نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 2، خرداد-تیر 1398 ص. 394-381

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 2, June. July. 2019, p. 381- 394

تاثیر کنستانتره آب نارنج و پوشش خوراکی کیتوزان غنی شده با اسانس فلفل سیاه بر بهبود خواص آنتی‌اکسیدانی و حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

فهیمه توریان[1*] - مریم عزیزخانی[2]

تاریخ دریافت: 1397/02/29
تاریخ پذیرش: 1398/01/17

چکیده

تمایل به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی و جایگزین کردن آنها به‌جای نگهدارنده‌های شیمیایی سبب گردیده است مطالعات مختلفی در مورد ترکیبات طبیعی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و میکروبی مانند اسانس‌ها صورت پذیرد. در پژوهش حاضر اثرات کنسانتره آب نارنج و پوشش کیتوزان حاوی اسانس فلفل سیاه بر فساد شیمیایی فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان نگهداری شده در یخچال مورد سنجش قرار گرفت. نمونه‌ها به 8 گروه تقسیم شدند و در دوره زمانی 12 روزه شاخص‌های pH، بازهای نیتروژنی فرار، تیوباربیتوریک اسید، میزان پراکسید، اسیدهای چرب آزاد و ارزیابی حسی مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین نمونه‌ها از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH (دی فنیل پیکریل هیدرازیل) و RP (قدرت احیاکنندگی) ارزیابی گردیدند. با بررسی نتایج مشخص گردید که نمونه شاهد نسبت به سایر تیمارها به‌صورت معناداری افزایش روند شاخص‌های اکسایشی و حسی را نشان داد و در نمونه‌های پوشش داده شده نیز نمونه ماهی دارای کیتوزان، کنسانتره آب نارنج و اسانس فلفل سیاه کمترین میزان شاخص‌ها را نسبت به بقیه به‌خود اختصاص داد. از نظر مهار رادیکال DPPH، کنسانتره آب نارنج با بریکس1/39 و درصد مهار 66/9% و اسانس فلفل2% با درصد مهار 64/1% توانایی بیشتری داشته‌اند. در بررسی فساد اکسایشی و ارزیابی حسی در تمامی آزمون‌ها نمونه کیتوزان به همراه اسانس فلفل و کنسانتره آب نارنج با کسب امتیاز 7/2 از پانل ارزیابی حسی بهتر از سایر تیمارها ارزیابی شد. نتایج حاصله نشان‌دهنده تاثیر مثبت کنسانتره آب نارنج و پوشش کیتوزان دارای اسانس فلفل سیاه در مدت زمان نگهداری بر کیفیت فیله ماهی قزل آلای رنگین‌کمان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ارزیابی حسی، فلفل سیاه، کیتوزان، ماهی قزل‌آلا، نارنج

مقدمه

ماهی و محصولات دریایی منبع پروتئینی عالی برای رژیم غذایی انسان محسوب می‌شوند. علاوه بر این، این فرآورده غذایی دارای میزان بالایی از ویتامین‌های محلول در آب و محلول در چربی، مواد معدنی و اسیدهای چرب غیراشباع امگا 3 می‌باشد (Sallam, 2007). علی‌رغم ارزش غذایی بالایی که ماهی دارد از غذاهای بسیار فسادپذیر می‌باشند که نسبت به گوشت قرمز و مرغ سریع‌تر دچار فساد می‌شود. همچنین در زمان نگهداری ماهی در یخچال تغییراتی نامطلوب شامل اکسیداسیون لیپیدها و رشد میکروبی صورت گرفته که سبب افت کیفیت محصول می‌گردد. از این‌رو استفاده از ترکیباتی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی در جهت بهبود کیفیت و افزایش زمان نگهداری ماهی ضرورت دارد (Sallam *et al.*, 2007; Mexis *et al.*, 2009). گرچه نگهدارنده‌های مصنوعی برای جلوگیری از رشد باکتریایی و حفظ کیفیت مطلوب مورد استفاده قرار می‌گیرند به دلیل اثرات سرطان‌زایی این ترکیبات و تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی، در سال‌های اخیر مطالعات متعددی در مورد به‌کارگیری مواد طبیعی به‌منظور حفظ کیفیت و ماندگاری مواد غذایی انجام گرفته است (Sathivel, 2005). گیاه نارنج (*Citrus aurantium* L.) بومی جنوب غربی آسیا است و دارای میوه‌ای گرد و اسیدی است. 85% میوه نارنج را آب تشکیل داده است، آب نارنج در مرکز و جنوب غرب ایران و کشورهای نواحی خلیج فارس به‌عنوان یک افزودنی اصلی در برخی مواد غذایی به‌شمار می‌رود، آب نارنج را با تغلیظ سازی به روش حرارتی به کنسانتره با بریکس‌های مختلف 20%، 30%، 40% و 50% تولید می‌کنند، با توجه به استعداد بالقوه ایران به‌منظور کشت مرکبات و شرایط اقلیمی مناسب، مناطق مرکبات خیز ایران مانند مازندران و گیلان، آب میوه نارنج را به روش سنتی با استفاده از حرارت بالا ویسکوزیته می‌کنند و به‌عنوان افزودنی در مواد غذایی خود استفاده می‌کنند که کنسانتره آن دارای اسیدیته بالایی می‌باشد (Amiri and Niakousari, 2008). اسانس‌های گیاهی از گذشته‌های دور به‌عنوان مواد طعم‌دهنده مورد استفاده قرار

1 و 2- استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران.
(* - نویسنده مسئول: Email: f.tooryan@ausmt.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v15i2.71775

می‌گرفتند امروزه نشان داده شده که این مواد دارای فعالیت‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Hosseini *et al.*, 2009). فلفل سیاه گیاهی است علفی و دارای ساقه بی‌کرک که از تیره پیپراسه[1] است. برخی از ترکیبات استخراج شده از آن عبارتند از ترپینر[2]، بتاپینن[3]، آلفاپینن[4]، لینالئول[5] و ترپینئول[6] می‌باشد که دارای خواص ضدانقباضی، ضدعفونی‌کننده، آنتی‌باکتریایی، آنتی‌اکسیدانی، تب‌بر، مسهل و نظایر آن است (Newall *et al.*, 1996). این ترکیبات دارای عوامل ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی زمانی که به پوشش‌های خوراکی اضافه می‌شوند به‌صورت تدریجی در سطح مواد غذایی آزاد می‌شوند و در نتیجه در مدت زمان بیشتری در مواد غذایی باقی می‌مانند. اضافه کردن اسانس‌ها به فیلم و پوشش خوراکی نه تنها سبب افزایش خواص ضدمیکروبی پوشش‌ها می‌شوند بلکه استفاده از پوشش‌های خوراکی برای حفاظت از مواد غذایی به دلیل مزیت‌های آنها نسبت به مواد سنتتیک اخیرا افزایش قابل توجهی داشته است (Hafsa *et al.*, 2016). ماهیت این پوشش‌ها، پروتئینی، لیپیدی و پلی‌ساکاریدی می‌باشد. از جمله این ترکیبات کیتوزان می‌باشد که دارای ویژگی‌های عملکردی همچون خصوصیات ضدمیکروبی، تشکیل فیلم‌ها و پوشش‌های محافظ بافتی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. (Quintavalla and Vicini, 2002).

با توجه به مطالب فوق، هدف از این پژوهش ارزیابی اثر کنسانتره آب نارنج و پوشش کیتوزانی غنی شده با اسانس فلفل سیاه در افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ماهیان قزل‌آلای مورد استفاده در این مطالعه، از یک استخر پرورش ماهی در شهرستان آمل خریداری گردید و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردید و پس از سرزنی و تخلیه شکمی، فیله تهیه گردید.

اسانس فلفل سیاه تجاری از شرکت اکسیر گل سرخ خریداری گردید. آب نارنج نیز از بازار محلی آمل خریداری گردید و کنسانتره آب نارنج از آن تهیه شد. DPPH[7] از شرکت سیگما آلدریچ آلمان و سایر مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این آزمایش از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

جداسازی و شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده

برای شناسایی ترکیب‌های اسانس از دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگراف متصل شده به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد .پس از تزریق اسانس به دستگاه‌های فوق با استفاده از اندیس بازداری (RI) طیف جرمی و مقایسه این مؤلفه‌ها با ترکیب‌های استاندارد و یا با اطلاعات موجود در کتابخانه و نرم‌افزار SATURN ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس مورد بررسی کمی و کیفی قرار گرفت (Azizkhani *et al.*, 2012).

آماده‌سازی پوشش و تهیه تیمارها

برای تهیه پوشش از پودر کیتوزان تجاری استفاده گردید. محلول پوششی کیتوزان از انحلال پودر کیتوزان 2% در محلول اسید استیک 1% حجمی همراه با هم زدن تهیه گردید و گلیسرول نیز به‌عنوان پلاستی‌سایزر و توئین 80 به‌عنوان امولسیفایر به محلول اضافه گردید (Yingyuad *et al.*, 2006). در نهایت اسانس و کنسانتره به‌عنوان آنتی‌اکسیدان به سوسپانسیون پوشش اضافه گردید. فیله‌های ماهی را به مدت 2 دقیقه در محلول آماده شده غوطه‌ور کرده و سپس از محلول خارج نموده آب‌چکانی و خشک کرده و سپس نمونه‌ها در بسته‌های پلاستیکی زیپ پک بسته‌بندی گردید. نمونه‌ها به مدت 12 روز در یخچال نگهداری شدند و در روزهای صفر، 4، 8 و 12 آزمون‌های شیمیایی و حسی بر روی نمونه‌ها انجام گرفت. 6 گروه تیمار برای بسته‌بندی با استفاده از پوشش‌ها شامل نمونه با پوشش کیتوزان، نمونه با اسانس فلفل سیاه 2%، نمونه با پوشش کیتوزان و اسانس فلفل سیاه 2%، نمونه با کنسانتره آب نارنج (بریکس 1/39)، نمونه با کنسانتره (بریکس 1/39) آب نارنج و پوشش کیتوزان، نمونه با کنسانتره آب نارنج (بریکس 1/39)+ پوشش کیتوزان+ اسانس فلفل سیاه 2% می‌باشد نمونه شاهد (فیله ماهی قزل آلا بدون پوشش به‌عنوان شاهد منفی) و نمونه BHT[8] (به‌عنوان کنترل مثبت، BHT به میزان 2 میلی‌گرم در میلی‌لیتر اتانول حل گردید.) در مجموع در این مطالعه 8 تیمار مورد ارزیابی قرار گرفتند.

تعیین خواص آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

معرف مورد استفاده در این روش 2و 2-دی فنیل-1-پیکریل هیدرازیل یا (DPPH) می باشد.به این صورت که، به 500 میکرولیتر از غلظت های مختلف اسانس محلول 0/004 درصد 2و2-دی فنیل-1-پیکریل هیدرازیل یا (DPPH) در متانول اضافه گردید.سپس بعد از 30 دقیقه نگهداری در یک مکان تاریک در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج 517 نانومتر خوانده شد.

1 Piperaceae
2 Terpinene
3 β- pinene
4 a- pinene
5 Linaleol
6 Terpineol
7 2,2-diphenyl picrylhydrazyl
8 Butylated hydroxyl toluene

بازدارندگی رادیکال‌های آزاد از رابطه ذیل محاسبه شد (Akowuah *et al*., 2005).

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد} = (A_c - A_s)/ A_c \times 100 \quad (1)$$

A_s: میزان جذب نوری کنترل و A_c: قدرت جذب نوری غلظت‌های مختلف اسانس می‌باشد. در این تست از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

تعیین خواص آنتی‌اکسیدانی به روش RP[1]

تست ارزیابی قدرت احیاکنندگی به روش Huang و همکاران (2011) انجام شد و جذب نوری نمونه‌ها در طول موج 700 نانومتر در اسپکتروفتومتر، قرائت شد شد.

اندازه‌گیری pH گوشت

بدین منظور 5 گرم از نمونه گوشت ماهی با 10 میلی‌لیتر آب مقطر با هموژنیزاتور هموژن گردید و در نهایت pH نمونه با کمک دستگاه pHمتر که در pH چهار و هفت استاندارد شده بود اندازه‌گیری شد (Sallam, 2007).

سنجش مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVN)[2]

برای انجام این تست، مقدار 10 گرم نمونه هموژن شده به همراه 2 گرم اکسید منیزیم به‌عنوان کاتالیزور و 300 میلی‌لیتر آب مقطر در داخل بالن کلدال قرار داده شد. بخارات تقطیر شده وارد محلول 3% اسید بوریک حاوی چند قطره معرف متیل رد شده و در پایان توسط اسید سولفوریک 5% تیتر شد. مقدار بازهای ازته فرار بر اساس مقدار اسید سولفوریک مصرف شده محاسبه گردید و به‌صورت میلی‌گرم نیتروژن در 100 گرم فیله ماهی بیان می‌شود (Jeon *et al*., 2002).

اندازه‌گیری شاخص TBA [3]

10 گرم از نمونه‌ها در 1 میلی لیتر از BHT 0/1% و 20 میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید 5% به‌طور کامل هموژن و از کاغذ صافی واتمن شماره 42 عبور داده شد و مجددا با تری کلرواستیک اسید به حجم 50 میلی‌لیتر رسانده شد. 5 میلی‌لیتر از مایع فیلتر شده به همراه 5 میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید 0/02 مولار با هم مخلوط و به مدت 1 ساعت در بن ماری ^{o}C 100 قرار داده شد و پس از خنک شدن میزان جذب نوری آن‌ها در طول موج 532 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Wrolstad *et al*., 2005).

تعیین میزان پراکسید (PV)[4]

ابتدا برای استخراج چربی 150 گرم فیله ماهی قزل‌آلا را با 250 میلی‌لیتر کلروفرم با دستگاه هموژنیزاتور هموژن گردید و با استفاده از یک صافی فیلتر گردید و در آون ^{o}C 105 برای به‌دست آوردن نمونه چربی قرار داده شد (Pearson, 1976). نمونه چربی به‌دست آمده برای آزمون‌های PV و FFA استفاده گردید.

برای تعیین میزان پراکسید ابتدا 0/3 گرم نمونه چربی با مخلوط کلروفرم- متانول (نسبت 7 به 3) در یک لوله آزمایش مخلوط گردید. سپس 0/05 میلی‌لیتر از آمونیوم تیوسیانات (10 میلی‌مولار)و کلرید آهن II به نمونه اضافه شد. سپس مخلوط به‌دست آمده به مدت 5 دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و جذب نوری در 500 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری قرائت شد. پس از رسم منحنی استاندارد، با استفاده از فرمول زیر پراکسید به‌عنوان میلی‌اکی والان پراکسید در کیلوگرم چربی محاسبه گردید.

$$\text{Peroxide Value} = (A_s - A_b) \times m / 5.84 \times mo \times 2 \quad (2)$$

که در آن A_s: جذب نمونه، A_b: جذب بلانک، m: شیب منحنی کالیبراسیون، mo: وزن نمونه بر حسب گرم و 55/84 وزن اتمی آهن است (Shantha and Decker, 1994).

سنجش اسیدهای چرب آزاد (FFA)[5]

بدین منظور چربی استخراج شده از فیله ماهی قزل آلا در حلال (مخلوط مساوی حجمی از اتانول96% خنثی شده و اتیل اتر) حل گردید. سپس چند قطره فنل فتالئین 1% به‌عنوان شناساگر رنگی به آن اضافه گردید سپس محلول با سود 0/1 نرمال تیتر گردید. تا زمانی که رنگ صورتی ظاهر گردید، تیتراسیون ادامه یافت. مقدار اسید چرب آزاد از طریق رابطه زیر محاسبه گردید.

$$FFA = V \times 28.2 \times 100/ W \times 1000 \quad (3)$$

در فرمول فوق، V حجم هیدروکسید سدیم مصرفی و W وزن نمونه چربی مصرف شده است (Pearson, 1976) .

ارزیابی حسی

برای ارزیابی حسی از پانل 9 نفری آموزش دیده که تیمارها را بر اساس رنگ، بو و مقبولیت کلی مورد بررسی قرار دادند. جهت نمره‌دهی از یک مقیاس صفر تا 10 استفاده شد به‌نحوی که 10 بیشترین امتیاز و صفر کمترین امتیاز را داشت و محصول با امتیاز

1 Reducing power
2 total volatile nitrogen
3 Thiobarbituric acid
4 Peroxide value
5 Free fatty acid

کمتر از 6 به‌عنوان محصول غیرقابل پذیرش تعریف گردید (Goulas and Kontominas, 2005).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آنالیز آماری نمونه‌ها با نرم‌افزار SPSS V.20 انجام شد. قبل از آزمون آنالیز واریانس، ابتدا شرط نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف– اسمیرنوف (Kolmogorov- Smirnov) و همگنی واریانس داده‌ها به‌وسیله آزمون لون (Levene) تست شد. مقایسه میانگین نمونه‌ها با استفاده از تست چنددامنه‌ای دانکن انجام گردید و مقادیر ($p<0/05$) سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

بررسی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس

بر اساس نتایج حاصل از آنالیز اسانس فلفل سیاه جدول 1 با دستگاه کروموتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی (GC/MS)، 21 ترکیب شناسایی گردید که در مجموع 97/75 درصد از کل اسانس را تشکیل داد. بر اساس داده‌های آماری، ترکیبات عمده تشکیل‌دهنده اسانس شامل، بتا-کاریوفیلین (25/56%)، لیمونن (15/19%)، سابینن (12/2%)، آلفا- کوپائن (8/5%)، بتا- بیسابولن (7/81%) گزارش گردید.

جدول 1- ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس فلفل سیاه با استفاده از GC/MS

ردیف	ترکیبات	درصد	RI
1	تری سیکلن	1/1	930
2	آلفا-پینن	6/5	941
3	کامفن	0/29	953
4	سابینن	12/2	975
5	بتا-پینن	5/68	980
6	میرسن	0/96	993
7	آلفا-فلاندرن	2/1	1007
8	آلفا-ترپینن	0/6	1020
9	لیمونن	15/19	1031
10	ترنس بتا اوسیمن	0/09	1052
11	گاما- ترپینن	0/81	1064
12	لینالول	0/45	1099
13	ترپینن-4 ال	2/3	1177
14	گاما- المن	0/67	1342
15	آلفا-کوپاان	8/5	1365
16	بتا-کاریوفیلن	25/56	1420
17	آلفا-هومولن	1/7	1458
18	بتا- سیلینن	0/89	1488
19	آلفا-مورولن	0/9	1500
20	بتا-بی سابولن	7/81	1511
21	گاما-کادینن	3/45	1527
	جمع	97/75	

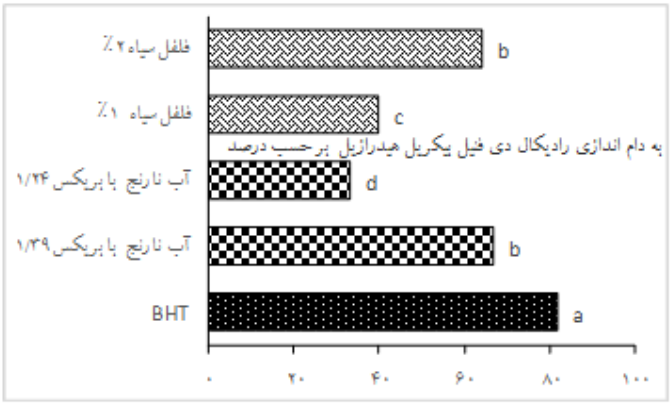
Jeena و همکاران(2014)، 29 ترکیب برای اسانس فلفل سیاه گزارش کردند که عمده‌ترین ترکیبات اسانس عبارت بود از: کاریوفیلن، لیمونن، آلفاترپینن، گاماترپینن، کاریوفیلن اکسید، نفتالن، کوپاان و المن (Jeena *et al.*, 2014). در مطالعه‌ای که Aziz و همکاران (2017) بر روی اسانس 2 نوع فلفل سیاه هند و بنگلادش انجام دادند به‌ترتیب 14 و 18 ترکیب شناسایی گردید که ترکیبات اساسی اسانس فلفل سیاه بنگلادشی شامل کاریوفیلن، آلفا پینن، D- لیمونن، بتاپینن و برای اسانس فلفل سیاه هندی 3-کارن،

D- لیمونن، بتاپینن، کاریوفیلن و آلفاپینن اعلام گردید (Aziz *et al*., 2017). این تفاوت در نوع و میزان ترکیبات اسانس نشان‌دهنده تفاوت‌های جغرافیایی و شرایط زیست محیطی می باشد (Aziz *et al*., 2017) که در مطالعات انجام شده کاریوفیلن ترکیبات اسانس فلفل سیاه می‌باشد که در مطالعه حاضر نیز در آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس این ترکیب بیشترین درصد را به‌خود اختصاص داده است.

بررسی فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد با آزمون DPPH

توانایی مهار رادیکال‌های آزاد، توسط آزمایش DPPH ارزیابی گردید. با توجه به نتایج شکل 1، توانایی مهار رادیکال آزاد از بیشترین تا کمترین قدرت مهارکنندگی به‌ترتیب مربوط به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (81/9%)، آب نارنج با بریکس 1/39 (66/9%)، اسانس فلفل سیاه2% (64/1%)، اسانس فلفل سیاه 1% (39/8%) و آب نارنج با بریکس 1/24 (33/1%) گزارش شد. همانطور که نتایج گویاست با افزایش غلظت اسانس و بریکس، قدرت مهار رادیکال افزایش یافت به‌گونه‌ای که با افزایش غلظت و بریکس، درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد تقریبا دو برابر شد .در این تست درصد مهارکنندگی رادیکال توسط BHT به‌عنوان کنترل مثبت، 81/9% بود و کنسانتره آب نارنج و اسانس فلفل در این تست نسبت به BHT ضعیف‌تر عمل کردند. اگرچه اثر آنتی‌اکسیدانی کنسانتره آب نارنج با بریکس 1/39 بیشتر از اسانس فلفل سیاه 2% گزارش شد ولی این اختلاف معنی‌دار نبود ($p<0/05$) ولی نسبت به اسانس 1% و کنسانتره آب نارنج و با بریکس 1/24، به‌صورت معنی‌داری مهارکنندگی بیشتری را نشان داد ($p<0/05$).

در مطالعه Jeena و همکاران(2014) اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس فلفل سیاه را مورد مطالعه قرار دادند و گزارش کردند که با افزایش غلظت اسانس، اثر مهار رادیکال DPPH نیز افزایش یافته بود (Jeena *et al*., 2014) که مطالعه آن‌ها با نتایج ما مطابقت داشت.



شکل 1- فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد با آزمون DPPH

بررسی قدرت احیاکنندگی(RP)

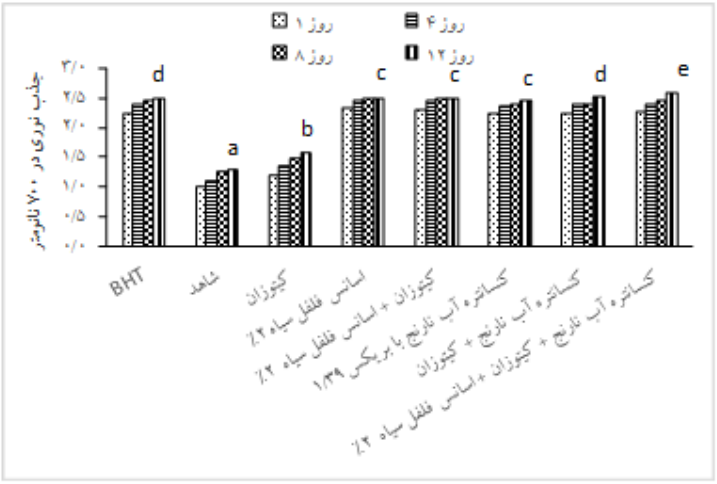
در این روش فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس توانایی احیا شدن یون فریک به یون فروس سنجیده می‌شود. در این تست (شکل2) در مقایسه بین گروه‌ها در روز 12ام، پوشش کیتوزان حاوی کنسانتره آب نارنج با بریکس 1/39 و اسانس فلفل سیاه 2% دارای بیشترین جذب نوری بود (2/58) که میزان جذب آن از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (2/4) نیز به‌طور معناداری بیشتر اعلام شد ($p<0/05$). کمترین میزان جذب نوری در نمونه شاهد (1/28) مشاهده شد. ترکیباتی که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند می‌توانند احیای آهن را افزایش دهند (Pourreza, 2013). بنابراین بالا بودن میزان جذب نوری نشان‌دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای نمونه می‌باشد. میزان جذب نوری پوشش کیتوزان حاوی اسانس فلفل سیاه 2% در مقایسه با BHT، در این تست تقریبا برابر بود که این نشان‌دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای اسانس فلفل سیاه 2% به همراه پوشش کیتوزان می‌باشد.

بررسی تغییرات pH

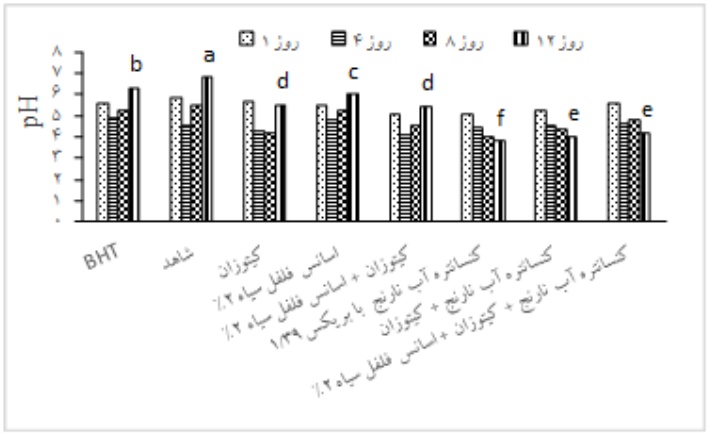
افزایش میزان pH درطی دوره نگهداری مربوط به تولید و تجمع ترکیبات آلی مانند آمونیاک، تری‌متیل آمین‌ها و همچنین دیگر آمین‌های بیولوژیک است که توسط فعالیت میکروبی باکتری‌های عامل فساد ماهی و آنزیم‌های خود ماهی تولید می‌شوند (Mexis *et al*., 2009; Özyurt *et al*., 2009). میزان pH در مدت زمان نگهداری افزایش کمی داشته و در ابتدای دوره، کاهش pH می‌تواند به علت افزایش CO_2 اتمسفر و تجزیه اسید کربنیک باشد

(Gimenez *et al.*, 2002). بیشترین میزان pH در پایان دوره نگهداری برای گروه شاهد (6/8) و کمترین آن به‌ترتیب تیمار کنسانتره آب نارنج به تنهایی (3/8) و کنسانتره آب نارنج و کیتوزان (4) و کنسانتره آب نارنج و کیتوزان با اسانس فلفل سیاه 2% (4/2) بود (شکل 3) که اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشت (p<0/05).

پایین بودن میزان pH در گروه‌های تیمار شده را می‌توان با خاصیت ضدباکتریایی کیتوزان، اسانس فلفل سیاه و کنسانتره نارنج مرتبط دانست چرا که افزایش میزان pH با گذشت زمان را می‌توان به تولید ترکیباتی مانند آمونیاک و تری‌متیل آمین ناشی از فعالیت باکتری‌ها نسبت داد (Kostaki *et al.*, 2009).



شکل2- اثرات قدرت احیاکنندگی تیمارهای مختلف در فیله ماهی قزل‌آلا در دمای یخچال (c° 1 ±4)

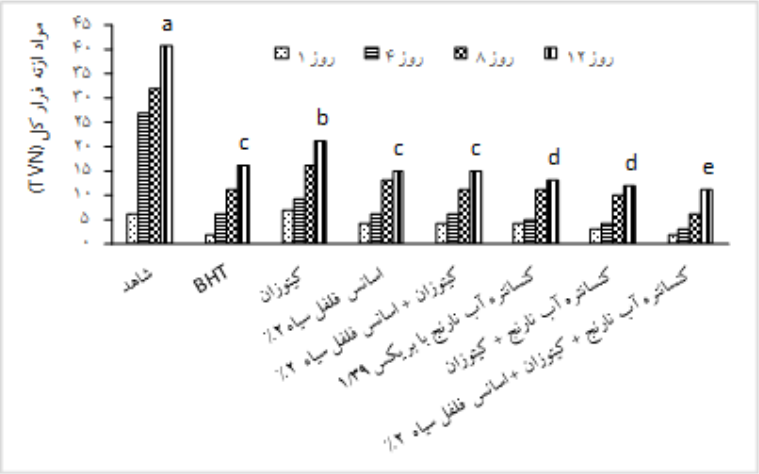


شکل 3- تغییرات میزان pH در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلا نگهداری شده در دمای یخچال (c° 1 ±4)

بررسی تغییرات TVN

TVN به‌عنوان یک شاخص کیفیت به‌طور گسترده برای ارزیابی کیفیت ماهی استفاده می‌شود. افزایش آن مربوط به فعالیت‌های باکتری‌های عامل فساد و آنزیم‌های درونی می‌باشد. کاتابولیسم باکتریایی اسیدهای آمینه عضله ماهی منجر به تجمع آمونیاک، مونو، دی و تری متیل آمین، و دیگر بازهای فرار که مشخصه انتقال طعم ماهی است، می‌گردد (Duan *et al.*, 2010; Özogul *et al.*, 2013). در این مطالعه میزان بازهای نیتروژنی فرار از روز یک تا پایان دوره نگهداری در روز دوازدهم یک روند افزایشی را نشان داده است (شکل 4). با توجه به نتایج این تحقیق، تفاوت معناداری در میزان TVN گروه شاهد با سایر تیمارها مشاهده شد (p<0/05). به‌گونه‌ای که در روز پایانی بیشترین میزان این شاخص مربوط به گروه شاهد (41) بر اساس میلی‌گرم در 100 گرم و کمترین میزان در گروه فیله ماهی پوشش داده شده با کیتوزان حاوی کنسانتره آب نارنج و اسانس

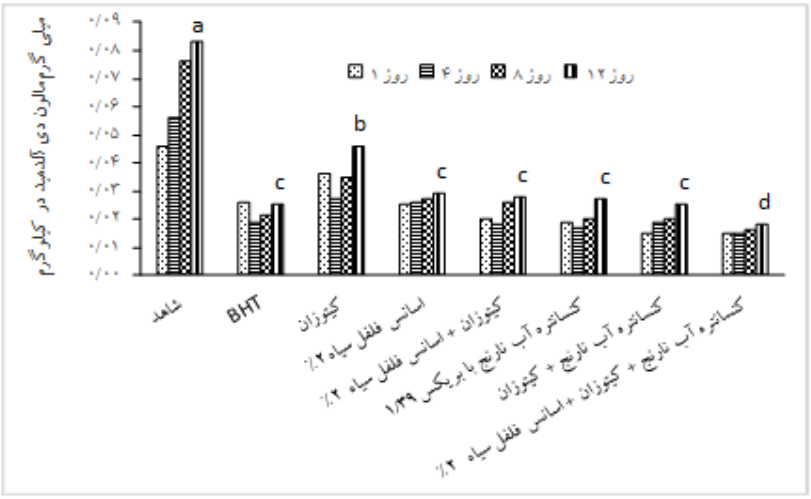
فلفل سیاه قابل (11) بر اساس میلی‌گرم در 100 گرم مشاهده بود که این نتایج با مطالعات دیگر محققان در این زمینه همخوانی دارد (Goulas and Kontominas, 2007; Frangos *et al.*, 2010). مقدار قابل قبول TVN 25 میلی‌گرم در 100 گرم نمونه گزارش گردیده است (Kilincceker *et al.*, 2009). در مطالعه حاضر به‌جز گروه شاهد هیچ کدام از تیمارها تا روز 12 از حد مجاز تعیین شده فراتر نرفتند. این میزان برای گروه شاهد در روز 4 از محدوده مجاز بیشتر شد و در روز12 به 41 میلی‌گرم در 100 گرم رسید. همان‌طور که عنوان گردید TVN به دنبال کاتابولیسم باکتریایی گوشت ماهی ایجاد می‌گردد بنابراین، افزایش میزان بار باکتریایی را می‌توان دلیل افزایش این شاخص در طول دوره نگهداری دانست (Fan *et al.*, 2008). که شمارش میکروبی بالا در تیمار شاهد دلیلی بر میزان بالای TVN در این تیمار گزارش شد. نتایج مطالعه اجاق و همکاران (2010) نشان می‌دهد که پوشش کیتوزان حاوی اسانس دارچین در ماهی قزل‌آلا توانست به‌طور معنی‌داری میزان TVN را در انتهای مدت زمان نگهداری کاهش دهد (Ojagh *et al.*, 2010) که با مطالعه ما همخوانی داشت.



شکل 4- تغییرات میزان TVN در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلا نگهداری شده در دمای یخچال (1◦c ±4)

بررسی تغییرات تیوباربیتوریک اسید(TBA)

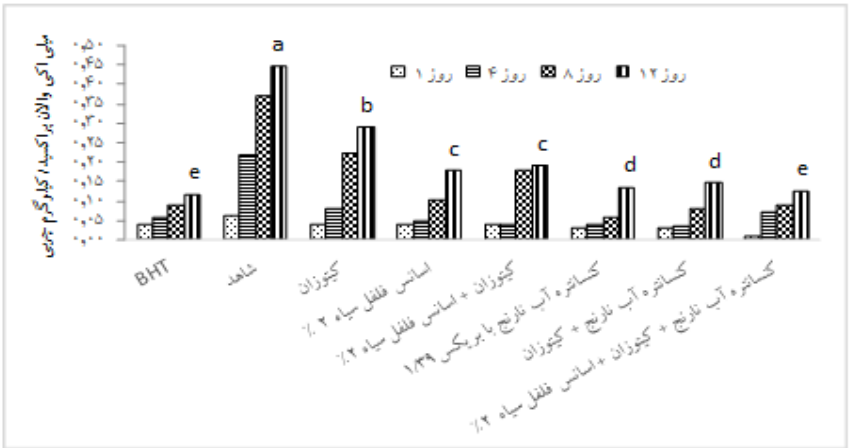
تیوباربیتوریک اسید به‌عنوان شاخص نشان‌دهنده میزان مالون آلدهید که محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد، استفاده می‌شود. روند افزایش این شاخص در طول مدت نگهداری ممکن است مربوط به دهیدراتاسیون جزئی ماهی و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع باشد. همچنین افزایش میزان هیدروپراکسیدها می‌تواند منجر به افزایش آلدهیدها شود که از شکست هیدروپراکسایدها ایجاد می شوند (de Azevedo Gomes *et al.*, 2003; Kilincceker *et al.*, 2009). روند افزایشی شاخص TBA در طول دوره نگهداری روند منظمی نبوده و در برخی از روزهای نگهداری کاهش در میزان تیوبابیتوریک اسید مشاهده می‌شود که این کاهش می‌تواند به دلیل کاهش میزان هیدروپراکسید و واکنش میان مالون آلدهید با ترکیباتی چون پروتئین‌ها و اسیدآمینه فیله ماهی باشد که میزان مالون آلدهید و به دنبال آن میزان تیوبابیتوریک اسید کاهش می‌یابد (de Azevedo Gomes *et al.*, 2003). میزان مجاز برای گوشت ماهی از نظر شاخص TBA حدود 1-2 میلی‌گرم مالون آلدهید در هر کیلوگرم عنوان شده است (Lakshmanan, 2000) که در این تحقیق هیچ کدام از گروه‌ها در طول دوره نگهداری به این محدوده نرسیدند (شکل 5). در مدت زمان نگهداری همواره شاهد تفاوت معنی‌دار TBA بین گروه شاهد و سایر نمونه‌های تیمارشده بودیم ($p<0/05$). همچنین میزان TBA در گروه فیله ماهی با پوشش کیتوزان حاوی کنسانتره آب نارنج و اسانس فلفل سیاه 2% (0/01) بر اساس میلی‌گرم مالون آلدهید در هر کیلوگرم ببسیار کمتر از سایر گروه‌ها گزارش شد و تفاوت معنی‌داری نیز میان گروه مذکور با سایر گروه‌های تیمار شده وجود داشت ($p<0/05$) که این موضوع می‌تواند در ارتباط با خاصیت آنتی‌اکسیدانی پوشش کیتوزان و کنسانتره آب نارنج و اسانس فلفل سیاه و اثر هم‌افزایی این عوامل دانست. این نتایج با دیگر گزارشات موجود در این زمینه مطابقت دارد (Chamanara *et al.*, 2012; Gao *et al.*, 2014).



شکل 5- تغییرات میزان TBA در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلا نگهداری شده در دمای یخچال (1◦c ±4)

بررسی تغییرات PV

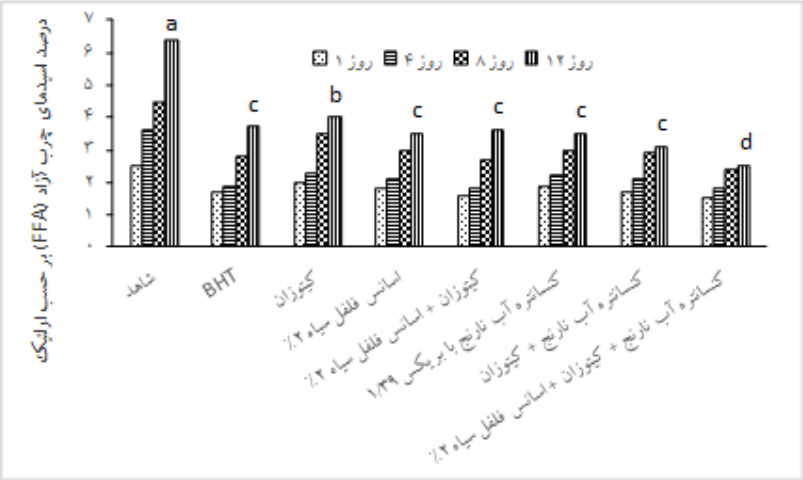
یک مشکل اصلی در غذاهای دریایی خصوصا غذاهایی با میزان چربی بالا، اکسیداسیون چربی می‌باشد. در مرحله اول اکسیداسیون، تشکیل پراکسیدها به دلیل اتصال اکسیژن به پیوند دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع صورت می‌گیرد. هیدروپراکسید، محصول اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب چند غیراشباعی است به همین دلیل به‌منظور ارزیابی اکسیداسیون اولیه محصولات از شاخص پراکسید استفاده می‌شود (Lin and Lin, 2005). میزان اولیه پراکسید در محدوده 0/01 تا 0/06 میلی‌اکی والان پراکسید در یک کیلوگرم چربی بود که با نتایج نوذری و همکاران (2013) همخوانی دارد. نتایج نشان می‌دهد (شکل 6) که PV در همه نمونه‌ها به‌صورت صعودی افزایش یافته است و بیشترین میزان این شاخص در روز 12 می‌باشد که مربوط به گروه شاهد (0/4) میلی‌اکی والان پراکسید در یک کیلوگرم چربی بود و کمترین میزان این شاخص برای نمونه ماهی پوشش داده شده با کیتوزان حاوی اسانس فلفل سیاه 2% و تیمارشده با کنسانتره آب نارنج (0/12) میلی‌اکی والان پراکسید در یک کیلوگرم چربی بود. در مطالعه Gao و همکاران (2014) تیمار ماهی پوشش داده شده با اسانس رزماری و نیسین توانست میزان پراکسید را نسبت به گروه شاهد به‌صورت معنی‌داری کاهش دهد. اجاق و همکاران (2010) نیز گزارش کردند که پوشش کیتوزان و کیتوزان حاوی اسانس دارچین در کاهش تولید پراکسید در فیله ماهی قزل‌آلا موثر بوده است که نتایج به‌دست آمده با تحقیق محققان همخوانی داشت.



شکل 6- تغییرات میزان PV در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلا نگهداری شده در دمای یخچال (1◦c ±4)

بررسی تغییرات FFA

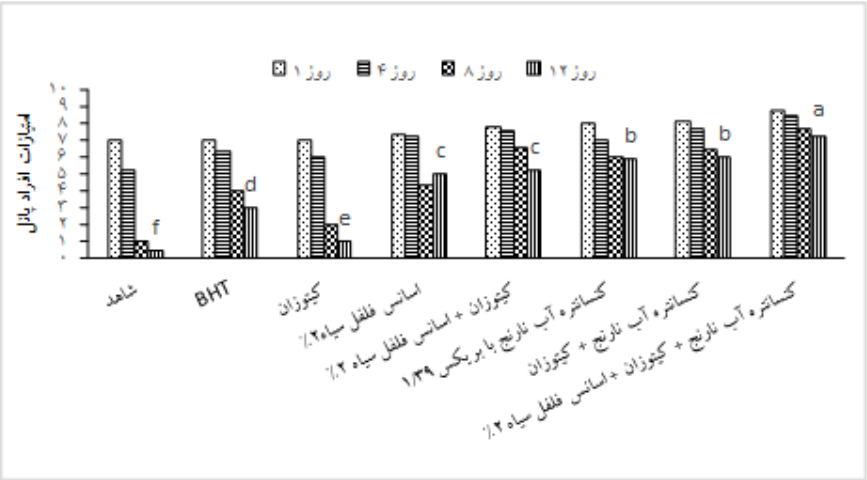
اگرچه تشکیل FFA به تنهایی منجر به افت کیفیت تغذیه‌ای محصول نمی‌گردد اما تجزیه چربی‌ها سبب تولید اسید چرب آزاد در طول ذخیره‌سازی می‌شود که این اسیدهای چرب آزاد بر اثر تغییرات به ترکیباتی که عامل بو و طعم نامطلوب در ماهی هستند تبدیل می‌شوند به همین دلیل ارزیابی این فاکتور در بررسی فساد ماهی حائز اهمیت می‌باشد (Lugasi *et al.*, 2007; Rostamzad *et al.*, 2010). همانند دیگر شاخص‌های شیمیایی مورد بررسی، میزان اسیدهای چرب آزاد در انتهای دوره نگهداری (شکل7) در گروه شاهد از سایر گروه‌ها بیشتر بوده به‌گونه‌ای که در روز 12 نگهداری، این میزان به 6/4 رسید که این تفاوت با سایر گروه‌ها معنی‌دار بود ($p<0/05$). میزان اولیه FFA از محدوده 1/5 تا 2/5 می‌باشد که با نتایج مطالعات دیگر در مورد میزان اولیه FFA گوشت ماهی قزلآآلای رنگین کمان تقریبا برابر می‌باشد (Rezaei *et al.*, 2008). روند افزایش تدریجی FFA در همه گروه‌ها مشاهده شد که این امر به دلیل هیدرولیز فسفولیپیدها و تری‌گلیسریدها توسط لیپازها و فسفولیپازها می‌باشد (Nowzari *et al.*, 2013). میزان تشکیل اسیدهای چرب آزاد در گروه‌های تیمار شده کمتر از گروه شاهد بود و گروه ترکیبی دارای پوشش کیتوزان حاوی کنسانتره آب نارنج و اسانس فلفل سیاه 2% با 2/5 درصد میزان اسیدچرب آزاد باعث ممانعت بیشتر از تشکیل اسیدهای چرب آزاد گردید.



شکل 6- تغییرات میزان FFA در تیمارهای مختلف ماهی قزلآلا نگهداری شده در دمای یخچال (1±4°c)

ارزیابی حسی

متداول‌ترین روش بررسی تازگی ماهی، ارزیابی حسی بوده که روشی ساده برای دستیابی به اطلاعاتی در مورد کیفیت محصول می‌باشد. امتیاز، سه پارامتر مورد بررسی در ارزیابی حسی یعنی رنگ، بو، بافت ماهی طی دوره نگهداری به تدریج کاهش یافت (Sallam, 2007). امتیاز 6 به‌عنوان کمترین امتیاز قابل قبول از نظر مصرف در نظر گرفته شد و گروه‌هایی که دارای امتیاز کمتر از این بودند قابلیت پذیرش ندشتند. در روز 1، نمونه‌ها از نظر رنگ، بو، بافت و مقبولیت کلی امتیاز بالایی داشتند. در روز 4 گروه شاهد با میزان امتیاز 0/5 غیرقابل مصرف تشخیص داده شد در صورتی که نمونه پوشش داده شده با کیتوزان حاوی اسانس فلفل سیاه و کنسانتره نارنج با میزان امتیاز 7/2 تا پایان دوره نگهداری قابل قبول بودند به‌گونه‌ای که این گروه به‌طور معناداری دارای قابلیت پذیرش بالاتری از نظر رنگ، بو، بافت یا به‌عبارتی مقبولیت کلی بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشتند ($p<0/05$). این نتایج، تائیدی بر نتایج TVN بود. نمونه پوشش داده شده با کیتوزان و تیمار شده با کنسانتره آب نارنج با میزان امتیاز 6 و نمونه حاوی کنسانتره آب نارنج با میزان امتیاز 5/9 به‌ترتیب نسبت به نمونه پوشش داده شده با کیتوزان حاوی اسانس فلفل سیاه با میزان امتیاز 5/2 و همچنین نسبت به نمونه حاوی اسانس فلفل سیاه با میزان امتیاز 5 دارای پذیرش بالاتری بودند اما اختلاف میان آنها معنادار نبوده است ($p<0/05$). به‌جز گروه پوشش کیتوزان که با کنسانتره آب نارنج تیمار شده بود تا روز پایانی دارای مقبولیت کلی بود ولی سه گروه دیگر ذکر شده در روز 8 تا 12 از محدوده مورد نظر خارج گردیدند. نمونه BHT نیز در روز 8 تا 12 از نظر مقبولیت غیرقابل قبول گردید. نتایج این مطالعه با نتایج دیگر محققان همخوانی داشت (Ojagh, Rezaei *et al.* 2010).



شکل7- تغییرات میزان ارزیابی حسی در تیمارهای مختلف ماهی قزل‌آلا نگهداری شده در دمای یخچال (1±4°c)

نتیجه‌گیری

از این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که استفاده از پوشش سبب افزایش مدت زمان ماندگاری و حفاظت مواد غذایی در برابر عوامل بیرونی می‌شود لذا استفاده از پوشش به‌همراه ترکیباتی مثل اسانس فلفل سیاه 2% و کنسانتره آب نارنج که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده با مهار رادیکالی 66/9% و همچنین با دارا بودن خواص ضدمیکروبی علیه انواع عوامل فساد و کاهش شاخص‌های TVN به حدود 11میلی‌گرم در 100 گرم، سبب افزایش عمر نگهداری فیله ماهی در حین نگهداری در دمای یخچالی می‌شود. بنابراین می‌توان به‌منظور پژوهش‌های با ارزش‌تر، پیشنهاد می‌شود از این ترکیبات علاوه بر طعم‌دار کردن محصول، جهت بهبود طول عمر نگهداری استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

این طرح تحقیقاتی با استفاده از اعتبارات ویژه پژوهشی (گرنت شماره 8/383/پ) دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل انجام شده است، بدینوسیله از حمایت‌های مالی مدیر محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه تخصصی فناوری نوین آمل صمیمانه قدردانی می‌شود.

منابع

Akowuah, G., Ismail, Z., Norhayati, I.& Sadikun, A, 2005, The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of Orthosiphon stamineus and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food chemistry*, 93, 311-317.

Amiri, S.& Niakousari, M, 2008, Shelf life of unpasteurized sour orange juice in Iran. *Fruits*, 63, 11-18.

Aziz, S., Naher, S., Abukawsar, M.& Roy, S.K, 2017, Comparative studies on physicochemical properties and GC-MS analysis of Essential Oil of the two varieties of the Black Pepper (*Piper nigrum Linn*.). *International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research*, 2, 67-70.

Chamanara, V., Shabanpour, B., Gorgin, S.& Khomeiri, M, 2012, An investigation on characteristics of rainbow trout coated using chitosan assisted with thyme essential oil. *International journal of biological macromolecules*, 50, 540-544.

De Azevedo Gomes, H., da Silva, E.N., do Nascimento, M.R.L.& 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.

Duan, J., Jiang, Y., Cherian, G.& Zhao, Y, 2010, Effect of combined chitosan-krill oil coating and modified atmosphere packaging on the storability of cold-stored lingcod (*Ophiodon elongates)* fillets. *Food Chemistry*, 122, 1035-1042.

Fan, W., Chi, Y.& 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.

Frangos, L., Pyrgotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A.& Savvaidis, I, 2010, Combined effects of salting, oregano oil and vacuum-packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets. *Food microbiology*, 27, 115-121.

Gao, M., Feng, L., Jiang, T., Zhu, J., Fu, L., Yuan, D.& Li, J, 2014,The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano (*Trachinotus ovatus*) fillet during chilled storage. *Food Control*, 37, 1-8.

Gimenez, B., Roncales, P.& Beltran, J.A, 2002, Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 1154-1159.

Goulas, A.E.& Kontominas, M.G, 2005, Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food chemistry*, 93, 511-520.

Goulas, A.E.& 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.

Hafsa, J., ali Smach, M., Khedher, M.R.B., Charfeddine, B., Limem, K., Majdoub, H.& Rouatbi, S, 2016, Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing Eucalyptus globulus essential oil. *Journal Food Scince Technol*, 68, 356-364.

Hosseini, M., Razavi, S.& Mousavi, M, 2009, Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33, 727-743.

Huang, B., He, J., Ban, X., Zeng, H., Yao, X.& Wang, Y, 2011, Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome knot and leaf. *Meat scince*, 87, 46-53.

Jeena, K., Liju, V.B., Umadevi, N.& Kuttan, R,2014, Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive properties of black pepper essential oil (*Piper nigrum Linn*). *Journal of Essential oil Bearing Plants*, 17, 1-12.

Jeon, Y.-J., Kamil, J.Y.& Shahidi, F, 2002, Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5167-5178.

Kilincceker, O., Dogan, I.S.& Kucukoner, E, 2009, Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets. *LWT-Food science and Technology*, 42, 868-873.

Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I.N.& Kontominas, M.G., 2009, Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax)* fillets. *Food microbiology*, 26, 475-482.

Lakshmanan, P., 2000, Fish spoilage and quality assessment.

Lin, C.-C.& Lin, C.-S., 2005, Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. *Food control*, 16, 169-175.

Lugasi, A., Losada, V., Hovari, J., Lebovics, V., Jakoczi, I.& Aubourg, S., 2007, Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 930-936.

Mexis, S., Chouliara, E.& Kontominas, M., 2009, Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 C. *Food microbiol*, 26, 598-605.

Newall, C.A., Anderson, L.A.& Phillipson, J.D., 1996, Herbal medicines. A guide for health-care professionals. The pharmaceutical press.

Nowzari, F., Shábanpour, B.& Ojagh, S.M., 2013, Comparison of chitosan–gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chemistry*, 141, 1667-1672.

Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H.& 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.

Özogul, F., Kus, B.& Kuley, E., 2013, The impact of strawflower and mistletoe extract on quality properties of rainbow trout fillets. *Internatinal Journal Food Science*, 48, 2228-2238.

Özyurt, G., Kuley, E., Özkütük, S.& Özogul, F., 2009, Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food chemistry*, 114, 505-510.

Pearson, D., 1976, The chemical analysis of foods. Longman Group Ltd.

Pourreza, N., 2013, Phenolic compounds as potential antioxidant. *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products*, 8, 149-150.

Quintavalla, S.& Vicini, L., 2002, Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat science*, 62, 373-380.

Rezaei, M., Hosseini, S.F., Langrudi, H.E., Safari, R.& Hosseini, S.V., 2008, Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *Food chemistry*, 106, 1161-1165.

Rostamzad, H., Shabanpour, B., Kashaninejad, M.& Shabani, A., 2010, Inhibitory impacts of natural antioxidants (ascorbic and citric acid) and vacuum packaging on lipid oxidation in frozen Persian sturgeon fillets. *Iranian Journal of Fisheries Sc*ience, 9, 279-292.

Sallam, K.I., 2007, Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control*, 18, 566-575.

Sallam, K.I., Ahmed, A., Elgazzar, M.& Eldaly, E., 2007, Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (Cololabis saira) during vacuum-packaged storage at 4 C. *Food Chemistry*, 102, 1061-1070.

Sathivel, S., 2005, Chitosan and protein coatings affect yield, moisture loss, and lipid oxidation of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. *Journal of food science*, 70.

Shantha, N.C.& Decker, E.A., 1994, Rapid, Sensitive, Iron-Based Spectrophotometric Methods for Determination of Perorlride Values of Food Lipids.

Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, E.A., Penner, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Smith, D.M.& Sporns, P., 2005, Handbook of Food Analytical Chemistry, Volume 1: Water, Proteins, Enzymes, Lipids, and Carbohydrates. John Wiley & Sons.

Yingyuad, S., Ruamsin, S., Reekprkhon, D., Douglas, S., Pongamphai, S.& Siripatrawan, U., 2006, Effect of chitosan coating and vacuum packaging on the quality of refrigerated grilled pork. *Packaging technology and science*, 19, 149-157.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 2, June. July. 2019, p. 381- 394

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 2، خرداد - تیر 1398 ص. 394-381

Effect of orange juice concentrate and chitosan coating enriched with black pepper (*Piper nigrum*) essential oil on improvement of antioxidant and sensory properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet

F. Tooryan[1*], M. Azizkhani[2]

Received: 2018.05.19
Accepted: 2019.04.06

Introduction: Nowadays, consumers are applicant to usage of natural replacements causing to side effects of synthetic preservatives such as carcinogenicity and teratogenicity. The tendency to use natural preservatives and replacing them with chemical preservatives has led to various studies of natural compounds with antioxidant properties such as essential oils. Considering the environmental problems raised from current plastic packaging, edible and biodegradable coating could be developed and also be effective in controlling the chemical and microbial properties of food; especially if their effect be strengthened by adding natural antioxidant and antimicrobial agents like herbal essential oils. Various herbal compounds such as black pepper essential oils with antioxidant properties can be effective in combining with natural biodegradable coatings such as chitosan in oxidation control and enhance the effects or prevent or delay the chemical spoil. Safety and shelf-life of foods can be improved by using this technologies such as using natural preservatives. Adding essential oil, as a suitable source of antioxidant, for improvement the quality of the fish is the main purpose. Many fruits, especially orange, are rich in polyphenols. These materials are the most commonly existing phytochemicals in most fruits. Orange juice concentrate can be a good source of antioxidant and can be employed as a preservative in food products. Omega-3 fatty acid is used in daily healthy diet and plays an important role in prevention of disease. Being a considerably main source of Omega-3 fatty acid groups, fish preservation against oil oxidation and any other similar causatives seems quite necessary. In the present study, the effects of orange juice concentrate and chitosan coating enriched with black pepper essential oil on the chemical degradation of rainbow trout fillet stored in a refrigerator investigated.

Materials and methods: The chemical composition of black pepper essential oils were determined using a gas chromatography equipped with mass spectroscopy (GC/MS). GC-MS analysis of the essential oil was performed using Agilent-Technologies 6890N Network gas chromatographic (GC) system, equipped with Agilent Technologies 5975 inert XL Mass selective detector and Agilent-Technologies 7683 B series auto injector (Agilent-Technologies, Little Falls, CA, USA). Samples were stored at 4 ± 1 C° up to 12 days and evaluated periodically (on days 0, 4, 8 and 12) for chemical and sensory characteristics. The samples were divided into 8 groups and assessed for PH-values, total volatile nitrogen (TVN), thiobarbituric acid (TBA), peroxide value (PV), free fatty acids (FFA) and sensory evaluation .The samples were also evaluated for antioxidant activity by measuring their scavenging abilities to DPPH radical (2,2 diphenyl-1-picril hydrazyl) and RP (Reducing power). Statistical analysis was performed using SPSS 20 software.

Results & Discussion: Results showed that More than 21 compounds were identified in oil, representing 97.75% of the total oil. The major constituents of essential oils obtained from the black pepper were β-caryophyllene (25.56%), Limonene (15.19%), Sabinene(12.2) , α-copaene(8.5) and beta –bisabolene (7.81) respectively. Results revealed that in comparison to the other treatments the control showed a significant increase in the trend of oxidative and sensory indexes and In the coated samples, the sample of fish coated with orange juice concentrate ,chitosan, and black pepper essential oil was the least amount of indexes than the rest ($p<0/05$) and showed lower indexes during the storage time .The radical scavenging DPPH, orange juice concentrate with a Brix 1/39 (66/9 %)and pepper essential oil 2% (64/1%) have more ability and had a greater antioxidant activity. In investigating corruption oxidation and sensory evaluation in all samples,chitosan coating with pepper essential oil and orange juice concentrate was higher(score:7/2) than other treatments and there were significant differences between treatment and control ($p<0/05$). Final peroxide value (meq O2/Kg oil) and tiobarbituric acid (m gr/kg oil MD) number using chitosan coating with pepper essential oil and orange juice concentrate in sample was 0.14 and 0.015, respectively. This significant deference was also observed when

Asistant professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.
(*Corresponding Author Email: f.tooryan@ausmt.ac.ir)

comparing to control sample ($p<0.05$)Minimum oxidative changes were observed in samples treated with orange juice concentrate,chitosan, and black pepper essential oil and had the best conditions in reduction of oxidative rancidity. The results obtained in this study showed that the chitosan coating enriched with black pepper essential oil with orange juice concentrate has a good potential to being employed as an active packaging to preserve food products. Overall, this study demonstrated that using concentrated juice incorporated with chitosan coating with pepper essential oil has a good effect on the quality of rainbow trout fillets and can keep on the sensorial attributes acceptably during 12 days storage time and present a good potential for their application in the food industry.

Key words: orange, black pepper, chitosan, *Oncorhynchus mykiss*, sensory properties