زیست‌شناسی جانوری، سال پانزدهم، شماره چهارم، تابستان ۱۴۰۲، صفحات ۸۰- ۶۷

مقاله پژوهشی

# بررسی اثر پوشش دو جزئی کازئینات سدیم و عصاره گیاه مرزنجوش (*Origanum majorana*) بر روی چربی و شاخص‌های فساد اکسیداتیو ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) در دمای یخچال

مهران مسلمی[1*]، مقداد امینی راد[2]، مسعود هدایتی فرد[3]

۱- گروه شیلات، واحد جویبار، دانشگاه ازاد اسلامی، جویبار، ایران

۲- موسسه غیرانتفاعی تجن، قائم‌شهر، استان مازندران، ایران

۳- گروه شیلات، واحد قائم‌شهر، دانشگاه ازاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

*مسئول مکاتبات: m_moslemi1000@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۸

DOI: 10.22034/ascij.2023.1969097.1434

## چکیده

پژوهش حاضر جهت بررسی امکان استفاده از پوشش خوراکی دو جزئی کازئینات سدیم و عصاره گیاه مرزنجوش روی چربی و شاخص‌های فساد اکسیداتیو ماهی کپور نقره‌ای در دمای یخچال انجام پذیرفت. این پوشش‌ها شامل: پوشش با کازیئنات سدیم و عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۱ و ۲ درصد و کازئینات سدیم فاقد عصاره بودند. همچنین جهت بررسی اثر پوشش‌ها، یک گروه به عنوان تیمار شاهد و فاقد پوشش در نظر گرفته شد. فیله ماهی‌ها در محلول آماده شده مربوط به هر تیمار غوطه ور شده و سپس در دمای اتاق قرار گرفته تا پوشش مناسب بر روی آنها ایجاد شود. اندازه‌گیری فراسنجه‌های شیمیایی مقدار FFA، TVN، TBA، PV و FAT در روزهای صفر، پنج، ده و پانزدهم بر نمونه‌ها انجام شد. بر اساس داده‌های به دست آمده در مقادیر FFA، در روز صفر بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. ولی در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم در بین تیمارها اختلاف معنی-داری مشاهده شد ($p$ <۰/۰۵). برای مقادیر TVN نیز در روز صفر بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد اما در روزهای پنجم دهم و پانزدهم، بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p$ <۰/۰۵). برای مقادیر TBA هم در روز صفر بین تیمارها از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما این اختلاف در روز پنجم، دهم و پانزدهم بین تیمارها به صورت معنی‌داری مشاهده شد ($p$ <۰/۰۵). همچنین در روز صفر برای مقادیر PV، بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در طی روزهای پنجم، دهم و پانزدهم بین تیمارهای اعمال شده اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($p$ < ۰/۰۵). بر اساس داده‌ها، این روند برای مقادیر FAT، هم تکرار شد.

**کلمات کلیدی:** پوشش خوراکی، کازئینات سدیم، مرزنجوش، کپور نقره‌ای، فساد اکسیداتیو.

**مقدمه**

ماهی یکی از منابع پروتئینی با ارزش است که با توجه به تنوع زیاد گونه‌ها، دارای قابلیت مناسبی در تأمین بخشی از پروتئین مورد نیاز بشر است. امروزه مزایای مصرف ماهی بر کسی پوشیده نیست بطوریکه با روش‌های مختلف سعی در افزایش مصرف ماهی و سایر آبزیان داریم. فرآورده‌های شیلاتی به سرعت دچار افت کیفیت می‌گردند. افت کیفیت نتیجه تغییرات مختلف شیمیایی، آنزیمی و فیزیکی است که بر چهار دسته از ترکیبات مهمی که در فرآورده‌های شیلاتی وجود دارند و تأثیر گذار خواهند بود. پروتئین‌ها، چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها و رطوبت؛ جزء این چهار دسته هستند. همچنین ترکیبات مختلف دیگری در کیفیت پس از مرگ این فرآورده‌ها نقش دارند. برخی از این ترکیبات مانند آمونیاک، تری میتل آمین اکسید، اسیدهای آمینه آزاد، بازهای نیتروژنه فرار و هیستامین هستند. تغییرات طعم و بو به سرعت در ماهی و فرآورده‌های آن ایجاد می‌شود. به طور کلی واکنش‌های اکسیداسیونی و آلودگی با میکروارگانیسم-ها فاکتورهای اصلی در کاهش ماندگاری مواد غذایی می‌شوند و اگر به طور مؤثر کنترل نشوند سبب کاهش کیفیت فراورده خواهند شد. به طور کلی ماهی سریع-تر از سایر فراورده‌های گوشتی دیگر فاسد می‌شود. نگهداری sas در حالت انجماد یک روش عمومی نگهداری است که برای کنترل یا کاهش تغییرات بیوشیمیایی و شیمیایی و فعالیت‌های میکروبی استفاده می‌شود که طی نگهداری ماهی رخ می‌دهند. با این حال انجماد به طور کامل از واکنش‌های شیمیایی (مانند اکسیداسیون چربی) که سبب افت کیفیت ماهی می‌گردد، جلوگیری نمی‌کند (۱۹).

مهم‌ترین ارزش تغذیه‌ای آبزیان این است که تمام بخش چربی آن‌ها از اسیدهای چرب غیر اشباع امگا ۳ و امگا ٦ تشکیل شده است. و همین امر سبب تسریع در فساد این فرآورده‌ها می‌شود. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی، نوعی از مواد بسته‌بندی محسوب می‌گردند که از مواد تجدیدپذیر، زیست‌سازگار و زیست-تخریب‌پذیر تهیه می‌شوند. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی از یک‌سو نوعی از مواد بسته‌بندی و از سوی دیگر جزیی از ترکیبات مواد غذایی هستند. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی، به صورت بالقوه می‌توانند عمر ماندگاری فراورده‌های غذایی را افزایش دهند وسبب بهبود کیفیت سیستم‌های غذایی با کنترل انتقال جرم، رطوبت، نفوذ روغن، نفوذپذیری گازهایی مانند اکسیژن، دی اکسیدکربن و هم‌چنین از دست رفتن طعم و رایحه شوند. فرمولاسیون پوشش‌ها می‌تواند به عنوان ماده چسبنده برای مزه دار کردن یا بهبود ظاهر غذاها به کار رود. برای مثال، پوشش‌های خوراکی می‌توانند اسپری شوند یا بر روی سطح اسنک‌ها و کراکرها از راه غوطه‌وری مورد استفاده قرار گیرند تا به‌عنوان پایه و اساس یا مواد چسبنده، برای طعم‌دار کردن به کار روند. آب نبات‌ها اغلب با فیلم‌های خوراکی پوشش داده می‌شوند تا بافت شان با کاهش چسبندگی بهبود یابد (۱۳).

سبزی‌ها و صمغ‌های میکروبی، نشاسته‌ها، سلولوزها و مشتقات آن‌ها و غیره، ویژگی‌های خوبی برای تشکیل فیلم دارند. کازئین یک پروتئین شیر است که در تولید فیلم‌های خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این پروتئین، به دلیل ارزش تغذیه‌ای، ویژگی مکانیکی و سد کنندگی فوق‌العاده، انحلال‌پذیری در آب و وفور صنعتی، به عنوان ترکیبات تشکیل دهنده این فیلم‌ها مطلوب هستند (۱۱).

فیلم‌های حاصل از پروتئین‌های شیر، به دلیل باندهای بین مولکولی پیچیده‌شان، دارای ویژگی ممانعت کنندگی خوبی در مقابل عبور گازها هستند. فیلم‌های پروتئینی می‌توانند از خروج بوی مواد غذایی و انتشار

آن در محیط هم جلوگیری کنند (٤).

این فیلم‌های پروتئینی در برابر تغییر ماهیت ناشی از حرارت به خوبی مقاومت می‌کنند، به این معنی که در گستره وسیعی از pH دما و غلظت نمک، پایدار باقی می‌مانند (۱۲).

فیلم‌های خوراکی با پایه کازئین به سبب کیفیت بالای تغذیه‌ای، ویژگی بسیار خوب حسی، پتانسیل مناسب جهت محافظت کافی از فرآورده‌های غذایی، همچنین شفافیت و انعطاف‌پذیری برای استفاده در صنایع غذایی مورد توجه هستند (٤).

کازئینات سدیم پلیمری محلول در آب به دست آمده از ترکیب اسیدی کازئین، پروتئین اصلی در شیر گاو، است (۲) که دارای طعم خوشایندی بوده و به سبب قابلیت تشکیل باندهای وسیع هیدروژنی بین مولکولی، به راحتی می‌تواند محلول‌های آبدار تشکیل دهد. این ماده امولسیون خوبی است، به میزان زیادی محلول بوده و در حضور روغن و چربی هم همگن می‌گردد (۱۲).

فیلم‌های پروتئینی، به خوبی به سطوح آبدوست چسبیده، مانعی در برابر اکسیژن و دی اکسید کربن ایجاد می‌کنند، اما به سبب طبیعت آبدوست‌شان به شدت به آب نفوذپذیر هستند. در این رابطه، ترکیب عصاره‌های گیاهی و یا جانوری با فیلم‌های ترکیبی می‌تواند جایگزین جالب توجهی باشد.

گیاه مرزنجوش (*Origanum majorana*) از خانواده *Lamiaceae* گیاهی علفی و چند ساله و بومی ایران است و در نواحی شمال و شمال غرب می‌روید و به نام های مرزنجوش وحشی و پونه‌کوهی هم شناخته می-شود. این گیاه حاوی تیمول، کارواکرول، رزمارینیک اسید، بتابیزابول، کاریوفیلن، فلاوونوئیدها، تانن و ویتامین است. این گیاه در درمان اختلالات گوارشی و نفخ، به عنوان ضدآسم، ضداسپاسم، آرام بخش در طب سنتی استفاده می‌شود. در کشور ما دو گونه به صورت بومی و به صورت کشت شده رشد می‌کنند (۳). مرزنجوش یکی از مطالعه شده‌ترین گروه‌های گیاهان خانواده نعناع در خصوص محتوی ترکیبات شیمیایی آن بوده است و ترکیبات اصلی آن کارواکرول و تایمول هستند (١٤).

در پژوهش Penalver و همکاران (۱۵)، اثر اسانس چندین گیاه از جمله مرزنجوش را بر ضد گونه‌های متعددی از سالمونلا که از مرغ و خوک جدا شده بودند، بررسی نمودند. در بین اسانس‌ها، اسانس مرزنجوش بیشترین اثر را بر ضد چهار گونه سالمونلا داشت.

در پژوهش انجام شده توسط Preuss و همکاران (١٦)، اثر اسانس مرزنجوش را بر باکتری‌های پاتوژن شامل *E. coli*، *B. anthracis*، *S. aureus* و *K. pneumonia* بررسی کردند. مرزنجوش بر ضد تمام ارگانیزم‌های آزمایش شده به جز *B. anthracis* اثر داشت. در این پژوهش باکتری‌های عامل عفونت‌های بیمارستانی حساسیت بالایی نسبت به مرزنجوش داشته و بسته به نوع میکروب و غلظت اسانس یا عصاره گیاه، اثرات باکتریوستاتیک یا باکتری سیدال مشاهده شد. محلول‌های تشکیل دهنده فیلم از کازئینات سدیم و دو اسانس (دارچین یا زنجبیل) تشکیل شده و فیلم‌ها با شیوه پخش کردن به دست آمدند. استفاده از اسانس دارچین یا زنجبیل در نسبت‌های کمی که در فیلم‌های کازئینات سدیم استفاده شد (کمتر از ۱ به ۰/۱ پروتئین به چربی)، تأثیر چندانی روی ویژگی مکانیکی نداشته و تنها به مقدار کمی سبب کاهش نفوذپذیری نسبت به بخار آب شد. اسانس دارچین به شدت ویژگی ظاهری فیلم‌ها را تحت تأثیر قرار داد. اسانس زنجبیل، سبب تجمع قطرات چربی در فیلم‌های خشک شده در مشاهده با میکروسکوپ الکترونی، بی نظمی سطحی و کاهش شفافیت شد. برای بررسی ظرفیت آنتی اکسیدانی فیلم‌های کازئینی در نمونه‌های روغن،

یک فیلم کازئینات سدیم فاقد اسانس و دو فیلم کازئینی دیگر که یکی دارای اسانس دارچین و دیگری دارای اسانس زنجبیل بود و یک نمونه فاقد پوشش به عنوان شاهد مورد آزمایش قرار گرفتند. نتیجه این بود که مقدار PV در آن‌ها مشابه مقدار آن در نمونه روغن پوشانده شده با فویل آلومینیوم بود و همه فیلم-ها، احتمالاً به دلیل نفوذ پذیری کم آن‌ها در رطوبت نسبی پایین اتمسفر محیط، به طور چشم‌گیری مانع اکسید شدن روغن آفتاب‌گردان شدند. از طرف دیگر، روغن فاقد محافظ سریع‌تر از آنها اکسید شد. در مقایسه با فیلم‌های کازئینات سدیم، ترکیب هیچ یک از اسانس‌ها و همچنین افزودن هیچ یک ازروغن‌ها، تأثیر چندانی روی ظرفیت آنتی اکسیدانی فیلم‌ها نداشت، در حالیکه در روش اسپکتروفتومتری، اثبات شده که اسانس دارچین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان بسیار قوی است (۱).

در پژوهشی، نگه‌داری قطعات ۱۵ گرمی گوشت پخته بوقلمون به مدت ۳ روز در دمای ٤ درجه سانتیگراد انجام پذیرفت و هدف این بود که آیا بسته-بندی این قطعات با فیلم کازئینات سدیم اثر آنتی اکسیدانی بر آن‌ها دارد. پس از ۳ روز نگه‌داری، مقایسه تیمارها با شاهد، نشان‌دهنده‌ی کاهش TBA در قطعات دارای پوشش، بود (۵).

دقیق روحی و همکاران تأثیر اسیداسکوربیک و نوع بسته بندی بر کیفیت و ماندگاری برگر بدون پوشش ماهی کپور نقره‌ای طی نگهداری در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد را مورد بررسی قرار دادند (٦).

ارزیابی حسی تیمارها ارجحیت برگرهای حاوی اسید اسکوربیک را نشان داد. در نهایت، برگر ماهی با بسته بندی معمولی و وکیوم که فاقد اسیداسکوربیک بودند به مدت ۳ ماه و تیمار برگر ماهی با اسیداسکوربیک حداکثر برای مدت شش ماه قابلیت مصرف دارند.

Radebe و همکاران اثر پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره چای سبز بر میزان رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی و سرمادوست در کالباس مارتادلا در مدت زمان نگهداری مورد بررسی قرار دادند (۱۷) و ثابت کردند که استفاده از پوشش کیتوزان حاوی عصاره چای سبز در نمونه‌های کالباس مارتادلا، سبب کاهش در روند رشد باکتریایی (مزوفیل هوازی و سرمادوست) در نمونه‌ها در طول مدت نگهداری شد (۱۸).

به بررسی اثر پوشش‌دهی دو جزیی عصاره آویشن و ژلاتین در نگهداری فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان پرداخت و پوشش دهی ماهی توسط ژلاتین ۲٪ و آویشن ۲٪، به صورت مجزا و ترکیبی انجام شد.در تحقیق پیش رو تلاش خواهد شد اثر ضداکسایشی کازئینات سدیم همراه با عصاره گیاه مرزنجوش و امکان استفاده از پوشش تهیه شده از کازئینات سدیم جهت تولید پوشش خوراکی به منظور جلوگیری از فساد شیمیایی بر روی ماهی کپور نقره‌ای بررسی و ارائه گردد.ازاهداف عمده این پژوهش می توان موارد ذیل را برشمرد:

۱- بررسی تأثیر کازئینات سدیم همراه با عصاره گیاه مرزنجوش در کاهش اکسایش چربی ماهی کپور نقره-ای (فیتوفاگ)، در زمان نگهداری در دمای یخچال.

۲- بررسی قابلیت کازئینات سدیم و عصاره گیاه مرزنجوش در کاهش فساد شیمیایی ماهی کپور نقره-ای (فیتوفاگ)، در طول نگهداری در دمای یخچال.

## مواد و روش‌ها

**مواد و وسایل مورد استفاده:** کازئینات سدیم (حاوی ۹۰ درصد پروتئین و ۰/۰۱ درصد کلسیم) (سیگما – آلدریچ آلمان)، آب مقطر، گلیسرول، توئین ۸۰ (مرک، آلمان)، اسید اولئیک (مرک، آلمان)، عصاره گیاه مرزنجوش، از شرکت گیاه اسانس (ایران- گرگان)، خریداری شده و در ظروف شیشه‌ای در بسته تیره

رنگ، در یخچال نگهداری شد. ماهی کپور نقره‌ای، یدیدپتاسیم (مرک)، تیوسولفات سدیم (مرک)، بوتانل (مرک)، کلروفرم (شارلو)، هیدروکسیدسدیم (مرک)، اتانول (اپلیکم)، معرف TBA، معرف فنل فتالئین، اکسید منیزیم (شارلو)، اسیدبوریک (اپلیکم)، معرف متیل رد، اسید سولفوریک (مرک)، اسید استیک، امولسی‌فایر. یخچال، مخلوط کن با دور بالا، میکسر هموژنایزر، ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱، آون، دسی‌کاتور، بن‌ماری، هیتر، انکوباتور، کاغذ صافی، گیره و پایه، انواع شیشه آلات آزمایشگاهی از جمله دکانتور، بالن و بشر، ارلن، استوانه مدرج، قیف، شیشه ساعت، هاون، بورت، پیپت و ...

**روش تهیه محلول کازئینات سدیم:** ابتدا در ٤ بشر، ٤٥ گرم کازئینات سدیم توزین شده و وزن آن با آب مقطر به ۵۰۰ گرم رسید (۸٪ وزنی/وزنی)، سپس در دمای اتاق تحت همزنی بر روی استیرر قرار گرفت. در ٤ بشر دیگر، ۳۸ گرم اسید اولئیک (نسبت پروتئین به اسید اولئیک ۱: ۰/۹۵) جهت آب‌گریز کردن پوشش خوراکی کازئینات سدیم و ۱۵ گرم توئین ۸۰ (به میزان ٤۰ ٪ وزن اسید اولئیک) به عنوان امولسی-فایر توزین شده و تحت همزنی ملایم در دمای ٤۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از انحلال پودر کازئینات سدیم در آب مقطر، گلیسرول به عنوان نرم کننده (نسبت پروتئین به گلیسرول ۱: ۰/۳) به آن افزوده شد. سپس در حین همزنی ملایم، مخلوط اسید چرب و امولسی‌فایر هم به محلول پایه اضافه شد. در آخرین مرحله همزنی محلول بر روی استیرر، عصاره گیاه مرزنجوش با رقت‌های از پیش تعیین شده (حجمی/وزنی) به محلول پایه افزوده شد و ظروف مربوط به هر تیمار با توجه به درصد عصاره از یکدیگر تفکیک شدند (۱). در نهایت جهت بهبود عمل تداخل فازها، محلول‌ها به مدت ۳ دقیقه تحت همزنی با دور بالا توسط میکسر هموژنایزر قرار گرفتند.

**آماده سازی ماهی و تهیه تیمارهای مورد نیاز:** تعداد ۳۲ عدد ماهی کپور نقره‌ای هم وزن و هم‌سن مورد نیاز از ایستگاه پرورش ماهی تهیه و پس از صید بلافاصله با حفظ زنجیره سرد یعنی همراه با یخ به محل آزمایشگاه منتقل شدند، سپس سر زنی، تخلیه امعاء و احشاء و شستشو با آب تمیز و سپس عمل فیله کردن انجام گرفت. در آزمایشگاه، فیله‌ها در محلول پوششی آماده شده مربوط به هر تیمار غوطه ور شده و تا ایجاد پوشش مناسب بر روی آن‌ها در دمای محیط قرار گرفتند. پس از حدود ۱۰ دقیقه، برای اطمینان از ایجاد پوشش بر روی ماهی‌ها این کار دوباره تکرار شد و پس از ۱ ساعت و کمی خشک شدن، در یخچال قرار گرفتند تا ادامه فرآیند خشک شدن پوشش، در دمای ٤ درجه‌سانتی‌گراد یخچال صورت گیرد. سپس تمام تیمارها که شامل یک تیمار شاهد (فاقد پوشش)، یک تیمار دارای پوشش کازئینات سدیم (فاقد عصاره گیاه مرزنجوش) و دو تیمار دارای پوشش کازئینات سدیم (حاوی عصاره گیاه مرزنجوش با دو رقت مختلف)، به مدت ۱۵ روز در فواصل زمانی هر ۵ روز یکبار، مورد آزمایش‌های شیمیایی قرار گرفتند.

**اندازه‌گیری بازهای ازته فرار (TVN):** اندازه‌گیری مقدار TVN به روش کلدال و با قرار دادن ۱۰ گرم نمونه به علاوه ۲ گرم اکسید منیزیم و افزودن ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر داخل بالن و در نهایت جمع‌آوری بازهای ازته فرار در داخل محلول شامل اسید بوریک ۲٪ و متیل رد به عنوان شاخص تیتر محلول زرد رنگ حاصل با اسید سولفوریک تا حاصل شدن رنگ ارغوانی، انجام شد و به صورت میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه ماهی بیان شد (۹). مقدار کل نیتروژن فرار از رابطه زیر محاسبه شد.

TVN = ۱٤× حجم اسید سولفوریک مصرفی

**اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید** (TBA): اندازه‌گیری به روش رنگ‌سنجی صورت گرفت. مقدار ۲۰۰ میلی-گرم از نمونه چرخ شده ماهی به یک بالن ۲۵ میلی-لیتری (بالن کلدال) انتقال یافت و سپس با ۱- بوتانل به حجم رسید. مقدار ۵ میلی‌لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک درب‌دار وارد شده و به آن ۵ میلی-لیتر معرف TBA افزوده گردید. لوله‌های درب‌دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفتند و پس از آن در دمای محیط سرد شدند. سپس مقدار جذب (AS) در ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد (۷). مقدار TBA بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید.

$$TBA = \frac{(AS - Ab) \times 50}{200}$$

**اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد:** در یک ارلن، ۲۵ سیسی اتانول ۹۶ ٪، ریخته و سپس ۲-۳ قطره معرف فنل فتالئین به آن افزوده شد. بعد با افزودن ۱-۲ قطره سود نرمال خنثی شد که با تغییر رنگ به رنگ پوست پیازی، همراه بود. این محلول به ارلن حاوی چربی (که برای اندازه‌گیری چربی کل مورد استفاده قرار گرفت)، افزوده شد و روی هیتر قرار گرفت. بعد از اولین جوش، از روی حرارت برداشته شده، ۲-۳ قطره معرف فنل فتالئین به آن افزوده شد و بلافاصله با سود تیتر شد و طبق رابطه زیر، مقدار اسیدهای چرب آزاد (بر حسب درصد اسید اولئیک)، محاسبه شد (۷).

$$FFA = \frac{\text{حجم سود}(N) \times 28.2 \times N/10}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

**اندازه‌گیری پراکسید:** ابتدا ۱۵ گرم از گوشت بدون استخوان ماهی را که خوب میکس شده است، در دکانتور ۵۰۰ سی‌سی قرار داده، سپس ۳۰ سی‌سی کلروفرم به آن افزوده و کمی تکان داده مجدداً، ۳۰ سی‌سی کلروفرم و بعد ۶۰ سی‌سی متانول به آن افزوده شد. پس از ۱۲-۲۴ ساعت، ۳۶ سی‌سی آب مقطر به نمونه افزوده شده به مدت ۱-۲ ساعت استراحت داده شد تا ۳ فاز تشکیل شود. با دقت، ۲۰ سی‌سی از فاز پایین، به ارلن مایر۲۵۰ سی‌سی سر سمبادهای انتقال یافته، ۲۵ سیسی اسید استیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) به آن افزوده شد. سپس ۰/۵ سی‌سی محلول یدور پتاسیم اشباع (که به صورت تازه آماده شد و در تاریکی قرار گرفت) و ۳۰ سی‌سی آب مقطر به محتویات ارلن اضافه شده درب آن را گذاشته، به مدت ۱دقیقه در تاریکی استراحت داده شد و بعد مقدار ۰/۵ سی‌سی معرف نشاسته ۱٪ به آن افزوده شد و درب ارلن را گذاشته، محلول به شدت تکان داده شد. ید آزاد شده، سبب تغییر رنگ محلول شد که با محلول تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال، تیتر شد (۷). سپس با استفاده از رابطه زیر، مقدار پراکسید محاسبه گردید.

$$PV = \frac{100 \times \text{نرمالیته} \times \text{حجم مصرفی تیوسلفات}}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

**آنالیز آماری داده‌ها:** با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ و برنامه ANOVA، ابتدا حضور پارامترهای معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد بررسی و سپس با استفاده از آزمون دانکن (Duncan) تفاوت معنی‌دار بین داده‌ها شناسایی گردید. نمودارها با استفاده از Excel2007 ترسیم شدند.

## نتایج

**اسیدهای چرب آزاد:** بر اساس جدول۱، مقدار تغییرات اسیدهای چرب آزاد (FFA) در تیمارهای مختلف در مدت زمان نگه‌داری در دمای یخچال نشان داده شده است. در مقایسه کمی آزمون به عمل آمده از مقادیر اسیدهای چرب آزاد، مربوط به تیمارهای مختلف در هر بار نمونه برداری، در روز

صفر تفاوت چندانی بین تیمارهای مختلف دیده نشد، اما در روز پنجم تیمار شاهد و کازئینات سدیم فاقد عصاره بیشترین مقدار افزایش و ماهی پوشش داده شده با کازئینات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت‌های ۱ و ۲ درصد، کمترین مقدار افزایش را نشان دادند. در روزهای دهم و پانزدهم نیز تیمار شاهد بیشترین مقدار افزایش و ماهی پوشش داده شده با کازئینات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۲ درصد، کمترین مقدار افزایش اسیدهای چرب آزاد را از خود نشان دادند.

**بازهای ازته فرار:** بر اساس جدول ۲، مقدار تغییرات بازهای ازته فرار (TVN) میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم در تیمارهای مختلف در مدت زمان نگه‌داری در دمای یخچال نشان داده است که در روز صفر بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در روز پنجم، بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p < ۰/۰۵$). همچنین در روز دهم و پانزدهم نیز در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$). در روز دهم بین دو تیمار کازئینات سدیم فاقد عصاره و ماهی پوشش داده شده با کازئینات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۱ درصد اختلاف معنی‌داری نبود. در بررسی روند تغییرات بازهای ازته فرار در تیمار شاهد، مقدار آن در طی دوره نگه‌داری افزایش نشان داد. هم‌چنین این تغییرات برای تیمار کازئینات سدیم در طول دوره نگه‌داری روندی افزایشی داشت. مقدار بازهای ازته فرار در تیمارهای کازئینات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت‌های ۱ و ۲ درصد هم در طول دوره نگه‌داری روندی افزایشی را نشان دادند که این مقدار افزایش در تیمارهای پوشش داده شده نسبت به تیمار شاهد کمتر بود.

**تیوباربیتوریک اسید:** طبق جدول ۳، در مقایسه کمی آزمون به عمل آمده از مقادیر تیوباربیتوریک اسید، مربوط به تیمارهای مختلف در هر بار نمونه برداری، در روز صفر تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین تیمارهای مختلف دیده نشد، اما در روز پنجم تیمار شاهد بیشترین مقدار افزایش و ماهی پوشش داده شده با کازئینات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۱ درصد، کمترین مقدار افزایش را نشان دادند. در روزهای دهم و پانزدهم نیز تیمار شاهد بیشترین مقدار افزایش و ماهی پوشش داده شده با کازئینات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۲ درصد، کمترین مقدار افزایش تیوباربیتوریک اسید را از خود نشان دادند. میزان فساد اکسیداتیو فیله‌ها با شاخص TBA اندازه‌گیری شد و مقادیر آن بر حسب میلی گرم مالون دی آلدئید در هزار گرم نمونه گزارش شد.

**پراکسید:** طبق جدول ٤، مقدار تغییرات پراکسید (PV) در تیمارهای مختلف در مدت زمان نگه‌داری در دمای یخچال نشان داده شده است که در روز صفر بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در روز پنجم، بین تیمارهای اعمال شده اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$). در روز دهم و پانزدهم، بین تیمار پوشش داده شده با کازئینات سدیم و تیمار ماهی دارای پوشش کازئینات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۱ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند ($p <۰/۰۵$). در بررسی روند تغییرات مقادیر پراکسید در تیمار شاهد، مقدار آن تا روز دهم نگه-داری افزایش و سپس روند کاهشی را نشان داد. این تغییرات برای تیمارهای کازئینات سدیم و کازئینات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت‌های ۱ و ۲ درصد هم در طول دوره نگه‌داری به همین ترتیب تکرار شد. در مقایسه کمی آزمون به عمل آمده از مقادیر پراکسید، مربوط به تیمارهای مختلف در هر بار نمونه برداری، در روز صفر تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین تیمارهای مختلف دیده نشد، اما در روز پنجم تیمار شاهد بیشترین مقدار افزایش و ماهی پوشش

داده شده با کازیئنات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۲ درصد، کمترین مقدار افزایش را نشان دادند. در روزهای دهم و پانزدهم نیز تیمار شاهد بیشترین مقدار افزایش و ماهی پوشش داده شده با کازیئنات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۲ درصد، کمترین مقدار افزایش پراکسید را از خود نشان دادند.

**چربی خام:** طبق جدول ۵، مقدار چربی خام (FAT) در تیمارهای مختلف در مدت زمان نگه‌داری در دمای یخچال نشان داده شده است. بر اساس داده‌های به دست آمده، در روز صفر بین تیمارها اختلاف معنی-داری وجود نداشت. در روز پنجم، بین تیمارهای اعمال شده اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$). در روز دهم نیز بین تیمارهای اعمال شده اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$). در روز دوازدهم بین تیمار پوشش داده شده با کازئینات سدیم و تیمار ماهی دارای پوشش کازیئنات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۲ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < ۰/۰۵$). در بررسی روند تغییرات مقادیر چربی خام در تیمار شاهد، مقدار آن در طی دوره نگه‌داری روند کاهشی را نشان داد. این تغییرات برای تیمارهای کازیئنات سدیم و کازیئنات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت‌های ۱ و ۲ درصد هم در طول دوره نگه‌داری روندی کاهشی را نشان داد. در مقایسه کمی آزمون به عمل آمده از مقادیر چربی خام، مرتبط با تیمارهای مختلف در هر بار نمونه برداری، در روز صفر تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین تیمارهای مختلف دیده نشد، اما در روز پنجم تیمار شاهد بیشترین مقدار کاهش و ماهی پوشش داده شده با کازیئنات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۲ درصد، کمترین مقدار کاهش را نشان دادند. در روز دهم نیز تیمار شاهد بیشترین مقدار کاهش و ماهی پوشش داده شده با کازیئنات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۲ درصد، کمترین مقدار کاهش چربی خام را از خود نشان دادند. همچنین در روز پانزدهم تیمارهای شاهد و ماهی پوشش داده شده با کازئینات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۱ درصد بیشترین مقدار کاهش و تیمارهای کازئینات سدیم فاقد عصاره و ماهی پوشش داده شده با کازئینات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۲ درصد، کمترین مقدار کاهش در مقادیر چربی خام اندازه‌گیری شده را از خود نشان دادند.

جدول۱–میانگین. تغییرات اسیدهای چرب آزاد (FFA) در فیله‌های پوشش داده شده با کازیئنات سدیم، کازیئنات سدیم– ۱ و ۲ درصد عصاره گیاه مرزنجوش در دمای یخچال.

| آزمایش | تیمار: زمان (روز) | شاهد | Sc | La+ Sc1% | La+ Sc2% |
|---|---|---|---|---|---|
| FFA | ۱ | ۰/۱۵±۰/۰۰۱d | ۰/۱۵±۰/۰۰۰۵ d | ۰/۱۵±۰/۰۰۰۵ d | ۰/۱۵±۰/۰۰ d |
| | ۵ | ۰/۲۹±۰/۰۱a | ۰/۲۷±۰/۰۰۵ a | ۰/۲۱±۰/۰۰۵ b | ۰/۲۱±۰/۰۱ b |
| | ۱۰ | ۰/٤۷±۰/۰۰۵a | ۰/٤۱±۰/۰۱b | ۰/۳۸±۰/۰۰۵ c | ۰/۳٤±۰/۰۰۵ d |
| | ۱۵ | ۰/۹۷±۰/۲۷a | ۰/۸۹±۰/۰۱b | ۰/۸٤±۰/۰۰۵ c | ۰/۷۹±۰/۰۲ d |

اعداد هر ردیف که با حروف غیر مشابه نشان داده شده‌اند از نظر آماری با هم اختلاف دارند($P<۰/۰۵$). ماهی دارای پوشش کازئینات سدیم: SC، ماهی دارای پوشش با کازیئنات سدیم و عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۱ درصد: -La+ Sc1% و ماهی دارای پوشش با کازیئنات سدیم و عصاره گیاه مرزنجوش با رقت ۲ درصد: -La+ Sc2%

جدول۲- تغییرات بازهای ازته فرار (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) در فیله‌های پوشش داده شده با کازیئنات سدیم، کازیئنات سدیم- ۱ و ۲ درصد عصاره گیاه مرزنجوش در دمای یخچال.

| آزمایش | تیمار: زمان (روز) | شاهد | Sc% | La+ Sc1% | La+ Sc2% |
|---|---|---|---|---|---|
| TVN | ۱ | ۱۴/۹۰±۰/۰۰d | ۱۴/۹۳±۰/۰۵ d | ۱۵±۰/۱۷ d | ۱۴/۹۶±۰/۱۱ d |
| | ۴ | ۱۶/۳۳±۰/۱۱a | ۱۵/۷۳±۰/۰۵ b | ۱۵/۴۰±۰/۰۰ c | ۱۵/۰۶±۰/۰۵ d |
| | ۸ | ۱۹/۹۰±۰/۰۰a | ۱۹/۱۳±۰/۱۱b | ۱۹/۱۳±۰/۱۱ b | ۱۸/۵۰±۰/۱۰ c |
| | ۱۲ | ۲۳/۳۶±۰/۲۰a | ۲۲/۸۳±۰/۰۵b | ۲۲/۳۳±۰/۱۱ c | ۲۲/۰۶±۰/۰۵ d |

جدول ۳ – تغییرات تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم مالون دی آلدئید در هزار گرم) در فیله‌های پوشش داده شده با کازیئنات سدیم، کازیئنات سدیم- ۱ و ۲ درصد عصاره گیاه مرزنجوش در دمای یخچال.

| آزمایش | تیمار: زمان (روز) | شاهد | Sc% | La+ Sc1% | La+ Sc2% |
|---|---|---|---|---|---|
| TBA | ۱ | ۰/۳۴±۰/۰۰۵d | ۰/۳۴±۰/۰۰۵ d | ۰/۳۴±۰/۰۰۵ d | ۰/۳۳±۰/۰۰۵ d |
| | ۴ | ۰/۴۸±۰/۰۰a | ۰/۴۱±۰/۰۰ b | ۰/۳۴±۰/۰۰۵ d | ۰/۳۸±۰/۰۱ c |
| | ۸ | ۰/۷۱±۰/۰۰a | ۰/۶۶±۰/۰۰b | ۰/۶۵±۰/۰۰ b | ۰/۶۱±۰/۰۰۵ c |
| | ۱۲ | ۰/۹۳±۰/۰۱a | ۰/۸۲±۰/۰۱b | ۰/۷۶±۰/۰۱ c | ۰/۷۱±۰/۰۰۵ d |

جدول ٤- میانگین(میانگین ±SD)PV. تغییرات پراکسید، در فیله‌های پوشش داده شده با کازیئنات سدیم، کازیئنات سدیم- ۱ و ۲ درصد عصاره گیاه مرزنجوش در دمای یخچال

| آزمایش | تیمار: زمان (روز) | شاهد | Sc% | La+ Sc1% | La+ Sc2% |
|---|---|---|---|---|---|
| PV | ۱ | ۰/۲۱±۰/۰۰d | ۰/۲۱±۰/۰۰۵ d | ۰/۲۱±۰/۰۰ d | ۰/۲۱±۰/۰۰ d |
| | ۴ | ۰/۶۱±۰/۰۱a | ۰/۵۴±۰/۰۰۵ b | ۰/۵۰±۰/۰۱ c | ۰/۴۶±۰/۰۱ d |
| | ۸ | ۱/۸۵±۰/۰۰a | ۱/۶۹±۰/۰۰b | ۱/۷۰±۰/۰۱ b | ۱/۶۳±۰/۰۲ c |
| | ۱۲ | ۱/۲۳±۰/۰۱a | ۱/۱۲±۰/۰۰۵b | ۱/۱۴±۰/۰۰۵ b | ۱/۰۶±۰/۰۲ c |

جدول ۵- میانگین(میانگین ±SD)FAT. تغییرات چربی خام (درصد)، در فیله‌های پوشش داده شده با کازیئنات سدیم، کازیئنات سدیم- ۱ و ۲ درصد عصاره گیاه مرزنجوش در دمای یخچال

| آزمایش | تیمار: زمان (روز) | شاهد | Sc% | La+ Sc1% | La+ Sc2% |
|---|---|---|---|---|---|
| FAT | ۱ | ۱/۸۳±۰/۰۱a | ۱/۸۳±۰/۰۰۵ a | ۱/۸۳±۰/۰۱ a | ۱/۸۴±۰/۰۰ a |
| | ۴ | ۱/۵۶±۰/۰۱d | ۱/۶۶±۰/۰۱ b | ۱/۶۲±۰/۰۰۵ c | ۱/۷۷±۰/۰۱ a |
| | ۸ | ۱/۱۷±۰/۰۰۵d | ۱/۴۶±۰/۰۲b | ۱/۳۴±۰/۰۰۵ c | ۱/۴۹±۰/۰۰۵ a |
| | ۱۲ | ۰/۶۱±۰/۰۰b | ۰/۹۵±۰/۰۰۵a | ۰/۶۱±۰/۰۱ b | ۰/۹۵±۰/۰۱ a |

**بحث**

پیشرفت تند شدن در ماهی ناشی از اکسیداسیون چربی‌های موجود در بافت‌ها است. افزایش مقادیر چربی حاکی از توسعه تندی و فساد در طول زمان نگهداری ماهیان در یخچال بود؛ پس از مرگ ماهیان در نتیجه فساد آنزیمی و یا میکروبی چربی، گلیسریدها، گلیکولیپیدها و فسفولیپیدها توسط آنزیم-های لیپاز هیدرولیز شده و به اسیدهای چرب آزاد تبدیل می‌شوند. آنزیم‌های لیپولیتیک طی فرآیندی که

اصطلاحاً آنرا Lipolysis گویند، با تأثیر بر چربی، سبب هیدرولیز چربی‌ها به اسیدهای چرب و گلیسرول شده و مقدار اسیدهای چرب آزاد را در آن-ها افزایش می‌دهند و بدین ترتیب اسیدهای چرب غیر اشباع آزاد بوجود می‌آیند که در ادامه روند اکسیداسیون چربی به آلدئیدها و کتون‌ها تبدیل می-شوند. بنابراین اندازه گیری FFA شاخص خوبی برای بیان تأثیر آنزیم‌های لیپولیتیک بر چربی است. هر چند گزارش‌های موجود FFA را به عنوان عامل مستقیم افت کیفیت بیان نکرده‌اند، اما افزایش مقادیر آن سبب افزایش اکسیداسیون چربی، توسعه طعم نامطلوب، ایجاد تغییرات بافتی به واسطه تغییر ماهیت پروتئین و در نهایت کاهش کیفیت فرآورده می‌گردد.

مقدار TVN یکی از شاخص‌هایی است که به صورت گسترده در ارزیابی کیفی غذاهای دریایی استفاده شده است و یک اصطلاح کلی است که شامل اندازه‌گیری تری متیل آمین (ناشی از فساد باکتریایی)، دی‌متیل-آمین (تولید شده بوسیله آنزیم‌های اتولیتیک طی نگه-داری)، آمونیاک (ناشی از آمین‌زدایی آمینواسیدها و کاتابولیت‌های نوکلئوتیدی) و دیگر ترکیبات بازی فرار نیتروژنی مرتبط با فساد غذاهای دریایی است. بررسی مقدار TVN در تیمارهای مختلف طی نگهداری در دمای یخچال نشان داد که تشکیل این ترکیبات در تیمارهای دارای عصاره گیاه مرزنجوش به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود. عوامل ایجاد کننده TVN در گوشت آنزیم‌های موجود در خود گوشت و فعالیت میکروارگانیسم‌های آن است.

اندازه‌گیری پراکسید جهت تعیین محصولات اولیه اکسیداسیون چربی (هیدرو پراکسیدها) به کار می‌رود و تولید آن تغییری در ویژگی‌های حسی ماهی ایجاد نمی‌کند، اما ممکن است منجر به ایجاد مخاطراتی برای مصرف کننده گردد. افزایش مقادیر پراکسید حاکی از توسعه تندی و فساد در طول زمان نگهداری ماهیان در یخچال بود و ممکن است دلایل کاهش آن در انتهای دوره، پیروی از مکانیسم مونومولکولار و بی‌مولکولار و یا واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون از جمله واکنش با پروتئین‌های قابل حل در نمک و تبدیل پراکسید به ترکیبات ثانویه اکسیداسیونی (تولید ترکیبات کربونیلی نظیر استالدئید، پروپیونالدئید، استون، اسیدهای چرب فرار مانند اسیدکاپروئیک و اسیدپروپیونیک و گازهای فرار) باشد.

اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید شاخص مناسبی برای تعیین پیشرفت اکسیداسیون چربی و تولید ترکیبات کربونیل است (۵). افزایش میزان TBA در تیمارها در طول دوره را می‌توان به اکسیداسیون لیپید و تولید متابولیت‌های فرار در حضور اکسیژن مربوط دانست. در این پژوهش، مقادیر این شاخص در همه نمونه‌ها از حد قابل قبول پیشنهادی یعنی دامنه ۲-۱ میلی‌گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم چربی در طول دوره نگهداری کمتر بود .مقادیر تیوباربیتوریک اسید در ماهیان تیمار شده به طور معنی‌داری کمتر از نمونه شاهد بود ($P<۰/۰۵$). کاهش این شاخص در نمونه-های تیمار شده با کازئینات سدیم نشان می‌دهد پوشش کازئینات سدیم سبب ممانعت از اکسیداسیون چربی در گوشت شده است (۵).

اکسیداسیون چربی یک مشکل اصلی در غذاهای دریایی به ویژه غذاهای با چربی بالا است که به ایجاد بو و طعم نامطلوب منجر می شود. در مرحله اول اکسیداسیون، به دلیل اتصال اکسیژن به پیوند دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع، پراکسیدها تشکیل می‌شوند. هیدرو پراکسید، محصول اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب چندغیراشباعی است. روند کاملاً منظمی را برای این شاخص نمی‌توان در نظر گرفت، اما به طور کلی طی دوره نگهداری مقدار چربی در تیمارهای مورد بررسی کاهش یافت. همچنین کاهش نهایی مقادیر چربی خام در نمونه‌های اندازه‌گیری شده

احتمالا به دلیل اکسیداسیون چربی و تأثیر آنزیم‌های موثر در فساد هیدرولتیکی چربی و تبدیل آن به اسیدهای چرب آزاد است.

پوشش کازئینات سدیم سبب ممانعت از اکسیداسیون چربی در گوشت ماهی شده است (۱، ۵). یکی از ویژگی‌های مهم جنس مرزن جوش فعالیت آنتی اکسیدانی قابل مقایسه آن با آنتی اکسیدان‌های مهم مانند ویتامین C و ویتامین E است. آثار آنتی اکسیدانی این گیاه را می‌توان در ارتباط مستقیم با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در آن از جمله اسید رزمارینیک، تیمول و کارواکرول دانست. ترکیبات فنلی به صورت موثری به عنوان دهنده هیدروژن عمل نموده و از این طریق موجب مهار رادیکال‌های آزاد می‌گردند لذا به عنوان یک عامل آنتی اکسیدانی موثر عمل می‌کنند.

نتایج این آزمایش با نتایج دقیق روحی و همکاران در بررسی اثر عصاره رزماری بر ماندگاری قزل آلای رنگین کمان (٦) و مطالعه برازنده در زمینه تأثیر پوشش کیتوزانی غنی شده با اسانس دارچین بر ماندگاری قزل آلای رنگین کمان (۳) مطابقت داشت. بر اساس نتایج، مقدار TVN در همه تیمارها روندی افزایشی داشته که با نتایج Buonoeore و همکاران (٤) در این زمینه هم‌خوانی دارد. اما کمتر بودن تشکیل TVN در فیله‌های حاوی عصاره از تیمار شاهد را می‌توان به سبب اثر ممانعت‌کنندگی عصاره‌های گیاهی آنتی‌میکروبی بر رشد باکتری‌ها، که یکی از اصلی‌ترین عوامل تشکیل TVN در گوشت هستند، نسبت داد (۱۲). مقدار استاندارد TVN در فیله ماهی تا حدود ۲۵ میلی‌گرم به ازای ۱۰۰ گرم فیله است ,که در پایان دوره نگهداری در این پژوهش بیشتر از حد استاندارد نرسید. در بررسی Fan و همکاران (۸) افزایش TVN در تیمارهای کپور نقره‌ای غوطه‌ور شده در پلی‌فنول-های چای ۲ درصد نسبت به نمونه‌های غوطه‌ور شده در آب مقطر در طی دوره نگهداری در یخ کم‌تر بود. در پژوهش Fan و همکاران (۸) گزارش شد که مقدار TVN همزمان با افزایش طول دوره در نمونه‌های شاهد و تیمار روکش‌دار شده کپور نقره‌ای با کیتوزان افزایش یافت اما در هیچ‌کدام از تیمارها به حد محدودیت مصرف (۳۰ تا ۳۵ TVN میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت) پس از ۳۰ روز نگهداری در انجماد نرسید. به‌هر حال افزایش مقدار TVN در این پژوهش در تمامی نمونه‌ها در طی دوره نگهداری را می‌توان با فعالیت باکتری‌های عامل فساد مرتبط دانست. مقدار بالای فعالیت باکتری‌ها، ترکیباتی مانند تری‌متیل آمین اکساید و پپتیدها و اسیدهای آمینه را به بازهای فرار می‌شکند و در نتیجه منجر به افزایش غلظت کل نیتروژن فرار خواهد گردید (١٦).

به‌طور کلی مقدار غلظت کل نیتروژن فرار تحت تأثیر گونه، جنس، محل برداشت، فصل و سن ماهی تغییر می‌کند.

کاهش بیشتر تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌های دارای پوشش کازئینی غنی شده با عصاره را می‌توان به ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و هم‌چنین اثر آنتی میکروبی عصاره گیاه مرزنجوش بر واکنش‌های آنزیمی باکتریایی مرتبط با اکسیداسیون چربی نسبت داد (۲).

یکی از ویژگی‌های مهم مرزنجوش فعالیت آنتی-اکسیدانی قابل مقایسه آن با آنتی اکسیدان‌های مهم مانند ویتأمین C و ویتأمین E است. بسیاری از این پژوهش‌ها آثار آنتی اکسیدانی مشاهده شده را در ارتباط مستقیم با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در این گیاهان از جمله اسید رزمارینیک، تیمول و کارواکرول دانسته‌اند. ترکیبات آنتی اکسیدانی مذکور را می‌توان از طریق فرآیند عصاره گیری به نحو مطلوبی از گیاه جداسازی کرده و جهت مصارف دارویی و غذایی مورد استفاده قرار داد (۹).

ترکیبات فنلی به صورت موثری به عنوان دهنده

هیدروژن عمل نموده و از این راه سبب مهار رادیکال‌های آزاد می‌گردند لذا به عنوان یک عامل آنتی اکسیدانی موثر عمل می‌کنند(۲).

در طی روزهای نگهداری، سطح پراکسید در تیمار ماهی دارای پوشش کازئینی، به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود که می‌تواند دلیلی بر ممانعت از عبور اکسیژن و تأخیر اکسیداسیون چربی توسط پوشش کازئینی باشد (۱، ۵، ۱۰). هم چنین مقادیر پراکسید در تیمارهای دارای پوشش کازئینی فاقد و حاوی عصاره گیاه مرزنجوش در سطح پایین‌تری نسبت به تیمار شاهد بود که می‌تواند تأییدی بر وجود اثر آنتی‌اکسیدانی در عصاره گیاه مرزنجوش باشد که با نتایج Fan و همکاران (۸)، مطابقت داشت.

مقادیر چربی در تیمارهای دارای پوشش کازئینی فاقد و همچنین حاوی عصاره گیاه مرزنجوش طی روزهای نگهداری در سطح بالاتری نسبت به تیمار شاهد بودند که می‌تواند تأییدی بر وجود اثر آنتی‌اکسیدانی در این عصاره باشد. نمونه‌های پوشش داده شده با کازئینات سدیم به سبب ممانعت از عبور اکسیژن و تأخیر اکسیداسیون به‌عنوان یک محافظ اکسیژن عمل می‌کند و انتظار می‌رود مقدار اکسیداسیون را نسبت به تیمار شاهد کاهش دهد. همچنین به خاطر حضور ترکیباتی مانند عناصر فنلی مانند کارواکرول و تایمول (۱۵)، در عصاره گیاه مرزنجوش، مقادیر چربی در تیمارهای حاوی عصاره، طی روزهای نگهداری در سطح بالاتری نسبت به تیمار شاهد بودند. نتایج این پژوهش با نتایج سعیدی مقدم و همکاران (۱۸) در مورد اثر عصاره‌های گیاهی روی ماکرل اسبی ( *Trachurus trachurus*) که یک ماهی چرب محسوب می‌شود، هم‌خوانی دارد.

## نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که پوشش کازئینات سدیم و عصاره گیاه مرزنجوش، در کاهش اکسایش چربی و همچنین در کاهش فساد شیمیایی اکسیداتیو ماهی کپور نقره‌ای در طی نگهداری در دمای یخچال و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری نقش داشتند و نشان دهنده اثر ممانعتی این پوشش‌ها در مقابل گسترش فساد و قابلیت استفاده از آن در صنایع بسته-بندی زیست تخریب پذیر است، در این پژوهش با سه پوشش مختلف؛ کازئینات سدیم، کازئینات سدیم – عصاره گیاه مرزنجوش با رقت‌های ۱ و ۲ درصد، سعی در شناسایی بهترین عمل‌کرد از آن پوشش‌ها شد. با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش، اعمال هر یک از تیمارهای فوق، به ویژه تیمارهای کازئینات سدیم- عصاره گیاه مرزنجوش با رقت‌های ۱ و ۲ درصد در زمینه جلوگیری از فسادشیمیایی و عدم افزایش مقادیر (TVN، TBA، PV و FFA) و همچنین جلوگیری از فساد چربی در بافت (FAT)، موثر بوده و سبب افزایش عمر ماندگاری در نمونه-های پوشش داده شده نسبت به نمونه شاهد در مدت زمان نگهداری شدند. از آنجا که کاربرد روش‌هایی به منظور به حداقل رساندن فساد در فرآورده‌های دریایی از نظر اقتصادی و بهداشتی دارای اهمیت است، انجام پژوهش‌های بیشتر در زمینه ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریایی عصاره گیاهان طبیعی در ماهی و فرآورده‌های شیلاتی ضروری و مفید خواهد بود.

## منابع

1. Atarés L., Bonilla J., Chiralt A. 2010. Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*, 100:678-687.

2. Audic J.L., Chaufer B. 2005. Influence of plasticizers and crosslinking on the properties of biodegradable films made from sodium caseinate. *European Polymer Journal*, 41:1934-1942.

3. Barazandeh M.M. 2000. Essential oil composition of *Origanum majorana*. *Iranian Medicinal and Aromatic Plants Resarch*, 10:65-75.

*4.* Buonoeore G.G., Del Nobile M.A., Dimartino C. Gambacorta G., La Nott E., Nicoluis L. 2002. Modeling the water transport properties of casein-based edible coating. *Journal of Food Engineering*, 60: 99-106.

5. Caprioli I., O'Sullivan M, Monahan F.J., 2011. Interference of sodium caseinate in the TBARS assay. *Food Chemistry*, 124: 1284-1287.

6. Daqiq Rouhi J., Gharghi A., Jalili H., Sadrian M., Rafi-Pour F., Faid M. 2012. Effect of ascorbic acid and type of packaging on the quality and shelf life of burger without silver carp (Hypophthalmichthies molitrix) during storage at -18°C. *Scientific Quarterly*, 1(1):13-25.

7. Egan H., Kirk R.S., Sawyer R. 1997. Pearsons Chemical Analysis of Food. 9th Edn. Longman Scientific and Technical. pp: 609-634.

8. Fan W., Yongkui, Z., Pan D., Yuwen Y. 2013. Effects of Chitosan Coating Containing Antioxidant of Bamboo Leaves on Qualitative Properties and Shelf Life of Silver Carp during Chilled Storage. *Food Science*, 31(5):451-456.

9. Goulas AE, Kontominas MG (2005). Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackarel (Scomber japonicus): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 93:511-550.

10. Khwaldia K., Banon S., Perez C., Desobry S., 2004. Properties of sodium caseinate film forming dispersions and films. *Dairy Science,* 87:2011-1016.

11. Kroctha J.M., deMulder-Johnston C. 1997. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and opportunities. Food Technology, 51:60-74.

12. Krochta J.M. 2002. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. In: Gennadios, A. (Ed.), Protein-based Films and Coatings. CRC Press, Boca Raton, FL. Pp: 1-41.

13. McHugh T.I.I., Krochta J.M. 1994. Water vapor permeability properties of edible whey portein lipid emulsion films. *Journal of the American Oil Chemists' Society,* 71:307-312.

14. Padulois S. 1997. Oregano. Proceeding of the International Partners in Glass Research. International Workshop on Oregano, Rome, Italy, pp: 84-86.

15. Penalver P., Huerta B., Borge C., Astorga R., Romero R., Perea A. 2005. Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family. *Journal of Pathology, Microbiology and Immunology*; 113:1-6.

16. Preuss H.G., Echard B., Enig M., Brook I., Elliott T.B., 2005, Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and monolaurin for gram-posetive and gram-negative bacteria. *Molecular and Cell Biochemistry*, 272:29-34.

17. Radbeh S., Shahidi S., Naghizadeh Sh. 2016. The effect of oral coating of chitosan containing green tea extract on the growth rate of aerobic and cold-loving mesophilic bacteria in *Martadella sausage* during storage. Third International Conference on Applied Research in Agricultural Sciences, Tehran, Iran, 2016-02-19.

18. Saeedi-Moghadam D. 2017. Investigation of the effect of two-part coating of thyme extract and gelatin on the preservation of rainbow trout fillets. Master Thesis. Tajan Non-Profit Higher Education Institute

19. Sathivel S. 2007. Chitosan and protein Coatings affect yield, Moisture loss, and lipid oxidation of apple pink salmon fillets During Frozen storage. Journal of Food Science, 70:445-459.

# The Effect of Two-Component Coating of Sodium Caseinate and Marjoram Extract on Fat and Oxidative Degradation Indices of Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) at Refrigerator Temperature

**Mehran Moslemi[1*], Meghdad Amini Rad[2], Masoud Hedayatifard[3]**

1- Department of Fisheries, Joybar Branch, Islamic Azad University, Joybar, Iran
2- Tajan Non-Profit Organization, Ghaemshahr, Mazandaran Province, Iran
3- Department of Fisheries, Ghaemshahr Branch, Islamic Azad University, Ghaemshahr, Iran

## Abstract

The present study was conducted to investigate the possibility of using two-component oral coating of sodium caseinate and marjoram extract on fat and oxidative corrosive indices of silver fish at refrigerator temperature. These coatings included: coating with sodium caseinate and marjoram extract with dilution of 1 and 2% and non-extracted sodium caseinate. In order to investigate the effect of coatings, a group was considered as control and non-coating treatment. Fish fillets are immersed in the prepared solution for each treatment and then at room temperature to make the coating appropriate on them. The measurement of chemical parameters of FFA, TVN, TBA, PV and FAT was performed on zero, five and fifteen days. Based on the data obtained in FFA values, there was no significant difference in the zero day between treatments. But in the fifth, tenth and fifteenth days, there was a significant difference between treatments ($p < 0.05$). For TVN values, there was no significant difference in zero day between treatments, but in the fifth and fifteenth days, there was a significant difference between treatments ($p < 0.05$). For TBA values, there was no significant difference in the zero day between treatments, but this difference was significantly observed on the fifth, tenth and fifteenth days between treatments ($p < 0.05$). Also, there was no significant difference in the zero day for PV values. During the fifth, tenth and fifteenth days, there was a significant difference between treatments ($p < 0.05$). Based on data, this process was repeated for FAT values.

**Keywords**: Drop Coating, Sodium Caseinate, Marjoram, Silver Carp, Oxidative Corruption.

.