

مقاله علمی - پژوهشی:

بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی پوشش خوراکی پولولان حاوی عصاره علف چشمه (*Nasturtium officinale*) بر فساد شیمیایی فیله ماهی (*Huso huso*) طی دوره نگهداری در یخچال

سید رسول شاه حسینی^۱، رضا صفری^{۲*}، سیدروح... جوادیان^۳

*safari1351@gmail.com

- ۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران
 ۲- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران.
 ۳- گروه شیلات، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۸

چکیده

در این پژوهش تاثیر پوشش خوراکی پولولان حاوی عصاره گیاه علف چشمه بر کیفیت و ماندگاری فیله ماهی نگهداری شده در یخچال طی مدت زمان ۱۶ روز مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا عصاره علف چشمه به دو روش فراصوت و غرقابی استخراج شد. مقادیر ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره تعیین شد. مقادیر ترکیبات فنلی برای عصاره غرقابی برابر با ۵۸۶/۴۳ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک و برای عصاره فراصوت برابر ۸۷۹/۵۷ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک بود. همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراجی به روش فراصوت به طور معنی‌داری بالاتر از عصاره استخراجی به روش غرقابی بود. بنابراین، عصاره استخراجی به روش فراصوت به پوشش خوراکی افزوده شد. ۴ تیمار فیله ماهی شامل شاهد، پوشش پولولان، پوشش پولولان+ عصاره ۵۰۰ ppm، پوشش پولولان+ عصاره ۱۰۰۰ ppm به صورت دوره ای مورد ارزیابی شیمیایی قرار گرفتند که شامل بررسی مقادیر عدد پراکسید (PV)، مقادیر تیوباریوتیک اسید (TBA)، اسید چرب آزاد (FFA)، مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVBN) و pH بود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تیمارهای حاوی عصاره گیاه علف چشمه فساد اکسیداتیو را در فیله ماهی به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان می‌دهد و نتایج مشاهده شده در تیمار حاوی پوشش پولولان+ عصاره ۱۰۰۰ ppm نسبت به سایر تیمارها بهتر است. مقادیر pH و مجموع بازهای نیتروژنی در تیمار مذکور نیز معنی‌دار بود. تیمار شاهد تنها تا ۶ روز از محدوده مجاز شیمیایی برخوردار بود اما تیمار حاوی پوشش پولولان+ عصاره ۱۰۰۰ ppm تا انتهای دوره نگهداری از مقادیر مجاز برخوردار بود. نتیجه‌گیری نهایی نشان می‌دهد که پوشش پولولان به همراه عصاره علف چشمه می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی سبب تاخیر فساد شیمیایی و افزایش عمر ماندگاری فیله ماهی شود.

لغات کلیدی: فیله، ماهی، پوشش خوراکی، پولولان، عصاره علف چشمه

*نویسنده مسئول

مقدمه

ماهی و فرآورده‌های شیلاتی نقش با اهمیتی در تامین امنیت غذایی جهانی و نیازهای تغذیه‌ای انسان در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته ایفاء می‌کنند. فیل ماهی (*Huso huso*) از خانواده تاس ماهیان به دلیل رشد سریع و تولید خاویار با کیفیت، از گونه‌های با ارزش است و در حال حاضر، به عنوان گونه اصلی پرورشی در نظر گرفته می‌شود. بنابراین، مسائل مربوط به فرآوری و نگهداری خاویار استحصال شده و گوشت آن از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد (Ghomi et al., 2012). متعاقب با فساد باکتریایی ماهی در مراحل پس از مرگ، ترکیبات فرار با وزن ملکولی پایین تولید می‌شوند. این ترکیبات به طور معمول سولفید هیدروژن، تری متیل آمین و آمونیاک هستند که به همراه اکسیداسیون سریع چربی‌ها و تولید ترکیبات آلدئیدی و کتون، عامل نامطلوب شدن گوشت، تشدید بوی نامطبوع و بی‌مزه شدن ماهی طی زمان نگهداری می‌باشند (Burt, 2004; Valipour et al., 2017).

به طور کلی، ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی موجود در مواد غذایی می‌توانند عمر ماندگاری آنها را افزایش دهند. استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به جای نگهدارنده‌های شیمیایی نگرانی‌های ناشی از مصرف این گونه مواد را کاهش می‌دهد. اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی و ترکیبات آنها از زمان‌های قدیم به عنوان مواد طعم دهنده مورد استفاده قرار می‌گرفتند و هم اکنون ثابت شده است که این مواد ویژگی ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارند. ترکیب، ساختار و گروه‌های عاملی اسانس و عصاره‌ها نقش مهمی در فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آنها ایفاء می‌کند و معمولاً ترکیباتی که دارای گروه‌های فنولی هستند، دارای تأثیرات بیشتری می‌باشند (Hosseini et al., 2009; Javadian et al., 2017). بنابراین، به کار بردن موادی مناسب با فعالیت ضد باکتریایی و ضد اکسیدانی به منظور بهبود کیفیت و افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی به‌خصوص محصولات شیلاتی، در عین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی، ضروری و مفید می‌باشد (Bagheri et al., 2016) که از جمله این گیاهان، علف چشمه می‌باشد.

علف چشمه (*Nasturtium officinale*)، از جنس "*Nasturtium*" و از خانواده "*Brassicaceae*" می‌باشد. گیاهی علفی و پایا می‌باشد که در کنار چشمه‌ها و آبهای زلال می‌روید. این گیاه دارای مقادیر قابل توجه از ترکیبات فنولی مثل کاروتنوئیدها، بتاکاروتن، لوتئین، زئاگزانتین و فلاونوئید

کوئرستین است (Gill et al., 2007). گیاه علف‌چشمه به طور خودرو در نواحی مختلفی نظیر مازندران، گیلان، آذربایجان، فارس، سیستان و بلوچستان، کهگیلویه و بویر احمد و بوشهر می‌روید. مطالعات نشان داده‌اند که بعضی از ترکیبات فنولی موجود در علف‌چشمه مانند کوئرستین دارای اثر آنتی‌اکسیدان، ضد ویروس (Nair et al., 2002)، ضد باکتری و قارچ می‌باشند (Elangovan et al., 2000).

بسته‌بندی‌های زیست تخریب پذیری که خوراکی و به همراه ماده غذایی قابل مصرف هستند، به دو دسته فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی تقسیم می‌شوند. فیلم‌های خوراکی قبل از کاربرد در بسته‌بندی ماده غذایی به صورت لایه‌ای نازک تولید می‌شوند و مشابه پلیمرهای سنتزی برای بسته‌بندی بکار می‌روند. پوشش‌های خوراکی بر خلاف فیلم‌ها، بر روی ماده غذایی تشکیل می‌شوند. بنابراین، پوشش به عنوان بخشی از محصول است و هنگام استفاده روی محصول باقی می‌ماند. این عمل با استفاده از روش‌هایی نظیر واکس زدن، اسپری کردن و غوطه‌ور کردن صورت می‌گیرد. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی می‌توانند از انواع گسترده‌ای از مواد خام شامل هیدروکلوئیدها (پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها)، چربی‌ها و کامپوزیت‌ها (ترکیبی ساخته شده از دو طبقه قبلی) آماده شوند که در بسیاری از موارد فرآورده‌های جنبی صنایع مختلف هستند (Gomez- Estaca et al., 2010; Valipour et al., 2017) که از جمله این پوشش‌ها می‌توان به پولولان اشاره کرد.

پولولان، پلی‌ساکاریدی با منشأ میکروبی و انحلال پذیر در آب است که از گونه‌های *Aureobasidium pullulans* تولید می‌شود و از واحدهای مالتوتربوز با پیوندهای خطی D-گلوکان تشکیل و از طریق پیوندهای (۶ و ۱) به هم متصل شده‌اند. این پلی‌ساکارید خوراکی است و فیلم‌های شفاف، انعطاف پذیر، بدون رنگ، بدون بو، و غیر قابل نفوذ نسبت به روغن و اکسیژن تولید می‌کند (Leathers, 2003). با توجه به مجموع مطالب مذکور فوق، در تحقیق حاضر تاثیر سطوح مختلف عصاره علف چشمه همراه با پوشش پولولان بر ماندگاری فیل ماهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

مواد اولیه مورد نیاز

گیاه علف چشمه در فروردین ۱۳۹۷ از مناطق ییلاقی دلارستاق شهرستان آمل جمع‌آوری و پس از تایید نام علمی از طرف

بررسی مهار رادیکال آزاد (DPPH)

برای انجام این آزمایش از رادیکال آزاد DPPH استفاده شد. بدین منظور ۱ میلی لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره به طور جداگانه (۲۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰) با ۱ میلی لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH اضافه شد و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در اتاق تاریک قرار گرفت و سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ nm قرائت شد. تمامی این مراحل در مورد TBHQ به عنوان آنتی‌اکسیدان استاندارد نیز انجام شد (Bahramikia and Yazdanparast, 2010).

$$\times 100 = \frac{\text{جذب نمونه - جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} = \text{درصد مهار رادیکال آزاد DPPH}$$

تعیین ترکیبات تشکیل دهنده عصاره

پس از یافتن بهترین روش استخراج، ترکیبات تشکیل دهنده عصاره با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه این طیف‌ها با ترکیبات استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه دستگاه GC/MS صورت گرفت (Adams, 2007). در صد نسبی هر کدام از ترکیبات تشکیل دهنده عصاره با توجه به سطح زیر منحنی آن در کروماتوگرام GC به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ بدست آمد (اندی و همکاران، ۱۳۹۱).

آماده سازی ماهی و تهیه تیمارها

فیل ماهی (*H. huso*) با وزن متوسط ۴ کیلوگرم از کارگاه پرورش ماهیان خاویاری سالی خریداری و در مجاورت زنجیره سرد به پایلوت فرآوری محصولات شیلاتی پژوهشکده اکولوژی خزر انتقال داده شد. پس از سر و دم زنی، خارج کردن امعاء و احشاء و غضروف، پوست کنی انجام شد و بعد از شستشو توسط آب شرب بهداشتی، نسبت به تهیه فیله‌های ۵۰ گرمی اقدام گردید. مجموع این عملیات با رعایت کامل پروتکل بهداشتی به وسیله دست صورت گرفت.

برای تهیه پوشش ۵ گرم از پودر پولولان (هایاشی بار، ژاپن) و ۱/۷۵ گرم گلیسرول (۳۵ درصد وزن خشک پولولان) با استفاده از آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسید و با همزن مغناطیسی حرارت داده شده و مخلوط گردید. همچنین

موسسه فارماکولوژی، به آزمایشگاه پژوهشکده اکولوژی خزر منتقل شد. بعد از جداسازی برگ‌ها و شستشو با آب شرب، گیاه در سایه و به دور از تابش مستقیم نور خورشید خشک و با استفاده از آسیاب پودر گردید و تا زمان مصرف در کیسه زیپ‌دار در یخچال نگهداری شد. تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده از نوع آزمایشگاهی بود و تمامی آنها از شرکت مرک آلمان خریداری شد.

روش‌های استخراج عصاره

استخراج با حلال (روش غرقابی): پودر گیاه علف چشمه به نسبت ۱ به ۵ با حلال اتانول-آب (۵۰ درصد) مخلوط و دور از نور به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و به مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و فاز آبی (فاز رویی) جمع‌آوری شد تا دیگر رسوبی در ته لوله دیده نشود. سپس فازهای آبی جمع‌آوری شده، با کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد و در ادامه با استفاده از اواپراتور چرخان تحت خلاء (حداکثر دمای ۴۰ درجه سانتیگراد)، حلال تبخیر و عصاره حاصل از حلال مذکور، بدست آمد. عصاره حاصل تا زمان انجام آزمایش در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شد (صفرپور و همکاران، ۱۳۹۴).

استخراج به کمک فراصوت: ابتدا نمونه‌ها با نسبت ۱ به ۵ با حلال اتانول-آب (۵۰ درصد) مخلوط شد، سپس در حمام فراصوت به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با فرکانس ۲۷ کیلو هرتز قرار گرفت. سپس محلول با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف و ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده، در ادامه با استفاده دستگاه روتاری (Hei_VAP Value) (حداکثر دما ۴۰ درجه سانتیگراد)، حلال تبخیر و عصاره در حلال مذکور بدست آمد. عصاره‌های حاصل تا زمان انجام آزمایش در دمای ۱۸- نگهداری می‌شود (صفرپور و همکاران، ۱۳۹۴).

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل

مقدار کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره از طریق روش طیف‌سنجی با معرف فولین-سیوکالتیو مورد بررسی قرار گرفت و نتایج بر اساس میلی گرم اسید گالیک بر صدگرم بیان شد (Bahramikia and Yazdanparast, 2010).

¹ 2,2-Diphenyl-1-Picryl Hydrazyl

² Hayashibara

جدول ۱: اثر روش های مختلف استخراج بر میزان ترکیبات

فنلی کل (میلی گرم اسید گالیک بر گرم عصاره)

Table 1. Effect of different extraction methods on the amount of total phenolic compounds (mg gallic acid per gram extract)

نوع عصاره	ترکیبات فنلی
حلال	۵۸۶/۴۳±۱۱/۲۱ ^b
فراصوت	۸۷۹/۵۷±۷/۱۶ ^a

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشند (a, b, c, ...)

فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

نتایج مربوط به فعالیت رادیکال آزاد DPPH در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج، با افزایش غلظت میزان فعالیت رادیکال آزاد DPPH در تمامی تیمارها افزایش یافت. بالاترین مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره استخراجی به روش فراصوت مشاهده شد که در این غلظت مقادیر فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH از آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ نیز به طور معنی‌داری بالاتر بود ($p < 0.05$).

با توجه به نتایج مربوط به فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی بالاتر در عصاره استخراجی به روش فراصوت، از این عصاره برای انجام این تحقیق استفاده شد.

ترکیبات عصاره

نتایج مربوط به ترکیبات عصاره علف چشمه در جدول ۲ ارائه شده است. با توجه به نتایج ۳۳ ترکیب شناسایی شده ۹۹/۱۲ درصد ترکیبات عصاره را تشکیل می‌دهد. بیشترین مقادیر مربوط به Quercetin (۴۱/۳۶ درصد)، Gallic acid (۲۳/۳۳ درصد) و Ferrullic acid (۱۸/۱۸ درصد) می‌باشد.

تغییرات عدد پراکسید طی مدت نگهداری

نتایج مربوط به تغییرات عدد پراکسید در شکل ۲ نشان داده شده است. با توجه به نتایج آنالیز آماری تیمارهای مختلف در روز صفر نگهداری اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($p > 0.05$). با افزایش زمان، مقادیر عدد پراکسید در تمامی تیمارها تا روز شانزدهم افزایش داشت. افزودن پوشش خوراکی و عصاره سبب کند شدن روند افزایشی عدد پراکسید شد و کمترین مقادیر عدد پراکسید در تیمار پوشش پولولان به همراه عصاره ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد ($p < 0.05$).

غلظت‌های مختلف عصاره علف چشمه شامل ppm صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰، به محلول پوشش پولولان که دمای آن به ۲۵ درجه سانتی‌گراد رسیده بود، اضافه گردید و محلول به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شد (هدایتی راد و همکاران، ۱۳۹۲). به منظور ایجاد پوشش با کمی تغییر، فیله‌ها پس از ۲ دقیقه غوطه‌وری در محلول‌های تهیه شده، از محلول‌ها خارج شدند و پس از پایان فرآیند آب چک، جهت خشک شدن پوشش، در فضای آزمایشگاه تحت جریان ملایم هوا روی صفحات مشبک استریل قرار داده شدند و پس از خشک شدن در کیسه‌های زیپ دار پلی‌اتیلنی بسته بندی و در یخچال (۱±۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. فراسنجه شیمیایی در روزهای صفر، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ اندازه‌گیری شدند. این آزمایش‌ها در ۴ تیمار و هر یک با سه تکرار انجام شدند.

ارزیابی‌های شیمیایی

عدد پراکسید: آزمون پراکسید میزان محصولات اولیه اکسیداسیون (هیدروپراکسیدها) را اندازه‌گیری می‌کند. روند تغییرات عدد پراکسید نمونه‌ها مطابق روش AOCS (۲۰۰۵) تعیین شد.

عدد تیوباربی‌توریک اسید: آزمون تیوباربی‌توریک اسید محصولات ثانویه اکسیداسیون (مالون دی‌آلدید) را اندازه‌گیری می‌کند. این آزمون بر اساس روش AOCS (۲۰۰۵) انجام شد.

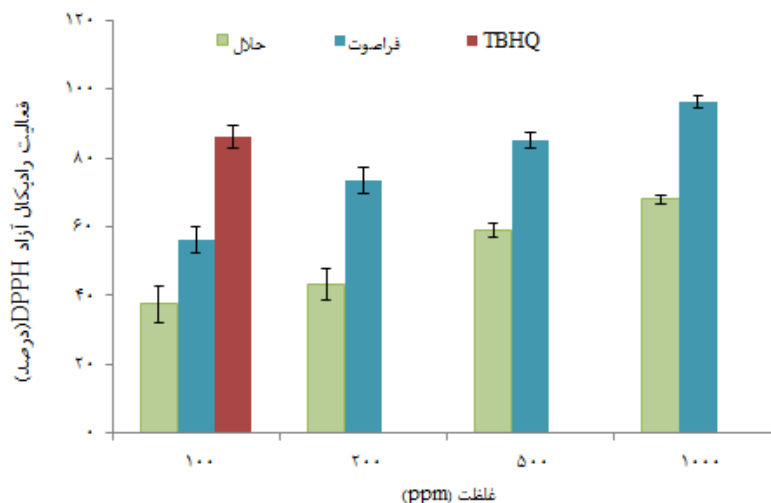
اسید چرب آزاد (FFA): نتایج اسید چرب آزاد با استفاده از روش ارائه شده از AOAC (۲۰۰۵) تعیین شد. نتایج به صورت درصد اسید اولئیک بیان شد.

اندازه‌گیری بازهای نیتروژنی فرار: مقادیر بازهای نیتروژنی فرار مطابق روش Goulas و Kontaminas (۲۰۰۷) با استفاده از سل میکرودیفیوژن کانوی اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب میلی گرم نیتروژن/۱۰۰ گرم نمونه بیان شد.

مقادیر pH: به منظور اندازه‌گیری pH، ۵ گرم نمونه ماهی با ۴۵ سی سی آب مقطر همگن شد، سپس، با pH متر دیجیتال اندازه‌گیری شد (Valipour et al., 2017).

نتایج

نتایج مربوط به ترکیبات فنلی در جدول ۱ ارائه شده است. میزان ترکیبات فنلی در روش استخراج فراصوت به طور معنی‌داری بالاتر از روش حلال بود ($p < 0.05$).



شکل ۱: اثر روش های مختلف استخراج، غلظت عصاره و آنتی اکسیدان سنتزی DPPH بر فعالیت رادیکال آزاد TBHQ

Fig 1. Effect of different extraction methods, extract concentrations and synthetic antioxidant TBHQ on DPPH free radical activity

جدول ۲: ترکیبات شیمیایی عصاره علف چشمه

Table 2: Chemical compounds of *Nasturtium officinale* extract

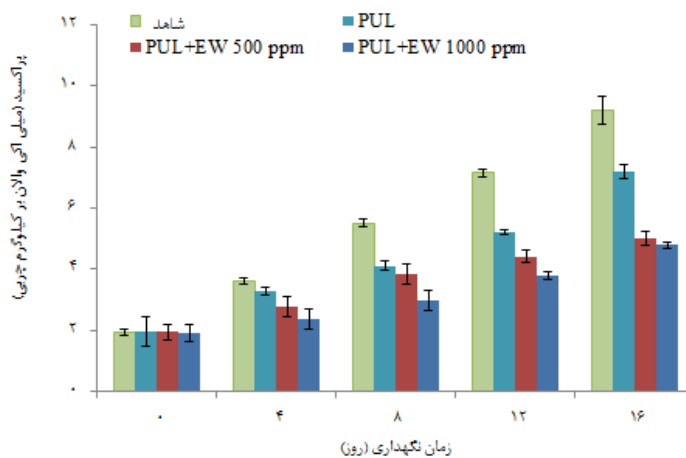
درصد	نام ترکیبات	ردیف
۴۱/۳۶	Quercetin-3-(cafferoyldigluco-7)-glucoside	۱
۲۳/۳۳	Gallic acid	۲
۱۸/۱۸	Ferrulic acid	۳
۶/۱۶	Caffeoylmalic acid	۴
۴/۲۵	p-Coumaric acid	۵
۳/۴۱	Caftaric acid	۶
۲/۴۳	Isorhamnetin	۷
۹۹/۱۲		

تغییرات اسید چرب آزاد طی مدت نگهداری

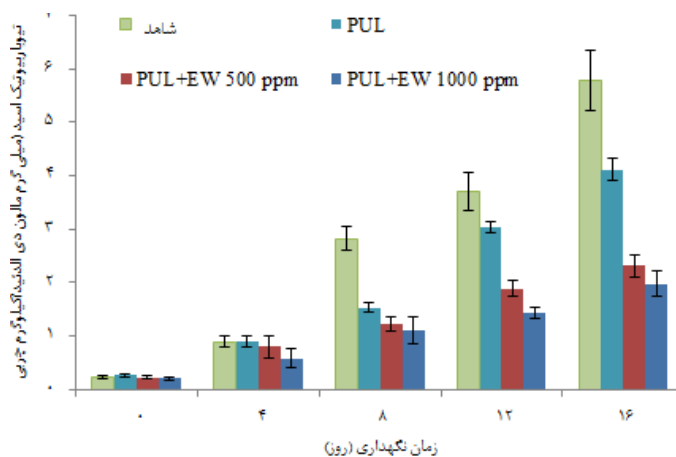
نتایج مربوط به تغییرات اسید چرب آزاد در شکل ۴ نشان داده شده است. با توجه به نتایج آنالیز آماری تیمارهای مختلف در روز صفر نگهداری اختلاف معنی داری با هم نداشتند ($p > 0.05$). با افزایش زمان مقادیر اسید چرب آزاد در تمامی تیمارها افزایش یافت. این افزایش در تیمار شاهد بیشتر بود به طوری که بیشترین مقادیر اسید چرب آزاد در تیمار شاهد مشاهده شد و افزودن عصاره به پوشش سبب هم افزایی خاصیت آنتی اکسیدانی شد به طوری که کمترین مقادیر اسید چرب آزاد در تیمار پوشش پولولان به همراه عصاره ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد ($p < 0.05$).

تغییرات تیوباربیتوریک اسید طی مدت نگهداری

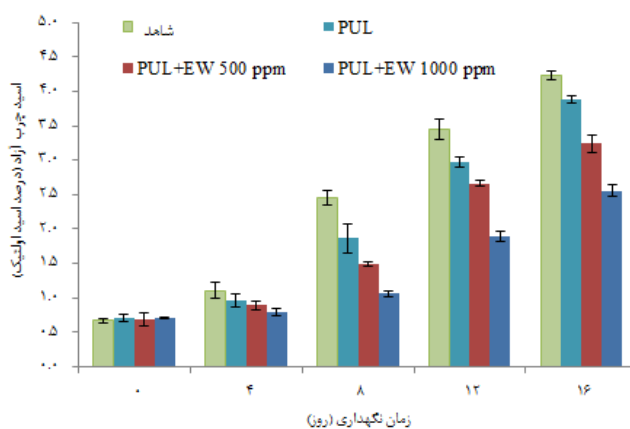
نتایج مربوط به تغییرات تیوباربیتوریک اسید در شکل ۳ نشان داده شده است. با توجه به نتایج آنالیز آماری تیمارهای مختلف در روز صفر نگهداری اختلاف معنی داری با هم نداشتند ($p > 0.05$). با افزایش زمان مقادیر تیوباربیتوریک اسید در تمامی تیمارها افزایش یافت که بیشترین مقادیر تیوباربیتوریک اسید در تیمار شاهد و کمترین مقادیر عدد تیوباربیتوریک اسید در تیمار پوشش پولولان به همراه عصاره ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد ($p < 0.05$).



شکل ۲: مقادیر عدد پراکسید در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری
 Figure 2: Peroxide number values in different treatments during storage



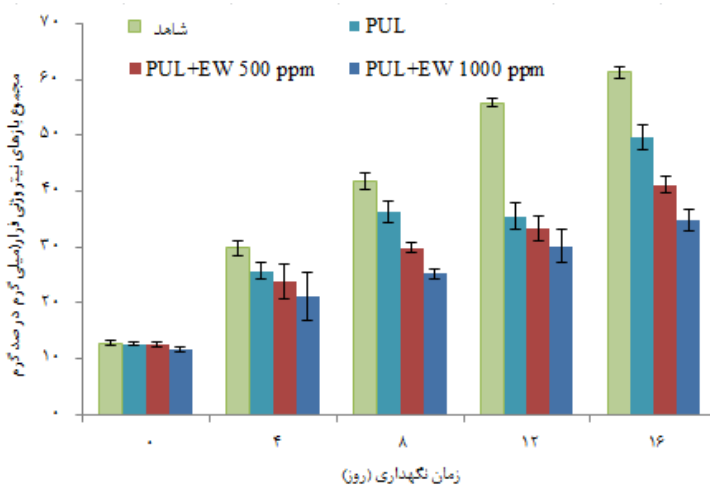
شکل ۳: مقادیر عدد تیوباربیتوریک اسید در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری
 Figure 3: Values of thiobarbituric acid in different treatments during storage



شکل ۴: مقادیر اسید چرب آزاد در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری
 Figure 4: Free fatty acid levels in different treatments during storage

و افزون عصاره نیز تاثیر مثبتی داشت و کمترین مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمار پوشش پولولان به همراه عصاره ppm ۱۰۰۰ مشاهده شد.

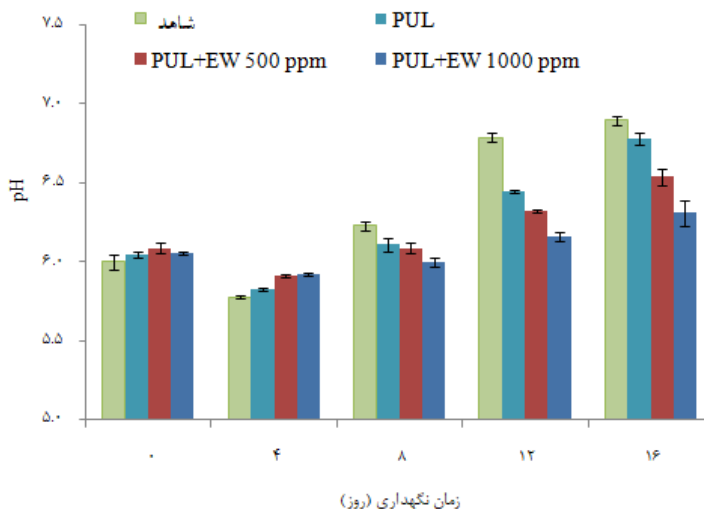
تغییرات مقادیر بازهای نیتروژنی فرار طی مدت نگهداری
با توجه به نتایج (شکل ۵) با افزایش زمان، مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تمامی تیمارها افزایش یافت، افزودن پوشش خوراکی سبب کند شدن روند افزایش بازهای نیتروژنی فرار شد



شکل ۵: مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمارهای مختلف طی مدت نگهداری
Figure 5: Values of volatile bases nitrogen in different treatments during storage

با توجه به نتایج آنالیز آماری در تمامی روزها بیشترین مقادیر pH در تیمار شاهد مشاهده شد و کمترین مقادیر pH در تیمار پوشش پولولان به همراه عصاره ppm ۱۰۰۰ مشاهده شد.

تغییرات pH طی مدت نگهداری
با توجه به نتایج با افزایش زمان مقادیر pH (شکل ۶) در تمامی تیمارها در ابتدای دوره نگهداری کاهش و سپس افزایش یافت.



شکل ۶: مقادیر pH در تیمارهای مختلف طی مدت نگهداری
Figure 6: pH values in different treatments during storage

بحث**ترکیبات فنلی کل**

گیاهان حاوی ترکیبات متعددی هستند که ساختارهای متفاوتی دارند. استخراج این ترکیبات به عوامل متعددی بستگی دارد که مهم‌ترین آنها حلال و روش استخراج می‌باشند. انتخاب حلال و روش استخراج به نوع مختلف گیاه و نیز به مواد متشکله آن بستگی دارد (ذوالفقاری و یكدانه، ۱۳۹۱). نتایج این تحقیق نشان داد، میزان ترکیبات فنلی در روش استخراج فراصوت به طور معنی‌داری بالاتر از روش حلال بود. امواج فراصوت با فرکانس بالاتر از ۲۰ کیلو هرتز، به داخل ماده نفوذ می‌کنند و موجب ایجاد کشیدگی و جمع‌شدن‌های پی در پی شده که در نتیجه آن حفراتی داخل ماده گیاهی ایجاد می‌شوند. این حفرات به صورت نامتقارن به هم می‌پیوندند و موجب انتقال سریع مواد از داخل سلول‌ها به خارج از آن می‌شوند. به علاوه این، امواج می‌توانند موجب تخریب دیواره سلول‌های زیستی شوند و خروج مواد را تسهیل کنند (Ferrerres *et al.*, 2007). Maleki و همکاران (۲۰۱۶) در پژوهشی به بررسی روش‌های مختلف استخراج ترکیبات فنلی عصاره کرفس شامل (فراصوت، دی اکسید کربن فوق بحرانی و حلال) پرداختند. آنها اعلام نمودند که روش استخراج فراصوت بهتر از سایر روش‌هاست که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.

فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

مهار رادیکال آزاد DPPH یکی از شناخته‌شده‌ترین مکانسیم‌هایی است که به واسطه آن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند اکسیداسیون چربی را مهار نمایند (Ferrerres *et al.*, 2007). با توجه به نتایج، با افزایش غلظت میزان فعالیت رادیکال آزاد DPPH در تمامی تیمارها افزایش یافت. بالاترین مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت ۱۰۰۰ ppm عصاره استخراجی به روش فراصوت مشاهده شد که در این غلظت مقادیر فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH از آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ نیز بالاتر بود. مطالعات نشان می‌دهد که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی از عصاره‌ها از جمله عصاره‌های قطبی می‌باشد. زیرا بر اساس شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد. از سوی دیگر، به نظر می‌رسد که ترکیبات فنلی موجود در بافت گیاهی که دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشند، به سهولت و با

استفاده از روش‌های استخراج، قابل استخراج و خالص‌سازی هستند (Chatchawan *et al.*, 2008; Senji and Yuuya, 2008). با افزایش غلظت ترکیبات فنلی، فعالیت مهار رادیکالی اسانس نیز افزایش می‌یابد. سایر محققین نیز اعلام نمودند با افزایش غلظت ترکیبات فنلی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش می‌یابد. همچنین آنها اعلام نمودند عصاره‌هایی که مقادیر ترکیبات فنلی بالاتری دارند، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نیز دارند (Esmaeilzadeh Kenari *et al.*, 2014; Maleki *et al.*, 2016).

ترکیبات عصاره

با توجه به نتایج ۳۳ ترکیب شناسایی شده ۹۹/۱۲ درصد ترکیبات عصاره را تشکیل می‌دهد. بیشترین مقادیر مربوط به Quercetin (۴۱/۳۶ درصد)، Gallic acid (۲۳/۳۳ درصد) و Ferrullic acid (۱۸/۱۸ درصد) می‌باشد. Santos و همکاران (۲۰۱۴) و Zeb (۲۰۱۵) نیز اعلام نمودند که بالاترین مقادیر ترکیبات فنلی شناخته شده در عصاره علف چشمه را Quercetin و Gallic acid می‌باشند. در مجموع، در مطالعه آنها مقدار و نوع ترکیبات عصاره تفاوت‌هایی با مطالعه حاضر وجود داشت، به طور کلی، ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره‌های گیاهی بر حسب منطقه جغرافیایی رویش، رقم گیاه، سن گیاه در هنگام تهیه عصاره، شرایط محیطی و فصلی، نوع کشت، زمان برداشت، روش خشک کردن و استخراج عصاره، از اندام‌های مختلف و در نهایت تفاوت ژنتیکی گیاه می‌تواند تغییر کند (Burt, 2004).

تغییرات عدد پراکسید طی مدت نگهداری

پراکسید از شاخص‌های ارزیابی میزان اکسیداسیون چربی است که به طور گسترده در ارزیابی میزان اکسیده شدن چربی استفاده می‌گردد و بیانگر محصول اولیه اکسیداسیون چربی می‌باشد (Bagheri *et al.*, 2016). با توجه به نتایج، مقادیر عدد پراکسید در تمامی تیمارها با افزایش زمان افزایش یافت. افزایش اکسیداسیون در طول زمان ناشی از آزادسازی بیشتر آهن آزاد و پرواکسیدان‌های دیگر در اثر تجزیه بیشتر در طول ذخیره‌سازی از ماهیچه می‌باشد (Chaijan *et al.*, 2006). افزودن پوشش پولولان سبب کند شدن روند افزایشی عدد پراکسید شد. به طور کلی، پوشش‌های زیست تخریب پذیر نفوذپذیری بسیار کمی نسبت به اکسیژن و دی اکسید کربن

اسید در ماهی ۱-۲ میلی‌گرم مالون دی آلدئید/کیلوگرم چربی گزارش شده است که برای مصرف انسان قابل قبول می‌باشد (Lakshman, 2000). مقادیر عدد تیوباربیتوریک اسید در انتهای دوره تنها در تیمار پوشش پولولان به همراه عصاره ۱۰۰۰ کمتر از حد قابل قبول پیشنهادی بود.

تغییرات اسید چرب آزاد طی مدت نگهداری

اسیدهای چرب آزاد در نتیجه فساد آنزیمی و یا میکروبی چربی ایجاد می‌شوند. تشکیل اسیدهای چرب آزاد به تنهایی منجر به کاهش ارزش تغذیه‌ای محصول نمی‌شود. اما از آنجایی که اسیدهای چرب آزاد در مقایسه با تری‌گلیسریدها و فسفولیپیدها اندازه مولکولی کوچکتری دارند، سرعت اکسیداسیون آنها بیشتر است (Losada *et al.*, 2007). با افزایش زمان مقادیر اسید چرب آزاد در تمامی تیمارها افزایش یافت این افزایش در تیمار شاهد بیشتر بود به طوری که بیشترین مقادیر اسید چرب آزاد در تیمار شاهد مشاهده شد و افزودن عصاره به پوشش سبب هم‌افزایی خاصیت آنتی‌اکسیدانی شد به طوری که کمترین مقادیر اسید چرب آزاد در تیمار پوشش پولولان به همراه عصاره ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد. کم بودن میزان اسیدهای چرب آزاد در تیمار پوششی نسبت به شاهد را می‌توان به دلیل ممانعت پوشش از نفوذ اکسیژن دانست. همچنین ترکیبات فنلی موجود در عصاره علاوه بر مهار مستقیم رادیکال‌های آزاد می‌توانند از تجمع سوپراکسید و رادیکال آزاد هیدروکسی از طریق ممانعت از فعالیت آنزیم اکسیداز گراتتین^۱ جلوگیری کنند. این آنزیم طی فرآیند تولید اسیداوریک، بازهای آلی پورین را به سوپراکسید و رادیکال‌های آزاد هیدروکسی تغییر می‌دهد (Mohan *et al.*, 2008).

تغییرات مقادیر بازهای نیتروژنی فرار طی مدت نگهداری

مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) به طور عمده متشکل از تری‌متیل آمین، دی‌متیل آمین، آمونیاک و سایر ترکیبات نیتروژنی فرار مرتبط با فساد غذاهای دریایی می‌باشند که به ترتیب به وسیله باکتری‌های مولد فساد، آنزیم‌های اتولیتیک، دامیناسیون اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها تولید شده و یکی از نشانگرهای اصلی تخریب و تجزیه گوشت محسوب می‌شوند (Fan *et al.*, 2009). با افزایش زمان، مقادیر بازهای نیتروژنی

دارند. بنابراین، پوشش تشکیل شده روی سطح فیله‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای نرخ تماس محصول را با اکسیژن کاهش می‌دهد که از سرعت اکسیداسیون اولیه چربی‌ها و متعاقب آن تشکیل هیدروپرواکسیدها کاسته می‌شود (Mohan *et al.*, 2008). همچنین افزودن عصاره گیاه علف چشمه نیز تاثیر مثبتی بر کند شدن روند افزایشی عدد پراکسید داشت. عصاره‌های گیاهی دارای توانایی شکستن رادیکال‌های آزاد به وسیله دادن یک اتم هیدروژن می‌باشند و به علت دارا بودن ترکیبات فنولی، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که فساد اکسیداتیو در فیله‌ها را به تاخیر می‌اندازند (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۲؛ اروعی و همکاران، ۱۳۹۹).

میزان مجاز پراکسید در ماهی برای مصرف انسانی ۵ می‌باشد (Yanar, 2007). مقادیر عدد پراکسید در تیمارهای پوششی حاوی عصاره تا انتهای دوره از محدوده مجازی برخوردار بودند.

تغییرات تیوباربیتوریک اسید طی مدت نگهداری

به منظور ارزیابی درجه اکسیداسیون چربی در مواد غذایی به طور وسیعی از شاخص TBA استفاده می‌شود که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به‌ویژه آلدئیدها و کتون‌ها را نشان می‌دهد. ترکیبات اکسیداسیون ثانویه موجب ایجاد بوهای ناخوشایند در گوشت می‌شوند. میزان TBA ممکن است میزان واقعی اکسیداسیون چربی را نشان ندهد. زیرا مالون دی آلدئید می‌تواند با سایر ترکیبات گوشت مانند آمین‌ها، نوکلئوزیدها و اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه فسفولیپیدها واکنش دهد (Mexisa *et al.*, 2009). افزایش میزان TBA تیمارها در طول دوره را می‌توان به دلیل اکسیداسیون چربی و تولید ترکیبات فرار در حضور اکسیژن دانست (Chidanandaiah *et al.*, 2009). کمترین مقادیر عدد تیوباربیتوریک اسید در تیمار پوشش پولولان+ عصاره ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد. کمتر بودن آن در این تیمار را می‌توان به دلیل ممانعت پوشش از نفوذ اکسیژن، نقش آنتی‌اکسیدانی عصاره و نیز اثر هم‌افزایی آنها را با هم دانست. دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره علف چشمه از طرف سایر محققین نیز بیان شده است (Santos *et al.*, 2014; Zeb, 2015). نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه Ariaii و همکاران (۲۰۱۵) در ارتباط با افزودن پوشش کربوکسی متیل سلولز به همراه اسانس اناریجه بر میزان عدد تیوباربیتوریک ماهی فیتوفاگ هم‌خوانی دارد. حداکثر محدوده مجاز تیوباربیتوریک

^۱Xanthin oxidase

محیط باشد. اما افزایش pH پس از مدت زمان ماندگاری، به دلیل الگوی طبیعی فساد محصولات گوشتی که در ارتباط با فعالیت میکروارگانیسم‌های عامل فساد می‌باشد (Kim et al., 2014). pH با توجه به نتایج آنالیز آماری در تمامی روزها بیشترین مقادیر pH در تیمار شاهد و کمترین مقادیر pH در تیمار پوشش پولولان+ عصاره ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد. پایین‌تر بودن pH فیله‌های حاوی عصاره، می‌تواند بازدارندگی میکروبی را افزایش دهد که این امر به وسیله ترکیبات فنولی موجود در عصاره، حفاظت فیله‌ها را در مقابل پروتئازهای داخلی بالا می‌برد و در نتیجه، باعث بازدارندگی از شکسته شدن پروتئین‌ها و تولید آمین‌ها خواهد شد. پوشش‌های هیدروکلوئیدی همانند یک فیلم نیمه تراوا مانع از نفوذ اکسیژن به درون بافت می‌گردند و سبب افزایش CO₂ درون بافت می‌شوند که سبب تجمع CO₂ و حلالیت CO₂ در بافت و در نتیجه تشکیل اسید کربنیک می‌شوند و با بوجود آمدن محیط اسیدی pH کاهش می‌یابد (Jiang et al., 2013).

در مجموع با توجه به نتایج، عصاره علف چشمه دارای ترکیبات فنلی نظیر کوئسترتین و گالیک اسید و دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. استخراج عصاره با کمک روش فراصوت سبب افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره شد. همچنین نتایج مربوط به تاثیر پوشش پولولان به همراه عصاره علف چشمه بر فساد اکسیداسیونی فیل ماهی نشان داد که تیمارهای حاوی نگهدارنده سبب کند شدن روند فساد اکسیداسیونی نسبت به تیمار شاهد می‌شود و در تمامی موارد بهترین تیمار، تیمار حاوی پوشش به همراه عصاره با غلظت ۱۰۰۰ ppm بوده است به طوری که تیمار شاهد تنها تا ۶ روز از محدوده مجاز برای مصرف برخوردار بود در حالی که تیمار حاوی پوشش به همراه عصاره با غلظت ۱۰۰۰ ppm تا انتهای دوره نگهداری از محدوده مجاز برخوردار بود و در واقع، این تیمار عمر نگهداری فیله فیل ماهی را تا ۱۶ روز افزایش داد.

منابع

اندی، ع.، ناظری، و.، هادیان، ج. و زمانی، ذ.، ۱۳۹۱. مقایسه ترکیبات شیمیایی اسانس مرزنجوش در مراحل گلدهی و بذر دهی. مجله علوم و باغبانی، (۲): ۱۵۳-۱۵۹.

اورعی، ف.، حسینی، س.ا.، ذریه زهرا، س.م.ج. و صفری، ر.، ۱۳۹۹. تعیین حداقل غلظت بازدارندگی عصاره اتانولی پوست پرتقال و تاثیر آن بر فلور باکتری‌های مولد

فرار در تمامی تیمارها افزایش یافت و کمترین مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمار پوشش پولولان+ عصاره ۱۰۰۰ ppm مشاهده شد. کمتر بودن میزان بازهای ازته فرار در این تیمار نسبت به سایر تیمارها را می‌توان به کاهش جمعیت باکتری تیمارهای مذکور یا کاهش توانایی اکسایشی باکتری‌ها در جداکردن آمین‌ها از ترکیبات نیتروژنی غیرفرار یا هر دو عامل در نتیجه اثر عصاره علف چشمه بر باکتری‌های موجود در فیله نسبت داد (Burt, 2004). همچنین حضور یک لایه محافظ (پوشش پولولان) مانند سد عمل می‌کند و نسبت به تیمار شاهد دیرتر دچار فساد می‌شود. نتایج به دست آمده با نتایج Jalali و همکاران (۲۰۱۶) که به بررسی تاثیر پوشش مرکب آلزینات-کربوکسی متیل سلولز غنی شده با اسانس میخک (غلظت ۱ و ۱/۵ درصد) بر ماندگاری فیتوفاگ طی نگهداری و Ariaii و همکاران (۲۰۱۵) که به بررسی تاثیر پوشش کربوسی متیل سلولز به همراه اسانس اناریجه در تغییرات مقادیر TVB-N در فیله‌های فیتوفاگ و لطیفی و همکاران (۱۳۹۸) مقایسه تغییرات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی فیله‌های فیل ماهی (*Huso huso*) دودی طعم‌دهی شده با آب نمک و سس به مدت ۳۰ روز در یخچال هم‌خوانی دارد. آنها اعلام نمودند که با افزایش زمان، مقادیر TVB-N در تمامی تیمارها افزایش یافت و این افزایش در تیمار شاهد بیشتر و در تیمار حاوی کربوسی متیل سلولز به همراه اسانس اناریجه کمتر از مابقی تیمارها بود. به طور کلی، میزان مجموع بازهای ازته فرار ماهی تازه صید شده می‌تواند ۲۰-۵ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم گوشت باشد، اما مقدار ۳۵-۳۰ میلی‌رم در ۱۰۰ گرم گوشت حد قابل قبول برای مصرف انسان است. طبق این آمار، در انتهای دوره تنها در تیمار پوشش پولولان+ عصاره ۱۰۰۰ ppm کمتر از حد قابل قبول پیشنهادی بود.

تغییرات pH طی مدت نگهداری

pH یک شاخص مهم و موثر در کیفیت گوشت می‌باشد. نوع گونه، تغذیه، دما و ظرفیت تامپونی گوشت در تغییرات pH موثر می‌باشد (Pacheco-Aguilar et al., 2008). پس از مرگ، pH تاثیر گذارترین عامل بر بافت گوشت و میزان از هم گسیختگی بافت پیوندی است. با توجه به نتایج، با افزایش زمان مقادیر pH در تمامی تیمارها در ابتدای دوره نگهداری کاهش و سپس افزایش یافت. کاهش ابتدایی در میزان pH ممکن است به علت فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک و اسیدی کردن

- Pimpinella affinis* Oil on the Quality of Silver Carp Fillet during Refrigerator Storage Condition. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6): 647-1655. DOI:org/10.1111/jfpp.12394.
- Bagheri, R., Izadi Amoli, R., Tabari Shahndash, N. and Shahosseini, S.R., 2016.** Comparing the effect of encapsulated and unencapsulated fennel extracts on 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:org/10.1002/fsn3.275.
- Bahramikia, S. and Yazdanparast, R., 2010.** Antioxidant efficacy of *Nasturtium officinale* extracts using various in vitro assay systems. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 3(4): 283-290. DOI:org/10.1016/S2005-2901(10)60049-0.
- Burt, S., 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. *International Food Microbiology*, 94 (3): 223-253. DOI:org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.
- Chaijan, M., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Faustman, C., 2006.** Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage. *Journal of Food Chemistry*, 99: 83-91. DOI:org/10.1016/j.foodchem.2005.07.022.
- Chatchawan, C., Soottawat, B., Jakul, H. and Nattiga, S., 2008.** Antioxidant components and properties of five long-grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailand. *Journal of Food Chemistry*, 111(3): 636-641. DOI:org/10.1016/j.foodchem.2008.04.031.
- فساد در فیله فیل ماهی (*Huso huso*) در زمان نگهداری در یخچال. مجله علمی شیلات ایران، ۲۹ (۳): ۲۵-۳۶. (DOI):10.22092/ISFJ.2020.121508
- ذوالفقاری، ب. و یکدانه، ا.، ۱۳۸۹. پیشرفت‌های اخیر در زمینه روش‌های استخراج ترکیب‌های گیاهی. فصل نامه داروهای گیاهی، ۱: ۵۱-۵۵.
- صفرپور، م.، یوسفی نژاد، م.، اوحدی فر، م. و بخردیان، ع.، ۱۳۹۴. بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی آویشن دناپی، خارمریم و علف چشمه، سومین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، همدان. <https://civilica.com/doc/416329>
- لطیفی، ب.، ابوالقاسمی، س.ج.، شوپک لو، ا.ر.، احمدی، م.، اعتمادیان، ی. و قائمی، و.، ۱۳۹۸. مقایسه تغییرات فیزیوشیمیایی، میکروبی و حسی فیله‌های فیل ماهی (*Huso huso*) دودی طعم‌دهی شده با آب نمک و سس به مدت ۳۰ روز در یخچال. مجله علمی شیلات ایران، ۲۸ (۴): ۱۱-۱۱. (DOI):10.22092/ISFJ.2019.119397.
- مقصودلو، ی.، اصغرپور، ا. و آریایی، پ.، ۱۳۹۲. اثر افزودن اسانس مرزه خوزستانی (*Satureja khusestanica*) بر خصوصیات باکتریایی، شیمیایی و حسی سوسیس فرانکفورتر. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۲(۳): ۲۷۹-۲۹۴. (DOI): 10.22101/JRIFST.2013.12.01.237
- هدایتی راد، ف.، شریفیان، ا.، خدائیان، ف. و حسینی، ا.، ۱۳۹۲. بررسی خاصیت ضد میکروبی فیلم تهیه شده از پولولان حاوی اسانس درمنه. مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا، ۳(۲): ۱۳۰-۱۳۵.
- Adams, R.P., 2007.** Identification of Essential oils Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy, 4th ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, USA, 804 P.
- AOAC, 2005.** Official Method of Analysis (17th ed). Washington, DC: Association of Official Analytical chemists.
- Ariaii, P., Tavakolipour, H., Rezaei Elhamirad, M., and Bahram, S., 2015.** Effect of Methylcellulose Coating Enriched with

- Chidanandaiah, S.M.K., Keshri, R.C. and Sanyal, M.K., 2009.** Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated storage. *Journal Muscle Foods*, 20: 275-292. DOI:10.1111/j.1745-4573.2009.00147.
- Elangovan, A.V., Verma, S.V.S., Sastry, V.R.B. and Singh, S., 2000.** Effect of feeding neem (*Azadirachta indica*) kernel meal on growth, nutrient utilization and physiology of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 13: 125-128. DOI:org/10.5713/ajas.2000.1272.
- Esmailzadeh Kenari, R., Mohsenzadeh, F. and Amiri, Z., 2014.** Antioxidant activity and total phenolic compounds of Dezful sesame cake extracts obtained by classical and ultrasound-assisted extraction methods. *Journal of Food Science and Nutrition*, 2: 426- 435. DOI: 10.1002/fsn3.118.
- 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. DOI:org/10.1016/j.foodchem.2008.11.060.
- Ferreres, F., Sousa, C., Valente, P., Seabra, R.M., Pereira, J.A. and Andrade, P.B., 2007.** Tronchuda cabbage (*Brassica oleracea* L. var. costata DC) seeds: phytochemical characterization and antioxidant potential. *Journal of Food Chemistry*, 101: 549-558. DOI:org/10.1016/j.foodchem.2006.02.013.
- Ghomi, M.R., Nikoo, M. and Pourshamsian, K., 2012.** Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio in cultured beluga sturgeon. *Comparative Clinical Pathology*, 21: 479-483. dx.DOI:org/10.1007/s00580-012-1495-5.
- Gill, C., Haldar, S., Boyd, L.A., Bennett, R., Whiteford, J., Butler, M., Pearson, J.R., Bradbury, I. and Rowland, A., 2007.** Watercress supplementation in diet reduces lymphocyte DNA damage and alters blood antioxidant status in healthy adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85: 504-510. DOI: 10.1093/ajcn/85.2.504.
- Gomez-Estaca, J., Lopez-de-Lacy, A., Lopez caballero, M.E., Gamez-Guillen, M.C. and Montero, P., 2010.** Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Journal of Food Microbiology*, 27: 889-896. DOI:org/10.1016/j.fm.2010.05.012.
- Goulas, A.E. and Kontominas, M.G., 2007.** Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Journal of Food chemistry*, 100: 287-296. DOI:org/10.1016/j.foodchem.2005.09.045.
- Hosseini, M.H., Razavi, S.H. and Mousavi, M.A., 2009.** Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33(6):727-743. DOI:org/10.1111/j.1745-4549.2008.00307.
- Jalali, M., Ariiari, P. and Fattahi, E., 2016.** Effect of alginate/carboxyl methyl cellulose composite coating incorporated with clove essential oil on the quality of silver carp fillet and *Escherichia coli* O157:H7 inhibition during refrigerated storage. *Journal of Food Science and Technology*, 53(7): 757-765. doi: 10.1007/s13197-015-2060-4.

- Javadian, S.R., Shahosseini, S.R. and Ariaii, P., 2017.** The effects of liposomal encapsulated thyme extract on the quality of fish mince and *Escherichia coli* O157: H7 inhibition during refrigerated storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(1), 115–123. DOI:org/10.1080/10498850.2015.1101629.
- Jiang, T., 2013.** Effect of alginate coating on physicochemical and sensory qualities of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) under a high oxygen modified atmosphere. *Postharvest Biology and Technology*, 76: 91–97. DOI:org/10.1016/j.postharvbio.2012.09.005.
- Kim, Y., Kim, S. and Chung, H., 2014.** Synergistic Effect of Propolis and Heat Treatment Leading to Increased Injury to *Escherichia coli* O157:H7 in Ground Pork. *Journal of Food Safety*, 31(1): 1-18. DOI:org/10.1111/jfs.12088.
- Lakshman, P.T., 2000.** Fish spoilage and quality assessment. *Proceedings on the Symposium on Quality Assurance in Seafood*. 26-40.
- Leathers, T., 2003.** Biotechnological production and applications of pullulan. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 62(5):468-73. DOI: 10.1007/s00253-003-1386-4
- Losada, Barros-velazgues J.P. and Aubourgs, 2007.** Rancidity development in frozen pelagic fish: influence of slurry ice as preliminary chilling treatment. *Journal of Food Science and Technology*, 40: 991-9. DOI:org/10.1016/j.lwt.2006.05.011.
- Maleki, M., Ariaii, P. and Fallah, H., 2016.** Effects of celery extracts on the oxidative stability of canola oil under thermal condition. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(3): 531-540. DOI:org/10.1111/jfpp.12632.
- Mexisa, S.F., Chouliara, E. and Kontominas, M.G., 2009.** Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf – life extension of rainbow trout fillets stored at 4°C. *Journal of Food Microbiology*, 26: 598-605. DOI: 10.1016/j.fm.2009.04.002.
- Mohan, C.O., Ravishankar, C.N. and Srinivasagopal, K., 2008.** Effect of O2 scavenger on the shelf-life of catfish (*Pangasius sutchi*) steaks during chilled storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 442–448. DOI:org/10.1002/jsfa.3105.
- Nair, M., Kandaswami, C., Mahjan, S., Chadha, K.C., Chawda, R., Nair, H., Kumar, N., Nair, R.E. and Schwartz, S.A., 2002.** The flavonoid, quercetin, differentially regulates Th-1 (IFN γ) and Th-2 (IL4) cytokine gene expression by normal peripheral blood mononuclear cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1593: 29- 36. DOI: 10.1016/s0167-4889(02)00328-2.
- Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sanchez, M. E. and Robles-Burgueno, M. R., 2008.** Post-mortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0 °C. *Journal of Food Sciences*, 65(1): 40–47. DOI:org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb15953.
- Santos, J., Oliveira, M.B., Ibanez, E. and Herrero, M., 2014.** Phenolic profile evolution of different ready to-eat baby-leaf vegetables during storage. *Journal of Chromatography A*, 1327:118–131. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.12.085.
- Senji, S. and Yuuya, I., 2008.** Comparison of antioxidant properties of persimmon vinegar and some other commercial vinegar in radical-scavenging assays and on lipid oxidation in tuna homogenates. *Journal of Food Chemistry*,

- 107(2): 739-744.
DOI:org/10.1016/j.foodchem.2007.08.080.
- Valipour Kootenaie, F., Ariaai, P., Khademi Shurmasti, D. and Nemati, M., 2017.** Effect of chitosan edible coating enriched with eucalyptus essential oil and α -tocopherol on silver carp fillets quality during refrigerated storage. *Journal of Food Safety*, 37(1). e12295. DOI:org/10.1111/jfs.12295.
- Yanar, Y., 2007.** Quality Changes of Hot Smoked Catfish (*Clarias Gariepinus*) During Refrigerated storage. *Journal of Muscle Foods*, 18, 391-400. DOI:org/10.1111/j.1745-4573.2007.00094.
- Zeb, A., 2015.** Phenolic profile and antioxidant potential of wild watercress (*Nasturtium officinale* L.). *Springer Plus*, 4:714. doi: 10.1186/s40064-015-1514-5.

Evaluation antioxidant effects of Pullulan edible coating with watercress extract (*Nasturtium officinale*) on the chemical corruption of fresh beluga sturgeon fillet during storage in a refrigerator

Shahosseini S.R.¹; Safari R.^{2*}, Javadian S.R.³

*safari1351@gmail.com

1- Department of Food Science and Technology, Nour Branch, Islamic Azad University, Nour, Iran

2-Caspian Sea Ecology Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Sari, Iran

3- Department of Fisheries, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

Abstract

In the present study, the effect of Pullulan coating with watercress extract on the quality and shelf life of fresh beluga sturgeon fillet stored in a refrigerator over a period of 16 days was investigated. First, the watercress extract was extracted by ultrasound and soxhlet (solvent) method and the amount of phenolic compounds and antioxidant activity of the extract (DPPH free radical activity test) were determined. The values of phenolic compounds for soxhlet extract were equal to 586.53 mg gallic acid per gram of dry weight and for ultrasonic extract was 879.57 mg/g dry weight and the antioxidant properties of watercress extracted by ultrasound were significantly higher than soxhlet method ($p < 0.05$), so ultrasound extracts were added to the pullulan coating. Then, 4 treatments were included: control, pullulan coating, pullulan coating + watercress extract 500 ppm, pullulan coating + watercress extract 1000 ppm were analyzed by biochemical parameters such as peroxide value (PV), thiobarbitic acid (TBA), free fatty acid (FFA), total volatile base nitrogen (TVB-N) and pH. The results showed, natural preservation delayed chemical spoilage in compared with control treatment ($p < 0.05$). According to the results pullulan coating + watercress extract 1000 ppm significantly retarded lipid oxidation by decreasing peroxide value and thiobarbituric acid production in the samples and it had the lowest total volatile basic nitrogen and pH ($p < 0.05$). The control treatment had only the allowed chemical range for up to 6 days, but the treatment containing pullulan coating + 1000 ppm extract had the allowed values until the end of the storage period. The final conclusion showed that the coating of pullulan with watercress extract could act as a natural antioxidant, delaying chemical degradation and prolonging the shelf-life of fish fillets.

Keywords: fresh beluga sturgeon, edible coating, pullulan, watercress extract

*Corresponding author