تعیین حداقل غلظت بازدارندگی عصاره اتانولی پوست پرتقال و تاثیر آن بر فلور باکتری‌های مولد فساد در فیله فیل ماهی (*Huso huso*) در زمان نگهداری در یخچال

فرشته اورعی[۱]، سید ابراهیم حسینی[۱]، سید محمد جلیل ذریه زهرا[۲*]، رضا صفری[۳]

*zorrieh@yahoo.com

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

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۸

چکیده

امروزه استفاده از عصاره‌های طبیعی به منظور بهبود کیفیت ماهی به دلیل داشتن ویژگی‌های ضدمیکروبی رو به افزایش است. در این تحقیق به منظور تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) از عصاره اتانولی پوست پرتقال، روش رقیق‌سازی در آگار بر باکتری‌های سودوموناس آئروجینوزا، اشرشیاکلی و آئروموناس هیدروفیلا استفاده شد. سپس فیله‌های فیل ماهی با محلول‌های عصاره اتانولی پوست پرتقال (بترتیب به نسبت ۵، ۶ و ۷ درصد وزنی/ وزنی) و نمونه شاهد در آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه تیمار شدند. نمونه‌ها در فواصل زمانی معین (صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ روز) از نظر ویژگی‌های میکروبی (شمارش کل باکتری‌های هوازی مزوفیل، سرماگرا وکلی فرم) مورد بررسی قرار گرفتند. میزان MIC عصاره اتانولی پوست پرتقال در شرایط *in vitro* برای هر سه باکتری، ۵ درصد تعیین گردید. بر اساس تجزیه و تحلیل آزمون میکروبی، عصاره‌های پوست پرتقال به طور معنی‌داری سبب کاهش بار میکروبی در فیله فیل ماهی در مقایسه با نمونه کنترل شدند ($p<۰/۰۱$) بطوریکه روند افزایش بار میکروبی در فیله‌های مورد تیمار با عصاره پوست پرتقال ۷٪ کندتر از تیمارهای عصاره پوست پرتقال ٪۶ و عصاره پوست پرتقال ۵٪ بود و توانست زمان ماندگاری ماهی را در مقایسه با نمونه کنترل ۲ برابر کند. لذا، عصاره پوست پرتقال به علت دارا بودن خاصیت ضدمیکروبی می‌تواند به عنوان نگهدارنده طبیعی سبب افزایش زمان ماندگاری نمونه‌های ماهی در طول نگهداری در دمای یخچال گردد.

لغات کلیدی: عصاره پوست پرتقال، فیل ماهی، حداقل غلظت بازدارندگی، فعالیت ضد باکتریایی

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-20]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.2.4]

مقدمه

ماهیان به سبب دارا بودن چربی‌های غیراشباع، پروتئین نسبتاً بالا و همچنین مقادیر قابل ملاحظه ویتامین و مواد معدنی، اهمیت بسیار زیادی در رژیم غذایی انسان دارند (Simopoulos, 1999). ولی محصولات دریایی به دلیل محتوای بالای اسیدهای آمینه آزاد، بازهای نیتروژنه فرار و اسیدهای چرب غیر اشباع، بسیار فسادپذیرتر از گوشت قرمز و مرغ می باشند (Sallam, 2007). ماهی بعد از مرگ به دلیل فعالیت میکروبی، آنزیمی و واکنش های اکسیداتیو بسرعت فاسد می‌شود. در بین عوامل موثر بر فساد ماهی، آنزیم‌های باکتریایی از مهمترین عواملی هستند که موجب تغییرات نامطلوب در طعم، بو و ظاهر آن می‌گردند (Debbarma *et al.*, 2012). میکروارگانیسم‌های عامل فساد در آبزیان هنگام تجزیه پروتئین‌ها محصولاتی مانند، آمونیاک، ایندول، متان تیول، پوتریسین، تری متیل آمین و سایر ترکیبات بدبو را تولید می‌کنند (Olafsdottir *et al.*, 1997; Davidson *et al.*,2002). امروزه تمایل مصرف کنندگان به استفاده از افزودنی‌های طبیعی مانند متابولیت‌های میکروبی، عصاره و اسانس‌های گیاهی که می‌توانند به عنوان ترکیبات ضد میکروبی طبیعی در غذاها بکار روند، افزایش یافته است (Debbarma *et al.*, 2012).

اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به روش‌های متفاوتی بر عوامل میکروبی اثر می‌گذارند که می‌توان به مختل کردن سیستم آنزیمی و تاثیر بر لایه فسفولیپیدی غشاء سلولی آن‌ها اشاره نمود (Burt *et al.*, 2007). مکانیسم عمل آنها مشابه سایر ترکیبات فنولیک است و سبب اختلال در نیروی محرک پروتون، جریان الکترون، انتقال فعال و انعقاد محتوای سلول می‌شوند (Burt, 2004). برخی از اجزاء تشکیل‌دهنده عصاره‌ها، آب گریز هستند. این ویژگی آن‌ها را قادر می‌سازد که در لایه لیپیدی غشاء سلول باکتری و میتوکندری پراکنده شوند و ساختار آن‌ها را تغییر دهند که این امر منجر به نشت محتوای سلول می‌شود (Viuda-Martos *et al.*, 2011). ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های گیاهی، غشاء خارجی میکروارگانیسم‌ها را تخریب می‌کنند و سبب خروج لیپوساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشاء سیتوپلاسمی به ATP می‌شوند. خروج ATP منجر به اتمام ذخیره انرژی سلول و در نتیجه مرگ آن می‌شود (Rezaei *et al.*, 2008).

مرکبات دارای فعالیت ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای بوده و دارای مقادیر بالایی از فلاونوئید می‌باشند (Mokbel *et al.*, 2006). بیشترین تولید مرکبات مربوط به پرتقال (۴۳ میلیون تن) می‌باشد. معروف‌ترین گونه اصلاح شده پرتقال در دنیا تامسون ناول می‌باشد. امروزه کشورهای برزیل و آمریکا بزرگترین تولید کننده پرتقال هستند که حدود ۶۰ درصد پرتقال جهان را تولید کرده و ۸۵ درصد این مقدار را فرآوری می‌کنند (Johnson, 1994). محتوای کل پلی‌فنول‌ها و اسید آسکوربیک در پوست میوه مرکبات از جمله پرتقال بیشتر از میوه پوست‌گیری شده است (Fernandez-Lopez *et al.*, 2004).

Chia-Min و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی تاثیر ضد باکتریایی اسانس روغنی استخراجی از پوست پرتقال در مقابل باکتری‌های *Vibrio parahaemolyticus*، *Escherichia coli*، *Salmonella typhimurium* و *Staphylococcus* پرداختند. نتایج نشان داد که اسانس روغنی پوست پرتقال به طور موثری می‌تواند باکتری‌های مذکور را غیر فعال کند. هدف از انجام این تحقیق بررسی خصوصیات ضد میکروبی عصاره الکلی پوست پرتقال در افزایش زمان ماندگاری فیل ماهی در کشور بود.

مواد و روش ها

آماده‌سازی ماهیان مورد آزمایش

نمونه‌های ماهی از یکی از مزارع پرورش فیل ماهی در استان مازندران (منطقه ساری) در پائیز سال ۱۳۹۵ خریداری و در مجاورت یخ قرار داده شد و انتقال آن‌ها به آزمایشگاه در زنجیره سرد در کوتاهترین زمان صورت گرفت. سپس عملیات شستشو با آب تمیز بهداشتی، سر و دم زنی، تخلیه شکمی و فیله کردن ماهیان (وزن تقریبی هر فیله حدود ۱۰۰ گرم) انجام شد.

تهیه عصاره پوست پرتقال

پرتقال تامسون سالم و فاقد هرگونه آلودگی قارچی از مرکز تحقیقات مرکبات ساری در همان سال خریداری و عملیات پوست گیری انجام و پوست حاصله به مدت ۲۰ دقیقه در اتانول مطلق جوشان قرار داده شد. سپس در اون

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.2.4]

با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت خشک گردید. جهت افزایش سطح تماس با حلال ابتدا توسط آسیاب خرد و از الک با مش ۱۴ عبور داده شد. نمونه های خشک شده تا زمان آزمایش در دمای زیر صفر درجه نگهداری شد. ۵۰ گرم پوست پرتقال خشک شده با ۳۰۰ میلی لیتر اتانول خالص در یک دکانتور مخلوط و پس از ۲۴ ساعت در دمای اتاق، فاز الکلی با کاغذ واتمن شماره ۱ از مواد گیاهی جدا شد، سپس فرآیند حلال پراکنی با دستگاه تبخیرکننده چرخان انجام شد و نمونه ها در در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد بمدت ۴۸ ساعت قرار گرفت. پس از تهیه عصاره خشک، نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ظرف درب‌دار و تیره رنگ استریل نگهداری شد (قره خانی و همکاران، ۱۳۸۸).

تعیین MIC عصاره اتانولی پوست پرتقال بر باکتری‌های شاخص

به منظور بررسی اثر ضد میکروبی عصاره استخراجی، سویه‌های استاندارد میکروبی شامل باکتری‌های *Pseudomonas aeruginosa* (PTCC27853)، *Escherichia coli* (PTCC8739) و *Aeromonas hydrophila* (PTCC7966)، از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران و دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه گردید. برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی عصاره، از روش رقیق سازی بر محیط آگار استفاده شد. غلظت‌های مورد نظر از عصاره (۱۰-۱ درصد) در دی متیل سولفوکسید ۱۰ درصد حل شد و با فیلتر سرنگی ۰/۲۵ میکرون استریل، به محیط کشت استریل "مولر هینتون آگار" اضافه شد. سپس پلیت‌ها در انکوباتور ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند. سپس از میکروارگانیسم‌های مزبور کشت‌های تازه تهیه و سوسپانسیونی با غلظت نیم مک فارلند (10^8cfu/ml) بدست آمد و از آن ۳ میکرولیتر به پلیت‌های مذکور به روش خطی تلقیح گردید، سپس پلیت‌ها در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت درگرمخانه نگهداری شدند. بررسی رشد و عدم رشد نمونه‌ها در مقایسه با شاهد صورت گرفت. در آزمایش‌های MIC برای کنترل مثبت از میکروارگانیسم بدون حضور ترکیب ضد میکروبی و از DMSO استریل به عنوان کنترل منفی استفاده شد (Rammler, 1967).

آماده‌سازی و تیمار کردن ماهی‌ها

در این تحقیق در مجموع چهار تیمار (همراه با گروه شاهد) و هر یک با ۳ تکرار در نظر گرفته شد. ماهیان به ۴ بخش تقسیم شدند. یک بخش به عنوان نمونه شاهد در کیسه‌های پلی استر (لایه بیرونی پلی استر و لایه داخلی پلی اتیلن) بسته‌بندی شده و در دمای یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سایر بخش‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در غلظت‌های ۵، ۶ و ۷ درصد عصاره استخراجی از پوست پرتقال غوطه‌ور و بسته‌بندی شدند. سپس نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند و در روزهای ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ سه ماهی از هر تیمار به طور تصادفی انتخاب و مورد آزمایش قرار گرفتند.

آماده‌سازی نمونه ها

۲/۵ سانتی‌متر مربع از پوست ناحیه قدامی پشت ماهی با اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی شد. سپس با پنس و اسکالپل استریل پوست‌کنی انجام و ۱۰گرم ازگوشت قسمت زیرین برداشته شده و در۹۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۸۵ درصد کلرید سدیم استریل قرار داده شده و به مدت ۶۰ ثانیه در یک مخلوط کن آزمایشگاهی همگن شد. سپس، رقت‌های استاندارد 10^{-1} ، 100^{-1} ، 1000^{-1} جهت کشت تهیه و در طول دوره بطوری عمل شد که در صورت نیاز (بالا بودن بار باکتری و بالا بودن تراکم کلنی‌ها درون پلیت‌ها) از رقت‌های بالاتر نیز استفاده شود. در هر دوره آزمون سه ماهی از هر تیمار به طور جداگانه نمونه برداری شد (استاندارد۳-۸۹۲۳ ایران، ۱۳۸۵).

شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل

یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون اولیه و سایر رقت‌های مورد نیاز، به پلیت‌های استریل منتقل شد (برای هر رقت ۲ پلیت در نظر گرفته شد). سپس حدود ۱۵-۱۲ میلی‌لیتر از محیط کشت پلیت کانت آگار با دمای حدود ۴۴ درجه سانتی‌گراد به هر یک از پلیت‌ها افزوده شد. سپس محتوای پلیت‌ها با حرکت چرخشی مخلوط و روی سطح افقی و خنک قرارگرفتند تا کاملاً منعقد شوند. سپس پلیت‌های آماده به صورت وارونه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.2.4]

مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه قرار گرفتند. بعد از پایان این زمان، پلیت‌هایی که حداقل ۳۰ و حداکثر ۳۰۰ پرگنه داشتند، انتخاب و شمارش شدند(Ben-Gigirey *et al.*, 1998).

شمارش باکتری‌های سرماگرا

یک میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه و سایر رقت‌های مورد نیاز با استفاده از سرسمپلرهای استریل به پلیت‌های استریل منتقل گردید. سپس حدود ۱۵-۱۲ میلی‌لیتر از محیط کشت پلیت کانت آگار با دمای حدود ۴۴ درجه سانتی‌گراد به هر یک از پلیت‌ها افزوده شد. سپس محتوای پلیت‌ها بوسیله حرکت چرخشی مخلوط شدند و روی سطح افقی و خنک قرارگرفتند تا کاملاً منعقد شوند. سپس پلیت‌های آماده به صورت وارونه در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز در گرمخانه قرار گرفتند. سپس پرگنه ها شمارش شدند (Ben-Gigirey *et al.*, 1998).

شمارش باکتری‌های کلی فرم

برای کشت این گروه از باکتری‌ها، از محیط کشت ویولت رد بایل لاکتوز آگار (VRBL) و روش کشت دو لایه استفاده شد. بدین ترتیب، پس ازکشت پورپلیت اولیه و سفت شدن محیط، مجدا محیط اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه قرار گرفتند و پرگنه‌های قرمز شمارش شدند (استاندارد۹۲۶۳ ایران، ۱۳۸۶).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ با کمک تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۱ درصد انجام گرفت.

نتایج

نتایج آزمایش‌های میکروبی در طول دوره نگهداری

مقادیر شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل(Total Viable Count (TVC

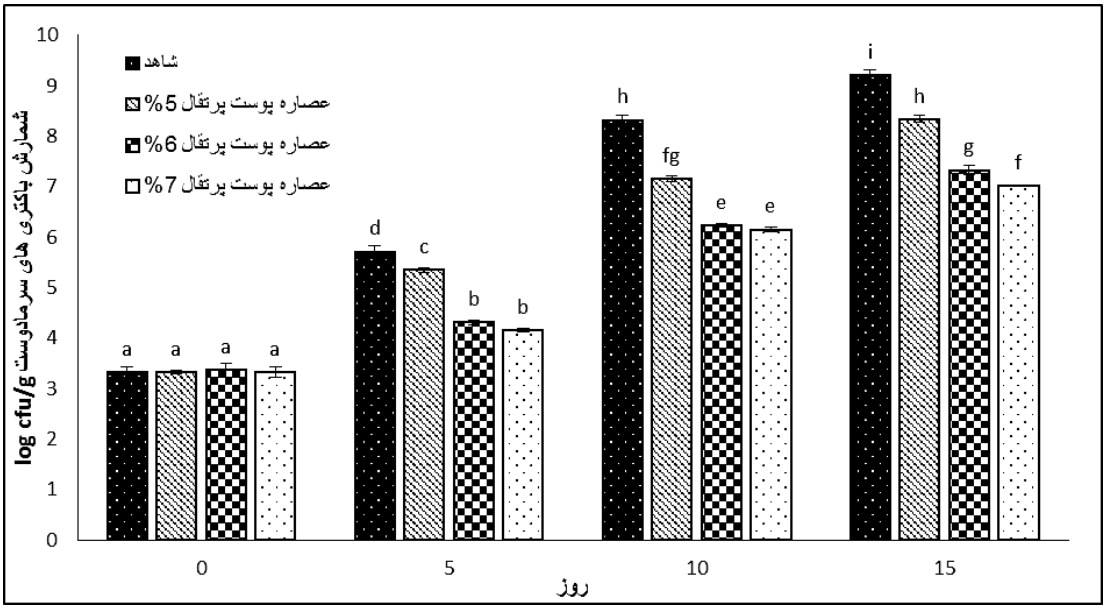
تغییرات TVC گوشت ماهی فیل ماهی در طول دوره نگهداری در شکل ۱ ارائه شده است. شمارش اولیه کل باکتری‌ها در مطالعه حاضر ۳/۴۵–۳/۳۳ log CFU/g بود که بیانگر کیفیت خوب ماهی مورد مطالعه است. مطابق شکل ۱ شمارش کل باکتری‌ها برای همه تیمارها با گذشت زمان به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<$۰/۰۱) بطوریکه این افزایش در تیمار کنترل شدت بیشتری داشت. شمارش کل باکتری‌های هوازی مزوفیل در نمونه‌های تیمار شده با عصاره و نمونه کنترل، در زمان صفر با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند ($p\square$ ۰/۰۱). میزان این شمارش در تیمار کنترل تا روز ۵، ۶/۲۷ log CFU/g بود در حالیکه در روز ۱۰ به ۸/۳۹ log CFU/g رسید که فراتر از حد قابل قبول (۷ log CFU/g) بود. میزان TVC در تیمار حاوی عصاره های ۵، ۶ و ۷ درصد از پوست پرتقال در روز ۱۰، بترتیب به ۷/۴۸ log CFU/g و log ۶/۶۶ CFU/g و ۶/۳۷ log CFU/g بود بطوریکه تیمار عصاره پوست پرتقال ۶ و ۷ درصد در حد قابل قبول قرار داشتند و در روز ۱۵، همه تیمارها فراتر از حد قابل قبول (۷ log CFU/g) بود.

مقادیر شمارش باکتری‌های سرماگرا Psychrotrophic Bacteria Count (PTC)

تغییرات PTC گوشت فیل ماهی در طول دوره نگهداری در شکل ۲ نشان داده شده است. میزان ابتدایی شمارش باکتری‌های سرماگرا در مطالعه حاضر log CFU/g ۳/۳۷–۳/۳۲ بود که بیانگر کیفیت خوب ماهی مورد مطالعه است. مطابق شکل ۲ میزان PTC برای همه تیمارها با گذشت زمان به طور معنی‌داری افزایش یافت بطوریکه این افزایش در تیمار کنترل شدت بیشتری داشت.

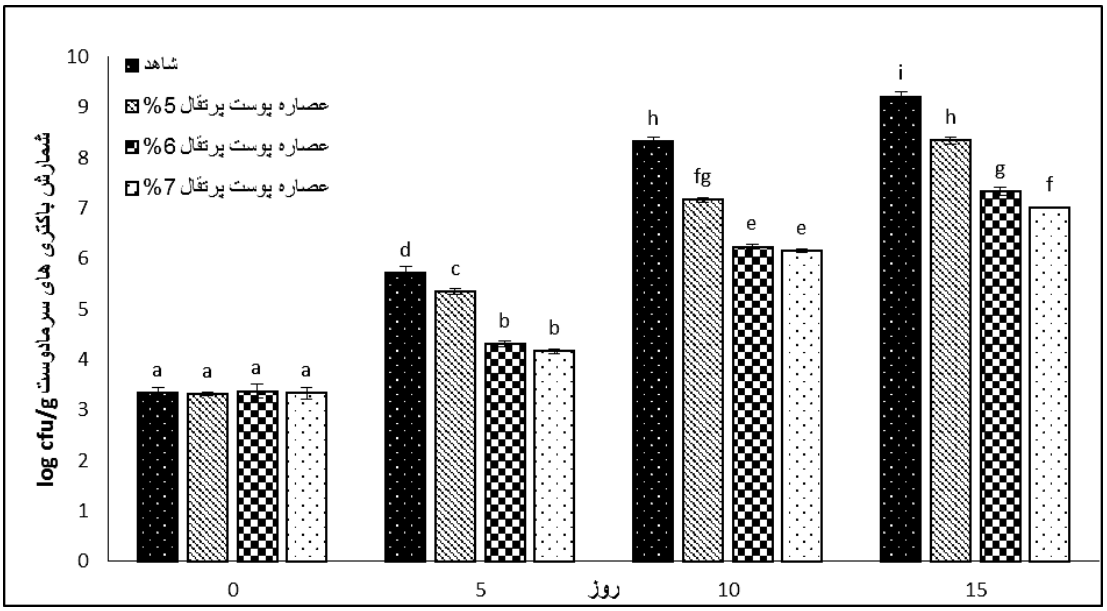
[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.2.4]



شکل ۱: مقادیر شمارش کل باکتری (TVC) برای تیمارهای مختلف نسبت به زمان (log cfu/g)

Figure 1: The Total Viable Count (TVC) for different treatments relative to time in terms of log cfu/g.



شکل ۲: مقادیر باکتری‌های سرمادوست (PTC) برای تیمارهای مختلف نسبت به زمان (log cfu/g)

Figure 2: The Psychrotrophic Bacteria Count (PTC) for different treatments relative to time in terms of log cfu/g.

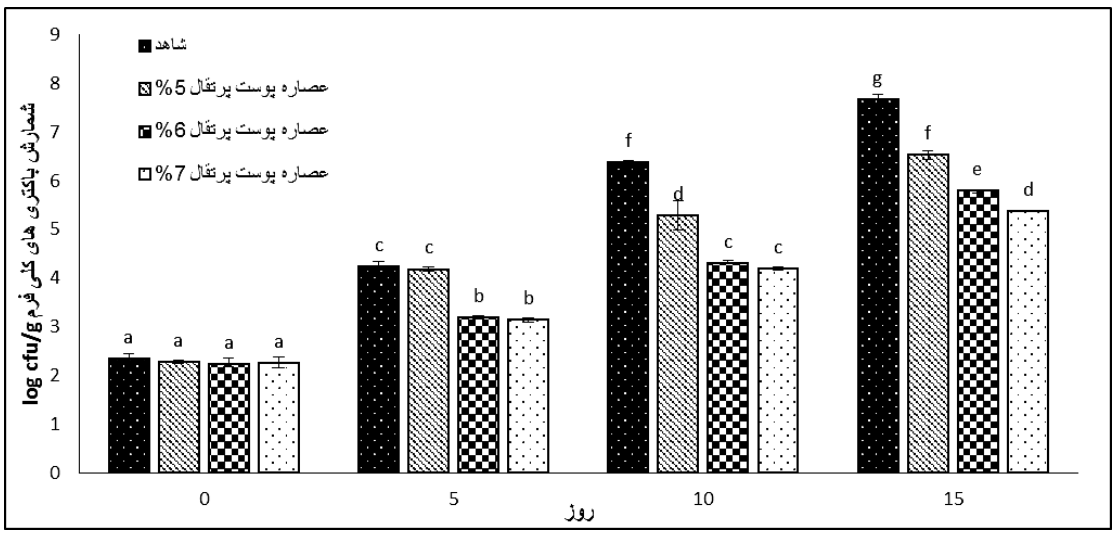
[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.2.4]

میزان این شمارش در تیمار کنترل تا روز ۵، log CFU/g ۵/۷۱ بود در حالیکه در روز ۱۰ به log CFU/g ۸/۳۲ رسید که فراتر از حد قابل قبول (log CFU/g ۷) است. میزان PTC در تیمار حاوی غلظت های ۵ و ۶ درصد در روز ۱۰، بترتیب به log CFU/g ۷/۱۶ و log CFU/g ۶/۲۳ رسید ولی با این وجود، در روز ۱۵ از خارج از دامنه استاندارد بود در حالیکه در تیمار حاوی عصاره ۷ درصد ، این میزان تا روز ۱۵ در حد قابل قبول (log ۷/۰۱CFU/g) قرار داشت.

مقادیر شمارش باکتری‌های کلی فرم(Coliform Count)

تغییرات کلی‌فرم‌های گوشت فیل ماهی در طول دوره نگهداری در شکل ۳ ارائه شده است. میزان اولیه باکتری‌های کلی‌فرم فیله‌های فیل ماهی در این تحقیق در تمامی تیمارها تقریباً برابر ۲/۳۴- ۲/۲۴ بود و تیمارها با هم از نظر میزان اولیه کلی‌فرم‌ها اختلاف معنی‌داری نداشتند (p□۰/۰۱). طبق نتایج حاصله، میزان کلی‌فرم‌ها در تمامی تیمارها در طول زمان روندی افزایشی داشت (در روز صفر کمترین و در روز ۱۵ دارای بیشترین مقدار بود) (p<۰/۰۱) بطوریکه این افزایش در نمونه شاهد شدت بیشتری داشت و مقدار آن به log CFU/g ۷/۶۷ رسید. در پنجمین روز از دوره نگهداری، شمارش باکتری‌های کلی‌فرم در تیمار کنترل به log CFU/g ۴/۲۳ رسید و در روز دهم از log CFU/g ۵ که حداکثر شمارش قابل قبول باکتری‌های کلی فرم می‌باشد، تجاوز کرد (ICMSF.,1986; زارع گشتی و همکاران، ۱۳۹۳). در تیمار عصاره پوست پرتقال ۶ و ۷ درصد، شمارش باکتری‌های کلی‌فرم در روز دهم به ترتیب به log CFU/g ۴/۳۰ و log CFU/g ۴/۲۰ و در روز ۱۵ به بالاتر از حد مجاز باکتری‌های کلی‌فرم رسید.



شکل ۳ : مقادیر باکتری‌های کلی فرم برای تیمارهای مختلف نسبت به زمان (log cfu/g)

Figure 3: The Coliform Count for different treatments relative to time in terms of log cfu/g

بحث

از ویژگی‌های مهم اسانس‌ها و اجزاء تشکیل‌دهنده آن‌ها خاصیت آبگریزی آنهاست که موجب نفوذ این مواد به لیپیدهای غشاء سلول باکتری‌ها و میتوکندری‌ها شده و سبب اختلال در ساختمان آنها و ایجاد نفوذ پذیری بیشتر می‌گردد (Burt, 2004). به طور کلی، هر چه مقادیر مواد فنولی در اسانس یا عصاره بالاتر باشد، خواص آنتی باکتریال آنها بر ضد پاتوژن‌های غذایی نیز بیشتر خواهد بود. مکانیسم اثر این ترکیبات شامل اختلال در غشاء سیتوپلاسمی، بر هم زدن نیروی حرکت پروتونی، جریان

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.2.4]

الکتریکی و انعقاد محتویات سلولی می‌باشد (Tajkarim *et al.*, 2010). در این پژوهش، میزان MIC عصاره اتانولی پوست پرتقال برای هر سه باکتری (w/w) ۵٪ تعیین گردید.

Espina و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس روغنی مرکبات و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی آنها پرداختند و دریافتند که لیمونن ٪۸۵/۵ درصد اسانس روغنی پرتقال را تشکیل می‌دهد و همچنین MIC اسانس روغنی پرتقال برای باکتری اشرشیاکلی ۳۰µl/ml و برای باکتری سودوموناس آیروژینوزا بیشتر از ۳۰µl/ml تعیین شد.

در تحقیق Pittman و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی فعالیت اسانس روغنی پوست پرتقال در مقابل اشرشیاکلی و سالمونلا و تاثیر آن بر لاشه گاو نگهداری شده در سرما پرداخته شد. در این تحقیق، MIC برای گونه های مختلف سالمونلا ۰/۸- ۰/۲ درصد و برای گونه‌های مختلف اشرشیاکلی ۰/۴- ۰/۲ درصد اسانس روغنی پرتقال بدون ترپن گزارش شد. در تحقیقی دیگر، Debbarma و همکاران (۲۰۱۲) به بررسی فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های روغنی جدا شده از زنجبیل، اکالیپتوس و پوست پرتقال پرداخته شد و تاثیر آن بر باکتری‌های بیماری‌زا با استفاده از روش‌های انتشار در آگار و روش رقیق‌سازی مورد ارزیابی قرار گرفت. فعالیت ضد باکتری اسانس پوست پرتقال در ۱۰۰µl بررسی شد. در این حجم اسانس، باسیلوس سوبتیلیس دارای بیشترین حساسیت بوده و پس از آن استافیلوکوکوس اورئوس و لوکونوستوک منوسیتوژنز در مراتب بعدی قرار داشتند. همچنین اثر ممانعت کنندگی کمی بر سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلا تیفی موریوم و اشرشیا کلی داشت و مقاوم‌ترین باکتری‌ها به این اسانس ویبریو پاراهمولیتیکوس و آئروموناس هیدروفیلا بود.

در تحقیق Kumari و همکاران (۲۰۱۴) فعالیت ضد میکروبی بر دو باکتری *Escherchia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* بررسی شد. مقدار MIC برای *E. coli*، ۰/۶۲۵ v/v برای آب لیمو رسیده و نارس بود. مقدار MIC برای *Pseudomonas aeruginosa*، برای آب لیمو رسیده ۰/۳۱۲۵ v/v و برای آب لیمو نارس ۰/۶۲۵ v/v بود. نتایج حاصله مشخص نمود که آب لیمو غنی از خواص آنتی میکروبی و آنتی اکسیدانی است.

مقاومت بیشتر باکتری گرم منفی نسبت به گرم مثبت به دلیل وجود غشاء دو لایه و پیچیده‌تر در باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. در دیواره باکتری‌های گرم مثبت فقط لایه پپتیدوگلیکان ضخیم وجود دارد. بر عکس، باکتری‌های گرم منفی علاوه بر لایه پپتیدوگلیکان داخلی دارای لایه خارجی از جنس لیپوپروتئین، فسفوپروتئین و پروتئین هستند (Lang and Buchbauer, 2012) . این موضوع موجب کاهش اثر عصاره بر باکتری‌های گرم منفی می‌شود. وجود ترکیبات فلاونوئیدی، پکتین، کاروتنوئید و ترکیبات فنولی در پوست پرتقال گزارش شده است. با توجه به گزارش‌هایی که در رابطه با اثرات ضد میکروبی فلاونوئید ها وجود دارد (Yun-Chen *et al.*, 2008)، احتمال می‌رود بخشی از فعالیت ضد میکروبی پوست پرتقال مربوط به وجود این ترکیبات در آن باشد.

بخشی از فساد در ماهیان تازه به دلیل فعالیت و رشد ارگانیسم های ویژه عامل فساد[1] (SSOs) می‌باشد که با تولید متابولیت‌هایی منجر به نامطلوب شدن طعم و بوی ماهیان و در نهایت غیرقابل مصرف شدن آن‌ها می‌شود (Gram and Huss, 1996). بی‌شک تغییرات میکروبی که به کمک آنزیم‌ها صورت می‌گیرد، در نهایت منجر به فساد شده و در نتیجه رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌های عامل فساد، متابولیت‌هایی تولید می‌شود که منجر به نامطلوب شدن طعم و بوی ماهیان و در نهایت غیرقابل مصرف شدن آنها می‌گردد (Gram and Dalgaard, 2002). نتایج مطالعات متعدد نشان داده است که فلور میکروبی جداسازی شده از غذاهای دریایی متفاوت است (Gelman *et al.*, 2001). آلودگی میکروبی اولیه، وضعیت نگهداری و بسته‌بندی (بسته بندی در هوا، خلاء یا اتمسفر اصلاح شده) و دمای نگهداری، نقش مهمی در تعیین عمر ماندگاری محصولات شیلاتی ایفاء می‌کند (Arashisara *et al.*, 2004). میزان بار میکروب‌های عامل فساد در بافت، ارتباط مستقیمی با عمر ماندگاری ماهی دارد (Gram and Huss, 1996).

[1] Specific Spoilage Organisms (SSOs)

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.2.4]

TVC ابتدایی در این تحقیق با نتایج مطالعات انجام شده Fan و همکاران (۲۰۰۸) بر ماهی کپور نقره‌ای غوطه‌ور شده در محلول ترکیبات پلی‌فنولی چای در طول نگهداری در یخ (۳/۱ log CFU/g) مطابقت دارد. ذوالفقاری و همکاران (۱۳۹۰) در تحقیقی روند تغییرات میکروبی، شیمیایی و حسی فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان را طی نگهداری در دمای یخچال بررسی کردند. در این تحقیق میزان TVC اولیه فیله‌ها (۳/۵۴ log cfu/g) محاسبه شد که به نتایج تحقیق حاضر نزدیک می‌باشد. اکثر محققین معتقدند که فساد ماهیان آب شیرین ظرف مدت ۸–۵ روز نگهداری در دمای یخچال اتفاق می افتد (Barakat *et al*., 2004) . کمیته بین المللی ویژگی‌های میکروبی غذاها، حداکثر میزان قابل قبول شمارش کل باکتری‌ها را ۷ log CFU/g پیشنهاد داد (ICMSF, 1986). میزان TVC در مطالعه حاضر در طول زمان نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت. افزایش بار باکتریایی با گذشت زمان نگهداری ماهی در دمای یخچال به اثبات رسیده است (Mexis *et al*., 2009). در تحقیقی میزان شمارش کل باکتری‌ها، در فیله‌های شاهد و فیله‌های ماهی کپور تیمار شده با محلول کارواکرول و تیمول در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد بترتیب به مدت ۴ و ۱۲ روز در حد قابل قبول قرار داشت (Barakat *et al*., 2004). نتایج تحقیق حاضر با نتیجه مطالعه مذکور مطابقت دارد. Chanthaphon و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه خود بیان نمودند که لیمونن، بتا پینن، گاما ترپینن از ترکیبات اصلی موجود در عصاره پوست پرتقال بودند که نقش موثر و بازدارنده بر رشد میکروارگانیسم‌ها داشتند. از سوی دیگر، Tan و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که ترکیبات فرار اسانس پوست پرتقال که شامل لیمونن، بتا میرسن، آلفا پینن، دکانال، سابینن، لینالول، آلفا-ترپینول بودند، از جمله ترکیبات موثر و بازدارنده بر رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها هستند. باکتری‌های سرماگرا به عنوان گروهی از باکتری‌ها از گونه‌های مختلف تعریف می‌شوند که به رغم اینکه دمای بهینه رشد و فعالیت متابولیک آنها در محدوده ۳۰-۲۰ درجه سانتی‌گراد است، قادرند در دمای۷ درجه سانتی‌گراد یا کمتر رشد کنند (Samaržija *et al*., 2012). باکتری‌های گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیزم‌های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد هستند (Sallam *et al*., 2007). سیف زاده و همکاران (۱۳۸۶) به بررسی وجود باکتری‌های سرمادوست در فیله فیل ماهی پرورشی بسته‌بندی شده به روش sous vide پرداختند و میانگین شمارش باکتری های سرمادوست را در نمونه شاهد ۳/۶ log CFU/g در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد گزارش کردند که با تحقیق حاضر مطابقت دارد. در زمان صفر شمارش باکتری‌های سرماگرا در نمونه‌های تیمار شده با عصاره و نمونه شاهد با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند (P□ ۰/۰۱). محققین از جمله Hozbor و همکاران (۲۰۰۶) و انوری و همکاران (۱۳۸۸) در شمارش باکتریهای سرمادوست در روز اولیه آزمایش‌ها بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری مشاهده نکردند. بار باکتریایی مجاز برای سایکروتروفیک‌های هوازی (سرماگرا) ۷ logCFU/g گزارش شده است (Gimenez *et al*., 2002) .

باکتری‌های کلی‌فرم،گرم منفی، بدون اسپور و بی‌هوازی اختیاری می‌باشند. این باکتری‌ها نشانگر کیفیت بهداشتی غذا و آب هستند و در خاک، آب و مدفوع حیوانات خونگرم نیز یافت می‌شوند. این باکتری ها بیماری زا نیستند، اما حضور آنها در مواد غذائی نشان‌دهنده سایر میکروارگانیسم های پاتوژن مدفوعی است (Adams and Moss., 2002). کاهش شمارش باکتری‌های کلی‌فرم و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری در نمونه‌های تیمار شده با عصاره، نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار عصاره بکار برده شده به عنوان ترکیب ضد باکتریایی می‌باشد (p>۰/۰۱). شمارش باکتری‌های سرماگرا بویژه بوسیله عصاره پوست پرتقال ۷٪ و پس از آن عصاره پوست پرتقال ۶٪ تحت تأثیر قرارگرفت.

زارع گشتی و همکاران (۱۳۹۳) به بررسی اندازه‌گیری تازگی ماهی تیلاپیا با استفاده از روش QIM پرداختند و شمارش باکتری‌های کلی‌فرم در تیمارهای ماهی تیلاپیا شکم خالی در زمان صفر logCFU/g ۲/۱۹- ۲/۲۰ گزارش کردند و این شمارش با گذشت زمان به طور معنی داری افزایش یافت به طوری که بعد از ۹ روز به logCFU/g ۸/۴ رسید.

کامکار و همکاران (۱۳۸۰) به بررسی مقایسه تاثیر روش های بسته‌بندی (معمولی و اتمسفر اصلاح شده) بر قابلیت

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.2.4]

نگهداری گوشت تازه و سرد پرداختند. طبق نتایج حاصله میزان اولیه شمارش باکتری‌های کلی‌فرم در این آزمایش در همه تیمارها تقریباً برابر ۳/۱۲ logCFU/g بود و تا پایان زمان آزمایش‌ها روند افزایشی در همه تیمارها مشاهده شد. Ashie (۱۹۹۶) تحقیقی در رابطه میزان پیشرفت فساد در مدت نگهداری ماهیان پرورشی در شرایط یخ پوش شده انجام داد و نتیجه گرفت که افزایش شمارش تعداد کل باکتری‌های هوازی از ۵/۳ logCFU/g در روز اول به ۶/۲ logCFU/g پس از ۱۲ روز افزایش یافته و همچنین در این تحقیق شمارش باکتری‌های کلی فرم نیز افزایش داشته که نسبت مستقیمی با افزایش ازت آزاد فرار در نمونه ماهی داشته است. نتایج تحقیق حاضر با نتایج مطالعات مذکور مطابقت دارد. به طور کلی، آلودگی از جهت کلی‌فرم‌ها و اشرشیاکلی نشان می‌دهد که در مرحله صید و سردسازی یا حمل و نقل بهداشت بخوبی رعایت نشده است (Suvanich *et al*., 2000).

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه پوست پرتقال به عنوان مواد زائد در کارخانه های تولید کننده آبمیوه و کنسانتره تولید می‌شوند و ترکیبات فنولی زیادی دارند که برای محیط زیست مضر است، اما تاثیرات مثبتی بر سلامت انسان دارند. بنابراین، استفاده از آن به عنوان نگهدارنده طبیعی دارای توجیه اقتصادی است.

به طور کلی، غوطه‌ور کردن فیله‌های فیل ماهی در عصاره پوست پرتقال ۷٪ و در درجه بعد عصاره پوست پرتقال ۶٪ و عصاره پوست پرتقال ۵٪ می‌تواند به طور مؤثری سبب کاهش رشد میکروبی و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری فیله‌های فیل ماهی در مقایسه با نمونه شاهد طی نگهداری در دمای یخچال شود بطوریکه عصاره‌های مذکور توانستند زمان ماندگاری نمونه‌ها را نسبت به نمونه شاهد به مدت ۱۰- ۵ روز افزایش دهند. بنابراین، افزودن این عصاره گیاهی با دارا بودن خواص ضد میکروبی می‌تواند به عنوان روشی برای افزایش زمان ماندگاری فیله های فیل ماهی مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

استاندارد ملی ایران، ۳-۸۹۲۳، سال ۱۳۸۵، میکروبیولوژی مواد غذائی و خوراک دام، آماده سازی آزمایه، سوسپانسیون اولیه و رقت اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی – قسمت سوم- مقررات ویژه برای آماده سازی ماهی و فراورده های آن.

استاندارد ملی ایران، ۳-۸۹۲۳، سال ۱۳۸۶، میکروبیولوژی مواد غذائی و خوراک دام، روش جامع برای شمارش کلی فرمها – روش شمارش کلنی ها

انوری، م.، بهنام، ش.، رضایی، م.، سلطانیان، س. و صفری، ر.، ۱۳۸۸. پتانسیل آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی باکتریوسین Z در افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای (*Oncorhynchus mykiss*) بسته بندی شده در خلأ در دمای $4\ ^{o}C$. ششمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران، مرداد ۱۳۸۸.

ذوالفقاری، م.، شعبانپور، ب. و فلاح زاده، س.، ۱۳۹۰. بررسی روند تغییرات شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان جهت تعیین مدت زمان ماندگاری آن در دمای یخچال. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران، ۶۴: ۲ ۱۰۷-۱۱۹.

زارع گشتی، ق.، مطلبی، ع.، مرادی، ی.، خانی‌پور، ع.ا. مشائی، ن.، جلیلی، ح.، سیف زاده، م.، رفیع‌پور، ف. و گلزایی، ف.، ۱۳۹۳. بررسی اندازه گیری تازگی ماهی تیلاپیا با استفاده از روش Quality Index Method(QIM). مجله علمی شیلات ایران. سال ۲۳. شماره۳.

سیف زاده، م.، شجاعی آرانی، ا. و مظفری، ن.ا.، ۱۳۸۶. مقایسه و بررسی وجود باکتری های سرمادوست در فیله فیل ماهی پرورشی بسته بندی شده به روش sour vide در یخچال و انجماد. مجله علوم و فنون دریایی. دوره ۶. شماره ۳و۴. صفحات ۵۰_ ۳۹.

قره‌خانی،م.، قربانی، م.، قره‌خانی، ا.، صادقی ماهونک، ع.، جبرائیلی،ش. و قاسمی، ی.، ۱۳۸۸. اثر عصاره های پوست و گوشت میوه پرتقال تامسون با پایه‌های مختلف در جلوگیری از اکسیداسیون روغن

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.2.4]

سویا. فصل‌نامه گیاهان دارویی. سال دهم، دوره دوم، شماره۳۸.

کامکار، ا.، رضایی مجاز، م. و علی پژند، ن.، ۱۳۸۰. مقایسه تاثیر روش‌های بسته‌بندی (معمولی و اتمسفرهای اصلاح شده) بر قابلیت نگهداری گوشت تازه و سرد نیمچه‌های گوشتی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۵۶. شماره ۳. صفحات ۲۲- ۱۷.

Adams, M.R. and Moss, M.O., 2002. Food Microbiology, 3rd Edition, The Royal Society of Chemistry, Cambridge. 463 P.

Arashisara, S., Hisara, O., Kayab, M. and Yanik, T., 2004: Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *Food Microbiology*, 97: 209–214. Doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.024

Ashie, I., 1996. Spoilage and shelf life extension of fresh fish and shellfish. *Journal of Food Science*. pp.36-121. Doi: 10.1080/10408399609527720

Barakat, S.M., Mahmoud Yamazaki, K., Milyasita, K., Il- Shik, Sh., Dong–Suk, Ch. and Suzuki, T., 2004. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiology*, 21: 657-666.

Ben-Gigirey, B., Vieites Baptista de Sousa, J.M., Villa, T.G. and Barros-Velazquez, J., 1998. Change in biogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. *Journal of Food Protection*, 61: 608-615.

Burt, S., 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223–253. Doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022

Burt, S., Der Zee, R., Koets, A. and De Graaff, A., 2007. Carvacrol induces heat shock protein 60 and inhibits synthesis of flagellin in *Escherichia coli* O157:H7. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 4484-4490. Doi: 10.1128/AEM.00340-07

Chanthaphon, S., Chanthachum, S. and Hongpattarakere, T., 2008. Antimicrobial activities of essential oils and crude extract from tropical *Citrus* spp. against food related microorganism. *Songklanakarin Journal of Science Technology*, 30(1): 125-131.

Chia-Min, L., Shane-Rong, S., Shu-Chen, H. and Yung-Hsiang, T., 2010. Determination of bactericidal efficacy of essential oil extracted from orange peel on the food contact surfaces. *Food Control*, 21(2): 1710-1715. DOI: 10.1016/j.foodcont.2010.06.008

Davidson, P.M. and Harrison, M.A., 2002. Resistance and adaptation of food antimicrobials, sanitizers and other process control. *J. Food Technology*, 59(11): 69-78.

Debbarma, J., Kishre, P., Nayak, B., Kannuchamy, N. and Gudipati, V., 2012. Antibacterial activity of Ginger, Eucalyptus, Sweet orange peels essential oils on fish-borne bacteria. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(**5**): 1745-4549. DOI: 10.1111/j.1745-4549.2012.00753.x

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.2.4]

Espina, L., Somolinos, M., Loràn, S., Conchello, P., Garcĩa, D. and Pagàn, R., 2011. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control*, 22: 896-902. Doi: 10.1016/j.foodcont.2010.11.021

Fan, W., Chi, Y. and Zhang, S., 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmicthys molitrix*) during storage in ice. *Food Chemistry*, 108: 148–153. Doi: 10.1016/j.foodchem.2007.10.057.

Fernández-López, J., Fernández-Ginés, J.M., Aleson-Carbonell, L., Sendra, E., Sayas-Barberá, E. and Pérez-Alvarez, J.A., 2004. Application of functional citrus by-products to meat products. *Ttrends in Food Science and Technology*, 15(3-4): 176-185.

Gelman, A., Glatman, L., Drabkin, V. and Harpaz, S., 2001. Effects of storage temperature and preservative treatment on shelf life of the pond raised freshwater fish, silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Journal of Food Protect*, 64: 1584–1591. Doi: 10.4315/0362-028X-64.10.1584

Gimenez, B., Roncale, P. and Beltran, J.A., 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of Science and Food Agriculture*, 84: 1154–1159. Doi: 10.1002/jsfa.1136.

Gram, L. and Dalgaard, P., 2002. Fish spoilage bacteria – problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology*, 13: 262–266. Doi: 10.1016/0168-1605(96)01134-8

Gram, L. and Huss, H.H., 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, 33: 121–137. Doi: 10.1016/0168-1605(96)01134-8

Hozbor, M.C., Saiz, A.I., Yeannes, M.I. and Fritz, R., 2006. Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon (*Pseudopercis semifasciata*). *LWT Food Science and Technology*, 39: 99–104. Doi: 10.1016/j.lwt.2004.12.008

ICMSF (International Commission on Microbiological Specification for Foods), 1986. Microorganisms In foods. 2. Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications (2nd ed.). Buffalo, NY: University of Toronto Press.

Johnson, T.M., 1994. Trends in citrus juice processing. *Citrus Magazine*, 75(6): 42_50.

Kumari, S., Neelanjana, S. and Handique, A.K., 2014. Antioxidant and antimicrobial potential of ripen and unripe juice of *Citrus limon. International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 3(6): 18-20.

Lang, G. and Buchbauer, G., 2012. A review on recent research results (2008_2010) on essential oils an antimicrobials and antifungals. *Flavour and Fragrance Journal*, 27: 13-39. Doi: 10.1002/ffj.2082.

Mexis, S.F., Chouliara, E. and Kontominas, M.G., 2009. Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4°C. *Journal of Food Microbiology*, 26: 598-605. Doi: 10.1016/j.fm.2009.04.002.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.2.4]

Mokbel, M.S., Watanabe, Y., Hashinaga, F. and Suganuma, T., 2006. Purification of antioxidant and antimicrobial substance of ethyl acetate from Buntan (*Citrus grandisosbeck*) fruit peel. *Pakistan Journal of Biological Science*, 9(1): 50-1445.

Olafsdottir, G., Martinsdottir, E., Oehlenschlager, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I., Mackie, I.M., Henehan, G., Nielsen, J. and Nilsen, H., 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry**.** *Trends in Food Science and Technology***,** 8(8): 258-265.

Pittman, C., Pendieton, S., Bledar, B., Obryan, C.A., Keith, E., Goodridge, L. and Grandall, G., 2011, Activity of citrus essential oils against *Escherichia Coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. and effect on beef subprimal cuts under refrigeration. *Journal of Food Science*, 76(6): 433-438. Doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02253.x

Rammler, D.H., 1967. The effect of DMSO on several enzyme systems. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 141(1), 291-299.

Rezaei, M. and Hosseini, S., 2008. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *Journal of Food Science*, 73: 93-6. Doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00792.

Sallam, K.I., 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Journal of Food Control*, 18: 566-75. Doi: 10.1016/j.foodcont.2006.02.002

Sallam, K.I., Ahmed, A.M., Elgazzar, M.M. and Eldaly, E.A., 2007: Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4℃. *Food Chemistry*, 102: 1061-1070. Doi: 10.1016/j.foodchem.2006.06.044

Samaržija, D., Zamberlin, Š. and Pogačić, T., 2012. Psychrotrophic bacteria and milk and dairy products quality. *Mijekarstvo*, 62(2): 77-95.

Simopoulos, A.P., 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70(3): 560-569. Doi: 10.1093/ajcn/70.3.560s

Suvanich, V., Marshall, D.L. and Jahncke, M.L., 2000. Microbiological and color quality changes of channel catfish frame mince during chilled and frozen storage. *Journal of Food Science*, 65(1): 151-4. Doi: 10.1111/j.1365-2621.2000.tb15971

Tajkarim, M.M., Ibrahim, S.A. and Cliver, D.O., 2010. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21: 1118-1199. Doi: 10.1016/j.foodcont.2010.02.003

Tan, Q., Ai, M. and Minh, N., 2011. Volatile constituents of essential oils from *citrus sinensis* grown in tine giant province, Vietnam. *Asian Journal of Food and Agro Industry*, 4(3): 183-186.

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J. and Perez-Alvarez, J., 2008. Antibacterial activity of Lemon (*Citrus lemon* L.), Mandarin (*Citrus reticulata* L.), Grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and Orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Journal of Food Safety*, 28(4): 567-576. Doi: 10.1007/s11258-013-0196-8.

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.2.4]

Determination of minimum inhibitory concentration of the ethanolic extract of orange peel and the effects on the growth inhibition of *Huso huso* filet bacteria during refrigerated storage

Oraii F.[1]; Hosseini S.E.[1]; Zorriehzahra S.M.J.[2]; Safari R.[3]

*zorrieh@yahoo.com

1–Department of Agricultural Engineering, Food Science and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch of Tehran, Iran
2– Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
3- Caspian Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran

Abstract

Using natural extracts, as a source of anti-microbial, to improve the quality of fish is increasing. In this study, the ethanolic extract of orange (*Citrus sinensis* L.) was used due to having this property. Agar dilution method was employed in order to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of the ethanolic extract of orange peel on *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* and *Aeromonas hydrophila* bacteria. The fish fillets were treated with aqueous solution of orange peel extract (5, 6 and 7% w/w) and dipped in distilled water for 30 minutes. These samples were analyzed during storage (0, 5, 10 and 15 days) for the total viable count (TVC), psychrotrophic count, coliform count. The MIC of the ethanolic extract of orange peel on the bacteria was 5%. The results of the microbial analysis indicated that the orange peel extracts reduced the growth of the bacterial counts in contrast control sample (p<0.01). The ethanol extract of orange peel as a natural preservative could increase shelf life during refrigerated storage because of having antimicrobial properties.

Keywords: Orange peel extract, *Citrus sinensis*, *Huso huso*, Minimum Inhibitory Concentration, Antibacterial activity

*Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1399.29.3.2.4]