فصلنامه علمی ـ پژوهشی دورهٔ ۵، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۳۹۵، صفحه ۱۷– ۲۷

بررسی تاثیر پوشش خوراکی محتوی عصاره پوست انار (*Punica granatum*) بر کیفیت و ماندگاری فیله کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) هنگام نگهداری در یخچال

احمد ترخاصی[۱]، اسحق زکی پور رحیم آبادی[۲*]، ابراهیم علیزاده دوغیکلایی[۳] ،مصطفی یوسف الهی[۴]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل

۲– دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه سرا

۳– دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل

۴- دانشیار، گروه علوم دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

دریافت: ۹٤/۱۱/۰٦ پذیرش: ۹۵/۰۳/۲۳

*نویسنده مسئول مقاله: e_zakipour@yahoo.com

چکیده:

در این مطالعه تاثیر پوشش خوراکی محتوی عصاره پوست انار بر کیفیت و ماندگاری فیله کپور نقره‌ای در مدت زمان نگهداری در یخچال بررسی شد. محتوای فنل کل (۲٦۲,۵ میلی گرم تانیک اسید/گرم نمونه) و DPPH (87%) با استفاده از حلال متانول اندازه گیری شد. پوشش خوراکی با مخلوط (٦۰٪ آب + ۳۰٪ آرد گندم + ۱۰٪ آرد ذرت) تهیه شد. ماهی تازه ی فیله شده به سه تیمار: شاهد (بدون عصاره)، تیمار ۱ (فیله با ۵٪ در صد عصاره) و تیمار ۲ (فیله با ۱۰٪ در صد عصاره) تقسیم شد. فیله‌ها طی نگهداری در یخچال مورد ارزیابی شیمیایی **(pH,TBA)** و میکروبی (تعداد کل باکتری‌ها(TVC)، باکتری های سرمادوست(PTC)) قرار گرفتند. بر اساس نتایج، افزودن عصاره به طور قابل ملاحظه ای اکسیداسیون را در تیمار ۱ و ۲ نسبت به نمونه شاهد به تاخیر انداخت. طبق نتایج آنالیزهای میکروبی تیمار های ۱ و ۲ در روز نگهداری ۱۲ به بیشینه حد قابل قبول ($\log_{10}$ CFU/g) رسیدند در حالیکه نمونه شاهد در روز ۹ نگهداری به بیشینه حد قابل قبول ($\log_{10}$ CFU/g) رسید .

کلید واژگان: آنتی باکتریال، آنتی اکسیدان، ماندگاری، کپور نقره ای، پوشش خوراکی آرد گندم و ذرت

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-01-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.6.3]

مقدمه

بسیاری از تغییرات نامطلوب مانند فساد میکروبی و اکسیداسیون چربی در طول نگهداری گوشت در یخچال رخ می دهد. این واکنشها معمولا باعث از دست رفتن تازگی، فساد و در نتیجه کاهش عمر مفید محصول و کیفیت ماهی می شود (González-Fandos et al., 2005; Gram and Huss, 1996). اثرات زیان آور اکسیداسیون چربی در مواد غذایی با استفاده از عوامل آنتی اکسیدان و نگهدارنده های طبیعی به تاخیر می افتد. علاوه بر این، اکسیداسیون چربی به طور موثر با انتخاب فیلم ها و پوششهای خوراکی نفوذ پذیری اکسیژن را کاهش می دهد(Bonilla et al., 2011). اخیرا، آنتی اکسیدانها و نگهدارنده های طبیعی در صنایع غذایی نسبت به آنتی اکسیدانهای سنتزی پرطرفدار تر شده اند. در این میان، انار و محصولات مشتق آن در به تاخیر انداختن روند اکسیداسیون چربی در سنجش آزمایشگاهی[1] و موجود زنده[2] موثر نشان داده شده است (Noda et al., 2002; Devatkal and Naveena, 2010; Qu et al., 2010). گزارشها نشان داده است که پوست انار منبع غنی از تانن، فنل ها و ترکیبات فلانویدی است که فعالیت آنتی میکروبی و آنتی اکسیدانی قابل توجهی دارد (Ozkal and Dinc, 1994; Poyrazoglu et al., 2002; Machado et al., 2003; Voravuthikunchai et al., 2004). فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی در گوشت تازه و همچنین محصولات فرآوری شده از نظر کاهش اکسیداسیون چربی گزارش شده است (Naveena et al., 2008a; Naveena et al 2008b; Naveena et al., 2009; Vaithiyanathan et al., 2009). فعالیت آنتی میکروبی میوه انار و عصاره پوست آن برای چند عوامل بیماریزا مانند اشرشیاکلی[3]، استافیلوکوکوس اورئوس[4]، از جمله گونه های مقاوم در برابر متی سیلین، ویبریوکلرا[5] و باسیلوس ساب اپتیلیس[6] نشان داده شده است (Prashanth et al., 2000; Melendez and Capriles, 2006; Guevara et al., 1994; Machado et al., 2002; Braga et al., 2005; Ahmad and Beg, 2001; Prashanth et al., 2000; Machado et al., 2003; Braga et al., 2005;Voravuthikunchai et al., 2005; Reddy et al., 2007; Shan et al., 2007; McCarrell et al., 2008).هدف از این مطالعه بررسی اثر پوشش خوراکی حاوی عصاره پوست انار بر کیفیت و ماندگاری فیله ماهی کپور نقره ای در طول نگهداری در یخچال می باشد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی نمونه

کپور نقره ای تازه (*Hypophthalmichthys molitrix*) از بازار محلی شهرستان زابل، خریداری شده و در طول ۳۰ دقیقه در یخ به آزمایشگاه شیلات منتقل شد. نمونه ها پس از شتشو ، تخلیه امعا و احشا به صورت دستی فیله شدند. سپس مخلوطی از پوشش خوراکی به نسبت ۶۰٪ آب سرد + ۳۰٪ آرد گندم + ۱۰٪ آرد ذرت تهیه شد (Yazdan et al., 2009). لایه نازک از پوشش خوراکی بر روی فیله به صورت دستی پخش شده و پس از آن غلظت ۵٪ و ۱۰٪ از عصاره پوست انار روی سطح فیله اسپری شد. سه تیمار شامل نمونه شاهد (فیله بدون عصاره)؛ فیله تیمار شده با 5٪ عصاره و فیله تیمار شده با 10٪ عصاره آماده شد.

آماده سازی پودر پوست انار

انار رسیده و سالم ،رقم "شیشه کپ"، از بازار میوه مرکزی مشهد خریداری و به آزمایشگاه شیلات منتقل شد. میوه انار به صورت دستی پوست و در هوای تازه به مدت ۴۸ ساعت خشک شد. قطعات خشک شده به وسیله

1 - in vitro
2 - in vivo
3 - *Escherichia coli*
4 - *Staphylococcus aureus*
5 - *Vibrio cholerae*
6 - *Bacillus subtilis*

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.6.3]

آسیاب پودر شده و درفریزر در دمای 18- درجه سانتیگراد ذخیره شد(Makkar, 2000).

استخراج عصاره

حدود ۱۰ گرم از پودر آماده شده با ۱۰۰ میلی لیتر متانول 50٪ مخلوط شد .دوز ۲۰ میلی لیتر دی اتیل-اسید استیک 1٪ به مخلوط به منظور حذف رنگدانه ها و چربی اضافه شد. مخلوط بر روی یک همزن مغناطیسی در دمای اتاق قرار داده شد. و سپس در 3000 دور دقیقه به مدت 10 دقیقه سانتریفوژ و محتویات رویی آن جمع آوری شد. این آزمایش با همان حلال در یک همزن مغناطیسی به مدت ۲٤ ساعت تکرار شد. پس از سانتریفوژ مایع رویی آن با محتوای فبلی عصاره ترکیب شد. حلال با کاغذ صافی واتمن شماره ٤ فیلتر شد . متانول تحت شرایط خلاء در دمای حدود ٤۲ درجه سانتی گراد با استفاده ازروتاری چرخان تبخیر شد (Baccou و همکاران 1997).

تعیین محتوای فنولی

200میلی گرم از پودر پوست انار با ۱۰ میلی لیتر متانول 50)٪ (مخلوط شد. محلول طور کامل در دمای اتاق به مدت ۲٤ ساعت هم زده شد و در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شده ، سپس محلول رویی آن برداشته شد (Makkar, 2000).

محتوای فنلی عصاره انار با معرف فولین- سیلکاتو[7] و با استفاده از روش (Singleton ,1999) استخراج شد. به طور خلاصه، یک میلی لیتر از محلول حاوی عصاره با ٤٥ میلی لیتر آب مقطر ترکیب شد. یکی میلی لیتر از معرف فولین- سیلکاتو اضافه و محتوای فلاسک به طور کامل مخلوط شد. پس از ۳ دقیقه، ۳ میلی لیتر محلول سدیم کربنات به مخلوط اضافه و پس از آن مخلوط به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. مقدار جذب در طول موج ۷٦۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (PG Instruments Ltd T80+, UK) اندازه گیری شد. غلظت ترکیبات فنلی کل در عصاره پوست انار به عنوان میکروگرم معادل تانیک اسید با استفاده از یک معادله از نمودار استاندارد اسید تانیک به دست آمده مشخص شد.

محاسبه **DPPH عصاره**

مقدار DPPH عصاره با استفاده از روش Gill و همکاران ۲۰۰۰ محاسبه شد. یک میلی لیتر از عصاره با یک میلی لیتر از محلول (500µM) **DPPH** با تکان دادن شدید مخلوط شد. مخلوط در در دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری شده و پس از آن میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر PG) Instruments Ltd T80+, UK) اندازه گیری شد .فعالیت آنتی اکسیدانی توسط معادله زیر محاسبه شد:

فعالیت آنتی اکسیدانی: $(\frac{1-\text{Asample}(517\text{ nm})}{\text{Acontrol}(517\text{ nm})})*100$

آنالیز شیمیایی

انازه گیری pH

مقدار pH فیله با ترکیب 5گرم از نمونه با 45میلی لیتر آب مقطر به مدت ۳۰ ثانیه با یک هموژنایزر (NO.NS-2600M, China)تعیین شد.مقدار pH با استفاده از یک الکترود استاندارد متصل به یک دستگاه pH متر دیجیتال(Multiline P4 Wtw, Germany) اندازه گیری شد(Sallam, 2004).

اندازه گیری مقدار تیوباربیتوریک واکنشی

اندازه گیری مقدار تیوباربیتوریک واکنشی (TBARS) با روش رنگ سنجی و با استفاده از روش Egan و همکاران (۱۹۹۷) انجام شد.

آنالیز میکروبی

ده گرم فیله ماهی با استفاده از مخلوط کن (Bosch, Germany) به مدت ۱ دقیقه در 90میلی لیتر از محلول نمک سدیم 85 ٪ همگن شد. از این همگن رقت های

7 - Folin-Ciocalteu

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-01-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.6.3]

(10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2}) درسدیم کلرید 85درصد تهیه و سپس برای تجزیه و تحلیل میکروبی فیله ماهی در هر یک از فواصل زمانی معین در در یخچال نگهداری گردید. آزمایش های شمارش کل باکتریهای قابل رویت (TVC) با استفاده از روش (AOAC, 2005) انجام شد . بعد از تهیه محیط کشت، توسط میکرو سمپلر، ۰/۱ میلی لیتر از نمونه های تهیه شده بر روی محیط کشت به طور سطحی پخش شد. در صورت بالا بودن تعداد باکتری ها در یک پلیت رقیق سازی نمونه ها تا لوگ ٦ در محلول سرم فیزیولوژی انجام می شد. پلیت های کشت داده شده برای شمارش کل باکتری ها بعد از ٤٨ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد شمارش شدند. مقدار کل باکتری های سرمادوست (PTC) با استفاده از روش مشابه اندازه گیری شده و بعد از ۱۰ روز انکوباسیون در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد شمارش شدند(McFaddin, 2000) .

تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS (ورژن ١٦) انجام شد. برای بررسی اختلاف بین داده های به دست آمده از تجزیه واریانس یک طرفه(one way , ANOVA)استفاده شد. همچنین برای تعیین وجود تفاوت معنادار بین مقادیر میانگین تیمارهای مختلف از آزمون چند دامنه توکی در سطح ($p < 0.05$) استفاده شد. تمام پارامترها در سه تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

اندازه گیری محتوای فنلی کل و DPPH

در این آزمایش محتوای فنلی کل ٢٦٢,٥ میلی گرم تانیک اسید/گرم و **DPPH** ۸۷درصد با استفاده از تانول ٥٠٪ اندازه گیری شد. محتوای فنولی و فلانوییدی به عنوان شاخص مهمی از ظرفیت آنتی اکسیدانی شناخته می شوند که به عنوان نگهدارنده طبیعی در صنایع غذایی استفاده می شود. مشهود است که علت بالا بودن محتوای فنلی عصاره عامل مهمی در بالا بودن خاصیت آتی اکسیدانی آن می باشد. Kim و همکاران (۲۰۰۲) پوست انار را به عنوان منبع غنی آنتی اکسیدانی و فنولی معرفی کرده اند. بدون شک ظرفیت آنتی اکسیدانی پوست انار به دلیل وجود مواد فنولی مخصوصا الاجیک اسید[8] و پونیکالاجین[9] می باشد (Sarkhosh et al., 2007). همچنین Ben و همکاران (1996) نشان دادند که پوست انار حاوی میزان زیادی از محتوای فنولی می باشد Singh و همکاران (2002) عصاره پوست و دانه انار را با استفاده از حلال متانول و استون و آب استخراج کرد مشاهده کردند که حلال متانول بهترین حلال برای استخراج عصاره می باشد. -Tomas Barberan و همکاران (2001) گزارش کردند که پوست انار حاوی میزان بالاتری از محتوای فنولی ،آنتوسیانین و فلاون می باشد. Shen و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که ارتباط خطی بین محتوای فنولی کل، ظرفیت آنتی اکسیدانی و فعالیت آنتی میکروبی در برابر میکروارگانیسم ها وجود دارد. فعالیت آنتی میکروبی ترکیبات فنولی ممکن است شامل چندین عامل باشد که می تواند آنزیم ها را دناتوره کرده (Furneri et al., 2002) اما همچنین می تواند با موادمعدنی ،ویتامین ها و کربوهیدراتها ترکیب شده و آنها را از دسترس میکروارگانیزمها خارج سازد (Stern et al., 1996; Shahidi and Naczk, 2004). Negi و (2003) Jayaprakasha و Negi و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که فعالیت تنظیف رادیکالی عصاره پوست انار مشابه یافته های این مقاله می باشد. همچنین Li و همکاران

---

8 - Ellagic acid
9 - Punicalagin

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-01-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.6.3]

(۲۰۰۵) گزارش کردند که عصاره پوست انار واجد پتانسیل بالای آنتی اکسیدانی می باشد و محتوی فنولی کل عصاره پوست انار را تقریبا ۲٤۹,٤ گزارش کرده که مشابه یافته های این مقاله می باشد.

آنالیز شیمیایی

pH

تغییرات pH در مدت زمان نگهداری در یخچال در جدول ۱ نشان داده شده است. pH اولیه نمونه یه ترتیب ٦,٦٥، ٦,٦١ و ٦,٥٠ به ترتیب در نمونه های شاهد تیمار۱ و تیمار ۲ اندازه گیری شد. میزان pH در روز سوم به طور ملایم کاهش یافت و بعد از روز سوم افزایش یافت. تفاوت معنی داری ($p <0.05$) بین گروهها در مدت زمان نگهداری وجود داشت.میزان pH نمونه کنترل بیشترین مقداررا در مقایسه با تیمار ۱ و ۲تا روز ۱۵ داشت.نتایج مشابهی برای pH فیله کپور نقره ای توسط Fan و همکاران (۲۰۰۸) و Xu و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شد. نتایج نشان داد افت در pH اولیه به دلیل تجزیه گلیکوژن در فیله بوده ، اما تحقیقات دیگر نشان دادند که عامل آن حل شدن دی اکسید کربن در فیله می باشد (Manju et al., 2007; Fan et al., 2008). در حالیکه افزایش در میزان pH به دلیل افزایش در بازهای فرار مانند آمونیاک و تری متیل آمین[10] یا همچنین آنزیم های میکروبی می باشد Manat, et al., 2005; Ruiz-Capillas and Moral, 2001). تحقیقات مشابهی در این زمینه توسط Alasavalr و همکاران (۲۰۰۱) و Manju و همکاران (۲۰۰۷) انجام شده است.

جدول۱ تأثیر پوشش خوراکی حاوی عصاره پوست انار بر شاخص pH در تیمارهای مختلف فیله ماهی کپور نقره‌ای هنگام نگهداری در یخچال

روز	شاهد حاوی روکش غذایی	روکش+۵٪عصاره	روکش+۱۰٪ عصاره
۰	۶.۶۵ ±۰.۰۵^{Ac}	۶.۶۱±.۱^{Ad}	۶.۵۰±۰.۰۰۵^{Ac}
۳	۶.۵۳±۰.۱۵^{Ad}	۶. ۵±۰.۱^{Af}	۶.۴۶۵±۰.۰۵^{Ae}
٦	۶.۷۹±۰.۰۵^{Acd}	۶.۷۴±.۰۱^{Be}	۶.۶۹±.۰۱^{Bd}
۹	۷.۰۰±۰.۱^{Ac}	۶.۸۰±۰.۰۱^{Bc}	۶.۷۳±۰.۰۲^{Bd}
۱۲	۷.۲۷±۰.۰۶^{Ab}	۷.۰۰±۰.۱^{Bb}	۶.۸۰±۰.۰۱^{Cb}
۱۵	۷.۵۱±۰.۰۲^{Aa}	۷.۲۲±۰.۰۵^{Ba}	۷.۰۷±۰.۰۶^{Ca}

مقادیر در جدول نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار با ۳تکرار می باشد. حروف بزرگ (A, B, C)معنی داری بین تیمار ها و حروف کوچک (a, b, c, d, e, f)معنی داری را در زمان‌های مختلف نشان می‌دهد.

تیوباربیتوریک اسید(TBA)

تغییرات درمقدار TBA در جدول ۲ نشان داده شده است. در این مطالعه میزان TBA اولیه نمونه شاهد، تیمار ۱ و تیمار ۲ به ترتیب ۰,۰۸۹، ۰,۰۸٦ و ۰,۰۸۵ (میلی گرم مالون آلدهید) اندازه گیری شد. میزان TBA در روز ۱۵ در نمونه های شاهد، تیمار ۱ و تیمار ۲ به ترتیب ۰,۹۱، ۰,۷۲ و ۰,٦٤ میلی گرم مالون آلدهید اندازه گیری شد.نتایج نشان داد که میزان TBA نمونه شاهد به طور معنی داری ($p<0.05$) بالاتر از تیمار ۱ و ۲ بود. تیمار ۱ و ۲ که واجد عصاره حاوی پوشش خوراکی بودند تاثیر بر ماندگاری فیله تازه داشتند. بر اساس تحقیقات Connell (1990)، میزان TBA در فیله تازه ۱-۲ (میلی گرم مالون آلدهید) به عنوان محدوده آن در نظر گرفته می شود که بر طعم و بوی ماهی تاثر گذار است.در این تحقیق تیمار ۱ و ۲ به از حد مجاز ۱-۲ (میلی گرم مالون آلدهید) تجاوز نکردند ، اما در نمونه شاهد تقریبا به ۱ (میلی گرم مالون آلدهید) در انتهای نگهداری رسید.افزایش TBA در تمام تیمار ها در مدت زمان نگهداری میتواند به دلیل دهیدراسیون و افزایش

10 - Tri methyl amine

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.6.3] [Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-01-08]

اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع باشد (Song et al., 2010). یافته های مشابهی توسط Naveena et al. (2008)و(2011) Devatkal et al. گزارش شده است. Devatkal و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کرده اند که افزون عصاره پوست انار موجب کاهش اکسیداسیون می شود که نشاندهنده ارتباط معکوس بین محتوای فنولی و TBA می باشد. ارتباط معنی داری بین محتوای فنولی و تاثیر آنتی اکسیدانی عصاره پوست انار توسط Negi و Jayaparakasha (۲۰۰۳) گزارش شده است.

جدول۲ تأثیر پوشش خوراکی حاوی عصاره پوست انار بر شاخص TBA در تیمارهای مختلف فیله ماهی کپور نقره‌ای

روز	شاهد حاوی روکش غذایی	روکش+۵٪ عصاره	روکش+۱۰٪ عصاره
۰	۰.۰۸۹±۰.۰^{Ae}	۰.۰۸۶±۰.۰^{Ae}	۰.۰۸۵±۰.۰^{Ae}
۳	۰.۱۲±۰.۰۲^{Ae}	۰.۱۱±۰.۰۱^{Be}	۰.۰۹±۰.۰۱^{Be}
٦	۰.۳۰±۰.۰۲^{Ad}	۰.۲۲±۰.۰۲^{Bd}	۰.۲۱±۰.۰۲^{Bd}
۹	۰.۵۹±۰.۰۴^{Ac}	۰.۴۸±۰.۰۱^{Bc}	۰.۳۸±۰.۰۲^{Cc}
۱۲	۰.۷۵±۰.۰۵^{Ab}	۰.۶۱±۰.۰۱^{Bb}	۰.۵۴±۰.۰۵^{Cb}
۱۵	۰.۹۱±۰.۰۱^{Aa}	۰.۷۲±۰.۰۲^{Ba}	۰.۶۴±۰.۰۱^{Ca}

مقادیر در جدول نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار می باشد.
حروف بزرگ معنی داری بین تیمار ها و حروف کوچک معنی داری را در زمان های مختلف نشان می دهد.

آنالیز میکروبی

شمارش باکتریهای قابل رویت (TVC)

مقدار اولیه کل باکتریهای قابل رویت ۳,۹۳، ۳,۳۱ و ۳,۱۲ (log_{10} CFU/g) به ترتیب در نمونه های شاهد ،تیمار ۱ و تیمار ۲ اندازه گیری شد(جدول ۳). بعد از افزودن عصاره کاهش چشمگیری در مقدار TVC در تیمار ۱ و ۲ مشاهده شد. نتایج نشان داد که رشد میکروبی به طور معنی داری ($p < ۰.۰۵$) تحت تاثیر افزودن عصاره بود. درروز ۱۵ نگهداری ،مقدار کل باکتریهای قابل رویت ۸,٤۷، ۷,۳۳ و ۷,۹ log_{10} CFU/g) به ترتیب در نمونه های های شاهد ،تیمار ۱ و تیمار ۲ اندازه گیری شد. با توجه به اینکه محدوده قابل قبول رشد میکروبی برای ماهی ۷ log_{10} CFU/g می باشد (Ojagh, et al., 2010) . مدت ماندگاری نمونه های تیمار نشده ۹ روز درحالیکه تیمار ۱ و ۲، ۱۲ روز محاسبه شد .نتایج نشان داد که افزودن عصاره و پوشش خوراکی رشد میکروبی را کاهش و ماندگاری فیله را افزایش داده است. فیله های تیمار شده به محدوده قابل قبول رشد میکروبی در مدت زمان نگهداری نرسیدند ومیزان TVC آنها کمتر از نمونه شاهد بود. خاصیت آنتی باکتری عصاره پوست انار ممکن است به دلیل وجود برخی ترکیبات متابولیک یا ترکیبات آنتی بیوتیک باشد (Voravuthikunchai et al., 2004) . Shan و همکاران (۲۰۰۷) یک رابطه خطی بین محتوای فنولی کل و خاصیت آنتی باکتریایی را در عصاره های گیاهی مختلف که شامل عصاره پوست انار می شود ، را گزارش کرده اند. مکانیسم عامل اثرگذاری فنولی میکروارگانیسم ها به دلیل واکنش گروههای سولفیدریل پروتئین و عدم دسترسی سوبسترا برای میکروارگانیزم ها می باشد (Machado et al., 2003; Naz et al., 2007). گزارشات مشابهی در باره خاصیت آنتی میکروبی آنتی اکسیدانهای طبیعی بر کیفیت و ماندگاری فیله در مدت زمان نگهداری در یخچال گزارش شده است. (Jo et al., 2003; Chidanandaiah et al., 2009; Fan et al., 2008; Song et al., 2010;Vaithiyanathan et al., 2011).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-01-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.6.3]

جدول۳: تأثیر پوشش خوراکی حاوی عصاره پوست انار بر شاخص TVC (logCFU/g) در تیمارهای مختلف فیله ماهی کپور نقره‌ای

زمان (روز)	شاهد حاوی روکش غذایی	روکش+۵٪ عصاره	روکش+۱۰٪ عصاره
۰	۳.۹۳±۰.۰۲^{Af}	۳.۳۱±۰.۰۷^{Bf}	۳.۱۲±۰.۰۴^{Be}
۳	۴.۷۷±۰.۰۷^{Ae}	۳.۹۶±۰.۰۶^{Be}	۳.۷۰±۰.۱۰^{Cd}
۶	۶.۳۵±۰.۰۷^{Ad}	۵.۸۴±۰.۰۶^{Bd}	۴. ۶۵±۰. ۰۴^{Cc}
۹	۶.۸۶±۰.۰۷^{Ac}	۶.۳۷±۰.۱۴^{Bc}	۶.۱۴±۰.۱۴^{Cb}
۱۲	۷.۶۷±۰.۱۳^{Ab}	۶.۹۴±۰.۰۲^{Bb}	۶.۸۰±۰.۰۴^{Ca}
۱۵	۸.۴۷±۰.۲۶^{Aa}	۷.۳۷±۰.۰۲^{Ba}	۷.۱۹±۰.۱۹^{Ca}

مقادیر در جدول نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار می باشد.

حروف بزرگ معنی داری بین تیمار ها و حروف کوچک معنی داری را در زمان های مختلف نشان می دهد.

شمارش باکتری های سرمادوست (PTC)

مقادیر اولیه PTC در مطالعه حاضر نمونه شاهد حاوی روکش ٤.٧٨، در نمونه های حاوی روکش + ۵٪ عصاره ٤.٧٥ و نمونه های حاوی روکش + ۱۰٪ عصاره، ۳.۹۳ (Log cfu/ g) محاسبه شد (جدول ٤). تفاوت معنی داری ($p<۰.۰۵$) بین نمونه های شاهد ، تیمار۱ و ۲ در روز اول نگهداری مشاهده نشد. در طی نگهداری میزان باکتری های سرمادوست به طور معنی داری ($p<0.05$) در بین نمونه ها افزایش یافتند. بعد از تیمار کردن با عصاره کاهش در میزان باکتری های سرمادوست به دلیل اختلاف غلظت عصاره بین تیمار ۱ و ۲ مشاهده شد. در روز ۱۵ نگهداری مقدار **(PTC)** به ترتیب ۸,٦۲، ۸,۲۸ و ۷,۰٤ Log cfu/ g به ترتیب نمونه های شاهد ، تیمار۱ و ۲ مشاهده شد. نتایج نشان داد که افزودن عصاره و پوشش خوراکی به طور معنی داری رشد میکروبی راکاهش و ماندگاری را افزایش داده است. به طور مشابه Devatkal و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که غلظت های ۵ و ۱۰ در صد عصاره پوست انار به طور معنی داری باعث کاهش باکتری ها در نمونه های تیمار شده در مقایسه با شاهد داشته است. (Abou-Taleb ،۲۰۰۷) و Hozbor و همکاران (۲۰۰٦) گزارش کردن که PTC و TVC الگوی رشد یکسانی داشتند، اما مشابه این مقاله میزان رشد PTC بیشتر از TVC گزارش شده است.

جدول٤ تأثیر عصاره پوست انار برشاخص PTC (logCFU/g) در تیمارهای مختلف فیله ماهی کپور نقره‌ای

زمان(روز)	شاهد حاوی روکش غذایی	روکش+۵٪ عصاره	روکش+۱۰٪ عصاره
۰	۴.۷۸±۰.۰۲^{Ae}	۴.۷۵±۰.۰۴^{Ae}	۳.۹۳±۰.۰۲^{Be}
۳	۵.۴۹±۰.۱۰^{Ad}	۴.۷۰±۰.۰۸^{Bd}	۴.۴۹±۰.۰۴^{Bd}
۶	۶.۳۶±۰.۱۶^{Ac}	۵.۵۹±۰.۰۵^{Bc}	۵.۲۹±۰.۱۱^{Cc}
۹	۷.۰۵±۰.۱۱^{Ab}	۶.۸۵±۰.۰۴^{Bb}	۶.۴۱±۰.۱۲^{Cb}
۱۲	۸.۶۲±۰.۰۹^{Aa}	۷.۲۸±۰.۰۲^{Ba}	۷.۰۴±۰.۰۹^{Ca}

مقادیر در جدول نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار می باشد.

حروف بزرگ معنی داری بین تیمار ها و حروف کوچک معنی داری را در زمان های مختلف نشان می دهد.

نتیجه گیری

این مطالعه اثر آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره پوست انار و پوشش های خوراکی به عنوان حائل در عمر مفید فیله کپور نقره ای را نشان داده است. نتایج آنالیزهای میکروبی (TVC, PTC) تایید میکند که عصاره پوست انار بکاربرده شده در فیله منجر به کاهش آلودگی های میکروبی فیله ماهی در مدت زمان نگهداری در یخچال شده، نتایج آنالیزهای شیمیایی (pH, TBA) نشان میدهد که این عصاره بالاترین خاصیت انتی اکسیدانی و محتوای فنولی را داشته و باعث تاخیر دراکسیداسیون چربی فیله ماهی در مدت زمان نگهداری در یخچال شده است.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-01-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.6.3]

علوم و فنون شیلات ـــ

AOAC, Official Methods of Analysis, 17th edition., 2000. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.

Barkia, A., Bougatef, A., Khaled , H.B. and Nasri, M., 2010. Antioxidant activities of sardinelle heads and/or Viscera protein hydrolysates prepared by Enzymatic treatment. *Journal of Food Biochemistry*.34: 303–320.

Benjakul, S. and Morrissey, M., 1997. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45:3423–3430.

Benzie, I.F.F. and Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239:70–76.

Binsan, W., Benjakul, S., Visessanguan, W., Roytrakul, S., Tanaka, M. and Kishimura, H., 2008. Antioxidative activity of Mungoong, an extract paste, from the cephalothorax of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Food Chemistry.106:185–193.

Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., and Nasri, M., 2009. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry*.114:1198–1205.

Bougatef, A., Nedjar-Arroume,N., Manni, L., Ravallec, R., Barkia, A., Guillochon,D. and Nasri, M., 2010. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. *Food Chemistry*. 118: 559–565.

Cassia, R. O., Martone, C. B., and Sanchez, J. J., 2000. Characterization of fish protein hydrolysates obtained by enzymatic autolysis. *Latin American Applied Research*. 30: 241–244.

Castillo-Yanez, F., Pacheco-Aguilar, R., Garcia-Carreno, F. and Toro, M., 2005. Isolation and characterization of trypsin from pyloric caeca of Monterey sardine, *Sardinops sagax caerulea*. *Comparative Biochemistry and physiology*.140B: 91-98.

Chi, C.F.,Wang, B., Hu, F.Y., Wang, Y.M., Bin Zhang, B., Deng, S.G., and Wu, C.W., 2015. Purification and identification of three novel antioxidant peptides from protein hydrolysate of bluefin leatherjacket (*Navodon septentrionalis*) skin. *Food Research International*. 73:124–129.

Erlanger, B., Kokowsky, N. and Cohen,W., 1961.The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 95: 271-278.

FAO, 2014. The state of world fisheries and aquaculture. In: FAO - Fisheries and Aquaculture Department, Food and Agriculture Organization of United Nations.

Hsu, K., 2010. Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product. *Food Chemistry*.122: 42–48.

Karimzadeh G., Gabrielyan B. and Fazli H., 2010. Population dynamics and biological characteristics of kilka species (Pisces: Clupeidae) in the southeastern coast of the Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 9(3):422-433.

Khantaphant, S. and Benjakul, S., 2008. Comparative study on the protease from fish pyloric caeca and the use for production of gelatine hydrolasste with antioxidative activity, Comparative Physiology and Biochemistry. 151B: 410-419.

Khantaphant, S., Benjakul, S., and Kishimura, H., 2011. Antioxidative and ACE inhibitory activities of protein hydrolysates from the muscle of brownstripe red snapper prepared using pyloric caeca and commercial proteases. Process Biochemistry.46 :318–327.

Kinsella JE. Seafood and fish oils in human diseases. New York, USA: Marcel Dekker; 1987.

Kishimura,H., Hayashi, K., Myashita,Y. and Nonmi, Y., 2005. Characterization of two trypsin isozymes from the viscera of Japanase Anchovy (*Engraulis japonica*). *Journal of Food Biochemistry*. 29: 459-469.

Klomklao, S., Kishimura, H. and Benjakul, S., 2013. Use of viscera extract from hybrid catfish (*Clarias macrocephalus* × *Clarias gariepinus*) for the production of protein hydrolysate from toothed ponyfish (*Gazza minuta*) muscle. *Food Chemistry*. 136:1006–1012.

Klomklao, S., Kishimura, H., and Benjakul, S., 2014. Anionic trypsin from the pyloric ceca of Pacific saury (*Cololabis saira*): purification and

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-01-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.6.3]

فعالیت ضداکسیدانی پپتید حاصل از هیدرولیز ... ـــ

Naqash, S, Y., and Nazeer, R. A., 2010. Antioxidant Activity of Hydrolysates and Peptide Fractions of *Nemipterus japonicus* and *Exocoetus volitans* Muscle. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 19:180–192.

Naqash, S. Y., and Nazeer, R. A., 2013. Antioxidant and functional properties of protein hydrolysates from pink perch (*Nemipterus japonicus*) muscle. *Journal of Food Science and Technology*. 50(5): 972-978.

Phanturat, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., and Roytrakul, S., 2010. Use of pyloric caeca extract from bigeye snapper (*Priacanthus macracanthus*) for the production of gelatin hydrolysate with antioxidative activity. *LWT – Food Science and Technology*. 43:86–97.

Raghavan, S., and Kristinsson, H. G., 2008. Antioxidative efficacy of alkali-treated Tilapia protein hydrolysates: A comparative study of five enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56:1434–1441.

Rajaram, D., and Nazeer, R. A., 2010. Antioxidant properties of protein hydrolysates obtained from marine fishes Lepturacanthus savala and Sphyraena barracuda. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*. 6: 435–444.

Rawdkuen, S., Sai-Ut, S., Khamsorn, S., Chaijan, M. and Benjakul, S., 2009. Biochemical and gelling properties of tilapia surimi and protein recovered using an acid-alkaline process. *Food Chemistry*.112:112–119.

Roslan, J.,Yunos, F.Md., Abdullah, N., and Kamal, S.M.M., 2014. Characterization of Fish Protein Hydrolysate from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by-Product. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 2: 312 – 319.

Safari, R., Motamedzadegan , A., Ovissipour, M., Regenstein, J.M., Asbjorn Gildberg, A., and Rasco, B., 2012. Use of Hydrolysates from Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) Heads as a Complex Nitrogen Source for Lactic Acid Bacteria. *Food and Bioprocess Technology*. 5:73–79.

Samaranayaka, A. G. P., and Li-Chan, E. C. Y., 2011. Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. *Journal of Functional Foods*. 3(4): 229–254.

biochemical characteristics. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 23:186–200.

Klomklao, S., Kishimura, H., Benjakul, S., Simpson, B.K., and Visessanguan, W., 2010. Cationic trypsin: A predominant protease in Pacific saury (*Cololabias saira*) pyloric caeca. *Journal of Food Biochemistry*. 34:1105–1123.

Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., Hayes, K. D., and Shahidi, F., 2008. Comparative study on antioxidative activity of yellow stripe trevally protein hydrolysate produced from Alcalase and Flavourzyme. *International Journal of Food Science and Technology*. 43: 1019-1026.

Kristinsson, H. G., and Rasco, B. A., 2000. Fish protein hydrolysates:Production, biochemical, and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 40(1): 43–81.

Liu,Y., Li , X., Chen,Z., Yu, J., Wang, F., and Wang, J., 2014. Characterization of structural and functional properties of fish protein hydrolysates from surimi processing by-products. *Food Chemistry*. 151: 459–465.

Locatelli,M., Gindro,R., Travaglia,F., Coïsson,J., Rinaldi,M., Arlorio, M., 2009. Study of the DPPH-scavenging activity: Development of free software for the correct interpretation of data. *Food Chemistry*.114: 889–897.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R. J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*. 193: 265–275.

Mullally, M. M., O'Callaghan, D. M., FitzGerald,R. J., Donnelly, W. J., and Dalton, J. P., 1994. Proteolytic and peptidolytic activities in commercial pancreatin protease preparations and their relationship to some whey protein hydrolysate characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42 (12): 2973–2981.

Nakajima, K., Yoshie-Stark, Y., and Ogushi, M., 2009. Comparison of ACE inhibitory and DPPH radical scavenging activities of fish muscle hydrolysates. *Food Chemistry*. 114: 844–851.

Nalinanon, S., Benjakul, S., Kishimura, H., and Shahidi, F., 2011. Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. *Food Chemistry*. 124: 1354–1362.

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-01-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.6.3]

علوم و فنون شیلات ـــ

[1] Sarmadi, B. H., and Ismail, A., 2010. Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides*. 31(10):1949–1956.

[2] Shilat., 2013. Iranian Fisheries Organization. Annual Report. 64 p (in Persian).

[3] Silva, J.F.X., Ribeiro, K., Silva, J.F., Cahú, T.B., and Bezerra, R.S., 2014. Utilization of tilapia processing waste for the production of fish protein hydrolysate. *Animal Feed Science and Technology*. 196: 96–106.

[4] Tavano, O. L., 2013. Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 90:1–11.

[5] Thiansilakul, Y., Benjakul, S., and Shahidi, F., 2007. Antioxidative activity of protein hydrolysate from round scad muscle using Alcalase and Flavourzyme. Journal of Food Biochemistry. 31: 266-287.

[6] You, L., Zhao, M., Cui, C., Zhao, H., and Yang, B., 2009. Effect of degree of hydrolysis on the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 10: 235-240.

[7] Zamani, A. and Benjakul, S., 2016. Trypsin from unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) pyloric caeca: Purification and its use for preparation of fish protein hydrolysate with antioxidative activity . Journal of the Science of Food and Agriculture. (Accepted; Online Version of Record published before inclusion in an issue).

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-01-08]

[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.6.3]

Fisheries Science & Technology
TMU
Scientific - Research Journal Vol. 5, No. 2, Summer 2016

Effect of edible coating containing pomegranate (*Punica granatum*) peel extract on the quality and shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillet during refrigerated storage

Ahamad Tarkhasi[1], Eshagh Zakipour Rahimabadi[2]*, Ebrahim Alizadeh doughikollaee[3], Mostafa Yousef Elahi[4],

1-M.Sc. Graduated, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Iran
2- Associate Prof., Associate Prof. in Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran
3- Associate Prof., Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Iran
4- Associate Prof., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Iran

Received: 26.01.2016 Accepted: 12.06.2016
*Corresponding author: e_zakipour@yahoo.com

Abstract:

In this study the effect of edible coating containing pomegranate peel extract (PPE) on the quality and shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillet was investigated during refrigerated storage at 4 C°. The total phenolic content (262.5 mg tannic acid/g sample) and DPPH free radical scavenging activity (87%) of PPE using methanol as solvent were determined. The mixture of edible coating was prepared (60% cool water + 30% wheat flour + 10% corn flour). Freshly fish fillet were assigned to three treatments: control (fillet without PPE); fillet treated with 5% PPE (T1) and 10% PPE (T2). Chemical (pH, and thiobarbituric acid (TBA)) and microbiological (total viable count (TVC) and psychrotrophic count (PTC)) analysis were used to evaluated the effect of PPE during refrigerated storage. The results show that addition of PPE considerably delayed lipid oxidation in silver carp fillet in T1 and T2 compared with control samples. According to microbiological assay, T1 and T2 samples on 12th of storage reached to maximum acceptability limit (7 $\log_{10}$ CFU/g) while it was happened on 9th of storage for control samples.

Keywords: Antibacterial, Antioxidant, Shelf life, Silver carp, Wheat and corn flour coating

[Downloaded from jfst.modares.ac.ir on 2025-01-08]
[DOR: 20.1001.1.23225513.1395.5.2.6.3]