



اثر اسانس‌های کاکوتی و ترخون بر کیفیت میکروبی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نگهداری شده در

یخچال

پروانه صادق زاده مرندي^۱، افشین جوادی^{۲*}، محمدرضا افشار مقدم^۳

۱- گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۳- مرکز تحقیقات ایمنی غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ‌های مقاله:	<p>اسانس‌های گیاهی از جمله ترکیباتی هستند که در غلظت‌های کم قادرند از رشد باکتری‌ها جلوگیری نموده و سبب افزایش ماندگاری محصولات غذایی از جمله ماهی شوند. در این پژوهش، اثر اسانس‌های کاکوتی و ترخون در غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بر کیفیت میکروبی و ماندگاری فیله قزل‌آلای رنگین کمان نگهداری شده در ۴ °C بررسی شد. نتایج نشان دادند که اسانس‌های گیاهی کاکوتی و ترخون در کاهش تولید بازهای نیتروژنی فرار مؤثر بودند و بیشترین اثر مربوط به اسانس کاکوتی با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. همچنین مشاهده شد که استفاده از اسانس کاکوتی و ترخون باعث کاهش شمارش کلی باکتری‌ها، باکتری‌های سرمادوست، جمعیت کلیفرم‌ها و باکتری اشرشیاکلی نسبت به نمونه شاهد شد؛ که این امر خاصیت ضد میکروبی آنها را تأیید می‌کند. به طور کلی نتیجه‌گیری شد که اسانس کاکوتی با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در کاهش بار میکروبی و به تأخیر انداختن فساد فیله قزل‌آلای رنگین کمان در دمای یخچال، مؤثرتر از اسانس ترخون و نمونه شاهد بود.</p>
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۰۲	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۴	
کلمات کلیدی:	<p>قزل‌آلای رنگین کمان، اسانس، ترخون، کاکوتی، کیفیت میکروبی.</p>
DOI: 10.22034/FSCT.19.128.249 DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.3.8	
* مسئول مکاتبات:	javadi@iaut.ac.ir

۱- مقدمه

مصرف ماهی به عنوان فراوان‌ترین منبع حیوانی برای اسیدهای چرب ضروری امگا-۳ و نیز به عنوان منبعی برای دریافت پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری از اهمیت بالایی برخوردار است. با وجود ارزش غذایی بالا، ماهیان در برابر فساد اکسیداتیو و میکروبی و نیز تجزیه آنزیمی و بیوشیمیایی بسیار حساس هستند [۱]. روش‌های متعددی برای به تعویق انداختن فساد ماهی و فرآورده‌های آن ارائه شده است که از آن جمله می‌توان به نگهداری در دمای پایین، بسته‌بندی در خلا و یا اتمسفر اصلاح شده و نیز استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها اشاره کرد [۲]. روش‌های ذکر شده دارای مضرات و محدودیت‌هایی در کاربرد برای برخی از مواد غذایی هستند. امروزه با توجه به آگاهی عموم مردم به ضرورت استفاده از رژیم غذایی سالم و ارگانیک، تمایل به مصرف مواد غذایی نگهداری شده با روش‌های شیمیایی یا آنتی-اکسیدان‌های مصنوعی کاهش پیدا کرده است [۳]. گیاهان و اسانس‌های گیاهی قرن‌ها به عنوان دارو و یا چاشنی در غذا مورد استفاده قرار می‌گرفتند و در چند دهه اخیر توجه محققین به اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به عنوان منبع طبیعی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی جلب شده است [۴].

اسانس‌ها ترکیبات طبیعی به شکل مایع شفاف و فرار هستند که محلول در چربی و حلال‌های آلی می‌باشند. این ترکیبات، مهم‌ترین مواد مؤثره گیاهی به شمار می‌آیند که توسط گیاهان معطر به عنوان متابولیت ثانویه تولید می‌شوند. اسانس‌های استخراج شده از گیاهان به روش‌های مختلف از لحاظ کمیت، کیفیت و ترکیبشان بر اساس شرایط آب و هوایی، ترکیب خاک، اندام گیاه، سن و مرحله چرخه گیاهی با یکدیگر تفاوت دارد [۵]. در موارد زیادی از اسانس‌ها به دلیل ویژگی‌های طبیعی آنها از جمله خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و دفع‌کنندگی حشرات استفاده می‌شود. فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها به گروهی از ترپنوئیدهای کوچک و ترکیبات فنلی (تیمول و کارواکرول) نسبت داده می‌شود. هر چه درصد ترکیبات فنلی بیشتر باشد، خاصیت ضد میکروبی اسانس بیشتر خواهد بود [۶].

کاکوتی با نام علمی *Ziziphora tenuior* تنویر^۱ گیاهی چند ساله است که در مناطق کوهستانی و سنگی یافت می‌شود. گیاه کاکوتی و اسانس آن دارای اثر ضد میکروبی علیه انواعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است و تأثیر قوی‌تری بر روی *Salmonella* دارد. کاکوتی در غذاها به عنوان ادویه کاربرد دارد و عطر آن بسیار نزدیک به آویشن است [۷]. ترخون با نام علمی *Artemisia dracunculoides*^۲ یک گیاه معطر است که قدمت آن به ۵۰۰ سال قبل از میلاد بر می‌گردد. برگ‌های معطر ترخون هم به عنوان ادویه و هم به عنوان نگهدارنده گوشت مورد استفاده قرار می‌گیرد که منبعی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و مواد ضد میکروبی است. اسانس ترخون اثر بازدارندگی بر رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها دارد و ترکیبات فعالی پلی‌فنولی متعددی در آن شناخته شده است [۸]. با توجه به ویژگی ضد میکروبی شناخته شده گیاهان کاکوتی و ترخون و نیز با توجه به تمایل مصرف کنندگان به روش‌های نگهداری طبیعی و غذاهای سالم‌تر، هدف از این پژوهش، بررسی اثر غلظت‌های مختلفی از اسانس‌های کاکوتی و ترخون بر کیفیت میکروبی و ماندگاری فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نگهداری شده در دمای یخچال بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه اسانس‌های گیاهی

گیاهان کاکوتی و ترخون که در فصل بهار و تابستان ۱۳۹۶ برداشت و خشک شده بودند، از یک فروشگاه گیاهان دارویی (کرج، البرز) خریداری شدند. پس از تایید گونه توسط گیاه‌شناس و تمیز کردن، اسانس گیاهان مذکور به روش تقطیر با بخار با استفاده از دستگاه کلونجر در مدت ۳ ساعت استخراج شد [۹]. اسانس‌های حاصل تا زمان مصرف در ظروف شیشه‌ای تیره در بسته، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۲-۲- تهیه فیله ماهی و آماده‌سازی تیمارها

۲۸ عدد ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (با وزن تقریبی ۷۰۰ گرم) از مزرعه پرورش ماهی در زمستان سال ۱۳۹۸ تهیه شد و بلافاصله

1. *Ziziphora tenuior* L.
2. *Artemisia dracunculoides*

منتقل شد. پلیت‌ها به مدت ۱۰ روز در دمای 7°C نگهداری شدند [۱۳].

۲-۴-۳- شمارش باکتری‌های کلیفرم

برای شمارش باکتری‌های کلیفرم، یک میلی‌لیتر از رقت‌های مختلف به پلیت‌های خالی استریل منتقل شد و محیط ویولت رد بایل آگار روی آن افزوده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C گرمخانه‌گذاری شدند. کلنی‌های قرمز تا صورتی تشکیل شده بعد از ۴۸-۲۴ ساعت شمارش شدند [۱۴].

۲-۴-۴- شمارش باکتری‌های اشرشیاکلی

پس از شمارش کلیفرم‌ها، از تست IMViC جهت تأیید تشخیص کلنی‌های کلیفرم در مرحله قبل استفاده شد. این آزمایش با استفاده از تست از جمله آزمایش ایندول، آزمایش متیل رد، آزمایش وگس پروسکاور و آزمایش هیدرولیز سترات انجام گرفت [۱۵].

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج آزمون‌ها به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد گزارش شدند. آنالیز داده‌ها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مجموع بازهای نیتروژنی فرار

یکی از کاربردی‌ترین شاخص‌ها در ارزیابی فساد ماهی، اندازه-گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار است. این ترکیبات شامل تری‌متیل‌آمین (ناشی از فساد باکتریایی)، دی‌متیل‌آمین (ناشی از فعالیت آنزیم‌ها اتولیتیک طی نگهداری)، آمونیاک (حاصل دامیناسیون اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها) و سایر ترکیبات نیتروژن‌دار بازی فرار ناشی از فساد محصولات دریای هستند [۱۶]. مجموع بازهای نیتروژنی فرار تولید شده در طول نگهداری در نمونه‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طوری که از نتایج این پژوهش قابل مشاهده است مقدار بازهای نیتروژنی فرار در ماهی تازه اندک بود و طی دوره نگهداری و به دلیل فعالیت

همراه با یخ به محل آزمایشگاه مرکز تحقیقات شرکت گیاه واقع در استان البرز منتقل شد. پس از شستشوی سطح ماهی، سر و باله‌ها جدا شدند و شکم ماهی تخلیه شد و در نهایت ماهی‌ها به ۴ قطعه یکسان از نظر وزن فیله شدند. اسانس‌های کاکوتی و نیز ترخون در غلظت‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه شدند و فیله‌های ماهی به مدت ۱۰ دقیقه در محلول اسانس‌ها قرار داده شدند. سپس ماهی‌ها آبکشی شدند و در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار پلی‌اتیلنی بسته‌بندی شدند. ماهی‌های بسته‌بندی شده در یخچال (4°C) نگهداری شدند تا آزمایش‌های مربوطه بر روی آنها در روزهای ۱، ۵، ۱۰ و ۱۵ انجام شود [۱۰].

۲-۳- اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار

تعیین بازهای نیتروژنی فرار به روش AOAC (۲۰۰۲) تعیین شد. به این صورت که ۱۰ گرم نمونه ماهی چرخ شده در بالن حاوی ۲ گرم اکسیدمنیزیم 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) شد و در پایان توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا رسیدن به رنگ پوست پیازی تیترا شد. مقدار ماده از ته فرار بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه بدست آمد [۱۱]. آزمون در ۳ تکرار و در روزهای ۱، ۵، ۱۰ و ۱۵ انجام شد.

۲-۴- آزمون‌های میکروبی

به منظور انجام آزمون‌های میکروبی، ۱۰۰ گرم از گوشت ماهی از هر تیمار با کمک تیغ اسکالپل استریل جدا و چرخ شد. سپس رقت‌های لازم از هر نمونه در سرم فیزیولوژیک تهیه شد. آزمون‌های میکروبی در ۳ تکرار در روزهای ۱، ۵، ۱۰ و ۱۵ انجام گرفتند.

۲-۴-۱- شمارش کلی باکتری‌ها

شمارش کلی باکتری‌ها با استفاده از رقت‌های تهیه شده و به روش پورپلیت بر روی محیط کشت پلیت کانت آگار انجام گرفت. پلیت‌ها برای شمارش باکتری‌های هوازی مزوفیل، به مدت ۴۸ ساعت در دمای 37°C قرار داده شدند [۱۲].

۲-۴-۲- شمارش باکتری‌های سرمادوست

برای شمارش باکتری‌های سرمادوست، یک میلی‌لیتر از رقت‌های مختلف نمونه به روش پورپلیت به محیط کشت پلیت کانت آگار

اسانس‌های گیاهی نسبت به نمونه کنترل کمتر بود که می‌تواند ناشی از خاصیت ضد میکروبی اسانس‌ها باشد [۷].

باکتری‌های مولد فساد و نزیم‌ها افزایش یافت [۱۲، ۱۷]. سرعت افزایش بازهای نیتروژنی فرار در نمونه‌های تیمار شده با

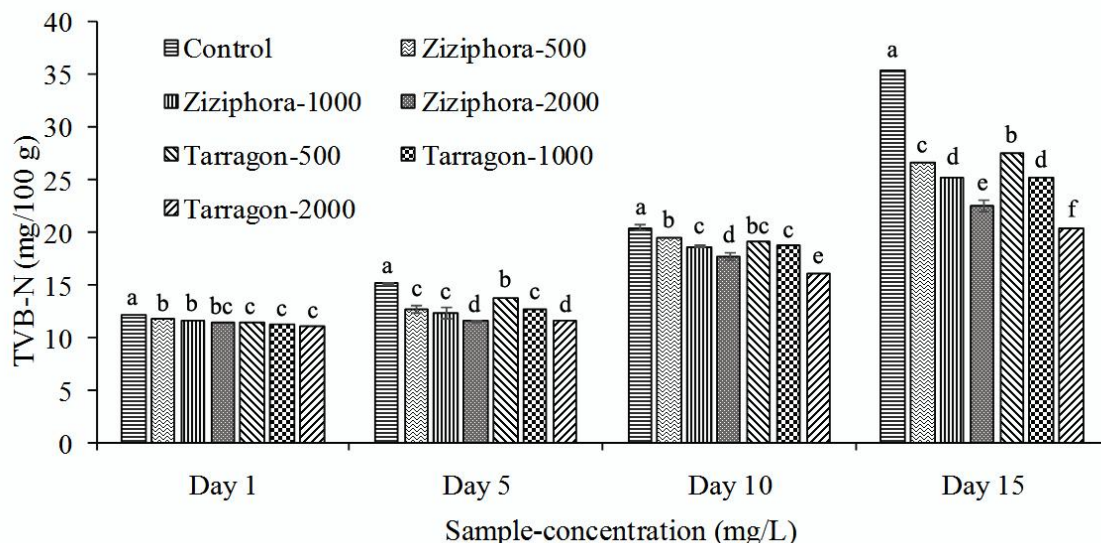


Fig 1 Effect of different concentrations of tarragon and ziziphora on the total volatile basic nitrogen (TVB-N) of rainbow trout fillet during storage at the refrigerator. Different letters for the same storage day represent significant differences ($p < 0.05$) according to the Duncan test.

۳-۲- تعداد کل باکتری‌ها

نتایج نشان دادند که تعداد کل باکتری‌ها در شرایط نگهداری در دمای یخچال با افزایش زمان نگهداری، به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافت که مطابق با نتایج گزارش شده توسط کیکیدو و همکاران (۲۰۰۹) بود [۱۸]. افزایش در تعداد کل باکتری‌ها در نمونه شاهد و تیمارهای اسانس‌های کاکوتی و ترخون با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در انتهای دوره نگهداری ۱۵ روزه در حدی بود که با رقت‌های تهیه شده قابل شمارش نبود. تیمار با اسانس گیاهی با غلظت ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث کاهش معنی‌دار ($p < 0.05$) سرعت رشد باکتری‌ها در فیله‌های ماهی شد که خاصیت ضد میکروبی این اسانس‌ها را نشان می‌دهد (جدول ۱). بیشترین اثر ضد میکروبی در اسانس‌های گیاهی مورد نظر در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. اسانس کاکوتی نسبت به اسانس ترخون و نیز نمونه شاهد، در کنترل و کاهش رشد باکتری‌ها مؤثرتر بود. گزارش شده است که از بین مواد متشکله اسانس‌ها، ترکیبات فنلی به دلیل داشتن گروه هیدروکسی، بیشترین اثر ضد میکروبی را دارند [۲۰]. اسانس‌ها به دلیل ماهیت آبگریزشان قادر هستند با نفوذ به لیپیدهای غشا

حداکثر میزان قابل قبول مجموع بازهای نیتروژنی فعال، ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی گزارش شده است [۱۲]. در بین نمونه‌ها، تنها در نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از اسانس‌های کاکوتی و ترخون در انتهای دوره نگهداری ۱۵ روزه مجموع بازهای نیتروژنی فرار کمتر از حداکثر مقدار مجاز بود (به ترتیب ۲۲/۵۹ و ۲۰/۵ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم). در انتهای دوره نگهداری، تیمار با اسانس ترخون با غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین اثر را در جلوگیری از تشکیل بازهای نیتروژنی فرار در دمای یخچال داشت. نتایج این پژوهش، مطابق با نتایج گزارش شده توسط مکسیس و همکاران (۲۰۰۹) در مورد کاهش تولید بازهای نیتروژنی فرار در طی دوره نگهداری در ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان تیمار شده با اسانس پونه کوهی نسبت به نمونه شاهد بود [۱]. همچنین نتایج موفقیت‌آمیزی برای کنترل تولید بازهای نیتروژنی با استفاده از اسانس آویشن در فیله شمشیر ماهی مدیترانه‌ای و نیز اسانس نعناع در فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای توسط سایر نویسندگان گزارش شده است [۱۸، ۱۹].

دیگر محتویات سلولی می شود [۶].

سلول باکتری و میتوکندری ها موجب اختلال در ساختار آنها و نفوذپذیری بیشتر شوند. این امر موجب خروج و نشت یون ها و

Table 1 The effect of different concentrations of ziziphora and tarragon essential oils on total viable counts (CFU/g) of rainbow trout fillet during storage at 4 °C.

Sample	Concentration (mg/L)	Day 1	Day 5	Day 10	Day 15
Control	-	6.1±0.3×10 ⁴ Ca	6.6±0.3×10 ⁵ Ba	5.5±0.1×10 ⁷ Aa	nc*
	500	5.8±0.3×10 ⁴ Ca	1.2±0.1×10 ⁵ Bc	4.9±0.3×10 ⁶ Ad	nc
	1000	5.8±0.2×10 ⁴ Da	8.6±0.3×10 ⁴ Ce	4.2±0.2×10 ⁶ Be	9.4±0.4×10 ⁹ Aa
Ziziphora	2000	5.7±0.1×10 ⁴ Da	6.4±0.1×10 ⁴ Cg	4.0±0.1×10 ⁶ Bg	5.3±0.1×10 ⁷ Ab
	500	5.9±0.1×10 ⁴ Ba	2.2±0.2×10 ⁵ Bb	5.1±0.1×10 ⁶ Bc	nc
	1000	5.8±0.2×10 ⁴ Da	9.6±0.1×10 ⁴ Cd	2.5±0.2×10 ⁷ Bd	8.6±0.3×10 ⁹ Aa
Tarragon	2000	5.7±0.1×10 ⁴ Da	7.5±0.1×10 ⁴ Cf	4.1±0.3×10 ⁶ Bf	6.1±0.2×10 ⁷ Ab

Values are the mean value of three replications ± standard deviation. Different lower case letters within the same column and different capital letters within the same row represent significant differences ($p < 0.05$) according to the Duncan test.

* nc: Not countable.

نگهدارنده برای افزایش زمان نگهداری در غذاها مورد استفاده قرار گیرد. نکته مورد توجه، مقدار مورد استفاده از اسانس ترخون است که در مقادیر کم خاصیت میکروب کشی کمی دارد و در مقادیر بالاتر، به دلیل عطر خاص آن باعث کاهش ویژگی های حسی می شود. بنابراین توصیه می شود از ترخون به همراه یک نگهدارنده دیگر در غذاها استفاده شود [۲۳].

۳-۳- تعداد باکتری های سرمادوست

باکتری های سرمادوست، گروه اصلی میکروارگانیسم های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده در شرایط سرما هستند [۱۳]. این باکتری ها به ویژه گونه های سودوموناس، آنزیم های لیپاز و فسفولیپاز تولید می کنند که سبب افزایش اسیدهای چرب آزاد می شوند [۱۸]. تعداد باکتری های سرمادوست در نمونه های فیله قزل آلا طی نگهداری در جدول ۲ گزارش شده است. نتایج نشان دادند که تعداد باکتری های سرمادوست در نمونه ها با گذشت زمان نگهداری، به طور معنی داری ($p < 0.05$) افزایش یافت که سرعت افزایش و رشد باکتری های سرمادوست در نمونه های تیمار شده با اسانس گیاهی نسبت به نمونه شاهد کمتر بود. در پایان دوره ۱۵ روزه نگهداری، تعداد باکتری های سرمادوست در تیمارهای حاوی ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر از اسانس کاکوتی و یا ترخون کمتر یا مساوی با حداکثر مقدار قابل قبول برای باکتری های سایکروفیل هوازی ($\log CFU/g$) بود [۱۶]. نتایج نشان دادند که اسانس کاکوتی نسبت به نمونه شاهد یا اسانس ترخون، بیشترین اثر منفی را بر روی تعداد باکتری های

حداکثر تعداد مجاز و قابل قبول باکتری های مزوفیل و سایکروفیل در ماهی $\log CFU/g$ تعیین شده است [۱۶]. در پایان دوره نگهداری، تعداد باکتری های مزوفیل در تیمارهای حاوی ۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر اسانس کاکوتی یا ترخون $\log CFU/g$ بود که در محدوده قابل قبول به عنوان شاخص فساد ماهی در نظر گرفته می شود. نتیجه گیری شد که ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر از اسانس های کاکوتی و ترخون قادر بودند زمان ماندگاری قزل آلا را در دمای یخچال، ۵ روز افزایش دهند. وجود مقادیر بالایی از منوترین ها و سزکویی ترین ها در بسیاری از گونه های ترخون می تواند فعالیت ضدباکتریایی این گیاه را توجیه کند. ترکیبات دیگر اسانس ترخون از جمله اوسیمین، استراگول و متیل کاویاکول نیز دارای فعالیت ضد میکروبی هستند [۲۱]. استفاده از اسانس ها به عنوان گزینه ای برای افزایش ماندگاری ماهی توسط محققین بسیاری مورد مطالعه قرار گرفته است. محمود و همکاران (۲۰۰۴) با بررسی اثر ترکیبات تشکیل دهنده اسانس های مختلف (آلیل ایزوتیوسیانات، کارواکرول، سینام آلدئید، سیترال، کومین آلدئید، یوژنول، ایزویوژنول، لینالول و تیمول) بر رشد میکروبها در فیله های ماهی کپور معمولی نگهداری شده در دمای ۴ °C گزارش کردند که تیمار با تیمول ۵۰٪ و کارواکرول باعث کاهش در تعداد باکتری های مزوفیل شد [۲۲]. رئیسی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که اسانس ترخون دارای خواص ضد میکروبی بود و تأثیر منفی بر رشد باکتری های پاتوژن داشت. آنها نتیجه گیری کردند که اسانس ترخون می تواند به عنوان یک

شده است که عصاره موسیر تعداد باکتری‌های سرمادوست را در ماهی‌های قزل‌آلای رنگین کمان کنترل کرد و فساد ماهی را نسبت به نمونه شاهد به طور معنی‌داری کاهش داد [۲۵].

سرمادوست داشت. گزارش شده است که استفاده از اسانس زیره در ماهی سفید به طور معنی‌داری از رشد باکتری‌های سرمادوست بویژه لیستریا مونوسیترنژنر جلوگیری کرد [۲۴]. همچنین گزارش

Table 2 The effect of different concentrations of ziziphora and tarragon essential oils on psychrotrophic counts (CFU/g) of rainbow trout fillet during storage at 4 °C.

Sample	Concentration (mg/L)	Day 1	Day 5	Day 10	Day 15
Control	-	4.4±0.1×10 ⁴ Da	6.4±0.1×10 ⁵ Ca	2.6±0.2×10 ⁷ Bb	nc
	500	3.9±0.1×10 ⁴ Db	1.9±0.1×10 ⁵ Cc	6.2±0.1×10 ⁶ Be	3.7±0.1×10 ⁸ Ac
Ziziphora	1000	3.6±0.1×10 ⁴ Dc	1.5±0.2×10 ⁵ Ce	7.5±0.3×10 ⁶ Bc	6.6±0.2×10 ⁷ Ae
	2000	3.5±0.2×10 ⁴ Dd	1.2±0.1×10 ⁵ Cf	6.2±0.1×10 ⁶ Ag	9.3±0.1×10 ⁶ Bg
	500	4.4±0.3×10 ⁴ Da	2.2±0.3×10 ⁵ Cd	7.1±0.1×10 ⁶ Ba	4.3±0.4×10 ⁸ Ab
Tarragon	1000	3.6±0.2×10 ⁴ Dc	1.6±0.2×10 ⁵ Cb	6.6±0.2×10 ⁶ Bd	7.2±0.3×10 ⁷ Ad
	2000	3.4±0.1×10 ⁴ Ce	1.4±0.1×10 ⁵ Dg	9.3±0.1×10 ⁵ Bf	1.8±0.4×10 ⁷ Af

Values are the mean value of three replications ± standard deviation. Different lower case letters within the same column and different capital letters within the same row represent significant differences ($p < 0.05$) according to the Duncan test.

* nc: Not countable.

را (CFU/g $\times 10^3 \times 1/1$) بود. محققان حضور باکتری‌های مذکور را در آبزیان به دلایلی نظیر صید از مناطق آلوده و تأخیر در یخ-گذاری آبزیان صید شده و نیز آلودگی ثانویه مربوط می‌دانند [۲۶]. اسانس‌های گیاهی کاکوتی و ترخون به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) جمعیت کلیفرمها را در فیله‌های ماهی قزل‌آلای نگهداری شده در دمای یخچال نسبن به نمونه شاهد کاهش دادند. اسانس کاکوتی در کاهش کلیفرمها مؤثرتر از اسانس ترخون بود. صالحی و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که عصاره کاکوتی کوهی توانست از رشد باکتری‌های گرم منفی کلبسیلا نومونیه و اشرشیاکلی جلوگیری کند. آنها حساسیت باکتری‌های گرم منفی را به ترکیبات اسانس کاکوتی از جمله سینتول، کارواکرول، تیمول و گاماترینین نسبت دادند [۹].

۳-۴- تعداد کلیفرمها

بررسی وجود اتروباکتریاسه‌ها یا باکتری‌های کلیفرم در مواد غذایی مانند محصولات شیلاتی بسیار اهمیت دارد؛ چرا که این خانواده بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا نظیر سالمونلا و اشرشیاکلی را در بر می‌گیرد. جدول ۳ تأثیر سطوح مختلف اسانس کاکوتی و ترخون بر شمارش کلیفرمها در نمونه‌های ماهی قزل‌آلای نگهداری شده در یخچال را نشان می‌دهد. نتایج نشان دادند که با افزایش زمان نگهداری، تعداد باکتری‌های کلیفرم در نمونه‌ها به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافت. در پایان دوره نگهداری، بیشترین تعداد کلیفرمها مربوط به نمونه شاهد (CFU/g $\times 10^4 \times 5/5$) و کمترین تعداد کلیفرم مربوط به نمونه حاوی ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسانس کاکوتی

Table 3 The effect of different concentrations of ziziphora and tarragon essential oils on total coliform counts (CFU/g) of rainbow trout fillet during storage at 4 °C.

Sample	Concentration (mg/L)	Day 1	Day 5	Day 10	Day 15
Control	-	1.2±0.3×10 ² Da	4.6±0.3×10 ³ Ca	3.7±0.2×10 ⁴ Ba	5.5±0.1×10 ⁴ Aa
	500	9.7±0.1×10 ¹ Bb	1.2±0.1×10 ³ Bc	2.9±0.3×10 ⁴ Bab	4.9±0.1×10 ⁴ Ab
Ziziphora	1000	9.7±0.3×10 ¹ Db	8.6±0.3×10 ² Ce	8.4±0.4×10 ³ Bd	1.2±0.2×10 ⁴ Ad
	2000	9.7±0.1×10 ¹ Db	8.4±0.1×10 ² Cf	7.3±0.1×10 ³ Be	8.1±0.3×10 ³ Bf
	500	9.8±0.2×10 ¹ Db	2.2±0.2×10 ³ Cb	3.1±0.1×10 ⁴ Bab	5.1±0.3×10 ⁴ Aab
Tarragon	1000	9.7±0.1×10 ¹ Ab	9.6±0.1×10 ² Ad	9.6±0.3×10 ³ Ac	1.5±0.2×10 ⁴ Ac
	2000	9.6±0.1×10 ¹ Db	8.5±0.1×10 ² Cf	8.1±0.2×10 ³ Ad	9.0±0.1×10 ³ Ae

Values are the mean value of three replications ± standard deviation. Different lower case letters within the same column and different capital letters within the same row represent significant differences ($p < 0.05$) according to the Duncan test.

۳-۵- تعداد باکتری‌های *اشرشیاکلی*

آلودگی غذاهای دریایی با باکتری *اشرشیاکلی* معمول است. جدول ۴ تأثیر سطوح مختلف اسانس کاکوتی و ترخون بر شمارش باکتری‌های *اشرشیاکلی* در نمونه‌های ماهی قزل‌آلای نگهداری شده در یخچال را نشان می‌دهد. نتایج نشان دادند که جمعیت باکتری‌های *اشرشیاکلی* در طول مدت نگهداری در همه نمونه‌ها به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافت. در پایان دوره ۱۵ روزه نگهداری، بیشترین تعداد *اشرشیاکلی* مربوط به نمونه شاهد ($10^4 \times 4/7$) و کمترین تعداد آن مربوط به نمونه حاوی ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسانس کاکوتی (CFU/g) $10^2 \times 4/5$ بود. استفاده از اسانس گیاهی کاکوتی و ترخون به

طور موفقیت‌آمیزی جمعیت *اشرشیاکلی* را در نمونه‌های ماهی کاهش داد و با افزایش غلظت اسانس از ۵۰۰ به ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اثر ضد میکروبی آنها افزایش یافت. اسانس کاکوتی نسبت به اسانس ترخون و نیز نمونه شاهد، اثر مهارکنندگی بیشتری روی *اشرشیاکلی* داشت؛ به طوری که در غلظت‌های مورد استفاده ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر توانست تعداد این باکتری را تا روز دهم نگهداری، در کمتر از حد مجاز (۴۰۰ عدد در هر گرم از گوشت ماهی) حفظ کند. نتایج این پژوهش با نتایج آکگول و کیوانچ (۱۹۸۸) مبنی بر اثر مهارکنندگی اسانس کاکوتی بومی ترکیه بر باکتری‌های گرم منفی *اشرشیاکلی* و *انتروباکتر آئروژنز* همخوانی دارد [۲۷].

Table 4 The effect of different concentrations of ziziphora and tarragon essential oils on *Escherichia coli* counts (CFU/g) of rainbow trout fillet during storage at 4 °C.

Sample	Concentration (mg/L)	Day 1	Day 5	Day 10	Day 15
Control	-	8.0±0.1 ^{Da}	102±0.3 ^{Ca}	1.6±0.3×10 ³ ^{Ba}	4.7±0.2×10 ⁴ ^{Aa}
	500	7±0.3 ^{Db}	82±0.2 ^{Cc}	9.6±0.2×10 ² ^{Bc}	8.6±0.3×10 ³ ^{Ac}
	1000	0 ^{Dd}	48±0.1 ^{Ce}	3.5±0.1×10 ² ^{Bf}	5.6±0.1×10 ³ ^{Ad}
Ziziphora	2000	0 ^{Dd}	47±0.1 ^{Cf}	2.2±0.1×10 ² ^{Bg}	4.5±0.2×10 ² ^{Ag}
	500	7±0.5 ^{Db}	85±0.1 ^{Cb}	1.2±0.1×10 ³ ^{Bb}	9.3±0.3×10 ³ ^{Ab}
	1000	5±0.4 ^{Dc}	76±0.3 ^{Cd}	6.6±0.3×10 ² ^{Bd}	2.3±0.4×10 ³ ^{Ae}
Tarragon	2000	0 ^{Dd}	44±0.1 ^{Cg}	5.4±0.1×10 ² ^{Bc}	9.4±0.1×10 ² ^{Af}

Values are the mean value of three replications ± standard deviation. Different lower case letters within the same column and different capital letters within the same row represent significant differences ($p < 0.05$) according to the Duncan test.

۴- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از اسانس گیاهی کاکوتی و ترخون در حفظ کیفیت میکروبی و افزایش ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نگهداری شده در دمای یخچال نسبت به نمونه شاهد مؤثرتر بودند. اسانس کاکوتی و بعد از آن اسانس ترخون در مهار رشد باکتری‌ها از جمله باکتری‌های سرمادوست، *کلیرم* و *اشرشیاکلی* مؤثر بودند. با افزایش غلظت اسانس‌ها، خاصیت ضد میکروبی آنها افزایش یافت و بیشترین اثر مربوط به غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. اسانس ترخون در کاهش تولید بازهای نیتروژنی فرار مؤثرتر از اسانس کاکوتی بود. در نهایت استفاده از غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از اسانس کاکوتی و یا ترخون به عنوان روش نگهداری طبیعی، برای افزایش ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دمای یخچال توصیه می‌شود.

۵- منابع

- [1] Mexis, S., Chouliara, E., and Kontominas, M., 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.
- [2] Lin, C.-C. and Lin, C.-S., 2005. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. *Food Control*, 16 (2), 169-175.
- [3] Sakanaka, S., Tachibana, Y., and Okada, Y., 2005. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha). *Food Chemistry*, 89 (4), 569-575.
- [4] Viuda-Martos, M., Mohamady, M.A., Fernández-López, J., Abd ElRazik, K.A., Omer, E.A., Pérez-Alvarez, J.A., and Sendra, E., 2011. In vitro antioxidant and antibacterial

- lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18 (5), 566-575.
- [14] Ahmadabad, M.K., Rezaei, M., and Ojagh, S.M., 2015. The effect of whey protein edible coating on microbial quality of rainbow trout fillet during cold storage. *Journal of Food Science & Technology* (2008-8787), 12 (49), 11-20.
- [15] Razawilar, V., 1999. *Microbial pathogens in foods and epidemiology of food poisoning*. Tehran: University of Tehran Press.
- [16] Huss, H.H., 1995. Quality and quality changes in fresh fish. Vol. 348. FAO Rome.
- [17] Yilmaz, M., Ceylan, Z.G., Kocaman, M., Kaya, M., and Yilmaz, H., 2009. The effect of vacuum and modified atmosphere packaging on growth of *Listeria* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *Journal of Muscle Foods*, 20 (4), 465-477.
- [18] Kykkidou, S., Giatrakou, V., Papavergou, A., Kontominas, M.G., and Savvaidis, I.N., 2009. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4 °C. *Food Chemistry*, 115 (1), 169-175.
- [19] Choobkar N., Akhondzadeh Basti, A., Sari Aa, Gandomi H., and Emami Rad, A.M., 2012. Effect of *Zataria multiflora* Boiss Essential Oil and Nisin on Shelf Life in Light Salted Fish Fillet of Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Journal of Medicinal Plants*, 11 (42), 205-215.
- [20] Kim, J., Marshall, M.R., and Wei, C.-i., 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43 (11), 2839-2845.
- [21] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., S., F., S.A., M., and M., M., 2017. Investigation of chemical compounds and antibacterial activity of Tarragon (*Artemisia dracunculus*) essential oil on some pathogenic bacteria in vitro. *Qom University of Medical Sciences Journal*, 11 (9), 42-51.
- [22] Mahmoud, B.S.M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Il-Shik, S., Dong-Suk, C., and Suzuki, T., 2004. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiology*, 21 (6), 657-666.
- activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control*, 22 (11), 1715-1722.
- [5] Tannous, P., Julini, R., Wang, M., and Simon, M., 2006. Water balance in hydrosol production via steam distillation case study using Lavandin. *Journal of Bioresource Technology*, 84, 243-246.
- [6] Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94 (3), 223-253.
- [7] Zolfaghari, M., Shabanpour, B., and Fallahzadeh, S., 2010. Quality preservation of salted, vacuum packaged and refrigerated mahi sefid (*Rutilus frisii kutum*) fillets using an onion (*Allium cepa*) extract. *Aquaculture Research*, 41 (8), 1123-1132.
- [8] Pazoki, A., Fahimi, H., and Shaker, H., 2007. The Affect Of IAA And NAA On Essential Oil Compstion In Tarragon (*Artemisia Dracunculus* L.). *Pajouhesh and Sazandegi*, 74, 124-128.
- [9] Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhari, F., Nejad-Ebrahimi, S., and Yousefzadi, M., 2005. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (B OISS.) R ECH. f. from Iran. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28 (10), 1892-1896.
- [10] Chouliara, I., Savvaidis, I., Panagiotakis, N., and Kontominas, M., 2004. Preservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. *Food Microbiology*, 21 (3), 351-359.
- [11] AOAC. 2002. *Official Methods of Analysis of AOAC International* (17thed.). Gaithersburg, USA Association of Official Analytical Chemistry.
- [12] 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 (1), 193-198.
- [13] Sallam, K.I., 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium

- of shallot extract (*Allium ascalonicum*) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 6 (2), 11-19.
- [26] Papadopoulos, V., Chouliara, I., Badeka, A., Savvaidis, I.N., and Kontominas, M.G., 2003. Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Food Microbiology*, 20 (4), 411-420.
- [27] Akgül, A. and Kivanc, M., 1988. Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 6 (3), 263-268.
- [23] Raeisi, M., Tajik, H., Razavi, R.S.m., Maham, M., Moradi, M., Hajimohammadi, B., Naghili, H., Hashemi, M., and Mehdizadeh, T., 2012. Essential oil of tarragon (*Artemisia dracunculus*) antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in culture media and Iranian white cheese. *Iranian Journal of Microbiology*, 4 (1), 30-34.
- [24] Rabiei, S., Hosseini, H., and Rezaei, M., 2014. The inhibitory effect of Black zira essential oil on *Listeria monocytogenes* growth in simulated broth culture models and fillet of Kutum (*Rutilus frisii kutum*). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 10 (2), 122-128.
- [25] Pezeshk, S., Rezaei, M., and Hosseini, H., 2011. Antibacterial and antioxidant activities



The inhibitory effect of ziziphora and tarragon essential oils on microbial quality of rainbow trout fillet stored at refrigerator

Sadeghzadeh Marandi, P. ¹, Javadi, A. ^{2*}, Afshar Mogaddam, M. R. ³

1. Department of Cellular & Molecular Biology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
2. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary, Tabriz Medical Science, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
3. Food and Drug Safety Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

ABSTRACT

Plant essential oils can prevent the growth of bacteria and increase the shelf life of food products such as seafood and fish. In this study, the effect of ziziphora and tarragon essential oils at concentrations of 500, 1000, and 2000 mg/L on microbial quality and shelf life of rainbow trout fillets stored at 4 °C was investigated. The results showed that the essential oils of ziziphora and tarragon were effective in reducing the production of volatile nitrogen bases and the greatest effect was related to ziziphora essential oil with a concentration of 2000 mg/L. It was also observed that the use of ziziphora and tarragon essential oils reduced the total viable counts, psychrotrophic bacteria, coliforms, and Escherichia coli bacteria compared to the control sample, which confirms their antimicrobial properties. It was concluded that ziziphora essential oil with a concentration of 2000 mg/L was more effective than tarragon essential oil in controlling the microbial load and delaying the spoilage of rainbow trout fillet at refrigerator temperature.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 07/ 04
Accepted 2022/ 06/ 14

Keywords:

Rainbow Trout,
Essential Oil,
Tarragon, Ziziphora,
Microbial Quality.

DOI: 10.22034/FSCT.19.128.249
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.3.8

*Corresponding Author E-Mail:
javadi@iaut.ac.ir