

(OPEN ACCESS)

**The effect of olive leaf essential oil nanoemulsion (*Olea europaea* L.)
on chemical and microbial parameters of farmed common carp
(*Cyprinus carpio* L.) fillet during storage in refrigerator**

Zabihollah Bahmani^{*1}, Roghieh Mahmood Soltani²

1. Corresponding Author, National Fish Processing Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Bandar Anzali, Iran. E-mail: zabihbahmani@gmail.com
2. M.Sc. Graduate, Food Biotechnology, Dept. of Food Science and Industries, Rodaki High Educational Institute, Tonekabon, Iran. E-mail: soltani2302@yahoo.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Full Length Research Paper	Background and Objectives: The use of plant extracts and essential oils on a nano scale as an alternative to synthetic preservatives in aquatic products as highly perishable products can largely control the microbial and chemical factors of spoilage.
Article history: Received: 08.25.2024 Revised: 09.08.2024 Accepted: 09.17.2024	Materials and Methods: In this project, common carp fillet was immersed for 5 minutes in the nanoemulsion of essential oil extracted from olive leaf (<i>Olea europaea</i> L.), as a natural preservative in proportions of 2 and 4%, then it was placed inside a nylon film and stored in a refrigerator. The evaluation of the essential oil was done by determining the amount of total phenolic compounds (TPC), flavonoid (TFC), free radical scavenging (DPPH) and reducing power (RP), the quality of fillets stored in the refrigerator at time intervals of 0, 5, 10, 15, 20 and 25 days were evaluated with chemical (PV, TBA, AV, TOTOX, and TVB-N) and microbial (total mesophile, and psychrophile bacteria) tests.
Keywords: Anisidine value, Farmed common carp, Nano-emulsion, Olive leaf, Oxidation	Results: The results of TPC, TFC, DPPH and RP were 96.2 mg GA/g E, 43.4 mg QE/g E, 154.1% and 291.17 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, respectively. The values of PV, TBA, AV, TOTOX, TVB-N, TMC and PTC in the treatment of 2 and 4% essential oil on the 25 th day of the experiment, respectively (4.28, and 2.91 meq g O ₂ /Kg Fat), (1.8, and 1.35 mgMDA/Kg Fat), (5.23, and 3.85), (13.79, and 9.67), (24.32, and 20.15 mg N.100 g ⁻¹ flesh), (5.27, and 3.98 logCFU.g ⁻¹) and (4.12, and 2.39 logCFU.g ⁻¹) were reported and have a significant difference (P<0.05).
	Conclusion: According to these results, olive leaf essential oil nanoemulsion with concentrations of 2 and 4% can be used to inhibit bacterial and oxidative activity in fish, especially farmed common carp.

Cite this article: Bahmani, Zabihollah, Mahmood Soltani, Roghieh. 2025. The effect of olive leaf essential oil nanoemulsion (*Olea europaea* L.) on chemical and microbial parameters of farmed common carp (*Cyprinus carpio* L.) fillet during storage in refrigerator. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 14 (3), 55-72.



اثر نانوامولسیون اسانس برگ زیتون (*Olea europaea* L.) بر شاخص‌های شیمیایی و میکروبی فیله کپور معمولی پرورشی (*Cyprinus carpio* L.) طی نگهداری در یخچال

ذبیح الہ بہمنی^{*۱}، رقیہ محمود سلطانی^۲

۱. نویسنده مسئول، مرکز ملی تحقیقات فناوری آبیان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران. رایانامه: zabihbahmani@gmail.com
۲. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد رشته زیست‌فناوری علوم و صنایع غذایی مؤسسه آموزش عالی رودکی، تنکابن، ایران. رایانامه: soltani2302@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله:	سابقه و هدف: استفاده از عصاره و اسانس‌های گیاهی در مقیاس نانو به عنوان جایگزین نگهدارنده‌های سنتزی در آبزیان به عنوان فرآورده‌های با فسادپذیری بالا، تا حدود زیادی می‌تواند عوامل میکروبی و شیمیایی فساد را کنترل نماید.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۰۴	مواد و روش‌ها: در این پژوهش، فیله کپور معمولی پرورشی به مدت ۵ دقیقه در نانوامولسیون اسانس استخراج شده از برگ زیتون (<i>Olea europaea</i> L.)، به عنوان نگهدارنده طبیعی به نسبت‌های ۲ و ۴ درصد غوطه‌ور گردید، سپس داخل فیلم نایلونی قرار داده و در یخچال نگهداری شد. ارزیابی اسانس با تعیین مقدار کل ترکیبات فنولی (Total Phenolic Compound; TPC)، فلاونوئیدی (Total Flavonoid Compound; TFC)، مهار رادیکال آزاد (DPPH) و قدرت احیاءکنندگی (Reduction Power; RP) انجام شد، کیفیت فیله‌های نگهداری شده در یخچال در فواصل زمانی ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ روز با آزمون‌های شیمیایی (پراکسید، عدد آنیزیدین، اسید تیوباربیتوریک، مقدار توتکس و بازهای ازته فرار) و میکروبی (کل باکتری‌های مزوفیل و سرما دوست) مورد ارزیابی قرار گرفت.
واژه‌های کلیدی:	یافته‌ها: نتایج TPC، TFC، DPPH و RP به ترتیب، ۹۶/۲ mg GA/g E، ۴۳/۴ mg QE/g E، ۱۵۴/۱ درصد و ۲۹۱/۱۷ µg.ml ⁻¹ بود. مقادیر TVB-N، TOTOX، AV، TBA، PV، PTC و TMC در تیمار ۲ و ۴ درصد اسانس در روز ۲۵ آزمایش به ترتیب، (۴/۲۸ و (۲/۹۱ meq g O ₂ /kg Fat و (۱/۸ و (۱/۳۵ mg MDA/kg Fat و (۳/۸۵ و (۵/۲۳ و (۱۳/۷۹ و
اکسیداسیون، آنیزیدین، برگ زیتون، کپور معمولی پرورشی، نانوامولسیون	

۹/۶۷، (۲۴/۳۲ و $20/15 \text{ mg N.}100 \text{ g}^{-1} \text{ Flesh}$)، (۵/۲۷ و $3/98 \log \text{ CFU.g}^{-1}$) و (۴/۱۲ و $2/39 \log \text{ CFU.g}^{-1}$) گزارش شد و دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) می‌باشند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، می‌توان از نانوامولسیون اسانس برگ زیتون با غلظت‌های ۲ و ۴ درصد برای مهار فعالیت باکتریایی و اکسیداسیونی در ماهیان به‌ویژه کپور معمولی پرورشی استفاده نمود.

استناد: بهمنی، ذبیح‌اله، محمودسلطانی، رقیه (۱۴۰۴). اثر نانوامولسیون اسانس برگ زیتون (*Olea europaea* L.) بر شاخص‌های شیمیایی و میکروبی فیله کپور معمولی پرورشی (*Cyprinus carpio* L.) طی نگهداری در یخچال. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۴ (۳)، ۷۲-۵۵.

Doi: 10.22069/japu.2024.22751.1899



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

کپور ماهیان (Cyprinidae)، ماهیانی با ارزش تجاری می‌باشند که با توجه به فصل، شرایط تغذیه‌ای و تولیدمثلی جزء ماهیان نیمه‌چرب و چرب محسوب می‌شوند از آنجایی که ترکیب شیمیایی ماهیان، آن‌ها را مستعد فساد نموده است بنابراین استفاده از نگهدارنده‌ها و محافظت‌کننده‌ها بسیار ضروری به نظر می‌رسند (۱). با توجه به این که بخش اعظم چربی آبزیان از نوع غیراشباع می‌باشد بنابراین بسیار سریع اکسید می‌شوند و اکسیداسیون باعث تولید رادیکال‌های آزاد گونه‌های فعال اکسیژن^۱ (ROS) می‌گردد (۲)، رادیکال‌های آزاد و دیگر انواع اکسیژن فعال در بدن توسط سامانه ضد اکسایش طبیعی پایش می‌شوند اما اگر موازنه بین رادیکال‌های آزاد تولیدی و سامانه مهارکننده این ترکیبات از بین رود، منجر به صدمه به مولکول‌های زیستی شده و در نتیجه خطر ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها را افزایش می‌دهند (۳). با توجه به این که اکسایش یکی از دلایل اصلی فساد چربی‌ها و غذاهای چرب در طول دوره فرآوری و ذخیره‌سازی می‌باشد. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در رژیم غذایی برای کاهش اثرات رادیکال‌های آزاد ضروری است. آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی از جمله بوتیل‌ات هیدروکسی آنیزول (BHA)، بوتیل‌ات هیدروکسی تولوئن (BHT)، ترت بوتیل هیدروکینون (TBHQ) دارای اثرات جانبی مضر می‌باشند (۴)، علاوه بر مشکلات ناشی از اکسایش، مواد غذایی خام و فرآوری شده در طول دوره تولید، فروش و توزیع در معرض آلودگی قرار دارند. بنابراین نیاز به استفاده از نگهدارنده‌ها برای افزایش طول دوره نگهداری مواد غذایی ضروری به نظر می‌رسد. از طرفی ایمن بودن مواد نگهدارنده شیمیایی مورد تردید قرار گرفته و بسیاری از سویه‌های میکروبی نیز نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند.

1- Reactive Oxygen Species (ROS)

بنابراین استفاده از اسانس و عصاره‌های گیاهی به عنوان مواد نگهدارنده طبیعی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس و عصاره گیاهی به حضور متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنولی نسبت داده شد (۵). یکی از محصولات غنی از ترکیبات فنولی، برگ زیتون می‌باشد. برگ زیتون (*Olea europaea* L.) یکی از گیاهان دارویی است که دارای خواص ضد اکسایشی و ضد میکروبی می‌باشد (۶). از بین اندام‌های مختلف درخت زیتون، برگ زیتون غنی‌ترین منبع ترکیبات فنولی می‌باشد با توجه به این که برگ زیتون به عنوان یک برگ همیشه سبز در تمام فصول سال به آسانی در دسترس بوده و یک ماده خام ارزان قیمت و غنی از ترکیبات فنولی می‌باشد و الثوروپین فراوان‌ترین ترکیب فنولی موجود در برگ است (۷، ۸ و ۹)، با هیدرولیز الثوروپین، ترکیباتی مانند دی متیل الثوروپین، لیگستروئید، ورباسکوزید، الئوزید دی متیل استر، یک نوع اسکویتروئید غیر گلیکوزیدی و الثوروزید می‌باشند، استخراج می‌شوند (۱۰). پژوهش‌های زیادی در زمینه استفاده از مواد طبیعی ضد اکسایش و ضد میکروبی جهت حفظ کیفیت آبزیان انجام شده است که به برخی از آن‌ها اشاره می‌گردد، اثر عصاره برگ زیتون بر پایداری اکسایشی روغن‌های خوراکی، بوعزیز و همکاران (۲۰۰۸)، گزارش کردند غنی‌سازی روغن زیتون با عصاره برگ زیتون موجب کاهش اندیس پراکسید و پایداری اکسایشی نسبت روغن شد (۱۱). سالتا و همکاران (۲۰۰۹)، بیان کردند که افزایش پایداری اکسایشی روغن‌های زیتون، پالم، آفتابگردان و یک شورتنینگ گیاهی غنی شده، به دلیل استفاده از برگ زیتون با محتوی ترکیب فنولی ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود (۱۲). در سایر مطالعات، خواص شیمیایی، ضد میکروبی و ضد اکسایشی برگ زیتون (۱۳، ۱۴ و ۱۵)، اسانس نانوامولسیون زیره سبز بر

به مدت ۳۰ دقیقه همزده شد. سپس با فرسديم فسفات (pH: ۷) با سرعت ۳/۵ میلی‌متر در دقیقه به آن افزوده و مخلوط با سرعت ۸۰۰ دور در دقیقه به مدت ۶۰ دقیقه همزده شد. محلول تهیه شده در دمای اتاق نگهداری گردید (۲۳ و ۲۴).

آماده‌سازی تیمارها: ۱۹ عدد ماهی کپور معمولی پرورشی با وزن تقریبی ۸۰۰ گرم (*Cyprinus carpio* L.) در فصل بهار (فروردین‌ماه) از مجتمع پرورش ماهی شهرستان رشت تهیه و به صورت زنده توسط مخزن آب و تزریق اکسیژن به آزمایشگاه موسسه آموزش عالی رودکی در شهرستان تنکابن منتقل شد. با ضربه به سر ماهیان را بیهوش کرده سپس، با آب سرد (۴ °C) و تمیز شسته شده و فیله شد. میانگین وزن هر فیله 100 ± 20 گرم بود. تیمارها به صورت، تیمار شاهد (بدون اسانس)، تیمار ۲ و ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون آماده شدند. سپس فیله‌های تهیه شده را در ظرفی که حاوی نانوامولسیون اسانس برگ زیتون با غلظت‌های ۲ و ۴ درصد بود به مدت ۵ دقیقه غوطه‌رو شد سپس فیله‌های هر تیمار را به طور مجزا جهت آبیگری در داخل آبکش ریخته و بعد از ۵ دقیقه آبیگری، فیله‌ها را داخل فیلم نایلونی قرار داده و در یخچال با دمای ۴ °C نگهداری شدند. سپس در فواصل زمانی ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ روز آزمایش‌های تعیین مقدار پراکسید (PV)، شاخص تیوباریتوریک اسید (TBA)، عدد آنیزیدین (AV)، توتکس، بازهای ازته فرار (TVB-N) و باکتری‌های مزوفیل و سرمادوست انجام گردید.

تعیین خواص ضد اکسایشی و ضد میکروبی اسانس برگ زیتون

تعیین میزان مهار رادیکال آزاد (۲، ۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH)): فعالیت مهار رادیکال

خواص ارگانولپتیکی و میکروبی فیله مرغ (۱۶)، اثرات نانوامولسیون آویشن شیرازی بر ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و حسی فیله کپور نقره‌ای (۱۷)، نانوامولسیون اسانس به عنوان عوامل ضد میکروبی در مواد غذایی (۱۸)، عصاره برگ زیتون در پایداری کره (۱۹) و استفاده از اسانس لیمو در کاهش اکسیداسیون برگر ماهی طی نگهداری در یخچال (۲۰) بررسی شد. استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی، با فعالیت مؤثر علیه رشد باکتری‌ها و آنتی‌اکسیدانی، در مقیاس نانو جهت سلامت مصرف‌کنندگان، باتوجه به ارزش غذایی ماهی، اهمیت حفظ کیفیت و افزایش مدت ماندگاری جهت عرضه در بازار به منظور بهبود کیفیت، افزایش مدت زمان ماندگاری آبزیان و در عین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی و بهداشتی ضروری می‌باشد (۲۱). هدف از این پژوهش، بررسی اثر نانوامولسیون اسانس برگ زیتون بر کیفیت فیله کپور معمولی پرورشی طی نگهداری در یخچال (۴±۲ °C) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس برگ زیتون: ابتدا برگ زیتون را در آون با دمای ۶۵ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک نموده، سپس توسط آسیاب برقی خرد و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت عمل استخراج اسانس در مجاورت آب انجام گردید. اسانس حاصل داخل ظرف درب‌دار تیره رنگ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۲).

نانوامولسیون اسانس برگ زیتون: تولید نانوامولسیون به روش معکوس کردن فاز یا کاتاستروفیک^۱ (EPI) انجام شد برای آماده‌سازی نانوامولسیون از آب مقطر و ۱ درصد امولسیفایر توئین ۸۰ به عنوان سورفکتانت استفاده گردید. به این ترتیب که اسانس و توئین با استفاده از همزن مگنت‌دار با ۸۰۰ دور در دقیقه

آزاد (DPPH) اسانس برگ زیتون، از روش Mensor و همکاران (۲۵) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY 6305, USA) تعیین شد. درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت زیر محاسبه شد:

$$\text{Antioxidant Activity (\%)} = \frac{100 - (ABS \text{ sample} - ABS \text{ blank}) \times 100}{ABS \text{ blank}} \quad (1)$$

اندازه‌گیری قدرت احیاء^۳: ۱ میلی‌لیتر از نمونه اسانس برگ زیتون (غلظت ۱ و ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) با بافر فسفات (۲/۵ میلی‌لیتر، ۶/۶ pH) و فری‌سیانید پتاسیم (۲/۵ میلی‌لیتر، ۱ درصد) مخلوط نموده و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد. افزودن تری کلرواستیک اسید (۲/۵ میلی‌لیتر، ۱۰ درصد). مخلوط سانتیفریوژ و لایه بالایی برداشته شد و با آب مقطر (۲/۵ میلی‌لیتر) و کلرید آهن (۰/۵ میلی‌لیتر، ۰/۱ درصد) مخلوط شد. میزان جذب در طول ۷۰۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر UV-Vis اندازه‌گیری گردید و اسید آسکوربیک به عنوان شاهد مثبت استفاده شد (۲۹ و ۳۰).

آزمون‌های کنترل کیفیت

اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV): عدد پراکسید به عنوان معیاری از اکسیداسیون اولیه مطابق روش یدومتری AOCs cd-53 انجام گرفت. در این روش مقدار ۵ گرم نمونه در ارلن‌مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری و ۳۰ میلی‌لیتر حلال (مخلوط اسید استیک و کلروفرم) به آن اضافه گردید. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر یدیدپتاسیم اشباع به آن افزوده و حدود یک دقیقه در مکان تاریک نگهداری، سپس مقدار ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شده و چند قطره چسب نشاسته به محلول اضافه و با محلول تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تیترو گردید وقتی که رنگ نمونه به یک حالت شفاف و زلال رسید تیتراسیون متوقف و در پایان عدد پراکسید از طریق رابطه ۲ محاسبه شد (۳۱).

اسید آسکوربیک (ویتامین C) به عنوان شاهد مثبت استفاده شد (۲۶).

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولیک^۱: مقدار کل ترکیبات فنولیک در اسانس استخراج شده به روش پرکولاسیون، براساس روش فولین - سیوکالچيو انجام شد (۲۷). مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از اسانس برگ زیتون (۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) برداشته سپس ۲/۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر فولین - سیوکالتیو ۰/۲ نرمال افزوده شد، پس از ۵ دقیقه ۲ میلی‌لیتر از محلول ۷۵ گرم بر لیتر کربنات سدیم به آن اضافه و پس از ۲ ساعت، جذب مخلوط در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (JENWAY 6305, USA) در مقابل بلانک قرائت شد، از گالیک اسید بعنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده و میزان کل ترکیبات فنولی براساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم اسانس گزارش شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی^۲: تعیین ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از روش رنگ سنجی انجام شد (۲۸). در این آزمون، به ۰/۵ میلی‌لیتر از اسانس برگ زیتون (۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد در اتانول، ۰/۱ میلی‌لیتر از استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط ۳۰ دقیقه پس از نگهداری در دمای اتاق، در طول موج ۴۱۵ نانومتر در مقابل بلانک قرائت شد. از کوئرستین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده و میزان فلاونوئید براساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم اسانس گزارش گردید.

1- Total Phenolic Compound; TPC
2- Total Flavonoid Compound; TFC

3- Reduction power; RP

$$(2) \quad \text{میزان پراکسید (meq g O}_2\text{/Kg Fat)} = \frac{1000 \times \text{نرمالیت} \times \text{مقدار مصرفی تیتراسیون}}{\text{مقدار نمونه}}$$

درب منتقل و ۵ میلی‌لیتر معرف تیوباریتوریک اسید اضافه شد. لوله‌های آزمایش ۳۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از سرد شده محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۸ نانومتر قرائت انجام شد. میزان جذب از رابطه ۳ محاسبه شد.

اندازه‌گیری شاخص تیوباریتوریک اسید: این شاخص طبق روش سیریپاتراوان و نویفا (۳۲) با افزودن ۹۷/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۴ نرمال به ۱۰ گرم نمونه روغن ماهی هموژن شده، اندازه‌گیری شد. عمل هضم تا زمانی که ۵۰ میلی‌لیتر محلول تقطیر شده به‌دست آید، ادامه یافت سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول تقطیر شده به درون لوله‌های دارای

$$(3) \quad \text{TBA (mg MDA/Kg Fat)} = 7.8 \times \text{ABS}$$

بخار شود. مقداری از روغن را برداشته و به آن ۲۵ میلی‌لیتر حلال ایزواکتان افزوده و آن را مخلوط کرده، سپس ۲/۵ میلی‌لیتر محلول حاوی نمونه و ایزواکتان در ۰/۵ میلی‌لیتر معرف پارا آنیزیدین حل گردید تا رنگ صورتی حاصل شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی قرار داده و جذب نمونه در ۳۵۰ نانومتر قرائت و از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد (۳۳).

تعیین شاخص پارا آنیزیدین (p-Anisidine Value): ابتدا نمونه روغن را وزن کرده و درون ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتر ریخته سپس حلال هگزان به آن افزوده و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار داده بعد با کاغذ صافی و قیف صاف کرده و آن را در ظرفی که قبلاً وزن کرده، ریخته شد. ظرف حاوی روغن و حلال درون حمام آب گرم قرار گرفت تا حلال آن

$$(4) \quad \rho\text{AV} = \frac{(1.2 \text{ As} - \text{Ab}) \times 25}{m}$$

اندازه‌گیری شاخص توتکس: محاسبه شاخص توتکس (TOTOX) با اندازه‌گیری عدد پراکسید و آنیزیدین، با استفاده از رابطه ۵ انجام گرفت (۳۴).

که در آن، ρAV اندیس آنیزیدین، As جذب نمونه، Ab جذب شاهد، m وزن نمونه (گرم).

$$(5) \quad \text{TOTOX} = \text{AV} + 2 \text{ PV}$$

یک ارلن‌مایر به ظرفیت ۵۰۰ تا ۷۰۰ میلی‌لیتر که به‌عنوان ظرف گیرنده زیر قسمت سردکننده دستگاه تقطیر قرار گرفت ۲۵ میلی‌لیتر از محلول ۲ درصد اسیدبوریک و چند قطره معرف متیل قرمز اضافه شد. بعد از انجام عملیات تقطیر محلول تقطیر شده با اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تیترو مقدار مصرف اسید

که در آن، AV شاخص آنیزیدین، PV مقدار پراکسید. اندازه‌گیری بازهای ازته فرار (TVB-N): برای اندازه‌گیری بازهای ازته فرار از روش ژنون و همکاران (۳۵) استفاده شد. بدین‌منظور به بالن تقطیر کلدال ۱۰ گرم از نمونه بافت، ۲ گرم اکسیدمنیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر و چند قطعه سنگ جوش اضافه شد. در

تعیین تفاوت بین تیمارها از آزمون دانکن (Duncan) استفاده شد. داده‌های به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار و با سه تکرار ($M \pm SD$, $n=3$) گزارش شد.

نتایج

خواص ضد اکسایشی و ضد میکروبی اسانس برگ زیتون: مقدار ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، درصد مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH) و قدرت احیاءکنندگی اسانس برگ زیتون به ترتیب، 96.2 mg GA/g E ، 43.4 mg QE/g E ، $154.1 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ و 291.17 درصد (جدول ۱).

سولفوریک در عدد ۱۴ ضرب، و مقدار بازهای ازته فرار بر حسب mg N/100 g Flesh محاسبه شد.

آنالیز میکروبی: برای شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی (TMC) و باکتری‌های سرمادوست از محیط کشت PCA (کیولب، کانادا) به ترتیب به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای 37°C و به مدت ۷ روز در یخچال با دمای 10°C انجام شد (۳۶).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 22، در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way Anova) و جهت

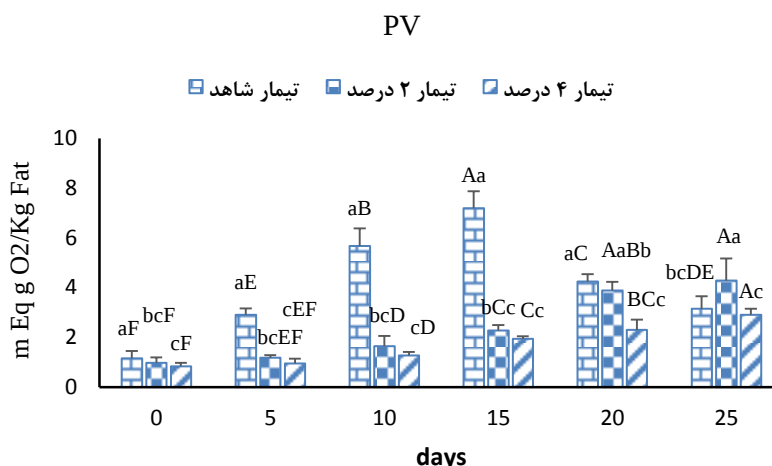
جدول ۱- میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، DPPH و قدرت احیاء اسانس برگ زیتون.

Table 1. The amount of phenolic compounds, flavonoids, DPPH and the reducing power of olive leaf essential oil.

ترکیبات Compounds	ترکیبات فنلی (TPC) Phenolic compounds	ترکیبات فلاونوئیدی (TFC) Flavonoids compounds	DPPH	قدرت احیاء (RP) Reducing Power
مقدار Level	96.2	43.4	154.1	291.17
واحد Unit	mg GA/g E	mg QE/g E	%	$\mu\text{g.ml}^{-1}$

بر کاهش مقدار پراکسید مؤثر بود. مقدار پراکسید در روز ۱۵ نگهداری در تیمار شاهد به بیش‌ترین مقدار یعنی $7/2 \text{ meq g O}_2/\text{Kg Fat}$ رسید و از روز ۱۵، روند کاهشی شد و در روز ۲۵ نگهداری به $3/15 \text{ meq g O}_2/\text{Kg Fat}$ رسید. اختلاف بین تیمار شاهد با تیمار ۲ و ۴ درصد در دوره نگهداری در یخچال معنی‌دار ($P < 0.05$) بود.

مقدار پراکسید (PV): مقدار پراکسید در تیمار شاهد در روز ۱۰ نگهداری، $5/68 \text{ meq g O}_2/\text{Kg Fat}$ و بیش از حد مجاز ($5 \text{ meq g O}_2/\text{Kg Fat}$) بود (شکل ۱)، در حالی‌که در دو تیمار ۲ و ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون در روز ۲۵ نگهداری به ترتیب، $4/28$ و $2/91 \text{ meq g O}_2/\text{Kg Fat}$ اعلام شد و نشان داد که افزایش غلظت اسانس برگ زیتون



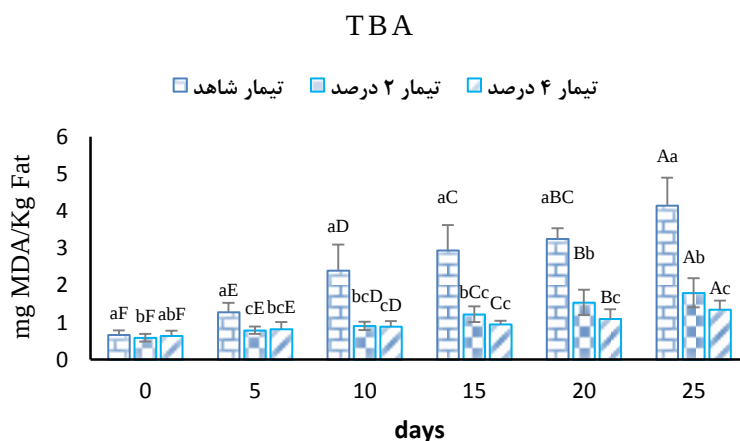
شکل ۱- مقادیر پراکسید (PV) فیله کپور معمولی تیمار شده با نانوامولسیون اسانس برگ زیتون طی نگهداری در یخچال. حروف انگلیسی بزرگ و کوچک به ترتیب، تفاوت آماری ($P < 0.05$) در داخل و بین تیمارها را نشان می‌دهد.

Figure 1. Peroxide values (PV) of common carp fillets treated with olive leaf essential oil nanoemulsion during refrigerated storage.

Uppercase and lowercase letters indicate statistical differences ($P < 0.05$) within and between treatments, respectively.

نگهداری مقدار تیوباربتوریک اسید در تیمار شاهد بیش از حد مجاز (۲ mg MDA/Kg Fat) گزارش شد اما مقدار این شاخص، در دو تیمار دیگر تا پایان دوره نگهداری کمتر از حد مجاز بود (شکل ۲). اختلاف بین تیمارها در روز اول نگهداری با روز ۱۰، ۲۰ و ۲۵ نگهداری معنی‌دار ($P < 0.05$) بود.

تیوباربتوریک اسید (TBA): مقدار تیوباربتوریک اسید روز صفر نگهداری در تیمار شاهد، تیمار ۲ و ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون در فیله کپور معمولی پرورشی به ترتیب، ۰/۶۷، ۰/۵۹ و ۰/۶۴ mg MDA/Kg Fat ثبت شد که طی نگهداری در دمای یخچال به تدریج افزایش یافته و در روز ۱۰



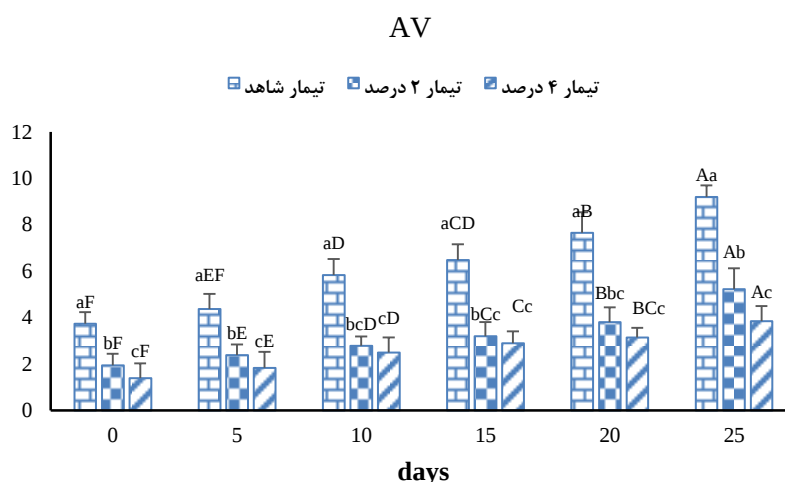
شکل ۲- مقادیر اسید تیوباربتوریک (TBA) فیله کپور معمولی تیمار شده با نانوامولسیون اسانس برگ زیتون طی نگهداری در یخچال. حروف انگلیسی بزرگ و کوچک به ترتیب، تفاوت آماری ($P < 0.05$) در داخل و بین تیمارها را نشان می‌دهد.

Figure 2. Thiobarbituric acid (TBA) levels of common carp fillets treated with olive leaf essential oil nanoemulsion during refrigerated storage.

Uppercase and lowercase letters indicate statistical differences ($P < 0.05$) within and between treatments, respectively.

افزایش یافت و این افزایش در تیمار شاهد بیش‌تر از تیمار ۲ و ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون بود و در روز ۲۵ نگهداری میزان AV در تیمارهای شاهد، ۲ و ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون به ترتیب، ۹/۲، ۵/۲۳ و ۳/۸۲، و اختلاف بین سه تیمار در روز ۲۵ نگهداری در یخچال معنی‌دار ($P<0.05$) بود.

شاخص پارا-آنیزیدین (pAV): مقدار آنیزیدین در تیمار شاهد در روز صفر نگهداری در یخچال، ۳/۷۴ و در تیمار ۲ و ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون فیله کپور معمولی پرورشی به ترتیب، ۱/۹۴ و ۱/۳۹ بود و اختلاف بین تیمار شاهد با دو تیمار دیگر معنی‌دار ($P<0.05$) است (شکل ۳). با افزایش زمان نگهداری میزان شاخص آنیزیدین در هر سه تیمار



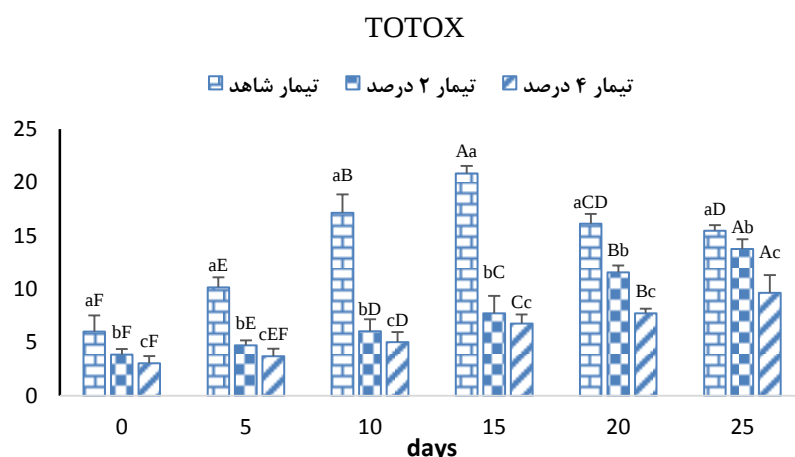
شکل ۳- مقادیر آنیزیدین (AV) فیله کپور معمولی تیمار شده با نانوامولسیون اسانس برگ زیتون طی نگهداری در یخچال. حروف انگلیسی بزرگ و کوچک به ترتیب، تفاوت آماری ($P<0.05$) در داخل و بین تیمارها را نشان می‌دهد.

Figure 3. Anisidine (AV) values of common carp fillets treated with olive leaf essential oil nanoemulsion during refrigerated storage.

Uppercase and lowercase letters indicate statistical differences ($P<0.05$) within and between treatments, respectively.

توتکس در تیمار ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ نسبت به تیمارهای شاهد و ۲ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون کم‌تر بود، بنابراین میزان محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون (توتکس) در تیمار شاهد بیش‌تر از دو تیمار دیگر بود. اختلاف بین تیمارها در تمام دوره نگهداری فیله کپور معمولی در یخچال معنی‌دار ($P<0.05$) بود (شکل ۴).

مقدار توتکس (TOTOX): شاخص توتکس در واقع بیانگر کل محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون روغن می‌باشد. این شاخص در تیمار ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون در روز صفر نگهداری ۳/۰۷ بود که طی دوره نگهداری فیله کپور معمولی در یخچال افزایش یافته و در روز ۲۵ نگهداری ۹/۶۷ گزارش شد. میزان افزایش شاخص



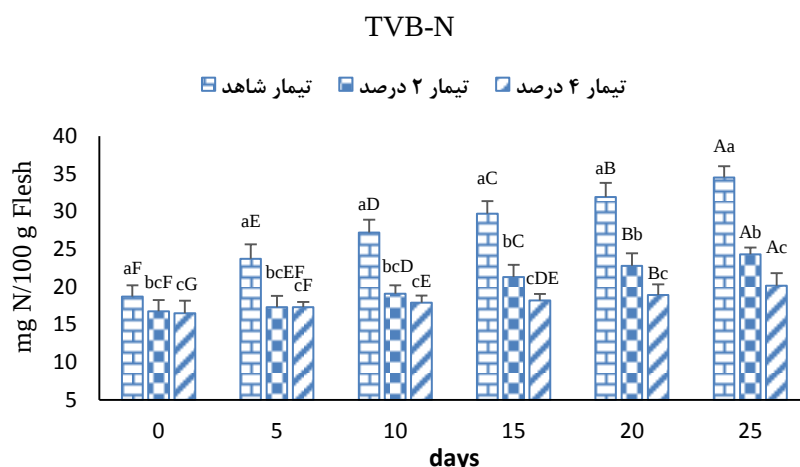
شکل ۴- مقادیر توتکس (TOTOX) فیله کپور معمولی تیمارشده با نانوامولسیون اسانس برگ زیتون طی نگهداری در یخچال. حروف انگلیسی بزرگ و کوچک به ترتیب، تفاوت آماری ($P<0.05$) در داخل و بین تیمارها را نشان می‌دهد.

Figure 4. TOTOX values of common carp fillets treated with olive leaf essential oil nanoemulsion during refrigerated storage.

Uppercase and lowercase letters indicate statistical differences ($P<0.05$) within and between treatments, respectively.

در روز ۱۰ نگهداری در تیمار شاهد از حد مجاز (۲۵ mg N/100 g Flesh) فراتر رفت ولی در دو تیمار دیگر تا پایان دوره نگهداری در یخچال به حد مجاز نرسید و در روز ۲۵ نگهداری، مقدار این شاخص در تیمارهای شاهد، ۲ و ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون به ترتیب، ۳۴/۵، ۲۴/۳۲ و ۲۰/۱۵ mg N/100 g Flesh گزارش شد.

بازهای ازته فرار (TVB-N): بیش‌ترین مقدار بازهای ازته فرار در تیمار شاهد و کم‌ترین آن در تیمار ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون مشاهده شد (شکل ۵). مقدار اولیه بازهای ازته فرار در تیمار شاهد، ۲ و ۴ درصد اسانس ۱۸/۷، ۱۶/۷۴ و ۱۶/۵ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم بافت گزارش شد و اختلاف بین تیمار شاهد با دو تیمار دیگر معنی‌دار ($P<0.05$) بود. مقدار بازهای ازته فرار



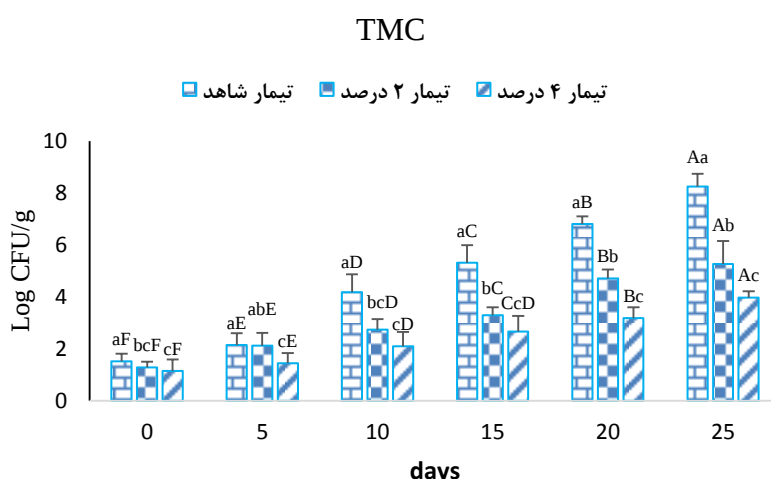
شکل ۵- مقادیر بازهای ازته فرار (TVB-N) فیله کپور معمولی تیمارشده با نانوامولسیون اسانس برگ زیتون طی نگهداری در یخچال. حروف انگلیسی بزرگ و کوچک به ترتیب، تفاوت آماری ($P<0.05$) در داخل و بین تیمارها را نشان می‌دهد.

Figure 5. TVB-N values of common carp fillets treated with olive leaf essential oil nanoemulsion during refrigerated storage.

Uppercase and lowercase letters indicate statistical differences ($P<0.05$) within and between treatments, respectively.

در یخچال تعداد این باکتری‌ها، به تدریج افزایش یافت و در روز ۲۵ نگهداری، فقط در تیمار شاهد تعداد باکتری‌های مزوفیل بیش از حد مجاز (10^7 CFU/g) گزارش شد. اختلاف بین سه تیمار در روزهای ۱۵، ۲۰ و ۲۵ نگهداری معنی‌دار ($P < 0.05$) بود.

باکتری‌های مزوفیل (TMA): تعداد باکتری‌های مزوفیل در تیمار شاهد در روز صفر نگهداری در یخچال، $1.52 \log \text{CFU/g}$ گزارش شد (شکل ۶). این باکتری‌های در تیمار ۲ و ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون در روز صفر نگهداری به ترتیب، $1.29 \log \text{CFU/g}$ و $1.15 \log \text{CFU/g}$ بود که طی دوره نگهداری

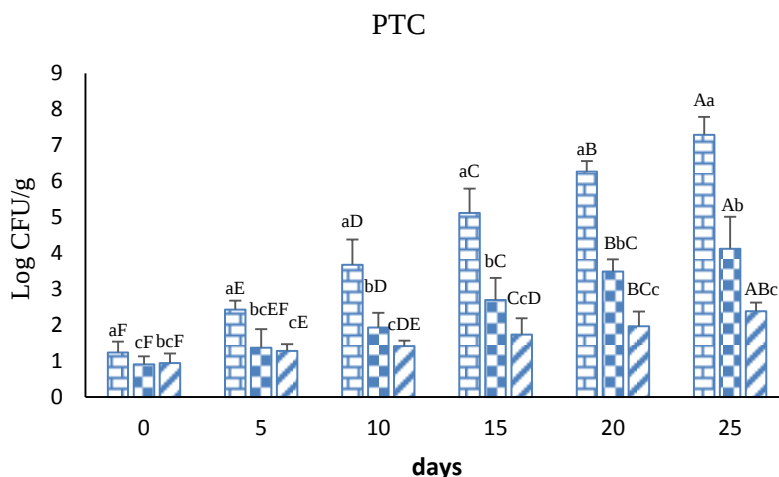


شکل ۶- کل باکتری‌های مزوفیل (TMC) فیله کپور معمولی تیمار شده با نانوامولسیون اسانس برگ زیتون طی نگهداری در یخچال. حروف انگلیسی بزرگ و کوچک به ترتیب، تفاوت آماری ($P < 0.05$) در داخل و بین تیمارها را نشان می‌دهد.

Figure 6. TMC of common carp fillets treated with olive leaf essential oil nanoemulsion during refrigerated storage. Uppercase and lowercase letters indicate statistical differences ($P < 0.05$) within and between treatments, respectively.

در تیمار شاهد $6.27 \log \text{CFU/g}$ و بیش از حد مجاز (10^6 CFU/g) گزارش شد. تعداد باکتری‌های سرمادوست در تیمارهای ۲ و ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون در پایان دوره نگهداری در یخچال (روز ۲۵) به ترتیب، $4.12 \log \text{CFU/g}$ و $2.39 \log \text{CFU/g}$ اعلام شد و اختلاف بین سه تیمار در کل دوره نگهداری به‌جز روزهای ۰ و ۵، معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد.

باکتری‌های سرمادوست (PTC): تعداد باکتری‌های سرمادوست فیله کپور معمولی روز صفر نگهداری در یخچال در تیمار شاهد، ۲ و ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون به ترتیب، 1.24 ، 0.91 و $0.95 \log \text{CFU/g}$ بود (شکل ۷). این باکتری‌ها به تدریج طی نگهداری تیمارها در یخچال افزایش یافته و به‌طوری‌که تعداد آن‌ها در روز ۲۰ نگهداری



شکل ۷- کل باکتری‌های سرمادوست (PTC) فیله کپور معمولی تیمار شده با نانوامولسیون اسانس برگ زیتون طی نگهداری در یخچال. حروف انگلیسی بزرگ و کوچک به ترتیب، تفاوت آماری ($P<0.05$) در داخل و بین تیمارها را نشان می‌دهد.

Figure 7. PTC of common carp fillets treated with olive leaf essential oil nanoemulsion during refrigerated storage. Uppercase and lowercase letters indicate statistical differences ($P<0.05$) within and between treatments, respectively.

سایه، توسط یوان و همکاران (۳۹) مطالعه شد. مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی و باکتریایی ترکیبات فنلی عصاره برگ زیتون توسط بورجان و همکاران (۴۰) و موداچه و همکاران (۴۱) که با نتایج این پژوهش منطبق می‌باشد. مقدار پراکسید در تیمار شاهد در روز ۱۰ نگهداری، $5.68 \text{ meq g O}_2/\text{Kg Fat}$ و بیش‌تر از حد مجاز ($5 \text{ meq g O}_2/\text{Kg Fat}$) گزارش شد (۴۲)، بیش‌ترین مقدار پراکسید در روز ۱۵ نگهداری در تیمار شاهد $7.2 \text{ meq g O}_2/\text{Kg Fat}$ ، مشاهده و سپس مقدار PV، کاهش یافت و در روز ۲۵ نگهداری به $3.15 \text{ meq g O}_2/\text{Kg Fat}$ رسید که علت آن کاهش محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون به دلیل تجزیه ترکیبات پراکسید و یا واکنش این ترکیبات با پروتئین عنوان کردند (۴۳). شاخص PV، در گزارش اثر نانوامولسیون اسانس آویشن شیرازی بر فیله کپور نقره‌ای طی دوره نگهداری افزایش یافت و فقط در تیمار شاهد از حد مجاز فراتر رفت که با نتایج این مطالعه همخوانی دارد (۱۷). علت این امر را گرفتار شدن ذرات کوچک چربی درون نانوامولسیون و اتصال

بحث

اسانس برگ زیتون حاوی ترکیبات فنلی (96.2 mg GA/g E) و فلاونوئیدی (mg QE/g E) (۴۳/۴) می‌باشد که این ترکیبات باعث فعالیت ضد اکسایشی، ضد میکروبی، مهار رادیکال‌های آزاد (۱۵۴/۱ درصد) و قدرت احیاءکنندگی به میزان $291.17 \mu\text{g.ml}^{-1}$ می‌گردد (جدول ۱). مقدار ترکیبات فنلی، DPPH، قدرت احیاءکنندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره برگ زیتون استخراج شده به دو روش غرقابی و مایکروویو از سه واریته کرونایکی، روغنی و میشن توسط رفیعی و همکاران (۳۷ و ۳۸)، مورد مطالعه قرار گرفت. بیش‌ترین میزان ترکیبات فنلی (244.667 میلی گرم تانیک اسید در گرم عصاره)، قدرت احیاءکنندگی (IC_{50} ۱۴۸/۰۱۵)، DPPH (IC_{50} ۷۴/۱۹) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل ($160.391 \mu\text{g.ml}^{-1}$) در عصاره برگ زیتون واریته کرونایکی استخراج شده به روش مایکروویو گزارش شد. خواص زیستی و ترکیبات شیمیایی اسانس برگ زیتون (*Olea europaea* L.) تازه و خشک شده در

اسانس به سطح دیواره سلولی، مانع از رسیدن اکسیژن به ذرات چربی شده و در نتیجه، اکسیداسیون چربی کاهش می‌یابد (۱۸). در مطالعه استفاده از نانومولسیون ذرت، آفتاب گردان، سویا، زیتون و فندق بر کیفیت فیله باس دریایی میزان ترکیبات پراکسید در تیمارهای دارای اسانس نانومولسیون به‌علت خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس و ساختار نانومولسیون نسبت به تیمار شاهد کمتر بود (۴۳). مقدار تیوباربتوریک اسید روز صفر نگهداری در تیمار شاهد، تیمار ۲ و ۴ درصد نانومولسیون اسانس برگ زیتون در فیله کپور معمولی پرورشی به‌ترتیب، ۰/۶۷، ۰/۵۹ و ۰/۶۴ mg MDA/Kg Fat ثبت شد و طی نگهداری در دمای یخچال به‌تدریج افزایش یافته و در روز ۱۰ نگهداری مقدار تیوباربتوریک اسید در تیمار شاهد بیش از حد مجاز (۲ mg MDA/Kg Fat) گزارش شد (۴۲) اما مقدار این شاخص، در دو تیمار دیگر تا پایان دوره نگهداری کمتر از حد مجاز بود. در گزارش خدری و رومیانی مقدار TBA در تیمار شاهد نسبت به سه تیمار ۱، ۰/۵ و ۱/۵ درصد نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی بیش‌تر بود و مقدار این شاخص در روز ۱۵ نگهداری در همه تیمارها از حد مجاز فراتر رفت (۱۷) که دلیل این امر را می‌توان به ساختار نانویی اسانس، ترکیبات دیواره نانومولسیون و عملکرد محافظت‌کنندگی آن، نوع و مقدار ترکیبات مؤثر ضد اکسایشی اسانس نسبت داد (۱۸، ۴۳ و ۴۴). در مورد مقادیر آنیزیدین و توتکس نیز مانند شاخص TBA، طی دوره نگهداری در یخچال دارای روند افزایشی بودند هرچند مقدار این دو شاخص در روز ۲۵ نگهداری کمتر از حد مجاز گزارش شد (شکل‌های ۳ و ۴). در مطالعه اسکوئردو و همکاران (۴۵)، نانومولسیون اسیدهای چرب غیراشباع ماهی کپور با استفاده از پلیمر زیستی کیتوزان- ژلاتین به نسبت‌های مختلف، شاخص‌های AV، PV و TOTOX مورد ارزیابی قرار گرفت،

شاخص‌های مذکور در همه تیمارها، طی نگهداری افزایش یافته اما نسبت افزایش در تیمار با دیواره پلیمری کیتوزان- ژلاتین به نسبت (۹۰ به ۱۰) از همه کم‌تر بود. شاخص‌های اکسیداتیو (PV، TBA، AV، TOTOX و) در مطالعه اثر نانومولسیون روغن آفتاب‌گردان بر کیفیت باس و سیم دریایی (۴۶)، نانومولسیون روغن آفتابگردان و اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) بر کیفیت فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (۴۷) و نانومولسیون روزماری، برگ بو، آویشن و مریم‌گلی بر فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (۴۸) بررسی شد، در همه این گزارش‌ها، تیمار شاهد یعنی تیمار فاقد نانومولسیون سریع‌تر از سایر تیمارها کاهش کیفیت داشت. بیش‌ترین مقدار بازهای ازته فرار در تیمار شاهد و کم‌ترین آن در تیمار ۴ درصد نانومولسیون اسانس برگ زیتون مشاهده شد. مقدار بازهای ازته فرار در روز ۱۰ نگهداری در تیمار شاهد از حد مجاز (۲۵ mg N/100 g Flesh) فراتر رفت (۴۹) اما در دو تیمار دیگر تا پایان دوره نگهداری در یخچال کم‌تر از حد مجاز بود. به‌طورکلی مصرف محصولاتی که مقدار TVB-N در آن بیش از ۳۵-۲۵ میلی‌گرم نیتروژن در هر صد گرم محصول باشد، نامناسب است (۵۰). میزان بازهای ازته فرار با بار باکتریایی (مزوفیل و سرمادوست) فیله در ارتباط مستقیم می‌باشد از آنجایی‌که تعداد باکتری‌های مزوفیل و سرمادوست در تیمار شاهد، ۲ و ۴ درصد نانومولسیون اسانس برگ زیتون طی دوره نگهداری در یخچال دارای روند افزایشی بود بنابراین افزایش ترکیبات TVB-N در فیله ماهی قابل پیش‌بینی است. در پژوهش‌های خدری و رومیانی (۱۷) شاخص‌های TVB-N، TMC و PTC در همه تیمارها طی دوره نگهداری در یخچال افزایش یافته، که این افزایش در تیمار شاهد نسبت به تیمار ۱، ۰/۵ و ۱/۵ درصد نانومولسیون

تیمار شاهد و تیمار ۲ درصد تا پایان دوره نگهداری (روز ۲۵) در یخچال را به خود اختصاص داد. هم‌چنین در صورت استفاده تجاری، توصیه می‌شود از این نانوامولسیون جهت نگهداری و حفظ کیفیت فرآورده‌های شیلاتی استفاده گردد.

تضاد منافع

داده‌های این مقاله از پایان‌نامه خانم رقیه محمودسلطانی، فارغ‌التحصیل مقطع کارشناسی‌ارشد رشته زیست‌فناوری صنایع غذایی مؤسسه آموزش عالی رودکی تنکابن استخراج شد.

تقدیر و تشکر

از همکاران محترم مجموعه آموزش عالی رودکی شهرستان تنکابن که امکانات لازم برای انجام این پروژه را فراهم نموده‌اند، صمیمانه سپاسگزارم.

اسانس آویشن شیرازی بیش‌تر بود (۱۷) که دلیل این امر، ساختار نانویی اسانس، ترکیبات دیواره نانوامولسیون و عملکرد محافظت‌کنندگی آن، و نوع و مقدار ترکیبات موثر ضداکسایشی و ضد میکروبی اسانس نسبت داد (۵۰). چنین نتایجی در پژوهش‌های اوزوگل و همکاران (۴۳ و ۴۸) با موضوع اثر نانوامولسیون روغن‌های تجاری و نانوامولسیون رزماری، برگ‌بو، آویشن و مریم‌گلی بر کیفیت شیمیایی، میکروبی و حسی باس پرورشی و فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان مشاهده شد.

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که فیله‌های ماهی کپور معمولی غوطه‌ور شده در محلول ۴ درصد نانوامولسیون اسانس برگ زیتون در مدت زمان نگهداری با اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$)، قوی‌ترین اثر ضد میکروبی و ضد اکسایشی را نسبت به

منابع

1. Bahmani, Z.A., Mahmood Soltani, R., & Mahmood Soltani, H. (2024). Fat oxidation delay of farmed common carp using aqueous extract of mistletoe (*Viscum album* L.) during storage in refrigerator (4 ± 1 °C). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 3(2), 23-37.
2. Hematyar, N., Rustad, T., Sampels, S., & Kastrup Dalsgaard, T. (2019). Relationship between lipid and protein oxidation in fish. *Aquaculture Research*, 50(5), 1393-1403.
3. Zhang, Q., Jia, S., Bai, Y., Zhou, X., & Ding, Y. (2021). Formation mechanisms of reactive carbonyl species from fatty acids in dry-cured fish during storage in the presence of free radicals. *Journal of Future Foods*, 1(2), 203-210.
4. Goli, A. H., Barzegar, M., & Sahari, M. A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food chemistry*, 92(3), 521-525.
5. Korukluoglu, M., Sahan, Y. A. S. E. M. İ. N., & Yigit, A. (2008). Antifungal properties of olive leaf extracts and their phenolic compounds. *Journal of food safety*, 28(1), 76-87.
6. Karthikumar, S., Vigneswari, K., & Jegatheesan, K. (2007). Screening of antibacterial and antioxidant activities of leaves of *Eclipta prostrata* (L). *Sci. Res. Essays*, 2(4), 101-104.
7. Japón-Luján, R., Luque-Rodríguez, J. M., & Luque de Castro, M. D. (2006). Multivariate optimisation of the microwave-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385, 753-759.

8. Cifá, D., Skrt, M., Pittia, P., Di Mattia, C., & Poklar Urih, N. (2018). Enhanced yield of oleuropein from olive leaves using ultrasound-assisted extraction. *Food science & nutrition*, 6(4), 1128-1137.
9. Şahin, S., Sayım, E., & Bilgin, M. (2017). Effect of olive leaf extract rich in oleuropein on the quality of virgin olive oil. *Journal of food science and technology*, 54, 1721-1728.
10. Yangui, T., Chakroun, H., Dhouib, A., & Bouaziz, M. (2021). Biological properties and chemical composition of essential oils from fresh and shade dried olive leaves of *Olea europaea* L. Chemlali Cultivar. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24(6), 1389-1401.
11. Bouaziz, M., Fki, I., Jemai, H., Ayadi, M., & Sayadi, S. (2008). Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. *Food Chemistry*, 108(1), 253-262.
12. Salta, F. N., Mylona, A., Chiou, A., Boskou, G., & Andrikopoulos, N. K. (2007). Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. *Food Science and Technology International*, 13(6), 413-421.
13. Khan, H., Ahmad, W., Hussain, I., Imran, M., Afridi, M. S., & Ullah, S. (2020). Phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of leaves of *Olea europaea* wild variety. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 640-648.
14. Debib, A., & Boukhatem, M. N. (2017). Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of "Chemlali" olive leaf (*Olea europaea* L.) extracts. *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine*, 6, 38-46.
15. Boukhebt, H., Chaker, A. N., Lograda, T., & Ramdani, M. (2015). Chemical and antimicrobial properties of essential oils of *Olea europaea* L. *Int. J. Pharmacol Toxicol.* 5(1), 42-46.
16. Falah Aski, T. F., Tooryan, F., Azizkhani, M., & Shahavi, M. H. (2021). Study of the effect of *Cuminum cyminum* nanoemulsion on the microbial and organoleptic properties of chicken fillet at 4 °C. *Journal of Veterinary Research*, 76(2), 192-204.
17. Khodri, N., & Rumiani, L. (2019). Evaluation of the effects of Shirazi thyme essential oil nanoemulsion on the chemical, microbial and sensory characteristics of silver carp fillet. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Industries*, 14(3), 63-74.
18. Donsì, F., & Ferrari, G. (2016). Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. *Journal of biotechnology*, 233, 106-120.
19. Keramatjou, E., Hesari, J., Azad Mard Damichi, S., Peighambaroust, S. H., & Nemati, M. (2013). Antioxidant effect of olive leaf on stability of butter. *Food Processing and Preservation Journal*, 5(1), 81-94.
20. Hasani, S., Ojagh, S. M., Ghorbani, M., & Hasani, M. (2020). Nano-encapsulation of lemon essential oil approach to reducing the oxidation process in fish burger during refrigerated storage. *J. Food Biosci. Technol.* 10(1), 35-46.
21. Yin, M. C., & Cheng, W. S. (2003). Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. *Meat science*, 63(1), 23-28.
22. Ksouda, G., Sellimi, S., Merlier, F., Falcimaigne-cordin, A., Thomasset, B., Nasri, M., & Hajji, M. (2019). Laboratory of Enzyme Engineering and Microbiology, National School of Engineering of Sfax. *Food Chemistry*, 19, 47-56.
23. Mayer, S., Weiss, J., & McClements, D. J. (2013). Vitamin E-enriched nanoemulsions formed by emulsion phase inversion: factors influencing droplet size and stability. *Journal of colloid and interface science*, 402, 122-130.
24. Moreira de Morais, J., David Henrique dos Santos, O., Delicato, T., Azzini Gonçalves, R., & Alves da Rocha-Filho, P. (2006). Physicochemical characterization

- of canola oil/water nano-emulsions obtained by determination of required HLB number and emulsion phase inversion methods. *Journal of dispersion science and technology*, 27(1), 109-115.
25. Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G., Reis, A. S., Santos, T. C. D., Coube, C. S., & Leitão, S. G. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy research*, 15(2), 127-130.
26. Iwalewa, E. O., Adewale, I. O., Taiwo, B. J., Arogundade, T., Osinowo, A., Daniyan, O. M., & Adetogun, G. E. (2008). Effects of Harungana madagascariensis stem bark extract on the antioxidant markers in alloxan induced diabetic and carrageenan induced inflammatory disorders in rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 5(1).
27. Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chemistry*, 105(3), 1126-1134.
28. Gorinstein, S., Vargas, O. J. M., Jaramillo, N. O., Salas, I. A., Ayala, A. L. M., Arancibia-Avila, P., ... & Trakhtenberg, S. (2007). The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. *European Food Research and Technology*, 225, 321-328.
29. Wahab, A., Jan, S. A., Rauf, A., ur Rehman, Z., Khan, Z., Ahmed, A., ... & Imran, M. (2018). Phytochemical composition, biological potential and enzyme inhibition activity of *Scandix pecten-veneris* L. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 19(2), 120.
30. Khan, H., Jan, S. A., Javed, M., Shaheen, R., Khan, Z., Ahmad, A., ... & Imran, M. (2016). Nutritional composition, antioxidant and antimicrobial activities of selected wild edible plants. *Journal of food biochemistry*, 40(1), 61-70.
31. AOCS, P. (2017). Peroxide Value. AOCS Method Cd 18-90 (11): Official Method. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society.
32. Siripatrawan, U., & Noipha, S. (2012). Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. *Food Hydrocolloids*, 27, 102-108.
33. AOCS, P. (2017). *p*-Anisidine Value. AOCS Method Cd 18-90 (11): Official Method. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society.
34. Shahidi, F., & Wanasundara, U. N. (2002). Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils. *Food lipids: Chemistry, nutrition and biotechnology*, 17, 387-403.
35. 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(18), 5167-5178.
36. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Holistic approach to total count of microorganisms-colony count technique at 30 °C. National Standard No. 5272.
37. Rafiee, Z., Jafari, S. M., Khomeiri, M., & Alami, M. (2011). Effect of variety and method of extraction on antioxidant and antimicrobial activity of olive leaf extracts. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 6(4), 297-307.
38. Rafiei, Z., Jafari, S. M., Alami, M., & Khomeiri, M. (2011). Antioxidant properties of olive leaf extract and its application in sunflower oil. *Research Journal of Food*, 21(1), 11-23.
39. Yuan, J. J., Wang, C. Z., Ye, J. Z., Tao, R., & Zhang, Y. S. (2015). Enzymatic hydrolysis of oleuropein from *Olea europaea* (olive) leaf extract and antioxidant activities. *Molecules*, 20(2), 2903-2921.

40. Borjan, D., Leitgeb, M., Knez, Ž., & Hrncić, M. K. (2020). Microbiological and antioxidant activity of phenolic compounds in olive leaf extract. *Molecules*, 25(24), 5946.
41. Moudache, M., Colon, M., Nerín, C., & Zaidi, F. (2016). Phenolic content and antioxidant activity of olive by-products and antioxidant film containing olive leaf extract. *Food Chemistry*, 212, 521-527.
42. Sallam, K. I. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control*, 18(5), 566-575.
43. Özogul, Y., Durmus, M., Ucar, Y., Özogul, F., & Regenstein, J. M. (2016). Comparative study of nanoemulsions based on commercial oils (sunflower, canola, corn, olive, soybean, and hazelnut oils): Effect on microbial, sensory, and chemical qualities of refrigerated farmed sea bass. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, 422-430.
44. Durmuş, M., Ozogul, Y., Köşker, A. R., Ucar, Y., Boğa, E. K., Ceylan, Z., & Ozogul, F. (2020). The function of nanoemulsion on preservation of rainbow trout fillet. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 895-904.
45. Esquerdo, V. M., Silva, P. P., Dotto, G. L., & Pinto, L. A. (2018). Nanoemulsions from unsaturated fatty acids concentrates of carp oil using chitosan, gelatin, and their blends as wall materials. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120(2), 1700240.
46. Yazgan, H., Ozogul, Y., Durmuş, M., Balıkcı, E., Gökdoğan, S., Uçar, Y., & Aksun, E. T. (2017). Effects of oil-in-water nanoemulsion based on sunflower oil on the quality of farmed sea bass and gilthead sea bream stored at chilled temperature (2 ± 2 °C). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(8), 979-992.
47. Shadman, S., Hosseini, S. E., Langroudi, H. E., & Shabani, S. (2017). Evaluation of the effect of a sunflower oil-based nanoemulsion with *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on the physicochemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during cold storage. *LWT-Food Science and Technology*, 79, 511-517.
48. Ozogul, Y., Yuvka, İ., Ucar, Y., Durmus, M., Köşker, A. R., Öz, M., & Ozogul, F. (2017). Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. *Lwt*, 75, 677-684.
49. Al-Busaidi, M. A., Yesudhasan, P., Al-Falahi, K. S., Al-Nakhaili, A. K., Al-Mazrooei, N. A., & AlHabsi, S. H. (2011). Changes in Scomberotoxin (Histamine) and Volatile Amine (TVB-N) Formation in Longtail Tuna (*Thunnus tonggol*) Stored at Different Temperatures. *Journal of Agricultural and Marine Sciences*, 16, 13-22.
50. Das, A. K., Nanda, P. K., Bandyopadhyay, S., Banerjee, R., Biswas, S., & McClements, D. J. (2020). Application of nanoemulsion-based approaches for improving the quality and safety of muscle foods: A comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(5), 2677-2700.