

تاثیر اسانس روغنی پوست بالنگ بر تغییرات کیفیت شیمیایی و میکروبی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان ذخیره شده در سرما

رزاق محمودی^{۱*}، بابک پاکبین^۲ و رقیه وحیدی^۳

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۲۹

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۵

^۱ دانشیار، مرکز تحقیقات میکروبی‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

^۲ دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران

^۳ کارشناسی ارشد مهندسی صنایع غذایی، آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

*مسئول مکاتبه: Email: r.mahmodi@yahoo.com

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی ترکیبات شیمیایی، اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی اسانس پوست بالنگ بر تغییر کیفیت شیمیایی و میکروبی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دمای یخچال انجام شد. آزمایشات میکروبی (شمارش کلی باکتری‌های هوازی، باکتری‌های سرماگرا) و شاخص‌های شیمیایی (پراکسید، اسید چرب آزاد و تیوباریتوریک اسید) به صورت دوره‌ای بر روی نمونه‌های فیله ماهی (گروه شاهد و تیمار حاوی درصدهای مختلف اسانس بالنگ (۰/۵، ۱/۵ و ۳ درصد) طی دوره نگهداری ۱۵ روزه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. عمده‌ترین ترکیبات شیمیایی اسانس به ترتیب لیمونن (۳۳/۶۰ درصد)، بنزودی اکسل (۲۹/۷۰ درصد)، فنل (۸/۱۰ درصد)، بتایسیابولن (۴/۴۰ درصد)، سیترال (۴/۰۳ درصد) و ژرانیول (۲/۱۵ درصد) بودند. مقادیر شاخص‌های اکسیداسیون و باکتریایی تیمارهای حاوی اسانس در مقایسه با تیمار نمونه شاهد، تغییرات کمتری طی مدت نگهداری نشان دادند. کمترین مقدار اسیدهای چرب آزاد (۱/۵ درصد) در انتهای دوره نگهداری مربوط به تیمار دارای ۳ درصد اسانس بود ($P < 0.05$). با گذشت زمان مقادیر شاخص پراکسید در تمامی تیمارها افزایش نشان داد، با این وجود کمترین میزان در تیمار سه درصد اسانس بود ($P < 0.05$). شمارش کلی باکتری‌های هوازی، باکتری‌های سرماگرا در تیمار حاوی یک و یک و نیم درصد اسانس در مقایسه با سایر تیمارها متفاوت بود ($P < 0.05$). مقادیر تیوباریتوریک اسید در تمامی تیمارها با گذشت زمان افزایش یافت، با این وجود در تیمار اسانس ۳ درصد نسبت به تیمارهای دیگر به طور معنی‌داری کندتر بوده ($P < 0.05$) و در انتهای دوره ۰/۱۱ میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم بافت بود.

واژگان کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان، اسانس بالنگ، کیفیت ماندگاری

مقدمه

برخوردار بوده و در این زمینه گوشت آبزیان با توجه به دارا بودن مقادیر قابل‌ملاحظه‌ای پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای

امروزه تأمین پروتئین باکیفیت و ارزش تغذیه‌ای بالا از اهمیت به‌سزایی در تأمین سلامت افراد جامعه

گوشت قرمز در رژیم غذایی انسان مطرح باشد (کوز و همکاران ۲۰۰۱ و کونل ۲۰۰۲). گوشت ماهی علاوه بر قابلیت هضم بالا (گومز و همکاران ۲۰۰۹)، سرشار از اسیدهای چرب ضروری و مفید همانند امگا ۳ مثل ایکوزاپنتانویک اسید (EPA) و دکوزاهگزانویک اسید (DHA) می‌باشد (آلونسو و همکاران ۲۰۰۴). به همین جهت در راستای پیشگیری از بسیاری ناهنجاری‌ها از قبیل عقب‌افتادگی ذهنی کودکان و بیماری‌ها از قبیل ناراحتی‌های قلبی و عروقی و برخی سرطان‌ها بسیار مفید می‌باشند (گارسیا و همکاران ۲۰۰۴، شهیدی و میرعلی اکبری ۲۰۰۵). گوشت ماهی با توجه به مقادیر بالای اسیدهای چرب غیراشباع و ترکیبات ازته غیر پروتئینی مستعد فساد و اکسیداسیون بوده و مدت ماندگاری آن در شرایط سرما در مقایسه با گوشت قرمز کمتر می‌باشد (لوسادا و همکاران ۲۰۰۴، ساهو و همکاران ۲۰۰۴، استاماتیس و آرکودلوس ۲۰۰۷) که این امر می‌تواند سبب کاهش مصرف آن گردد (کوز و همکاران ۲۰۰۱ و میلینک و همکاران ۲۰۰۲)؛ بنابراین حذف یا کاهش فساد به‌ویژه اکسیداسیون چربی‌ها سبب افزایش ماندگاری این ماده غذایی در شرایط سرما می‌شود (آنتونیوفسکی و همکاران ۲۰۰۷).

اثرات نامطلوب بهداشتی (انوار و همکاران ۲۰۱۰)، سمی و سرطان‌زایی محافظت‌کننده‌های شیمیایی (کنگ و همکاران ۲۰۰۶ و جایپراکشا و پاتیل ۲۰۰۷) سبب گرایش محققان به شناخت نگه‌دارنده‌های طبیعی با توان آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی و کاربرد آن در نگه‌داری مواد غذایی شده است. بر اساس یافته‌های محققان، گیاهان دارویی و میوه‌ها منابع سرشاری از ترکیبات فنولی با خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قوی هستند (گو و همکاران ۲۰۰۳).

محصولات فرعی تولیدی در صنایع غذایی و فراورده‌های غذایی خانگی از جمله پوست میوه‌ها سرشار از ترکیبات فنولی با اثرات مفید بر سلامتی انسان می‌باشند، در این زمینه حدود ۹۶٪ از محصولات

مركبات در کشورها برای تولید آب‌میوه استفاده شده که پوست آن‌ها به‌عنوان محصول فرعی در صنعت آب‌میوه می‌باشد که از این محصول فرعی می‌توان به‌عنوان نگه‌دارنده طبیعی برای افزایش ماندگاری فرآورده‌های غذایی جایگزین نگه‌دارنده‌های شیمیایی بهره جست (کنگ و همکاران ۲۰۰۶). بالنگ^۱ از گونه مرکبات دارای مصارف غذایی و دارویی است و پوست آن یک منبع خوب از مواد ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی (گارو و همکاران ۲۰۰۷) و فلاونوئیدی است (پیترسون و همکاران ۲۰۰۶ و نوگاتا و همکاران ۲۰۰۶). ماهی قزل‌آلا به علت دارا بودن اسیدهای چرب اشباع‌نشده مفید و همچنین اسیدهای آمینه ضروری سهم بارزشی را در تأمین پروتئین مورد نیاز انسان ایفا می‌کند (سیدایاه و همکاران ۲۰۰۱). با توجه به ارزش غذایی بالای گوشت ماهیان ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، مزارع پرورش این نوع ماهی در دهه‌های اخیر توسعه یافته و میزان تولید این ماهی پرورشی در کشورمان از روند رو به رشد برخوردار بوده است. با توجه به تغییرات کیفی ماهیان در هنگام نگه‌داری به روش سرد و مشکلات استفاده از نگه‌دارنده‌های مصنوعی، کاربرد مواد طبیعی که قابلیت تجزیه هم دارند، در حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری ضرورت می‌یابد. لذا نظر به روند رو به گسترش توزیع این ماهی در اکثر نقاط کشور و مدت‌زمان لازم برای حفظ سلامت و کیفیت آن تا رسیدن به دست مصرف‌کننده، این مطالعه باهدف تعیین ترکیبات شیمیایی، اثرات ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس پوست بالنگ بر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگهداری شده در سرما انجام شد.

^۱ Citrus Aurantium

مواد و روش‌ها

تهیه بالنگ

میوه بالنگ تازه از مراکز عرضه میوه و تره‌بار شهر قزوین تهیه شد.

اسانس‌گیری

ابتدا پوست میوه بالنگ جدا و در دمای حدود 30°C خشک شد. در ادامه جهت تهیه اسانس، پوست خشک‌شده بالنگ آسیاب گردیده و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت، اسانس روغنی آن به روش تقطیر توسط آب، استخراج و پس از آب‌گیری توسط سولفات سدیم خشک تا هنگام استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره و در یخچال نگهداری شد (محمودی و همکاران ۲۰۱۲).

آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس

ابتدا نمونه آماده‌شده اسانس به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق و مناسب‌ترین برنامه‌ریزی دمایی ستون برای جداسازی کامل ترکیب‌های اسانس به دست آمد. همچنین درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس و شاخص بازداری هر ترکیب محاسبه گردید. سپس اسانس به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی نیز تزریق‌شده و طیف جرمی ترکیب‌ها به دست آمد. در این مطالعه دستگاه گاز کروماتوگراف از نوع Agilent 6890 با ستون موئینه به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS با برنامه دمایی ستون در ابتدا به صورت 70°C با توقف ۲ دقیقه در این دما سپس افزایش دما تا 220°C با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه و افزایش دمای ستون تا 300°C به مدت ۲ دقیقه استفاده شد. دمای اتافک تزریق 290°C بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت و شناساگر EI و دمای منبع یونیزاسیون 220°C بود (محمودی و همکاران، ۲۰۱۲).

تیمار کردن ماهی

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن ۵۰۰ گرم به صورت زنده از یکی از استخرهای پرورشی قزوین خریداری شد و همراه با یخ به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشگاه تبریز منتقل شد. پس از سر زنی، تخلیه امعاواحشا و استخوان‌گیری ماهیان، از هر ماهی دو فیله به وزن ۱۰۰ گرم برای انجام تیمارهای مختلف آماده شد. تیمارها شامل نمونه کنترل (فاقد اسانس و بسته‌بندی در کیسه‌های پلی‌اتیلن) و نمونه‌های حاوی ۰/۵، ۱/۵ و ۳ درصد اسانس بالنگ بودند. نمونه‌ها به مدت ۱۵ روز در یخچال نگهداری شده و به صورت دوره‌ای هر ۳ روز مورد آزمایش قرار گرفتند.

آزمون‌های شیمیایی

در هر یک از زمان‌های دوره نگهداری، مقدار ۵ گرم نمونه چرخ شده از هر تیمار و شاهد به‌طور جداگانه به ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه‌شده و به مدت ۳۰ ثانیه در یک مخلوط‌کن یکنواخت شد، اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد (FFA) و پراکسید با روش کین و همکاران (۲۰۱۲)، تیوباریتوریک اسید (TBA) نیز به روش نامولما و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد.

آزمون‌های میکروبی

برای آزمایش‌های میکروبی ۱۰ گرم از نمونه بخش درونی گوشت فیله در ۹۰ میلی‌لیتر محلول آب پپتونه ۰/۵ درصد هموژن شد. سپس رقت‌های مورد نیاز تهیه شد و هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت در محیط پلیت کانت آگار قرار گرفت. نمونه‌های کشت داده در انکوباتور 37°C به مدت ۴۸ ساعت برای شمارش کلی باکتری‌ها و انکوباتور 10°C به مدت ۱۰ روز برای شناسایی باکتری‌های سرما گرا قرار گرفتند. پس از طی مدت انکوباسیون، کلونی‌ها شمارش شدند (اوجاق و همکاران ۲۰۱۰).

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار spss16 انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها در مواردی که اثر

نتایج آنالیز آماری و یافته‌های شاخص پراکسید در این مطالعه (نمودار شماره ۲) حاکی از وجود اثر متقابل معنی‌دار بین زمان و تیمارهای دارای اسانس بود ($P < 0.05$). باگذشت زمان مقادیر PV در تمامی تیمارها طی دوره نگهداری ۱۵ روزه افزایش نشان داد، بااین‌وجود این تغییرات در تیمار شاهد با شدت بیش‌تری همراه بود به‌طوری‌که بالاترین میانگین در انتهای دوره نگهداری (1.2 ± 0.14 meq/kg) مربوط به این تیمار بود.

در خصوص شاخص TBA نتایج آنالیز آماری نشان داد که اثر زمان و اسانس معنی‌دار بودند. باگذشت زمان مقادیر TBA در تمامی تیمارها باگذشت زمان افزایش یافت (نمودار شماره ۳). به‌طوری‌که این تغییرات در گروه کنترل از شدت بیش‌تری برخوردار بود ($P < 0.05$).

مقایسه بین تیمارهای مختلف طی مدت نگهداری نشان داد که روند افزایش در تیمار اسانس ۳ درصد نسبت به تیمارهای دیگر کندتر بود به‌طوری‌که این روند در انتهای دوره با دیگر تیمارها دارای اختلاف آماری معنی‌داری بود ($P < 0.05$).

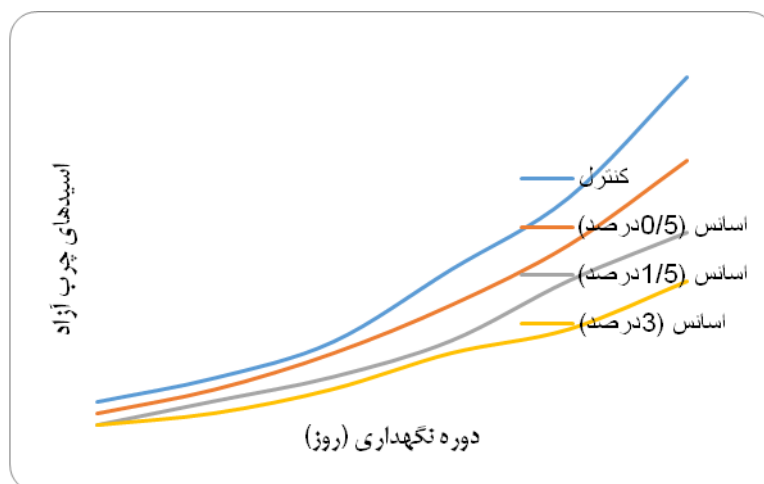
کلی تیمارها معنی‌دار شناخته شد، آزمون دانکن به کار رفت. نتایج معنی‌دار در $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

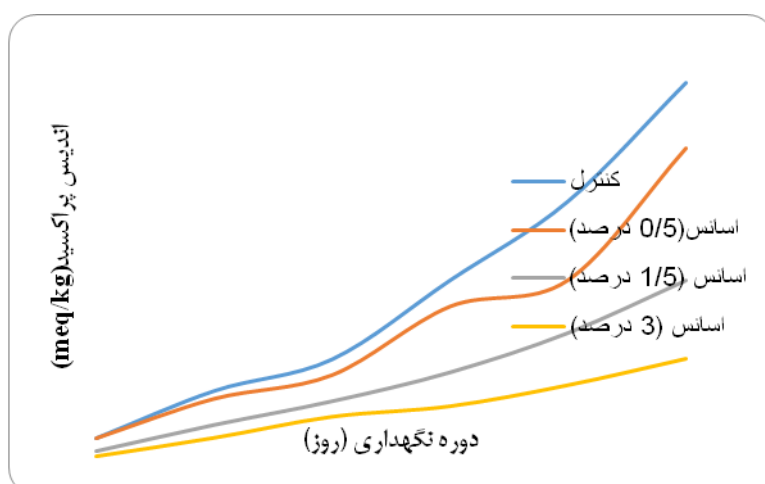
بررسی نتایج آنالیز اسانس پوست بالنگ در این مطالعه نشان داد که بیش‌ترین ترکیبات اسانس را لیمونن ($33/60$ درصد)، بنزودی‌اکسل ($29/70$ درصد)، فنل ($8/10$ درصد)، بتابی‌سابولن ($4/40$ درصد)، سیترال ($4/03$ درصد) و ژرانیول ($2/15$ درصد) تشکیل می‌دادند.

با افزایش زمان ماندگاری میزان FFA، پراکسید، TBA در هر دو گروه افزایش یافت ولی تغییرات در گروه شاهد در مقایسه با گروه‌های تیمار به‌ویژه غلظت‌های $1/5$ و 3 درصد طی دوره نگهداری سرد از اختلاف آماری معنی‌داری برخوردار بود ($P < 0.05$).

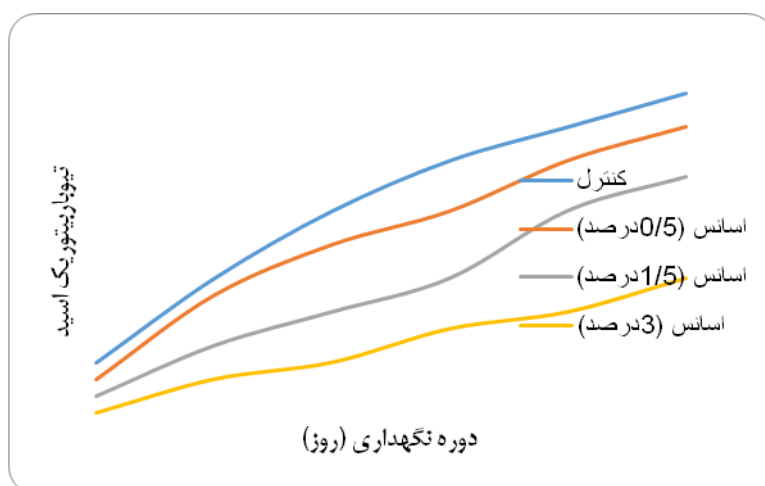
نتایج اندازه‌گیری طی دوره نگهداری و در تیمارهای مختلف در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است. باگذشت زمان در تمامی تیمارها مقدار FFA افزایش یافت، ولی این افزایش در تیمار کنترل سریع‌تر از سایر تیمارها بود. کم‌ترین مقدار FFA مربوط به تیمار دارای 3 درصد اسانس بود ($P < 0.05$).



شکل ۱- تغییرات مقادیر FFA در روزهای مختلف نگهداری در یخچال در تیمارهای مختلف



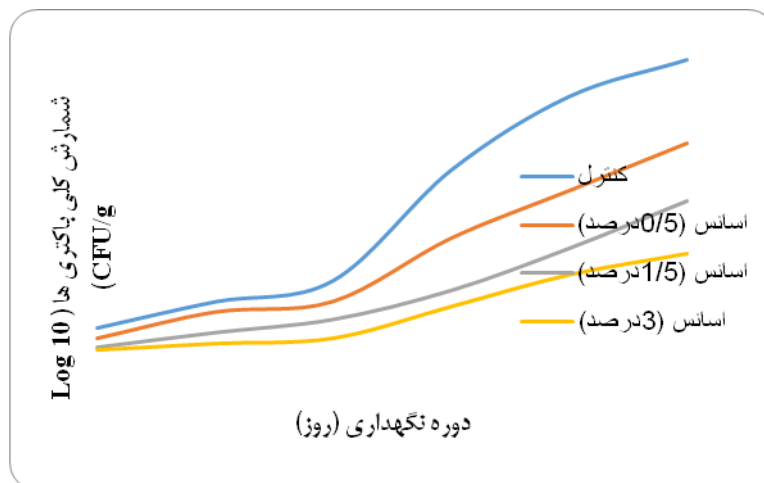
شکل ۲- تغییرات مقادیر PV در روزهای مختلف نگهداری در یخچال در تیمارهای مختلف



شکل ۳- تغییرات مقادیر TBA در روزهای مختلف نگهداری در یخچال در تیمارهای مختلف

باکتریایی ($7/6 \pm 0/3 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/g}$) را داشت. مقایسه تیمارها نشانگر افزایش کند جمعیت با TVC در تیمارهای ۱/۵ و ۳ درصد اسانس در مقایسه با سایر تیمارها بود. به‌گونه‌ای که تیمار اسانس ۳ درصد از کم‌ترین شمارش TVC برخوردار بود.

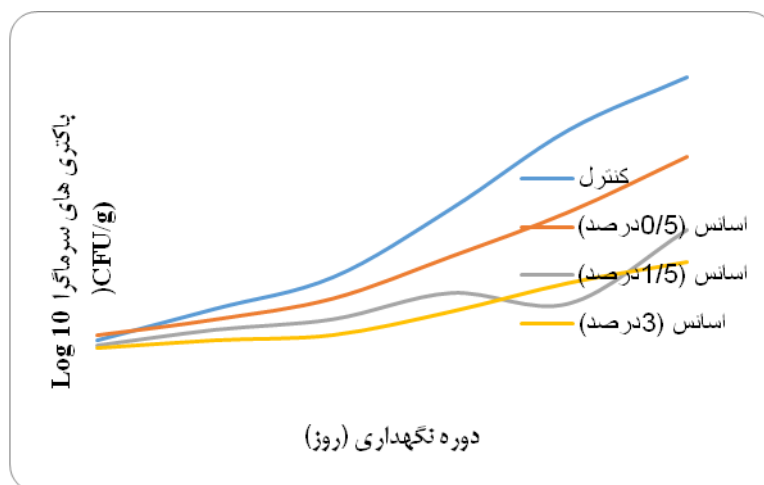
یافته‌های مربوط به شمارش باکتری‌های هوازی مزوفیل (TVC) در نمودار شماره ۴ نمایش داده شده است. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که باگذشت زمان در همه تیمارها شمارش کل باکتری افزایش یافته است. البته این افزایش در تیمار شاهد شدیدتر بود، به طوری که در انتهای دوره، بیشترین بار



شکل ۴- شمارش کل باکتری های هوازی مزوفیل (Log₁₀ CFU/g)

انتهای دوره، بالاترین باریکروبی (Log₁₀ CFU/g) در تیمار کنترل و کم‌ترین (Log₁₀ CFU/g) در تیمار اسانس ۳ درصد به دست آمد. (۷/۳±۰/۲۲) در تیمار کنترل و کم‌ترین (۳/۸±۰/۱۵) در تیمار اسانس ۳ درصد به دست آمد.

در خصوص باکتری های سرما گرا (PVC) نیز با گذشت زمان در همه تیمارها به صورت کلی مقادیر باکتری افزایش یافت (نمودار شماره ۵). البته، این افزایش در تیمار شاهد شدیدتر بود. به طوری که در



شکل ۵- تغییرات شمارش باکتری های سرماگرا برای تیمارهای مختلف طی دوره ذخیره‌سازی سرد (Log₁₀ CFU/g)

بحث و نتیجه‌گیری

اکسیداسیون چربی‌ها در غذاهای دریایی به‌ویژه غذاهای با چربی بالا است که به ایجاد بو و طعم نامطلوب منجر می‌شود. FFA به‌خودی‌خود باعث کاهش ارزش تغذیه‌ای نمی‌شود، اما می‌توان از آن

به‌عنوان شاخصی برای فساد استفاده نمود (لوسادا و همکاران ۲۰۰۷ و لوگاسی و همکاران ۲۰۰۷). این موضوع به علت اثر پراکسیدانی FFA بر مواد لیپیدی می‌باشد. ماهی‌ها به علت داشتن میزان بالایی از اسیدهای چرب بلند زنجیره نسبت به لیپولیز و اکسیداسیون حساس هستند. وجود FFA در روغن‌ها و

در خصوص شاخص TBA نتایج آنالیز آماری نشان داد که اثر زمان و اسانس معنی‌دار بودند. باگذشت زمان مقادیر TBA در تمامی تیمارها افزایش یافت؛ اما در گروه تیمار بسیار کندتر از گروه شاهد بود، به‌گونه‌ای که از روز دوازدهم به بعد اختلاف معنی‌داری در گروه کنترل با سایر تیمارها مشاهده شد ($P < 0.05$). TBA به‌عنوان شاخص اکسیداسیون ثانویه چربی به کار می‌رود که طی این مرحله پراکسیدها به موادی از قبیل آلدئیدها و کتون‌ها اکسید می‌شوند و میزان بسیار پایین TBA اولیه بیانگر تازگی و کیفیت خوب ماهی است (رضایی و همکاران ۲۰۰۸). افزایش مقادیر TBA در نمونه‌ها طی دوره نگهداری را می‌توان به اکسیداسیون لیپید و تولید متابولیت‌های فرار در حضور اکسیژن مربوط دانست (ازورت و همکاران ۲۰۰۹). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده به‌کارگیری اسانس پوست بالنگ به دلیل دارا بودن توان آنتی‌اکسیدانی به‌ویژه در غلظت‌های بالا (۱/۵ و ۳ درصد) در کند نمودن افزایش مقادیر TBA در نمونه‌های گوشت ماهی طی دوره ذخیره‌سازی سرد بسیار موثر بوده است. افزایش بار کل باکتری برای هر تیمار در طول دوره نگهداری به میزان دست‌کاری، میزان رعایت اصول بهداشتی در روش‌های عمل‌آوری و میزان اولیه باکتری بستگی دارد. مهم‌ترین گروه باکتریایی جداشده از گوشت ماهی قزل‌آلای *Pseudomonas*- *Moraxella*- *Aeromonas* می‌باشند (کیکدوس و همکاران، ۲۰۰۹). همان‌طور که در نمودار ۴ مشاهده می‌شود، بار کل باکتریایی در ابتدای دوره برای تمامی تیمارها کمتر از $3 \text{ Log}_{10} \text{ cfu/g}$ بود که این تعداد، نشانگر کیفیت خوب فیله‌های مورد استفاده بود. میزان مجاز شمار کل باکتری برای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان $7 \text{ Log}_{10} \text{ cfu/g}$ پیشنهاد شده است. در ۱۲ روز اول نگهداری، فیله‌های موجود در هر تیمار دارای بار کل باکتریایی کمتر از $7 \text{ Log}_{10} \text{ cfu/g}$ بودند،

چربی‌ها سبب بروز بوهای نامطلوب و تغییر در بافت‌ها می‌شود (بارتت و همکاران ۲۰۰۸). در بسیاری از مطالعات افزایش مقادیر FFA طی دوره ذخیره‌سازی سرد گوشت ماهی گزارش شده، به‌علاوه وجود ارتباط مستقیم بین کاهش تازگی ماهی با افزایش میزان FFA مشاهده گردیده است (ازگول و همکاران ۲۰۰۵). در این رابطه افزایش مقادیر FFA طی دوره ذخیره‌سازی سرد گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان گزارش شده است (کواکوسکا و همکاران ۲۰۰۶). در مطالعه حاضر نیز افزایش مقادیر FFA در تیمارهای مختلف مشاهده شد. ولی این افزایش در تیمار کنترل، سریع‌تر از سایر تیمارها بود. میزان FFA در گروه کنترل از روز ششم اختلاف معنی‌داری با گروه‌های تیمار نشان داد. کم‌ترین مقدار FFA مربوط به تیمار دارای ۳ درصد اسانس بود ($P < 0.05$)، به‌گونه‌ای که این غلظت اسانس بالنگ در مقایسه با سایر غلظت‌ها و گروه کنترل در روند کاهش و به تأخیر انداختن هیدرولیز چربی‌ها بسیار موثر عمل نموده است. میزان پراکسید، شاخص اکسیداسیون لیپیدها بوده و جهت اندازه‌گیری محصولات اولیه اکسیداسیون یعنی هیدروپراکسیدها بکار می‌رود (اسکندری و همکاران ۲۰۱۳). در مطالعه حاضر باگذشت زمان مقادیر PV در تمامی تیمارها طی دوره نگهداری ۱۵ روزه افزایش نشان داد، با این وجود این تغییرات در تیمار شاهد با شدت بیشتری همراه بود به‌طوری‌که بالاترین میانگین در انتهای دوره نگهداری ($14/5 \pm 1/2 \text{ meq/kg}$) مربوط به این تیمار بود. پراکسیدها ترکیباتی بدون طعم و بو بوده و به‌وسیله مصرف‌کنندگان تشخیص داده نمی‌شوند ولی با ایجاد ترکیبات ثانویه مانند آلدئیدها و کتون‌ها سبب بد شدن بو و طعم محصولات می‌شوند (ازورت و همکاران ۲۰۰۹) این یافته‌ها نشان‌دهنده اثر کنترلی اسانس پوست بالنگ در روند افزایشی پراکسید گوشت ماهی قزل‌آلای بوده است.

درحالی‌که بعد از آن میزان بار کل $7/6 \text{ Log}_{10} \text{ cfu/g}$ رسید که فراتر از حد مجاز تعیین شده بود.

اوجاق و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که بار کل باکتریایی در فیله ماهی قزل‌آلا طی ۱۲ روز نگهداری از حد مجاز ($7 \text{ Log}_{10} \text{ cfu/g}$) بیشتر شد. در مطالعه حاضر و مطابق نمودار شماره ۴ میزان بار کل باکتری برای همه تیمارها با توجه به زمان افزایش یافت. این افزایش در تیمار کنترل، شدت بیشتری داشت و بیشترین میزان آن در انتهای دوره بود (اوجاق و همکاران ۲۰۱۰).

کمتر بودن بار کل باکتری در تیمارهای دارای حاوی اسانس پوست بالنگ را می‌توان به خاطر اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی اسانس دانست. فعالیت ضد میکروبی اسانس پوست بالنگ ناشی از وجود ترکیباتی همچون لیمونن، سیترال، بنزودیوکسل، تیمول و آزولن است. چنین ترکیباتی می‌توانند اثر هم‌افزا داشته باشند. بسیاری از این ترکیبات بر ساختار غشاء سلولی تاثیر و سبب افزایش نفوذپذیری و خروج ترکیبات حیاتی و نهایتاً سبب مرگ سلولی می‌گردند (پیترسون و همکاران ۲۰۰۶، نوگاتا و همکاران ۲۰۰۶، گارو و همکاران ۲۰۰۷). باکتری‌های هوازی از قبیل گونه‌های *سودوموناس* جزء گروه‌های باکتریایی غالب در گوشت قزل‌آلای رنگین‌کمان هستند که به‌طور گسترده‌ای به فساد گوشت نگه‌داری شده در شرایط هوازی کمک می‌کنند (ریبروی و همکاران ۲۰۰۷). باکتری‌های سرما‌گرای گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیزم‌های مولد فساد در فیله‌های در شرایط هوازی و دمای سرد می‌باشند. این باکتری‌ها و عمدتاً گونه‌های *سودوموناس* آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز تولید می‌کنند که سبب افزایش FFA می‌شوند (لوسادا و همکاران ۲۰۰۷).

مطابق نمودار ۵، تعداد باکتری‌های سرما‌گرا با توجه به افزایش زمان نگهداری در تیمارهای مختلف گوشت ماهی افزایش یافت. حد مجاز برای باکتری‌های سرما

گرا هوازی در گوشت ماهی $7 \text{ log}_{10} \text{ cfu/g}$ گزارش شده است (کواکوسکا و همکاران ۲۰۰۶). در مطالعه حاضر در انتهای دوره نگهداری پانزده‌روزه در شرایط سرما در تیمار کنترل بالاتر از حد مجاز بوده اما تیمارهای حاوی درصد‌های مختلف اسانس پوست بالنگ دارای بار کم‌تری بود که بیانگر توان اسانس پوست بالنگ در ممانعت از رشد باکتری‌های سرما‌گرا بوده است.

نتایج این تحقیق مطابق با نتایج تحقیقات سیدایاه و همکاران (۲۰۰۱) بوده که کاهش معنی‌داری را در گوشت بوفالو و بره پوشیده شده با پوشش خوراکی همراه اسانس گزارش کردند. کم بودن بار باکتری سرمادوست را نیز می‌توان به اثر اسانس پوست بالنگ به خاطر داشتن ترکیباتی همچون لیمونن، سیترال، بنزودیوکسل، تیمول و آزولن مربوط دانست (پیترسون و همکاران ۲۰۰۶، نوگاتا و همکاران ۲۰۰۶، گارو و همکاران ۲۰۰۷).

نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق نشان داد که به‌کارگیری اسانس روغنی پوست بالنگ به دلیل توان آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی خود سبب کاهش و به تأخیر افتادن روند فساد میکروبی و اکسیداسیونی در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نگه‌داری شده در شرایط یخچالی شده و موجب بهبود عمر ماندگاری آن گردد.

منابع مورد استفاده

- Antoniewski MN, Barringer SA and Knipe CL, 2007. Effect of a gelatin coating on the shelf life of fresh meat. *Journal of Food Science* 72: 382-387.
- Anwar F, Qayyum HMA and Ijaz Hussain A, 2010. Antioxidant activity of 100% and 80% methanol extracts from barley seeds (*Hordeum vulgare* L.): stabilization of sunflower oil. *Journal Aquatics Food Product Technology* 61: 53-61.
- AOAC, 2002. Association of the Official Analysis Chemists. Official methods of analysis, 14th ed, Washington, DC.
- Barthet VJ, Gordon V and Daun JK, 2008. Evaluation of a colorimetric method for measuring the content of FFA in marine and vegetable oils. *Food Chemistry* 111: 1064-1048.
- Connell JJ, 2002. Quality Control in Fish Industry. Torry Advisory Note No: 58.
- Eskandari S, Hosseini H, Hosseini E and Shiraei Kasmaei A, 2013. Antioxidant and antibacterial effects of parsley extract (*Petroselinum crispum*) on silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during refrigeration. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology* 8: 165-172.
- Garau MC, Simal S and Rossello C, 2007. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. *Canoneta*) by-products. *Food Chemistry* 104: 1014-1024.
- Guo C, Yang J and Wei J, 2003. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition research* 23: 1719-1726.
- Gomes HDA, Silva END, Nascimento MRL and Fukuma HT, 2003. Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chemistry* 80: 433-437.
- Gomez-Estaca J, Lopez de Lacey A and Gomez-Guillen MC, 2009. Antimicrobial Activity of Composite Edible Films Based on Fish Gelatin and Chitosan Incorporated with Clove Essential Oil. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 18: 46-52.
- Hernandez MD, Lopez MB and Alvarez A, 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food Chemistry* 114: 237-245.
- Jayapraksha GK and patil B, 2007. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food Chemistry* 101: 410-418.
- Kang HJ, Chawla SP and Jo C, 2006. Studies on the development of functional powder from citrus peel. *Bioresource Technology* 97: 614-620.
- Keen OS, Love NG and Linden KG, 2012. The role of effluent nitrate in trace organic chemical oxidation during UV disinfection. *Water research* 46(16): 5224-5234.
- Koakowska A, Zienkiewicz L and Domiszewski Z, 2006. Lipid changes and sensory quality of whole- and gutted rainbow trout during storage in ice. *Acta Ichthyologica Piscatoria* 36: 39-47.
- Kose S, Karacam H and Ktlu S, 2001. Investigating the shelf life of the anchovy dish caled 'Hamsikusu' in frozen storage at $-18\pm 1^{\circ}\text{C}$. *Turkish Journal Veterinary Animal Science* 25: 651-656.
- Kykkidou S, Giatrakou V, Papavergou A, Kontominas M.G and Savvaidis IN, 2009. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4°C . *Journal Food Chemistry* 115: 169-75.
- Losada V, Barros-Velazquez J and Aubourg SP, 2007. Rancidity development in frozen pelagic fish: influence of slurry ice as preliminary chilling treatment. *LWT - Food Science and Technology* 40: 991-999.
- Losada V, Barros-Velazquez J and Gallardo J.M, 2004. Effect of advanced chilling methods on lipid damage during sardine (*Sardina pilchardus*) storage. *European Journal of Lipid Science Technology* 106: 844-850.
- Lugasi A, Losada V and Hovari J, 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.
- Mahmoudi R, Tajik H, Ehsani A, Farshid AA and Zare P 2012. Effects of *Mentha longifolia* L. essential oil on viability and cellular ultrastructure of *Lactobacillus casei* during ripening of probiotic Feta cheese. *International Journal Dairy Technology* 66: 70-77.

- Mielnik MB, Herstad O and Lea P, 2002. Sensory quality of marinated frozen stored chicken thighs as affected by dietary fish fat and vitamin E. *International Journal Food Science Technology* 37: 29-39.
- Namulema A, Muyonga JH and Kaaya AN, 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at -13 and -27°C . *Food Research International* 32: 151-156.
- Navarro-Garcia G, Pacheco-Aguilar R and Bringas-Alvaradol L, 2004. Characterization of the lipid composition and natural antioxidants in the liver oil of *Dasyatis brevis* and *Gymnura marmorata* rays. *Food Chemistry* 87: 89-96.
- Nogata Y, Sakamoto K and Shiratsuchi H, 2006. Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 70: 178-192.
- Ojagh SM, Rezaei M and Razavi SH, 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry* 120: 193-198.
- Ozogul Y, Ozyurt G and Ozogul F, 2005. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. *Food Chemistry* 92: 745-751.
- Ozyurt G, Kuley E and Ozkutuk S, 2009. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food Chemistry* 114: 505-510.
- Perez-Alonso F, Aubourg S and Rodriguez O, 2004. Shelf life extension of Atlantic pomfret (*Brama brama*) fillets by packaging under a vacuum-skin system. *European Food Research Technology* 218: 313-317.
- Peterson JJ, Beecher GR and Bhagwat SA, 2006. Flavanones in grapefruit, lemons, and limes: a compilation and review of the data from the analytical literature. *Journal Food Composition Analytical* 19: 74-80.
- Rezaei M and Hosseini SF. 2008. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *Journal of Food Science* 73: 93-96.
- Riebroy S, Benjakul S and Visessanguan W, 2007. Effect of iced storage of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) on the chemical composition, properties and acceptability of Som-fug, a fermented Thai fish mince. *Food Chemistry* 102: 270-280.
- Sahoo J, Kawasra RK and Hooda S, 2004. Studies on α -tocopherol acetate as an antioxidant in chicken mince on its quality during refrigerated storage. *Journal of Food Science Technology* 41: 140-243.
- Shahidi F and Miraliakbari H, 2004. Omega-3 (n-3) fatty acids in health and disease: Part 1-cardiovascular disease and cancer. *Journal of Medicinal Food* 7: 387-401.
- Shahidi F and Miraliakbari H, 2005. Omega-3 fatty acids in health and disease: part 2-health effects of omega-3 fatty acids in autoimmune diseases, mental health, and gene expression. *Journal of Medicinal Food* 8: 133-148.
- Siddaiah D, Sagar Reddy GV and Raju C, 2001. Changes in lipids, proteins and kamaboko forming ability of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) mince during frozen storage. *Food Research International* 34: 47-53.
- Stamatis N and Arkoudelos JS, 2007. Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on microbial, chemical and sensory quality indicators of fresh, filleted *Sardina pilchardus* at 3°C . *Journal of Food Science and Agriculture* 87: 1164-1171.

Effects of shell citron essential oil on chemical and microbiological quality of rainbow trout fillets during refrigerated storage

R Mahmoudi^{*1}, B Pakbin² and R Vahidi³

Received: July 20, 2015 Accepted: July 20, 2015

¹Associated Professor, Medical Microbiology Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

²PhD Student of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

³MSc of Food Industrial Engineering, Food Quality Control Laboratory, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

*Corresponding Email: r.mahmodi@yahoo.com

Abstract

In the present study the phytochemical component, antioxidant and antimicrobial effects of citron essential oil (EO) on shelf life of trout fish in refrigerator temperature was investigated. A number of muscle fish samples were classified in 4 treatment groups including control and 3 treatments with different concentration of Citron essential (0.5, 1.5 and 3%) and stored at 4°C. Microbiological assessment including total aerobic (TAC) and psychrophilic (TVC) bacteria and chemical parameter including peroxide value (PV), free fatty acid (FFA) and thiobarbituric acid (TA) analysis have been implemented. The GC/MS analysis showed that the major compound was limonene (33.6%), Benzodioxol (29.7%), phenol (8.1%), beta-bisabolene (4.4%), citral (4.3%) and zheraniol (2.15%). The chemical and bacterial index in EO treated samples had the minimum significant change under the storage period compared with control group. The TAC, TVC, FFA values and PV index in treatment groups containing 1 and 1.5% Citron EO have shown the minimum significant change and TA in 3% Citron EO ($P<0.05$). TA values in all treatments increased over time, However in 3% EO treatments was significantly ($P<0.05$) slower than other treatments.

Keywords: Rainbow trout, Citron essential oil, Quality shelf life