مقاله علمی – پژوهشی:

کنترل رشد باکتری *Staphylococcus aureus* در فیله کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) با استفاده از پد جاذب حاوی اسانس رزماری (*Rosmarinus officinalis*)

سمیه پیشرو[۱]، ابراهیم علیزاده دوغیکلائی[۱]، محسن شهریاری مقدم*[۲]، مصطفی یوسف الهی[۳]

*Mohsen.shahriari@uoz.ac.ir

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۳- گروه علوم دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۳

چکیده

در مطالعه حاضر تأثیر پد جاذب حاوی اسانس رزماری بر زمان ماندگاری فیله کپور معمولی تلقیح شده با باکتری *Staphylococcus aureus* طی نگهداری در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) مورد ارزیابی قرار گرفت. اسانس رزماری با استفاده از دستگاه Clevenger به روش تقطیر آبی استخراج گردید. پس از تعیین حداکثر غلظت اسانس رزماری که فاقد تاثیرات نامطلوب بر ویژگی‌های ارگانولپتیک فیله ماهی بود، فیله‌های تلقیح شده با باکتری *S. aureus* (10^3 *CFU*/g) روی پدهای جاذب حاوی ۱۰ میلی‌لیتر اسانس رزماری ۰/۵ درصد (تیمار ۱)، ۱ درصد (تیمار ۲) و ۱/۵ درصد (تیمار ۳) قرار گرفته و پس از بسته‌بندی در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. فراسنجه‌های شیمیایی (pH، PV، TBA، TVB-N) و میکروبی (شمارش باکتری *S. aureus*، TVC و PTC) در زمان‌های ۲۴، ۷۲، ۱۲۰، ۱۶۸ و ۲۱۶ ساعت اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین تعداد باکتری *S. aureus*، تعداد کل باکتری‌های مزوفیل و باکتری‌های سرماگرا به‌ترتیب در تیمار شاهد و تیمار ۳، هنگام نگهداری مشاهده گردید. پد جاذب حاوی ۱۰ میلی لیتر اسانس رزماری ۱/۵ درصد بیشترین تأثیر را درکند شدن روند افزایشی PV، TBA و TVB-N نشان داد به‌طوری‌که در پایان زمان آزمایش مقدار این شاخص‌ها به‌ترتیب ۰/۲۳±۰/۱۳ ۵، ۰/۱۰ ±۰/۰۲ ۲ و ۴۷/۹۴±۰/۱ ۳۰ در تیمار شاهد و ۰/۱۲±۰/۳۷ ۳، ۰/۰۸±۰/۳۳ ۱ و ۱/۲۵±۰/۱۰ ۲۰ در تیمار ۳ مشاهده گردید. بنابراین، از نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پد جاذب حاوی اسانس رزماری دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریایی است و زمان ماندگاری فیله ماهی کپور معمولی هنگام نگهداری در یخچال را ۳ روز افزایش داد.

لغات کلیدی: اسانس، *Staphylococcus aureus*، پد جاذب، رزماری، فیله کپور معمولی

*نویسنده مسئول

Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

مقدمه

هنگامی که گوشت به صورت سرد نگهداری می‌شود، ظرفیت نگهداری آب آن به‌تدریج کاهش می‌یابد و منجر به رها شدن مایع از بافت ماهیچه‌ای می‌گردد که این پدیده را "آبچلینگ" می‌گویند. تجمع این ترشحات می‌تواند کیفیت گوشت سرد شده را به دلیل فعالیت‌های میکروبی، اکسیداسیون چربی و فعالیت آنزیم‌ها طی فرآوری، حمل‌ونقل و نگهداری کاهش دهد و منجر به از دست رفتن منابع پروتئینی گردد (Dai *et al*., 2022). این وضعیت نه‌تنها منجر به کاهش ویژگی‌های حسی گوشت با افزایش سختی و ایجاد بوی نامطبوع گردیده بلکه می‌تواند منجر به افزایش خطرات میکروبی و بیماری‌های منتقله از غذا گردد (Tian *et al*., 2023a).

از آن‌جایی‌که تولید و مصرف ماهی در ایران و جهان به دلیل تقاضای مصرف‌کنندگان افزایش یافته، بنابراین کنترل ترشحات گوشت ماهی هنگام نگهداری و عرضه به بازار برای حفظ کیفیت و ایمنی آن ضروری است. سیستم‌های بسته‌بندی فعال مجهز به ترکیبات فعالی هستند که برای کاهش اکسیداسیون مواد غذایی و حفظ ویژگی‌های حسی به‌کار می‌روند. این سیستم‌ها با جذب سریع ترشحات می‌توانند محیط نگهداری نسبتاً خشکی را برای گوشت سرد شده ایجاد کنند، رشد میکروب‌ها را مهار و زمان ماندگاری محصول را افزایش دهند (Tian *et al*., 2023b). در نتیجه، بررسی مواد جدید و طراحی پدهای نگهدارنده با عملکرد بهتر برای افزایش زمان ماندگاری گوشت سرد شده امری ضروری است (Wang *et al*., 2025). به رغم مزایای مذکور، این پدها گاهی می‌توانند از نظر ایمنی میکروبی مشکل‌ساز باشند. زیرا باکتری‌های مضری که طی فرآیند تولید یا نگهداری مواد غذایی، پد را آلوده می‌کنند، می‌توانند از ترشحات جذب‌شده در پد به عنوان منبع تغذیه‌ای استفاده کرده و رشد کنند (Gouvêa *et al*., 2016).

یکی از نوآوری‌های سیستم‌های بسته‌بندی فعال، پدهای غذایی ضدمیکروبی هستند (Bovi *et al*., 2019). این پدها براساس پدهای سلولزی ساخته شده‌اند که معمولاً برای جذب رطوبت و مایعات از مواد غذایی تازه بسته‌بندی شده استفاده می‌شوند. این پدها می‌توانند حامل‌های خوبی برای مواد ضدمیکروبی در نظر گرفته شوند. اسانس‌های گیاهی ترکیبات طبیعی هستند که دارای فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی بالقوه هستند. اسانس‌ها از ترکیب ترپن‌ها، ترپنوئیدها و سایر ترکیبات معطر تشکیل شده‌اند و ترکیب آنها می‌تواند با توجه به نوع اسانس به طور قابل‌توجهی تغییر کند (Bakkali *et al*., 2008).

تحقیقات متعددی در زمینه کاربرد ترکیبات ضد باکتریایی در پدهای جاذب انجام گردید که می‌توان به استفاده از پد جاذب حاوی N-Halamine به عنوان ماده ضد باکتری برای افزایش زمان ماندگاری سینه مرغ (Ren *et al*., 2018)، کنترل میکروفلور مرتبط با فساد هندوانه با استفاده از پد جاذب حاوی نانوذرات سلولز- نقره (Fernández *et al*., 2010)، استفاده از پدهای نوآورانه مبتنی بر اسانس لیمو و کیتوزان در بهبود ماندگاری توت فرنگی تازه (Cefola *et al*., 2023)، استفاده از پد جاذب حاوی عصاره پوست انار (Maroufi *et al*., 2021) و اسانس پونه کوهی (Oral *et al*., 2009)، اشاره کرد. از مطالعات انجام شده بر محصولات شیلاتی می‌توان به استفاده از پد جاذب حاوی اسانس سیاه دانه یا رزماری به منظور افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی ساردین (Kilinc and Altas, 2016)، اثر پد جاذب حاوی اسانس دانه زنیان (*Carum copticum*) ر زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Bakhtiari *et al*., 2020) و تأثیر اسانس آویشن به همراه پد جاذب بر کیفیت و ماندگاری فیله ماهی کپور نقره‌ای (Podineh *et al*., 2020)، اشاره کرد.

گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) متعلق به خانواده نعناعیان، گیاهی چندساله و بوته‌ای بوده و در همه فصول سال سرسبز است. از ویژگی‌های بارز آن می‌توان به معطر بودن این گیاه (به عنوان طعم‌دهنده در مواد غذایی)، اشاره کرد. این گیاه بومی مدیترانه است و در ایران نیز کشت می‌شود. گیاه رزماری به علت داشتن خاصیت ضد میکروبی، ضد جهش‌زایی و ضد سرطان در صنایع پزشکی و دارویی یک گیاه با ارزش شناخته می‌شود. اسانس این گیاه گردش خون را در اعضای بدن افزایش می‌دهد و دارای اثرات ضد رماتیسمی بوده و کاهش‌دهنده دردهای عصبی است (Luqman *et al*., 2021). بنابراین، استفاده از اسانس این

گیاه به همراه پدجاذب برای نگهداری فیله ماهی و مهار باکتری‌های آلوده‌کننده آن به‌کار می‌رود.

بیماری‌های ناشی از غذا به دلیل شیوع، مرگ‌ومیر و تأثیرات منفی بر بخش‌های اقتصادی و تولیدی، یک مشکل جدی در حوزه سلامت عمومی در سراسر جهان محسوب می‌شوند. رایج‌ترین موارد و شیوع بیماری‌های ناشی از غذا، مسمومیت غذایی است که به علت مصرف غذاهایی مانند ماهی و محصولات آلوده به *S. aureus* و سموم است. وجود *S. aureus* در ماهی و محصولات مرتبط می‌تواند نشان‌دهنده آلودگی از طریق دستکاری انسانی باشد که در مراحل صید، حمل و نقل، نگهداری، فرآوری و آماده‌سازی رخ می‌دهد (Cortés-Sánchez *et al*., 2020).

با توجه به مطالب مذکور، این تحقیق با هدف تأثیر پد جاذب حاوی اسانس رزماری بر کاهش رشد باکتری *S. aureus* تلقیح شده به فیله ماهی کپور معمولی و بررسی تغییرات شیمیایی و میکروبی فیله ماهی کپور معمولی طی نگهداری در یخچال انجام شده است.

مواد و روش کار

تهیه ماهی و تیمارها

۳۰ عدد ماهی کپور معمولی با وزن متوسط ۵۸±۸۰۰ گرم به صورت زنده مهر ماه سال ۱۴۰۲ از بازار ماهی فروشان شهرستان زابل خریداری شده و به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه زابل انتقال داده شد. ماهی‌ها پس از شستشو و تخلیه امعاء و احشاء به صورت دستی فیله شدند. فیله‌ها پس از تلقیح با باکتری *S. aureus* (10^3) به همراه پدجاذب حاوی ۱۰ میلی لیتر اسانس رزماری ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد بسته بندی و در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. فراسنجه‌های شیمیایی و میکروبی در زمان‌های ۲۴، ۷۲، ۱۲۰، ۱۶۸ و ۲۱۶ ساعت اندازه‌گیری شدند. تمامی آزمایش‌ها با ۳ تکرار انجام گرفت.

استخراج اسانس

۱۰۰ گرم برگ خشک گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) به همراه حدود ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در بالن ۲۰۰۰ میلی‌لیتری ریخته شده و سپس عمل استخراج و اسانس‌گیری با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت انجام گردید. در زمان استخراج ترکیبات فرار همراه با بخار آب خارج شده و پس از سرد شدن به صورت لایه‌ای متمایز روی سطح آب در لوله مدرج دستگاه Clevenger مشاهده گردید (Faramarzpour Darzini *et al*., 2018).

ارزیابی ارگانولپتیک

برای دستیابی به حداکثر غلظت اسانس مورد استفاده در فیله کپور معمولی که فاقد تاثیرات نامطلوب ارگانولپتیک باشد، انجام گرفت. فیله‌ها پس از قرارگرفتن بر پدهای جاذب حاوی اسانس رزماری با غلظت‌های متفاوت (۱۰ میلی لیتر اسانس ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) بسته‌بندی شده و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال (۴ درجه سانتی گراد) نگهداری شدند. سپس فیله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه بخار پز خانگی با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد پخته شده و یک گروه ارزیاب آموزش دیده آنها را مورد ارزیابی قرار دادند. ارزیابی حسی بر اساس یک روش پنج امتیازی انجام و ویژه‌گی‌های بافت (۵، سفت؛ ۱، بسیار نرم)، تغییر رنگ (۵، بدون تغییر رنگ؛ ۱، تغییر رنگ شدید)، بو (۵، بسیار مطلوب؛ ۱، بسیار نامطلوب- بوی ناخوشایند) و مقبولیت کلی (۵، بسیار مطلوب؛ ۱، بسیار نامطلوب) تعیین شد (Ojagh *et al*., 2010).

آماده‌سازی و تلقیح باکتری *Staphylococcus aureus*

ابتدا باکتری *S. aureus* به محیط کشت عصاره قلب و مغز براث (BHIB) تلقیح و دو بار پاساژ دادن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. در پایان دوره کشت، باکتری‌ها با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ رسوب و بعد از تهیه رقت سریالی به مقدار نهایی 10^3 به فیله‌ها تلقیح شد (Faramarzpour Darzini *et al*., 2018).

فراسنجه‌های میکروبی

شمارش باکتری *Staphylococcus aureus*

۱۰ گرم فیله با ۹۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی مخلوط و به‌وسیله دستگاه هموژنایزر همگن شد. پس از تهیه رقت

سریالی، نمونه برای شمارش باکتری *S. aureus* به روش کشت سطحی در پلیت‌های حاوی محیط کشت بردپارکر آگار با مخلوط محیط کشت اختصاصی باکتری *S. aureus* که سوسپانسیون زرده تخم مرغ بود، منتقل شده و کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای شمارش کلنی‌ها، گرمخانه‌گذاری شدند (Smaoui *et al.*, 2016).

شمارش باکتری‌های مزوفیل (TVC) و باکتری‌های سرماگرا (PTC)

۱۰ گرم فیله با ۹۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی مخلوط و همگن شد. پس از تهیه رقت سریالی، نمونه‌های تهیه شده در محیط کشت نوترینت آگار به طور سطحی پخش شده و کشت داده شد. برای شمارش باکتری‌های مزوفیل (TVC) و سرماگرا (PTC) پلیت‌ها به‌ترتیب پس از ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و پس از ۱۰ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد شمارش شدند (Arashisar *et al.*, 2004).

فراسنجه‌های شیمیایی

پراکسید (PV)

برای استخراج چربی، ۵۰ گرم فیله چرخ شده با آب، متانول و کلروفوم (۲۵: ۱۰۰: ۱۰۰) مخلوط گردید. یک گرم از مخلوط حاصله در ۲۵ میلی‌لیتر حلال (۲ قسمت کلروفرم: ۳ قسمت اسیداستیک) حل شد. ۱ میلی‌لیتر یدور پتاسیم اشباع به محلول اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. سپس ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر از محلول نشاسته (۱ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) به محلول تثبیت شده اضافه گردید. تیتراسیون محلول با تیوسولفات سدیم ۰/۱ مولار تا بی رنگ شدن انجام گردید (Li *et al.*, (2012:

$$PV=(S-B) \times F \times \text{mol equiv}/ L(N) \times 1000/W$$

تیوباربیتوریک اسید (TBA)

اندازه‌گیری این شاخص به روش رنگ‌سنجی انجام گرفت. برای حل شدن نمونه ۱ میلی‌لیتر ۱- بوتانول به ارلن ۲۵ میلی‌لیتری حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم فیله چرخ شده اضافه گردید و سپس مخلوط به حجم رسانده شد. پس از انتقال ۵ میلی‌لیتر مخلوط به لوله آزمایش، معرف TBA به آن اضافه و سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۱۲۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در یک حمام آب گرم قرار داده شدند. پس از خنک شدن لوله‌ها، جذب (As) آن‌ها در ۵۳۰ نانومتر در برابر آب خالص (Ab) قرائت گردید. شاخص TBA (میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم گوشت ماهی) براساس رابطه ذیل محاسبه شد (Li *et al.*, 2012).

$$TBA= 50 \times (As - Ab) /200$$

مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

۱۰ گرم فیله چرخ شده با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر با دستگاه هموژنایزر به‌خوبی مخلوط گردید. مخلوط حاصل به بالن ته گرد ۵۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شده و سپس دو گرم اکسیدمنیزیوم و یک قطره سیلیکون اضافه گردید. یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۵ میلی‌لیتر مخلوط محلول آبی اسید بوریک ۳٪، ۴٪. میلی لیتر متیل رد و متیل بلو به عنوان اندیکاتور برای تیتراسیون آمونیاک استفاده شد. عمل تقطیر تا رسیدن به حجم نهایی ۱۲۵ میلی‌لیتر ادامه یافت. محلول اسید بوریک به رنگ سبز تغییر پیدا کرد. سپس به‌وسیله محلول ۰/۱ نرمال اسید هیدروکلریک تیتر شد. پایان تیتراسیون زمانی بود که رنگ اسید بوریک به صورتی تغییر کرد. میزان TVB-N (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی) براساس فرمول ذ اندازه‌گیری شد (Goulas and Kontominas, 2007).

$$\text{(TVB-N = مقدار V} \times 10/ (100 \times 14 \times C$$

V=مقدار مصرفی اسید کلریدریک، C= مقدار مصرفی اسید هیدروکلریک

اندازه‌گیری pH

۵ گرم فیله چرخ شده با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر در یک همزن به مدت ۳۰ ثانیه به‌خوبی مخلوط شد. سپس pH نمونه‌ها با دستگاه pH متر دیجیتالی که در pH= ۴ و ۷ کالیبره شده بود، اندازه گیری گردید (AOAC, 2005).

روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

بعد از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، برای بررسی تأثیر تیمارها و زمان نگهداری از طرح کاملاً تصادفی و تجزیه واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) استفاده شد. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها، از آزمون دانکن در سطح معنی‌دار پنج درصد و در صورت پیروی نکردن داده‌ها از توزیع نرمال و آنالیز داده‌های حسی، از آزمون ناپارامتریک Kruskal–Wallis استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گرفت.

نتایج

ارزیابی ارگانولپتیک

نتایج ارزیابی ارگانولپتیک فیله‌های کپور معمولی به همراه پد جاذب حاوی درصدهای مختلف اسانس رزماری نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف شاخص‌های ارگانولپتیک وجود نداشته است. اما بالاترین امتیاز مربوطه به تیمار ۰/۵ درصد اسانس رزماری برای همه شاخص‌های ارگانولپتیک بود (جدول ۱).

جدول ۱: ارزیابی ارگانولپتیک فیله‌های کپور معمولی به همراه پد جاذب حاوی اسانس رزماری

Table 1: Organoleptic evaluation of common carp fillets with absorbent pad containing rosemary essential oil

Rosemary essential oil (%)	Organoleptic indicators				
	Flavour	Odour	Texture	Colour	Overall acceptability
0.5	22.92	25.31	23.31	24.19	23.88
1	19.58	18.46	18.40	17.54	18.42
1.5	17.50	16.23	18.65	18.27	17.69

شمارش باکتری *Staphylococcus aureus*

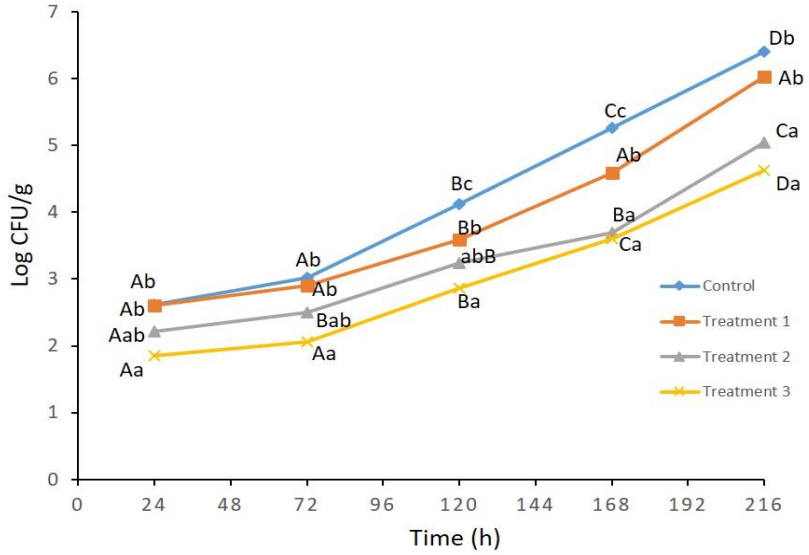
در این پژوهش باکتری *S. aureus* (۱۰^{۳}) به تمامی فیله‌های کپور معمولی تلقیح گردید. با توجه به شکل ۱، باکتری *S. aureus* به‌خوبی در فیله کپور معمولی رشد کرد و با گذشت زمان افزایش معنی‌داری یافت (p<۰/۰۵). اما تعداد این باکتری در تیمارهای حاوی اسانس کمتر بود به‌طوری‌که با افزایش مقدار اسانس کاهش معنی‌داری در تعداد آن مشاهده گردید که نشان‌دهنده تأثیر مثبت اسانس رزماری بر رشد این باکتری در زمان‌ها و تیمارهای مختلف است. بیشترین و کمترین تعداد باکتری به‌ترتیب در تیمار شاهد و تیمار ۳ (۱۰ میلی لیتر اسانس رزماری ۱/۵ درصد) پس از ۲۱۶ ساعت مشاهده گردید. تفاوت معنی‌داری (p<۰/۰۵) بین تیمارهای مختلف نیز مشاهده گردید.

باکتری‌های مزوفیل (TVC)

تأثیر کاربرد اسانس رزماری بر باکتری‌های مزوفیل نشانگر کاهش تعداد این باکتری‌ها پس از افزودن آن به فیله بود به‌طوری‌که با افزایش غلظت اسانس رزماری، کاهش معنی‌داری در تعداد باکتری‌های مزوفیل مشاهده گردید (شکل ۲). باکتری‌های مزوفیل در همه تیمارها با افزایش زمان نگهداری افزایش یافت به‌طوری‌که بالاترین میزان آن در زمان ۲۱۶ ساعت مشاهده شد (p<۰/۰۵). این افزایش در گروه شاهد (فاقد اسانس) به طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود (p<۰/۰۵). تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف در زمان‌های نگهداری مشاهده گردید که کمترین تعداد مربوط به تیمار سوم (۱۰ میلی لیتر اسانس رزماری ۱/۵ درصد) بود (p<۰/۰۵).

باکتری‌های سرماگرا (PTC)

در شکل ۳ افزایش تعداد باکتری‌های سرماگرا فیله کپور معمولی تلقیح شده با *S. aureus* هنگام نگهداری در یخچال نشان داده شده است. نتایج نشان‌دهنده کاهش تعداد این باکتری با افزایش غلظت اسانس رزماری است به‌طوری‌که کمترین تعداد این باکتری در تیمار سوم (۱۰ میلی لیتر اسانس ۱/۵ درصد) مشاهده گردید (p<۰/۰۵). تفاوت معنی داری بین تیمار شاهد و سایر تیمارها در زمان‌های مختلف نگهداری مشاهده گردید (p<۰/۰۵).

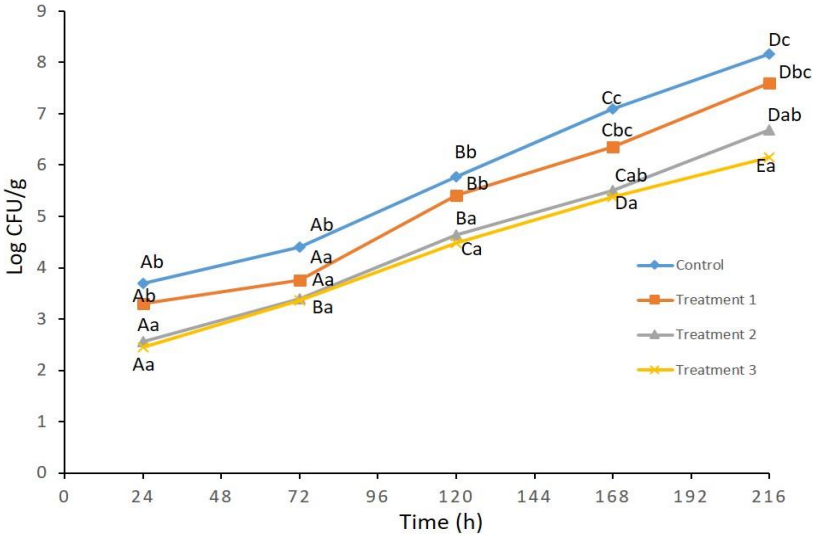


شکل ۱: تأثیر پدجاذب حاوی اسانس رزماری بر *Staphylococcus aureus* (Log CFU/g) فیله کپور معمولی هنگام نگهداری در یخچال

حروف کوچک متفاوت (a, b, c) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین تیمارها بوده و حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین زمان‌های مختلف است.

Figure 1: Effect of absorbent pad containing rosemary essential oil on the *Staphylococcus aureus* (Log CFU/g) of common carp fillet during refrigerated storage.

Small letters (a, b, c) on the different chart indicate significant differences (P<0.05) of treatment and capital letters (A, B, C, D) on the same chart indicate significant differences (P<0.05) of storage.

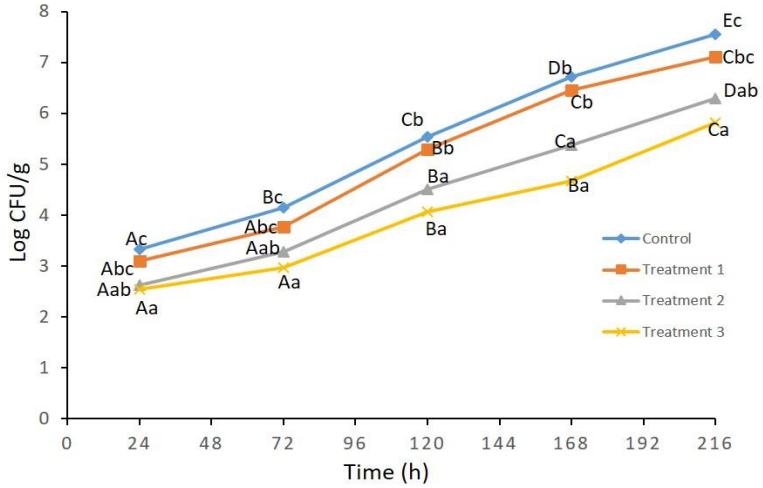


شکل ۲: تأثیر پدجاذب حاوی اسانس رزماری بر باکتری‌های مزوفیل (Log CFU/g) فیله کپور معمولی تلقیح شده با *Staphylococcus aureus* هنگام نگهداری در یخچال

حروف کوچک متفاوت (a, b, c) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین تیمارها بوده و حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین زمان‌های مختلف است.

Figure 2: Effect of absorbent pad containing rosemary essential oil on the mesophilic bacteria (Log CFU/g) of common carp fillet inoculated with *Staphylococcus aureus* during refrigerated storage.

Small letters (a, b, c) on the different chart indicate significant differences (P<0.05) of treatment and capital letters (A, B, C, D) on the same chart indicate significant differences (P<0.05) of storage.



شکل ۳: تأثیر پدجاذب حاوی اسانس رزماری بر باکتری‌های سرماگرا (Log CFU/g) فیله کپور معمولی تلقیح شده با *Staphylococcus aureus* هنگام نگهداری در یخچال

حروف کوچک متفاوت (a, b, c) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین تیمارها بوده و حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین زمان‌های مختلف است.

Figure 3: Effect of absorbent pad containing rosemary essential oil on the total psychrotrophic bacteria (Log CFU/g) of common carp fillet inoculated with *Staphylococcus aureus* during refrigerated storage.
Small letters (a, b, c) on the different chart indicate significant differences (P<0.05) of treatment and capital letters (A, B, C, D) on the same chart indicate significant differences (P<0.05) of storage.

پراکسید (PV)

در جدول ۲، نتایج به‌خوبی تأثیر اسانس رزماری بر تیمارهای مختلف را پس از ۲۴ ساعت نشان می‌دهد به‌طوری‌که با افزایش غلظت اسانس، مقدار PV کاهش می‌یابد. میزان این شاخص هنگام نگهداری در یخچال به طور معنی‌داری افزایش یافت. اما این افزایش در گروه شاهد (فاقد اسانس) به طور معنی‌داری بالاتر از سایر تیمارها بود و پس از ۲۱۶ ساعت به بالاترین مقدار رسید (p<۰/۰۵). کمترین میزان شاخص PV در تیمار سوم (حاوی ۱۰ میلی‌لیتر اسانس رزماری ۱/۵ درصد) در همه زمان‌های نگهداری مشاهده گردید (p<۰/۰۵).

جدول ۲: تأثیر پدجاذب حاوی اسانس رزماری بر پراکسید (میلی‌اکی‌والان O_2 در کیلوگرم چربی) فیله کپور معمولی تلقیح شده با Staphylococcus aureus هنگام نگهداری در یخچال

Table 2: Effect of absorbent pad containing rosemary essential oil on the peroxide value (meq O_2/Kg oil) of common carp fillet inoculated with Staphylococcus aureus during refrigerated storage.

Treatments	Storage time (h)				
	24	72	120	268	216
Control	0.65±0.02bA	1.30±0.06bA	2.67±0.18cB	3.67±0.22cC	5.13±0.23bD
1	0.59±0.01bA	1.13±0.09bA	2.59±0.22bcB	3.60±0.10bcC	4.93±0.27bD
2	0.49±0.02aA	0.80±0.07aA	1.93±0.09abB	2.93±0.19abC	3.50±0.13aD
3	0.47±0.03aA	0.62±0.06aA	1.87±0.12aB	2.63±0.09aC	3.37±0.12aD

حروف کوچک متفاوت (a,b,c) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p < ۰/۰۵) بین تیمارها بوده و حروف بزرگ متفاوت (A,B,C,D) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p < ۰/۰۵) بین زمان‌های مختلف است.

Small letters (a, b, c) on the different chart indicate significant differences (P<0.05) of treatment and capital letters (A, B, C, D) on the same chart indicate significant differences (P<0.05) of storage.

تیوباربیتوریک اسید (TBA)

تغییرات TBA تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال نشان می‌دهد که با گذشت زمان میزان TBA در همه تیمارها افزایش یافته است (جدول ۳). اما تیمارهای حاوی اسانس رزماری دارای مقدار TBA کمتری نسبت به تیمار شاهد (فاقد اسانس) بودند. تفاوت معنی داری بین تیمارهای مختلف در زمان‌های مختلف نگهداری مشاهده گردید (p<۰/۰۵). نتایج نشان دهنده تأثیر معنی‌دار افزایش غلظت اسانس رزماری بر مقدار TBA فیله کپور معمولی تلقیح شده با *S. aureus* هنگام نگهداری در یخچال است.

جدول ۳: تأثیر پدجاذب حاوی اسانس رزماری بر تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم مالون دی آلدهید در کیلوگرم گوشت) فیله کپور معمولی تلقیح شده با *Staphylococcus aureus* هنگام نگهداری در یخچال

Table 3: Effect of absorbent pad containing rosemary essential oil on thiobarbituric acid (mg malonaldhyde /kg flesh) of common carp fillet inoculated with *Staphylococcus aureus* during refrigerated storage.

Treatments	Storage time (h)				
	24	72	120	268	216
Control	0.43±0.03cA	0.71±0.03bA	1.37±0.14cB	1.57±0.07cB	2.02±0.10bC
1	0.37±0.01bcA	0.68±0.04bB	1.17±0.07bcC	1.33±0.09bcC	1.96±0.07bD
2	0.30±0.01abA	0.53±0.04aAB	0.81±0.05abBC	1.03±0.09abC	1.40±0.09aD
3	0.25±0.03aA	0.45±0.03aA	0.73±0.04aB	0.87±0.06aB	1.33±0.08aC

حروف کوچک متفاوت (a, b, c) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین تیمارها بوده و حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین زمان‌های مختلف است.

Small letters (a, b, c) on the different chart indicate significant differences (P<0.05) of treatment and capital letters (A, B, C, D) on the same chart indicate significant differences (P<0.05) of storage.

مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

با توجه به ۴، نتایج نشان می‌دهد که مجموع بازهای نیتروژنی فرار تیمار شاهد به طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای حاوی اسانس رزماری بود (p<۰/۰۵). مقدار این شاخص با گذشت زمان در تمامی تیمارها طی نگهداری در یخچال افزایش یافت. هر چند افزایش اسانس موجب کاهش این شاخص در تیمارهای حاوی اسانس گردید، اما تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای ۲ و ۳ طی نگهداری در یخچال مشاهده نگردید.

جدول ۴: تأثیر پدجاذب حاوی اسانس رزماری بر مجموع بازهای نیتروژنی فرار (میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی) فیله کپور معمولی تلقیح شده با *Staphylococcus aureus* هنگام نگهداری در یخچال

Table 4: Effect of absorbent pad containing rosemary essential oil on total volatile basic nitrogen (mg N/100g flesh fish) of common carp fillet inoculated with *Staphylococcus aureus* during refrigerated storage.

Treatments	Storage time (h)				
	24	72	120	268	216
Control	8.09±0.24cA	11.93±0.48bA	18.77±0.94bB	24.20±0.90bC	30.47±1.94bD
1	7.13±0.19bA	10.90±0.70bA	16.73±0.96bC	22.43±0.67bD	27.93±0.75bE
2	6.20±0.15aA	8.23±0.32aA	13.13±0.64aB	17.64±1.00aC	20.97±0.84aD
3	6.07±0.14aA	8.00±0.36aAB	10.83±0.33aB	15.27±0.67aC	20.10±1.25aD

حروف کوچک متفاوت (a, b, c) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین تیمارها بوده و حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین زمان‌های مختلف است.

Small letters (a, b, c) on the different chart indicate significant differences (P<0.05) of treatment and capital letters (A, B, C, D) on the same chart indicate significant differences (P<0.05) of storage.

pH

تفاوت معنی داری بین pH تیمارهای مختلف پس از ۲۴ ساعت مشاهده نگردید. مقدار این شاخص در تمامی تیمارها پس از ۷۲ ساعت کاهش یافت. سپس افزایش آن تا پایان دوره نگهداری در تیمارهای مختلف مشاهده گردید. این افزایش در تیمارهای حاوی اسانس رزماری کمتر بود

به‌طوری‌که پس از ۲۱۶ ساعت تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمارهای ۲ و ۳ مشاهده گردید (جدول ۵).

جدول ۵: تأثیر پدجاذب حاوی اسانس رزماری بر pH فیله کپور معمولی تلقیح شده با *Staphylococcus aureus* هنگام نگهداری در یخچال

Table 5: Effect of absorbent pad containing rosemary essential oil on the pH of common carp fillet inoculated with *Staphylococcus aureus* during refrigerated storage.

Treatments	Storage time (h)				
	24	72	120	268	216
Control	6.39±0.01aA	6.22±0.02aAB	6.47±0.07bB	6.70±0.06aC	6.93±0.03cD
1	6.38±0.02aA	6.22±0.02aA	6.33±0.03abA	6.70±0.06aB	6.80±0.06bcB
2	6.38±0.04aBC	6.15±0.03aA	6.27±0.04abAB	6.53±0.03aCD	6.60±0.06abD
3	6.38±0.02aBC	6.12±0.04aA	6.23±0.03aAB	6.47±0.07aC	6.53±0.03aC

حروف کوچک متفاوت (a, b, c) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین تیمارها بوده و حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) بین زمان‌های مختلف است.

Small letters (a, b, c) on the different chart indicate significant differences (P<0.05) of treatment and capital letters (A, B, C, D) on the same chart indicate significant differences (P<0.05) of storage.

بحث

اهمیت ارزیابی ارگانولپتیک برای پذیرش فرآورده‌های شیلاتی بر کسی پوشیده نیست، چون نظر مصرف‌کننده تعیین‌کننده ادامه تولید محصولات شیلاتی است. بنابراین، بررسی تأثیر اسانس بر خواص ارگانولپتیک فیله از اهمیت خاصی برخوردار است. بو، یکی از ویژگی‌های مهم ارگانولپتیک بوده که در پذیرش و مصرف ماهی پس از افزودن اسانس طی نگهداری حائز اهمیت است. همچنین نحوه کاربرد اسانس نیز می‌تواند مؤثر باشد. در تحقیق حاضر درصدهای مختلف اسانس رزماری به پد جاذب اضافه گردید. سپس فیله‌ها روی پدهای حاوی اسانس قرار گرفتند و پس از ۲۴ ساعت نگهداری در یخچال ارزیابی شدند. اگر چه اسانس رزماری بر خواص ارگانولپتیک فیله ماهی تأثیر می‌گذارد، اما این تأثیر از نظر ارزیاب‌ها معنی‌دار نبوده است و تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نگردید که می‌تواند به علت تأثیر غیر مستقیم اسانس‌ها بر فیله باشد. نتایج نشان داد که پد جاذب حاوی ۱۰ میلی‌لیتر اسانس رزماری ۰/۵ درصد، دارای بالاترین امتیاز برای همه شاخص‌های ارگانولپتیک مورد آزمایش بود (جدول ۱). هدف ارزیابی ارگانولپتیک در این تحقیق، تعیین حد قابل قبول افزودن اسانس به پد جاذب بوده است. بنابراین، هر ۳ غلظت مورد استفاده در این ارزیابی برای افزودن به پد جاذب مطابق نتایج ارزیابی ارگانولپتیک، محدودیتی برای این تحقیق ایجاد ننمود.

S. aureus از جمله باکتری‌های بیماری‌زاست که موجب مسمومیت‌های غذایی می‌شود. این باکتری با تولید توکسین‌های مقاوم به گرما منجر به بروز معضلات جدی بر سلامت مصرف‌کنندگان می‌شود (Necidová *et al*., 2019) در نتیجه، تلاش برای یافتن روش‌های نوین برای کنترل رشد این باکتری در مواد غذایی با فسادپذیری بالا مانند گوشت‌ماهی، اهمیت شایانی دارد. در تحقیق حاضر، نتایج به‌خوبی نشانگر تأثیر اسانس رزماری بر کنترل رشد باکتری *S. aureus* در فیله کپور معمولی طی نگهداری در یخچال است به‌طوری‌که با افزایش زمان نگهداری، مقدار آن در تیمارهای حاوی اسانس کمتر بود. اسانس رزماری دارای ترکیبات فعال اصلی از جمله کارنوسیک اسید، کامفر و سینئول است که موجب خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی آن می‌شوند. نتایج سایر پژوهش‌ها نشان داد که کارنوسیک اسید موجود در اسانس رزماری با مهار سیستم تنفسی باکتری‌ها، باعث کاهش تولید انرژی در سلول‌های باکتری و کاهش فعالیت تکثیری آنها می‌شود (Borges *et al*., 2019; Park *et al*., 2019). بنابراین، افزایش غلظت اسانس موجب کاهش بیشتر یا مهار بهتر رشد *S. aureus* در تحقیق حاضر گردید. نتایج مشابهی هنگام استفاده از عصاره آبی و اتانولی گیاه شنبلیه برای کنترل رشد باکتری *S. aureus* تلقیح شده به فیله کپور معمولی گزارش گردید (Arbab *et al*., 2020).

نتایج شکل ۲ نشان داد که تعداد کل باکتری‌های مزوفیل در تمامی تیمارها طی نگهداری در یخچال افزایش یافت به‌طوری‌که تعداد آن در تیمار شاهد در روز ۷ (۱۶۸ ساعت) و تیمار ۱ در پایان دوره آزمایش از حد قابل قبول گذشت. اما در تیمارهای ۲ و ۳ مقدار TVC به‌ترتیب به ۶/۱۵ و ۶/۶۸ لگاریتم CFU/g در پایان دوره آزمایش رسید. این مقادیر از نظر میکروبیولوژیک برای گونه‌های آب شیرین و دریایی قابل‌قبول هستند، زیرا زیر آستانه ۷ لگاریتمCFU/g قرار دارند (Savvaidis *et al*., 2002) که نشان‌دهنده بهبود خواص ضدباکتریایی پدهای جاذب پس از افزودن اسانس رزماری است. مطالعه سایر محققین نشان داد که افزودن اسانس زنیان به پد جاذب، موجب کنترل رشد تعداد کل باکتری‌های مزوفیل در فیله ماهی قرل‌آلا گردید (Bakhtiari *et al*., 2020). بنابراین، افزودن اسانس‌ها به پدهای جاذب سبب کنترل رشد باکتری‌ها می‌گردد به‌طوری‌که کاربرد اسانس رزماری روش کارآمدی برای افزایش زمان ماندگاری فیله کپور نقره‌ای است (Abdollahi *et al*., 2014).

هنگامی که زمان نگهداری مواد غذایی در یخچال افزایش می‌یابد، باکتری‌های سرما گرا با تولید کتون‌ها و آلدهیدها موجب پایین آوردن کیفیت ماده غذایی و تغییر بو، مزه و بافت ماده غذایی می‌شوند. بنابراین، این باکتری‌ها از عوامل مهم فساد مواد غذایی طی نگهداری در یخچال هستند (Sallam *et al*., 2007). در مطالعه حاضر، استفاده از اسانس برگ رزماری در پدها موجب کنترل رشد این باکتری‌ها گردید. در پایان دوره آزمایش، تعداد باکتری‌های سرما گرا در تیمارهای حاوی اسانس برگ رزماری کمتر از تیمار شاهد بوده که این امر نشان‌دهنده نقش پد جاذب حاوی اسانس رزماری در کنترل رشد باکتری‌های سرماگراست. تعداد این باکتری‌ها در تیمارهای شاهد و ۱ پس از ۹ روز (۲۱۶ ساعت) نگهداری در یخچال از حد مجاز گذشتند درحالی‌که تیمارهای ۲ و ۳ در حد قابل قبول بودند. میزان پراکسید با افزایش زمان نگهداری در تمامی تیمارهای این تحقیق به طور معنی‌داری افزایش یافت. کمترین مقدار PVدر تیمار ۳ (پد جاذب حاوی ۱۰ میلی لیتر اسانس ۱/۵ درصد) به میزان ۰/۱۲±۳۷/ ۳ (میلی‌اکی والان O_2 بر کیلوگرم چربی) مشاهده گردید درحالی‌که بیشترین مقدار در تیمار شاهد به میزان ۰/۲۳±۵/۱۳ (میلی‌اکی والان O_2 بر کیلوگرم چربی) بود. افزایش پراکسید به دلیل وجود اسیدهای چرب بافت فیله است که در طول نگهداری اکسید شده و به تشکیل پراکسیدها یا هیدروپراکسیدها منجر می‌شود. اسانس‌های گیاهی به عنوان ماده‌ای مؤثر در کنترل شاخص پراکسید شناخته شده‌اند به‌طوری‌که پد جاذب حاوی اسانس آویشن باعث جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها در فیله کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) گردیده است (Podineh *et al*., 2020). حداکثر میزان قابل قبول پراکسید فیله برای مصرف انسان ۵ میلی‌اکی والان O_2 بر کیلوگرم چربی در نظر گرفته شده است (Ozogul *et al*., 2017). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار شاهد بعد از ۲۱۶ ساعت از حد قابل قبول گذشت درحالی‌که مقدار PV در تیمارهای حاوی اسانس تا پایان دوره آزمایش قابل قبول بود.

برای تعیین درجه اکسیداسیون ثانویه لیپیدها در طول دوره نگهداری از شاخص شیمیایی تیوباربیتوریک اسید استفاده می‌گردد (Afrin *et al*., 2023). نتایج تحقیق حاضر نشان داد، نرخ تشکیل TBA در تیمارهای حاوی اسانس نسبت به شاهد کندتر بود که ممکن است به دلیل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس به علت وجود ترکیبات فنولی باشد (Becer *et al*., 2023). هم‌سو با تحقیق حاضر، مطالعات انجام شده نشان داد که استفاده از اسانس گیاهان *Origanum vulgare*، *Thymus mongolicus* و *Illicium verum* می‌تواند به صورت موثری روند تشکیل TBA را کاهش دهد. استفاده از اسانس در فیله نگهداری‌شده به صورت سرد باعث کاهش اکسیداسیون چربی و افزایش زمان نگهداری گوشت می‌گردد (Huang *et al*., 2017). حد قابل قبول این شاخص ۲-۱ میلی گرم مالون دی آلدئید بر کیلوگرم گوشت ماهی بیان شده است (Lakshmanan, 2000). در مطالعه حاضر، تیمار شاهد پس از ۲۱۶ ساعت از حد قابل قبول گذشت، اما سایر تیمارها تا آخر دوره نگهداری در حد قابل قبول بودند.

به طور کلی، مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) از آمین‌های اولیه، ثانویه و آمونیاک تشکیل شده است و مقدار

آن به دلیل فعالیت‌های آنزیمی و میکروبی به‌تدریج در ماهی نگهداری‌شده، افزایش می‌یابد. در مطالعه حاضر، مقادیر TVB-Nدر تمامی تیمارها طی دوره نگهداری در یخچال به طور معنی‌داری افزایش یافت. اما این افزایش در تیمار شاهد سریع‌تر بود. کاهش آهسته‌تر افزایش TVB-N در فیله‌های قرار گرفته بر پد جاذب حاوی اسانس رزماری می‌تواند به خواص ضدمیکروبی ترکیبات فنولی اسانس رزماری نسبت داده شود (Borges *et al*., 2019). استفاده از اسانس گیاهان می‌تواند به طور موثری تشکیل TVB-N را در فیله ماهی طی نگهداری در یخچال کاهش دهد (Li *et al*., 2024; Yang *et al*., 2024). شاخص TVB-N ماهی به سه گروه با کیفیت بالا (کمتر از ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت)، دارای محدودیت مصرف (۳۰-۲۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت) و غیر قابل استفاده (بیشتر از ۳۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت) تقسیم‌بندی می‌شوند. بر این اساس در مطالعه حاضر، در پایان دوره آزمایش تیمارهای شاهد (۱/۹۴±۳۰/۴۷) و تیمار ۱ (۰/۷۵±۲۷/۹۳) دارای محدودیت مصرف و نزدیک به غیر قابل مصرف شدن و سایر تیمارها درر محدوده کیفیت بالا قرار دارند. افزایش میزان pH در زمان نگهداری به دلیل تولید ترکیبات فرار از قبیل آمونیاک و تری متیل آمین‌هاست. این ترکیبات دارای خاصیت قلیایی هستند و در نتیجه فعالیت باکتری‌های عامل فساد و کاهش کیفیت گوشت تولید می‌شوند (Kachele *et al*., 2017). کمتر بودن میزان pH تیمارهای حاوی اسانس برگ رزماری را می‌توان به دلیل خواص ضد میکروبی اسانس رزماری دانست. مطالعات مختلف نشان داده‌اند، استفاده از ترکیبات فنولی زمان ماندگاری فیله را افزایش می‌دهد و منجر به کاهش فعالیت پروتئازها و کاهش میزان آمین‌ها می‌شوند (Baydar *et al*., 2004) که نشان‌دهنده اثرات مثبت استفاده از اسانس و پد جاذب است.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمارهای حاوی اسانس رزماری باعث کند شدن افزایش فراسنجه های شیمیایی و کنترل رشد فراسنجه های میکروبی فیله کپور معمولی تلقیح شده با *S. aureus* هنگام نگهداری در یخچال گردیدند. این روند با افزایش غلظت اسانس رزماری در تیمارها مشهودتر بود. اما تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای دوم (حاوی ۱۰ میلی لیتر اسانس رزماری ۱ درصد) و سوم (حاوی ۱۰ میلی لیتر اسانس رزماری ۱/۵ درصد) مشاهده نگردید. بنابراین، افزودن تیمار حاوی ۱۰ میلی لیتر اسانس رزماری ۱ درصد به پد جاذب برای نگهداری فیله کپور معمولی توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از حمایت‌های مالی دانشگاه زابل گرنت شماره: UOZ.GR.5120 صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Abdollahi, M., Rezaei, M. and Farzi, G., 2014. Influence of chitosan/clay functional bionanocomposite activated with rosemary essential oil on the shelf life of fresh silver carp. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(3):811-818. http://doi.org/10.1111/ijfs.12369.

Afrin, F., Islam, M.M., Rasul, M.G., Sarkar, M.S.I., Yuan, C. and Shah, A.K.M.A., 2023. Effects of seaweed extracts on the quality and shelf life of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets during frozen storage. *Food Chemistry Advances*, 3:100388. http://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100388.

AOAC, 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International (18th edn.). MD, Gaithersburg, USA Association of Official Analytical Chemistry, USA. 771 P.

Arashisar, Ş., Hisar, O., Yanık, T. and Aras, S.M., 2004. Inhibitory effects of ammonia and urea on gill carbonic anhydrase enzyme activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 17(3):125-128. http://doi.org/10.1016/j.etap.2004.03.009.

Arbab, M., Alizadeh, E. and Shahriari Moghadam, M., 2020. Effect of aqueous and ethanolic extracts of *Trigonella foenum-graecum* seed on the quality of *Cyprinus carpio* fillet inoculated with *Staphylococcus aureus*. *Food Research Journal*, 29(4):29-43. (In Persian)

Bakhtiari, T., Alizadeh Doughikollaee, E., Shahriari Moghadam, M. and Ahmadifar, E., 2020. Effect of absorbent pad containing *Carum copticum* seed essential oil on the shelf life of *Oncorhynchus mykiss* fillet during refrigerated storage. *Journal of Fisheries*, 73(2):187-198. DOI:10.22059/jfisheries.2020.300103.1156. (In Persian)

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils–a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2):446-475. http://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106.

Baydar, N.G., Özkan, G. and Sağdiç, O., 2004. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. *Food Control*, 15(5):335-339. http://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00083-5.

Becer, E., Altundağ, E.M., Güran, M., Vatansever, H.S., Ustürk, S., Hanoğlu, D.Y. and Başer, K.H.C., 2023. Composition and antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant, and anticancer activities of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil. *South African Journal of Botany*, 160(10):437-445. http://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.07.028.

Borges, R.S., Ortiz, B.L.S., Pereira, A.C.M., Keita, H. and Carvalho, J.C.T., 2019. *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. *Journal of Ethnopharmacology*, 229: 29-45. doi.org/10.1016/j.jep.2018.09.038.

Bovi, G.G., Caleb, O.J., Rauh, C. and Mahajan, P.V., 2019. Condensation regulation of packaged strawberries under fluctuating storage temperature. *Packaging Technology and Science*, 32(11):545-554. http://doi.org/10.1002/pts.2470.

Cefola, M., Caputo, L., Quintieri, L., Cervellieri, S., Fancello, F., Netti, T., Lippolis, V., Palumbo, M., Ricci, I., Sorrentino, A., Pace, B. and Zara, S., 2023. Innovative limonene and chitosan-based pads in improving shelf-life and preserving the volatile profile of fresh strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 204:112430. http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2023.112430.

Cortés-Sánchez, A.D.J., Díaz-Ramírez, M., Salgado-Cruz, M.D.L.P. and Hernandez-Nava, R.G., 2020. Food safety and fish production the case of *Staphylococcus aureus*: a review. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 20(4):291-306. DOI:10.3844/ojbsci.2020.291.306.

Dai, J., Hu, W., Yang, H., Li, C., Cui, H., Li, X. and Lin, L., 2022. Controlled release and antibacterial properties of PEO/casein nanofibers loaded with Thymol/β-cyclodextrin inclusion complexes in beef

preservation. Food Chemistry, 382:132369. http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132369.

Faramarzpour Darzini, S., Alizadeh Doughikollaee, E., Shahriari Moghadam, M. and Yousef Elahi, M., 2018. Effect of *Carum copticum* seed essential oil on the *Escherichia coli* inoculated in minced *Cyprinus carpio*. *Journal of Aquaculture Sciences*, 6(1):92-104. (In Persian)

Fernández, A., Picouet, P. and Lloret, E., 2010. Cellulose-silver nanoparticle hybrid materials to control spoilage-related microflora in absorbent pads located in trays of fresh-cut melon. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1-2):222-228. http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.001.

Goulas, A.E. and Kontominas, M.G., 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 100(1):287-296. http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.045.

Gouvêa, D.M., Mendonça, R.C.S., Lopez, M.E.S. and Batalha, L.S., 2016. Absorbent food pads containing bacteriophages for potential antimicrobial use in refrigerated food products. *LWT-Food Science and Technology*, 67:159-166. http://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.043.

Huang, Z., Liu, X., Jia, S., Zhang, L. and Luo, Y., 2017. The effect of essential oils on microbial composition and quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets during chilled storage. *International Journal of Food Microbiology*, 266:52-59. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.003.

Kachele, R., Zhang, M., Gao, Z. and Adhikari, B., 2017. Effect of vacuum packaging on the shelf-life of silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) fillets stored at 4°C. LWT-Food Science and Technology, 80:163-168. http://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.012.

Kilinc, B. and Altas, S., 2016. Effect of absorbent pads containing black seed or rosemary oils on the shelf life of sardine [*Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792)] fillets. *Journal of Applied Ichthyology*, 32(3):552-558. http://doi.org/10.1111/jai.13044.

Lakshmanan, P.T., 2000. Fish spoilage and quality assessment. In: Iyer,T.S.G. et.al, (Eds) Proceedings on the Symposium on Quality Assurance in Seafood Processing. Cochin, Society of Fisheries Technologists, India. pp 26-40.

Li, T., Hu, W., Li, J., Zhang, X., Zhu, J. and Li, X., 2012. Coating effects of tea polyphenol and rosemary extract combined with chitosan on the storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Food Control*, 25(1):101-106. http://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.029.

Li, Y., Rui, L., Zhang, H. and Xia, X., 2024. Enhanced oxidative stability and quality of chilled mirror carp fillet using an antioxidant film of chitosan/clove essential oil

nanoemulsion. *Food Bioscience*, 61(6):105018. http://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105018.

Luqman, S., Fatima, M., Shah, S.Z.H., Afzal, M. and Bilal, M., 2021. Concurrent supplementation effects of dietary formic acid and vitamin D_3 on the growth, digestive enzyme activities and bone mineralization of pond‐cultured *Cirrhinus mrigala* fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 27(6):2629-2636. http://doi.org/10.1111/anu.13390.

Maroufi, L.Y., Tabibiazar, M., Ghorbani, M. and Jahanban-Esfahlan, A., 2021. Fabrication and characterization of novel antibacterial chitosan/dialdehyde guar gum hydrogels containing pomegranate peel extract for active food packaging application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 187:179-188. http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.126

Necidová, L., Bursová, Š., Haruštiaková, D., Bogdanovičová, K. and Lačanin, I., 2019. Effect of heat treatment on activity of staphylococcal enterotoxins of type A, B, and C in milk. *Journal of Dairy Science*, 102(5):3924-3932. http://doi.org/10.3168/jds.2018-15255.

Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. and Hosseini, S.M.H., 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120(1):193-198. http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.006.

Oral, N., Vatansever, L., Sezer, Ç., Aydın, B., Güven, A., Gülmez, M., Başer, K.H.C. and Kürkçüoğlu, M., 2009. Effect of absorbent pads containing oregano essential oil on the shelf life extension of overwrap packed chicken drumsticks stored at four degrees Celsius. *Poultry Science*, 88(7):1459-1465. http://doi.org/10.3382/ps.2008-00375.

Ozogul, Y., Yuvka, İ., Ucar, Y., Durmus, M., Kösker, A.R., Öz, M. and 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 - Food Science and Technology*, 75: 677-684. doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.009.

Park, J., Rho, S.J. and Kim, Y.R., 2019. Enhancing antioxidant and antimicrobial activity of carnosic acid in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract by complexation with cyclic glucans. *Food Chemistry*, 299:125119. http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125119.

Podineh, A., Alizadeh Doughikollaee, E., Shahriari Moghadam, M. and Ahmadifar, E., 2020. Effect of *Zataria multiflora* essential oil with absorbent pad on the quality and shelflife of *Hypophthalmichthys molitrix* fillet during refrigerated storage. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 29(5): 187-198. http://20.1001.1.10261354.1399.29.5.17.3. (In Persian).

Ren, T., Hayden, M., Qiao, M., Huang, T.S., Ren, X. and Weese, J., 2018. Absorbent pads containing N-halamine compound for potential antimicrobial use for chicken breast and ground chicken. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(8):1941-1948. http://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05191.

Sallam, Kh.I., Ahmed, A.M., Elgazzar, M.M. and Eldaly, E.A., 2007. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4° C. *Food Chemistry*, 102(4):1061-1070. http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.044.

Savvaidis, I.N., Skandamis, P.N., Riganakos, K.A., Panagiotakis, N. and Kontominas, M., 2002. Control of natural microbial flora and *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged trout at 4 and 10°C using irradiation. *Journal of Food Protection*, 65(3):515-522. DOI:10.4315/0362-028x-65.3.515.

Smaoui, S., Hsouna, A.B., Lahmar, A., Ennouri, K., Mtibaa-Chakchouk, A., Sellem, I., Najah, S., Bouaziz, M. and Mellouli, L., 2016. Bio-preservative effect of the essential oil of the endemic *Mentha piperita* used alone and in combination with BacTN635 in stored minced beef meat. *Meat Science*, 117:196-204. DOI:10.1016/j.meatsci.2016.03.006.

Tian, H., Li, W., Chen, C., Yu, H. and Yuan, H., 2023a. Antibacterial activity and mechanism of oxidized bacterial nanocellulose with different carboxyl content. *Macromolecular Bioscience*, 23(3):2200459. http://doi.org/10.1002/mabi.202200459.

Tian, H., Li, W., Chen, C., Yu, H. and Yuan, H., 2023b. Antibacterial absorbent mat based on oxidized bacterial nanocellulose for chilled meat preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, 40:101194. http://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101194.

Wang, N., Zheng, D., He, J., Liu, X. and Liu, T., 2025. Preparation and characterization of a thymol nanoemulsion-loaded multifunctional sustained-release corn straw cellulose nanocrystal/acetylated starch-based aerogel and its application in chilled meat preservation. *Carbohydrate Polymers*, 348(A)122758. http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122758.

Yang, M., Zhu, Y., Ying, T., Rong, J., Wang, P. and Hu, Y., 2024. Preparation, characterization, and coating effect of bio-active nano-emulsion based on combined plant essential oils on quality of grass carp fillets. *Food Chemistry*, 453:139618. http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139618.

Control of *Staphylococcus aureus* growth in *Cyprinus carpio* fillet by using absorbent pads containing rosemary essential oil

Pishro S.[1]; Alizadeh Doughikollaee E.[1]; Shahriari Moghadam M.[2*]; Yousef Elahi M.[3]

*Mohsen.shahriari@uoz.ac.ir

1- Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Iran
2- Department of Environmental Science, Faculty of Natural Resources, University of Zabol, Zabol, Iran
3- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

Introduction

The water-holding capacity of meat stored under cold conditions gradually decreases, leading to the release of liquid from muscle tissue—a phenomenon known as exudation. The accumulation of these liquids can significantly reduce the quality of chilled meat due to microbial activity, fat oxidation, and enzymatic reactions (Dai *et al*., 2022). Therefore, controlling the release of exudates during storage is essential to ensure the quality and safety of fish meat. Antimicrobial absorbent pads represent a key innovation in active packaging systems (Bovi *et al*., 2019). These pads are designed to absorb moisture and exudates from freshly packaged foods and serve as effective carriers for antimicrobial agents. Essential oils, natural compounds with antibacterial properties, have gained popularity due to the growing consumer demand for preservative-free foods. Among these, rosemary essential oil is widely utilized in medical and pharmaceutical industries owing to its antimicrobial, anti-mutagenic, and anti-cancer properties (Luqman *et al*., 2021). The control of foodborne diseases is critical due to their economic implications and serious public health risks. Contaminated food, particularly fish, is often associated with illnesses caused by *Staphylococcus aureus*. The presence of *Staphylococcus aureus* in fish and its products typically results from contamination during handling, including catching, transportation, storage, processing, and preparation (Cortés-Sánchez *et al*., 2020). Considering these challenges, the present study aimed to evaluate the effect of absorbent pads containing rosemary essential oil on reducing the growth of *Staphylococcus aureus* in common carp (*Cyprinus carpio*) fillets. Additionally, this study investigated the chemical and microbial changes in common carp fillets during refrigerated storage.

Methodology

Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil was extracted by using the Clevenger water distillation method. To determine the maximum concentration of rosemary essential oil without adverse effects on the sensory characteristics of fish fillets, absorbent pads containing different concentrations of the rosemary essential oil (10 mL at 0.5%, 1%, and 1.5%) were prepared. The fish fillets were placed on these pads, packaged and stored in a refrigerator at 4°C for 24 h. Afterward, the fillets were cooked at 90°C for 15

minutes and evaluated by a trained sensory panel (Ojagh et al., 2010). After sensory evaluation, the fillets inoculated with *Staphylococcus aureus* (10^3 CFU/g) were placed on absorbent pads containing 10 mL of rosemary essential oil at concentrations of 0.5% (Treatment 1), 1% (Treatment 2), and 1.5% (Treatment 3). Then the samples were packaged and stored in the refrigerator (4°C). Chemical parameters, including pH, peroxide value (PV), thiobarbituric acid (TBA), and total volatile basic nitrogen (TVB-N), as well as microbial parameters (*Staphylococcus aureus*, total aerobic mesophilic bacterial count [TVC] and psychrotrophic bacterial count [PTC]) were measured at intervals of 24, 72, 120, 168 and 216 h.

Results

The results demonstrated that *Staphylococcus aureus* grew well in common carp fillets, with a significant increase observed over time ($p<0.05$). However, the bacterial count was lower in treatments containing rosemary essential oil, showing a significant reduction with increasing rosemary essential oil concentration. This finding highlights the inhibitory effect of rosemary essential oil on *Staphylococcus aureus* growth across different treatments and during refrigerated storage. The highest bacterial count was observed in the control, while the lowest was recorded in Treatment 3 (10 mL of 1.5% rosemary essential oil) after 216 h of storage time ($p<0.05$). The total counts of mesophilic and psychrotrophic bacteria increased in all treatments with storage time and their peak was observed after 216 h of storage time ($p<0.05$) but the control (without essential oil) exhibited a significantly higher increase compared to the other treatments ($p<0.05$). Among the all treatments, the lowest bacterial count was observed in Treatment 3 (10 mL of 1.5% rosemary essential oil) at all storage times ($p<0.05$). The peroxide value (PV) results revealed significantly higher levels in the control compared to treatments containing rosemary essential oil. The highest PV was recorded in the control group after 216 h of storage time ($p<0.05$). Conversely, the lowest PV was consistently observed in Treatment 3 throughout the storage period ($p<0.05$). Thiobarbituric acid-(TBA) results showed that treatments containing rosemary essential oil had lower TBA levels compared to the control. Significant differences were observed between all treatments during refrigerated storage ($p<0.05$). This result indicated the effectiveness of rosemary essential oil in reducing lipid oxidation. Total volatile basic nitrogen (TVB-N) levels were significantly higher in the control than the treatments containing rosemary essential oil ($p<0.05$). TVB-N values increased in all treatments during refrigerated storage. However, higher rosemary essential oil concentrations resulted in lower TVB-N levels in treatments containing the essential oil. However, there is no significant difference in TVB-N observed between treatments 2 and 3 during refrigerated storage. No significant differences in pH were observed between all treatments after 24 h. After 72 h, a decrease in pH was noted in all treatments. Then an increase was observed in pH just to the end of the storage period. This increase was less pronounced in treatments containing rosemary essential oil, and a significant difference was observed between the control and Treatments 2 and 3 after 216 h ($p<0.05$).

Discussion and conclusion

The results of the present study demonstrate the effect of rosemary essential oil on controlling the growth of *Staphylococcus aureus* in common carp fillets during refrigerated storage. Rosemary essential oil

contains key active compounds, including rosmarinic acid, camphor, and cineole, which contribute to its antioxidant and antibacterial properties (Borges *et al*., 2019). Furthermore, increasing the concentration of rosemary essential oil resulted in a reduction in *Staphylococcus aureus* growth in this study. Similar results have been reported by other researchers (Arbab *et al*., 2020). The total mesophilic and psychrotrophic bacteria count in the control and treatment 1 group were higher than treatments 2 and 3 at the end of the storage time. These results indicate an improvement in the antibacterial properties of the absorbent pads after the addition of rosemary essential oil. The results of Bakhtiari *et al*. (2020) showed that the addition of *Carum copticum* essential oil to absorbent pads controlled the growth of mesophilic bacteria in rainbow trout fillets. Reports of other researchers indicated that plant essential oils are effective in controlling peroxide values (PV). The results of the present study show that the PV of control exceeded the acceptable limit after 216 h storage time, while the PV of essential oil treatments remained within the acceptable range. A similar result was observed by Podineh *et al*. (2020). In this study, the lower value of TBA was obtained in the essential oil-treated groups compared to the control group. It can be attributed to the antioxidant properties of the essential oil (Becer *et al*., 2023). According to the present study, other studies have shown that essential oils from *Origanum vulgare*, *Thymus mongolicus*, and *Illicium verum* can effectively reduce TBA value. The TVB-N values in the essential oil treatments were lower compared to the control. These results are similar to the findings of other researchers (Li *et al*., 2024; Yang *et al*., 2024). The lower pH in the rosemary essential oil treatments can be attributed to the antimicrobial properties of rosemary essential oil. Finally, the results of this study demonstrate that absorbent pads containing rosemary essential oil have antioxidant and antibacterial properties and can be used to extend the shelf life of common carp fillets during refrigerated storage.

Conflicts of interest

The author declares that there is no conflict of interest regarding the publication of this manuscript.

Acknowledgment

The current study was financially supported by the University of Zabol [grant No. OZ.GR.5120].