(مقاله پژوهشی)

بهبود ماندگاری فیله‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با استفاده از عصاره‌ی‌آزاد و درون‌پوشانی‌شده گلبرگ زعفران (*Crocus sativus* L.) طی دوره نگهداری در یخچال

عالیا خلیلی[۱]، حمید توکلی پور[۲]، لیلا روزبه نصیرایی[۱*]، احمد کلباسی اشتری[۳]

۱-گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران.
۲-گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.
۳-گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۲۳

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره گلبرگ زعفران (*Crocus sativus* L.) بر کیفیت و زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلا است. عصاره‌ی گلبرگ زعفران به روش آنزیمی استخراج و توانایی مهار رادیکال آزاد و میزان ترکیبات فنولی آن سنجش شد. فیله‌های ماهی به سه گروه تقسیم شدند: شاهد، حاوی‌عصاره‌گلبرگ زعفران (غلظت ۰/۰۷ ٪w/w) و حاوی عصاره‌ی درون‌پوشانی‌شده (مالتودکسترین: پروتئین آب‌پنیر- ۱: ۱). ویژگی‌های شیمیایی (بازهای ازته فرار؛ مواد واکنش‌دهنده با تیوباربیتوریک‌اسید؛ شاخص پراکسید؛ میزان اسیدهای چرب‌آزاد) و میکروبی (میکروارگانیسم‌های کل؛ باکتری‌های سرمادوست و اسیدلاکتیک باکتری‌ها) ماهی‌ها طی ۱۵ روز نگهداری در دمای ۱ ± ۴ °C اندازه‌گیری شد. میزان ترکیبات فنلی کل، فلاونوئیدی و ترکیبات آنتوسیانینی این عصاره به ترتیب ۲/۳۷± mg.GAE/g ،۱۷۷/۵۵ mg /۱۰۰ gdw ،۳/۰۶±۱۵۸/۸۷ mg /۱۰۰ gdw و ۳/۰۲± ۱۵۹/۴۲ mg /۱۰۰ gdw و قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH ۲/۳۰ ± ۸۳/۹۶ درصد بود. عصاره‌ی آزاد و درون‌پوشانی‌شده گلبرگ زعفران به‌طور معنی‌داری سرعت اکسایش فیله ماهی نسبت به نمونه‌ی شاهد را کاهش داد ($P < ۰/۰۵$). مقدار بازهای ازته فرار نمونه‌ی شاهد در ۶ روز نگهداری به g ۱۰۰ /mg.N_2 ۱۹/۰۶ بود، اما در نمونه‌ی حاوی عصاره‌ی آزاد و درون‌پوشانی‌شده این شاخص بعد از ۹ و ۱۲ روز به این مقدار رسید. اگرچه نمونه‌های حاوی عصاره به‌طور معنی‌داری موجب کاهش بار میکروبی ماهی شدند اما تفاوت بین دو نمونه حاوی عصاره آزاد و درون‌پوشانی‌شده گلبرگ زعفران معنی‌دار نبود. عصاره‌ی گلبرگ زعفران توانایی خوبی در حفظ کیفیت ماهی نشان داد. ماندگاری ماهی حاوی عصاره‌ی درون‌پوشانی‌شده یک هفته بیش‌تر (ماندگاری ۱۴-۱۲ روز) از نمونه شاهد (۷-۶ روز) بود.

واژه‌های کلیدی: فیله قزل‌آلا رنگین‌کمان، گلبرگ زعفران، درون‌پوشانی، ماندگاری، مالتودکسترین-پروتئین آب‌پنیر

* مسئول مکاتبات: l_roozbehnasiraii@iaunour.ac.ir

۱- مقدمه

ماهی به‌عنوان یک منبع ارزشمند پروتئینی، اسیدهای چرب غیراشباع، ویتامین‌ها و مواد معدنی شناخته می‌شود. با افزایش آگاهی مصرف‌کننده، تمایل به مصرف ماهی و فرآورده‌های دریای رو به افزایش است (۴۴). بااین‌حال، ماهی ماده‌ی غذایی حساس به فساد است که بعد از صید تحت تأثیر تغییرات میکروبی، آنزیمی و شیمیایی متعددی قرار می‌گیرد که در نهایت محصول را بی‌کیفیت و غیرقابل مصرف می‌سازد. روش‌های متعددی هم‌چون انجماد، استفاده از نگهدارنده‌ها و به کارگیری بسته‌بندی‌های فعال از مهم‌ترین راهکارهایی هستند که طی‌سال‌های‌اخیر برای بهبود ماندگاری این محصول پیشنهاد شده است (۴۱). استفاده از خواص‌ضداکسایشی‌و ضد میکروبی ترکیبات طبیعی به‌جای نگه‌دارنده‌های شیمیایی یکی از رویکردهایی است که در سال‌های اخیر به‌منظور بهبود کیفیت و ماندگاری محصولات غذایی موردتوجه بوده است. زعفران با نام علمی *Crocus sativus* L. متعلق به خانواده زنبقی‌ها[1] گیاهی علفی و چندساله است که به‌طور وسیعی در مناطق مختلفی از جهان و به‌ویژه ایران کشت می‌شود. از هر کیلوگرم‌گل‌زعفران تنها ۱۲گرم ادویه زعفران حاصل می‌شود؛ بنابراین۸۶/۴ درصد از وزن مرطوب(۹۶/۴درصد وزن خشک) گل زعفران به گلبرگ‌های این گیاه اختصاص دارد که قیمت چندانی ندارد اما دارای ترکیبات ارزشمندی چون مواد فنلی، آنتوسیانین‌ها،فلاونوئیدهاوگلیکوزیدهاست (۴۳). ازآنجایی‌که اثر ضد میکروبی و ضداکسایشی چنین ترکیباتی بارها در پژوهش‌های‌پیشین مورد تأکید قرار گرفته است (۴۵،۶۰،۶۲). به نظرمی‌رسد استفاده عصاره‌ی گلبرگ زعفران به‌عنوان یک نگه‌دارنده‌ی طبیعی، ضمن ایجاد ارزش‌افزوده، نقش مهمی در بهبود کیفیت، زمان ماندگاری و درنتیجه کاهش دورریز مواد غذایی داشته باشد؛ اما ترکیبات زیست فعال گیاهی به‌شدت ناپایدار هستند و تحت تأثیر عوامل زیادی چون pH، دما، نور و اکسیژن تخریب شده و یا فعالیت آن‌ها به‌شدت کاهش می‌یابد (۶۶). بنابراین یکی از راه‌کارهای مناسب برای حفظ این ترکیبات و استفاده بهتراز اثرات آن‌ها درون‌پوشانی عصاره یا عطرمایه‌های گیاهی است. درون‌پوشانی فرآیندی است که طی آن ماده فعال درون یک دیواره به دام می‌افتد و تشکیل یک ذره با ابعاد میکرو تا نانومتر را می‌دهد (۱۴). در سال‌های اخیر، هیدرو کلوئیدهای مختلفی برای درون‌پوشانی عصاره‌ها استفاده شده است. در این میان مالتودکسترین یکی از این ترکیبات پرطرفدار است. مالتودکسترین هیدرو کلوئیدی است که با توانایی جذب رطوبت بالا می‌تواند به کمک فرایند خشک‌کردن بیاید. همچنین به دلیل قیمت پایین و دسترسی آسان، ترکیب آن با سایر مواد دیواره توجیه اقتصادی تولید ریز ذرات را افزایش می‌دهد (۱۴)؛ اما طبیعت رطوبت دوست مالتودکسترین باعث شده تا ذرات درون‌پوشانی‌شده را به حالت کلوخه دربیاورد. برای مرتفع ساخت این مشکل ترکیب آن با سایر هیدرو کلوئیدها توصیه می‌شود (۷). پژوهش‌ها نشان‌داده‌است‌که ترکیبی از پلی‌ساکارید (مانند مالتودکسترین) و پروتئین می‌تواند موجب بهبود عملکرد فرایند درون‌پوشانی شود (۵۵،۵۷،۶۱). ازآن‌جایی‌که پروتئین‌های آب‌پنیر دارای ویژگی عملکردی خوبی همچون خواص امولسیون‌کنندگی و تشکیل ژل هستند، ترکیب مالتودکسترین- پروتئین آب پنیر گزینه‌ی اقتصادی و مناسبی برای تولید ریز ذرات هستند. درنتیجه ترکیب این دو هیدرو کلوئید به‌عنوان ماده دیواره برای درون‌پوشانی عصاره‌ی گلبرگ‌زعفران انتخاب شدند. برای‌درون‌پوشانی از روش‌های مختلفی همچون، خشک‌کردن پاششی، خشک‌کن‌انجمادی، فرایند الکتروریسی و غیره استفاده می‌شود. یکی از بهترین روش‌ها، استفاده از خشک‌کن انجمادی است. در این روش، ماده‌ی زیست فعال و دیواره با یکدیگر هموژن شده و توسط خشک‌کن انجمادی فرایند درون‌پوشانی انجام می‌شود. اگرچه این فرایند زمان‌بر است (بیش از ۲۰ ساعت)، اما روشی ساده و مناسب برای ترکیبات زیست‌فعال‌حساس‌به‌حرارت است (۶۶). همچنین ازآنجایی‌که از چنین ذراتی در ماده‌ی غذایی به مقدار کم استفاده می‌شود

1-Iridaceae

هزینه اقتصادی آن همچنان قابل توجیه است. در سال‌های گذشته استفاده از عصاره‌های آزاد و درون‌پوشانی متعددی برای افزایش زمان ماندگاری ماهی و محصولات دریایی استفاده شده است (۲۴،۲۹،۳۱،۴۲،۵۱). بااین‌حال، به نظر می‌رسد تاکنون پژوهشی در مورد بررسی میزان ماندگاری فیله‌ی ماهی قزل‌آلا به کمک عصاره آزاد و درون‌پوشانی‌شده گلبرگ زعفران استخراج‌شده به روش آنزیمی انجام نشده است. به این ترتیب هدف از مطالعه حاضر استفاده از عصاره‌ی گلبرگ زعفران (به‌عنوان یک ماده ارزان اولیه و اما ارزشمند) به شکل آزاد و درون‌پوشانی شده (ماده‌ی دیواره: کنسانتره پروتئینی‌آب پنیر و مالتودکسترین) بر ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی ۱۵ روز نگهداری در یخچال بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱-مواد

مالتودکسترین(اکی والان دکستروز:۲۰[o]) وکنسانتره‌ی پروتئین آب‌پنیر از شرکت آلن و روبرت[1] (فرانسه) خریداری شد. گلبرگ زعفران از بازار محلی مشهد (ایران) تهیه شد و معرف فولین-سیوکالتو[2] (FC) از شرکت سیگما آلدریچ[3] (آمریکا) بود.سایرموادشیمیایی و همچنین محیط‌های کشت مورداستفاده در این مطالعه رفته دارای درجه‌ی آزمایشگاهی بوده و از شرکت مرک[4] (آلمان) و دکتر مجللی (ایران) تهیه شدند.

۲-۲- روش ها

۲-۲-۱- آماده‌سازی گلبرگ زعفران

گلبرگ زعفران از یکی از مزارع کشت زعفران تربت‌جام (خراسان رضوی، ایران) جمع‌آوری شد. سپس در آون تحت خلأ (مدل EV 018، پارس فراسو، ایران) با درجه حرارت۵۰ درجه‌سلسیوس‌تا رسیدن به وزن ثابت، خشک شد. در مرحله‌ی بعد گلبرگ‌ها توسط خردکن (پارس‌خزر، ایران) کاملاً پودر شده و تا زمان‌انجام‌آزمایش‌دردمای محیط (حدود ۲۵ درجه‌ی سلسیوس) و در ظرف شیشه‌ای تیره نگهداری شدند.

۲-۲-۲-استخراج‌عصاره‌ی‌گلبرگ‌زعفران‌به‌روش آنزیمی

دراستخراج آنزیمی، ابتدایک‌گرم از پودر نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر از محلول آبی بافر یا تامپون اسیدی (pH=۳/۵) مخلوط و مدت‌یک‌دقیقه‌هموژنیزه‌شد.سپس‌ازمحلول آنزیمی PectineX Ultra SP L (نووزیم[5]، دانمارک) حاوی مخلوط آنزیم‌های پکتیناز، سلولاز و همی‌سلولاز با غلظت ۵ درصد برای استخراج عصاره از محلول تامپونی حاصل از پودر گلبرگ زعفران استفاده شد. عملیات استخراج به کمک آب و طی مدت ۱۲۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سلسیوس انجام شد (۴۹).

۲-۲-۳- اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل

مقدار کل ترکیبات فنلی عصاره گلبرگ زعفران به کمک معرف FC و با قرائت جذب محلول در طول‌موج ۷۶۰ نانومتر (طیف‌سنج هیتاچی[6]، ژاپن) انجام شد. محتوی فنل کل برحسب میلی‌گرم گالیک اسید (GAE) بر گرم وزن خشک عصاره به دست آمد (۶۸).

۲-۲-٤- اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی

مقدار ۲۵ میکرولیتر از عصاره با ۱۲۵ میکرولیتر آب مقطر، ۷/۵ میکرولیتر $NaNO_2$ ۵ درصد ترکیب و بعد از ۵ دقیقه ۱۵ میکرولیتر $AlCl_3$ ۱۰٪ به آن افزوده می‌شود. سپس این ترکیب بعد از ۵۰ دقیقه با ۵۰ میکرولیتر NaOH ۱ مولار ترکیب و با آب مقطر به حجم ۲۵۰ میکرولیتر رسانده شد. مقدار جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت و نتایج بر اساس میلی‌گرم بر صد گرم وزن خشک (mg / ۱۰۰ g. dw) بیان شد (۱۳).

۲-۲-۵- اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین کل

برای اندازه‌گیری میزان کل آنتوسیانین از روش افتراقی pH، استفاده شد. میزان جذب هریک این‌محلول‌ها در اسپکتوفتومتر

1-Allan & Robert
2-Folin-Ciocalteu
3-Sigma-Aldrich
4-Merck

5-Novozyme Company
6-Hitachi

UV در ۵۱۰ نانومتر و ۷۰۰ نانومتر قرائت شد و میزان اختلاف جذب نمونه اندازه‌گیری و مقدار آنتوسیانین برحسب گرم در ۱۰۰ گرم ماده‌ی خشک بیان شد (۶۹).

۲-۲-٦-مهار رادیکال آزاد DPPH (RSA)

فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌ی گلبرگ زعفران به کمک ظرفیت مهار رادیکال آزاد توسط 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) محاسبه شد. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۷ nm در مقابل نمونه‌ی شاهد قرائت و به درصد بیان گردید (۶).

۲-۲-۷-تهیه‌عصاره‌ی درون‌پوشانی شده گلبرگ زعفران

برای درون‌پوشانی عصاره‌ی گلبرگ زعفران از ترکیب مالتودکسترین کنسانتره پروتئینی آب‌پنیر (۱:۱) به عنوان حامل استفاده شد. مواد دیواره به نسبت ۱۰ درصد وزنی/ حجمی با آب ترکیب و برای نیم ساعت در دمای اتاق روی استیرر هم زده شد و سپس عصاره گلبرگ زعفران به نسبت ۱ به ۴ (عصاره: ماده خشک دیواره (مالتودکسترین: آب‌پنیر) به آن اضافه و برای ۳۰ دقیقه دیگر فرایند هم زدن ادامه یافت. ترکیب حاصله به کمک خشک‌کن انجمادی (Vaco 2 Zirbus، آلمان) به‌منظور تهیه عصاره درون‌پوشانی‌شده خشک شد (۲۴ ساعت و ۴۸- درجه‌ی سلسیوس، تحت شرایط خلأ ۲ mbar) (۴۰،۵۷)

۲-۲-۸-تهیه نمونه ماهی قزل‌آلا

تعداد ۱۴ قطعه ماهی قزل‌آلا با وزن متوسط ۲۰±۵۵۰ گرم از کارگاه پرورش ماهی در ساری خریداری شدند و در جعبه‌های یونولیت به همراه پودر یخ به آزمایشگاه پژوهشکده اکولوژی خزر انتقال داده شدند. بعد از شستشوی نمونه‌ها با آب، امعاواحشا تخلیه و هر ماهی به ۴ فیله (حدود ۲۵±۱۰۰ گرم) تقسیم شد. ماهی‌ها در سه گروه زیر تقسیم‌بندی شدند: نمونه شاهد (بدون عصاره)، حاوی عصاره آزاد با غلظت ۰/۷ درصد و عصاره‌ی درون‌پوشانی‌شده و گلبرگ زعفران (۰/۷ درصد). این غلظت‌ها بر اساس مطالعات قبلی و پیش‌تیمارهای انجام‌شده انتخاب شد. سپس فیله‌های ماهی در کیسه‌های نایلونی زیپ‌دار بسته‌بندی در دمای یخچال (۴±۱°C) به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند و آزمایش‌های طراحی‌شده به فواصل سه روز انجام شد.

۲-۲-۹-اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی ماهی

تعیین ترکیب شیمیایی ماهی (رطوبت، چربی، پروتئین و خاکستر) با استفاده از روش استاندارد AOAC انجام شد. مقدار پروتئین خام با کمک دستگاه کلدال (مدل V40، بخشی، ایران) میزان چربی کل به کمک دستگاه سوکسله (اجاق سوکسله ساخت شرکت Bakhshi، ایران)، مقدار رطوبت نمونه به کمک آون (LO.141، شیمی‌فن، ایران) و خاکسترنیزبه‌کمک‌کوره‌ی الکتریکی (کوره مدل Shimifan F.47، ایران) و در دمای ۵۵۰ درجه‌ی سلسیوس برآورد شد (۳۳).

۲-۲-۱۰- استخراج روغن

به‌منظور استخراج روغن ماهی، ۳۰ گرم از نمونه‌ی له‌شده با دی‌کلرومتان: متانول (۱ به ۲) به حجم ۶۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ارلن حاوی نمونه به مدت ۱ ساعت روی شیکر قرار گرفت و سپس با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد. برای حذف حلال از تبخیرکننده دوار تحت خلأ (مدل R-300، بوشی[1]، سوئیس) با دمای ۵۰ درجه‌ی سلسیوس استفاده شد (۲۰). روغن تا زمان اندازه‌گیری میزان اسید چرب آزاد و پراکسید در دمای یخچال نگهداری شد.

۲-۲-۱۱--اندازه‌گیری میزان اسید چرب آزاد (FFA)

میزان اسیدهای چرب آزاد به‌عنوان معیاری از لیپولیز ماهی به روش حلال سرد و مبتنی بر روش استاندارد ملی ایران به شماره ۴۱۷۸ با ۲ گرم نمونه و استفاده معرف فنل‌فتالئین‌انجام شد. سپس میزان مصرف سود برای‌خنثی‌سازی محلول محاسبه

1-Buchi

و مقدار اسید چرب آزاد، برحسب درصد اسید اولئیک بیان شد (۳۷).

۲-۲-۱۲- اندازه‌گیری شاخص پراکسید (PV)

روغن ماهی با ۲۵ mL محلول اسید استیک: کلروفرم (۳: ۲) ترکیب و ۰/۵ mL از محلول یدید پتاسیم اشباع، ۳۰ mL آب مقطر و ۰/۵ mL محلول نشاسته به آن افزوده شد. مقدار ید آزادشده با محلول تیوسولفات‌سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر شد. این شاخص به شکل میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم روغن بیان شد (۲۵).

۲-۲-۱۳-اندازه‌گیری‌موادواکنش‌دهنده‌با تیوباربیتوریک اسید (TBARS)

مقدار ۲۰۰mg ماهی با ۱- بوتانول به حجم ۲۵ mL رسانده شد. ۵mL از این محلول با ۵ mL معرف TBA ترکیب و در حمام آب (اختریان، ایران) با دمای ۹۵°C، به مدت ۲ ساعت قرارداده‌شد. جذب این‌محلول در ۵۳۰ نانومتر در مقابل نمونه‌ی شاهد خوانده شد (۵۶).

۲-۲-۱۴-اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

بازهای نیتروژنی فرار به روش میکروکلدال اندازه‌گیری و به‌صورت میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی بیان شد (۲۳). میزان آستانه‌ی قابل‌قبول برای این شاخص ۲۰ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰گرم ماهی‌در نظر گرفته شد (۹،۴۶).

۲-۲-۱۵-آزمایش‌های میکروبی

برای آزمایش‌های میکروبی ۱۰ گرم از نمونه در ۹۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۸۵ درصد نمک مخلوط و هموژن شد. سپس رقت های مورد نیاز تهیه و ۱ سی‌سی از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت در محیط پلیت کانت آگار (PCA) استفاده شد. نمونه‌های کشت داده‌شده در انکوباتور ۳۷ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت برای شمارش میکروارگانیسم‌های زنده‌ی کل[1] (TVM) و در انکوباتور ۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز برای شناسایی باکتری‌های سرماگرا[2] (PTC) قرار گرفتند. پس از طی مدت انکوباسیون، کلونی‌ها شمارش می‌شوند (۳۹). حداکثر آستانه‌ی موردقبول این باکتری‌ه ا۷CFU/glog در نظر گرفته شد(۳۶). شمارش اسیدلاکتیک باکتری‌ها در محیط ام ار اس آگار[3] در دمای ۳۰ درجه‌ی سلسیوس و به مدت دو روز و به روش پورپلیت انجام شد (۳۸).

۲-۲-۱۶- تجزیه‌وتحلیل آماری

تجزیه و تحلیل‌آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 24.0, IBM) انجام شد. نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگراف- اسمیرنوف و همگنی واریانس داده‌ها با آزمون لون (Leven) سنجش شد. برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد از روش تجزیه واریانس و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون فیشر استفاده شد. رسم نمودارها نیز توسط نرم‌افزار Microsoft Excel۲۰۱۹ انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱-بررسی‌ترکیبات‌فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گلبرگ زعفران

مطالعات متعدد نشان داده که گلبرگ‌های زعفران دارای انواع زیادی از ترکیبات فلاونوئیدی، گلیکوزیدی و آنتوسیانینی هستند (۳۴،۴۰). نتایج نشان دادکه‌غلظت‌ترکیبات‌فنلی‌کل، ترکیبات آنتوسیانینی و فلاونوئیدی این عصاره به ترتیب g / mg.GAE ۱۵۹/۴۲ ±۳/۰۲ mg/ ۱۰۰ gdw، ۱۷۷/۵۵ ±۲/۳۷ و ۱۰۰ gdw /mg ۱۵۸/۸۷±۳/۰۶ بود. نتایج این پژوهش با آنچه Gahruie و همکاران (۲۰۲۰) برای ترکیبات زیست‌فعال عصاره‌ی گلبرگ زعفران استخراج شده به کمک اولتراسوند، حرارت‌دهی اهمیک و ماکروویو گزارش‌کرده بودند قابل

2-Total viable Microorganism

3-Psychrotrophic Count
4-MRS Agar

مقایسه و حتی در مواردی برتر بود(۲۱). از آنجایی که روش‌استخراج‌آنزیمی در دمای پایین انجام می‌شود و هیچ‌گونه حرارتی را به مواد زیست فعال عصاره تحمیل نمی‌کند، این ترکیبات به‌خوبی کیفیت خود را حفظ کرده‌اند و همین امر می‌تواند دلیل عملکرد مناسب روش عصاره‌گیری به کمک آنزیم باشد (۴۵). در برخی از پژوهش‌ها به ارتباط معنی‌داری فعالیت آنتی‌اکسیدانی یک عصاره با میزان ترکیب فنولی عصاره اشاره شده است (۱۰،۶۶). با توجه به میزان ترکیبات زیست‌فعال این عصاره قدرت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی نیز برای این عصاره حاصل شد به‌طوری‌که قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH به‌طور میانگین ۲/۳۰± ۸۳/۹۶ درصد بود.

۳-۲- ترکیبات شیمیایی ماهی

ترکیبات شیمیایی ماهی می‌تواند بر ویژگی‌های کیفی آن اثر بگذارد و غذای لازم برای رشد میکروارگانیسم‌ها را نیز فراهم آورد. چربی، رطوبت، پروتئین و خاکستر فیله‌های ماهی تازه در جدول ۱ گزارش شده است. این نتایج به‌خوبی با نتایج پژوهش‌های پیشین قابل مقایسه است (۴۱،۶۳،۶۷). تغییرات جزئی بین‌اعداد گزارش شده در پژوهش‌های مختلف می‌تواند به اندازه، جنسیت ماهی، نوع تغذیه، فصل صید و شرایط محیطی نسبت داده شود.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در روز اول نگهداری

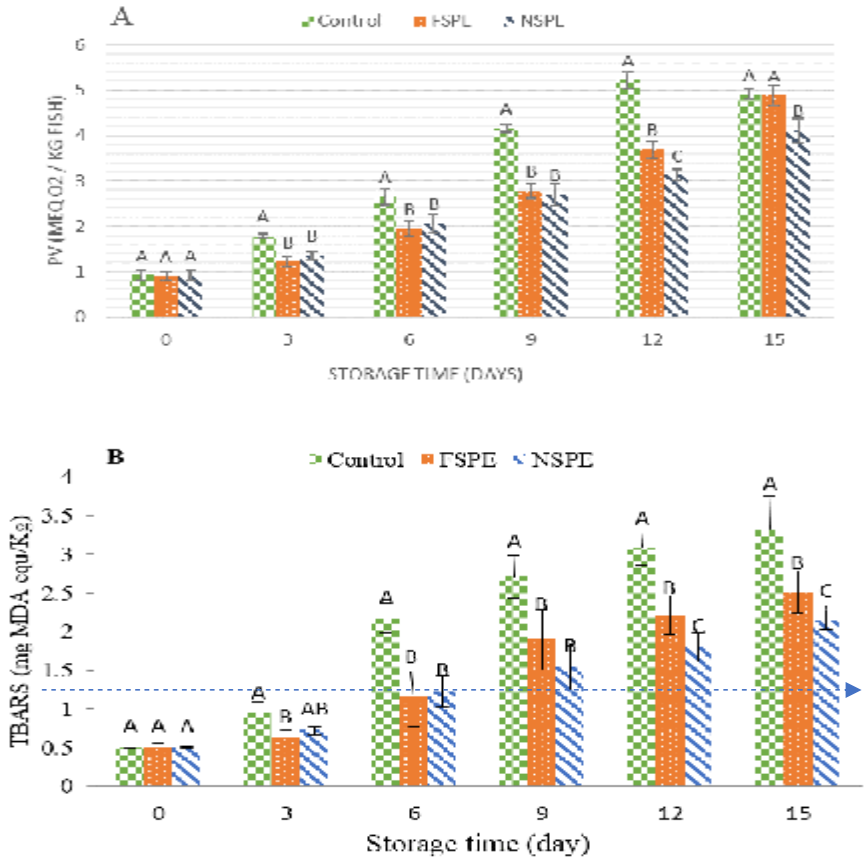
ترکیب شیمیایی	مقدار (٪)
پروتئین	۱۷/٦۱ ± ۰/۰٤
چربی	٤/۱۱ ± ۰/۰۵
رطوبت	۷٦/۳۸ ± ۰/۱۰
خاکستر	۱/۳۸ ± ۰/۰٦

* میانگین ± انحراف معیار.

۳-۳-تأثیرعصاره‌ی‌گلبرگ‌زعفران‌بر فساد اکسایشی ماهی

همان‌طورکه شکل ۱ نشان می‌دهد، میزان شاخص پراکسید و مواد واکنش‌دهنده با تیوباربیتوریک اسید در تمامی نمونه‌ها با گذشت زمان به‌طور معنی‌دار بین افزایش می‌یابد (P<۰/۰۵). بااین‌حال این روند افزایشی در نمونه‌های تیمار شده با عصاره گلبرگ زعفران (آزاد یا درون‌پوشانی‌شده) روند کندتری نسبت به نمونه‌ی کنترل داشت (P<۰/۰۵). مقایسه‌ی بین دو نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی گل زعفران نشان می‌دهد که تا روز ششم نگهداری نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی آزاد اکسایش کم‌تری نسبت به نمونه‌های دیگر داشتند هرچند این تفاوت در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود. بااین‌حال در روز دوازدهم و پانزدهم نگهداری نمونه‌های تیمار شده با عصاره درون‌پوشانی گلبرگ زعفران اکسایش کم‌تری نسبت به سایر نمونه‌ها نشان دادند. شاخص پراکسید در روز پانزدهم نگهداری میزان شاخص پراکسید در نمونه شاهد کم‌تر از روز دوازدهم بود به‌طوری‌که اختلاف بین این نمونه و نمونه‌ی تیمار شده با عصاره آزاد در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).درتوضیح‌این یافته می‌توان گفت، هیدروپراکسیدها ترکیباتی ناپایدار هستند و می‌توانند به‌مرور زمان به ترکیبات ثانویه تبدیل شوند. احتمالاً از روز پانزدهم به بعد، میزان تجزیه هیدروپراکسیدها (تبدیل‌آن‌ها به ترکیبات ثانویه) از تولید آن‌ها پیشی‌گرفته‌است‌وبه‌این ترتیب میزان ترکیبات هیدروپراکسیدی وارد روند کاهشی شده است. به دلیل همین نوسانات بسیاری از پژوهشگران این شاخص را برای بررسی کیفیت ماهی در بازه‌های زمانی بیش از یک هفته مناسب نمی‌دانند(۴۱،۴۷).

Ucak (۲۰۱۹) گزارش کرد که‌شاخص PV کم‌تر از m.eq/kg ۲ نشانگر وضعیت "بسیار خوب" ماهی، مقادیر تا حدود m.eq/kg ۵ به‌عنوان "خوب" و m.eq/kg ۸-۱۰ آستانه قابل پذیریش برای این شاخص است (Ucak, 2019). در مطالعه حاضر در هیچ‌کدام از تیمارها تا پایان روز نگهداری مقدار شاخص پراکسید از میزان ۵/۲۲m.eq/kg تجاوز نکرده است در حالی که از نظر شاخص‌های دیگر ماهی نمونه‌ی شاهد از روز هفتم نگهداری به‌وضوح علائم فساد (بوی تعفن و نرم شدن بافت) را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد این شاخص قادر نیست ماندگاری ماهی قزل‌آلا را به‌خوبی مشخص کند و مرز ماهی فاسد و تازه را به‌خوبی تفکیک کند. به همین دلیل بسیاری از پژوهشگران برای برآورد کیفیت ماهی اعداد مربوط به این شاخص را گزارش نکرده و شاخص TBARS را شاخص مناسب‌تری عنوان کرده‌اند (۱۸،۴۱،۵۲). همچنین نتایج شکل ۱B نیز نشان داد که نمونه‌های تیمار شده با عصاره گلبرگ زعفران (آزاد و درون‌پوشانی شده) در زمان‌های مختلف به‌طور معنی‌داری شاخص TBARSکم‌تری را نسبت به نمونه‌ی شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵). شاخص TBARS وPV کم‌تر در نمونه‌های تیمار شده با عصاره گلبرگ زعفران مربوط به ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره و قابلیت جذب رادیکال‌های آزاد، کلاته کردن فلزات و تجزیه‌ی پراکسیدها باشد (۱۲،۵۴). در حقیقت ترکیبات زیست فعال عصاره‌ی گلبرگ زعفران (مانند فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی و آنتوسیانین‌ها) به‌طور مؤثری می‌توانند اکسایش چربی در فیله‌ی ماهی را به تأخیر بیندازند. اثرگذاری عصاره‌ها و عطرمایه‌های روغنی بر کیفیت و ماندگاری ماهی و تأثیر ضد اکسایشی آن‌ها در پژوهش‌های پیشین نیز مورداشاره قرارگرفته است (۲،۲۴،۲۹). در مورد تفاوت بین دو نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی آزاد و درون‌پوشانی‌شده‌گلبرگ زعفران نیز نتایج حاکی از برتری عملکرد نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی آزاد زعفران تا روز ششم نگهداری بود (P> ۰/۰۵). اما بعدازاین بازه‌ی زمانی نمونه‌های حاوی عصاره‌ی گلبرگ زعفران درون‌پوشانی شده عملکرد قوی‌تری را نشان دادند (P<۰/۰۵). در تیمار حاوی عصاره درون‌پوشانی‌شده، عدم تماس مستقیم بین عصاره و ماهی در کنار رهایش کنترل‌شده عصاره، در کوتاه مدت موجب تأثیرکم‌تر آن نسبت به عصاره‌ی‌آزادمی‌شود (۳۱). اما بعدازاین مدت، از تأثیرگذاری عصاره‌ی آزاد کاسته شد. که این امر را می‌توان به تجزیه‌ی عصاره در اثر عوامل محیطی نسبت داد. بنابراین میزان TBARS کم‌تر نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی درون‌پوشانی شده گلبرگ زعفران را می‌توان ناشی از اثر حفاظتی پروتئین آب‌پنیر-مالتودکسترین بر عصاره دانست (۵۰). اگر میزان قابل‌قبول این شاخص را mg MDA/kg ۲ در نظر گرفته شود (۴۱). نمونه‌های تیمار شده با عصاره‌ی آزادگل زعفران تا ۹ روز و نمونه‌های تیمار شده با ریز ذرات زعفران تا ۱۲ روز ماندگار بودند. این زمان برای نمونه‌های شاهد کم‌تر از ۶ روز بود. بنابراین عصاره‌ی گلبرگ زعفران توانست به‌خوبی مانع فساد اکسایشی‌در فیله‌ی ماهی قزل‌آلاشود و پایداری اکسایشی آن را ۱/۵ تا ۲ برابر نسبت به نمونه‌ی شاهد بهبود بخشد.



شکل ۱- تأثیر عصاره‌ی گلبرگ زعفران بر A) شاخص پراکسید (PV) و B) شاخص TBARS فیله‌ی ماهی قزل‌آلا طی دوران نگهداری

*حروف متفاوت نشان‌گر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد ($P<۰/۰۵$) در هر بازه‌ی زمانی است. FSPE: نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی آزاد گلبرگ زعفران؛ NSPE: نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی درون‌پوشانی شده گلبرگ زعفران. پیکان خط‌چین: آستانه‌ی پذیرش شاخص را نشان می‌دهد.

۳-٤- اسیدهای چرب آزاد (FFA)

اندیس اسیدی نشان‌دهنده میزان اسیدهای چرب آزاد بر حسب اولئیک اسید است و از این‌رو یک شاخص مهم در اندازه‌گیری کیفیت مواد غذایی طی دوره نگهداری به‌حساب می‌آید (۴۴). اسیدیته بالاتر مستعد بودن مواد غذایی به فساد را نشان می‌دهد (۴۷). تغییرات مقدار شاخص اسیدهای چرب آزاد (FFA) محاسبه‌شده در تیمارهای مختلف فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال در جدول ۲ آورده شده است. در زمان نگهداری مقادیر FFA در همه تیمارها افزایش معنی‌داری داشت، ولی درمجموع این افزایش در نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی گلبرگ زعفران درون‌پوشانی شده روند کندتری نسبت به سایر تیمارها داشته است که به اکسایش($P < ۰/۰۵$). اختلاف بین تیمار شاهد و سایر نمونه‌ها در تمام بازه‌های زمانی (به‌جز روز صفر) معنی‌دار بود. در مورد دو نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی گلبرگ زعفران تا روز شش نگهداری نتایج تفاوت معنی‌داری بین این دو نمونه نشان نداد ($P>۰/۰۵$). اما از روز نهم نگهداری نمونه‌ی تیمارشده با عصاره‌ی درون‌پوشانی شده تفاوت معنی‌داری با نمونه‌ی حاوی عصاره‌ی آزاد زعفران نشان داد. اگر آستانه‌ی موردپذیرش برای این شاخص را ۳ درصد در نظر بگیریم (۳)، نتایج این‌بخش‌در راستای نتایج TBARS بود. در پژوهش‌های پیشین اشاره‌شده است که افزودن عصاره‌های گیاهی به ماهی

می‌تواند باعث کنترل روند افزایشی اسیدهای چرب آزاد در ماهی شود (۲۸،۵۹). Deepitha و همکاران (۲۰۲۱) توانایی مهار رادیکال‌های آزاد یا کلاته‌کردن یون‌های فلزی توسط ترکیبات فنلی عصاره‌ها را دلیل اثربخشی آن‌ها در کنترل اسیدهای چرب آزاد در ماهی تیمار شده با عصاره‌ی فنلی جلبک دریایی اعلام کردند (۱۱). همان‌طور که پیش‌تر گفته شد ازآن جایی‌که درون‌پوشانی عصاره‌ها باعث حفظ ترکیبات زیست فعال عصاره می‌شود اثرات زیست فعال عصاره برای مدت طولانی‌تری باقی‌مانده است.

۳-۵- مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

مطابق استاندارد اروپا، آستانه‌ی پذیرش TVB-N مقدار ۳۵ $mg_{100}g^{-1}$ است و بیش از این مقدار ماهی فاسد محسوب می‌شود (EC, 2008). بااین‌حال برخی محققین این بازه را برای ماهی‌هایی همچون سارین، سی‌بس[1] و قزل‌آلا در حدود ۲۰ mg/ ۱۰۰ g عنوان کردند (۹،۵۳). مقدار شاخص TVB-N فیله‌ی ماهی قزل‌آلا در روز صفر حدود ۹/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه بود. Jouki و همکاران (۲۰۱۴) این مقدار را ۸/۲۳ (۴۱)، Khoshnoudi-Nia و Moosavi-Nasab (۲۰۱۹) این مقدار را ۸/۷ (۴۴) و Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) این شاخص را در حدود ۱۲/۱۳ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم ماهیچه‌ی ماهی گزارش کردند (۵۸) .تفاوت بین نتایج پژوهش‌های مختلف را می‌توان به تفاوت در فصل صید، اندازه و سن ماهی، نوع تغذیه‌ی، محل زندگی و همچنین فاصله بین صیدماهی تا انجام‌آزمون نسبت داد (۴۱). همان‌طور که در جدول ۲ مشخص است، زمان نگهداری تأثیر معنی‌داری بر مقدار این شاخص دارد. به‌طوری‌که‌درنمونه‌ی شاهد طی۶ روز نگهداری به ۱۹/۰۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم رسید و در پایان روز پانزدهم نگهداری مقدار بازهای نیتروژنی فرار نمونه‌ی شاهد به‌طور متوسط ۴۴/۰۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود. بااین‌حال این روند افزایشی در نمونه‌های تیمار شده با عصاره‌ی گلبرگ زعفران کندتر از نمونه‌ی شاهد بود و از روز ششم نگهداری به بعد این تفاوت در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. هر تلاشی در جهت کاهش بار میکروبی و فعالیت آنزیم‌ها می‌تواند افزایش مقدار TVB-N در نمونه را تا حدود زیادی کنترل کند (۱۷). بنابراین احتمالاً عصاره‌ی زعفران به دلیل ویژگی‌های ضد میکروبی خود توانسته است در کنترل روند افزایشی این شاخص به‌طور معنی‌داری مؤثر باشد. در این راستا Abbasvali و همکاران (۲۰۱۶) نیز به نقش مؤثر عصاره‌ی آبی و الکلی گلبرگ زعفران بر ماندگاری میگو طی دوران نگهداری در یخ اشاره کردند و مقدار TVB-N کم‌تر در نمونه‌های تیمار شده با این عصاره‌ها را ناشی از اثر ممانعت کنندگی عصاره بر باکتری‌های پروتئولیتیک و آنزیم‌ها اعلام کردند (۱). در پژوهش‌های دیگری نیز، به اثر مثبت و معنی‌دار عطرمایه‌هاوعصاره‌های مختلف گیاهی‌درکنترل‌شاخص TVB-Nمحصولات دریایی اشاره‌شده است (۱۷،۲۲،۶۷). مقایسه‌ی دو نمونه‌ی تیمار شده با عصاره آزاد و درون‌پوشانی نیز نشان داد این دو تیمار تا روز نهم نگهداری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند. بااین‌حال تا روز ششم این شاخص در نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی آزاد کم‌تر از نمونه‌ی تیمارشده با عصاره‌ی درون‌پوشانی‌شده بود اما بعد از آن تیمار عصاره‌ی ریز درون‌پوشانی‌شده عملکرد بهتری را نشان داد که در روزهای ۱۲ و ۱۵ نگهداری تفاوت بین این دو نمونه معنی‌دار بود ($P<0/05$). همان‌طورکه پیش‌تر نیز اشاره شد اثر محافظتی پوشش مالتودکسترین-پروتئین آب‌پنیر بر ترکیبات زیست فعال عصاره و رهایش کنترل‌شده آن مهم‌ترین دلایل برتری عصاره‌ی درون‌پوشانی‌شده‌برعصاره‌ی‌آزاد در بازه‌ی طولانی‌تر (بیش از ۶ روز) است که با نتایج سایر محققین مطابقت دارد (۷،۳۰،۳۲). اگر میزان مجاز TVB-N را ۲۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم نمونه بدانیم ماندگاری نمونه‌ها به ترتیب ۷، ۹ و ۱۲ روز بود که کمی بیش از زمانی بود که توسط شاخص TBARS و میزان اسید چرب آزاد به دست آمد.

1-Sea bass

جدول ۲- اثر عصاره‌ی گلبرگ زعفران بر درصد اسیدهای چرب آزاد (٪) و مقدار شاخص بازهای نیتروژنی فرار (mg N /۱۰۰ g) فیله‌ی ماهی قزل‌آلا طی دوران نگهداری در دمای یخچال

تیمار	زمان نگهداری (روز)					
	صفر	۳	٦	۹	۱۲	۱۵
	میزان اسید چرب آزاد (%)					
شاهد	۰/٦۳ ± ۰/۰۹^{aF}	۱/٥٦ ± ۰/۱۱^{AE}	۳/۱۱ ± ۰/۱٤^{AD}	٤/۰٥ ± ۰/۲۳^{aC}	٥/۲۱ ± ۰/۰۸^{aB}	٥/۷۳ ± ۰/۱۹^{aA}
عصاره آزاد	۰/٦۱ ± ۰/۰۸^{aF}	۱/۱٥ ± ۰/۰۹^{bE}	۲/۰٤ ± ۰/۱۱^{bD}	۲/۸۸ ± ۰/۱٦^{bC}	۳/۲۹ ± ۰/۰۹^{bB}	٤/۰۲ ± ۰/۰۹^{bA}
درون‌پوشانی	۰/٦۰ ± ۰/۰٦^{aF}	۱/۰۷ ± ۰/۰۷^{bE}	۲/۲۸ ± ۰/۱۳^{bD}	۲/٤۷ ± ۰/۱٥^{cC}	۲/۹۷ ± ۰/۰٤^{cB}	۳/٦۱ ± ۰/۰۸^{cA}
	TVB-N (mg N_2/100g)					
شاهد	۹/٥٤ ± ۱/٦٦^{aF}	۱٥/٥٤ ± ۳/۱۰^{aE}	۱۹/۰٦ ± ۲/٦^{aD}	۲۸/۰۷ ± ٥/۰۱^{aC}	۳٤/۱٤ ± ٤/۸۱^{aB}	٤٤/۰۷ ± ٥/۳۳^{aA}
عصاره آزاد	۹/۲٤ ± ۰/۹٥^{aF}	۱۲/۲۲ ± ۲/٤۱^{aE}	۱۳/٥۷ ± ۲/۱۱^{bD}	۱۹/۹٦ ± ۲/٦۳^{bC}	۲٦/۳۸ ± ٤/۲٤^{bB}	۳۷/۱٦ ± ٤/۷۰^{bA}
درون‌پوشانی	۹/٤۸ ± ۱/۲۳^{aF}	۱٤/۳٦ ± ۲/۳٥^{aE}	۱٥/۱۱ ± ۲/۰۲^{bD}	۱٦/٤٥ ± ۳/٥٦^{bC}	۲۰/۷٦ ± ۳/۳٤^{cB}	۲۹/۱٦ ± ٤/۲۹^{cA}

*حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < ۰/۰٥$) یک تیمار در روزهای مختلف نمونه‌برداری

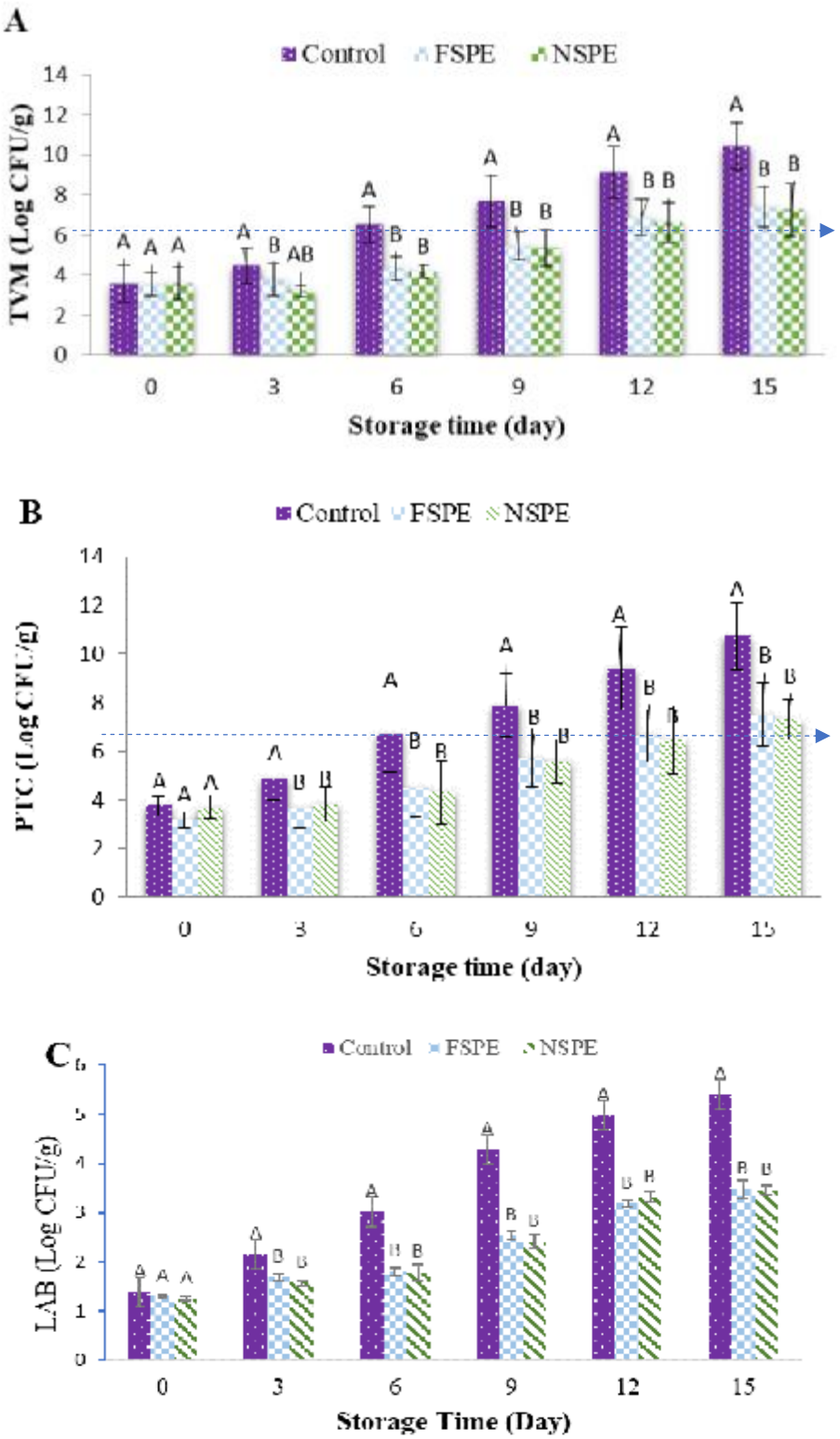
*حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ($P < ۰/۰٥$) در یک روز برای تیمارهای مختلف.

۳-٦- نتایج آزمایش‌های میکروبی

مقدار اولیه باکتری‌های کل ۳/۶ log CFU/g (شکل 2A) که نشان از کیفیت مناسب ماهی‌دارد. این مقدار با آنچه Hosseini و همکاران (۲۰۱۶) برای ماهی قزل‌آلا گزارش کردند قابل مقایسه است (۳/۲ LogCFU/g) (۳۵). زمانی که تعداد باکتری‌ها ماهی آب‌های شیرین بین ۲ LogCFU/g تا ۶ باشد به معنی کیفیت مناسب ماهی است (۵). بعد از گذشت ۹ روز از زمان نگهداری ماهی میانگین بار میکروبی کل در نمونه‌ی کنترل به بالای ۷LogCFU/g(آستانه‌ی پذیرش تعداد باکتری کل در ماهی) رسید. بااین‌حال سرعت افزایش این شاخص در نمونه‌های تیمار شده با عصاره‌ی گلبرگ زعفران کم‌تر از نمونه‌ی شاهد بود ($P <۰/۰٥$). ویژگی ضد میکروبی عطرمایه و عصاره‌ی گیاهان دارویی ناشی از ترکیبات فنلی (مانند تانن و فلاونوئیدها) و ساپونین است که بر غشای پلاسمایی و سلولی میکروارگانیسم‌ها اثر گذاشته باعث مهار آنزیم‌های ساختاری غشای سلول می‌شود، درنتیجه نفوذپذیری غشا تحت تأثیر قرارگرفته، متورم می‌شود و درنهایت خاصیت عملکردی‌خودرا ازدست‌داده و سلول از بین می‌رود (۴۹،۱۲). بر پایه‌ی این شاخص زمان ماندگاری ماهی نمونه‌ی شاهد، تیمارشده‌باعصاره‌ی‌گلبرگ زعفران (آزاد و درون‌پوشانی‌شده) به ترتیب ۷ و ۱۴ روز بود. این در حالی است که شاخص TVB-N که بابوی فساد در ماهی و در نتیجه پذیرش مصرف‌کننده ارتباط نزدیکی دارد مقدار ماندگاری را کم‌تر نشان داد. برخلاف سایر آزمون‌ها در مورد مقدار باکتری کل اگر چه میزان بار میکروبی نمونه حاوی عصاره‌ی درون‌پوشانی شده کم‌تر از نمونه تیمار شده با عصاره‌ی آزاد بود اما این دو نمونه در تمام دوره‌ی نگهداری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند ($P>۰/۰٥$).این عدم تفاوت را می‌توان ناشی از خطای آزمایش و آلودگی احتمالی ایجادشده طی فرایند درون‌پوشانی نسبت داد. ضمن این‌که ترکیبات پلی‌ساکاریدی (دکستروز) می‌تواند به‌مرورزمان تجزیه شده و به مصرف میکروارگانیسم‌ها برسد.

مقدار باکتری‌های سرمادوست هوازی گرم منفی (همچون *سودوموناس*، *شوانلا*[1]، *موراکسلا*[2]، و *فلاووباکتریوم*[3] و *آلترومونا‌س*[4]) مهم‌ترین دسته از میکروارگانیسم‌هایی هستند که مسئول فساد هوازی ماهی نگهداری‌شده در دمای یخچال هستند (Sallam, 2007). تغییرات باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های تیمار شده با عصاره‌ی گلبرگ زعفران و نمونه‌ی شاهد طی ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال در شکل ۲B آمده است. مقدار اولیه باکتری‌های سرمادوست در سه تیمار مورد پژوهش و در روز صفر به‌طور میانگین Log CFU/g ۳/۵ بود. این تعداد تقریباً نزدیک به یافته‌های پژوهش‌های پیشین در زمینه‌ی شمارش باکتری‌های سرمادوست ماهی قزل‌آلا بود (۱۲،۴۴). طی ۷ روز نگهداری تعداد باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌ی شاهد به بالای Log CFU/g ۷ (محدوده‌ی قابل‌قبول) رسید. درحالی‌که در نمونه‌ی حاوی عصاره‌ی گلبرگ‌زعفران این‌زمان حدود ۱۳ روز بود. علی‌رغم این‌که ترکیبات فنلی بیش‌ترین اثر ضد میکروبی را بر باکتری‌های گرم مثبت دارد و درعین‌حال اکثر باکتری‌های سرمادوست جز باکتری‌های گرم منفی هستند (۲۶،۲۷). بااین‌حال عصاره‌ی گلبرگ زعفران به دلیل حضور ترکیبات ضد میکروبی متنوع، به‌خوبی بار میکروبی در فیله‌ی ماهی قزل‌آلا را کنترل کرده است. ترکیبات فنولی که بیش‌ترین تأثیر ضد باکتریایی را دارند و الکل،آلدئیدها،کتون‌ها هستند و اترها و هیدروکربن‌ها در رتبه‌های بعدی قرار دارند. محققین گروه هیدروکسیلی ترکیبات فنولی را مسئول اثر ضد میکروبی آن‌ها می‌دانند (17).

[1] *Shwanella*
[2] *Moraxella*
[3] *Flavobacterium*
[4] *Alteromonas*



شکل ۲- تأثیر عصاره‌ی گلبرگ زعفران بر شاخص A) تعداد میکروارگانیسم‌های زنده (TVM)؛ B) باکتری‌های سرمادوست (PTC) و C) اسیدلاکتیک باکتری‌های (LAB) فیله‌ی ماهی قزل‌آلا طی دوران نگهداری؛ حروف متفاوت نشان‌گر وجود تفاوت معنی‌دار در **سطح ۵ درصد (P<۰/۰۵) در هر بازه‌ی زمانی است. FSPE: نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی آزاد گلبرگ زعفران؛ NSPE: نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی درون‌پوشانی شده گلبرگ زعفران. پیکان خط‌چین: آستانه‌ی پذیرش شاخص**

اسیدلاکتیک باکتری‌ها طی رشد خود با تولید اسید می‌توانند کیفیت‌حسی‌ماهی‌را تحت تأثیر قرار دهند. شکل ۲C تغییرات اسیدلاکتیک باکتری‌هارا طی‌زمان در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد.مطابق نتایج ذکرشده، مقدار اولیه LAB نمونه‌های مختلف۱/۳logCFU/gبودکه‌طی دوره نگهداری در نمونه‌ی شاهد۵/۴۱logCFU/gرسیداین‌درحالی‌است‌که در نمونه‌های تیمارشده این میزان به حدود ۳/۴۵ logCFU/g رسید. در مقایسه با باکتری‌های‌گرم منفی، اسیدلاکتیک باکتری‌ها (گرم مثبت هستند) از حساسیت بیش‌تری برخوردار هستند. تأثیرضدمیکروبی‌پلی‌فنل‌ها بر باکتری‌های گرم مثبت می‌تواند به دلیل اثرگذاری این ترکیبات بر آنزیم‌های هیدرولیتیک، واکنش آن‌ها با پروتئین‌های انتقال‌دهنده موجود در غشای سلول و همچنین واکنش با ترکیبات کربوهیدراتی باشد (63).درمجموع اگر حد آستانه‌ی موردپذیرش برای اسیدلاکتیک باکتری‌ها را LogCFU/g ۶ در نظر بگیریم (41) در طی ۱۵روز نگهداری تمام نمونه‌ها در محدوده‌ی مناسب‌قرارداشتند. دمای مناسب رشد اسیدلاکتیک باکتری‌ها ۸درجه سلسیوس است. بنابراین در دمای ۴ درجه‌ی سلسیوس رشد کندی‌دارند (48).علی‌رغم این‌که طی دوره‌ی نگهداری تقریباً تمام ماهی‌ها ازنظر شاخص اسیدلاکتیک باکتری در محدوده‌ی قابل‌قبول قرار داشتند، اما در روز ۱۲ام نگهداری تمام نمونه‌ها از بوی نامطبوعی داشتند. ضمن اینکه ازنظر بار میکروبی، TVB-N و TBARS نیز نمونه‌ها طی این مدت قابل‌قبول نبودند. این امر نشان می‌دهد شاخص اسیدلاکتیک باکتری‌به‌تنهایی شاخص مناسبی برای برآورد زمان ماندگاری ماهی نیست که این امر توسط برخی محققین دیگر نیز گزارش شده است (۱۲،۴۱،۴۴).

٤- نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره گلبرگ زعفران استخراج‌شده به روش آنزیمی دارای مقادیر مناسبی ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانیتی است و به همین دلیل دارای خاصیت ضد اکسایشی است. ضمن این‌که این ترکیبات فنلی می‌توانند خاصیت ضدمیکروبی نیز از خود نشان‌دهند. استفاده از این عصاره روی موجب بهبود ماندگاری فیله‌ی ماهی قزل‌آلا شد. به طوری که نمونه‌ی کنترل از نظر شاخص اکسایشی و TVB-N حدود ۶ روز و ازنظر شاخص‌های بار میکروبی‌کل، سرمادوست‌ها و TVB-N حدود ۷ تا ۸ روز ماندگاری نشان داد. این زمان ماندگاری برای نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی آزاد گلبرگ زعفران بین ۹ (TVB-N) تا ۱۲ (شاخص‌های میکروبی، و TBARS) روز برآورد شد. نمونه‌ی حاوی شده با عصاره‌درون‌پوشانی شده گلبرگ زعفران نیز ماندگاری بین ۱۲ (TVB-N) تا ۱۴ (شاخص‌های میکروبی‌وTBARS) روز را نشان داد. همان‌طور که مشخص است شاخص‌های مختلف زمان ماندگاری متفاوتی را برای ماهی نشان می‌دهند. همین امر نشان می‌دهد تکیه بر یک شاخص کیفی برای تشخیص سلامت و کیفیت ماهی چندان نمی‌تواند اطمینان‌بخش باشد. اندازه‌گیری هم‌زمان شاخص شیمیایی (به ویژه TBARS و TVB-N) در کنار برآورد کیفیت میکروبی (به‌ویژه شمارش سرمادوست‌ها) می‌تواند دید تقریباًمناسبی‌ازکیفیت‌وسلامت‌ماهی‌ارائه کند. درمجموع، اگرچه‌تیمارحاوی عصاره‌ی درون‌پوشانی‌شده‌گلبرگ زعفران بیش‌ترین ماندگاری را برای فیله‌ی ماهی قزل‌آلا به ارمغان آورد اما این افزایش ماندگاری در بازه‌ی زمانی زیر ده روز تفاوت چشم‌گیری با نمونه‌ی تیمار شده با عصاره‌ی آزاد نداشت. بنابراین به نظر می‌رسد اگر هدف از نگهداری بازه‌های زمانی کوتاه‌مدت (کم‌تر از ده روز) است (برای مثال ارسال محصول به رستوران‌ها) تیمار نمونه با عصاره‌ی زعفران آزاد توجیه‌پذیری اقتصادی بیش‌تری داشته باشد. اما برای بازه‌های زمانی طولانی‌تر (۲ هفته و بیش‌تر، بسته به دمای اعمال‌شده) پوشش پروتئین آب‌پنیر- مالتودکسترین با حفاظت از ترکیبات زیست فعال ماهی و همچنین رهایش کنترل‌شده آن‌ها نقش مهمی در حفظ کیفیت مواد غذایی خواهد داشت.

۵- سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از زحمات کلیه کارکنان آزمایشگاه آنالیز میکروبی و شیمیایی مواد غذایی ساری پژوهشکده اکولوژی خزر، که در طی این پژوهش همکاری نموده‌اند کمال تشکر و قدردانی را دارند.

٦- منابع

1. Abbasvali, M., Ranaei, A., Shekarforoush, S. S. and Moshtaghi, H. 2016. The Effects of Aqueous and Alcoholic Saffron (Crocus sativus) Tepal Extracts on Quality and Shelf-Life of Pacific White Shrimp (Litopeneous vannamei) During Iced Storage. *Journal of Food Quality,* 39**:**732-742.
2. Ahmadian, Z., Niazmand, R. and Pourfarzad, A. 2019. Microencapsulation of saffron petal phenolic extract: Their characterization, in vitro gastrointestinal digestion, and storage stability. *Journal of Food Science,* 84**:** 2745-2757.
3. Akoh, C. C. & Moussata, C. O. 2001. Characterization and oxidative stability of enzymatically produced fish and canola oil-based structured lipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78**:** 25-30.
4. Alparslan, Y., Yapıcı, H. H., Metin, C., Baygar, T ,.Günlü, A. and Baygar, T. 2016. Quality assessment of shrimps preserved with orange leaf essential oil incorporated gelatin. *LWT-Food Science and Technology,* 72**:** 457-466.
5. Arashisar, Ş., Hisar, O., Kaya, M. and Yanik, T. 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (Oncorynchus mykiss) fillets. *International Journal of Food Microbiology,* 97**:** 209-214.
6. Bondet, V., Brand-Williams, W. and Berset, C. 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. *LWT-Food Science and Technology,* 30**:** 609-615.
7. Both, E., Karlina, A., Boom, R. and Schutyser, M. 2018. Morphology development during sessile single droplet drying of mixed maltodextrin and whey protein solutions .*Food Hydrocolloids,* 75**:** 202-210.
8. Bou, R., Claret, A., Stamatakis, A., Martínez, B. and Guerrero, L. 2017. Quality changes and shelf-life extension of ready-to-eat fish patties by adding encapsulated citric acid. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 97**:**5352-5360.
9. Cheng, J.-H. & Sun, D.-W. 2015. Rapid and non-invasive detection of fish microbial spoilage by visible and near infrared hyperspectral imaging and multivariate analysis. *LWT-Food Science and Technology,* 62**:** 1060-1068.
10. Chimi, H., Cillard ,J., Cillard, P. and Rahmani, M. 1991. Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society,* 68**:**307-312.
11. .Deepitha, R., Xavier, K. M., Layana, P., Nayak, B. B. and Balange, A. K . 2021 .Quality improvement of pangasius fillets using aqueous seaweed (Padina tetrastromatica) extract. *LWT,* 137**:** 110418.
12. Dehghani, P., Hosseini, S. M. H., Golmakani, M.-T., Majdinasab, M. and Esteghlal, S. 2018. Shelf-life extension of refrigerated rainbow trout fillets using total Farsi gum-based coatings containing clove and thyme essential oils emulsions. *Food Hydrocolloids,* 77**:** 677-688.
13. .Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K. and Liu, R. H. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 50**:** 3010-3014.

14. Dubey, R. 2009. Microencapsulation technology and applications. *Defence Science Journal,* 59**:** 82.
15. EC 2008. Amending Regulation (EC) No 2074/2005 as regards the total volatile basic nitrogen (TVB-N) limits. Official Journal of the European Union.
16. Ehsani, A., Hashemi, M., Aminzare, M., Raeisi, M., Afshari, A., Alizadeh, A. M. & Rezaeigolestani, M. 2019. Comparative evaluation of edible films impregnated with sage essential oil or lactoperoxidase system: Impact on chemical and sensory quality of carp burgers. *Journal of Food Processing and Preservation,* 43.
17. Esfahani, R., Jafari, S. M., Jafarpour, A. & Dehnad, D. 2019. Loading of fish oil into nanocarriers prepared through gelatin-gum Arabic complexation. *Food Hydrocolloids,* 90**,** 291-298.
18. Eskandari, S., Hosseini, H., Gholamzadeh, M., Mousavi Khaneghah, A. & Hosseini, E. 2015. The Effects of Black Cumin, Black Caraway Extracts and Their Combination on Shelf Life Extension of Silver Carp (H ypophthalmichthys molitrix) during Refrigerated Storage. *Journal of Food Safety,* 35**,** 154-160.
19. Ferdeş, M. & Ungureanu, C. 2012. Antimicrobial activity of essential oils against four food-borne fungal strains. *University Politehnica of Bucharest Scientific Bulletin,* 74.
20. Folch, J., Lees, M. & Stanley, G. S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry,* 226**,** 497-509.
21. Gahruie, H. H., Parastouei, K., Mokhtarian, M., Rostami, H., Niakousari, M. & Mohsenpour, Z. 2020. Application of innovative processing methods for the extraction of bioactive compounds from saffron (Crocus sativus) petals. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants,* 19**,** 100264.
22. Gómez-Estaca, J., De Lacey, A. L., López-Caballero, M., Gómez-Guillén, M. and Montero, P. 2010. Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology,* 27**:** 889-896.
23. Goulas, A. E. and Kontominas, M. G. 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (Scomber japonicus): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry,* 93**:** 511-520.
24. Haghighi, M. and Yazdanpanah, S. 2020. Chitosan-based coatings incorporated with cinnamon and tea extracts to extend the fish fillets shelf life: Validation by FTIR spectroscopy technique. *Journal of Food Quality,* Special issu, 1-7.
25. Ham, E. A., Egan, R. W., Soderman, D. D., Gale, P. H. and Kuehl Jr, F. A. 1979. Peroxidase-dependent deactivation of prostacyclin synthetase. *Journal of Biological Chemistry,* 254**:** 2191-2194.
26. Hamed, S. F., Sadek, Z. and Edris, A. 2012. Antioxidant and antimicrobial activities of clove bud essential oil and eugenol nanoparticles in alcohol-free microemulsion. *Journal of Oleo Science,* 61**:** 641-648.
27. Hanani, Z. N., Yee, F. C. and Nor-Khaizura, M. 2019. Effect of pomegranate (Punica granatum L.) peel powder on the antioxidant and antimicrobial properties of fish gelatin films as active packaging. *Food Hydrocolloids,* 89**:** 253-259.
28. Hanifah, M., Naufalin, R. and Wicaksono, R. The effect of edible coating contained Kecombrang leaves concentrate on gourami fish fillet quality. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019. IOP Publishing, 012057.
29. Hasani, O. and Javadian, S. R. 2016. Effect of encapsulated bitter orange peel extract and BHT on the quality of common carp fillet during refrigerated storage. *International Journal of Food Engineering,* 12**:** 303-310.

30. Hasani, S., Ojagh, S., Ghorbani, M. and Hasani ,M. 2020. Nano-Encapsulation of Lemon Essential Oil Approach to Reducing the Oxidation Process in Fish Burger during Refrigerated Storage. *Journal of Food Biosciences and Technology,* 10**:** 35-46.
31. Homayonpour, P., Jalali, H., Shariatifar, N. and Amanlou, M. 2021. Effects of nano-chitosan coatings incorporating with free/nano-encapsulated cumin (Cuminum cyminum L.) essential oil on quality characteristics of sardine fillet. *International Journal of Food Microbiology,* 341**,** 109047.
32. Homayounpour, P., Jalali, H., Shariatifar, N., Amanlou, M. and khanjari, A. 2020. Protective Effect of Nanochitosan Incorporated with Free/nanoliposome Cumin (Cuminum cyminum L.) Aqueous Extract on Sardine Fish. *Journal of Aquatic Food Product Technology***,** 1-13.
33. Horwitz, W. 2010. Official methods of analysis of AOAC International. Volume I, Agricultural Chemicals, contaminants, Drugs/edited by William Horwitz, Gaithersburg (Maryland): AOAC International, 1997.
34. Hosseini, A., Razavi, B. M. and Hosseinzadeh, H. 2018. Saffron (Crocus sativus) petal as a new pharmacological target: a review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences,* 21**:** 1091.
35. Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M. and Ghavi, F. F. 2016. Effect of fish gelatin coating enriched with oregano essential oil on the quality of refrigerated rainbow trout fillet. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 25**:**835-842.
36. ICMSF 1986. Microorganisms in Foods. 2. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications. University of Toronto Press Toronto.
37. ISIRI 2011. Animal and vegetable fats and oils –-Determination of acid value and acidity -Test method. Iran: Karaj: Institute of Standards and Industrial Research of Iran.
38. ISO 1998. microbiology of mesophilic lactic acid bacteria – colony count technique at 30°c. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
39. ISO 2001. Milk and milk products – General guidance for the preparation of *test* samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination,, Geneva, Switzerland., International Organization for Standardization.
40. Jafari, S.-M., Mahdavi-Khazaei, K. and Hemmati-Kakhki, A. 2016. Microencapsulation of saffron petal anthocyanins with cress seed gum compared with Arabic gum through freeze drying. *Carbohydrate Polymers,* 140**:** 20-25.
41. Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Koocheki, A. and Khazaei, N. 2014. Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. *International Journal of Food Microbiology,* 174**:** 88-97.
42. Kanatt, S. R., Chander, R. and Sharma, A. 2010. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. *International Journal of Food Science and Technology*, 45**:** 216-222.
43. Khazaei, K. M., Jafari, S., Ghorbani, M., Kakhki, A. H. and Sarfarazi, M. 2016. Optimization of anthocyanin extraction from saffron petals with response surface methodology. *Food Analytical Methods,* 9**:** 1993-2001.
44. Khoshnoudi-Nia, S. and Moosavi-Nasab, M. 2019 .Prediction of various freshness indicators in fish fillets by one multispectral imaging system. *Scientific Reports,* 9**:** 1-11.
45. Khoshnoudi-Nia, S., Sharif, N. and Jafari, S. M. 2020. Loading of phenolic compounds into electrospun nanofibers and electrosprayed nanoparticles.

natural protease. *Food Science and Nutrition,* 8**:** 214-223.

53. Moosavi-Nasab, M., Khoshnoudi-Nia, S ,.Azimifar, Z. and Kamyab, S. 2021. Evaluation of the total volatile basic nitrogen (TVB-N) content in fish fillets using hyperspectral imaging coupled with deep learning neural network and meta-analysis. *Scientific Reports,* 11**:** 1-11.
54. Moosavi-Nasab, M., Shad ,E., Ziaee, E., Yousefabad, S. H. A., Golmakani, M. T. and Azizinia, M. 2016. Biodegradable chitosan coating incorporated with black pepper essential oil for shelf life extension of common carp (Cyprinus carpio) during refrigerated storage. *Journal of Food Protection,* 79**:** 986-993.
55. Moser, P., Souza, R. T. D. and Nicoletti Telis, V. R. 2017. Spray drying of grape juice from hybrid cv. BRS Violeta: microencapsulation of anthocyanins using protein/maltodextrin blends as drying aids. *Journal of Food Processing an Preservation,* 41**:** e12852.
56. Namulema, A., Muyonga, J. and Kaaya, A. 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (Lates niloticus) stored at− 13 and− 27 C. *Food Research International,* 32**:** 151-156.
57. Norkaew, O., Thitisut, P., Mahatheeranont, S., Pawin, B ,. Sookwong, P., Yodpitak, S. and Lungkaphin, A. 2019. Effect of wall materials on some physicochemical properties and release characteristics of encapsulated black rice anthocyanin microcapsules. *Food Chemistry,* 294**:** 493-502.
58. Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. and Hosseini, S. M. H. 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry,* 122**:** 161-166.
59. Oraei, F., Talebi, M., Zorriehzahra, S. M. J., Safari ,R. and Hosseini, S. E. 2021. The Effect of Ethanolic Extract *Trends in Food Science & Technology,* 95**:** 59-74.
46. Khoshnoudi-Nia, S. and Moosavi-Nasab, M. 2019. Comparison of various chemometric analysis for rapid prediction of thiobarbituric acid reactive substances in rainbow trout fillets by hyperspectral imaging technique. *Food Science & Nutrition,* 7**:** 1875-1883.
47. Khoshnoudi-Nia, S. and Sedaghat, N. 2019. Effect of active edible coating and temperature on quality properties of roasted pistachio nuts during storage. *Journal of Food Processing and Preservation,* 43**:** e14121.
48. Kuuliala, L., Al Hage, Y., Ioannidis, A.-G., Sader, M., Kerckhof, F.-M., Vanderroost, M., Boon, N., De Baets, B., De Meulenaer, B. andRagaert, P. 2018. Microbiological, chemical and sensory spoilage analysis of raw Atlantic cod (Gadus morhua) stored under modified atmospheres. *Food Microbiology,* 70**:** 232-244.
49. Lotfi, L., Kalbasi-Ashtari, A., Hamedi, M. and Ghorbani, F. 2015. Effects of enzymatic extraction on anthocyanins yield of saffron tepals (Crocos sativus) along with its color properties and structural stability. *Journal of Food and Drug Analysis,* 23**:** 210-218.
50. Mahmoud, K. F., Ibrahim, M. A., Mervat, E.-D., Shaaban, H. A., Kamil, M. M. and Hegazy, N. A. 2016. Nano-encapsulation efficiency of lemon and orange peels extracts on cake shelf life . *American Journal of Food Technology,* 11**:** 63-75.
51. Mazandrani, H. A., Javadian, S. & Bahram, S. 2016. The effect of encapsulated fennel extracts on the quality of silver carp fillets during refrigerated storage. *Food Science and Nutrition,* 4**:** 298-304.
52. Mirzapour-Kouhdasht, A. and Moosavi-Nasab, M. 2020. Shelf-life extension of whole shrimp using an active coating containing fish skin gelatin hydrolysates produced by a

of Orange Peel on Chemical Properties and Sensory Evaluation of Huso huso Fillet. *Fisheries Science and Technology*, 10**:** 60-74.

60. Park, E.-S., Moon, W.-S., Song, M.-J., Kim, M.-N., Chung, K.-H. and Yoon, J.-S. 2001. Antimicrobial activity of phenol and benzoic acid derivatives. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 47**:** 209-214.
61. Pieczykolan, E. and Kurek, M. A. 2019. Use of guar gum, gum arabic, pectin, beta-glucan and inulin for microencapsulation of anthocyanins from chokeberry. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129**:** 665-671.
62. Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants .*African journal of Biotechnology*, 5.
63. Raeisi, M., Tajik, H., Aliakbarlu, J., Mirhosseini, S. H. & Hosseini, S. M. H. 2015. Effect of carboxymethyl cellulose-based coatings incorporated with Zataria multiflora Boiss. essential oil and grape seed extract on the shelf life of rainbow trout fillets. *LWT-Food Science and Technology*, 64**:** 898-904.
64. Rao, K. S., Chakrabarti, P. P., Rao, B. and Prasad, R. 2009. Phospholipid composition of Jatropha curcus seed lipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86**:197**
65. Sallam, K. I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18**:** 566-575.
66. Sharif, N., Khoshnoudi-Nia, S. and Jafari, S. M. 2020. Nano/microencapsulation of anthocyanins; a systematic review and meta-analysis. *Food Research International*, 132**:** 109077.
67. Shokri, S., Parastouei, K., Taghdir, M. and Abbaszadeh, S. 2020. Application an edible active coating based on chitosan-Ferulago angulata essential oil nanoemulsion to shelf life extension of Rainbow trout fillets stored at 4° C. *International Journal of Biological Macromolecules*.
68. Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R. M. 1999. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299**:** 152-178.
69. Trappey II, A., Bawadi, H. A., Bansode, R. R. and Losso, J. N. 2005. Anthocyanin profile of mayhaw (Cretaegus opaca). *Food Chemistry*, 91**:** 665-671.
70. Ucak, I. 2019. Physicochemical and antimicrobial effects of gelatin-based edible films incorporated with garlic peel extract on the rainbow trout fillets. *Prog. Nutr*, 21**:** 232-240.

(Original Research Paper)

Improving ShelF-life of Rainbow Trout Fish Fillet by Free or Encapsulated Saffron Petal Extract Encapsulation (*Crocus sativus* L.) During Storage in Refrigerator

Alia Khalili [1], Hamid Tavakkolipour[2], Leila Roozbeh-Nasiraie[1*], Ahmad Kalbasi-Ashtari[3]

1-Departments of Food Science and Technology, Nour Branch. Islamic Azad University, Nour, Iran.
2-Department of Food Science and Engineering, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
3- Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Karaj, Iran.

Received:13/04/2021 Accepted:13/06/2021

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of saffron (*Crocus sativus* L.) petal extract, on the quality and shelf-life of rainbow trout fish fillet. In this study, saffron petals extract, prepared by enzymatic method and free-radical scavenging activity and phenolic compound of the extract were evaluated. The fish fillets were divided into three groups: control, containing free saffron peral extract and treated with encapsulated extract (maltodextrin-whey protein isolate. 1:1) and the chemical (total volatile base nitrogen;: thiobarbituric acid reactive substances, peroxide value, and free fatty acid) and microbial (Total viable microorganism; Psychrotrophic count lactic acid bacteria) properties of samples were investigated during 15 days at 4±1 °C. Based on the results, the total phenol content, total flavonoid compounds, and total anthocyanin of petal saffron extract were 177.55± 2.37 mg.GAE/g; 158.87± 3.06 mg/100g dw and 159.42±3.02 mg/100g dw, respectively. The DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging activity (DRSA) of the extract was 83.96± 2.30%. Saffron petal extract (free or encapsulated) reduced the oxidation rate of rainbow trout fillets as compared to the control sample ($P < 0.05$). The total volatile base nitrogen content of the control sample in 6th day was 19.06 mg N2/ 100g; while, in the samples containing free or encapsulated extract, this index reached to this value after 9 and 12 days. Although the samples containing the extract significantly reduced the microbial load of the fillets, but the difference between the samples containing free and encapsulated extract was not significant. Saffron petal extract showed a good ability to maintain fish quality. The shelf life of the fish treated with encapsulated saffron petal extract was one week longer (shelf life 12-12 days) than the control one (6-7 days).

Keywords: Rainbow Trout Fillet; Saffron Petal; Encapsulation; Shelf-life; Maltodextrin-Whey Protein Isolate

*Corresponding Author: l_roozbehnasiraii@iaunour.ac.ir;