بهینه‌سازی استخراج عصاره برگ گیاه *Eruca sativa* (خندل) به روش مایکروویو و کاربرد آن در ماریناد فیله *Huso huso* (بلوگا)

پریسا سلامی[a]، نرگس موركی[b*]، مسعود هنرور[c]

[a] *کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران*
[b] *دانشیار گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریائی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاداسلامی، تهران، ایران*
[c] *دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۱۲/۱۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۰۴/۱۷
https://dorl.net/dor/20.1001.1.20080123.1400.18.4.4.4

چکیده

مقدمه: تهیه ماریناد همراه با کاربرد عصاره‌های فعال گیاهی یکی از قدیمی‌ترین روش‌های نگهداری برای انواع گوشت آبزیان می‌باشد. در این تحقیق امکان استخراج عصاره برگ خندل به روش مایکروویو کاربرد آن در فیله ماریناد فیل ماهی با تاکید بر ترکیبات ضداکسیداسیونی برای افزایش ماندگاری بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: بهینه‌سازی عصاره‌گیری از برگ خندل با ماکروویو با در نظر گرفتن نوع حلال (آب، اتانول، متانول)، نسبت حلال (5–۱۵/۵cc)، زمان(10-30min) و قدرت (۹۰–۲۷۰W) به روش سطح پاسخ و کاربرد عصاره بهینه باتوجه به محتوی کل ترکیبات فنلی و توان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH برای تهیه ماریناد در قالب چهار گروه آزمایشی شاهد، و تیمارهای حاوی (T_1)۱۰،(T_2) ۲۰، و (T_3) ۳۰٪ عصاره و نگهداری طی ۲۰ روز در یخچال و بررسی تغییرات ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و حسی با استفاده از تحلیل واریانس یک‌طرفه و خی دو صورت گرفت.

یافته‌ها: عصاره بهینه با حلال آب درمدت ۳۰ دقیقه، قدرت ۹۰ وات و نسبت نمونه به حلال ۵ به‌دست آمد. با کاربرد عصاره حاصله در گروه‌های آزمایشی مشخص شد تیوباربیتوریک اسید در T_2 در مقایسه با سایر گروه‌ها به طور معنی‌داری کمتر بود و هچنین در مورد میزان کل بازهای نیتروژنه فرار این تیمار و سپس T_3 کمترین مقدار را نشان دادند($P<0.05$). از نظر فعالیت آبی بیش ترین میزان در گروه T_2 در دو روز صفر و دهم مشاهده شد. بیشترین ظرفیت نگهداری آب مربوط به نمونه شاهد روز صفر که در طی نگهداری کاهش پیدا کرد ($P>0.05$). فاکتورهای سفتی بافت، رنگ، وضعیت ظاهری و بو در نمونه‌های ماریناد و شاهد در طول زمان فاقد اختلاف آماری معنی‌داری بودند، فاکتورهای طعم و حس دهانی در بین نمونه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری بودند. از نظر بررسی بافت به دلیل مرینیت شدن زیاد، نمونه‌ها نرم وآبکی و امتیاز پایین (۲) لحاظ گردید. بررسی مزه اسیدی - نمکی نشان داد که نمونه‌های ماریناد دارای امتیاز ۸ (بسیاراسیدی–نمکی) بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل نشان داد تیمار حاوی۲۰ درصد عصاره به عنوان بهترین تیمار در کنترل فساد شیمیایی و نگهداری ماریناد شناسایی شد.

واژه‌های کلیدی: *خندل (Eruca sativa)، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره، فیل ماهی (Huso huso)، ماریناد، ماکروویو*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: Nargess_Mooraki@yahoo.com

مقدمه

گوشت ماهی نسبت به دیگر منابع گوشتی به‌دلیل فعالیت آبی بالا، مقادیر نسبتاً بالای اسیدهای آمینه آزاد و حضور آنزیم‌های اتولیز کننده نسبت به تجزیه باکتریایی آسیب‌پذیرتر است. نگهداری ماهی در یخچال موجب کاهش سرعت فعالیت‌های آنزیمی و میکروبی می‌شود، اما آنها را به طور کامل متوقف نمی‌کند و تغییرات نامطلوبی از جمله اکسیداسیون چربی و فساد میکروبی به آرامی صورت گرفته و موجب فساد ماهی پس از چند روز می‌شوند. (Erkan *et al.*, 2011; Kykkidou *et al.*, 2009). به منظور افزایش ماندگاری محصولات شیلاتی از روش‌های گوناگونی استفاده می‌شود که به‌طور کلی می‌توان به این موارد اشاره نمود: نگهداری در دمای پایین، غوطه‌وری در اسیدهای آلی، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها، دودی کردن، نمک سود، کاربرد انواع بسته بندی و استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی و همچنین کاربرد عصاره‌های گیاهی به عنوان یک تیمار با پتانسیل افزایش طول دوره نگهداری غذاها اشاره نمود (Erkan *et al.*, 2015). عصاره‌های گیاهی با داشتن ترکیبات زیست فعال دارای خواص ضد اکسایش و ضدباکتریائی به منظور افزایش دوره ماندگاری محصول می‌باشد (Falguera *et al.*, 2011) و جایگزین مناسبی در بسیاری از موارد برای افزودنی‌های سنتزی باتوجه به عوارض آن‌ها برای سلامت عمومی به سبب امکان تجمع آن‌ها در بافت و نهایتا مسمومیت سلولی هستند (Ozdemir *et al.*, 2012). از سوی دیگر تهیه ماریناد یکی از قدیمی‌ترین روش‌های نگهداری برای انواع گوشت آبزیان می‌باشد. در فرآیند تهیه ماریناد، اثر نگهدارندگی با کاربرد غلظت‌های مختلف اسیدهای آلی خوراکی و نمک حاصل می‌شود. این اثر برمبنای کاهش pH، فعالیت آبی، و افزایش محتوی نمک، و افزایش قدرت یونی و در نتیجه کاهش فعالیت باکتریائی و آنزیمی استوار است (Sushri *et al.*, 2020). ماریناد کردن از سوی دیگر سبب بهبود ویژگی‌های بافت گوشت، تقویت ویژگی‌های طعم و مزه و افزایش طول دوره نگهداری می گردد. در فرآیند ماریناد کردن سرد با قرارگرفتن گوشت در معرض اسیداستیک و نمک و سپس محلول‌های حاوی عصاره‌های گیاهی نگهداری می‌شود.

گیاه خندل (منداب) *Eruca sativa* متعلق به خانواده Brassicaceae از تیره شبوئیان با نام عمومی آراگولا، گیاهی است از دسته گیاهان یک ساله، علفی، و متعلق به راسته کلم‌سانان است. این گیاه از دیرباز بعنوان یک گیاه دارویی و خوراکی شناخته می‌شده است. خندل در مناطق مدیترانه‌ای نظیر مراکش، پرتقال، سوریه، مناطق شرقی ترکیه و در ایران در نواحی شمالی مانند: مازندران و گیلان و همچنین در استان‌های دیگر نظیر: کرمانشاه، آذربایجان، اهواز، بوشهر، تهران، یزد یافت می‌شود ظاهر این گیاه شبیه کلزاست. حداکثر ارتفاع آن به ۶۰ سانتیمتر می‌رسد و گلدهی آن بین ماه‌های مرداد و شهریور آغاز می‌گردد. در زبان انگلیسی به نام‌های salad rocket، rucola، rucoli و garden rocket معروف است ولی به‌طور خیلی ساده آن را با نام rocket می‌شناسند. این گیاه حاوی ۹ ترکیب فلاونئوئیدی که شامل ترکیبات اصلی kaempferol، rhamnocitrin, Oglucopyranoside در عصاره آبی استخراج شده می‌باشد (Jilani *et al.*, 2015; Alqasoumi *et al.*, 2009). این گیاه حاوی مقادیر مختلف مشتقات گلوکوزینولات‌ها، ایزوتیوسیانات‌ها می‌باشد که عطر و رایحه خاص گیاه را تشکیل می‌دهند. گلوکوزینولات‌های موجود در شب بویان دارای اثرات ضد سرطانی، ضد قارچی، ضد باکتریایی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی هستند (Kim *et al.*, 2004). گلوکوزینولات‌ها توسط آنزیم میروزیناز به محصولات متنوع شامل ایزوتیوسیانات‌ها، تیوسیانات‌ها و نیتریل‌ها شکسته شده و هیدرولیز می‌شوند (Matusheski (*et al.*, 2006، که ترکیباتی سمی با خواص کشندگی زیستی هستند (Masoumi *et al.*, 2019). Barillari و همکاران (۲۰۰۵) به مطالعه فعالیت مستقیم آنتی اکسیدانی glucoerucin خالص شده جوانه و دانه *Eruca sativa* پرداختند؛ در این تحقیق مشخص شد که مهم‌ترین نوع گلوکوزینولیت موجود در این گیاه گلوکوئروسین به میزان ۹۵ درصد می‌باشد که در مقایسه با برگ گیاه بیشتر در دانه و جوانه آن یافت می‌شود که دارای خاصیت مستقیم و غیرمستقیم آنتی اکسیدانی می‌باشد.

استخراج بوسیله مایکروویو نوعی روش موثرتر در مقایسه با روش‌های مرسوم همچون سوکسله می‌باشد؛ این شیوه دارای مزیت‌هایی از جمله نیاز به حلال کمتر و زمان کوتاه‌تر، هزینه پایین و نرخ استخراج بیشتر می‌باشد. نتایج

تحقیق Nutcher و همکاران ۲۰۰۴ حاکی از آن بوده که استخراج با مایکروویو در مقایسه با روش‌های متداول ضمن صرفه‌جویی در انرژی، استخراج مؤثرتری در خصوص ترکیبات حساس به حرارت دارد. از سوی دیگر معمولا از مواد گیاهی خشک شده برای استخراج استفاده می‌شود، اما سلول‌های گیاهی همواره دارای مقادیر میکروسکوپی رطوبت می‌باشند. این رطوبت اندک به عنوان هدف برای حرارت‌دهی امواج مایکروویو به کاربرده می‌شوند، به این شکل که وقتی در معرض تنش‌های حرارتی زیاد، فشار بالا و گرمای مایکروویو قرار می‌گیرد، تبخیر می‌شود، در نتیجه سلول گیاهی متورم شده و به دنبال آن دیواره سلولی، فشار بسیار زیادی را از درون متحمل می‌شود و سرانجام پارگی سلول‌ها رخ می‌دهد. در این روش، سرعت پارگی سلول‌ها و تراوش اجزای فعال از سلول‌های تخریب شده به درون حلال، نسبت به روش های سنتی و مرسوم استخراج بیشتر می باشد. به طور کلی روش مایکروویو روشی مناسب برای استخراج ترکیبات ارزشمند زیست فعال از نمونه‌های گیاهی مختلف محسوب می‌شود (Khajenoori and Haghighi 2014). همچنین Pasini و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که مهمترین ترکیبات پلی فنلی موجود در گونه فوق الذکر کامفرول (kaempferol) بوده و به ترتیب Kaempferol-3,4′-diglucoside (71.4–82.2%) isorhamnetin-3,4′-di-glucoside (7.8–18.4%) بیش‌ترین سهم را در انواع ترکیبات فنلی استخراج شده داشته‌اند. در تحقیقات مشابه نیز به روش سیال فوق بحرانی ترکیبات فنلی و گلوکوزینولات‌ها از گیاه خندل جداسازی شد (Solana *et al.*, 2014).

Turan و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی واکنش متقابل بین ترشیدگی و ویژگی‌های ارگانولپتیکی گونه‌ای از موتوماهیان مارینادشده همراه با عصاره‌ها پرداختند، نتایج نشان داد مارینادکردن با محلول‌های حاوی یک دهم درصد عصاره برگ مو موجب به تعویق افتادن اکسیداسیون چربی می شوند و ویژگی‌های حسی محصول را در طی نگهداری در یخچال بهبود می‌بخشد. Yildiz (۲۰۱۶) به بررسی تاثیر عصاره رزماری و آویشن بر روی عمر مفید ماهی قزل آلای مارینادشده پرداخت. و مشخص شد که استفاده از عصاره‌ها در فرآیند مارینادکردن تاثیر مثبت روی افزایش عمر مفید ماهی قزل آلا دارد. Caglakو Karsil (۲۰۱۵) به بررسی تعیین عمرمفید ماهی قزل آلای مارینادشده و آب نمک تزریق شده در شرایط یخچالی پرداختند. و مشخص شد که ویژگی‌های حسی ماهی قزل آلا خام و پخته شده و میزان کیفیت آن در نمونه شاهد در ۱۱ روز اول و نمونه‌های مارینادشده در ۱۳ روز اول کمتر از حد مجاز بودند. Maktabi و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی تاثیر مارینادکردن سنتی بر ویژگی‌های باکتریایی و شیمیایی فیله ماهی قزل‌آلای منجمد پرداختند. در این تحقیق پارامترهای جمعیت باکتریایی مزوفیل و سایکروفیل در طول مدت ۷ روز بررسی شدند و مشخص شد که می‌توان گوشت ماهی قزل‌آلا را مارینادنمود و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد به مدت حداقل ۵۶ روز بدون تغییر اساسی در طعم آن نگهداری نمود.Patir و همکاران (۲۰۱۴) بررسی تاثیرات ترکیبات مختلف اسید استیک و یوگنول روی تغییرات کیفی فیله‌های ماهی قزل‌آلای مارینادشده پرداختند. دراین تحقیق فیله‌های ماهی در غلظت‌های مختلفی از استیک اسید و یوگنول در دمای ۴ درجه نگهداری شدند. نمونه‌ها از نظر حسی، میکروبیولوژیکی و شیمیایی آزمایش شدند و به این نتیجه رسیدند که مارینادکردن خواص مصرفی محصول را برای حداقل ۷۰ روز محافظت می‌کند و یوگنول تاثیرات مطلوبی روی ویژگی‌های شیمیایی و میکروبیولوژیکی دارد. Attouchi و همکاران (۲۰۱۲) اثر اسانس برگ‌بو و زیره را در ویژگی‌های فیله ماهی قزل‌آلای پرورشی و وحشی نگهداری شده در یخ را بررسی کردند. نتایج نشان داد که ماهی پرورشی نسبت به نوع وحشی، چربی و کربوهیدرات بیشتری دارد. کاربرد اسانس بر فیله‌ها سبب کاهش رشد باکتری و اکسیداسیون چربی شده و زمان ماندگاری را افزایش داد.Ozden و Erkan (۲۰۰۷) به بررسی تغییرات ایجاد شده در محتوای پروتئین، آمینواسید و اسیدهای چرب در ماهی قزل‌آلا و آنچوی مارینادشده طی ۱۲۰ روز پرداختند و مشخص گردید که فرآیند مرینت در حفظ کیفیت پروفایل اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه گوشت ماهیان به طور معنی داری موثر است.

با توجه به اینکه تاکنون در مورد اثرات افزودن عصاره حاصل از برگ گیاه خندل بومی استان هرمزگان به مواد خوراکی و بررسی اثرات آن تحقیق عملی صورت نگرفته لذا در تحقیق حاضر هدف بهینه‌سازی عصاره‌گیری از این گیاه

به روش ماکروویو با درنظر گرفتن فاکتورهای نوع حلال، نسبت حلال مصرفی، زمان و قدرت ماکروویو و در نهایت کاربرد عصاره بهینه باتوجه با محتوی کل ترکیبات فنلی و توان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH برای تهیه مارینداز فیله فیل ماهی (*Huso huso*) و بررسی مدت نگهداری آن در دمای یخچال و تغییرات ویژگی‌های شیمیایی، فیزیکی و حسی محصول بود.

مواد و روش‌ها

- تهیه نمونه

گیاه خندل، *Eruca sativa*، به صورت تازه از بازار بندرعباس استان هرمزگان تهیه و پس از تمیز و جدا نمودن برگ‌ها به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت در دمای اتاق خشک شده و با استفاده از آسیاب الکتریکی آشپزخانه‌ای کاملا خرد شده و برای عصاره‌گیری مورد استفاده قرارگرفتند، نمونه‌های ماهی (*Huso huso*) صید شده از دریا نیز به صورت تازه در یخ نگهداری شد و پس از فیله کردن برای تهیه مارینداز مورد استفاده قرار گرفت.

- تهیه عصاره

به منظور تهیه عصاره، مقدار یک گرم از نمونه گیاه خندل با استفاده از ترازوی آزمایشگاهی توزین شد به منظور استخراج عصاره با حلال اتانول و متانول با درجه خلوص ۹۵ درصد و آب مقطر ۱۰۰ درصد مخلوط شد (Fayaz *et al.*, 2021). شرایط هر آزمون شامل زمان استخراج، نوع حلال، توان مایکروویو و نسبت حلال به نمونه با توجه به طراحی آزمایش صورت گرفته مطابق جدول ۱ در نظر گرفته شد. استخراج توسط مایکروویو آزمایشگاهی برند (Mileston ساخت کشور ایتالیا) انجام شد. در نهایت پس از انجام فرآیند استخراج با مایکروویو، عصاره‌ها از دستگاه مایکروویو خارج شد و از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد و درنهایت حلال حذف گردید. عصاره‌های بدست آمده در بطری‌های شیشه‌ای تیره در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمون نگه داری گردید. برای اندازه‌گیری راندمان عصاره‌گیری برحسب ماده خشک، از ۵ گرم ماده اولیه استفاده شد. در ادامه مقدار گرم عصاره خشک شده حاصله بر مقدار ماده اولیه (۵گرم) تقسیم شد تا راندمان عصاره‌گیری محاسبه گردد (Jayaprakasha, 2003).

- اندازه‌گیری محتوی فنل کل

در این روش ۱۰۰ میکرولیتر از هر عصاره با ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیو ۱۰ درصد مخلوط شد. پس از گذشت سه دقیقه، ۴۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد به آن اضافه کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد (Parejo *et al.*, 2002).

- اندازه‌گیری فعالیت مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH

پنج میلی‌لیتر از محلول عصاره با یک میلی‌لیتر از محلول 3×10^{-4} مولار DPPH مخلوط گردید و برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و تحت شرایط تاریکی قرار داده شد. پس از این مدت میزان جذب در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه میزان فعالیت ضد رادیکالی، مقادیر جذب ۳ نمونه زیر اندازه‌گیری گردید:

A_s : جذب نمونه تیمار حاوی محلول عصاره و *DPPH*،

A_c : جذب نمونه شاهد A_b : جذب نمونه بلانک

پس از اندازه‌گیری مقادیر فوق میزان درصد فعالیت آنتی رادیکالی(RSA) از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$DPPH - RSA(\text{درصد}) = 100(1 - \frac{A_s - A_b}{A_c})$$

جهت مقایسه نیز از ترکیب اسید آسکوربیک به‌عنوان ترکیب آنتی‌رادیکال پایدار استفاده شد و میزان فعالیت *RSA* آن تعیین گردید. ارزیابی برای هرکدام از عصاره‌ها با سه تکرار انجام گردید (Stojichevich *et al.*, 2008).

- تهیه مارینداز

پس از عملیات سر و دم زنی، تمیز کردن، و حذف آب اضافی در انتها 2.5 کیلوگرم فیله ماهی برای تولید مارینداز به دست آمد. برای تهیه محلول مارینداز با اندکی تغییر از روش (Cadun, *et al.*, 2008) استفاده شد بدین منظور برای هرکدام از گروه‌های آزمایشی شامل شاهد، نمونه اول، دوم و سوم ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، هفت میلی‌لیتر اسیداستیک ۵ درصد، و ۲۰ گرم کلرید سدیم ترکیب شد و به منظور استریلیزاسیون در اتوکلاو قرار داده شد. فیله‌ها پس از توزین برای ترکیب شدن با محلول مارینداز در چهار

ظرف، به چهار گروه جداگانه تقسیم شدند و عصاره به گروه‌های آزمایشی به ترتیب گروه شاهد (*C*) فاقد عصاره، *T1*: حاوی ۱۰ درصد، *T2* : حاوی ۲۰ درصد و *T3* : حاوی ۳۰ درصد وزنی عصاره افزوده شد. نمونه‌ها به مدت سه ساعت در محلول غوطه‌ور شدند و سپس درون ظروف پلی‌اتیلنی درب‌دار در درون یخچال به مدت ۳۰ روز نگهداری شدند.

- اندازه‌گیری فاکتورهای شیمیایی

اندازه‌گیری pH نمونه بافت به وسیله دستگاه pH متر (شرکت ZAG CHEMIE، کشور ایران)، پس از رقیق شدن با آب مقطر (نسبت ۱ به ۲) انجام شد (Kavitha and Mod, 2006). میزان اسیدیته به روش تیتراسیون اندازه‌گیری شد (Jongberg *et al.*, 2013). محتوی کل بازهای نیتروژنه فرار (TVB-N) میلی‌گرم در صد گرم نمونه از طریق تقطیر مستقیم درون ارلن مایر حاوی بوریک اسید مطابق استاندارد (AOAC, 2000) و با استفاده از تقطیر کننده کلدال انجام شد (Sallam *et al.*, 2007). تیو باربیتوریک اسید (TBA) میلی‌گرم مالون آلدهائید در کیلوگرم به روش (Kirk and Sawyer, 1991) انجام شد. به منظور اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب از روش (Rora *et al.*, 2003) با توجه به اختلاف وزن نمونه قبل و بعد از سانتریفوژ به مدت ۱۵ دقیقه در g ۸۰۰۰ استفاده شد. اندازه‌گیری فعالیت آبی نمونه‌ها با استفاده از هایگرومتر (شرکت Novasina، سوئیس) با قراردادن دو گرم نمونه در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به تعادل انجام شد (Chen *et al.*, 2002).

- ارزیابی حسی

به منظور ارزیابی حسی وضعیت ظاهری، حس دهانی، طعم و مزه، بو، بافت و رنگ مورد بررسی قرار گرفت. برای اینکار در هر مرحله حدود ۳۰ گرم نمونه کبابی شده از هر تیمار به ۴۵ نفر ارزیاب نیمه آموزش دیده داده شد و امتیاز آنها بر اساس (خیلی خوب=۵ خوب=۴ متوسط=۳ بد=۲ و خیلی بد=۱) گزارش گردید. همچنین مزه اسیدی و نمکی با استفاده از مقیاس ساختاری صفر تا ۱۰ سنجش شد. امتیاز صفر برای نه اسیدی/ نمکی، ۱۰برای به شدت اسیدی / نمکی. در بازه حد واسط ۲ برای مشخصا نمکی / اسیدی، ۴ برای نسبتا نمکی / اسیدی، ۶ اسیدی / نمکی متوسط و ۸ برای بسیار اسیدی / نمکی تعریف شد. تغییرات بافت با استفاده از مقیاس توصیفی و ساختاری (Fuselli *et al.*, 1994) مشخص شد. مقیاس در محدوده ۱برای"بافت نامناسب برای مارینات شدن ناکافی یا زیادی"(نمونه ماهی خام بدون مارینات و یا مارینات زیاد و ایجاد بافت نرم) تا ۴"برای بهترین درجه مارینات شدن با بافتی محکم و پیوسته" (فیله‌ها به آسانی با برش چنگال تکه می‌شوند) قرار دارد. امتیاز ۲ به بافت خشک و سخت تعلق گرفت شامل نمونه‌هایی که با نیروی برش چنگال به سبب مارینات شدن کافی سخت و خشک هستند، ویا به دلیل مارینات شدن زیاد از حد نرم و آبکی شدند. و امتیاز ۳ به نمونه‌هایی با سفتی و سختی کمتر وفیبری بخاطر مارینات نشدن کافی و یا تا حدی شل و نرم بخاطر مارینات شدن کافی تعلق گرفت.

- تجزیه و تحلیل آماری

طراحی آزمایش با استفاده از نرم‌افزار Design Expert نسخه DX7 با استفاده از روش آماری سطح پاسخ Box-Behnken و طراحی مدل درجه دوم (Quadratic) انجام شد. در این تحقیق چهار متغییر شامل نوع حلال، زمان، قدرت و نسبت حلال به نمونه به عنوان متغیرهای مستقل تعریف شدند (جدول ۱). در طراحی آزمایش متغیر رتبه‌ای حلال با توجه به میزان ثابت دی‌الکتریک حلال‌ها با استفاده از روش کددهی دامی (Dummy coding) مورد استفاده قرار گرفتند. با توجه به حدود متغیرها ۱۹ اجرا با ترکیب‌های مختلف چهار متغیر مستقل به شرح جدول ۲ در نظر گرفته شد.

برای آنالیز آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری فاکتورهای شیمیایی از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ استفاده شد. به منظور بررسی توزیع داده‌ها از آزمون K-S در سطح احتمال $P<0.05$ استفاده گردید. در مواردی که داده‌ها از توزیع نرمال برخوردار بودند، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی دانکن در سطح معنی‌داری $P<0.05$ و در موارد عدم توزیع نرمال از آزمون کروسکال والیس برای مقایسه گروه‌های آزمایشی استفاده شده است. در مقایسه فاکتورهای مربوط به ارزیابی حسی از آزمون Chi-square بهره گرفته شد.

جدول ۱- معرفی حدود متغیرهای حلال، زمان، قدرت، و نسبت نمونه به حلال در استخراج عصاره از گیاه *Eruca sativa* به روش مایکروویو

Table1. Introducing the limits of Solvent, time, power and ratio of solvent/sample variables for extracting *Eruca sativa* by microwave

Factor	Code	Min	Max
Solvent	A	*	*
Time(min)	B	30	10
Power(W)	C	270	90
Solvent/sample ratio(w/v)	D	15.5	5

Sovent codes: 1) Water 2) Methanol 3) Ethanol

جدول۲- طراحی آزمایش‌ها با استفاده از نرم‌افزار Design Expert و روش طراحی Box-Behnken برمبنای٤ فاکتور زمان، نوع حلال و نسبت حلال به نمونه و قدرت ماکروویو برای عصاره‌گیری از *Eruca Sativa*

Table 2. Design of experiments using Design Expert software and Box-Behnken method based on four factors time, solvent type and solvent ratio to sample and microwave power for extraction of *Eruca Sativa*

Solvent/sample ratio (w/v)	Power (W)	Time(min)	Solvent	Run
5	90	30	3	1
10	180	20	1	2
5	180	20	2	3
10	90	20	2	4
15.5	180	20	2	5
12.5	270	30	1	6
10	180	20	2	7
10	180	20	2	8
12.5	90	10	3	9
10	180	20	2	10
10	180	20	3	11
12.5	270	10	3	12
10	180	10	2	13
5	270	10	1	14
5	270	30	3	15
10	180	30	2	16
5	90	10	1	17
10	270	20	2	18
12.5	90	30	1	19

یافته‌ها

راندمان استخراج محاسبه شده معادل ۲۲/۶ درصد برای شرایط بهینه محاسبه گردید. نتایج تحلیل داده‌های به‌دست آمده از اندازه‌گیری توان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، نشان داد که مدل پیشنهادی برای بررسی اثر چهار فاکتور نوع حلال، نسبت حلال مصرفی، زمان عصاره‌گیری و توان مصرفی برای استخراج عصاره معادله خطی (Linear) با توجه به مقادیر عددی P=۰/۰۰۸۸، R^2=۰/۵۹۸۰ و همچنین احتمال آزمون عدم برازش (Lack of Fit Tests) معادل P>0.001 می‌باشد. نتایج تحلیل آنالیز واریانس یک‌طرفه (One- Way ANOVA) برای مدل خطی سطح پاسخ نشان داد که نوع حلال اثر معنی‌داری بر توان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH دارد (P<۰/۰۵)؛ به طوری که در نمودار ۱ دیده می‌شود به ترتیب حلال آب و سپس متانول بیش‌ترین تاثیر را در استخراج ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی براساس توان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH داشتند. نتایج تحلیل داده‌های به‌دست آمده از اندازه‌گیری محتوی کل ترکیبات فنولی نشان داد که مدل پیشنهادی برای بررسی اثر چهار فاکتور مورد بررسی در تهیه عصاره معادله درجه دوم (Quadratic) با توجه به مقادیر عددی P=۰/۰۴۰۳، R^2=۰/۹۶۳۷ و همچنین احتمال آزمون عدم برازش (Lack of Fit Tests) معادل P>0.001 می‌باشد. نتایج تحلیل آنالیز واریانس یک‌طرفه (One- Way ANOVA) برای مدل درجه دوم سطح پاسخ نشان داد که غلظت حلال مصرفی دارای تأثیر معنی‌داری (P<0.05) بر محتوی کل ترکیبات فنلی در فرآیند عصاره‌گیری به روش ماکروویو می‌باشد. نمودارهای ۱ و ۲ اثر دو متغیر قدرت ماکروویو و نسبت حلال مصرفی در عصاره‌گیری، که بیشترین تاثیر را بر محتوی کل ترکیبات فنلی براساس آنالیز واریانس داشته اند را نشان می دهد.

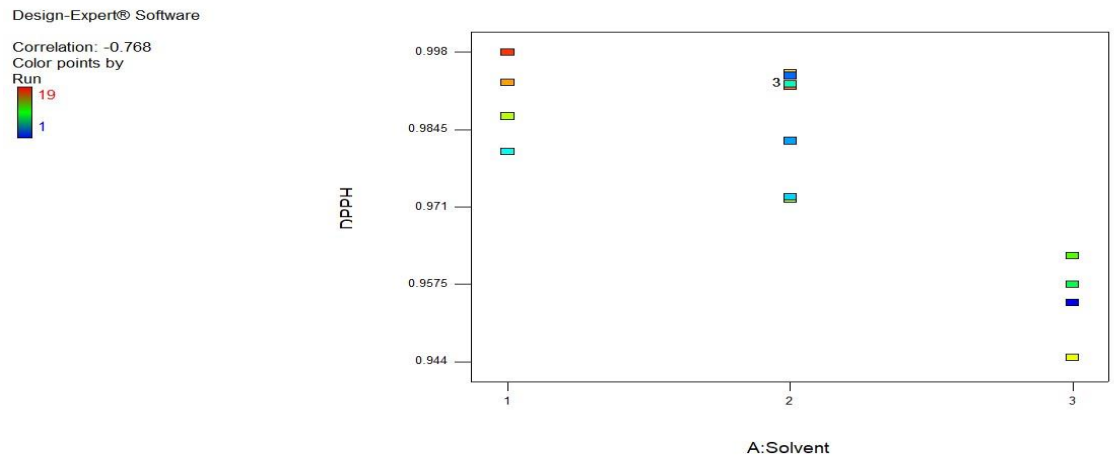

Figure1. Effect of solvent type on the content of antioxidant compounds of *Eruca sativa* extraction effective in inhibiting DPPH free radicals.

نمودار ۱- اثر نوع حلال بر محتوی ترکیبات آنتی اکسیدانی عصاره *Eruca sativa* موثر بر مهار رادیکال های آزاد DPPH

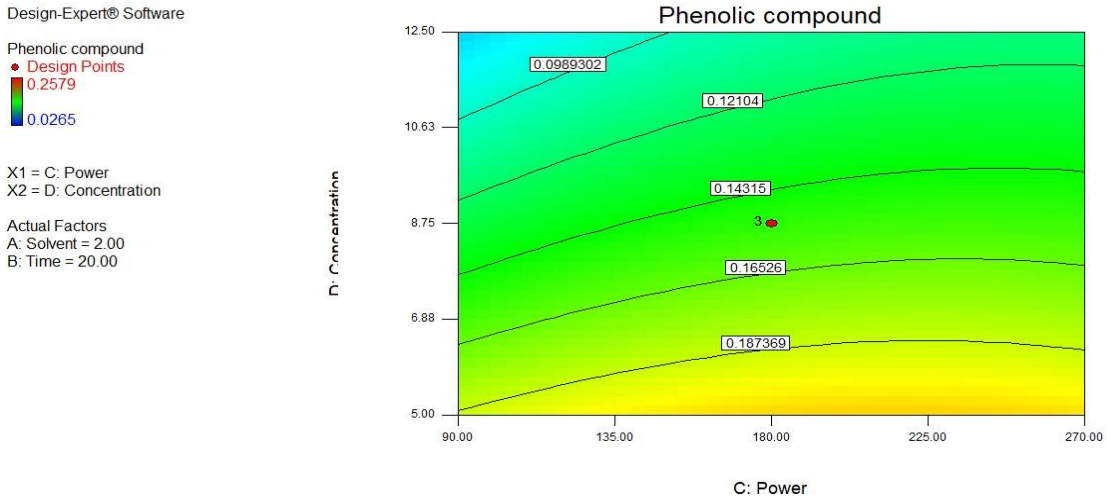

Figure 2. Contour diagram of the interaction of solvent/sample ratio and microwave power on the content of phenolic compounds of *Eruca sativa* extraction

نمودار ۲- نمودار کانتور اثر متقابل نسبت حلال/نمونه و قدرت ماکروویو بر محتوی ترکیبات فنلی کل عصاره *Eruca sativa*

جدول ۳- شرایط بهینه استخراج براساس چهار متغیر و اندازه‌گیری محتوی ترکیبات فنلی و قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

Table 3. Optimal extraction conditions based on four variables and measurement of phenolic compounds content and free radical scavenging power of DPPH

Desirability	Total Phenolic compounds (mgGA/ml)	Inhibiting potential of DPPH free Radicals (%)	Solvent ratio	Power (W)	Time (min)	solvent
0.886	0.2155	0.9958	5	256	30	water

با توجه به تعیین شرایط بهینه عصاره‌گیری به طور مجدد باتوجه به جدول ۳ از گیاه خندل عصاره تهیه شد و برای افزودن به نمونه‌های آزمایشی با نگهداری در دمای چهار درجه سانتی‌گراد مورد استفاده قرار گرفت.

با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه داده‌های pH در چهار گروه آزمایشی مورد بررسی در سطح معنی‌داری $P<0.05$ مورد مقایسه قرار گرفتند؛ مشخص گردید میزان pH در بین نمونه‌ها فاقد اختلاف معنی‌داری

بوده است (P=0.000). بیشترین مقادیر به ترتیب در نمونه‌های T1، T2 و T3، در روز ۲۰ مشاهده و کمترین میزان در T2 در روز اول آزمایش مشاهده شد. برای مقایسه بین گروه‌های آزمایشی از آزمون تعقیبی Duncan استفاده شد (نمودار ۳).

داده‌های مربوط به اسیدیته با استفاده از مسیر One-Way ANOVA و آزمون تعقیبی Duncan در چهار گروه آزمایشی موردبررسی در سطح معنی‌داری $P<0.05$ مورد مقایسه قرار گرفتند. میزان اسیدیته در بین نمونه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری بود (p=0.00). بیشترین مقادیر به ترتیب در نمونه T1 به ترتیب در روزهای ۰ و شاهد در روز صفر مشاهده و کمترین میزان در نمونه T3 در روز ۲۰ آزمایش مشاهد شد (نمودار ۴).

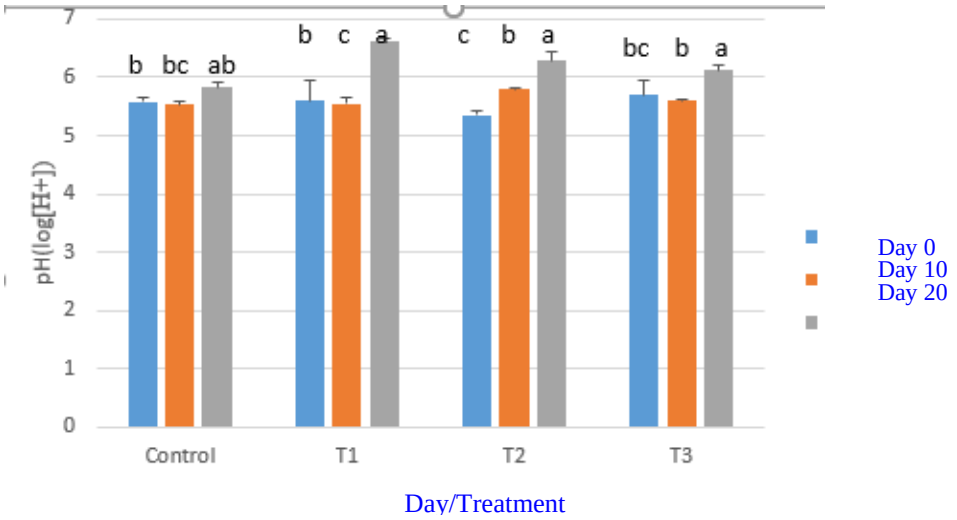

Figure 3. pH changes of experimental groups on days 0, 10 and 20 of marinade storage.
T_1: Exp. group containing 10% extract, T_2: Exp. group containing 20% extract, T3: Exp. group containing 30% extract. Superscripts present the significat differences among the exp. Groups at (p<0.05)

نمودار ۳- تغییراتpH نمونه‌های آزمایشی در روزهای نگهداری صفر، ۱۰ و ۲۰

T_1: گروه آزمایشی حاوی ۱۰٪ عصاره، T_2: گروه آزمایشی حاوی ۲۰٪ عصاره، T_3: گروه آزمایشی حاوی ۳۰٪ عصاره

حروف متفاوت دارای اختلاف آماری معنی دار می باشند (p<0.05)

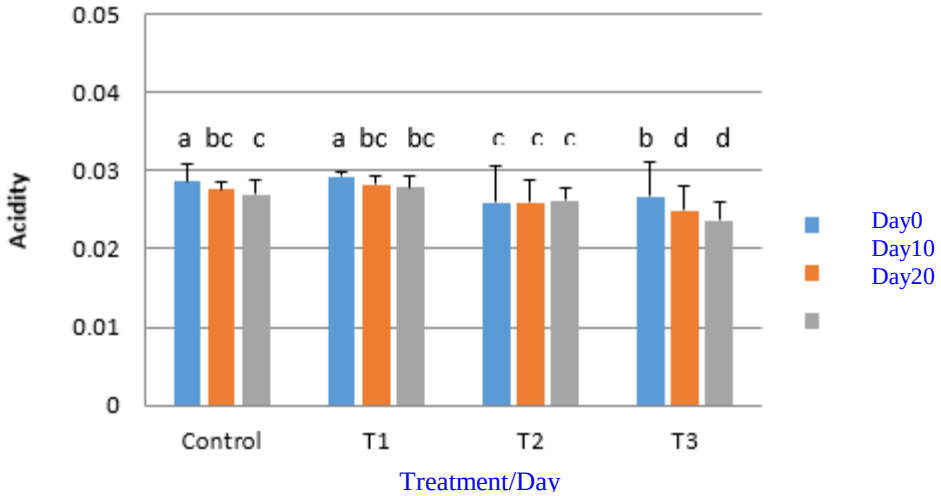

Figure 4. Changes in the acidity of the experimental groups on days 0, 10 and 20 of marinade storage.
Superscripts present the significat differences among the exp. Groups at (p<0.05). T_1: Exp. group containing 10% extract, T_2: Exp. group containing 20% extract, T3: Exp. group containing 30% extract

نمودار٤- تغییرات اسیدیته نمونه‌های آزمایشی در روزهای نگهداری صفر، ۱۰ و ۲۰

T_1: گروه آزمایشی حاوی ۱۰٪ عصاره، T_2: گروه آزمایشی حاوی ۲۰٪ عصاره، T_3: گروه آزمایشی حاوی ۳۰٪ عصاره

حروف متفاوت دارای اختلاف آماری معنی‌دار می باشند (p<0.05)

نتایج در نمودار ۵، مربوط به تغییرات محتوی بازهای نیتروژن‌دار فرار است که با تحلیل واریانس یک طرفه مشخص شد در بین نمونه‌ها دارای اختلاف معنی داری بود (p=0.00). بیشترین مقادیر به ترتیب در نمونه شاهد در تمام روزهای آزمایش مشاهده می شود و کمترین میزان در نمونه T2 سپس T3در سه روز بررسی دیده شد. مقدار TBA نمونه‌های ماهی مارینادشده و شاهد در ابتدا با استفاده از آزمون Kolmogorov – Smirnov از نقطه نظر بررسی وضعیت پراکنش داده‌ها بررسی شد و مشخص گردید که پراکنش داده‌ها تابع نمودار نرمال نمی‌باشد (P=0.001) و از این رو با استفاده از آزمون Kruskal-Wallis داده‌ها در چهار گروه آزمایشی مورد بررسی در سطح معنی‌داری $p<0.05$ مورد مقایسه قرار گرفتند و مشخص گردید که گروه‌ها در سطح p=0.001 دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند. نتایج در نمودار ۶ ارائه شده است.

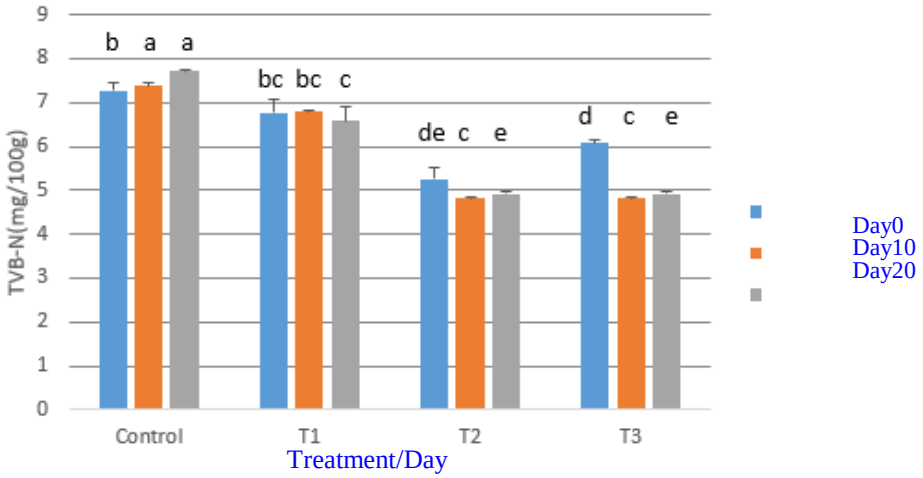

Figure 5. Changes in the total volatile basic nitrogen of experimental groups on days 0, 10 and 20 of marinade storage.

T_1: Exp. group containing 10% extract, T_2: Exp. group containing 20% extract, T3: Exp. group containing 30% extract. Superscripts present the significat differences among the exp. Groups at ($p<0.05$)

نمودار ۵: تغییرات مقدار کل بازهای نیتروژن‌دار فرار نمونه‌های آزمایشی در روزهای نگهداری صفر، ۱۰ و ۲۰

T_1: گروه آزمایشی حاوی ۱۰٪ عصاره، T_2: گروه آزمایشی حاوی ۲۰٪ عصاره، T_3: گروه آزمایشی حاوی ۳۰٪ عصاره

حروف متفاوت دارای اختلاف آماری معنی دار می باشند ($p<0.05$)

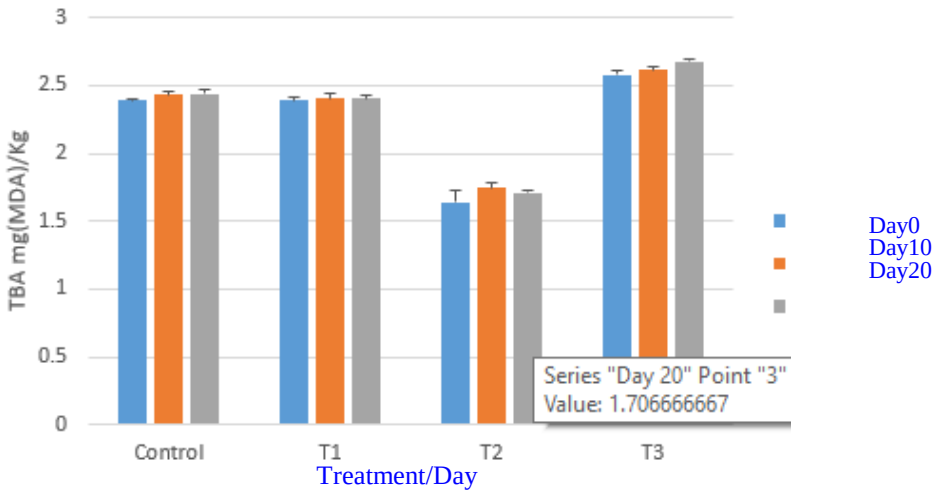

Figure 6. Changes in the amount of thiobarbituric acid in the experimental groups on days 0, 10 and 20 of marinade storage.

T_1: Exp. group containing 10% extract, T_2: Exp. group containing 20% extract, T3: Exp. group containing 30% extract

نمودار ٦- تغییرات مقدار تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های آزمایشی در روزهای نگهداری صفر، ۱۰ و ۲۰

T_1: گروه آزمایشی حاوی ۱۰٪ عصاره، T_2: گروه آزمایشی حاوی ۲۰٪ عصاره، T_3: گروه آزمایشی حاوی ۳۰٪ عصاره

با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه داده‌های ظرفیت نگهداری آب و فعالیت آبی در چهار گروه آزمایشی مورد بررسی در سطح معنی‌داری $P< 0.05$ مورد مقایسه قرار گرفتند. بر اساس نتایج جدول ۴، میزان WHC و فعالیت آبی در بین نمونه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری بود.

نمودار تغییرات ویژگی‌های حسی روز اول و دهم آزمایش به ترتیب در نمودارهای ۷ و ۸ ارائه شده است، با استفاده از آزمون غیر پارامتریک Chi-Square ویژگی‌ها شامل وضعیت ظاهری، احساس دهانی، طعم و مزه، بو، بافت و رنگ مورد مقایسه قرار گرفت و مشخص شد فاکتورهای سفتی بافت، رنگ، وضعیت ظاهری و بو در نمونه‌های مارینادشده و شاهد دارای اختلاف معنی‌داری نبودند ($p>۰/۰۵$)، اما فاکتورهای طعم و حس دهانی در بین نمونه‌ها در روز اول ارزیابی دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$). به سبب ملاحظات فلور باکتریائی از آزمون روز بیست و حس دهانی، طعم و مزه در روز ده آزمایش صرف نظر گردید. همچنین نتایج مربوط به طعم اسیدی-نمکی و سفتی بافت براساس نیروی برش چنگال در جدول ۵ ارایه شده است.

جدول ٤- میزان ظرفیت نگهداری آب و فعالیت آبی نمونه‌های آزمایشی در روزهای نگهداری صفر، ۱۰

Table 4. Percent of Water holding capacity and water activity in the experimental groups on days 0 and 10 of marinade storage

Exp. Groups	Water activity (%)	Water Holding Capacity (%)
CD0	0.961 ± 0.001^{a}	30 ± 0.016^{a}
T1 D0	0.95 ± 0.001^{b}	28 ± 0.002^{b}
T2 D0	0.951 ± 0.001^{b}	28 ± 0.0015^{b}
T3 D0	0.948 ± 0.001^{c}	28 ± 0.0009^{b}
CD10	0.951 ± 0.001^{b}	25 ± 0.004^{c}
T1 D10	0.951 ± 0.002^{b}	18 ± 0.003^{d}
T2 D10	0.958 ± 0.002^{a}	13 ± 0.003^{e}
T3 D10	0.949 ± 0.002^{b}	14 ± 0.006^{e}
CD20	0.946 ± 0.002^{c}	15 ± 0.007^{e}
T1 D20	0.940 ± 0.002^{d}	11 ± 0.004^{f}
T2 D20	0.941 ± 0.002^{d}	11 ± 0.03^{f}
T3 D20	0.938 ± 0.002^{e}	9 ± 0.009^{e}

Superscripts present the significat differences in column among the exp. Groups at ($p<0.05$)

T_1: Exp. group containing 10% extract, T_2: Exp. group containing 20% extract, T3: Exp. group containing 30% extract, C: control group, D: Day

حروف متفاوت در ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار $p<۰/۰۵$ در بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد.

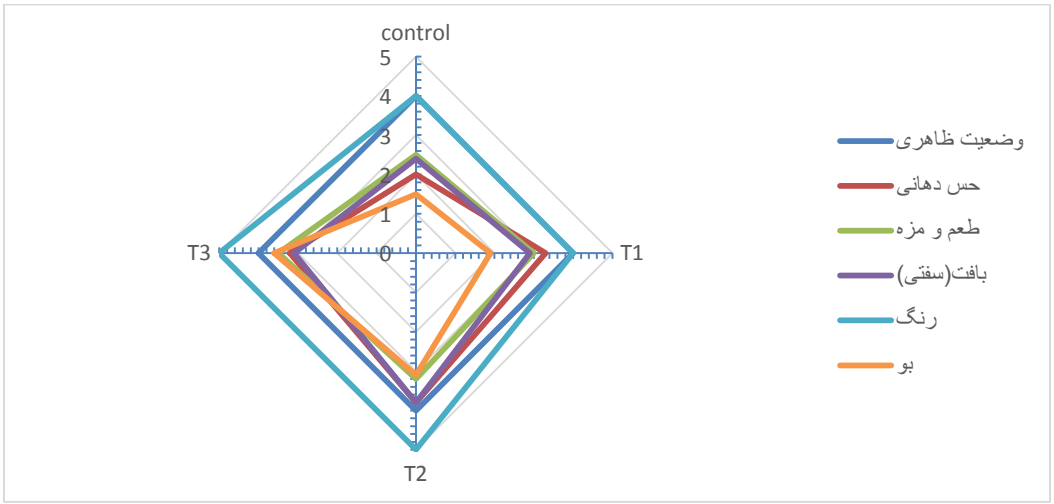

Figure 7. Examining the appearance, mouthfeel, taste, smell, texture and color characteristics of marinade samples on day 0

T_1: Exp. group containing 10% extract, T_2: Exp. group containing 20% extract, T3: Exp. group containing 30% extract.

نمودار۷- بررسی ویژگی‌های وضعیت ظاهری، احساس دهانی، طعم و مزه، بو، بافت و رنگ نمونه‌های آزمایشی در روز صفر

T_1: گروه آزمایشی حاوی ۱۰٪ عصاره، T_2: گروه آزمایشی حاوی ۲۰٪ عصاره، T_3: گروه آزمایشی حاوی ۳۰٪ عصاره

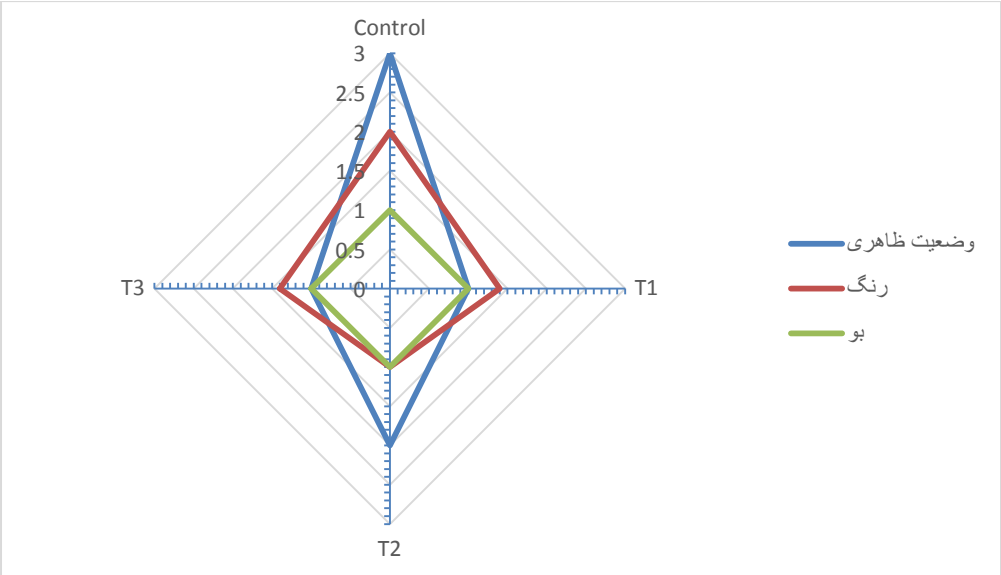

Figure 8. Examining the appearance, color and odor characteristics of marinade samples on day 10
T_1: Exp. group containing 10% extract, T_2: Exp. group containing 20% extract, T3: Exp. group containing 30% extract.

نمودار ۸ – بررسی ویژگی های وضعیت ظاهری، رنگ و بو نمونه‌های آزمایشی در روز ۱۰ نگهداری
T_1: گروه آزمایشی حاوی ۱۰٪ عصاره، T_2: گروه آزمایشی حاوی ۱۰٪ عصاره، T_3: گروه آزمایشی حاوی ۱۰٪ عصاره

جدول ۵– طعم اسیدی نمکی و آزمون بافت نمونه‌های آزمایشی ماریناد شده
Table 5. Salty acid taste and texture test of experimental marinade samples

Exp. groups	Texture	Acidic-salty taste
Control	2.00 ± 0.08^{a}	8.00 ± 0.00^{a}
Marinade samples	2.00 ± 0.09^{a}	8.00 ± 0.00^{a}

*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ($p<۰/۰۵$) در هر ستون می‌باشد.

بحث

امروزه مطالعات نشان می‌دهند که غذاهای حاوی ترکیبات ارگانیک و گیاهی، به‌دلیل غنای آنها از مواد زیست فعال و فیتوشیمیایی می‌تواند سبب حفظ سلامت انسان شود (Elsagh *et al.*, 2015). ازاین‌رو تکنیک‌های مدرن برای عصاره‌گیری و بهرمندی از ترکیبات زیست فعال آنان دستخوش پیشرفت‌های زیادی در این زمینه شده است. در این مطالعه با عصاره گیری از گیاه خندل به روش ماکروویو و بهینه سازی فرآیند باتوجه به متغیرهای استخراج، به بررسی کاربرد و تاثیر آن بر ماریناد فیله فیل ماهی پرداخته شد. می‌توان با تولید ماریناد علاوه بر افزایش زمان ماندگاری ماهیان و تأمین قسمتی از نیازهای پروتئینی جامعه، با بهبود طعم و مزه آنها با طعم دهنده‌های طبیعی به افزایش این فرآورده در سبد مصرف خانوار کمک شایانی نمود (Jafari *et al.*, 2020)، زیرا که یکی از دلایل پایین بودن مصرف سرانه ماهی در ایران، مزه آن است که اکثر افراد دوست ندارند.

با توجه به شرایط عصاره‌گیری، استفاده از حلال آب که به دلیل داشتن بالاترین ثابت دی الکتریک در مقایسه با دو حلال مورد استفاده دیگر و زمان ۳۰ دقیقه و قدرت ۲۵۶ وات و نسبت نمونه به حلال ۵ میلی‌لیتر به عنوان بهترین حالت استخراج عصاره معرفی گردید. درخصوص استفاده از حلال آب با بالاترین ثابت دی الکتریک و همچنین مصرف کمترین حجم حلال مزیت کاربرد عصاره‌گیری با ماکروویو را تایید می‌کند. گیاه خندل، همانند سرخارگل و مریم گلی به عنوان گیاهان شاخص حاوی ترکیب‌های ضداکسایش، شامل ترکیبات متعددی مثل فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی و ایزوبوتیل آمیدها است. ترکیبات فنلی یکی از مهم‌ترین ترکیباتی هستند که اثرات محرک سیستم ایمنی آن‌ها اثبات شده است. در نتیجه عصاره گیری از این گیاهان و

استفاده از آن‌ها در صنایع غذایی و دارویی می‌تواند مثمر ثمر واقع شود (Gorski *et al.*, 2004). Sadeghi و همکاران (۲۰۲۱) با استفاده از روش پرکولاسیون اقدام به بهینه سازی استخراج عصاره از گیاه خندل نمودند، نتایج نشان داد عصاره بهینه با استفاده حلال اتانول در مدت زمان ۴۵/۴۰ ساعت و حجم ۵/۳۳ میلی لیتر با توجه به محتوی ترکیبات فنلی کل و توان مهار رادیکال DPPH بدست می‌آید. در تحقیق حاضر مشخص می‌شود که عصاره گیری از این گیاه به روش ماکروویو با توجه به مدت زمان کوتاه‌تر و استفاده از حلال دوستدار محیط زیست آب بر استفاده از روش پرکولاسیون با توجه به زمان مورد نیاز و نوع حلال به کار رفته برتری دارد.

Roby و همکاران (۲۰۱۳) به اندازه‌گیری ترکیبات فنلی و بررسی خاصیت DPPH گیاه مریم گلی توسط حلال‌های مختلف پرداختند. در این مطالعه مقدار ترکیبات گیاه مریم گلی توسط متانول (۵/۲ mgGA/100g)، اتانول (۴/۶۵ mgGA/100g)، دی اتیل اتر (mgGA/100g ۴/۵۵) و توسط هگزان (۳/۹ mgGA/100g) به دست آمد که تمام مقادیر با توجه به اینکه گیاه مریم گلی به عنوان یک گیاه شاخص با محتوی ترکیبات با خاصیت ضد اکسایشی شناخته می‌شود، به طور قابل توجهی بیشتر از میزان ترکیبات فنلی گیاه خندل در مطالعه‌ی حاضر می‌باشد. Hedayatzadeh Abhari و Ismailzadeh Kenari (2014) در بررسی اثر روش‌های مختلف استخراج (اولتراسوند و مایکروویو) بر خصوصیات آنتی اکسیدانی عصاره برگ شاتوت (*Moras nigra* L.) نشان دادند که نوع حلال و روش استخراج می‌تواند بر خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره تاثیر گذار باشد، و همچنین در استخراج ترکیبات فنولی قطبیت حلال‌ها در افزایش حلالیت فنل‌ها نقش مهمی دارد و باتوجه به اینکه ترکیبات فنولی ترکیبات قطبی هستند و یک ترکیب آلی ساده می‌باشد، عصاره اتانولی (بخاطر قطبی بودن آب و استخراج پیوندهای آلی و کربنی با استفاده از اتانول) قدرت استخراج ترکیبات فنلی بالاتری را نسبت به عصاره های دیگر دارد و می‌توان گفت که قطبیت ترکیبات فنولی باعث شده که مایکروویو تاثیر بیشتری نسبت به دیگر روش‌های عصاره‌گیری ایفا کند.

در این پژوهش بیشترین مقادیر اسیدیته به ترتیب در نمونه تیمار اول و شاهد در روز ۰ و کمترین میزان در تیمار سوم در روز ۲۰ آزمایش مشاهده گردید و تغییرات معنی‌دار گزارش شد. میزان pH عضله ماهی زنده نزدیک ۷ است و pH بیشتر از ۷ نشان دهنده فساد است (Zargar *et al.*, 2013). اسیدیته ماهی پس از مرگ بر اساس فصل، گونه و سایر فاکتورها از ۷-۶ تغییر می‌کند (Rezaian *et al.*, 2014). علت پایین بودن pH در ابتدا به‌دلیل تولید اسیدلاکتیک ناشی از گلیکولیز در لاشه ماهی پس از مرگ است در حالی‌که افزایش pH و بعبارتی کاهش میزان اسیدیته در طول دوره نگهداری به دلیل تولید آمین‌های فرار ناشی از تخریب آنزیمی و باکتریایی گوشت است. Maktabi و همکارانش (۲۰۱۵) به بررسی تاثیر ماریناد کردن سنتی بر ویژگیهای باکتریایی و شیمیایی فیله ماهی قزل آلای منجمد پرداختند؛ در این مطالعه مشخص شد pH در نمونه ی ماریناد (۵/۶) به طور معنا داری کمتر از نمونه ی کنترل (۶/۳) بود و در طول مدت نگه داری pH دو گروه تغییری نکرد و ثابت ماند برخلاف تحقیق حاضر که با گذشت زمان میزان pH افزایش یافت. همچنین Šimat و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی اثر محلول های متفاوت ماریناد بر خواص حسی و زمان ماندگاری ماریناد سرد anchovy پرداختند. مشخص شد بین pH ماهی‌های تازه (۶/۱۶) و ماریناد شده (۶/۳۰) تفاوت معنا داری وجود ندارد و نشان دادند پس از ۲۵ روز نگه‌داری ماهی‌های ماریناد شده pH همه‌ی آن‌ها برخلاف روند افزایشی pH در مطالعه حاضر کاهش پیدا کرد. Kilinc و Cakli (۲۰۰۵) به بررسی ماندگاری ساردین ماریناد شده در سس گوجه فرنگی پرداختند. در پایان دوره ۶ ماهه، بین pH مارینادهای پاستوریزه و غیرپاستوریزه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و نشان دادند pH در طول مدت نگه داری از ۳/۸۴ به ۴/۱۹ روند افزایشی مشابه مطالعه حاضر داشته است. افزایش pH می‌تواند به سبب فعالیت پروتئولیتیکی میکروارگانیسم‌ها که نتیجه آن افزایش مقدار نیتروژن‌های غیرپروتئینی باشد. کاهشpH درنمونه‌های ماریناد شده می‌تواند به سبب استفاده ازمحلول ماریناد باشد که محتوی ترکیب اسیدی است و یا به دلیل ایجاد اسیدهای آلی طی فرآیند به سبب فعالیت‌های میکروبی باشد. همان‌طور که اشاره شد pH گوشت ماهی تقریبا نزدیک به مقدار خنثی است؛ در طول زمان نگهداری ماریناد، فعالیت باکتری‌های لاکتیکی هتروفرمانتاتیو می‌تواند سبب تجزیه آمینو اسیدها

شوند، از این رو تشکیل و تولید CO_2 و دیگر محصولات دکربوکسیلاسیون می‌تواند سبب افزایشpH شود.

نتایج این پژوهش نشان داد که بالاترین درصد ظرفیت نگهداری آب با میانگین ۳۰ درصد در روز اول تولید ماریناد در گروه شاهد مشاهده شد، در حالی‌که افزودن عصاره و همچنین گذشت زمان سبب کاهش فعالیت آبی در نمونه‌ها به طور معنی‌داری گردید، به‌طوری که در نهایت کم‌ترین کیزان در روز ۲۰ تولید و در گروه سوم آزمایشی با بیشترین میزان عصاره دیده شد. کاهش ظرفیت نگهداری آب به صورت معنی‌دار در فیله می‌تواند به دلیل آسیب سلول، کاهش قابلیت انحلال پروتئین‌ها و دناتوره شدن آن‌ها و طی دوره نگهداری باشد. قابلیت نگهداری آب توسط ماهیچه به‌عنوان یکی از پارامترهای مهم در بحث کیفیت مطرح شده است، چرا که WHC بالا هم برای مصرف کننده و هم در صنعت بسیار مهم است (Schafer *et al.*, 2002). Maktabi و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی تاثیر ماریناد کردن سنتی بر ویژگی‌های باکتریایی و شیمیایی فیله ماهی قزل‌آلای منجمد و بررسی تغییرات فاکتور WHC پرداختند. برخلاف مطالعه حاضر، میزان WHC در گروه ماریناد شده (۳۵) بیشتر از گروه کنترل (۲۴) گزارش شد اما این تفاوت معنادار نبود. Zhelyazkov و همکاران (۲۰۱۵)، به مدت ۶۰ روز تغییرات در ترکیبات شیمیایی و خصوصیات فیزیکوشیمیایی موجود در ماهی ماکرل ماریناد شده در روغن‌های گیاهی (روغن آفتابگردان و روغن بزرک) را بررسی کردند. میزان WHC در نمونه‌های هر دو محلول ماریناد کاهش یافت. پس از ۶۰ روز نگهداری میزان WHC در نمونه‌های ماریناد در روغن آفتابگردان از ۳۰/۴۳ به ۱۹/۱۱ رسید و در نمونه‌های ماریناد در روغن بزرک از ۳۰/۴۳ به ۱۶/۳۰ کاهش یافت.

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد، میزان فعالیت آبی با اختلاف معناداری در نمونه‌های تیمار کمتر از گروه شاهد در تمام روزهای بررسی بود؛ بیشترین میزان در نمونه شاهد روز اول تولید نمونه و روند کاهشی این پارامتر بین نمونه‌های تیمار نشان دهنده تاثیر مثبت عصاره خندل بر جلوگیری از شروع فعالیت‌های فسادی توسط میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. Testa و همکاران (۲۰۱۹) ، به بررسی تاثیر عصاره برگ زیتون بر فعالیت آبی ماهی آنچوی ماریناد شده پرداختند، در بازه‌های زمانی مختلف (روز ۰، ۷ و ۲۲) فعالیت آبی فیله‌های آنچوی شاهد و تیمار بدون اختلاف معناداری کاهش یافت. بیشترین مقدار در نمونه تیمار روز صفر (۰/۹۹۵) و کمترین مقدار در نمونه تیمار (۰/۱۹) روز ۲۲ گزارش شد. Šimat و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی اثر محلول‌های متفاوت ماریناد بر خواص حسی و زمان ماندگاری ماریناد آنچوی سرد پرداختند و میزان فعالیت آبی مورد سنجش قرار گرفت که میزان آن حین نگه‌داری کاهش یافت و تفاوت معنا داری در بین نمونه ها یافت نشد، همچنین فعالیت آب ماهی تازه (۰/۹۹۴) بیشتر از نمونه‌ی ماریناد (۰/۸۴) گزارش شد. Zhelyazkov و همکاران (۲۰۱۵)، به مدت ۶۰ روز تغییرات در ترکیب شیمیایی و خصوصیات فیزیکوشیمیایی موجود در ماهی ماکرل ماریناد شده در روغن های گیاهی را بررسی کردند. در این مطالعه، میزان فعالیت آبی در نمونه‌های هر دو محلول ماریناد کاهش یافت. پس از ۶۰ روز نگهداری میزان فعالیت آبی در نمونه‌های ماریناد شده در روغن آفتابگردان از ۰/۹۵۸ به ۰/۸۷۸ رسید و در نمونه‌های ماریناد شده در روغن بزرک از ۰/۹۵۸ به ۰/۸۸۰ کاهش یافت.

محتوی بازهای نیتروژن‌دار فرار، محصول فساد باکتریایی و فعالیت آنزیم‌های درون زاد است و سطوح آن غالبا به عنوان شاخصی برای ارزیابی کیفیت و ماندگاری محصولات مورد استفاده قرار می‌گیرد. افزایش TVB-N در نمونه‌ها همان طور که اشاره شد به سبب افزایش فعالیت پروتئولیزی آنزیمی و باکتریایی می‌باشد. در این پژوهش تغییرات محتوی کل بازهای نیتروژنی فرار در بین نمونه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری بوده است. بیش‌ترین مقدار TVB-N به‌ترتیب در نمونه شاهد در هر سه روز و کمترین میزان به ترتیب در تیمار دوم سپس در تیمار سوم در سه روز بررسی مشاهده شد. با توجه به Huss (۱۹۸۸) مقدار TVB-N در ماهی تازه بین ۲۰–۵ میلی‌گرم در صد گرم نمونه می‌باشد. هرچند مقادیر بین ۳۰ تا ۳۵ میلی‌گرم در صد گرم نمونه نیز در حدود قابل قبول برای مصرف وجود دارد، که در مطالعه حاضر حداکثر مقدار این شاخص از ۷/۵ میلی‌گرم تجاوز نکرد. کاهش مقدارTVB-N در فرآیند ماریناد کردن را می‌توان به عملکرد اسید و نمک نسبت داد. در همین راستا Kilinc و Cakli (۲۰۰۴) گزارش کردند که مقدار TVB-N از۱۰/۲۴به ۶/۵۳ میلی‌گرم در صد گرم

نمونه در طول دوره ماریناسیون ماهی ساردین در محلول ۷ درصد نمک کاهش یافته است. Maktabi و همکارانش (۲۰۱۵) به بررسی تاثیر ماریناد کردن سنتی بر ویژگی‌های باکتریایی و شیمیایی فیله ماهی قزل‌آلای منجمد پرداختند و میزان بازهای ازته فرار را اندازه‌گیری نمودند و برخلاف مطالعه حاضر، مشخص شد میزان TVN در طی هشت روز در نمونه ی ماریناد شده (۲۱/۹۳ mgN/100g) بیش‌تر از نمونه‌ی کنترل (۱۹/۶ mgN/100g) است، اما تفاوت معناداری بین این دو گروه یافت نشد. همچنین Kaya و Basturk (۲۰۱۵) به بررسی تعیین برخی ویژگی‌های کیفی سیم دریایی ماریناد شده در نمونه‌های بسته بندی شده‌ی پلاستیکی در دو گروه ساده (حاوی روغن آفتابگردان) و سس‌دار پرداختند. برخلاف مطالعه‌ی حاضر میزان TVB-N حین نگه‌داری در هر دو گروه افزایش داشت. میزان این پارامتر در روز آخر نگه‌داری، در نمونه‌ی ساده (۱۵/۸۶ mgN/100g) و در نمونه‌های سس‌دار (۱۴/۸۹ mgN/100g) گزارش شده است. Šimat و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی اثر محلول‌های متفاوت ماریناد بر خواص حسی و زمان ماندگاری ماریناد سرد ماهی آنچوی پرداختند. برای این هدف میزان TVB-N مشخص شد؛ در این مطالعه برخلاف مطالعه‌ی حاضر میزان TVB-N پس از نگه‌داری ماهی‌های ماریناد شده از (۱۰/۲۱ mgN/100g) به (۱۴/۳۴ mgN/100g) افزایش یافته بود. از آنجایی که حضور باکتری‌ها در گوشت منجر به اتولیز پروتئین‌ها و تجزیه آنها، و تولید ترکیباتی از جمله تری متیل آمین اکسیدها، پپتیدها، آمینواسیدها و غیره می‌شود مقادیر بیشتر بار باکتریایی مشاهده شده در نمونه‌ها می تواند توجیهی برای افزایش میزان بازهای نیتروژنی در آنها باشد.

اندازه‌گیری محتوی TBA به عنوان شاخصی برای بررسی اکسیداسیون لیپیدها از طریق اندازه‌گیری (سنجش) محصولات ثانویه اکسیداسیون لیپیدها که از طریق تجمع هیدروپراکسیدها ایجاد می شود، مورد استفاده قرار میگیرد. با توجه به این شاخص کیفیت محصولات ماهی که حاوی حداکثر $5\ ^{mg(MDA)}/_{Kg}$ باشند؛ مناسب شناخته می‌شوند، البته این در حالی است که ماهیان خوراکی به منظور مصرف تا حد $8\ ^{mg(MDA)}/_{Kg}$ نیز می‌تواند حاوی تیوباربیتوریک اسید باشند، به طوری که Sallam و همکاران (۲۰۰۷) هرچند که محصولاتی با محتوی کمتر از $3\ ^{mg(MDA)}/_{Kg}$ به‌عنوان محصولات خوب شناخته می‌شوند و افزایشTBA از ۵ میلی‌گرم تا حدود ۸ میلی‌گرم نشان دهنده کاهش کیفیت محصول می باشد. در مطالعه حاضر محتوی این شاخص به طور کلی کمتر از ۳ میلی‌گرم مالون آلدئید در تمامی گروها و روزهای مورد بررسی اندازه‌گیری شد اما بیشترین مقدار آن در گروه سوم آزمایشی که حاوی بیشترین درصد عصاره خندل بود، مشاهده گردید و کمترین مقدار در هر سه روز مورد بررسی مربوط به گروه دوم آزمایشی بود یا به عبارتی بیشترین تاثیرپذیری را از افزودن عصاره داشتند، علت این کاهش نسبت به گروه شاهد، T1 و T2 را می‌توان این گونه توجیه نمود که با مصرف عصاره‌ها به‌عنوان ترکیبات حاوی مولکول‌های با خاصیت ضد اکسایشی باید در نظر داشت که عصاره‌ها مجموعه‌ای از مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی، پیشران اکسیداسیون و آنزیم‌ها در غلظت‌های مختلف هستند که تنوع مولکولی و همچنین غلظت آن‌ها تفسیر نتایج کاربرد عصاره‌ها را با هدف کنترل اکسیداسیون مشکل می‌نماید، زیرا که حتی مولکول‌های با خاصیت آنتی اکسیدانی نیز در غلظت‌های متفاوت اعم از کاربرد در غلطت بالا یا غلظت کمتر از حد موثر می‌توانند خاصیت پیشران اکسایش داشته باشند، در کنار این موضوع که وجود فلزات فعال ردوکس مانند آهن و مس نیز می‌توانند بر عملکرد متفاوت مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی به ویژه ترکیبات فنلی اثر گذارند (Yordi *et al.*, 2012; Terpinc *et al.*, 2011). Maktabi و همکارانش (۲۰۱۵) به بررسی تاثیر ماریناد کردن سنتی بر ویژگیهای باکتریایی و شیمیایی فیله ماهی قزل‌آلای منجمد پرداختند مشخص شد که میزان TBA در نمونه‌ی ماریناد شده (5 mg of MDA/kg) بیشتر از نمونه‌ی کنترل (1/5 mg of MDA/kg) است اما تفاوت معناداری در این دو گروه یافت نشد. Kaya و Basturk (۲۰۱۵) به بررسی تعیین برخی ویژگی‌های کیفی سیم دریائی ماریناد شده در نمونه‌ها در بسته بندی‌های پلاستیکی در دو گروه ساده(حاوی روغن آفتابگردان)و حاوی سس پرداختند. در مدت نگهداری ۲۰۰ روزه، میزان TBA بررسی شد و به این نتیجه رسیدند که

میزان TBA که در ابتدا در هر دو گروه 0/19 میلی‌گرم مالون آلدئید در هر کیلوگرم روغن بود، حین نگه‌داری در هر دو گروه ساده 7/06 میلی‌گرم مالون آلدئید در هر کیلوگرم روغن و آغشته به سس 7/99 میلی‌گرم مالون آلدئید در هر کیلوگرم روغن افزایش داشته است و میزان آن در نمونه‌های حاوی سس بیشتر از نمونه‌های ساده بود. Çaglak و Karsil (۲۰۱۵) به بررسی تعیین پارامترهای مختلف ماهی قزل آلای مارینادشده و آب نمک تزریق شده به آن در شرایط یخچالی پرداختند. در این تحقیق سه گروه نمونه شاهد، نمونه مارینادشده با چهار درصد اسید لاکتیک و هشت درصد نمک و نمونه مارینادشده با 20 درصد نمک مورد آزمایش قرار گرفتند. سپس پارامتر TBA بررسی شد و مقادیر آن اندازه‌گیری گردید و مشخص شد که مشابه با مطالعه‌ی حاضر، مقدار TBA حین نگه‌داری به طور معناداری در همه گروه‌ها افزایش یافته است و TBA گروه آب نمک مارینادشده ۰/۳ میلی‌گرم مالون آلدئید در هر کیلوگرم روغن پایین‌تر از سایر گروه‌ها می‌باشد.

ارزیابی حسی سریع‌ترین، آسان‌ترین و مقبول‌ترین راه برای تشخیص تازگی ماهی و کیفیت آن است که خصوصیات حسی ماهی به وضوح برای مشتری نمایان می‌باشد و از لحاظ تامین رضایت مشتری نیز اهمیت دارد. در این پژوهش فاکتورهای سفتی بافت، رنگ، وضعیت ظاهری و بو در نمونه‌های مارینادشده و شاهد فاقد اختلاف آماری معنی‌داری بوده‌اند، اما فاکتورهای طعم و حس دهانی در بین نمونه‌ها از اختلاف معنی‌داری برخوردار بوده‌اند. نتایج ارزیابی حسی در روز ۰ نشان داده که، بالاترین امتیاز مربوط به آزمون رنگ بوده که در تیمارهای T_2 و T_3 مشاهده شد، آزمون‌های رنگ و وضعیت ظاهری در نمونه شاهد با امتیاز ۴ بر هم منطبق بودند. نتایج دیگر آزمون‌ها بر هم منطبق بود. در حالی‌که در روز۱۰، نمونه شاهد و T_2 از بیشترین امتیاز وضعیت ظاهری به‌ترتیب برخوردار بودند، به طور کلی در روز ۱۰ نمونه شاهد از امتیازات بیشتری در ارزیابی حسی برخوردار شد. T_1 با امتیاز ۱ از کمترین ارزیابی حسی برخوردار بود. Yildiz (۲۰۱۶) نیز به بررسی تاثیر عصاره رزماری و آویشن بر روی عمر مفید ماهی قزل‌آلای مارینادشده پرداختند. مشابه با مطالعه حاضر، نتایج آن‌ها نشان داد که استفاده از عصاره‌ها در فرآیند مارینادکردن در طول مدت نگه داری تاثیر مثبتی بر روی افزایش عمر ماهی قزل‌آلا و ویژگی‌های حسی (رنگ، بو، طعم و مقبولیت عمومی) آن دارد و با گروه کنترل دارای اختلاف معنادار می‌باشد. Çaglak و Karsil (۲۰۱۵) به بررسی پارامترهای حسی در ماهی قزل‌آلای مارینادشده و آب نمک تزریق شده به آن در شرایط یخچالی پرداختند. در این مطالعه مشابه با مطالعه‌ی حاضر مشخص شد، خصوصیات حسی ماهی‌های نگه‌داری شده پس از سیزده روز افزایش یافت. همچنین در سال (۲۰۱۲)، Šimat و همکاران به بررسی اثر محلول های متفاوت مارینادبر خواص حسی و زمان ماندگاری مارینادسرد ماهی آنچوی پرداختند. همسو با مطالعه حاضر، آن‌ها نتیجه گرفتند محلول نمک و اسید نقش مهمی در تعیین ماندگاری محصول و همچنین در تعیین خصوصیات حسی آن دارد و فیله‌هایی که در مواد مارینا‌سیون حاوی ۴۵ درصد آب، ۳۰ درصد سرکه، ۲۵ درصد سرکه الکلی و ۷ درصد نمک تهیه می‌شوند، بهترین نمرات حسی را به دست آوردند. بر خلاف مطالعه‌ی حاضر، Hecer (۲۰۱۱) نشان داد که نگه داری یکسری از آبزیان مانند ماهی مرکب، سوریمی، صدف، میگو و اختاپوس در محلول مارینادسید استیک و نمک در مدت زمان ۵ ماه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منجر به کاهش کیفیت حسی در این آبزیان می‌شود. نتایج آزمون‌های طعم اسیدی نمکی و آزمون بافت نشان داده است که از نظر بررسی بافت به دلیل مارینادشدن زیاد از حد، نمونه‌ها نرم وآبکی شده‌اند و امتیاز ۲ برای آنها به دست آمد. بررسی مزه اسیدی – نمکی نشان داد که نمونه‌های مارینادشده دارای امتیاز ۸ (بسیاراسیدی– نمکی) بودند.

نتیجه‌گیری

با توجه به شرایط عصاره‌گیری، استفاده از حلال آب که به دلیل داشتن بالاترین ثابت دی الکتریک در مقایسه با دو حلال مورد استفاده دیگر و زمان ۳۰ دقیقه و قدرت ۲۵۶ وات و نسبت نمونه/حلال ۵ میلی‌لیتر به عنوان بهترین حالت استخراج عصاره معرفی گردید. اندازه‌گیری pH در نمونه‌های مارینادشده و شاهد در هر سه روز آزمایش نشان داد که میزان pH با گذشت زمان به تدریج افزایش می‌یابد که افزایش تدریجی pH می‌تواند به دلیل افزایش تجزیه ترکیبات ازته باشد. فاکتور TBA بیش‌ترین تاثیرپذیری را از

عصاره مورد نظر که به مرینیت اضافه شد را داشته به‌طوری که نمونه حاوی ۲۰ درصد عصاره درهرسه روز آزمایش کم‌ترین میزان را نشان داد. نتایج اندازه‌گیری TVB-N نشان داد که به ترتیب نمونه‌های حاوی ۲۰ و ۳۰ درصد عصاره کمترین مقدار را داشتند. میزانWHC نمونه‌های مارینادشده و شاهد نشان داد که ظرفیت نگهداری آب با گذشت زمان کاهش معنی‌داری داشته، که احتمالا به دلیل تخریب فیبرهای عضلانی در روزهای پایانی نگهداری بوده است. فاکتورهای طعم و حس دهانی در بین نمونه‌ها دارای اختلاف معنی داری بودند. از نظر بررسی بافت به دلیل مرینیت شدن زیاد از حد، نمونه‌ها نرم و آبکی شدند و امتیاز ۲ برای آن‌ها به دست آمد. بررسی مزه اسیدی – نمکی نشان داد که نمونه‌های مارینادشده دارای امتیاز ۸ (بسیار اسیدی– نمکی) بودند. به طور کلی می‌توان گفت که به ترتیب نمونه‌های حاوی ۲۰ و ۳۰ درصد عصاره از بهترین شرایط و نمونه شاهد از بدترین شرایط باتوجه به شاخص‌های اندازه‌گیری شده بود.

منابع

Alqasoumi, S., Al-Sohaibani, M., Al-Howiriny, T., Al-Yahya, M. & Rafatullah, S. (2009). Rocket "*Eruca sativa* :"A salad herb with potential gastric anti-ulcer activity. World Journal of Gastroenterology,15(16),1958 .doi: 10.3748/wjg.15.1958

A.O.A.C., Official Methods of Analysis. (2000). AOAC International, Arlington, VA.

Attouchi, M. & Sadok, S. (2012). The effects of essential oils addition on the quality of wild and farmed sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. Food and Bioprocess Technology, 5, 1803-1816. https://doi.org/10.1007/s11947-011-0522-x

Barillari, J. Canistro, D. Paolini, M. Ferroni, F. Pedulli, G.F. Iori, R. Valgimigli, L.(2005).Direct antioxidant activity of purified glucoerucin, the dietary secondary metabolite contained in rocket (*Eruca sativa* Mill.) seeds and sprouts. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 53,7, 2475–82. https://doi.org/10.1021/jf047945a

Cadun, A., Kışla, D. & Çaklı, Ş.(2008). Marination of deep-water pink shrimp with rosemary extract and the determination of its shelf-life. Food Chemistry, 109(1), 81-87. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.12.021.

Çağlak, E. & Karsli, B. (2015). Determination of shelf life of marinade and brine injected rainbow trout *(oncorhynchus mykiss*, walbaum 1792) at refrigerator conditions. Journal of food and health science, 1(4), 199- 210. DOI: 10.3153/JFHS15019.

Chen, W.S., Liu, D.C., & Chen, M.T. (2002). Effects of high level of sucrose on the moisture content, water activity, protein denaturation and sensory properties in Chinese-style pork jerky. Asian-Australian Journal of Animal Science, 15, 585–590. DOI: 10.5713/ajas.2002.585.

Elsagh, M., Fartookzadeh, M.R., Kamalinejad, M., Anushiravani, M., Feizi, A. & Behbahani, F.A. (2015). Efficacy of the Malva sylvestris L. flowers aqueous extract for functional constipation: A placebo-controlled trial. Complementary Therapies in Clinical Practice, 21(2):105-11. DOI: 10.1016/j.ctcp.2015.02.003

Erkan, N., Dogruyol, H., Gunul, A. & Genc, I. Y. (2015). Use of natural preservatives in seafood: plant extracts, edible film and coating. Journal of food and health science, 1(1), 33-49. DOI: 10.3153/JFHS15004.

Erkan, N., Ulusoy, S. & Tosun, Y. (2011). Effect of combined application of plant extract and vacuum packaged treatment on the quality of hot smoked rainbow trout. Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, **6**, 419–426. https://doi.org/10.1007/s00003-011-0665-8.

Falguera, V., Quintero, J.P., Jimenez, A., Munoz, J. A. & Ibarz, A. (2011). Edible films and coating: Structures, active functions and trends in their use. Trends in food science and technology, 22,292-303. DOI: 10.1016/j.tifs.2011.02.004.

Fayaz, Y., Honarvar, M., Mooraki, N. (2021). Optimization of Extraction of Antioxidant and Phenolic Compounds of *Caulerpa sertularioides* by Microwave-Assisted Extraction Process. Food Technology & Nutrition, 18, 2, 5-19.

Fuselli, S.R., Casales, M.R., Fritz, R. & Yeannes, M.I. (1994). Microbiology of the marination process used in anchovy (*Engraulis anchoita*) production. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 3, 214-218. AGR: IND20412871

Gorski, J.C., Huang, S.M., Pinto, A., Hamman, M.A., Hilligoss, J.K. & Zaheer, N.A. (2004). The effect of echinacea (*Echinacea purpurea* root) on cytochrome P450 activity in vivo. Clinical Pharmacology and Therapeutics, 75, 1,89-100 . DOI: 10.1016/j.clpt.2003.09.013.

Hecer, C.(2011). Changes in chemical, microbiological and sensory properties of marinated seafood salad during storage period. African Journal of Agricultural Research, 6 (22), 5087-5090

Hedayatzadeh Abhari, M. & Ismailzadeh Kenari, R. (2014). The effect of different extraction methods (ultrasound and microwave) on the antioxidant properties of *Moras nigra L.* extract. The Second National Conference on Production and Consumption Chain Optimization in the Food Industry. Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, 1739-1750 [In Persian].

Huss, H.H. (1988). Fresh Fish: Quality and quality changes. Rome: Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, 132.

Jafari, F., Zamindar, M., Goli, M. & Ghorbani, Z. (2020). Effect of Ginger extract, citric Acid and ultrasound on physicochemical properties of Camel meat. Iranian food science and technology research journal, 2(62), 287-299. [In Persian] https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?id=785952

Jayaprakasha, G. K. (2003). Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitisvinifer*) seed extracts. *Food Research International*,117-122.

Jilani M. I., Abid, A., Rehman R., Sadique, S. & Nisar, S. (2015). Health benefits of Arugula: A review. International Journal of Chemical and Biochemical Sciences, 8, 65-70.

Jongberg, S., Tørngren, M. A., Gunvig, A., Skibsted, L. H. & Lund, M.N. (2013). Effect of green tea or rosemary extract on protein oxidation in Bologna type sausages prepared from oxidatively stressed pork. Meat Science, 93(3), 538-546. DOI: 10.1016/j.meatsci.2012.11.005.

Kavitha, S. & Modi, V. K. (2006). Effect of water activity and temperature on degradation of 5′-inosine monophosphate in a meat model system. LWT-Food Science Technology, 40,1280–1286. DOI: 10.1016/j.lwt.2006.07.014.

Kaya, G. K. & Baştürk, Ö. (2015). Determination of some quality properties of marinated sea bream (*Sparus Aurata* L., 1758) during cold storage. Ciência e Tecnologia de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 35(2),347-353. DOI: 10.1590/1678-457X.6619.

Kilinc, B. & Cakli, S. (2004). Chemical, microbiological and sensory changes in thawed frozen fillets of sardine (*Sardina pilchardus*) during marination. Food Chemistry, 88(2), 275-280. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.044

Kilinc, B. & Cakli, S. (2005). Determination of the shelf life of sardine (*Sardina pilchardus*) marinades in tomato sauce stored at 4 C. Food Control, 16(7), 639-644. DOI: 10.1016/j.foodcont.2004.07.004.

Kim, S. J., Jin, S. & Ishii, G. (2004). Isolation and structural elucidation of 4-(beta-d-glucopyranosyldisulfanyl) butyl glucosinolate from leaves of rocket salad (Eruca sativa L.) and its antioxidative activity. Bioscience Biotechnology Biochemistry, 68, 2444–2450. DOI:10.1271/bbb.68.2444.

Kirk, R. S. & Sawyer, R. (1991). Pearson's Composition and Analysis of Foods, 9th ed. (student edition), England: Addision Wesley Longman Ltd. 33-36.

Khajenoori, M. & Haghighi Asl, A. (2014). Review of extraction of plant natural components by Microwaves and ultrasounds. Innovative Food Technologies, 1, 3, 81-91. [In Persian] https://dx.doi.org/10.22104/jift.2014.37

Kykkidou, S., Giatrakou, V., Papavergou, A., Kontominas, M. G. & Savvaidis, I. N. (2009). Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4ºC. Food chemistry, 115:169175. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2008.11.083.

Maktabi, S., Zarei, M. & Chadorbaf, M. (2015). Effect of traditional marinating on bacterial and chemical characteristics in frozen rainbow trout fillet. Journal of Food Quality, Hazards Control, 2(4),128-33 [In Persian].

Masoumi, M., Moharramipour, S . & Ayari, M. (2019). The effect of acaricide of oil and methanolic extract of Eruca sativa seeds on Tetranychus urticae (Red form) (Acari: Tetranichidae). Journal of entomological society of Iran, 39(1),81-92 [In Persian] .URL: http://jfqhc.ssu.ac.ir/article-1-203-en.html

Matusheski, N. V., Swarup, R., Juvik, J. A., Mithen, R., Bennett, M., & Jeffery, E. H. (2006). Epithio specifier protein from broccoli (*Brassica oleracea* L. ssp. italica) inhibits formation of the anticancer agent sulforaphane. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(6), 2069–76. DOI: 1001021/jf0525277.

Nüchter, M., Ondruschka, B., Bonrath, W. & Gum, A. (2004). *Microwave assisted synthesis-a critical technology overview. Green Chemistry*,6(3):128−141. https://doi.org/10.1039/B310502D

Ozdemir, H., Turhan, A. B. & Arikoglu, H. (2012). Potasyum sorbet, Sodyum benzoate ve Sodyum nitrit in genotoksik etkilerinin arastirilmasi. European Journal of basic Medical Science, 2(2), 34-40

Ozden, O. & Erkan, N. (2007). Quality assessment of whole and gutted sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. International Journal of Food Science and Technology, 43(9), 1507–1727.

Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J. & Codina, C. (2002). Comparison between the radical scavenging activities and antioxidant activity of six distilled and no distilled Mediterranean herbs and aromatic plants. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50, 6882–6890. DOI: 10.1021/jf020540a.

Pasini, F., Verardo, V., Caboni, M. F. D. & Antuono, L. F. (2012). Determination of glucosinolates and phenolic compounds in rocket salad by HPLC-DAD–MS: Evaluation of *Eruca sativa* Mill. and *Diplotaxis tenuifolia* L. *g*enetic resources. Food Chemistry, 133, 3, 1025–33. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.021

Patir, B., Can, Ö. P., Çoban, Ö. E. & Özpolat, E. (2014). The Effects of Different Combinations of Eugenol and Acetic Acid on Quality Changes of Marinated Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss, W. 1792) Fillets. Turkish Journal of Science & Technology, 9(2), 109-116.

Rezaian, H., Hosseini, W., Anousheh, N. & Farjami, B. (2014). The effect of green tea extract on the chemical and microbial quality of surimi prepared from fish (*Hypophthalmichthys molitrix*) silver carp. Journal of Aquatic Exploitation and Breeding, 4 (1), 119-109 [In Persian].

Roby, H., Sarhan, M.A., Selim, K. & Khalel, K. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (Thymus vulgaris L.), sage (Salvia officinalis L.), and marjoram (Origanum majorana L.) extracts. Industrial Crops and Products, 43(1), 827-831 DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.08.029.

Rørå, A. M. B., Regost, C. & Lampe, J. (2003). Liquid holding capacity, texture and fatty acid profile of smoked fillets of Atlantic salmon fed diets containing fish oil or soybean oil. Food Research International, 36, 231-239. DOI: 10.1016/S0963-9969(02)00141-2.

Sadeghi, S., Mooraki, N. & Honarvar, M. (2021). Investigating the possibility of extraction of khandal extract by percolation method and its application in marinated white Indian shrimp fillet due to increase of shelflife. Journal of research and innovation in food science and technology (imprinted) [In Persian].

Sallam, K. H. I., Ahmed, A. M., Elgazzar M. M. & Eldaly, E. A. (2007). Chemical quality and sensory attributes of marinated pacific saury (Cololabis saira) during vaccum-packaged storage at 4ºC. Food Chemistry, 102,1061-1070. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.06.044. st

Schafer, A., Rosenvold, K., Purslow, P., Andersen, H. & Henckel, P. (2002). Physiological and structural events post mortem of importance for drip loss in pork. Meat Science. 61: 355-366. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00205-4

Simat, V., Bogdanović, T., Krzelj, M. & Soldo, A. (2012). Differences in chemical, physical and sensory properties during shelf-life assessment of wild and farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.). Journal of Applied Ichthyology 28(1):95 – 101. DOI: 10.1111/j.1439-0426.2011.01883.x.

Solana, M., Boschiero, I., Dall'Acqua, S. & Bertucco, A. (2014). Extraction of bioactive enriched fractions from *Eruca sativa* leaves by supercritical CO_2 technology using different co-solvents. Journal of Supercritical Fluids. 94, 245–251. DOI: 10.1016/j.supflu.2014.08.022

Stojichevich, S. S., Stanisavljevich, I. V., Velichkovich, D. T., Veljkovich, V. B. & Lazich, M. L. (2008). Comparative of the antioxidant and antimicrobial activities of *Sempervium marmoreum* L. extracts obtained by various extraction techniques. Journal of the Serbian Chemical Society, 73, 597–607. DOI: 10.2298/JSC0806597S.

Sushri, S. Behera, D., Madathil, S. K., Verma, N. & Pathak, A. (2020). Seafood Marination –A Review. International Archive of Applied Sciences and Technology, 11(3), 204-207. DOI: .10.15515/iaast.0976-4828.11.3.165168.

Terpinc, P., Polak, T., Šegatin, N., Hanzlowsky, A., Ulrih, NP. & Abramovic, H. (2011). Antioxidant properties of 4-vinyl derivatives of hydroxycinnamic acids. *Food Chemistry*. 128,62–9. 10.1016/j.foodchem.2011.02.077

Testa, B., Lombardi, S. J., Macciola, E., Succi, M., Tremonte, P. & Iorizzo, M. (2019). Efficacy of olive leaf extract (*Olea europaea* L. cv Gentile di Larino) in marinated anchovies (*Engraulis encrasicolus*, L.) process. Heliyon Journal, 5(5), 45-51. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e01727.

Turan, H., Kocatepe, D., Keskin, I., Altan, C. O., Kostekli, B., Candan, C. & Ceylan, A. (2017). Interaction between rancidity and organoleptic parameters of anchovy marinade (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) include essential oils. Journal of Food Science and Technology, 54(10), 3036-3043. https://doi.org/10.1007/s13197-017-2605-9

Yıldız, P. O. (2016). Effect of thyme and rosemary essential oils on the shelf life of marinated rainbow trout. Journal of Animal and Plant Sciences, 26(3), 665-673. https://hdl.handle.net/20.500.12427/407

Yordi, E. G., Pérez, E. M., Matos, M. J. & Villares, E. U. (2012). Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure-Activity Relationship Evidence, Nutrition, Well-Being and Health, Dr. Jaouad Bouayed (Ed.), ISBN: 978-953-51-0125-3, InTech, Available from: http://www.intechopen.com/books/nutrition-well-being-and-health/antioxidant-and-prooxidant-effect-ofpolyphenol-compounds-and-structure-activity-relationship-eviden.

Zargar, M., Yeganeh, S., Razavi, H. & Oven, M. (2013). The effect of oral coating of sodium caseinate on the quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during storage at refrigerator temperature. Journal of Food Science and Technology, 11 (3), 81-71 [In Persian].

Zhelyazkov, G. I., Popova, T. & Stratev, D. (2015). chemical composition and fatty acid profile of marinated mackerel (*Scomber scombrus*) during processing and storage. Macedonian Journal of Animal Science, 5 (2), 75-80.

Optimizing of *Eruca sativa* (khandal) Extraction by Microwave Method and its Application in Marinated *Huso huso* (Beluga) Fillet

P. Salami [a], N. Mooraki [b*], M. Honarvar [c]

[a] M. Sc. Student of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[b] Associate Professor of Fisheries Science, Department of Marine Science and Technology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[c] Associate Professor of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 6 March 2021 Accepted: 8 July 2021

Abstract

Introduction: Marination accompanied with the application of functional plant extracts is a convenient method to preserve fish meat. The present study aims to extract Khandal containing antioxidant compounds by the use of microwave and applying it to marinated fillets of Beluga in order to increase its shelflife at 4±1ºC.

Materials and Methods: Microwave extraction optimization according to the solvent type, solvent ratio (5–15.5cc), time (10-30min) and power (90-270W) through RSM and applying the optimum extract in respect to the total phenolic compounds and the inhibitory potential of DPPH free radicals for preparing marinates (i.e. control, treatments containing10 (T_1),20 (T_2), and 30% (T_3) extract) and storage during 20days at 4±1ºC and monitoring the physical, chemical and sensory properties and comparing the results and data were carried out using one-wayANOVA and chi-square methods.

Results: The results indicated that the optimal extract was obtained by the use of water for 30min, at 90W and solvent ratio of 5. Moreover, it was revealed that TBA in$T_2$was significantly controlled as compared to other groups and the amount of TVB-N, in T_2 and T_3 were lower significantly ($P<0.05$) and being controlled. In terms of water activity, the highest amount was observed in T_2 at days 0 and 10. The highest WHC was observed in the control on day 0, which was decreased during storage time. The texture hardness, color, appearance and odor didn't show significant difference among the groups, but taste and oral sensation were differed significantly over time. In terms of texture analysis, due to excessive marinating, the samples became soft and watery and low score was obtained. Examination of acid-salt taste showed that the marinated samples had acidic and salty taste.

Conclusion: It is concluded that the sample containing 20% of extract was selected as the best group in controlling chemical spoilage.

Keywords: *Antioxidant Activity of Extract, Eruca sativa (Khandal), Huso huso (Beluga), Marinade, Microwave.*

* Corresponding Author: Nargess_Mooraki@yahoo.com