



The effects of edible coating of *basil* seed gum and *caraway* essential oil on microbial and chemical characteristics of *Silver carp* fillets

Roghayeh Bazzi¹ and Ataollah Azhdari²✉

¹M.Sc. Graduate of Food Science and Technology, Birjand Branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran

²Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Birjand Branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran

✉ Corresponding author: ataazhdari@yahoo.com

ARTICLE INFO

Article type:

Research Article

Article history:

Received: September 5, 2023

Accepted: June 22, 2024

Published: October 20, 2024

Keywords:

Basil seed gum, *Caraway*, *Silver carp*, Chemical characteristics, Microbial characteristics.

ABSTRACT

Background: The use of chemical preservatives in food is harmful to the health of consumers and leads to the occurrence of dangerous diseases, so nowadays the tendency to use of natural and organic preservatives is increasing. Microbial contamination and physicochemical reactions have an effective role in reducing the edible quality of various types of fish and edible coating based on natural compounds can increase the shelf life of the products.

Aims: This research was conducted to investigate the effect of the edible coating of *basil* seed gum and various concentrations of *caraway* essential oil on the microbial and chemical characteristics of *Hypophthalmichthys molitrix* fillet during storage in the refrigerator temperature.

Methods: In this study the control sample (fish fillet without coating) and treatments coated with 5% *basil* seed gum and 0.25, 0.5 and 1% *caraway* essential oil were evaluated. During 15 days of the storage in the refrigerator and at intervals of 3 days microbial tests, including the psychrotrophic and total bacterial count and chemical tests, including measuring the amount of pH, thiobarbituric acid (TBA) and total volatile basic nitrogen (TVB-N) were performed.

Results: Increasing the concentration of *caraway* essential oil in the edible coating the fish fillets during 15 days of the storage in the refrigerator had the positive effect on the reduction of psychrotrophic bacteria and total microbial count ($P < 0.05$). In addition, the amount of pH, TBA and TVB-N in the coated samples were significantly more favorable than the control sample ($P < 0.05$). The speed of quality reduction in treatments was significantly lower than in the control sample ($P < 0.05$).

Conclusion: The use of an edible coating of *basil* seed gum and 1% *caraway* essential oil improved the microbial and chemical characteristics and increased the shell life of fish fillets for 12 days in the refrigerator.



Extended Abstract

Introduction: Consumption of seafood has increased during recent years as consumers have become more aware of its nutritional benefits and of the health concerns associated with other meat products such as chicken and beef. Fish is a more perishable product than other muscle foods and its freshness degrades after death due to various biochemical reactions (e.g., changes in protein and lipid content, and the formation of biogenic amines and hypoxanthine) and microbiological spoilage (Matak et al., 2015). Spoilage of fish results from changes brought about by biological reactions such as oxidation of lipids, the activities of the fish muscular enzymes, and the metabolic activities of microorganisms (Bagheri et al., 2016). Nowadays, to maintain the safety and quality of foods, long-term storage of the product and prevent the spread of foodborne diseases, the use of anti-microbial substances in food products has developed a lot (Appendini and Hotchkiss, 2002). Using anti-oxidant and anti-microbial preservatives in meat and meat products is very common to prevent the lipid oxidation and spoilage and increased the shelf life and quality of products (Rashidaie et al., 2019). The use of chemical preservatives in food is harmful to the health of consumers and leads to the occurrence of dangerous diseases such as types of cancers, on the other hand with the increase in environmental warnings, much attention has been paid to the use of biodegradable and environmentally friendly packaging films under the title of edible films and coating, thus food industry manufacturers and researchers are looking for the use of natural preservatives to increase the shelf life and maintain the quality of foods (Joerger, 2007). Natural anti-microbials from different sources are used to preserve food from spoilage and pathogenic microorganisms. Many plants have been considered as the source of natural anti-oxidants due to their effective compounds such as polyphenolic compounds, flavonoids, tannins, and phenolic acids. In addition to the anti-oxidant properties, these compounds also have anti-

microbial, anti-cancer, and anti-mutagenic properties (Rashidaie et al., 2019). *Hypophthalmichthys molitrix* is widely used in freshwater fish breeding systems around the world, due to its fast growth, stress resistance and high nutritional value (Khorrami et al., - 2013). In Iran, in recent years, the breeding rate of this species has been on the rise. Microbial contamination and physicochemical reactions have an effective role in reducing the edible quality of various types of fish and edible coating based on natural compounds can increase the shelf life of the products (Arshad and Batool, 2017). This research was conducted to investigate the effect of the edible coating of *basil* seed gum and various concentrations of *caraway* essential oil on the microbial and chemical characteristics of *Hypophthalmichthys molitrix* fillet during storage in the refrigerator temperature. The benefits of *basil* seed gum compared to other polysaccharides are its hydrophilic, bio compatible and cost-effective properties (Khazaeia et al., 2014). *Basil* has a high amount of phenolic compounds and as a result its anti-oxidative properties is high. It also has anti-microbial effects (Phuong et al., 2010). Cuminaldehyde, γ -terpinene and p-cymene are among the effective compounds in *caraway* essential oil which have anti-fungal, anti-bacterial and anti-oxidant effects (AL-Jabri and Hossain, 2014), moreover It has anti-allergic effects, reduces blood cholesterol and strengthens the body's immune system (Brody et al., 2008).

Material and methods: In this study the control sample (fish fillet without coating) and treatments coated with 5% *basil* seed gum and 0.25, 0.5 and 1% *caraway* essential oil were evaluated. The *basil* seeds were carefully cleaned removing dusts, stones and chaffs. The gum extraction conditions were as follows: 70 °C temperature, pH = 7, 20-minute soaking time and a water to seed ratio of 65:1. The *Caraway* essential oil was obtained by hydro-distillation of the seeds during 3 hours using a Clevenger-type apparatus. During 15 days of

the storage in the refrigerator and at intervals of 3 days microbial tests, including the psychrotrophic and total bacterial count, and chemical tests, including measuring the amount of pH, thiobarbituric acid (TBA) and total volatile basic nitrogen (TVB-N) were performed. The thiobarbituric acid reactive substances test is a method to investigate secondary oxidative products especially in polyunsaturated fatty acids such as malonaldehydes. The TVB-N value is one of the most widely used indicators of seafood deterioration. It is a general term which includes the calculation of three methyl amine (produced by spoilage bacteria), dimethyl amine (produced by autolytic enzymes during chilled preservation), ammonia (produced by the deamination of amino acids and nucleotide catabolizes) as well as other volatile basic nitrogenous compounds correlated with seafood spoilage (Erikson et al., 2011). All the tests were carried out in triplicates and the results were expressed as mean values and standard deviation. The analysis of variance was applied to the data and the means were compared by Duncan's test using SPSS statistical software.

Results and discussion: Increasing the concentration of *caraway* essential oil in the edible coating the fish fillets during 15 days of the storage in the refrigerator had the positive effect on the reduction of psychrotrophic bacteria and total microbial count, so that by increasing the concentration of *caraway* essential oil the microbial load decreased and this difference was statistically significant ($P < 0.05$). In addition, the amount of pH, TBA and TVB-N in the coated samples were significantly more favorable than the control sample. During the storage of treatments in the refrigerator, the pH level increased. There was no significant difference between the pH of the

control sample and the other treatments until the Sixth Day. On days 9 and 12, the pH of control sample was significantly higher than the treatments containing 0.5% and 1% essential oil. On the 15th day, the minimum and maximum pH values were evaluated in the treatment containing 1% essential oil and the control sample, respectively, while the difference in the investigated factor was significant in all the samples ($P < 0.05$). The amount of TBA increased in all treatments during the storage period in the refrigerator. In the days of 3-15, the TBA value in the control sample was significantly more than other treatments. On days 6 to 15, in treatments with more *caraway* essential oil, the TBA value was significantly less than in other treatments. The highest and lowest amount of TBA was determined in the control sample and treatment containing 1% *caraway* essential oil, respectively. TVB-N index mainly represents the quality of fish and the expression presence of nitrogen compounds from destruction molecules such as proteins and nucleic acids by proteolytic bacteria. In all samples, the amount of TVB-N increased during the storage period in the refrigerator. On days 0 and 3, there was no statistically significant difference in the amount of total volatile basic nitrogen in the samples. From the Sixth Day, the amount of TVB-N in the control sample was significantly higher than the coated samples. The increase in the amount of TVB-N during the storage period can be related to the activity of bacteria and internal enzymes that accelerate the spoilage process and the accumulation of trimethylamine, dimethylamine, ammonia and other nitrogenous bases. The use of essential oil in the coating of fish fillets was effective in reducing the total amount of volatile basic nitrogen, compared to the control sample.

Conclusion: The results of this research showed that the use of an edible coating of *basil* seed gum and *caraway* essential oil reduces the intensity of bacterial activity in fish fillet samples and increases its shelf life in the refrigerator. The speed of quality reduction in treatments was significantly lower than in the control sample. The use of an edible coating of *basil* seed gum and 1% *caraway* essential oil improved the microbial and chemical characteristics and increased the shelf life of fish fillets for 12 days in the refrigerator. Considering the disadvantages of chemical preservatives for consumers and to increase the shelf life of fish, it is recommended to use edible coating of *basil* seed gum and *caraway* essential oil.

تأثیر پوشش خوراکی صمغ دانه ریحان و اسانس زیره سیاه بر ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی فیله ماهی فیتوفاگ

رقیه بزی^۱ و عطاله اژدری^۲

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران

^۲ استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران

✉ مسئول مکاتبه: ataazhdari@yahoo.com

چکیده

مشخصات مقاله

زمینه مطالعاتی: استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی در مواد غذایی برای سلامت مصرف‌کنندگان مخاطره‌آمیز بوده و منجر به بروز انواع بیماری‌های خطرناک خواهد شد لذا امروزه تمایل به استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی و ارگانیک در حال افزایش است. آلودگی میکروبی و واکنش‌های فیزیکوشیمیایی نقش مؤثری در کاهش کیفیت خوراکی انواع ماهی دارند در این رابطه استفاده از پوشش‌های خوراکی بر پایه ترکیبات طبیعی می‌تواند در افزایش ماندگاری فراورده مؤثر باشد.

هدف: این پژوهش باهدف بررسی اثر پوشش خوراکی صمغ دانه ریحان و اسانس زیره سیاه بر ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی فیله ماهی فیتوفاگ طی مدت‌زمان نگهداری در یخچال صورت پذیرفت. روش کار: در این مطالعه نمونه شاهد (فیله ماهی فیتوفاگ بدون پوشش) و تیمارهای پوشش‌دهی شده با ۵۰ درصد صمغ دانه ریحان و ۲۵/۰، ۵/۰ و ۱ درصد اسانس زیره سیاه مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمون‌های میکروبی شامل شمارش کلی میکروارگانیسیم‌ها و باکتری‌های سرمادوست و آزمون‌های شیمیایی شامل اندازه‌گیری پارامترهای تیوباربیتوریک اسید (TBA)، pH، و بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) طی ۱۵ روز نگهداری در یخچال و در فواصل زمانی سه روز انجام شد.

نتایج: افزایش غلظت زیره سیاه در پوشش خوراکی پیرامون فیله ماهی فیتوفاگ طی ۱۵ روز نگهداری در یخچال تأثیر مثبت در کاهش شمارش کلی میکروبی و همچنین باکتری‌های سرمادوست داشت ($P < 0/05$) ضمن آن‌که میزان TBA، pH و بازهای نیتروژنی فرار نیز در نمونه‌های پوشش‌دهی شده به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد مطلوب‌تر بود ($P < 0/05$) در این رابطه سرعت کاهش کیفیت در تیمارهای حاوی پوشش به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کمتر بود ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری نهایی: استفاده از پوشش خوراکی صمغ دانه ریحان و ۱ درصد اسانس زیره سیاه باعث بهبود ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و افزایش ماندگاری فیله ماهی فیتوفاگ به مدت ۱۲ روز نگهداری در یخچال شد.

نوع مقاله:

علمی پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۲/۶/۱۴

پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۲

انتشار: ۱۴۰۳/۷/۲۹

کلید واژگان:

زیره سیاه، صمغ دانه ریحان، ماهی فیتوفاگ، ویژگی‌های شیمیایی، ویژگی‌های میکروبی

مقدمه

امروزه حفظ ایمنی و کیفیت غذا و تمایل به نگهداری طولانی‌مدت فرآورده و همچنین ممانعت از شیوع بیماری‌های ناشی از غذا باعث گردیده استفاده از مواد ضد میکروبی در محصولات غذایی توسعه زیادی پیدا کند. در بسیاری موارد از مواد ضد میکروبی حتی در مواد غذایی که تحت تأثیر حرارت استریل شده و یا سیستم ایمنی خودکنترلی دارند جهت جلوگیری از فساد در اثر آلودگی‌های ثانویه طی بسته‌بندی، توزیع و یا بعد از بازکردن بسته‌بندی استفاده می‌شود (اپندینی و هوچکیس ۲۰۰۲). به دنبال تقاضای مصرف‌کنندگان در خصوص منع مصرف نگهدارنده‌های شیمیایی و تمایل آن‌ها به استفاده از مواد طبیعی و ارگانیک، تولیدکنندگان و پژوهشگران صنعت غذا به دنبال استفاده از ضد میکروب‌های طبیعی به منظور افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت غذاها هستند (جورجر ۲۰۰۷)، از طرفی با افزایش هشدارهای زیست‌محیطی توجه زیادی جهت استفاده از فیلم‌های بسته‌بندی زیست‌تخریب‌پذیر و سازگار با محیط‌زیست، تحت عنوان فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی شده و استفاده از فیلم‌های خوراکی می‌تواند نقش مؤثری در توسعه صنایع غذایی داشته باشد (شباهنگ و همکاران ۱۳۹۸). فیلم‌های خوراکی لایه نازکی از مواد طبیعی هستند که به روش غوطه‌وری، افشانه کردن یا برس‌زنی به‌طور مستقیم در سطح غذا به‌کاربرده شده و معمولاً بی‌رنگ، بی‌بو و بدون طعم هستند و به‌صورت محافظ عمل کرده و از بروز تغییرات نامطلوب در طعم، بافت و خواص ظاهری مواد غذایی جلوگیری می‌کنند (محمدی ۱۳۹۹). اجزای مورد استفاده در تهیه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی را می‌توان در سه دسته هیدروکلوئیدها، لیپیدها و کامپوزیت‌ها طبقه‌بندی کرد (پاولی و همکاران ۲۰۱۸). تاکنون از طیف گسترده‌ای از ترکیبات پلی‌ساکاریدی مانند نشاسته و مشتقات آن، سلولز، صمغ عربی، کاراجینان، آگار، زانتان، کیتوزان و صمغ دانه ریحان به‌عنوان فیلم‌ها و پوشش‌های زیست‌تخریب‌پذیر خوراکی استفاده شده است (واسکونز و همکاران ۲۰۰۹).

بسته‌بندی ضد میکروبی سیستمی است که می‌تواند رشد میکروارگانیسم‌ها را محدود کرده و یا آن‌ها را از بین ببرد بنابراین عمر مفید محصولات فاسدشدنی و ایمنی محصولات بسته‌بندی‌شده را افزایش می‌دهد. در این نوع بسته‌بندی که یکی از امیدوارکننده‌ترین نوآوری‌های بسته‌بندی فعال به شمار می‌رود منابع ضد میکروبی را می‌توان در فضای فوقانی بسته قرار داد، ضمن آن‌که عوامل ضد میکروبی خوراکی ممکن است در اجزای غذا گنجانیده شوند (راموس و همکاران ۲۰۱۲).

دلنه ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum* گیاهی علفی، یک‌ساله و متعلق به تیره نعناعیان است. پوسته روی دانه‌ها را لایه‌ای موسیلاژی پوشانیده و هنگامی که داخل آب قرار می‌گیرد سریعاً متورم می‌شود. ترکیباتی نظیر لینالول، متیل کایوکول، سیترال، اوژنول، سینئول، کامفور و متیل‌سینامات از اجزای مهم اسانس ریحان به‌شمار می‌روند (سانمج ۲۰۱۸). صمغ دانه ریحان هیدروکلوئیدی منحصر بفرد است که جزء صمغ‌های آنیونی با $\text{pH} = 8/84$ طبقه‌بندی می‌شود. این صمغ حاوی ۳۳/۸۸ درصد کربوهیدرات و ۱/۵ درصد پروتئین است (لی و چین ۲۰۲۰). پلی‌ساکاریدهای استخراج‌شده از دانه ریحان شامل دو بخش اصلی گلوکومانان (۴۳ درصد) و گزیلان (۲۴/۲۹ درصد) همچنین بخش کوچکی از گلوکان (۲/۳۱ درصد) می‌باشد علاوه بر این حضور آرابینوگالاکتان بسیار منشعب همراه با گلوکومانان و گزیلان گزارش شده است (گرجیان و امیری ۱۳۹۸).

از صمغ حاصل از دانه ریحان جهت حذف و به دام انداختن برخی فلزات سنگین استفاده شده است. اثر ضد میکروبی تعدادی از گونه‌های ریحان بر باکتری‌های گرم مثبت و منفی و هم‌منظور قارچ‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا بررسی شده و گونه ریحان فرانسوی اثر خوبی روی درماتوفیت‌ها نشان داده است. عصاره آبی و الکلی برگ‌های ریحان فعالیت ضد زخم در دستگاه گوارش موش آزمایشگاهی نشان داده‌اند. این اثر را مربوط به فلاونوئیدهای موجود می‌دانند. صمغ دلنه ریحان توانایی تشکیل فیلم‌هایی با ظاهر خوب و ویژگی‌های

بررسی خصوصیات میکروبی و شیمیایی آن طی مدت زمان نگهداری در یخچال بود.

مواد و روش‌ها

استخراج صمغ دانه ریحان

دانه‌های ریحان از یک فروشگاه عرضه گیاهان دارویی واقع در شهرستان گرگان خریداری و به‌دقت تمیز شده و جهت جداسازی ناخالصی‌ها، گرد و غبار و سنگ‌ریزه از الک عبور داده شدند. از دمای ۷۰ درجه سلسیوس، $pH=7$ ، زمان خیساندن ۲۰ دقیقه و نسبت دانه به آب ۶۵:۱ جهت استخراج صمغ استفاده شد. در مرحله اول استخراج، دانه‌ها در نصف مقدار آب دیونیزه خیسانده و به مدت ۲۰ دقیقه تا متورم شدن کامل در بن‌ماری (Memmert, Germany) ۷۰ درجه سلسیوس (همراه با همزدن در فواصل کوتاه) گذاشته شد. جداسازی صمغ از دانه‌های متورم از طریق عبور دانه‌های متورم از اکسترکتور (Japan Panasonic, MJ-J176P) صورت پذیرفت. صمغ جداسازی شده در این مرحله جمع‌آوری شده و مابقی صمغ چسبیده به دانه‌ها با غوطه‌ور کردن مجدد دانه‌ها در آب و عبور دادن از اکستراکتور جدا گردید. در مرحله سوم بقیه آب اضافه شده و استخراج همانند مرحله دوم تکرار شد. صمغ جمع‌آوری شده از مراحل مختلف با هم مخلوط شده و سپس از یک صافی پارچه‌ای (از جنس حریر با منافذ بسیار ریز) با فشار گذرانده شد تا ذرات ریز و ناخالصی‌های موجود در آن کاملاً صاف شوند. صمغ حاصله به مدت ۷۲ ساعت در آون فن‌دار با دمای ۵۰ درجه سلسیوس قرار گرفت تا کاملاً خشک شود. صمغ خشک شده در پایان کار جمع‌آوری و با آسیاب برقی پودر شده و در ظروف در دار ریخته شد و تا زمان مصرف در یخچال نگهداری گردید (خرمی و همکاران ۱۳۹۲؛ میرعربرضی و همکاران ۱۳۹۸).

استخراج اسانس زیره سیاه

زیره سیاه به‌صورت خشک از یک فروشگاه عرضه گیاهان دارویی (عطاری) واقع در شهرستان گرگان خریداری شد. دانه‌های زیره سیاه با استفاده از آسیاب برقی پودر گردید سپس

مکانیکی قابل قبول دارد. از مزایای مختلف صمغ ریحان در مقایسه با سایر پلی‌ساکاریدها می‌توان به آب‌دوست، زیست‌سازگار و مقرون به‌صرفه بودن آن اشاره نمود (خزاعی و همکاران ۲۰۱۳). ریحان حاوی مقادیر زیادی ترکیبات فنولیک بوده و به همین جهت از خواص ضد اکسایشی بالایی برخوردار است (فونگ و همکاران ۲۰۱۰).

زیره سیاه با نام علمی *Bunium persicum boiss* از خانواده چتریان بوده و خواص فارماکولوژیک متعددی دارد که از این میان می‌توان به اثرات ضد آلرژی، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، کاهش چربی و کلسترول خون و تقویت‌کننده سیستم ایمنی اشاره کرد (بورگو و همکاران ۲۰۱۰). از جمله ترکیبات موثر موجود در اسانس زیره سیاه می‌توان به کومین‌آلدهید، گاماترپین و پاراسایمن اشاره کرد که اغلب جزو ترکیبات ترپنی بوده و اثرات ضد قارچی، ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی دارند (الجابری و حسین ۲۰۱۴).

ماهی فیتوفاگ با نام انگلیسی *Silver carp* و نام علمی *Hypophthalmichthys molitrix* از مهم‌ترین گونه‌های ماهیان گرمابی بوده و بواسطه رشد سریع، قابلیت سازگاری وسیع، مقاومت در برابر استرس و بیماری‌ها و گوشت لذیذ از گونه‌های غالب در ترکیب ماهیان گرمابی پرورشی به شمار می‌رود ضمن آن‌که این ماهی حاوی مقادیر زیادی اسیدهای چرب غیراشباع و پروتئین با ارزش غذایی بالا بوده و از ارزش تغذیه‌ای مطلوبی برخوردار است (خرمی و همکاران ۱۳۹۲). روند پرورش این گونه در ایران طی سالیان اخیر سیر صعودی داشته و با توجه به موقعیت اقلیمی و مساعد کشور برای پرورش ماهیان گرمابی انتظار می‌رود با تلاش و همت مسئولین، متخصصین و آبی‌پروران با افزایش تولید و بهره‌وری، در جهت برآوردن تقاضای جمعیت رو به رشد کشور گام‌های سریعی برداشته شود. با توجه به فسادپذیر بودن ماهی می‌بایست از روش‌های مناسبی جهت افزایش قابلیت نگهداری این ماده غذایی با ارزش استفاده نمود. هدف تحقیق حاضر بکارگیری فیلم خوراکی صمغ دانه ریحان و غلظت‌های مختلف اسانس زیره سیاه در فیله ماهی فیتوفاگ و

آزمون‌های میکروبی

پیش از انجام آزمون‌های میکروبی با استفاده از محلول رقیق‌کننده آب‌پیتونه بافری (Merck, Germany) از هر یک از نمونه‌ها رقت‌های مورد نیاز تهیه گردید. به‌منظور یکنواخت‌شدن نمونه‌ها، تمامی لوله‌ها به مدت ۱۵ ثانیه در شیکر لوله قرار گرفتند. لازم به ذکر است فاصله زمانی بین آماده‌سازی رقت اولیه و اتمام هر یک از کشت‌های میکروبی از ۱۵ دقیقه تجاوز نمی‌کرد (استاندارد ملی ۱۳۹۷).

شمارش کلی میکروبی

جهت شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها از دو رقت متوالی تهیه شده از هر یک از نمونه‌ها به روش کشت مخلوط (پورپلیت) در محیط کشت پلیت کلنت آگار (Merck, Germany) کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. نهایتاً تعداد کلنی‌ها در هر پلیت شمارش و بار میکروبی کلی هر کدام از نمونه‌ها محاسبه گردید (استاندارد ملی ۱۳۹۳).

شمارش میکروارگانیسم‌های سرماگرا

به‌منظور شمارش میکروارگانیسم‌های سرماگرا از دو رقت متوالی تهیه شده از هر یک از نمونه‌ها به روش کشت سطحی در محیط کشت پلیت کلنت آگار (Merck, Germany) کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۱۰ روز در دمای ۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. پس از این مدت تعداد کلنی‌ها در هر پلیت شمارش شده و میزان آلودگی به میکروارگانیسم‌های سرماگرا در هر کدام از نمونه‌ها محاسبه گردید (استاندارد ملی ۱۳۸۲).

آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری عدد تیوباریتوریک (TBA)

اندازه‌گیری این شاخص با استفاده از بوتانول (به عنوان حلال) و در حضور معرف تیوباریتوریک اسید در طول موج ۵۳۰ نانومتر انجام گرفت. معرف TBA از حل‌شدن ۲۰۰ میلی‌گرم پودر TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال بوتانول و صاف‌کردن بوسیله کاغذ صافی تهیه گردید سپس ۲۰۰ میلی‌گرم از خمیر گوشت ماهی فیتوفاگ در داخل بالن ۲۵ میلی‌لیتری

مقدار ۷۰ گرم از آن همراه با ۷۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به داخل یک بالن شیشه‌ای یک لیتری منتقل شد. اسانس‌گیری با استفاده از دستگاه کلونجر (IKA, Germany) و روش تقطیرآبی به مدت سه ساعت انجام گرفت. اسانس حاصل بعد از آگیری با استفاده از سولفات سدیم تا زمان مصرف در ظروف شیشه‌ای تیره در بسته و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. (علی محمدزاده و همکاران ۱۳۹۹؛ ندایی و همکاران ۱۳۹۹).

آماده کردن و پوشش دادن فیله ماهی

ماهی‌های فیتوفاگ تازه از یکی از حوضچه‌های پرورش ماهی واقع در شهرستان گرگان تهیه و بلافاصله با رعایت زنجیره سرما و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از توزین، جداسازی سر و باله‌ها و تخلیه امعا و احشا و شستشو با آب سرد، در نهایت ماهی‌ها به قطعات کوچک و یکسان (از نظر وزن) فیله شده و تا زمان پوشش‌دهی در کیسه‌های نایلونی استریل در یخچال (دمای ۴ درجه سلسیوس) نگهداری شدند. برای تهیه محلول پوشش ابتدا ۵ گرم پودر خشک صمغ ریحان در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای ۷۰ درجه سلسیوس حل شد و ۲ درصد گلیسرول و ۲ درصد توین ۸۰ اضافه گردید. اسانس زیره سیاه در سه غلظت ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد به صورت جداگانه اضافه گردید و با استفاده از هموژنایزر با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲ دقیقه کاملاً مخلوط شد. سپس فیله‌های ماهی فیتوفاگ به‌طور کامل در محلول پوشش برای حدود ۲ دقیقه در دمای اتاق غوطه‌ور شدند. نمونه بدون پوشش، به عنوان نمونه شاهد، فقط در آب مقطر غوطه‌ور شد. برای خشک کردن پوشش، جریان هوای مناسب با استفاده از یک فن (سرعت جریان هوا حدود ۲ متر بر ثانیه) ایجاد گردید. ضخامت پوشش‌ها با استفاده از میکرومتر در ۱۰ نقطه مختلف ماهی اندازه‌گیری شد که این میزان به‌طور متوسط ۰/۱۳ میلی‌متر برای هر پوشش بود (قصیری و همکاران ۱۳۹۳). کلیه تیمارها به مدت ۱۵ روز در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شده و آزمون‌های لازم در فواصل زمانی ۳ روز انجام پذیرفت.

و ۷ کالیبره شده بود، اندازه‌گیری گردید (اجاق و همکاران ۱۳۹۱).

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. از نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۸ جهت آنالیز داده‌ها استفاده شد. نتایج حاصله به صورت مقادیر میانگین و انحراف معیار استاندارد (SD) بیان گردید. اختلاف بین مقادیر در نمونه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک سویه و آزمون دانکن در سطح آماری ۵ درصد ($P < 0/05$) آنالیز گردید.

نتایج و بحث

آزمون‌های میکروبی

نتایج حاصل از شمارش کلی میکروبی در جدول ۱ بیان شده است. بر اساس داده‌های جدول مذکور در روز ۳ نگهداری اختلاف آماری معنی‌داری از لحاظ بار میکروبی کلی بین نمونه شاهد و سایر تیمارها وجود نداشت و در سایر روزها میزان شمارش کلی میکروبی در شاهد بطور معنی‌داری از تیمارهایی که پوشش‌دهی شده بودند بیشتر بود ($P < 0/05$). در روزهای ۱۲ و ۱۵ نگهداری ضمن آن‌که با افزایش غلظت اسانس زیره سیاه در پوشش، بار میکروبی کاهش یافت این اختلاف و کاهش به لحاظ آماری نیز معنی‌دار بود ($P < 0/05$). بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که افزایش غلظت زیره سیاه در پوشش خوراکی پیرامون فیله ماهی فیتوفاگ طی ۱۵ روز نگهداری در یخچال تأثیر مثبت در قابلیت نگهداری فرآورده دارد. با عنایت به این‌که با رسیدن میزان آلودگی میکروبی به ۱۰^۷ در هر گرم از فرآورده آثار و علائم فساد ظهور پیدا خواهد کرد هیچ‌یک از تیمارها در روز ۱۵ نگهداری قابلیت مصرف نداشتند ولی در روز ۱۲ نگهداری بار میکروبی در تیمار شاهد بیش از ۱۰^۷ در هر گرم و در تیمار حاوی ۰/۲۵ اسانس زیره در مرز فساد قرار داشت ولی شرایط تیمارهای حاوی ۱ و ۵ درصد اسانس زیره از این لحاظ مطلوب بود. لازم به ذکر است در روزهای ۳، ۶ و ۹ تمامی تیمارها از لحاظ شمارش کلی میکروبی شرایط مطلوبی داشتند.

توزین و با بوتانول به حجم رسانده شد و به طور کامل توسط همزن الکتریکی مخلوط شد، در مرحله بعد ۵ میلی‌لیتر از محلول نمونه با ۵ میلی‌لیتر محلول معرف مخلوط و به مدت ۲ ساعت در حمام بخار با دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از اتمام این مدت، لوله‌های آزمایش حاوی نمونه با استفاده از جریان آب سرد به مدت ۱۰ دقیقه خنک شدند. میزان جذب محلول در طول موج ۵۳۰ نانومتر فرلت گردید. نتایج با استفاده از معادله زیر (بر حسب میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید در هر کیلوگرم نمونه) محاسبه شد (زمانی و غفاری ۱۳۹۸؛ استاندارد ملی ۱۳۸۶).

$$TBA = \frac{50 \times A}{M}$$

در این رابطه A میزان جذب محلول آزمایش و M وزن نمونه بر حسب گرم می‌باشد.

بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

ابتدا ۱۰ گرم از نمونه همگن شده به بالن تقطیر کلدال حاوی ۲ گرم اکسید منیزیم، ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، چند عدد پرل شیشه‌ای و مقداری پارافین منتقل گردید. بالن حاوی ۲۵ میلی‌لیتر اسیدبوریک ۲ درصد و چند قطره معرف متیل‌رد را در انتهای دستگاه، بعد از مبرد، قرارداد و به بالن تقطیر حرارت داده شد. عمل تقطیر به مدت ۳۰ دقیقه پس از به جوش آمدن محتویات درون بالن ادامه یافت تا بازهای ازته فرار موجود در نمونه جذب بالن گیرنده حاوی اسیدبوریک شوند. در نهایت عمل تقطیر متوقف و محتویات بالن گیرنده توسط اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ ارغوانی تیترا گردید. با توجه به این‌که هر میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال معادل ۰/۰۰۱۴ گرم ازته می‌باشد بازهای ازته فرار برحسب میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه با کمک فرمول زیر محاسبه گردید: (زمانی و غفاری ۱۳۹۸؛ رفیعی پور و همکاران ۱۳۹۸)

$$TVB-N = 14 \times \text{حجم اسیدسولفوریک مصرفی}$$

اندازه‌گیری pH

۱۰ گرم از فیله ماهی هموزن با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و pH نمونه با کمک دستگاه pH متر، که در pH های ۴

Table 1- Total count of bacteria (log cfu/g) in the various treatments under refrigerated condition

treatment	day					
	0	3	6	9	12	15
control	3.20 ^a ±0.16	3.59 ^a ±0.30	4.47 ^a ±0.23	6.05 ^a ±0.14	7.40 ^a ±0.12	9.38 ^a ±0.22
0.25	3.11 ^a ±0.11	3.57 ^a ±0.14	4.21 ^b ±0.18	5.62 ^b ±0.36	6.96 ^a ±0.26	8.25 ^b ±0.41
0.5	3.18 ^a ±0.19	3.53 ^a ±0.15	4.17 ^b ±0.15	5.31 ^b ±0.25	6.61 ^b ±0.16	7.97 ^{bc} ±0.40
1	3.20 ^a ±0.18	3.52 ^a ±0.24	3.96 ^c ±0.18	4.88 ^b ±0.20	5.99 ^c ±0.19	7.45 ^c ±0.30

Different letters above the values indicate statistically significant difference ($p < 0.05$)

ضد میکروبی دارند (ابراهیم و الشریف ۲۰۰۸). پاراسیمن و گاماتریپین موجود در اسانس زیره نیز سبب تورم غشای سلولی باکتری‌ها می‌شوند. پاراسیمن خاصیت هیدروفوبیک داشته و با ورود به بخش لیپیدی غشای سلولی سبب تسهیل ورود منوترین‌های اسانس از غشای سلولی باکتری می‌شود (رفیعی پور و همکاران ۱۳۹۸).

نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج ارائه شده توسط سیاری و همکاران (۱۴۰۰)، سحری و صالحی (۱۴۰۰) و گومز و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد. در این رابطه می‌توان اظهار داشت که زیره سیاه به دلیل دارا بودن انواع فلاونوئیدها و روغن‌های فرار خاصیت ضد باکتریایی داشته ضمن آن که پوشش می‌تواند به عنوان محافظ در برابر هوا عمل کرده و تا حدودی از فعالیت باکتری‌های هوایی بکاهد (تقی‌زاده و رضایی ۱۳۹۱). در پژوهش ربیعی و همکاران (۱۳۹۳) مشخص گردید که استفاده از اسانس زیره سیاه در ماهی سفید بطور معنی‌داری از رشد باکتری‌های سرمادوست، بویژه لیستریا مونوسیتوژنز، جلوگیری می‌کند.

نتایج حاصل از شمارش میکروارگانیزم‌های سرماگرا در جدول ۲ ذکر شده است. تعداد باکتری‌های سرماگرا در هر گرم از تیمارهای پوشش داده شده طی مدت نگهداری در یخچال بطور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کمتر بود ($P < 0.05$) افزایش غلظت اسانس زیره سیاه از ۰/۲۵ به ۰/۵ درصد در روزهای ۳ و ۶ به‌طور معنی‌داری باعث کاهش میکروبی‌های سرماگرا شد و در روزهای ۹، ۱۲ و ۱۵ کمترین میزان آلودگی میکروبی به باکتری‌های مذکور در تیمار حاوی ۱ درصد اسانس زیره سیاه تعیین گردید ضمن آن که در روز ۱۵ با افزایش غلظت اسانس زیره سیاه از ۰ تا ۱ درصد میزان آلودگی تیمارها به باکتری‌های سرماگرا بطور معنی‌داری کاهش یافت. ($P < 0.05$)

ترکیبات فنولیک غشا خارجی میکروبی‌ها را تخریب کرده و سبب خروج لیپوساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشا سیتوپلاسمی به ATP می‌شود (رشیدایی و همکاران ۲۰۱۹) ضمن آنکه حضور مقادیر زیاد کومین‌آلدئید (۲۵ درصد) در اسانس زیره می‌تواند فعالیت ضد باکتریایی آنرا توجیه نماید. اجزای دیگر اسانس زیره مانند آلفاپینن و ساینن هم فعالیت

Table 2- The number of psychrotrophic bacteria (log cfu/g) in the various treatments under refrigerated condition

treatment	day					
	0	3	6	9	12	15
control	2.51 ^a ±0.15	2.89 ^a ±0.31	3.37 ^a ±0.22	4.32 ^a ±0.15	5.98 ^a ±0.17	7.35 ^a ±0.20
0.25	2.55 ^a ±0.17	2.75 ^b ±0.15	3.10 ^b ±0.17	3.82 ^b ±0.18	5.41 ^b ±0.29	6.49 ^b ±0.35
0.5	2.49 ^a ±0.13	2.69 ^c ±0.16	3.03 ^c ±0.14	3.79 ^b ±0.11	5.32 ^b ±0.27	6.21 ^c ±0.31
1	2.53 ^a ±0.19	2.70 ^c ±0.25	3.00 ^c ±0.17	3.38 ^c ±0.17	5.03 ^c ±0.21	5.79 ^d ±0.28

Different letters above the values indicate statistically significant difference ($p < 0.05$)

دوره نگهداری افزایش یافت. در روز نخست نگهداری تفاوت معنی‌داری در شاخص TBA نمونه‌های تیمار شده و شاهد وجود نداشت ولی در روزهای ۳ تا ۱۵ میزان TBA در

اندازه‌گیری عدد تیوباربتوریک (TBA)

نتایج حاصل از اندازه‌گیری TBA در جدول ۳ نشان داده شده است. مقادیر تیوباربتوریک اسید در همه تیمارها با افزایش

بیشترین میزان TBA در نمونه شاهد و کمترین میزان در تیمارهای حاوی ۱ درصد اسانس زیره سیاه تعیین گردید ($P < 0/05$).

نمونه شاهد بطور معنی داری از سایر نمونه‌ها بیشتر بود ($P < 0/05$). در هر یک از روزهای ۶ تا ۱۵ در تیمارهایی که پوشش آن‌ها حاوی اسانس زیره بیشتری بود میزان TBA بطور معنی داری کمتر از سایر تیمارها ارزیابی گردید به گونه‌ای که

Table 3- Effect of various concentrations of caraway essential oil on TBA index (mg malondialdehyde/ kg of *Hypophthalmichthys molitrix* meat) under refrigerated conditions

treatment	day					
	0	3	6	9	12	15
control	0.09 ^a ± 0.01	0.18 ^a ± 0.033	0.37 ^a ± 0.020	0.58 ^a ± 0.017	0.93 ^a ± 0.014	1.48 ^a ± 0.022
0.25	0.08 ^a ± 0.011	0.16 ^b ± 0.018	0.31 ^b ± 0.015	0.51 ^b ± 0.039	0.70 ^b ± 0.028	1.08 ^b ± 0.041
0.5	0.08 ^a ± 0.016	0.12 ^b ± 0.019	0.23 ^c ± 0.012	0.43 ^c ± 0.028	0.63 ^c ± 0.028	0.88 ^c ± 0.041
1	0.07 ^a ± 0.013	0.13 ^b ± 0.028	0.19 ^d ± 0.019	0.30 ^d ± 0.023	0.42 ^d ± 0.028	0.71 ^d ± 0.031

Different letters above the values indicate statistically significant difference ($p < 0.05$)

نتایج سیاری و همکاران (۱۴۰۰)، پورکارگر و رفعتی (۱۳۹۹) و اجاق و همکاران (۱۳۹۱) مطابقت دارد ضمن آن که شعبانپور و همکاران (۱۳۹۴) و چیتیری و همکاران (۲۰۰۴) نیز در پژوهش‌های خود نشان دادند که TBA فیله‌ها طی دوره نگهداری در یخ افزایش یافت.

اندازه‌گیری pH

pH عضله ماهی زنده حدود ۷ است اما پس از صید به علت واکنش‌های بیوشیمیایی ناشی از گلیکولیز بی‌هوازی تا حدی این میزان کاهش یافته و بین ۶-۷ تغییر می‌کند طی مدت زمان نگهداری نیز تحت تأثیر فعالیت میکروب‌ها و آنزیم‌های پروتئولیتیک میزان ترکیباتی نظیر آمونیاک و تری‌متیل‌آمین افزایش یافته و pH افزایش می‌یابد (سانگ و همکاران ۲۰۱۱). همان‌گونه که در جدول ۴ نشان داده شده طی مدت زمان نگهداری تیمارها در یخچال میزان pH افزایش پیدا کرد. در این رابطه میزان pH نمونه شاهد و سایر نمونه‌های حاوی درصد‌های مختلف اسانس زیره سیاه تا روز ششم اختلاف معنی داری نداشت ($P < 0/05$) اما در روزهای ۹ و ۱۲ میزان pH نمونه شاهد بطور معنی داری نسبت به تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱ درصد اسانس بیشتر بود ($P < 0/05$). در روز ۱۵ نیز حداقل میزان pH در تیمار حاوی ۱ درصد اسانس و حداکثر میزان pH در نمونه شاهد ارزیابی گردید ضمن آن‌که در تمامی نمونه‌ها اختلاف میزان فاکتور مورد بررسی معنی دار بود. در این خصوص توانایی پوشش حاوی اسانس در مهار

تیوباریتوریک اسید یکی از شاخص‌های اندازه‌گیری اکسیداسیون چربی‌ها بر اساس مالون‌دی‌آلدئید است. مالون‌دی‌آلدئید محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع است که در نتیجه تبدیل هیدروپراکسیدها به آلدئیدها و کتون‌ها بوجود می‌آید. محدوده ۲-۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم مالون‌آلدئید را می‌توان به عنوان حد قابل قبول مقادیر تیوباریتوریک اسید در ماهیان معرفی کرد. افزایش در میزان تیوباریتوریک اسید نشان دهنده افزایش اکسیداسیون چربی‌ها و افت کیفیت محصول می‌باشد (لین و لین، ۲۰۰۵) در پژوهش حاضر در تمامی تیمارها میزان TBA با گذشت زمان طی مدت زمان نگهداری افزایش یافت. از روز ۳ نگهداری به بعد میزان TBA در تیمار شاهد بطور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود ($P < 0/05$) ضمن آنکه با افزایش غلظت عصاره زیره سیاه میزان TBA کمتر افزایش نشان می‌داد. به گونه‌ای که در هر یک از روزهای نگهداری کمترین میزان TBA در تیمار حاوی ۱ درصد عصاره زیره سیاه تعیین گردید بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از پوشش حاوی عصاره زیره سیاه تأثیر مثبت در قابلیت نگهداری ماهی دارد. پایین بودن شاخص TBA در تیمارهای حاوی پوشش را می‌توان به ممانعت پوشش در سطح فیله به عنوان مانعی بین فیله و هوای اطراف و کم‌شدن سرعت انتشار اکسیژن در سطح فیله، ترکیبات ضد میکروبی موجود در اسانس و هم‌افزایی بین صمغ دانه ریحان و اسانس زیره نسبت داد که با

کیتوزان مرتبط دانستند. در پژوهش محمدزاده و رضایی (۱۳۹۲) نیز طی مدت نگهداری، افزایش pH در فیله ماهی‌های قزل‌آلای غوطه‌ور شده در عصاره چای سبز نسبت به تیمار شاهد با سرعت کمتری رخ داد.

فعالیت آنزیم‌های داخلی و کاهش رشد میکروبی موثر است (چامانارا و همکاران ۲۰۱۲). در مطالعات مشابه بریزی و همکاران (۲۰۱۸) کمتر بودن افزایش pH در نمونه‌های دارای پوشش را به خواص ضد میکروبی عصاره پوست انار و

Table 4- Effect of various concentrations of caraway essential oil on pH index under refrigerated conditions

treatment	day					
	0	3	6	9	12	15
control	6.41 ^a ±0.11	6.49 ^a ±0.08	6.62 ^a ±0.20	6.92 ^a ±0.17	7.16 ^a ±0.14	7.63 ^a ±0.22
0.25	6.46 ^a ±0.10	6.52 ^a ±0.13	6.56 ^a ±0.18	6.83 ^{ab} ±0.29	7.05 ^{ab} ±0.28	7.40 ^b ±0.41
0.5	6.43 ^a ±0.14	6.47 ^a ±0.19	6.53 ^a ±0.10	6.74 ^b ±0.24	6.93 ^b ±0.14	7.21 ^c ±0.14
1	6.42 ^a ±0.13	6.47 ^a ±0.11	6.57 ^a ±0.14	6.62 ^c ±0.23	6.75 ^c ±0.13	6.93 ^d ±0.23

Different letters above the values indicate statistically significant difference (p<0.05)

باکتری‌های مولد فساد و آنزیم‌های درونی مرتبط دانست که باعث سرعت بخشیدن به روند فساد و تجمع تری‌متیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین، آمونیاک و دیگر بازهای نیتروژنی و در نتیجه افزایش مقادیر TVB-N می‌شوند (کایرانا و همکاران ۱۹۹۷). استفاده از صمغ دانه ریحان و اسانس زیره سیاه در پوشش فیله ماهی فیتوفاگ سبب پایین نگهداشتن سطح مجموع بازهای نیتروژنی فرار نسبت به تیمار شاهد طی ۱۵ روز نگهداری در یخچال گردید به گونه‌ای که در روزهای ۱۲ و ۱۵ بیشترین میزان TVB-N در نمونه شاهد و کمترین میزان در تیمارهای حاوی ۱ درصد اسانس زیره سیاه تعیین گردید. کاهش تشکیل مجموع بازهای نیتروژنی فرار در تیمارهای حاوی اسانس را می‌توان به خاصیت ضد میکروبی اسانس زیره سیاه نسبت داد. الجابری و حسین (۲۰۱۴) مگزیس و همکاران (۲۰۰۹)، ابراهیم و الشریف (۲۰۰۸)، پورکارگر و رفعتی (۱۳۹۹)، رفیعی‌پور و همکاران (۱۳۹۸) و سیاری و همکاران (۱۴۰۰)، نیز در پژوهش‌های خود به نتایج مشابهی دست یافتند.

بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

میزان TVB-N تیمارهای مختلف در جدول ۵ ذکر شده است. این شاخص عمدتاً نشان‌دهنده کیفیت ماهی و بیان‌کننده وجود مواد نیتروژنی ناشی از تخریب مولکول‌هایی مانند پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک توسط باکتری‌های پروتئولیتیک است (ژوکی و همکاران ۲۰۱۴). حداکثر میزان قابل قبول مجموع بازهای نیتروژنی فرار، ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی می‌باشد (رفیعی‌پور و همکاران ۱۳۹۸). در پژوهش حاضر در تمامی نمونه‌ها طی مدت زمان نگهداری میزان TVB-N روند افزایشی داشت. در روزهای صفر و ۳ اختلاف آماری معنی‌داری در میزان بازهای نیتروژنی فرار نمونه‌ها وجود نداشت ولی از روز ۶ به بعد میزان TVB-N نمونه شاهد بطور معنی‌داری از نمونه‌های پوشش داده شده بیشتر بود به عبارتی با افزایش زمان نگهداری در تیمارهایی که میزان بار میکروبی بالاتر بود میزان TVB-N نیز به میزان بیشتری افزایش یافت. افزایش میزان بازهای نیتروژنی فرار طی دوره نگهداری را می‌توان به فعالیت

Table 5- Effect of various concentrations of caraway essential oil on volatile bases nitrogen (mg / 100 g of *Hypophthalmichthys molitrix* meat) under refrigerated conditions

treatment	day					
	0	3	6	9	12	15
control	10.136 ^a ±0.19	11.40 ^a ±0.16	13.716 ^c ±0.20	25.833 ^c ±0.17	28.25 ^d ±0.14	33.51 ^d ±0.22
0.25	10.128 ^a ±0.14	11.31 ^a ±0.18	12.426 ^b ±0.18	14.422 ^b ±0.29	26.71 ^c ±0.28	29.42 ^c ±0.41
0.5	10.134 ^a ±0.10	11.23 ^a ±0.19	11.856 ^a ±0.10	13.591 ^a ±0.20	25.97 ^b ±0.28	28.15 ^b ±0.42
1	10.139 ^a ±0.13	11.27 ^a ±0.28	11.446 ^a ±0.15	12.117 ^a ±0.21	23.34 ^a ±0.13	24.73 ^d ±0.31

Different letters above the values indicate statistically significant difference (p<0.05)

نتیجه گیری کلی

درصد اسانس زیره سیاه بیشترین تأثیر را در میزان ماندگاری فیله ماهی فیتوفاگ دارد به گونه‌ای که در این شرایط می‌توان تا ۱۲ روز ماهی را در یخچال نگهداری کرد. لذا با توجه به مضرات مواد نگهدارنده شیمیایی برای مصرف‌کنندگان و با هدف افزایش قابلیت نگهداری ماهی استفاده از پوشش خوراکی حاوی صمغ دانه ریحان و اسانس زیره سیاه توصیه می‌گردد.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد استفاده از پوشش خوراکی صمغ دانه ریحان و اسانس زیره سیاه از شدت فعالیت باکتری‌ها در نمونه‌های فیله ماهی فیتوفاگ کاسته و میزان ماندگاری ماهی در دمای یخچال را افزایش می‌دهد. در این رابطه استفاده از پوشش حاوی صمغ دانه ریحان و

References

- اجاق م، رضایی م، رضوی ه و حسینی م ه، ۱۳۹۱. اثر پوشش‌های آنتی میکروبی در افزایش ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۹ (۳۴)، ۲۳-۱۳
 URL: <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-6776-fa.html>
- استاندارد ملی ایران، ۱۳۸۶. روغن‌ها و چربی‌های گیاهی و حیوانی - اندازه‌گیری عدد ۲- تیوباریتوریک اسید به روش مستقیم. سازمان ملی استاندارد، شماره ۱۰۴۹۴
- استاندارد ملی ایران، ۱۳۹۷. میکروبیولوژی زنجیره مواد غذایی - آماده‌سازی آزمایش‌ها. سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبی - قسمت ۳: مقررات ویژه برای آماده‌سازی ماهی و فرآورده‌های آن - تجدید نظر اول، سازمان ملی استاندارد، شماره ۳-۸۹۲۳
- استاندارد ملی ایران، ۱۳۹۳. میکروبیولوژی زنجیره مواد غذایی - روش جامع برای شمارش میکروارگانیسم‌ها - قسمت ۱ - شمارش کلنی در ۳۰ درجه سلسیوس با استفاده از روش کشت آمیخته، سازمان ملی استاندارد، شماره ۱-۵۲۷۲
- استاندارد ملی ایران، ۱۳۸۲. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - شمارش میکروارگانیسم‌های سرماگرا - روش آزمون، سازمان ملی استاندارد، شماره ۲۶۲۹
- پورکارگر ه و رفعتی ع، ۱۳۹۹. اثر پوشش خوراکی کیتوزان حاوی اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita L.*) بر ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در دمای یخچال. مجله بوم‌شناسی آبزیان، ۱۰ (۱)، ۶۶-۵۳
 URL: <http://jae.hormozgan.ac.ir/article-1-871-fa.html>
- تقی‌زاده لندواری ق و رضایی م، ۱۳۹۱. اثر پوشش ژلاتینی بر ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در دمای یخچال. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۹ (۳۷)، ۶۷-۷۶
 URL: <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-6061-fa.html>
- خرمی م، حسینی پرور س ه و معتمدزادگان ع، ۱۳۹۲. بررسی اثر صمغ دانه ریحان بر روی پایداری، رفتار رئولوژیکی و اندازه ذرات امولسیون‌های ایزوله پروتئین آب‌پنیری. نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی، ۵ (۱)، ۹۱-۱۱۴.
- ربیعی ث، حسینی ه و رضائی م، ۱۳۹۳. اثر بازدارندگی اسانس زیره سیاه بر رشد باکتری لیستریا مونوسیتوزنز در محیط‌های مدل شبیه‌سازی شده و گوشت ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*). نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، ۲ (۱۰)، ۱۲۸-۱۲۲
 doi: 10.22067/ifstrj.v10i2.37816
- ربیعی‌پور ا، نژادسجادی ح، شهدادی ف، مهدوی‌نیاع، دزیانی م و عزتی ر، ۱۳۹۸. تأثیر اسانس زیره سیاه و آویشن بر ویژگی‌های کیفی و ماندگاری ماهی منجمد و تازه. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۶ (۹۵)، ۶۳-۷۴
 URL: <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-34101-fa.html>
- زمانی ع و غفاری آ، ۱۳۹۸. بررسی کیفیت شیمیایی و باکتریایی سوریمی تهیه‌شده از ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultriventris*) حاوی عصاره پونه (*Mentha pulegium*) طی نگهداری در یخچال (۱-۴ درجه سانتیگراد)، مجله علمی شیلات ایران، ۲۸ (۴)، ۳۵-۳۲

سحری م ع و صالحی ح، ۱۴۰۰. بررسی اثر استفاده از پوشش پروتئینی ژلاتین به همراه عصاره گل میخک برای افزایش کیفیت نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای سرد شده در دمای ۴ درجه سلسیوس. مجله علوم و صنایع غذایی ایران. ۱۸ (۱۱۰)، ۱۱-۲۵

URL: <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-16993-fa.htm>

سیاری ز، ربانی م، فرهمندفر ر، اسماعیل زاده کناری ر و موسوی ندوشن ر، ۱۴۰۰. اثر اسانس دانه زیر سیاه (*Bunium persicum*) انکپسوله شده با صمغ بذر ریحان (*Ocimum basilicum L.*) بر تغییرات شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نگهداری شده در دمای یخچال. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۸ (۱۱۸)، ۱۲۹-۱۴۰. doi: 10.52547/fsct.18.118.129

شهابنگ ز، بهرامی س و محمدی ب، ۱۳۹۸. تهیه فیلم نانوکامپوزیت کیتوزان-نانوذرات اکسید روی-اسانس آویشن و بررسی ویژگی‌های مکانیکی، ساختاری و ضد میکروبی آن. فصلنامه علمی علوم و فنون بسته‌بندی، ۱۰ (۴۰)، ۵۸-۷۳.

شعبانپور ب، اصغری م، حیدری س، بایی ه، قربانی ر، آ و جعفر ع، ۱۳۹۴. مقایسه تغییرات کیفی فیله کپور ماهیان پرورشی در محیط استخر و آزمایشگاه و ماهی کپور دریایی طی نگهداری در یخچال پژوهش‌های جانوری. مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۸ (۴)، ۴۸۰-۴۶۶

علی محمدزاده م ر، علیدوست م ع و خندقی ج، ۱۳۹۹. مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره الکلی و اسانس زیره سیاه (*Bunium persicum boiss*) بر برخی از باکتری‌ها و کپک‌ها در پنیر لاکتیکی. مجله میکروبی‌شناسی مواد غذایی، ۷ (۴)، ۳۳-۴۶

قصیری ش، هدایتی فرد م و معتمدزادگان ع، ۱۳۹۳. تولید کنتل ماهی از کپور سرگنده (*Aristichthys nobilis*) و بررسی ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی محصول منتخب طی دوره نگهداری در شرایط انجماد، مجله علمی بهداشت مواد غذایی، ۴ (۱۳)، ۳۳-۴۵

گرجیان ه و رفتنی امیری ز، ۱۳۹۸. تأثیر موسیلاژ دانه شاهی بر پایداری و خواص رئولوژیکی دوغ بدون چربی. پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۹ (۳) ۱۴۵-۱۵۶

محمدزاده ب و رضایی م، ۱۳۹۲. اثر پلی‌فنل‌های چای سبز بر تغییرات میکروبی و شیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به هنگام نگهداری در یخ. مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۰ (۳۸)، ۹-۱۰

URL: <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-725-fa.html>

محمدی ب، ۱۳۹۹. سنتز نانو کامپوزیت کیتوزان-پلی‌آبیلین و بررسی ویژگی‌های ساختاری و زیستی و ضد باکتریایی آن. فصلنامه علمی علوم و فنون بسته‌بندی، ۱۱ (۴۲)، ۸۰-۹۲

میرعرب‌رضی س، معتمدزادگان ع، شهیدی س ا و رشیدی‌نژاد ع، ۱۳۹۸. بهبود ویژگی‌های ژلی آلومین سفیده تخم مرغ با افزودن صمغ دانه ریحان. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۹ (۴)، ۱-۱۲.

ندائی م، نوری قنبلانی ق، رفیعی دستجردی ه و عباداللهی ع، ۱۳۹۹. اثرهای کشندگی و زیرکشندگی اسانس‌های درمنه خراسانی (*Artemisia khorassanica*)، زیره سیاه (*Carum carvi*) و فلفل سیاه (*Piper nigrum*) روی بید سیب‌زمینی (*Phthorimaea operculella*)

، مجله علمی تحقیقات آفات گیاهی، ۱۰ (۴)، ۵۷-۴۱. doi: 10.22124/iprj.2021.4631

AL-Jabri NN and Hossain MA, 2014. Comparative chemical composition and antimicrobial activity study of essential oils from two imported lemon fruits samples against pathogenic bacteria. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences 3(4): 247-253. doi: 10.1016/j.bjbas.2014.10.011

Appendini P and Hotchkiss JH, 2002. Review of antimicrobial food packaging. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 3(2): 113-126. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(02\)00012-7](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(02)00012-7)

Arshad MS and Batool SA, 2017. Natural antimicrobials, their sources and food safety. Food Additives 87(1). doi: 10.5772/intechopen.70197

Bagheri R, Izadi Amoli R, Tabari Shahndash N and Shahosseini S R, 2016. Comparing the effect of encapsulated and unencapsulated fennel extraction the shelf life of minced common kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in the mince. Food Science and Nutrition 4(2): 216-222. doi: 10.1002/fsn3.275

Berizi E, Hosseinzadeh S, Shekarforoush SSH and Barbieri G, 2018. Microbial, chemical, textural and sensory properties of coated rainbow trout by chitosan combined with pomegranate peel extract during frozen

- storage. *International Journal of Biological Macromolecules* 106: 1004-1013. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.08.099
- Bourgou S, Pichette A, Marzouk B and Legault J, 2010. Bioactivities of black cumin essential oil and its main terpenes from Tunisia. *South African Journal of Botany* 76(2): 210-216. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2009.10.009>
- Brody AL, Bugusu B, Han JH, Sand CK and McHugh T H, 2008. Innovative food packaging solutions. *Scientific Status Summary. Journal of Food Science* 73(8): 107-116 <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00933.x>
- Chamanara V, Shabanpour B and Khomeiri M, 2012. An investigation on characteristics of rainbow trout coated using chitosan assisted with thyme essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules* 50(3): 540-544. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.01.016>
- Chytiri S, Chouliara I, Savvaidis IN and Kontominas MG, 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquaculture rainbow trout. *Food Microbiology* 21:157-165. doi:10.1016/S0740-0020(03)00059-5
- Erikson U, Misimi E and Gallart-Jornet L, 2011. Superchilling of rested Atlantic salmon: different chilling strategies and effects on fish and fillet quality. *Food Chemistry* 127(4): 1427–1437. doi:10.1016/j.foodchem.2011.01.036
- Go'mez-Estaca J, Lope'z de lacey A, Go'mez-Guille'n MC, Lope'z-Caballero ME and Montero P, 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(1-2):46-52. doi: 10.1080/10498850802581252
- Ibrahim SM and El-Sherif SA, 2008. Effect of some extracts on quality aspects of frozen tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fillets. *Global Vetrinaria* 2(2): 62-66.
- Joerger RD, 2007. Antimicrobial films for food applications: a quantitative analysis of their effectiveness. *Packaging Technology and Science: An International Journal* 20(4): 231-273. <https://doi.org/10.1002/pts.774>
- Jouki M, Yazdi FT, Mortazavi SA, Koocheki A and Khazaei N, 2014. Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. *International Journal of Food Microbiology* 174: 88-97. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.01.001
- Khazaeia N, Esmaili M, Emam Djomeh Z, Ghasemlou M and Jouki, M, 2013. Characterization of new biodegradable edible film made from basil seed (*Ocimum basilicum* L.) gum. *Carbohydrate Polymers* 102: 199– 206. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.10.062
- Khorrani M, Hosseini Parvar SH and Motamed Zadegan A, 2013. Effect of basil gum on the stability, rheological behavior and particle size of whey protein isolate emulsions. *Journal of Food Processing and Maintenance* 5 (2): 91-114
- Kyranas VR, Lougovois VP and Valsamis DS, 1997. Assessment of shelf life of mari cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *International Journal Food Science and Technology* 32(4):339 – 347 doi: 10.1046/j.1365-2621.1997.00408.x
- Lee C H and Chin K B, 2020. Physical properties and structural changes of myofibrillar protein gels prepared with basil seed gum at different salt levels and application to sausages. *Foods* 9(6): 702 <https://doi.org/10.3390/foods9060702>
- Lin C, and Lin C, 2005. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. *Food Control* 16: 169–175. doi:10.1016/j.foodcont.2004.01.007
- Matak K E, Tahergorabi R, and Jaczynski J, 2015. A review: Protein isolates recovered by isoelectric solubilization /precipitation processing from muscle food by-products as a component of nutraceutical foods. *Food Research International* 77(4): 697–703. doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.048
- Mexis SF, Chouliara E and Kontominas MG, 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: 598-605. doi: 10.1016/j.fm.2009.04.002

- Pavli F, Tassou C, Nychas G E and Chorianopoulos N, 2018. Probiotic Incorporation in Edible Films and Coatings: Bioactive Solution for Functional Foods, *International Journal of Molecular Sciences* 19(1): 150. doi: 10.3390/ijms19010150
- Phuong MN, Eileen M K and Emily DN, 2010. Potassium rate alters the antioxidant capacity and phenolic concentration of basil (*Ocimum basilicum L.*) Leaves. *Journal of Food Chemistry* 123(4):1235-1241. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.05.092
- Ramos M, Jiménez A, Peltzer M and Garrigós M C, 2012. Characterization and antimicrobial activity studies of polypropylene films with carvacrol and thymol for active packaging. *Journal of Food Engineering* 109(3): 513-519. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.10.031>
- Rashidaie Abandansarie SS, Ariaii, P and Charmchian Langerodi M, 2019. Effects of encapsulated rosemary extract on oxidative and microbiological stability of beef meat during refrigerated storage. *Food Science and Nutrition*. 7 (12): 3969-3978. doi: 10.1002/fsn3.1258
- Song Y, Liu L, Shen H, You J and Luo Y, 2011. Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control* 22(3): 608-615. doi: 10.1016/j.foodcont.2010.10.012
- Sonmezdag AS, Amanpour A, Kelebek H and Selli S, 2018. The most aroma-active compounds in shade-dried aerial parts of basil obtained from Iran and Turkey. *Industrial Crops and Products* 124: 692-698. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.053>
- Vasconez MB, Flores SK, Campson CA, Alvarado J and Gerschenson LN, 2009. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International* 42(7):762-769 doi: 10.1016/j.foodres.2009.02.026