

بررسی خواص ضداکسیدانی و ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه آب تره (*Nasturtium officinale*) برماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در دمای یخچالتارا زارعی<sup>۱</sup>، مسعود رضائی\*<sup>۱</sup>، نادر بهرامی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران  
<sup>۲</sup> علوم و مهندسی محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

## چکیده

## نوع مقاله

## مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۵

تاریخ چاپ الکترونیکی: ۱۴۰۱/۰۳/۳۰

## \*نویسنده مسول:

E-mail:

rezai.ma@modares.ac.ir

عصاره‌های گیاهی را می‌توان علاوه بر اثرات سلامتی، به‌عنوان نگهدارنده‌های طبیعی با خاصیت ضداکسیدانی و ضد میکروبی در صنایع غذایی استفاده کرد. در این مطالعه اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره اتانولی آب‌تره بر کیفیت شیمیایی و میکروبی فیله ماهی قزل‌آلای در دمای یخچال به مدت ۱۲ روز مورد بررسی قرار گرفت. عصاره گیاه آب تره پس از خشک کردن برگ در دمای محیط و تاریکی توسط حلال‌های ۴۵، ۶۵، ۷۵ و ۹۶ درصد اتانولی به مدت ۲۴ ساعت در ۶۵ درجه سانتی‌گراد استخراج شد. نتایج حاصل نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در میزان بازدهی و محتوای فنولی عصاره‌ها بود ( $P \leq 0.05$ )، به طوری که در غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره ۶۵ درصد با بازدهی استخراج ۲۰ درصد بالاترین میزان فنول کل ( $88/60 \pm 2/46$ ) درصد) و DPPH ( $84/73 \pm 0$ ) درصد) و ABTS ( $83/83 \pm 0/06$ ) درصد) بود. همچنین میزان مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زا لیستریا مونوسایتوزنز، اشریشیا کلای، استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا انتریتیدیس نیز در عصاره ۶۵ درصد اتانولی دارای اختلاف معنی‌دار با سایر عصاره‌ها بود ( $P \leq 0.05$ ). نمونه‌های فیله ماهی قزل‌آلای در عصاره ۶۵ درصد اتانولی میزان کمتری از شاخص‌های TVB-N، PV و TBA را در مقایسه با تیمار شاهد طی دوره نگهداری به نمایش گذاشت ( $P \leq 0.05$ ). همچنین در شاخص باکتریایی میزان باکتری کل و سرماگرا تیمار حاوی عصاره تا روز دوازدهم به بیشینه حد مجاز ( $10^6 \text{cfu/g}^{-1}$ ) نرسیده بود که نشان‌دهنده اثر بخشی عصاره بر افزایش ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای نسبت به شاهد است.

**کلید واژه‌ها:** نگهدارنده‌های طبیعی، عصاره آب‌تره، فیله ماهی قزل‌آلای، تغییرات شیمیایی و میکروبی.

## مقدمه

فراورده‌های دریایی به علت اسیدهای چرب غیراشباع بالا، اسیدیته نزدیک به خنثی، بالا بودن میزان اسیدآمین‌های آزاد و پروتئین با قابلیت هضم بالا کیفیت بسیار آسیب‌پذیری دارند و عمر ماندگاری آن‌ها تحت تاثیر وقوع فساد شیمیایی، اکسیداسیونی و میکروبی می‌باشد [۱]. با افزایش مدت زمان نگهداری، افزایش دما و وقوع انواع فرایندهای فسادی کیفیت فرآورده را از دامنه غذایی خارج شده و با تاثیر بر سلامت مصرف‌کننده می‌تواند منجر به مسمومیت شود [۲]. به‌طور سالانه ۲۰ درصد از جمعیت کره زمین دچار مسمومیت غذایی می‌شوند که از این مقدار ۰/۵ درصد منجر به مرگ مصرف‌کننده می‌شود. به‌دنبال این چالش، شرکت‌های صنایع غذایی به منظور حفظ کیفیت و نگهداری مواد غذایی پیش از بسته بندی از انواع ترکیبات نگهدارنده سنتزی مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول (BHA)، بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) و تترا بوتیل هیدروکسینون (TBHQ)، و به منظور کاهش عوامل باکتریایی مسمومیت‌های غذایی از روش‌هایی همچون اعمال فشار هیدرواستاتیک، اشعه‌دهی، پاستوریزه و استریلیزه کردن استفاده می‌نمایند [۳]. آلرژی‌زایی، سرطان‌زایی احتمالی، هزینه بالا و محدودیت‌های مصرف ترکیبات سنتزی روش‌های یاد شده، تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از آن‌ها را در فرآیند پیش از بسته‌بندی کاهش داده که همین امر منجر به تلاش پژوهشگران و صنایع برای

جلب رضایت مصرف‌کنندگان شده است [۳]. تاکنون پژوهش‌های گسترده در زمینه نگهدارنده‌های طبیعی با خواص ضد میکروبی و ضد اکسیدانی در صنعت غذایی انجام شده است که نتایج آن‌ها حاکی از اثر بخشی عصاره‌ها، اسانس‌ها و یا ترکیبات موثره آن‌ها نظیر فنول‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، آروماتیک‌ها بر کاهش سرعت فساد میکروبی و اکسید شدن چربی در شرایط نگهداری با دمای یخچال و انجماد بوده است [۴-۸]. برخی از این مطالعات شامل بررسی اثر گلبرگ گیاه پروانه‌ای، رزماری، آویشن، انار و مرزنجوش بوده است که نتایج حاکی از افزایش طول عمرتازگی به واسطه کاهش اکسیداسیون چربی‌ها، کاهش بار میکروبی کل و سرماگرا و همچنین کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های ناشی از عوامل بیماری‌زای مواد غذایی مانند سالمونلا بونگری، لیستریا مونوسایتوزنز، اشریشیا کلای و غیره بوده است [۹-۱۱]. گیاه آب‌تره با نام علمی (*Nasturtium officinale*) به صورت فصلی هنگام بهار و پاییز در چشمه‌های آب شیرین مناطق کوهستانی رشد می‌نماید و دارای خواص دارویی شناخته شده‌ای است [۱۲]. استفاده روزانه از عصاره آب‌تره در مقادیر ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم به ازای وزن بدن برای پیشگیری از دیابت، کاهش آسیب DNA، پیشگیری از سرطان پستان و پروستات، کنترل رشد سلول‌های سرطان کلون و کاهش استرس اکسیداتیو در پژوهش‌ها توصیه شده است [۱۳-۱۶]. همچنین اثرات اثبات شده عصاره اتانولی برگ، گل و ریشه آن در کنترل رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، بیماری‌های عفونی، ذات‌الریه، سیاه‌سرفه و انواع کیست باعث شده که ایده قابلیت استفاده آن به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی با قابلیت ضد اکسیدان، ضد میکروبی و بازدارنده رشد عوامل بیماری‌زای مواد غذایی بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد و بررسی شود [۱۲، ۱۴]. در این راستا میزان ترکیبات فنولی، اثر عصاره اتانولی آب‌تره بر مهار رادیکال‌های آزاد، بازدارندگی از رشد باکتری‌های لیستریا مونوسایتوزنز، اشریشیا کلای، استفیلا کوكوس اورئوس و سالمونلا انتریتیدیس بررسی و سپس قابلیت آن به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی برای افزایش عمر ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ روز مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### نمونه برداری

مقدار ۱ کیلو گرم نمونه گیاهی در شهرستان قروه استان کردستان مختصات جغرافیایی با عرض ۷۱۷۰۰۹، طول ۳۸۸۲۵۲ و ارتفاع ۱۸۹۰ متر از سطح دریا در فصل پاییز جمع‌آوری شد. پس از خشک کردن در شرایط تاریکی و دمای محیط به آزمایشگاه علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس واقع در شهرستان نور منتقل و به صورت پودر در آورده شد.

### استخراج عصاره

مقدار ۱۰۰ گرم از پودر گیاه آب‌تره در حلال‌های ۴۵، ۶۵، ۷۵ و ۹۶ درصد اتانولی (نسبت وزنی ۶:۱) با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت همزده شد. عصاره به دست آمده در نهایت با سانتریفیوژ ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه از پودر گیاه جدا شد. پس از تغلیظ توسط روتاری در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد و توسط خشک‌کن انجمادی به صورت پودر در آمد (۱۳). میزان بازدهی استخراج بر حسب ۱۰۰ گرم وزن خشک بدست آورده شد.

### فنول کل

اندازه‌گیری مقدار فنول کل با استفاده از روش فولین-سیوکالتو با اندکی تغییر انجام شد (۷). مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره و محلول اسیدتانیک با ۴۰۰ میکرولیتر آب مقطر به‌طور جداگانه حل شد. مقدار ۲۵۰ میکرولیتر محلول معرف فولین سیوکالتیو (۰/۱ مولار) و ۱/۲۵ میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات ۱۲/۵ درصد (w/v) به هر محلول اضافه شد و پس از نگهداری به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۵۰ نانومتر خوانده شد.

### تعیین فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

تعیین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH مطابق روش (۱۴) با اندکی تغییر انجام شد. بدین صورت که ۱۰۰ میکرولیتر از محلول اتانولی ۰/۱ میلی‌مولار رادیکال آزاد DPPH در پلیت ۹۶ خانه دستگاه الایزا با ۱۰۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره و

اسیدآسکوربیک در اتانول به‌عنوان کنترل با هم مخلوط شد و پلیت به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق قرار گرفت. سپس، جذب غلظت‌های مختلف نمونه با استفاده از الایزا در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط عصاره مطابق رابطه (۱) زیر محاسبه گردید:

$$RSA\% = ((A_0 - A_1) / A_0) * 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

RSA: درصد خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد،  $A_0$ : جذب کنترل بعد از زمان ۳۰ دقیقه (اتانول + DPPH)،  $A_1$ : جذب نمونه بعد از زمان ۳۰ دقیقه و از محلول آسکوربیک اسید نیز به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شدند.

#### تعیین فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد ABTS

بررسی قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد ABTS طبق روش [۱۵] با اندکی تغییر انجام پذیرفت. محلول ABTS ۷ میلی‌مولار با پتاسیم با محلول پرسولفات ۲/۴۵ میلی‌مولار مخلوط شد و قبل از استفاده، به‌مدت ۱۶-۱۲ ساعت در تاریکی در دمای اتاق ماند. محلول ABTS تا رسیدن به جذب ۰/۷ در طول موج ۷۳۴ نانومتر با اتانول رقیق شد. مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از هر نمونه در غلظت‌های ۱۰۰۰ - ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و محلول استاندارد آسکوربیک اسید در غلظت‌های ۲۰۰ - ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول ABTS مخلوط شد و به‌مدت ۲۰ دقیقه ساکن ماند و سپس جذب آن در طول موج ۷۳۴ نانومتر خوانده شد. درصد ABTS\*مهار شده با استفاده از معادله زیر محاسبه شد.

$$ABTS\% = ((A_C - A_S) / A_C) * 100 \quad \text{رابطه (۲)}$$

که در آن  $A_C$ ، نشان‌دهنده جذب کنترل (۵۰۰ میکرولیتر اتانول همراه با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول ABTS) و  $A_S$  نشان‌دهنده جذب نمونه است. محلول آسکوربیک اسید نیز به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شدند.

#### آماده‌سازی پاتوژن‌ها

آمپول‌های لیوفلیزه باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژنز، استافیلو کوکوس ارئوس، سالمونلا انتریدیس و اشیرشیا کلای که از مرکز ژنتیکی تهیه شد در ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت تریپتون سوی براث (TSB) به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌منظور فعال‌سازی کشت داده شدند. در ادامه باکتری‌ها از محیط کشت به‌وسیله سانتریفیوژ (۸۰۰۰ rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه) جدا شده و با سرم فیزیولوژی شست‌وشوی آن‌ها انجام شد. با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر با رقت‌سازی جذب نمونه‌ها به حدود ۰/۸-۰/۱ رسانده شد که معادل  $10^8$  CFU/ml است.

#### آزمون مهار رشد پاتوژن‌ها

به‌منظور سنجش اثر عصاره بر رشد پاتوژن‌های بیماری‌زای مواد غذایی باکتری‌های گرم مثبت لیستریا مونوسیتوژنز (PTCC 1298)، استافیلو کوکوس ارئوس (ATCC 25923)، سالمونلا انتریتیدیس (ATCC 10145) و اشیرشیا کلای (ATCC 10536) در بهداشت فرآورده‌های شیلاتی در این پژوهش سویه استاندارد و آمپول‌های لیوفلیزه پاتوژن‌های مذکور از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از رقت  $10^5$  CFU/ml<sup>-۱</sup> سویه‌ها در محیط کشت عمومی پلیت کانت آگار به‌صورت سطحی کشت داده شد. دیسک‌های ۴ میلی‌متری غنی شده با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌ها، پس از حلال‌پرانی روی پلیت قرار داده شدند. از آب دیونیزه به‌عنوان شاهد منفی استفاده شد. میزان هاله بازدارندگی پس از ۲۴ ساعت گزارش شد [۱۱].

#### بررسی اثر عصاره بر ماندگاری فیله ماهی

آماده‌سازی ماهی و بسته‌بندی در نگهداری با دمای ۴°C ماهی قزل‌آلا به‌صورت تازه از بازار شهرستان نور خریداری و در یونولیت با پوشش یخ به آزمایشگاه علوم دریایی منتقل شد. به‌منظور بررسی اثر عصاره اتانولی آب‌تره با غلظت ۰/۱ درصد بر ماندگاری فیله‌های  $12 \pm 7$  گرمی پس از غوطه‌ور شدن به‌مدت ۵ دقیقه بسته‌بندی شدند. سپس بسته‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد طی مدت ۱۲ روز نگهداری و در هر ۴ روز یعنی روزهای ۰، ۴، ۸ و ۱۲ وضعیت بار میکروبی کل (TVC)، بار میکروبی سرماگرا (PTC)، pH، TVB-N، PV و TBA بررسی شد.

آزمون تعیین بار میکروبی کل (TVC) و سرماگرا (PTC)

مقدار ۵ گرم از فیله در ۴۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی همگن شد و پس از ساخت رقت‌ها برای شمارش باکتری‌های کل و باکتری‌های سرماگرا در نمونه‌های تهیه شده، از محیط کشت پلیت کانت آگار استفاده شد. پس از تهیه نمونه و رقت‌های اعشاری رقت‌های مورد نیاز روی محیط کشت‌ها به صورت پورپلیت کشت داده شدند و جهت شمارش پلیت کانت‌های کشت داده شده مربوط به باکتری‌های مزوفیل بعد از گذشت ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ °C و برای پلیت‌های مربوط به باکتری‌های سرماگرا بعد از ۴۸ روز انکوباسیون در ۱۰ °C اقدام صورت گرفت [۱۷].

pH

مقدار pH عضله ماهی در طول دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با استفاده از pH متر lenzkrieh مدل testo ۲۰۵، ساخت آلمان اندازه‌گیری شد.

سنجش مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) با استفاده از سل میکرودیفیوژن کانوی مطابق روش Siang, N. و L. Kim سنجش گردید [۱۸]. در ادامه مقدار مجموع بازهای نیتروژنی فرار برحسب میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم بافت ماهی با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد:

$$TVB - N(mgN / 100g) = \frac{(V_S - V_B) * (N_{HCL} * A_n) * V_E * 100}{W_S}$$

رابطه (۳)

در این رابطه  $V_S$  حجم مصرفی اسیدکلریدریک ۰/۰۲ نرمال برای نمونه اصلی،  $V_B$  حجم مصرفی اسیدکلریدریک ۰/۰۲ نرمال برای نمونه شاهد،  $N_{HCL}$  نرمالیته اسیدکلریدریک مصرفی،  $A_n$  جرم اتمی نیتروژن (معادل ۱۴)،  $W_S$  وزن نمونه بافت ماهی و  $V_E$  حجم تری کلرواستیک اسید مصرفی برای استخراج عصاره بافت ماهی هستند.

پراکسید (PV)

ابتدا مقدار ۰/۳ گرم روغن داخل یک ارلن ۵۰ میلی لیتری توزین شد. در ادامه ۱۰ میلی لیتر حلال (اسید استیک کلروفرمی) به نمونه افزوده و همراه با تکان دادن ظرف حل شد. سپس، مقدار ۱ میلی لیتر محلول پتاسیم یدید اشباع به محلول درون ارلن اضافه شده و به مدت دقیقاً یک دقیقه همراه با تکان شدید و ثابت، نگهداری شد. بعد از طی شدن زمان مذکور، مقدار ۳۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. در ادامه، ۱ میلی لیتر از محلول ۱ درصد نشاسته به محلول‌ها اضافه و تماماً تکان داده شد. در این زمان رنگ محلول به صورت بنفش در آمد. سپس محلول‌ها با استفاده از محلول تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تا ناپدید شدن رنگ بنفش تیترو شدند. به منظور تکان دادن ممتد و مؤثر محلول حاوی نمونه و همچنین مشاهده بهتر تغییر رنگ طی مراحل تیتراسیون از یک همزن مغناطیسی و آهن‌ربا استفاده شد (۱). حجم تیوسولفات سدیم نهایی اضافه شده ثبت شد. همزمان یک تست شاهد (بدون افزودن روغن یا چربی استخراجی) انجام شد (رابطه ۴).

$$PV = [(S-B) \times N \times 1000] / W$$

رابطه (۴)

$S$  = حجم (میلی لیتر) تیوسولفات سدیم مورد نیاز برای تیترو کردن نمونه،  $B$  = حجم (میلی لیتر) تیوسولفات سدیم مورد نیاز برای نمونه شاهد،  $N$  = نرمالیته محلول تیوسولفات سدیم،  $W$  = وزن نمونه (گرم).

مقدار تیوباریتوریک اسید (TBA)

مقدار ۲۰۰ میلی گرم از نمونه چرخ شده فیله به یک بالن ۲۵ میلی لیتری انتقال و با ۱-بوتانول به حجم رسانده شد. ۵ میلی لیتر از محلول فوق به لوله‌های درب دار خشک منتقل شده و مقدار ۵ میلی لیتر محلول تیوباریتوریک اسید در ۱-بوتانول به لوله افزوده شد. لوله‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و پس از رسیدن به دمای محیط جذب آن‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر در مقابل شاهد ۱-بوتانول خوانده شد (۱).

شد (۱).

## روش آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های آماری در نرم افزار SPSS ۲۲ صورت پذیرفت. به منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی به دست آمده از آزمایش‌های شیمیایی و میکروبی پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همگنی داده‌ها از آزمون لون، مقایسه آماری میزان فنل کل، مهار رادیکال DPPH، ABTS و مهار رشد پاتوژن‌های بیماری‌زا از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (سطح اطمینان ۹۵ درصد) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد. در ادامه جهت مقایسه تیمار شاهد با تیمار منتخب حاوی عصاره آب‌تره در ارزیابی‌های میکروبی و شیمیایی از آزمون تی مستقل در سطح اطمینان ۹۵ درصد تعیین شد. همچنین با استفاده از نرم افزار اکسل نمودارها ترسیم شدند.

## نتایج

## بازدهی استخراج عصاره

درصد بازدهی استخراج عصاره‌های اتانولی از برگ گیاه آب‌تره در جدول ۱ آورده شده است که مطابق آن تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای استخراج شده با اتانول ۶۵، ۷۵ و ۹۶ درصد وجود ندارد، ( $P > 0.05$ ) کمترین میزان بازدهی مربوط به تیمار اتانولی ۴۵ درصد بوده است که دارای اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها می‌باشد ( $P \leq 0.05$ ).

## میزان فنول کل

بیشترین میزان فنول کل در عصاره‌ها مربوط به تیمار ۶۵ درصد اتانول بود که اختلاف معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) با سایر تیمارها داشت (جدول ۱).

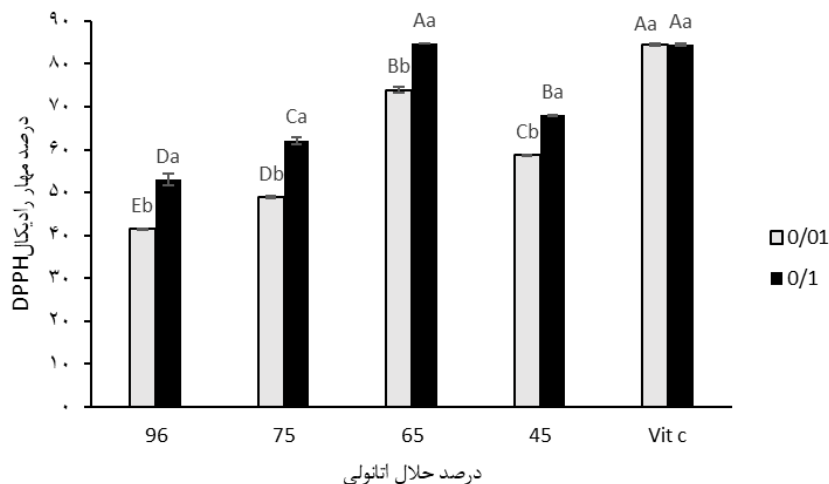
جدول ۱- میزان درصد بازدهی استخراج عصاره و مقدار فنول کل

فنول کل $\pm$ انحراف معیار (mg/g)	بازدهی (%)	درصد اتانول در حلال
$73 \pm 74 \ 2/53^b$	۱۳ <sup>b</sup>	۴۵
$88/60 \pm 2/46^a$	۲۰ <sup>a</sup>	۶۵
$61 \pm 74 \ 1/53^d$	۱۸ <sup>a</sup>	۷۵
$68 \pm 74 \ 1/83^c$	۲۱ <sup>a</sup>	۹۶

\*سطح معنی‌داری ۹۵ درصد

## اثر ضد اکسیدانی عصاره بر رادیکال DPPH

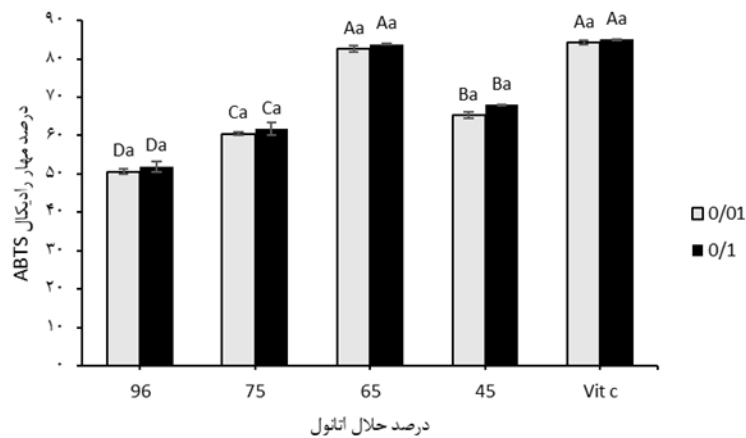
میزان ضد اکسیدانی عصاره استخراج شده (نمودار ۱) با حلال‌های ۴۵، ۶۵، ۷۵ و ۹۶ درصد اتانولی تفاوت معنی‌داری در هر دو غلظت نشان دادند ( $P \leq 0.05$ ) مطابق نمودار بالاترین غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و کمترین ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در هر عصاره بود. همچنین بین شاهد اسید آسکوربیک و عصاره استخراج شده با ۶۵ درصد اتانول در غلظت ۰/۱ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $P \leq 0.05$ ) اما در بین سایر نسبت‌های اتانولی و غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تفاوت معنی‌داری بوده است.



نمودار ۱- مقایسه اثر ضد اکسیدانی عصاره استخراج شده با حلال‌های اتانولی ۹۶، ۷۵، ۶۵، ۴۵ و ۹۶ درصد بر رادیکال DPPH (حروف بزرگ مقایسه درصد اتانول حلال و حروف کوچک مقایسه دو غلظت عصاره) \*سطح معنی داری ۹۵ درصد

اثر ضد اکسیدانی عصاره بر رادیکال ABTS

میزان ضد اکسیدانی عصاره استخراج شده با حلال‌های ۹۶ و ۷۵، ۶۵، ۴۵ درصد اتانولی تفاوت معنی داری ( $P \leq 0.05$ ) در هر دو غلظت نشان دادند (نمودار ۲). مطابق نمودار بالاترین غلظت ۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر و کمترین ۰/۰۱ میلی گرم بر میلی لیتر در هر عصاره بود. همچنین بین شاهد اسید آسکوربیک و عصاره استخراج شده با ۶۵ درصد اتانول در هر دو غلظت تفاوت معنی داری ( $P > 0.05$ ) مشاهده نشد.



نمودار ۲- مقایسه اثر ضد اکسیدانی عصاره استخراج شده با حلال‌های اتانولی ۹۶ و ۷۵، ۶۵، ۴۵ درصد بر رادیکال ABTS (حروف بزرگ مقایسه درصد اتانول حلال و حروف کوچک مقایسه دو غلظت عصاره) \*سطح معنی داری ۹۵ درصد

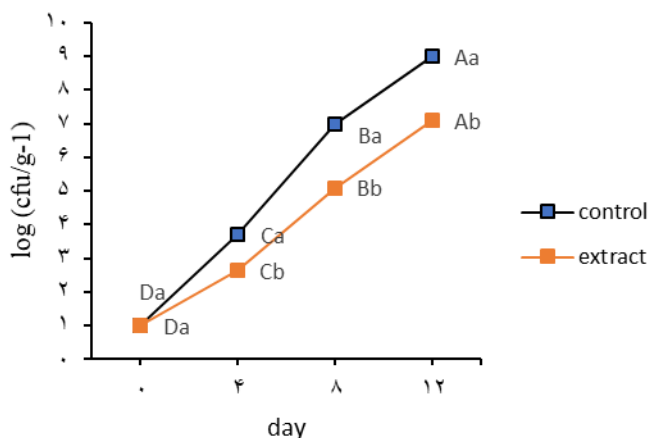
اثر عصاره‌ها بر مهار رشد پاتوژن‌های بیماری‌زا

مطابق نتایج بدست آمده (جدول ۲) درصد اتانول حلال تاثیر قابل توجهی در استخراج ترکیبات ضد میکروبی دارد. به طوری که عصاره‌های ۴۵ و ۶۵ درصد اتانولی با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از قابلیت ضد میکروبی بالاتر بر پاتوژن‌های بیماری‌زا گرم مثبت (لیستریا منوسایتوژنز، استافیلوکوکوس ارئوس) و منفی (سالمونلا انتریتیدیس، اشیرشیا کلای) برخوردار بودند.

جدول ۲- مقایسه اثر مهار پاتوژن‌های بیماری‌زا در عصاره‌های اتانولی آب تره (mm)

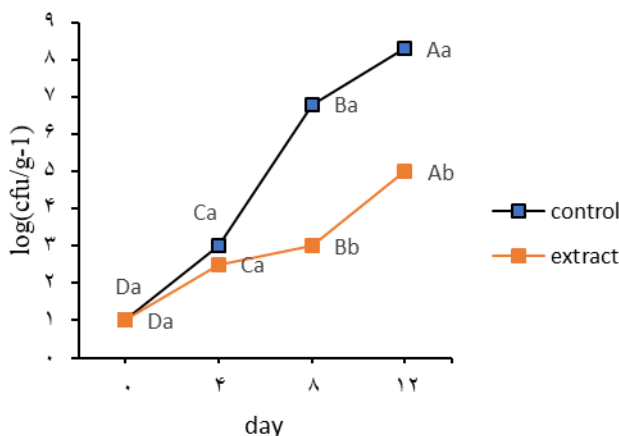
درصد اتانول در	لیستریا منوسایتوژنز	استافیلو	کوکوس	سالمونلا	اشیرشیا کلای
۴۵	۵	۹	۷	۸	۸
۶۵	۱۰	۸	۱۱	۸/۱	۸/۱
۷۵	---	۸/۱	۸	۶	۶
۹۶	---	۸	۹	۷	۷

بررسی اثر غوطه‌وری بر بار باکتریایی کل فیله طی دوره نگهداری با دمای یخچال مطابق نتایج بدست آمده بار باکتریایی کل سیر صعودی داشته که تیمار حاوی آب‌تره دارای بار باکتریایی کمتری و طول عمر تازگی بیشتری نسبت به نمونه شاهد بوده است (نمودار ۳). بار باکتریایی کل روز صفر در تیمار غوطه‌ور شده و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری ( $P > 0.05$ ) را نشان نداد اما پس از شروع دوره نگهداری اختلاف معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) در میزان رشد باکتریایی تیمار حاوی عصاره آب‌تره و شاهد مشاهده شد، به طوری که در روز ۸ میزان بار باکتریایی نمونه شاهد به ۷/۱ و نمونه حاوی عصاره به ۵/۱ رسیده بود (نمودار ۳).



نمودار ۳- مقایسه بار باکتریایی کل نمونه حاوی عصاره و شاهد در دوره نگهداری با دمای یخچال (حروف بزرگ مقایسه تیمار در زمان و حروف کوچک مقایسه تیمار شاهد و حاوی عصاره در روز) \*سطح معنی‌داری ۹۵ درصد

بررسی اثر غوطه‌وری بر بار باکتریایی سرماگرا فیله طی دوره نگهداری با دمای یخچال در رابطه با میزان بار باکتریایی سرماگرا نمودار (۴) نیز روند شمارش در طول دوره افزایشی بوده است، در روز صفر بین نمونه شاهد با تیمار حاوی عصاره اختلاف معنی‌داری ( $P > 0.05$ ) نبود اما در ادامه اختلاف معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) در تیمار حاوی عصاره و شاهد بود.



نمودار ۴-مقایسه بار باکتریایی سرماگرا نمونه حاوی عصاره و شاهد در دوره نگهداری با دمای یخچال (حروف بزرگ مقایسه در زمان و حروف کوچک مقایسه تیمار شاهد و حاوی عصاره در روز) \*سطح معنی داری ۹۵ درصد

بررسی اثر غوطه‌وری بر pH فیله طی دوره نگهداری با دمای یخچال

مطابق نتایج بدست آمده از بررسی pH دو تیمار شاهد و حاوی آب‌تره مقدار شاخص در طول دوره افزایش داشت (جدول ۲).

بررسی اثر غوطه‌وری بر بازهای نیتروژن‌دار فرار کل (TVB-N) فیله طی دوره نگهداری با دمای یخچال

نتایج بدست آمده از بررسی خواص عصاره بر میزان TVB-N فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان در دوره نگهداری با دمای یخچال در جدول (۲) آورده شده است. مطابق نتایج بدست آمده اختلاف معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) بین تیمار شاهد و حاوی عصاره در شاخص TVB-N وجود داشت. میزان ترکیبات TVB-N در دوره نگهداری تیمار حاوی عصاره آب‌تره با شیب ملایمی افزایش و در روز پایانی به میزان  $44/33 \pm 1/24$  میلی‌گرم نیتروژن به ازای هر ۱۰۰ گرم فیله رسید.

بررسی اثر غوطه‌وری بر پراکسید (PV) فیله طی دوره نگهداری با دمای یخچال

نتایج بدست آمده از بررسی خواص عصاره بر میزان پراکسید فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان در دوره نگهداری با دمای یخچال نشان دهنده روال افزایشی مقادیر این شاخص در طول دوره نگهداری بوده است (جدول ۲). مطابق نتایج بدست آمده اختلاف معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) بین تیمار شاهد و حاوی عصاره در شاخص وجود داشت. میزان پراکسید در دوره نگهداری تیمار حاوی عصاره آب‌تره با شیب ملایمی افزایش و در روز پایان به میزان  $6/44 \pm 1/24$  کیلوگرم چربی رسید که نسبت به تیمار شاهد کمتر بود.

بررسی اثر غوطه‌وری بر تیوباربیئوریک اسید (TBA) طی دوره نگهداری با دمای یخچال

در بررسی اثر عصاره بر شاخص اکسیداسیون چربی TBA مشخص شد (جدول ۲) که اختلاف معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) بین تیمار حاوی عصاره آب‌تره و تیمار شاهد وجود دارد. میزان شاخص TBA تیمار شاهد از  $0/056 \pm 0/002$  به  $1/253 \pm 0$  در روز ۱۲ نگهداری رسید در حالی که این شاخص در روز آخر تیمار حاوی عصاره مقدار شاخص برابر با  $1/025 \pm 0$  بوده است.

جدول ۳ مقایسه آماری تیمار حاوی عصاره با تیمار شاهد در دوره نگهداری (حروف بزرگ مقایسه هر تیمار در زمان و حروف کوچک مقایسه

تیمار شاهد و حاوی عصاره در روز)

آزمون	روز	شاهد	فیله حاوی عصاره
pH	۰	$5/0 \pm 5/38$ Da	$5/0 \pm 6/5$ Da
	۴	$6/0 \pm 3/28$ Ca	$6/0 \pm 5/08$ Ca
	۸	$8/0 \pm 0/33$ Ba	$7/0 \pm 76/053$ Ba



۸/۰±۱۶/۹۳ Aa	۸/±۲۳.۰/۱۷ Aa	۱۲	<b>TVB-N</b> (mg/100g <sup>-1</sup> )
±۱۲.۰/۸۱۶ Da	۱۲/۱±۳۳/۲۴ Da	۰	
±۱۵.۰/۸۱۶ Bb	۲۵/۲±۳۳/۸۶ Ca	۴	
±۲۵.۲/۴۴ Cb	۴۶/۰±۳۳/۴۷ Ba	۸	
۴۴/۵۳ ۱±/۲۴ Ab	۸۱/۱±۶۶/۲۴ Aa	۱۲	
۰/۱۱± ۰/۰۰۸ Da	۰/۱۱± ۰. Da	۰	<b>PV</b> (meq/Kg <sup>-1</sup> )
۰/۸۰۶± ۰/۰۰۴ Cb	۰/۸۶۶± ۰/۰۱۲ Ca	۴	
۳/۴۴۶.۰±/۰۱۴ Bb	۵/۵۱± ۰/۰۳۴ Ba	۸	
۶/۴۴.۰±/۰۰۱۴ Ab	۸/۵۱± ۰/۰۳۴ Aa	۱۲	
۰/۰۵۵± Da	۰/۰±۰۵۶/۰۰۲ Da	۰	<b>TBA</b> (mg MDA/Kg <sup>-1</sup> )
۰/±۲۴۳ ۰/۰۰۱ Cb	۰/۰±۴۸۳/۰۰۴ Ca	۴	
۰/۶۲۲.۰±/۰۰۱ Bb	۰/۰±۷۵۷/۰۰۱ Ba	۸	
۱/±۰۲۵.۰ Ab	۱/۰±۲۵۳ Aa	۱۲	

\*سطح معنی داری ۹۵ درصد

## بحث

اصولاً درصد حلال اتانولی به کار برده شده طی فرآیند استخراج می‌تواند تأثیر بسزایی در بازدهی استخراج، خواص و عملکرد آن داشته باشد (جدول ۱) [۱۴]. در این پژوهش نیز مطابق نتایج جدول ۱ بالاترین درصد بازدهی مربوط به اتانول ۶۵ درصد بوده است که مشابه دیگر یافته‌ها بود [۱۸]. بالاترین درصد فنول استخراج شده نیز مربوط به تیمار ۶۵ درصد اتانول بوده است.

در بررسی نتایج ضداکسیدانی عصاره‌های اتانولی مهار رادیکال DPPH نیز به ترتیب بالاترین میزان خاصیت ضداکسیدانی مربوط به استخراج با اتانول ۶۵ درصد، ویتامین C < ۴۵ درصد < ۷۵ درصد < ۹۶ درصد بوده است که نشان‌دهنده افزایش فعالیت ضداکسیدانی عصاره با افزایش غلظت عصاره و نسبت آب/اتانول می‌باشد که با نتایج Ozen و همکاران [۱۴] در رابطه با مقایسه استخراج آبی و اتانولی در مهار رادیکال DPPH همسو است. بیشتر خواص ضداکسیدان و ضد میکروبی گیاه آب‌تره مرتبط با ترکیبات فنولی است (جدول ۱) [۱۲].

بررسی نتایج ضداکسیدانی عصاره‌های اتانولی مهار رادیکال ABTS نیز به ترتیب بالاترین میزان خاصیت ضداکسیدانی مربوط به استخراج با اتانول ۶۵ درصد، ویتامین C < ۴۵ درصد < ۷۵ درصد < ۹۶ درصد بوده است که نتایج حاصله یافته‌های قبلی Ozen و همکاران [۱۴]، همچنین یافته‌های Yazdanparast و همکاران [۱۶] مبنی بر بهینه‌ترین درصد حلال برای استخراج ترکیبات ضداکسیدانی از گیاه آب‌تره نسبت ۶۵-۵۰ درصد است را تایید می‌نماید (نمودار ۲).

همچنین ترکیبات استخراج شده با حلال‌های مختلف دارای اثرات متفاوتی بر پاتوژن‌های گرم مثبت و منفی هستند. در پژوهش حاضر مشخص شد که با افزایش درصد آب فعالیت ضد میکروبی تا حدی افزایش می‌یابد که تأثیر بسزایی بر پاتوژن‌های گرم مثبت و منفی دارد (جدول ۲). عصاره ۶۵ درصد اتانولی آب‌تره بر باکتری‌های مورد مطالعه اثر مهاری داشته که مشابه نتایج سایر پژوهشگران بر باکتری‌های *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* گرم منفی و *Bacillus cereus*، *Enterococcus faecalis* و *Mycobacterium tuberculosis* گرم مثبت بوده است [۱۲]. یکی از دلایل این اثر بخشی بر کنترل رشد باکتری‌ها مکانیسم عمل عصاره در سلول باکتری است. در واقع سلول باکتریایی پس از

قرار گیری در معرض گروه‌های فنولی عصاره آب‌تره دچار تداخل در جذب مواد مغذی، توقف فعالیت آنزیمی و جابجایی الکترونی در غشا می‌شود؛ سپس برهم خوردن تبادلات باکتری در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود [۲۰].

#### شاخص میکروبی

حد مجاز به مصرف بار باکتریایی کل یا مزوفیل در گونه‌های آب شیرین لگاریتم  $(cfu/g^{-1})$  ۱-۵ پیشنهاد شده است [۱]. باکتری‌های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد، باکتری‌های گرم منفی سرماگرا هستند [۲۱] که حد مجاز به مصرف آنها نیز لگاریتم ۶ تعیین شده است. با افزایش طول مدت نگهداری شمار باکتری‌های مزوفیل و سرماگرا تیمار شاهد افزایش بیشتری نسبت به تیمار حاوی عصاره داشت (نمودار ۳ و ۴). نتایج این پژوهش نیز مانند سایر پژوهش‌ها نقش ترکیبات فنولی و فنولی-گوگردی را در جلوگیری رشد باکتری‌های سرماگرا و مزوفیل نشان داد [۲۰]. مسمومیت ناشی از گروه‌های فنولی عصاره آب‌تره از طریق ایجاد تداخل در جذب مواد مغذی با اشغال کردن پروتئین‌های دیواره سلولی، دناتوره نمودن آنزیم و حتی با از دسترس خارج کردن مواد معدنی پس از واکنش منجر به کاهش رشد باکتریایی می‌شود که با نتایج سایر پژوهش‌ها نیز همخوانی دارد [۲۰].

#### شاخص pH

در طول دوره نگهداری مقدار pH در ابتدا کم و سپس افزایش یافت که این فرایند در ارتباط با جمود نعشی و ذخایر گلیکوژنی موجود در فیله ماهی است (جدول ۳). افزایش اسیدیته می‌تواند در ارتباط با ترکیبات آمینی فرار مانند تولید آمونیاک باشد و یا فعالیت آنزیمی باکتری در افزایش این شاخص موثر باشد [۱، ۲۰].

#### شاخص بازهای فرار نیتروژنی

مجموعه آمونیاک و بازهای آمین دار فرار یکی از شاخص‌های کنترل کیفیت ماهی تازه است که حد مجاز مصرف آن ۲۵ میلی‌گرم به ازای ۱۰۰ گرم گوشت تعیین شده است [۲۱]. این ترکیبات در نتیجه تجزیه شیمیایی فیله تشکیل می‌شوند، بنابراین می‌توان افزایش این شاخص در طول دوره نگهداری را با وقوع فساد مرتبط دانست [۲۲]. نتایج حاصل از مقایسه تیمار حاوی عصاره آب‌تره با شاهد نشان داد که عصاره آب‌تره با داشتن خاصیت ضد میکروبی خود می‌تواند بر میزان شاخص TVB-N نیز اثر بگذارد (جدول ۳).

#### شاخص پراکسید

برای تعیین هیدروپراکسید به عنوان یکی از ترکیبات اولیه اکسیداسیون چربی در ماهیان از شاخص پراکسید استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر تا روز دوازدهم مقدار شاخص در هر دو تیمار افزایش داشته است، میزان پراکسید در تیمار شاهد و غوطه‌ور شده از حد استاندارد ۱۰ الی ۲۰ اکی والان پراکسید بر کیلوگرم چربی ماهی کمتر بوده است که شاید به علت واکنش‌های ثانویه اکسیداتیو، تولید کربونیل‌ها و ترکیبات فرار باشد [۳]. واکنش‌های ثانویه اکسیداتیو شامل واکنش با پروتئین‌های قابل حل در نمک و تولید ترکیبات کربونیلی نظیر استالدئید و پروپیونالدئید، استون و اسیدهای چرب فرار مانند اسید کاپروئیک، اسید پروپینیک باشد که از جمله دلایل کاهش مقدار پراکسید هستند (جدول ۳) [۱].

#### شاخص تیوباربتوریک اسید

تیوباربتوریک اسید شاخص میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به‌ویژه آلدهیدها است [۱]. روند افزایشی این شاخص ممکن است به علت افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در فیله باشد [۳]. همچنین آلدهید به عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون از تجزیه هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شوند [۳]. روند افزایش هیدروپراکسیدها نیز می‌تواند علت افزایش میزان این شاخص باشند (جدول ۳). کمتر بودن مقدار شاخص تیوباربتوریک اسید در تیمار شاهد و حاوی عصاره می‌تواند مرتبط با خواص عملکردی ضد اکسیدانی گیاه آب تره، حضور انواع گروه‌های عاملی فنولی، فنولی-گوگردی و آروماتیکی در آن باشد [۷، ۲۳، ۲۴] که در برگ‌ها بیشتر از ساقه و ریشه تجمع دارند [۱۳، ۱۶]. مطالعه انجام شده توسط Ozen و همکاران [۱۴]، همچنین مطالعه Zeb [۷] نشان داد که حدود ۶۰ درصد عصاره‌های استخراج شده از گیاه آب‌تره با حلال‌های آب و اتانول حاوی انواع

ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بوده است که در کاهش رادیکال‌های هیدروکسیل، سوپراکسید و رادیکال‌های سوپراکسید لیپیدها موثر هستند [۱۴]. همچنین ترکیبات فنولی با ایجاد تداخل در فعالیت آنزیمی باکتری‌ها می‌توانند بر کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده لیپید باکتریایی موثر باشند که منجر به کاهش شاخص TBA در نمونه حاوی عصاره گرد [۱۹]. یکی دیگر از علت‌های کاهش مالون دی‌آلدئید می‌تواند واکنش این ترکیب با پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و گلیکوژن باشد که از طریق کاهش مالون دی‌آلدئید منجر به کاهش شاخص TBA شود [۲۵]. نتایج این پژوهش نیز تاییدکننده کاهش میزان قابل توجهی از مقدار اکسیداسیون ثانویه لیپیدها با کاهش شاخص مالون دی‌آلدئید در فیله ماهی قزل‌آلا حاوی عصاره آب تره در مقایسه با تیمار شاهد بود که با نتایج Etemadi و همکاران [۲۵] همخوانی داشت.

#### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش مبتنی بر موثر بودن روش غوطه‌ور کردن نمونه‌ها در غلظت ۰/۱ درصد عصاره آب‌تره به‌منظور جلوگیری از بروز مسمومیت‌های ناشی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی بیماری‌زای مواد غذایی، همچنین کاهش اکسیداسیون لیپید و فساد میکروبی در فیله ماهی قزل‌آلا باشد. عصاره آب‌تره با توجه به خواص ضد میکروبی و ضد اکسیدانی که در طول دوره نگهداری با دمای یخچال از خود بر فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نشان داده است می‌تواند به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی در صنعت مواد غذایی معرفی و مورد استفاده قرار گیرد. از آن‌جا که به کار بردن روش‌هایی برای به حداقل رساندن بار باکتریایی و فساد اکسیداتیو در فرآورده‌های شیلاتی از اهمیت اقتصادی و بهداشتی برخوردار است، انجام پژوهش‌های بیشتر در بررسی اثر عصاره‌های گیاهی به‌عنوان نگهدارنده طبیعی ضروری است.

#### تشکر و قدردانی

از کارشناسان محترم آزمایشگاه منابع طبیعی و علوم دریایی دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس آقایان دکتر کمالی، مهندس نورانی و مهندس حسینی به سبب همکاری در پیش برد این پژوهش صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

#### منابع مورد استفاده

- 1- Jonušaitė, K., Venskutonis, P.R., Martínez-Hernández, G.B., Taboada-Rodríguez, A., Nieto, G., López-Gómez, A. and Marín-Iniesta, F. 2021. Antioxidant and Antimicrobial Effect of Plant Essential Oils and Sambucus nigra Extract in Salmon Burgers. *Foods*, 10(4): 776.
- 2- El-Beltagi, H., El-Mogy, M., Parmar, A., Mansour, A., Shalaby, T. and Ali, M. 2022. Phytochemical Characterization and Utilization of Dried Red Beetroot (*Beta vulgaris*) Peels Extract in Maintaining the Quality of Nile Tilapia Fish Fillet. *Antioxidants* 2022, 11, 906: s Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published
- 3- Huang, X., Lao, Y., Pan, Y., Chen, Y., Zhao, H., Gong, L., Xie, N. and Mo, C.-H. 2021. Synergistic Antimicrobial Effectiveness of Plant Essential Oil and Its Application in Seafood Preservation: A Review. *Molecules*, 26(2): 307.
- 4- Ramezani, L., Rajabzadeh, Q., Hosseini, F, Kh. 1398. "Effect of hydrolysis intensity on the functional properties of hydrolyzed protein of *Leiognathus bindus*." *Journal of Food Processing and Preservation*, In Persian. 10 (2): 137-149.
- 5- Riazi, F., Zeynali, F., Hoseini, E., Behmadi, H. and Savadkoobi, S. 2016. Oxidation Phenomena and Color Properties of Grape Pomace on Nitrite-Reduced Meat Emulsion Systems. *Meat Science*, 121(3): 350-358.
- 6- Santos, L. and Ramos, F. 2016. Analytical Strategies for the Detection and Quantification of Antibiotic Residues in Aquaculture Fishes: A Review. *Trends in Food Science and Technology*, 52(4): 16-30.

- 7- Zeb, A. 2015. "Phenolic profile and antioxidant potential of wild watercress (*Nasturtium officinale* L.)." Springer Plus 4(1): 1-7.
- 8- Cai, Y., Sun, M. and Corke, H. 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. Journal of agricultural and food chemistry, 51(8): 2288-2294.
- 9- Mary, S.K., Koshy, R.R., Daniel, J., Koshy, J.T., Pothen, L.A. and Thomas, S. 2020. Development of starch based intelligent films by incorporating anthocyanins of butterfly pea flower and TiO<sub>2</sub> and their applicability as freshness sensors for prawns during storage. RSC Advances, 10(65): 39822-39830.
- 10- Faizy, H. and S. Al-Zubaydi, Antioxidant assay (MTT) of watercress (*Nasturtium officinale*) bioactive compounds in Duhok/Kurdistan region of Iraq. Int J Chem Environ Bio Sci, 2017. 5: p. 50-7.
- 11- Alboofetileh, M., et al., 2014. Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogens. Food Control. 36(1): p. 1-7.
- 12- Klimek-Szczykutowicz, M., Szopa, A. and Ekiert, H. 2018. Chemical composition, traditional and professional use in medicine, application in environmental protection, position in food and cosmetics industries, and biotechnological studies of *Nasturtium officinale* (watercress)—a review. Fitoterapia, 129: 283-292.
- 13- Amiri, H. 2012. Volatile Constituents and Antioxidant Activity of Flowers, Stems and Leaves of *Nasturtium Officinale* R. Br. Natural Product Research, 26(2): 109-115.
- 14- Ozen, T. 2009. "Investigation of antioxidant properties of *Nasturtium officinale* (watercress) leaf extracts." Acta poloniae pharmaceutica 66(2): 187-193.
- 15- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radical biology and medicine, 26(9-10): 1231-1237.
- 16- Yazdanparast, R., Bahramikia, S. and Ardestani, A. 2008. *Nasturtium Officinale* Reduces Oxidative Stress and Enhances Antioxidant Capacity in Hypercholesterolaemic Rats. Chemico-Biological Interactions, 172(3): 176-184.
- 17- Iran M.A.V.T.S., 2006. Microbiology of feed and animal feed - test preparation, initial suspension and decimal dilutions for microbiological testing - Part 3: Special regulations for the preparation of fish and its products. In Persian., 13 p.
- 18- Jovanović, A.A., Đorđević, V.B., Zdunić, G.M., Pljevljakušić, D.S., Šavikin, K.P., Gođevac, D.M. and Bugarski, B.M. 2017. Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat-and ultrasound-assisted techniques. Separation and Purification Technology, 179: 369-380.
- 19- Siang, N. and L. Kim, (1992). Determination of trimethylamine oxide, trimethylamine and total volatile basic nitrogen by Conway's micro-diffusion method. Laboratory manual on analytical methods and procedures for fish and fisheries products, p. 3.1-3.6.
- 20- Amensour, M., Bouhdid, S., Fernández-López, J., Idaomar, M., Senhaji, N.S. and Abrini, J. 2010. Antibacterial activity of extracts of *Myrtus communis* against food-borne pathogenic and spoilage bacteria. International Journal of Food Properties, 13(6): 1215-1224.

- 21- Mohammadzadeh, b. And Rezaei. M., (2011), The effect of green tea extract on the fat quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during storage in ice. Iranian Journal of Natural Resources, In Persian. Quarterly 64.
- 22- Behnam, S., Anvari, M., Rezaei, M., Soltanian, S. and Safari, R., 2015. Effect of Nisin as a Biopreservative Agent on Quality and Shelf Life of Vacuum Packaged Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Stored at 4° C. Journal of Food Science and Technology, 52(4): 2184-2192.
- 23- Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., MORI, A., Fujita, Y., Yasuhara, T., YOSHIDA, T. and OKUDA, T. 1989. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI.: effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 37(8): 2016-2021.
- 24- Hatano, T., YAsUHARA, T., YosHIHARA, R., AGATA, I., NORO, T. and OkUDA, T. 1990. Effects of Interaction of Tannins with Co-existing Substances. VII.: Inhibitory Effects of Tannins and Related Polyphenols on Xanthine Oxidase. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 38(5): 1224-1229
- 25- Etemadi, H., Rezaei, M., (1387). "Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) in increasing the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)." Journal of Food Science and Technology, In Persian, 4.

## Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extract of watercress (*Nasturtium officinale*) on the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet at refrigerator temperature

Tara Zarei<sup>1</sup>, Masoud Rezaei\*<sup>1</sup>, Nader Bahramifar<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Seafood Processing technology, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

<sup>2</sup> Environmental Science and Engineering, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

### ABSTRACT

In addition to health effects, plant extracts can be used as natural preservatives with antioxidant and antimicrobial properties in the food industry. In this study, effect of antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extracts of watercress on the chemical and microbial quality of rainbow trout fillet at refrigerator temperature for 12 days was investigated. After drying the leaves at darkness and room temperature extract was extracted with 45, 65, 75 and 96% ethanol solvents for 24 hours at 65 °C. The results showed a significant difference ( $P \leq 0.05$ ) in yields and phenolic content, 0.1 mg/ml of extract 65% with an extraction efficiency of 20% the highest amount of total phenol ( $88.60 \pm 2.46\%$ ), DPPH ( $84.73 \pm 0\%$ ); and ABTS ( $83.83 \pm 0.06\%$ ) were. Also, the growth inhibition of the pathogenic bacteria *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis* in sample extracted with 65% ethanol had a significant difference with other extracts ( $P \leq 0.05$ ). Rainbow trout fillet samples in 65% ethanol extract showed lower levels of TVB-N, PV and TBA to the control treatment during storage ( $P \leq 0.05$ ). Rainbow trout fillet samples in 65% ethanol extract showed lower levels of TVB-N, PV and TBA indices of fillets compared to control treatment during storage ( $P \leq 0.05$ ). Talking about bacterial index, the amount of total and pseudomonas bacteria in the treatment containing the extract did not reach the maximum allowable limit ( $10^6$  cfu/g<sup>-1</sup>) by the twelfth day, Indicates the effectiveness of the extract on increasing the shelf-life of fillets compared to the control.

**KEYWORDS:** Natural preservatives, Watercress extracts, Rainbow trout fillets, Chemical and microbial changes.

### ARTICLE TYPE

Original Research

### ARTICLE HISTORY

Received: 21 March 2022

Accepted: 22 May 2022

ePublished: 20 June 2022

\* Corresponding Author:

\* Correspondent: E-mail: rezaei.ma@modares.ac.ir

© Published by Tarbiat Modares University