اثرات عصاره آبی برگ مورد (*Myrtus communis*) بر تغییرات کیفی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*)، شکم خالی، نگهداری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس

الهام نصیری[۱]، جواد حصاری[۱*]، سیدشهرام شکر فروش[۲]، سمیه کوشش[۳]

*j_hesari@yahoo.com

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز
۳-گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹٤ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۵

چکیده

قزل‌آلای رنگین کمان پس از صید شدیداً مستعد فساد میکروبی، هیدرولیتیک (Hydrolytic) و اکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد. بنابراین استفاده از مواد نگهدارنده جهت افزایش عمر ماندگاری این محصول ضرورت دارد. عصاره برگ مورد دارای خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی است. هدف از این تحقیق بررسی اثر عصاره آبی برگ مورد بر تغییرات کیفی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در شرایط نگهداری سرد (۱±۴ درجه سلسیوس) می‌باشد. در این آزمایش میزان ترکیبات فنلی کل عصاره آبی برگ مورد به روش فولین سیکاتو (Folin-Ciocalteu)، توانایی مهار رادیکال آزاد با استفاده از محلول دی فنیل پیکریل هیدرازین (DPPH) و توانایی جذب فلز به روش اسپکتروفتومتری بررسی گردیدند. قزل‌آلای رنگین کمان بلافاصله پس از صید شستشو شده و تخلیه احشاء انجام شد. تیمار مورد استفاده با در نظر گرفتن نتایج آزمون‌های اولیه، ۵ دقیقه غوطه‌وری در عصاره آبی ۰/۵ درصد برگ مورد بود. نمونه‌برداری در روزهای ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵، طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس صورت گرفت. اثر ضدمیکروبی عصاره با شمارش باکتری های سرمادوست به روش پورپلیت (Purplate Method) بر روی محیط کشت PCA، ارزیابی شد. خصوصیات شیمیایی بررسی شده شامل: اندازه‌گیری pH، اندیس تیوباربیتوریک اسید (TBARS) به روش اسپکتروفتومتری و ارزیابی ترکیبات نیتروژنی فرار (TVN) به روش کلدال (Kjeldahl)، بودند. ارزیابی حسی قزل‌آلای رنگین کمان توسط ۱۰ ارزیاب آموزش دیده با بررسی ظاهر و رنگ، بو، بافت و وضعیت چشم صورت گرفت. میزان ترکیبات فنولی کل عصاره برابر با ۴۹/۶±۰/۳۳ mg GA/ml، میزان IC_{50} برابر با ۲۰±۰/۰۳ µg/ml و خاصیت کمپلکس-کنندگی (Chelating activity) فلز عصاره بر اساس EDTA برابر با ۴۳/۹۷ ٪ محاسبه شدند. غوطه‌وری ماهی در عصاره آبی مورد سبب کاهش شمارش سرمادوست‌ها بلافاصله پس از تیمار شد و به طور معناداری روند فساد میکروبی ماهی را کاهش داد، به طوری که شمارش سرمادوست‌های نمونه های‌کنترل و تیمار شده با عصاره در روز ۱۰ به ترتیب برابر با ۷/۲۹ و ۵/۹۱ log cfu/g بود. همچنین اکسیداسیون چربی و تولید ترکیبات ازته فرار در نمونه‌های تیمار شده کاهش یافت و خصوصیات حسی در مقایسه با نمونه‌های کنترل بهبود یافت. بنابراین می توان از عصاره آبی مورد جهت افزایش زمان ماندگاری قزل‌آلا طی دوره نگهداری سرد استفاده نمود. کاربرد آب به عنوان حلال، غلظت مورد نیاز پایین عصاره و فراوانی درختچه همیشه سبز مورد در ایران امکان کاربرد اقتصادی این عصاره را به عنوان یک ترکیب نگهدارنده طبیعی و جایگزینی مناسب برای ترکیبات شیمیایی میسر می سازد.

لغات کلیدی : قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، عصاره آبی، برگ مورد، نگهدارنده طبیعی

*نویسنده مسئول

مقدمه

قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، یکی از مهم‌ترین و مطلوب‌ترین آبزیان پرورشی در ایران می‌باشد. این ماهی به طور طبیعی دارای میزان قابل توجهی اسیدهای چرب چند غیر اشباع زنجیره بلند (PUFA) مانند EPA و DHA می‌باشد (Sarma *et al.*, 2015). عمده‌ترین عوامل فساد ماهی قزل‌آلا، اکسیداسیون چربی‌ها (Yildiz *et al.*, 2006; 2001 Montero *et al.*,)، فساد هیدرولیتیک (Hydrolytic spoiling) (Bremner, 2002)، رشد میکروارگانیسم‌ها (Arlington *et al.*, 2004) و تجزیه پروتئین‌ها می‌باشند (Ojagh *et al.*, 2010).

به منظور حفظ کیفیت مطلوب و به تعویق انداختن فساد فرآورده‌های دریایی از روش‌های سردسازی و انجماد استفاده می‌شود، هر چند این روش‌ها به طور کامل نمی‌توانند مانع فساد میکروبی و شیمیایی شوند. بنابراین برای افزایش عمر ماندگاری محصولات دریایی از نگهدارنده‌های مصنوعی مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول (Butylhydroxyanisole) و بوتیل هیدروکسی تولوئن (Butylated hydroxytoluene) (Jeon *et al.*, 2002; Fan *et al.*, 2009) استفاده می‌شود. ولی این مواد دارای اثرات مضری همچون افزایش احتمال خطرات قلبی، بروز مشکلات گوارشی، جهش‌زایی، مسمومیت و سرطان‌زایی می‌باشند، در نتیجه می‌توانند سلامت مصرف کننده را به مخاطره اندازند (Sakanaka *et al.*, 2005; Edmonds, 2006). بنابراین جایگزینی این ترکیبات با مواد نگهدارنده طبیعی بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

عصاره‌های گیاهی دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند، این خواص عمدتاً مربوط به حضور ترکیبات فنلی در آن‌ها است (Hernandez *et al.*, 1999; Negi and Jayaprakasha, 2003; Miliauskas *et al.*, 2004). امروزه تحقیقات زیادی در مورد استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مختلف از جمله عصاره‌های آویشن شیرازی، پیاز و کاکوتی کوهی (ذولفقاری و همکاران، ۱۳۸۹)، عصاره پوست پرتقال (علی بیگی و همکاران، ۱۳۹۱)، عصاره موسیر (Pezeshk *et al.*, 2011)، چای سبز (Siripatrawan and Harte , 2010)، دارچین (Ojagh *et al.*, 2010)، عصاره سویا (Souza and Skonberg, 2011)، تیمول و کارواکرول (Yanishlieva *et al.*, 1999)، رزماری (Georgantelis *et al.*, 2007) و آسکوربیک اسید (Song *et al.*, 2011)، به تنهایی یا همراه با پوشش دهی ، به منظور کاهش میزان اکسیداسیون ماهی در طول مدت نگهداری صورت گرفته است.

گیاه مورد (*Myrtus communis* L.) درختچه‌ای همیشه سبز و معطر از خانواده میرتاسه (*Myrtaceae*) می باشد. عصاره این گیاه دارای ترکیبات فنولی (Phenolic compounds)، تانن (Tannin) و فلاونوئیدهایی (Flavonoids) مانند میریستین (Myricetin) است (Amensour *et al.*, 2010). گزارش‌های متعددی از خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد انگلی و ضدعفونی عصاره این گیاه وجود دارد (Zargari, 1990; Sarkarti and Salamat, 1997; Hayder *et al.*, 2004; Wannes *et al.*, 2010; Aleksic and Knezevic, 2013).

این تحقیق با توجه به مستعد بودن قزل‌آلای رنگین کمان به فساد و ضرورت یافتن جایگزین‌های طبیعی برای نگهدارنده‌های مصنوعی مورد استفاده در کشور، مطرح گردید. با توجه به وفور درختچه همیشه سبز مورد در ایران، خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره این گیاه و عدم مشاهده گزارشی مبتنی بر بررسی اثر عصاره آبی این گیاه بر افزایش ماندگاری قزل‌آلای رنگین کمان طی دوره نگهداری سرد، این پژوهش صورت گرفت. دراین تحقیق اثر عصاره آبی مورد بر خصوصیات میکروبی، شیمیایی و حسی قزل‌آلای نگهداری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس طی مدت ۱۵ روز بررسی شد.

مواد و روش ها

استخراج عصاره

برگ تازه گیاه مورد در ماه خرداد از منطقه قصر قلات شهر سیدان، استان فارس، جمع‌آوری و تأیید جنس و گونه در هرباریوم بخش زیست‌شناسی دانشگاه شیراز انجام

شد. برگ‌ها در دمای اتاق و در سایه خشک شدند، سپس آسیاب شده و با آب مقطر جوش به نسبت ۱:۱۰ مخلوط شده و به مدت ۱ ساعت در هم‌زن مغناطیسی در دمای ۶۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند (Hayder *et al.*, 2004). عصاره حاصل توسط کاغذ واتمن (Whatman) شماره ۱، صاف شد. تغلیظ عصاره توسط روتاری اواپراتور (rotary evaporator) انجام و عصاره تغلیظ شده لیوفیلیزه گردید. ماده خشک عصاره در زمان استفاده در آب مقطر حل و عصاره ۰/۵٪ برگ مورد تهیه شد (Karbalaya Doust *et al.*, 2010).

آنالیز شیمیایی عصاره آبی برگ مورد

اندازه گیری میزان ترکیبات فنولی کل (Total phenolic content)

جهت ارزیابی کل محتوای فنولی از واکنشگر فولین سیکاتو (Folin-Ciocalteu) (مرک) استفاده شد. ۵۰ میکرو لیتر از عصاره آبی برگ مورد به ۰/۷۵ میلی لیتر واکنشگر که به نسبت یک به ۱۰ با آب مقطر رقیق شده بود، اضافه شد، سپس ۰/۷۵میلی لیتر کربنات سدیم ۲ ٪ به مخلوط اضافه گردید و به مدت ۶۰ دقیقه در محل تاریک گذاشته شد. بعد از سپری شدن زمان مورد نظر جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (JENWAY 6305) خوانده شد (Shahbaz *et al.*, 2014). نمودار گالیک اسید (Gallic acid) (مرک) در محدوده غلظت‌های (۱۰mg/ml - ۰/۰۰۰۱) رسم شد.

تعیین ویژگی ضدرادیکالی (Antiradical Activity عصاره)

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از محلول دی فنیل پیکریل هیدرازین (DPPH) (سیگما) که با غلظت ۰/۱ میلی مولار در حلال متانول تهیه شد، ارزیابی گردید. ۰/۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره آبی مورد به ۲ میلی‌لیتر محلول DPPH اضافه شد و بعد از ۶۰ دقیقه نگهداری در محل تاریک، جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. توانایی خنثی سازی رادیکال DPPH که بیانگر میزان فعالیت آنتی‌رادیکالی (Antiradical Activity) عصاره است مطابق معادله زیر محاسبه شد (Roussos, 2011).

$$RSA\% = (A\ Control - A\ Sample / A\ Control) \times 100$$

در این رابطه RSA% = میزان فعالیت آنتی‌رادیکالی (Antiradical Activity)، A Control= میزان جذب کنترل و A Sample= میزان جذب نمونه است.

سپس غلظتی از عصاره که دارای درصد مهار رادیکال ۵۰ بود توسط نمودار محاسبه گردید و به عنوان IC_{50} گزارش شد.

بررسی توانایی کمپلکس‌کنندگی (Scavenging ability) فلز توسط عصاره

جهت ارزیابی توانایی جذب فلز، ۲ میلی لیتر از عصاره آبی برگ مورد به ۳/۷۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد، سپس ۰/۱۰میلی لیتر کلرید آهن (۲ mmol/lit) (مرک) و ۰/۲۰ میلی‌لیتر فروزین (Ferrozine) (۵ mmol/lit) به مخلوط اضافه گردید. بعد از سپری شدن ۲۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۲ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (JENWAY 6305) خوانده شد (Decker & Welch, 1990). جهت صفر کردن دستگاه از مخلوطی حاوی ۳ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲ میلی‌لیتر حلال متانول استفاده گردید. بلانک(Blank)، مخلوطی شامل تمامی محلول‌های فوق بوده و به جای عصاره از حلال متانول استفاده شد. جهت کنترل مثبت EDTA در نظر گرفته شد.

$$\frac{\text{جذب نمونه درحضور عصاره یا EDTA - جذب نمونه بلانک (Blank) (فاقد عصاره یا EDTA)}}{\text{جذب نمونه بلانک (Blank) (فاقد عصاره یا EDTA)}} = \text{اثر کمپلکس‌کنندگی (Scavenging ability)}$$

آماده‌سازی تیمارها

۴۸ عدد قزل‌آلای رنگین کمان با وزن متوسط ۵۰±۲۵۰ گرم در فصل پاییز از یکی از مراکز فروش زنده ماهی در شیراز، فارس، خریداری شد. ماهی‌ها با تور صید و بلافاصله پس از مرگ همراه با پودر یخ و در کمتر از ۱ ساعت به آزمایشگاه منتقل شدند. شستشو و تخلیه احشاء به صورت دستی انجام گرفت. سپس نمونه ها به ۲ گروه تقسیم شدند، با توجه به نتایج حاصل از آزمایش های اولیه، بررسی in vitro اثرات ضدمیکروبی عصاره بر باکتری‌های سرمادوست (نتایج گزارش نشده است)، ارزیابی ویژگی ضدرادیکالی (Antiradical Activity) و توانایی کمپلکس‌کنندگی (Scavenging ability) فلز توسط عصاره، غلظت ۰/۵ درصد عصاره آبی برگ مورد، جهت تیمار کردن نمونه‌ها انتخاب گردید. در گروه تیمار نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در عصاره آبی ۰/۵ درصد برگ مورد با دمای ۷ درجه سلسیوس و نسبت ماهی به عصاره ۱ به ۱/۵ غوطه‌ور شدند (Etemadi *et al*., 2008). سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه روی سطح مشبک قرار داده شدند تا آب اضافی آن‌ها خارج شود. نمونه‌های کنترل نیز مشابه نمونه‌های تیمار به مدت ۵ دقیقه در آب مقطر غوطه‌ور شدند. سپس نمونه های تیمار شده و نمونه‌های کنترل به صورت انفرادی با استفاده از انبرک سترون در پاکت‌های پلی اتیلنی قرار گرفته، بسته‌بندی شدند و در یخچال با دمای ۱±۴ درجه سلیسیوس نگهداری شدند. جهت ارزیابی‌های مورد نظر نمونه‌برداری در روزهای ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ طی دوره نگهداری انجام شد. در هر روز آزمایش‌ها در هر گروه روی سه نمونه مستقل انجام شد.

نمونه برداری

در روزهای آزمایش نمونه‌های کنترل و تیمار با استفاده از انبرک سترون از بسته‌ها خارج شدند. سپس سر و دم ماهی ها با استفاده از چاقوی استریل جدا شد وقسمت میانی در دستگاه گوشت خردکن خانگی (مولینکس، فرانسه، مدل 790A25) به طور کامل خمیر و یکنواخت شد.

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره

۱۰ گرم نمونه ماهی با ۹۰ میلی‌لیتر نرمال سیلین (Normal saline) همگن شد (استومکر A.J.SEWARD). پس از رقت سازی، رقت‌های مورد نظر به روش پورپلیت (Purplate Method) بر روی محیط PCA کشت داده شدند. شمارش باکتری‌های سرمادوست پس از گرمخانه‌گذاری پلیت‌ها در دمای ۱۰ درجه سلسیوس به مدت ۷ روز انجام شد (Ojagh *et al*., 2010).

آزمایش‌های شیمیایی

اندازه‌گیری pH

دو گرم از نمونه ماهی با ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط همگن ساز (Yellow line, DI 18 basic) به مدت ۲ دقیقه به طور کامل همگن و به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد، سپس pH محلول به وسیله pH متر دیجیتال (SCHOTT CG 824) اندازه‌گیری شد (Song *et al*., 2011).

اندازه‌گیری اندیس تیوباربیتوریک اسید (Thiobarbituric acid)

اندیس تیوباربیتوریک اسید با روش Benjakul and Bauer (2001)، با اندکی تغییرات صورت گرفت. ۱گرم نمونه ماهی با ۹ میلی لیتر از محلول حاوی ۰/۳۷۵٪ تیوباربیتوریک اسید (Thiobarbituric acid) و ۱۵٪ تری کلرو استیک اسید (Trichloro acetic acid) و ۱۰۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۲۵ نرمال مخلوط و ۱۰ دقیقه در آب در حال جوش حرارت داده شد. سپس با آب سرد گردید و ۲۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰ g سانتریفوژ شد. مایع فوقانی جمع‌آوری شده و جذب آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. سپس اندیسTBARS از منحنی استاندارد بر اساس mg مالون آلدهید (malondialdehyde) /کیلوگرم ماهی، محاسبه گردید.

ارزیابی ترکیبات نیتروژنی فرار (TVN)

میزان ترکیبات ازته فرار به روش کلدال (Kjeldahl) انجام و محاسبه گردید (پروانه، ۱۳۸۵).

ارزیابی حسی

ماهی‌های تیمار شده و نمونه‌های کنترل، به صورت کامل و خام در سینی‌های سفید قرار گرفته، به صورت تصادفی شماره‌گذاری شدند و زیر نور طبیعی، توسط ۱۰ ارزیاب آموزش دیده، از بین اساتید و کارشناسان دانشکده دامپزشکی از نظر ظاهر و رنگ، بو، بافت، وضعیت چشم و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۱). امتیاز-دهی بر اساس سیستم چهارتایی به صورت زیر انجام گرفت: ۴= عالی، ۳= خوب، ۲=قابل قبول و ۱= مردود.

جدول ۱: فرم ارزیابی حسی

شماره نمونه	وضعیت چشم	محدب و کاملاً برآمده، سیاه با مردمک روشن، قرنیه شفاف	محدب مقداری فرورفته، سیاه با مردمک کدر، قرنیه مقداری مات	پهن، قرنیه مات، مردمک کدر	مرکز فرو رفته، مردمک خاکستری، قرنیه شیری
	بو	بوی علف دریایی	فاقد بوی علف های دریایی	تخمیر شده، بوی ترشی می دهد	کاملاً بوی ترشیدگی و تعفن می دهد
	بافت و قوام گوشت	دارای سطح صاف، محکم، الاستیک (Elastic)	دارای حالت الاستیک (Elastic)	کمی نرم دارای سطح کدر	کاملاً نرم، فلس ها به راحتی از پوست جدا می شود، سطح گوشت چروکیده است
	ظاهر و پوست	روشن، بدون تغییر رنگ، درخشنده	رنگ روشن ولی درخشنده نیست	پوست در حال تغییر رنگ از روشنی به سمت کدورت	رنگ کاملاً کدر
	پذیرش کلی	عالی	خوب	قابل قبول	ضعیف

تجزیه آماری داده ها

این پژوهش بر مبنای طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. تعیین اختلاف معنی‌دار میان میانگین داده‌ها و رتبه‌بندی آن‌ها به ترتیب با استفاده از آزمون‌های فاکتوریل (Factorial) و دانکن (Duncan)، با استفاده از نرم‌افزار SAS v9.1 و در سطح اطمینان ۹۵٪ صورت گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Office Excel 2007 ترسیم و گزارش شدند.

نتایج

میزان ترکیبات فنولی کل (Total phenolic content) عصاره

میزان ترکیبات فنولی کل عصاره آبی ۰/۵ درصد برگ مورد با میزان گالیک اسید معادل فنل کل برابر با mg GA/ml ۴۹/۶±۰/۳۳ بود.

تعیین ویژگی ضدرادیکالی (Antiradical Activity) عصاره

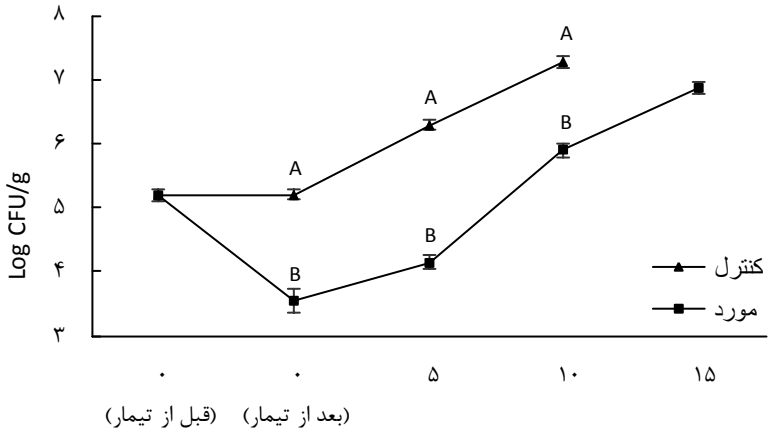
توانایی به دام اندازی رادیکال ۲و۲ دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، عصاره آبی ۰/۵ درصد برگ مورد بر اساس میزان IC_{50} برابر با µg/ml ۲۰±۰/۰۳ بود.

بررسی توانایی کمپلکس‌کنندگی (scavenging ability) فلز توسط عصاره

خاصیت کمپلکس‌کنندگی (scavenging ability) عصاره ۰/۵ درصد بر اساس EDTA برابر با ۴۳/۹۷ درصد محاسبه شد.

بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره

نتایج حاصله نشان داد که غوطه‌وری ماهی در عصاره سبب کاهش شمارش سرمادوست‌ها بلافاصله پس از تیمار شد. میانگین شمارش سرمادوست‌های نمونه‌های کنترل و تیمار شده با عصاره در روز صفر به ترتیب برابر با ۵/۲ و ۳/۵ log cfu/g بود. تعداد سرمادوست‌ها در تمام گروه ها تا پایان دوره نگهداری تدریجاً افزایش یافت (شکل ۱) و در نمونه‌های کنترل در روز ۱۰ به ۷/۲۹ log cfu/g رسید. در نمونه‌های تیمار شده با عصاره این روند افزایشی سرعت و شدت کمتری داشت و در روزهای ۱۰ و ۱۵ شمارش سرمادوست‌ها به ترتیب برابر با ۵/۹۱ و ۶/۸۷ log cfu/g بود.

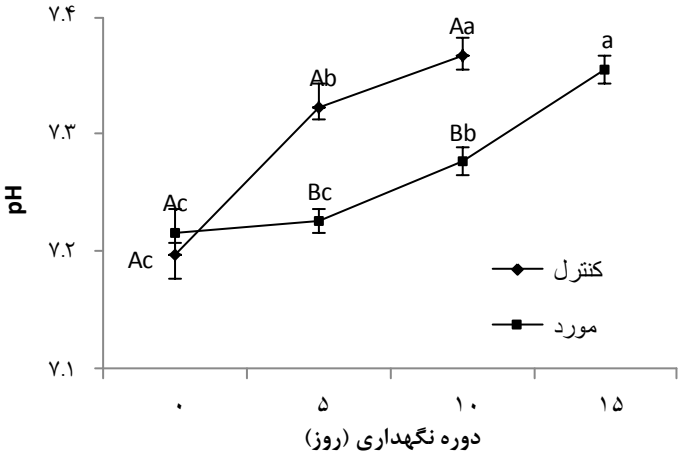


شکل ۱: شمارش کلی باکتری‌های سرمادوست ماهی‌های گروه کنترل و تیمار شده با عصاره مورد طی ۱۵ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس. حروف بزرگ متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنادار در هر زمان می باشند ($p<0.05$).

تأثیر عصاره بر تغییرات شیمیایی قزل‌آلای نگهداری شده در دمای ۴ درجه سلسیوس

مقادیر pH

pH نمونه‌های کنترل و غوطه‌ور شده در عصاره، در روز صفر به ترتیب برابر با ۷/۱۹ و ۷/۲۱ بود (شکل ۲). pH تمامی نمونه‌ها طی دوره نگهداری به تدریج افزایش یافت. اما این روند افزایشی در نمونه‌های غوطه‌ور شده در عصاره شیب کندتری داشت. قابل ذکر است که به دلیل خصوصیات حسی نامطلوب نمونه‌های گروه کنترل، ارزیابی خصوصیات شیمیایی آن‌ها در روز ۱۰ متوقف شد.



شکل ۲: pH ماهی‌های گروه کنترل و تیمار شده با عصاره آبی ۰/۵ درصد برگ مورد طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس. حروف بزرگ متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنا دار در هر زمان و حروف کوچک متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنا دار در هر تیمار می باشند ($p<0.05$).

بررسی اکسیداسیون چربی، اندیس تیوباربیتوریک اسید (TBARS)

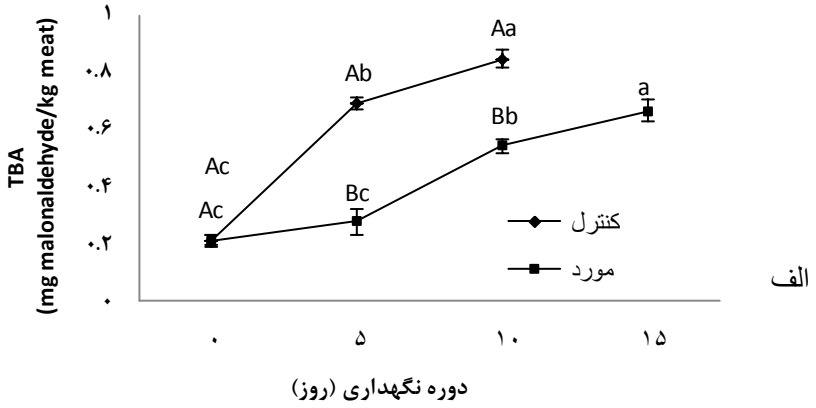
اثر عصاره آبی مورد بر میزان TBA نمونه‌های ماهی طی ۱۵ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس، در شکل ۳ (الف) نشان داده شده است. میزان TBA در روز صفر برابر با ۰/۲۱ mg MDA/ kg بود و تفاوت معناداری بین نمونه‌های کنترل و تیمار شده وجود نداشت ($p<0.05$). با افزایش مدت زمان نگهداری ماهی‌ها، میزان TBA آن‌ها افزایش یافت ($p<0.05$) و در روز ۱۰ در نمونه‌های کنترل به ۰/۸۴ mg MDA/ kg رسید. میزان افزایش TBA در نمونه‌های تیمار شده با عصاره به طور معناداری کمتر بود و در روز ۱۵ برابر با ۰/۶۶ mg MDA/ kg بود.

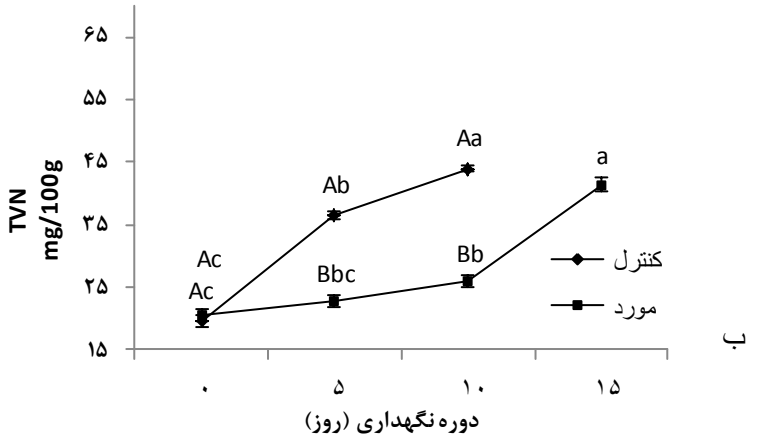
ارزیابی ترکیبات نیتروژنی فرارTVN

نتایج حاصل از تأثیر عصاره بر میزان TVB-N نمونه‌های ماهی در شکل ۳ (ب) نشان داده شده است. میزان TVB-Nاولیه ماهی‌ها ۲۰±۰/۷ mg/100g بود، این میزان در گروه کنترل به طور پیوسته تا روز ده افزایش یافت و در روز دهم به ۴۳/۹۳ mg/100g رسید. در نمونه‌های تیمار شده نیز میزان TVB-N در طول زمان نگهداری با شدت کمتری افزایش یافت و در روز ۱۵ برابر با ۴۱/۲۷ mg/100g بود.

ارزیابی حسی

تغییر در خصوصیات حسی نمونه‌های کنترل و تیمار شده با عصاره در جدول ۲ نشان داده شده است. ظاهر و رنگ، بو، بافت، وضعیت چشم و وضعیت کلی نمونه‌های کنترل و تیمار شده در روز صفر دارای تفاوت آماری معناداری نبودند. خصوصیات حسی نمونه‌های هر دو گروه طی دوره نگهداری افت کرد، در روز دهم دوره نگهداری وضعیت کلی نمونه‌های کنترل قابل قبول نبود در حالیکه خصوصیات حسی نمونه‌های تیمار شده با عصاره مورد به طور معناداری مطلوب‌تر بود و از نظر وضعیت کلی قابل قبول بودند. در پایان دوره نگهداری (روز ۱۵) خصوصیات حسی هر دو گروه به شدت افت کرد، اما این افت در نمونه‌های تیمار شده با عصاره به طور معناداری کمتر بود ($p<0.05$).





شکل ۳: TBA (الف) و TVB-N (ب)، ماهی‌های گروه کنترل و تیمار شده با عصاره آبی ۰/۵ درصد برگ مورد طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس. حروف بزرگ متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنادار در هر زمان و حروف کوچک متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنادار در هر تیمار می باشند ($p<0.05$).

جدول ۲: ویژگی‌های حسی (میانگین ± انحراف معیار) ماهی‌های کنترل و تیمار شده با عصاره آبی مورد در روزهای ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ در ۴ درجه سلسیوس

مدت نگهداری (روز)	تیمار	ظاهر و رنگ	بو	بافت	وضعیت چشم	وضعیت کلی
۰	کنترل	۴/۰^{A}±۰/۰۰	۳/۹^{A}±۰/۳	۳/۹^{A}±۰/۳	۴/۰^{A}±۰/۰۰	۴/۰^{A}±۰/۰۰
	عصاره آبی مورد	۴/۰^{A}±۰/۰۰	۴/۰^{A}±۰/۰۰	۳/۸^{A}±۰/۴	۴/۰^{A}±۰/۰۰	۴/۰^{A}±۰/۰۰
۵	کنترل	۳/۳^{A}±۰/۵	۲/۵^{A}±۰/۵	۳/۱^{A}±۰/۳	۲/۹^{A}±۰/۳	۲/۷^{A}±۰/۵
	عصاره آبی مورد	۳/۴^{A}±۰/۵	۳/۶^{B}±۰/۵	۳/۲^{A}±۰/۴	۳/۵^{B}±۰/۵	۳/۴^{B}±۰/۵
۱۰	کنترل	۲/۵^{A}±۰/۵	۱/۵^{A}±۰/۵	۱/۶^{A}±۰/۵	۲/۱^{A}±۰/۳	۱/۴^{A}±۰/۵
	عصاره آبی مورد	۳/۰^{B}±۰/۰۰	۳/۴^{B}±۰/۵	۲/۷^{B}±۰/۵	۲/۴^{B}±۰/۵	۲/۸^{B}±۰/۴
۱۵	کنترل	۲/۰^{A}±۰/۵	۱/۲^{A}±۰/۴	۱/۱^{A}±۰/۳	۱/۲^{A}±۰/۴	۱/۱^{A}±۰/۳
	عصاره آبی مورد	۲/۴^{B}±۰/۵	۱/۷^{B}±۰/۵	۲/۱^{B}±۰/۳	۱/۶^{B}±۰/۵	۲/۰^{B}±۰/۵

*حروف متفاوت بیانگر تفاوت آماری معنا دار میان داده های مربوط به هر روز می باشد ($p<0.05$) (Means±SD.)

بحث

طبق نتایج حاصل، عصاره آبی برگ مورد حاوی میزان بالایی از ترکیبات فنولی می باشد و دارای توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH و خاصیت کمپلکس‌کنندگی (Chelating activity) فلز است. ترکیبات فنولی دارای خاصیت ضدمیکروبی (Negi and Jayaprakasha, 2003) و آنتی اکسیدانی (Hernandez *et al.*, 1999) می‌باشند. این ترکیبات می‌توانند به سوبستراهایی (substrate) چون مواد معدنی، ویتامین‌ها و کربوهیدرات‌ها متصل شده و آن‌ها را از دسترس میکروارگانیسم‌ها خارج کنند (Stern *et al.*, 1996; Shahidi and Naczk, 2004). طبق گزارش Amensour و همکاران (۲۰۱۰)، میزان ترکیبات فنلی کل در عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی برگ مورد به ترتیب برابر با ۳۵/۵۶±۰/۶۱، ۳۱/۲۵±۰/۰ و ۲۹/۰±۰/۳۵ mg GA/ml بود، که ارقام گزارش شده کمتر از میزان ترکیبات فنلی محاسبه شده در این تحقیق است. Tawaha و همکاران (۲۰۰۷)، میزان ترکیبات فنولی کل بیشتر از ۲۰ mg GAE/g را بسیار بالا ارزیابی نمودند. در تست DPPH، آنتی اکسیدان‌ها می توانند رادیکال آزاد DPPH را به ترکیب زرد رنگ دی فنیل پیکریل هیدرازین (DPPH-H) احیاء کنند. توانایی بخشیدن اتم هیدروژن یا الکترون که در نتیجه وجود برخی ترکیبات خالص می باشد به وسیله اندازه‌گیری بی رنگ شدن رنگ ارغوانی محلول DPPH مشخص می شود (Burtis and Bucar, 2000). طبق گزارش Wannes و همکاران (۲۰۱۰)، فعالیت ضدرادیکالی عصاره متانولی برگ مورد و BHT بر اساس IC_{50} به ترتیب برابر با ۸±۰/۷۳ و ۲۵ ±۰/۰ µg/ml بود. Hayder و همکاران (۲۰۰۴) ، نیز IC_{50} عصاره‌های آبی و متانولی برگ مورد و آلفا توکوفرول را به ترتیب ۱/۹، ۶/۵ و ۳/۱ µg/ml گزارش نمودند، که رقم مربوط به IC_{50} کمتر از میزان تعیین شده در این تحقیق است. میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره یک گیاه تابع، جنس و گونه، شرایط رشد، زمان برداشت، روش، دما و نوع حلال عصاره‌گیری می‌باشد (Pául *et al.*, 2005; Hashemabadi and Kaviani, 2010; Palá-).

خاصیت کمپلکس‌کنندگی فلز عصاره آبی برگ مورد، مربوط به حضور ترکیبات فنولی است و به واسطه این توانایی عصاره می‌تواند از واکنش‌های اکسایشی کاتالیز شده توسط آهن و مس ممانعت کند(Hosseini *et al.*, 2014).

غوطه‌وری در عصاره آبی مورد، روند فساد میکروبی ماهی را به طور معناداری طی ۱۵ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس کاهش داد ($p<0/05$). در این تحقیق، غوطه‌وری ماهی در عصاره سبب کاهش شمارش سرمادوست‌ها بلافاصله پس از تیمار شد که با نتایج حاصل از پژوهش Pezeshk و همکاران (۲۰۱۱)، مغایرت داشت. غوطه‌وری قزل‌آلا در عصاره موسیر تغییر معناداری در شمارش سایکروفیلی در روز صفر، در مقایسه با نمونه‌های کنترل ایجاد نکرد، اما تعداد باکتری‌های سرمادوست را نسبت به نمونه شاهد طی ۲۰ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس به طور معناداری کاهش داد. خاصیت ضدمیکروبی عصاره می‌تواند ناشی از حضور ترکیبات فنلی باشد که در غشای سلول نفوذ می‌کنند و می‌توانند درلخته شدن محتویات سلول نقش داشته باشند (Burl and Coote, 1999). طبق گزارش Hugo و Bloomfield (۱۹۷۱)، ترکیبات فنولی قادرند از طریق دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها جذب شده و با تخریب ساختارهای غشایی منجر به از بین رفتن عملکرد آن‌ها شوند.

شمارش میکروبی بالای نمونه کنترل در روز صفر (log cfu/g ۵/۲)، می‌تواند به دلیل آلودگی شدید آب آکواریوم و آلوده بودن سطح خارجی ماهی و یا تغذیه آن قبل از صید باشد. که فرضیه اول قوی تر است، زیرا غوطه‌وری ماهی در عصاره مورد سبب از بین رفتن کامل لعاب سطح بدن ماهی شد و شمارش سرمادوست‌های نمونه تیمار شده را حدود log cfu/g ۲ کاهش داد.

با توجه به فرضیه پژوهش و نتایج حاصل از آزمون‌های شیمیایی عصاره آبی مورد، انتظار می‌رفت تیمار قزل‌آلا با این عصاره منجر به بهبود خصوصیات شیمیایی ماهی طی نگهداری در یخچال شود. غوطه‌وری ماهی در عصاره آبی مورد سبب کاهش روند افزایشی pH، اکسیداسیون چربی-

ها و میزان TBARS و TVB-N ماهی‌ها، طی ۱۵ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس شد. نتایج شیمیایی حاصل از این تحقیق با گزارش علی بیگی و همکاران (۱۳۹۱)، مطابقت داشت. طبق این گزارش، پاشیدن عصاره های ۱ و۵٪ پوست پرتقال بر فیله ماهی کپور سبب کاهش روند فساد شیمیایی طی ۱۵ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس شد.

تغییر در غلظت یون هیدروژن گوشت به عنوان یک نشانگر برای ارزیابی کیفیت ماهی وسخت‌پوستان دریایی استفاده می شود (Bailey *et al*., 1956). عصاره آبی مورد به دلیل خاصیت ضدمیکروبی سبب پایین آمدن بار میکروبی ماهی می شود. کاهش تجمع ترکیبات حاصل از فعالیت میکروارگانیسم‌ها همچون TMA و TVB-N که سبب تجمع ترکیبات بازی و افزایش pH می شوند، موجب کاهش روند افزایشی pH طی نگهداری ماهی می گردد (Campos *et al*., 2005). نتایج این تحقیق نشان داد که شاخص مجموع بازهای نیتروژنی فرار در گروه تیمار شده تا روز ۱۰ کمتر از حد استاندارد تعیین شده بود (۳۵-۳۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گوشت) (علی بیگی و همکاران، ۱۳۹۱)، اما در گروه کنترل این میزان به ۴۳/۹۳mg/100g رسید، که بالاتر از حد استاندارد بود. افزایش مقدار تیوباربیتوریک اسید تیمارها طی دوره نگهداری، ناشی از اکسیداسیون لیپید و تولید متابولیت-های فرار در حضور اکسیژن می باشد. مقدار تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌های تیمار شده، پایین تر بود، زیرا عصاره آبی مورد به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی سبب مهار رادیکال‌های آزاد می شود و در نتیجه از اکسیداسیون لیپیدها ممانعت می‌کند (Chidanandaiah *et al*., 2009). اعتمادی و همکاران (۲۰۰۸)، نیز گزارش کردند غوطه‌وری قزل‌آلا در عصاره رزماری ۰/۱ درصد به طور معناداری اکسیداسیون لیپیدها را به تأخیر می‌اندازد.

در ارزیابی خصوصیات حسی، تغییر بوی ماهی در نمونه‌های تیمار شده تا روز ۱۰ بیشتر ناشی از بوی ترشیدگی بود. اما در نمونه‌های کنترل بوی تعفن ناشی از فساد میکروبی و تجزیه پروتئین‌ها از روز دهم نگهداری محسوس بود. همچنین تجزیه پروتئین ها در اثر فعالیت میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌های پروتئاز، سبب نرم شدن بافت ماهی می شود که در نمونه‌های کنترل از روز دهم نگهداری کاملاً مشهود بود، اما در نمونه‌های تیمار شده به دلیل آلودگی میکروبی پایین‌تر، افت قوام بافت به تعویق افتاده و شدت کمتری داشت.

عصاره آبی برگ مورد حاوی میزان بالایی از ترکیبات فنولی می باشد و دارای توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH و خاصیت کمپلکس‌کنندگی فلز است. بنابراین غوطه‌وری ماهی در عصاره آبی مورد، به طور معناداری روند فساد میکروبی ماهی، اکسیداسیون چربی، تولید ترکیبات ازته فرار و افت خصوصیات حسی را کاهش داد. بنابراین می توان از عصاره آبی مورد جهت افزایش زمان ماندگاری قزل‌آلا طی دوره نگهداری سرد استفاده نمود. کاربرد آب به عنوان حلال، غلظت مورد نیاز پایین عصاره و فراوانی درختچه همیشه سبز مورد در ایران امکان کاربرد اقتصادی این عصاره را به عنوان یک ترکیب نگهدارنده طبیعی و جایگزینی مناسب برای ترکیبات شیمیایی میسر می سازد.

تشکر و قدردانی

از پرسنل محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی نیک نیا و محمدی و آغازی کارشناس محترم آزمایشگاه شیمی گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری می نماییم.

منابع

پروانه، و.، ۱۳۸۵. کنترل کیفی و آزمایش های شیمیایی مواد غذایی. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. چاپ سوم. ۲۵۰ صفحه.

ذولفقاری م.، شعبانپور ب. و فلاح زاده، س.، ۱۳۸۹. نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۶، شماره ۲، صفحات ۱۲۹-۱۲۱.

علی بیگی، ط.، علیزاده دوغیکلائی، ا. و زکی پور رحیم آبادی، ا.، ۱۳۹۱. بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره پوست پرتقال بر کیفیت فیله کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) هنگام نگهداری در یخچال (۴°C). نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۶، شماره ۲، صفحات ۱۹۴-۱۸۵.

Aleksic, V. and Knezevic, P., 2013. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. Microbiological Research, 169: 240-254.

Amensour, M., Sendra, E., Abrini, J., Pérez-Alvarez, J.A. and Fernández-López, J., 2010. Antioxidant activity and total phenolic compounds of myrtle extracts. Journal of Food, 8: 95–101.

Arlington, V.A., Arashisar, S.O., Hisar, M.K. and Yanik, T., 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*) fillets. Journal of Food Microbiology, 97: 209– 214.

Bailey, M,E., Fieger, E.A. and Novak, A.F., 1956. Objective tests applicable to quality studies of ice stored shrimp. Journal of Food Researches, 21:611.

Benjakul, S. and Bauer, F., 2001. Biochemical and physicochemical changes in catfish muscle as influenced by different freeze-thaw cycles. Food Chemistry, 72: 207–217.

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

Burtis, M. and Bucar, F., 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotheraphy Research, 14: 323–328.

Campos, C.A., Rodriguez, O., Losada, V., Aubourg, S.P. and Barros–Velázquez, J., 2005. Effects of storage in ozonized slurry ice on sensory and microbial quality of (*Sardina pilchardus*). International Journal of Food Microbiology, 103:121-130.

Chidanandaiah, A.K., Keshri, R.C. and Sanyal, M.K., 2009. Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated (4 ±1C) storage. Journal of Muscle Foods, 20, 275-292.

Decker, E.A. and Welch, B., 1990. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 38: 674–677.

Edmonds, M., 2006. Sodium metabisulphite alternatives. Seafish Technology Implementation, pp.1-16.

Etemadi, H., Rezaei, M. and Abedian Kenary, A.M., 2008. Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on shelf life extension of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian Journal of Food Science and Technology, 5: 67-77.

Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. and Chi, Y., 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. Journal of Food Chemistry, 115: 66-70.

Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G. and Georgakis, S.A., 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and α-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 C. Meat Science, 76: 172–181.

Hashemabadi, D. and Kaviani, B., 2010. Seasonal and geographical variations in the

essential oils of *Eryngium caucasicum* Trautv growing in Iran. American-Eurasian Journal Agricaltural & Environmental Science, 8(2): 212-215.

Hayder, N., Abdelwahed, A., Kilani, S., Ben-Ammar, R., Ghedira, A. and Chekir-Ghedira, L., 2004. Anti-genotoxic and free-radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) *Myrtus communis*. Mutation Research, 564: 89–95.

Hernandez, F., Melgarejo, P., Tomas-Barberan, F.A. and Artes, A., 1999. Evolution of juice anthocyanin's during ripening of new selected pomegranate (*Punica granatum*) clones. European Food Research and Technology, 210: 39-42.

Hugo, W.B. and Bloomfield, S.F., 1971. Studies on the mode of action of the phenolic antibacterial agent Fentichlor against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* II. The effects of Fentichlor on the bacterial membrane and the cytoplasmic constituents of the cell. Journal of Applied Bacteriology, 34: 569–578.

Hosseini, E., Rousta, E., Tabib-Loghmany, F. and Mahmoudpour, M.B., 2014. In vitro antioxidant activity of hydromethanolic extract of Karde (*Biarum carduchrum*) and its effects on the serum lipids of rats. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 9: 1-8.

Karbalaya Doust, S., Noorafshan, A., Dehghani, F., Panjeha shahin, M.R. and Monabati, A., 2010. Effects of hydroalcoholic extract of *Matricaria chamomilla* on serum testosterone and estraadiol levels, spermatozoon quality, and tail length in rat. Iranian Journal of Medical Sciences, 35:122-128.

Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. and Van Beek, T.A., 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal plants and aromatic plants extract. Food Chemistry, 85: 231-237.

Montero, P., Lopez-Caballero, M.E. and Perez-Mateos, M., 2001. The effect of inhibitors and high pressure treatment to prevent melanosis and microbial growth on chilled prawns (*Penaeus japonicus*). Journal of Food Science, 66: 1201–1206.

Negi, P.S. and Jayaprakasha G.K., 2003. Antioxidant and antibacterial activities of *Punica granitum* peel extracts. Journal of Food Science, 68: 1473-1477.

Jeon, Y.J., Kamil, J.Y.V.A. and Shahidi, F., 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of Herring and Atlantic Cod. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50: 5167-78.

Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. and Hosseini, S.M.H., 2010. Effect of chitosan coating enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry, 120: 193-198.

Palá-Pául, J., Pérez-Alonso, M.J., Velasco-Negueruela, A., Varadé, J., Villa, A.M., Sanz, J. and Brophy, J., 2005. Analysis of the essential oil composition from the different parts of *Eryngium glaciale* Boiss from Spain. Journal of Chromatography, A, 1094: 179–182.

Pezeshk, S., Rezaei, M. and Hosseini, H., 2011. Effect of turmeric anshallot extract

Shahidi, F. and Naczk, M., 2004. Phenolics in food and nutraceuticals. Boca Raton, FL: CRC Press. pp. 352-355.

Siripatrawan, U. and Harte, B.R., 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. Food Hydrocolloids, 24: 770-775.

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: 608-615.

Souza, N. and Skonberg, D.I., 2011. Antioxidant properties of aqueous and methanol soy extracts in minced trout muscle. Journal of Food Science and Technology, 44: 1212-1217.

Stern, J.L., Hagerman, A.E., Steinberg, P.D. and Mason, P.K., 1996. Phloro-tannin protein interactions. Journal of Chemical Ecology, 22: 1887-1899.

Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M. and El-Elimat, T., 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chemistry, 104: 1372–1378.

Wannes, W.A., Mhamdi, B., Sriti, J., Jemia, M.B., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., Kchouk, M.E. and Marzouk, B., 2010. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var.*italica* L.) leaf, stem and their combination on the quality characteristics of vacuum packaged rainbow trout stored at 4°C. Journal of Food Science, 76: 387-91.

Roussos, P.A., 2011. Phytochemicals and antioxidant capacity of orange (*Citrus sinensis* (l.) Osbeck cv. Salustiana) juice produced under organic and integrated farming system in Greece. Scientia Horticulturae, 129: 253-258.

Sakanaka, S., Tachibana, Y. and Okada, Y., 2005. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (Kakinoha-cha). Food Chemistry, 89: 569-75.

Sarkarti, A. and Salamat, M., 1997. Effect of Moord on H.B.V and negativity of Positive Antigene. Shiraz: First Symp of Med Ind,1: 134-135.

Sarma, D., Dhar Das, P., Das, P., Bisht, H.C.S., Akhtar, M.S. and Ciji, A., 2015. Fatty acid, amino acid and mineral composition of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) of Indian Himalaya. Indian Journal of Animal Research, 49: 399-404.

Shahbaz, M., Stuiver, C.E.E., Posthumus, F.S., Parmar, S., Hawkesford, M.J. and De Kok, L.G., 2014. Copper toxicity in Chinese cabbage is not influenced by plant sulphur status, but affects sulphur metabolism-related gene expression and the suggested regulatory metabolites. Plant Biology. 16: 68–78.

and flower. Food and Chemical Toxicology, 48: 1362–1370.

Yanishlieva, N.V., Marinova, E.M., Gordon, M.H. and Raneva, V.G., 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. Food Chemistry, 64: 59–66.

Yildiz, M., Sener, E. and Gun, H., 2006. Effect of refrigerated storage on fillet lipid quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss w*.) fed a diet containing different levels of dl α-tocopherol acetate. Turk Journal of Veterinary Animal Science, 30: 143-150.

Zargari, A., 1990. Medicine Plants. 6th ed. Tehran: Tehran University Press; pp.28-39.

Effect of aqueous extract of myrtle leaves (*Myrtus communis*) on quality changes of farmed gutted rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled (4±1°C) storage

Nasiri E.[1]; Hesari J.[1]*; Shekarforoush S.S.[2]; Kooshesh S.[3]

[*] j_hesari@yahoo.com

1-Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran

2-Department of Food Hygiene and Public Health, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

3-Department of Food Science and Technology, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Abstract

Rainbow trout fish is highly susceptible to microbial and hydrolytic spoilage as well as oxidative rancidity. Therefore, it is essential to use preservatives to extend the shelf life of this product. Myrtle Leaf extract has significant antibacterial and antioxidant properties. This research conducted to investigate the effect of aqueous extract of myrtle *(Myrtus communis*) leaves on farmed rainbow trout fish (*Oncorhynchus mykiss*) quality during chilled (4 ±1°C) storage. The amounts of total phenolic compounds through Folin-Ciocalteu method, free radical scavenging by DPPH solution and metal scavenging ability of the extract through spectrophotometric method, were determined. Rainbow trout have been washed and gutted immediately after fishing. Then, with regard to primary tests results, samples were immersed in aqueous extract of myrtle leaves with concentration of 0.5% for 5 minutes. Sampling has been done at days 0, 5, 10 and 15 during chilled (4 ±1°C) storage. Antimicrobial effects of mentioned extract were evaluated by enumeration of psychrophilic bacterial counts through the pour plate method, using PCA. Furthermore, the effects of extract on chemical properties of samples have been investigated through, pH measurement, spectrophotometric evaluation of TBARS and TVB-N content determination using Kjheldal method. Sensory evaluation determined by 10 trained panelists who were asked to evaluate the appearance and color, odor, texture and eye appearance of the samples. Total phenolic compounds, free radical scavenging (IC_{50}) and metal scavenging ability of aqueous extract of myrtle were 49.6±0.33 mg GA/ml, 20±0.03 µg/ml and 0.042 mg/ml, respectively. Dipping the fish in the aqueous extract reduced the psychrophilic bacterial count immediately after the treatment and significantly retarded the microbial deterioration of treated fishes. So that, the psychrophilic bacterial count of control and treated samples on day 10 of storage were, 7.29 and 5.91 log cfu/g respectively. Moreover, lipid oxidation and production of volatile nitrogen compounds reduced in treated samples and sensory characteristics improved compared to control samples. Thus, the myrtle aqueous extract can be used to extend the shelf life of rainbow trout during chilled storage. The use of water as a solvent, the low required concentration of extract and abundance of evergreen myrtle bushes in Iran, provides the possibility of economic use of this extract as a natural preservative and suitable substitute for chemical compounds.

Keywords: *Oncorhynchus mykiss*, Aqueous extract, Myrtle leave, Natural preservative.

---

*Corresponding author