بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) بر مهار آنزیم پلی فنول اکسیداز و روند ملانوزیس در میگو پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)

الهام نصیری[۱]، مرضیه موسوی نسب[۱و۳]*، سید شهرام شکر فروش[۲]، محمد تقی گلمکانی[۱]

* marzieh.moosavi-nasab@mail.mcgill.ca

۱- بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۲- گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

۳- گروه پژوهشی فرآوری آبزیان، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۳

چکیده

ملانوزیس میگو، نوعی تغییر رنگ سطحی مهم است که توسط آنزیم پلی فنول اکسیداز ایجاد می شود. این آنزیم سبب اکسیداسیون فنول ها و تولید رنگدانه تیره و نامحلول ملانین می گردد. مشتقات سولفیتی به شکل گسترده ای برای مقابله با ملانوزیس کاربرد دارند، اما مشکلات ناشی از این ترکیبات از جمله بروز واکنش های حساسیت زا و ایجاد مشکل در افراد مبتلا به آسم، یافتن جایگزین های طبیعی برای این ترکیبات را ضروری ساخته است. این تحقیق با هدف بررسی اثر اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) بر مهار آنزیم پلی فنول اکسیداز (تیروزیناز) و روند ملانوزیس در میگوی پرورشی پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) طی ۱۰ روز نگهداری در یخ صورت گرفت. نتایج GC/MS نشان داد که تیمول، کارواکرول و پارا سیمن با مقادیر به ترتیب ۵۰/۸، ۱۴/۴ و ۱۰/۶ ٪ ترکیبات اصلی اسانس آویشن شیرازی را تشکیل می دهند. توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH اسانس آویشن شیرازی بر اساس میانگین (±SD) IC_{50} برابر با ۰/۸±۰/۰۲ mg/ml بود. فعالیت آنزیم تیروزیناز در غلظت ۰/۲۵٪ اسانس آویشن شیرازی به میزان ۶۳/۲ درصد کاهش یافت. همچنین، غوطه وری میگو در تعلیق ۱٪ اسانس آویشن سبب به تأخیر افتادن روند ملانوزیس طی ۱۰ روز نگهداری در یخ شد. به شکل کلی، اسانس آویشن شیرازی می تواند به عنوان یک کمک فرآیند طبیعی و مؤثر جهت افزایش ماندگاری میگو طی دوره نگهداری در یخ مورد استفاده قرار گیرد.

لغات کلیدی: آویشن شیرازی، میگو، تیروزیناز، ملانوزیس.

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.3.11.1]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103556]

مقدمه

قهوه ای شدن یکی از مشکلات عمده در صنعت غذا است و می تواند خصوصیات ارگانولپتیکی مواد غذایی را تغییر داده و منجر به کوتاه شدن عمر ماندگاری، کاهش کیفیت و ارزش اقتصادی ماده غذایی گردد. قهوه ای شدن آنزیمی در اثر فعالیت آنزیم های پلی فنول اکسیداز به ویژه تیروزیناز، در بسیاری از محصولات غذایی همچون موز، سیب، قارچ و سخت پوستان دریایی رخ می دهد (Chen *et al*., 2005).

میگو آبزیستی از گروه سخت پوستان دریایی و از تیره پنائیده (Penaeidae) می باشد که از ارزش غذایی بسیار بالایی برخوردار است. پروتئین میگو نیز ارزش تغذیه ای بالایی داشته و علاوه بر پایین بودن میزان کلسترول و کالری، حاوی ویتامین های A،B_{12} B_6، C، D،E و املاحی مثل کلسیم، آهن، منیزیم، فسفر، پتاسیم، سدیم، روی، مس، منگنز و سلنیوم و همچنین اسیدهای چرب امگا ۳ است (کریمی، ۱۳۸۶؛ ماجدی، ۱۳۸۳). اما این محصول پس از برداشت به شدت در معرض ملانوزیس قرار داشته و به سرعت فاسد می شود. ملانوزیس در میگو در اثر فعالیت آنزیم تیروزیناز می باشد. این آنزیم عمدتاً در کاراپاس سفالوتوراکس میگو وجود دارد و اورتو هیدروکسیلاسیون مونو هیدروکسی فنول ها (فعالیت مونو فنولاز یا کرسولاز) و اکسیداسیون اورتو دی هیدروکسی فنولها به ارتو کینون ها (فعالیت کاتکول اکسیداز یا دی فنولاز) را کاتالیز می کند. پلیمریزاسیون غیر آنزیمی اورتوکینون ها منجر به تشکیل رنگدانه تیره رنگ و نامحلول در آب ملانین و بروز لکه های سیاه در میگو می شود (Kim *et al*., 2000؛ Ramírez *et al*., 2003). این لکه های سیاه تغییری در طعم میگو ایجاد نمی کنند و هیچ گزارشی مبتنی بر بیماری زا بودن آن ها وجود ندارد، اما به دلیل ایجاد تغییرات رنگی نامطلوب سطحی، مشتری پسندی محصول را کاهش می دهند (Nirmal & Benjakul, 2009). ترکیبات سولفیتی و به ویژه متا بی سولفیت سدیم به شکل گسترده ای به عنوان مهار کننده های ملانوزیس کاربرد داشته و علی رغم قابلیت زیاد در کنترل لکه سیاه میگو، منجر به بروز حساسیت و ایجاد مشکل در افراد مبتلا به آسم می گردند (Montero *et al*., 2001). در نتیجه، یافتن جایگزین های طبیعی و مؤثر برای این ترکیبات ضروری است. تا کنون، امکان استفاده از بسیاری ترکیبات با منشأ طبیعی از جمله آسکوربیک اسید، کوجیک اسید (Chen *et al*., 1991)، فیسین (Taoukis *et al*., 1990)، اسید سیتریک (Montero *et al*., 2001) و اگزالیک اسید (Son *et al*., 2000) به عنوان جایگزین های ترکیبات سولفیتی بررسی شده است. همچنین، امروزه خاصیت مهار کنندگی آنزیم تیروزیناز در بسیاری از ترکیبات طبیعی همچون کاتکین، فرولیک اسید، عصاره چای سبز و چای مالبری، عصاره رزماری و عصاره هسته انگور به اثبات رسیده است (Nirmal & Benjakul., 2009; Zheng *et al*., 2010).

گزارشات اندکی نیز مبتنی بر اثر مهار کنندگی اسانس بر آنزیم تیروزیناز قارچ موجود است، Chang و همکاران در سال ۲۰۱۳، نشان دادند که اسانس دارچین (*Cinnamomum cassia*) در مقابل آنزیم تیروزیناز قارچ دارای خاصیت بازدارندگی با IC_{50} معادل ۰/۰۴±۶/۱۶ mg/ml می باشد. ماتسورا و همکاران نیز در سال ۲۰۰۶ گزارش کردند که اسانس پوست لیمو، آنزیم تیروزیناز قارچ را به طور مؤثری مهار می کند (Matsuura *et al*., 2006).

آویشن شیرازی با نام علمی (*Zataria multiflora* Boiss.)، عضو خانواده لامیاسه (Lamiaceae) می باشد (Gandomi *et al*., 2009)، اسانس این گیاه دارای خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی قابل توجهی است که دلیل اصلی آن حضور ترکیبات فنولی خصوصاً، تیمول و کارواکرول می باشد (Ultee *et al*., 1998; Golmakani *et al*., 2008; Kostaki *et al*., 2009).

اسانس آویشن از طرف اتحادیه اروپا (European Commission) به عنوان یک ترکیب GRAS (Generally Recognized as Safe) معرفی شده است (Sharififar *et al*., 2007) و به عنوان ترکیب طعم دهنده و نگهدارنده در مواد غذایی و نوشیدنی ها کاربرد دارد.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.3.11.1]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103556]

هدف از این تحقیق شناسایی ترکیبات و قدرت آنتی اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی و بررسی اثر مهارکنندگی آن بر آنزیم تیروزیناز و روند ملانوزیس در میگوی پرورشی پا سفید غر بی (*Litopenaeus vannamei*) طی ۱۰ روز نگهداری در یخ می باشد.

مواد و روش ها

سولفات آمونیوم جامد، ۲و۲ دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، فسفات سدیم، تریتون X-100، اتانول، نیتروژن مایع، کربنات سدیم، BHT، L-β-(3,4-dihydroxyl phenyl) alanine (L-DOPA)، کلرید کلسیم

گو نه میگوی پا سفید غر بی پرورشی *Litopenaeus vannamei*، با اندازه ۶۰-۵۵ میگو/ کیلوگرم، از مرکز پرورش میگوی واقع در استان بوشهر خریداری و بلافاصله پس از مرگ به ۲ گروه تقسیم شد. یک گروه در تعلیق آبی ۱٪ اسانس آویشن که با افزودن ۰/۳ درصد تویین ۸۰ به عنوان امولسیفایر و همگن سازی تهیه شده بود و گروه کنترل در آب ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه با نسبت میگو/ محلول: یک به دو W/V غوطه ور گردیدند، سپس نمونه ها به مدت ۱ دقیقه در ظرف دارای سطح مشبک آبکشی و در پاکت های پلی اتیلنی بسته بندی شده و در ظروف حاوی یخ (نسبت میگو/ یخ: یک به دو W/W) در یخچال ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. نمونه برداری جهت ارزیابی روند ملانوزیس، هر دو روز یکبار، طی ۱۰ روز نگهداری میگوها در یخ صورت گرفت.

سرشاخه هوایی خشک شده گیاه آویشن شیرازی از مرکز فروش گیاهان دارویی خریداری و تأیید جنس و گونه در هرباریوم بخش زیست شناسی دانشگاه شیراز انجام شد. استخراج اسانس توسط دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب در دستگاه با توان ۳۳۰ وات و نسبت گیاه به آب ۱ به ۱۰ صورت گرفت.

اسانس جمع آوری شده توسط سولفات سدیم بی آب خشک گردید. سولفات سدیم بی آب، متناسب با مقدار رطوبت موجود در نمونه اضافه گردید. سپس به ۰/۱ میلی لیتر از اسانس آبگیری شده، ۱ میلی لیتر هگزان نرمال افزوده و ۰/۱ میکرو لیتر آن به دستگاه GC/MS تزریق شد. دستگاه GC/MS شامل دستگاه کروماتوگرافی گازی (مدل Agilent Technologies 7890A، ساخت کشور آمریکا) و طیف سنج جرمی (مدل Agilent Technologies 5975C، ساخت کشور آمریکا) بود. دمای قسمت تزریق نمونه، ۲۸۰ درجه سانتیگراد و گاز مورد استفاده، هلیم (۹۹/۹۹٪) با سرعت جریان یک میلی لیتر در دقیقه بود. سیستم در حالت تقسیم (Split) با نسبت تقسیم (Split ratio) ۱:۱۰۰ تنظیم شده بود. ستون دستگاه (مدل Agilent Technologies Inc. HP-5MS، ساخت کشور آمریکا) از نوع موبینه با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر بود. دمای ستون، با سرعت ۳ درجه سانتیگراد در دقیقه، از ۶۰ درجه سانتیگراد به ۲۱۰ درجه سانتیگراد رسانده شد. بلافاصله پس از آن با سرعت ۲۰ درجه سانتیگراد در دقیقه به دمای ۲۴۰ درجه سانتیگراد رسانده شد و به مدت ۸/۵ دقیقه در این دما نگهداری شد (کل زمان اجرایی دستگاه: ۶۰ دقیقه). زمان تأخیر حلال در شناساگر طیف جرمی ۳ دقیقه، دامنه جرم Amu ۵۵۰-۴۵، دمای منبع طیف جرمی ۲۳۰ درجه سانتیگراد، دمای کواد طیف جرمی ۱۵۰ درجه سانتیگراد و دمای خط انتقال ۲۸۰ درجه سانتیگراد بود.

پس از انجام تزریقات و به دست آوردن کروماتوگرام، شناسایی و تعیین مقدار هر یک از ترکیبات با استفاده از طیف جرمی آن ها انجام شد. تعیین نوع ماده ورودی به طیف سنج جرمی بر اساس داده های کتابخانه ای وایلی و همچنین مطابق استاندارد ملی ایران با شماره ۵۱۹۲ تعیین گردید. ضمناً، جهت محاسبه شاخص ماند (Retention index)، نمونه استانداردی از آلکان های نرمال تحت همان برنامه دمایی و ستون به دستگاه GC/MS تزریق و زمان ماند (Retention time) آنها اندازه گیری شد .

به منظور بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی از روش مهار کنندگی رادیکال آزاد ۲و۲ دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) به روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. آنتی اکسیدان ها می توانند رادیکال پایدار DPPH° را به ترکیب زرد رنگ دی فنیل پیکریل هیدرازین (DPPH) احیاء

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.3.11.1]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103556]

کنند (Zangiabadi *et al.*, 2012). توانایی بخشیدن اتم هیدروژن یا الکترون که در نتیجه وجود برخی ترکیبات احیا کننده می باشد به وسیله اندازه گیری بی رنگ شدن رنگ ارغوانی محلول DPPH مشخص می شود. ۴۰۰ میکرولیتر از غلظت های ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم اسانس در میلی لیتر اتانول به ۲۰۰ میکرولیتر محلول اتانولی ۰/۲ میلی مولار DPPH اضافه و ۶۰ دقیقه در دمای محیط در تاریکی نگهداری شد. پس از طی این مدت، جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه پلیت ریدر (Plate reader) مدل Micro 200R، خوانده شد. یک نمونه حاوی ۴۰۰ میکرولیتر اتانول و ۲۰۰ میکرولیتر محلول DPPH به عنوان نمونه کنترل مورد استفاده قرار گرفت. توانایی خنثی سازی رادیکال DPPH که بیانگر میزان فعالیت آنتی رادیکالی اسانس است بر اساس میزان IC_{50} محاسبه شد.

ناحیه سفالوتوراکس ۲۰ عدد میگو جدا و همراه با افزودن ازت مایع خرد شد. ۵۰ گرم از خمیر میگو با ۱۵۰ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار (pH ۷/۲) حاوی کلرید سدیم ۱ مولار و ۰/۲ درصد تریتون X-100 مخلوط و پس از ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ نمودن در دور rpm ۹۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتیگراد، به مایع رویی، سولفات آمونیوم جامد تا اشباعیت ۴۰٪ اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد، محلول مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه در دور ۱۱۰۰۰rpm در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شده و رسوب حاصله در بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار (pH ۷/۲) حل و به مدت ۱۲ ساعت در برابر این بافر دیالیز گشت. مواد نامحلول به کمک سانتریفیوژ جدا شده و مایع فوقانی به عنوان نمونه خام آنزیم پلی فنول اکسیداز مورد استفاده قرار گرفت (Nirmal & Benjakul, 2009).

صد میکرولیتر از آنزیم پلی فنول اکسیداز به دست آمده از مرحله قبل به همراه ۶۰۰ میکرولیتر از محلول L-DOPA ۱۵ میلی مولار و ۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار (pH۶) را در آب حل کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شد. تشکیل دوپاکروم، با محاسبه میزان جذب نوری محلول در طول موج ۴۷۵ نانومتر ارزیابی گردید. یک واحد فعالیت آنزیم به صورت افزایش ۰/۰۰۱ واحد جذب نوری تعریف گردید (Nirmal & Benjakul, 2009).

غلظت های مختلف از اسانس آویشن شیرازی، با عصاره آنزیم پلی فنل اکسیداز مخلوط، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری و پس از افزودن بافر فسفات سدیم و L-DOPA به آن، جذب نوری محلول حاصله در طول موج ۴۷۵ نانومتر، به مدت ۳۰ دقیقه و در توالی های یک دقیقه ای قرائت گردید. در نمونه کنترل به جای اسانس، از آب غیر یونیزه استفاده شد و فعالیت نسبی آنزیم مطابق معادله (۱) تعیین گردید (Nirmal & Benjakul, 2009).

معادله (۱)

٪فعالیت نسبی آنزیم = فعالیت آنزیم در حضور اسانس / فعالیت آنزیم در نمونه کنترل

ارزیابی ملانوزیس (لکه سیاه) میگو به روش Montero و همکاران (۲۰۰۱)، با اندکی تغییر صورت گرفت. ارزیابی چشمی توسط ۱۵ ارزیاب صورت گرفت. شدت بروز ملانوزیس در نمونه ها با اختصاص امتیاز از ۴-۱ به آن ها تعیین گردید ((۱= عدم بروز ملانوز، ۲= ملانوز مختصر (تا حد ۳۰٪ سطح میگو)، ۳= ملانوز متوسط (۶۰-۳۰ ٪ سطح میگو)، ۴= ملانوز قابل توجه (بیشتر از ۶۰٪ سطح میگو)). در نهایت، میانگین امتیاز داده شده توسط افراد در هر تکرار محاسبه و مورد ارزیابی آماری قرار گرفت.

این تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. کلیه آزمایش ها در ۳ تکرار انجام پذیرفتند و نتایج به صورت میانگین تکرارها ± انحراف استاندارد گزارش گردیدند. تجزیه و تحلیل آماری داده ها به کمک نرم افزار SAS انجام شد. نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنف سنجیده شد. مقایسه میانگین ها به کمک نرم افزار SAS و با آزمون ناپارامتری من ویتنی (Mann-whitney) انجام شد.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.3.11.1]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103556]

نتایج

ترکیبات اصلی اسانس آویشن شیرازی اندازه گیری شده توسط دستگاه GC/MS، در جدول ۱ نشان داده شده اند. شناسایی ترکیبات به کمک مقایسه طیف‌های جرمی آنها با طیف‌های مرجع و همچنین مقایسه شاخص‌های بازداری آنها با شاخص‌های بازداری این ترکیبات انجام گرفته است. همان طور که مشاهده می شود، چهار ترکیب تیمول، کارواکرول، پاراسیمن و گاما ترپینن به ترتیب با میزان ۵۰/۸۳، ۱۴/۳۸ و ۱۰/۶۳ و ۶/۸۵٪ مجموعاً ۸۲/۴۲ ٪ ترکیبات اسانس آویشن شیرازی را تشکیل می دادند. گاما ترپینن و پاراسیمن پیش سازهای تیمول و کارواکرول می باشند. تیمول و کارواکرول جزء اسیدهای فنولیک بوده که دارای قدرت آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به پیش سازهای خود می باشند. همانطور که مشاهده می شود در اسانس آویشن شیرازی مجموع تیمول و کارواکرول (۶۵/۲٪)، تقریباً ۳/۷ برابر مجموع پاراسیمن و گاما ترپینن (۱۷/۴۸٪) می باشد.

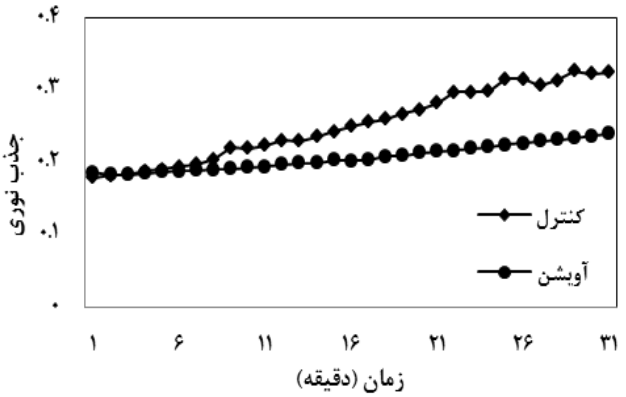
جدول ۱: تعیین کمی و کیفی ترکیبات اصلی موجود در اسانس آویشن شیرازی

ردیف	نام ترکیب	زمان ماند (دقیقه)	شاخص ماند	سطح زیر پیک
۱	پینن - آلفا	۵/۹	۹۳۲	۲/۹۴
۲	ترپینن-آلفا	۸/۳	۱۰۱۵	۲/۳۳
۳	پارا سایمن	۸/۸	۱۰۲۹	۱۰/۶۳
۴	گاما- ترپینن	۹/۹	۱۰۵۸	۶/۸۵
۵	تیمول	۱۹/۴	۱۲۹۱	۵۰/۸۳
۶	کارواکرول	۱۹/۹	۱۳۰۵	۱۴/۳۸
۷	تیمول استات	۲۲/۰	۱۳۵۵	۲/۳۹

توانایی به دام اندازی رادیکال ۲و۲ دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، اسانس آویشن شیرازی بر اساس میانگین IC_{50} برابر با ۰/۸±۰/۰۲ mg/ml بود. IC_{50}، BHT به عنوان کنترل مثبت ۰/۰۲۵ mg/ml محاسبه شد.

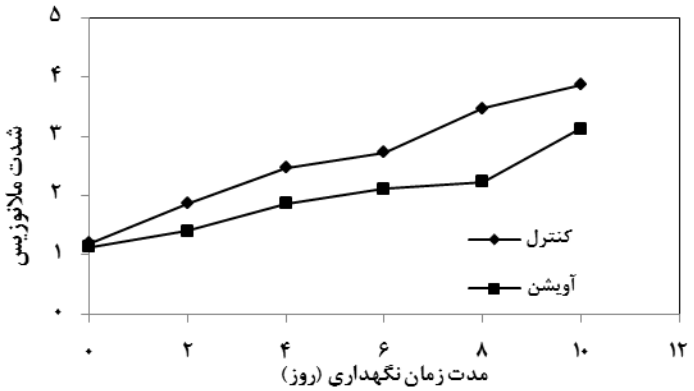
تاثیرغلظت ۰/۲۵ درصد اسانس آویشن شیرازی بر مهار آنزیم پلی فنول اکسیداز در شکل ۱ نشان داده شده است. در نمونه کنترل که فاقد اسانس بود، آنزیم پلی فنول اکسیداز منجر به اکسیداسیون DOPA به DOPA-quinone شده و محصولات واسطه، پس از پلی مریزه شدن به ملانین تبدیل شده و سبب افزایش جذب نوری نمونه شدند. با افزودن اسانس آویشن شیرازی فعالیت آنزیم مهار شد و در مقایسه با گروه کنترل، جذب نوری کمتری داشت. درصد مهار آنزیم تیروزیناز در حضور غلظت ۰/۲۵ درصد اسانس برابر با ۶۳/۲ ٪ بود.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.3.11.1]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103556]



شکل ۱: تاثیرغلظت ۰/۲۵ درصد اسانس اویشن شیرازی بر مهار انزیم پلی فنول اکسیداز

تغییرات روند ملانوزیس در میگوهای تیمار شده با اسانس آویشن شیرازی در مقایسه با گروه کنترل در شکل ۲نشان داده شده است. میزان ملانوز نمونه ها در روز صفر بسیار ناچیز بود. با افزایش مدت زمان نگهداری، شدت ملانوزیس در گروه کنترل افزایش یافت ($p < 0.05$) در حالیکه این روند افزایشی در نمونه های تیمار شده با اسانس آویشن شیرازی شیب کندتری داشت.



شکل ۲: تغییرات روند ملانوزیس در میگوهای تیمار شده با اسانس آویشن شیرازی و گروه کنترل طی ۱۰ روز نگهداری در یخ

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.3.11.1]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103556]

بحث

اسانس آویشن شیرازی دارای میزان بالایی از اسیدهای فنولیک تیمول و کارواکرول می باشد. خاصیت آنتی اکسیدانی و رادیکال زدایی اسانس آویشن شیرازی مربوط به حضور ترکیبات فنولی بوده که قادر به دادن هیدروژن به رادیکال آزاد می‌باشند (Miliauskas *et al*., 2005). زنگی آبادی و همکاران (۲۰۱۲)، IC_{50} اسانس آویشن شیرازی را mg/ml ۰/۰۳ ± ۰/۷۸ گزارش کردند. طبق گزارش Furneri و همکاران (۲۰۰۲)، ترکیبات فنولی قادر به واسرشتی آنزیم ها می باشند (Furneri *et al*., 2002). به طور کلی ترکیبات پلی فنولی از مهار کنندگان آنزیم تیروزیناز بوده و آنزیم را در اثر واکنش با جایگاه فعال، مهار می نمایند. این ترکیبات از طریق گروه هیدروکسیل خود به جایگاه فعال آنزیم متصل شده و یا از طریق تشکیل باز شیف توسط گروه آلدهیدی خود، سبب کمپلکس کردن فلز مس که کوفاکتور آنزیم تیروزیناز است، می شوند (Kubo & Kinst-Hori, 1998a). گروه هیدروکسیل ترکیبات فنولی همچنین از طریق دادن الکترون به ترکیبات واسطه، سبب احیاء آن ها به ترکیب دوپا و عدم تولید ملانین می گردند (Nirmal & Benjakul, 2009). در رابطه با اسانس آویشن شیرازی، ترکیبات تیمول و کارواکرول که ترکیبات اصلی اسانس آویشن می باشند از طریق مکانیسم های بیان شده سبب مهار فعالیت آنزیم تیروزیناز می شوند. گزارش شده است که، انیس آلدهید موجود در روغن انیسون (بادیان رومی) (*Pimpinella anisum*) قادر به مهار آنزیم تیروزیناز قارچ می باشد.

افزودن ۲۰ و ۲۷۰ µg/ml انیس آلدهید به محلول حاوی L-DOPA و آنزیم تیروزیناز به ترتیب سبب کاهش فعالیت آنزیم به میزان ۴۰ و ۷۵٪ شده است (Kubo & Kinst-Hori., 1998b). طبق گزارش ماتسورا و همکاران (۲۰۰۶)، ترکیبات سیترال (Citral) و میرسن (Myrcene) پوست مرکبات عوامل اصلی مهار کننده فعالیت تیروزیناز بوده و کنتیک بازدارندگی آن ها به ترتیب به صورت غیر رقابتی و رقابتی است (Matsuura *et al*., 2006). اسانس آویشن شیرازی به دلیل اثر آنتی تیروزینازی قابل توجه می تواند سبب به تعویق افتادن روند ملانوزیس در میگو طی دوره نگهداری در یخ شود. گزارش شده که عصاره هسته انگور و چای سبز نیز به دلیل حضور ترکیبات فنولی قادر به کاهش روند ملانوزیس در میگوی نگهداری شده در یخ می باشند (Gokoglu & Yerlikaya, 2008; Nirmal & Benjakul, 2011).

بنابراین اسانس آویشن شیرازی می تواند به عنوان یک ترکیب نگهدارنده طبیعی جهت افزایش ماندگاری میگو طی دوره نگهداری در یخ استفاده شود.

سپاسگزاری

از مدیریت محترم شیلات فارس، همچنین مهندس عاشوری از اداره شیلات بوشهر، دکتر حسینی از مرکز پرورش میگوی دلوار و نیز مهندس نیک نیا و محمدی مسئولین محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی و خانم مهندس آغازی مسئول محترم آزمایشگاه شیمی گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری می نماییم.

منابع

کریمی ع.، ۱۳۸۶. اهمیت و ارزش غذایی میگو در امنیت غذایی و سلامت جامعه، ۱۳۹۰، www.shilat.com.

ماجدی م.، ۱۳۸۳. کنترل کیفی آبزیان و فراورده های تبدیلی آن، تهران، انتشارات آذرگان، صفحات ۱۰۳-۱۰۱.

مؤیدی، م.؛ گلمکانی، م.ت. و موحد، س.، ۱۳۹۲. بررسی خصوصیات اسانس پوست واریته های مختلف لیموترش خارگی (*Citrus limon*) استخراج شده به روش تقطیر با آب. مجله علوم غذایی و تغذیه، ۸۸-۷۵، (۱)۱۱.

Chang C.T., Chang W.L., Hsu J.C., Shih Y. and Chou S.T., 2013. Chemical composition and tyrosinase inhibitory activity of *Cinnamomum cassia* essential oil. Botanical Studies, 54, 10-17.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.3.11.1]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103556]

Chen J.S., Wei C.I., Rolle R.S., Otwell W.S., Balaban M.O. and Marshall M.R., 1991. Inhibitory effect of kojic acid on some plant and crustacea polyphenoloxidases. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39, 1396–1401.

Chen Q.X., Song K.K., Qiu L., Liu X.D., Huang H. and Guo H.Y., 2005. Inhibitory effects on mushroom tyrosinase by p-alkoxybenzoic acids. Journal of Food Chemistry, 91, 269–274.

Furneri P.M., Marino A., Saija A., Uccella N. and Bisignano G., 2002. In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein. International Journal of Antimicrobial Agents, 20, 293-296.

Gandomi H., Misaghi A., Akhondzadeh Basti A., Bokaei S., Khosravi A., Abbasifar A. and Jebelli Javan, A., 2009. Effect of *Zataria multiflora* Boiss essential oil on growth and aflatoxin formation by *Aspergillus flavusin* culture media and cheese. Food and Chemical Toxicology, 47, 2397–2400.

Gokoglu N. and Yerlikaya P., 2008. Inhibition effects of grape seed extracts on melanosis formation in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). International Journal of Food Science and Technology, 43, 1004–1008.

Golmakani M. and Rezaei K., 2008. Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from *Zataria multiflora* Boiss. European Journal of Lipid Science and Technology, 110, 448-454.

Kim J., Marshall M.R. and Wei C., 2000. Polyphenoloxidase. *In:* Haard NF, Simpson BK (Eds.) Seafood enzyme utilization and influence on postharvest seafood quality (pp. 271–315). New York: Marcel Dekker.

Kostaki M., Giatrakou V., Savvaidis I.N. and Kontominas M.G., 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aqua cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. Journal of Food Microbiology, 26, 475-82.

Kubo I. and Kinst-Hori I., 1998a. Tyrosinase inhibitors from cumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 5338−5341.

Kubo I. and Kinst-Hori I., 1998b. Tyrosinase Inhibitors from Anise Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1268−1271.

Matsuura R., Ukeda H. and Savwamura M., 2006. Tyrosinase inhibitory activity of citrus essential oils. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 54, 2309−2313.

Miliauskas G., Van Beek T.A., De Waard P., Venskutonis R.P. and Sudholter E.J.R., 2005. Identification of radical scavenging compounds in *Rhaponticum carthamoides* by means of LC-DAD-SPE-NMR. Journal of Natural Product, 68, 168-172.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.3.11.1]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103556]

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

Nirmal N.P. and Benjakul S., 2011. Retardation of quality changes of Pacific white shrimp by green tea extract treatment and modified atmosphere packaging during refrigerated storage. International Journal of Food Microbiology, 149, 247–253.

Nirmal N.P. and Benjakul S., 2009. Effect of ferulic acid on inhibition of polyphenoloxidase and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage. Food Chemistry, 116, 323–331.

Ramírez E.C., Whitaker J.R. and Virador V.M., 2003. Polyphenol oxidase. *In:* Whitaker JR, Voragen AGJ, Wong DWS (Eds.) Handbook of food enzymology (pp. 509–523). New York: Marcel Decker Inc.

Sharififar F., Moshafi M.H., Mansouri S.H., Khodashenas M. and Khoshnoodi M., 2007. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. Food Control, 18, 800–805.

Son S.M., Moon K.D. and Lee C.Y., 2000. Kinetic study of oxalic acid inhibition on enzymatic browning. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48,2071–2074.

Taoukis P.S., Labuza T.P., Lillemo J.H. and Lin S.W., 1990. Inhibition of shrimp melanosis (black spot) by ficin. Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie, 23, 52–54.

Ultee, A., Gorris, L.G. and Smit, E.J., 1998. Bactericidal activity of carvacrol towards the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Journal of Applied Microbiology, 85, 211–218.

Zangiabadi M., Sahari M.A., Barzegar M. and Naghdi Badi H., 2012. *Zataria multiflora* and *Bunium persicum* essential oils as two natural antioxidants. Journal of Medicinal Plants, 1(41), 8-21

Zheng Z.P., Cheng K.W., Chao J., Wu J. and Wang M., 2008. Tyrosinase inhibitors from paper mulberry *(Broussonetia papyrifera)*. Food Chemistry, 106, 529–535.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.3.11.1]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103556]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103556] [DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.3.11.1] [Downloaded from isfj.ir on 2026-11-04]

The effects of *Zataria multiflora* on inhibition of polyphenoloxidase and melanosis formation in shrimp (*Litopenaeus vannamei)*

Nasiri E. [1]; Moosavi-Nasab , M. [1,3]*; Shekarforoush, S. S.[2]; Golmakani, M. T.[1]

* marzieh.moosavi-nasab@mail.mcgill.ca

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

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

3- Seafood Processing Research Group, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1393.23.3.11.1]

[DOI: 10.22092/ISFJ.2014.103556]

Key words: Melanosis, Pacific white shrimp, Tyrosinase, *Zataria multiflora* Boiss

Abstract

Shrimp melanosis (black spot) is an important surface discoloration caused by polyphenol oxidase (tyrosinase) enzyme, which oxidizes phenols and leads to insoluble black pigments, the melanins. Sulphiting agents are widely used as melanosis inhibitors; but, the hazards related to sulphated foods, such as allergic reactions and severe disorders in asthmatic patients have created a necessity to find the effective natural alternatives. The current study was accomplished to assay the in vitro antityrosinase effect of *Z. multiflora* EO as well as its capability to retard the melanosis formation in shrimp during iced storage. According to GC/MS results, carvacrol, thymol and p-cymene were the major components of *Z.multiflora* EO, representing 50.8, 14.4 and 10.6, respectively. DPPH radical scavenging activity of EO was 0.8±0.02 mg/ml and 63.2% of tyrosinase activity decreased when EO with a concentration of 0.25% was applied. Furthermore, it has been observed that immersing the shrimps in 1% EO aqueous suspension retarded the melanosis formation in shrimp during 10 days of iced storage. It can be concluded that *Z. multiflora* EO could be used as an effective natural processing aid to increase the shrimp shelf-life during iced storage.

*Corresponding author