اثر عصاره‌های آبی و الکلی نعناع فلفلی حامل نانوکیتوزان بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

امیرحسین ابراهیمی[1]، محدثه لاری‌پور*[2]

[1]گروه صنایع غذایی واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[2]گروه میکروبیولوژی واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول m.larypoor@iau-tnb.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۱۵

چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی اثر پوشش نانوکیتوزان همراه با عصاره آبی و الکلی نعناع بر کیفیت فیله ماهی قزل‌آلا بود، به‌طوری که عصاره‌های آبی و الکلی ۳ و ۵ درصد به‌همراه محلول ۲٪ نانوکیتوزان با روش غوطه‌وری بر سطح نمونه‌ها قرار گرفت و بررسی تغییرات pH، اندازه‌گیری ازت فرار تام (TVN)، تیوباربیتوریک اسید (TBA) و رادیکال‌های آزاد با استفاده از تست ۲،۲-دیفنیل-۱-پیکریلیدرازی (DPPH) و ارزیابی حسی به روش هدونیک ۵ نقطه‌ایی طی روزهای اول، سوم و ششم نگهداری مورد بررسی و داده‌های حاصل، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیشترین میزان pH در روز سوم در تیمار حاوی عصاره الکلی ۳ درصد و کم ترین در روز اول و تیمار شاهد مشاهده شد. میزان TBA فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در این تحقیق درتمامی تیمارها تقریباً برابر ۰/۰۰۲± ۰/۰۳۷ میلی گرم بر کیلوگرم به‌دست آمد. بهترین نتیجه در آزمایش فعالیت آنتی‌اکسیدان به روش DPPH برای تیمار حاوی عصاره آبی ۳٪ نعناع در روز ششم ۲۴/۶۰ درصد حاصل شد و در اندازه‌گیری TVN نمونه حاوی محلول نانوکیتوزان ۲٪ در روز سوم، بالاترین نتیجه، ۲۲/۷۸ درصد برآورد شد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت استفاده از پوشش خوراکی نانوکیتوزان ۲درصد سبب بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خصوصاً تا ۳ روز نگه‌داری در دمای یخچال خواهد شد.

واژگان کلیدی: ماهی قزل‌آلا، نانوکیتوزان، عصاره نعناع فلفلی، زمان ماندگاری.

مقدمه

امروزه با توجه به دیدگاه نامطلوب مصرف‌کنندگان در خصوص افزودنی‌های شیمیایی و اثرات مضر آن‌ها در مواد غذایی، گرایش به سمت استفاده از افزودنی‌ها طبیعی است با این حال به‌دلیل آزادشدن این ترکیبات مانند عصاره‌ها به‌صورت کنترل نشده در ماده غذایی و ایجاد بو و طعم‌های تند و یا غیرفعال شدن قسمتی از این ترکیبات فعال به‌دلیل واکنش با مواد غذایی، عملکرد آن‌ها کاهش می‌یابد. بنابراین می‌توان با استفاده از پوشش‌های خوراکی حاوی ترکیبات ضد میکروبی که به‌صورت کندتر سبب آزادسازی این ترکیبات به داخل گوشت می‌شوند و سبب حفظ غلظت‌های بالاتر ترکیبات ضد میکروبی در سطح گوشت می‌شود؛ کارایی این روش را افزایش داد. فیلم های زیست‌تخریب‌پذیر با قابلیت خوراکی مختلف با منشأ پلی‌ساکاریدی، پروتئین و چربی برای افزایش زمان ماندگاری انواع مختلفی از مواد غذایی استفاده می‌شوند. کیتوزان، پلی‌ساکاریدی از جنس کیتین که از ۴و۱-β-D - دی‌اکسی گلوکان و ۲ آمینو دی‌اکسی β-Dگلوکان تشکیل شده است که توسط اداره غذا و دارو آمریکا (USFDA) به‌عنوان افزودنی ایمن غذایی (GARS) تأیید شده است (Dara *et al*., 2020). علاوه بر آن، کیتوزان به‌عنوان یک پلی‌مرزیستی ایده‌آل برای تولید فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی فعال است که با توجه به ماهیت غیرسمی، سازگاری با محیط‌زیست، زیست‌تخریب‌پذیری و توانایی پوشش‌دهی انتخاب شده است. طبق تحقیقات صورت گرفته استفاده از نانوکیتوزان دو درصد بهترین پوشش‌دهی را در فرآورده‌های آبزیان و محصولات گوشتی دارد (McHugh *et al*., 2000).

کیتوزان و نانو کیتوزان به‌عنوان یک پلیمرزیستی غیررسمی و زیست‌تخریب‌پذیر که از کیتین موجود در پوسته خارجی سخت‌پوستان به‌دست می آید، در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (McHugh *et al*., 2000). در مطالعات اخیر اثرات ضد باکتریایی، ضدسرطانی و کاهندگی کلسترول توسط کیتوزان گزارش شده است. خاصیت ضد باکتریایی نانوکیتوزان به‌دلیل وجود بار مثبت مولکول‌های آن و نتیجه واکنش با ملکول‌های با بار منفی غشای سلول باکتری عنوان شده است (Dara *et al*., 2020). با این حال کاهش خاصیت آنتی‌باکتریایی کیتوزان هنگام استفاده از آن، به‌شکل پوشش و یا فیلم اشاره کرده‌اند. استفاده از پوشش خوراکی به‌عنوان سدی در برابر میکروارگانیسم‌های هوازی عمل می‌کند. از آنجا که فیله ماهی‌ها سریع فاسد می‌شوند، توسعه روش‌های نگهداری برای گسترش ماندگاری آن‌ها، مطلوب خواهد بود. یکی از مرسوم‌ترین روش‌های پوشش‌دهی، روش غوطه‌وری است. محصول بین ۵ تا ۳۰ ثانیه در محلول غوطه‌ور می‌شود؛ سپس خارج و در معرض هوا یا خشک‌کن، حلال اضافی تبخیر و لایه نازکی از پوشش اطراف محصول را فرا می‌گیرد. روش غوطه‌وری روش مناسبی برای تولید محصولاتی یکنواخت و با کیفیت بالا می‌باشد با این حال نیاز به کنترل دقیق و محیط تمیز نیاز دارد (Xu *et al*., 2003).

ماهی قزل آلای رنگین کمانی (*Oncorhynchus mykiss*) یکی از عمده‌ترین گونه‌های پرورشی در سراسر جهان است. آزاد ماهیان عمدتاً در آب‌های سرد، زلال وسرشار از اکسیژن زیست دارند. ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نیز در برابر فساد به شدت حساس است. این گونه یکی از مهمترین منابع با کیفیت از نظر تغذیه‌ای انسانی به‌شمار می‌رود، اما، نسبت به فساد میکروبی و شیمیایی بسیار حساس است. (Dara *et al*., 2020). بنابراین استفاده از نگهدارنده‌هایی با ماهیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی ضروری می‌باشد. پوشش نانوکیتوزان نوعی از بسته‌بندی فعال برای حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلا را فراهم می‌کند. امروزه استفاده از پوشش‌های طبیعی مختلف به‌تنهایی یا به عنوان حامل مواد فعال، مواد ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان‌ها، موادمغذی، طعم‌دهنده‌ها، آنزیم‌ها و رنگ‌ها در محصولات غذایی مختلف مورد توجه قرار گرفته است (Manso *et al*., 2014). در همین راستا، تحقیقات قابل توجهی در توسعه و کاربرد پلیمرهای زیستی استخراج شده از فراورده‌های طبیعی مختلف و یا ضایعات صنایع تولیدات غذایی انجام گرفته است و پلیمرهای زیستی از قبیل نشاسته، مشتقات سلولز، کیتین، کیتوزان ونانو کیتوزان، پروتئین‌ها (با منشأ حیوانی یا گیاهی) و چربی‌ها جهت تهیه فیلم‌ها و پوشش‌های نازک بر پوشاندن غذاهای تازه یا فرآوری شده به‌منظور افزایش مدت ماندگاری آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده از پوشش‌های خوراکی به‌عنوان تکنولوژی جدید علاوه بر داشتن فوایدی از جمله قابلیت مصرف، ساختمان ظاهری زیبا، سازگاری با محیط‌زیست، غیرسمی و ارزان بودن، موادغذایی را از آسیب‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی حفظ می‌کند و مانند سدی در برابر تبادل گازها، رطوبت و میکروارگانیسم‌ها عمل نموده و کیفیت و ماندگاری موادغذایی را در فاصله تولید و رسیدن به دست مصرف‌کننده حفظ می‌نماید (Ghaffari *et al*., 2020).استفاده همزمان پوشش‌ها به‌همراه عصاره‌های مختلف سبب بهبود ویژگی‌های حسی در مصرف کننده‌ها شده است. با توجه به اهمیت موارد فوق، این مطالعه به‌منظور بررسی اثر عصاره‌های آبی و الکلی نعناع فلفلی حامل نانوکیتوزان بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌اجرا درآمد.

مواد و روش ها

آماده‌سازی نمونه: ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تازه بین ۴۵۰ تا ۵۰۰ گرم، از بازار خریداری شد و به آزمایشگاه منتقل شدند. بعد از تخلیه امعاء و احشاء،

شستشو و جدا کردن سر و استخوان، دو فیله از هر ماهی به‌دست آمد. نمونه‌های فیله به‌طور تصادفی در ۴ گروه تقسیم شدند سپس در آب مقطر (شاهد بدون پوشش) (تیمار یک) ۲ درصد محلول نانو کیتوزان (شاهد ۲) وغلظت‌های ۳ و ۵ درصد عصاره‌های آبی وغلظت‌های ۳ و ۵ درصد عصاره الکلی نعناع فلفلی (تیمار۲ و ۳) و عصاره آبی و الکلی عصاره نعناع (تیمار ۴و۵) به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند، محلول پوشش نیز از ٪۰/۵ گلیسرول به‌عنوان پلاستی سایزر یا نرم کننده تشکیل شد و هنگام غوطه‌وری اضافه شد (Ojagh *et al*., 2010). تمام فیله‌ها در یک ظرف استریل شده قرار گرفتند تا پوشش‌های خوراکی واحد در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ذخیره شوند. آنالیزهای حسی و فیزیکوشیمیایی در بازه‌های زمانی سه روزه (زمان‌های صفر، ۳ و ۶) قرار گرفت و کیفیت کلی ماهی در تمامی تیمارها برآورد گردید. هر بار با سه تکرار و میانگین‌ها برای تخمین کیفیت کلی ماهی انجام شد.

روش عصاره گیری گیاه نعناع: گیاه نعناع از هرباریوم گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال شماره ثبت IAUNT۱۶۱۴ تهیه شد و بعد از پاک کردن شستشو و جدا کردن برگ‌ها، برگ‌ها خشک شده و در آسیاب به‌شکل پودر در آمدو به سوکسیله منتقل شد. جهت به‌دست آوردن عصاره‌های آبی و الکلی در غلظت‌های سه درصد ۶ گرم نعناع به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر با آب مقطر استریل رسانده شد و برای عصاره سه درصد الکلی ۶ گرم پودر نعناع به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر با اتانول خالص رسید. برای تهیه عصاره‌های آبی و الکلی پنج درصد، ۱۰ گرم از پودر مورد نظر به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر در آب مقطر و اتانول خالص رسید . محلول به‌دست آمده به مدت دو هفته در حلال باقی ماند تا عصاره به‌طور کامل خارج شود. نعنا به‌دلیل وجود آنتی اکسیدان‌هایی مانند فلاونوئید، آنتوسیانین و رنگدانه‌های آنتی‌اکسیدانی و اسید فنولیک، انتخاب ما برای انجام آزمایشات مورد نظر بود (Chen *et al*., 2017). دو ارلن به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر دارای عصاره‌های آبی ۳ و ۵ درصد و ۲ ارلن به حجم ۲۰۰ میلی لیتر دارای عصاره‌های الکلی استریل به‌دست آمد. برای حصول نتایج دقیق از روش تندالیزاسیون برای نعناع، استفاده گردید (Choi *et al*., 2017).

تهیه محلول نانو کیتوزان ۲ درصد: ۱۰ گرم کیتوزان خوراکی شرکت Sigma با درجه دی‌استیلاسیون ۸۵ درصد و جرم مولکولی متوسط و خلوص ۹۸ درصد به‌وسیله ترازوی الکتریکی توزین شد. سپس به داخل بالن ۵۰۰ (میلی‌لیتر) ریخته و در اسیداستیک یک درصد حل شد و مقدار ۰/۵ درصد گلیسرول به‌عنوان نرم‌کننده اضافه شد و روی هیتر قرار گرفت. محلول به دمای ثابت رسید پس از خنک شدن به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه التراسونیک قرار داده گرفت تا به صورت نانو به‌دست آید (Choi *et al*., 2017).

اندازه گیری pH: اندازه‌گیری pH تیمارها به فاصله دو ساعت با استفاده از PH متر متروم مدل (۸۲۷) ph lab برای هر نمونه و در هر سه تکرار صورت گرفت (Guill´en *et al*., 2013).

اندازه‌گیری ازت فرار تام (TVN): ۱۰ گرم از نمونه مورد نظر آماده شد و با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شد و در داخل بالن قرار داده شد. به بالن مورد نظر ۲ گرم اکسید منیزیوم و حدود ۳۰۰ میلی‌لیتر آب، ۲/۵ میلی‌لیتر اسید بوریک و چند قطره معرف (متیل) اضافه شد. سپس محلول مورد نظر را در داخل یک ارلن ریخته و در انتها حرارت و تقطیر صورت گرفت و محتویات به جوش آمد. محلول در روش تیتر با اسید سولفوریک ۱٪ تیتر شد. نتیجه از طریق فرمول زیر حاصل شد: ۱۰۰۰×۰/۱۴ نرمالیته اسید × مقدار اسید سولفوریک مصرفی (Nair *et al*., 2018).

روش اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید (TBA): ۲/۵ میلی‌گرم از ماهی در داخل بالن ۵۰ ریخته سپس با تری‌کلرو استیک‌اسید ۱۰ ٪ اضافه شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه مخلوط شد سپس از صافی عبور داده و مقدار

۲ میلی‌لیتر از آن در ۲ میلی‌لیتر آب روی هیتر به مدت ۴۵ دقیقه حل شد سپس در لوله آزمایش ریخته در انتها جذب مورد نظر در طول موج ۵۳۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. کلیه گراف‌های دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج بین ۵۵۰-۴۵۰ نانومتر بود (Nair *et al.*, 2018).

روش ارزیابی حسی: ارزیابی حسی نمونه‌ها به روش هدونیک ۵ نقطه‌ایی صورت گرفت. روش تهیه نمونه‌ها به روش سرخ کردن می‌باشد. ارزیابی حسی شامل رنگ، بافت، طعم و مزه هنگام جویدن-پذیرش کلی می‌باشد. در شرایط کاملاً یکسان برای هر یک از ویژگی‌های حسی، عدد ۵ برای ویژگی بسیار مطلوب و عدد ۱ بسیار غیر قابل قبول در نظر گرفته شد (Kumar *et al.*, 2017).

آنالیز آماری: نتایج به‌صورت میانگین±انحراف استاندارد (SD) بیان شد. آنالیز آماری شامل متغیرهای مورد اندازه‌گیری برای گروه‌های شاهد و تیمار و مقایسه نتایج با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) در سطح معنی‌داری $P<۰/۰۵$ در صورت توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱، تفاوت‌های معنی‌دار آماری بین مقادیر میانگین‌ها (در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار باشد) با آزمون تعقیبی چند دامنه‌ای دانکن تعیین شد. به‌منظ.ور تجزیه و تحلیل آماری ارزیابی حسی نیز، از روش ناپارامتری کروسکال-والیس برای مقایسه تیمارها در یک زمان مشخص نگهداری و از روش ناپارامتری فریدمن برای مقایسه یک تیمار در طی زمان نگهداری استفاده شد (Acosta *et al.*, 2009).

نتایج

نتایج آزمایشات فیزیکوشیمیایی در طول دوره نگهداری: تغییرات pH، TVN، TBA وآنتی‌اکسیدان فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی زمان‌های مختلف در تیمارهای مختلف نگهداری در جدول ۱ ارائه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود میزان pH فیله ماهیان در کلیه تیمارها در زمان‌های صفر، سه و شش تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند و بین سایر تیمارها تا این زمان اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میزان TVN در فیله ماهی‌ها در کلیه تیمارها در زمان‌های صفر و سه و شش دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد، همان‌طور که مشاهده می‌شود مقادیر TVN در روز سوم و در تیمار دارای پوشش نانوکیتوزان ۲ درصد به بیشترین میزان خود رسید. میزان TBA فیله ماهی‌ها در کلیه تیمارها در در زمان‌های صفر، سه و شش تفاوت معنی‌داری با هم داشت و بین سایر تیمارها در زمان‌های مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. میزان تغییرات آنتی‌اکسیدان به روش DPPH در کلیه تیمارها در زمان‌های صفر، سه و شش دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد اما بین سایر تیمارها تا این زمان اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. مطابق جدول ۴، مقایسه گروه‌ها و تیمارها در سه بازه زمانی سطح ۰/۰۱، معنی‌دار است ($P<۰/۰۱$، ۳/۹ =F)؛ به‌عبارت دیگر، بین نمرات پس آزمون گروه آزمایش و کنترل تفاوت معنی‌دار وجود دارد. پس می‌توان نتیجه گرفت که پوشش نانوکیتوزان حاوی عصاره نعناع باعث افزایش عمر ماندگاری و ویژگی‌های کیفی فیله ماهی خواهد شد ($P<۰/۰۵$). میزان TBA برحسب میلی‌گرم بر کیلو گرم و میزان DPPH و TVN برحسب درصد است. با توجه به نتایج آزمون کروسکال-والیس می‌توان نتیجه گرفت که بین گروه‌ها در هر تیمار با توجه به اینکه سطح معنی‌داری کمتر از $P<۰/۰۰۱$ می‌باشد پس می‌توان نتیجه گرفت که بین گروه‌ها و تیمار در هر روز تفاوت معنی‌دار وجود دارد. و از لحاظ رنگ ماهی قزل‌آلا می‌توان بیان کرد که گروه شاهد توانسته بهترین رنگ به خود اختصاص دهد البته نگهداری فیله ماهی قزل‌آلا در پوشش نانوکیتوزان و عصاره آبی نعناع سبب بهبود رنگ شد و بهترین نتیجه در رنگ، بعد از نمونه شاهد در تیمار حاوی عصاره آبی ۵ درصد می‌باشد و از لحاظ پذیرش

جدول ۱- نتایج آزمایشات فیزیکوشیمیایی تیمار های مختلف فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان $4C^{o}$±۱.

pH	روز ششم	روز سوم
شاهد	۶/۵۷±۰/۰۱^{c}	۶/۴۵±۰/۰۱^{f}
نانوکیتوزان ۲ درصد	۵/۶۵±۰/۰۵^{f}	۶/۴۶±۰/۰۰^{e}
عصاره آبی ۳ درصد	۶/۳۵±۰/۰۰^{a}	۶/۵۹±۰/۰۰^{d}
عصاره الکلی ۳ درصد	۶/۶۲±۰/۰۰^{b}	۶/۹۰±۰/۰۰^{a}
عصاره آبی ۵ درصد	۶/۰۷±۰/۰۰^{e}	۶/۸۸±۰/۰۰^{b}
عصاره الکلی ۵ درصد	۶/۷۰±۰/۰۰^{a}	۶/۸۳±۰/۰۰^{c}
TVN	روز ششم	روز سوم
شاهد	۱۲/۲۵±۰/۰۵^{c}	۲۰/۳۵±۰/۰۵^{b}
نانوکیتوزان ۲ درصد	۱۸/۰۶±۰/۱۰^{a}	۲۲/۷۸±۰/۰۱^{a}
عصاره آبی ۳ درصد	۱۸/۶۴±۰/۰۱^{a}	۱۸/۲۰±۰/۱۰^{cd}
عصاره الکلی ۳ درصد	۱۴/۹۰±۰/۰۰^{b}	۱۷/۹۲±۰/۰۱^{d}
عصاره آبی ۵ درصد	۱۴/۹۷±۰/۰۰^{b}	۱۷/۹۲±۰/۰۱^{d}
عصاره الکلی ۵ درصد	۱۳/۴۰±۰/۰۰^{b}	۱۸/۳۶±۰/۴۹^{c}
TBA	روز ششم	روز سوم
شاهد	۰/۰۰±۰/۱۰^{a}	۰/۰۲۸±۰/۰۰^{e}
نانوکیتوزان ۲ درصد	۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۰/۰۳۷±۰/۰۰^{d}
عصاره آبی ۳ درصد	۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۰/۰۶۹±۰/۰۰^{a}
عصاره الکلی ۳ درصد	۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۰/۰۵۰±۰/۰۰^{c}
عصاره آبی ۵ درصد	۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۰/۰۲۰±۰/۰۰^{f}
عصاره الکلی ۵ درصد	۰/۰۰±۰/۰۰^{a}	۰/۰۶۲±۰/۰۰^{b}
DPPH	روز ششم	روز سوم
شاهد	۵۵/۰۰±۱/۰۰^{d}	۲۳/۵۵±۰/۰۵^{b}
نانوکیتوزان ۲ درصد	۳۲/۶۵±۰/۰۵^{f}	۲۳/۲۵±۰/۰۵^{c}
عصاره آبی ۳ درصد	۸۶/۳۰±۰/۱۰^{a}	۲۴/۶۰±۰/۰۰^{a}
عصاره الکلی ۳ درصد	۵۸/۷۰±۰/۱۰^{c}	۱۸/۶۵±۰/۰۵^{e}
عصاره آبی ۵ درصد	۶۲/۸۵±۰/۰۵^{b}	۱۹/۲۵±۰/۰۵^{d}
عصاره الکلی ۵ درصد	۴۹/۶۵±۰/۰۵^{e}	۱۸/۶۰±۰/۰۰^{e}

کلی با توجه به آزمون کروسکال-والیس تیمار حاوی عصاره آبی ۵ درصد و عصاره آبی ۳ درصد در روز ششم توانست بهترین نتایج را از نظر پذیرش کلی به‌خود اختصاص دهد و از لحاظ بافت با توجه به آزمون کروسکال-والیس تیمارهای حاوی عصاره‌های آبی ۵ درصد و ۳ درصد به‌ترتیب در روز ششم توانست بهترین نتایج را در آنالیز بافت به‌دست آورد. طعم تیمارها تا روز ۳ توانست مطلوب باشد و بهترین نتیجه برای تیمار حاوی عصاره آبی ۳ درصد در روز سوم می‌باشد و به مرور زمان در روز ششم شاخص کیفیت طعم به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت. و از لحاظ بو، نمونه شاهد دارای بالاترین رتبه در میان تیمارها است. البته تیمار حاوی نانوکیتوزان ۲ درصد در روز سوم هم توانسته نتیجه خوبی ارائه دهد. در تمام نمونه‌ها تعداد تیمار۳۰ عدد در نظر گرفته شد. نتایج این مطالعه با تحقیقات Jasour و همکاران، (۲۰۱۱) و ذوالفقاری و همکاران (۱۳۹۰) همخوانی داشت. متغیرهای پذیرش کلی و بافت در جدول ۲، و متغیرهای طعم در جدول ۳ و رنگ و در جدول ۴ متغیر بو ارائه شده است. در شکل‌های ۱و ۲

جدول ۲- متغیرهای پذیرش کلی و بافت.

متغیر	تیمارو روز	تیمارو روز	متغیر	تیمارو روز
	شاهد	۲۳۷/۰۰^{c}		شاهد	۳۱۶/۶۲^{a}
	شاهد روز ۳	۱۳۶/۲۰^{k}		شاهد روز ۳	۱۵۸/۸۳^{h}
	نانوکیتوزان روز ۳	۱۵۵/۷۵^{h}		نانوکیتوزان روز ۳	۲۰۸/۴۵^{e}
	الکلی۳ ٪ روز ۳	۱۶۷/۸۷^{g}		الکلی۳ ٪ روز ۳	۲۱۵/۵۲^{d}
	الکلی ۵٪ روز ۳	۱۴۵/۶۷^{i}		الکلی ۵٪ روز ۳	۱۹۶/۳۵^{f}
	آبی۳٪ روز ۳	۲۱۲/۹۳^{e}		آبی۳٪ روز ۳	۲۴۲/۶۸^{c}
پذیرش	آبی۵٪ روز ۳	۲۱۷/۶۸^{d}	امتیاز بافت	آبی۵٪ روز ۳	۲۵۴/۲۸^{b}
کلی	شاهد روز ۶	۱۳۲/۵۰^{l}		شاهد روز ۶	۱۴۰/۹۰^{k}
	نانوکتیوزان روز ۶	۱۴۱/۷۳^{j}		نانوکتیوزان روز ۶	۱۵۶/۷۵^{i}
	آبی ۳٪ روز ۶	۳۰۱/۲۸^{b}		آبی ۳٪ روز ۶	۱۴۹/۳۸^{j}
	آبی ۵٪ روز ۶	۳۲۶/۴۳^{a}		آبی ۵٪ روز ۶	۱۷۱/۸۸^{g}
	الکلی ۳٪ روز ۶	۲۰۵/۷۷^{f}		الکلی ۳٪ روز ۶	۱۴۱/۸۵^{k}
	الکلی ۵٪ روز ۶	۱۱۱/۵۳^{m}		الکلی ۵٪ روز ۶	۱۴۱/۸۵^{k}

جدول ۳- متغیرهای طعم و رنگ.

متغیر	تیمارو روز	تیمارو روز	متغیر	تیمارو روز
	شاهد	۳۱۹/۳۵^{a}		شاهد	۳۱۶/۶۲^{a}
	شاهد روز ۳	۱۸۹/۶۸^{f}		شاهد روز ۳	۱۵۸/۸۳^{h}
	نانوکیتوزان روز ۳	۲۲۳/۴۰^{cd}		نانوکیتوزان روز ۳	۲۰۸/۴۵^{e}
	الکلی۳ ٪ روز ۳	۲۲۱/۹۹۳^{d}		الکلی۳ ٪ روز ۳	۲۱۵/۵۲^{d}
	الکلی ۵٪ روز ۳	۲۱۹/۶۸^{e}		الکلی ۵٪ روز ۳	۱۹۶/۳۵^{f}
	آبی۳٪ روز ۳	۲۴۲/۲۳^{b}		آبی۳٪ روز ۳	۲۴۲/۶۸^{c}
	آبی۵٪ روز ۳	۲۲۴/۴۰^{c}		آبی۵٪ روز ۳	۲۵۴/۲۸^{b}
	شاهد روز ۶	۱۵۵/۱۷^{g}		شاهد روز ۶	۱۴۰/۹۰^{k}
	نانوکتیوزان روز ۶	۱۴۰/۶۹^{i}		نانوکتیوزان روز ۶	۱۵۶/۷۵i
طعم	آبی ۳٪ روز ۶	۱۳۸/۳۲^{j}	رنگ	آبی ۳٪ روز ۶	۱۴۹/۳۸^{j}
	آبی ۵٪ روز ۶	۱۴۵/۴۳^{h}		آبی ۵٪ روز ۶	۱۷۱/۸۸^{g}
	الکلی ۳٪ روز ۶	۱۳۹/۲۵^{ij}		الکلی ۳٪ روز ۶	۱۴۱/۸۵^{k}
	الکلی ۵٪ روز ۶	۳۱۹/۳۵^{a}		الکلی ۵٪ روز ۶	۱۴۱/۸۵^{k}
	الکلی ۵٪ روز ۶	۱۱۱/۵۳^{m}		الکلی ۵٪ روز ۶	۱۴۱/۸۵^{k}

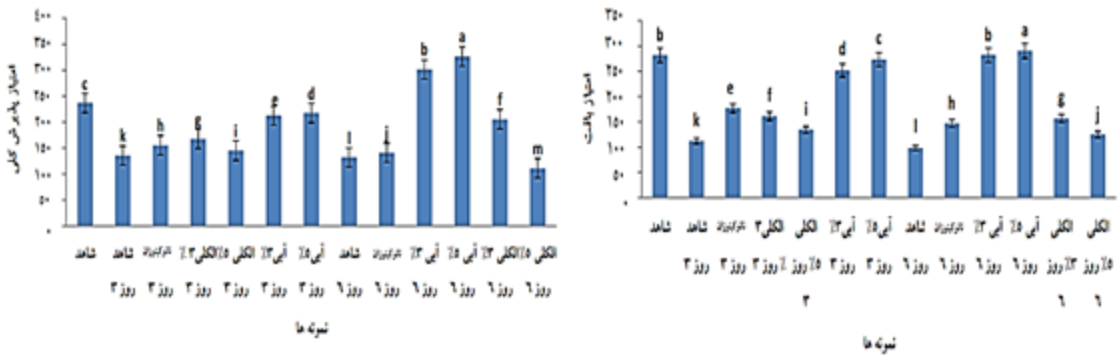
متغیرهای پذیرش کلی و بافت، متغیرهای طعم و رنگ و متغیر بو به‌ترتیب با هم مقایسه شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به‌دست آمده و تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از ارزیابی حسی طی شش روز نگهداری در سردخانه (۴ درجه سانتی‌گراد) با افزایش زمان نگهداری امتیاز کیفی فاکتورهای حسی

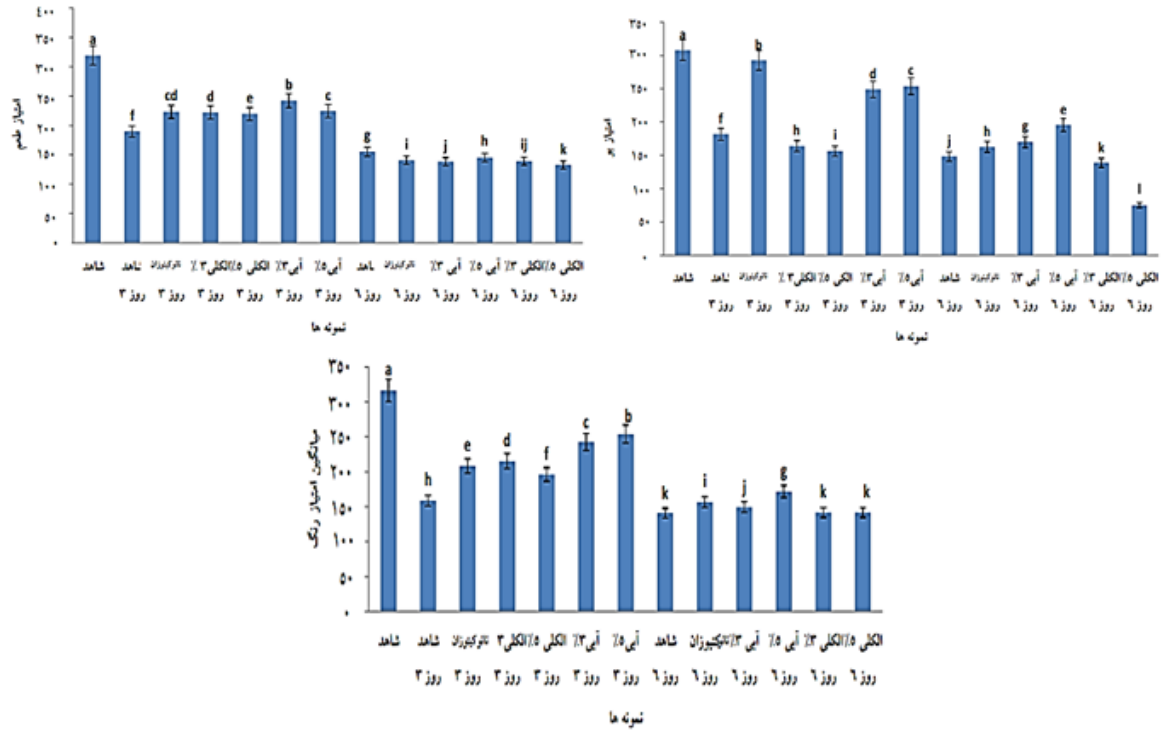
جدول ۴- متغیر بو.

متغیر	تیمار و روز	میانگین
امتیاز بو	شاهد	[a]۳۰۸/۰۲
	شاهد روز ۳	[f]۱۸۱/۷۲
	نانوکیتوزان روز ۳	[b]۲۹۲/۶۸
	الکلی۳ ٪ روز ۳	[h]۱۶۴/۰۴
	الکلی ۵٪ روز ۳	[i]۱۵۶/۲
	آبی ۳٪ روز ۳	[d]۲۴۹/۲۲
	آبی ۵٪ روز ۳	[c]۲۵۴
	شاهد روز ۶	[j]۱۴۸/۴۳
	نانوکتیوزان روز ۶	[h]۱۶۲/۶۵
	آبی ۳٪ روز ۶	[g]۱۷۰/۰۸
	آبی ۵٪ روز ۶	[e]۱۹۵/۶۷
	الکلی ۳٪ روز ۶	[k]۱۳۸/۷۸
	الکلی ۵٪ روز ۶	[l]۷۵/۰۷



شکل ۱- امتیاز بافت و پذیرش کلی (حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) می‌باشد).

شامل رنـگ، بـو، طعم و مزه، بافت و پذیرش کـلی در نـمونه آزمایشی کـاهش یـافت؛ امـا نسبت به نمونه شاهد (عصاره آبی ۵ درصد و ۳ درصد) از لحاظ رنـگ، بـو، طعم و مزه، بافت و پذیرش کلی از کیفیت بهتری برخوردار بود. نتایج حاصل از آزمون کروسکال-والیس نشان داد که بین گروه‌ها در هر تیمار با توجه به سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۱ تفاوت معنی‌داری وجود دارد. از لحاظ رنگ، ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان در مقایسه با گروه شاهد بهترین نتیجه را در ارزیابی رنگ در تیمار حاوی عصاره آبی ۵ درصد روز سوم نشان داد. از لحاظ طعم تیمارها تا روز سوم توانستند برای مصرف‌کننده مطلوب باشند و بهترین نتیجه در بین تیمارها، در تیمار حاوی عصاره آبی ۳ درصد روز سوم بود و به مرور زمان شاخص کیفیت طعم به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش پیداکرد. از لحاظ شاخص بو بین گروه‌های تیمارشده تفاوت معنی‌دار وجود داشت. در بین تیمارها، نمونه حاوی نانوکیتوزان در روز سوم و سپس عصاره آبی ۵ درصد روز سوم بهترین تأثیر را روی شاخص بو داشت. بنابراین تیمار حاوی عصاره آبی ۵ درصد نعناع و تیمار حاوی عصاره آبی ۳ درصد نعناع در روز ششم توانسته در آنالیز بهترین منابع را در پذیرش کلی به‌دست آورد. در آنالیز بافت هم با توجه به آزمون کروسکال-والیس که تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار بودند عصاره‌های آبی ۵ درصد و ۳ درصد در روز ششم بهترین نتایج را نشان دادند. تیوباربیتوریک اسید: شاخصی جهت اندازه‌گیری



شکل ۲- امتیاز طعم، رنگ و بو (حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) می‌باشد).

میزان اکسیداسیون ثانویه اسیدهای چرب اشباع نشده است از روز ۵ به بعد افزایش در تیمار شاهد نسبت به تمام تیمارها معنی‌دار بود که می‌توان آن را به افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در ماهیچه و اکسیداسیون لیپید و تولید متابولیت‌های فرار در حضور اکسیژن مرتبط دانست. از طرفی، با توجه به اینکه آلدهیدها به‌عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون از تجزیه هیدروپراکسایدها ایجاد می‌شوند، روند افزایشی هیدروپراکسیدها می‌تواند دلیلی بر افزایش این شاخص طی مدت نگهداری باشد .در اینجا میزان TBA کلیه تیمارها طی نگهداری پایین بود. جلوگیری از آغاز ایجاد زنجیره‌های رادیکال آزاد، پیوند با کاتالیزور انتقال‌دهنده یون فلزی، تجزیه پراکسید و برهمکنش با رادیکال‌های آزاد توسط اسانس از دلایل پایین بودن این شاخص است.

همچنین در خصوص خواص pH اولیه فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در این تحقیق در تمامی تیمارها اسیدیته تقریباً برابر ۶/۸۵ بود که با بررسی Jouki و همکاران (۲۰۱۴)، روی میزان pH ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تقریباً یکسان بود. شباهت میزان اسیدیته به شرایط حوضچه‌های پرورشی معمولاً ۶ می‌باشد. در این تحقیق روند تغییرات pH طی ۶ روز نگه‌داری فیله‌های قزل‌آلا به‌دست آمد. بالاترین مـیزان pH در روز سوم و در تیمار حاوی عصاره الکلی ۳ درصد بود و کمترین میزان در روز ششم به‌دست آمد. میزان pH پس از مرگ ماهی بر اثر تولید اسیدلاکتیک حاصل از گلیکولیز مقدار pH کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده بهینه‌سازی ویژگی‌ها به‌دلیل وجود عصاره گیاه نعناع در روزهای ابتدایی نگه‌داری با پوشش نانو کیتوزان می‌باشد. و با افزایش مدت نگه‌داری به‌دلیل عملکرد آنزیم‌های پروتـئولیتیک میزان آمین‌های آزاد افزایش می‌یابد که سبب افزایش میزان pH در نمونه‌ها می‌گردد. Song و همکاران (۲۰۱۱)، افزایش میزان pH را ناشی از افزایش بار میکروبی به‌خصوص کپک و مخمر و تولید ترکیبات فرار مانند آمونیاک و تری‌متیل آمین حاصل از فعالیت باکتری‌های عامل فساد گزارش کردند. در مطالعه هدایتی‌فرد و همکاران (۱۳۸۱) و معینی و همکاران (۱۳۸۵) روی ماهی ازون‌برون، قره‌برون و آنچوی بیان شد که با نگه‌داری فیله‌ها میزان pH کاهش می‌یابد.

pH در فرآورده‌های شیلاتی به‌عنوان شاخص فساد بیان شده است، که pH بالاتر از ۷ در فیله ماهیان نشان‌دهنده فساد است که در این تحقیق در نمونه‌های فیله ماهیان pH بالاتر از ۷ مشاهده نشد واین مسئله نشان می‌دهد که عصاره نعناع وکیتوزان از فساد گوشت ماهی جلوگیری می‌کند. میزان TBA فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در این تحقیق درتمامی تیمارها تقریباً برابر ۰/۰۰۲± ۰/۰۳۷ بود که با نتایج سایر محققین روی میزان TBA ماهی قزل آلای رنگین اولیه تقریبا برابرمی باشد، در اینجا میزان TBA کلیه تیمارها طی مرحله نگهداری، پایین بود. کم بودن شاخص در تیمار حاوی اسانس را می‌توان به علت اثر هم‌افزایی synergistic بین پوشش و اسانس دانست. همچنین اثرات ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی مونوترپن ها، سسکوئیترپن‌ها و مشتقات اکسیژنه آن‌ها موجود در اسانس نعناع، موجب کاهش TBA می‌گردد. مالون دی آلدهید (MDA) یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدی است واتصال آن به TBA شاخص سلامت گوشت محسوب می‌شود. اندازه‌گیری میزان TBA بر اساس واکنش یک مولکول مالون دی آلدئید و دو مولکول TBA است که باعث ایجاد رنگ صورتی می‌شود و با روش اسپکتروفتومتری سنجیده میشود. مطابق نظر Connell (۱۹۹۰) حد مجاز این شاخص برای ماهی ۲ میلی گرم مالون دی آلدئید در یک کیلوگرم گوشت ماهی می باشد و میزان ۳ تا ۴ میلی‌گرم مالون دی آلدئید در هرکیلوگرم گوشت ماهی قابل قبول بوده و حداکثر میزان TBA در ماهی به‌صورت یخزده، سرد شده یا ذخیره شده با یخبرابر با ۵ میلی‌گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم گوشت ماهی است. روند افزایش اتصال TBAو نیز پایین تر بودن این شاخص از حد مجاز با نتایج به‌دست آمده برای ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طی ۱۶روز ذخیره‌سازی در یخچال مطابق بود (Ojagh *et al*., 2010). با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان صحت اثر مثبت نگهدارنده‌های طبیعی کیتوزان و اسانس بر کاهش اکسیداسیون ثانویه چربی در فیله ماهی را گزارش نمود. پوشش حاوی اسانس باعث افزایش عمر ماندگاری فیله‌ها شد که دلیل آن را می‌توان به کاهش جمعیت باکتری‌ها یا کاهش ظرفیت آن‌ها برای آمین‌زدایی اکسیداسیونی ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی و یا هر دو عامل نسبت داد و بیان نمود که ترکیب اسانس و کیتوزان منجر به کاهش سریع‌تر جمعیت باکتری ها می‌شود. Jouki و همکاران (۲۰۱۴)، بیان نمودند که میزان TVn در تیمار کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و در این تیمار و تیمار دارای پوشش کاراگینان در پایان روز ۱۵ بیشتر از حد قابل قبول بود؛ درحالی‌که در نمونه حاوی اسانس لیمو در پایان کمتر از حد مجاز بود. این نتایج مشابه با نتایج تحقیق حاضر بود. با توجه به نتایج حاضر، فعالیت ضد باکتریایی کیتوزان و اسانس نعناع فلفلی می‌تواند در جلوگیری از افزایش N-TVB مؤثر واقع شود. جلوگیری از آغاز ایجاد زنجیره‌های رادیکال آزاد، پیوند با کاتالیزور انتقال‌دهنده یون فلزی، تجزیه پراکسید و برهمکنش با رادیکال‌های آزاد توسط اسانس از دلایل پایین بودن این این شاخص است که با تحقیق AL-Jabri وHossain (۲۰۱۴) مطابقت دارد. با توجه به نتایج ارجحیت، عصاره آبی ۵ درصد در این تحقیق برای پوشش ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان پیشنهاد می‌شود از این عصاره استفاده شود. البته استفاده از پوشش نانوکیتوزان ۲ درصد در بهبود ویژگی‌های کیفی فیله قزل‌آلا مؤثر است.

منابع

ذوالفقاری م .، شعبانپور ب .، فلاح زاده س. ۱۳۹۰ . بررسی روند تغییرات شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* جهت تعیین مدت زمان ماندگاری آن طی نگه داری در دمای یخچال (۴+ درجه سانتی‌گراد). مجله شیلات (منابع طبیعی ایران)، ۶۴ (۲): ۱۱۹-۱۰۷.

معینی س.، هدایتی فرد س. ۱۳۸۵. بررسی تغییرات بافت ماهی قره برون (*Acipenser persicus*) در شرایط تازه منجمد. نشریه دانشکده منابع طبیعی، ۵۹ (۴): ۸۷۵-۸۸۴.

هدایتی‌فرد م .، معینی س .، کیوان الف .، یوسفیان م. ۱۳۸۱. تغییرات اسیدهای چرب بافت ماهی اوزون برون در زمان نگه‌داری در سردخانه. نشریه پژوهش و سازندگی، ۱۵(۳): ۷۵-۷۲.

Acosta E. 2009. Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 14(1), 3-15.

AL-Jabri N.N., Hossain M.A. 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, 247-253.

Chen C., Peng X., Zeng R., Chen M., Wan C., Chen J. 2016. Ficus hirta fruits extract incorporated into an alginate-based edible coating for Nanfeng mandarin preservation. *Scientia Horticulturae* 202, 41-48.

Choi W.S., Singh S., Lee Y.S. 2016. Characterization of edible film containing essential oils in hydroxypropyl methylcellulose and its effect on quality attributes of 'Formosa' plum (*Prunus salicina* L.). *LWT-Food Science and Technology* 70, 213-222.

Connell J.J. 1990. Methods of assessing and selecting for quality, Control of fish quality Edition. Fishing news books, oxford, U.K.

Dara P.K., Mahadevan R., Digita A., Visnuvinayagam S., Kumar L.R., Mathew S. 2020. Synthesis and biochemical characterization of silver nanoparticlesgrafted chitosan Chi-Ag-NPs: In vitro studies on antioxidant and antibacterial applications. *SN Applied Sciences* 2(4), 1-12.

Ghaffari S.B., Sarrafzadeh M.H., Salami M., Khorramizadeh M.R. 2020. A pH-sensitive delivery system based on N-succinyl chitosan-ZnO nanoparticles for improving antibacterial and anticancer activities of curcumin. *International Journal of Biological Macromolecules* 151, 428-440.

Guerreiro A.C., Gago C.M.L., Faleiro M.L., Miguel M.G.C., Antunes M.D.C. 2015. Raspberry fresh fruit quality as affected by pectin- and alginate-based edible coatings enriched with essential oils. *Scientia Horticulturae* 194, 138-146.

Gomez-Estaca J. 2007. Tratamiento scombinados de alta presion, antioxidantes naturales yenvasadoactivo para preservar la calidad del pescado ahumadoenfrío (Ph.D. thesis) (p. 419). Universidad Complutense de Madrid.

Guill´en F., Díaz-Mula H.M., Zapata P.J., Valero D., Serrano M., Castillo S., Martínez- Romero D. 2013. Aloe arborescens and Aloe vera gels as coatings in delaying postharvest ripening in peach and plum fruit. *Postharvest Biology and Technology* 83, 54-57.

Jafaryan H., M. Soltani M. Taati A., Nazarpoor Morovat R. 2011. The comparsion of performance of isolated sturgeon gut bacillus (*Acipenser persicus* and *Huso huso*) with commercial microbial products on growth and survival of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) larvae. *Journal of Veterinary Research* 66(1): 39-46.

Jasour M.S., Rahimabadi E.Z., Ehsani A., Rahnama M., Arshadi A. 2011. Effects of refrigerated storage on fill0et lipid quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) supplemented by α-tocopheryl acetate through diet and direct addition after slaughtering. *Journal of Food Processing and Technology* 2(5).

Jouki M., Yazdi F.T., Mortazavi S.A., Koocheki A., Khazaei N. 2014. Effect of quince seed Mucilage edible film incorporated with oregano or thyme essential oil on shelflife extension of refrigerated rainbow trout fillet. *International Journal of Food Microbiology* 174, 88-97.

Kumar P., Sethi S., Sharma R.R., Srivastav M., Varghese E. 2017. Effect of chitosan coating on postharvest life and quality of plum during storage at low temperature. *Scientia Horticultura* 226.

Manso S., Pezo D., Gomez-Lus R., Nerin C. 2014. Diminution of aflatoxin B1 production caused by an active packaging containing cinnamon essential oil. *Food Control* 45, 101-108.

McHugh T.H. 2000. Protein-lipid interactions in edible films and coatings. *Food/Nahrung* 44(3), 148-151.

Nair M.S., Saxena A., Kaur C. 2018. Effect of chitosan and alginate based coatings enriched with pomegranate peel extract to extend the postharvest quality of guava (*Psidium guajava* L.). *Food Chemistry* 240, 245-252.

Ojagh S.M., Rezai M., Razari S.H., Hosseini S.M.H. 2010. Effect of chilosan cautirys enriched with cimamon oil on the qulity of refrigerates rainbow traout. *Food Chemistry* 120(1), 193-198

Xu Y., Du Y. 2003. Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutical* 250, 215-226.

Song Y., Liu L., Shen H., You J., Luo Y. 2011. Effect of sodium alginate-based edible coatin containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalo Brama amblycephala*). *Food Control* 22(3), 608-615.

The effect of aqueous and alcoholic extracts of *Menthe piperata* carrier of nanocytosan on physicochemical and sensory properties of rainbow trout fillet

Amirhossien Ebrahimi[1], Mohaddese Larypoor[*2]

[1]Department of Food Science and Technology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[2]Department of Microbiology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
*Corresponding author: m.larypoor@iau-tnb.ac.ir
Received: 2022/5/24 Accepted: 2022/8/6

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of coating nano chitosan with aqueous and alcoholic extracts of *Menthe piperata* on the quality of *Oncorhynchus mykiss* fillets so that aqueous and alcoholic extracts of 3 and 5% with a 2% solution of nano chitosan by immersion were placed on the surface of the samples and investigating pH changes, measuring total volatile nitrogen (TVN), thiobarbituric acid (TBA) and free radicals using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazide (DPPH) test and sensory evaluation was performed by 5-point hedonic method during the first, third and sixth days of storage and the data were statistically analyzed. The results showed that the highest pH level on the third day and in the treatment containing alcoholic extract is 3% and the lowest pH level is on the sixth day. The TBA level of rainbow trout fillets in this study in all treatments was approximately 0.037±0.002. The best result was obtained in DPPH antioxidant activity test for treatment containing 3% aqueous extract of mint on the third day and the highest result was obtained in TVN measurement of a sample containing 2% nanocytosan solution on the third day.

Keywords: Trout, Nano Chitosan, *Menthe piperata* Extract, Shelflife.