Archive of SID

مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران | شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2020.343042.2797

جلد ۳۶، شماره ۵، صفحه ۷۳۳-۷۲۴ (۱۳۹۹) | شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0905.1399.36.724.103.5.1578.1583

تأثیر عصاره نعنا (*Mentha spicata* L.) در پوشش چندسازه‌ای کربوکسی متیل سلولز اسید اولئیک بر ماندگاری فیله ماهی طی دوره نگهداری در شرایط سرد

زهرا احمدی[۱] و داریوش خادمی شورمستی[۲*]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، علوم و صنایع غذایی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه کشاورزی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران، پست الکترونیک: dkhademi@gmail.com

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۹ | تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۳۹۹ | تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۹

چکیده

امروزه تمایل به استفاده از زیست نگهدارنده‌ها ازجمله عصاره‌های گیاهی به‌عنوان جایگزین پاداکسنده‌ها و ضدمیکروب‌های مصنوعی افزایش یافته است. از سوی دیگر افزودن چربی‌ها ازجمله اسید اولئیک به زیست‌بسپارها در بسته‌بندی‌های فعال، موجب کاهش نفوذپذیری آنها نسبت به بخار آب می‌شود. به‌منظور بررسی تأثیر پاداکسندگی و ضدمیکروبی عصاره نعناع دشتی در پوشش زیست‌چندسازه‌ای بر پایه کربوکسی متیل سلولز بر ماندگاری فیله ماهی کپور معمولی در شرایط سرد، آزمایشی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار شامل پوشش کربوکسی متیل سلولز (۲/۵٪) به تنهایی یا در ترکیب با اسید اولئیک (۱/۵٪) و غنی شده با سطوح ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد عصاره نعناع دشتی و ۳ تکرار در هر تیمار به‌مدت ۹ روز اجرا شد. نتایج نشان داد که اسید اولئیک اثر حفاظتی پوشش کربوکسی متیل سلولز را بهبود بخشید. به‌کارگیری عصاره نعناع دشتی در پوشش زیست چندسازه‌ای، به‌ویژه در بالاترین غلظت، به‌طور معنی‌داری ($P<0.05$) موجب کاهش شمار باکتری‌های سرمادوست، شاخص اسیدتیوباربیتوریک، اسیدهای چرب آزاد، مجموع ترکیب‌های ازته فرّار و pH فیله‌های ماهی کپور طی دوره نگهداری در شرایط سرد شد. تأثیر پاداکسندگی و ضدمیکروبی عصاره نعناع دشتی وابسته به غلظت بود. بنابراین عصاره نعناع دشتی با دارا بودن خواص پاداکسندگی و ضدمیکروبی در ترکیب با پوشش چندسازه‌ای کربوکسی متیل سلولز- اسید اولئیک، می‌تواند به‌عنوان یک زیست‌نگهدارنده در بسته‌بندی فعال، برای حفظ کیفیت و افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی طی نگهداری کوتاه‌مدت در یخچال مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اسید اولئیک، بسته‌بندی فعال، زیست‌چندسازه‌ای، کربوکسی متیل سلولز، نعناع (*Mentha spicata* L).

مقدمه

با توجه به مضرات نگهدارنده‌های شیمیایی، افزایش مقاومت برخی میکروب‌های بیماری‌زای مواد غذایی در برابر زیست‌پادها و همچنین افزایش آگاهی مردم، تصوری منفی از افزودنی‌های مصنوعی به مواد غذایی در مصرف‌کنندگان ایجاد کرده است و تمایل به نگهدارنده‌های طبیعی ازجمله عصاره‌های گیاهی برای افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی افزایش یافته است (Sulieman *et al*., 2011).

www.SID.ir

Archive of SID

نعناع دشتی یا پونه سنبله‌ای (*Mentha spicata* L) با نام محلی سرسم، متعلق به راسته نعناسانان، خانواده نعنائیان، جنس نعناع و گونه اسپیکاتا از گیاهان معطر است. این گیاه چندساله، علفی، پایا، با ساقه‌های چهارگوش و برگ‌های متقابل و دندانه‌دار پوشیده از کرک و بدون دمبرگ، دارای ریزوم و رونده است. گل‌های صورتی و سفید، به‌صورت سنبله‌های باریک و نوک‌دار است (Kee *et al*., 2017). این گونه از لحاظ ترکیب اسانس تفاوت‌هایی با سایر گونه‌ها دارد که مهمترین آن عدم وجود منتول و تشکیل شدن ترکیبی به نام کارون (Carvone) است. ترکیب‌های اصلی اسانس این گیاه ترکیب‌های فنولیک مانند کارون و بعد از آن لیمونن هستند. کارون، مونوترپن کتونی که بوی مخصوص گیاه را به آن نسبت می‌دهند، دارای ظرفیت بالقوه مهار رشد باکتریایی و عملکرد ضدقارچی است.

برخی ترپن‌های غیراشباع (مانند ترپینن‌ها)، ترپن‌های تک‌حلقه‌ای (مانند تیمول) و مونوترپن‌ها (مانند لیمونن، ۸،۱–سینئول و کارون) موجود به فعالیت پاداکسندگی کمک می‌کنند (Snoussi *et al*., 2015؛ Wu *et al*., 2019). در بررسی اثر پاداکسندگی و ضدباکتریایی نعناع دشتی نشان داده شد که عصاره آبی آن دارای قدرت پاداکسندگی در مقابل سامانه‌های اکسیداتیو هستند (Jebelli Javan *et al*., 2014). ضمن اینکه می‌توان از آنها به‌عنوان منابع قابل دسترس و طبیعی زیست‌پادی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا به‌ویژه با منشأ غذایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی استفاده کرد (Jebelli Javan *et al*., 2014؛ Mokhayeri *et al*., 2017). همچنین نشان داده شد که شاخص پراکسید، اسید تیوباربیتوریک، مجموع بازهای نیتروژنی و شمار باکتری کل و سرمادوست در سوریمی ماهی کیلکای حاوی عصاره ۴٪ نعناع دشتی به‌طور معنی‌داری از گروه شاهد کمتر بود (Zamani, 2019).

استفاده از بسته‌بندی فعال به‌منظور کاهش آلودگی میکروبی با هدف حذف افزودن مستقیم مواد نگهدارنده به ماده غذایی، کنترل و کاهش میزان انتشار ترکیب‌های ضدمیکروبی از ماده بسته‌بندی به داخل محصول و فراهم کردن غلظت‌های به‌نسبت بالای مواد فعال در محل مناسب، ازجمله روش‌هایی است که مورد بررسی محققان قرار گرفته‌است (Noshirvani *et al*., 2017). به‌منظور جلوگیری از آلودگی‌های زیست‌محیطی، استفاده از زیست‌بسپارهای زیست‌تخریب‌پذیر مانند سلولز و مشتقات آن، گزینه مناسبی به‌شمار می‌آیند. کربوکسی متیل سلولز یکی از ارزان‌ترین زیست‌بسپارهای کربوهیدراتی است که لفاف‌های با خواص و ظاهر مناسب تشکیل می‌دهد ولی مشکل اصلی آن همانند سایر زیست‌بسپارها، آب‌دوستی به‌نسبت بالای آن می‌باشد. یکی از مؤثرترین روش‌های کاهش نفوذپذیری لفاف‌ها نسبت به بخار آب، ترکیب‌کردن مواد لیپیدی با زیست‌بسپارها است (Ghanbarzadeh & Almasi, 2009).

نتایج تحقیقات نشان داد که اسید اولئیک می‌تواند به‌طور مؤثری خواص آب‌گریزی فیلم مرکب کربوکسی متیل سلولز اسید اولئیک (Ghanbarzadeh & Almasi, 2009) و فیلم زئین (Noshirvani *et al*., 2018) را افزایش دهد. تأثیر ضدباکتریایی و پاداکسندگی لفاف‌های خوراکی مرکب بر پایه کربوکسی متیل سلولز همراه با اسانس آویشن شیرازی و عصاره دانه انگور بر فیله ماهی قزل‌آلا (Raeisi *et al*., 2012) و عصاره مرزه بر فیله ماهی شعری معمولی (Baghlani *et al*., 2018) طی دوره نگهداری در شرایط سرد گزارش شد. ازاین‌رو این تحقیق به‌منظور بررسی تأثیر خواص ضدباکتریایی و پاداکسندگی سطوح افزایشی عصاره نعناع دشتی در پوشش فعال خوراکی مرکب کربوکسی متیل سلولز اسید اولئیک بر ماندگاری فیله ماهی کپور معمولی طی دوره نگهداری در شرایط سرد اجرا شد.

مواد و روش‌ها

مواد

در این مطالعه کربوکسی متیل سلولز با متوسط وزن مولکولی ۴۱۰۰۰ گرم بر مول از شرکت سیگما آلدریچ تهیه شد. گلیسرول، اسید اولئیک و توئین ۸۰ از نماینده شرکت مرک تهیه شدند. سایر مواد شیمیایی و محیط‌های کشت

www.SID.ir

Archive of SID

مورد نیاز با درجه خلوص تجزیه‌ای نیز از شرکت مرک تهیه شد. ماهی کپور معمولی از بازار ماهی‌فروشان و گیاه نعناع دشتی که در گویش مازندرانی به آن سرسم گفته می‌شود از بازار محلی ساری خریداری و در شرایط کاملاً بهداشتی به آزمایشگاه گیاه‌شناسی منتقل و از نظر علمی مورد تأیید قرار گرفت.

عصاره‌گیری

بعد از جداکردن برگ‌ها و شستشو با آب سرد، در آون با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شد. برگ‌های خشک شده توسط آسیاب‌برقی (پارس خزر، ایران) پودر و از الک (شماره ۳۵ سایز چشمه ۵۰۰ میکرون) عبور داده شدند. عصاره‌گیری به‌روش خیس کردن و با حلال اتانول انجام شد. بدین‌ترتیب که مقدار ۱۰۰ گرم از گیاه پودر شده پس از ۳۰ دقیقه ترکیب با کلروفرم و کلروفیل‌زدایی، با اتانول (۹۹/۸٪) به میزان چهار برابر وزن گیاه ترکیب و به‌مدت دو روز در دمای محیط هم زده شد. محلول بدست‌آمده توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ صاف شده و توسط دستگاه تقطیر در خلأ چرخان در دمای پایین عمل تغلیظ تا رسیدن به حدود ۵٪ مقدار اولیه عصاره ادامه یافت و پس از اتمام عصاره‌گیری، ماده بدست‌آمده وزن و تا هنگام مصرف در یخچال نگهداری شد (Mozdastan *et al*., 2015).

آماده‌سازی ماهی و تیمارها

تعدادی ماهی کپور معمولی تازه با میانگین وزنی ۱۰۰۰ گرم از بازار ماهی‌فروشان ساری خریداری شده و با جعبه‌های حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. بعد از عملیات مربوط به تخلیه شکمی و سرزنی، دو فیله از هر ماهی تهیه شد. پوشش‌ها با روش Ghanbarzadeh و Almasi (۲۰۱۱) با کمی تغییرات تهیه شد. بر حسب تیمارهای آزمایشی، مقدار ۲۵ گرم کربوکسی متیل سلولز به تنهایی یا همراه با ۱۵ میلی‌لیتر اسید اولئیک، توئین ۸۰ به‌عنوان امولسیفایر و گلیسرول (۳۰٪ وزنی/وزنی مواد زیست‌بسپار) به‌عنوان نرم‌کننده، به یک لیتر آب اضافه شد. محلول روی گرم‌کننده مجهز به همزن مغناطیسی به‌منظور انحلال کامل کربوکسی متیل سلولز به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از سردشدن محلول تا دمای اتاق عصاره نعناع دشتی با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد (حجمی/حجمی) جداگانه به محلول‌های پایه اضافه شد و به‌مدت ۴ دقیقه هم زده شد. برای ایجاد پوشش، ابتدا فیله‌ها به‌مدت ۱ دقیقه در محلول‌های تهیه شده غوطه‌ور گردیدند. سپس آنها را از محلول خارج نموده و پس از گذشت تقریباً ۲ دقیقه، دوباره ۱ دقیقه دیگر در محلول‌های پوششی قرار گرفتند. برای خشک کردن فیله‌ها آنها را پس از فرایند آب‌چک، به‌مدت ۵ ساعت تحت جریان ملایم هوا روی صفحات مشبک استریل قرار داده شدند و تا تشکیل پوشش بر روی فیله‌ها باقی ماندند (Jeon *et al*., 2002). پس از خشک شدن پوشش، تیمارها شامل پوشش کربوکسی متیل سلولز ۲/۵٪ (CMC)، پوشش کربوکسی متیل سلولز و اسید اولئیک ۱/۵٪ (CMC-OLE) و تیمارهای حاوی پوشش کربوکسی متیل سلولز اسید اولئیک غنی شده (CMC-OLE-EXT) با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد عصاره نعناع دشتی (در مجموع ۶ تیمار) به‌صورت جداگانه در کیسه‌های زیپ‌کیپ استریل قرار گرفته و به یخچال منتقل شده و به‌مدت ۹ روز در دمای ۲±۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و در فواصل زمانی ۳ روزه مورد ارزیابی میکروبی و شیمیایی قرار گرفتند.

آزمون میکروبی

برای آزمون میکروبی، ۱۰ گرم از نمونه فیله ماهی در شرایط استریل با ۹۰ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات مخلوط و هموژن شده و متعاقب آن رقّت‌های مورد نیاز تهیه گردید. ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های تهیه شده بر روی محیط کشت تریپتیک‌سوی آگار به‌طور سطحی پخش شد. شمارش باکتری‌ها به‌صورت log10 cfu/g گزارش گردید (Mac Faddin, 2000).

www.SID.ir

Archive of SID

آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری pH نمونه‌ها با استفاده از دستگاه pHسنج (مدل HANNA-instrument–رومانی) به‌روش Suvanich و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد؛ میزان کل بازهای نیتروژنی فرّار به‌روش Goulas و Kontominas (۲۰۰۵)، شاخص تیوباربیتوریک اسید به‌روش Siripatrawan و Noipha (۲۰۱۲) و اسیدهای چرب آزاد به‌روش Flick و همکاران (۱۹۹۴) اندازه‌گیری شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS16 انجام شد. به‌منظور بررسی اثر تیمارهای اعمال شده از روش تجزیه واریانس یک‌طرفه استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌های ۳ تکرار از هر تیمار، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شد.

نتایج

نتایج تأثیر تیمارهای آزمایشی بر تغییرات میانگین شمار باکتری‌های سرمادوست در جدول ۱ آمده است. در طی دوره نگهداری، در تمامی تیمارها، تعداد باکتری‌های سرمادوست روند افزایشی داشت. استفاده از اسید اولئیک و عصاره نعناع دشتی، به‌طور معنی‌داری کارایی ضدباکتریایی پوشش کربوکسی متیل سلولز را افزایش داد ($P<0.05$). در پایان دوره نگهداری، کمترین میانگین باکتری‌های سرمادوست در فیله‌های تیمار شده با پوشش چندسازه‌ای حاوی ۲٪ عصاره دیده شد ($P<0.05$).

در طی دوره نگهداری، میانگین عددی pH نیز به‌طور معنی‌داری در تمامی گروه‌ها افزایش یافت (جدول۲). میانگین عددی pH در فیله‌های حاوی پوشش چندسازه‌ای دارای غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی، به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر گروه‌ها بود ($P<0.05$). در بازه‌های زمانی مورد مطالعه، اختلاف معنی‌داری در میانگین عددی pH در فیله‌های حاوی پوشش چندسازه‌ای دارای ۱٪ و ۱/۵٪ عصاره دیده نشد. در حالیکه بکارگیری ۲٪ عصاره در ترکیب پوشش مرکب، موجب کاهش معنی‌دار pH شد ($P<0.05$).

میانگین مجموع ترکیب‌های ازته فرّار در تمامی فیله‌های تیمار شده روند افزایشی معنی‌داری داشت. اما سرعت افزایش این شاخص در فیله‌های حاوی پوشش چندسازه‌ای حاوی عصاره، به‌ویژه در بیشترین غلظت نسبت به سایر گروه‌ها کندتر بود ($P<0.05$). استفاده از اسید اولئیک و سطوح مختلف عصاره نعناع دشتی، به‌طور معنی‌داری کارایی پوشش کربوکسی متیل سلولز را افزایش داد (جدول ۳).

جدول ۱- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر تغییرات میانگین باکتری‌های سرمادوست (log10 cfu/g)

تیمارها	دوره نگهداری (روز) در شرایط سرد ۲±۴ درجه سانتی‌گراد			
	صفر	۳	۶	۹
CMC	۲/۵۳±۰/۰۴d	۴/۶۶±۰/۱۳Ac	۵/۹۰±۰/۰۷Ab	۷/۲۸±۰/۰۶Aa
CMC-OLE	۲/۵۵±۰/۰۵d	۴/۶۹±۰/۰۶Bc	۵/۵۹±۰/۱۱Bb	۷/۰۶±۰/۰۶Ba
CMC-OLE-EXT 0.5%	۲/۵۹±۰/۰۴d	۴/۰۴±۰/۰۶Cc	۵/۰۴±۰/۰۶Cb	۶/۷۲±۰/۱۶Ca
CMC-OLE-EXT 1%	۲/۶۰±۰/۰۲d	۳/۸۲±۰/۰۴Dc	۴/۵۶±۰/۲۲Db	۶/۳۴±۰/۱۱Da
CMC-OLE-EXT 1.5%	۲/۵۷±۰/۰۲d	۳/۳۸±۰/۱۵Ec	۴/۱۶±۰/۰۵Eb	۵/۹۵±۰/۰۶Ea
CMC-OLE-EXT 2%	۲/۵۷±۰/۰۲d	۳/۳۸±۰/۱۵Fc	۳/۹۳±۰/۰۴Fb	۵/۵±۰/۰۵Fa

حروف نامشابه abcd در هر ردیف و ABCDEF در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف است ($P<0.05$).

CMC: کربوکسی متیل سلولز، OLE: اسید اولئیک و EXT: عصاره نعناع دشتی

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر تغییرات میانگین pH

تیمارها	دوره نگهداری (روز) در شرایط سرد ۲±۴ درجه سانتی‌گراد			
	صفر	۳	۶	۹
CMC	۵/۹۲±۰/۰۳d	۶/۳۳±۰/۰۲Ac	۶/۵۷±۰/۰۱Ab	۷/۱۷±۰/۰۲Aa
CMC-OLE	۶/۰۲±۰/۰۳d	۶/۲۸±۰/۰۱Bc	۶/۴۸±۰/۰۰۵Bb	۶/۸۲±۰/۰۷Ba
CMC-OLE-EXT 0.5%	۵/۸۸±۰/۰۳۵d	۶/۲۵±۰/۰۱۵Cc	۶/۴۱±۰/۰۰۵Cb	۶/۷۲±۰/۰۱۵Ca
CMC-OLE-EXT 1%	۵/۹۹±۰/۰۴d	۶/۲۶±۰/۰۱Cc	۶/۴۱±۰/۰۳۵Cb	۶/۵۸±۰/۰۲۵Da
CMC-OLE-EXT 1.5%	۵/۹۰±۰/۰۱d	۶/۲۶±۰/۰۱Cc	۶/۴۴±۰/۰۲۵Cb	۶/۵۸±۰/۰۰۵Da
CMC-OLE-EXT 2%	۵/۹۸±۰/۰۵۵d	۶/۲۴±۰/۰۱Cc	۶/۳۳±۰/۰۲۵Db	۶/۰۵±۰/۰۱Ea

حروف نامشابه abcd در هر ردیف و ABCDEF در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف است ($P<0.05$).

CMC: کربوکسی متیل سلولز، OLE: اسید اولئیک و EXT: عصاره نعناع دشتی

جدول ۳- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر تغییرات میانگین مجموع بازهای نیتروژنی فرّار (mg N/ 100g)

تیمارها	دوره نگهداری (روز) در شرایط سرد ۲±۴ درجه سانتی‌گراد			
	صفر	۳	۶	۹
CMC	۱۲/۸۸±۰/۲۵d	۱۷/۲۱±۰/۶۳Ac	۳۰/۷۹±۰/۹۳Ab	۵۱/۱۱±۱/۲۶Aa
CMC-OLE	۱۳/۰۵±۰/۵d	۱۴/۴±۰/۱۸Bc	۲۶/۰۵±۰/۳۲۵Bb	۳۵/۴۶±۰/۱۹Ba
CMC-OLE-EXT 0.5%	۱۲/۵۸±۰/۱۱d	۱۳/۷۱±۰/۱۷Cc	۲۱/۳۳±۰/۵۵Cb	۳۰/۵۵±۰/۶۸Ca
CMC-OLE-EXT 1%	۱۲/۷۲±۰/۲۳d	۱۳/۶۹±۰/۱۴Dc	۱۷/۹۱±۰/۰۶۵Db	۲۴/۶۶±۰/۴۵Da
CMC-OLE-EXT 1.5%	۱۲/۷۵±۰/۲۱d	۱۳/۵۶±۰/۱۱Ec	۱۵/۸۰±۰/۲۲Eb	۲۰/۰۱±۰/۱۴Ea
CMC-OLE-EXT 2%	۱۲/۵۵±۰/۴۵d	۱۳/۶۰±۰/۳۷Fc	۱۵/۱۷±۰/۲۸Fb	۱۷/۹۴±۰/۰۷۰۵Fa

حروف نامشابه abcd در هر ردیف و ABCDEF در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف است ($P<0.05$).

CMC: کربوکسی متیل سلولز، OLE: اسید اولئیک و EXT: عصاره نعناع دشتی

جدول ۴- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر تغییرات میانگین شاخص اسید تیوباربیتوریک (mg MDA/ Kg)

تیمارها	دوره نگهداری (روز) در شرایط سرد ۲±۴ درجه سانتی‌گراد			
	صفر	۳	۶	۹
CMC	۰/۶۲±۰/۰۰۴d	۱/۳۳±۰/۰۲Ac	۱/۸۱±۰/۰۶Ab	۲/۴۹±۰/۰۴Aa
CMC-OLE	۰/۶۰±۰/۰۱۴d	۱/۱۸±۰/۰۰Bc	۱/۴۸±۰/۰۲Bb	۲/۰۶±۰/۰۴Ba
CMC-OLE-EXT 0.5%	۰/۶۰±۰/۰۱۳d	۱/۰۶±۰/۰۱Cc	۱/۲۸±۰/۰۶Cb	۱/۶۳±۰/۰۵Ca
CMC-OLE-EXT 1%	۰/۶۲±۰/۰۰۲d	۰/۹۶±۰/۰۱Dc	۱/۰۸±۰/۰۳Db	۱/۴۲±۰/۰۳Da
CMC-OLE-EXT 1.5%	۰/۶۴±۰/۰۰۹d	۰/۸۶±۰/۰۲Ec	۰/۹۶±۰/۰۱Eb	۱/۱۵±۰/۰۴Ea
CMC-OLE-EXT 2%	۰/۶۱±۰/۰۰۸d	۰/۷۸±۰/۰۳Fc	۰/۸۸±۰/۰۰۵Fb	۱/۰۱±۰/۰۳Fa

حروف نامشابه abcd در هر ردیف و ABCDEF در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف است ($P<0.05$).

CMC: کربوکسی متیل سلولز، OLE: اسید اولئیک و EXT: عصاره نعناع دشتی

www.SID.ir

Archive of SID

داده‌های جدول ۴ نشان داد که میانگین شاخص اسید تیوباربیتوریک طی دوره نگهداری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در هر بازه زمانی مورد مطالعه، کمترین مقدار عددی این شاخص در فیله‌های تیمار شده با پوشش مرکب حاوی غلظت ۲٪ عصاره دیده شد ($P<0.05$).

روند مشابهی در مورد تغییرات عددی میانگین اسیدهای چرب فرّار طی دوره نگهداری دیده شد (جدول ۵). کمترین میانگین اسیدهای چرب فرّار در فیله‌های تیمار شده با پوشش مرکب حاوی عصاره، به‌ویژه در بالاترین سطح بکار رفته در بازه‌های زمانی مورد مطالعه دیده شد ($P<0.05$).

به‌طورکلی، داده‌های جدول‌ها نشان داد که در شاخص‌های مورد بررسی، کارایی پوشش زیست‌بسپاری کربوکسی متیل سلولز با افزودن اسید اولئیک بهبود یافت.

جدول ۵- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر تغییرات میانگین اسیدهای چرب فرّار (oleic acid%)

تیمارها	دوره نگهداری (روز) در شرایط سرد ۲±۴ درجه سانتی‌گراد			
	صفر	۳	۶	۹
CMC	۰/۵۱±۰/۰۷d	۰/۸۳±۰/۰۴Ac	۱/۹۱±۰/۰۶Ab	۴/۰۹±۱/۵۱۵Aa
CMC-OLE	۰/۵۲±۰/۰۱d	۰/۷۱±۰/۰۱۰۵Bc	۱/۵۱±۰/۰۲۵Bb	۲/۲۶±۰/۰۵۵Ba
CMC-OLE-EXT 0.5%	۰/۵۳±۰/۰۳d	۰/۶۷±۰/۰۱۵Cc	۱/۲۹±۰/۰۴۵Cb	۱/۹۰±۰/۰۳۵Ca
CMC-OLE-EXT 1%	۰/۵۲±۰/۰۱۲d	۰/۵۸±۰/۰۰۲Dc	۱/۱۷±۰/۰۲Db	۱/۵۰±۰/۰۲Da
CMC-OLE-EXT 1.5%	۰/۵۲±۰/۰۱۵d	۰/۵۵±۰/۰۰۷Ec	۰/۸۳±۰/۰۵۵Eb	۱/۲۶±۰/۰۱۵Ea
CMC-OLE-EXT 2%	۰/۵۲±۰/۰۲d	۰/۵۶±۰/۰۰۸Fc	۰/۷۰±۰/۰۱۵Fb	۱/۱۱±۰/۰۳۵Fa

حروف نامشابه abcd در هر ردیف و ABCDEF در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف است ($P<0.05$).

CMC: کربوکسی متیل سلولز، OLE: اسید اولئیک و EXT: عصاره نعناع دشتی

بکارگیری عصاره نعناع دشتی در پوشش مرکب کربوکسی‌متیل سلولز- اسیداولئیک نیز موجب بهبود خواص و کارایی پوشش چندسازه‌ای حاصل شد و این بهبود کارایی وابسته به سطح عصاره مورد استفاده بوده و بالاترین کارایی در بالاترین غلظت عصاره مصرفی دیده شد.

بحث

باکتری‌های سرمادوست گرم منفی، گروه اصلی ریزاندامگان‌های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به‌صورت سرد هستند. بار باکتریایی مجاز برای باکتری‌های سرمادوست، ۷ log cfu/g گزارش شده است (Gimenez *et al.*, 2002). بر این اساس، بار میکروبی فیله‌های پوشش داده شده با کربوکسی متیل سلولز به‌تنهایی یا ترکیب شده با اسید اولئیک، فقط تا روز ششم دوره نگهداری در محدوده مجاز بوده، در حالیکه غنی‌سازی این پوشش مرکب با عصاره نعناع دشتی موجب افزایش زمان نگهداری فیله‌ها شد، به‌نحوی که تیمارهای حاوی عصاره تا انتهای دوره نگهداری در محدوده مجاز قرار داشتند. فعالیت ضدباکتریایی عصاره، احتمالاً با سطح مونوترپن‌های اکسیژنه شده و هیدروکربن‌های مونوترپنی در ارتباط است. به‌طور کلی رابطه نزدیکی بین فعالیت ضدباکتریایی و سطح کارون و لیمونن موجود در عصاره وجود دارد (Niksic *et al.*, 2018). در تطابق با نتایج این آزمایش، نتایج حاصل از مطالعات مختلف نشان داد که هرچه میزان مواد فنولی بالاتر باشد اثرهای ضدمیکروبی آنها نیز بیشتر است (Raeisi *et al.*, 2012). نتایج تحقیقات نشان داد که استفاده از عصاره

www.SID.ir

Archive of SID

مرزه (Baghlani *et al*., 2018)، اسانس دارچین و میخک (Mahjoob & Ataye Salehi, 2019) در لفاف‌های کربوکسی متیل سلولز موجب افزایش کارایی ضدباکتریایی آن شده و مشابه با این آزمایش، روند وابسته به سطح مورد استفاده دیده شد.

با افزایش زمان مقادیر pH در تمامی تیمارها افزایش یافت. افزایش pH در طی دوره نگهداری را می‌توان به‌دلیل افزایش تولید بازهای ازته فرّار (مانند آمونیاک، تری‌میتل آمین) حاصل از فعالیت باکتری‌های فاسدکننده گوشت نسبت داد. پایین بودن pH در فیله‌های تیمار شده با عصاره به خاصیت پاداکسندگی آن نیز مربوط می‌شود و به‌علت ترکیب‌های فنولی موجود در عصاره است که می‌تواند به‌واسطه ترکیب‌های فنولی، فیله ماهی را در مقابل عملکرد پروتئازهای داخلی حفاظت کند، در نتیجه باعث بازدارندگی از شکسته شدن پروتئین‌ها و تولید آمین‌ها گردد (Fan *et al*., 2009).

مجموع بازهای نیتروژنی فرّار، یکی از شاخص‌های اصلی بیان‌کننده کیفیت غذاهای دریایی و یکی از نشانگرهای اصلی تخریب و تجزیه گوشت محسوب می‌شود که متشکل از تری‌متیل آمین، دی‌متیل آمین، آمونیاک و سایر ترکیب‌های نیتروژنی فرّار مرتبط با فساد غذاهای دریایی می‌باشد که توسط باکتری‌های مولد فساد، آنزیم‌های اتولایتیک، آمین‌زدایی اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها تولید می‌شود که اغلب توسط فعالیت ریزاندامگان‌ها و به‌میزان کمتر توسط آنزیم‌های اتولایتیک انجام می‌شود (Ojagh *et al*., 2010). کمتر بودن میزان بازهای ازته فرّار در تیمار حاوی بالاترین غلظت عصاره نسبت به سایر تیمارها را می‌توان به‌دلیل کاهش جمعیت باکتری تیمارهای مذکور و یا کاهش توانایی اکسایشی باکتری‌ها در جدا کردن آمین‌ها از ترکیب‌های نیتروژنی غیرفرّار و یا هر دو عامل در نتیجه اثر عصاره بر باکتری‌های موجود در فیله نسبت داد. با افزایش غلظت عصاره به‌دلیل افزایش ترکیب‌های فنولی اثر ضدباکتریایی آن نیز افزایش یافت. به‌همین دلیل در تیماری که حاوی غلظت بیشتر عصاره بوده، میزان بازهای نیتروژنی کمتر بود (Burt, 2004). همانند نتایج این تحقیق، Baghlani و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که مقادیر pH و مجموع ترکیب‌های ازته فرّار در فیله ماهی‌های پوشش داده شده با کربوکسی متیل سلولز حاوی عصاره مرزه در پایان دوره کمتر از نمونه شاهد بود.

به‌طور کلی اعتقاد بر این است که فعالیت‌های ضدباکتریایی اسانس و عصاره گیاهی احتمالاً با میزان فنول‌ها، ترپن‌ها و آلدوکتون‌ها در ارتباط است. فعالیت ضدباکتریایی نعناع دشتی را می‌توان به حضور کارون و لیمونن نسبت داد. گزارش شده که کارون یکی از مؤثرترین عوامل ضدمیکروبی گیاهان مختلف است (Znini *et al*., 2011). البته سازوکار فعالیت ضدباکتریایی کارون به‌درستی و با جزئیات کامل شناخته نشده است. در عین حال ثابت شده که سازوکار عمل کارون بر روی رشد ریزاندامگان‌ها شامل بی‌ثبات‌سازی ساختار دولایه فسفولیپید، تعامل با غشاء آنزیم‌ها و پروتئین‌ها و عملکردش به‌عنوان یک مبدل پروتون کاهنده شیب غلظتی pH در غشاء است (Shahbazi, 2015).

حد مجاز مصرف گوشت ماهی از نظر میزان شاخص اسید تیوباربیتوریک تا ۲ میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید گوشت در نظر گرفته می‌شود (Fan *et al*., 2009). بر این اساس تمامی تیمارهای حاوی عصاره تا انتهای دوره نگهداری سالم باقی ماند، در حالیکه در تیمارهای فاقد عصاره، زمان نگهداری به ۶ روز محدود شد. در عین حال بکارگیری اسید اولئیک در پوشش کربوکسی متیل سلولز در روز ششم نگهداری به‌طور معنی‌داری کارایی آن را در کاهش این شاخص بهبود بخشید. زیرا لیپیدها به‌دلیل خاصیت بازدارندگی در مقابل نفوذ رطوبت و اکسیژن در ساختار لفاف‌های مرکب سبب کند شدن فرایند اکسندگی نیز می‌شوند. براساس نتایج تحقیقی، به روشنی مشخص شد که عصاره اتانولی اس- کارون جداشده از نعناع دشتی، دارای فعالیت پاداکسندگی قابل توجهی در سامانه‌های امولسیون اسید لینولئیک در شرایط آزمایشگاهی است (Elmastas *et al*., 2006). سازوکارهای پاداکسندگی عصاره نعناع دشتی،

www.SID.ir

Archive of SID

به توانایی هیدروژن‌دهندگی، توانایی شلاته کردن فلزی و اثربخشی آنها به‌عنوان جاروب‌کنندگان (Scavenger) سوپراکسید و رادیکال‌های آزاد نسبت داده می‌شود (Elmastas *et al*., 2005).

اسیدهای چرب آزاد نتیجه آب‌کافت آنزیمی تری‌گلیسریدها هستند. اگرچه تشکیل اسیدهای چرب آزاد، خود به‌تنهایی منجر به کاهش ارزش تغذیه‌ای نمی‌گردد، به‌نظر می‌رسد ارزیابی آن به‌ویژه در زمان توسعه فساد مهم باشد. در طی دوره نگهداری، افزودن اسید اولئیک و عصاره به پوشش کربوکسی متیل سلولز، سبب کندشدن روند افزایشی تولید اسید چرب آزاد و با افزایش غلظت عصاره نتایج بهتری مشاهده شد، به‌طوری که کمترین مقادیر در تیمار کربوکسی متیل سلولز–اسید اولئیک حاوی عصاره ۲٪ مشاهده شد. مطابق با نتیجه تحقیق Viji و همکاران (۲۰۱۶) این نتایج نشان داد که آب‌کافت چربی در فیله‌های تیمار شده با عصاره نعناع دشتی با میزان کمتری اتفاق افتاد. علاوه‌براین، اثرهای ضدمیکروبی عصاره نعناع باعث حفاظت بیشتر چربی از آب‌کافت باکتریایی در فیله‌ها شده، ازاین‌رو مقادیر اسیدهای چرب فرّار در فیله‌های تیمار شده با عصاره نعناع پایین‌تر بود.

نتایج کلی تحقیق نشان داد خاصیت آب‌گریزی اسید اولئیک موجب بهبود خواص ممانعتی پوشش کربوکسی متیل سلولز شد. همچنین بکارگیری غلظت‌های افزایشی عصاره نعناع دشتی، کارایی پاداکسندگی و ضدمیکروبی پوشش مرکب کربوکسی متیل سلولز– اسید اولئیک را افزایش داد. بنابراین با توجه به نتایج حاصل استفاده از پوشش زیست‌چندسازه‌ای کربوکسی متیل سلولز– اسید اولیئک غنی شده با ۲٪ عصاره نعناع دشتی به‌عنوان بسته‌بندی زیست‌تخریب‌پذیر برای نگهداری کوتاه‌مدت فرآورده‌های گوشتی در شرایط سرد پیشنهاد می‌شود.

منابع مورد استفاده

- Baghlani, N., Hosseini, S.M., Jafarpour, S.A, Mousavi, S.M. and Khodanazary, A., 2018. Effect of carboxymethyl cellulose edible coating enriched with *Satureja hortensis* extract on the biochemical, microbial and sensory characteristics of refrigerated *Lethrinus nebulosus* fillets. Journal of Food Sciences and Technology, 78(15): 191-203.
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial propertied and potential application in foods-a review. International Journal of Food Microbiology, 94(3): 223-253.
- Elmastas, M., Ozturk, L. and Gokce, I., 2005. Investigation of antioxidant properties of spearmint (*Mentha spicata* L.). Asian Journal of Chemistry, 17(1): 137-148.
- Elmastas, M., Dermirtas, I. and Isildak, O., 2006. Antioxidant activity of s-carvone isolated from spearmint (*Mentha Spicata* L. Fam Lamiaceae). Journal of Liquid Chromatography & Related Technologiesw, 29: 1465-1475.
- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. and Chi, Y., 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. Journal of Food Chemistry, 115: 66-70.
- Flick, G.J., Lovell, R.T., Enriquez-Ibarra, L.G. and Argarosa, G.C., 1994. Changes in the nitrogenous compounds in freshwater crayfish (*Procambarus clarkii*) tail meat stored in ice. Journal of Muscle Foods, 5(2): 105-118.
- Ghanbarzadeh, B. and Almasi, H., 2009. Investigating of physical properties of carboxymethyl cellulose-oleic acid composite biodegradable edible films. Journal of Food Sciences and Technology, 6(2): 35-42.
- Ghanbarzadeh, B. and Almasi, H., 2011. Physical properties of edible emulsified based on carboxymethyl cellulose and oleic acid. International Journal of Biological Macromolecules, 48: 44-49.
- Gimenez, B., Roncales, P. and Beltran, J.A., 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84: 1154-1159.
- Goulas, A.E. and Kontominas, M.G., 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): Biochemical and sensory attributes. Food chemistry, 93(3): 511-520.
- Jeon, Y.J., Kamil, J.Y. and Shahidi, F., 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality presevation of herring and Atlantic cod. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50: 5167-5178.
- Jebelli Javan, A., Ahmadi Hamedani, M., Bayan, M., Keykhosravy, K., Abdollahi, Z. and Kanani, M., 2014. Antioxidant and antimicrobial effects of different mints, themost widely used in Caspian Sea areas, Iran. Journal of Veterinary Laboratory Research, 6: 93-102.
- Kee, L.A., Shori, A.B. and Ahmad Salihin Baba, A.S., 2017. Bioactivity and health effects of *Mentha*

www.SID.ir

Archive of SID

- Shahbazi, Y., 2015. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of *Mentha spicata* essential oil against common food-borne pathogenic bacteria. Journal of Pathogens, 2015(2): 916305.
- Siripatrawan, U. and Noipha, S., 2012. Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. Food Hydrocolloids, 27(1): 102-108.
- Snoussi, M., Noumi, E., Trabelsi, N., Flamini, G., Papetti, A. and De Feo, V., 2015. *Mentha spicata* essential oil: chemical composition, antioxidant and antibacterial activities against planktonic and biofilm cultures of *Vibrio* spp. strains. Molecules, 20: 14402-14424.
- Sulieman, A.M.E., Abdelrahman, S.E. and Abdel Rahim, A.M., 2011. Phytochemical analysis of local Spearmint (*Mentha spicata*) leaves and detection of the antimicrobial activity of its oil. Journal of Microbiology Research, 1(1): 1-4.
- Suvanich, V., Jahncke, M.L. and Marshall, D.L., 2000. Changes in selected chemical quality characteristics of channel cat fish frame mince during chill and frozen storage. Journal of Food Science, 65(1): 24-29.
- Viji, P., Panda, S.K., Mohan, C.O., Bindu, J., Ravishankar, C.N. and Srinivasa Gopal, T.N., 2016. Combined effects of vacuum packaging and mint extracttreatment on the biochemical, sensory and microbial changes of chill stored Indian mackerel. Journal of Food Science and Technology, 53(12): 4289-4297.
- Wu, Z., Tan, B., Liu, Y., Dunn, J., Martorell Guerola, P., Tortajada, M., Cao, Z. and Ji, P., 2019. Chemical composition and antioxidant properties of essential oils from peppermint, native spearmint and scotch spearmint. Molecules, 24(15): 2825.
- Zamani, A., 2019. Assessment of spearmint (*Mentha spicata* L.) extract effect on chemical and bacterial quality of common kilka (*Clupeonella cultriventris*) surimi during short term storage in refrigerator. Journal of Fisheries Science and Technology, 8(2): 99-108.
- Znini, M., Bouklah, M., Majidi, L., Kharchouf, S., Aouniti, A., Bouyanzer, A., Hammouti, B., Costa, J. and Al-Deyab, S.S., 2011. Chemical composition and inhibitory effect of *Mentha spicata* essential oil on the corrosion of steel in molar hydrochloric acid. International Journal of Electrochemical Science, 6(3): 691-704.

spicata. Integrative Food, Nutrition and Metabolism, 5(1): 1-2.
- Mac Faddin, J.F., 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. Lippincott Williams & Wilkins, 912p.
- Mahjoob, R. and Ataye Salehi, E., 2019. The effect of carboxymethyl cellulose film containing essential oils of cinnamon and cloves on the shelf life of refrigerated beef. Journal of Food Technology and Nutrition, 16(3): 103-111.
- Mokhayeri, K., Koohsari, H. and Seyyed Alangi, S.Z., 2017. Determination of chemical composition and minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of *Mentha spicata* L. essential oil against *Staphylococcus* and *Escherichia coli.* Journal of Food Microbiology, 4(4): 9-19.
- Mozdastan, S., Ebrahimzadeh, M.A. and Khalili, M., 2015. Comparing the impact of different extraction methods on antioxidant activities of myrtle (*Myrtus communis* L.). Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 25(127): 10-24.
- Niksic, Ha., Duric, K., Omeragic, E., Niksic, He., Muratovic, S. and Becic, F., 2018. Chemical characterization, antimicrobial and antioxidant properties of *Mentha spicata* L. (Lamiaceae) essential oil. Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina, 50: 443-448.
- Noshirvani, N., Ghanbarzadeh, B., Rezaei Mokarram, R., Hashemi, M. and Coma, V., 2017. Preparation and characterization of active emulsified films based on chitosan-carboxymethyl cellulose containing zinc oxide nano particles. International Journal of Biological Macromolecules, 99: 530-538.
- Noshirvani, N., Ghanbarzadeh, B., Rezaei Mokarram, R. and Hashemi, M., 2018. Antimicrobial, antioxidant and physical properties of chitosan-carboxymethyl cellulose-oleic acid based films incorporated with cinnamon essential oil. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 13(1): 41-52.
- 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. Food Chemistry, 120: 193-198.
- Raeisi, M., Tajik, H. and Aliakbarlu, J., 2012. Antibacterial effect of carboxymethyl cellulose coating enriched by *Zataria Multiflora* essential oil and grape seed extract. Medical Laboratory Journal, 6(2): 28-35.

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of *Mentha spicata* L. extract in carboxymethyl cellulose-oleic acid composite coating on the shelf life of fish fillets during cold storage

Z. Ahmadi[1] and D. Khademi Shurmasti[2*]

1- M.Sc. graduated, Food Science and Industry, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran
2*- Corresponding author, Department of Agriculture, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran
E-mail: dkhademi@gmail.com

Received: May 2020 Revised: July 2020 Accepted: July 2020

Abstract

Today, the tendency has increased to the use of bio-preservatives, including plant extracts, as an alternative to synthetic antioxidants and antimicrobials. On the other hand, the addition of lipids, such as oleic acid to biopolymers in active packaging reduces their permeability to water vapor. To investigate the antioxidant and antimicrobial effect of *Mentha spicata* L. extract in bio-composite carboxymethyl cellulose-based coating on the shelf life of common carp fillets in cold conditions, an experiment was conducted in a completely randomized design with six treatments including carboxymethyl cellulose coating (CMS, 2.5%), CMS combined with oleic acid (OA, 1.5%), CMS combined with OA and enriched with 0.5, 1, 1.5 and 2% *Mentha spicata* extract, and three replications for 9 days. The results showed that OA improved the protective effect of CMS. The use of *Mentha spicata* extract in the bio-composite coating, especially at the highest concentrations, significantly (p <0.05) reduced the number of psychrotrophic bacteria, the index of thiobarbituric acid, free fatty acids, total volatile nitrogen compounds, and pH of common carp fillets during cold storage. The antioxidant and antimicrobial effect of *Mentha spicata* extract was dose-dependent. Therefore, *Mentha spicata* extract, with its antioxidant and antimicrobial properties in combination with the composite coating of CMS-OA, can be used as a bio-preservative in active packaging, to maintain quality and increase the shelf life of fish fillets during short-term storage in refrigeration.

Keywords: Oleic acid, active packaging, bio-composite, carboxymethyl cellulose, *Mentha spicata* L.

www.SID.ir