

اثر عصاره آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) بر ماندگاری فیله قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) شور و بسته بندی شده در خلاء در شرایط یخچال: ارزیابی میکروبی، شیمیایی و خصوصیات حسی

بهاره شعبانپور^۱، مهدی ذوالفقاری^{۲*}، ساناز فلاح زاده^۲، غلام حسین علی پور^۲

۱- دانشیار گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۱۷ تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۰/۱۲)

چکیده

این پژوهش جهت بررسی اثر عصاره آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر ماندگاری فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) شور شده‌ی سبک و بسته بندی شده در خلاء در شرایط یخچال بر اساس بار میکروبی، ارزیابی‌های شیمیایی و خصوصیات حسی فیله انجام پذیرفت. بدین منظور فیله‌های این ماهی تحت ۳ تیمار شور و کیوم شده (V) (به عنوان تیمار شاهد)، شور شده در آب نمک حاوی ۰/۵٪ درصد (w/w) عصاره آویشن شیرازی و کیوم شده (A1) و شور شده در آب نمک حاوی ۱٪ درصد (w/w) عصاره آویشن شیرازی و کیوم شده (A2) به مدت ۲۰ روز در شرایط یخچال نگهداری و تغییرات شاخص‌های اسیدهای چرب آزاد (FFA)، شاخص تیوباریتوریک اسید (TBA)، مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)، بار میکروبی کل (TVC) و ارزیابی‌های حسی صورت پذیرفت. طی دوره تیمارهای A1 و A2 دارای FFA، TVB-N و TBA کمتر ($P < 0/05$) و همچنین TVC کمتری ($P < 0/01$) نسبت به تیمار V (تیمار شاهد) بودند. طبق شاخص‌های شیمیایی، میکروبی و حسی، در این پژوهش، عصاره آویشن شیرازی ماندگاری فیله این ماهی را در حدود ۶-۵ روز افزایش داد. نتایج PCA نشان داد، شاخص‌های TVC و TVB-N بهترین شاخص‌ها جهت برآورد کیفیت فیله این ماهی در شرایط نگهداری در این پژوهش می‌باشند. با توجه به نتایج این پژوهش عصاره آویشن شیرازی به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در ترکیب با روش‌های شور کردن و بسته‌بندی در خلاء قادر به افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان در شرایط یخچال بوده و قابلیت جایگزینی به جای نگهدارنده‌های مصنوعی را دارد.

کلید واژه‌گان: عصاره آویشن شیرازی، قزل آلائی رنگین کمان، ماندگاری، بسته‌بندی در خلاء

۱- مقدمه

ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) یکی از محبوب‌ترین ماهیان پرورشی در ایران بوده که تقاضای مصرف آن روز به روز در حال افزایش است. البته یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های این ماهی، عرضه

* مسئول مکاتبات: zolfaghari.mz@gmail.com

شیرازی در افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان شور شده سبک و بسته‌بندی شده در شرایط خلأ، تحت شرایط یخچال می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه ماهی

ماهی قزل آلائی مورد نیاز از مزارع پرورش قزل آلائی استان گلستان در اسفند ماه تهیه شده و بلافاصله همراه یخ به محل آزمایشگاه فرآوری شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردید. پس از وزن کردن ماهی سر و باله‌ها جدا و شکم ماهی خالی گردید و ماهی‌ها به شکل پروانه‌ای فیله شدند. وزن ماهی‌های استفاده شده در این آزمایش به طور متوسط ۳۰۰ گرم بود.

۲-۲- عصاره گیری

عصاره گیری بر طبق روش نلسون و اونییگبا [۹] با کمی تغییرات صورت پذیرفت. ۵۰ گرم گیاه خشک آویشن شیرازی ابتدا آسیاب شده و به همراه ۵۰۰ میلی‌لیتر الکل اتانول ۹۵٪ در دکانتور قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت عصاره گیری صورت گرفت. سپس حلال توسط دستگاه روتاری با ایجاد خلأ تبخیر شد. این عمل تا به دست آمدن مقدار کافی عصاره تکرار گردید.

۲-۳- شور کردن، افزودن عصاره و وکیوم

کردن ماهی

جهت شور کردن سبک فیله قزل آلا از روش گلاس و کنتامیناز [۷] استفاده گردید. بدین منظور از آب نمک با غلظت ۱۰ درصد استفاده شد و فیله‌ها به نسبت ۱ به ۳ (ماهی به آب نمک) به مدت ۱ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه (۱۸°C) در آب نمک قرار داده شدند. به منظور بررسی اثر عصاره آویشن شیرازی دو تیمار ۰/۵٪ و ۱٪ درصد عصاره در نظر گرفته شد. به منظور افزودن عصاره‌ها به فیله، ابتدا عصاره‌ها با غلظت ۰/۵٪ (وزن عصاره به وزن فیله) و ۱٪ (وزن عصاره به وزن فیله) به آب نمک تهیه شده افزوده گردید و در نهایت فیله‌های مورد نظر در آن غوطه‌ور شدند. برای بسته‌بندی در خلأ، فیله‌های شور و عصاره‌گذاری شده در کیسه‌های پلاستیکی مخصوص وکیوم قرار داده شد و سپس با استفاده از دستگاه بسته‌بندی وکیوم (هنکلمن، هلند)، بسته‌بندی گردید. پس از اتمام شور کردن، عصاره‌گذاری و بسته‌بندی در خلأ فیله‌ها،

تازه و غیر منجمد آن است. با توجه به افزایش آگاهی مصرف کنندگان، به طور کلی تقاضا برای ماهی تازه نسبت به ماهی منجمد افزایش یافته است [۱]. اما با توجه به فسادپذیری بالای ماهی نگه‌داری غیر منجمد آن سبب کاهش قابل توجه زمان ماندگاری آن می‌گردد. زیرا کاهش دما از مهم‌ترین عوامل موثر در افزایش زمان ماندگاری ماهی می‌باشد [۲]. قزل آلائی رنگین کمان جزء ماهیان چرب می‌باشد و کاهش کیفیت در ماهیان چرب در مرحله اول به خاطر فعالیت میکروارگانیسم‌ها و اکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد [۳]. بنابراین در نگه‌داری کوتاه مدت گوشت ماهی، انجماد نه تنها هزینه بالایی را تحمیل خواهد کرد، بلکه بازارپسندی آن را نیز کاهش می‌دهد. از راه‌های موثر در کاهش اکسیداسیون چربی‌های ماهی استفاده از اتمسفر تغییر یافته می‌باشد و بسته‌بندی وکیوم نیز یکی از انواع اتمسفرهای تغییر یافته است که طی آن تنها اکسیژن از محیط گوشت حذف می‌گردد [۴]. از معایب این روش کاهش کیفیت ظاهری گوشت ماهی است که در اثر افزایش آب‌چک تحت این شرایط ایجاد می‌شود [۵]. البته از جالب‌ترین روش‌های پیشنهادی جهت رفع این مشکل شور کردن با غلظت پایین قبل از بسته‌بندی ماهی می‌باشد. اما با توجه به تسریع اکسیداسیون چربی‌ها توسط نمک و همچنین رشد برخی میکروارگانیسم‌های غیرهوازی تحت این شرایط، استفاده از آنتی‌اکسیدان و همچنین ضد میکروبی در این روش پیشنهاد شده است [۶، ۷]. با توجه به مضراتی همچون سرطان‌زایی و اثرات سرطان‌زایی ننگه‌دارنده‌های شیمیایی و همچنین افزایش آگاهی مردم، امروزه تصویری منفی از افزودنی‌های سنتتیک به مواد غذایی در مصرف کنندگان ایجاد شده است و تمایل به نگه‌دارنده‌های طبیعی جهت افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی افزایش یافته است. به همین دلیل اخیراً استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به عنوان نگه‌دارنده مورد توجه خاصی قرار گرفته است [۸]. یکی از مهم‌ترین گیاهانی که دارای خصوصیات آنتی-اکسیدانی و ضد میکروبی و قارچی قابل توجهی است، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) می‌باشد. به طور کلی ترکیبات دارای گروه‌های فنلی دلیل خصوصیات آنتی-اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی بوده، که در مورد آویشن شیرازی، عمده‌ترین این ترکیبات شامل ترپن کارواکرول، تیمول و پ-سیمن است [۶]. که انتظار می‌رود بتوان از عصاره این گیاه جهت افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی قزل آلا و رفع نواقص روش بسته‌بندی در خلأ استفاده نمود. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی اثر عصاره آویشن

سولفوریک ۰/۱ نرمال (A) تیترا شد. مقدار مواد از ته فرار طبق این رابطه محاسبه گردید.

$$TVB-N=A \times 14$$

سنجش هیدرولیز چربی‌ها (FFA)

جهت تعیین هیدرولیز چربی‌ها از روش ایگان و همکاران [۱۴] استفاده شد. بدین منظور ۲۵ میلی‌لیتر الکل ۹۶٪ خنثی شده (با چند قطره سود ۰/۱ نرمال و افزودن چند قطره محلول فنل فتالین ۱٪) به ۲۵ میلی‌لیتر استخراجی کلروفرم (از فیله‌ی چرخ شده) اضافه شد و با سود ۰/۱ نرمال تیترا گردید. در زمان تیتراسیون محلول به طور مداوم تکان داده می‌شد و تا زمانی که رنگ صورتی ظاهر شد، تیتراسیون ادامه یافت. نتایج به صورت % اولئیک اسید در چربی کل بیان گردید.

سنجش تیوباربتوریک اسید (TBA)

برای اندازه‌گیری شاخص تیوباربتوریک اسید از روش ایگان و همکاران [۱۴] استفاده شد. این روش بر اساس مقادیر اسپکتروفتومتری (مدل HACH, DR/2000, USA) کمپلکس صورتی حاصل از واکنش یک مولکول مالون آلدهید (MDA) حاصل از تقطیر، با دو ملکول تیوباربتوریک اسید (TBA) اضافه شده به محلول حاصل از تقطیر، صورت پذیرفت. نتایج بر اساس میلی‌گرم مالونالدهید در کیلوگرم نمونه بیان گردید.

۲-۶- ارزیابی حسی

جهت انجام ارزیابی حسی فیله‌های ماهی قزل‌آلا در طول دوره نگه‌داری از روش گالاس و کونتامیناز [۷] استفاده گردید. بدین منظور از یک گروه پنل ۷ نفره استفاده شد. ارزیابی حسی در مورد رنگ، بو و بافت انجام گرفت. نمونه‌های فیله تازه ماهی قزل‌آلا در ۲۰°C ذخیره گردید و در زمان انجام ارزیابی حسی به عنوان معیار بالاترین امتیاز در نظر گرفته شد. ارزیابی حسی تحت شرایط مشابه نور و دمایی انجام گرفت. جهت امتیازدهی از یک مقیاس ۰ تا ۱۰ استفاده شد به نحوی که ۱۰ بیشترین امتیاز و ۰ کمترین امتیاز را داشت محصول با امتیاز کمتر از ۶ به عنوان محصول غیر قابل پذیرش تعریف گردید.

۲-۷- آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS انجام شد. جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف و برای بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون Levene استفاده گردید. به منظور بررسی اثر تیمارهای اعمال شده از روش تجزیه واریانس استفاده شد. جهت مقایسه

همه نمونه‌های فیله (شور و وکیوم شده (V) (به عنوان تیمار شاهد برای دو تیمار دیگر)، شور شده در آب نمک حاوی ۰/۵٪ درصد عصاره آویشن شیرازی و وکیوم شده (A1) و شور شده در آب نمک حاوی ۱ درصد عصاره آویشن شیرازی و وکیوم شده (A2) به یخچال با دمای ۱°C ±۴ منتقل شدند.

۲-۴- تعیین بار میکروبی

تعیین بار میکروبی بر طبق روش سیسکوس [۱۰] صورت پذیرفت. بدین منظور ۱۰ گرم نمونه با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر به کیسه استریل استومیگر منتقل گردید و توسط دستگاه استومیگر (استومیگر ۴۰۰ ساخت شرکت Seward انگلیس) به صورت هموزن درآمد سپس نمونه تا رقت ۱۰^{-۵} گرم در میلی‌لیتر رقیق گردید. ۱ میلی‌لیتر از هر رقت در پلیت قرار داده شد و محیط کشت PCA (پلیت کانت آگار) به آن افزوده شد هر پلیت به منظور توزیع همگن نمونه به دقت تکان داده شد بعد از چند دقیقه همه پلیت‌ها وارونه شده و در انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۳۷ درجه قرار داده شدند. بعد از ۴۸ ساعت همه کلونی‌ها شمارش شدند.

۲-۵- آزمایشات شیمیایی

تعیین ترکیب تقریبی

جهت تعیین ترکیب تقریبی فیله ابتدا کل فیله چرخ شده و کاملاً همگن گردید. برای تعیین خاکستر از روش، خاکستر کردن خشک و به منظور تعیین رطوبت از روش خشک کردن در آون در معرض هوا [۱۱] استفاده گردید. اندازه‌گیری پروتئین به روش کلدال [۱۲] با استفاده از دستگاه Kjeldtherm مدل Vap 40 ساخت شرکت Gerhardt آلمان انجام شد. میزان نیتروژن به دست آمده پس از ضرب در عدد ۶/۲۵ به عنوان پروتئین در نظر گرفته شد. سنجش چربی به روش سوکسله [۱۲] با استفاده از حلال اتر پترولیوم با استفاده از دستگاه Soxtec مدل SE 416 ساخت شرکت Gerhardt آلمان صورت پذیرفت. میزان پروتئین ۱۹/۱٪، چربی ۵/۴٪، خاکستر ۱/۵٪ و رطوبت فیله ۷۱/۳٪ به دست آمد.

سنجش مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

تعیین TVB-N به روش پروانه [۱۳] انجام شد. ۱۰ گرم نمونه مینس ماهی در بالن حاوی ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و سنگ جوش قرار داده شد بخارات تقطیر شده وارد محلول ۲ درصد اسید بوریک حاوی چند قطره معرف (متیل رد و بروموکروزول سبز) شده و در پایان توسط اسید

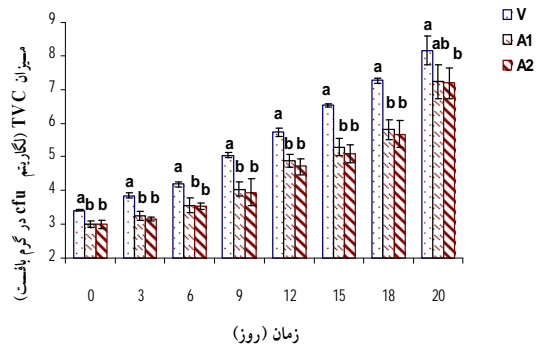
هر چند تحقیقی روی اثر عصاره آویشن شیرازی بر فیله ماهی مشاهده نگردید، اما تحقیقات مشابهی روی اثر اسانس آویشن بر ماندگاری فیله ماهی صورت گرفته است. نتایج این پژوهش با نتایج به دست آمده توسط محمود و همکاران [۱۶، ۱۷] در مورد اثر اسانس آویشن در کاهش بار میکروبی فیله ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) و همچنین کائولپرا و همکاران [۱۸] روی ماهی شانک (*Sparus aurata*) ننگه-داری شده در شرایط یخچال مطابقت دارد. بیشترین ترکیبات ضد میکروبی این گیاهان ترکیبات فنلی هستند که دارای گروه-های فنلی بوده و جرم مولکولی از ۱۵۰ تا ۱۶۰ دارند [۱۹]. این ترکیبات در گیاه آویشن به طور عمده شامل ترپن کارواکرول، تیمول و پ-سیمن می‌باشد [۶]. این ترکیبات فعالیت ضد میکروبی 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 می-گردد. دوم اینکه سبب تخریب سیستم آنزیمی سلول می‌شوند، که این آنزیم‌ها در تولید انرژی و سنتز ترکیبات ساختاری سلول نقش دارند. و سوم این که این ترکیبات ضد میکروبی سبب تخریب مواد ژنتیکی سلول می‌شوند [۲۰]. با وجود این-که بسته‌بندی در خلأ یکی از کارآمدترین روش‌ها جهت افزایش ماندگاری ماهی بدون منجمد کردن آن است، اما دارای معایبی نیز هست. که از جمله این معایب رشد برخی باکتری-های خطرناک بی‌هوازی همچون کلستریدیوم بوتولینوم (*Clostridium botulinum*) می‌باشد. باکتری‌های گرم منفی و به طور عمده گونه‌های پزودوموناس عامل فساد گوشت در شرایط هوازی می‌باشند. شرایط بی‌هوازی از رشد این ارگانسیم‌ها به شدت ممانعت می‌کند، بنابراین در فیله‌های بسته‌بندی شده در خلأ نقشی ندارند و باکتری‌های گرم مثبت دلیل اصلی فساد در این محیط می‌باشند، که خطرناک‌ترین آن‌ها کلستریدیوم بوتولینوم می‌باشد [۲۱]. پژوهش‌ها نشان داده است که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی‌ها حساسیت بالاتری به عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی دارند [۶]. بنابراین در کنار شور کردن سبک و دمای پایین (۴ درجه سلسیوس) [۲۲] افزودن عصاره آویشن شیرازی به فیله قزل آلا راه حلی قابل اعتماد جهت کنترل باکتری‌هایی نظیر کلستریدیوم در محیط بی‌هوازی بسته‌بندی خلأ، خواهد بود. در این پژوهش عصاره

میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۹ و ۹۵ درصد استفاده شد. آزمون Kruskal-Wallis و Mann-Witny جهت بررسی تفاوت معنی‌دار در خصوصیات حسی تیمارها استفاده شد. تجزیه مولفه‌های اصلی (PCA) و ترسیم شکل‌های مربوطه با استفاده از نرم افزار Statistica صورت پذیرفت.

۳- نتایج

۳-۱- بررسی بار میکروبی کل قابل رشد (TVC)

نتایج بررسی بار میکروبی کل نشان داد که عصاره آویشن شیرازی قدرت بالایی در کنترل رشد میکروارگانسیم‌ها دارد. بدین صورت که تیمارهای A1 و A2 نسبت به تیمار V (تیمار شاهد) در روز شروع آزمایش به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) سبب کاهش بار میکروبی فیله‌های ماهی قزل آلا شدند. این حالت تا پایان دوره نگهداری ادامه یافت. نتایج بررسی بار میکروبی کل در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱ تغییرات بار میکروبی کل طی دوره نگهداری در دمای ۴°C. حروف متفاوت در هر روز نمونه‌گیری نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ($P < 0.01$) بین تیمارها می‌باشد. V (تیمار شاهد): شور بسته بندی در خلأ، A1: شور بسته بندی شده در خلأ دارای ۰/۵ درصد عصاره آویشن شیرازی، A2: شور بسته بندی شده در خلأ دارای ۱ درصد عصاره آویشن شیرازی

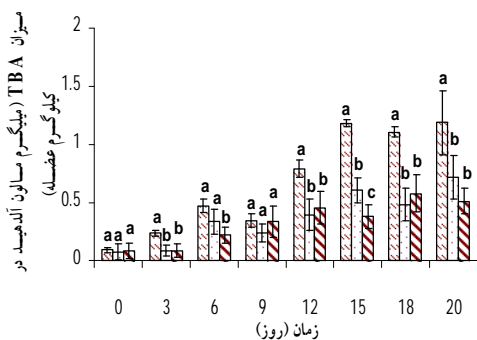
طبق نتایج حاصل از بررسی بار میکروبی فیله‌ها تیمار V (تیمار شاهد) در روز ۱۲ و تیمارهای A1 و A2 در روز ۱۸ به مرز محدودیت مصرف از نظر میزان بار میکروبی یعنی 10^6 cfu/g (۱۵) رسیدند.

کمتر از تیمار V (تیمار شاهد) بود. این امر به دلیل اثر ممانعت کنندگی عصاره آویشن شیرازی بر رشد باکتری‌ها، که یکی از اصلی‌ترین عوامل تشکیل TVB-N در گوشت هستند، می‌باشد.

۳-۳- بررسی شاخص تیوباریتوریک اسید (TBA)

اکسیداسیون چربی‌ها مربوط به اکسید شدن اسیدهای چرب چندغیراشباعی در عضلات ماهی می‌باشد که منجر به ایجاد بو و طعم نامطلوب در ماهی و در نتیجه کوتاه شدن زمان ماندگاری آن می‌گردد [۲۶]. شاخص TBA مربوط به اندازه‌گیری میزان مالون‌آلدهید است که محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب چندغیراشباع است [۲۷].

نتایج بررسی شاخص TBA در شکل ۳ نشان داده شده است. طبق این نتایج میزان TBA نمونه‌ها طی دوره نگهداری به تدریج افزایش یافت. اما میزان این شاخص در تیمارهای حاوی عصاره آویشن شیرازی به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کمتر از تیمار V (تیمار شاهد) بود. در برخی از زمان‌های نمونه‌گیری شاخص TBA در تیمار A2 به طور معنی‌داری کمتر از تیمار A1 بود ($P < 0.05$).



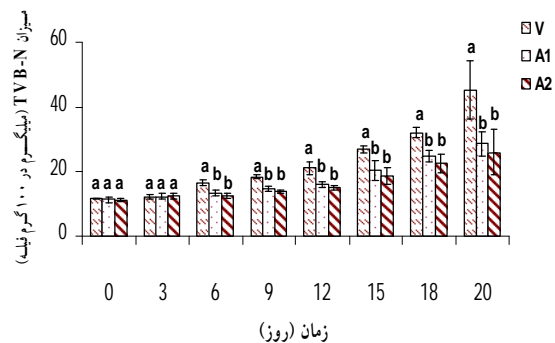
شکل ۳ تغییرات شاخص بیوباریتوریک اسید (TBA) طی دوره نگهداری در دمای 4°C . حروف متفاوت در هر روز نمونه‌گیری نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارها می‌باشد. V (تیمار شاهد): شور بسته بندی در خلأ، A1: شور بسته بندی شده در خلأ دارای ۰/۵ درصد عصاره آویشن شیرازی، A2: شور بسته بندی شده در خلأ دارای ۱ درصد عصاره آویشن شیرازی.

نتایج به دست آمده در این پژوهش با نتایج گلاس و کونتامیناز [۷] روی ماهی شانک (*Sparus aurata*) بسته بندی شده در اتمسفر تغییر یافته و کائولیرا [۱۸] روی ماهی شانک (S. *aurata*) شور شده و بسته‌بندی شده در خلأ در شرایط یخچال مطابقت دارد. این امر به خاطر ترکیباتی نظیر تیمول و

آویشن شیرازی مورد استفاده قرار گرفت. تحقیقات نشان داده است، عصاره برخی گیاهان و از جمله آویشن اثرات ضد میکروبی قوی‌تری نسبت به اسانس آن‌ها دارند [۲۳]. در کنار این موضوع باید توجه شود که تهیه عصاره نسبت به اسانس جهت استفاده در فرآوری ماهی به عنوان آنتی‌اکسیدان بسیار مقرون به صرفه و عملیاتی‌تر است.

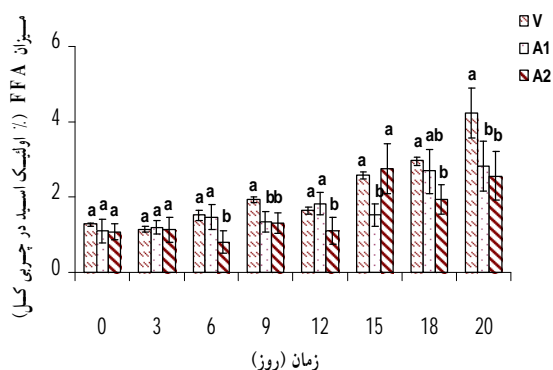
۳-۲- ترکیبات نیتروژنی بازی فرار (TVB-N)

بررسی میزان TVB-N در تیمارهای مختلف طی نگهداری در شرایط یخچال نشان داد که تشکیل این ترکیبات در تیمارهای دارای عصاره آویشن شیرازی به طور معنی‌داری کمتر از تیمار V (تیمار شاهد) بود ($P < 0.05$). میزان استاندارد TVB-N در فیله ماهی قزل‌آلا تا حدود ۲۵ میلی‌گرم به ازای ۱۰۰ گرم فیله می‌باشد [۴]. طبق این استاندارد تیمار V (تیمار شاهد) بین روز ۱۲ تا ۱۵، تیمار A1 در روز ۱۸ و تیمار A2 در حدود روز ۲۰ از نظر میزان TVB-N قابل مصرف بودند. این نتایج در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲ تغییرات میزان بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) طی دوره نگهداری در دمای 4°C . حروف متفاوت در هر روز نمونه‌گیری نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارها می‌باشد. V (تیمار شاهد): شور بسته بندی در خلأ، A1: شور بسته بندی شده در خلأ دارای ۰/۵ درصد عصاره آویشن شیرازی، A2: شور بسته بندی شده در خلأ دارای ۱ درصد عصاره آویشن شیرازی.

عوامل ایجاد کننده TVB-N در گوشت آنزیم‌های موجود در خود گوشت و فعالیت میکروارگانیسم‌های آن است [۲۴]. طبق نتایج تشکیل TVB-N در همه تیمارها روندی افزایشی داشته که با نتایج آراشیسار و همکاران [۲۵] در این زمینه هم‌خوانی دارد. اما تشکیل TVB-N در فیله‌های حاوی عصاره



شکل ۴ تغییرات میزان اسیدهای چرب آزاد (FFA) طی دوره نگره-داری در دمای ۴°C. حروف متفاوت در هر روز نمونه‌گیری نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارها می‌باشد. V (تیمار شاهد): شور بسته بندی در خلأ، A1: شور بسته بندی شده در خلأ دارای ۰/۵٪ درصد عصاره آویشن شیرازی، A2: شور بسته بندی شده در خلأ دارای ۱٪ درصد عصاره آویشن شیرازی.

۳-۵- ارزیابی حسی

ارزیابی‌های حسی نمونه‌ها در جدول ۱ نشان داده شد است. طبق این نتایج تیمار V (تیمار شاهد) در حدود روز ۱۲ به امتیاز محدودکنندگی بافت، رنگ و بو از نظر قابلیت پذیرش توسط مصرف‌کننده (امتیاز ۶) رسیدند. تیمارهای A1 و A2 در حدود روز ۱۸ به این امتیاز رسیدند. البته در این روز امتیاز تیمار A2 اندکی بالاتر از تیمار A1 بود. این نتایج، نتایج حاصل از بررسی بار میکروبی و TVB-N را مورد تأیید قرار می‌دهد.

نتایج ارزیابی حسی نشان دهنده بهبود خصوصیات حسی نمونه‌ها تحت تیمار عصاره آویشن شیرازی می‌باشد. بهبود امتیاز بافت نمونه‌ها تحت تأثیر عصاره آویشن شیرازی به دلیل اثر این عصاره بر فعالیت میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه کاهش تخریب و دناتوره شدن پروتئین‌ها می‌باشد. از طرفی کاهش تخریب پروتئین‌ها در تیمارهای A1 و A2 سبب کاهش تولید TVB-N و همچنین کاهش اکسیداسیون نمونه‌ها و در نهایت بهبود امتیاز بوی نمونه‌ها گردید. این نتایج با نتایج کاتولیرا و همکاران [۱۸] برای ماهی شانک همخوانی دارد.

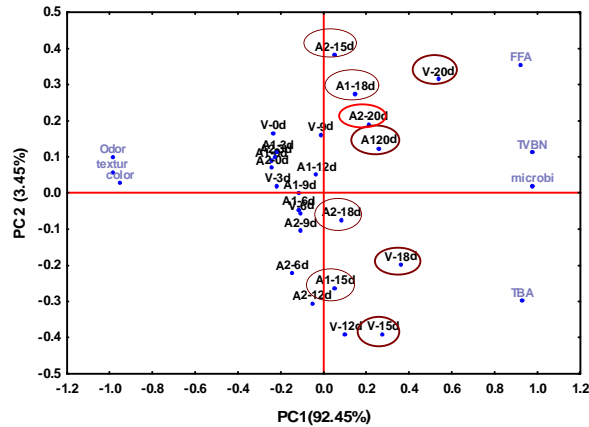
صفات مختلف اندازه‌گیری شده (شیمیایی، میکروبی و حسی) جهت تعیین متغیرهای اصلی‌تر در ایجاد تغییرات در فیله ماهی قزل آلا در شرایط نگهداری اعمال شده در این پژوهش با

کارواکول، ترکیباتی فنولیک و دارای گروه‌های هیدروکسی (OH) بوده، که دارای قدرت حذف رادیکال‌های آزاد هستند [۱۷]. به همین دلیل غلظت بالاتر عصاره آویشن شیرازی، سبب تشکیل میزان کمتری مالون‌آلدهید شده است. میزان محدودکنندگی گوشت ماهی برای مصرف از نظر میزان شاخص TBA حدود ۲-۱ میلی‌گرم مالون‌آلدهید در هر کیلوگرم عنوان شده است [۷] که در نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش به جز تیمار V (تیمار شاهد)، تیمارهای A1 و A2 در طول دوره به این محدوده نرسیدند.

۳-۴- میزان اسیدهای چرب آزاد (FFA)

طبق نتایج به دست آمده میزان هیدرولیز چربی‌ها و تشکیل اسیدهای چرب آزاد در تیمارهای حاوی عصاره کمتر از تیمار V (تیمار شاهد) بود ($P < 0.05$) و غلظت بالاتر عصاره سبب مانعت بیشتر از تشکیل FFA گردید. البته روند کاملاً منظمی را برای این شاخص نمی‌توان در نظر گرفت، اما به طور کلی طی دوره نگهداری میزان FFA در تیمارهای مورد بررسی افزایش یافت. نتایج این تحقیق با نتایج لجاسی و همکاران [۲۸] در مورد اثر عصاره‌های گیاهی روی ماکرول آسیبی (*Trachurus trachurus*) که یک ماهی چرب محسوب می‌شود، همخوانی دارد. میزان FFA در فیله اولیه قزل آلا رنگین کمان ۱/۳۵ میلی‌گرم اولئیک اسید در ۱۰۰ گرم چربی بود که با نتایج رضایی و حسینی [۳] برای ماهی قزل آلا مطابقت داشت.

تشکیل FFA به طور مستقیم اثر منفی بر طعم گوشت ماهی دارد و همچنین عنوان می‌شود که تشکیل FFA سبب تشدید پدیده اکسیداسیون چربی‌ها در ماهی می‌شود [۲۹] البته اگر چه رابطه‌ی بین لیپولیز و اکسیداسیون لیپیدها اندکی مورد مناقشه است، اما به طور کلی FFAها سریع‌تر از اسیدهای چرب استریفیه شده اکسیده می‌شوند مخصوصاً وقتی آنزیم‌هایی نظیر لیپوکسیژنازها در بافت‌های نپخته وجود داشته باشد. از طرفی واکنش FFAها با پروتئین‌های گوشت سبب سفتی بافت و کاهش قابلیت پذیرش آن از طرف مصرف‌کننده می‌گردد [۳۰].



شکل ۵ بای پلات نمونه‌ها و خصوصیات حسی، شیمیایی و بار میکروبی. خصوصیات حسی با کاهش امتیاز طی نگاه‌داری در سمت چپ و شاخص‌های شیمیایی و میکروبی با افزایش طی نگاه‌داری در سمت راست نمودار قرار گرفته‌اند. دایره‌های با خطوط نقطه چین، نمونه‌هایی را که هنوز به انتهای زمان ماندگاری نرسیده و دایره‌های با خطوط کامل نمونه‌هایی را که از پایان زمان ماندگاری خارج شده‌اند نشان می‌دهند.

روش (Principal Component Analysis) PCA مورد تجزیه مولفه‌های اصلی قرار گرفتند. PCA سهم هر کدام برای شرح تفاوت بین نمونه‌ها را نشان داد. طبق نتایج حاصل مولفه اصلی اول (PC1) ۹۲/۴۵٪ تغییرات بین صفات و مولفه اصلی دوم (PC2) ۳/۴۵٪ تغییرات بین مولفه‌ها را توجیه می‌کند. و در مجموع دو مولفه اصلی اول و دوم ۹۵/۹٪ تغییرات صفات را توجیه می‌کنند. تغییرات بار میکروبی، شاخص تیوباریتوریک اسید، مجموع بازهای نیتروژنی فرار و اسیدهای چرب آزاد در سمت راست پلات با اثر مثبت زیاد و بافت، رنگ و بوی فیله‌ها با اثر منفی بالایی در سمت چپ پلات PC1 (افقی) را تشکیل دادند. FFA با اثر مثبت زیاد و TBA با اثر منفی بالایی PC2 را تشکیل می‌دهند. هر دو PC1 و PC2 تفاوت نمونه‌ها را با FFA و TBA نشان می‌دهند (شکل ۵).

جدول ۱ تغییرات امتیاز بافت، رنگ و بوی فیله طی دوره نگاه‌داری در دمای ۴°C

	زمان نگاه‌داری							
	۰	۳	۶	۹	۱۲	۱۵	۱۸	۲۰
بافت								
V	۱.۰±۰.۰ ^a	۱.۰±۰.۰ ^a	۸/۹۰±۰/۲۰ ^b	۷/۷۶±۰/۱۶ ^c	۶/۳۳±۰/۲۵ ^d	۴/۸۰±۰/۲۶ ^e	۴/۲۶±۰/۱۵ ^e	۲/۶۳±۱/۳۰ ^f
A1	۱.۰±۰.۰ ^a	۱.۰±۰.۰ ^a	۹/۱۶±۰/۸۰ ^{ab}	۸/۳۰±۰/۹۵ ^{bc}	۸/۱۱±۰/۷۵ ^{bc}	۶/۹۶±۱/۲۲ ^{cd}	۶/۳±۱/۱۱ ^d	۴/۴۶±۰/۹۱ ^e
A2	۱.۰±۰.۰ ^a	۱.۰±۰.۰ ^a	۸/۶۰±۱/۲۷ ^{ab}	۸/۴۳±۱/۴۶ ^{abc}	۷/۷۳±۱/۱۶ ^{bc}	۷/۷۶±۰/۷۰ ^{bc}	۶/۷۶±۰/۷۱ ^c	۴/۹۶±۰/۸۶ ^d
رنگ								
V	۱.۰±۰.۰ ^a	۱.۰±۰.۰ ^a	۸/۹۳±۰/۲۵ ^b	۷/۶۰±۰/۲۶ ^c	۶/۵۰±۰/۲۰ ^d	۵/۳۶±۰/۳۱ ^e	۴/۹۳±۰/۲۵ ^e	۳/۶۳±۱/۳۰ ^f
A1	۹/۸۳±۰/۳۰ ^a	۹/۱۳±۰/۵۰ ^{ab}	۷/۴۶±۱/۲۵ ^{abc}	۷/۹±۱/۴۴ ^{bcd}	۷/۱۳±۱/۳۸ ^{bcde}	۶/۱۶±۱/۱۰ ^{cde}	۵/۳±۰/۴۰ ^{de}	۵/۴۶±۱/۰۶ ^e
A2	۹/۶۳±۰/۳۵ ^a	۹/۲۶±۰/۷۵ ^{ab}	۷/۵±۱/۳۰ ^{abc}	۸/۰۶±۱/۴۰ ^{bc}	۷/۳۶±۰/۸۶ ^{bc}	۶/۳۳±۱/۴۵ ^{cd}	۶/۹۳±۱/۱۱ ^{cd}	۵/۲۳±۱/۲۰ ^e
بو								
V	۱.۰±۰.۰ ^a	۱.۰±۰.۰ ^a	۸/۹۶±۰/۳۰ ^b	۷/۶۰±۰/۲۰ ^c	۶/۱۷±۰/۱۹ ^d	۴/۷۰±۰/۴۰ ^e	۳/۲۶±۰/۵۶ ^f	۵/۴۳±۰/۸۳ ^f
A1	۹/۶۰±۰/۳۶ ^a	۹/۳۳±۰/۶۵ ^a	۸/۵۴±۰/۹۱ ^a	۸/۶۶±۰/۷۷ ^a	۸/۱۳±۰/۹۱ ^{ab}	۶/۹۰±۱/۰۰ ^{bc}	۶/۳۶±۰/۹۴ ^c	۵/۴۳±۰/۸۳ ^c
A2	۹/۵۳±۰/۵۶ ^a	۹/۳±۰/۵۶ ^a	۸/۵۶±۱/۱۴ ^{ab}	۸/۳±۰/۹۵ ^b	۷/۸±۰/۷۵ ^{bc}	۷/۲±۰/۸۱ ^{bcd}	۶/۳۶±۱/۱۵ ^{cd}	۵/۹۰±۰/۷۵ ^d

V (تیمار شاهد): شور بسته بندی در خلأ، A1: شور بسته بندی شده در خلأ دارای ۰/۵٪ درصد عصاره آویشن شیرازی، A2: شور بسته بندی شده در خلأ دارای ۱٪ درصد عصاره آویشن شیرازی.

۴- نتیجه گیری کلی

عصاره آویشن شیرازی به عنوان یک ماده ضد میکروب و آنتی اکسیدان طبیعی، جهت افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان قابل استفاده است. به نحوی که زمان ماندگاری آن را به مدت حدود ۵ تا ۶ روز در شرایط نگهداری در خلاء در دمای یخچال افزایش می‌دهد. استفاده از عصاره آویشن شیرازی در ترکیب با روش‌های شور و بسته‌بندی در خلاء یک روش موثر در کنترل میکروارگانیسم‌های قابل رشد در شرایط خلاء و بهبود خصوصیات حسی فیله این ماهی می‌باشد. طی نگهداری در شرایط مذکور بهترین شاخص‌ها جهت تعیین کیفیت این ماهی، بار میکروبی و میزان TVB-N می‌باشند.

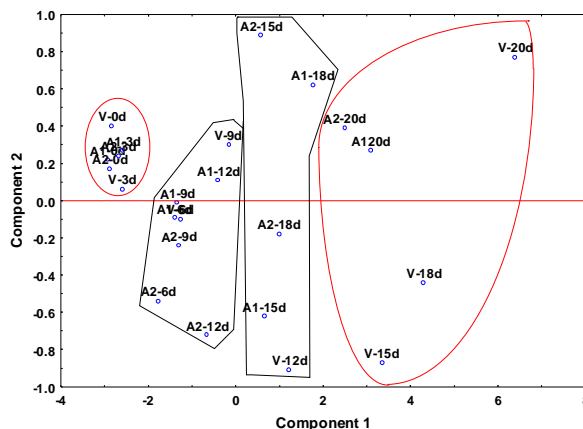
۵- قدردانی

بدین وسیله از اساتید محترم گروه شیلات و صنایع غذایی و همچنین خانم مهندس ابراهیمی، مسئول محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، سپاس گذاری می‌نمایم.

۶- منابع

- [1] Barat, J.M., Gallart-Jornet, L., Andres, A., Akse, L., Carlehog, M and Skjerdal, O.T. 2006. Influence of cod freshness on the salting, drying and desalting stages. *J. Food engineering*, 73: 9-19.
- [2] Duun, A.S. and Rustad, T. 2008. Quality of superchilled vacuum packed Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets stored at -1.4 and -3.6°C. *Journal of Food Chemistry*, 106: 122-131.
- [3] Rezaei, M., and Hosseini, S.F. 2008. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *Journal of Food science*, 73: 93-96.
- [4] Ibrahim, S.M., Nassar, A.G., and El-Badry, N. 2008. Effect of modified atmosphere packaging and vacuum packaging methods on some quality aspects of smoked mullet (*Mugil cephalus*). *Global Veterinaria* 2 (6): 296-300.

جهت تبیین بهتر در پلات PCA (شکل ۶) نمونه‌های شبیه یکدیگر مشخص شده‌اند. همان طور که در شکل مشاهده می‌شود، تیمارهایی که به لحاظ صفات مورد بررسی مشابهت دارند، با توجه به PC1 تقریباً در گروه‌های مشابهی قرار می‌گیرند. به طوری که نمونه‌های تیمار V (تیمار شاهد) در روز ۱۲ با نمونه‌های تیمار A1 و A2 در روز ۱۸ تقریباً در یک گروه قرار می‌گیرند.



شکل ۶ نمونه‌هایی که از نظر کیفیت ماندگاری در شرایط مشابهی قرار دارند.

با توجه به نتایج حاصل از PCA می‌توان بیان کرد که با گذشت زمان تغییرات فساد به افزایش بار میکروبی و TVBN وابستگی بیشتری داشته است. این نتایج با نتایج کاتولیرا و همکاران [۱۸] برای ماهی شانک تحت تیمارهای اسانس آویشن که شرایط خلاء بسته بندی شده بودند، هم‌خوانی دارد. این موضوع همچنین با نتایج گلاس و کونتامیناز [۷] برای ماهی شانک که بیان کردند، طی نگهداری در شرایط یخچال و تحت تیمارهای اتمسفر تغییر یافته به همراه شور سبک و اسانس آویشن، شاخص TVBN و بوی نمونه از بهترین شاخص‌های تعیین زمان ماندگاری فیله این ماهی است، مطابقت دارد. جزک و بوکتوا [۳۱] روند تغییر میزان TVB-N طی نگهداری فیله ماهی کپور در دمای ۲°C در شرایط اتمسفر تغییر یافته را افزایشی عنوان نموده و بیان کردند که بین افزایش زمان نگهداری و افزایش میزان TVB-N رابطه مثبت قوی با ضریب همبستگی ۰/۸۸ برقرار است.

- (*Onchorynchus mykiss*). Journal of Food Chemistry. 106: 1161–1165.
- [16] Mahmoud, B. S. M., Yamazaki, k., Miyashita, K., Shin, LL. and Suzuki, Y. 2006. A new technology for fish preservation by combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds. Food chemistry. 99: 656-662.
- [17] Mahmoud, B.S.M., Yamazakia, K., Miyashitab, K., Il-Shik, S., Dong-Sukd, C. and Suzukia, T. 2004. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. Food Microbiology. 21: 657–666.
- [18] Chouliara, I., Savvaidisa, I.N., Panagiotakisb, N., and Kontominasa, M.G. 2004. Preservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. Journal of Food Microbiology. 21: 351–359.
- [19] Shelef, L.A. 1983. Antimicrobial effects of spices. J. Food Safety, 6: 29–44.
- [20] Kim, J., Marshall, M.R., Wei, C., 1995. Antimicrobial activity of some essential oil components against five food borne pathogens. J. Agric. Food Chem. 43: 2839–2845.
- [21] Dalgaard, P. 1995. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. International Journal of Food Microbiology. 26: 319-333.
- [22] Gibson, D.M. & Davis, H.K. 1995. Fish and shellfish products in sous vide and modified atmosphere packs. In: Principles of Modified Atmosphere and Sous-Vide Product Packaging (edited by J.M. Farber & K.L. Dodds). Pp. 153-174. Lancaster, Penn: Technomic Publishing Co.
- [23] Vardar-Unlu, G., Candan, F., Sokmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, M., Donmez, E. and Tepe, B. 2003. Antimicrobial and antitoxic activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. var. *pectinatus* (Lamiaceae).
- [24] Razavi Shirzi, H. 2007. Seafood technology, principles of handling and processing (1). Pars negar Press, 325 p.
- [5] Venugopal, V. 2006. Sea food processing, adding value through quick freezing, retortable packaging cook- chilling. Taylor Francis group press. pp 485.
- [6] Holley, R.A. and Patel, D. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiology, 22: 273-292.
- [7] Goulas, A.E., and Kontominas, M.G. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. Journal of Food Chemistry. 100: 287–296.
- [8] Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z. and Naghdibadi, H. 2007. Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus Xavus* in liquid medium and tomato paste. Food Control, article in press.
- [9] Nelson, C.A and Onyeagba, R.A. 2007. Antimicrobial properties of extracts of allium cepa (onions) and zingiber officinale (ginger) on escherichia coli, salmonella typhi and bacillus subtilis. The Internet Journal of Tropical Medicine. 3(2): ISSN: 1540-2681.
- [10] Siskos, L., Zotos, A., Melidou, S., Tsikritzi, R. 2007. The effect of liquid smoking of fillets of trout (*Salmo gairdnerii*) on sensory, microbiological and chemical changes during chilled storage. Journal of Food chemistry. 101: 458-464.
- [11] AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official methods of analysis, Arlington, Virginia.
- [12] James, C.S. 1995. Analytical chemistry of foods. Blackie academic and Professional press. London, pp 90-92.
- [13] Parvaneh, V. 1998. Quality control and the chemical analysis of food. Tehran university. Press. 325 p.
- [14] Egan, H., Kirk, R.S. and Sawyer, R. 1997. Pearson's chemical Analysis of Foods. 9th edition. Churchill Livingtone, Edingburgh, Scotland, UK. Pp. 609-643.
- [15] Rezaei, M., Hosseini, S.F., Ershad Langrudi, H., Reza Safari, R., and Hosseini, S.V. 2008. Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout

- fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. LWT, 40: 930–936.
- [29] Aubourg, S. 2001. Fluorescence study of the prooxidant activity of free fatty acids on marine lipids. Journal of the Science of Food and Agriculture, 81: 385–390.
- [30] Losada, V., Barrose-Velazquez, J., Gallardo, J.M., and Aubourg, S.P., 2004. Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sardina pilchardus*) storage. Journal of Food Science. 63: 40-47.
- [31] Jezek, F and Buchtova, H. 2007. Physical and chemical changes in fresh chilled muscle tissue of common carp (*Cyprinus carpio* L.) packed in a modified atmosphere. ACTA VET. BRNO, 76: S83–00.
- [25] Arashisar, S., Hisar, O., Kaya, and M., Yanik, T. 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. Journal of Food Microbiology, 97, 209– 214.
- [26] Ramanathan, L., and Das, N. P. 1992. Studies on the control of lipid oxidation in ground fish by some polyphenolic natural products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40: 17–21.
- [27] Bremner, H.A. 2002. Safety and quality issues in fish processing. CRC Press, pp 519.
- [28] Lugasi, A., Losada. V., Hovari. J., Lebovics. V., Jakoczi, I. and Aubourg, S. 2007. Effect of pre-soaking whole pelagic

Effect of extract of *Zararia multiflora* boiss. on shelf-life of salted vacuum packaged rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*) in refrigerator conditions: microbial, chemical and sensory attributes assessments

Shabanpoor, B. ¹, Zolfaghari, M. ^{2*}, Falah Zade, S. ², Alipoor, GH. H. ²

1- Associate Prof., Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

2- M.Sc. student, Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

(Received: 88/7/17 Accepted:88/10/12)

This study was done to investigate effect of extract of *Zararia multiflora* Boiss on shelf-life of light salted, vacuum packaged rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet in refrigerator condition, based on microbial, chemical and sensory attribute assessments. For this purpose, the fillet of this fish were storage in refrigerator during 20 days in three treatments: salted vacuum packaged (V) (as a control), salted in a brine containing 0.5% extract of *Z. multiflora* (w/w) and then were vacuum packaged (A1) and salted in a brine containing 1% (w/w) extract of *Z. multiflora* and then were vacuum packaged (A2) and change of free fatty acid (FFA), tiobarbitoric acid index (TBA), total volatile nitrogenous basic (TVB-N), total microbial viable count (TVC) and sensory assessments were studied. During storage period, A1 and A2 treatments had lower value of FFA, TVB-N and TBA ($p<0.05$) and also TVC ($p<0.01$) than V treatments. According the chemical, microbial and sensory index, in this study, extract of *Zararia multiflora* increased the shelf-life of rainbow trout fillet about 5-6 days. PCA results showed, the TVC and TVB-N indices were the best indices for quality assessment of rainbow trout fillet in storage conditions of present study. With regard to the results of the present study, extract of *Z. multiflora*, as a natural preservative, in combine with salting and vacuum packaging method, is able to increase shelf-life time of rainbow trout fillet in refrigerator conditions and it can be replace with artificial preservatives.

Keywords: Extract of *Z. multiflora*, Rainbow trout, Shelf-life, Vacuum packaging

* Corresponding Author E-Mail address: zolfaghari.mz@gmail.com