# تاثیر آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس گشنیز بر ماندگاری فیله ماهی شوریده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

زینب عالی مرادیان[۱]، لاله رومیانی[۲*]، مهرنوش تدینی[۱]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
۲- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

**(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۰۹ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۵/۰۶)**

## چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس گشنیز (*Coriandrum sativum*) بر ماندگاری فیله ماهی شوریده (*Otolithes ruber*) انجام شد. در این تحقیق خاصیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های مختلف با استفاده از روش ۲ و ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) با آنتی‌اکسیدان سنتزی (*Butylated Hydroxytoluene*) BHT مقایسه شد. همچنین پارامترهای فیزیکوشیمیایی (pH، بازهای نیتروژنی فرار (TVN)، تیوباربیتوریک اسید (TBA)، پراکسید (PV)، اسیدهای چرب آزاد (FFA) و تعیین بار میکروبی کل (TVC) و باکتری‌های سایکروفیل (PTC) توسط نمونه شاهد بدون اسانس (تیمار اول)، فیله حاوی۱/۵ درصد اسانس (تیمار دوم) و۳ درصد اسانس (تیمار سوم) به مدت ۱۵ روز در دمای ٤ $^{o}C$ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که در ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی، IC50 (غلظت موثر از نمونه که ظرفیت مهار ۵۰٪ DPPH را دارد) برای اسانس گشنیز (mg/ml) ۰/۷۹ تعیین شد. میزان pH در فیله شوریده از روز صفر تا پانزدهم روند افزایشی داشت. میزان بازهای نیتروژنی فرار در روز پانزدهم بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری داشت (P <۰/۰۵). میزان تیوباربیتوریک اسید در تیمار ۲ در روز دوازدهم (۰/۰٤ ± ۲/۷۱) و در روز پانزدهم (۰/۰۹ ± ۳/۳۱) میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم بافت بدست آمد. میزان عدد پراکسید از روز صفر تا روز دوازدهم روند افزایشی داشت. میزان اسیدهای چرب آزاد بین تیمارهای مورد مطالعه در روز پانزدهم اختلاف معنی‌داری داشت ($P<0.05$). مجموع باکتری‌های سرمادوست و باکتری‌های کل از روز نهم به بعد بالاتر از استاندارد مجموع بار میکروبی (γlog cfu/ g) بود. نتایج نشان داد که بهترین زمان ماندگاری فیله ماهی شوریده تحت تاثیر اسانس گیاه گشنیز طی مدت ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال از نظر آنالیزهای شیمیایی و میکروبی در تیمار ۳ درصد اسانس گشنیز تا روز نهم بدست آمد.

**کلید واژگان:** اسانس گشنیز، آنتی اکسیدان، ضد میکروبی، ماهی شوریده.

*مسئول مکاتبات: l.roomiani@yahoo.com

## ۱- مقدمه

ماهیان به علت واکنش‌های شیمیایی و یا میکروبی شدیداً مستعد فساد هستند و تقریبا سالانه ۲۵ درصد تولیدات اولیه آبزیان به خاطر پیامدهای ناشی از این واکنش‌ها از بین می‌رود [۱]. نگهداری ماهی در یخچال سبب کاهش سرعت فعالیت-های آنزیمی و شیمیایی خواهد شد اما به دلیل عدم توانایی دمای یخچال برای کاهش دمای ماهی به مقدار لازم، تغییرات نامطلوبی از جمله اکسیداسیون و هیدرولیز چربی به آرامی صورت گرفته و باعث کاهش کیفیت محصول می‌گردد [۲]. تحقیقات قابل توجهی بر روی بهبود کیفیت و افزایش مدت زمان مصرف ماهی مانند استفاده از اسانس‌های گیاهی، پوشش-های خوراکی، دودی کردن، روش‌های پیشرفته انجماد و اتمسفر تغییر یافته انجام گردیده است [۳]. امروزه مردم با توجه به اثرات مضر نگهدارنده های غذایی شیمیایی و سنتتیک خواهان استفاده از نگهدارنده های طبیعی مشتق از منابع گیاهی، حیوانی و میکروبی هستند تا علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا از اثرات مضر نگهدارنده های غذایی شیمیایی مصون باشند [٤]. هچنین اخیراً با پی بردن به سمیت و سرطان‌زایی بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک، توجه محققان به شناسایی انواع طبیعی آنها معطوف شده است [۵].

اسانس‌های گیاهی را روغن‌های اتری یا فرار می‌گویند که از مهم‌ترین نگهدارنده‌های طبیعی محسوب می‌شوند. بطور عمده ترکیبات فنلی مسئول خواص ضدمیکروبی اسانس‌ها هستند. بنابراین هرچه مقادیر مواد فنولیک در اسانس بالاتر باشد، خواص ضدمیکروبی آن بالاتر خواهد بود. به احتمال زیاد قابل توجه‌ترین زمینه کاربرد اسانس‌ها، جلوگیری از رشد و نیز کاهش تعداد پاتوژن‌های خطرناک مواد غذایی می‌باشد. همچنین به تاخیر انداختن فساد و بهبود کیفیت ارگانولپتیک نیز از نظر تجاری مورد توجه خواهد بود. حدود ۳۰۰۰ نوع اسانس گیاهی شناخته شده وجود دارد که تقریبا ۳۰۰ نوع از آنها اهمیت تجاری دارند [٦]. یکی از این گیاهان گشنیز است. گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) از خانواده چتریان می-باشد که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است [۷] و در اغلب مناطق ایران کشت می‌شود و آثار ضد میکروبی و قارچی نیز دارد. در طب سنتی از خواص گشنیز که همانند زیره می‌باشد به عنوان هضم‌کننده غذا، ضد نفخ، اشتهاآور، برطرف-کننده دردهای عضلانی و آرامبخش استفاده می‌شود [۸]. تاکنون مطالعه‌ای درخصوص بررسی تاثیر ضداکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس گشنیز بر ماندگاری ماهی انجام نشده است، اما مطالعاتی بر روی تاثیر گیاهان دارویی بر روی ماندگاری فیله ماهی انجام شده است. از جمله این مطالعات می‌توان به بررسی اثر بازدارندگی اسانس زیره سبز(*Cuminum cyminum*) بر روی میزان رشد استرپتوکوکوس اینیایی در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) [۹]، بررسی اثر عصاره آویشن (*Zataria multiflora*) در کیفیت شیمیایی سوریمی تولید شده از ماهی کپور معمولی ( *Cyprinus carpio*) [۱۰]، تاثیر استفاده از نایسین و عصاره رزماری بر روی بار باکتریایی فیله کپور معمولی (*C. carpio*) [۱۱]، تاثیر استفاده از عصاره زیره سبز (*Nigella sativa* L.) بر روی فیله ماهی بنی (*Barbus grypus*) [۱۲] اشاره کرد. هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر ضداکسیدانی (DPPH) و ضد میکروبی اسانس گشنیز بر ماندگاری فیله ماهی شوریده در دمای یخچال است.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- تهیه اسانس گیشنیز

گیاه گشنیز از از استان البرز (کرج) خریداری گردید و پس از اطمینان از نوع گونه توسط پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهران، اقدام به تمیز کردن، شستشو و خشک‌کردن در آون شد. سپس اسانس گیاه گشنیز به روش کلونجر تهیه و آنالیز اسانس توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MS) انجام شد. گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع (Agilent 6890) با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلیمتر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع (BPX5) بود. برای شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، نمونه که توسط n- هگزان رقیق شده بود به مقدار ۱ میکرولیتر به دستگاه (GC/MS) تزریق شد. برنامه دمائی ستون بصورت ذیل تنظیم گردید: دمای ابتدائی آون ۵۰ درجه سانتیگراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتیگراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲٤۰ درجه سانتیگراد و سپس با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتیگراد و ۳ دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ ۷۵ دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتیگراد بصورت split ۱ به ۳۵ بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با

سرعت جریان ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل (Agilent 5973) با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتیگراد بود.

## ۲-۲- تهیه فیله‌ماهی

ماهی شوریده از بازار ماهی‌فروشان شهر آبادان خریداری و بوسیله جعبه‌های یونولیت حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از سرزنی، تخلیه امعا و احشا ماهیان، فیله‌های ۵۰ گرمی به دست آمد. اسانس گشنیز با توئین ۸۰ (شرکت مرک آلمان) جهت توزیع یکنواخت مخلوط گردید. سپس فیله‌ها با سه تیمار کنترل (تیمار اول)، ۱/۵درصد (تیمار دوم) و ۳ درصد (تیمار سوم) پوشش داده شدند (۱۳). فیله‌ها به مدت یک دقیقه در محلول مورد نظر در دمای اتاق نگهداری شدند و پس از تمام شدن آبچک و خشک شدن نمونه‌ها درون کیسه‌های پلی‌اتیلن بسته‌بندی، نشانه‌گذاری و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند. نمونه‌برداری در روز صفر، سوم، ششم، نهم، دوازدهم و پانزدهم با ۳ تکرار صورت گرفت.

## ۲-۳- اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی

### ۲-۳-۱- اندازه‌گیری pH

برای اندازه‌گیری pH ۵ گرم از نمونه با ٤۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و صاف گردید. سپس pH نمونه‌ها در دمای اتاق با استفاده از دستگاه pH متر مدل ۳۵۱۰ شرکت Jenway انگلستان اندازه‌گیری گردید [١٤].

### ۲-۳-۲- اندازه‌گیری پراکسید (PV)

برای استخراج چربی، مقدار ۳ گرم نمونه به درون دکانتور انتقال یافت. سپس ۷ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد به نمونه اضافه گردید. دکانتور به مدت ۱ دقیقه به شدت تکان داده شد. در ادامه دکانتورها در مکان تاریک به مدت ٢٤ ساعت قرار گرفتند. برای جداسازی چربی از حلال، ظروف شیشه‌ای که محتوی چربی و حلال بودند در حمام آب گرم قرار گرفتند و گاز ازت به درون ظرف وارد گردید. به این ترتیب پس از چند دقیقه حلال تبخیر و و نهایتاً چربی باقی ماند. نمونه‌ای از روغن استخراج شده از ماهی به دقت در ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری سرسمباده ای وزن و حدود ۲۵ میلی لیتر از محلول اسید استیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی‌لیتر از آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته یک درصد به مجموعه اضافه و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر شد. میزان پراکسید از رابطه زیر مورد محاسبه قرار گرفت [۱۵].

فرمول (۱)

$$PV = \frac{100 \times \text{نرمالیته} \times \text{حجم مصرفی}}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

### ۲-۳-۳- اندازه‌گیری مقدار اسید چرب آزاد

برای استخراج چربی مقدار ۳ گرم نمونه به درون دکانتور انتقال یافت. سپس۷ میلی‌لیتر اتانول۷۰ درصد به نمونه اضافه و به مدت ۱ دقیقه به شدت تکان داده شد. سپس ١٤ میلی‌لیتر محلول کلروفرم به آن اضافه گردید و دوباره تکان داده شد. دکانتورها برای مدت ٢٤ ساعت در مکان تاریک قرار داده شدند. برای جداسازی چربی از حلال، ظروف شیشه‌ای در حمام آب گرم قرار گرفتند و گاز ازت به درون ظرف تزریق شد. پس از چند دقیقه حلال تبخیر و چربی باقی ماند. به منظور استری شدن چربی ۵ میلی‌لیتر سود متانولی ۲ درصد به آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از خنک شدن محلول، ۳ میلی‌لیتر محلول تری بور فلوراید اضافه و به مدت ۲ تا ۳ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. به مواد حاصل ۱ میلی‌لیتر هگزان نرمال اضافه و به آن ۱ میلی‌لیتر محلول نمک اشباع اضافه گردید. محلول به شدت تکان داده شد و بعد از پدیدار شدن دو فاز جداگانه فاز بالایی به دقت جدا گردید [۱۷،۱۵].

### ۲-۳-٤- اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید (TBA)

مقدار ۵ گرم فیله چرخ شده به بالون تقطیر منتقل و روی آن ۵۰ سی‌سی آب مقطر اضافه و به مدت ۲ دقیقه هم زده شد. مجدداً ٤۷/۵ سی‌سی آب مقطر همراه با ۲/۵ سی‌سی اسید کلریدریک ٤ نرمال روی آن اضافه شد. سپس ۵ سی‌سی از محلول تقطیر شده به داخل لوله آزمایش با درپیچ تفلونی منتقل و روی آن ۵ سی‌سی معرف تیوباربیتوریک اضافه شد. به منظور تهیه بلانک، ۵ سی‌سی آب مقطر همراه با ۵ سی‌سی معرف تیوباربیتوریک اسید به لوله آزمایش دیگری اضافه شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۵ دقیقه در حمام آبی در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفته و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در آب سرد خنک گشتند. بعد از آن به کمک دستگاه اسپکتوفتومتری در طول ۵۳۸ نانومتر میزان جذب قرائت شد [١٦].

**۲-۳-۵- اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)**

۱۰ گرم نمونه گوشت ماهی در یک بالن تقطیر ۱۰۰۰ میلی-لیتری قرار داده شد و ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر به همراه چند عدد سنگ جوش و کمی ضد کف به آن افزوده شد. بالن به مدت ۱۵ دقیقه جهت رسیدن به دمای جوش حرارت داده شد، بخارهای خارج شده از بالن تقطیر مستقیماً در داخل ارلن مایری که حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محلول اسید بوریک ۲ درصد و چند قطره معرف متیل بود، جمع شد تا این که حجم اسید بوریک و بخارهای معیان یافته در داخل آن به ۱۵۰ میلی‌لیتر رسید و به رنگ سبز درآمد. در پایان محلول حاصل از تجمع بخارهای تقطیر به وسیله اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا رسیدن به رنگ پوست پیازی تیتر شدند. مقدار مواد ازت بر حسب میلی‌گرم در نمونه بدست آمد [۱۵].

## ۲-٤- شمارش کل باکتری‌ها

جهت شمارش کلی باکتری‌ها از روش استاندارد ملی به شماره۵۲۷۲ استفاده شد. به این منظور ۵ گرم نمونه با ٤۵ میلی‌لیتر آب مقطر به کیسه استریل استومیکر (مدل Inter-science 400) منتقل و به صورت هموژن درآمد. سپس نمونه تا رقت $10^{5}$ میلی‌لیتر رقیق شد. ۱ میلی‌لیتر از هر رقت در پلیت قرار داده شد و محیط کشت پلیت کانت آگار به آن اضافه شد. بعد از چند دقیقه همه پلیت‌ها وارونه شده و در انکوباتور به مدت ٤۸ ساعت با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از ٤۸ ساعت شمارش کلنی‌ها انجام شد. جهت شمارش باکتری‌های سایکروفیل از روش استاندارد ملی به شماره ۹۸۹۹، کشت به صورت سطحی بر روی محیط کشت پلیت کانت آگار انجام شد و بعد از نگهداری پلیت‌ها در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز تعداد کلنی‌های موجود بر روی پلیت شمارش شد [۱٤].

**۲-۵- ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی**

ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH از طریق بی-رنگ شدن محلول بنفش رنگ (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمایش ۰/۰۳ گرم نمونه با سه میلی‌لیتر محلول (DPPH ۰/۰٤) درصد را مخلوط کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و دور از نور ماند. سپس به مدت ده ثانیه با دستگاه ورتکس یکنواخت گردیده و میزان جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. قدرت خنثی‌سازی رادیکال (RSA) آزاد DPPH طبق فرمول زیر محاسبه گردید [۱۹].

فرمول (۲)

$$RSA\,(\%) = 100 \times \left[\frac{A_{blank} - A_{sample}}{A_{blank}}\right]$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده با ۳ تکرار از طریق نرم افزار SPSS.20 صورت گرفت و همگنی واریانس داده ها با آزمون لون بررسی شد و توسط برنامه Excel 2007 رسم نمودارها و جداول انجام شد.

# ۳- نتایج

ظرفیت آنتی اکسیدانی اسانس، در غلظت های مختلف با استفاده از روش DPPH ارزیابی و با آنتی اکسیدان استاندارد BHT مقایسه شده است. داده های حاصل از این تحقیق نشان داد که IC50 برای اسانس گیاه گشنیز (mg/ml) ۰/۷۹ تعیین شد، در حالی که این پارامتر برای BHT (mg/ml) ۳۲/۷۱ بود. این نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس گشنیز، فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافته است. نتایج ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی در جدول شماره ۱ آورده شده است. با افزایش غلظت اسانس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد. بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده اسانس گشنیز نسبت به BHT فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری دارد. در مطالعه‌ای فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زیره سیاه (*Carum carvi*) با دو روش DPPH و بی‌رنگ‌شدن بتاکاروتن مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زیره سیاه با BHT قابل مقایسه است، هم چنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مربوط به حضور ترکیب‌های فنولیک است. ترکیبات فنولیک با غیرفعال‌کردن رادیکال‌های آزاد چربی و رادیکال‌های پروکسی از اکسیداسیون جلوگیری می‌کنند [۲۰]. همچنین مطالعات قدرت احیاکنندگی را در اسانس‌هایی که حاوی ترکیبات فنولیک هستند را گزارش کرده است [۱۹]. با توجه به مطالب بالا و نتایج این تحقیق می‌توان گفت دلیل فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی اسانس گشنیز، حضور ترکیب‌های فنلی و همچنین ترکیبات ترپنوئیدی از جمله Hexadecen با ۲٤/۳۰۸۱ درصد است.

**Table 1** Results of evaluation of antioxidant properties of *Coriandrum sativum* essential oil using the DPPH method

| IC50 (mg/ mL) | %RSA | Concentration (µg/ ml) | Sample |
|---|---|---|---|
| 0.79 | 92.11 | 2 | Coriander essential oil mg/ mL) |
| | 69.08 | 1 | |
| | 38.22 | 0.5 | |
| | 27.13 | 0.25 | |
| | 15.41 | 0.125 | |
| | 9.26 | 0.0625 | |
| 32.71 | 16.03 | 100 | BHT (mg/ mL) |
| | 21.51 | 80 | |
| | 33.14 | 60 | |
| | 59.61 | 40 | |
| | 61.28 | 20 | |
| | 85.44 | 10 | |

ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گشنیز در جدول ۲ آورده شده است. جزء اصلی اسانس گشنیز در این آنالیز، یک ترکیب ترپنوئیدی با نام هگزادسن با ۲٤/۳۰۸۱ درصد بود.

**Table 2** The most important compounds of *Coriandrum sativum* essential oil

| Chemical Compounds | Retention time (min) | ٪ |
|---|---|---|
| Nonane | 6.172 | 3.7707 |
| n-Decanioc acid | 22.5006 | 2.9496 |
| Trans-2-Decenoic acid | 23.8169 | 3.3118 |
| Undecanoic acid | 35.3994 | 2.6231 |
| 2-Octylforan | 26.0344 | 5.7794 |
| 2-HEXADECEN | 42.6172 | 24.3081 |
| E-2-Tetradecen | 31.225 | 2.1878 |
| Isophytol | 38.15 | 2.0285 |
| Hexadecanoic acid | 38.7522 | 5.7395 |

## ۳-۱- میزان pH

در این تحقیق تغییرات میزان pH در فیله شوریده از روز صفر تا روز پانزدهم روند افزایشی داشت. میزان pH در تیمار ۲ در روز دوازدهم و تیمار شاهد در روز نهم با سایر تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری داشت (P< ۰/۰۵)، اما در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P> ۰/۰۵). بالاترین و پایین‌ترین میزان pH در فیله ماهی شوریده به ترتیب در تیمار شاهد روز پانزدهم (٦/۸۲±۰/۰۲) و تیمار شاهد و تیمار ۲ در روز صفر (٦/۲۰±۰/۰۱) به دست آمد. روند افزایشی pH را میتوان به تولید ترکیبات بازی حاصل از تجزیه آنزیمی عضله ماهی نسبت داد [۲۱]. به عبارت دیگر پس از مرگ ماهی بر اثر تولید اسید لاکتیک حاصل از گلیکولیز مقدار pH کاهش می‌یابد و با افزایش مدت نگهداری به دلیل عملکرد آنزیم‌های پروتئولیتیک میزان آمین‌های آزاد افزایش می‌یابد که سبب افزایش میزان pH در نمونه‌ها می‌گردد. این فاکتور به تدریج تغییر می‌کند و فاکتور مناسبی برای نشان دادن فساد گوشتی نمی‌باشد [۲۲].

در مطالعه Hosseinipour و همکاران (۲۰۱۱۱) بر روی اثر عصاره زیتون بر روی ماندگاری قزل‌آلای رنگین کمان [۲۳] نتیجه ای مشابه با یافته‌های تحقیق حاضر را گزارش کردند. در مطالعه آنها نیز روند افزایشی در میزان pH در تمام تیمارها مشاهده شد اما تیمارهای که داری عصاره زیتون بودند روند افزایشی، سرعت کمتری داشت. افزایش pH گوشت ماهی در برخی روزهای نگهداری ممکن است به خاطر تولید ترکیبات بازی مانند آمونیاک، تری‌متیل‌آمین و دیگر آمین‌های بیوژنی باشد که توسط باکتری‌های عامل فساد در ماهی تولید می‌شود [۲٤].

## ۳-۲- بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

تغییرات میزان بازهای نیتروژنی فرار در فیله شوریده از روز صفرتا روز پانزدهم روند افزایشی داشت. میزان بازهای

نیتروژنی فرار در روز پانزدهم بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). همچنین در تیمار ۲ روزهای نهم، دوازدهم و پانزدهم با سایر تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). بالاترین و پایین‌ترین میزان بازهای نیتروژنی فرار در فیله ماهی شوریده به ترتیب در تیمار شاهد روز پانزدهم (٤/۰٤±۷۸/٦٥ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) و تیمار شاهد در روز صفر (۰/۲۸±۱۰/۹٥ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) به دست آمد. افزایش میزان بازهای نیتروژنی فرار به فعالیت باکتری‌ها و آنزیم‌های موجود در گوشت ارتباط دارد. علت افزایش میزان بازهای نیتروژنی فرار در اثر هیدرولیز آمینی و فعالیت باکتری‌ها در طول مدت نگهداری می‌باشد که این عوامل ایجاد کننده می‌توانند به پروتئین حاصل حمله و سبب افزایش ترکیبات فرار قلیایی شوند [۲٥]. در ماهیان دریایی میزان ۲۰- ۱٥میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بازهای نیتروژنی فرار نشان دهنده کیفیت مطلوب می‌باشد و میزان ٥۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نشان دهنده کیفیت پایین می‌باشد [۲٦]. البته بسیاری از محققین حد مجاز بازهای نیتروژنی فرار در فرآورده‌های شیلاتی را برای مصارف انسانی ۳٥-۳۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم اعلام نموده‌اند [۲۷] که براساس آن در تیمار شاهد میزان بازهای نیتروژنی فرار از روز ششم به بعد بالاتر از حد مجاز بوده است. تعیین و اندازه‌گیری میزان بازهای نیتروژنی فرار به عنوان یکی از شاخص‌های تازگی و کیفیت فیله ماهیان کاربرد دارد [۲۸]. میزان بازهای نیتروژنی فرار دامنه وسیعی از ترکیبات بازی فرار مانند متیل آمین، دی متیل آمین، تری متیل آمین و آمونیاک را در بر می‌گیرد [۲۹]. در فیله ماهی کپور نقره‌ای *(Hypophthalmichthys molitrix)* تغییر میزان بازهای نیتروژنی فرار بهترین فاکتور کنترل کیفیت ارائه شده است [۳۰]. میزان این شاخص در نگهداری فیله ماهیان ماهی آنچوی *(Engraulis encrasicholus)* [۳۱] و نگهداری فیله قزل-آلا [۳۲] در دمای یخچال نیز افزایش داشت که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. افزایش میزان بازهای نیتروژنی فرار به علت عامل تولیدکننده این شاخص یعنی باکتری‌ها می‌باشد. در روزهای اولیه جمعیت باکتری‌های مختلف در فاز پایه قرار دارند و با سرعت کمی افزایش می‌یابند ولی پس از این مرحله به سرعت زیاد می‌شوند [۳۳].

## ۳-۳- تیوباربیتوریک اسید (TBA)

میزان تغییرات تیوباربیتوریک اسید در فیله شوریده از روز صفر تا روز پانزدهم روند افزایشی داشت. میزان تیوباربیتوریک اسید در تیمار ۲ در روز دوازدهم و پانزدهم با سایر تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی داری داشت (P<۰/۰٥). بالاترین و پایین‌ترین میزان تیوباربیتوریک اسید در فیله شوریده به ترتیب در تیمار ۱ در روز پانزدهم ٤/۷۱±۰/۰٤ و تیمار ۲ در روز صفر ۰/٦۱ ±۰/۰۱ میلی‌گرم مالون آلدئید در کیلوگرم به دست آمد. در بررسی تاثیر اثر عصاره آویشن بر روی ماندگاری قزل‌الای رنگین کمان که توسط Shabanpoor و همکاران (۲۰۱۲) [۳٤] انجام شد تیمارهای حاوی آویشن کمترین مقادیر TBA را نشان دادند و آنها این امر را علاوه بر وجود بسته‌بندی به وجود عناصر آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره آویشن نسبت دادند که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد [۳٤]. وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی که در جدول ۲ و نیز قدرت آنتی-اکسیدانی بالای عصاره گشنیز، کاهش سطح TBA به دلیل کاهش اکسیداسیون چربی، قابل توجیه است. افزایش مقدار تیوباربیتوریک اسید طی نگهداری در یخچال ممکن است ناشی از دهیدروژنه شدن جزیی بافت ماهی و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع باشد [۳٥]. وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی که در جدول ۲ و نیز قدرت آنتی-اکسیدانی بالای عصاره میزان مجاز تیوباربیتوریک اسید در گوشت ماهی ۲-۱ میلی‌گرم مالون آلدئید در کیلوگرم گوشت ماهی می باشد [۳٥]. که مقادیر حدود ٤-۳ میلی‌گرم مالون آلدئید در کیلوگرم گوشت ماهی نشان دهنده این است که کیفیت گوشت ماهی کاهش یافته است [۳٦].

## ۳-٤- عدد پراکسید (PV)

تغییرات عدد پراکسید در فیله شوریده از روز صفر تا روز دوازدهم روند افزایشی داشت، سپس در روز پانزدهم کاهش مشاهده شد. بالاترین و پایین‌ترین میزان عدد پراکسید در فیله ماهی شوریده به ترتیب در تیمار شاهد روز دوازدهم (۰/۱۳±٦/۱۰ میلی اکی والان در کیلوگرم) و تیمار ۱ و ۲ در روز صفر (۰/۱٤±۰/۹۸ میلی اکی والان در کیلوگرم) به دست آمد. میزان پراکسید درچربی استخراج شده از نمونه گوشت ماهی با نزدیک شدن به فساد، افزایش می‌یابد و محصول اکسیداسیون اولیه چربی می باشد [۳۸]. در مطالعه‌ای تاثیر عصاره‌های سیاه دانه و زیره سیاه بر نگهداری فیله کپور نقره‌ای مقادیر پراکسید تا روز نهم به شدت افزایش یافت و سپس تا

انتهای دوره نگهداری روند کاهشی نشان داد [۳۹]. در تحقیقی تاثیرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنج عصاره گیاهی از جمله *Thymus vulgaris* مورد بررسی قرار گرفته و نتیجه‌ای مشابه این تحقیق را گزارش کردند [٤٠]. میزان عدد پراکسید قابل قبول پیشنهادی ۲۰-۱۰ میلی‌اکی والان در کیلوگرم چربی ارائه شده است [٤١] که نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر پایین‌تر از استاندارد اعلام شده می باشد. از مهم‌ترین دلایل نوسانات زیاد عدد پراکسید در طول نگهداری، تغییرات در اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌باشد که از واحدهای اصلی تشکیل دهنده چربی ماهی محسوب می‌شود [٤٢]. در این تحقیق تغییرات میزان اسیدهای چرب آزاد در فیله ماهی شوریده از روز صفر تا روز پانزدهم روند افزایشی داشت. آنزیم های هیدرولیزکننده چربی می‌توانند میزان اسیدهای چرب آزاد فیله ماهیان در مدت زمان نگهداری را افزایش دهند [٤٣]. میزان عدد پراکسید در تیمار ۲ در روزهای مختلف بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری داشت (P< ۰/۰۵) و بالاترین میزان این پارامتر در تیمار حاوی ۳ درصد گشنیز اندازه‌گیری شد که با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی بیان شده برای گشنیز قابل توجیه است. تاثیر عناصر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی بر روی کاهش عدد پراکسید در تحقیقات مختلف از جمله تاثیر گیاه آویشن بر روی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان توسط Shabanpoor و همکاران (۲۰۱۲) [٣٤] و برگ زیتون بر روی ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان توسط Hosseinipour و همکاران (۲۰۱۱) [۲۳] نیز نشان داده شده است.

## ۳-۵- اسیدهای چرب آزاد (FFA)

میزان تغییرات اسیدهای چرب آزاد در فیله شوریده از روز صفر تا روز پانزدهم روند افزایشی داشت. میزان اسیدهای چرب آزاد بین تیمارهای مورد مطالعه در روز پانزدهم اختلاف معنی‌داری داشت (P< ۰/۰۵)، اما در سایر تیمارهای مورد مطالعه روزهای صفر، سوم، ششم، نهم و دوازدهم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P> ۰/۰۵). بالاترین و پایین‌ترین میزان اسیدهای چرب آزاد در فیله ماهی شوریده به ترتیب در تیمار شاهد روز پانزدهم (۰/۱۳±٤/٦٤ درصد اولئیک اسید) و تیمار ۲ در روز صفر (۰/۰۱±۰/٤٨ درصد اولئیک اسید) به دست آمد. بنابراین تعیین میزان اسیدهای چرب آزاد یک شاخص خوب برای بیان اثر آنزیم‌های لیپولیتیک بر چربی ماهیان و سایر فرآورده‌های گوشتی است [٤٤]. اکسیداسیون چربی ها مربوط به اکسید شدن اسیدهای چرب چند غیر اشباعی در عضلات ماهی می‌باشد که منجر به ایجاد بو و طعم نامطلوب در ماهی و در نتیجه کوتاه شدن زمان ماندگاری آن می‌گردد [٤٥].

آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز در گوشت ماهی، هیدرولیز استرهای اسید چرب گلیسرول را کاتالیز می‌کنند که در نتیجه به تشکیل اسیدهای چرب آزاد می‌گردد [٤٦]. بر اساس گزارش-های موجود اسیدهای چرب آزاد به طور مستقیم باعث افت کیفیت محصول نمی‌شوند [٤٧] اما می‌توانند در فرآیند اکسیداسیون چربی شرکت کنند. افزایش اکسیداسیون چربی، گسترش طعم نامطلوب، تسریع در فساد و کاهش کیفیت محصول و دناتوره شدن پروتئین از نتایج افزایش اسیدهای چرب آزاد در ماهیان در زمان نگهداری است [٤٨]. در بیشتر مطالعات انجام شده بر روی زمان ماندگاری فیله ماهیان، میزان اسیدهای چرب آزاد طی زمان نگهداری افزایش داشته است، در نتیجه واکنش بین اسیدهای چرب آزاد با پروتئین‌های گوشت ماهی سبب سفت شدن بافت و کاهش قابلیت پذیرش آن از طرف مصرف کنندگان می‌گردد [٤٩].

Jahed Khaniky و همکاران (۲۰۱۵) عنوان کردند که ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره‌های انار عامل به تاخیر انداختن هیدرولیز چربی‌های موثر است که وجود چنین ترکیباتی در عصاره گشنیز را می‌توان عاملی برای کاهش اسیدهای چرب آزاد در تحقیق حاضر عنوان کرد [۵۰].

## ۳-٦- تعیین بار میکروبی کل (TVC) و باکتری‌های سایکروفیل(PTC)

در این تحقیق تعداد PTC و TVC در فیله ماهی شوریده از روز صفر تا روز پانزدهم روند افزایشی داشت. با توجه به افزایش بار میکروبی در فیله ماهی شوریده در این حالت فیله فاسد شده بود. تعداد TVC بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵)، اما در تیمار ۲ در روزهای سوم، ششم، نهم و دوازدهم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P< ۰/۰۵). همچنین تعداد PTC بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵)، اما در تیمار ۲ در روز دوازدهم و پانزدهم اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). بالاترین تعداد PTC و TVC در فیله ماهی شوریده در تیمار شاهد روز پانزدهم به ترتیب Log cfu/g

۹/۶۹±۰/۰٤ و Log cfu/g ۹/۸٤±۰/۰۲ به دست آمد. همچنین پایین‌ترین تعدادPTC و TVC در فیله شوریده به ترتیب در تیمار ۱ و ۲ روز صفر Log cfu/gو ٤/۲۸±۰/۱٦ Log cfu/g و ٤/۲۹±۰/۰۷ به دست آمد. در این تحقیق تعدادPTC و TVC در فیله شوریده از روز نهم (به جز تیمار ۲ برای TVC و تیمار ۱ و ۲ برای PTC) تا پانزدهم در تمام تیمارها بالاتر از استاندارد مجموع بار میکروبی (۷log cfu/g) بود. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی و میکروبی اسانس گشنیز بر فیله شوریده در دمای یخچال در جدول ۲ آورده شده است. نقش عمده باکتری‌ها در فساد ماهی، تاثیر بر اسیدهای آمینه آزاد و تولید بازهای نیتروژنی فرار می‌باشد که سبب کاهش ارزش غذایی، بو و طعم نامطبوع ماهی می‌شود. تاثیر اسانس دارچین بر تعداد PTC و TVC در فیله قزل‌آلای‌رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) روند افزایشی داشت [۵۱]. افزایش میزان بار میکروبی (PTC و TVC) در فیله کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthy molitrix*) تحت تاثیر اسانس گیاه اناریجه (*Pimpinella affinis*) طی مدت زمان ۱٦ روز نگهداری گزارش شده است [۵۲]. نتایج تحقیقات ارائه شده با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. در این تحقیق تعداد PTC و TVC در فیله ماهی شوریده از روز نهم تا پانزدهم بالاتر از استاندارد مجموع بار میکروبی (۷log cfu/g) بود. جمعیت میکروبی گوشت ماهی به دلیل عوامل محدود کننده حاصل از رشد خودشان بیشتر از حدود ۸ log cfu/g افزایش نمی‌یابد [٤۸]، اما در این تحقیق بار میکروبی در فیله ماهی شوریده بالاتر از ۸ log cfu/g به دست آمد. نتایج بررسی بار میکروبی کل نشان داد که اسانس گیاه گشنیز قدرت کنترل رشد باکتری ها در فیله ماهی شوریده را نداشت. این نتایج خلاف یافته‌های Tarek و همکاران (۲۰۱٤) [۵۳]، در زمینه تاثیر ۹ عصاره گیاهی بود، در تحقیقات آنها عصاره‌های گیاهی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی بودند و پیشنهاد شده که این عصاره‌ها می‌توانند به عنوان یک بازدارنده رشد باکتریایی در مدت زمان محدود محسوب شوند.

**Table 3** Effect of *Coriandrum sativum* essential oil on biochemical and microbial parameters of *Otolithes ruber* in 4 ºC

| Day | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 15 | 12 | 9 | 6 | 3 | 0 | Treatment | Parameter |
| 6.82 ± 0.02 [a] | 6.79 ± 0.04 [a] | 6.63 ± 0.04 [b] | 6.33 ±0.00 [a] | 6.24 ± 0.01 [a] | 6.20 ± 0.02[a] | control | pH |
| 6.72 ± 0.02 [a] | 6.76 ± 0.13 [a] | 6.50 ± 0.03 [a] | 6.32 ± 0.03 [a] | 6.23 ± 0.00 [a] | 6.26 ± 0.01 [a] | 1/5% | |
| 6.58 ± 0.03[b] | 6.46 ± 0.02 [b] | 6.45 ± 0.06 [a] | 6.26 ± 0.01 [a] | 6.23 [a]±0.01 | 6.20 ± 0.01 [a] | 3% | |
| 78.65 ± 4.04 [a] | 50.74 ± 0.87 [a] | 34.44 ± 1.08 [a] | 24.54 ± 0.83 [a] | 16.30 ± 1.02 [a] | 10.95 ± 0.28 [a] | control | TVB-N mg/ 100g |
| 63.38 ± 1.89 [b] | 64.82 ± 0.30 [a] | 31.71 ± 0.43 [a] | 24.61 ±0.93 [a] | 14.47 ± 0.60 [a] | 11.11 ± 0.53 [a] | 1/5% | |
| 54.87 ± 1.43 [c] | 45.16 ± 3.03 [b] | 28.59 ± 0.63 [b] | 22.25 ± 1.42 [a] | 13.72 ± 0.47 [a] | 10.94 ± 0.20 [a] | 3% | |
| 6.67 ± 0.04 [a] | 3.82 ± 0.04 [a] | 3.17 ± 0.04 [a] | 2.09 ± 0.06[a] | 1.09 ± 0.02 [a] | 0.62 ± 0.59 [a] | control | TBA |
| 4.71 ± 0.04 [a] | 3.89 ± 0.03 [a] | 2.86 ± 0.18 [b] | 2.09 ± 0.07[a] | 1.04 ± 0.04 [a] | 0.66 ± 0.027 [a] | 1/5% | Mg MDA/ kg |
| 3.31 ± 0.09 [b] | 271 ± 0.04 [b] | 2.44 ± 0.16 [c] | 1.58 ± 0.05[b] | 1.04 ± 0.01 [a] | 0.61 ± 0.015 [a] | 3% | |
| 5.29 ± 0.05 [a] | 6.10 ± 0.013 [a] | 4.83 ± 0.04 [a] | 3.92 ± 0.04[a] | 2.29 ± 0.05 [a] | 1 ± 0.058 [a] | control | PV |
| 5.19 ± 0.08 [a] | 5.57 ± 0.13 [b] | 4.50 ± 0.12 [a] | 3.52 ±0.38 [a] | 2.22 ± 0.04 [a] | 0.98 ± 0.143 [a] | 1/5% | Meq/ kg lipid |
| 4.17 ± 0.16 [b] | 4.15 ± 0.2 [c] | 3.03 ± 0.22 [b] | 2.29 ±0.06 [b] | 1.92 ± 0.04 [a] | 0.98 ± 0.143 [a] | 3% | |
| 4.64 ± 0.13 [a] | 3.29 ± 0.06 [a] | 2.81 ± 0.03 [a] | 1.87 ± 0.04[a] | 0.91 ± 0.06 [a] | 0.57 ± 0.044 [a] | control | FFA ٪ |
| 3.97 ± 0.15 [b] | 3.21 ± 0.21 [a] | 2.67 ± 0.26 [a] | 1.89 ±0.14 [a] | 0.82 ± 0.06 [a] | 0.57 ± 0.059 [a] | 1/5% | |
| 2.72 ± 0.07 [c] | 2.17 ± 0.04 [b] | 1.49 ± 0.03 [b] | 1.62 ±0.39 [a] | 0.72 ± 0.07 [a] | 0.48 ± 0.011 [a] | 3% | |
| 9.84 ±0.02 [a] | 8.61 ± 0.12 [a] | 7.40 ± 0.18 [a] | 6.68 ±0.03 [a] | 5.86 ± 0.04 [a] | 4.39 ± 0.123 [a] | control | TVC log cfu/g |
| 9.80 ±0.12 [a] | 7.93 ± 0.04 [b] | 7.67 ± 0.29 [a] | 6.63 ± 0.28 [a] | 5.11 ± 0.19 [b] | 4.30 ± 0.022 [a] | 1/5% | |
| 9.66 ± 0.09 [a] | 7.49 ± 0.09 [b] | 5.97 ± 0.02 [b] | 5.61 ± 0.02 [b] | 4.83 ± 0.03 [b] | 4.29 ± 0.079 [a] | 3% | |
| 9.69 ± 0.044 [a] | 8.39 ± 0.044 [a] | 7.34 ± 0.066 [a] | 6.48 ± 0.11 [a] | 5.70 ± 0.01 [a] | 4.40 ± 0.2366 [a] | control | PTC log cfu/g |
| 9.46 ± 0.13 [b] | 7.84 ± 0.04 [b] | 6.76 ± 0.02 [b] | 6.32 ±0.55 [a] | 4.78 ± 0.07 [b] | 4.28 ± 0.160 [a] | 1/5% | |
| 8.73 ± 0.06 [c] | 7.23 ± 0.05 [c] | 6.47 ± 0.33 [b] | 5.34 ± 0.08[b] | 4.72 ± 0.17 [b] | 4.33 ± 0.071 [a] | 3% | |

In each row, mean that at least one letter in common, according to Duncan's test, not significant difference at 5%

## ٤- نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج آنالیزهای شیمیایی و میکروبی، بهترین زمان ماندگاری فیله شوریده تحت تاثیر اسانس گیاه گشنیز طی مدت ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال، در تیمار ۳ درصد اسانس در روز نهم بدست آمد. همچنین اسانس گیاه گشنیز در مقایسه با BHT، خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی از خود نشان داد. با افزایش غلظت اسانس گشنیز، درصد بازدارندگی به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. اسانس گشنیز می‌تواند به عنوان یک

آنتی‌اکسیدان طبیعی، جایگزین آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در فیله شوریده مد نظر قرار گیرد.

## ۵- منابع


[1] Mahmouda, B.S.M., Yamazaki, K., Miyashita, I.S., Shin, K., Suzuki, T. 2006. A new technology for fish preservation by combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds. Journal of Food Chemistry. 99, 656–662.

[2] Perez-Alonso, F., Arias, C., Aubourg, S. 2003. Lipid deterioration during chilled storage of Atlantic pomfret (*Brama brama*). European Journal of Lipid Science and Technology, 105, 661-667.

[3] Hong, H., Luo, Y., Zhou, Z., Shen, H. 2012. Effects of low concentration of salt and sucrose on the quality of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fillets stored at 4 ºC. Journal of Food Chemistry. 133, 102–107.

[4] Juncioni de Arauz, L., Faustino Jozala, A., Gava Mazzola, P., Vessoni penna, T.C. 2009. Nisin biotechnological production and application: A Review. Food Science and Technol. 7, 1 - 9.

[5] Zhang, H., Chen, F., Wang, X., Yao, H. Y. 2006. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. Food Research International. 39, 833 - 839.

[6] Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. Journal of Food Microbiology. 94, 223 – 253.

[7] Sultana, S., Ripa, F.A. and Hamid, K. 2010. Comparative antioxidant activity study of some commonly used spices in Bangladesh. Journal Biology Science. 13(7), 340-343.

[8] Dierchesen, A., 1996. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crop. Coriander, International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). Italy. 82pp.

[9] Roomiani, L. and Rukni, N. 2014. The inhibitory effect on the growth of *Streptococcus iniae* cumin and nisin in salmon fillets using hybrid technology. Journal of Food Science and Technology. 48, 46-37.

[10] Farjami, B., Hosseini, S.V. 2014. Effect of thyme (*Zataria multiflora*) in the chemical quality surimi prepared from fish Common carp (*Cyprinus carpio*) during refrigerated storage. Fisheries, Iranian Journal of Natural Resources. 68, 456-447.

[11] Rezaei A and Shamloofar M. Effect of Using Nisin and Rosemary Essential Oil on Total Number of mesophilic Bacteria and Staphylococcus Bacteria in Farmed Common Carp Fillets Stored at 4°C. Electronic Journal Biology 12, 4-9.

[12] Ozpolat, E., Duman, M. 2016. Effect of black cumin oil (*Nigella sativa* L.) on fresh fish (*Barbus grypus*) fillets during storage at 2±1 °C. Food Science and Technology. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.09516

[13] Darughe, F., Barzagar, M., Sahari, M.A. 2012. Antioxidant and antifungal activity of Coriander (*Coriandrum sativum L.*) essential oil in cake. International Food Research Journal 19 (3): 1253-1260.

[14] AOAC. 2005. Association of Official Analytical Chemists, 18th edn. Maryland: AOAC International.

[15] AOAC. 2002. Official Methods of Analysis of AOAC International (17thed.). MD, Gaithersburg, USA Association of Official Analytical Chemistry.

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

[17] Tokur, B., Polat, A., Beklevik, G., Ozkutuk, S. 2004. Changes in the quality of fish-burger produced from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) during frozen storage (-18°C). European Food Research and Technology. 218, 420-423.

[18] de Quadros, D.A., Bolini, H.M.A. 2015. Effects of salt reduction and washing process of fish pulp on quality characteristics of Serra Spanish mackerel (*Scomberomous brasiliensis*) fish burger for school meals. Journal of Food Science and Technology. doi: 10.1007/s13197-015-1879-z.

[19] Huange, B., Jingesheng, H., Xiaoquan, B., Hong, Z., Xincheng, Y., Youwei, W. 2011. Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome knot and leaf. Meat Science. 87, 46- 53.

[20] Bamdad, F., Kadivar, M., Keramat, J. 2006. Evaluation of phenolic content and

[30] Zolfaghari, M., Shabanpour, B., Fallahzadeh, S. 2010. Comparison of extracts of thyme, onions and Kakuty wild fish fillet on a shelf life rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Food Science and Technology Research Journal. 6(2), 121-129 (in Persian).

[31] Gunsen, U., Ozcan, A., Aydin, A. 2011. Determination of Some Quality Criteria of Cold Storage Marinated Anchovy under Vacuum and Modified Atmosphere Conditions. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 11, 233-242.

[32] Angis, S., Oguzhan, P. 2013. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on chemical and microbiological properties of fresh rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during storage at refrigerator temperatures. African Journal of Microbiology Research. 7, 1136-1143.

[33] Bugin, S Unlusaying, M Izci, L Gunlu, A. 2006. The Determination of the shelf life and some nutritional components of Gilthead bream (*Sparus aurata*) after cold and hot smoking. Journal Veterinary Animal Science. 32 (1), 49-56.

[34] Shabanpoor, B., Zolfaghari, M., Falah Zade, S., Alipoor, GH. 2012. Effect of extract of *Zataria multiflora* boiss on shelf-life of salted vacuum packaged rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*) in refrigerator conditions: microbial, chemical and sensory attributes assessments. Journal of Food Science and Technology. 33(1), 45-53.

[35] Chouliara, I., Savvaidis, I.N., Panagiotakis, N., Kontominas, M.G. 2004. Preservation of salted, vacuum packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. Journal Food Microbiology. 21, 351-359.

[36] Goulas, A. Kontominas, M.G. 2007. Effect of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on the shelf-life of refrigerated chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. European Food Research and Technology. 224, 545-553.

[37] Karakam, H., Boran, M. 1996. Quality changes in frozen whole and gutted anchovies during storage at -18°C. International Journal Food Science and Technology. 31, 527-531.

[38] Lin, C.C., Lin, C.S. 2005. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and BHT using model systems and vegetable oil. International Journal of Food Sciences and Technology. 41, 20 -27.

[21] Simeonidou, S., Govaris, A., Vareltzis, K. 1998. Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice. Food Research International. 30, 479–484.

[22] Massa, A.E., Palacios, D.L., Paredi, M.E., Crupkin, M. 2005. Postmortem changes in quality indices of ice-stored flounder (*Paralchthys patagonicus*). Journal of Food Biochemistry. 29, 570-590.

[23] Hosseinipour, S.H., Peyghambari, S.Y., Rostamzad, H. 2011. Comparison of olive leaf extract and BHT antioxidant on the shelf life of Rainbow trout fish (*Oncorhynchus mykiss*) in cold storage at 4±1 C. 4, 67-83.

[24] Gram, L., Huss, H.H. 1997. Microbiological spoilage of fish and fish products. International Journal Food Microbiology. 33, 121–137.

[25] Ibrahim, S.M., Nassar, A.G., El-Badry, N. 2008. Effect of modified atmosphere packaging and vacuum packaging methods on some quality aspects of smoked mullet (*Mugil cephalus*). Global Veterinarian. 2 (6), 296-300.

[26] Arashisara, Ş., Hisara, O., Kayab, M., Yanik, T. 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) fillets. International Journal of Food Microbiology. 97, 209– 214.

[27] Schormuller, J. 1968. Handbuch der Lebensmittel Chemie, Band III/2 Teil, Tierische Lebensmittel Eier, Fleisch, Buttermilch, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, p. 1482-1537.

[28] Bahmani, Z., Rezaei, M., Hosseini, S.V., Hosseini, S.F., Alishahi, A., Ahmad, M. and Regenstein, J.M. 2013. Effect of Delayed Icing on the Microbiological, Chemical and Sensory Properties of Caspian Sea Golden Grey Mullet (*Liza aurata*). Aquatic Food Product Technology. 3-24.

[29] Rodriguez, A., Carriles, N., Cruz, J.M., Aubourg, S.P. 2008. Changes in the flesh of cooked farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice (−1.5° C). LWT Food Science and Technology. 41(9), 1726-1732.

by glazing with tea extracts. Journal of Food Chemistry. 16,169-75.

[39] Gholamzadeh, M., Hosseini, H., Eskandari, S., Hosseini, E., Gholamzadeh, M. 2013. Antioxidant activity of black cumin (Nigella sativa L.) and black caraway (*Buniumpersicum Boiss*) extracts, individually and in combination on chemical changes and sensory properties of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) stored in refrigerator. Journal of Food Hygiene. 3, 11-16.

[40] Mancini, E., Senatore, F., Del Monte, D., De Martino, L., Grulova, D., Scognamiglio, M., Snoussi, M., De Feo, V. 2016. Studies on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of five *Thymus vulgaris* L. essential oils. Molecules. 20, 12016-12028.

[41] Huss, H.H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish, Rome: FAO. Fisheries technical paper. 348 P.

[42] Khanipour, A.A., Fathi, S., Fahim Dejban, Y., Zareh gashti, G.H. 2013. Chemical indicators for the spoilage and shelf-life of the consolidated burgers (Kilka – Silver carp) during cold storage at -18°C. Iranian Scientific Fisheries Journal. 3, 14-21.

[43] Sankar, T.V., Raghunath, M.R. 1995. Effect of pre- freezing iced storage on the lipid during storage at low temperatures. Memoirs of Faculty of Fisheries Kagoshima University. 34, 89–96.

[44] Erkan, N., Ozden, O., Alakavuk, D.U., Yildirim, S.Y. 2006. Spoilage and shelf life of sardines (*Sardine pilchardus*) packed in modified atmosphere. European food Research Technology. 222, 667-673.

[45] Losada, V., Barrose-Velazquez, J., Gallardo, J.M., Aubourg, S.P. 2004. Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sardina pilchardus*) storage. Journal of Food Science. 63, 40-47.

[46] Bremner, H.A. 2002. Safety and quality issues in fish processing, CRC Press. 519 p.

[47] Lugasi, A., Losada, V., Hovari, J., Lebovics, V., Jakoczi, I., Aubourg, S. 2007. Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. LWT- Food Science and Technology. 40, 930-936.

[48] Zolfaghari, M., Shabanpour, B., Falahzadeh, S. 2011. Study of trend of chemical and microbial changes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to determine the optimum shelf-Life during storage in refrigerator temperature (4°C). Journal of natural environmental, Iranian journal of natural resources. 2, 107-119.

[49] Jezek, F., Buchtova, H. 2007. Physical and chemical changes in fresh chilled muscle tissue of common carp (*Cyprinus carpio 1.*) packed in a modified atmosphere. Journal Acta Veterinaria. Brno. 76, 83-92.

[50] Jahed Khaniky, G.R., Salehi, A., Shariatifar, N., Alimohammadi, M., Sedighara, P. 2015. Evaluation of antioxidant effects of water and ethanolic extracts of iranian pomegranate seed on lipid quality of trout fillet and determining the level of perishability at 2-4 ° C. J Neyshabur Uni. medical. science. 2, 1-17.

[51] Hubbs, J. 1991. Fish: microbiological spoilage and safety. Food Science and Technology. 5,166–173.

[52] Ariaei, P., Tavakolipour, H., Rezaei, M., Elhamirad, A. 2013. Antimicrobial activity of methyl cellulose based edible film enriched with *Pimpinella affinis* oil on the *Hypophthalmichthys molitrix* fillet under refrigerator storage condition. Electronic Journal of Food Processing and Preservation. 5 (1), 13-26.

[53] Tarek, N., Hassan, H.M., Abdel Ghani, S., Radwan, L.A., Hammouda, O., El-Gendy, A. 2014. Comparative chemical and antimicrobial study of nine essential oils obtained from medicinal plants growing in Egypt. Beni-Suef university journal of basic and applied science. 3, 149-156.

# The effect of antioxidant and antimicrobial of *Coriandrum sativum* essential oil on shelf life of *Otolithes ruber* fillets at 4 ºC

**Alimoradian, Z. [1], Roomiani, L. [2*], Tadayoni, M. [2]**

1. Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
2. Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

**(Received: 2017/12/30 Accepted:2018/08/27)**

This study has been carried out to investigate the antioxidant and antimicrobial effect of the coriander essential oil (*Coriandrum sativum*) on shelf life of *Otolithes ruber* fillets. In this study, the antioxidant property in different concentrations was compared with the synthetic antioxidant BHT using the 2.2.Diphenyl-1-picrylhydrazyl method. Moreover, the bio-chemical (pH, TVN, TBA, PV, FFA) and microbial parameters (PTC, PVC) have been studied using the control sample (treatment1), the fillet containing 1.5% essential oil (treatment 2) and the fillet containing 3% essential oil (treatment 3) for 15 days at $4^0$C. The results showed that in assessing the antioxidant property, IC50 was determined 0.79 (mg/ml) for the coriander essential oil. The pH in *Otolithes ruber* fillet had an increasing trend from the first to fifteenth day. The volatile nitrogen bases rate had a significant difference ($P< 0.05$) in day 15. The level of thiobarbituric acid in treatment 2 had a significant difference ($P<0.05$) in days 12 and 15. The peroxide value was determined respectively as follow: in control treatment in day 12 (6.10±./13 Meq/ kg) and in treatments 1 and 2 on day 0 (0.98±./14 Meq/ kg). The level of free fatty acids between in treatments had a significant difference ($p<0.05$) on day 15. The total psychrophilic Bacteria and total bacteria count were higher than the standard of the total microbial load (7log cfu/g). The results showed that according to chemical and microbial analysis, the best time for shelf life of *Otolithes ruber* fillets under the effect of the coriander essential oil during 15 days of storage at the refrigerator temperature was achieved in 3% coriander essential oil treatment.

**Keywords:** Coriander essential oil, Shelf life, Antioxidant, *Otolithes ruber*.

* Corresponding Author Email Address: l.roomiani@yahoo.com