Archive of SID

مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۹ شماره ۴/ سال ۱۳۹۸/ صفحات ۲۹ تا ۴۳

تاثیر عصاره های آبی و اتانولی دانه شنبلیله بر کیفیت فیله کپور معمولی تلقیح شده با *استافیلوکوکوس اورئوس*

منیره ارباب[۱]، ابراهیم علیزاده دوغیکلایی[۲*] و محسن شهریاری مقدم[۳]

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱/۲٤

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل
[۲]دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل
[۳]دانشیار گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل
* مسئول مکاتبه: Email: alizadeh@uoz.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: امروزه کاربرد عصاره گیاهان دارویی بجای نگهدارنده‌های شیمیایی در محصولات شیلاتی رو به افزایش است. **هدف:** مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر عصاره‌های آبی و اتانولی دانه شنبلیله بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* تلقیح شده (۱۰۳ CFU/g) در فیله کپور معمولی هنگام نگهداری در یخچال (٤°C) می‌باشد. **روش کار**: عصاره ها با استفاده از حلال‌های آب و اتانول استخراج و در غلظت های ۱، ۲/۵ و ٤ درصد به فیله‌های تلقیح شده اضافه گردید. فراسنجه های شیمیایی (تیوباربیتوریک اسید و مجموع بازهای نیتروژنی فرار) و میکروبی (شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، شمارش باکتریهای کل و شمارش باکتریهای سرمادوست) در روزهای صفر، ۳، ٦، ۹ و ۱۲ اندازه گیری شدند. **نتایج**: نتایج ارزیابی حسی به روش هدونیک نشان داد که فیله های حاوی ۲/۵ درصد عصاره آبی و اتانولی دارای خواص ارگانولیپتیکی بهتری بودند. نتایج نشان داد که تعداد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با گذشت زمان در تیمار شاهد افزایش و در تیمارهای حاوی عصاره کاهش یافت. بطوریکه غلظت ٤ درصد عصاره‌های اتانولی و آبی موجب توقف رشد باکتری پس از ۹ و ۱۲ روز گردید. کمترین تعداد باکتریهای کل و سرمادوست در فیله حاوی ٤ درصد عصاره اتانولی مشاهده گردید. مقدار تیوباربیتوریک اسید و مجموع بازهای نیتروژنی فرار فیله ها طی نگهداری به تدریج افزایش یافت ولی این افزایش در تیمارهای حاوی عصاره کمتر بود. **نتیجه گیری نهایی**: نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره اتانولی دانه شنبلیله خواص ضد باکتری بیشتری نسبت به عصاره آبی دارد. لذا استفاده از عصاره اتانولی دانه شنبلیله در غلظت ٤ درصد برای افزایش مدت ماندگاری فیله ماهی کپور معمولی توصیه می گردد.

واژگان کلیدی: *استافیلوکوکوس اورئوس*، ارزیابی حسی، عصاره دانه شنبلیله، کپور معمولی

مقدمه

فساد مواد غذایی شامل تغییراتی است که آن را برای مصرف کننده غیر قابل پذیرش می‌کند. از میان مواد غذایی مختلف، ماهیان تازه بسیار فسادپذیرند و فرآیند های مختلفی از قبیل اکسیداسیون لیپیدها، فعالیت‌های میکروبی و آنزیمی منجر به فساد گوشت ماهی و

www.SID.ir

Archive of SID

فرآورده‌های آن می‌شوند (رئیسی و همکاران ۲۰۱۵؛ هایوت و همکاران ۲۰۱۷). علاوه بر فلور باکتری‌های طبیعی ماهی، ممکن است باکتری‌های دیگری نیز در طول مراحل حمل و نقل و آماده‌سازی ماهی را آلوده نمایند. این باکتری‌ها که معمولا تعدادی از آنها عامل مسمومیت غذایی نیز هستند، از نظر بهداشت عمومی اهمیت بالایی دارند.

باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) یک پاتوژن فرصت طلب بوده و مسبب طیف وسیعی از عفونت‌های انسانی و مسمومیت‌های غذایی است (آرگودین و همکاران ۲۰۱۰). در سال های اخیر علی رغم استفاده از آنتی بیوتیک‌ها، بیماری‌ها و مرگ و میر ناشی از بیماری‌های وابسته به غذا که عامل آن باکتری *Staphylococcus aureus* است به دلیل ظهور سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک ها افزایش یافته است (شی و همکاران ۲۰۱۷). در نتیجه استفاده از روش های جایگزین برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها و محدود کردن افزایش مقاومت آنها ضروری به نظر می رسد. ترکیبات طبیعی بدست آمده از عصاره گیاهان دارویی به طور گسترده ای دارای عوامل ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد قارچی، ضد انگلی و ضد سرطانی هستند و می‌توانند جایگزین موثر و ایمنی برای مبارزه با عوامل بیماری‌زا به ویژه عوامل مرتبط با بیماری‌های ناشی از مواد غذایی باشند (آبریو و همکاران ۲۰۱۲: رشیدی و همکاران ۱۳۹۷).

گیاه شنبلیله با نام علمی *Trigonella foenum-graceum*، یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی است. اندام های مورد استفاده این گیاه دانه و برگ است (احمد و همکاران ۲۰۱۶؛ مدرسی و مهدیان ۲۰۱۰). این گیاه بومی شرق اروپا و بخش هایی از آسیا بوده اما امروزه به صورت گسترده در تمام دنیا کشت می شود. دانه های این گیاه دارای ترکیبات مختلفی از قبیل اسید های آمینه، اسید های چرب، ویتامین ها، ساپونین ها و فلاونوئید ها بوده و به صورت سنتی به عنوان بادشکن، تسکین دهنده، خلط آور، ملین و اشتها آور استفاده می-شود (یاداف و بکر ۲۰۱٤). امروزه با توجه به کاربرد گسترده و خواص متعدد گیاه شنبلیله مطالعات مختلفی در زمینه استفاده از آن در صنایع غذایی انجام شده است. اغلب مطالعات انجام شده بیان‌گر اثرات مثبت این گیاه در سلامت و درمان بیماری ها بوده است. در سال های اخیر خواص ضد باکتری و قارچی این گیاه نیز مطالعه شده است (بهاتی و همکاران ۱۹۹٦؛ هاویولا و همکاران ۲۰۰۸). برخی از محققین نیز اثر بخشی عصاره های بدست آمده از این گیاه را بر روی باکتری *Helicobacter pylori* نشان داده اند (راندهیر و همکاران ۲۰۰٤؛ راندهیر و شتی ۲۰۰۷).

مطالعات متعددی در زمینه تاثیر عصاره و اسانس گیاهان مختلف بر روی فیله ماهیان انجام شده است که می توان به استفاده همزمان از عصاره رزماری و نایسین برای افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی *Trachinotus ovatus* (گائو و همکاران ۲۰۱٤)، تاثیر پوشش کیتوزان غنی شده با اسانس دارچین روی کیفیت فیله قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) هنگام نگهداری در یخچال (اجاق و همکاران ۲۰۱۰)، ارزیابی تاثیر نانوامولسیون حاوی اسانس های مختلف گیاهی (رزماری، برگ بو، آویشن و مریم گلی) بر خصوصیات شیمیایی و میکروبی فیله قزل آلای رنگین کمان هنگام نگهدای در یخ (ازگل و همکاران ۲۰۱۷) و مطالعه تاثیر غوطه وری فیله ماهی تیلاپیا (*Orechromis niloticus*) در عصاره های آویشن و رزماری بر زمان ماندگاری آن طی نگهداری در یخچال (خلافلله و همکاران ۲۰۱۵) اشاره کرد. نتایج مطالعات متعدد نشان داده است که اکسیداسیون لیپیدی و رشد میکروبی می‌تواند بوسیله مواد نگهدارنده طبیعی کنترل و یا کاهش یابد (لی و پارک ۱۹۹۸؛ میلنیک و همکاران ۲۰۰۳). همچنین نگهداری محصولات غذایی در یخچال موجب تغییرات نامطلوبی از جمله اکسیداسیون، هیدرولیز چربی و در نتیجه کاهش کیفیت می گردد

www.SID.ir

Archive of SID

(سانچز-گونزالس و همکاران ۲۰۱۱). لذا استفاده از عصاره های آبی و اتانولی دانه گیاه شنبلبه برای بازدارندگی رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تلقیح شده در فیله کپور معمولی طی نگهداری در یخچال (٤ ˚C) ضروری می باشد.

مواد و روش‌ها

مراحل انجام تحقیق

در این تحقیق از ماهی کپور معمولی (*Cyprrinus carpio*) پرورشی با میانگین وزن ۵۰ ± ۹۰۰ گرم و طول متوسط ۳۰cm استفاده شد. ماهی ها به صورت زنده از مزارع پرورشی شهرستان زابل خریداری و به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه زابل منتقل گردید. ماهی‌ها در حضور مقادیر کافی یخ، ابتدا شستشو، سپس تخلیه امعاء و احشاء و در پایان فیله شدند. فیله ها، پس از تعیین حداکثر غلظت قابل قبول عصاره دانه شنبلیله بر خواص ارگانولپتیکی، به صورت تصادفی با باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تلقیح (10^3 CFU/g) و سپس عصاره های اتانولی و آبی در غلظت های ۱، ۲/۵ و ٤ درصد اضافه گردید (جدول ۱). فیله ها پس از بسته بندی در یخچال (٤˚C) قرار گرفته و فراسنجه های میکروبی و شیمیایی در روزهای صفر، ۳، ٦، ۹ و ۱۲ اندازه گیری شدند. تمامی آزمایش ها با سه تکرار انجام گرفت.

جدول ۱- تیمارهای مختلف آزمایش

Table1- Different experimental treatments

Treatments	*Staphylococcus aureus* (CFU/g)	Ethanolic extract (%)	Aqueous extract (%)
Control	10^3	-	-
1	10^3	1	-
2	10^3	-	1
3	10^3	2.5	-
4	10^3	-	2.5
5	10^3	4	-
6	10^3	-	4

تهیه عصاره آبی و اتانولی دانه شنبلیله

دانه شنبلیله از مرکز تحقیقات شهرستان زهک (استان سیستان و بلوچستان) تهیه و سپس با آب شسته و در هوای اتاق (˚C ۲±۲۸) خشک شد. عصاره گیری طبق روش ژو و همکاران (۲۰۱۱) با کمی تغییر انجام گردید. ۳۰ گرم دانه شنبلیله پس از پودر شدن با ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد. مخلوط حاضر پس از سرد شدن در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (۸۰۰۰ g) و در آون (˚C ۸۰) قرار گرفت تا آب تبخیر شده و عصاره تغلیظ شده بدست آید. عصاره گیری اتانولی طبق سورش و همکاران (۲۰۱۲) با کمی تغییر انجام گردید. ۳۰ گرم دانه شنبلیله آسیاب و با ۱۲۰ میلی لیتر اتانول ۹٦٪ مخلوط و سپس روی دستگاه همزن مغناطیسی به مدت ٢٤ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. مخلوط بدست آمده به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ (٤۰۰ rpm) و فاز اتانولی به ظرفی دیگر منتقل گردید و در نهایت اتانول موجود در عصاره استخراج شده به وسیله دستگاه روتاری در دمای ˚C ۵۰ تبخیر و عصاره خشک بدست آمده با استفاده از آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد.

ارزیابی حسی فیله‌های حاوی عصاره‌های آبی و اتانولی دانه شنبلیله

جهت تعیین حداکثر غلظت قابل قبول عصاره دانه شنبلیله بر خواص ارگانولپتیکی فیله کپور معمولی از ارزیابی حسی استفاده گردید. بدین منظور فیله شاهد و فیله‌های حاوی عصاره‌های آبی و اتانولی با غلظت‌های

www.SID.ir

Archive of SID

۱، ۲/۵ و ٤ درصد پس از بسته بندی به مدت ۲٤ ساعت در یخچال (٤ °C) نگهداری شدند. سپس فیله ها به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه بخارپز خانگی با دمای (۹۰ °C) پخته و توسط یک گروه ارزیاب آموزش دیده متشکل از ۱۰ نفر مورد ارزیابی قرار گرفتند. این افراد نظرات خود را برای طعم، بو، بافت، رنگ و مطلوبیت کل فیله ها روی پرسشنامه‌هایی که از قبل بر اساس روش هدونیک (استم ۱۹٦۹) تهیه شده بود منتقل کردند.

آماده سازی و تلقیح باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به فیله ها

باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1189) از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران- تهران تهیه شد. باکتری لیوفلیزه در محیط کشت BHI(Brain Heart Infusion broth) در دمای ۳۷ °C فعال گردید. سپس باکتری به محیط کشت BHIمنتقل و پس از دوبار پاساژ دادن در دمای ۳۷ °C به مدت ۸ ساعت، باکتریها سانتریفیوژ و پس از تهیه رقت سریالی جهت تلقیح به فیله ها (10^3 CFU/mL) استفاده گردید. به منظور حصول اطمینان از تعداد باکتری تلقیح شده به فیله کپور معمولی، تیمارها در شروع آزمایش مورد ارزیابی میکروبی قرار گرفتند.

اندازه گیری فراسنجه های میکروبی

۱۰ گرم فیله با ۹۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی مخلوط و همگن گردید. پس از تهیه رقت سریال، نمونه برای شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به روش کشت سطحی در پلیت‌های حاوی محیط کشت برد پارکر آگار منتقل و کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۳۷ °C برای شمارش کلنی ها گرمخانه گذاری شدند (وو و سو ۲۰۱٤). برای شمارش باکتری‌های کل (TVC) و باکتری های سرمادوست (PTC)، نمونه‌های تهیه شده بر روی محیط کشت نوترینت آگار به طور سطحی پخش و کشت داده شدند. سپس پلیت ها پس از ٤۸ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۵ °C برای باکتری‌های کل و پس از ۱۰ روز گرمخانه گذاری در دمای ٤ C برای باکتری‌های سرما دوست شمارش شدند (آراشیسار و همکاران ۲۰۰٤).

اندازه گیری فراسنجه های شیمیایی

برای اندازه گیری pH، مقدار ۵gr نمونه با ٤۵ ml آب مقطر در یک همزن به مدت ۱ دقیقه به خوبی مخلوط شدند. سپس pH نمونه‌ها با دستگاه pH متر دیجیتالی که در pH ٤ و ۷ کالیبره شده بود اندازه‌گیری گردید (آاوآسی ۲۰۰۵). تیوبار بیتوریک اسید (Thiobarbituric acid) مطابق روش نامولما و همکاران (۱۹۹۹) و مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) مطابق روش آاوآسی (۲۰۰۲) در کل دوره اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل داده ها

پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، برای بررسی تأثیر تیمارها و زمان نگهداری از طرح کاملا تصادفی و تجزیه واریانس یک طرفه (One way ANOVA) استفاده شد. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از آزمون دانکن برای مقایسه در سطح معنی‌دار پنج درصد و در صورت پیروی نکردن داده ها از توزیع نرمال و آنالیز داده‌های حسی، از آزمون ناپارامتریک کروسکال والیس استفاده شد. تجزیه تحلیل آماری داده های حاصله با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های حسی

در پژوهش حاضر به منظور تعیین حداکثر غلظت افزودن عصاره آبی و اتانولی دانه شنبلیله که فاقد تاثیرات نامطلوب بر ویژگی‌های حسی فیله کپور معمولی باشد ارزیابی حسی انجام گردید. نتایج جدول ۲ نشان داد که بالاترین امتیاز ویژگی طعم مربوط به فیله-های حاوی ٤ و ۲/۵ درصد عصاره اتانولی و ۲/۵ درصد عصاره آبی است. در ویژگی بو غلظت ٤ درصد عصاره اتانولی و ۲/۵ درصد عصاره آبی دارای بالاترین امتیاز بودند. نتایج ویژگی بافت و رنگ

www.SID.ir

Archive of SID

غلظت‌های ۲/۵ و ٤ درصد عصاره های اتانولی و آبی به ترتیب بیشترین پذیرش را در بین ارزیاب‌ها داشته اند. از نظر مطلوبیت کل غلظت ۲/۵ درصد هر دو عصاره بالاترین امتیاز را کسب نموده و بعنوان غلظت مناسب انتخاب گردیدند.

جدول ۲- ارزیابی حسی فیله های کپور معمولی تیمار شده با عصاره های اتانولی و آبی دانه شنبلیله

Table 2- Sensory evaluation of *Cyprinus carpio* fillets treated by aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum seed*

Treatments		Flavour	Odour	Texture	Colour	Overall acceptability
	Control	17.86	22.59	20.32	16.95	19.05
Ethanolic extracts (%)	1	22.95	19.50	21.68	25.09	22.14
	2.5	24.59	22.59	24.95	22.77	25.14
	4	24.59	25.32	23.05	25.18	23.68
Aqueous extract (%)	1	23.59	23.37	23.14	20.18	19.50
	2.5	24.09	26.91	23.50	22.64	26.91
	4	23.23	20.81	21.50	22.64	24.05

فراسنجه های میکروبی

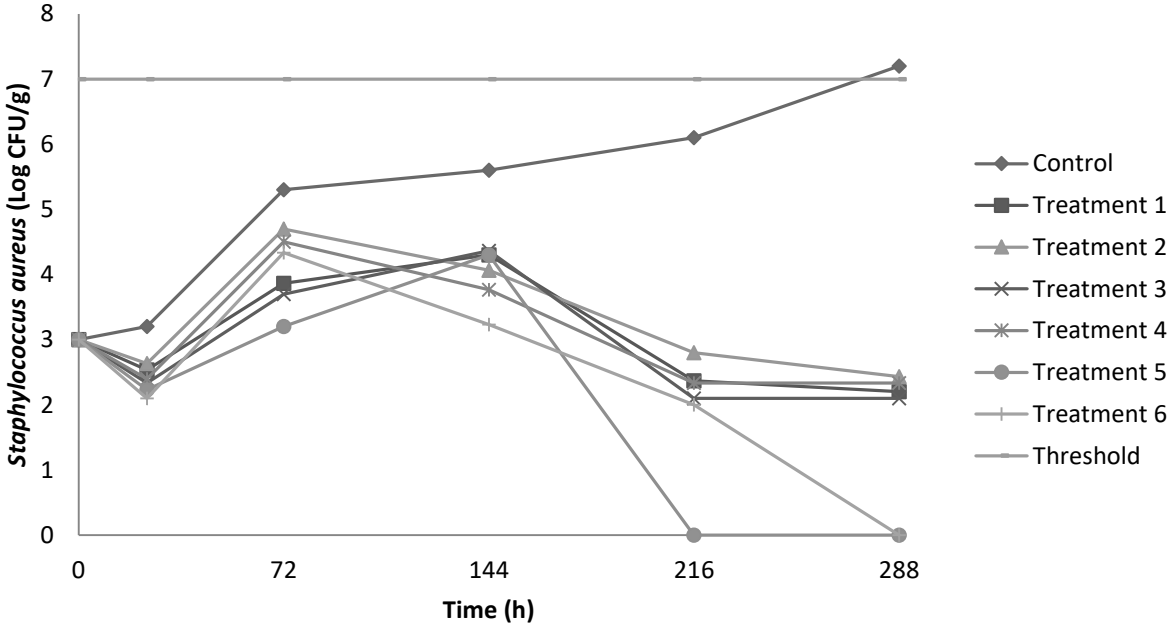
اندازه گیری رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمارهای مختلف

شکل ۱ تغییرات لگاریتم باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تیمارهای مختلف فیله کپور معمولی حاوی عصاره‌های اتانولی و آبی دانه شنبلیله را نشان می‌دهد. به طور کلی در تمام دوره آزمایش به استثنای ٢٤ ساعت اول شروع آزمایش تفاوت معنی داری (۰/۰۵ >P) در میزان رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بین تیمارهای دارای اسانس با تیمار فاقد اسانس مشاهده گردید. همچنین گذشت زمان تاثیر معنی‌داری (۰/۰۵ >P) بر میزان رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمارهای مختلف داشت. بعلاوه در پایان دوره آزمایش تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای دارای ۱ و ۲/۵ درصد عصاره آبی و اتانولی (۱ و ۳، ۲ و٤) و تیمارهای ۵ و ٦ (دارای ٤ درصد عصاره) مشاهده نشد، در حالی که بین تیمارهای دارای ۱ و ۲/۵ درصد عصاره با تیمار های دارای ٤ درصد عصاره تفاوت معنی داری (۰/۰۵ >P) وجود داشت. در هنگام نگهداری لگاریتم تعداد باکتری در تیمار ۱ افزایش یافت بطوریکه در انتهای دوره نگهداری به بیشترین مقدار خود رسید (۷/۲ logCFU/g). تعداد بار باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمارهای حاوی عصاره های اتانولی و آبی با افزایش غلظت کاهش یافت بطوریکه رشد آن در تیمارهای ۵ و ٦ به ترتیب پس از ۲۱٦ و ۲۸۸ ساعت متوقف گردید. علت این کاهش به طیف وسیع فعالیت ضدباکتریایی ترکیبات فنلی بستگی دارد. این ترکیبات در عصاره دانه شنبلیله شامل ساپونین از نوع اسپریروستانول می‌باشد که اثر ضدباکتریایی و ضدقارچی بالایی دارد (زو و همکاران ۲۰۱۲). این ترکیبات فعالیت ضدمیکروبی خود را بدین صورت اعمال میکنند که اولاً در غشاء دولایه فسفولیپیدی سلول اختلال ایجاد کرده که سبب افزایش نفوذپذیری سلول و از دست دادن برخی اجزاء سلولی می‌گردد. دوم اینکه سبب تخریب سیستم آنزیمی سلول می‌شوند، که این آنزیم‌ها در تولید انرژی و سنتز ترکیبات ساختاری سلول نقش دارند. و سوم این‌که این ترکیبات ضدمیکروبی سبب تخریب مواد ژنتیکی سلول می‌گردند (کیم و همکاران ۱۹۹۵). همچنین می‌تواند به دلیل تاثیر گالاکتومانان‌های محلول در آب موجود در دانه شنبلیله باشد که خاصیت ضدقارچی و باکتریایی دارند (حسن زاده و همکاران ۱۳۸۹). تاثیر عصاره اتانولی دانه

www.SID.ir

Archive of SID

شنبلیله بر رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* فیله کپور معمولی در مقایسه با عصاره آبی بیشتر بود. به طوریکه رشد باکتری در تیمار ٥ (غلظت ٤ درصد عصاره اتانولی) بعد از ٢١٦ ساعت نگهداری در یخچال متوقف گردید که علت آن می‌تواند روش استخراج و حلال مورد استفاده باشد. زیرا گیاهان دارای ترکیبات متعددی هستند که ساختارهای متفاوتی دارند. استخراج این ترکیبات به عوامل متعددی بستگی دارد که مهم‌ترین آن‌ها حلال و روش استخراج می‌باشد (آکویا و همکاران ٢٠٠٥؛ پروستوس و همکاران ٢٠٠٦). در مطالعه حاضر به استثنای فیله‌های شاهد میزان لگاریتم باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* کمتر از حد مجاز بود. در نتیجه غلظت ۱ درصد عصاره اتانولی و آبی حداقل غلظت‌هایی هستند که می‌توان از آن‌ها جهت کنترل رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده کرد.



شکل ۱- تاثیر عصاره‌های آبی و اتانولی دانه شنبلیله بر رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تلقیح شده در فیله کپور معمولی طی نگهداری در یخچال

Figure 1- Effect of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* seed on the growth of *Staphylococcus aureus* inoculated in *Cyprinus carpio* fillet during refrigerated storage

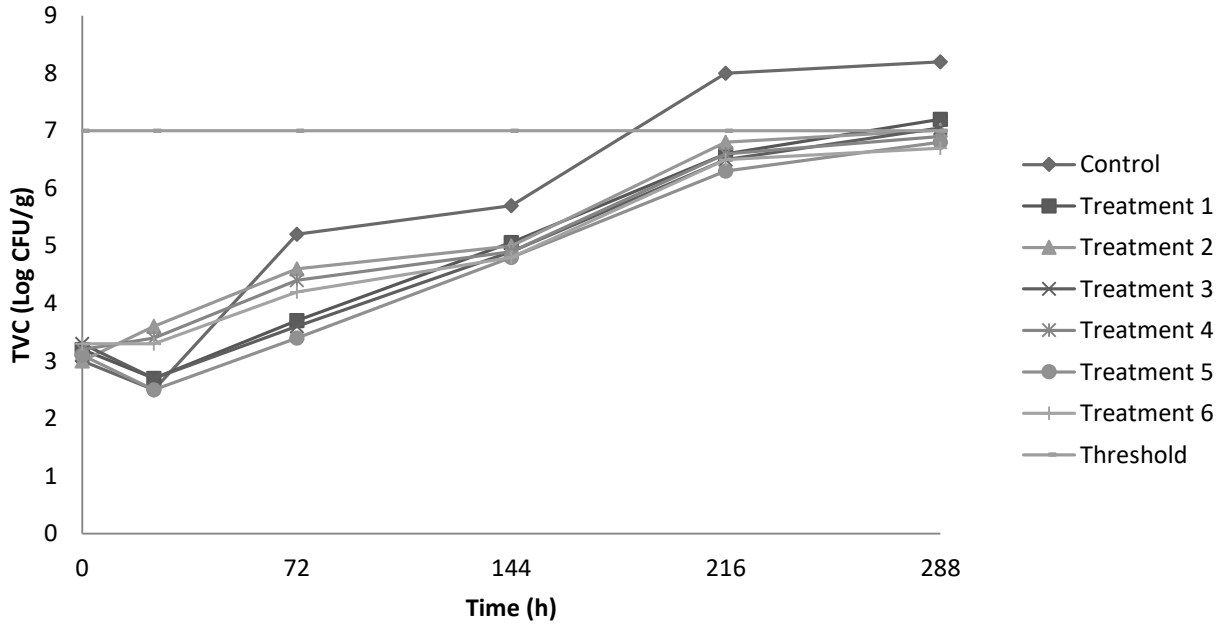
اندازه گیری تعداد بار باکتری‌های کل در تیمارهای مختلف

نتایج تغییرات بار باکتری‌های کل در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد که با گذشت زمان تعداد بار باکتری‌های کل در همه تیمارها افزایش یافته است (شکل ٢). به طور کلی در تمام دوره آزمایش به استثنای ٢٤ ساعت اول شروع آزمایش تفاوت معنی داری ($P< ۰/۰۵$) در میزان رشد بار باکتری‌های کل بین تیمارهای دارای اسانس با تیمار فاقد اسانس مشاهده شد. افزایش تعداد بار باکتریایی در تیمارهای حاوی عصاره اتانولی و آبی دانه شنبلیله در مقایسه با تیمار شاهد در ٢٨٨ ساعت نگهداری کمتر بود. همچنین گذشت زمان تاثیر معنی داری ($P< ۰/۰۵$) بر میزان رشد بار باکتری کل در تیمارهای مختلف داشت. اگر چه در پایان دوره آزمایش تفاوت معنی داری ($P< ۰/۰۵$) بین تیمار های دارای عصاره آبی و اتانولی دارای غلظت مشابه دیده نشد. حد قابل قبول تعداد بار باکتری‌های کل در فیله ماهی ٧ logCFU/g است (ساودیس و همکاران ٢٠٠٢). بیشترین تعداد باکتری‌های کل در تیمار شاهد (٨/١٦ logCFU/g) و کمترین تعداد در تیمار های ٥ و ٦

www.SID.ir

Archive of SID

(حاوی غلظت ٤ درصد عصاره‌ها) به ترتیب (logCFU/g ٦/٨٣ و ٦/٩٠) در پایان دوره (٢٨٨ ساعت) مشاهده گردید. در مطالعه حاضر تعداد بار باکتری‌های کل فیله‌های حاوی ٤ در صد عصاره اتانولی و آبی دانه شنبلیله کمتر از حد مجاز بوده است. زمان ماندگاری نمونه شاهد ٢١٦ ساعت درحالیکه تیمارهای ٥ و ٦ (غلظت ٤ درصد عصاره اتانولی و آبی) ٢٨٨ ساعت می باشد. نتایج نشان داد که افزودن عصاره رشد میکروبی را کاهش و ماندگاری فیله‌ها را افزایش داده است. به نظر می رسد خواص ضدمیکروبی عصاره دانه شنبلیله بر کاهش تعداد کل بار باکتریایی به واسطه‌ی تأثیر ترکیبات فنولی و ترپن ها در آن باشد (احمد دار و همکاران ٢٠١٦).



شکل ٢- تاثیر عصاره‌های آبی و اتانولی دانه شنبلیله بر بار باکتری‌های کل فیله کپور معمولی طی نگهداری در یخچال

Figure 2- Effect of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* seed on the TVC of *Cyprinus carpio* fillet during refrigerated storage

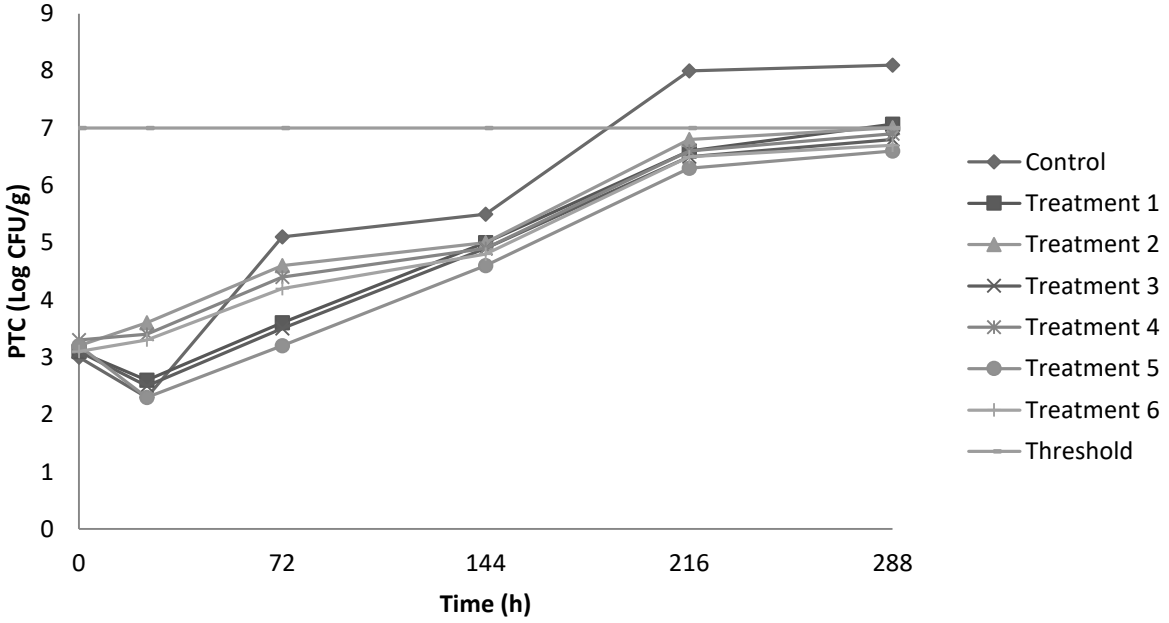
اندازه گیری تعداد باکتری‌های سرما دوست در تیمارهای مختلف

نتایج تعداد باکتری‌های سرما دوست در تیمارهای مختلف فیله حاوی عصاره اتانولی و آبی دانه شنبلیله نشان داد که بار باکتری‌های سرمادوست هنگام نگهداری در همه تیمارها افزایش یافته است (شکل ٣). همچنین تعداد باکتری‌های سرما دوست در تیمارهای حاوی عصاره در مقایسه با تیمار شاهد کمتر بود و تفاوت معنی داری را نشان داد ($P< ٠/٠٥$). ترکیبات فعال عصاره دانه شنبلیله با تاثیر بر لایه فسفولیپیدی غشاء باکتری باعث افزایش نفوذپذیری و از دست دادن ترکیبات سلولی می گردد. توقف سیستم‌های آنزیمی مختلف، از جمله اختلال در تولید انرژی سلولی و سنتز اجزای ساختاری و آسیب رساندن به مواد ژنتیکی، نیز توسط عصاره بواسطه گروه‌های فنولیک آن صورت می‌گیرد (کنگ و همکاران ٢٠١٠). بیشترین تعداد باکتری‌های سرما دوست در تیمار شاهد و کمترین تعداد در تیمارهای ٥ و ٦ (حاوی غلظت ٤ درصد عصاره اتانولی و آبی) در پایان دوره مشاهده گردید. حد قابل قبول پیشنهاد شده برای باکتری‌های سرما

www.SID.ir

Archive of SID

دوست در فیله ماهی logCFU/g ۷ است (ساودیس و همکاران ۲۰۰۲). در تحقیق حاضر تعداد باکتریهای سرمادوست در تیمار شاهد در ۲۸۸ ساعت نگهداری ۸/۱۳logCFU/g گزارش شد که بیشتر از تعداد قابل قبول برای محصولات شیلاتی می‌باشد. اما در تیمار های ۵ و ٦ (حاوی غلظت ٤ درصد عصاره اتانولی و آبی) تعداد باکتری‌های سرمادوست به ترتیب ٦/٦٣ logCFU/g و ٦/٧٣ بود.



شکل ۳- تاثیر عصاره‌های آبی و اتانولی دانه شنبلیله بر باکتری‌های سرمادوست فیله کپور معمولی طی نگهداری در یخچال
Figure 3- Effect of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* seed on the PTC of *Cyprinus carpio* fillet during refrigerated storage

اندازه گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار در تیمارهای مختلف

مقدار مجموع بازهای نیتروژنی فرار در تیمارهای حاوی عصاره اتانولی و آبی دانه شنبلیله نسبت به تیمار شاهد کمتر بود و هنگام نگهداری در همه تیمارها افزایش یافته است (جدول ۳). به طوریکه بیشترین و کمترین مقدار بازهای نیتروژنی فرار به ترتیب در تیمار شاهد (۳۲/۹۳ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی) و تیمار ۵ (۱٦/۸۰ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی) پس از ۲۸۸ ساعت نگهداری مشاهده گردید. تاثیر عصاره های اتانولی و آبی با گذشت زمان تاثیر معنی داری ($P< ۰/۰۵$) بر TVB-Nداشته به طوری که در پایان دوره نگه داری از تیمار شاهد کمتر بوده است. مجموع بازهای نیتروژنی فرار به عنوان یک ویژگی فساد است که دامنه وسیعی از ترکیبات پایه‌ای فرار از جمله آمونیاک، متیل آمین، دی‌متیل‌آمین، تری‌متیل‌آمین و دیگر ترکیبات مشابه که در اثر فعالیت‌های میکروبی و آنزیمی تولید می‌شوند و عصاره ها با تغییر ساختار جمعیتی باکتری‌ها و همچنین رشد آن‌ها در میزان مجموع بازهای نیتروژنی فرار تاثیر می گذارند (فان و همکاران ۲۰۰۸). مقدار مجموع بازهای نیتروژنی فرار در تیمارهای حاوی عصاره اتانولی کمتر از تیمارهای حاوی عصاره آبی با غلظت های مشابه بود. این تفاوت می تواند بعلت روش‌های استخراج عصاره باشد. اتانول با درجه ۷۰ در بین حلال‌های رایج جهت عصاره گیری مواد گیاهی، برای ترکیبات قطبی و غیر قطبی دارای بیشترین کارائی می‌باشند. بنابراین هر نوع اندازه گیری با عصاره اتانولی می‌تواند باعث

www.SID.ir

Archive of SID

استخراج ترکیبات قطبی و غیر قطبی و در نتیجه خواص آنتی اکسیدانی بیشتر شود (هاربورن ۱۹۹۸). همانطور که نتایج نشان داد در پایان دوره نگهداری تفاوت معنی‌دار ($P< ۰/۰۵$) بین تیمارهای حاوی عصاره با فاقد عصاره مشاهده گردید. عصاره دانه شنبلیه سرشار از فلاونوئیدهای پلی فنولیک می‌باشد که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده و می تواند ساختارهای سلولی را از آسیب اکسیداتیو محافظت کند (اسریچامرون و همکاران ۲۰۰۸) و منجر به کاهش میزان مجموع بازهای نیتروژنی فرار در فیله ماهی شود. بالاترین حد قابل قبول مجموع بازهای نیتروژنی فرار ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی ذکر شده است (خیمنر و همکاران ۲۰۰۲). در مطالعه حاضر به استثنای فیله‌های حاوی ۱ در صد عصاره آبی دانه شنبلیله و شاهد در سایر تیمارها میزان مجموع بازهای نیتروژنی فرار کمتر از حد قابل قبول بود. در نتیجه غلظت ۲/۵ درصد عصاره آبی و ۱ درصد عصاره اتانولی حداقل غلظت‌هایی هستند که می‌توان از آن‌ها جهت کنترل مجموع بازهای نیتروژنی فرار استفاده کرد.

جدول۳- تاثیر عصاره های آبی و اتانولی دانه شنبلیله بر TVB-N (میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی) فیله کپور معمولی طی نگهداری در یخچال

Table 3- Effect of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* seed on the TVB-N (mg N/100g flesh fish) of *Cyprinus carpio* fillet during refrigerated storage.

Treatments	Time (h)				
	24	72	144	216	288
Control	8.86 ± 0.99^{Ca}	10.73 ± 0.59^{Cb}	14.46 ± 1.53^{Dc}	21.90 ± 0.90^{Cd}	32.93 ± 3.32^{Ee}
1	7.9 ± 1.10^{BCa}	9.30 ± 0.99^{Ca}	12.10 ± 0.86^{Cb}	21.40 ± 1.62^{CEc}	23.33 ± 0.81^{Cc}
2	8.80 ± 0.85^{Ca}	10.70 ± 0.87^{Cb}	13.00 ± 1.00^{Cc}	21.40 ± 2.13^{Cd}	26.10 ± 0.46^{De}
3	6.50 ± 0.81^{ABa}	7.90 ± 1.29^{ABa}	10.70 ± 0.76^{Bb}	19.13 ± 0.86^{Bc}	19.10 ± 0.95^{Bc}
4	7.9 ± 0.95^{Ba}	9.30 ± 0.83^{Cb}	11.60 ± 0.86^{BCc}	20.06 ± 0.83^{BCd}	21.93 ± 0.90^{Ce}
5	6.00 ± 0.57^{Aa}	6.50 ± 0.95^{Aa}	9.30 ± 0.93^{Ab}	17.70 ± 0.64^{Ac}	16.80 ± 0.85^{Ac}
6	7.00 ± 0.50^{Ba}	7.90 ± 0.64^{ABa}	10.20 ± 0.83^{ABb}	17.20 ± 0.64^{Ac}	19.10 ± 2.25^{Bd}

Capital letters (A, B, C, D, E) in the same column indicate significant differences ($P<0.05$) of treatment.
Small letters (a, b, c, d, e) in the same line indicate significant differences ($P<0.05$) of storage.

اندازه گیری میزان تیوباربیتوریک اسید در تیمارهای مختلف

تیوباربیتوریک اسید بطور وسیعی برای ارزیابی درجه اکسیداسیون چربی در ماهیان به کار می رود و به کمک این ویژگی میزان مالون دی آلدهید اندازه گیری می‌شود (سلام ۲۰۰۷). در مرحله دوم اتواکسیداسیون، که هیدروپراکسیدها به آلدهید و کتون اکسیده می شوند، مالون دی آلدهید تشکیل می شود. محصولات ثانویه اکسیداسیون سبب ایجاد طعم و بوی نامطلوب در محصول می شوند (مکسیس و همکاران ۲۰۰۹). میزان تیوباربیتوریک اسید تیمارهای حاوی عصاره اتانولی و آبی دانه شنبلیله کمتر از شاهد بود. و با گذشت زمان به طور معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) در تمامی تیمارها افزایش یافت (جدول ٤). بیشترین مقدار تیوباربیتوریک در تیمار شاهد مشاهده گردید و تفاوت معنی داری ($P< ۰/۰۵$) با سایر تیمارها داشت. میزان پایین تیوباربیتوریک اولیه بیانگر تازگی و کیفیت خوب ماهی است. میزان ۱ تا ۲ میلی گرم مالون دی آلدهید بر کیلوگرم چربی به عنوان حد قابل قبول مقادیر تیوباربیتوریک اسید در ماهیان گزارش شده است (لاکشمنان ۲۰۰۰). بنابراین میزان تیوباربیتوریک اسید فیله های تیمار شده با عصاره های اتانولی و آبی دانه شنبلیله تا پایان زمان نگهداری در حد قابل قبول قرار داشتند. همچنین افزایش میزان تیوباربیتوریک اسید در فیله های حاوی عصاره اتانولی

www.SID.ir

Archive of SID

نسبت به عصاره آبی روند کندتری داشت. نتایج نشان دهنده تاثیر مثبت استفاده از عصاره اتانولی در نگهداری فیله می‌باشد.

جدول۴- تاثیر عصاره‌های آبی و اتانولی دانه شنبلیله بر TBA (میلی‌گرم مالون دی آلدهید در کیلوگرم گوشت ماهی) فیله کپور معمولی طی نگه داری در یخچال

Table4 – Effect of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* seed on the TBA (mg malonaldehyde/kg flesh fish) of *Cyprinus carpio* fillet during refrigerated storage.

Treatments	Time (h)				
	24	72	144	216	288
Control	0.40 ± 0.10^{Da}	0.91 ± 0.6^{Fb}	1.55 ± 0.10^{Dc}	2.52 ± 0.22^{Ed}	3.17 ± 0.37^{Fe}
1	0.27 ± 0.06^{Ba}	0.58 ± 0.08^{Db}	0.71 ± 0.07^{Cc}	1.19 ± 0.14^{BCd}	1.65 ± 0.34^{De}
2	0.32 ± 0.06^{Ca}	0.67 ± 0.11^{Eb}	0.78 ± 0.08^{Cc}	1.37 ± 0.34^{Dd}	1.82 ± 0.30^{Ee}
3	0.23 ± 0.08^{ABa}	0.52 ± 0.09^{Cb}	0.67 ± 0.12^{Cc}	1.21 ± 0.16^{Cd}	1.41 ± 0.32^{Ce}
4	0.27 ± 0.05^{Ba}	0.40 ± 0.08^{Bb}	0.63 ± 0.05^{Bc}	1.15 ± 0.15^{Bd}	1.36 ± 0.29^{Ce}
5	0.20 ± 0.06^{Aa}	0.36 ± 0.05^{Ab}	0.53 ± 0.06^{Ac}	0.72 ± 0.08^{Ad}	1.03 ± 0.24^{Ae}
6	0.27 ± 0.04^{Ba}	0.45 ± 0.05^{Bb}	0.58 ± 0.04^{Ac}	0.81 ± 0.10^{Ad}	1.21 ± 0.01^{Be}

Capital letters (A, B, C, D, E, F) in the same column indicate significant differences (P<0.05) of treatment.
Small letters (a, b, c, d, e) in the same line indicate significant differences (P<0.05) of storage.

جدول ۵- تاثیر عصاره های آبی و اتانولی دانه شنبلیله بر pH فیله کپور معمولی طی نگه داری در یخچال

Table 5- Effect of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* seed on the pH of *Cyprinus carpio* fillet during refrigerated storage

Treatments	Time (h)				
	24	72	144	216	288
Control	6.10 ± 0.15^{Aa}	6.03 ± 0.06^{Ab}	7.20 ± 0.17^{BCc}	7.43 ± 0.40^{Dd}	7.66 ± 0.15^{Ed}
1	6.20 ± 0.06^{Aa}	6.10 ± 0.23^{ABb}	7.30 ± 0.30^{Cc}	7.30 ± 0.21^{Bd}	7.40 ± 0.25^{Ce}
2	6.30 ± 0.15^{Ba}	6.20 ± 0.06^{Bb}	7.20 ± 0.23^{BCc}	7.40 ± 0.25^{Cd}	7.50 ± 0.12^{De}
3	6.20 ± 0.25^{Ab}	6.00 ± 0.12^{Ab}	7.00 ± 0.12^{Ac}	7.10 ± 0.15^{Ad}	7.20 ± 0.21^{Be}
4	6.20 ± 0.25^{ABa}	6.10 ± 0.17^{Ab}	7.20 ± 0.46^{BCc}	7.40 ± 0.06^{BCd}	7.30 ± 0.06^{Be}
5	6.10 ± 0.23^{Aa}	6.30 ± 0.31^{Bb}	6.90 ± 0.21^{Ac}	7.10 ± 0.17^{Ad}	6.20 ± 0.23^{Ae}
6	6.30 ± 0.06^{Ba}	6.20 ± 0.25^{ABb}	7.20 ± 0.10^{Bc}	7.30 ± 0.36^{Bd}	7.40 ± 0.23^{Ce}

Capital letters (A, B, C, D, E) in the same column indicate significant differences (P<0.05) of treatment.
Small letters (a, b, c, d, e) in the same line indicate significant differences (P<0.05) of storage.

اندازه گیری میزان pH در تیمارهای مختلف

میزان pH در همه تیمارها پس از ۷۲ ساعت کاهش و بعد از آن افزایش یافت (جدول ۵). که این افزایش احتمالاً می تواند به علت تولید ترکیبات فرار همچون آمونیاک و تری متیل آمین حاصل از فعالیت باکتری‌های مولد فساد، باشد (کاشله و همکاران ۲۰۱۷). میزان pH تیمارهای حاوی عصاره اتانولی و آبی دانه شنبلیله نسبت به تیمار شاهد کمتر بود. در پایان آزمایش (۲۸۸ ساعت نگهداری) بیشترین میزان pH در تیمار شاهد و کمترین میزان آن در تیمار ۵ (غلظت ٤ درصد عصاره اتانولی) مشاهده گردید. تجزیهٔ ترکیبات نیتروژنی طی نگهداری ماهی به افزایش pH گوشت منجر می‌شود که بخشی از این افزایش ممکن است با تولید ترکیبات قلیایی مرتبط باشد. چنین افزایشی در pH می‌تواند نشان دهندهٔ رشد باکتری‌ها، کاهش کیفیت و در نهایت فساد ماهی باشد (گرام و هاس ۱۹۹٦). کمتر بودن pH در نمونه های تیمارشده با عصارهٔ دانه شنبلیله را احتمالاً می توان به خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریال عصارهٔ دانه شنبلیله (احمد و همکاران ۲۰۱٦) مرتبط دانست. به طوری‌که، تیمارشدن فیله‌ها با عصارهٔ

www.SID.ir

Archive of SID

حاوی ترکیبات فنولی می‌تواند بازدارندگی میکروبی را افزایش دهد و به وسیلهٔ ترکیبات فنولی حفاظت فیله‌ها را در مقابل پروتئازهای داخلی بالا ببرد و در نهایت، مانع شکسته شدن پروتئین ها و تولید آمین‌ها گردد (بایدار و همکاران ۲۰۰٤).

نتیجه گیری کلی

عصاره های اتانولی و آبی دانه شنبلیله موجب بهبود ویژگی حسی و کاهش مجموع بازهای نیتروژنی فرار، تیوباربیتوریک اسید و pH فیله کپور معمولی پس از تیمار کردن گردید. میزان افزایش بار باکتری‌های کل و باکتری‌های سرما دوست طی نگهداری در فیله های حاوی عصاره کمتر از شاهد بود. عصاره ٤ درصد اتانولی و آبی به ترتیب پس از ۲۱٦ و ۲۸۸ ساعت موجب توقف رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* فیله کپور معمولی گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره اتانولی (٤ درصد) دانه شنبلیله تاثیر بیشتری بر فراسنجه های شیمیایی و میکروبی فیله کپور معمولی داشته و می تواند بعنوان نگهدارنده طبیعی در فرآورده-های شیلاتی استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه زابل (Grant code:UOZ-GR-9517-45) و همکاری کارشناسان محترم گروه شیلات و محیط زیست برای انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می گردد.

منابع مورد استفاده

حسن‌زاده ا، رضازاده ش، شمسا س ف، دولت آبادی ر، و زرین قلم ج، ۱۳۸۹. مروری بر خواص درمانی و فیتوشیمیایی شنبلیله (Fenugreek). فصلنامه گیاهان دارویی، ۲(۳٤)، ۱۸-۱.

رشیدی م، مصلحی شاد م، زیارتی پ، قمری ف، ۱۳۹۷. مطالعه اثرات آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی عصاره اتانولی چای ترش و علف چای بر علیه *سالمونلا انتریکا*، *باسیلوس سرئوس*، *اشرشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس*. نشریه پژوهش های صنایع غذایی، ۲۸ (۳)، ٤٥-۳۷.

Abreu JRD, Santos CDD, Abreu CMPD, Corrêa AD and Lima LCDO, 2012. Sugar fractionation and pectin content during the ripening of guava cv. Pedro Sato. Food Science and Technology (Campinas) 32(1): 156-162.

Ahmad A, Alghamdi SS, Mahmood K and Afzal M, 2016. Fenugreek a multipurpose crop: Potentialities and improvements. Saudi Journal of Biological Sciences 23(2): 300-310.

Ahmad Dar T, Uddin M, Khan MMA, Ali A and Varshney L, 2016. Modulation of alkaloid content, growth and productivity of *Trigonella foenum-graecum* L. using irradiated sodium alginate in combination with soil applied phosphorus. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 3(4): 200-210.

Akowuah GA, Ismail Z, Norhayati I and Sadikun A, 2005. The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. Food Chemistry 93(2): 311-317.

AOAC, 2002. Official Methods of Analysis of the Association of the Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists, (14th ed.), Washington, DC.

AOAC, 2005. Official Methods of Analysis of the Association of the Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists, (17th Ed), Washington, DC.

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. International Journal of Food Microbiology 97(2): 209-214.

Argudín MÁ, Mendoza MC and Rodicio MR, 2010. Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. Toxins (Basel) 2(7): 1751-1773.

www.SID.ir

Archive of SID

ASTM, 1969. Manual on Sensory Testing Methods. Pp. 34-42. American Society for Testing and Materials, 1916 Race Street, Philadelphia, pa. 19103.

Baydar NG, Özkan G and Sağdiç O, 2004. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape *(Vitis vinifera* L.) extracts. Food Control 15(5): 335-339.

Bhatti MA, Khan MTJ, Ahmed B, Jamshaid M and Ahmad W, 1996. Antibacterial activity of *Trigonella foenum-graecum* seeds. Fitoterapia 67(4): 372-374.

Fan W, Chi Y and Zhang S, 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophcthalmicthys molitrix*) during storage in ice. Food Chemistry 108(1): 148-153.

Gao M, Feng L, Jiang T, Zhu J, Fu L, Yuan D and Li J, 2014. The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano (*Trachinotus ovatus*) fillet during chilled storage. Food Control 37(1): 1-8.

Gram L and Huss HH, 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. International Journal of Food Microbiology 33(1): 121-137.

Giménez B, Roncalés P and Beltrán JA, 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. Journal of the Science of Food and Agriculture 82(10): 1154-1159.

Haouala R, Hawala S, El-Ayeb A, Khanfir R and Boughanmi N, 2008. Aqueous and organic extracts of *Trigonella foenum-graecum* L. inhibit the mycelia growth of fungi. Journal of Environmental Sciences 20(12): 1453-1457.

Harborne JB, 1998. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Thired edition. New York: Chapman and Hall.

Haute SV, Raes K, Devlieghere F and Sampers I, 2017. Combined use of cinnamon essential oil and MAP/vacuum packaging to increase the microbial and sensorial shelf life of lean pork and salmon. Food Packaging and Shelf Life 12: 51-58.

Kachele R, Zhang M, Gao Zh and Adhikari B, 2017. Effect of vacuum packaging on the shelf-life of silver carp *(Hypophthalmichthys molitrix)* fillets stored at 4 °C. LWT- Food Science and Technology 80: 163-168.

Khalafalla FA, Ali FHM and Hassan ARHA, 2015. Quality improvement and shelf-life extension of refrigerated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets using natural herbs. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences 4(1): 33-40.

Kim J, Marshall MR and Wei CI, 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. Journal of Agricultural and Food Chemistry 43(11): 2839-2845.

Kong M, Chen XG, Xing K and Park HJ, 2010. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. International Journal of Food Microbiology 144(1): 51-63.

Lakshmanan PT, 2000. Fish spoilage and quality assessment. Pp. 26-40. In TSG. Iyer, M. K. Kandoran, Mary Thomas, and P. T. Mathew (Eds.), Quality assurance in seafood processing. Cochin: Society Fisheries Technology, India.

Lee N and Park JW, 1998. Calcium compounds to improve gel functionality of pacific whiting and Alaska Pollock surimi. Journal of Food Science 63(6): 969-974.

Mexis SF, Chouliara E and Kontominas MG, 2009. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4°C. Food Microbiology 26(6): 598-605.

Mielnik MB, Aaby K and Skrede G, 2003. Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat. Meat Science 65(3): 1147-1155.

Modaresi M and Mahdian B, 2012. The effect of hydro-alcohol extract of *Trigonella foenum- graceum* L. on reproductive system in Balb/c. Journal of Herbal Drugs 2(4): 261-267.

Namulema A, Muyonga JH and Kaaya AN, 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at –13 and –27˚C. Food Research International 32(2): 151-156.

Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH and Hosseini SMH, 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry 120(1): 193-198.

www.SID.ir

Archive of SID

Ozogul Y, Yuvka İ, Ucar Y, Durmus M, Kösker AR, Öz M and Ozogul F, 2017. Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. LWT-Food Science and Technology 75: 677-684.

Proestos C, Boziaris IS, Nychas, GJE and Komaitis M, 2006. Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. Food Chemistry 95(4): 664-671.

Raeisi M, Tajik H, Aliakbarlu J, Mirhosseini SH and Hosseini SMH, 2015. Effect of carboxymethyl cellulose-based coatings incorporated with *Zataria multiflora* Boiss. essential oil and grape seed extract on the shelf life of rainbow trout fillets. LWT- Food Science and Technology 64(2): 898-904.

Randhir R, Lin YT and Shetty K, 2004. Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 13(3): 295-307.

Randhir R and Shetty K, 2007. Improved alpha-amylase and *Helicobacter pylori* inhibition by fenugreek extracts derived via solid-state bioconversion using *Rhizopus oligosporus*. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 16(3): 382-392.

Sánchez-González L, Vargas M, González-Martínez C, Chiralt A and Cháfer M, 2011. Use of essential oils in bioactive edible coatings: a review. Food Engineering Reviews 3(1): 1-16.

Sallam KI, 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control 18(5): 566–575.

Savvaidis IN, Skandamis P, Riganakos KA, Panagiotakis N and Kontominas MG, 2002. Control of natural microbial flora and *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged trout at 4 and 10°C using irradiation. Journal of Food Protection 65(3): 515-522.

Shi C, Zhang X, Zhao X, Meng R, Liu Z, Chen X and Guo N, 2017. Synergistic interactions of nisin in combination with cinnamaldehyde against *Staphylococcus aureus* in pasteurized milk. Food Control 71: 10-16.

Srichamroen A, Field CJ, Thomson ABR and Basu TK, 2008. The modifying effects of galactomannan from Canadian-grown fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) on the glycemic and lipidemic status in rats. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition 43(3): 167-174.

Suresh P, Kavitha ChN, Babu SM, Reddy VP and Latha AK, 2012. Effect of ethanol extract of *Trigonella foenum-graecum* (Fenugreek) seeds on Freund's adjuvant-induced arthritis in albino rats. Inflammation 35(4): 1314-1321.

Wu X and Su Y, 2014. Growth of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin production in pre-cooked tuna meat. Food Control 42: 63-70.

Xue W, Lei J, Li X and Zhang R, 2011. *Trigonella foenum-graecum* seed extract protects kidney function and morphology in diabetic rats via its antioxidant activity. Nutrition Research 31(7): 555-562.

Yadav UC and Baquer NZ, 2014. Pharmacological effects of *Trigonella foenum-graecum* L. in health and disease. Pharmaceutical Biology 52(2): 243-254.

Zhou J, Chan L and Zhou S, 2012. Trigonelline: a plant alkaloid with therapeutic potential for diabetes and central nervous system disease. Current Medicinal Chemistry 19(21): 3523-3531.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Food Researches/vol.29 No.4/ 2020/pp 29-43
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

Effect of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* seed on the quality of *Cyprinus carpio* fillet inoculated with *Staphylococcus aureus*

M Arbab[1], E Alizadeh Doughikollaee[*2] and M Shahriari Moghadam[3]

Received: January 31, 2018 Accepted: April 13, 2019
[1]MSc Student, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Iran
[2]Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Iran
[3]Associate Professor, Department of Environmental Science, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Iran
[*]Corresponding author: E-mail: alizadeh@uoz.ac.ir

Introduction: Carp, as one of the freshwater fish species, has been one of the most widely cultured species all over the world due to its fast growth rate, easy cultivation, high feed efficiency ratio as well as high nutritional value. Spoilage is the degradation of food such that the food becomes unfit for human consumption. Among the various foods, fresh fish are highly perishable. Fish spoilage can be caused by a number of means, autolytic enzymatic, lipid oxidation and microbial which results in numerous undesirable metabolites being produced in the food that cause unwanted flavors and odors. *Staphylococcus aureus* is an opportunistic pathogen and is responsible for a wide range of human infections and food poisoning. In recent years, despite the use of antibiotics, diseases and deaths from food-borne diseases have increased due to the emergence of antibiotic resistant strains. As a result, the use of alternative methods to prevent the growth of microorganisms and limit the increase in their resistance seems necessary. Using plant extracts that inhibit their growth can be effective and safe alternatives to fight pathogens, especially those associated with food-borne diseases. *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) is an important medicinal plant and its leaves and seeds have been used in various illnesses. This plant is widely distributed throughout the world and mainly found on the Asia. Fenugreek seeds contain active ingredients such as flavonoids, fiber, amino acids, hepatoprotective protection against free radicals, and protection against breast and colon cancer. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed on growth of *Staphylococcus aureus* inoculated (10^3 CFU/g) in *Cyprinus carpio* fillet during storage in refrigerator (4˚C).
Material and methods: The fresh Common carp (*Cyprrinus carpio*) with average weight of 900 ± 50 g and average length of 30 cm were purchased from market (Zabol, South east of Iran) and transported in isothermal iceboxes to the fish product processing laboratory at University of Zabol. The fish were cleaned and filleted manually using a sterile scalp. Maximum acceptable concentration of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed on the organoleptic properties of fillets was determined according to hedonic method. Fillet samples were randomly inoculated with *Staphylococcus aureus* (10^3 CFU/g) and then aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed were added to fillets according to: Treatement 1 (Ethanolic extract 1%), Treatement 2 (Aqueous extract 1%), Treatement 3 (Ethanolic extract 2.5%), Treatement 4 (Aqueous extract 2.5%), Treatement 5 (Ethanolic extract 4%), Treatement 6 (Aqueous extract 4%) and control (not treated with of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed extract). Fish fillets individually packed in polyethylene packs and then stored in refrigerator (4˚C) for subsequent quality assessment. Chemical (pH, thiobarbituric acid (TBA) and total volatile basic nitrogen (TVB-N)) and microbial parameters (*Staphylococcus aureus* count, total viable counts (TVC) and psychrophilic viable count (PTC)) were measured at 0, 72, 144, 216 and

www.SID.ir

Archive of SID

288 hours. All experiments were carried out in triplicate and the results are reported as the mean and standard deviation of these measurements. Data were analyzed using a one-way analysis of variance (ANOVA) with SPSS version 22 software. When differences were significant ($P<0.05$), the mean values were evaluated by Duncan's Multiple Range Test. Kruskal-Wallis test was used to sensory evaluation.

Results and discussion: In this study, the sensory evaluation was carried out to determine the maximum add concentration of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed that had no negative effects on the sensory properties of common carp fillet. The results of sensory analysis showed that the overall acceptability of fillets containing 2.5% of aqueous and ethanolic extracts had better organoleptic properties. The growth rate of *Staphylococcus aureus* was significantly different between treatments and control during the experiment (without of the first 24 hours). All concentrations of extract were effective on the growth of *Staphylococcus aureus* inoculated in *Cyprinus carpio* fillet during storage. The *Staphylococcus aureus* count decreased with increasing the concentration of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed during storage but the *Staphylococcus aureus* count increased in control. After 216 hours, the growth of *Staphylococcus aureus* was stopped in treatments containing high concentration extract. The 4% concentration of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed were inhibited the *Staphylococcus aureus* growth after 216 and 288 hours respectively. The lowest number of TVC and PTC were observed in the fillet containing 4% of ethanolic extract of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed. The shelf life of the control fillets was 216 hours while the treatments of 5 and 6 (4% concentration of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed) were acceptable level after 288 hours. The TBA and TVB-N values of fillets gradually increased during storage but this increase was lower in treatments containing extract. The fillet containing 4% of ethanolic extract of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed has lowest TBA and TVB-N values at the end of storage. Increasing the shelf life of fillets containing *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed extract can be due to the antibacterial and antioxidant properties of this plant seed. *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed extract is rich in polyphenolic flavonoids, which has antioxidant activity and can protect cellular structures from oxidative damage.

Conclusion: Aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed have been investigated as natural antimicrobial agents for food preservation. Based on the present study, the aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed improved the organoleptic properties and decreased the TBA and TVB-N values after treatment. High concentration of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed greatly enhanced the shelf life of *Cyprinus carpio* fillets inoculated with *Staphylococcus aureus* during refrigerated storage. However, our results showed that ethanolic extract have more antibacterial properties than the aqueous extract and was more effective in slowing down the growth of bacteria. Thus, the use of ethanolic extract of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) seed at concentration of 4% is recommended for increase the shelflife of *Cyprinus carpio* fillet during storage in refrigerator (4˚C).

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Sensory analysis, Fenugreek seed extract, *Cyprinus carpio*

www.SID.ir