

تعیین زمان ماندگاری فیله ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) تیمار شده با عصاره سیاه دانه (*Nigella sativa* L.) در طول دوره نگهداری در یخچال

مرضیه غلامزاده^(۱)؛ ابراهیم حسینی^(۲)؛ سهیل اسکندری^(۳) و هدایت حسینی^{(۴)*}

hedayat@sbmu.ac.ir

- ۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، سازمان غذا و دارو وزارت بهداشت
- ۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران صندوق پستی: ۷۷۵-
- ۳- مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی
- ۴- گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۱

چکیده

در تحقیق حاضر برای بررسی برخی از تغییرات شیمیایی، باکتریایی و حسی فیله‌های ماهی کپور نقره‌ای تیمار شده با عصاره سیاه دانه در طول دوره نگهداری در دمای یخچال ($4 \pm 1^\circ\text{C}$)، فیله ماهی‌ها به دو بخش تقسیم شدند. یک گروه در عصاره سیاه دانه با غلظت ۱ درصد، که در ارزیابی حسی بالاترین امتیاز را کسب کرده بود، غوطه ور شده و سپس در کیسه‌های پلی اتیلنی بسته بندی گردیدند. گروه دوم به عنوان شاهد نیز پس از غوطه‌وری در آب آشامیدنی در کیسه‌های پلی اتیلنی بسته بندی و تمامی تیمارها در یخچال و در دمای ($4 \pm 1^\circ\text{C}$ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند. آزمون‌های باکتریایی شامل شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل و باکتری‌های سرمادوست و آزمون‌های شیمیایی شامل شاخص پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، اسیدهای چرب آزاد، مجموع بازهای نیتروژنی فرار به همراه ارزیابی حسی در یک دوره زمانی ۱۵ روزه انجام شد. براساس نتایج حاصل، عصاره سیاه دانه بطور مشخص اکسیداسیون چربی‌ها و تجزیه پروتئین‌ها را در ماهی‌های تیمار شده به تعویق انداخت. تعداد باکتری‌های سرمادوست و تعداد کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل در طول دوره نگهداری، در ماهی‌های تیمار شده با عصاره سیاه دانه تا روز پانزدهم کمتر از حد قابل قبول پیشنهادی ($\log$ ۷ cfu/g) باقی ماند و فساد میکروبی در این نمونه‌ها نسبت به نمونه شاهد بطور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین نتایج ارزیابی حسی ماهی‌های تیمار شده با عصاره سیاه دانه کیفیت بالایی را در طول دوره نگهداری از خود نشان دادند، بطوریکه تا پایان روز پانزدهم از امتیاز خوب جهت مصرف برخوردار بود. نتایج حاصل، نشان دهنده تأثیر ضد اکسیدانی و ضد میکروبی قوی عصاره سیاه دانه روی فیله ماهی کپور نقره‌ای بود، بطوریکه زمان ماندگاری نمونه‌های غوطه‌ور شده در عصاره یک درصد سیاه دانه نسبت به نمونه شاهد، در شرایط نگهداری در یخچال به دو برابر و نیم افزایش یافت.

کلمات کلیدی: کپور نقره‌ای، عصاره سیاه دانه، زمان ماندگاری

*نویسنده مسئول

مقدمه

آبزیان از منابع مهم تامین پروتئین انسان و حاوی مقادیر قابل توجهی ویتامین‌های محلول در آب و چربی، مواد معدنی و اسیدهای چرب چند غیر اشباعی می‌باشند و همین ارزش غذایی ماهی به دلیل وجود اسیدهای چرب امگا سه و امگا شش است که ضرورت وجود آن در جیره غذایی پیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است (Huss, 1995). ماهی از جمله فرآورده‌هایی است که در بازار بصورت تازه مصرف می‌گردد و نگهداری در دمای سرد و یخچال از جمله روشهایی است که در مراکز عرضه و فروش با جهت انتقال ماهی از مراکز پرورش تا مراکز فروش استفاده می‌گردد. نگهداری ماهی در یخچال سبب کاهش سرعت فعالیت‌های آنزیمی و شیمیایی خواهد شد اما به دلیل عدم توانایی دمای یخچال برای کاهش دمای ماهی به مقدار لازم، تغییرات نامطلوبی از جمله اکسیداسیون و هیدرولیز چربی به آرامی صورت گرفته و باعث کاهش کیفیت محصول می‌گردد (Perez-Alonso & Arias, 2003). روشهای بسیاری برای اندازه‌گیری اکسیداسیون چربی در غذا بکار گرفته شده‌اند که از آن جمله می‌توان به اندازه‌گیری شاخص‌های پراکسید، تیوباریتوریک اسید و اسیدهای چرب آزاد اشاره کرد (Sanker et al., 1995). استفاده‌های فراوان مواد شیمیایی سنتزی به عنوان ضد اکسیدان و ضد باکتری جهت کنترل رشد میکروبی و فساد غذایی و خطراتی که این ترکیبات برای سلامتی انسان به همراه دارند باعث شده که امروزه استفاده از نگهدارنده‌های ضد میکروبی و ضد اکسیدانی طبیعی مورد توجه محققین قرار گیرد (Burt, 2004). اخیراً عصاره و اسانس گیاهان دارویی، به عنوان منبع ترکیبات بیولوژیکی فعال شناخته شده‌اند که دارای اثرات ضد اکسیدانی، ضد جهش‌زایی، ضد سرطانی، ضد کپکی و ضد قارچی می‌باشند و از آنها در صنعت غذا به عنوان نگهدارنده جهت کاهش مصرف افزودنی‌های سنتزی استفاده می‌شود (Burt, 2004). گیاه سیاه دانه با نام علمی *Nigella sativa L.* که به عنوان Black cumin نیز شناخته می‌شود، متعلق به خانواده آلانگان یا چلیپاییان (Ranunculaceae) است که در برخی نواحی آسیا رویده و در ایران نیز به فراوانی در همدان، اصفهان، اراک و خراسان پرورش می‌یابد. این گیاه به اسامی مختلف از جمله ریز سیاه (امریکایی)، حبه السوداء (عربی) و

Kalonji (اردو و هندی) و شونیز (فارسی) شناخته شده است (آخوندان، ۱۳۸۸). سیاه دانه دارای خواص بیولوژیک متعددی است که از این میان می‌توان به اثرات ضدالتهابی، ضد میکروبی، ضد اکسیدانی، ضد توموری، ضد دیابتی و تقویت کننده سیستم ایمنی اشاره کرد (Ferdous, 1992). در بسیاری از مطالعات ترکیبات تیموکوئین، گاما ترپنین و پاراسمین را به عنوان مهمترین ماده موثره در دانه‌های این گیاه گزارش کرده‌اند (Bourgou, 2010; Salman, 2008).

در تحقیق Halawani و همکاران (۲۰۰۹)، تیموکوئین و تیموهیدروکوئین را دو ترکیب عمده به جهت فعالیت آنتی باکتریایی در مقابل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی معرفی نمودند. Viuda Martos و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که سیاه دانه از نظر محتوای ترکیبات فنولیک غنی بوده و ارتباط مستقیمی با خاصیت آنتی اکسیدانی آن دارد. در بین گونه‌های متفاوت پرورشی، ماهی کپور نقره‌ای (فیتوفاگ) یکی از مهمترین ماهیان گرم آبی ایران می‌باشد، که غالباً ۵۸-۵۰ درصد ترکیب را در سیستم کشت توام ماهیان گرمابی بخود اختصاص می‌دهد. این ماهی با تولیدی بیش از چهار میلیون تن در دنیا (معادل مجموع ۷۰ درصد صید و پرورش تون ماهیان) و چهل هزار تن در ایران و به دلیل تولید بالای سالانه، مرغوبیت گوشت و ارزش بالای اقتصادی و غذایی آن سبب شده است تا بررسی کیفیت و تعیین ماندگاری این ماهی با استفاده از روش‌های مختلف از جنبه‌های مهم مطالعات کیفی در بهداشت و تغذیه انسان بشمار رود. هدف از این تحقیق افزایش زمان ماندگاری ماهی کپور نقره‌ای با استفاده از اثرات آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریایی عصاره طبیعی دانه‌های سیاه دانه در دمای یخچال بود.

مواد و روش کار

تیوسولفات سدیم، متانول، کلروفرم، سود، اتانول، اسید استیک، ۱-بوتانول، معرف TBA، فنل فتالین، معرف نشاسته، اکسید منیزیم، اسید بوریک، متیل رد، اسید سولفوریک، یدور پتاسیم، پلیت کانت آگار و ظروف یکبار مصرف از جمله مواد و تجهیزات مورد مصرف در این آزمایش بودند.

مواد غیرمصرفی و دستگاه‌ها در این آزمایش عبارت بودند از آون، انکوباتور، دستگاه کج‌دال، بن ماری، اتوکلاو، هود بیولوژیک، اسپکتروفوتومتر، هموژنایزر، ترازوی دیجیتالی، دستگاه استخراج چربی، هیتر، چرخ گوشت، ارلن، استوانه مدرج، بشر، لوله‌های آزمایش، دکانتور و دسیکاتور. به منظور تعیین حداکثر غلظت عصاره سیاه دانه بدون تاثیر بر ویژگی‌های حسی ماهی، آزمون ارزیابی حسی در مرحله اول انجام شد. قطعات ماهی کپور نقره ای با غلظت‌های ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۲ درصد در محلول عصاره سیاه دانه به نسبت ۱:۲ غوطه‌ور شدند و ارزیابی حسی اولیه روی طعم و بو توسط گروه پنل انجام گرفت. پس از تعیین غلظت مورد نظر عمل ارزیابی حسی روی تیمارها در طول دوره آزمایش انجام گرفت. تعداد ۳۶ عدد ماهی فیتوفاگ پرورشی با متوسط وزن (۲۵۰۰ تا ۳۱۰۰ گرم) از یکی از مزارع پرورش ماهی در استان گیلان تهیه شد. نمونه‌ها از بین ماهی‌های هم اندازه و سالم، بطور تصادفی انتخاب شدند و پس از صید مراحل سرزنی، تخلیه امعاء و احشاء انجام و فیله‌های بدست آمده بطور کامل با آب سرد شستشو داده شد و بلافاصله بوسیله جعبه‌های یونولیت حاوی یخ در مدت ۲ ساعت به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات منتقل شدند. فیله‌های ماهی در آزمایشگاه به دو بخش تقسیم شدند، ۱۸ ماهی به نسبت ۱:۲ در محلول عصاره سیاه دانه با غلظت ۱ درصد (تهیه شده از شرکت ماگنولیا) و ۱۸ ماهی دیگر به عنوان شاهد با همان نسبت در محلول آب آشامیدنی بدون عصاره به مدت ۳۰ دقیقه غوطه‌ور شدند. فیله‌های ماهی پس از عمل آبگیری در کیسه‌های پلی اتیلنی بسته بندی و همه تیمارها در یخچال در دمای 4 ± 1 درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند. در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ سه ماهی از هر بخش بطور تصادفی انتخاب شد و به منظور تعیین شاخص‌های کیفی (شیمیایی، باکتریایی و حسی) مورد آزمایش قرار گرفت (اعتمادی و همکاران، ۱۳۸۷). نمونه‌های ماهی‌های فیتوفاگ چرخ و همگن شد و سپس مقدار کافی از گوشت همگن شده برای هریک از آنالیزهای شیمیایی بکار رفت. آزمایش سنجش درصد چربی به روش Bligh و Dier (۱۹۵۹) مقادیر پراکسید، تیوباربیتوریک اسید و اسیدهای چرب آزاد مطابق روش پیشنهاد شده توسط Egan و همکاران (۱۹۹۷) و اندازه‌گیری میزان کل بازهای نیتروژنی فرار TVB-N به روش Joen (۲۰۰۲) انجام گرفت.

بیست و پنج سانتیمتر مربع از پوست ناحیه قدامی پشت ماهی با اتانول ۹۶ درجه ضدعفونی شد. سپس با انبرک و اسکارپل استریل، پوست قسمت ضدعفونی شده کنده شد و ۱۰ گرم از گوشت قسمت زیرین برداشته و در ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی

استریل ۸۵ درصد قرار داده شد و در یک مخلوط کن آزمایشگاهی هموژن شد. سپس رقت‌های مورد نیاز تهیه شد. به میزان ۱ میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت در محیط کشت پلیت کانت آگار PCA (Plate count agar) قرار گرفت. پلیت کانت‌های کشت داده شده مربوط به کل باکتری‌ها بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتیگراد شمارش شدند و پلیت‌های مرتبط با باکتری‌های سرمادوست بعد از ۱۰ روز انکوباسیون در ۷ درجه سانتیگراد شمارش شدند. حسی روی نمونه‌ها با استفاده از یک گروه پنل نیمه آموزش دیده متشکل از ۶ نفر انجام گرفت. این افراد نظرات خود را پس از ارزیابی بافت، بو، مزه، رنگ و پذیرش کلی هر تیمار روی پرسش نامه‌هایی که از قبل بر اساس مقیاس هدونیک تهیه شده بود منتقل کردند. لازم به ذکر است که برای ساده کردن ارزیابی به جای استفاده از مقیاس ۹ نقطه ای از مقیاس ۵ نقطه ای استفاده شد. نمونه‌ها از ۵-۱ امتیازبندی شدند. بسیار خوب (۵)، خوب (۴)، قابل قبول (۳)، ضعیف (۲)، بد (۱) (Karmer et al., 1996). جهت پخت نمونه‌ها برای ارزیابی طعم و مزه ۱/۵ درصد نمک به ماهی‌ها اضافه و عمل بخارپز در دمای ۹۸ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰-۲۰ دقیقه انجام گرفت (Ojagh et al., 2010). داده‌های حاصل از این تحقیق توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۵ مورد آنالیز قرار گرفت. روش‌های آماری بکار رفته شامل آنالیز واریانس و آزمون چند دامنه ای دانکن بود در مورد تجزیه و تحلیل آماری نتایج ارزیابی حسی، از آزمون بریدمن استفاده شد. با توجه به استفاده از آزمون آنالیز واریانس که یک آزمون پارامتریک میباشد، نرمال بودن داده‌ها قبل از انجام آزمون بایستی بررسی شود. لطفاً نوع آزمون بررسی کننده وضعیت نرمالیتی داده‌ها را ذکر کنید.

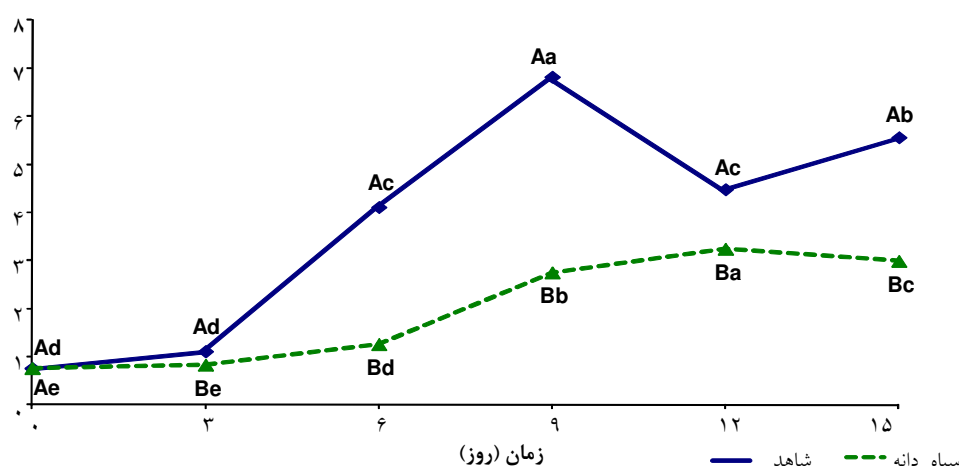
نتایج

تغییرات در شاخص پراکسید (PV) نشان داد که در نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با عصاره سیاه دانه این فاکتور بین روزهای صفر و سوم تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). اما از روز سوم به بعد با تغییرات معنی‌داری همراه بود و این تغییرات در حالی است که این افزایش در نمونه شاهد با شدت بیشتری همراه بود (نمودار ۱).

نتایج حاصل از تغییرات شاخص تیوباربیتوریک اسید در نمودار ۲ مشاهده می‌گردد. این مقدار در نمونه شاهد طی مدت نگهداری (بجز روز سوم) بطور معنی‌داری افزایش یافت ($P \leq 0.05$). برای نمونه شاهد بیشترین میزان TBA در روز نهم ($2/7 \text{ mg malonaldehyde equivalents/g tissue}$) و

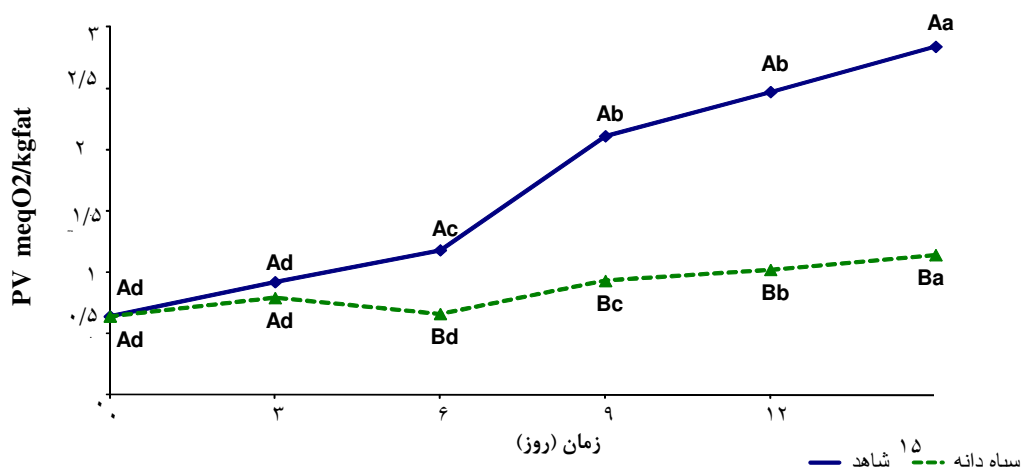
مطابق نتایج حاصل تا روز سوم دوره نگهداری در میزان شاخص FFA تفاوت معنی داری مشاهده نشد (نمودار ۳). در مورد نمونه شاهد از روز سوم افزایش تدریجی این شاخص مشاهده می شود اما در میزان FFA تیمار شده با عصاره سیاه دانه تا روز ششم تفاوت معنی داری مشاهده نشد و مقدار آن تقریباً ثابت بود. از روز ششم نگهداری، اختلاف در میزان اسیدهای چرب آزاد بین نمونه شاهد و تیمار، بیشتر گردید.

کمترین مقدار در زمان صفر بود. اما نمونه‌های تیمار شده با عصاره سیاه دانه تا روز نهم دوره نگهداری، در میزان TBA آنها اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P \geq 0.05$). در این نمونه‌ها بیشترین میزان TBA در روز دوازدهم و کمترین آن در روز صفر بود.



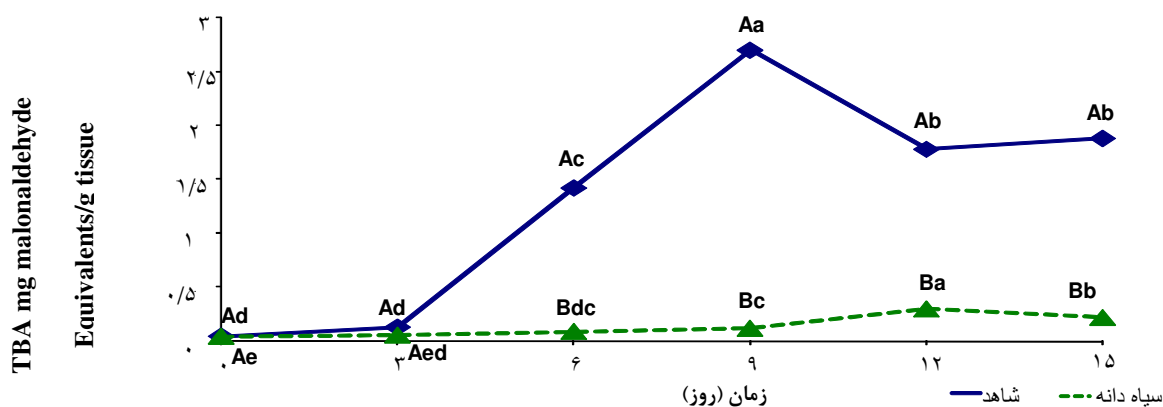
نمودار ۱: تغییرات میزان پراکساید (PV) طی دوره نگهداری (روز).

حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشاندهنده اختلاف معنی داری در سطح $P \leq 0.05$



نمودار ۲: میزان تغییرات تیوباربیتوریک اسید طی دوره نگهداری (روز).

حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح $P \leq 0.05$

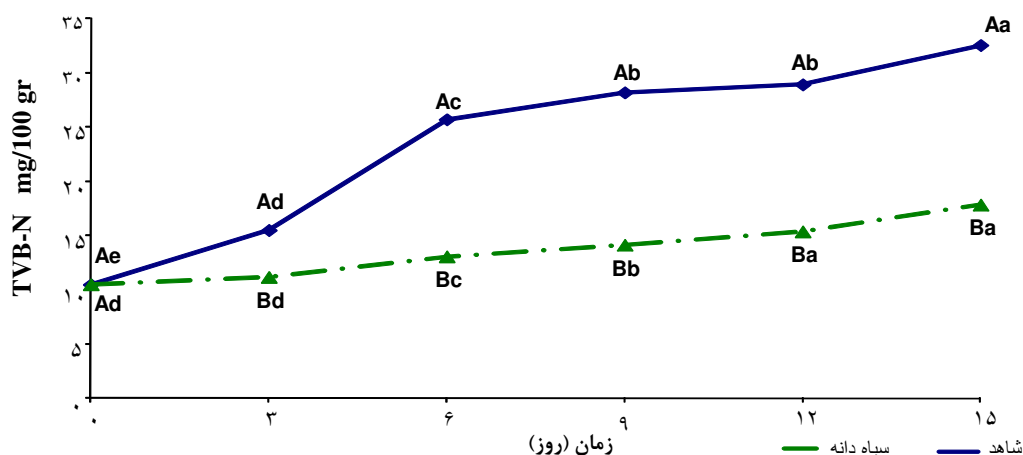


نمودار ۳: میزان تغییرات اسیدهای چرب آزاد (FFA) طی دوره نگهداری (روز)

حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح $P \leq 0.05$

مقایسه میزان مجموع بازهای نیتروژنی فرار نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با عصاره سیاه دانه در دوره‌های مختلف نگهداری حاکی از آن بود که مقدار مجموع بازهای نیتروژنی فرار در نمونه شاهد از روز سوم دارای اختلاف معنی داری در مقایسه با نمونه تیمار شده با عصاره است و این اختلاف تا پایان دوره نگهداری همچنان ادامه می‌یابد ($P \leq 0.05$).

تغییرات در شاخص مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) نشان داد که مجموع بازهای نیتروژنی فرار در طول زمان در تیمار شاهد و نمونه‌های حاوی عصاره سیاه دانه بطور معنی داری افزایش یافت ($P \leq 0.05$). (نمودار ۴). کمترین مقدار این شاخص در هر دو تیمار در زمان صفر و بیشترین مقدار آن در زمان ۱۵ دوره نگهداری مشاهده گردید.

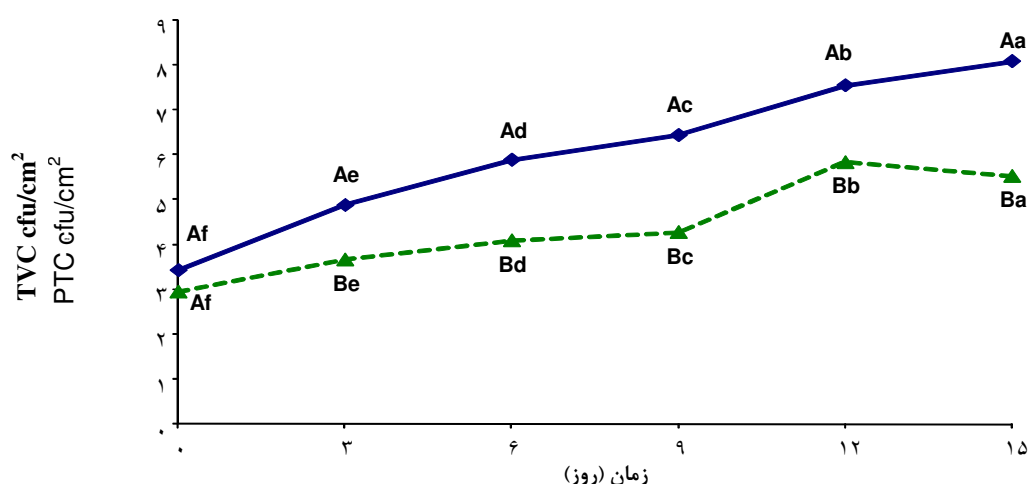


نمودار ۴: میزان تغییرات در مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) طی دوره نگهداری (روز).

حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح $P \leq 0.05$

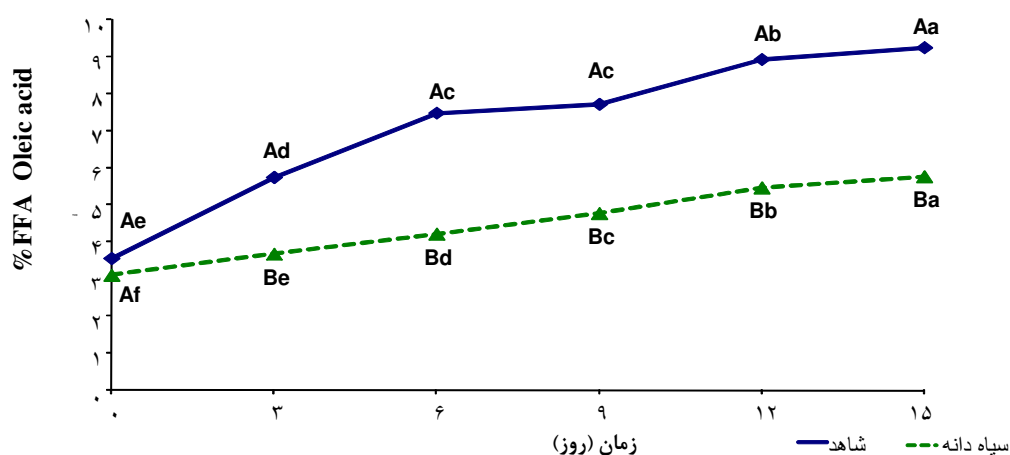
برای نمونه شاهد بیشترین میزان TVC از روز ۶ به بعد و کمترین میزان آن در روز صفر مشاهده شد. مقایسه میزان بار کل باکتری نمونه‌های شاهد و نمونه‌های تیمار شده با عصاره سیاه دانه اختلاف معنی‌داری را از روز سوم تا پایان دوره نشان داد ($P \leq 0.05$).

همانطور که در نمودار ۵ مشاهده می‌شود با افزایش زمان نگهداری (بجز روز ششم و نهم)، تعداد کل باکتری‌های مزوفیل هوازی (Total Viable Count) بطور معنی‌داری افزایش یافت. بطوریکه بیشترین میزان کل بار باکتری در روزهای پایانی دوره نگهداری در گروه شاهد و کمترین آن در روز صفر مشاهده شد.



نمودار ۵: میزان تغییرات مجموع بار میکروبی (TVC) طی دوره نگهداری (روز).

حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح $P \leq 0.05$



نمودار ۶: تغییرات تعداد باکتریهای سرمادوست (PTC) طی دوره نگهداری (روز)

حروف کوچک مقایسه تیمار در زمان، حروف بزرگ مقایسه تیمار به تیمار، نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح $P \leq 0.05$

بیشترین میزان باکتری‌های سرمادوست PTC (Psychrotrophic Count) در نمونه‌های شاهد در روز ۱۵ و کمترین آن در روز صفر در نمونه‌های شاهد و نمونه‌های غوطه‌ور شده در عصاره سیاه دانه مشاهده شد (نمودار ۶). مقایسه میزان باکتری‌های سرمادوست بین نمونه شاهد و نمونه تیمار شده با عصاره نشان داد که از روز سوم دوره نگهداری به بعد اختلاف معنی‌داری بین تعداد باکتری‌های سرمادوست وجود داشت و در نمونه شاهد تعداد باکتری‌های سرمادوست در واحد سطح بیشتر از گروه تیمار مشاهده گردید ($P \leq 0.05$).

براساس نتایج ارزیابی حسی که مرحله اول برای یافتن بالاترین غلظت عصاره سیاه دانه که فاقد اثر نامطلوب بر ویژگی‌های حسی ماهی کپور نقره ای انجام شد غلظت ۱ درصد عصاره بعنوان بهترین غلظت انتخاب شد و تیمارهای عصاره سیاه دانه با غوطه‌وری در آب آشامیدنی حاوی ۱ درصد عصاره سیاه دانه بمدت ۲۰ دقیقه تهیه شدند.

نتایج ارزیابی حسی تیمارهای شاهد و عصاره سیاه دانه در جدول ۱ مشاهده می‌گردد. در ابتدای دوره نگهداری همه تیمارها از لحاظ شاخص‌های حسی بررسی شده (بافت، رنگ، بو، پذیرش کلی و مزه) دارای کیفیت بسیار خوب بودند و فقط امتیازدهی در نمونه‌های تیمار شده با عصاره سیاه دانه در این روز در شاخص‌های بو و مزه نسبت به تیمار کنترل کمی پایین‌تر بود ولی این اختلاف معنی‌دار نبود ($P \leq 0.05$).

در هر دو تیمار با گذشت زمان امتیاز شاخص‌ها کاهش یافت که البته این کاهش در تیمار شاهد با سرعت بیشتری صورت گرفت. بطوریکه در مورد شاخص‌های بافت و رنگ در روز نهم و در مورد سایر شاخص‌ها در روز ششم به حداقل امتیاز کیفیت قابل قبول (سوم) رسید، در صورتی که نمونه‌های تیمار شده با عصاره سیاه دانه تا روز پانزدهم نیز امتیاز کیفیت خوب را به خود اختصاص دادند.

جدول ۱: نتایج ارزیابی حسی برای تیمارهای مختلف نسبت به زمان

روز	۰	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
بافت	کنترل	۵±۰/۰ ^a	۵±۰/۰ ^a	۳/۵±۰/۲ ^b	۳±۰/۰ ^b	۱±۰/۰ ^c
سیاه دانه	۵±۰/۰ ^a	۵±۰/۰ ^a	۵±۰/۰ ^a	۵±۰/۰ ^a	۴/۸۳±۰/۱۶ ^a	۴/۶۶±۰/۲۱ ^a
رنگ	کنترل	۵±۰/۰ ^a	۴/۶۶±۰/۲۲ ^a	۴/۱۶±۰/۱۶ ^a	۳/۳۳±۰/۲۱ ^b	۲±۰/۰ ^c
سیاه دانه	۴/۸۳±۰/۱۶ ^a	۴/۸۳±۰/۱۶ ^a	۴/۶۶±۰/۲۱ ^a	۴/۶۶±۰/۲۱ ^a	۴/۳±۰/۲۱ ^a	۴/۳±۰/۲۱ ^a
بو	کنترل	۴/۸۳±۰/۱۶ ^a	۴/۱۶±۰/۱۶ ^a	۲±۰/۰ ^b	۱±۰/۰ ^c	۱±۰/۰ ^c
سیاه دانه	۴/۶۶±۰/۰۸ ^a	۴/۶۶±۰/۰۸ ^a	۴/۵±۰/۳۴ ^a	۴/۳±۰/۲ ^a	۴±۰/۰ ^a	۳/۸±۰/۳ ^a
پذیرش	کنترل	۵±۰/۰ ^a	۴±۰/۰ ^b	۳/۱۶±۰/۲ ^c	۲/۶±۰/۲۱ ^d	۱±۰/۰ ^e
کلی	سیاه دانه	۵±۰/۰ ^a	۵±۰/۰ ^a	۴/۶۶±۰/۰۸ ^a	۴±۰/۰ ^a	۴±۰/۰ ^a
مزه	کنترل	۴/۶۶±۰/۰۸ ^a	۴±۰/۰ ^a	۳±۰/۰ ^b	-----	-----
سیاه دانه	۴/۵±۰/۳۴ ^a	۴/۵±۰/۳۳ ^a	۴±۰/۰ ^a	-----	-----	-----

بحث

مجموع بازهای نیتروژنی فرار TVB-N بطور عمده متشکل از تری متیل آمین، دی متیل آمین، آمونیاک و سایر ترکیبات نیتروژنی فرار مرتبط با فساد غذاهای دریایی می‌باشد که بترتیب توسط باکتری‌های مولد فساد، آنزیم‌های اتولیتیک، دامیناسیون اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها تولید می‌گردند و یکی از نشانگرهای اصلی تخریب و تجزیه پروتئین گوشت ماهی محسوب می‌شود (Fan *et al.*, 2008). میزان TVB-N به میزان باکتری و در نتیجه به تخریب آنزیمی باکتریایی وابسته است (Ocaño-Higuera *et al.*, 2009). حداکثر میزان قابل قبول مجموع بازهای نیتروژنی فرار ۲۵ میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی اعلام شده است (Gimenez *et al.*, 2002; Ojagh *et al.*, 2010). به طور کلی میزان اولیه TVB-N در یک گونه‌ی خاص ماهی، با میزان نیتروژن غیر پروتئینی در ارتباط است. میزان نیتروژن غیرپروتئینی نیز به نوع غذیه ماهی، فصل صید و اندازه‌ی ماهی بستگی دارد (Goula & Kontominas, 2007). به

علاوه با سن ماهی، روش و موقعیت پرورش ماهی نیز در ارتباط است (Kyrana *et al.*, 1997). مقایسه نتایج نمونه‌های تیمار شده با عصاره‌های سیاه دانه و نمونه شاهد حاکی از بیشتر بودن روند افزایشی این شاخص در طول دوره نگهداری در نمونه‌های شاهد است، بطوریکه در روز ششم این فاکتور در نمونه شاهد به ۲۵/۷۱ میلی گرم در ۱۰۰ گرم رسید و از حد مجاز خود فراتر رفت در حالی که در نمونه‌های حاوی عصاره سیاه دانه تا پایان دوره از حد مجاز خود نگذشت. علت این موضوع بدلیل اثرات ضد میکروبی عصاره سیاه دانه است که بدلیل مهار فعالیت باکتری‌های عامل فساد و مهار ترشح آنزیم‌های باکتری‌ها است. در مطالعات بسیاری از محققین ترکیبات مهم و عمده عصاره روغنی سیاه دانه که مسئول فعالیت ضد میکروبی گیاه در مقابل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد دو ترکیب تیموکوئینن (thymoquinone) و تیموهیدروکوئینن (thymhydroquinone)

معرفی نموده‌اند و فعالیت ضد میکروبی این دو ترکیب را در محیط آزمایشگاهی بررسی و تایید نمودند (Halawani, 2009). نتایج حاصله از مقادیر بازهای نیتروژنی فرار بدست آمده در این مطالعه با نتایج Souza و همکاران (۲۰۱۰) که به بررسی اثر پوشش کیتوزان در فیله‌ی ماهی سالمون پرداختند و Fan و همکاران (۲۰۰۸) که از محلول پلی فنول چای برای افزایش زمان ماندگاری ماهی کپور نقره‌ای استفاده کردند، مطابقت دارد. در مرحله اول اکسیداسیون چربی‌ها، به واسطه اتصال اکسیژن به باند دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع پراکسیدها شکل می‌گیرند (Lin & Lin, 2004). هیدرو پراکسید محصول اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب چند غیر اشباع (PUFA) است. بهمین خاطر اندازه گیری پراکسید به منظور تعیین محصولات اولیه اکسیداسیون چربی (هیدروپراکسیدها) بکار می‌رود (Perez-Villarreal et al., 1990). مقدار شاخص پراکسید در زمان صفر در تیمارهای حاوی عصاره و کنترل بترتیب $0.78 \text{ meqO}_2/\text{kg fat}$ - 0.76 گزارش شد که این میزان با مقدار پراکسید اولیه ی گزارش شده توسط Pezeshk و همکاران (۲۰۱۱) بر فیله قزل آلا ی رنگین کمان تیمار شده با عصاره‌های موسیر وزرد چوبه (fat $0.86 \text{ meqO}_2/\text{kg}$) مطابقت دارد. مقادیر پراکسید همه نمونه‌های شاهد و تیمار شده با عصاره به شکل معنی داری در زمان نگهداری افزایش یافت. بطوریکه بیشترین مقدار پراکسید در نمونه‌های شاهد در روز نهم و در مورد تیمار حاوی عصاره سیاه دانه در روز دوازدهم مشاهده گردید، بعد از این مدت یک کاهش ناگهانی در مقدار شاخص پراکسید نمونه‌ها دیده شد که می‌تواند به دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون از جمله واکنش با پروتئین‌های قابل حل در نمک، تولید ترکیبات کربونیلی نظیر استالدهید، پروپیونالدهید، استن و اسیدهای چرب فرار نظیر اسید کاپروئیک و اسید پروپیونیک و یا گازهای فرار باشد (اعتمادی و همکاران، ۱۳۸۷). میزان پراکسید در همه نمونه‌ها کمتر از حد قابل قبول پیشنهادی ۷-۸ میلی اکی والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم چربی بود (Erkan et al., 2006; Huss, 1995). افزایش سریع شاخص پراکسید طی دوره نگهداری در نمونه‌های شاهد و روند کند افزایش شاخص پراکسید در تیمار حاوی عصاره سیاه

ضد اکسیدانی این عصاره و محافظت (Alam et al., 2010). از چربی‌های ماهی در برابر اکسیداسیون باشد که نتایج بدست آمده مطابق با نتایج گزارش شده توسط Özyurt و همکاران (۲۰۰۹) روی ماهی Red mullet و Gold band goatfish بود.

تشکیل اسیدهای چرب آزاد به تنهایی باعث کاهش ارزش تغذیه‌ای نمی‌شود، اما مسئول طعم و بوی نامطلوب در ماهی هستند. پس از جمود نعشی اسیدهای چرب آزاد و دیگر محصولات اکسیداسیون از طریق واکنش با پروتئینهای میوفیبریلار و تغییر ساختار پروتئین اثر نامطلوبی بر بافت ماهیچه دارند (Pacheco et al., 2000).

مقادیر اسیدهای چرب آزاد در تیمارهای کنترل و سیاه دانه از مقدار ابتدایی 0.64 (برحسب درصد اسید اولئیک) بترتیب به مقدار نهایی 2.84 و 1.14 تغییر کرد که تفاوت معنی‌داری در نتایج نمونه‌های شاهد در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده نشان داد. اختلاف معنی‌دار نمونه‌های شاهد با نمونه‌های تیمار شده با عصاره را می‌توان به خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره مربوط دانست که فعالیت آنزیمهای کاتالیز کننده هیدرولیز چربی را محدود می‌کند (Fan et al., 2008).

از اسید تیوباربیتوریک به میزان گسترده بعنوان یک شاخص برای تعیین مقدار محصولات ثانویه اکسیداسیون چربی استفاده می‌شود (Fan et al., 2008). وجود مواد واکنشی TBA به علت اکسیداسیون لیپیدهاست که طی آن پراکسید به آلدهید و کتون‌ها اکسیده می‌شود (Lindsay, 1991).

در تحقیق حاضر میزان TBA در نمونه‌های شاهد طی زمان نگهداری بطور معنی‌داری نسبت به نمونه‌های تیمار شده با سیاه دانه افزایش یافت. بطوریکه در روز نهم دوره نگهداری این مقدار در نمونه شاهد به 2.7 میلی گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم بافت ماهی رسید که تفاوت معنی‌داری را نسبت به نمونه‌های تیمار شده با عصاره سیاه دانه با مقدار 0.12 میلی گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم بافت ماهی داشت. و پس از آن در روز پانزدهم مقداری کاهش در میزان تیوباربیتوریک اسید نمونه‌ها مشاهده گردید که محققین دلیل این کاهش را به واکنش احتمالی مالون آلدهید با انواع ترکیبات یا اجزای موجود در عضلات از جمله پروتئینها، اسیدهای آمینه و گلیکوژن نسبت داده اند که کاهش مقادیر

حسی ماهی، توسط مصرف کننده قابل رویت است و بر انتخاب مصرف کننده تاثیر گذار می‌باشد (Sallam *et al.*, 2007). مطابق بررسی‌های حسی انجام شده در این مطالعه حداکثر زمان قابلیت مصرف نمونه‌های شاهد و نمونه‌های تیمار شده با عصاره سیاه دانه بترتیب روزهای ششم و پانزدهم تعیین شد، از لحاظ شاخص‌های بافت به جهت قابلیت ارتجاع بسیار خوب، رنگ و بو تا پایان دوره از امتیاز خوبی برخوردار بود. اما در مورد شاخص مزه در روز نخست نمونه‌های تیمار سیاه دانه به دلیل پس طعم کمی که از عصاره باقی مانده بود نسبت به تیمار شاهد امتیاز پایین‌تری را اخذ نمود. عمل ارزیابی شاخص طعم بدلیل عدم تمایل ارزیابان حسی به انجام ادامه آزمون فقط تا روز ششم دوره نگهداری انجام پذیرفت، اما بطور کل نتایج حاکی از آن بود که غلظت‌های بکار رفته از عصاره سیاه دانه ویژگی‌های حسی نامطلوبی را در ماهی ایجاد نکرده است و با استفاده از این غلظت عصاره می‌توان افزایش زمان ماندگاری ماهی را در عمل کاربردی نمود.

عصاره سیاه دانه در غلظت یک درصد دارای اثرات خوب ضد میکروبی و ضد اکسیدانی است و ضمن آنکه در غلظت یاد شده بر ویژگی‌های حسی تاثیر نامطلوب ندارد، می‌تواند زمان ماندگاری ماهی کپور نقره‌ای را در شرایط نگهداری در یخچال از شش روز به پانزده روز یعنی تا دو برابر نیم افزایش دهد که این موضوع در افزایش ایمنی و کیفیت ماهی کپور نقره‌ای و کاهش ضایعات آن می‌تواند نقش قابل توجهی داشته باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کارشناسان محترم اداره کل آزمایشگاههای کنترل غذا و دارو و آزمایشگاه علوم و تحقیقات به دلیل همکاری صمیمانه آنها تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

اعتمادی، ح.؛ رضایی، م. و عابدیان کناری، ع.، ۱۳۸۷. پتانسیل آنتی باکتریایی و آنتی اکسیدانی عصاره رزماری (*Rosmarinus officinalis*) در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*).

مالون آلدھید و کاهش آن را سبب می‌شود (Gomes *et al.*, 2003); (Raharjo *et al.*, 1993). معمولاً میزان ۱-۲ میلی گرم مالون آلدھید در کیلوگرم گوشت ماهی به عنوان حد قابل قبول TBA در نظر گرفته می‌شود (Connel, 1990). در مطالعه حاضر در نمونه‌های تیمار شده با عصاره سیاه دانه میزان این شاخص تا پایان زمان ماندگاری در حد قابل قبول قرار داشت، که این امر می‌تواند حاکی از خاصیت خوب ضد اکسیدانی عصاره سیاه دانه در جلوگیری از اکسیداسیون چربی در ماهی باشد. در مطالعه Viuda-Martos (۲۰۱۱) و Bourgou (۲۰۱۰) نیز که به آنالیز ترکیبات موجود در عصاره سیاه دانه با دستگاه GC-MS و بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی آن در شرایط آزمایشگاهی پرداختند عنوان نمودند که اثر ضد اکسیداسیونی این گیاه به دلیل مقادیر فراوان ترکیبات فنولیک و ترپن‌های موجود در اسانس و عصاره آن می‌باشد.

نتایج حاصل از مقادیر TBA در تحقیق حاضر با تحقیق مشابهی که توسط Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) بر روی ماندگاری ماهی قزل‌آلا تیمار شده با پوشش چیتوزان به تنهایی و ماهی تیمار شده با چیتوزان آغشته به اسانس دارچین انجام گرفت مطابقت دارد.

با افزایش طول دوره نگهداری، میزان TVC و PTC در هر دو نمونه شاهد و نمونه‌های تیمار شده با عصاره سیاه دانه افزایش یافت و این افزایش در طول زمان در تیمار کنترل شدت بیشتری را نشان داد بطوریکه میزان شاخص TVC و PTC در نمونه‌های شاهد به ترتیب در روزهای ششم و نهم از حد قابل قبول پیشنهادی آن ($7 \log \text{CFU/g}$) توسط Barakat (۲۰۰۴) تجاوز کرد. در صورتی که میزان این شاخص در نمونه‌های تیمار شده با عصاره سیاه دانه تا پایان روز پانزدهم از حد مجاز خود فراتر نرفت. مقایسه TVC و PTC در نمونه تیمار شده با عصاره سیاه دانه با نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری را از روز سوم تا پایان دوره نگهداری نشان داد که اثرات خوب بازدارندگی عصاره سیاه دانه به عنوان آنتی باکتریال قوی بر کل باکتری‌های قابل رویت و باکتری‌های سرما دوست را تایید می‌کند.

ارزیابی حسی متداول‌ترین روش برای تعیین تازگی ماهی می‌باشد زیرا این روش ساده، سریع و ارزان است و دستیابی به اطلاعات کیفی محصول به سرعت میسر می‌باشد. ویژگی‌های

- Egan H., Kirk R.S. and Sawyer R., 1997. Pearson's chemical analysis of food. 9th Edition. Longman Scientific and Technical, pp.609-634.
- Erkan N., Ozden O., Alakavuk D.U. and Yildirim S.Y., 2006. Spoilage and shelf life of sardines (*Sardine pilchardus*) packed in modified atmosphere. European Food Research Technology, 222:667-673.
- Fan W., Chi Y. and Zhang S., 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. Food Chemistry, 108:148-153.
- Ferdous A. J., Islam S. N., 1992. *In vitro* antibacterial activity of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds against multiple drug-resistant isolates of *Shigella* spp. and isolates of *Vibrio cholerae* and *E. coli*. Phytotherapy Research, 6:137-140.
- Jimenez B., Roncales P. and Beltran J.A., 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84:1154-1159.
- Gomes H.A., Silva E.N., Nascimento M.R. and Fukuma H.T., 2003. Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. Food Chemistry, 80:433-437.
- Goulas A.E. and Kontominas M.G., 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. Food Chemistry, 100:287-296.
- فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره ۵، شماره ۴، صفحه ۶۷ تا ۷۷.
- Alam M.M., Yasmin M., Nessa J. and Ahsan C.R., 2010. Antibacterial activity of chloroform and ethanol extracts of black cumin seeds (*Nigella sativa*) against multi-drug resistant human pathogens under laboratory conditions. Journal of Medicinal Plants Research, 4(18):1901-1905.
- Barakat S.M., Koji Y., Kazuo M. and Shin S.H., 2004. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. Food Microbiology, 21:657-666.
- Ben-Gigirey B., De Souse J.M., Villa T.G. and Barros-velazquez J., 1999. Barroamines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. Journal of Food Protection, 61:608-615.
- Bligh E.G., Dyer W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification., 37:911-917.
- Bourgou S., 2010. Bioactivities of black cumin essential oil and its main terpenes from Tunisia. Journal of Botany, 76:210-216.
- Burt S., 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International. Journal of Food Microbiology, 94:223 - 253.
- Connell J.J., 1990. Methods of assessing and selecting for quality. In control of fish quality (3rd ed.). Berlin: Springer. (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. Food Chemistry, 114:505-510.

- Halawani E., 2009.** Antibacterial activity of thymoquinone and thymohydroquinone of *Nigella sativa* L and their interaction with some antibiotics. *Advances in biological research*, *Advances in Biological Research*, 3 (5-6):148-152.
- Huss H.H., 1995.** Quality and quality changes in fresh fish. *FAO Fisheries Technical paper* 348, Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome, Italy.
- Jeon Y.J., Kamil J.Y. and Shahidi F.A., 2002.** Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of Herring and Atlantic Cod. *Agricultural and Food Chemistry*, 50:5167-5178.
- Karmer A. and Twigg B., 1966.** Fundamental of quality control for the food industry. 2nd edition. AVI. Pennsylvania. 505P.
- Kyranas V.R., Lougovois V.P. and Valsamis D.S., 1997.** Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 32:339-347.
- Lin C.C. and Lin C.S., 2004.** Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea, *Food Chemistry*, 16(2):169-175.
- Ocaño-Higuera V.M., Marquez-Ríos E., Canizales-Dávila M., Castillo-Yáñez F.J., Pacheco-Aguilar R., Lugo-Sánchez M.E., García-Orozco K.D. and Graciano-Verdugo A.Z., 2009.** Postmortem changes in cazon fish muscle stored on ice. *Food Chemistry*, 116:933-938.
- Ojagh S.M., Rezaei M., Razavi S.H. and Hosseini S.M.H., 2010.** Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120:193-198.
- Ozyurt G., Kuley E., Ozkutuk S. and Ozogul F., 2009.** Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish
- Pacheco-Aguilar R., Lugo-Sanchez M.E. and Robles-Burgueno M.R., 2000.** Postmortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0°C. *Journal of Food Science*, 65(1):40-47.
- Perez-Alonso F., Arias C., Aubourg S., 2003.** Lipid deterioration during chilled storage of Atlantic pomfret (*Brama brama*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105: 661-667.
- Perez-Villareal B. and Pozo R., 1990.** Chemical composition and ice spoilage of Albacore. *Journal of Food Science*. 55:678-682.
- Pezeshk P., Rezaei M. and Hosseini H., 2011.** Effects of Turmeric, Shallot extracts and their combination on quality characteristics of vacuum-packaged Rainbow Trout stored at 4±1°C. *Food Science*, 76(6):M387-M391.
- Raharjo S. and Sofos J.N., 1993.** Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A review. *Meat Science*, 35:145-169.
- Sallam K.H., 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°C. *Food Chemistry*, 102:1061-1070.

- Salman M.T., 2008.** Antimicrobial activity of *Nigella sativa* Linn. seed oil against multi-drug resistant bacterial from clinical isolates. Natural Product Radiance, 7(1):0-14.
- Sanker T.V. and Raghunath M.R., 1995.** Effect of pre-freezing iced storage on the lipid fraction of *Ariomma indica* during frozen storage. Fishery Technology, 32(2):88-92.
- Souza B., Cerqueira M., Ruiz H., Martins J. and Casariego A., 2010.** Effect of chitosan –based coating on the shelf life of salmon (*Salmo salar*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58:11456–11462.
- Viuda-Martos M. and Mohamady M.A., 2011.** *In vitro* antioxidant and antibacterial activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants. Journal of Food Control, 22:1715-1722.

**Chemical, microbial and sensory changes of silver carp
(*Hypophthalmichthys molitrix*) fish treated with Black cumin
(*Nigella sativa* L.) extract during storage at refrigerator**

Gholamzadeh M.⁽¹⁾; Hosseini E.⁽²⁾; Eskandari S.⁽³⁾ and Hosseini H.^{(4)*}

hedayat@sbmu.ac.ir

1-Food Science group, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Food and Drug Organization (FDO), Tehran

2- Dept. of Food Science, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran

3- Food & Drug Laboratory Research Center, Tehran, Iran

4- Dept. of Food Sciences & Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti Medical Science University, Iran

Received: November 2012

Accepted: April 2013

Keywords: Silver carp, black cumin extract, shelf life

Abstract

The changes in chemical, microbial and quality sensory of fillets for silver carp fish treated with black cumin extract during refrigerated storage were investigated. The fish were divided into two groups. First group was dipped in black cumin extract with concentration of 1% and received the highest score in sensory evaluation. Then the fishes were wrapped in polyethylene package. The second group, as the control samples, were wrapped in polyethylene package after dipping in distilled water. All treatments were stored at refrigerator temperature ($1\pm4^{\circ}\text{C}$). The microbial tests including total viable count, psychrotrophic count and chemical tests including peroxide index, thiobarbituric acid, free fatty acid value and total volatile basic nitrogen, with sensory evaluation, were done at 4°C over a period of 15 days. The results showed that the black cumin extract delayed lipid oxidation and protein analyses significantly in treated fishes. Psychrotrophic bacteria and total viable count of samples being treated with black cumin extract were maintained lower than the proposed acceptable limit ($7 \log \text{cfu/g}$). In comparison to the control samples, microbial spoilage significantly decreased in treated samples. Furthermore, according to sensory analysis, the treatment with black cumin extract led to high quality during storage. The findings indicated that black cumin exerts had strong antioxidant and antibacterial impacts on silver carp fish, such that the shelf life of fillets being treated with black cumin were 2.5 times more than that of control samples during storage in refrigerator.

*Corresponding author