



Available online: <https://ijhe.tums.ac.ir>

مقاله پژوهشی

## بررسی اثر اسانس پونه به فرم‌های نانو و آزاد بر نگهداری ماهی کپور نقره‌ای چرخ کرده در طول دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

ندا پوریوسف<sup>۱</sup>، محمد احمدی<sup>۱\*</sup>، نبی شریعتی فر<sup>۲</sup>، سارا جعفریان<sup>۱</sup>، سید احمد شهیدی<sup>۳</sup>

- ۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سوادکوه، سوادکوه، مازندران، ایران
- ۲- گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۳- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت الله آملی، آمل، مازندران، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله:

**زمینه و هدف:** امروزه، استفاده از روش‌های کاهش دهنده فساد اکسیداتیو و میکروبی در محصولات دریایی از نظر بهداشتی دارای اهمیت است. هدف مطالعه تعیین اثر فرم آزاد و نانولیپوزوم اسانس پونه (*Mentha pulegium L.*) جهت افزایش زمان ماندگاری و بهبود ویژگی‌های حسی ماهی چرخ کرده کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) در طی دوره نگهداری در یخچال است.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۴  
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۱  
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۳  
تاریخ انتشار: ۱۴۰۰/۱۲/۲۱

**روش بررسی:** در این مطالعه خواص باکتریال فرم آزاد و نانولیپوزوم اسانس ۱ و ۲ درصد پونه روی گوشت ماهی چرخ شده کپور نقره‌ای تلقیح شده با باسیلوس سرئوس و اشریشیاکلی سنجدیه شد. همچنین آزمون‌های شیمیایی (سنجش ۲، ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، اندازه‌گیری پراکسید (PV)، اندازه‌گیری pH، اندازه‌گیری نیتروژن فرار کل (TVB-N) و تیوباربیتوریک اسید (TBARS)) و خواص حسی گوشت ماهی چرخ شده کپور نقره‌ای در طی نگهداری در دمای یخچال مورد ارزیابی قرار گرفت.

**واژگان کلیدی:** اسانس، پونه، ماهی کپور نقره‌ای، نانولیپوزوم، کیفیت ماهی

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد افزودن اسانس پونه (فرم‌های آزاد و نانولیپوزوم) با توجه به نتایج میکروبی و نیز نتایج آزمایشات شیمیایی می‌تواند به طور موثری از رشد میکروبی و فساد شیمیایی جلوگیری نماید ( $p < 0.05$ ). تیمار حاوی نانواسانس پونه ۲ درصد در مقایسه با تیمارهای کنترل، نانواسانس پونه شده ۱ و اسانس‌های آزاد ۱ و ۲ درصد بیشترین تاثیر را بر روی ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و حسی ماهی چرخ شده، در طی دوره نگهداری دارد. **نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان از فرم نانواسانس پونه ۲ درصد به عنوان یک افزودنی مناسب برای افزایش ماندگاری ماهی کپور چرخ کرده در صنعت غذایی ماهی استفاده نمود.

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:

drahmady@gmail.com

Please cite this article as: Pouryousef N, Ahmady M, Shariatfar N, Jafarian S, Shahidi SA. The effects of poneh essential oil (free and nonliposomes forms) on chemical, biological and sensory characteristics of minced silver carp fish at 4 °C. Iranian Journal of Health and Environment. 2022;14(4):563-76.

## مقدمه

مصرف ماهی و سایر غذاهای دریایی طی سال‌های اخیر افزایش یافته است. ماهی و سایر غذاهای دریایی تامین کننده مقادیر مناسبی مواد مغذی هستند. ماهی سرشار از آمینواسیدها، پروتئین‌ها، پیتیدها و سایر مواد بیوشیمیایی مفید است. با این وجود مهمترین عوامل فساد این ماده غذایی، به دلیل پایداری اکسیداتیو کم و تجمع ترکیبات خاص نامطلوب در ماهی، مستعد رشد میکروارگانیسم‌ها و واکنش‌های بیوشیمیایی است. بر مبنای واکنش‌های فوق، ماهی در عرض کمتر از چند روز و در دمای یخچال فاسد می‌شود. استفاده از نگهدارنده‌ها، می‌تواند مدت نگهداری مواد غذایی دریایی را بهبود بخشد (۱-۴).

امروزه با توجه به عوارض جانبی نگهدارنده‌های شیمیایی، تقاضای روزافزون برای استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان و آنتی‌باکتریال طبیعی در صنایع غذایی رو به افزایش است. در میان افزودنی‌های طبیعی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی منابع خوب آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی هستند و پتانسیل بالایی برای کاربرد در حیطه مصرف‌گرایی سبز دارند. اسانس‌ها به دلیل ترکیبات موجود و اثرات شناخته شده ضد باکتریایی که دارند می‌توان از آنها به عنوان نگهدارنده و طعم دهنده در غذا استفاده شوند (۵-۸).

پونه (نام علمی: *Mentha pulegium*) از گیاهان خانواده نعنائیان است. در طول تاریخ از پونه برای معطر کردن چای‌های گیاهی و غذاها استفاده می‌شده است. از چای پونه برای رفع سرماخوردگی، تب، سرفه، سوء هاضمه، مشکلات کلیوی و کبدی و سردرد استفاده می‌شده است. از برگ‌های تازه یا خشک شده پونه نیز برای درمان آنفلوآنزا، اسپاسم‌های شکمی، برای القای تعریق و همچنین در درمان بیماری‌هایی مانند آبله و سل استفاده می‌شود (۹-۱۲).

ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) به دلیل دوره رشد کوتاه، مقاومت خوب در برابر استرس و بیماری‌ها، محتوای پروتئین بالا (۱۵-۱۸ درصد)، اسید چرب بسیار غیر اشباع (HUFA)، اسید چرب چند غیر اشباع (PUFA) و سایر ترکیبات مفید یکی از پرمصرف‌ترین گونه‌های ماهی در جهان است. از آنجایی‌که مصرف این ماهی

در سال‌های اخیر در ایران رو به افزایش است، پرورش آن نیز در اکثر نقاط ایران رو به فزونی گذاشته است (۲، ۱۱، ۱۳، ۱۴). یکی از روش‌های ریزپوشانی استفاده سیستم‌های کلوئیدی و تولید ریز امولسیون‌ها است. ریز امولسیون مخلوط‌هایی با پایداری ترمودینامیکی هستند که از ترکیب موادی مثل آب، روغن و همچنین مواد فعال در سطح که دارای خواص ایزوتروپیک هستند، تشکیل می‌شوند. تکنیک ریز پوشانی ترکیبات روغنی در نانولیپوزوم‌ها نوعی از ریز امولسیون‌های کاربردی در این زمینه محسوب می‌شود. نانولیپوزوم‌ها واکنش اسانس را با فاکتورهای محیطی (آب، اکسیژن و نور) کاهش داده، از تبخیر و انتقال آنها به محیط (هدر رفت) ممانعت کرده و توانایی انتقال یا جابجایی آنها را بالا می‌برند. همچنین این کار زمانی که ماده هدف در مقیاس پایین مورد استفاده قرار می‌گیرد، می‌تواند به توزیع یکنواخت و مناسب آن در محصول نهایی کمک کند و اثربخشی آن را تقویت کند (۱۵-۱۸).

سیستم‌های کلوئیدی‌های و تولید ریز امولسیون‌ها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی برای نگهداری مواد غذایی بسیار مناسب است. از آنجایی‌که مواد در محدوده مقیاس نانو دارای نسبت سطح به حجم بالاتری نسبت به مقیاس میکرو هستند. لذا استفاده از مواد به صورت نانو با اثرات ضد میکروبی می‌تواند در نگهداری مواد غذایی موثر باشد. بنابراین هدف از این تحقیق تعیین اثر آنتی‌اکسیدانی، ضد باکتری و خواص حسی اسانس پونه به فرم آزاد و نانولیپوزوم با درصدهای ۱ و ۲ روی ماندگاری و حفظ کیفیت ماهی کپور نقره‌ای در دمای یخچال انجام گرفته است.

## مواد و روش‌ها

- مواد شیمیایی مورد استفاده

گلیسرول با خلوص ۹۷ درصد، اسید کلریدریک، معرف فولین-سیوکالتیو، نشاسته، متانول، اسید استیک، کلروفرم، کلسترول (۹۵ درصد)، اتانول، سدیم تیوسولفات، استات سدیم و دی کلرومتان خریداری شدند. همچنین نانولیپوزوم فسفولیپید گرانول (L-a-*lecithin*) (با خلوص ۹۹ درصد) تهیه گردید. سایر معرف‌ها و حلال‌ها با درجه خلوص دستگاهی یا بالاتر

BHT (Broth Heart Infusion)، در دمایی  $20^{\circ}\text{C}$  غنی‌سازی و فعال شد. ایزوله در ۱۵ mL BHI در  $150\text{ rpm/min}$  ( $37^{\circ}\text{C}$ ) به مدت ۲۴ h، با ۲ انتقال (متوالی) تلقیح شد. با سانتریفیوژ سه گانه به مدت ۵ min در  $6000\text{ rpm/min}$ ، سلول‌های باکتریایی از BHI جدا شدند. مایع رویی در طی دو بار سانتریفیوژ آخر برداشته شد و سرم فیزیولوژیکی اضافه شد (۲۵).

- تهیه ماهی چرخ کرده

۱۰ kg ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) تازه از استان مازندران ایران (از بازارهای داخلی) خریداری شد. ابتدا کل ماهی را به مدت ۱۵ min در معرض نور UV قرار دادیم تا همه میکروارگانیسم‌های سطحی از بین بروند. سپس در حالت استریل با کمک چاقو و ظروف استریل گوشت ماهی را جدا کردیم. گوشت ماهی (بدون پوست و استخوان ماهی) دو بار (با مخلوط کن استریل) هموژن شد. سپس با باکتری (باسیلوس سرئوس و اشریشیاکلی) مورد نظر تلقیح شدند.

- آماده سازی تیمارها: ماهی چرخ کرده

به نمونه‌های ماهی چرخ کرده دارای اسانس پونه و نانواسانس پونه  $10\ \mu\text{L}$  از نیم مک فارلند تلقیح شده به گونه‌ای که در هر گرم گوشت چرخ کرده ماهی،  $10^4$  سلول باکتری باسیلوس سرئوس و اشریشیاکلی باشد به صورت بسته‌های ۱۰۰ g در داخل کیسه‌های پلی اتیلنی که قبلاً استریل شده‌اند، بسته بندی و سپس کیسه‌ها در دمای یخچال به مدت ۱۲ روز نگهداری و در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ آزمایشات مربوطه بر روی نمونه‌ها انجام شد. در این مطالعه گروه‌ها (تیمارها) به پنج دسته تقسیم شد (گروه کنترل، گروه‌های اسانس ۱ درصد، اسانس ۲ درصد، نانواسانس ۱ درصد و نانواسانس ۲ درصد). تمامی آزمایش‌ها به صورت سه بار تکرار انجام شدند.

- آزمون میکروبی

بررسی اثر ضد میکروبی اسانس پونه به روش انتشار دیسک فعالیت ضد میکروبی اسانس با استفاده از روش دیسک دیفیوژن آگار (کربی-بوئر) بررسی شد. به طور خلاصه بعد از کشت تازه ۲۴ h که میکروارگانیسم‌های آن در فاز فعال خود هستند، سوسپانسیون میکروبی نیم مک فارلند از کشت تازه

خریداری شدند.

- تهیه اسانس

برگ پونه (*Mentha pulegium*) از شهرستان بابلسر جمع آوری و در دانشگاه علوم پزشکی تهران (TUMS) توسط متخصص فرارمکولوژی احراز هویت شد. برگ‌های پونه پس از شستشو با آب بهداشتی شستشو و در سایه در دمای اتاق خشک شدند. سپس برگ‌های خشک گیاه پودر شده و براساس تکنیک پیشنهادی Homayonpour و همکاران در سال ۲۰۱۲ (۵، ۶)، به مدت ۴ h در یک بالن شیشه‌ای یک لیتری برای استخراج اسانس با دستگاه کلونجر تمام شیشه‌ای قرار داده شد. اسانس با تیوسولفات سدیم آگیری شد و تا زمان استفاده در ویال‌های شیشه‌ای مهر و موم شده در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد (۵، ۱۹-۲۱).

- تهیه نانولیپوزوم‌های اسانس پونه

نسبت‌های مولی مختلف لسیتین به کلسترول ( $20:40$ ،  $30:30$ ،  $50:10$  و  $60:0$ ) برای تهیه نانولیپوزوم‌ها براساس تکنیک‌های هیدراتاسیون لایه نازک و فرا صوت استفاده شد. نسبت‌های مختلف لسیتین/کلسترول در دی کلرومتان ( $10\ \text{mL}$ ) و متانول ( $10\ \text{mL}$ ) در یک فلاسک شیشه‌ای  $50\ \text{mL}$  حل شد.  $60\ \text{mg}$  اسانس گیاهی به طور جداگانه در  $10\ \text{mL}$  متانول حل و سپس با مخلوط فوق مخلوط شد. سپس با استفاده از یک اوپراتور چرخشی، حلال‌های مختلف مخلوط حذف شده و در نهایت یک لایه نازک فیلم مانند بر روی دیواره‌های فلاسک ایجاد شد. فیلم به دست آمده با استفاده از  $15\ \text{mL}$  آب مقطر دیونیزه هیدراته شد و مخلوط در  $19000\text{ rpm/min}$  به مدت  $20\ \text{min}$  در دمای  $30^{\circ}\text{C}$  همگن شد. سوسپانسیون با استفاده از دستگاه سونیکاتور مناسب در حمام آب یخ به مدت  $6\ \text{min}$  با سونیکاسیون متناوب یک دوم و یک ثانیه استراحت برای به دست آوردن نانولیپوزوم‌ها، اولتراسوند گردید (۹، ۲۲-۲۴).

- تهیه و نگهداری باکتری‌ها

باسیلوس سرئوس (ATCC ۱۴۵۷۹) و اشریشیاکلی (PTCC ۱۳۳۰) از مرکز ملی منابع ژنتیکی و بیولوژیکی ایران تهیه شد. از کشت ذخایر گلیسرول، سویه در ویال‌های شیشه‌ای حاوی ۲۰ درصد گلیسرول (w/v) در محیط کشت

اضافه می‌شود و رنگ مخلوط به آبی تیره تبدیل می‌شود و سپس تیتراسیون را ظهور رنگ ادامه می‌دهیم. روش اندیس پراکسید با استفاده از معادله ۱ محاسبه شده و بر حسب میلی اکسی والان پراکسید برای هر کیلوگرم نمونه گزارش شد (۶، ۷، ۲۴).

(۱)

حجم تیوسولفات مصرفی  $\times$  نرمالیت  $\times$  ۱۰۰۰ / وزن نمونه = پراکسید  
اندازه گیری  $pH$

برای این منظور مقدار ۱۰ g از هر یک از نمونه‌های ماهی چرخ شده به همراه ۱۰۰ mL آب مقطر در یک بشر ۲۵۰ mL توسط همزن برقی به طور کامل یکنواخت گردید و میزان  $pH$  نمونه‌ها با دستگاه  $pH$  متر دیجیتال اندازه گیری شد (۵، ۲۴).

اندازه گیری ۲- تیوباربیتوریک اسید (TBARS)

میزان اکسیداسیون چربی در نمونه‌ها به وسیله اندازه گیری مقادیر تیوباربیتوریک اسید (TBA) به روش Picol و همکاران انجام گرفت. مقدار ۲۰۰ mg از نمونه در داخل بالن ژوژه ۲۵۰ mL وزن شد و با اضافه کردن ۱- بوتانول به حجم رسانده شد. ۵ mL از این محلول به لوله فالكون خشک درب‌دار انتقال یافت و ۵ mL معرف TBA (که از انحلال ۲۰۰ mg پودر TBA در ۱۰۰ mL حلال ۱- بوتانول و صاف کردن آن به وسیله کاغذ واتمن شماره ۴ بدست آمد) به آن افزوده شد. سپس لوله‌ها در بن ماری با دمای  $95^{\circ}C$  به مدت ۲ h قرار گرفته و بعد از سرد شدن با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۳۲ nm در برابر محلول شاهد میزان جذب (Ab) خوانده شد میزان TBA بر حسب میلی گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم از بافت ماهی بیان می‌شود. در اینجا از BHT به عنوان شاهد مثبت استفاده شد (۵، ۷، ۲۴).

اندازه‌گیری بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

بدین منظور ۱۵ g نمونه بافت ماهی چرخ شده در بالن حاوی ۲ g سولفات منیزیم و ۲۵۰ mL آب مقطر به همراه ۲ تا ۳ قطره اکتانول (به عنوان ضدکف) و تعدادی پرل شیشه‌ای حرارت داده شد. بخارات تقطیر شده داخل ارلن حاوی ۲۵ mL اسید بوریک ۲ درصد و چند قطره معرف متیل رد جمع آوری شده و در پایان توسط اسید سولفوریک ۰/۱ N تیتراژ گردید. مقدار کل ترکیبات نیتروژن فرار به صورت میلی

تهیه شد. دیسک‌های کاغذی ۶ mm درون اسانس با غلظت ۱ و ۲ درصد به مدت ۱ h غوطه‌ور شدند. سپس به کمک پنس استریل دیسک‌های حاوی اسانس درون یک پلیت استریل قرار گرفتند تا در دمای محیط خشک شوند. وزن دیسک‌ها قبل از فرو بردن در محلول یادداشت شد. سپس دیسک‌ها از محلول بیرون آورده و در دمای اتاق خشک و دوباره وزن شدند. میزان جذب اسانس براساس اختلاف وزن و گراویمتری محاسبه شد. در نهایت دیسک‌های تهیه شده با فاصله منظم روی محیط‌های کشت حاوی باکتری باسیلوس سرئوس و اشیریشیاکلی قرار گرفته و به مدت ۲۴ h در دمای  $37^{\circ}C$  انکوبه شدند. دیسک کنترل نیز در نظر گرفته شد. قطر هاله عدم رشد دیسک‌ها به کمک خط کش میلی متری اندازه گیری شدند (۲۵-۲۷).

- آزمون‌های شیمیایی

سنجش ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)

این آزمایش براساس روش Pabast و همکاران انجام شد. به طور کلی، DPPH منبع رادیکال‌های آزاد است و یک ترکیب بنفش است. این ترکیبات به سادگی ساختار گروه‌های فنیل را دارند. اساس این آزمایش، مهار رادیکال‌های DPPH (درصد) با افزودن ترکیبات آنتی اکسیدانی است. ترکیب آنتی اکسیدانی با گرفتن الکترون‌های اکسیدانت رنگ آزمایش را (از بنفش به زرد) تغییر می‌دهد. ابتدا مقدار کمی اسانس گیاهی به محلول DPPH تهیه شده در محلول متانول (۰/۰۴ درصد) اضافه می‌شود و به مدت ۳۰ min در تاریکی نگهداری می‌شود. BHT به عنوان یک کنترل مثبت در آزمایش استفاده شد. در نهایت، جذب حاوی اسانس و کنترل در طول موج ۵۱۷ nm با استفاده از اسپکتروفوتومتری UV خوانده می‌شود (۲۴).

اندازه‌گیری اندیس پراکسید (PV)

جهت اندازه گیری اندیس پراکسید، در حدود ۲ g نمونه ماهی چرخ شده، در یک لوله آزمایش خشک و تمیز وزن شد در ادامه ۳۰ mL از محلول اسید استیک و کلروفرم به آن اضافه شد و سپس ۰/۵ mL یدور پتاسیم اشباع اضافه گردید و به مدت ۱ min به شدت تکان داده شد. سپس ۳۰ mL آب مقطر به آن اضافه می‌شود و پس از اختلاط کامل، مخلوط با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ N تا ظهور رنگ روشن تیتراژ شد. سپس چسب نشاسته

واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) استفاده شد و وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین مقادیر حاصل از هر آزمون در سه تکرار گزارش گردید.

### یافته‌ها

#### - آزمون میکروبی

بررسی اثر ضد میکروبی اسانس پونه به روش انتشار دیسک (قطر هاله عدم رشد) اثرات ضد باکتریایی اسانس پونه (شکل‌های آزاد و نانولیپوزوم)، بر علیه پاتوژن‌های رایج مرتبط با غذا، از جمله باسیلوس سرئوس و اش‌ریشیاکلی در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که نانواسانس تاثیر بیشتری بر تخریب میکروارگانیسم‌ها دارند. محدوده بازداری اسانس و نانواسانس برای دو باکتری مذکور به ترتیب ۳۲-۳۴ و ۱۳/۷-۱۵ mm بود.

گرم نیتروژن در هر ۱۰۰ گرم از نمونه‌های ماهی بیان می‌شود (۲۴، ۲۸، ۲۹).

#### - آزمون ارزیابی حسی

ارزیابی کیفیت حسی نمونه‌های مختلف ماهی با ارزیابی رنگ قرمز، بی رنگ شدن و بوی تیمارها در حرارت  $180^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۰ min و با استفاده از ۸ نفر ارزیاب آموزش دیده به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای صورت گرفت. بدین صورت که هر یک از ارزیاب‌ها به شاخص‌های مورد نظر از ۱ تا ۵ امتیاز دادند که ۵=بسیار بد، ۴=بد، ۳=قابل قبول، ۲=خوب و ۱=بسیار خوب بود (۵، ۶، ۲۴).

#### - تجزیه و تحلیل آماری

طرح آماری مورد استفاده تجزیه کاملاً تصادفی با کمک نرم افزار SPSS21 است. برای ارزیابی حسی از آزمون غیر پارامتریک فریدمن (nonparametric Friedman test) استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده از آزمون تجزیه

جدول ۱- قطر هاله عدم رشد (mm)

نانواسانس یک در صد (mg/mL)	اسانس یک درصد (mg/mL)	باکتری
۳۴	۳۲	باسیلوس سرئوس
۱۵	۱۳/۷	اش‌ریشیاکلی

شد (بیشترین مقدار ۵/۹ cfu/g لگاریتم در روز نهم روی اش‌ریشیاکلی بود). همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، در روز سوم، افزایش جزئی در رشد باکتری در همه تیمارها مشاهده شد که بلافاصله از روز ششم (و پس از آن) شروع به کاهش (به طور قابل توجهی) کردند که بیشترین تاثیر در این زمینه مربوط به نانواسانس ۲ درصد بود.

اثر ضد میکروبی اسانس پونه (آزاد و نانولیپوزوم) بر باسیلوس سرئوس و اش‌ریشیاکلی در نمونه‌های ماهی طبق جدول ۲، تمامی باکتری‌ها در اکثر گروه‌های تیمار شده حاوی اسانس و نانواسانس در طول آزمایش کاهش یافتند ( $p < 0.05$ ) و در گروه کنترل در طول آزمایش افزایش یافت. در طول دوره آزمایش، بالاترین مقادیر در گروه کنترل مشاهده

جدول ۲- اثر ضد میکروبی اسانس پونه (آزاد و نانولیپوزوم) بر باسیلوس سرئوس و اشیریشیاکلی در نمونه‌های ماهی (بر حسب لگاریتم واحد تشکیل کلونی بر گرم)

گروه‌های تیمار	اشیریشیاکلی (cfu/g)					باسیلوس سرئوس (cfu/g)				
	روز					روز				
	صفر	سوم	ششم	نهم	دوازدهم	صفر	سوم	ششم	نهم	دوازدهم
کنترل	۴/۲	۴/۵	۵/۲	۵/۹	۵/۶	۴/۸	۵/۳	۵/۶	۵/۸	۵/۴
اسانس ۱ درصد	۴/۲	۴/۳	۳/۵	۳/۲	۳	۴/۸	۵	۴/۱	۳/۹	۳/۷
اسانس ۲ درصد	۴/۲	۴/۲	۳/۲	۳	۲>	۴/۸	۴/۸	۳/۳	۲>	۲>
نانواسانس ۱ درصد	۴/۲	۴/۳	۳/۵	۳/۲	۳	۴/۸	۵	۲/۹	۲>	۲>
نانواسانس ۲ درصد	۴/۲	۴/۳	۳	۲>	۲>	۴/۸	۴/۹	۲/۷	۲>	۲>

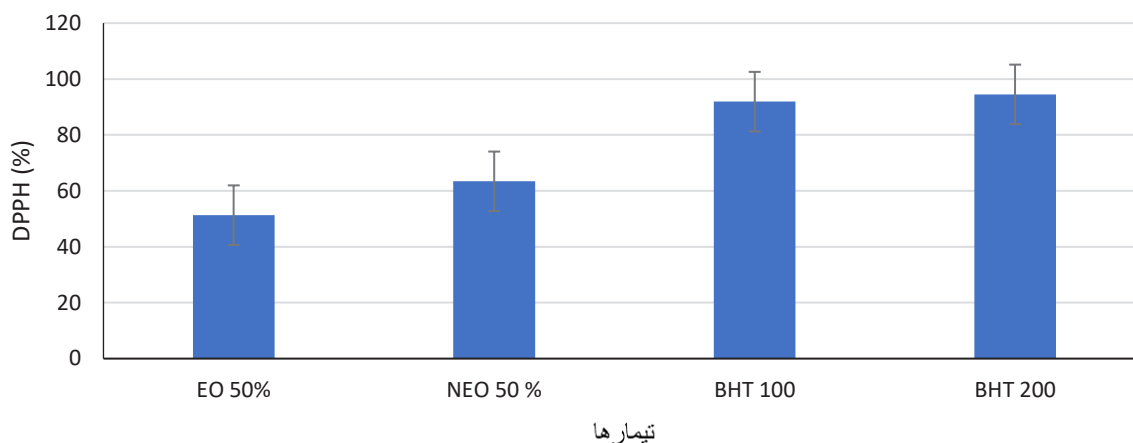
-آزمون‌های شیمیایی

سنجش DPPH

نمودار ۱ نتایج حاصل از سنجش DPPH را در اسانس و نانواسانس پونه نشان می‌دهد. گیاه پونه به دلیل داشتن ترکیبات فنلی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً به دلیل خواص اکسید کننده

ردوکس آنها است، بنابراین به عنوان یک عامل کاهنده، جاذب اکسیژن و اهدا کننده هیدروژن عمل می‌کند (۱۰، ۱۱، ۳۰). بیشترین و کمترین مهار رادیکال DPPH به ترتیب در غلظت ۲۰۰ mg/L هیدروکسی تولوئن (BHT) ۹۴/۵ درصد و در غلظت ۵۰ درصد اسانس (EO) ۵۱/۳ درصد مشاهده شد.

DPPH

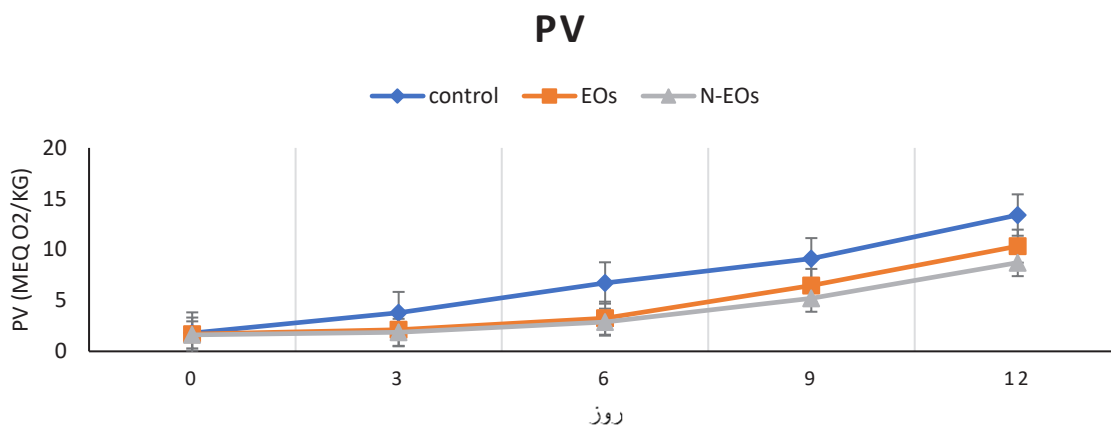


نمودار ۱- درصد مهار رادیکال ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) توسط اسانس پونه، نانواسانس پونه و BHT

طول زمان نگهداری در دمای ۴ °C افزایش یافت. PV به ترتیب ۸/۷۲ و ۱۰/۳۴، ۱۳/۴ meq O<sub>2</sub>/kg اسانس و نانواسانس در روز ۱۲ ثبت شد که به جز نانواسانس سایرین بالاتر از محدوده پذیرش (۱۰ meq O<sub>2</sub>/kg) بود.

اندازه گیری اندیس پراکسید (PV)

نمودار ۲ مقادیر PV گروه کنترل و اسانس (شکل‌های آزاد و نانولیپوزوم‌ها) را نشان می‌دهد. PV بالاتر در گروه کنترل دیده شده است. در تمام گروه‌ها، PV به طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) در



نمودار ۲- اندازه گیری میزان اندیس پراکسید در گروه‌های کنترل، اسانس و نانواسانس

کنترل بود و در بین تیمارها هم بیشترین میزان افزایش pH مربوط به تیمار اسانس ۱ درصد روی رشد باسیلوس سرئوس در روز نهم بود. بیشترین اثر ضد باکتریایی روی هر دو باکتری در روز دوازدهم مربوط به نانواسانس ۲ درصد بوده است.

اندازه گیری pH

با توجه به جدول ۳، نتایج نشان داد که pH در گروه کنترل و سایر گروه‌ها ابتدا افزایش و سپس مجدداً در روز دوازدهم اندکی کاهش یافت که بیشترین افزایش pH مربوط به گروه

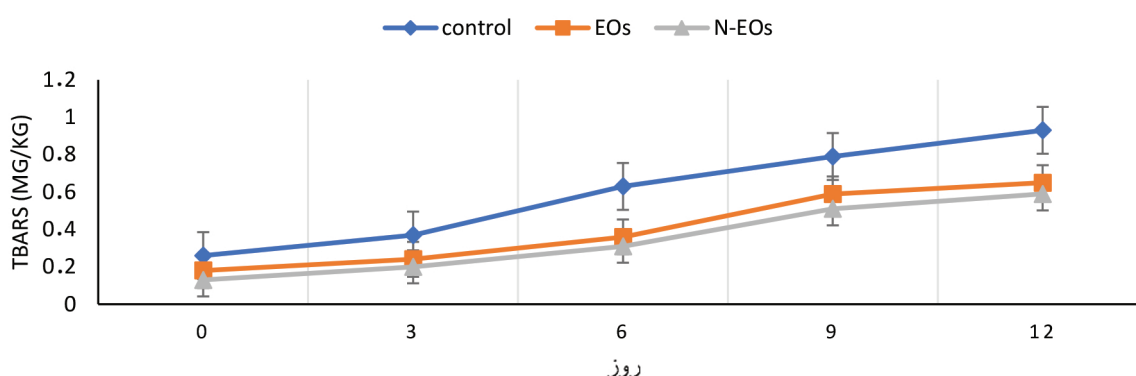
جدول ۳- بررسی میزان pH در گروه‌های مختلف دارای باسیلوس سرئوس و اشریشیاکلی در طی دوره نگهداری در یخچال

گروه‌های تیمار	اشریشیاکلی					باسیلوس سرئوس				
	روز					روز				
	۱۲	۹	۶	۳	۰	۱۲	۹	۶	۳	۰
کنترل	۷/۲	۷/۵	۷/۳	۶/۸	۶/۴	۷/۳	۷/۶	۷/۲	۶/۷	۶/۴
اسانس ۱ درصد	۷/۲	۷/۲	۷	۶/۵	۶/۴	۷/۲	۷/۴	۶/۹	۶/۵	۶/۴
اسانس ۲ درصد	۷	۷/۱	۶/۸	۶/۵	۶/۴	۷/۱	۷/۳	۶/۸	۶/۵	۶/۴
نانواسانس ۱ درصد	۷/۲	۷/۱	۷	۶/۴	۶/۴	۷/۱	۷/۳	۶/۹	۶/۴	۶/۴
نانواسانس ۲ درصد	۶/۹	۷	۶/۸	۶/۴	۶/۴	۷	۷/۲	۶/۷	۶/۴	۶/۴

از TBARS را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. همانطور که در نمودار ۳ نشان داده شده است، مقدار TBARS به تدریج در طول نگهداری در دمای ۴ °C افزایش یافت و گروه های تیمار شده اثرات قابل توجهی بر روند افزایشی (به تاخیر انداختن روند افزایش TBARS) داشتند ( $p < 0.05$ ). حداقل مقادیر TBARS در تیمار نانواسانس (۰/۵۹ mg/kg) در روز ۱۲ مشاهده شد.

اندازه گیری ۲-تیوباربیتوریک اسید (TBARS) نمودار ۳ میزان TBARS گروه های کنترل و اسانس (اشکال آزاد و نانولیپوزوم ها) را نشان می دهد. TBARS اولیه در نمونه ها در روز صفر بین ۰/۲۶ - ۰/۱۳ mg/kg بود که تازگی نمونه های ماهی را نشان می دهد. در طی دوره نگهداری گروه های تیمار شده توسط اسانس (شکل های آزاد و نانولیپوزوم) مقادیر کمتری

### TBARS

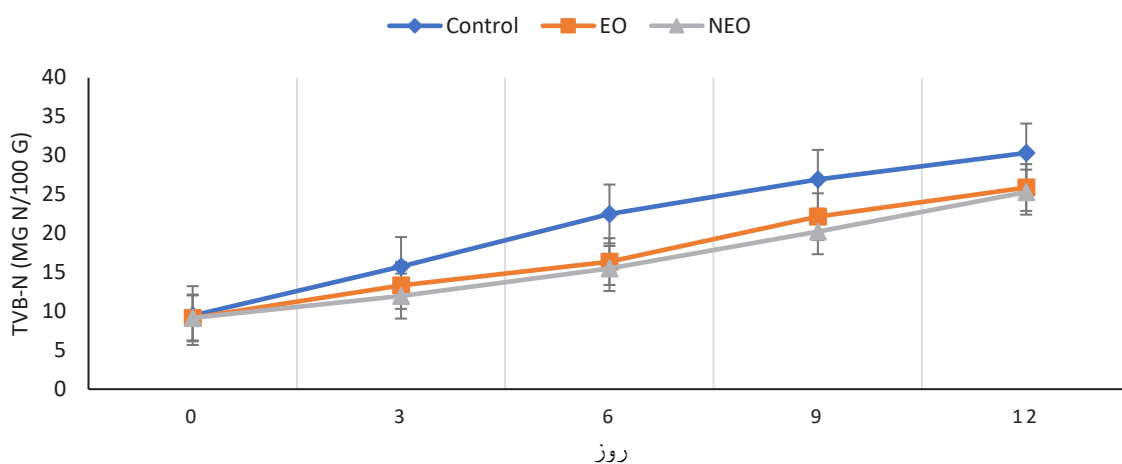


نمودار ۳- اندازه گیری میزان TBARS در گروه های کنترل، اسانس و نانواسانس

در گروه کنترل شناسایی شد (۳۰/۳۳ mg N/۱۰۰ g). حداقل TVB-N در گروه نانواسانس (۲۵/۳ mg N/۱۰۰ g) مشاهده شد.

اندازه گیری بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) مطابق نمودار ۴، در تمام گروه ها، TVB-N در طول زمان ذخیره سازی افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). حداکثر مقدار TVB-N

### TVB-N



نمودار ۴- اندازه گیری میزان TVB-N در گروه های کنترل، اسانس و نانواسانس

می‌دهد که ویژگی‌های حسی همه گروه‌ها به طور معنی‌داری تحت تاثیر زمان ذخیره سازی است ( $p < 0.05$ ). نمونه‌های شاهد پس از ۱۲ روز به حداقل نمره قبولی رسیدند. گروه حاوی نانواسانس پس از ۱۲ روز به نمره پذیرش بالاتری دست یافتند.

- ارزیابی حسی

جدول ۴ نتایج ارزیابی حسی (رنگ قرمز، بی رنگ شدن و بوی بد) گروه‌های ماهی چرخ کرده را نشان می‌دهد (۱ بیشترین امتیاز و ۵ کمترین امتیاز را نشان می‌دهد). نتایج جدول نشان

جدول ۴- ارزیابی حسی ماهی در طی دوره نگهداری در دمای ۴ °C

نوع ارزیابی حسی	گروه‌های تیمار	روزها			
		صفر	سوم	ششم	نهم
رنگ قرمز	کنترل	۱	۲	۴	۵
	اسانس	۱	۱	۱	۲
	نانواسانس	۱	۱	۱	۲
بی رنگ شدن	کنترل	۱	۲	۴	۵
	اسانس	۱	۱	۱	۲
	نانواسانس	۱	۱	۱	۲
بوی بد	کنترل	۱	۳	۴	۵
	اسانس	۱	۱	۱	۳
	نانواسانس	۱	۱	۱	۲

## بحث

- آزمون میکروبی

بررسی اثر ضد میکروبی اسانس پونه به روش انتشار دیسک (قطر هاله عدم رشد)

فعالیت‌های ضد باکتری قابل توجه اسانس پونه احتمالاً به وجود ترکیبات فنلی مرتبط است. در ترکیبات فنلی، گروه‌های هیدروکسیل اثر بازدارندگی دارند زیرا این گروه‌ها می‌توانند با غشای سلولی باکتری برهم‌کنش داشته و ساختار غشاء را مختل کنند. این باعث می‌شود که نیروی محرکه پمپ پروتون فرو بریزد و مخزن ATP تخلیه شود و به مرگ سلولی منجر شود. این نتایج مشابه مطالعه Tometri و همکاران بود (۲۵).

اثر ضد میکروبی اسانس پونه (آزاد و نانولیپوزوم) بر باسیلوس سرئوس و اشریشیاکلی در نمونه‌های ماهی Abdollahzadeh و همکاران با بررسی اثر اسانس آویشن بر رشد لیستریا مونوسیتوژنز در ماهی طی ۱۲ روز در دمای

۴ °C گزارش شد که افزایش مقدار اسانس باعث افزایش اثر ضد میکروبی می‌شود که مشابه نتایج مطالعه حاضر بود (۲۲). Mazhar و همکاران اسانس نعناع در غلظت‌های مختلف بر رشد سالمونلا تیفی موریوم و سالمونلا پاراتیفی در ماهی چرخ کرده اندازه‌گیری کردند و گزارش دادند که افزایش مقدار اسانس (۰/۱ تا ۰/۵ درصد) باعث افزایش اثر ضد میکروبی می‌شود که مشابه نتایج مطالعه حاضر بود (۳۱). فعالیت‌های ضد باکتری قابل توجه اسانس پونه به ترکیبات فنلی مرتبط است. در ترکیبات فنلی، گروه‌های هیدروکسیل اثر بازدارندگی دارند زیرا این گروه‌ها می‌توانند با غشای سلولی باکتری برهم‌کنش داشته و ساختار غشاء را مختل کنند. این باعث می‌شود که نیروی محرکه پمپ پروتون فرو بریزد و مخزن ATP تخلیه شود و به مرگ سلولی منجر شود. علاوه بر این، باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت نسبت به حضور اسانس مورد مطالعه مقاومت بیشتری نشان دادند که ممکن

Homayonpour و همکاران بود (۵-۷، ۴۰)

اندازه گیری ۲-تیوباربیتوریک اسید (TBARS)

در ماهی، اکسیداسیون لیپیدها می‌تواند با اکسیداسیون و اتوکسیداسیون حساس به نور، یا با واکنش آنزیمی، مانند واکنش‌های مربوط به پراکسیداز، لیپوکسیژناز و آنزیم‌های میکروبی آغاز شود. نتایج مطالعه حاضر مشابه نتایج Rahimabadi و همکاران و Homayonpour و همکاران بود (۶، ۷، ۳۶).

اندازه‌گیری بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

افزایش TVB-N در گروه‌ها ممکن است به دلیل برخی فرایندهای آنزیمی مانند اکسیداسیون آمین، تخریب نوکلئوتید و دامیناسیون اسید آمینه آزاد باشد (۶، ۲۴، ۳۲). حداکثر مقدار TVB-N در گروه کنترل شناسایی شد و حداقل TVB-N در گروه نانو اسانس مشاهده شد که می‌تواند به دلیل کاهش توانایی اکسیداتیو باکتری‌ها در حذف آمین‌ها از ترکیبات نیتروژن فرار یا کاهش جمعیت باکتری‌ها باشد، همچنین ممکن است به دلیل حفظ ویژگی‌های ضد باکتریایی برای مدت طولانی‌تری با نانو کردن آن باشد. مطالعه ما مشابه Tometri و همکاران بود (۲۵).

- ارزیابی حسی

تفاوت نتایج مشاهدات را می‌توان به افزودن اسانس و نانواسانس به ماهی توصیف کرد که به طور موثر از رشد میکروبی در ماهی جلوگیری می‌نماید و سرعت تخریب پروتئین و تجمع مواد فرار را کاهش می‌دهد. نتایج مطالعه حاضر مشابه Pabast و همکاران و Homayonpour و همکاران است (۵، ۲۴).

### نتیجه‌گیری

نتایج ارزیابی میکروبی و شیمیایی نشان داد که اسانس پونه (آزاد و نانولیپوزوم) منجر به حفظ کیفیت گروه‌های ماهی چرخ کرده در طی دوره نگهداری در دمای یخچال شد. تمام گروه‌های حاوی اسانس (آزاد و نانولیپوزوم) تعداد میکروب را (به طور قابل توجهی) در مقایسه با گروه کنترل کاهش می‌دهد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی نانواسانس (به ویژه ۲ درصد) نشان داد که بیشترین تاثیر را بر پایداری نمونه‌های چرخ کرده

است مربوط به غشای خارجی آب‌گریز باشد که دیواره سلولی باکتری را احاطه کرده و از انتشار ترکیبات چربی دوست مانند اسانس جلوگیری می‌کند (۲۴، ۲۵، ۳۱، ۳۲).

- آزمون‌های شیمیایی

سنجش DPPH

گیاه پونه به دلیل داشتن ترکیبات فنلی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً به دلیل خواص اکسیدکننده ردوکس آنها است، بنابراین به عنوان یک عامل کاهنده، جاذب اکسیژن و اهداکننده هیدروژن عمل می‌کند (۱۰، ۱۱، ۳۰). این نتایج مشابه مطالعه Pabast و همکاران و Homayonpour و همکاران بود که فعالیت اسانس و نانواسانس و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان مختلف را گزارش کرده بودند (۶، ۲۴). Sundararajan و همکاران همچنین گزارش کردند که اسانس *Ocimum basilicum* L و فرم نانو دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند و فرم نانو در مقایسه با فرم آزاد اسانس اثر بهتری داشت که مشابه نتایج مطالعه حاضر بود (۳۳). BHT تقریباً بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در مطالعات مختلف، مشابه مطالعه حاضر داشت (۶، ۳۴، ۳۵).

اندازه‌گیری اندیس پراکسید (PV)

دلیل بهتر بودن نانواسانس به این دلیل است که نانولیپوزوم فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد و نانولیپوزوم از هیدروکلئیدها در برابر عوامل محیطی مانند نور، اکسیژن، pH و غیره محافظت می‌کند. نتایج مطالعه حاضر مشابه مطالعه Rahimabadi و همکاران (۳۶) و نیز Pabast و همکاران (۲۴) بود.

اندازه‌گیری pH

کاهش pH مشابه در نتیجه تیمار اسانس در ماهی تیلاپیا (۳۷) و فیله میگو (۳۸) نشان داده شده است. افزایش pH معمولاً به دلیل تشکیل ترکیبات اتولیز قلیایی (مانند نیتروژنی) و متابولیت‌های تولید باکتری در ماهی به عنوان پیامدهای رشد باکتری و تخریب پروتئین است (۳۹). تقریباً ثابت بودن مقدار رفتار pH نمونه‌های با غلظت‌های متفاوت از اسانس پونه (شکل‌های آزاد و نانولیپوزوم) در زمان نگهداری ممکن است با فعالیت محافظتی آنها در برابر تجزیه بستر، رشد کمتر باکتری نسبت به گروه کنترل مرتبط باشد. این مطالعه مشابه مطالعه

دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل (بخشی از) پایان نامه با عنوان "بررسی اثر نایسین، اسانس و عصاره آبی پونه (*Mentha pulegium* L.) به فرم‌های نانو و آزاد بر نگهداری ماهی کپور نقره‌ای چرخ کرده (*Hypophthalmichthys molitrix*) در طول دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد" در مقطع دکترا در سال ۱۳۹۸ و کد ۵۴۳۲ است که با حمایت دانشگاه آزاد آیت الله آملی اجرا شده است. از حمایت‌های همکاران محترم آزمایشگاه گروه صنایع غذایی دانشگاه آیت الله آملی صمیمانه قدردانی می‌شود.

ماهی در طول دوره نگهداری دارد. تیمار نانواسانس ۲ درصد در روز دوازدهم دارای اندیکس پراکسید به میزان ۰/۵۹ mg/kg TBARS به میزان ۸/۷۲ meq/۱۰۰۰ g و نیز اندیکس TVB-N به میزان ۳/۲۵ mg N/۱۰۰ g بود که در همه موارد (همانطور که قبلاً اشاره شده بود) این تیمار، بهتر از سایر گروه‌های موثر بود. بنابراین، براساس نتایج به دست آمده، می‌توان توصیه کرد که اسانس‌های گیاهی به ویژه فرم‌های نانو آنها می‌تواند به عنوان یک روش نگهداری خوب و مناسب در صنعت نگهداری ماهی استفاده شود.

### ملاحظات اخلاقی

نویسندگان کلیه نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار

## References

1. El-Hanafy AEA, Shawky HA, Ramadan MF. Preservation of *Oreochromis niloticus* fish using frozen green tea extract: Impact on biochemical, microbiological and sensory characteristics. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2011;35(5):639-46.
2. Jia S, Li Y, Zhuang S, Sun X, Zhang L, Shi J, et al. Biochemical changes induced by dominant bacteria in chill-stored silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and GC-IMS identification of volatile organic compounds. *Food Microbiology*. 2019;84:103248.
3. Zamani A, Ghaffari A. Assessment of chemical and bacterial quality of surimi produced from common Kilka (*Clupeonella cultriventris*) under pennyroyal (*Mentha pulegium*) extract during refrigerator storage (4±1° C). *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 2019;28(4):23-35 (in Persian).
4. Molae Aghae E, Kamkar A, Akhondzadeh Basti A. Antimicrobial effect of garlic essential oil (*Allium sativum* L.) in combination with chitosan biodegradable coating films. *Journal of Medicinal Plants*. 2016;15(58):141-50.
5. Homayonpour P, Jalali H, Shariatifar N, Amanlou M. Effects of nano-chitosan coatings incorporating with free/nano-encapsulated Cumin (*Cuminum cyminum* L.) essential oil on quality characteristics of sardine fillet. *International Journal of Food Microbiology*. 2021;109047.
6. Homayounpour P, Jalali H, Shariatifar N, Amanlou M, Khanjari A. Protective effect of nanochitosan incorporated with free/nanoliposome Cumin (*Cuminum cyminum* L.) aqueous extract on sardine fish. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 2020;29(9):949-61.
7. Homayounpour P, Shariatifar N, Alizadeh-Sani M. Development of nanochitosan-based active packaging films containing free and nanoliposome caraway (*Carum carvi*. L) seed extract. *Food Science & Nutrition*. 2021;9(1):553-63.
8. Kamkar A, Molae-Aghae E, Khanjari A, Akhondzadeh-Basti A, Noudoost B, Shariatifar N, et al. Nanocomposite active packaging based on chitosan biopolymer loaded with nano-liposomal essential oil: Its characterizations and effects on microbial, and chemical properties of refrigerated chicken breast fillet. *International Journal of Food Microbiology*. 2021;342:109071.
9. Boukhebti H, Chaker AN, Belhadj H, Sahli F,

- Ramdhani M, Laouer H, et al. Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. *Der Pharmacia Lettre*. 2011;3(4):267-275.
10. Hajlaoui H, Snoussi M, Jannet HB, Mighri Z, Bakhrouf A. Comparison of chemical composition and antimicrobial activities of *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia* essential oil from two Tunisian localities (Gabes and Sidi Bouzid). *Annals of Microbiology*. 2008;58(3):513-20.
11. Kamkar A, Jebelli Javan A, Nemati G, Falahpour F, Partovi R. Effects of *Mentha pulegium* water extract dipping on quality and shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during superchilled storage. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 2014;13(2):341-53.
12. Khodanazary A. Freshness assessment of shrimp *Metapenaeus affinis* by quality index method and estimation of its shelf life. *International Journal of Food Properties*. 2019;22(1):309-19.
13. Ullah S, Li Z, Arifeen MZU, Khan SU, Fahad S. Multiple biomarkers based appraisal of deltamethrin induced toxicity in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Chemosphere*. 2019;214:519-33.
14. Esmaeili H, Cheraghi N, Khanjari A, Rezaeigolestani M, Basti AA, Kamkar A, et al. Incorporation of nanoencapsulated garlic essential oil into edible films: A novel approach for extending shelf life of vacuum-packed sausages. *Meat Science*. 2020;166:108135.
15. Kazemi M, Shabanpour B, Pourashouri P. The assessment of effect of fish myofibrillar protein-nanofibrillated cellulose edible film incorporated with oregano essential oil nanoliposomes on microbial quality of rainbow trout fillet during cold storage. *Research and Innovation in Food Science and Technology*. 2018;6(4):335-50.
16. Ojagh S, Kazemi M, Mirsadeghi S. Comparative evaluation of the effect of gelatin coating enriched with pure and nanoliposome oregano essential oil on microbial quality of rainbow trout fillet during cold storage ( $4\pm 2^\circ\text{C}$ ). *Iranian Journal of Food Science and Technology*. 2018;14(71):59-71 (in Persian).
17. Kamkar A, Khanjari A, Oladi M, Molaee Aghaee E. Effect of packaging with chitosan film containing *Bunium persicum* L. essential oil on chemical and microbial properties of chicken fillet. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*. 2017;7(1):104-15 (in Persian).
18. Kamkar A, Tooriyan F, Jafari M, Bagherzade M, Saadatjou S, Molaee Aghaee E. Antioxidant activity of methanol and ethanol extracts of *Satureja hortensis* L. in soybean oil. *Journal of Food Quality and Hazards Control*. 2014;1(4):113-19.
19. Derakhshan S, Sattari M, Bigdeli M. Effect of subinhibitory concentrations of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed essential oil and alcoholic extract on the morphology, capsule expression and urease activity of *Klebsiella pneumoniae*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2008;32(5):432-36.
20. Donsi F, Annunziata M, Sessa M, Ferrari G. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT-Food Science and Technology*. 2011;44(9):1908-14.
21. Hu J, Wang X, Xiao Z, Bi W. Effect of chitosan nanoparticles loaded with cinnamon essential oil on the quality of chilled pork. *LWT-Food Science and Technology*. 2015;63(1):519-26.
22. Abdollahzadeh E, Rezaei M, Hosseini H. Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control*. 2014;35(1):177-83.
23. Mendes J, Norcino L, Martins H, Manrich A, Otoni C, Carvalho E, et al. Correlating emulsion characteristics with the properties of active starch films loaded with lemongrass essential oil. *Food Hydrocolloids*. 2020;100:105428.
24. Pabast M, Shariatifar N, Beikzadeh S, Jahed G. Effects of chitosan coatings incorporating with free

- or nano-encapsulated Satureja plant essential oil on quality characteristics of lamb meat. *Food Control*. 2018;91:185-92.
25. Tometri SS, Ahmady M, Ariaii P, Soltani MS. Extraction and encapsulation of *Laurus nobilis* leaf extract with nano-liposome and its effect on oxidative, microbial, bacterial and sensory properties of minced beef. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2020;14(6):3333-44.
26. Shariatifar N, Fathabad AE, Madihi S. Antibacterial activity of aqueous and ethanolic extracts of *Echium amoenum* on food-borne pathogens. *Journal of Food Safety and Hygiene*. 2016;2(3/4):63-66.
27. Shariatifar N, Pirali-Hamedani M, Moazzen M, Ahmadloo M, Yazdani D. Study of the antimicrobial effects of aqueous extract of *Olea europaea*, *Solanum nigrum*, *Artemisia sieberi*, *Teucrium polium*, *Glycyrrhiza glabra* on some food-borne pathogenic bacteria. *Journal of Medicinal Plants*. 2019;18(72):264-73 (in Persian).
28. Lou Z, Chen J, Yu F, Wang H, Kou X, Ma C, et al. The antioxidant, antibacterial, antibiofilm activity of essential oil from *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* and its nanoemulsion. *LWT*. 2017;80:371-77.
29. Mohan C, Ravishankar C, Gopal TS, Lalitha K, Kumar KA. Effect of reduced oxygen atmosphere and sodium acetate treatment on the microbial quality changes of seer fish (*Scomberomorus commerson*) steaks stored in ice. *Food Microbiology*. 2010;27(4):526-34.
30. Pirmohammadi A, Daneshyar M, Farhoomand P, Aliakbarlu J, Hamian F. Effects of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* on colour, nutrients and peroxidation of meat in heat-stressed broilers. *South African Journal of Animal Science*. 2016;46(3):278-84.
31. Mazhar S, Aliakbari F, Karami OR, Morshedi D, Shariati P, Farajzadeh D. Inhibitory effects of several essential oils towards *Salmonella typhimurium*, *Salmonella paratyphi A* and *Salmonella paratyphi B*. *Applied Food Biotechnology*. 2014;1(1):45-54.
32. Shahbazi Y. Antibacterial and antioxidant properties of methanolic extracts of some native edible plants collected from Kermanshah, Western Iran. *Journal of Food Quality and Hazards Control*. 2017;4(4):93-98.
33. Sundararajan B, Moola AK, Vivek K, Kumari BR. Formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (*Culex quinquefasciatus*). *Microbial pathogenesis*. 2018;125:475-85.
34. Hassani M, Hasani S. Nano-encapsulation of thyme essential oil in chitosan-Arabic gum system: evaluation of its antioxidant and antimicrobial properties. *Trends in Phytochemical Research*. 2018;2(2):75-82.
35. Sharafati Chaleshtori F, Taghizadeh M, Rafieian-kopaei M, Sharafati-chaleshtori R. Effect of chitosan incorporated with cumin and eucalyptus essential oils as antimicrobial agents on fresh chicken meat. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2016;40(3):396-404.
36. Rahimabadi EZ, Rigi M, Rahnama M, Safari R, Arshadi A, Barani M. The effects of *Zataria multiflora* Boiss essential oil and nisin on chemical characteristics of rainbow trout fillet stored at 4° C. Probiotics and antimicrobial proteins. 2012;4(2):116-21.
37. Chen X-M, Wu X-P, Deng C-J, Gao J-L, Wang T, Liao A-L. Comparison of preservative effects of chitosan and tea polyphenols on cold storage of tilapia. *Modern Food Science and Technology*. 2011;27(3):279-82.
38. Simpson B, Gagne N, Ashie I, Noroozi E. Utilization of chitosan for preservation of raw shrimp (*Pandalus borealis*). *Food Biotechnology*. 1997;11(1):25-44.
39. Kılıç B, Şimşek A, Claus J, Atılğan E. Encapsulated phosphates reduce lipid oxidation in both ground chicken and ground beef during raw and cooked meat storage with some influence on color, pH, and cooking loss. *Meat Science*. 2014;97(1):93-103.
40. Haghju S, Beigzadeh S, Almasi H, Hamishehkar H. Chitosan films incorporated with nettle (*Urtica dioica* L.) extract-loaded nanoliposomes: I. Physicochemical characterisation and antimicrobial properties. *Journal of Microencapsulation*. 2016;33(5):438-48.



Available online: <https://ijhe.tums.ac.ir>

Original Article



## The effects of poneh essential oil (free and nanoliposomes forms) on chemical, biological and sensory characteristics of minced silver carp fish at 4 °C

Neda Pouryousef<sup>1</sup>, Mohammad Ahmady<sup>1\*</sup>, Nabi Shariatifar<sup>2</sup>, Sara Jafarian<sup>1</sup>, Seyed-Ahmad Shahidi<sup>3</sup>

1- Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Savadkooch Branch, Ssavadkooch, Mazandaran, Iran

2- Department of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch, Amol, Mazandaran, Iran

### ARTICLE INFORMATION:

**Received:** 4 January 2022

**Revised:** 31 January 2022

**Accepted:** 2 February 2022

**Published:** 12 March 2022

**Keywords:** Essential oil, Poneh, Silver carp, Nanoliposomes, Fish quality

### ABSTRACT

**Background and Objective:** Nowadays, the application of procedures to minimize oxidative and microbial spoilage in marine products is economically and hygienically important. This study was performed to determine the effect of free and nanoliposome forms of poneh (*Mentha pulegium L.*) essential oil to increase the shelf life and improve the sensory characteristics of silver carp minced fish (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage time.

**Materials and Methods:** In this study, the antibacterial properties of 1 and 2% essential oil and nanoliposomes form on the microbial population of minced silver carp fish inoculated with *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* were measured. Also, chemical tests (DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl assay, measurement of iodine peroxide (PV), pH, total volatile nitrogen (TVB-N) and thiobarbituric acid (TBARs)) and sensory properties of minced silver carp were evaluated during 12 days of refrigerated storage.

**Results:** The results showed that the addition of poneh essential oil (free and nanoliposomes) according to the microbial results and the results of chemical experiments can effectively prevent microbial growth and chemical spoilage ( $p < 0.05$ ). Treatment containing 2% nano essential oil of poneh showed the greatest effect on the chemical, microbial and sensory properties of minced fish during the experimental period in comparison with control treatments, 1% poneh nanoliposomes essential oil and 2 and 1% free essential oils.

**Conclusion:** Therefore, the nanoliposomes form of 2% poneh essential oil can be used as a suitable additive to increase the shelf life of *Silver carp* fish in the fish industry.

**\*Corresponding Author:**  
drahmady@gmail.com

Please cite this article as: Pouryousef N, Ahmady M, Shariatifar N, Jafarian S, Shahidi SA . The effects of poneh essential oil (free and nanoliposomes forms) on chemical, biological and sensory characteristics of minced silver carp fish at 4 °C. Iranian Journal of Health and Environment. 2022;14(4):563-76.