



Original Research Paper

Antimicrobial and Antioxidant Effects of Glazing and Hydroalcoholic Extract of Coriander on Freezed Fillet of Mackerel Fish

Seyedeh Fereshteh Hosseini ¹, Abbasali Motallebi ^{1*}, Nourdohr Rokni ¹, Mostafa Sharif Rohani ²

¹Department of Hygiene, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension, Tehran, Iran

Key Words

Coriander
Mackerel fish
Glazing
Antibacterial
Antioxidant

Abstract

Introduction: In the recent decade, consuming marine products are increasing and because society used fresh nutritional materials, the preservation processes are so important. After proving the side effects of chemical preservation, using new methods like glazing is considered useful. On the other side, alongside marine products using plants like coriander is common and according to studies, the oil of the coriander seed is the second most essential oil in the world which its antimicrobial activity against gram-positive and negative bacteria and fungi is proved. Other than that, some of its antioxidant effects are proven. In this study, the effect of glazing process and hydroalcoholic extract of the coriander is assessed in vitro and on physical changes of the frozen fillet of the mackerel fish for 180 days.

Materials & methods: After production of the hydroalcoholic extract of the coriander plant, its antibacterial effect against four bacteria, including *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus antracis* and *Salmonella Typhimurium*, and along with antioxidant effects was examined. Fillets were kept at -18°C and they were tested in 5 time-points of 30, 60, 90, 120, and 180 days for their water holding capacity and microbial agents in vitro.

Results: The results showed that the hydroalcoholic extract of coriander had to hamper and kill effect on all bacteria, except for the *Salmonella Typhimurium*. According to the antioxidant indices, the extract antioxidant effect was improved by increasing its concentration. The water holding capacity in the glazed plus extract group was statistically higher than in the control group ($p < 0.05$).

Discussion: In summary, using both glazing and plant extract at once limits the changes and fish can be kept for 6 months while maintaining its quality.

* Corresponding Author's email: abbasalimotallebi@gmail.com

Received: 9 January 2022; Reviewed: 7 February 2022; Revised: 7 April 2022; Accepted: 9 May 2022

(DOI): [10.22034/AEJ.2022.319935.2726](https://doi.org/10.22034/AEJ.2022.319935.2726)

مقاله پژوهشی

خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی یخ پوشی و عصاره هیدروالکلی گشنیز بر فیله ماهی شیر منجمد

سیده فرشته حسینی^۱، عباسعلی مطلبی^{۱*}، نوردهر رکنی^۱، مصطفی شریف روحانی^۲^۱ گروه بهداشت، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران^۲ مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

کلمات کلیدی

چکیده

گشنیز
ماهی شیر
یخ پوشی
آنتی باکتریال
آنتی اکسیدان

مقدمه: در دهه اخیر، مصرف فرآورده های دریایی رو به افزایش است و از آن جایی که جامعه تمایل به استفاده از مواد غذایی تازه دارد، روش های نگه دارنده از اهمیتی بالایی برخوردار هستند. پس از اثبات عوارض نگه دارنده های شیمیایی، استفاده از روش های نوین، از جمله یخ پوشی (گلایزینگ) مورد توجه قرار گرفته است. هم چنین شیوه های مختلف گلایزینگ برای ارتقای سطح کیفی محصولات غذایی یخ زده بررسی شده اند؛ مانند هیدرولیز پروتئین، شیرابه حاصل از فشار عضله، روغن های ضروری و ترکیبات طبیعی. از طرفی، در کنار فرآورده های دریایی استفاده از سبزیجات از جمله گشنیز رایج است و طبق تحقیقات، روغن دانه گشنیز دومین روغن ضروری در دنیاست که اثرات ضد میکروبی علیه باکتری های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ ها دارد. علاوه بر آن برخی خاصیت آنتی اکسیدانی آن نیز به اثبات رسیده است. در مطالعه حاضر تأثیر فرآیند یخ پوشی و عصاره هیدروالکلی گیاه گشنیز بر روند تغییرات فیزیکی و میکروبی فیله ماهی شیر منجمد در بازه زمانی ۱۸۰ روز ارزیابی شد.

مواد و روش ها: پس از تهیه عصاره هیدروالکلی از گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*)، تأثیر ضد باکتریایی آن علیه چهار باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، باسیلوس سرئوس و سالمونلا تیفی موریوم و خواص آنتی اکسیدانی این عصاره در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. فیله های تهیه شده پس از نگهداری در دمای ۱۸- درجه، در زمان های ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز پس از انجماد، از نظر میزان ظرفیت نگه داری آب بررسی شدند.

نتایج: نتایج نشان داد که میزان عصاره هیدروالکلی گیاه گشنیز مورد استفاده در این تحقیق بر تمام باکتری ها به جز سالمونلا تیفی موریوم، در شرایط آزمایشگاهی، تأثیر مهار کننده و کشندگی داشت. از نظر شاخص های آنتی اکسیدانی، با افزایش غلظت، میزان خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه گشنیز، در هر سه آزمون، در شرایط آزمایشگاهی افزایش می یافت. میزان ظرفیت نگه داری آب در گروه گلایزینگ به همراه عصاره به طور معنی داری بهتر از گروه شاهد بود و میزان آن به طور معنی داری افزایش داشته است ($p < 0/05$).

بحث و نتیجه گیری: به طور خلاصه، بعد از استفاده از فرآیند یخ پوشی به همراه عصاره هیدروالکلی گشنیز، روند تغییرات محدودتر شده و ماهی پس از ۶ ماه نگهداری، کیفیت خود را کماکان حفظ کرد.

مقدمه

در طول نگهداری به شکل فریز و سرد است (۱۰، ۱۱، ۱۲). این لایه یخ مثل یک سد برای کنترل انتقال رطوبت و اکسیژن سطح فراورده غذایی یخ زده عمل کند (۱۳). هم چنین شیوه های مختلف گلایزینگ برای ارتقای سطح کیفی محصولات غذایی یخ زده بررسی شده اند؛ مانند هیدرولیز پروتئین، شیرابه حاصل از فشار عضله، روغن های ضروری و ترکیبات طبیعی (۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶). از طرفی، روغن دانه گشنیز، دومین روغن ضروری در دنیاست که خواص ضد میکروبی علیه باکتری های گرم مثبت، گرم منفی، برخی مخمرها، درماتوفیت ها و قارچ فیلانمتوس دارد. هم چنین خاصیت آنتی اکسیدانی روغن گشنیز به طور عمده مرتبط با وجود ترکیبات فنولی آن است (۱۷، ۱۸). در تحقیق حاضر، اثر آنتی باکتریال و آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی گشنیز به صورت آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. به علاوه، تأثیر یخ پوشی به همراه این عصاره بر ماندگاری محصول و میزان ظرفیت نگهداری آب فیله های ماهی شیر منجمد بررسی شد.

مواد و روش ها

تهیه عصاره هیدروالکلی از گیاه گشنیز: برای انجام این تحقیق، گیاه گشنیز از شهر ساری تهیه شد و در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری ارزیابی و تأیید گردید. ابتدا این گیاه در سایه و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد خشک و با استفاده از دستگاه آسیاب الکتریکی پودر شد. برای تهیه عصاره، به ۳۰ گرم از پودر گشنیز، حلال هیدروالکلی اتانول ۷۰ درصد اضافه شد (تهیه عصاره به روش سوکسله). به بالن متصل به سوکسله حدود ۳۰۰ میلی لیتر اتانول اضافه و به بالن حرارت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت با استفاده از شیکر مخلوط شد. سپس با کاغذ صافی واتمن شماره یک فیلتر شد. به رسوب باقی مانده مجدداً حلال هیدروالکلی اتانول ۷۰ درصد اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت با استفاده از شیکر مخلوط و سپس با کاغذ صافی واتمن شماره یک فیلتر شد. مجدداً این مراحل برای بار سوم تکرار شد. تمام محلول های به دست آمده در شرایط خلأ تغلیظ شدند. برای تهیه پودر خشک، ماده به دست آمده به مدت چهار روز در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد، در دستگاه آون قرار داده شد. سپس عصاره به دست آمده تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی گراد، در شیشه های رنگی و دور از نور نگهداری شد.

تهیه ماهی: ماهی های شیر صید شده به طور میانگین ۲/۳ کیلوگرم بوده و برای اطمینان از تازگی ماهی ها، از قایق های صیادی مستقر در اسکله صیادی که اقدام به فروش ماهی صید روز می کنند، ماهی ها به صورت تصادفی تهیه شد. ماهی ها با قلاب یا تور گرفته شدند و در کنار پودر یخ نگهداری و به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس

تولید جهانی آبزیان برای مصرف انسانی در پنج دهه اخیر از رشد جمعیت جهانی پیشی گرفته و از سال ۱۹۶۱ تا ۲۰۱۷ به میزان ۳/۵ درصد رشد داشته است که دو برابر نرخ رشد جمعیت جهانی است. در نتیجه مصرف سرانه آبزیان رشد چشمگیری داشته است (۱). در سال های اخیر، به دلیل افزایش آگاهی مصرف کنندگان از فواید تغذیه ای فراورده های دریایی و افزایش آگاهی نسبت به مضرات ناشی از مصرف سایر محصولات گوشتی، مصرف محصولات غذایی دریایی نیز رشد داشته است. از طرف دیگر، ماهیت و ترکیبات شیمیایی ماهی تازه، محیطی مناسب برای رشد میکروارگانیسم های بیماری زا است (۲). مصرف ماهی با کاهش خطر بیماری های قلبی-عروقی، افسردگی و مرگ و میر همراه است. به علاوه، ماهی منبع پروتئین حیوانی خوبی نیز محسوب می شود (۳). افزایش هر ۲۰ گرم مصرف ماهی در هفته، باعث کاهش ۲ تا ۷ درصد خطر مرگ و میر ناشی از CHD، سکته، نارسایی قلبی، سرطان های دستگاه گوارشی، سندرم متابولیک، زوال عقل و آلزایمر می شود. مصرف ۲ تا ۴ واحد ماهی در هفته برای کاهش خطر بیماری ها توصیه می شود (۴). در تحقیق دیگری از استخوان های ماهی شیر به عنوان ماده اصلی ژلاتین استفاده شد. ژلاتین حاصل به عنوان تثبیت کننده در بستنی استفاده شد (۵). این ماهی در خلیج فارس و دریای عمان با تنوع ژنتیکی خاص و جمعیت زیاد زندگی می کند (۶). از آن جاکه فراورده های دریایی از قبیل ماهی، همانند سایر مواد غذایی همواره در معرض آلودگی با میکروارگانیسم هایی مثل باکتری ها، قارچ ها، مایکوتوکسین های تولید شده توسط کپک های تولید کننده سم و نیز رادیکال های آزاد تولید شده تحت تنش های اکسایشی هستند، برای اطمینان از ایمنی از آن ها، نیاز به کنترل موارد بالا با استفاده از ترکیبات ضد میکروب، بازدارنده های تولید سم و نیز ترکیبات ضد اکسایشی است (۷). طبق نتایج تحقیقات گذشته، استفاده از نگهدارنده های شیمیایی در طولانی مدت عوارض متعددی از جمله سرطان دارد، به طوری که امروزه مصرف برخی از نگهدارنده های شیمیایی منسوخ شده یا به مقدار بسیار کم از آن ها استفاده می شود (۸). از این رو لزوم فراگیر شدن روش های نوین نگهداری از آبزیان در صنعت به چشم می آید. از جمله این روش ها می توان به استفاده از دمای پایین و یا گلایزینگ یا یخ پوشی اشاره کرد که با ایجاد لایه محافظتی از یخ بر سطح فراورده دریایی باعث ایجاد سد نگهدارندگی و جلوگیری از دهیدراسیون و اکسیداسیون گوشت شده و در نتیجه مدت نگهداری افزایش می یابد. Jasbi و همکاران، توانستند با استفاده از دمای ۴ درجه بدون تغییر فاکتورهای خاص ماهی را تا ۳ روز نگه دارند (۹) گلایزینگ فرآیندی برای کاهش خشکی و دهیدراسیون نامطلوب ماهی

هیدروالکلی ۱/۵ درصد گیاه گشنیز نیز اضافه شد. در مجموع ۹۰ نمونه ۳۰۰ گرمی آزمایش شد. فیله‌های ماهی شیر تازه در عصاره تهیه شده از گیاه گشنیز، غوطه‌ور شد و در مرحله بعد فیله ماهی بسته‌بندی و منجمد شد. تیمارها در ماه‌های اول، دوم، سوم، چهارم، پنجم و ششم از نظر عوامل میکروبی و شیمیایی بررسی شدند.

MIC و MBC عصاره گشنیز: به منظور سنجش حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره گیاه گشنیز بر باکتری‌های مذکور، ابتدا غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵، ۰/۲، ۰/۲۵، ۰/۳، ۰/۴، ۰/۴۵ و ۰/۵ درصد تهیه شد. سپس در این روش یک سری ۱۲ تایی از لوله‌های آزمایش استفاده شد که ۱۰ لوله برای آزمایش غلظت‌های مختلف اسانس تهیه شد؛ یک لوله حاوی عصاره به علاوه محیط کشت به عنوان کنترل منفی و یک لوله حاوی سوسپانسیون میکروبی به علاوه محیط کشت به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شدند. سپس تمام این غلظت‌ها به لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت نوترینت براث منتقل و ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی به همه لوله‌ها به جز لوله اول که همان کنترل منفی است افزوده شد. این رقت‌سازی برای هر باکتری به صورت جداگانه انجام شد. سپس همه لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از طی زمان انکوباسیون، لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری‌های تلقیح‌شده ارزیابی شد. در صورت شفاف بودن هریک از لوله‌ها، کم‌ترین غلظتی از عصاره که باعث شفافیت در لوله آزمایش شده بود، به عنوان کم‌ترین غلظت مهارکننده رشد یا MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین کم‌ترین غلظت کشنده، نمونه‌ها برای ۲۴ ساعت دیگر در همان شرایط انکوبه شدند و پس از کشت از لوله‌های مشکوک در محیط آگاردار و عدم رشد کلنی‌های باکتریایی، آن غلظت نیز به عنوان MBC در نظر گرفته شد. در این روش از دی متیل سولفو کساید ۴ درصد به عنوان کنترل منفی استفاده و هر آزمایش ۳ بار تکرار شد. تعداد نمونه آزمایش شده در این روش با احتساب ۴ باکتری، ۱۰ غلظت عصاره و ۳ تکرار، ۱۲۰ نمونه بود که با در نظر گرفتن نمونه کنترل منفی و مثبت (۱۸ نمونه)، تعداد کل نمونه‌های بررسی‌شده ۱۳۸ نمونه بود.

خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره گشنیز

غیرفعال‌سازی رادیکال آزاد (DPPH): در این تحقیق خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گشنیز در سه غلظت ۳۰۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با استفاده از روش‌های غیرفعال‌سازی رادیکال آزاد DPPH (۲) و ۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) از طریق بی‌رنگ شدن محلول بنفش رنگ DPPH، احیای یون فریک (FRAP) و مهار رادیکال ABTS (۲ و ۲')-آزینو- بیس- ۳- اتیل

داخل شکم ماهی و قسمت پشتی با چاقو به ضخامت کم‌تر از نیم سانتی‌متر برش داده شد و از قسمت دم تا پشت سر ماهی ادامه یافت. در قسمت پشت ماهی، با نوک چاقو خط وسط دو فیله برش داده شد، به گونه‌ای که چاقو روی سطح استخوان را لمس کرد و به کمک انگشتان فیله به آرامی از سطح استخوان جدا شد. در انتها، فیله‌ها در اندازه‌های ۳۰۰ گرمی تهیه شدند.

سویه‌های باکتری: در این آزمون ارزیابی اثرات ضدباکتریایی عصاره گشنیز، باکتری‌های سالمونلا تیفی موریوم (ATCC13311)، اشرشیا کلی (ATCC 43894 O157 H7)، استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 6538) و باسیلوس سرئوس (ATCC 11778) بررسی شدند. سویه‌های باکتری‌های مذکور به صورت لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. برای آماده‌سازی اولیه باکتری‌ها از محیط کشت نوترینت براث استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا آمپول لیوفیلیزه باکتری‌ها در مجاورت شعله گاز باز و پودر باکتری به محیط کشت انتقال داده و به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شد. پس از این مرحله، نمونه‌ها در سانتریفوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد و پس از خارج کردن فاز رویی و اضافه کردن بافر فسفات به رسوب حاصل، فرایند سانتریفوژ برای ۳ مرتبه تکرار شد تا اثری از محیط کشت اولیه در سوسپانسیون باکتری مشاهده نشود. به منظور محاسبه تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر، کدورت نمونه‌های سانتریفوژ شده با لوله‌های استاندارد مک فارلند مقایسه و با اضافه کردن بافر فسفات (در صورت نیاز) با لوله ۰/۵ مک فارلند (معادل $10^8 \times 1/5$) واحد تشکیل دهنده کلنی در میلی‌لیتر) همسان‌سازی و برای آزمایش‌های بعدی استفاده شد (۱۹، ۲۰).

عمل یخ‌پوشی و گروه‌بندی: به منظور ایجاد پوشش، نمونه‌ها به مدت ۱ دقیقه در آب صفر درجه غوطه‌ور و پس از آن از آب خارج شدند. پس از اتمام آب‌چک، برای خشک کردن تحت جریان ملایم هوا قرار گرفتند. پس از خشک شدن پوشش، نمونه‌ها به فریزر منتقل و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ماه نگهداری و در فواصل زمانی یک ماه ارزیابی شدند. سپس به گروه‌های ذیل تقسیم شدند: گروه اول (UG): گروه شاهد که بدون گلیزینگ و بدون غوطه‌وری در عصاره گشنیز با بسته‌بندی عادی منجمد شد. گروه دوم (WG): فقط به روش گلیزینگ خالص با آب سرد بسته‌بندی شد. گروه سوم (CG ۰/۵ درصد): علاوه بر گلیزینگ با آب، عصاره هیدروالکلی ۰/۵ درصد گیاه گشنیز نیز اضافه شد. گروه چهارم (CG ۱ درصد): علاوه بر گلیزینگ با آب، عصاره هیدروالکلی ۱ درصد گیاه گشنیز نیز اضافه شد. گروه پنجم (CG ۱/۵ درصد): علاوه بر گلیزینگ با آب، عصاره

استافیلوکوکوس اورئوس به روش کشت سطحی (استاندارد ملی ایران شماره ۱-۶۸۰۶، ۱۳۸۴) انجام شد. در نهایت شمارش فاکتورهای میکروبی با توجه به فاکتور رقت تعداد آن‌ها به صورت واحد تشکیل دهنده کلنی در گرم گزارش شد.

آماده سازی نمونه ها برای آزمون های میکروبی: ۱۰ گرم از گوشت ماهی از بسته بندی جدا شد و همراه با ۹۰ میلی لیتر آب پپتونه استریل در داخل کیسه های Bag mixer ریخته و داخل دستگاه استومیکر با سرعت ۲ و زمان ۲ دقیقه قرار داده شد تا محیط هموژن شود. سپس با سمپلر ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرولیتری مقدار ۱ میلی لیتر برای تهیه رقت های ۱۰ تایی متوالی در لوله های شیشه ای محتوی ۹ میلی لیتر محلول استریل آب پپتونه اضافه شد. با اضافه کردن ۱۰ گرم ماهی به ۹۰ سی سی آب پپتونه، در واقع رقت ۱- ایجاد شد. باکتری مورد نظر پس از انکوباسیون شمارش شد. در ارزیابی میکروبی نمونه ها گروه های زیر بررسی شدند: ۱. شمارش کلی میکروب ها، ۲. شمارش کلی فرم ها، ۳. انتروباکتریاسه ها، ۴. استافیلوکوکوس.

شمارش کلی میکروارگانیزم های هوازی مزوفیل: در این روش از محیط کشت PCA استفاده شد و طبق دستورالعمل برای ساختن ۱۰۰۰ میلی لیتر محیط کشت PCA، به ۲۳/۵ گرم پودر نیاز است؛ بنابراین، برای ساختن ۳۰۰ میلی لیتر محیط کشت، ۷/۰۵ گرم پودر با آب مقطر به وسیله مزور به حجم ۳۰۰ میلی لیتر رسانده شد و به همراه مگنت تا حل شدن کامل حرارت دید. سپس در اتوکلاو (مدت ۱۵ دقیقه و دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد) استریل و بعد از خنک شدن، به پلیت ها منتقل شد. در این روش ۱۰ گرم فیله ماهی (شاهد و سه نمونه غوطه ور شده در نانو امولسیون های اسانس کورکومین در رقت ۱، ۳ و ۵ درصد)، در روزهای صفر، ۵ و ۱۰ به همراه ۹۰ سی سی محلول استریل نرمال سالین با دستگاه Stomacher همگن شد (ISO 6887-3:2003). یک سی سی از مایع با سمپلر ۱۰۰۰ در لوله آزمایش با ۹ سی سی نرمال سالین شیک شد (رقت 10^{-2} ساخته شد). در ادامه با سمپلر ۱۰۰۰، یک سی سی از رقت 10^{-2} در لوله آزمایش دیگری با ۹ سی سی نرمال سالین شیک شد (رقت 10^{-3} ساخته شد) و این کار را تا ساختن رقت 10^{-7} ادامه یافت. وقتی آماده سازی نمونه انجام شد، با استفاده از محیط کشت PCA، نمونه از هر رقت با سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر روی پلیت ریخته و با میله L شکل استریل پخش شد که به این روش کشت Surface cultivation می گویند (در این حالت هر پلیت، رقتی با یک لگاریتم کم تر از لوله آزمایشی دارد که از آن تلقیح شده است). بعد از ساختن پلیت هایی با رقت های مختلف، به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری و سپس پرگنه های محیط کشت شمرده شد رقتی که در آن تعداد کلونی ها بین ۳۰ تا ۳۰۰ بود، قابل قبول است و گزارش، براساس عکس درجه رقت در تعداد پرگنه

بنزوتیازولین-۶-سولفونیک اسید) انجام و با آنتی اکسیدان مصنوعی BHT مقایسه شد. به منظور انجام آزمون DPPH، ابتدا عصاره گیاه در غلظت های تعیین شده (برحسب میلی گرم در میلی لیتر) در آب حل شد. سپس ۱/۵ میلی لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار رادیکال DPPH به اتانول ۹۹/۵ درصد اضافه شد. محلول حاصل با سرعت بالا هموژن شد و به مدت ۳۰ دقیقه در مکان تاریک انکوبه قرار داده و جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

توان آنتی اکسیدانی احیای آهن (FRAP): برای اندازه گیری توان آنتی اکسیدانی احیای آهن، ۱ میلی لیتر از عصاره با غلظت های تعیین شده (برحسب میلی گرم بر میلی لیتر) با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH ۶/۶ و ۲/۵ میلی لیتر محلول ۱ درصد وزنی حجمی پتاسیم فری سیانید مخلوط شد. این محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد انکوبه شد و بعد از این مدت با اضافه کردن ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر فریک کلرید ۰/۱ درصد ترکیب و ۱۰ دقیقه در دمای محیط انکوبه و سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد.

قدرت مهارکنندگی رادیکال ABTS: بدین منظور از روش آلمان و همکاران استفاده شد. محلول ۷ میلی مولار ABTS در پتاسیم پرسولفات ۲/۴۵ میلی مولار تهیه و به مدت ۱۶ ساعت در دمای محیط و در جای تاریک نگهداری شد. پس از طی زمان مورد نظر، رقیق سازی با آب مقطر تا رسیدن به میزان جذب 0.7 ± 0.02 در طول موج ۷۳۴ نانومتر انجام شد. سپس ۲۰ میکرولیتر نمونه با ۹۸۰ میکرولیتر محلول رقیق سازی شده ABTS مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در مکان تاریک و دمای ۳۰ درجه سانتی گراد انکوبه شد. پس از طی زمان مورد نظر جذب نمونه ها در طول موج ۷۳۴ نانومتر قرائت شد.

آزمون های میکروبی: آزمایش های میکروبی به منظور کنترل کیفیت میکروبی و بهداشتی فراورده، بررسی حفظ سلامت فراورده طی زمان سردخانه گذاری و تأثیر عصاره گشنیز روی باکتری های عامل مسمومیت غذایی انجام شد. شمارش کلی باکتری های هوازی و هم چنین شمارش باکتری های سرماگرا، بعد از تهیه رقت های مناسب با استفاده از سرم فیزولوژی، در روزهای آزمون، با استفاده از محیط کشت PCA (Plate Count agar) و انکوبه گذاری در دمای ۳۷ و ۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت و هم چنین ۱۰ روز، به ترتیب انجام شد و استاندارد ملی ایران شماره ۱-۸۹۲۳، ۱۳۸۶). شمارش انتروباکتریاسه با استفاده از محیط کشت VRBA (Violet Red Bile Agar) و انکوبه گذاری در دمای ۳۷ درجه به مدت ۱ تا ۲ روز انجام شد (۲۱). شمارش کپک و مخمرهای تیمارهای مطالعه شده با استفاده از محیط کشت PDA (Potato Dextrose agar) به مدت ۵ روز در دمای ۲۵ درجه انکوباسیون و MRS آگار برای باکتری های اسیدلاکتیک (LAB)، انجام شد (۲۱). شمارش

بیشترین میزان مهارکنندگی مربوط به غلظت ۰/۵ درصد عصاره و کمترین مهارکنندگی مربوط به غلظت ۰/۰۵ درصد عصاره بوده است و با افزایش غلظت این ویژگی به تدریج موجب کاهش بار میکروبی شد. با توجه به نتایج بار میکروبی غلظت ۰/۰۵ کمتر از نمونه شاهد بود. کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره برای این باکتری ۰/۲ درصد بود، ولی در هیچ کدام از غلظت‌ها اثر کشندگی بر میکروب مشاهده نشد.

سالمونلا تیفی موریوم: نتایج به دست آمده از بررسی اثر ضد میکروبی عصاره گیاه گشنیز بر باکتری سالمونلا تیفی موریوم در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج حاکی از کاهش بار میکروبی با افزایش غلظت عصاره است که این از افزایش حساسیت سالمونلا در برابر مقادیر بیشتری از عصاره ناشی است. با توجه به جدول بیشترین میزان مهارکنندگی مربوط به غلظت ۰/۵ درصد عصاره و کمترین مهارکنندگی مربوط به غلظت ۰/۰۵ درصد عصاره بود. با توجه به نتایج بار میکروبی غلظت ۰/۰۵ درصد عصاره کمتر از نمونه شاهد بود. غلظت‌های استفاده شده اثرات مهارکنندگی و کشندگی بر سالمونلا نداشتند.

اشرشیا کلی: در جدول ۱ میزان تأثیر بازدارندگی و کشندگی عصاره گیاه گشنیز بر باکتری اشرشیا کلی نشان داده شده است. با توجه به جدول بیشترین میزان مهارکنندگی مربوط به غلظت ۰/۵ درصد عصاره و کمترین مهارکنندگی مربوط به غلظت ۰/۰۵ درصد عصاره بوده است و با افزایش غلظت این ویژگی به تدریج موجب کاهش بار میکروبی شد. با توجه به نتایج بار میکروبی غلظت ۰/۰۵ کمتر از نمونه شاهد بود. کمترین غلظت مهارکنندگی در غلظت ۰/۳۵ درصد بود، ولی با این وجود، عصاره گشنیز اثر کشندگی بر اشرشیا کلی نداشته است.

باسیلوس سرئوس: با توجه به جدول ۱ بیشترین میزان مهارکنندگی مربوط به غلظت ۰/۵ درصد عصاره و کمترین مهارکنندگی مربوط به غلظت ۰/۰۵ درصد عصاره بوده و با افزایش غلظت این ویژگی به تدریج موجب کاهش بار میکروبی شد. با توجه به نتایج بار میکروبی غلظت ۰/۰۵ کمتر از نمونه کنترل مثبت بود و حداقل غلظت مهارکنندگی را غلظت ۰/۰۵ نشان داد. عصاره گشنیز در غلظت ۰/۱۵ اثر مهارکنندگی بود، ولی هیچ یک از غلظت‌های مذکور اثر کشندگی بر باسیلوس سرئوس نداشتند.

شمارش شده است. از آن جاکه فیله ماهی جامد است، واحد تعداد میکروب‌ها بر اساس واحد تشکیل دهنده کلنی در گرم است (۲۲).

خانواده انتروباکتریاسه: به منظور شمارش باکتری‌های کلی فرم از روش کشت آمیخته و محیط کشت (Violet red bile glucose agar) استفاده شد. محیط کشت طبق دستور درج شده تهیه و تا دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک شد. محیط کشت به پلیت‌های سترون حاوی ۱ میلی‌لیتر از رقت‌های مختلف از نمونه افزوده شد. پس از جامد شدن کامل محیط کشت، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون شدند (۲۳).

ظرفیت نگه داری آب (WHC): در مطالعه حاضر ظرفیت نگه داری آب براساس روش Zang و همکاران، انجام شد. به این منظور ابتدا ۲ گرم از نمونه جدا و توسط ترازوی دقیق وزن شد (W1). سپس نمونه را داخل دو عدد کاغذ صافی قرار داده و کاغذ صافی به دور نمونه پیچیده شد. کاغذ صافی و نمونه داخل لوله پلاستیکی قرار گرفته و داخل سانتریفیوژ گذاشته و دستگاه بر روی ۵۰۰۰ دور در دقیقه و مدت زمان ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. در پایان نمونه بیرون آورده شده و کاغذ را از دور آن باز کرده و با پنس نمونه را از کاغذ برداشته و سپس نمونه وزن شده (W2) و WHC از فرمول زیر محاسبه شد (۲۴):

$$WHC = \frac{W2}{W1} \times 100$$

روش‌ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده با نرم افزار SPSS انجام شد. ابتدا بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف و همگنی واریانس داده‌ها با آزمون لون انجام شد. به منظور ارزیابی متغیرهای مختلف شیمیایی و میکروبی در زمان‌های مختلف از تست‌های ANOVA استفاده شد و به منظور مقایسه واریانس‌ها و ارزیابی معنی‌دار بودن داده‌ها، از تست Duncan استفاده شد. ضمناً آزمون همبستگی داده‌ها نیز انجام شد.

نتایج

ارزیابی اثرات MIC و MBC عصاره گشنیز بر باکتری‌های شاخص در شرایط آزمایشگاهی
استافیلوکوکوس اورئوس: در جدول ۱ میزان تأثیر بازدارندگی و کشندگی عصاره گیاه گشنیز نشان داده شده است. با توجه به جدول،

جدول ۱: تغییرات بار میکروبی در غلظت‌های مختلف عصاره گشنیز

غلظت عصاره بار میکروبی باکتری	کنترل مثبت	۰/۰۵	۰/۱	۰/۱۵	۰/۲	۰/۲۵	۰/۳	۰/۳۵	۰/۴	۰/۴۵	۰/۵	(لوگ اولیه)
باسیلوس سرئوس	۱۰ ^۷ ×۶/۲۵	۱۰ ^۵ ×۱/۰۸	۱۰ ^۴ ×۲/۲۵	۱۰ ^۳ ×۶/۲	۱۰ ^۲ ×۵/۳	۱۰ ^۲ ×۴/۴	۱۰ ^۲ ×۳/۲	۱۰ ^۲ ×۲/۰۹	۱۰ ^۲ ×۱/۱	۱۰ ^۲ ×۵/۲۵	۱۰ ^۲ ×۳/۱	۱۰ ^۵ ×۳/۲۶
اشرشیا کلی	۱۰ ^۷ ×۵/۳	۱۰ ^۷ ×۳/۶	۱۰ ^۷ ×۲/۷	۱۰ ^۷ ×۱/۴۵	۱۰ ^۶ ×۸/۳۵	۱۰ ^۶ ×۶/۵۴	۱۰ ^۶ ×۵/۲۵	۱۰ ^۶ ×۲/۴۱	۱۰ ^۵ ×۹/۵۴	۱۰ ^۵ ×۷/۰۸	۱۰ ^۵ ×۵/۴۱	۱۰ ^۵ ×۱/۶۹
سالمونلا تیفی موریوم	۱۰ ^۷ ×۴/۹	۱۰ ^۶ ×۳/۷	۱۰ ^۶ ×۱/۵	۱۰ ^۵ ×۹/۴۴	۱۰ ^۵ ×۸/۳۶	۱۰ ^۵ ×۷/۴۰	۱۰ ^۵ ×۷/۲۳	۱۰ ^۴ ×۸/۷	۱۰ ^۴ ×۶/۴	۱۰ ^۴ ×۳/۳	۱۰ ^۴ ×۲/۲	۱۰ ^۵ ×۶/۴۵
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۰ ^۷ ×۷/۳	۱۰ ^۵ ×۱/۲	۱۰ ^۴ ×۴/۱	۱۰ ^۴ ×۱/۲	۱۰ ^۳ ×۸/۱	۱۰ ^۳ ×۵/۱	۱۰ ^۳ ×۳/۶	۱۰ ^۲ ×۲/۲	۱۰ ^۲ ×۲/۱	۱۰ ^۲ ×۴/۰۳	۱۰ ^۲ ×۱/۲	۱۰ ^۵ ×۳/۲۶

MIC: ۰/۱۵ درصد، MBC: نداشت.

۹/۲۵ و ۱۳/۴۶ میلی مولار ترولکس بر کیلوگرم وزن خشک عصاره (P<۰/۰۵) رسیده است. نتایج حاکی از ارتباط خطی بین مقدار عصاره گشنیز و فعالیت آنتی اکسیدانی است. در مقایسه با آنتی اکسیدان مصنوعی BHT، فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره در هر سه آزمایش کمتر بوده است (P<۰/۰۵).

اثرات آنتی اکسیدانی: برای ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی از تست‌های DPPH، ABTS و FRAP استفاده شد. نتایج آزمایشات مذکور در جدول ۲ نشان داده شده است. مطابق جدول، فعالیت آنتی اکسیدانی با افزایش غلظت عصاره بیش تر شده است و درصد بازدارندگی در غلظت ۷۰۰ میلی گرم در لیتر به ترتیب به ۶۸/۵۸،

جدول ۲: بررسی عصاره برگ گشنیز از نظر شاخص‌های آنتی اکسیدانی FRAP و DPPH، ABTS

شاخص فعالیت آنتی اکسیدان	غیرفعال سازی رادیکال آزاد (%)	قدرت مهارکنندگی رادیکال (میلی مول ترپلوکس/کیلوگرم وزن خشک)	توان آنتی اکسیدانی احیای آهن (میلی مول ترپلوکس/کیلوگرم وزن خشک)
غلظت			
۳۰۰	۲۵/۵۶±۱/۲۵ d	۴/۳۶±۰/۱۲ d	۹/۱۷±۰/۶۱ d
۵۰۰	۴۲/۶۸±۱/۴۸ c	۷/۱۷±۰/۵۴ c	۱۰/۲۸±۱/۰۶ c
۷۰۰	۶۸/۵۸±۲/۳۵ b	۹/۲۵±۰/۲۸ b	۱۳/۴۶±۱/۲۵ b
یدروکسی تولون، بوتیل =	۸۷/۲۵±۳/۱۱ a	۱۲/۲۱±۰/۱۷ a	۱۶/۳۵±۱/۴۵ a

حروف کوچک در هر ستون نشان دهنده تفاوت‌های معنی دار است (P<۰/۰۵).

CG، ۱ درصد CG، و ۱/۵ درصد CG، به ترتیب به ۴۹/۲۳، ۵۷/۱۰، ۶۲/۴۳، ۶۲/۲۲ و ۶۳/۳۶ درصد رسید. مقدار ظرفیت نگهداری آب در تیمارهای ۰/۵ درصد CG، ۱ درصد CG و ۱/۵ درصد CG به طور معنی داری بیش تر بود. این مسئله احتمالاً به علت تیمار گل‌زیگ همراه با غلظت‌های مختلف عصاره بوده است که مانع از تخریب پیوندهای هیدروفوبیک و هیدروفیلی اطراف پروتئین‌ها در طول نگهداری در انجماد می‌شود.

خاصیت زیاد آنتی اکسیدانی گشنیز به دلیل وجود ترکیبات فنولیک و کاروتنوئید در گشنیز است که غیرفعال کننده‌های رادیکال‌های آزاد در فرایند اکسیداسیون لیپیدها در نگهداری ماهی یخ زده هستند. **ظرفیت نگهداری آب:** تغییر در ظرفیت نگهداری آب در تیمارهای مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. ظرفیت نگهداری آب در همه تیمارها با افزایش زمان نگهداری روند کاهشی داشته است. مقدار این متغیر در ماه ۶، در تیمارهای WG، UG، ۰/۵ درصد

جدول ۳: تغییرات در ظرفیت نگهداری آب (درصد) فیله ماهی شیر در تیمارهای بدون گل‌زیگ، گل‌زیگ به تنهایی و گل‌زیگ به همراه عصاره گشنیز در طول نگهداری در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد

زمان (روز)	۳۰	۶۰	۹۰	۱۲۰	۱۵۰	۱۸۰
تیمار						
UG	۷۹/۳۶±۴/۲۵ aB	۷۴/۶۸±۴/۴۵ bC	۶۸/۳۶±۴/۲۵ cC	۶۱/۴۵±۴/۸۷ dC	۵۶/۲۲±۳/۲۵ eC	۴۹/۲۳±۳/۳۶ fC
WG	۸۱/۴۵±۵/۱۲ aAB	۷۷/۲۲±۵/۱۱ bB	۷۱/۴۱±۵/۱۷ cB	۶۶/۳۲±۵/۴۵ dB	۶۰/۳۵±۶/۲۸ eB	۵۷/۱۰±۴/۵۵ fB
CG 0.5%	۸۲/۳۰±۴/۴۵ aA	۸۰/۲۱±۵/۳۰ bA	۷۳/۶۰±۵/۲۱ cA	۶۹/۴۱±۳/۲۲ dA	۶۶/۱۷±۴/۴۵ eA	۶۲/۴۳±۵/۴۲ fA
CG 1%	۸۲/۲۶±۶/۲۵ aA	۸۰/۱۶±۳/۴۱ bA	۷۳/۷۷±۳/۲۷ cA	۶۹/۲۵±۶/۳۶ dA	۶۶/۳۲±۵/۳۱ eA	۶۲/۲۲±۳/۱۶ fA
CG 1.5%	۸۲/۸۰±۴/۱۹ aA	۸۰/۶۳±۶/۱۸ bA	۷۴/۱۱±۴/۲۹ cA	۷۰/۱۹±۵/۴۱ dA	۶۷/۲۸±۴/۴۸ eA	۶۳/۳۶±۴/۴۶ fA

UG: بدون گل‌زیگ، WG: گل‌زده شده با آب، CG ۰/۵ درصد: گل‌زیگ به همراه ۰/۵ درصد عصاره گشنیز، CG ۱ درصد: گل‌زیگ به همراه ۱ درصد عصاره گشنیز، CG ۱/۵ درصد: گل‌زیگ به همراه ۱/۵ درصد عصاره گشنیز. حروف کوچک و بزرگ در هر ستون و ردیف، تفاوت‌های معنی دار را نشان می‌دهند (P<۰/۰۵).

قبول بوده است. به لحاظ استفاده از دمای پایین ۳۵- درجه سانتی گراد (در ابتدای فرایند گل‌زیگ) تعداد اولیه باکتری‌ها به طور معنی داری کاهش می‌یابد که این موضوع از نظر آسیب به غشای سیتوپلاسمی و دنا تورا سیون DNA است. البته باید خاطر نشان کرد که در دمای ۱۸- درجه نیز واکنش رخ خواهد داد، ولی این موضوع برای همه باکتری‌ها صادق نیستند (۳۲، ۳۳). هنگام استفاده از عصاره گشنیز، واکنش ضدباکتریایی تسهیل می‌شود؛ زیرا بیش تر باکتری‌ها در شرایط انجماد و گل‌زیگ دچار آسیب سلولی می‌شوند و نسبت به مواد ضد میکروبی عصاره مقاومت چندانی نشان نخواهد داد؛ بنابراین، انتظار بر این است که از شمارش کلی باکتری‌ها کاسته شود. همان طور که در نتایج نشان داده شده است، جمعیت کلی باکتری‌ها در مقایسه با روش نگهداری در سرما و دمای بالاتر، بسیار کم تر بوده و با افزایش زمان نگهداری، رشد باکتری‌ها به صورت جزئی افزایش می‌یابد. در مطالعه Suvanich و همکاران، مشخص شد که تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی در گربه ماهی از ۱۰^۷ به ۱۰^۵ کاهش داشته است (بعد از ۲ ماه نگهداری در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد)،

بحث

مطالعات نشان داده است هر چند انجماد یکی از روش‌های نگهداری درازمدت محصولات دریایی است، هنگام نگهداری در انجماد تغییراتی نظیر اکسیداسیون چربی، کاهش وزن به همراه از دست رفتن رطوبت ماهی و هم چنین دنا تورا سیون پروتئین رخ می‌دهد. گل‌زیگ باعث بهبود کیفیت ماهی و مانع از دست رفتن رطوبت و سوختگی سطحی ماهی می‌شود و فساد و اکسیداسیون چربی را به تأخیر می‌اندازد (۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸). تعداد باکتری‌های هوازی مزوفیل یکی از اندیکاتورهای مهم در کیفیت بهداشتی ماده غذایی خصوصاً ماهی محسوب می‌شود (۲۹). تجهیزات و ابزار آلات استفاده شده در فرآوری باعث انتقال ۱۰^۵-۱۰^۳ Log از باکتری‌ها هستند (۳۰)؛ بنابراین، تمام عوامل ذکر شده، تعیین کننده تعداد اولیه میکروارگانیسم‌ها در محصول هستند. میزان مورد قبول باکتری‌های مزوفیل هوازی بین ۱۰^۶-۱۰^۷ واحد تشکیل دهنده کلنی است (۳۱). در مطالعه حاضر تعداد باکتری‌های مزوفیل در تمامی تیمارهای بررسی شده در دامنه مورد

اولی بعد از این مدت تعداد باکتری‌ها تقریباً روند ثابتی به خود گرفته است. در مطالعه حاضر روند افزایشی باکتری‌ها جزئی بوده و این موضوع نشان‌دهنده اثرات کاهش گلیزینگ و گلیزینگ با عصاره است و اثرات آن‌ها بیش‌تر از انجماد تنها بوده است (۳۴). در مطالعه Olgunoglu، اثرات انجماد و گلیزینگ بر روند تغییرات فیله ماهی تنج (*Tinca tinca*) (با پوست و بدون پوست) نگهداری شده در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد ارزیابی شد (۳۵). نتایج نشان داد انجماد و سایر روش‌های نگهداری توانایی از بین بردن کامل میکروارگانیسم‌ها را ندارد و بهترین روش برای مهار میکروارگانیسم‌ها، روش گلیزینگ بعد از جدا کردن پوست از فیله است. نتایج مطالعه فوق با مطالعه حاضر مطابقت دارد و حاکی از افزایش باکتری‌ها در تیمار شاهد است که همانا نگهداری ماهی بدون تیمار در دمای ۱۸- به مدت ۶ ماه است. با این وجود هنگام گلیزینگ کردن فیله، روند صعودی میکروارگانیسم‌ها کاهش نسبی پیدا کرده است که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری دارد؛ بنابراین، فرایند گلیزینگ قادر به کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها است و به نوعی زمان تقسیم باکتری‌ها را طولانی می‌کند. از این رو بر جمعیت کلی باکتری‌ها تأثیرگذار است. برای افزایش توانایی مهارکنندگی فرایند گلیزینگ، استفاده از عصاره یا سایر مواد نگهدارنده پیشنهاد می‌شود که به صورت هم‌زمان قادر به مهار بیش‌تر میکروارگانیسم‌ها خواهند بود. در مطالعه Fadiloglu و Çoban، در خصوص اثر گلیزینگ به همراه عصاره گیاه سماق (*Rhus Coriaria*) بر کیفیت ماهی قزل‌آلای نگهداری شده در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد مشخص شد که گلیزینگ به همراه ۱۰ درصد عصاره سماق باعث کاهش معنی‌دار باکتری‌های هوازی مزوفیل و عصاره مذکور باعث افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلا می‌شود و می‌توان از آن به عنوان ماده طبیعی آنتی‌اکسیدان و ضدباکتری با هدف تأخیر در اکسیداسیون چربی و ارتقای کیفیت ماهی استفاده کرد (۳۶). آن‌ها هم‌چنین گزارش کردند که در تیمار شاهد نگهداری شده در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد، روند تغییرات باکتریایی ماهی قزل‌آلا بسیار سریع بوده است و به $\log_{10}$ بعد از ۶ ماه نگهداری رسید (۳۶). در مقایسه با مطالعه حاضر، روند تغییرات باکتری‌ها در ماهی قزل‌آلا بسیار سریع‌تر از ماهی شیر بوده که علت آن احتمالاً به خاطر زیاد بودن میزان چربی در ماهی قزل‌آلا و افزایش تعداد باکتری‌های تجزیه‌کننده چربی بوده است. روند تغییرات باکتری‌های هوازی در تمامی تیمارها صعودی بوده و در تیمار شاهد هم گلیزینگ به همراه ۵ و ۱۰ درصد عصاره سماق افزایش داشته، ولی تغییرات متفاوت بوده است که مشابه نتیجه حاضر است. نتایج آن‌ها هم‌چنین نشان داد غلظت‌های ۵ و ۱۰ نسبت به سایر تیمارها بهتر و تغییرات معنی‌دار بوده است. این نتیجه مشابه نتایج مطالعه حاضر است و نشان‌دهنده اثرات بهتر گلیزینگ به همراه عصاره گشنیز خصوصاً در غلظت‌های بیش‌تر بوده است. وجود ترکیبات آنتی‌اکسیداسیون و ضدباکتریایی نظیر گالیک اسید، بنزوئیک اسید، کلروژنیک اسید، وانیلیک اسید، کافیک اسید، سیرینجیک اسید، فرولیک اسید، رزماریک اسید، لوتئولین، آپی ژنین و کارواکرول در عصاره گشنیز این گیاه را متمایز می‌کند. وجود کلی فرم‌ها، اشرفیا کلی و استافیلوکوکوس

اورئوس در فیله تازه بسیار نادر و کم‌تر گزارش شده است. این گروه از باکتری‌ها از طریق فرایندهایی نظیر عمل‌آوری و حمل‌ونقل به ماهی منتقل می‌شوند و در حقیقت جزء آلودگی‌های ثانویه هستند. افراد درگیر در فرایند عمل‌آوری می‌توانند این باکتری‌ها را به محصول انتقال دهند؛ برای مثال، اشرفیا کلی ممکن است از طریق آلودگی مدفوعی دست افراد به ماهی منتقل شود. برای تشخیص این باکتری از آزمایش فینگر تست استفاده می‌شود. افرادی که در واحدهای فرآوری فعالیت می‌کنند، باید به‌طور مرتب این تست را انجام دهند تا از نظر نبود این باکتری اطمینان حاصل شود. درباره استافیلوکوکوس اورئوس باید یادآوری کرد که این باکتری در قسمت جلوی بینی ۶۰ درصد از افراد وجود دارد و به راحتی بعد از سرفه یا عطسه قابل انتقال است؛ بنابراین، باکتری‌های مذکور جزء آلودگی‌های ثانویه محسوب می‌شوند (۳۰). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد عصاره گیاه گشنیز ویژگی‌های آنتی‌اکسیدان و ضد میکروبی دارد. آزمایشات آنتی‌اکسیدانی که در قالب سه تست DPPH، FRAP و ABTS روی عصاره گیاه گشنیز انجام شده، نشان‌دهنده زیاد بودن خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره است که قابل مقایسه با آنتی‌اکسیدان مصنوعی است. در آزمایشات MIC و MBC که روی ۴ باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشرفیا کلی و سالمونلا تیفی موریوم انجام شد، مشخص گردید عصاره این گیاه در غلظت‌های استفاده شده قادر به مهار رشد ۳ باکتری اول بوده، ولی بر سالمونلا تأثیر مهارکننده نداشته است. بعد از تهیه تیمارهای مختلف از ماهی شیر در قالب تیمار شاهد، گلیزینگ و گلیزینگ با ۳ غلظت از عصاره گیاه گشنیز و نگهداری در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ماه مشخص شد مقادیر فاکتور ظرفیت نگهداری آب، تیمارهای گلیزینگ به همراه عصاره به‌طور معنی‌داری بهتر از تیمار شاهد بوده و درصد WHC افزایش داشته است. هرچند دمای انجماد باعث کند کردن واکنش‌های شیمیایی و میکروبی می‌شود، هنگام استفاده از فرایند گلیزینگ و متعاقب آن نیز عصاره‌های گیاهی، روند تغییرات محدودتر می‌شود و ماهی پس از ۶ ماه نگهداری کیفیت خود را کماکان حفظ می‌کند.

تشکر قدردانی

نویسندگان از تمام کسانی که در این تحقیق یاری کرده‌اند، نهایت تقدیر و تشکر را دارند.

منابع مالی: در این مطالعه از هیچ منبع مالی استفاده نشده است.

تعارض منافع: نویسندگان هرگونه تعارض منافع را رد می‌کنند.

منابع

1. Huss, H., 1995. FAO Fisheries technical paper 348. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome 1995. Quality and quality changes in fresh fish.
2. Jasour, M.S., Ehsani, A., Mehryar, L. and Naghibi, S.S., 2015. Chitosan coating incorporated with the lactoperoxidase system: an active edible coating for fish

20. **Vanden Berghe, D., 1991.** Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Methods in plant biochemistry*. 47-69.
21. **Lopez, M., Martinez, S., Gonzalez, J., Martin, R. and Bernardo, A., 1998.** Sensitization of thermally injured spores of *Bacillus stearothermophilus* to sodium benzoate and potassium sorbate. *Letters in applied microbiology*. 27(6): 331-335.
22. **Da Silva, N., Taniwaki, M.H., Junqueira, V.C., Silveira, N., do Nascimento, M.D.S. and Gomes, R.A.R., 2012.** Microbiological examination methods of food and water: a laboratory manual: CRC Press.
23. **Moosavi-Nasab, M., Shad, E., Ziaee, E., Yousefabad, S.H.A., Golmakani, M.T. and Azizinia, M., 2016.** Biodegradable chitosan coating incorporated with black pepper essential oil for shelf life extension of common carp (*Cyprinus carpio*) during refrigerated storage. *Journal of Food Protection*. 79(6): 986-993.
24. **Zang, J., Xu, Y., Xia, W. and Jiang, Q., 2017.** The impact of desmin on texture and water-holding capacity of ice-stored grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fillet. *International Journal of Food Science & Technology*. 52(2): 464-471.
25. **Lin, C.C. and Lin, C.S., 2005.** Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. *Food control*. 16(2): 169-175.
26. **Gonçalves, A.A. and Junior, C.S.G.G., 2009.** The effect of glaze uptake on storage quality of frozen shrimp. *Journal of food engineering*. 90(2): 285-290.
27. **Soares, N.M., Mendes, T.S. and Vicente, A.A., 2013.** Effect of chitosan-based solutions applied as edible coatings and water glazing on frozen salmon preservation- A pilot-scale study. *Journal of Food Engineering*. 119(2): 316-323.
28. **Bogh-Sorensen, L., 2006.** Recommendations for the processing and handling of frozen foods: International Institute of Refrigeration;
29. **Temelli, S., Dokuzlu, C. and Şen, M.K.C., 2006.** Determination of microbiological contamination sources during frozen snail meat processing stages.
30. **Liston, J., 1980.** Microbiology in fishery science. *Advances in fish science and technology: papers presented at the Jubilee conference of the Torry Research Station, Aberdeen, Scotland, 23-27 July 1979*, edited by Connell, J.J. and staff of Torry Research Station; 1980: Farnham, Surrey, England, Fishing News Books,
31. **Özogul, Y., Özyurt, G., Özogul, F., Kuley, E. and Polat, A., 2005.** Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical & microbiological methods. *Food chemistry*. 92(4): 745-751.
32. **Panoff, J.M., Thamnavongs, B., Guéguen, M. and Boutibonnes, P., 1998.** Cold stress responses in mesophilic bacteria. *Cryobiology*. 36(2): 75-83.
33. **Pavlov, A., 2007.** Changes in the meat from aquaculture species during storage at low temperature and attempts for differentiation between thawed-frozen and fresh chilled meat. A review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 10(2): 67-75.
34. **Suvanich, V., Jahncke, M. and Marshall, D., 2000.** Changes in selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. *Journal of food science*. 65(1): 24-29.
35. **Olgunoglu, I.A., 2010.** Effects of Blast-Freezing and Glazing on Microbiological Changes of Skinless and Skinned Tench (*Tinca tinca* L. 1758) Fillets During Frozen Storage. *Pakistan Journal of Zoology*. 42(4).
36. **Fadiloglu, E.E. and Çoban, M.Z., 2019.** The effect of glazing with sumac (*Rhus coriaria*, L.) extract on the quality of frozen rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *Ecological Life Sciences*. 14(4): 129-138.
3. **Jayedi, A. and Shab-Bidar, S., 2020.** Fish consumption and the risk of chronic disease: an umbrella review of meta-analyses of prospective cohort studies. *Advances in Nutrition*. 11(5): 1123-1133.
4. **Li, N., Wu, X., Zhuang, W., Xia, L., Chen, Y. and Wu, C., 2020.** Fish consumption and multiple health outcomes: Umbrella review. *Trends in Food Science & Technology*. 99: 273-283.
5. **Rahimah, S., Fadhila, A., Lembong, E., Sukri, N. and Cahyanto, T., 2020.** Characteristics of spanish mackerel (*Scomberomorus commerson*) bone gelatin for ice cream stabilizer. *Indonesian Journal of Halal research*. 2(1): 1-7.
6. **Norouzi, M. and Zahedipour, M., 2016.** Genetic diversity and differentiation of lionfish (*Scomberomorus commerson*) in the northern coasts of the Persian Gulf and the Sea of Oman using molecular microsatellite methods. *Journal of animal environment*. 8(2):105-112. (In Persian)
7. **Williams, G.P., Babu, S., Ravikumar, S., Kathiresan, K., Prathap, S.A. and Chinnapparaj, S., 2007.** Antimicrobial activity of tissue and associated bacteria from benthic sea anemone *Stichodactyla haddoni* against microbial pathogens. *Journal of environmental biology*. 28(4): 789-793.
8. **Huss, H.H., 1995.** Quality and quality changes in fresh fish: FAO Rome.
9. **Jasbi, S., Khajeh Rahimi, A.A. and Nikkhah, M., 2020.** Evaluation of ozone application on increasing the shelf life of rainbow trout fillets at 4°C. *Quarterly Journal of Animal Environment*. 12(3): 421-434. (In Persian)
10. **Messaoudi, S., Kergourlay, G., Dalgallarrondo, M., Choiset, Y., Ferchichi, M. and Prevost, H., 2012.** Purification and characterization of a new bacteriocin active against *Campylobacter* produced by *Lactobacillus salivarius* SMXD51. *Food microbiology*. 32(1): 129-134.
11. **Manso, T., Teixeira, L. and Correia, P.M.R., 2013.** Frozen fish: Control of glazing operation. *International Journal of Nutrition and Food Engineering*. 7(7): 600-604.
12. **Mesarčová, L., Marcinčák, S., Nagy, J., Popelka, P., Bača, M. and Jevinová, P., 2013.** Effect of glaze and selected herbal extracts on lipid oxidation and sensory properties of frozen Atlantic herrings (*Clupea harengus* L.). *Acta Alimentaria*. 42(2): 236-244.
13. **Solval, K.M., Rodezno, L.A.E., Moncada, M., Bankston, J.D. and Sathivel, S., 2014.** Evaluation of chitosan nanoparticles as a glazing material for cryogenically frozen shrimp. *LWT-Food Science and Technology*. 57(1): 172-180.
14. **Taheri, A., Anvar, S., Ahari, H. and Fogliano, V., 2013.** Comparison the functional properties of protein hydrolysates from poultry by-products and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) viscera. *Iranian journal of fisheries sciences*. 12(1): 154-169.
15. **Cavonius, L.R. and Undeland, I., 2017.** Glazing herring (*Clupea harengus*) fillets with herring muscle press juice: Effect on lipid oxidation development during frozen storage. *International Journal of Food Science & Technology*. 52(5): 1229-1237.
16. **Li, T., Hu, W., Li, J., Zhang, X., Zhu, J. and Li, X., 2012.** Coating effects of tea polyphenol and rosemary extract combined with chitosan on the storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Food Control*. 25(1): 101-106.
17. **Silva, F. and Domingues, F.C., 2017.** Antimicrobial activity of coriander oil and its effectiveness as food preservative. *Critical reviews in food science and nutrition*. 57(1): 35-47.
18. **Soares, B.V., Morais, S.M., dos Santos Fontenelle, R.O., Queiroz, V.A., Vila-Nova, N.S. and Pereira, C., 2012.** Antifungal activity, toxicity and chemical composition of the essential oil of *Coriandrum sativum* L. fruits. *Molecules*. 17(7): 8439-8448.
19. **Sindambiwe, J., Calomme, M., Cos, P., Totte, J., Pieters, L. and Vlietinck, A., 1999.** Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities. *J of Ethnopharmacology*. 65(1): 71-77.