

بررسی تأثیر عصاره نانو کپسول پونه کوهی (*Mentha longifolia*) بر عمر ماندگاری فیله ماهی کپور دریایی در شرایط نگهداری در یخچال

چکیده

در این مطالعه، تأثیر عصاره آزاد و نانو کپسول پونه (غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) بر روی زمان ماندگاری فیله ماهی کپور دریایی (*Cyprinus carpio*) طی دوره نگهداری ۱۶ روزه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. شاخص‌های میکروبی (شمارش باکتریایی کل و سرمادوست) و شاخص‌های شیمیایی (عدد پر اکسید، مجموع ازت فرار و تیوباریتوریک اسید)، در زمان‌های صفر، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ اندازه‌گیری شدند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد عصاره پونه فساد شیمیایی و میکروبی را در فیله ماهی را به تعویق به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد به تعویق انداخت ($P < 0/05$) همچنین، در بین تیمارها، تیمار حاوی عصاره کپسول شده پونه کوهی با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، توانست اکسیداسیون لیپیدی در فیله ماهی را از طریق کاهش پر اکسید، مقادیر تیوباریتوریک اسید به‌طور معنی‌داری به تعویق بیندازد ($P < 0/05$) و این تیمار کمترین مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار دارا بود ($P < 0/05$) و همچنین تنها این تیمار از شاخص‌های میکروبی مقادیر قابل قبولی تا انتهای دوره نگهداری برخوردار بود ($P < 0/05$). بنابراین می‌توان ادعا نمود که عصاره پونه کوهی را به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی مناسب در گوشت و فرآورده‌های شیلاتی مورد استفاده قرار داد.

واژگان کلیدی: پونه، کپسول شده، ماهی کپور دریایی، زمان ماندگاری.

سید روح ... جوادیان^{*۱}

سید حسن ابراهیمیان^۲

۱. گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد آیت ... املی، دانشگاه آزاد اسلامی، امل، ایران

*مسئول مکاتبات:

ro.javadian@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۲۱

کد مقاله: ۱۳۹۶۰۴۰۵۲۷

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی

ارشد است.

مقدمه

ماهی کپور دریایی (*Cyprinus carpio*) متعلق به خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) می‌باشد. از گونه‌های اقتصادی دریای خزر است و به‌عنوان منبع غذایی مهمی برای مردم محسوب می‌گردد. گوشت ماهی تازه یک منبع غنی پروتئین در رژیم غذایی انسان به‌شمار می‌رود و به‌طور نسبی این پروتئین، باقابلیت هضم بالا ارزش زیستی و رشدی زیادی برای مصارف انسانی دارد. ماهی سرشار از مواد معدنی و ویتامین‌ها است و مواد قندی فقط به‌صورت گلیکوژن، در کبد و عضلات وجود دارد. چربی بدن آبزیان دارای اسیدهای چرب اشباع و مقدار زیادی اسیدهای چرب غیراشباع با پیوندهای دوگانه و سه‌گانه معروف به امگا سه می‌باشد که از بی‌ضررترین چربی‌های حیوانی محسوب می‌شوند (Burt, 2004). از طرفی ماهی به دلیل ترکیب بیولوژیکی خاص خود (وجود اسیدهای چرب غیراشباع فراوان) بسیار فسادپذیر است. فساد عضله ماهی ناشی از تغییرات ایجادشده توسط واکنش‌های بیولوژیکی از قبیل اکسیداسیون چربی غیراشباع که در ماهی بیشتر از سایر موجودات دیگر است، هیدرولیز چربی‌ها و همچنین فساد ناشی از ترکیبات پروتئینی، فساد ناشی از آنزیم‌ها و فساد میکروبی ناشی از رشد میکروارگانیسم است (Ojagh et al., 2010).

استفاده از نگه‌دارنده‌های ضد میکروبی در بسیاری از محصولات غذایی به منظور جلوگیری از آلودگی و فساد ماده غذایی پس از تولید بسیار رایج است و باعث افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت غذا می‌شود. امروزه مصرف‌کنندگان با توجه به اثرات مضر نگه‌دارنده‌ای غذایی شیمیایی و سنتتیک خواهان استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات مضر نگه‌دارنده‌های غذایی شیمیایی مصون باشند (Burt, 2004). اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی و ترکیبات آن‌ها از زمان‌های قدیم به عنوان مواد طعم‌دهنده مورد استفاده قرار می‌گرفتند و هم‌اکنون ثابت شده است که این مواد طیف وسیعی فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارند. ترکیب، ساختار و گروه‌های عاملی اسانس و عصاره‌ها نقش مهمی در فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها ایفا می‌کند و معمولاً ترکیباتی که دارای گروه‌های فنولی هستند، تأثیر بیشتری دارند (Hosseini et al., 2009). از جمله این گیاهان، گیاه پونه می‌باشد. گیاه پونه کوهی از اعضای خانواده *Laminacea* بوده و به صورت یک گیاه چندساله می‌باشد. این جنس شامل بیش از ۲۵ گونه است و به صورت وحشی در مناطق مرطوب نواحی مرکزی و جنوب اروپا، جنوب غربی آسیا و شمال آفریقا می‌روید. خصوصیات درمانی این گیاه در برطرف کردن اختلالات گوارشی، استفراغ، بی‌اشتهایی، کولیت اولسراتیو و اختلالات کبدی به اثبات رسیده است. همچنین خصوصیات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گونه‌های متعدد این گیاه به خوبی مشخص شده است (Gulluce et al., 2007).

ترکیبات فعال عصاره و اسانس‌های گیاهی فرار می‌باشد و برخی از آن‌ها به سستی محلول در آب می‌باشند و همچنین به راحتی اکسید می‌شوند. یکی از راهکارها برای غلبه بر این محدودیت‌ها کپسول‌های نایسین به وسیله لیپوزیم می‌باشد (Hasani and Javadian, 2015). برخی از مطالعات نشان داد کپسول شده‌اسیون قادر است خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی ترکیبات را افزایش می‌دهد و همچنین سبب حفظ پایداری خواص آن برای مدت طولانی‌تر می‌شود (Alipour et al., 2016; Gortzi et al., 2006; Javadian et al., 2016). بنابراین هدف از این مطالعه بررسی تأثیر فرم آزاد و کپسول شده عصاره پونه بر روی کیفیت فیله کپور معمولی طی دوره نگهداری در یخچال می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای انجام آزمایش ماهی‌های کپور معمولی مورد نیاز به تعداد ۱۲ عدد را با میانگین وزنی 50 ± 900 گرم، از طریق صید پره در منطقه بهشهر به صورت تصادفی نمونه‌گیری شد و با رعایت شرایط صحیح و مناسب به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی قائم‌شهر منتقل کرده و پس از سرزنی، تخلیه امعا و احشاء، کندن پوست و استخوان گیری ماهیان، با آب سرد شست‌وشو داده شد سپس حدود 60 ± 2 فیله 25 ± 2 گرمی تهیه شد و تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری شد.

گیاه پونه کوهی از شهرستان سوادکوه جمع‌آوری شده و پس از تأیید توسط گیاه‌شناس به آزمایشگاه منتقل شدند و بعد از جداسازی برگ‌ها و شستشو با آب شیرین، با استفاده از دستگاه آون با درجه حرارت 40 درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس با استفاده از دستگاه خردکن صنعتی خرد شدند و تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شد. پودر پونه به نسبت 1 به 5 (20 گرم نمونه با 100 میلی‌لیتر حلال) با آب مخلوط و دور از نور به مدت 48 ساعت در شیکر (LABTRON Ls-100) با سرعت 160 آر پی‌ام قرار داده شدند. سپس سه مرحله سانتریفوژ شده (هر بار 10 دقیقه و با 3000 آر پی‌ام) (HERMLE z200A –Germany) و در هر مرحله فاز آبی (فاز رویی) جمع‌آوری شد، تا دیگر رسوبی در ته لوله دیده نشود. سپس فازهای آبی جمع‌آوری شده، با کاغذ واتمن شماره 1 صاف شد. در ادامه توسط او اپراتور (حداکثر دما 50 درجه سانتی‌گراد) (TAM 2times- Iran) حلال تبخیر و عصاره آبی به دست آمد. عصاره حاصل تا زمان انجام آزمایش در دمای 18 - نگهداری شدند. برای آنالیز عصاره از دستگاه GC/MS، مدل Agilent/5975c, USA استفاده شد. شناسایی ترکیبات با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه این طیف‌ها با ترکیبات استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه دستگاه GC/MS صورت گرفت (Adams, 2007). در

صد نسبی هر کدام از ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره با توجه به سطح زیر منحنی آن در کروماتوگرام GC به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ به دست آمد (اندی و همکاران، ۱۳۹۱).

برای تهیه عصاره پونه نانو کپسول، لیپوزیم (سیگما آلدریج، آمریکا) به‌عنوان حامل انتخاب، نانو کپسولاسیون با استفاده از روش Gortzi و همکاران (۲۰۰۶) تهیه شد. مخلوط لیپوزیم در محلول کلرفوم/ متانول (w:w ۱:۳) انحلال یافت. سپس محلول حاصله به‌منظور حذف حلال‌ها در روتاری قرار داده شد تا یک فیلم نازک بر روی دیوار تشکیل شود. پونه کوهی نیز در محلول دی کلرومتان/ متانول (w:w ۱:۲) حل شد و مخلوط حاصل با مخلوط لیپوزوم با نسبت ۱:۴، (لیپوزوم: پونه) ترکیب شد و حلال‌های موجود تحت بخار نیتروژن تبخیر شدند. فیلم تولیدشده با ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات (۱۰ میلی‌مول / لیتر، pH ۷) انحلال یافت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌وسیله دستگاه هموژنایزر با دور تند هموژنیزه شد. سوسپانسیون به‌دست‌آمده به مدت ۲ ساعت در تاریکی در دمای اتاق قرار داده شد سپس با سرعت ۶۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. در نهایت، پونه کوهی نانو کپسول با استفاده از فریز درایر به دست آمد (Alipour et al., 2016).

به‌منظور بررسی تأثیر عصاره پونه آزاد و نانو کپسول بر ماندگاری فیله ماهی کپور معمولی، ابتدا پیش تست میکروبی و اکسیدانی انجام شد. بنابر نتایج، غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام به بالاتر عصاره‌ها دارای خاصیت ضد میکروبی و ضد اکسیدانی قابل‌توجهی بود اما پس از افزودن غلظت‌های عصاره‌ها به فیله ماهی کپور، غلظت‌های ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام به بالا از نظر ظاهری مورد تأیید گروه پتل نبود، بنابراین فیله‌های ماهی در سطوح مختلف از عصاره پونه آزاد و نانو کپسول (غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) غوطه‌ور گردید و در کیسه‌های نایلونی زیپ‌دار بسته‌بندی در دمای یخچال (۱±۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد. در روزهای صفر، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ دوره نگهداری ۳ نمونه از هر بخش به‌طور تصادفی انتخاب‌شده و به‌منظور تعیین پارامترهای کیفی (شیمیایی و میکروبی) مورد آزمایش قرار گرفت.

درمجموع مطالعه حاضر شامل ۵ تیمار بود: تیمار ۱: تیمار شاهد، تیمار ۲: فیله حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پونه کوهی، تیمار ۳: فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پونه کوهی، تیمار ۴: فیله حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی، تیمار ۵: فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی.

نمونه‌ای از روغن استخراج‌شده از ماهی را به‌دقت در ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری سر سمباده‌ای وزن نموده و حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسیداستیک کلرفرمی (نسبت کلرفرم به اسید استیک ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدورپتاسیم اشباع، ۳۰ میلی‌لیتر از آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نه ستر یک درصد به مجموعه افزوده و مقدار ید آزادشده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیترو گردید (Egan et al, 1997) میزان پراکسید برحسب میلی‌اکی والان اکسیژن در کیلوگرم چربی و بر اساس رابطه ۱ محاسبه شد.

$$\text{رابطه ۱: وزن نمونه روغن } / ۱۰۰۰ \times \text{نرمالیته} \times \text{حجم مصرفی تیوسولفات} = \text{PV}$$

۲۵ سی‌سی از الکل اتیلیک خنثی‌شده به‌وسیله‌ی سود نرمال به نمونه روغن اضافه گردید. سپس در مراحل بعدی با کلک ۲ تا ۳ قطره معرف فنل فتالین و میزان مصرفی سود نرمال مقدار اسیدیتته و برحسب درصد اسیداولئیک بر طبق رابطه‌ی ۲ مشخص گردید (Egan et al, 1997).

$$\text{رابطه ۲: حجم سود مصرفی} / ۲/۲۸ \times \text{وزن نمونه روغن نرمالیتته} = \text{FFA}$$

۱۰ گرم گوشت چرخ شده ماهی را همراه با ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل بالن کج‌دال ریخته، سپس چند عدد پرل شیشه‌ای به همراه اکتان نرمال (ضد کف) به آن اضافه می‌گردد. سپس بالن را به دستگاه وصل کرده و از زیر به آن حرارت داده می‌شود. در انتهای دستگاه یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری نیز حاوی ۲۵ سی‌سی از محلول اسیدبوریک ۲ درصد (۲ گرم اسید بوریک در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر به حجم رسانده) به همراه چند قطره معرف متیل‌قرمز (Methyl Red) (۰/۱ گرم متیل‌قرمز در ۱۰۰ سی‌سی اتانول به حجم رسانده) قرار داده شد.

متیل قرمز در محیط اسیدی قرمز رنگ و در محیط بازی زرد رنگ می باشد. عمل تقطیر تا گذشت ۳۰ دقیقه از زمان جوشش مواد درون بالن، یا جمع شدن حدود ۱۲۵ سی سی مایع در ارلن مایر ادامه می یابد. محلول اسید بوریک به محض قلیایی شدن توسط بازهای ازته فرار تقطیر شده زرد رنگ می شود. عمل تیتراسیون این محلول توسط اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تا جایی ادامه می یابد که اسید بوریک دوباره قرمز شود. مقدار TVB-N به صورت میلی گرم در صد گرم گوشت ماهی با توجه به رابطه ۳ به دست می آید (Goulas و Kontaminas, 2007).

رابطه ۳: وزن نمونه/۱۰۰ × ۱/۴ × میزان اسیدسولفوریک مصرفی = TVB-N

برای اندازه گیری TBA ابتدا ۲۰۰ میلی گرم از نمونه گوشت میکس شده، به بالن ۲۵ سی سی انتقال داده و با ۱- بوتانول به حجم رسانده و ۵ سی سی از این محلول را به لوله فالكون خشک درب دار انتقال داده سپس ۵ سی سی معرف TBA (که از انحلال ۲۰۰ میلی گرم پودر TBA در ۱۰۰ سی سی حلال ۱- بوتانول و صاف کردن به وسیله کاغذ صافی به دست آمده) به آن اضافه می شود. سپس لوله ها در بن ماری با دمای ۹۵°C، به مدت ۲ ساعت قرار گرفته و در دمای محیط سرد و سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان جذب آن ها (As) در ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده می شود. با استفاده از رابطه ۴، میزان TBA (برحسب میلی گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم از بافت ماهی) محاسبه می شود (Natseba et al, 2005).

رابطه ۴: $TBA = (As - Ab) \times 50/200$

برای آزمایش های میکروبی ابتدا از نمونه مقدار ۲۵ گرم در شرایط استریل برداشته و در استوماکر با ۲۲۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی مخلوط کرده و رقت ۰/۱ را به دست می آوریم سپس رقت های ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ و ... را به دست آورده و از هر رقت با پیت استریل میلی لیتر در پلیت استریل ریخته و آگار مغذی مذاب تهیه شده را با حرارت ۴۰ درجه در پلیت ریخته و با حرکت ۸ لاتین تکان داده تا نمونه و محیط ممزوج شود. سپس پس از بسته شدن آگار پلیت ها را به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار داده و پس از آن با کلنی کانت شمارش کرده و نتیجه را برحسب واحد تشکیل دهنده کلنی در گرم در هر گرم نمونه بیان کرده و با میزان مجاز مقایسه شد (AOAC, 2005).

همه ی شرایط مندرج در روش تعیین شمارش کلی میکروارگانیسم ها در این آزمایش هم جاری است با اختلافات زیر:

۱- به جای روش پور پلیت از روش کشت سطحی استفاده می کنیم به این صورت که از رقت های تهیه شده مقدار ۰/۱ میلی لیتر بر روی پلیت های آماده آگار مغذی ریخته و با میله ی شیشه ای L شکل کاملاً آن را روی پلیت پخش می کنیم و صبر می کنیم تا خشک شود چرا که امکان دارد آگار مذاب در روش پور پلیت باعث از بین رفتن باکترهای سرمادوست شود پلیت های مربوط به باکتری های سرمادوست بعد از ۱۰ روز انکوباسیون در دمای ۴ درجه سانتی گراد شمارش شدند (AOAC, 2005).

تجزیه و تحلیل داده ها، با توجه به نرمال بودن داده ها و همگنی واریانس، با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) استفاده شد. برای مقایسه میانگین داده ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. تمام داده ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد و ارزیابی ها در ۳ تکرار صورت پذیرفت. از نرم افزار SPSS ویرایش هجدهم برای آنالیز داده ها و Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج

نتایج مربوط به ترکیبات عصاره جلبک پونه کوهی در جدول ۱ آورده شده است. با توجه به نتایج ۳۳ ترکیب شناسایی شده ۹۹/۸۱ درصد ترکیبات عصاره را تشکیل می دهد. بیشترین مقادیر مربوط به 1,8-Cineole (۲۳/۶۵ درصد)، Thymol (۱۷/۱۸ درصد)، 2-cyclohexen-1-one (۱۳/۹۹ درصد) و Caryophyllene acid (۷/۵۴ درصد) می باشد.

جدول ۱: ترکیبات شیمیایی اسانس پونه کوهی (*Mentha longifolia*).

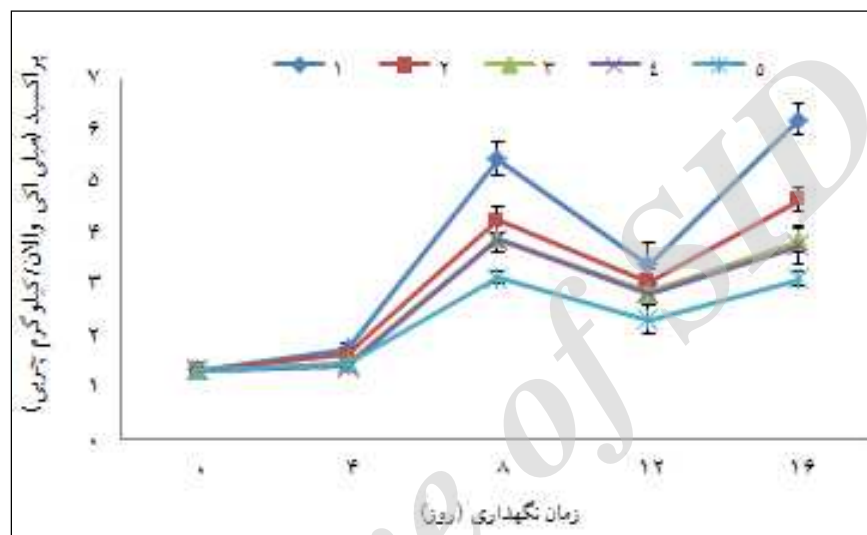
ردیف	نام ترکیبات	درصد
.۱	Furan	۰/۳۴
.۲	1S.alpha.Pinene	۰/۱۲
.۳	Nonane	۰/۱۸
.۴	Octane	۰/۱۶
.۵	Beta.Pinene	۰/۲۵
.۶	Decane	۲/۴۱
.۷	D-Limonene	۰/۴۳
.۸	Eucalyptol	۰/۷۸
.۹	1,4-cyclohexadien	۰/۱۲
.۱۰	Bicyclo[4.1.0]hept-3-one	۰/۵۱
.۱۱	Cyclohexanone	۶/۶۶
.۱۲	Iso pulegone	۰/۶۲
.۱۳	Dodecane	۱/۳۵
.۱۴	Thymol	۱۷/۱۸
.۱۵	Carvone oxide	۶/۵۲
.۱۶	1,8-Cineole	۲۳/۶۵
.۱۷	2-Methoxy-4-vinylphenol	۰/۲۳
.۱۸	Durohydroquinone	۰/۵۳
.۱۹	Eugenol	۱/۰۹
.۲۰	n-Decanoic acid	۰/۳۱
.۲۱	2-Buten-1-one	۰/۲۷
.۲۲	1H-Indene	۰/۳۸
.۲۳	Caryophyllene	۲/۰۳
.۲۴	3-Buten-2-one	۰/۹۱
.۲۵	Caryophyllene acid	۷/۵۴
.۲۶	Hexadecane	۰/۳۶
.۲۷	Asarone	۵/۶۶
.۲۸	Ar-tumerone	۰/۱۶
.۲۹	P-Mentha-1(7),8(10)-dien-9-ol	۱/۰۰
.۳۰	2-Pentadecanone	۰/۴۹
.۳۱	n-Hexadecanoic acid	۲/۲۳
.۳۲	2-cyclohexen-1-one	۱۳/۹۹
.۳۳	9,12,15-Octadecatrienoic acid	۱/۳۵
		۹۹/۸۱

در مطالعه حاضر مقادیر عدد پراکسید (شکل ۱) در تمامی تیمارها با افزایش زمان نگهداری تا روز هشتم مقادیر عدد پراکسید افزایش، سپس در روز دوازده کاهش و مجدداً افزایش یافت ($P < 0.05$). با توجه به نتایج آنالیز آماری بیشترین مقادیر عدد پراکسید در تیمار شاهد مشاهده شد.

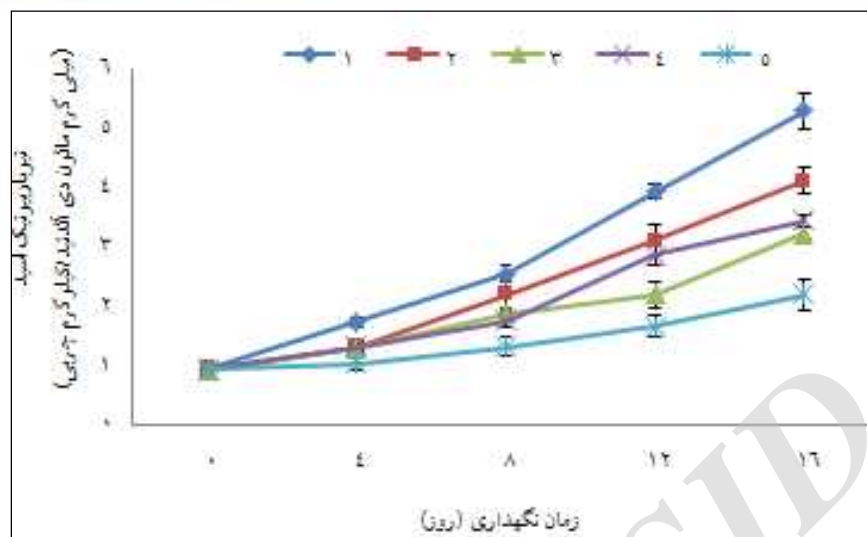
بررسی تأثیر عصاره نانو کپسول پونه کوهی (*Mentha longifolia*) بر عمر ماندگاری فیله ماهی کپور دریایی ... / جوادیان و ابراهیمیان

در مجموع کمترین مقادیر عدد پراکسید در انتهای دوره نگهداری در تیمار ۵ (فیله حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی) مشاهده شد.

مقادیر TBA (شکل ۲) در تمامی تیمارها با افزایش زمان افزایش یافت ($P < 0.05$) و این افزایش در تیمار شاهد بیشتر بود. افزودن عصاره پونه کوهی سبب کند شدن افزایش TBA در طی دوره نگهداری شد. در مجموع کمترین مقادیر عدد تیوباریبوتیک اسید در انتهای دوره نگهداری در تیمار ۵ (فیله حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی) مشاهده شد.

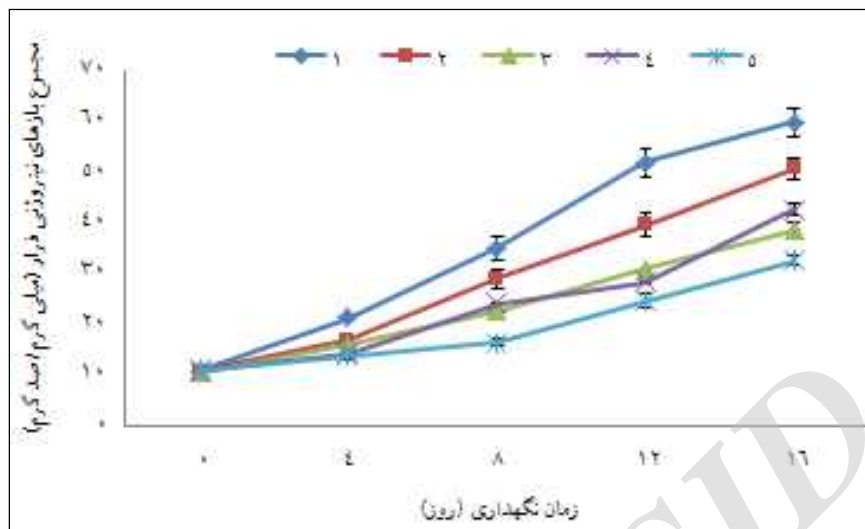


شکل ۱: تغییرات عدد پراکسید در فیله ماهی ها (*Cyprinus carpio*) طی دوره نگهداری در یخچال (تیمار ۱: تیمار شاهد، تیمار ۲: فیله حاوی ۵۰۰ پی پی ام عصاره پونه کوهی، تیمار ۳: فیله حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره پونه کوهی، تیمار ۴: فیله حاوی ۵۰۰ پی پی ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی، تیمار ۵: فیله حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی).

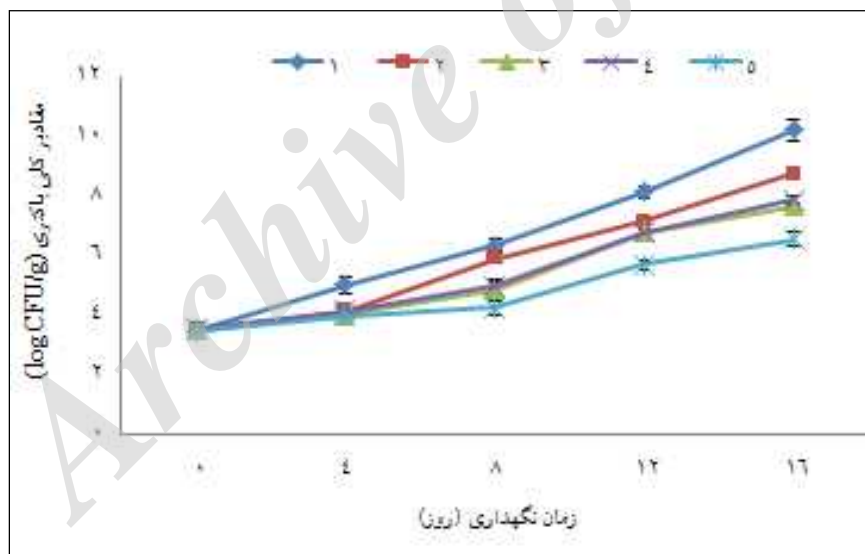


شکل ۲: تغییرات عدد تیوباریوتیک اسید در فیله ماهی‌ها (*Cyprinus carpio*) طی دوره نگهداری در یخچال (تیمار ۱: تیمار شاهد، تیمار ۲: فیله حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پونه کوهی، تیمار ۳: فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پونه کوهی، تیمار ۴: فیله حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی، تیمار ۵: فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی).

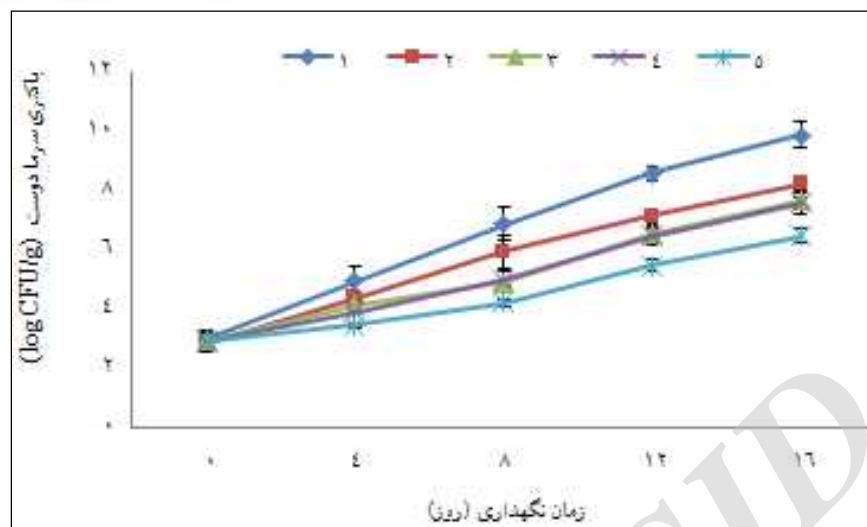
در مطالعه حاضر با افزایش زمان مقادیر بازهای نیتروژنی (شکل ۳) در همه تیمارها افزایش یافت ($P < 0.05$). در تمامی روزها بیشترین مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمار شاهد مشاهده شد. در انتهای دوره نگهداری مقادیر TVB-N در تیمار ۵ (فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی) به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود ($P < 0.05$). نتایج مربوط به مقادیر کلی باکتری (TVC) در شکل ۴ و مقادیر باکتری سرمادوست (PTC) در شکل ۵ آورده شده است. مقادیر TVC و PTC در تمامی تیمارها با افزایش زمان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و این افزایش در تیمار شاهد بیشتر بود ($P < 0.05$). کمترین مقادیر TVC و PTC در تیمار ۵ (فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی) مشاهده شد ($P < 0.05$).



شکل ۳: تغییرات بازهای نیتروژنی فرار در فیله ماهی ها (*Cyprinus carpio*) طی دوره نگهداری در یخچال (تیمار ۱: تیمار شاهد، تیمار ۲: فیله حاوی ۵۰۰ پی پی ام عصاره پونه کوهی، تیمار ۳: فیله حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره پونه کوهی، تیمار ۴: فیله حاوی ۵۰۰ پی پی ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی، تیمار ۵: فیله حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی).



شکل ۴: تغییرات کلی باکتری در فیله ماهی ها (*Cyprinus carpio*) طی دوره نگهداری در یخچال (تیمار ۱: تیمار شاهد، تیمار ۲: فیله حاوی ۵۰۰ پی پی ام عصاره پونه کوهی، تیمار ۳: فیله حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره پونه کوهی، تیمار ۴: فیله حاوی ۵۰۰ پی پی ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی، تیمار ۵: فیله حاوی ۱۰۰۰ پی پی ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی).



شکل ۵: تغییرات باکتری سرمادوست در فیله ماهی‌ها (*Cyprinus carpio*) طی دوره نگهداری در یخچال (تیمار ۱: تیمار شاهد، تیمار ۲: فیله حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پونه کوهی، تیمار ۳: فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پونه کوهی، تیمار ۴: فیله حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی، تیمار ۵: تیمار ۵: فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی).

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج ارائه‌شده در مطالعه حاضر، بیشترین مقادیر مربوط به 1,8-Cineole (۲۳/۶۵ درصد)، Thymol (۱۷/۱۸ درصد)، 2-cyclohexen-1-one (۱۳/۹۹ درصد) و Caryophyllene acid (۷/۵۴ درصد) می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر با نتایج Golparvar و همکاران (2017) در خصوص اسانس پونه کوهی منطقه اصفهان تقریباً هم‌خوانی دارد، عمده‌ترین ترکیبات در مطالعه آن‌ها 1,8-Cineole (۳۷/۱۶ درصد)، piperitenone oxide (۱۸/۹۷ درصد) بوده است. محمودی و همکاران (۱۳۹۰) اعلام نمودند عمده‌ترین ترکیبات اسانس پونه کوهی شامل Pulegone (۳۱/۵۴ درصد) و 1,8-Cineole (۱۵/۸۱ درصد) بود. همان‌طور که مشاهده می‌شود در مقدار و نوع ترکیبات عصاره در مطالعات متنوع تفاوت‌هایی وجود دارد، به‌طور کلی ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره‌های گیاهی برحسب منطقه جغرافیایی رویش، رقم گیاه، سن گیاه در هنگام تهیه اسانس، شرایط محیطی و فصلی، نوع کشت، زمان برداشت، روش خشک‌کردن و استخراج اسانس، اسانس‌گیری از اندام‌های مختلف و در نهایت تفاوت ژنتیکی گیاه می‌تواند تغییر کند (Burt, 2004).

اندازه‌گیری عدد پراکسید به‌منظور تعیین محصولات اولیه اکسیداسیون چربی (هیدروپراکسیدها) به کار می‌رود و تولید آن تغییری در ویژگی‌های حسی ماهی ایجاد نمی‌کند، اما ممکن است منجر به ایجاد خطرهایی برای مصرف‌کننده شود. در مطالعه حاضر مقادیر عدد پراکسید در تمامی تیمارها با افزایش زمان نگهداری تا روز هشتم مقادیر عدد پراکسید افزایش، سپس در روز دوازده کاهش و مجدداً افزایش یافت. افزایش اکسیداسیون لیپیدی در طول زمان می‌تواند به علت رهایی بیشتر آهن آزاد و پرواکسیدان‌های دیگر در اثر تجزیه بیشتر در طول ذخیره‌سازی از ماهیچه باشد و علت کاهش میزان پراکسید در روز دوازدهم نگهداری دوره ممکن است به دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تولید کربونیل‌ها و ترکیبات فرار باشد (اعتمادی و همکاران، ۱۳۸۷).

با توجه به نتایج آنالیز آماری بیشترین مقادیر عدد پراکسید در تیمار شاهد مشاهده شد. عصاره پونه کوهی توانایی شکستن رادیکال‌های آزاد، به‌وسیله دادن یک اتم هیدروژن را دارا می‌باشد و به علت دارا بودن ترکیبات فنولی نظیر سینول و تیمول دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و با افزایش درصد این خاصیت افزایش یافت. مطالعات متعددی گزارش شده است که اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های طبیعی وابسته به میزان دوزشان است (Burt, 2004; Sa d ç, 2003). مطالعه حاضر نیز مؤید این مسئله است. در مجموع کمترین مقادیر عدد پراکسید در انتهای دوره نگهداری در تیمار ۵ (فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی) مشاهده شد؛ این امر نشان‌دهنده افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پونه کوهی پس از نانو کپسول کردن عصاره می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر با نتایج Hasani و Javadian (2016) در ارتباط با افزودن عصاره نانو کپسول پوست نارنج بر فیله ماهی کپور معمولی هم‌خوانی دارد. آن‌ها نیز اعلام نمودند افزایش غلظت عصاره و همچنین استفاده از عصاره نانو کپسول سبب کند شدن تغییرات عدد پراکسید طی دوره نگهداری می‌شود.

همچنین Bagheri و همکاران (۲۰۱۶) نیز اعلام نمودند افزودن عصاره کپیول شده رازیانه سبب کند شدن تغییرات عدد پراکسید در ماهی کیلکای چرخ شده طی دوره نگهداری می‌شود.

به‌منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون چربی در مواد غذایی به‌طور وسیعی از شاخص TBA استفاده می‌شود که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به‌ویژه آلدهیدها و کتون‌ها را نشان می‌دهد (اعتمادی و همکاران، ۱۳۸۷). ترکیبات اکسیداسیون ثانویه موجب ایجاد بوهای ناخوشایند در گوشت می‌شوند. میزان TBA ممکن است میزان واقعی اکسیداسیون چربی را نشان ندهد زیرا که مالون‌دی‌آلدهید می‌تواند با دیگر ترکیبات گوشت مانند آمین‌ها، نوکلئوزیدها و اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه فسفولیپیدها واکنش دهد (Mexisa et al., 2009).

مقادیر TBA (شکل ۲) در تمامی تیمارها با افزایش زمان افزایش یافت و این افزایش در تیمار شاهد بیشتر بود. روند افزایشی این شاخص در طول مدت نگهداری ممکن است به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در بافت باشد، همچنین آلدهیدها به‌عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون از شکست هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شوند (Gomes et al., 2003).

افزودن عصاره پونه کوهی سبب کند شدن افزایش TBA در طی دوره نگهداری شد. پایین بودن میزان TBA در نمونه‌های حاوی اسانس می‌تواند به دلیل اثر آنتی‌اکسیدان ترکیبات فنولی موجود در اسانس باشد که باعث کاهش هیدرواکسید چربی می‌شود چرا که براساس مکانیسم یک مولکولی و دو مولکولی، زمانی که مقادیر هیدروپراکسید عضلات ماهی کم باشد سرعت تشکیل این ترکیبات سریع‌تر از شکستگی و تجزیه آن‌هاست (Ben-Gigirey et al., 1999). در مجموع کمترین مقادیر عدد تیوباریوتیک اسید در انتهای دوره نگهداری در تیمار ۵ (فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی) مشاهده شد. در واقع می‌توان این‌گونه بیان نمود کپسول شده‌اسیون پونه کوهی سبب افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن و طولانی‌تر شدن اثر بخشی آن طی دوره نگهداری می‌شود. نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه Alipour و همکاران (2016) در ارتباط با افزودن عصاره نانو کپسول رازیانه بر فیله فیتوفاگ و Bagheri و همکاران (2016) در ارتباط با افزودن عصاره نانو کپسول رازیانه بر کیلکای چرخ شده هم‌خوانی دارد.

TVB-N عمدتاً با تجزیه باکتریایی و آنزیمی پروتئین‌ها و ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی گوشت تولید می‌شود. اگرچه TVB-N، یک شاخص ضعیف برای ارزیابی تازگی می‌باشد ولی به میزان گسترده برای ارزیابی کیفی استفاده می‌شود زیرا مقدار آن یکسان نبوده و به گونه و حد پیشرفت و تغییرات پس از مرگ بستگی دارد و از آن معمولاً جهت ارزیابی فساد گوشت استفاده می‌شود (Ozyurt et al., 2007). در مطالعه حاضر با افزایش زمان مقادیر بازهای نیتروژنی در همه تیمارها افزایش یافت. افزایش میزان TVB-N ممکن است به دلیل فرایندهای آنزیمی مختلف نظیر آمین زدایی اسیدهای آمینه آزاد، تجزیه نوکلئوتیدها و اکسیداسیون آمین‌ها باشد (Jeon et al., 2002).

در تمامی روزها بیشترین مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمار شاهد مشاهده شد. کمتر بودن میزان بازهای ازته فرار در تیمارهای حاوی عصاره را می‌توان به دلیل کاهش جمعیت باکتری تیمارهای مذکور و یا کاهش توانایی اکسایشی باکتری‌ها در جداکردن آمین‌ها از ترکیبات نیتروژنی غیرفرار و یا هر دو عامل در نتیجه اثر عصاره پونه کوهی بر باکتری‌های موجود در گوشت نسبت داد.

در انتهای دوره نگهداری مقادیر TVB-N در تیمار ۵ (فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی) به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود. علت این امر افزایش خاصیت ضد باکتریایی عصاره پونه کوهی پس از کپسول شده‌اسیون می‌باشد. نتایج این تحقیق با نتایج Alipour و همکاران (۲۰۱۶) در ارتباط با افزودن عصاره کپسول شده رازیانه به فیله فیتوفاگ و Javadian و همکاران (۲۰۱۵) در ارتباط با افزودن عصاره کپسول شده آویشن به گوشت چرخ شده فیتوفاگ و Bagheri و همکاران (2016) در ارتباط با افزودن عصاره نانو کپسول رازیانه بر کیلکای چرخ شده هم‌خوانی دارد. طبق گزارش‌های موجود میزان ۳۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت بالاترین سطح موردقبول برای مجموع بازهای ازته فرار است (Ozyurt *et al.*, 2007). با توجه به این گزارش‌های تیمار شاهد تنها تا ۸ روز و تیمار ۲ (فیله حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پونه کوهی) تا ۱۰ روز، تیمار ۳ (فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پونه کوهی) و تیمار ۴ (فیله حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی) تا ۱۴ روز و تیمار ۵ (فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی) تا انتهای دوره نگهداری از محدوده قابل قبولی برخوردار بود.

با توجه به نتایج مقادیر ابتدایی TVC و PTC در تیمارها به ترتیب ۳/۴۳ و ۲/۹۴ برحسب واحد تشکیل‌دهنده کلنی در گرم بود. این تعداد کلونی نشان‌دهنده کیفیت خوب فیله‌های مورد استفاده بود (Sallam, 2007). مقادیر TVC و PTC در تمامی تیمارها با افزایش زمان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و این افزایش در تیمار شاهد بیشتر بود ($P < 0.05$). کمتر بودن مقادیر باکتری در تیمارهای حاوی عصاره به علت دارا بودن ترکیبات فنلی عصاره می‌باشد. ساختار شیمیایی ترکیبات فنولی بر مکانیسم ضد میکروبی آن‌ها اثرگذار بوده و گروه‌های هیدروکسیل موجود در ترکیبات فنولی اثر مهمی در خاصیت ضد میکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی دارد. وجود گروه هیدروکسی فنولیک فعال باعث شده است که این ترکیبات بتواند به‌آسانی با جایگاه‌های فعال آنزیم‌ها، باند هیدروژنی تشکیل دهد (Burt, 2004; Tajkarim *et al.*, 2010). این ترکیبات معمولاً موجب اختلال در غشا سیتوپلاسمی، شکستن و از هم گسیختن نیروی حرکتی پروتون، جریان الکترونی و انتقال فعال شده و سبب انعقاد و کوآگولاسیون محتویات سلولی می‌شود (Burt, 2004).

کمترین مقادیر TVC و PTC در تیمار ۵ (فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی) مشاهده شد. علت این امر افزایش خاصیت ضد میکروبی نایسین پس از نانو کپسولاسیون می‌باشد. افزایش خاصیت ضد میکروبی نگه‌دارنده‌های طبیعی پس از نانو کپسول شدن توسط لیپوزیم توسط محقق دیگر نیز اعلام شده است (Alipour *et al.*, 2016; Gortzi *et al.*, 2007; Bagheri *et al.*, 2016; Javadian *et al.*, 2016). طبق گزارش‌های موجود میزان ۷ برحسب واحد تشکیل‌دهنده کلنی در گرم سطح مورد قبول برای مجموع TVC و PTC است (ICMSF, 1986). با توجه به این گزارش‌های در ارتباط با TVC با توجه به این گزارش‌های تیمار شاهد تنها تا ۸ روز و تیمار ۲ (فیله حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پونه کوهی) تا ۱۰ روز، تیمار ۳ (فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پونه کوهی) و تیمار ۴ (فیله حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی) تا انتهای دوره نگهداری از محدوده قابل قبولی برخوردار بود و در ارتباط با PTC تیمار شاهد تنها تا ۷ روز و تیمار ۲ (فیله حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پونه کوهی) تا ۱۰ روز، تیمار ۳ (فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پونه کوهی) و تیمار ۴ (فیله حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی) تا ۱۴ روز و تیمار ۵ (فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی) تا انتهای دوره نگهداری از محدوده قابل قبولی برخوردار بود. نتایج این تحقیق با نتایج Alipour و همکاران (۲۰۱۶) در ارتباط با افزودن عصاره کپسول شده رازیانه به فیله فیتوفاگ و Javadian و همکاران (۲۰۱۵) در ارتباط با افزودن عصاره کپسول شده آویشن به گوشت چرخ شده فیتوفاگ و Bagheri و همکاران (۲۰۱۶) در ارتباط با افزودن عصاره نانو کپسول رازیانه بر کیلکای چرخ شده هم‌خوانی دارد.

با توجه به تقاضای مصرف کنندگان برای دسترسی به مواد غذایی باکیفیت بالا و نگرانی آن‌ها به دلایل مشکلات ناشی از مصرف نگهدارنده‌های مصنوعی استفاده از عصاره‌های گیاهی با خواص ضد اکسیدانی و ضد باکتریایی بالا می‌تواند جایگزین مناسبی باشد. لذا در تحقیق تأثیر عصاره آزاد و نانو کپسول پونه کوهی بر روی ماندگاری فیله کپور معمولی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره پونه کوهی دارای ترکیبات فنلی نظیر سین و تیمول می‌باشد و دارای خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و نانو کپسول نمودن پونه کوهی به وسیله لیپوزیم سبب افزایش خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن شده است به طوری که فیله حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره نانو کپسول پونه کوهی روند فساد میکروبی و اکسیداسیونی در فیله‌های کپور معمولی را به طور معنی داری به تعویق انداخت و عمر ماندگاری فیله را تا انتهای دوره نگهداری افزایش داد. به طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد به کارگیری عصاره نانو کپسول پونه کوهی سبب حفظ کیفیت اولیه و افزایش زمان ماندگاری ماهی می‌شود.

منابع

- اعتمادی، ح.، رضایی، م. و عابدیان، ع.، ۱۳۸۷. پتانسیل آنتی باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره رزماری در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۴: صفحات ۷۴-۶۷.
- اندی، ع.، ناظری، و.، هادیان، ج. و زمانی، ذ.، ۱۳۹۱. مقایسه ترکیبات شیمیایی اسانس مرزنجوش در مراحل گلدهی و بذر دهی. مجله علوم و باغبانی، ۴۳ (۲): صفحات ۱۵۹-۱۵۳.
- محمودی، ر.، تاجیک، ح.، فرشید، ا.، احسانی، ع.، زارع، پ. و مرادی، م.، ۱۳۹۰. تعیین ترکیبات شیمیایی و اثرات ضد میکروبی اسانس پونه کوهی علیه باکتری استفیلوکوکوس اورئوس. ارمنان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، ۱۶ (۵): صفحات ۴۱۲-۴۰۰.
- Adams, R. P., 2007. Identification of Essential oils Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectroscopy, 4th ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, USA, pp. 804.
- Alipour Mazandrani, H., Javadian, S. Y. and Bahram, S., 2016. The effect of encapsulated fennel extracts on the quality of silver carp fillets during refrigerated storage. Food science and nutrition, 4(2): 298-304.
- AOAC., 2005. Official Method of Analysis (17th ed). Washington, DC: Association of Official Analytical chemists.
- Bagheri, R., Izadi Amoli, R., Tabari Shahndash, N. and Shahosseini, S. R., 2016. Comparing the effect of encapsulated and unencapsulated fennel extracts on the shelf life of minced common kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in the mince. Food science and Nutrition, 4(2): 216-222.
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. International Journal of Food Microbiology, 94 (3), 223- 253.
- Ben-Gigirey, B., De Sousa, J. M., Villa, T. G. and Barros-velazquez, J., 1999. Chemical changes and visual appearance of albacore tuna as related to frozen storage. J. Food Science, 64: 20-24.
- Egan, H., Krik, R. S. and Sawyer, R., 1997. Pearson's Chemical Analysis of Foods. 9(edn). 609-634.
- Golparvar, A. R., Hadipanah, A., Gheisari, M. M., Salehi, S., Khaliliazar, R. and Ghasemi, B., 2017. Comparative analysis of chemical composition of *Mentha longifolia* (L.) Huds. Journal of Herbal Drugs, 7 (4): 235-241.
- Gomes, H. A., Silva, E. N., Nascimento, M. R. L. and Fukuma, H. T., 2003. Evaluation of the 2- thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. Journal of Food Chemistry, 80: 433-437.
- Gortzi, O., Lalas, S., Tsaknis, J. and Chinou, I., 2006. Reevaluation of antimicrobial and antioxidant activity of Thymus spp. extracts before and after encapsulation in liposomes. J. Food Protection Prot, 69:2998-3005.

- Goulas, A. E. and Kontominas, M. G., 2007.** Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food chemistry*, 100: 287-296.
- Gulluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D. and Sokmen, A., 2007.** Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from mentha longifolia L ssp. Longifolia. *Food chemistry*, 103: 1449-56.
- ICMSF. 1986.** Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological analysis (2nd ed.). Toronto: University of Toronto Press.
- Hasani, O. and Javadian, S. R., 2015.** 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(3): 303-310.
- Hosseini, M. H., Razavi, S. H. and Mousavi, M. A., 2009.** Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal Food Process*, 33 (6): 727-743.
- Javadian, S. R., Shahoseini, S. R. and Ariaii, P., 2016.** The effects of liposomal encapsulated thyme extract on the quality of fish mince and Escherichia coli O157: H7 inhibition during refrigerated storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, doi.org/10.1080/10498850.2015.1101629.
- Jeon, Y. J., Kamil, J. Y. and Shahidi, F., 2002.** Chitosan as an Edible Invisible Film for Quality Presevation of Herring and Atlantic Cod, *J. Agric. Food Chem*, 50: 5167-5178.
- Mexisa, S. F., Chouliara, E. and Kontominas, M. G., 2009.** Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf – life extension of rainbow trout fillets stored at 4°C. *Journal of Food Microbiology*, 26: 598-605.
- Natseba, A., LwaliRda, I., Kakura, E., MuyaBja, C. K. and Muyoaga, J. H., 2005.** Effect of prefreezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Research International*, 38: 469-474.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. and Hosseini, S. M. H., 2010.** Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Journal of Food Chemistry*, 120: 193-198.
- Ozyurt, G., Polat, A. and Tokur, B., 2007.** Chemical and sensory changes in frozen (-18°C) wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) captured at different fishing seasons. *International Journal of Food Science and Technology*, 42: 887-893.
- Sa d ç O., 2003.** Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lwt-Food Sci Technol*, 36(5): 467-73.
- Sallam, Kh. I., 2007.** Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18 (5): 566-575.
- Tajkarim, M. M., Ibrahim, S. A. and Cliver, D. O., 2010.** Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21:1199-18.