Archive of SID

نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۸ شماره ۴/ سال ۱۳۹۷/ صفحات ۱۱۳ تا ۱۲۸

اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس برگ نارنج بر ماندگاری قزل‌آلای رنگین‌کمان

الناز گلابیان[۱] و لاله رومیانی[۲*]

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۱۰

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
[۲] استادیار گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
[*] مسئول مکاتبه: Email:L.roomiani@yahoo.com

چکیده

این پژوهش اثر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ نارنج (*Citrus aurantium*.L) بر افزایش ماندگاری فیله قزل-آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را مورد بررسی قرار داد. در این پژوهش خاصیت آنتی اکسیدانی، آزمون-های شیمیایی (pH ,TVN, TBA, PV, FFA) و میکروبی فیله قزل‌آلا با ۰ (تیمار شاهد)، ۰/٤(تیمار ۱)، ۰/۸ (تیمار ۲) و ۱/۲ (تیمار ۳) درصد اسانس نارنج در روزهای ۰، ۳، ٦، ۹، ۱۲ و۱۵ در دمای ۰ ^{o}C در زیر یخ مورد بررسی قرار گرفت. خاصیت آنتی‌اکسیدانی (IC_{50}) اسانس نارنج ۰/٦۷ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج نشان داد که pH در فیله از روز صفر تا روز پانزدهم روند افزایشی داشت. مقادیر بازهای نیتروژنی فرار (بجز تیمار ۲و۳ در روزهای ششم و نهم)، اسیدهای چرب آزاد و تیوباربیتوریک اسید، در روزهای مختلف بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری داشت ($P<۰/۰۵$). بالاترین و پایین‌ترین میزان عدد پراکسید به ترتیب در تیمار شاهد در روز دوازدهم۰/۰۱٤ ± ٦/۱٤۰ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی و تیمار ۱ در روز صفر ۰/۰۰٦ ± ۰/۸٦۲ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی بدست آمد. مجموع باکتری‌های سرمادوست در فیله در تیمار شاهد از روز نهم تا روز پانزدهم بالاتر از حد استاندارد (log cfu/ g $۱۰^{۷}$) بود و در تیمار ۱ در روز پانزدهم از حد مجاز فراتر رفت ولی در سایر تیمارها تا روز پانزدهم از حد مجاز فراتر نرفت (log cfu/g$۱۰^{۷}$). با توجه به نتایج بدست آمده بهترین زمان ماندگاری فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تأثیر ۱/۲ درصد اسانس برگ نارنج در روز ۹ بود.

واژگان کلیدی: اسانس برگ نارنج، ماندگاری، قزل‌آلای رنگین کمان

مقدمه

ماهی یکی از بهترین منابع تأمین کننده پروتئین با قابلیت هضم بالا و جایگزین گوشت قرمز در رژیم غذایی است (باقیان مقدم و عیوضی ۲۰۱۱). علاوه بر این سرشار از اسید چرب غیراشباع و امگا۳ مانند اسید ایکوزاپنتانویک (EPA) و اسید دکوزاهگزانویک (DHA) است (کاتلین ماهان و همکاران ۲۰۱۱؛ باقیان و عیوضی ۲۰۱۱).

وجود اسیدهای چرب غیراشباع، آب فعال، آهن آزاد، آلدئیدها، سایر پراکسیدها و محصولات ثانویه حاصل از واکنش‌های اکسیداسیون حساسیت ماهی به فساد را افزایش می‌دهد و مدت ماندگاری آن را کم می‌کند

www.SID.ir

Archive of SID

(فرانکوز و همکاران ۲۰۱۰). یکی از مشکلات نگهداری ماهی، مدت زمان ماندگاری کوتاه آن می‌باشد بطوریکه مدت زمان نگهداری آن طی نگهداری در یخ ۹ تا ۱۱ روز گزارش شده است (رضایی و حسینی ۲۰۰۸).

به طور کلی فساد ماهی در نتیجه فعالیت‌های میکروبیولوژی، شیمیایی و آنزیمی است (موکاندان و همکاران ۱۹۸٦). از جمله اقدامات به تعویق انداختن فساد ماهی‌ها و فرآورده‌های آن می‌توان به کنترل درجه حرارت، سرد کردن و انجماد، کنترل‌های لازم در محل فرآوری، بسته‌بندی تحت خلاء، بسته‌بندی در اتمسفر اصلاح شده و همچنین افزودن آنتی‌اکسیدان اشاره کرد. بدین ترتیب تغییر مواد مغذی و ایجاد بو و طعم نامطلوب عاملی در کاهش مصرف ماهی است. حذف یا کم کردن اکسیداسیون باعث افزایش ماندگاری مواد غذایی می شود (پارارشیده و همکاران ۲۰۱۵). از طرفی استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی و بکارگیری مواد طبیعی به علت خاصیت ضدمیکروبی جهت افزایش ماندگاری ماهی مورد توجه قرار گرفت (باقیان مقدم و عیوضی ۲۰۱۱). محدودیت‌های بهداشتی در استفاده از نگهدارنده‌های مصنوعی و اثرات سمی و سرطان‌زایی آن‌ها سبب گرایش محققان به شناخت نگهدارنده‌های طبیعی و کاربرد آن در نگهداری مواد غذایی شده است (انوار و همکاران ۲۰۱۰؛ غفاری قهفرخی و همکاران ۲۰۱۲). از جمله این ترکیبات اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی هستند که در غلظت‌های کم قادرند از رشد باکتری‌ها جلوگیری نمایند ضمن اینکه این مواد عمدتا آنتی‌اکسیدان‌های قوی بوده و وجود این دو خاصیت بشکل توأم سبب افزایش مدت ماندگاری مواد غذایی می‌گردد. بطوریکه با استفاده از آنها در طول مدت نگهداری فیله ماهی خصوصیات شیمیایی فیله از قبیل اسید تیوباربیتیوریک، مجموع بازهای نیتروژنی فرار و عدد پراکساید کاهش یافته و خصوصیات حسی فیله با افزایش مدت زمان ماندگاری به کندی دچار تغییر می‌شود. ترکیبات فنلی که جزء متابولیت‌های ثانویه آروماتیک گیاهی هستند در سراسر گیاه پخش شده و دارای تأثیرات بیولوژیکی متعددی همچون فعالیت ضداکسیدان و ضدباکتریایی هستند. بنابراین گیاهانی که در ترکیبات خود گروه‌های فنلی زیادی دارند عمدتا دارای فعالیت ضداکسیدانی می‌باشند (لی و همکاران ۲۰۰۵). در بین میوه‌ها مرکبات به عنوان ذخایر مهم فلاونوئید دارای فعالیت ضداکسیدانی قابل توجهی هستند (پاراشیده و همکاران ۲۰۱۵). نارنج از جمله مرکبات بومی مناطق استوایی آسیا و مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری بخوبی رشد می‌کند. همچنین در نقاطی از ایران از جمله خوزستان، گیلان و مازندران به وفور یافت می‌شود (عدولی و همکاران ۱۳۸٤). ترکیبات فعال بیولوژیکی از جمله فنل و فلاونوئیدها و انواع ویتامین‌ها در نارنج وجود داشته که موجب استفاده از آن در طب سنتی شده است (مورائس و همکاران ۲۰۰۹). تحقیقات متعدد نشان می‌دهد ترکیبات فنلی استخراج شده از اسانس پوست و برگ نارنج دارای فعالیت ضداکسیدانی، ضدانگلی و ضدقارچی و ضدالتهاب می‌باشد (سونبل و همکاران ۱۹۹۲). فراسینیتی و همکاران (۲۰۱٦) در بررسی که بر روی فعالیت ضدباکتریایی و آنتی-اکسیدانی اسانس نارنج (*Citrus* spp.) انجام دادند عنوان کردند که اسانس نارنج دارای فعالیت ضد باکتریایی بر علیه باکتری‌های گرم منفی و مثبت است. دوراکس و همکاران (۲۰۱٦)، فعالیت ضدباکتریایی نارنج را بر روی *Salmonella typhi, Enterobacter ،E.coli* *spp* and *Aspergillus Niger* و *Enterobacter spp* مورد بررسی قرار دادند و یافته‌های آنها تاثیرات مثبت اسانس نارنج را بر روی کاهش این باکتری‌ها تایید کرد. با توجه به خواص ذکر شده در این تحقیق، تأثیر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ نارنج بر فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان در دمای $0^{\circ}C$ مورد بررسی قرار گرفته است.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

تهیه برگ نارنج، اسانس و آنالیز ترکیب شیمیایی آن: در پاییز ۱۳۹۵ برگ نارنج از مرکز تحقیقات کشاورزی صفی‌آباد در شهر دزفول تهیه شد، سپس برگ‌ها به جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران جهت تأیید گونه ارسال شدند. اسانس برگ نارنج با استفاده از دستگاه کلونجر تهیه و آنالیز اسانس توسط دستگاه کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) مدلAgilent 5973 با ستون BPX5 به طول۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میکرومتر با برنامه دمایی ۵۰°C تا ۳۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، نمونه که توسط n–هگزان رقیق شده بود به مقدار یک میکرولیتر به دستگاه GC/MS تزریق شد (اژدرزاده و همکاران ۲۰۱۶).

آماده‌سازی نمونه‌های ماهی: تعدادی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با متوسط وزن ٦٥ ±۲۲۰ گرم از استخرهای پرورش ماهیان سردآبی قزل‌آلا تهیه شدند. نمونه‌ها در داخل یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه سر، دم، امعا و احشاء ماهیان کاملا خارج شدند. ماهی‌ها بصورت فیله با وزن۱/۵۰±۵۰ گرم درآمد. اسانس برگ نارنج در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر که حاوی ۰/۲ درصد توین ۸۰ بود حل و سپس اسانس برگ نارنج در سطوح ۰، ۰/٤، ۰/۸ و ۱/۲ درصد به فیله ماهی اضافه شد. سپس فیله ها درون کیسه‌های حاوی پلی‌اتیلن بسته‌بندی شدند و در دمای صفر درجه‌سانتی-گراد نگهداری شدند. نمونه‌برداری از روزهای صفر، سوم، ششم، نهم، دوازدهم و پانزدهم صورت گرفت (خانی‌پور و همکاران ۲۰۱۳).

pH: برای اندازه‌گیری pH ۵ گرم از نمونه با ٤٥ میلی-لیتر آب مقطر مخلوط و صاف گردید. سپس pH نمونه-ها در دمای اتاق با استفاده از دستگاه pH متر مدل۳۵۱۰ شرکت Jenway انگلستان اندازه‌گیری گردید.

عدد پراکسید: جهت اندازه‌گیری عدد پراکسید در حدود یک گرم روغن و یا ماده چرب را در یک لوله آزمایش خشک و تمیز وزن نموده و یک گرم یدور پتاسیم به شکل پودر به آن افزوده و۲۰ سانتی‌متر مکعب از محلول حلال اسیداستیک و کلروفرم به آن اضافه گردید. لوله آزمایش را در یک بشر آب در حال جوش قرار داده تا حدود ۳۰ ثانیه جوشانده شد. سپس محتوی لوله آزمایش سریعا درون ارلن مایر ۲۰ میلی‌لیتر محلول یدور پتاسیم ۵ درصد ریخته و لوله آزمایش را دوبار هر دفعه با ۲۵mm آب شسته و به ارلن مایر اضافه نموده و با محلول هیپوسولفیت سدیم ۱/۵۰۰ نرمال تیتر گردید. عدد پراکسید عبارت است از مصرف هیپوسولفیت سدیم بر حسب میلی‌لیتر که هر گاه این عدد در ۲ ضرب گردد عدد پراکسید بر حسب میلی اکی والان پراکسید برای صد گرم ماده چربی بدست می‌آید (آ او آ سی ۲۰۰۲).

تیوباربیتیوریک اسید: مقدار ۵ گرم از فیله به همراه ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتر توسط همزن برقی به طور کامل هموژن گردید و سپس محلول هموژن شده را از کاغذ صافی واتمن (ساخت کشور انگلستان) شماره ٤٢ عبور داده و محلول صاف شده دوباره به کمک محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. ۳ میلی‌لیتر از محلول صاف شده را به همراه ۳ میلی‌لیتر محلول تیوباربیتیوریک اسید ۰/۰۲ مولار در یک لوله آزمایش در پیچ دار با هم مخلوط کرده و به مدت ٤٥ دقیقه در آون با دمای ۱۰۰C° قرار داده شد.

پس از این مدت و خنک شدن نمونه‌ها میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری گردید. جهت تهیه نمونه شاهد مقدار ۳ میلی‌لیتر از محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد با ۳ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۲مولار تیوباربیتیوریک اسید مخلوط گردید و سپس با استفاده

www.SID.ir

Archive of SID

از فرمول زیر میزان میلی‌گرم مالون آلدئید در هر کیلوگرم از گوشت اندازه‌گیری گردید (پیرسون ۱۹۹۷).

$$\text{(میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم)} = \frac{50\times(As-Ab)}{200} \quad (۱-۳)$$

اسیدهای چرب آزاد: جهت سنجش اسیدهای چرب آزاد حدود ۲۰گرم نمونه را وزن کرده و آن را با مقدار کافی کلروفرم در همزن کاملا مخلوط نموده سپس آن را از روی کاغذ صافی عبور داده و محلول صاف شده از روی یک کاغذ صافی دیگر که حاوی سولفات سدیم خشک است عبور داده شد. حجم معلومی از محلول صاف شده را به یک بالن که قبلا در اتوکلاو خشک و پس از سرد شدن در دسیکاتور توزین گردید منتقل کرده و پس از تبخیر کلروفرم مقدار چربی را در آن حجم (نسبت چربی در حلال) تعیین نموده سپس ۲۵ میلی‌لیتر از محلول صاف شده را به یک ارلن مایر ۲۰ میلی‌لیتر منتقل کرده و۲۵ میلی‌لیتر الکل خنثی به آن اضافه گردید. سپس اسیدهای چرب آزاد بوسیله محلول سود ۰/۱ نرمال در برابر معرف فنل فتالئین خنثی شدند. اسیدهای چرب آزاد بر حسب اسیداولئیک محاسبه گردیدند (پیرسون ۱۹۹۷).

بازهای نیتروژنی فرار: جهت بررسی مواد ازته فرار از دستگاه کلدال اتوماتیک K1100 Hanon ساخت چین استفاده گردید. به این صورت که مقدار ۱۰ گرم از نمونه فیله میکس شده به همراه ۱ گرم پودر اکسید منیزیم درون بالن تقطیر دستگاه کلدال ریخته شد و سپس ٦۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. یک ارلن حاوی ۱۰ قطره معرف توشیرو به عنوان ظرف گیرنده به قسمت سرد کننده دستگاه تقطیر وصل گردید. دستگاه به طور اتوماتیک مقدار ٤۰ میلی‌لیتر اسید بوریک ۲ درصد را از مخزن اسید بوریک برداشته و وارد ارلن گیرنده نمود. پس از روشن شدن دستگاه محتوی بالن تقطیر حرارت دیده و بمدت ۱۸ دقیقه عمل جوش و تقطیر صورت گرفت. محلول تقطیر شده بوسیله اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتر شده و مقدار اسید مصرفی یادداشت شد. با استفاده از فرمول زیر میزان مواد ازته فرار بر حسب میلی‌گرم در۱۰۰ گرم گوشت محاسبه گردید (آ او آ سی ۲۰۰۲).

میزان تیترازول نمونه شاهد- نمونه مصرفی (میلی لیتر)× ٤/۱×۱۰۰= میزان مواد ازته فرار

باکتری‌های سایکروفیل: تحت شرایط استریل و زیر هود آزمایشگاهی ظروف حاوی نمونه را باز کرده و مقدار ٥ گرم از فیله توسط پنس و قیچی استریل جدا شده و در کیسه‌های پلاستیکی استریل مخصوص قرار داده و سپس ٤٥ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به آن افزوده و سپس کیسه جهت هموژنیزاسیون محتویات به دستگاه استومیکرو مدا Inter-science 400 به مدت ۱ دقیقه منتقل گردید. نمونه هموژن شده به روش معمول رقیق‌سازی متوالی شده و بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت آگار مغذی و به روش کشت سطحی کشت داده شد. جهت شمارش باکتری‌های سایکروفیل پلیت‌ها به مدت ۱۰-۷ روز و در دمای ^{o}C ۱۰ قرار داده شدند (استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۲۵ ۱۳۸۰).

آنتی‌اکسیدان: در این تست قدرت الکترون‌دهی یا از دست دادن اتم هیدروژن نمونه‌ها از طریق از بی‌رنگ شدن محلول بنفش رنگ DPPH مورد ارزیابی قرار می-گیرد. در این آزمایش ۰/۰۳ گرم نمونه با ۳ میلی‌لیتر محلول DPPH ۰/۰٤ را مخلوط کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و دور از نور ماند. سپس به مدت ۱۰ ثانیه با دستگاه شیکر یکنواخت گردیده و میزان جذب آن در طول موج ٥۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. قدرت خنثی‌سازی رادیکال (RSA) آزاد DPPH طبق فرمول زیر محاسبه گردید (مارکسن و همکاران ۲۰۰۹).

$$\text{(درصد)} = 100 \times \left[\frac{Ablank-Asample}{Ablank}\right]$$

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌های بدست آمده از طریق نرم‌افزار SPSS17 و در سطح ۰/۰۵ انجام پذیرفت و هماهنگی واریانس داده‌ها با آزمون لون (Leven) و برنامه Excel 2007 جهت رسم شکل‌ها و

www.SID.ir

Archive of SID

جداول استفاده شد. کلیه پارامترهای اندازه‌گیری شده دارای ۳ تکرار بودند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از آنالیز اسانس برگ نارنج نشان داد که بیشترین ترکیبات موجود در اسانس کارن (۳٤/٦۸ درصد)، آلفاترپینئول (۷/۵۳ درصد)، بتاکاریوفیلن (٤/۵۸درصد)، اوسمین (۲/۳۲درصد) و بتامیرسین (۲/۰۳درصد) بود (جدول ۱). میزان بازدهی اسانس ۰/٤۵ درصد بود.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی: در این تحقیق ظرفیت آنتی-اکسیدانی اسانس برگ نارنج به روش DPPH ارزیابی و با آنتی اکسیدان BHT مقایسه شد. IC_{50} غلظتی از اسانس است که توانایی فرونشاندن ۵۰ درصد رادیکال-های آزاد را دارد و با افزایش غلظت اسانس فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد. داده‌های حاصل نشان می‌دهد که IC_{50} برای اسانس برگ نارنج ۰/٦۷ میلی-گرم/ میلی‌لیتر تعیین شد، درحالی که این پارامتر برای BHT ۳۲/۷۱ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر بود. طبق نتایج با افزایش غلظت اسانس برگ نارنج، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته است (جدول ۲). به دلیل کم بودن ذخیره کربوهیدرات در بافت ماهیچه‌ای بیشتر ماهیان بعد از مرگ ماهی مقدار اسید لاکتیک تولید شده در نتیجه واکنش گلیکولیز کم شده و pH گوشت ماهی بعد از مرحله جمود نعشی به بالاتر از ٦ خواهد رسید (ازهار-زاده و حجتی ۲۰۱٦). pH در فرآورده‌های شیلاتی به عنوان شاخص فساد تلقی می‌گردد و pH بالاتر از ۷ در فیله ماهیان نشان‌دهنده فساد است (اوزگول و اوکار ۲۰۱۳). در این تحقیق تغییرات میزان pH از روز صفر تا روز پانزدهم روند افزایشی داشت که در نتایج این پژوهش میزان pH تا روز پانزدهم از ۷ فراتر نرفت ولی روند افزایشی در گروه‌های تیمارشده با اسانس برگ نارنج کمتر از نمونه شاهد بود.

پاس و همکاران (۱۳۹۱)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس خوشاریزه (*EchinopHora cinerea Boiss*) را به روش DPPH بررسی کردند و با آنتی‌اکسیدانBHT مقایسه کردند و بر اساس نتایج بدست آمده IC_{50} برای عصاره خوشاریزه ۰/۷٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و مقایسه‌ای که انجام گرفت گیاه خوشاریزه دارای فعالیت آنتی-اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای بود. طبق تحقیقات قادری قهفروخی و همکاران (۲۰۱۲) عنوان کردند که میوه‌ها و سبزیجاتی که حاوی ترکیبات فنلی هستند به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند و همچنین مطالعات نشان داد که ترکیبات فنلی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند و بر روی رادیکال‌های آزاد اثر می‌گذارند و همچنین مدیان در سال ۱۹۹۹، بیان کرد که ترکیبات فنلی با غیرفعال‌کردن رادیکال‌های آزاد و رادیکال‌های پراکسی، در جلوگیری از ترشیدگی و فساد اکسیداتیو در بسیاری از سیستم‌های چربی و در روغن ماهی مؤثر هستند. کی‌کودیس و همکاران در سال ۲۰۰۹، فعالیت مهار رادیکالی ۳٤ گونه از اسانس-های مرکبات را بررسی و مشاهده کردند بین ۱۷/۷ تا ٦٤ درصد اسانس‌های مورد بررسی، دارای قدرت مهار رادیکالی ۲،۲-دی فنیل۱-پیکروهیدرازیل (DPPH) می-باشند. مشخص گردید حداکثر فعالیت ضدرادیکالی را مرکباتی دارند که اسانس آنها حاوی ژرانیول، ترپینولین و گاما ترپینن است که در اسانس برگ نارنج ترکیب ترپینولین وجود داشت. ترکیبات معطری مانند میرسین، بتاپینن و ترپینولین در این اسانس وجود داشته که به گفته محققین وجود این ترکیبات حتی در غلظت‌های پایین دارای فعالیت ضداکسیدانی بالایی می‌باشد (سونبل و همکاران ۱۹۹۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱–ترکیب شیمیایی اسانس برگ نارنج (*Citrus aurantium L*) با استفاده از GC-MS

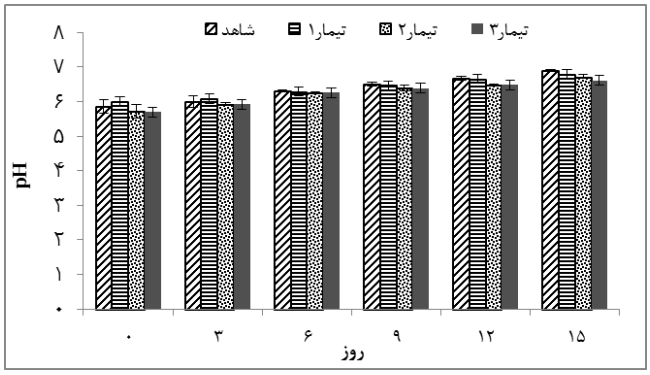
ترکیبات	شاخص بازداری	درصد
آلفا پینن	۹٤٦	۰/۳۰
کامفن	۹٦۷	۰/۰۲
بتاپینن	۹۸٦	۰/۵۵
میرسین	۹۹٦	۵/۳۲
دلتا ۳ کارن	۱۰۱۵	۰/۱٤
آلفا ترپینن	۱۰۲٦	۰/۰۳
لیمونن	۱۰٤۲	۱/۰۵
ترانس بتااوسمین	۱۰٤۷	۰/٦٤
سیس‌بتااوسمین	۱۰۵۵	۳/۲۷
گاماترپینن	۱۰۷۰	۰/۰۷
لینالول اکساید	۱۰۸۷	۰/۰۹
ترپینولین	۱۰۹۹۹	۱/۰۳
لینالول	۱۱۱۱	۳۲/٤۱
سیترونلال	۱۱٦۱	۰/۰٤
ترپینئول ٤	۱۲۰۱	۰/٤۰
آلفاترپینئول	۱۲۰۲	۱٦/۵۱
نرول	۱۲۳۵	۱٦/٤۹
لینالیل‌استات	۱۲۷۱	۳/۰۵
ژرانیول	۱۲۷۸	۲/۷٤
نریل‌استات	۱۳٦٦	۵/۳۰
ژرانیل استات	۱۳۹۰	۸/۳۱
بتاالمین	۱۳۹۹	۰/۰۲
ترانس‌کاربوفلین	۱٤٤۹	۰/۸۸
بتافارنزین	۱٤۵۸	۰/۰۵
آلفاهامولین	۱٤۷۱	۰/۱۳
آلفافارنزین	۱۵۰۵	۰/۰۵
بایسیکلوجرماکارین	۱۵۰۷	۰/۲۹
دلتاکادینه	۱۵۳۳	۰/۰۸
نرولیدل	۱۵٦٦	۰/۵۱
کاربوفیلین اکساید	۱٦۰۵	۰/۱۷
وریدی فلورول	۱٦۰۸	۰/۰٦

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس برگ نارنج (*Citrus aurantium. L*) با استفاده از روش DPPH

نمونه	غلظت	%RSA	IC50
اسانس برگ نارنج (mg/ml)	۲	۸۳/۳۶	۰/۶۷
	۱	۷۳/۲۴	
	۰/۵	۳۷/۲۸	
	۰/۲۵	۲۲/۴۹	
	۰/۱۲۵	۱۷/۴۶	
	۰/۰۶۲۵	۸/۳۳	
BHT (mg/ml)	۱۰۰	۱۶/۰۳	۳۲/۷۱
	۸۰	۲۱/۵۱	
	۶۰	۳۳/۱۴	
	۴۰	۵۹/۶۱	
	۲۰	۶۱/۲۸	
	۱۰	۸۵/۴۴	



شکل ۱- میزان تغییرات pH در تیمارهای مختلف اسانس برگ نارنج (*Citrus aurantium. L*) در فیله قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی دوره نگهداری در دمای ۰ °C

pH: افزایش pH با گذشت زمان نگهداری، ناشی از تولید آمین‌های آزاد، در اثر عمل آنزیم‌های پروتئولیتیک یا تولید ترکیبات بازی از قبیل آمونیاک و تری متیل‌آمین و دیگر آمین‌های بیوژن در اثر فعالیت باکتری‌های فاسدکننده ماهی می‌باشد (محمدی زاده و همکاران ۲۰۰۶). در تحقیق حاضر، تغییرات میزان pH در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان از روز صفر تا روز پانزدهم روند افزایشی داشت. با توجه به شکل ۱، بجز روزهای صفر و سوم در تمامی تیمارهای مورد مطالعه بین روزهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<0/05$). بالاترین و پایین‌ترین میزان pH در فیله قزل‌آلای رنگین کمان به ترتیب در تیمار شاهد در روز پانزدهم ۶/۹۰ و تیمار۳ در روز صفر ۵/۷۰ به دست آمد.

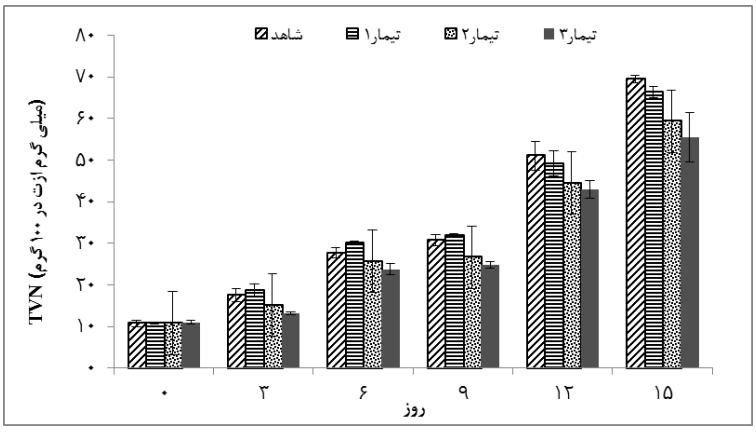
میزان pH در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نگهداری شده تحت تأثیر عصاره برگ زیتون در شرایط سرد با افزایش زمان ماندگاری روند کاهشی داشت، که یلماز و همکاران (۲۰۰۹) دلیل کاهش جزیی pH در طول دوره را در نتیجه تأثیر تجزیه اسیدکربونیک و تولید دی‌اکسید کربن بیان کردند. اوزپولت و دومان (۲۰۱۶)، در بررسی که بر روی تاثیر عصاره *Nigella sativa* بر روی فیله ماهی *Barbus grypus* نگهداری شده در یخچال انجام دادند عنوان کردند که، سطح pH ابتدا روند افزایشی داشته اما با نگهداری فیله ها میزان pH کاهش یافت. کمتر بودن اسیدیته در گروه تیمار شده با اسانس برگ نارنج را می توان با خاصیت ضداکسیدانی و ضد باکتریایی این اسانس مرتبط دانست که در سایر مطالعات نیز کمتر بودن اسیدیته با استفاده از

www.SID.ir

Archive of SID

ضداکسیدان‌های طبیعی دیده شده است (خیری و همکاران ۲۰۱۲؛ پزشک و همکاران ۲۰۱۲).

بازهای نیتروژنی فرار: نوع و میزان بازهای نیتروژنی فرار شاخص تازگی ماهی می باشد (رضایی و حسینی ۲۰۰۸). که شامل ترکیبات آمینی (تری‌متیل‌آمین، دی-متیل آمین، آمونیاک و دیگر ترکیبات مشابه) هستند که در اثر فعالیت‌های میکروبی ایجاد می‌شوند (تقی زاده اندواری و همکاران ۱۳۹۱). در این تحقیق تغییرات میزان بازهای نیتروژنی فرار در فیله قزل‌آلای رنگین کمان از روز صفر تا روز پانزدهم روند افزایشی داشت. با توجه به شکل ۲، بجز تیمار ۲ و۳ در روزهای ششم و نهم در تمامی تیمارها بین روزهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<0/05$). در روزهای سوم، نهم و دوازدهم بین گروه های شاهد، تیمار۱ و تیمارهای ۲و۳ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P<0/05$). بالاترین و پایین‌ترین میزان بازهای نیتروژنی فرار در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در تیمار شاهد در روز پانزدهم۶۹/۵۶ میلی‌گرم ازت بر ۱۰۰ گرم و تیمار شاهد در روز صفر ۱۰/۷۷ میلی‌گرم ازت بر ۱۰۰ گرم به دست آمد.



شکل ۲- میزان تغییرات بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) در تیمارهای مختلف اسانس برگ نارنج (*Citrus aurantium. L*) در فیله قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی دوره نگهداری در دمای ۰°C

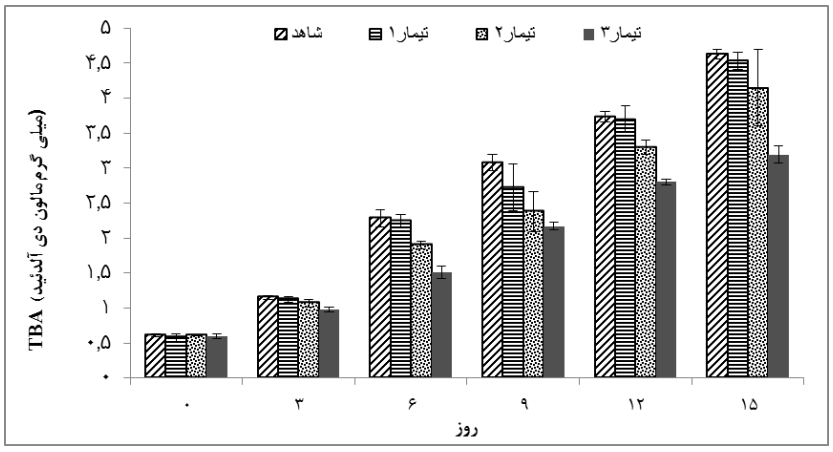
تغییرات میزان بازهای نیتروژنی فرار طی نگهداری فیله قزل‌آلای رنگین کمان از روز صفر تا روز پانزدهم روند افزایشی داشت. بطوری که افزایش آن در ابتدا روند کندتری داشت و از روز نهم به بعد به طور شدیدی افزایش یافت. این امر به خاطر عامل تولیدکننده بازهای نیتروژنی فرار یعنی باکتری‌ها بود. در روزهای اولیه جمعیت باکتری ها در فاز پایه قرار دارند و با سرعت کمی افزایش می‌یابند و پس از این مرحله به سرعت افزایش می‌یابند، بنابراینTVN در روزهای اولیه به سرعت افزایش یافت. افزایش آن یک عامل محدودکننده در ماندگاری ماهی می‌باشد (ارینگتون و همکاران ۲۰۰٤). حداکثر میزان قابل قبول بازهای نیتروژنی فرار ۲۵ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم اعلام شده (سالم و همکاران ۲۰۰٤) و میزان ۵۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم نشان دهنده کیفیت پایین می‌باشد (ارشیسار و همکاران ۲۰۰٤). بر اساس این استانداردها میزان بازهای نیتروژنی در این پژوهش از روز ششم به بعد بالاتر از حد مجاز بوده است که با توجه به این مطلب اسانس برگ نارنج نتوانسته، مانع فعالیت‌های باکتریایی و در نهایت تولید بازهای نیتروژنی فرار شود، هر چند در مقایسه با تیمار شاهد، بار باکتریایی فیله کاهش نشان داد. در فیله قزل-آلای رنگین کمان همراه با پوشش ژلاتینی و اسانس دارچین طی دوره نگهداری ۲۰ روزه، میزان بازهای نیتروژنی فرار روند افزایشی داشت به طوری‌که افزایش

www.SID.ir

Archive of SID

در تیمار شاهد و تیمار ژلاتین بیشتر از تیمار ژلاتین و اسانس دارچین بود. در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در دمای یخچال در یک دوره ۱۸ روزه میزان TVN روند افزایشی داشت (ارشیسار و همکاران ۲۰۰٤). افزایش بازهای نیتروژنی فرار به طور عمده در اثر تجزیه باکتریایی گوشت ماهی است و افزایش بار باکتریایی در طول دوره تحقیق را می‌توان دلیلی بر این مورد دانست (اجاق و همکاران ۲۰۱۰). هر اقدامی در جهت کاهش بار باکتریایی و نیز فعالیت آنزیمی که کاهش ظرفیت و توانایی باکتری‌ها در اکسیداسیون و آمین‌زدایی ترکیبات ازته غیرپروتئینی را در پی داشته باشد می تواند باعث کاهش TVN شود (تقی زاده اندواری و همکاران ۱۳۹۱). در تحقیقات شعبان پور و همکاران (۱۳۹۰) در نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تحت تأثیر عصاره گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بطور کلی افزایش بازهای نیتروژنی فرار مشاهده شد اما در نمونه‌های تیمار شده با عصاره آویشن شیرازی به طور معنی‌داری این افزایش کمتر از نمونه شاهد بود که از نتایج حاصل می‌توان بیان کرد که عصاره آویشن شیرازی به دلیل داشتن ترکیبات آنتی اکسیدانی نظیر کارواکرول (۲٦/۰۸ درصد) و تیمول (۱۷/۲۳ درصد) می تواند از رشد باکتری‌ها جلوگیری کند و در نتیجه میزان بازهای نیتروژنی فرار را کاهش دهد.

تیوباربیتیوریک اسید: شاخصTBA مربوط به اندازه-گیری میزان مالون‌آلدئید است که محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب چندغیراشباع است (برمنر ۲۰۰۲). مالون‌الدهید از شکستن اسیدهای چرب ایجاد می‌شود. مقدار این محصول از واکنش آن با تیوباربیتیوریک اسید ارزیابی می‌شود (ملتون ۱۹۸۳). در تحقیق حاضر میزان تغییرات تیوباربیتیوریک اسید در قزل‌آلای رنگین کمان از روز صفر تا روز پانزدهم روند افزایشی داشت. با توجه به شکل ۳، در تمامی تیمارها و در روزهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). بالاترین و پایین‌ترین میزان تیوباربیتیوریک اسید در فیله قزل‌آلای رنگین کمان در تیمار شاهد روز پانزدهم ٤/٦۲۵ میلی‌گرم مالون‌آلدئید بر کیلوگرم و تیمار ۱ روز صفر ۰/۵۷۷ میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم به دست آمد.



شکل۳- میزان تغییرات تیوباربیتیوریک اسید (TBA) در تیمارهای مختلف اسانس برگ نارنج (*Citrus aurantium.L*) در فیله قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی دوره نگهداری در دمای ۰ ^{o}C

تیوباربیتیوریک اسید به طور گسترده به عنوان شاخص نشان دهنده میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد و ناشی از وجود مواد واکنش دهنده با TBA حاصل از مرحله دوم اتواکسیداسیون

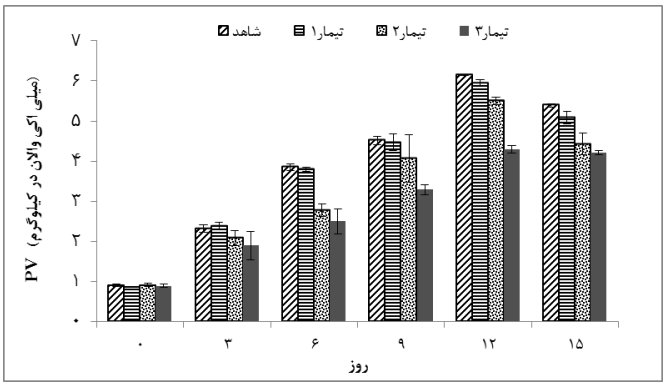
www.SID.ir

Archive of SID

است که طی آن پراکسیدها به موادی مثل کربونیلی و ترکیبات فرار اکسید می شوند (لیندزی ۱۹۹۱). این نکته بسیار مهم است که مقدار TBA ممکن است نشان‌دهنده درجه واقعی اکسید شدن چربی نباشد چرا که مالون-آلدئیدها می‌توانند با سایر ترکیبات بافت ماهی واکنش دهند (آیوبورگ و همکاران ۲۰۰۵). در مطالعه حاضر مقدار TBA اندازه‌گیری شده در فیله‌ها روند صعودی نشان داد اما در تیمارهای دارای اسانس نارنج به دلیل حضور مواد آنتی‌اکسیدانی (جدول۱) و خاصیت آنتی-اکسیدانی (جدول ۲) این افزایش در مقایسه با تیمار شاهد بسیار کمتر بود. چنین الگویی در فیله ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) نگهداری شده در یخچال و تحت تأثیر عصاره سیاه دانه (*Nigella sativa*) (غلامزاده و همکاران ۱۳۹۲) مشاهده شد. افزایش میزان TBA ناشی از افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع نیز می‌باشد (تقی زاده اندواری و رضائی۱۳۹۱). به طور کلی حد بالای TBA برای محصولات قابل مصرف در حدود ٤ میلی‌گرم مالون‌آلدئید در کیلوگرم گوشت ماهی می‌باشد (کاراکام و بوران ۱۹۹٦).

پراکسید: در این تحقیق تغییرات عدد پراکسید در فیله قزل‌آلای رنگین کمان از روز صفر تا روز دوازدهم روند افزایشی داشت، سپس در روز پانزدهم کاهش مشاهده شد. با توجه به شکل ٤، بجز تیمار ۳ در روزهای دوازدهم

و پانزدهم تمامی تیمارها در روزهای مختلف با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<0/05$). اما در روز صفر اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p<0/05$). بالاترین و پایین‌ترین میزان عدد پراکسید در فیله قزل-آلای رنگین‌کمان به ترتیب در تیمار شاهد روز دوازدهم (meq/kg) ٦/١٤٠ چربی و تیمار ۱ روز صفر (meq/kg) ۰/۸٦۲ چربی بدست آمد.



شکل ۴- تغییرات شاخص پراکسید (PV) در تیمارهای اسانس برگ نارنج (*Citrus aurantium. L*) در فیله قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی دوره نگهداری در دمای ۰ ^{o}C

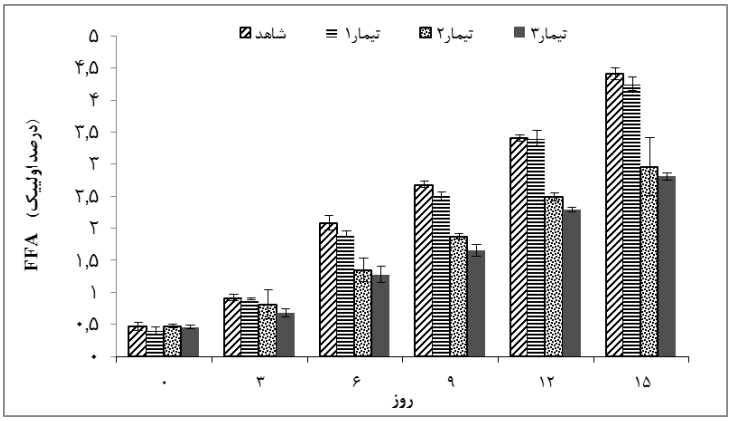
روند کاهش در روز پانزدهم ممکن است بدلیل واکنش-های ثانویه اکسیداسیون (تجزیه پراکسیدها به ترکیبات ثانویه) و تولید کربونیل‌ها و ترکیبات فرار باشد. واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون از جمله واکنش با پروتئین‌های محلول در نمک و تولید ترکیبات کربونیلی مانند استالدئید، پروپیونالدئید استن و اسیدهای چرب فرار مثل اسید کاپروئیک و اسید پروپیونیک و نیز گازهای فرار نیز می‌توانند دلایل چنین کاهشی باشند (اوزپولت و دومان ۲۰۱٦). در مرحله اول اکسیداسیون بدلیل اتصال اکسیژن به پیوند دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع، پراکسیدها تشکیل می‌شوند. هیدروپراکسید محصول اولیه اکسیداسیون چربی و اسیدهای چرب غیر اشباع (PUFA) است. به همین خاطر اکسیداسیون اولیه چربی با استفاده از اندازه گیری میزان پراکسید ارزیابی می شود (لی و همکاران ۲۰۰۵). در تأثیر عصاره گیاه گزنه (*Urtica diocia*) بر فیله قزل‌آلای رنگین کمان میزان عدد پراکسید در مدت زمان نگهداری کاهش یافته که نشان از تاثیر گیاه گزنه بر کاهش فساد محصول می باشد (نوری هاشم آباد و همکاران ۱۳۹۲) که نتایج این مطالعه یافته‌های این تحقیق را تأیید می‌کند. در این پژوهش اسانس برگ نارنج در غلظت‌های بالاتر به دلیل داشتن مقادیر بالایی از مواد آنتی‌اکسیدانی نظیر

www.SID.ir

Archive of SID

کارن و آلفا ترپینئول (سونبول و همکاران ۱۹۹۲) بخوبی توانسته افزایش پراکسید را کنترل کند، بطوریکه سرعت افزایشی در نمونه شاهد و تیمار ۱ بیشتر از تیمارهای ۲و۳ بود. میزان عدد پراکسید قابل قبول پیشنهادی ۲۰-۱۰ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی ارائه شده است (البلوشی و همکاران ۲۰۰۵). در مورد پراکسید بیان شده که میزان پراکسید ماهی بسیار تازه باید زیر ۲ میلی‌اکی‌والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی باشد و این مقدار در ماهی تازه نباید از ۵ بیشتر شود (کارکام و بارون ۱۹۹٦) که نتایج بدست آمده در ماهی قزل‌آلا در این تحقیق در محدوده مجاز استاندارد اعلام شده می‌باشد.

اسیدهای چرب آزاد: نتایج این تحقیق نشان داد میزان، تغییرات اسیدهای چرب آزاد در فیله قزل‌آلای رنگین کمان از روز صفر تا روز پانزدهم روند افزایشی داشت. با توجه به شکل ۵، میزان اسیدهای چرب آزاد در تمامی تیمارهای مورد مطالعه در روزهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). بالاترین و پایین‌ترین میزان اسیدهای چرب آزاد به ترتیب در تیمار شاهد روز پانزدهم ٤/٤١٥ درصد اولئیک اسید و در تیمار ۱ روز صفر ۰/۸٦۲ درصد اولئیک اسید به دست آمد. با اینکه تشکیل FFA به تنهایی باعث کاهش ارزش تغذیه-ای نمی‌شود اما ارزیابی آن در بررسی فساد ماهی مهم است (لوگاسیا و همکاران ۲۰۰۷). در تحقیقات شعبان-پور و همکاران (۱۳۹۰) بر روی عصاره گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) در نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نیز مقدار اسیدهای چرب روند افزایشی را با گذشت زمان نگهداری نشان داد.



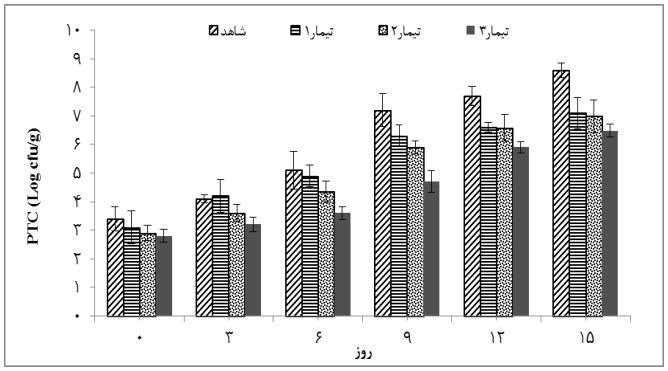
شکل۵- میزان تغییرات شاخص (FFA) در تیمارهای مختلف اسانس برگ نارنج (*Citrus aurantium. L*) در فیله قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی دوره نگهداری در دمای ۰°C

شمارش باکتری‌های سرمادوست: باکتری‌های هوازی از قبیل گونه‌های سودوموناس جزء باکتری‌های غالب در گوشت قزل‌آلای رنگین‌کمان هستند که بطور گسترده به فساد گوشت نگهداری شده در شرایط هوازی کمک می‌کنند (سوسا و همکاران ۱۹۹٦). این باکتری‌ها و عمدتاً گونه‌های سودوموناس آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز تولید می‌کنند و سبب افزایش FFA می‌شوند (کیکیدو و همکاران ۲۰۰۹). نقش عمده باکتری‌ها در فساد ماهی آمین‌زدایی اسیدهای آمینه آزاد و تولید ترکیبات نیتروژنی فرار می‌باشد، که علاوه بر کاستن از ارزش غذایی ماهی، بو و طعم نامطلوبی به آن می‌دهد (رشیدی و همکاران ۱۳۹۷؛ تقی زاده اندواری و همکاران ۱۳۹۱). در این تحقیق تعداد PTC در فیله قزل‌آلای رنگین کمان از روز صفر تا روز پانزدهم روند افزایشی داشت. با توجه به شکل ٦ در تمامی تیمارها بین روزهای مختلف اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). در تیمار شاهد روز پانزدهم و در تمامی تیمارها در روز نهم اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها

www.SID.ir

Archive of SID

مشاهده شد (P<۰/۰۵). بالاترین و پایین‌ترین تعداد PTC به ترتیب در تیمار شاهد روز پانزدهم log cfu/g ۸/۶۰ و تیمار ۳ در روز صفر log cfu/g ۲/۸۰ بدست آمد.



شکل ۶- میزان تغییرات (PTC) در تیمارهای مختلف اسانس برگ نارنج (*Citrus aurantium.L*) در فیله قزل-آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی دوره نگهداری در دمای ۰°C

در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان حاوی اسانس دارچین تعداد باکتری‌های سرمادوست در طی دوره نگهداری روند افزایشی داشت و تعداد آنها در نمونه‌های حاوی اسانس طی ۱۵روز نگهداری در محدوده استاندارد log (۷ cfu/g) بودند (تقی زاده اندواری و همکاران ۱۳۹۱). در فیله ماهی کپور نقره‌ای تیمار شده با عصاره جعفری تعداد باکتری‌های سرمادوست طی دوره نگهداری پانزده روز افزایش پیدا کرد بطوری‌که در نمونه تیمار شده روند افزایش کندتر از نمونه شاهد بود، در این پژوهش عصاره جعفری توانست تا روز دوازدهم بار باکتریایی را در محدوده مجاز کنترل کند (اسکندری و همکاران ۱۳۹۲). در ماهی سفید نگهداری شده در یخ طی یک دوره ۱۸ روزه روند افزایشی در تعداد PTC مشاهده شد (اعتمادیان و همکاران ۱۳۹۰). بار باکتریایی مجاز برای باکتری‌های سرماگرا log cfu/g ۷ گزارش شده است (گیمنز و همکاران ۲۰۰۲). در این تحقیق بار باکتریایی در نمونه‌های شاهد در زمان صفر log cfu/g ۳/۴۰ بود و در روز پانزدهم به log cfu/g ۸/۶۰ رسید که بالاتر از حد مجاز بوده و بیانگر فاسد شدن ماهی می باشد. این روند افزایشی در فیله‌های تیمار شده کمتر از فیله‌های شاهد بود، بطوری که در فیله‌های تیمار شده با اسانس برگ نارنج در تیمار اول از log cfu/g ۳/۱۰ در روز صفر، به log cfu/g ۷/۱۰ در روز پانزدهم رسید. در تیمار دوم از log cfu/g ۲/۹۰ در روز صفر به log cfu/g ۶/۹۸ در روز پانزدهم رسید و در تیمار سوم از log cfu/g ۲/۸۰ در روز صفر به log cfu/g ۶/۴۸ در روز پانزدهم رسید که از نتایج این تحقیق می-توان بیان کرد که اسانس برگ نارنج در غلظت بالاتر بخوبی توانسته از افزایش تعداد باکتری‌های سرمادوست جلوگیری کند. فعالیت ضدمیکروبی اسانس را می‌توان مربوط به کاریوفیلن و منوترپن‌های اکسیژنه (آلفاترپینئول) دانست. طی تحقیقاتی مشخص شد که اسانس‌هایی که حاوی این ترکیبات هستند خاصیت ضدمیکروبی خوبی دارند (سیسکو و همکاران ۲۰۰۷).

نتیجه گیری نهایی

نتایج بدست آمده نشان دادند که استفاده از اسانج نارنج سبب افزایش ماندگاری ماندگاری فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان در دمای یخچال شده است. بهترین عملکرد را غلظت ۱/۲ درصد اسانس برگ نارنج بود که توانست ماندگاری فیله را تا ۹ روز افزایش دهد.

منابع مورد استفاده

استاندارد ملی ایران، ۱۳۸۰. میکروبیولوژی. آیین کاربرد روش‌های عمومی آزمایش‌های میکروبیولوژی، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۲۳۲۵.

اسکندری س، حسینی ه، حسینی ا، کسمایی الف، ۱۳۹۲. اثرات ضد اکسیدانی و ضد باکتریایی عصاره جعفری بر فیله ماهی کپور نقره‌ای در طول نگهداری در دمای یخچال، نشریه علوم و صنایع غذایی ایران، ۲، ۱۷۲-۱۶۵.

www.SID.ir

Archive of SID

اعتمادیان ی، شعبان پور ب، صادقی ماهونگ ع، یحیایی م، ودوردیئی خ، ۱۳۹۰. اثر بسته‌بندی تحت خلاء بر ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی سفید نگهداری شده در یخ، نشریه علوم و صنایع غذایی ایران، ۷، ۳۰٤-۲۹۷.

پاس م، رشیدی‌پور م، طالعی غ، دوستی ب، ۱۳۹۱. ترکیبات شیمیایی، خاصیت ضد باکتریایی و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گیاه خوشاریزه (*Echinophora cinerea Boiss*)، فصلنامه گیاهان دارویی، ۲، ٦۷-۷٤.

تقی‌زاده اندواری ق، رضایی م، ۱۳۹۱. اثر پوشش ژلاتین همراه با اسانس دارچین بر دوره ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، مجله علمی شیلات ایران، ۱، ۲٤-۱۳.

رشیدی م.، مصلحی شاد م.، زیارتی پ.، قمری ف، ۱۳۹۷. مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره اتانولی چای‌ترش و علف‌چای بر علیه *سالمونلا انتریکا، باسیلوس سرئوس، اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس*، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۳، ٤٥-۳۷.

شعبانپور ب، ذلفقاری م، فلاح‌زاده س، علیپور غ ح، ۱۳۹۰. اثر عصاره آویشن شیرازی بر ماندگاری فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان شور و بسته‌بندی شده در خلاء در شرایط یخچال: ارزیابی میکروبی، شیمیایی و خصوصیات حسی، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۳۳، ۱-۱۱.

عدولی ب، راهب س، گلعین ب. ۱۳۸٤. ارقام و پایه‌های مرکبات، نشریه ترویجی، واحد رسانه‌های ترویجی، سازمان جهاد کشاورزی استان مازندران.

غلامزاده م.، حسنی ا، اسکندری س، حسینی ه، ۱۳۹۲. تعیین زمان ماندگاری فیله ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) تیمار شده با عصاره سیاه دانه (*Nigella sativa*) در طول دوره نگهداری در یخچال، مجله علمی شیلات ایران، ۱، ۷۱-۸٤.

نوری هاشم‌آباد ز، حسینی‌پور س، اجاق س م، ۱۳۹۲. مقایسه عصاره برگ گیاه گزنه *(Urtica diocia)* و آنتی اکسیدان BHT بر زمان ماندگاری فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان در شرایط نگهداری سرد، مجله علوم و فنون شیلات، ۳، ۸۷-۷۵.

AL-Bulushi IM, Kasapis S, AL-Oufi H and AL-Mamari S, 2005. Evaluating the quality and storage stability of the fish burgers during frozen storage. Journal of Fisheries Science 71: 648-654.

Anwar F, Abdul Qayyum HMA, Ijaz Hussain A and Igbal S, 2010. Antioxidant activity of 100% and 80% methanol extracts from barley seeds (*Hordeum vulgare* L.): stabilization of sunflower oil, Grasasy aceites. Internatinal Journal of Fats and Oils 61: 237-43.

AOAC 2002. Official Methods of Analysis of AOAC International (17thed.). MD, Gaithersburg, USA Association of Official Analytical Chemistry.

Arashisara Ş, Hisara O, Kayab M and Yanik T, 2004. Effects of modified atmosphere andvacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) fillets. International Journal of Food Microbiology 97: 209– 214.

Arlington VA, Arashisar S, Hisar O, Kaya M and Yanik T, 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) fillets. Journal of Food Microbiology 97: 209– 214.

Aubourg SP, Rodriguez A and Gallardo JM, 2005. Rancidity development during frozen storage of mackerel (*Scomber scombrus*): effect of catching season and commercial presentation. European Journal of Lipid Science and Technology 107: 316-323.

Azhdarzadeh F and Hojjati M, 2016. Chemical composition and antimicrobial activity of leaf, ripe and unripe peel of bitter orange (*Citrus aurantium)* essential oils. Nutrition and Food Sciences Research 13: 43-50.

Baghyani Moghadam MH and Eivazi S, 2011. Investigation of factors related to lack of using fish at the recommended amount by WHO in families of Javanrood (western Iran) according to model goal-directed behavior (MGB) in 2006. Journal of Ilam University of Medical Sciences 19: 39-45.

Bremner HA, 2002. Safety and quality issues in fish processing, CRC Press, Denmark 519p.

Dorcas A, John S, Estherlydia Priya I and Priyadrshini S, 2016. Study on the antimicrobial property of bitter orange (*Citrus aurantium* L.) Peel powder and developing recipes using the powder. International Journal of Home Science 2: 125-131.

www.SID.ir

Archive of SID

Frangos L, Pyrgotou N, Giatrakou V, Ntzimani A and Savvaidis IN, 2010. Combined effects of salting, oregano oiland vacuum-packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets. Food Microbiol 27: 115-21.

Frassinetti S, Caltavuturo L, Cini M and Della Croce CM, 2016. Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oils from Citrus spp. Journal of Essential Oil Research 23: 26-31.

Ghaderi Ghahfarokhi M, Sadeghi Mahoonak AR, Alami M, Azizi MH and Ghorbani M, 2012. Study on antioxidant activities of phenolic extracts from fruit of a variety of Iranian acorn (Q. castaneifolia var astaneifolia). Journal of food Science and Technology 35: 28-35.

Gimenez B, Roncales P and Beltran JA, 2002. Modified atmosphere packaging of filleted Rainbow Trout. Journal of the Science of Food and Agriculture 84: 1154–1159.

Karacam H and Boran M, 1996. Quality changes in frozen whole and gutted anchovies during storage at -18°C. International Journal of Food Science and Technology 31: 527-531.

Kathleen Mahan L, Raymond JL and Escott-Stump S, 2011. Krause's food and the nutrition care process. Elsevier Saunders 377: 756-758.

Khanipour AA, Fathi S, and Fahim Dejban Y, 2013. Chemical indicators of spoilage and shelf-life of the consolidated burgers (Kilka–Silver carp) during cold storage at -18°C. Iranian Scientific Fisheries Journal 22: 41-49.

Khezri Ahmadabad M, Rezaei M, Ojagh SM and Babakhani Lashkan A, 2012. The increase of shelf - life of frozen Kilka (Clupeonellacultriventiris) using natural antioxidants, Journal Utilization and Cultivation of Aquatics 1: 27-40.

Kykkidou S, Giatrakou V, Papavergou A, Kontominas MG and Savvaidis IN, 2009. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4°C. Journal Food Chemistry 115: 169–75.

Lee SJ, Umano K, Shibamoto T and Lee KG, 2005. Identification of volatitle components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymusvulgaris* L.) and their antioxidant properties. Journal Food Chemistry 91:131-7.

Lindsay RC, 1991. Flavour of fish, Procceding of the 8th World Congress of Food Science and Technology, 29th September–4October, Toronto, Canada.

Lugasia A, Losadab V, Hovari J, Lebovicsa V, Jakoczic I and Aubourg S, 2007. Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. LWT-Food Science and Technology 40: 930-6.

Mahmoudzadh BSM, Yamazaki K, Miyashita K, Shin IS and Suzuki T, 2006. A new technology for fish preservation by combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds. Journal of Food Chemistry 99: 656–662.

Marxen K, Heinrich Vanselow K, Lippemeier S, Hintze R, Ruser A and Hansen U, 2009. Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. Sensors 7: 2080- 2095.

Medina I, Satue-Gracia MT, German B and Frankrl EN, 1999. Comparison of natural polyphenols antioxidant from extra virgin olive oil with syntheticin tuna lipids during thermal oxidation. Juornal of Agricaltural and Food Chmistry 50: 7720-7725.

Melton SL, 1983. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. Food Technology 8:105-111.

Moraes, TM, Kushima, H, Moleiro, F.C., Santos, RC, Machado Rocha, LR, Marques, MO, Vilegas, W and Hiruma-Lima CA, 2009. Effects of limoneneand essential oil from (*Citrus aurantium*) on gastricmucosa: Role of prostaglandins and gastric mucus secretion. International Jpurnal of Biological Chemistry 180: 499–505.

Mukundan MK, Antony PD and Nair MR, 1986. A review on autolysis in fish. Journal Fisheries Research 4: 259-269.

Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH and Hosseini S, 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry 120: 193-198.

Ozogul, Y and Ucar Y, 2013. The effects of natural extracts on the quality changes of frozen chub mackerel [Scomber japonicas] burgers. Food and Bioprocess Technology 6:1550-1560.

Ozpolat E and Duman M, 2016. Effect of black cumin oil (*Nigella sativa* L.) on fresh fish (*Barbus grypus*) fillets during storage at 2 ± 1 °C. Food Science and Technology 37:148-152.

www.SID.ir

Archive of SID

Parashideh N, Alizadeh Doughikollaee E and Mohammadi M, 2015. Effect of icing time on the quality of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Journal of Food Science and Technology 48: 1-12.

Pearson D, 1997. Laboratory technic in food analysis, Butter Worth. London, UK, pp. 256-270.

Pezeshk S, Rezaei M, Rashedi H and Hosseini H, 2012. Investigation of antibacterial and antioxidant activity of turmeric extract (*Curcuma Longa*) on rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss*) in vitro. Journal of Food Science and Technology 35: 77-87 [In Persian].

Rezaei M and Hosseini SF, 2008. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. Journal of Food science 73:93-96.

Sallam KI and Samejima K, 2004. Microbiological and chemical quality of ground beef treated with sodium lactate and sodium chloride during refrigerated storage. Lebenson Wiss Technology 37: 865-71.

Siskos L, Zotos A, Melidou S and Tsikritzi R, 2007. The effect of liquid smoking of fillets of trout (*Salmo gairdnerii*) on sensory, microbiological and chemical changes during chilled storage. Journal of Food Science 101:458-464.

Sonbol F, Ibrahim SM and Mohamed BM, 1992. Antimicrobial activity of oil of bitter orange. Journal PHarmaceutical Sciences 9:107–109.

Sousa JA, Romalde JL, Ledo A, Eiras JC, Barja JL and Toranzo AE, 1996. Health status of two salmonid aquaculture facilities in North Portugal: characterization of the bacterial and viral pathogens causing notificable diseases. Journal of Fish Disease 19: 83-89.

Yilmaz M, Ceylan ZG, Kocaman M, Kaya M and Yilmaz H, 2009. The effect of vacuum and modified atmosphere packaging on growth of Listeria in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. Journal Muscle Foods 20: 465– 477.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of antioxidant and antimicrobial of citrus leaf (*Citrus aurantiumL.*) essential oil on shelf life of (*Oncorhynchus mykiss*)

E Golabian[1] and L Roomiani[2]*

Received: October 10, 2017 Accepted: December 31, 2017

[1] MSc Student, Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
*Corresponding author: Email: l.roomiani@yahoo.com

Abstract

This study investigated the antimicrobial and antioxidant properties of *Citrus aurantium* L. essential oil on increasing the shelf life of rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*) at 0 ° C. Sampling of trout fillets with 0, 0.4, 0.8 and 1.2% of orange essential oil on days 0, 3, 6, 9, 12 and 15, and antioxidant properties, chemical tests (TVN, TBA), PV, FFA, pH) and microbial were investigated. In evaluating the antioxidant property, the concentration of orange (mg/ ml) was 67.6 and 32.71 mg/ml for BHT. The results showed that the pH in the fillet increased from zero to fifteenth day. The volatile nitrogen volumes (except for treatment 2 and 3 on days 6 and 9), free fatty acids and thiobarbituric acid, were significantly different between treatments at different days ($P < 0.05$). The highest and lowest levels of peroxide value were observed in the control treatment at 12.16 ± 0.014 (mg/ kg body weight) on day 12 and treatment at day zero was 0. 862 ± 0.006 (mg/ kg) Fat) was obtained. The total bacterial count in the fillet in the control treatment was higher than the standard level from the 9th to the 15th day and exceeded the limit in treatment 1on the fifteenth day but in other treatments it did not exceed the permitted limit until the fifteenth day (7 log cfu/ g). According to the results, the best shelf-life of rainbow trout fillets was influenced by 1.2% of essential oil of orange leaves on day 9.

Keywords: Citrus leaf essential oil, shelf life, *Oncorhynchus mykiss*

www.SID.ir