- میانگین تغییرات عدد پراکساید (میلی اکی والان در کیلوگرم چربی) فیله فیل-ماهی طی دوره نگهداری

نتایج شکل (۶) نشان می‌دهد با افزایش زمان نگهداری، تا روز هشتم نگهداری، مقدار عددی میانگین پراکساید بطور معنی داری ($P < 0/05$) افزایش یافت سپس با کاهش غیرمعنی داری تا پایان دوره ادامه یافت. از طرفی، تفاوت آماری معناداری در میانگین عدد پراکساید فیله ماهی تا پایان روز چهارم نگهداری نسبت به زمان شروع آزمایش مشاهده نشد. بیشترین و کمترین مقدار عددی میانگین این شاخص به ترتیب روز چهارم نگهداری نسبت به زمان شروع آزمایش مشاهده نشد. بیشترین و کمترین مقدار عددی میانگین این شاخص به ترتیب در روز هشتم و روز صفر آزمایش گزارش شد (۴/۰۳۹ در مقابل ۰/۸۰۹ میلی اکی والان در هر کیلوگرم).

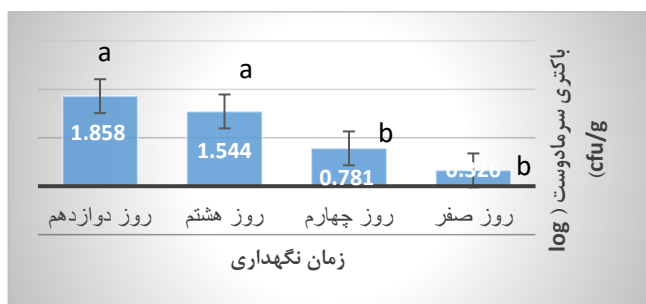
آزمون‌های میکروبی

بار میکروبی کل^۱ (TVC)

همانطوری که نتایج نشان می‌دهد، بکارگیری سطوح مختلف عصاره و نیز زمان نگهداری آن بطور معنی داری بر میانگین تعداد کل باکتری‌ها مؤثر بودند.

^۱- Total viable count

بیشترین تعداد باکتری سرمادوست (۱/۳۸۹ لگاریتم کلنی در گرم) در تیمار شاهد ملاحظه شد. همانطوری که در شکل (۱۰) مشاهده شد نگهداری فیله‌ها تا پایان روز چهارم، تأثیر معنی‌داری بر تعداد باکتری‌های سرمادوست نداشت. اما پس از آن تعداد باکتری‌های سرمادوست افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) داشت (۱/۸۵۸ لگاریتم کلنی در گرم در روز دوازدهم)؛ لیکن اختلاف آماری معنی‌داری بین میانگین تعداد باکتری‌های سرمادوست در روزهای هشتم و دوازدهم دوره ملاحظه نشد.



شکل ۱۰ - میانگین تغییرات باکتری

سرمادوست در فیل ماهی طی دوره نگهداری

بطور کلی با توجه به نتایج حاصله می‌توان به وضوح گفت استفاده از عصاره و زمان نگهداری فیله‌ها بطور معنی‌داری بر اغلب شاخص‌های فساد باکتریایی و اکسیداتیو مؤثر است. از طرفی استفاده از سطح ۰/۵ درصد عصاره، کارایی لازم را در بهبود شرایط نداشته و بهترین غلظت جهت حصول نتایج مطلوب سطح ۱ درصد عصاره می‌باشد.

بحث

شاخص تیوباربی‌توریک اسید (TBA)

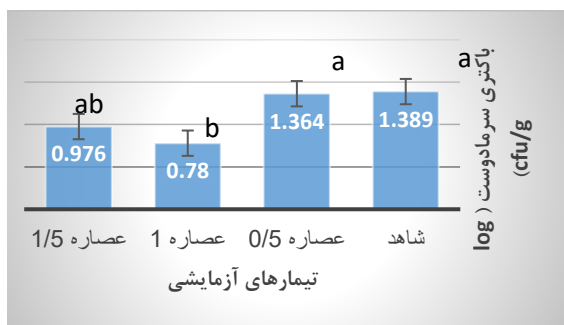
به منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون چربی در مواد غذایی به طور وسیعی از شاخص TBA استفاده میشود که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به

تفاوت معنی‌داری با زمان آغاز آزمایش نداشت اما با گذشت زمان تعداد کل باکتری بطور معنی‌داری افزایش یافت به نحوی که بیشترین تعداد کل باکتری (۴/۰۳۶ لگاریتم کلنی در گرم) در پایان روز دوازدهم آزمایش دیده شد.

باکتری‌های سرمادوست^۱ (PTC)

نتایج نشان می‌دهد که اثر غلظت‌های مختلف عصاره مورد استفاده ($P=0/0869$) و زمان نگهداری فیله‌ها بر میانگین تعداد باکتری‌های سرمادوست از نظر آماری معنی‌دار بود.

در شکل (۹) نشان داده شد که استفاده از عصاره در غلظت ۰/۵ درصد تأثیر معنی‌داری بر تعداد باکتری‌های طی دوره نگهداری ندارد؛ در حالیکه استفاده از سطح ۱ درصد عصاره بطور معنی‌داری ($P < 0/05$) موجب کاهش تعداد باکتری‌های سرمادوست شده است (۰/۷۸۰ لگاریتم کلنی در گرم).



شکل ۹ - میانگین تغییرات باکتری

سرمادوست در فیل ماهی در تیمارهای آزمایشی

استفاده از سطح ۱/۵ درصد عصاره به طور خطی موجب کاهش تعداد باکتری‌های سرمادوست نشد (۰/۹۷۶ لگاریتم کلنی در گرم). در هر حال

شده در یخچال طی مدت زمان ۱۶ روز که توسط شاه‌حسینی و همکاران در سال ۱۳۹۹ مورد بررسی قرار گرفت مطابقت دارد (۳۴). با افزایش غلظت ترکیبات فنلی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش می‌یابد (۷). همچنین آنها اعلام نمودند عصاره‌هایی که مقادیر ترکیبات فنلی بالاتری دارند، خاصیت آنتی-اکسیدانی بالاتری نیز دارند (۲۰).

مجموع ترکیبات از ته فرار (TVN)

مجموع بازهای نیتروژنی فرار از تری متیل آمین، دی متیل آمین، آمونیاک و سایر ترکیبات نیتروژنی فرار مرتبط با فساد غذاهای دریایی میباشند که به ترتیب به وسیله باکتریهای مولد فساد، آنزیمهای اتولیتیک، دامیناسیون اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها تولید شده و یکی از نشانگرهای اصلی تخریب و تجزیه گوشت محسوب می‌شوند (۲۴). جهت ارزیابی فعالیت باکتریایی بر پروتئین‌ها، شاخص مجموع بازهای از ته فرار (TNN) مورد استفاده قرار می‌گیرد. پروتئین‌ها تحت تأثیر فعالیت باکتریایی و آنزیمی با گذشت زمان و در شرایط نگهداری نامطلوب تجزیه شده و ترکیبات از ته فرار بدست می‌آیند. افزایش میزان TVBN نمونه‌ها ناشی از فعالیت باکتری‌های عامل فساد و آنزیم‌های اتولیزکننده با منشاء درونی می‌باشد. حد قابل قبول میزان TVBN برای مصارف انسانی ۲۵ تا ۳۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه گزارش شده است، اما این میزان در بین گونه‌های مختلف متفاوت است (۲۸).

طول دوره نگهداری بطور معنی‌داری محتوای ترکیبات از ته فرار فیله‌ها را تحت تأثیر قرار داد. با افزایش زمان نگهداری، مقدار این شاخص نیز بطور معنی‌داری افزایش یافت که در تیمارهای (فاقد عصاره) می‌توان دلیل آنرا به تأثیر کاهش رطوبت و تشکیل اسیدهای چرب آزاد بر دناتوره شدن پروتئین ارتباط داد. بنابراین زمان نگهداری فیله‌ها بطور معنی‌داری بر مجموع ترکیبات از ته فرار فیله‌ها مؤثر بود ($P < 0.05$).

ویژه آلدئیدها و کتون‌ها را نشان می‌دهد. ترکیبات اکسیداسیون ثانویه موجب ایجاد بوهای ناخوشایند در گوشت می‌شوند (۲۱) تیوباربیتوریک اسید به طور گسترده‌ای به عنوان شاخص میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد و ناشی از وجود مواد واکنش دهنده با مالون دی‌آلدئید (MDA) حاصل از مرحله‌ی دوم اتواکسیداسیون است که طی آن، پراکسیدها به موادی مانند آلدئیدها و کتون‌ها اکسید می‌شوند (۶). حد مجاز مصرف گوشت ماهی از نظر میزان این شاخص ۲-۳ میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم گوشت در نظر گرفته می‌شود. اکسیداسیون چربی‌ها مربوط به اکسید شدن اسیدهای چرب چند غیراشباع در عضلات ماهی می‌باشد که منجر به ایجاد بو و طعم نامطلوب در ماهی و در نتیجه کوتاه شدن زمان ماندگاری آن می‌گردد (۹). افزایش مقدار TBA طی نگهداری در دمای پایین می‌تواند ناشی از دهیدروژنه شدن جزئی بافت ماهی، افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع و تولید متابولیت‌های فرار در حضور اکسیژن باشد (۱۰). روند تغییرات این شاخص در هر تیمار طی دوره نگهداری بیانگر آنست که اثر غلظت‌های مختلف عصاره لیموترش و اثر زمان نگهداری بر روی فیله‌های ماهی از نظر آماری معنی‌دار بود. تقریباً تمامی تیمارها روند مشابه افزایشی در مقدار TBA در طی دوره نگهداری داشتند. افزایش مقدار TBA تیمارها در طول دوره را می‌توان به اکسیداسیون لیپید و تولید متابولیت‌های فرار در حضور اکسیژن مربوط دانست. کم بودن TBA در تیمارهای حاوی عصاره را می‌توان به ممانعت عصاره از نفوذ اکسیژن ارتباط داد (۸). کاهش میزان تیوباربیتوریک اسید در بعضی از روزهای نگهداری ممکن است به دلیل کاهش هیدروپراکسیدها و واکنش بین مالون‌آلدئید با پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و گلیکوژن باشد که باعث کاهش مقادیر مالون‌آلدئید می‌شود (۱).

نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج بررسی تأثیر پوشش خوراکی پولولان حاوی عصاره گیاه علف چشمه بر کیفیت و ماندگاری فیله فیل-ماهی نگهداری

غذایی می‌شود (۳۸). در مرحله‌ی اول اکسیداسیون به دلیل اتصال اکسیژن به پیوند دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع، پراکسیدها تشکیل می‌شوند. هیدروپراکساید، محصول اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب غیراشباع است، به همین خاطر اکسیداسیون اولیه چربی با استفاده از اندازه‌گیری میزان پراکساید ارزیابی می‌شود. از آنجایی که پراکسیدها، ترکیبات بدون طعم و بو هستند، نمی‌توانند توسط مصرف‌کنندگان تشخیص داده شوند. از طرفی این ترکیبات ناپایدار بوده و به سرعت به ترکیبات ثانویه‌ای مانند آلدئیدها و کتون‌ها تبدیل می‌شوند که ترکیبات اخیر سبب تشخیص تند شدن اکسیداسیونی می‌شود (۸).

نتایج مربوط به تأثیر نوع عصاره مورد استفاده بر محتوای عدد پراکساید نمونه‌ها حاکی از آنست که اثر غلظت‌های مختلف عصاره لیموی مورد استفاده از نظر آماری معنی‌دار نبود، در حالیکه اثر دوره زمانی نگهداری فیله‌ها بطور معنی‌داری بر این شاخص تأثیر گذاشت. طی دوره نگهداری، عدد پراکساید در همه تیمارها افزایش یافته است، بدین ترتیب که روند افزایشی مشابهی در تمامی تیمارها دیده نشد لیکن شیب این روند افزایشی در تیمارهای عصاره کمتر بود. لازم به ذکر است که این افزایش در تیمار شاهد شدت بیشتری داشت. اگرچه عصاره بطور معنی‌داری موجب کاهش پراکساید در مقایسه با تیمار شاهد شده است؛ لیکن این کاهش میانگین از نظر آماری معنی‌دار نبود. بنابراین تا روز دوازدهم دوره نگهداری، به کارگیری عصاره لیمو بطور معنی‌داری موجب کاهش مقدار عدد پراکساید نسبت به شاهد شد. در روز پایانی دوره آزمایشی میزان پراکساید بطور ناگهانی کاهش یافت که ممکن است به دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تولید آلدئیدها، کربونیل‌ها و ترکیبات فرار حاصل از آن باشد.

میزان پراکساید در همه نمونه‌ها کمتر از حد قابل قبول پیشنهادی ۲۰-۱۰ میلی‌اکی والان گرم اکسید بر کیلوگرم چربی بود. عصاره‌های گیاهی دارای توانایی شکستن رادیکالهای آزاد به وسیله دادن یک اتم

نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج لطیفی و همکاران در سال ۱۳۹۸، در مقایسه تغییرات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی فیله‌های فیل‌ماهی دودی طعم‌دهی شده با آب نمک و سس به مدت ۳۰ روز در یخچال همخوانی دارد (۱۸). آنها اعلام نمودند که با افزایش زمان، مقادیر TVN در تمامی تیمارها افزایش یافت و این افزایش در تیمار شاهد بیشتر و در تیمار حاوی کربوسی متیل سلولز به همراه اسانس اناریجه کمتر از مابقی تیمارها بود. همچنین نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج تحقیقات شاه-حسینی و همکاران در سال ۱۳۹۹ مطابقت دارد (۳۴). تحقیقات آنها نشان داد با افزایش زمان، مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تمامی تیمارها افزایش یافت و کمترین مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمار پوشش پولولان + عصاره گیاه علف چشمه ppm ۱۰۰۰ مشاهده شد. کمتر بودن میزان بازهای ازته فرار در این تیمار نسبت به سایر تیمارها را می‌توان به کاهش جمعیت باکتری تیمارهای مذکور یا کاهش توانایی اکسایشی باکتری‌ها در جداکردن آمین‌ها از ترکیبات نیتروژنی غیرفرار یا هر دو عامل در نتیجه اثر عصاره علف چشمه بر باکتری‌های موجود در فیله نسبت داد؛ نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج اورعی و همکاران در سال ۱۳۹۹ نیز همخوانی دارد (۳۶).

میزان عدد پراکساید (PV)

پراکسید از شاخص‌های ارزیابی میزان اکسیداسیون چربی است که به طور گسترده در ارزیابی میزان اکسیده شدن چربی استفاده می‌گردد و بیانگر محصول اولیه اکسیداسیون چربی می‌باشد (۳). اکسیداسیون چربی یک مشکل اصلی در غذاهای حاوی اسیدهای چرب غیراشباع به خصوص اسیدهای چرب چند غیراشباعی موجود در چربی غذاهای دریایی است که منجر به ایجاد بو و طعم نامطلوب و نیز کاهش ارزش

هیدروژن می‌باشند و به علت دارا بودن ترکیبات فنولی، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که فساد اکسیداتیو در فیله‌ها را به تاخیر می‌اندازند (۸). نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج اورعی و همکاران در سال ۱۳۹۹ همخوانی دارد (۳۶). براساس نتایج مطالعه آنها، عصاره پوست پرتقال موجب کاهش سرعت تشکیل پراکسید شد، اما در تیمار شاهد به علت افزایش مقدار پراکسید، واکنش‌های مربوط به فساد با سرعت بیشتری انجام شدند. همچنین نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج تحقیقات شاه-حسینی و همکاران در سال ۱۳۹۹ مطابقت دارد (۳۴). تحقیقات آنها نشان داد افزودن پوشش پولولان سبب کند شدن روند افزایشی عدد پراکسید شد. به طور کلی، پوشش‌های زیست تخریب پذیر نفوذپذیری بسیار کمی نسبت به اکسیژن و دی‌اکسیدکربن دارند. بنابراین، پوشش تشکیل شده روی سطح فیله‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای نرخ تماس محصول را با اکسیژن کاهش می‌دهد که از سرعت اکسیداسیون اولیه چربی‌ها و متعاقب آن تشکیل هیدروپرواکسیدها کاسته می‌شود (۲۲). افزودن عصاره گیاه علف چشمه نیز تأثیر مثبتی بر کند شدن روند افزایشی عدد پراکسید داشت. همچنین نتیجه تحقیق حاضر با گزارش قیطاسی و همکاران (۱۴۰۰) مطابقت داشت، محققان اخیر گزارش کردند که افزودن سطوح خوراکی عصاره پوست لیمو پوشش داده شده با ذرات نانوکیتوزان به خصوص در سطح ۱٪ موجب بهبود فراسنجه‌های خونی و دفاع ضد اکسایشی ماهی قزل-آلای رنگین‌کمان می‌شود و بطور معنی‌داری موجب بهبود شاخص‌های فساد اکسیداتیو و کاهش عدد پراکساید می‌گردد (۲۷).

بار میکروبی کل (TVC) و باکتری‌های سرما دوست (PTC)

ترکیبات ضد میکروبی که در قالب پوشش خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرند باید واجد خواص

مخصوص به خود باشند؛ در سیستم پوشش خوراکی، ماده ضد میکروبی باید در لایه پوشش باقی بماند تا ماده غذایی را از حمله میکروارگانیسم های آلوده کننده محافظت نماید. بدین ترتیب جهت دستیابی به فعالیت ضد میکروبی موثر در سطح ماده غذایی در سیستم پوشش جهت حفظ تأثیرگذاری مواد ضد میکروبی بر روی میکروارگانیسم های فسادزا و بیماری زا، باید غلظت بالای مواد ضد میکروبی حفظ و انتشار خیلی کند شود. با اینکه بار میکروبی اولیه ماهیان متفاوت است و به عواملی مثل وضعیت آب و دمای محیط پرورش بستگی دارد. شمار بالایی از بار میکروبی می‌تواند در محصول خام پیدا شود که وابسته به شرایط نگهداری و دستکاری است (۱۱).

باکتری های هوازی جزء گروه های باکتریایی هستند که بطور گسترده ای به فساد گوشت ماهی نگهداری شده در شرایط هوازی کمک میکنند. باکتریهای هوازی و عمدتاً گونه های سود و موناس آنزیم های لیپاز و فسفولیپاز تولید می کنند که سبب افزایش اسیدهای چرب آزاد می شود. باکتریهای سرماگرای گرم منفی، گروه اصلی میکرو ارگانیسم های مولد فساد در فیله ها در شرایط هوازی و در دمای سرد می باشند (۸). همانطور که در نتایج ملاحظه گردید در آزمون های میکروبی صورت گرفته در این آزمایش روند افزایش بار میکروبی (کل و سرما دوست) با افزایش زمان نگهداری دیده شد به نحوی که بیشترین مقدار در پایان دوره آزمایشی دیده شد. داده ها نشان داد سرعت افزایش بار میکروبی در تیمار شاهد به مراتب بیش از تیمارهای آزمایشی بود.

در بررسی تاثیر سطوح عصاره مورد استفاده بر میانگین تعداد کل باکتری نشان داد به کارگیری عصاره بطور معنی داری بر کاهش تعداد کل باکتری موثر بود. روند کاهش تعداد کل باکتری با غلظت عصاره مورد استفاده خطی بود به طوری که کمترین تعداد باکتری کل در فیله‌های حاوی غلظت ۱/۵ درصد عصاره و بیشترین مقدار در تیمار شاهد دیده شد. اگرچه اختلاف بین میانگین تعداد کل باکتری در زمان

به کارگیری سطوح ۱ و ۱/۵ درصد عصاره از نظر آماری معنی دار نبود.

از طرف دیگر تعداد باکتری های سرمادوست نشان می دهد که اثر غلظت های مختلف عصاره مورد استفاده و زمان نگهداری فیله ها بر میانگین تعداد باکتری های سرمادوست از نظر آماری معنی دار بود و بیشترین تعداد باکتری سرمادوست در تیمار شاهد دیده شد. پس از روز چهارم نگهداری، تعداد باکتری های سرمادوست افزایش معنی داری یافت و این روند صعودی تا پایان دوره ادامه داشت لیکن اختلاف آماری معنی داری بین میانگین تعداد باکتری های سرمادوست در روزهای هشتم و دوازدهم دوره دیده نشد.

شمارش کل باکتری های مزوفیل هوازی اولیه برای گونه های مختلف آب شیرین $2-6 \text{ cfu/g log}$ پیشنهاد شده است. گروه اصلی میکروارگانیسم های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد باکتری های سرمادوست گرم منفی هستند. بیشترین حد پیش نهاد شده برای باکتری های سرمادوست در ماهی قزل آلا ی رنگین کمان 7 log cfu/g است (۲۹). اثرات بازدارندگی عصاره موسیر بر کل باکتری های قابل رؤیت و باکتری های سرمادوست را تأیید می کند. این نتایج با تحقیقات *Sallam* و همکاران که تأثیر عصاره گیاهی را روی گوشت بررسی کردند، مطابقت دارد (۳۰). همچنین نتیجه تحقیق حاضر با نتایج حاصل از تحقیقات سایر محققان مشابهت دارد. اثر پوشش ژلاتینی بر ویژگی های شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی قزل آلا در دمای یخچال توسط تقی زاده اندواری و رضایی، ۱۳۹۱ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد پوشش ژلاتینی به تنهایی فاقد خاصیت ضد میکروبی می باشد و تأثیری در حفظ خواص حسی فیله ماهی در دمای یخچال ندارد هرچند تأثیر آن در بازدارندگی اکسیداسیون محسوس می باشد (۳۵).

نتیجه گیری

نتایج حاصل از آزمایش نشان داد در غالب موارد کاربرد عصاره لیمو در غلظت های ۱ و ۱/۵ درصد، بهترین اثربخشی را در افزایش زمان نگهداری فیله ماهی داشته است و نتایج نشان داد بکارگیری این عصاره دارای آثار ضد اکسیداسیونی و ضد باکتریایی است و می توان از آنها بعنوان یک عصاره زیست تخریب پذیر جهت بسته بندی و نگهداری فرآورده های گوشتی استفاده کرد. با عنایت به موضوع آلودگی های ناشی از پلیمرهای سنتزی و تمایل به استفاده از ترکیبات طبیعی مطالعات دو دهه ای اخیر بر روی این ترکیبات معطوف گردید و عصاره لیمو به دلیل کیفیت بالای تغذی ای، خواص بسیار خوب حسی، پتانسیل مناسب جهت محافظت کافی از فرآورده های غذایی، همچنین شفافیت، انعطاف پذیری و ملایمت طبیعی شان برای استفاده در صنایع غذایی مورد توجه هستند.

References

1. Ahmadi, Z., Khademi Shurmasti, D. 2019. The effect of mint extract (*Mentha spicata* L.) in carboxymethyl cellulose oleic acid multi-structure coating on the shelf life of fish fillets during storage in cold conditions. *Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research Journal*, Volume: 36, Number: 5. Page 733-724[in Persian]. [Doi.org/10.22092/ijmapr.2020.343042.2797](https://doi.org/10.22092/ijmapr.2020.343042.2797)
2. A.O.A.C. Official methods of Analysis (17edition), Association of Official Analytical Chemists. 2005.
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): 216–222 DOI:org/10.1002/fsn3.275.
4. Bakri, I.M., and Douglas, C.W. 2005. Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Arch Oral biology*. 50: 645-51.
5. Benkeblia N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *LWT - Food Science and Technology*. 2004;37(2): 263-268.
6. Chidanandaiah Keshri R.C, Sanyal M.K. Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated (4±1°C) storage. *Journal of Muscle Foods*. 2007; 20:275–292. DOI:10.1111/j.1745-4573.2009.00147.x.
7. Esmailzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F. and Amiri, Z., 2014. Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound - assisted extraction methods. *Journal of Food Science and Nutrition*, 2: 426- 435. DOI: 10.1002/fsn3.118.
8. Esmaili, M., Fahibam Dezhban, Y. 1401. Investigating the chemical and microbial parameters of spoilage and determining the shelf life of common carp (*carpio cyprinus*) fillet (under the influence of carboxymethyl cellulose coating containing sage extract (*Salvia officinalis*) Quality and shelf life of agricultural products and food quarterly, second volume/third issue/pages 65-73[in Persian].
9. Etemadi, H, Rezaei M, Abedian Kenary A.M. Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on shelf life extension of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Food Science and Technology*. 2008;5(4):67-77.

10. Fan W, Chi Y, Zhang S. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Food Chemistry*. 2008; vol.108:148–153p. DOI:10.1016/J.FOODCHEM.
11. Ghanbarzadeh B, Pezeshki Najafabadi A, Almasi H. Antimicrobial edible films for food packaging. *Journal of Food Sciences and Technology*. 2011; 8(1): 123 - 135 [in Persian].
12. Ghomi, M.R., Nikoo, M. and Pourshamsian, K., 2012. Omega - 6/omega -3 essential fatty acid ratio in cultured beluga sturgeon. *Comparative Clinical Pathology*, 21: 479 -483. dx.DOI:org/10.1007/s00580 -012 - 1495 -5.
13. Goulas A.E, Kontominas M.G. Effect of salting and smoking method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): Biochemical and sensory attributes. *Food chemistry*. ۲۰۰۵; ۹۳(۳):۵۱۱-۵۲۰.
14. Hasanpour M. Effect of Dietary Ginger (*Zingiber officinale*) extract on growth, biochemical and immunological parameters in juvenile *Huso huso*. MSc. Thesis, Khazar Institute of Higher Education (Nonprofit - Nongovernment), Mahmoudabad, Iran. 2015.
15. Kalaiselvi M, Ravikumar G, Gomathi D, Uma C. In vitro free radical scavenging activity of *Ananus comosus* (L.) Merrill peel. *International Journal of Pharmacy Pharmaceutical Sciences*. 2012; 4(2):604 -9.
16. Khanipour A.A, Moradian Sorkhi F, Faim dezban Y. The study of stability and changes poly unsaturated fatty acid (PUFA) coefficient of the (Polyen Index) in burger production of *Kilka* (*Clupeonella cultriventris*) and Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage at - 18 ° C. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 2016;25(1):43-51 DOI:10.22092/ISFJ. [In Persian]
17. Khorramgah M, Rezaei M. Chemical and sensory changes of kutum (*Rutilus frisii* kutum) during frozen storage (-18 ° C). *Iranian Journal of Food Science and Technology*. 2013;9(13):101-107.
18. Latifi, B., Abolghasemi, S.J., Shuiklow, A.R., Ahmadi, M., Etimadian, Y. and Ghaemi, V., 2018. Comparison of physicochemical, microbial and sensory changes of smoked *Huso huso* elephant fish fillets flavored with salt water and sauce for 30 days in the refrigerator. *Scientific Journal of Iranian Fisheries*, 28(4): 1-11 [in Persian]. (DOI):10.22092 /ISFJ.2019.119397.1 -11
19. Suvanich V, Jahncke M.L, Marshall D.L. Changes in selected chemical quality characteristics of channel cat fish frame mince during chill and frozen storage. *Journal of Food Science*. 2000;65(1):24-29. DOI:10.1111/j.1365-2621. 2000.tb 15950.x.

20. Maleki, M., Ariaii, P. and Fallah, H., 2016. Effects of celery extracts on the oxidative stability of canola oil under thermal condition. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(3): 531 -540. DOI:org/10.1111/jfpp.12632.
21. Mexisa, S.F., Chouliara, E. and Kontominas, M.G., 2009. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf – life extension of rainbow trout fillets stored at 4°C. *Journal of Food Microbiology*, 26: 598 -605. DOI: 10.1016/j.fm.2009.04.002.
22. Mohan, C.O., Ravishankar, C.N. and Srinivasagopal, K., 2008. Effect of O₂ scavenger on the shelf-life of catfish (*Pangasius sutchi*) steaks during chilled storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 442 – 448. DOI:org/10.1002/jsfa.3105.
23. Nessrien M.N, Aboutaleb M. Antioxidant and antimicrobial effects of marjoram and thyme in coated refrigerated senmi fried Mullet fish fillets. *World Journal of Dairy & Food Science*. 2007;2(1):01-09p.
24. Ojagh S.M, Rezaei M, Razavi SH, Hoseini S.M. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated Rainbow trout. *Food Chemistry*. 2010; 120:193–198.
25. Park, S.Y., and Chin, K.B. 2010. Evaluation of pre-heating and extraction solvents in antioxidant and antimicrobial activities of garlic, and their application in fresh pork patties. *Journal of Food Science and Technology*. 45: 365-373.
26. Perez-Alonso F, Arias C, Aubourg S. Lipid deterioration during chilled storage of Atlantic pomfret (*Brama brama*). *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2003;105(11):661-667. DOI: 10.1002/ejlt.
27. Qitasi, A., Hosseini Shokrabi, S.P., Rajabi Eslami, H. and Shamsaei M., 1400. Oral effect of citrus limon peel extract coated with chitosan nanoparticles on blood parameters and antioxidant defense system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquatic Nutrition, University of Gilan*. Volume 7, Number 1 – Serial Number 15. Page 27-41[in Persian]. DOI: [10.22124/JANB.2021.20348.1151](https://doi.org/10.22124/JANB.2021.20348.1151)
28. Raissy M, Yazdi F. Study of Some Medicinal Plants on Chemical Composition of Rainbow Trout Fillets after Exposure with *Aeromonas hydrophila*. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. 2014;6(4):350-354.
29. Sallam Kh.I. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *J Food Control* 2007;18:566–575. DOI: [10.1016/j.foodcont.2006.02.002](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.02.002)
30. Sallam Kh.I, Ishioroshi M, Samejima K. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken

- sausage. *LWT. Food Sci Technol* 2004; 37: 849-55.
DOI: [10.1016/j.lwt.2004.04.001](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.04.001)
31. Seyedghasmi, S.A., Fatahi Moghadam, J., Babakhani, B., 2017. Investigating the process of changing the bioactive compounds of two varieties of Lisbon lime (*Citrus limon* cv. Lisbon) and Cook Eureka (*C. limon* cv. Cook Eureka) during ripening. *Journal of Plant Research*, Volume 31, Number 1, Page 132-144[in Persian].
 32. Shabanpoor B, Zolfaghari M, FalahZadeh S, Alipoor GH.H. Effect of extract of *Zararia multiflora* boiss. on shelf-life of salted vacuum packaged Rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*) in refrigerator conditions: microbial, chemical and sensory attributes assessments. *Iranian Journal of Food Science and Technology (JFST)*. 2011;8(33):1-11.
 33. Shavisi N, Khanjari A, Basti AA, Misaghi A, Shahbazi Y. Effect of PLA films containing *propolis* ethanolic extract, cellulose nanoparticle and *Ziziphora clinopodioides* essential oil on chemical, microbial and sensory properties of minced beef. *Meat Science*. 2017; 124: 95-104.
[Doi:10.1016/j.meatsci.2016.10.015](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.10.015)
 34. Shah Hosseini, S.R., Safari, R., Javadian, S.R. 2019. Investigating the antioxidant effect of pullulan edible coating containing *Nasturtium officinale* spring grass extract on the chemical spoilage of elephant fish (*Huso huso*) fillets during storage in the refrigerator. *Scientific Journal of Fisheries of Iran*. Volume 30. Number 2. Pages 133-146 (DOI): [10.22092/ISFJ.2021.124553](https://doi.org/10.22092/ISFJ.2021.124553)
 35. Taghizadeh Anwari, Q., and Rezaei, M., 2013. Effect of gelatin coating on chemical, microbial and sensory characteristics of rainbow salmon fillet (*Oncorhynchus mykiss*) at refrigerator temperature. *Journal of food science and industry*. Volume 9, Number 37. Pages 76-67[in Persian].
 36. Urei, F. Hosseini, S.A., Zariya Zahra, S.M.J. and Safari, R., 2019. Determination of the minimum inhibitory concentration of the ethanolic extract of orange peel and its effect on the flora of spoilage-producing bacteria in *Huso huso* fillet during refrigeration. *Scientific Journal of Iranian Fisheries*, 29(3). 25-36 [in Persian]. (DOI):[10.22092/ISFJ.2020.121508](https://doi.org/10.22092/ISFJ.2020.121508)
 37. Vahedi R. Effect of dietary ginger (*Zingiber officinale*) extract on growth, hematological parameters and metabolic enzymes in juvenile *Huso huso*. MSc. Thesis, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran. 2015.
 1. Vidya sager reddy g, Spikar L.N. Effect of preprocess ice storage on the lipid change of jappanese threadfin bream (*nemipterus japonicas*) mince during frozen storage .*asian fisheris science*. 1996;(9):109-114p

The effect of lemon extract (*Citrus limonum*) on the shelf life of fillet of *Huso huso* during storage in cold conditions

Bagheri Astani, Z¹. Fahim Dezhban, Y^{*2}

1 -M.Sc., Department of Agriculture, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran

2 -Assistant Professor, Department of Natural Resources, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Svadkooh, Iran

* Corresponding Author: Dr.Fahim79@Yahoo.Com

Received: 19/8/2023, Accepted: 10/9/2023

Abstract

In this research, the effect of lemon extract (*Citrus limonum*) on the shelf life of fillet fish (*Huso huso*) during cold storage period was investigated. The effect of different levels of extract during a storage period of twelve days on the indicators of oxidative spoilage and the number of bacteria (TVC & PTC) of fish fillets was carried out in the form of a completely randomized design with 4 treatments and three replications for each treatment. According to the findings of the research, the trend of changes in oxidative spoilage indices in each treatment during the storage period indicates that the effect of different concentrations of lime extract and the effect of storage time on fish fillets were statistically significant. In the investigated time periods, the experimental treatments significantly ($P < 0.05$) changed the thiobarbituric acid index and the rate of microbial load increase in the control treatment was far more than the experimental treatments, and the extract of 0.5% didn't have a significant effect on number of TVC during storage period, while the use of 1% extract significantly ($P < 0.05$) has reduced the number of PTC bacteria. According to the results, the use of extract and the storage time of fillets are significantly effective on most indicators of bacterial and oxidative spoilage. The results showed the use of lime extract in concentrations of 1 and 1.5% has the best effectiveness in preserving fish fillets, and it has antioxidant and antibacterial effects, and it can be used as a biodegradable extract to preserve.

Keywords: *Huso huso*, lime extract, shelf life, oxidation