

اثرات ضد اکسیداسیونی و ضد باکتریایی عصاره جعفری بر فیله ماهی کپور نقره‌ای در طول نگهداری در دمای یخچالی (4 ± 1 درجه سانتی‌گراد)

سهیل اسکندری¹، هدایت حسینی²، سید ابراهیم حسینی³، آمنه شیرایی کسمایی⁴

1- استادیار گروه شیمی غذا با منشاء دامی، مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، سازمان غذا و دارو وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

2- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

3- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران

4- نویسنده مسئول: دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران
پست الکترونیک: sh_kasmaei@yahoo.com

تاریخ پذیرش: 92/4/25

تاریخ دریافت: 92/1/20

چکیده

سابقه و هدف: ماهیان بسیار فسادپذیر بوده و برای جلوگیری یا به تعویق انداختن فساد آنها استفاده از مواد نگهدارنده طی نگهداری ضروری است. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر ضد اکسیدانی و ضد باکتریایی عصاره جعفری به عنوان نگهدارنده طبیعی بر افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی کپور نقره‌ای نگهداری شده در دمای 4 ± 1 درجه سانتی‌گراد بود.

مواد و روش‌ها: نمونه‌ها در 2 گروه شاهد (غوطه‌ور در آب مقطر) و مورد (غوطه‌ور در عصاره جعفری 1 درصد) تقسیم و در معرض هوا بسته‌بندی و در دمای یخچال نگهداری شدند. در یک دوره 15 روزه آزمون‌های شیمیایی (FFA، TVB-N، TBA، PV) و میکربی (TVC، PTC) انجام پذیرفت.

یافته‌ها: عصاره جعفری به طور معنی‌داری ($p<0/05$) اکسیداسیون چربی را در فیله‌های تیمار شده به تأخیر انداخت. مقادیر FFA و TVB-N در تیمار جعفری در مقایسه با نمونه کنترل، تغییرات کمتری طی زمان نگهداری نشان دادند (به ترتیب $16/23\pm 0/02$ در مقابل $32/50\pm 0/07$ میلی‌گرم در 100 گرم گوشت ماهی و $1/02\pm 0/00$ در مقابل $1/91\pm 0/04$ درصد اسید اولئیک) ($p<0/05$). بر اساس نتایج آزمون میکربی نمونه‌های تیمار شده تا روز 12 و نمونه کنترل تا روز 6 نگهداری، قابل مصرف بودند.

نتیجه‌گیری: از عصاره جعفری می‌توان به عنوان نگهدارنده طبیعی، جهت افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی کپور نقره‌ای استفاده کرد.

واژگان کلیدی: کپور نقره‌ای، عصاره جعفری، ضد اکسایش، ضد باکتریایی

• مقدمه

مراکز فروش استفاده و سبب کاهش سرعت فعالیت‌های آنزیمی و شیمیایی و فعالیت موجودات ذره‌بینی خواهد شد اما به دلیل عدم توانایی یخچال برای کاهش دمای ماهی به مقدار لازم، تغییرات نامطلوبی از جمله اکسیداسیون و هیدرولیز چربی به آرامی صورت می‌گیرد، که این امر باعث کاهش کیفیت ماهی می‌شود (3). در سال‌های اخیر مصرف‌کنندگان نسبت به استفاده از افزودنی‌های

ماهیان نسبت به فساد بسیار حساس بوده و سریع‌تر از سایر غذاهای گوشتی فاسد می‌شوند (1). معمولاً بروز واکنش‌های آنزیمی و شیمیایی، سبب افت اولیه در تازگی ماهی می‌شود در حالی که فعالیت‌های میکربی مسئول فساد ثانویه و تعیین‌کننده زمان ماندگاری ماهی هستند (2). نگهداری در سرما از روش‌هایی است که در مراکز عرضه ماهی و یا جهت انتقال ماهی از مراکز پرورش تا

مصنوعی در غذاها ابراز نگرانی می‌کنند (4) و بنابراین تمایل برای افزودنی‌های طبیعی مانند ادویه‌ها و عصاره‌های آن‌ها، که به عنوان ضد اکسیدان‌های طبیعی در غذاها به کار می‌روند، افزایش یافته است (5). از سوی دیگر تحقیقات نشان داده است که اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان معطر، دارای فعالیت بیولوژیکی و فعالیت‌های ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضد اکسیدانی هستند (6).

جعفری گیاهی است که به میزان زیادی کاشته شده و معمولاً برای طعم بخشیدن به غذا در چین، مکزیک، آمریکای جنوبی، هند و جنوب شرقی آسیا استفاده می‌شود و تأثیر خوبی بر طعم دارد (7). بخش‌های هوایی این گیاه یکی از متداول‌ترین سبزی‌های خوراکی در رژیم غذایی مردم دنیا است (8). اسیدهای فنولیک آزاد و یا مشتقات استری و اتری آن‌ها، که با مقادیر مختلف در تمام بافت‌های گیاهی یافت می‌شوند، در هنگام مواجهه گیاه با استرس‌های محیطی طبق الگوی ویژه‌ای سنتز می‌شوند. تحقیقات انجام شده حاکی از آن است که ترکیبات فنولیک استخراج شده از جعفری، مسئول فعالیت‌های ضد باکتریایی و ضد اکسیدانی آن می‌باشند (9) که از این ترکیبات می‌توان به آپیول (Apiol)، مرستیسین (Meristicin)، آلفا پاین و بتا پاین اشاره کرد (10).

ماهی کپور نقره‌ای یکی از مهم‌ترین ماهیان پرورشی کشور است که به علت استفاده از رژیم غذایی کم هزینه به مقدار زیاد پرورش می‌یابد. از نظر تولید بالای سالیانه و قابلیت دسترسی برای مصرف‌کننده و پراکنش مناسب از اهمیت زیادی بین پرورش‌دهندگان برخوردار است و اغلب به صورت ماهی تازه فیله شده یا کامل، توسط مصرف‌کنندگان از مغازه‌های خرده‌فروشی خریداری می‌شود (11). این امر سبب شد ماهی کپور نقره‌ای به عنوان گونه مورد مطالعه انتخاب و اثر عصاره جعفری بر افزایش زمان ماندگاری این ماهی و در نتیجه جلوگیری از ضررهای اقتصادی ناشی از فساد آن مورد بررسی قرار گیرد.

• مواد و روش‌ها

آماده‌سازی و تیمار نمودن نمونه‌ها: تعداد 36 عدد ماهی کپور نقره‌ای با میانگین وزنی 1100 گرم از یکی از استخرهای پرورش ماهی استان گیلان در آبان ماه 1390، به طور تصادفی نمونه برداری و درون جعبه‌های حاوی یخ به تهران منتقل شد. عمل آماده‌سازی نمونه‌ها شامل

شستشو با آب، فلس‌کشی، تخلیه شکمی، قطع سر و دم، فیله کردن و آبکشی نهایی روی ماهی‌ها انجام و فیله‌ها به دو بخش تقسیم شدند. یک قسمت از فیله‌ها به عنوان نمونه کنترل در آب مقطر و قسمت دیگر به عنوان نمونه تیمار در عصاره جعفری (1% حجمی - حجمی) تهیه شده از شرکت ماگنولیا (ساوه-ایران)، به مدت 30 دقیقه غوطه‌ور و سپس در بسته‌های پلی اتیلن با دانسیته کم (LDPE) بسته‌بندی و برچسب‌گذاری و در دمای 4 ± 1 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 روز نگهداری شدند. در روزهای صفر (روز نخست آزمایش)، 3، 6، 9، 12 و 15، آزمون‌های شیمیایی و میکربی با سه تکرار بر روی نمونه‌های هر قسمت انجام شد.

آزمون‌های میکربی: نمونه‌برداری جهت انجام آزمون‌های میکرب‌شناسی با توجه به روش کار Sallam (2007) و Ojagh و همکاران (2010) انجام و پس از تهیه رقت‌های اعشاری متوالی، 1 cc از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت به محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA) اضافه شد. پلیت‌ها برای شمارش باکتری‌های هوازی مزوفیل، به مدت 48 ساعت در دمای 37°C و برای شمارش باکتری‌های سرماگرا به مدت 10 روز در دمای 7°C قرار داده شدند (12، 13).

آزمون‌های شیمیایی: آزمون‌های اندازه گیری اسیدهای چرب آزاد و پراکسید با توجه به روش کار ارائه شده توسط Egan و همکاران (1997)، میزان کل بازهای نیتروژنی فرار توسط روش Jeon و همکاران (2002) و میزان تیوباربتوریک اسید به روش Krik و Sawyer (1991) اندازه‌گیری شدند (14-16). استخراج چربی با روش کلروفرم - متانول انجام شد. اندازه گیری اسیدهای چرب آزاد بر اساس میزان مصرفی سود نرمال، برحسب درصد اسید اولئیک محاسبه شد. برای اندازه گیری پراکسید نمونه روغن استخراج شده ماهی از محلول اسیداستیک کلروفرم (نسبت اسیداستیک به کلروفرم 3 به 2) استفاده و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم 0/01 نرمال تیتروید. برای اندازه گیری مقدار تیوباربتوریک اسید، پس از آماده‌سازی اولیه؛ مقدار جذب در طول موج 530 نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در مقابل آب مقطر خوانده شد (16). (14). برای اندازه‌گیری میزان کل بازهای نیتروژنی فرار عصاره عضله ماهی تهیه و بازهای فرار توسط اسید تیتروید شدند که

جدول 2. تغییرات مقادیر PTC (log CFU/g) طی دوره نگهداری (روز)

روز	کنترل n=3	نمونه حاوی عصاره جعفری n=3
0	3/00 ± 0/00 ^{Aa}	2/89 ± 0/00 ^{Aa}
3	4/82 ± 0/05 ^{Bb}	3/84 ± 0/01 ^{Ba}
6	5/87 ± 0/02 ^{Cb}	4/66 ± 0/01 ^{Ca}
9	6/42 ± 0/02 ^{Db}	5/11 ± 0/03 ^{Da}
12	7/55 ± 0/05 ^{Eb}	5/93 ± 0/00 ^{Ea}
15	8/07 ± 0/06 ^{Fb}	6/77 ± 0/01 ^{Fa}

داده ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار است.
حروف بزرگ مختلف در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی دار در زمان های مختلف و حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار در دو تیمار است.

میزان اسیدهای چرب آزاد FFA (Free fatty acids) با گذشت زمان در هر دو تیمار به طور معنی داری ($p < 0/05$) افزایش یافت. این افزایش در تیمار کنترل، شدت بیشتری داشت به طوری که در پایان دوره به $1/91 \pm 0/04$ درصد بر اساس اسید اولئیک رسید. مقدار اسید های چرب آزاد در تیمار کنترل و تیمار جعفری به جز روز صفر در سایر زمان ها تفاوت معنی دار ($p < 0/05$) نشان داد (جدول 3).

جدول 3. تغییرات مقادیر FFA (بر اساس درصد اسید اولئیک) طی دوره نگهداری (روز)

روز	کنترل n=3	نمونه حاوی عصاره جعفری n=3
0	0/62 ± 0/02 ^{Aa}	0/60 ± 0/02 ^{Aa}
3	0/81 ± 0/02 ^{Bb}	0/69 ± 0/01 ^{Ba}
6	0/94 ± 0/02 ^{Cb}	0/75 ± 0/01 ^{Ca}
9	1/52 ± 0/05 ^{Db}	0/87 ± 0/01 ^{Da}
12	1/66 ± 0/02 ^{Eb}	0/97 ± 0/00 ^{Ea}
15	1/91 ± 0/04 ^{Fb}	1/02 ± 0/00 ^{Fa}

داده ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار است.
حروف بزرگ مختلف در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی دار در زمان های مختلف و حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار در دو تیمار است.

میزان پراکسید PV (Peroxide value) در نمونه کنترل و نمونه های تیمار شده با عصاره جعفری در زمان صفر تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند ($p > 0/05$). از روز سوم تا پایان زمان نگهداری تفاوت معنی دار ($p < 0/05$) در میزان پراکسید دو تیمار مشاهده شد. میزان پراکسید در هر دو

مقدار اسید مصرفی مقیاسی از کل بازهای کاملاً تقطیر شده بود (15).

تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 16 انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همگنی واریانس داده ها با کمک آزمون لون بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه و برای بررسی تفاوت بین میانگین های یک تیمار در زمان های مختلف و بین تیمارهای مختلف در یک زمان از آزمون دانکن استفاده شد. در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد فرض صفر، 5% در نظر گرفته شد.

• یافته ها

شمارش کلی باکتری های هوازی مزوفیل TVC (Total viable count) با گذشت زمان در هر دو تیمار به طور معنی داری ($p < 0/05$) افزایش یافت. به طور کلی در مقایسه دو تیمار با یکدیگر از نظر شمارش کلی باکتری ها، از روز سوم تا پایان زمان نگهداری تفاوت معنی دار ($p < 0/05$) مشاهده شد (جدول 1).

جدول 1. تغییرات مقادیر TVC (log CFU/g) طی دوره نگهداری (روز)

روز	کنترل n=3	نمونه حاوی عصاره جعفری n=3
0	3/23 ± 0/01 ^{Aa}	2/98 ± 0/01 ^{Aa}
3	5/73 ± 0/02 ^{Bb}	4/17 ± 0/05 ^{Ba}
6	6/47 ± 0/01 ^{Cb}	5/40 ± 0/04 ^{Ca}
9	7/71 ± 0/01 ^{Db}	6/04 ± 0/06 ^{Da}
12	8/93 ± 0/03 ^{Eb}	6/93 ± 0/03 ^{Ea}
15	9/22 ± 0/03 ^{Fb}	7/84 ± 0/03 ^{Fa}

داده ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار است.
حروف بزرگ مختلف در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی دار در زمان های مختلف و حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار در دو تیمار است

شمارش باکتری های سرماگرا PTC (Psychrotrophic bacteria count) در تیمار جعفری در مقایسه با تیمار کنترل پس از روز صفر، تفاوت معنی دار ($p < 0/05$) نشان داد. با گذشت زمان شمارش باکتری های سرماگرا در دو تیمار به طور معنی داری افزایش یافت (جدول 2).

در نمونه کنترل و نمونه حاوی عصاره جعفری مجموع بازهای نیتروژنی فرار TVB-N (Total volatile basic nitrogen) در طول زمان نگهداری به طور معنی داری ($p < 0/05$) افزایش یافت در حالی که این افزایش در نمونه شاهد شدت بیشتری داشت. مقایسه میزان TVB-N نمونه کنترل و نمونه های تیمار شده با عصاره در طول دوره نگهداری نشان داد که این میزان به جز روز صفر در سایر روزها در دو تیمار دارای تفاوت معنی داری ($p < 0/05$) می باشد (جدول 6).

جدول 6. تغییرات مقادیر TVB-N (میلی گرم در 100 گرم گوشت ماهی) طی دوره نگهداری (روز)

روز	کنترل n=3	نمونه حاوی عصاره جعفری n=3
0	10/45 ± 0/05 ^{Aa}	10/30 ± 0/02 ^{Aa}
3	14/43 ± 0/08 ^{Bb}	10/85 ± 0/01 ^{Ba}
6	18/85 ± 0/13 ^{Cb}	11/60 ± 0/04 ^{Ca}
9	25/15 ± 0/09 ^{Db}	12/80 ± 0/01 ^{Da}
12	28/00 ± 0/18 ^{Eb}	14/30 ± 0/00 ^{Ea}
15	32/50 ± 0/07 ^{Fb}	16/23 ± 0/02 ^{Fa}

داده ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار است.
حروف بزرگ مختلف در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی دار در زمان های مختلف و حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار در دو تیمار است.

• بحث

میزان ابتدایی شمارش کلی باکتری های هوازی مزوفیل در مطالعه حاضر در هر دو گروه $2/98-3/23 \log CFU/g$ بود که بیانگر کیفیت خوب ماهی مورد مطالعه می باشد. با توجه به این که بار میکروبی اولیه ماهیان آب شیرین، بسته به عواملی چون وضعیت آب و دمای محیط پرورش تغییر می کند، محققان مقدار TVC ابتدایی $2-6 \log CFU/g$ را برای گونه های مختلف آب شیرین (تیلپیا، باس راه راه، قزل آلا، رنگین کمان، سوف نقره ای) پیشنهاد داده اند (18، 17). حداکثر میزان قابل قبول شمارش کلی باکتری های هوازی مزوفیل، برای ماهیان آب شیرین توسط کمیته بین المللی ویژگی های میکروبی غذاها، $7 \log CFU/g$ پیشنهاد شده است (19). مطابق جدول 1 میزان شمارش کلی باکتری ها برای هر دو تیمار با گذشت زمان به طور معنی داری ($p < 0/05$) افزایش یافت. افزایش بار باکتریایی با گذشت زمان نگهداری ماهی در دمای یخچال به اثبات رسیده است (20). میزان شمارش کلی باکتری ها در تیمار

تیمار از روز صفر تا روز نهم به طور معنی داری ($p < 0/05$) افزایش یافت. پس از روز نهم تا پایان زمان نگهداری روند کاهشی معنی داری در میزان پراکسید تیمارها مشاهده شد (جدول 4).

جدول 4. تغییرات مقادیر PV (میلی اکی والان O_2 در کیلوگرم چربی ماهی) طی دوره نگهداری (روز)

روز	کنترل n=3	نمونه حاوی عصاره جعفری n=3
0	0/78 ± 0/01 ^{Aa}	0/76 ± 0/01 ^{Aa}
3	1/13 ± 0/05 ^{Bb}	0/83 ± 0/02 ^{Ba}
6	3/32 ± 0/05 ^{Cb}	1/22 ± 0/01 ^{Ca}
9	8/11 ± 0/11 ^{Fb}	3/87 ± 0/02 ^{Ea}
12	5/51 ± 0/04 ^{Eb}	2/63 ± 0/05 ^{Da}
15	4/77 ± 0/09 ^{Db}	2/60 ± 0/00 ^{Da}

داده ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار است.
حروف بزرگ مختلف در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی دار در زمان های مختلف و حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار در دو تیمار است

میزان تیوباربیتوریک اسید (Thiobarbituric Acid) TBA با گذشت زمان در نمونه های تیمار شده با عصاره جعفری طی مدت نگهداری به طور معنی داری ($p < 0/05$) افزایش یافت. در نمونه کنترل میزان TBA از روز صفر تا روز دوازدهم به طور معنی دار ($p < 0/05$) افزایش و پس از آن کاهش یافت. میزان TBA در روز صفر، در نمونه های تیمار شده با عصاره در مقایسه با نمونه کنترل تفاوت معنی داری ($p > 0/05$) نشان نداد (جدول 5).

جدول 5. تغییرات مقادیر TBA (میلی گرم مالون دی آلدهید در کیلوگرم بافت ماهی) طی دوره نگهداری (روز)

روز	کنترل n=3	نمونه حاوی عصاره جعفری n=3
0	0/05 ± 0/00 ^{Aa}	0/04 ± 0/00 ^{Aa}
3	0/12 ± 0/00 ^{Bb}	0/08 ± 0/00 ^{Ba}
6	0/92 ± 0/01 ^{Cb}	0/53 ± 0/01 ^{Ca}
9	1/40 ± 0/02 ^{Db}	0/76 ± 0/01 ^{Da}
12	2/31 ± 0/03 ^{Fb}	1/03 ± 0/05 ^{Ea}
15	1/79 ± 0/03 ^{Eb}	1/18 ± 0/02 ^{Fa}

داده ها بر اساس میانگین ± انحراف معیار است.
حروف بزرگ مختلف در هر ستون نشانه وجود اختلاف معنی دار در زمان های مختلف و حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار در دو تیمار است.

به مقدار نهایی 1/91 و 1/02 درصد، به ترتیب در تیمار کنترل و تیمار جعفری رسید. میزان اسیدهای چرب آزاد در تیمار کنترل تا روز ششم، 0/94 درصد بود در حالی که بعد از آن در روز 9 به 1/52 درصد افزایش یافت که این مقدار فراتر از حد قابل قبول است. در تیمار جعفری میزان اسیدهای چرب آزاد تا پایان دوره نگهداری (روز 15) در حد قابل قبول قرار داشت. اختلاف معنی دار میزان FFA نمونه کنترل در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده با عصاره را می‌توان به خاصیت عصاره در محدود نمودن فعالیت آنزیم‌های کاتالیز کننده هیدرولیز چربی مربوط دانست (26). نتایج این مطالعه با نتایج تحقیق انجام شده بر روی مارماهی اروپایی در دمای 3°C مطابقت دارد (27).

میزان پراکسید شاخص اکسیداسیون لیپیدها بوده و جهت اندازه‌گیری محصولات اولیه اکسیداسیون یعنی هیدروپراکسیدها به کار می‌رود. در مرحله اول اکسیداسیون، به واسطه اتصال اکسیژن به باند دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع، هیدروپراکسیدها تشکیل می‌شوند (28). از آن جا که پراکسیدها ترکیبات بدون طعم و بو هستند، نمی‌توانند به وسیله مصرف‌کنندگان تشخیص داده شوند ولی این ترکیبات سبب به وجود آمدن ترکیبات ثانویه مثل آلدئیدها و کتونها می‌شوند که سبب بد شدن بو و طعم می‌شوند (29). میزان پراکسید در زمان صفر در تیمارهای حاوی عصاره و کنترل $0/76$ و $0/78$ meq O_2/kg fat بود که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند ($p>0/05$). از روز سوم تا پایان زمان نگهداری، میزان پراکسید در نمونه‌های حاوی عصاره در مقایسه با نمونه کنترل تفاوت معنی‌دار داشت ($p<0/05$). میزان پراکسید تیمارها به طور معنی‌داری ($p<0/05$) با گذشت زمان تا روز نهم افزایش یافت به طوری که حداکثر میزان پراکسید در روز نهم مشاهده شد و در نمونه کنترل و تیمار جعفری به ترتیب به $8/11$ و $3/87$ meq O_2/kg fat رسید. پس از آن میزان پراکسید در تیمارها روند کاهشی نشان داد که این امر ممکن است به دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تولید ترکیبات کربونیلی نظیر استالدهید، پروپونالدهید و استن و اسیدهای چرب فرار نظیر اسید کاپروئیک، اسید پروپیونیک و گازهای فرار باشد (30). میزان پراکسید در نمونه‌های تیمار شده با عصاره در طول زمان نگهداری کمتر از حد قابل قبول (8-7 میلی اکسیژن گرم اکسیژن بر کیلوگرم چربی) بود (31). برخی از محققان معتقدند که فعالیت ضد اکسیدانی عصاره‌ها

کنترل تا روز ششم، $6/47$ log CFU/g بود در حالی که بعد از آن در روز نهم به $7/71$ log CFU/g رسید. در تیمار جعفری این میزان تا روز 12 در حد قابل قبول (log CFU/g) 6/93 قرار داشت اما در روز 15 به بالاتر از حد مجاز رسید. دست‌آورد حاصل با نتایج تحقیق Barakat و همکاران که اثر محلول کارواکرول و تیمول را بر روی فیله‌های ماهی کپور معمولی بررسی کردند، مطابقت دارد (21).

باکتری‌های سرمادوست گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیسم‌های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد هستند (2). این باکتری‌ها به ویژه گونه‌های سودوموناس آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز تولید می‌کنند که سبب افزایش اسیدهای چرب آزاد می‌گردند (22). شمارش اولیه باکتری‌های سرماگرا در تیمار کنترل و تیمار جعفری به ترتیب 3 log CFU/g و $2/89$ log CFU/g بود که بیانگر کیفیت خوب ماهی می‌باشد. در ششمین روز نگهداری، شمارش باکتری‌های سرماگرا در تیمار کنترل به $5/87$ log CFU/g رسید و در روز 9 از 6 log CFU/g (حداکثر شمارش قابل قبول باکتری‌های سرماگرا) تجاوز نمود (23). در تیمار جعفری میزان PTC تا روز 12 در حد قابل قبول ($5/93$ log CFU/g) قرار داشت و در روز 15 از حد مجاز تجاوز کرد. کاهش شمارش باکتری‌های سرماگرا و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری در نمونه‌های تیمار شده با عصاره، نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار عصاره گیاهی به کار برده شده به عنوان ترکیب ضد باکتریایی می‌باشد. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات Erkan و همکاران بر روی ماهی bluefish تیمار شده با اسانس آویشن و برگ بو و Ojagh و همکاران بر روی فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تیمار شده با کیتوزان و اسانس دارچین مطابقت دارد (23، 13).

میزان اسیدهای چرب آزاد شاخصی برای اندازه‌گیری فساد چربی می‌باشد که افزایش آن پس از مرگ ماهی و در طول مدت زمان ماندگاری، نشان‌دهنده فساد هیدرولیتیک چربی است. گلیسریدها، گلیکولیپیدها و فسفولیپیدها به وسیله آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز هیدرولیز شده و به اسیدهای چرب آزاد تبدیل می‌شوند که در ادامه روند اکسیداسیون، چربی به آلدئیدها و کتون‌ها تبدیل می‌گردند (24). حداکثر میزان قابل قبول اسیدهای چرب آزاد در روغن‌ها و چربی‌های خوراکی با منشاء حیوانی، 1/25% لیپید کل بر اساس اسیداولئیک می‌باشد (25). میزان FFA از مقدار ابتدایی 0/62 و 0/60 (برحسب درصد اسید اولئیک)

باعث کاهش مقادیر مالون دی آلدئید و متعاقباً کاهش تیوباربیتوریک اسید می شود (34).

TVB-N شامل تری متیل آمین (تولید شده توسط فساد باکتریایی)، دی متیل آمین (تولید شده توسط آنزیم های اتولیتیک طی زمان نگهداری)، آمونیاک (تولید شده به وسیله دامیناسیون اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها) و سایر ترکیبات نیتروژن دار بازی فرار مرتبط با فساد محصولات دریایی است (35). حداکثر میزان قابل قبول TVB-N، 25 میلی گرم نیتروژن در 100 گرم گوشت ماهی اعلام شده است (13). میزان اولیه TVB-N در تیمارهای مختلف $\text{mgTVB-N}/100\text{g}$ 10/45–10/30 بود که در روز صفر تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند ($p > 0/05$). این مقدار در پایان زمان نگهداری (روز 15) به ترتیب در نمونه کنترل و تیمار جعفری به 32/50 و 16/23 ($\text{mgTVB-N}/100\text{g}$) رسید. از آنجایی که TVB-N عمده‌تاً در اثر تجزیه باکتریایی گوشت ماهی ایجاد می شود، افزایش بار باکتریایی در طول دوره را نیز می توان دلیلی برای این مورد دانست (13). نتایج به دست آمده با گزارش Mexis و همکاران در سال 2009 که از اسانس پونه کوهی برای نگهداری قزل آلا رنگین کمان استفاده کردند، مطابقت دارد (20).

تجزیه و تحلیل داده های این تحقیق نشان داد که افزودن عصاره جعفری به فیله های ماهی کپور نقره ای سبب می شود فساد میکروبی و اکسیداسیونی به طور معنی داری به تعویق افتاده و زمان ماندگاری در مقایسه با تیمار کنترل به مدت 6 روز افزایش یابد.

به علت خاصیت کاهش دهنده که نقش مهمی را در جذب و خنثی نمودن رادیکال های آزاد، غیرفعال نمودن اکسیژن یگانه و سه گانه و تجزیه پراکسیدها ایفا می کند (32).

شاخص TBA به منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون چربی در ماهیان، به طور وسیعی کاربرد دارد به کمک این شاخص میزان مالون دی آلدئید اندازه گیری می شود (12). در مرحله دوم اتواکسیداسیون، که هیدروپراکسیدها به آلدئید و کتون اکسیده می شوند، مالون دی آلدئید تشکیل می شود. محصولات ثانویه اکسیداسیون سبب ایجاد طعم و بوی نامطلوب در محصول می شوند (20). در روز صفر میزان TBA در نمونه کنترل، $0/05\text{mgMDA}/\text{kg}$ و در تیمار جعفری، $0/04\text{mgMDA}/\text{kg}$ بود که اختلاف معنی داری با هم نداشتند. میزان بسیار پایین TBA اولیه بیانگر تازگی و کیفیت خوب ماهی است. معمولاً میزان $1\text{--}2\text{mgMDA}/\text{kg}$ به عنوان حد قابل قبول TBA در نظر گرفته می شود به طوری که بالاتر از این مقدار بوی نامطبوع در ماهی ایجاد خواهد شد (33). در نمونه های تیمار شده با عصاره میزان تیوباربیتوریک اسید تا پایان زمان ماندگاری در حد قابل قبول قرار داشت. در نمونه کنترل میزان TBA از روز صفر تا روز 12 به طور معنی داری افزایش یافت به گونه ای که در روز 12 به $2/31\text{mgMDA}/\text{kg}$ رسید که بالاتر از حد قابل قبول می باشد و پس از آن کاهش یافته و در روز 15 به $1/79\text{mgMDA}/\text{kg}$ رسید. کاهش میزان تیوباربیتوریک اسید ممکن است به دلیل کاهش هیدروپراکسیدها و واکنش بین مالون دی آلدئید با پروتئین ها و اسیدهای آمینه باشد که

• References

1. Fan W, Sun J, Chen Y, Qiu J, Zhang Y, Chi Y. Effect of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *J Food Chem* 2009; 115: 66-70.
2. Sallam KhI, Ahmed AM, Elgazzar MM, Eldaly EA. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4°C. *J Food Chem* 2007; 102: 1061-70.
3. Perez-Alonso FC, Arias C, Aubourg SP. Lipid deterioration during child storage of Atlantic pomfret (*Brama brama*). *Eur J Lipid Sci and Techno* 2003; 105: 661-67.
4. Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, et al. The comet assay with 8 mouse organs: Results with 39 currently used food additives. *J Mutation Res Gen Toxico and Envir Mutage* 2002; 519: 103-19.
5. Wangenstein H, Samuelsen AB, Malterud KE. Antioxidant activity in extracts from coriander. *J Food Chem* 2004; 88: 293-97.
6. Baratta TM, Dorman DHJ, Deans SG. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flav and Frag J* 1998; 13: 235-44.
7. Wong Y, Kitts D. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *J Food Chem* 2006; 97: 505-15.
8. Duke JA, editor. Handbook of medicinal Herbs. 2nd ed. USA: CRC press LLG 2001; P. 554-6.
9. Viuda-Martos M, Mohamady MA, Fernandez-Lopez J, Abd Elrazik KA. In vitro antioxidant and

- antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. *J Food Cont* 2011; 22: 1715–22.
10. Louli V, Folas G, Voutsas E. Extraction of parsley seed oil by super critical CO₂ supercritical fluids. *J Chromat* 2004; 30: 163–74.
 11. Siddaiah D, Vidya SRG, Raju CV, Chandrasekhar TC. Changes in lipids, proteins and kamaboko forming ability of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) mince during frozen storage. *Food Res Int* 2001; 34(1): 47-53.
 12. Sallam KhI. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *J Food Control* 2007; 18: 566-75.
 13. Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *J Food Chem* 2010; 120: 193-8.
 14. Egan H, Kirk RS, Sawyer R. In: Pearson's chemical analysis of food. (9th ed). Longman Scientific and Technical 1997; 609-34.
 15. Jeon YJ, Kamil JY, Shahidi F. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and atlantic cod. *J Agric Food Chem*. 2002; 50: 5167-78.
 16. Krik RS, Sawyer R. Pearson's Composition and analysis of foods . (9th ed). Longman Scientific and Technical 1991; 640-643
 17. Gimenez B, Roncales P, Beltran JA. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *J Sci Food Agric* 2002; 84: 1154–59.
 18. Arashisara S, Hisara O, Kayab M, Yanik T. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *Int J Food Microbiol* 2004; 97: 209–14.
 19. International commission on microbiological specifications for food. Microorganisms in foods 2 Sampling for microbiological analysis: Principles and scientific applications. 2nd ed. Buffalo, NY: University of Toronto Press; 1986.
 20. Mexis SF, Chouliara E, Kontominas MG. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf-life extension of rainbow trout fillets stored at on shelf-life extension of rainbow trout fillets stored at 4°C. *J Food Microb* 2009; 26: 598-605.
 21. Barakat SM, Koji Y, Kazuo M, Shin Sh. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *J Food Microb* 2004; 21: 657-66.
 22. Kykkidou S, Giatrakou V, Papavergou A, Kontominas MG, Savvaidis In: Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4°C. *J Food Chem* 2009; 115: 169–75.
 23. Erkan N, Tosun SY, Ulusoy S, Uretener G. The use of thyme and laural essential oil treatments to extend the shelf life of bluefish (*Pomatomus saltatrix*) during storage in ice. *J Consum Protec and Food Saf* 2011; 6: 39 -48.
 24. Hamilton RJ, Kalu C, Prisk E, Padley FB, Pierce H. Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chem* 1997; 60 (2): 193–99.
 25. Rodriguez A, Losada V, Larrain MA, Quitral V, Vinagre J, Aubourg SP. Development of lipid changes related to quality loss during the frozen storage of farmed coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J Amer Chem Soci* 2007; 84: 727 -34.
 26. Fan W, Chi Y, Zhang Sh. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *J Food Chem* 2008; 108: 148-53.
 27. Ozogul Y, Ozyurt G, Ozogul F, Kuley E, Polat A. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. *J Food Chem* 2005; 92: 745–51.
 28. Lin CC, Lin CS. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea. *J Food Chem* 2004; 16 (2): 169-75.
 29. Ozyurt G, Kuley E, Ozkutuk S, Ozogul F. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and gold band goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *J Food Chem* 2009; 114: 505–10.
 30. Vidya SRG, Srikar, LN. Effect of preprocess ice storage on the lipid changes of Japanese threadfin bream (*Nemipterus japonicus*) mince during frozen. *J Asian Fisher Sci* 1996; 9: 109-14.
 31. Erkan N, Ozden O, Alakavuk DU, Yildirim SY. Spoilage and shelf life of sardines (*Sardina pilchardus*) packed in modified atmosphere. *J Eur Food Res Tech* 2006; 222: 667-73.
 32. Migue MG. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. *J Flav Frag* 2010; 25: 291 -312.
 33. Connell JJ, editor. Methods of assessing and selecting for quality in control of fish quality. 3rd ed. Berlin: Springer 1990. P.102-12.
 34. Gomes HA, Silva EN, Nascimento MRL, Fukuma HT. Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chem* 2003; 80: 433–7.
 35. Huss HH. Quality and quality changes in fresh fish. Rome: FAO, 1995. p. 195 (FAO Fisheries Technical Paper; No. 348).

Antioxidant and antibacterial effects of parsley extract (*Petroselinum crispum*) on silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during refrigeration

Eskandari S¹, Hosseini H², Hosseini SE³, Shiraei Kasmaei A^{*4}

1-Assistant Professor and Head of Food with Animal Origin Chemistry Labs, Food and Drug Laboratory Research Center (FDLRC), Food and Drug Organization (FDO), Ministry of Health and Medical Education, Tehran, Iran

2- Associate Prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran

3- Assistant Prof, Dept. of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

4- *Corresponding Author: M.Sc in Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Email: sh_kasmaei@yahoo.com

Received 9 Apr, 2013

Accepted 16 Jul, 2013

Background and Objectives: Fish and fish products are highly perishable because of their unsaturated fatty acid content, large amounts of free amino acids, and high final pH. For this reason, preservatives are used to prevent or delay spoiling during storage. This investigation determined the antioxidant and antibacterial activities of parsley extract on the shelf life of air packaged silver carp fillets stored at $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

Material and Methods: Prepared fish fillets were divided into two groups. One group was dipped in distilled water (control) and one in parsley extract (1%); they were then air packed and kept at $4 \pm 1^\circ\text{C}$. Microbial (TVC, PTC) and chemical (PV, TBA, TVB-N, FFA) properties were analyzed over a 15 d period.

Results: Parsley extract delayed lipid oxidation significantly ($p < 0.05$) in the treated fillets. In the samples treated with parsley extract, the magnitude of change in TVB-N and FFA was less than in the control samples (16.23 ± 0.02 vs. 32.50 ± 0.07 mg/100 g and 1.02 ± 0.00 vs. $1.91 \pm 0.04\%$ oleic acid, respectively) ($p < 0.05$). Microbial analysis results showed that the treated and control samples remained acceptably fresh up to 12 and 6 d, respectively.

Conclusion: The results obtained from this study showed that the shelf life of silver carp fillets dipped in parsley extract as a natural preservative extended their shelf life by 6 d over the control samples.

Keywords: Silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*, Parsley extract, Antioxidant, Antibacterial