Archive of SID.ir

مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال نوزدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۳، صفحات ۹۸-۸۵

بررسی تأثیر نانوامولسیون اسانس زنیان تولید شده توسط امولسیون سازی خود به خودی با کمک نشاسته اصلاح شده به عنوان پوشش برای افزایش طول مدت نگهداری ماهی قزل‌آلا

سنور پورشامحمد[۱]، مریم محمودزاده[۲]

۱- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۲- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی،دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
پست الکترونیکی: mahmoudzadehm@tbzmed.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۵

چکیده

سابقه و هدف: در حوزه علوم و فناوری مواد غذایی، تلاش برای بهبود مدت ماندگاری و کیفیت محصولات گوشتی امری حیاتی است. یکی از رویکردهای مؤثر در این زمینه، استفاده از پوشش‌های حاوی نانوامولسیون‌های اسانس می‌باشد. تحقیق حاضر به منظور تولید نانوامولسیون اسانس زنیان، با استفاده از روش امولسیون‌سازی خودبه‌خودی و اعمال پوشش بر روی سطح فیله ماهی قزل‌آلا با استفاده از پایه نشاسته اصلاح شده انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها: امولسیون‌های اسانس زنیان با استفاده از امولسیفایر نشاسته اصلاح شده و توسط دو بازدارنده عامل رسیدن روغن‌های ذرت و MCT به روش امولسیون‌سازی خودبه‌خودی تهیه شدند. سپس پایداری، کدورت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی نانوامولسیون تهیه شده بررسی شد. نانوامولسیون‌ها به صورت پوشش روی سطح ماهی قزل‌آلا قرار گرفتند و مشخصات فساد ماهی طی نگهداری در یخچال ارزیابی شد.

یافته‌ها: نانوامولسیون‌های تهیه شده توسط روغن ذرت و MCT، دارای اندازه ذرات به ترتیب۳/۳۲± ۸۸/۳۸ و ۴/۳۱ ± ۱۴۴/۸ نانومتر بودند. پوشش‌های حاوی نانوامولسیون به طور معنی‌دار شمارش کلی باکتری‌ها و نیز باکتری‌های سرمادوست ماهی را طی نگهداری کاهش داد. در پایان دوره نگهداری نمونه‌های ماهی حاوی نانوامولسیون اسانس TVB-N و pH پایین‌تر و مقبولیت کلی بالاتری نسبت به نمونه دارای اسانس خالص و نیز نمونه بدون پوشش نشان داد.

نتیجه‌گیری: استفاده از روش امولسیون‌سازی خودبخودی در حضور نشاسته اصلاح شده توانست نانوامولسیون‌های پایدار از اسانس زنیان تولید کند. نانوامولسیون‌های تهیه شده به صورت پوشش مدت ماندگاری ماهی قزل آلا را افزایش دادند که نقش استفاده از ترکیبات طبیعی برای افزایش مدت ماندگاری مواد غذایی را پررنگ تر می سازد.

واژگان کلیدی: اسانس زنیان، امولسیون‌سازی خودبه‌خودی، نشاسته اصلاح شده، فعالیت ضدمیکروبی، ماهی قزل‌آلا

• مقدمه

اسانس‌های گیاهی EOs (Essential oils) به عنوان گروهی از متابولیت‌های ثانویه، به‌طور طبیعی در انواع مختلف گیاهان تولید می‌شوند و با ویژگی‌هایی مانند ماهیت روغنی و عطرآگین شناخته می‌شوند. این ترکیبات، به دلیل ویژگی‌هایی همچون تقویت طعم، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، و خواص ضد میکروبی و درمانی، در صنایع آرایشی، کشاورزی، بهداشت و صنایع غذایی به طور گسترده‌ای به کار گرفته می‌شوند (۱) . با افزایش تقاضا برای استفاده از افزودنی‌های طبیعی در محصولات غذایی، استفاده از اسانس‌های گیاهی رو به افزایش است اما به دلیل حلالیت کم آنها در آب، ایجاد عطر و طعم شدید در غذا و مصرف مقدار بالای آن‌ها جهت ظهور اثرات ضد میکروبی، استفاده از آنها دارای محدودیت است (۲). یک راه حل ساده برای غلبه بر این مشکل، محدود کردن روغن در یک سیستم امولسیونی روغن در آب یا استفاده از ترکیبات اسانس در فرمولاسیون پوشش است تا همچنان اثرات مورد نظر حفظ شود و در عین حال مقدار مصرف آنها کاهش یابد (۴، ۳). سیستم‌های

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

امولسیونی به دلیل ویژگی‌های رئولوژیکی و فیزیکوشیمیایی خاص خود، اهمیت زیادی در صنایع غذایی دارند. نانوامولسیون‌ها به عنوان گروهی از امولسیون‌ها با قطر ذرات ۲۰ تا ۲۰۰ نانومتر شناخته می‌شوند که به طور معمول دارای ثبات بهتری هستند (۵). روش‌های تولید امولسیون‌ها را می‌توان به دو دسته کم انرژی و پرانرژی تقسیم کرد. در روش‌های پر انرژی، از تجهیزات مکانیکی مانند میکروفلوداییزرها و هموژنایزرهای فشار بالا برای تولید استفاده می‌شود، در حالی که روش‌های کم انرژی وابسته به کنترل پدیده‌های بین‌سطحی و برگشت فاز هستند. در دهه‌های اخیر، امولسیون‌سازی با روش کم انرژی خودبه‌خودی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (۶). تولید خودبه‌خودی امولسیون به عنوان یک جایگزین کلی، ارزان‌تر و کارآمدتر در مقابل روش‌های فعلی با انرژی بالا راه‌اندازی شده است. در این روش، قطرات میکرو و نانو با صرف انرژی کم ایجاد می‌شوند. این روش بر مبنای تشکیل خودبه‌خودی قطرات بسیار ریز روغن در سامانه سورفکتانت-روغن-آب و تحت شرایط محیطی ویژه (ترکیب، دما، هم‌زدن) پایه‌گذاری شده‌اند. یکی از معایب این روش، استفاده از میزان بالای سورفکتانت یا SOR (Surfactant to oil ratio) بالا است. بنابراین، نیاز به سورفکتانت بیشتر، اثرگذاری بر عطر و طعم و نیز ایمنی غذایی در روش کم انرژی امولسیون‌سازی خودبه‌خودی کاربرد این روش را با محدودیت مواجه می‌سازد (۸، ۷). یکی از راه‌های کاهش میزان سورفکتانت‌ها افزایش ویسکوزیته محیط با استفاده از پایدارکننده‌های طبیعی مانند انواع پلی‌ساکاریدها و صمغ‌ها (۹) و همچنین تغییر نسبت روغن حامل به روغن هدف می‌باشد (۶). اخیراً Moayedzadeh و همکاران (۲۰۱۸) امولسیون‌های پایدار روغن ماهی را با روش امولسیون سازی خود به خودی و در غلظت ۴ میلی‌گرم در گرم ژلان در فاز آبی در SOR برابر با ۱ تهیه کردند (۱۰).

نشاسته اکتینیل سوکسینیک انیدرید OSA (Octenyl succinic anhydride) که به نشاسته اصلاح شده نیز معروف است، از استریفیکاسیون نشاسته و اسید اکتنیل سوکسینیک بدون آب تحت شرایط قلیایی به دست می‌آید. در این فرایند، زنجیره‌های جانبی آب‌گریز به مولکول‌های آب‌دوست نشاسته اضافه می‌شوند و به آن‌ها خاصیت آمفی‌فیلیک می‌دهند؛ بنابراین، در سامانه‌های دوفازی آب - روغن، زنجیره‌های جانبی آب‌گریز نشاسته به سطح قطرات روغن متصل می‌شوند و زنجیره‌های آب‌دوست آن با مولکول‌های آب پیوند برقرار می‌کنند و با ایجاد دافعه فضایی از به هم پیوستن قطرات جلوگیری می‌نمایند. این نوع نشاسته توانایی پایدارسازی امولسیون‌ها و جلوگیری از پدیده کوآلسنس در اثر عوامل محیطی مانند تغییرات pH و قدرت یونی و دما را دارا است (۱۲، ۱۱). در این راستا Xiao وهمکاران (۲۰۲۰) نانوامولسیون‌های اسانس دارچین را با استفاده از نشاسته اصلاح شده اکتنیل سوکسینات تهیه کردند که برای تولید فیلم‌های زیست تخریب پذیر در محلول پایه صمغ پولولان وارد شدند (۱۳).

زنیان یک گیاه یکساله با نام علمی *Carum copticum* از خانواده چتریان است که در ایران، هند، پاکستان، و مصر رشد می‌کند. دانه‌های رسیده این گیاه ۲ تا ۴ درصد اسانس دارند. دانه‌های زنیان غنی از فیبر، مواد معدنی، ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشند. اسانس این گیاه غنی از مونوترپن‌ها مانند تیمول است و به صورت گسترده به عنوان عامل ضدباکتری تجویز می‌شود. به طور کلی، فنول‌ها و ترپن‌ها عوامل اصلی اثرات ضدباکتریایی اسانس‌ها هستند. اثرات ضدباکتریایی تیمول در مقابل انواع باکتری‌های گرم مثبت و منفی اثبات شده است (۱۵، ۱۴). همچنین، ترکیبات آنتی‌میکروبی را می‌توان در ترکیب با پوشش‌ها و یا فیلم‌ها برای افزایش مدت تماس ماده نگهدارنده با محصول و افزایش ماندگاری آن استفاده نمود. پوشش‌های خوراکی لایه‌نازکی از مواد عموماً طبیعی و غیرطبیعی خوراکی هستند که بر روی سطح خارجی مواد غذایی قرار گرفته و توسط مصرف‌کننده همراه با ماده غذایی مصرف می‌شوند. با قرار دادن مواد غذایی در محلول‌های پوششی، لایه‌نازکی از آن بر روی سطح ماده غذایی ایجاد می‌گردد (۱۶). در این راستا Yaowen و همکاران (۲۰۲۲) نانوامولسیون اسانس میخک را با استفاده از ژلاتین ماهی پایدار کردند و به عنوان پوشش در حفظ فیله‌های ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) که با گونه‌های سودوموناس تلقیح شده بودند بکار بردند (۱۷). بنابراین در مطالعه حاضر ابتدا نانوامولسیون‌های پایدار اسانس زنیان به روش امولسیون سازی خودبخودی و با استفاده از دو بازدانده عامل رسیدن (Ostwaled ripeninig inhibitor)، روغن ذرت و MCT تولید می شوند و پس از تعیین ویژگی‌های ظاهری، پایداری، آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی نانوامولسیون‌های مزبور، نانوامولسیون‌های به صورت پوشش بر سطح ماهی قزل آلا قرار گرفته و مشخصات شیمیایی و میکروبی طی نگهداری در یخچال مورد بررسی قرار می گیرند. در مجموع، این پژوهش به توسعه روش مؤثر و نوآورانه امولسیون سازی خود به خودی و استفاده از امولسیون اسانس زنیان به عنوان یک نگهدارنده طبیعی برای بهبود ویژگی‌های محصولات گوشتی می‌پردازد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

• مواد و روش‌ها

مواد تهیه امولسیون

پژوهش حاضر در سال ۱۴۰۱ در دانشکده تغذیه و علوم غذایی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شده است. اسانس زنیان از شرکت طبیب دارو (دزفول، ایران) خریداری شد. دو روغن ممانعت کننده از رسیدن استوالد، روغن ذرت و روغن MCT به ترتیب از محصولات کارخانه روغن لادن و شرکت سیمرغ دارو (عطار نیشابور، ایران) به ترتیب خریداری شدند. توین ۸۰ (مرک، آلمان) به‌عنوان یک سورفکتانت غیریونی استفاده شد. نشاسته اصلاح شده OSA-S (سوئد، E1450, Lyckeby Culinar AB, Fjalkinge) توسط دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی اهدا شد.

آماده‌سازی نانوامولسیون اسانس زنیان حاوی نشاسته اصلاح شده

فاز آبی با پراکنده کردن مقدار مورد نیاز پودر نشاسته اصلاح شده در آب دیونیزه و هم زدن به مدت ۶ ساعت برای هیدراتاسیون کامل تشکیل شد. نسبت سورفکتانت به روغن برابر با ۰/۵ و نسبت روغن ذرت یا MCT به اسانس زنیان ۷۰ به ۳۰ بود. نانوامولسیون‌ها با امولسیون‌سازی خودبه‌خود بر اساس روش گزارش شده توسط Chang و همکاران (۲۰۱۳) تولید شدند (۱۸). به طور خلاصه، امولسیون سازی خود به خودی با تیتر کردن یک فاز آلی شامل توین ۸۰، اسانس زنیان و یک روغن بازدارنده رسیدن (MCT و روغن ذرت) به یک فاز آبی حاوی مقادیر ۱٪ و ۱/۵٪ نشاسته اصلاح شده به ترتیب برای روغن MCT (نانو MCT) و روغن ذرت (نانو ذرت) انجام شد. مخلوط در طول تیتراسیون به طور مداوم با سرعت ۸۰۰ دور در دقیقه همزده شد و پس از اتمام فرآیند تیتراسیون به مدت ۱۵ دقیقه دیگر عمل همزدن و مخلوط کردن ادامه یافت.

تعیین پایداری امولسیون‌ها در مدت نگهداری

برای آزمایش پایداری امولسیون، امولسیون‌ها در دمای اتاق (۲۵±۱ °C) و یخچال (۴±۱ °C) به مدت ۴ هفته در لوله‌های فالکون ۵۰ میلی‌لیتری نگهداری شدند. مشاهده بصری برای بررسی پایداری امولسیون استفاده شد. توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتا در طی نگهداری در دماهای فوق اندازه گیری شد (۱۹) . اندازه قطر قطرات، شاخص چند پراکندگی (PDI) و پتانسیل زتا با استفاده از پراکندگی نور پویا (Zetasizer Nano-ZS90, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK) در دمای ۲۵°C انجام شد. قبل از تجزیه و تحلیل، نمونه‌ها ۵۰۰ بار در آب دیونیزه رقیق شدند (۲۰).

ارزیابی کدورت نانوامولسیون‌ها

کدورت شاخصی برای تعیین پایداری امولسیون است. اندازه‌گیری جذب با استفاده از دستگاه UV-vis در ۶۰۰ نانومتر (Nicolet Evolution 300 UV–Vis spectrophotometer) انجام شد. برای به دست آوردن اطلاعات دقیق تر از عبور نور، ۱۰۰ میکرولیتر از امولسیون با ۳ میلی‌لیتر آب دیونیزه رقیق شد تا نمونه آزمایشی آماده شود (۲۱).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی (آزمایش DPPH)

میزان مهار رادیکال‌های آزاد توسط معرف ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) و بر اساس روش Sampaio و همکاران انجام شد (۲۲). نانوامولسیون‌های تهیه شده با محلول DPPHمخلوط شدند و به مدت یک ساعت در تاریکی و دمای اتاق گرمخانه گذاری شدند. پس از گرمخانه‌گذاری مخلوط‌ها سانتریفیوژ شده و جذب مایع رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر UV-Visدر طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. محلول‌های شاهد نیز برای مقایسه آماده شدند. فعالیت بازدارندگی DPPH نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر تعیین شد:

$$\text{Free radical inhibition (\%)} = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0}\right) \times 100$$

که A0 به جذب شاهد و A1 به جذب نمونه در ۵۱۷ نانومتر اشاره دارد.

فعالیت ضد میکروبی در تست انتشار از دیسک

تأثیر دو نانوامولسیون تهیه شده از اسانس زنیان (نانو ذرت و نانو MCT) بر علیه باکتری‌های بیماریزای گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) و گرم منفی (*اشریشیاکلی*) توسط تست انتشار از دیسک مورد بررسی قرار گرفت. پس از غنی سازی باکتری‌های مورد نظر در محیط تریپتیک سوی براث (Triptic Soy Broth)، ۰/۱ سی سی از محیط دارای تعداد log ۵ CFU/ml روی سطح محیط مولر هینتون آگار (Muller Hinton Agar) با استفاده از سوآب استریل پخش شد. در ادامه ۵۰ µL از هر کدام از نانوامولسیون‌ها و ۲ µL از اسانس خالص بر روی سطح دیسک استریل قرار گرفته و دیسک‌ها برعکس شده و در محیط حاوی باکتری‌های مزبور قرار گرفتند. هاله عدم رشد پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ °C بررسی شد.

آماده‌سازی ماهی و ایجاد پوشش بر روی فیله ماهی

پس از خرید ماهی قزل‌آلا با وزن تقریبی ۶۰۰-۵۰۰ گرم از بازار ماهی‌فروشان شهر تبریز، نمونه‌ها به همراه جعبه‌های حاوی یخ به آزمایشگاه دانشکده تغذیه دانشگاه علوم پزشکی تبریز منتقل شدند. در این مرحله، با انجام سر و دم زنی و جداسازی پوست و استخوان، از هر ماهی ۵ نمونه در ابعاد مساوی به‌دست

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

آمد. بخشی از این فیله‌ها بدون محافظ (شاهد) نگه داشته شدند و بخش دیگر با استفاده از نانوامولسیون‌های اسانس زنیان تهیه شده توسط روش شرح داده شده در بالا (نانو MCT و نانو ذرت) پوشش داده شدند. پوشش دو نمونه دیگر فقط شامل نشاسته اصلاح شده (۱/۵٪) بدون اسانس و اسانس زنیان خالص (۴٪) بود. مقدار اسانس زنیان خالص ۴٪ بر اساس مقدار اسانس خالص موجود در نمونه‌های نانو ذرت و نانو MCT انتخاب شد. پوشش بر روی نمونه‌ها با روش غوطه‌وری در محلول‌های مورد نظر ایجاد شد. نمونه‌ها از محلول خارج شده و به مدت چند دقیقه در معرض هوا قرار گرفتند تا پوشش نگهدارنده روی فیله‌ها شکل گیرد. سپس نمونه‌ها در یخچال نگهداری شدند و به مدت ۱۶ روز در دمای ۱±۴ °C نگهداری گردیدند.

آنالیز میکروبی نمونه‌ها

آنالیز میکروبی نمونه‌های ماهی از جهت شمارش کلی باکتری‌ها و تعداد باکتری‌های سرمادوست با استفاده از تهیه رقت‌های متوالی از ماهی در سرم فیزیولوژی و کشت در محیط تریپتیک سوی آگار (Triptic Soy Agar) به روش پور پلیت (Pour plate) انجام شد. تعداد کلی باکتری‌ها و سرمادوست‌ها به ترتیب بعداز ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷°C و ۱۰ روز گرمخانه گذاری در دمای ۴°C بدست آمد (۲۳).

اندازه‌گیری pH

۱۰ گرم از تکه‌های خرد شده ماهی با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شدند. نمونه‌ها حدود نیم ساعت به حال خود رها شدند، پس از به تعادل رسیدن مقدار pH نمونه با استفاده از دستگاه pH متر (Metrohm Ltd, Herisau, Switzerland) اندازه‌گیری گردید (۲۴).

TVB-N

جهت اندازه‌گیری TVB-N با استفاده از تکنیک تقطیر کلدال، ابتدا ۱۰ گرم از هر نمونه به‌صورت همگن با ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در یک بالن کلدال که دارای چند عدد سنگ جوش و ماده ضد کف سیلیکون است، ترکیب شدند. این مخلوط تا زمان جوشیدن، تحت حرارت قرار گرفت. سپس بخارات حاصل از تقطیر به محلول اسید بوریک ۲٪ که حاوی متیل رد و بروموکروزول گرین به‌عنوان معرف است، رسانده شد و با استفاده از اسیدسولفوریک با غلظت ۰/۱ نرمال تیتر شد. میزان TVB-N ، به‌صورت میلی‌گرم نیتروژن در هر ۱۰۰ گرم نمونه ماهی، باتوجه به حجم اسید مصرفی، گزارش شد (۲۵) .

آنالیز حسی نمونه‌ها

آزمایش توسط ۱۲ ارزیاب نیمه آموزش‌دیده در بین دانشجویان و کارکنان دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام شد. ارزیاب‌ها نمونه‌ها را طی ۱۶ روز نگهداری در دمای ۴°C به فاصله هر ۴ روز یکبار ارزیابی کردند. برای هر نمونه بو، بافت و مقبولیت کلی ارزیابی شد. ارزیاب‌ها با پر کردن یک پرسش‌نامه ۵ امتیازی هدونیک (۵ کاملاً مورد قبول، ۱ کاملاً غیرقابل‌قبول) به نمونه‌ها امتیاز دادند. نقطه بحرانی مقبولیت امتیاز ۴ در نظر گرفته شد (۲۶).

تحلیل آماری

تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری از طریق آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار آماری IBM SPSS نسخه ۲۵ انجام شد. برای یافتن اختلاف معنی دار بین گروه‌های مختلف از آزمون تعقیبی tukey استفاده شد ($p<۰/۰۵$).

• یافته‌ها

ترکیب شیمیایی اسانس زنیان

ترکیبات شیمیایی اسانس زنیان مطابق با کاتالوگ شرکت در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که این جدول نشان می‌دهد، تیمول (۳۷/۷٪)، γ-ترپینن (۳۱/۲٪) و پاراسیمن (۲۰/۲٪) اجزای اصلی اسانس زنیان هستند.

جدول ۱. آنالیز GC/MS ترکیبات شیمیایی اسانس زنیان

ردیف	ترکیبات	شاخص بازداری	غلظت (٪)
۱	α- Thujene	۹۲۹	۰/۳۰
۲	α-pinene	۹۴۰	۰/۲۴
۳	Sabinene	۹۷۲	۰/۲۱
۴	β-pinene	۹۶۸	۰/۸۰
۵	Myrcene	۹۸۰	۴/۰۱
۶	α-phellandre	۹۹۸	۰/۷۰
۷	α-terpinene	۱۰۱۰	۰/۷۸
۸	ρ-cymene	۱۰۳۰	۲۰/۲۰
۹	B-phellandre	۱۰۱۲	۰/۳۵
۱۰	α-terpinolen	۱۰۹۰	۰/۰۷
۱۱	Terpine-4-ol	۱۱۸۰	۰/۱۳
۱۲	α-terpineol	۱۱۹۰	۰/۰۹
۱۳	γ-terpinene	۱۰۶۰	۳۱/۲
۱۴	Thymol	۱۲۹۴	۳۷/۷
۱۵	Carvacrol	۱۳۰۰	۰/۷۰
	مجموع		۹۷/۶

اندازه‌گیری پایداری امولسیون

امولسیون‌های روغن در آب پس از امولسیون سازی با تویین ۸۰ به عنوان سورفکتانت و روغن ذرت وMCT به عنوان عامل بازدارنده رسیدگی (نسبت روغن به آب ۲۰:۸۰ ، نسبت اسانس

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

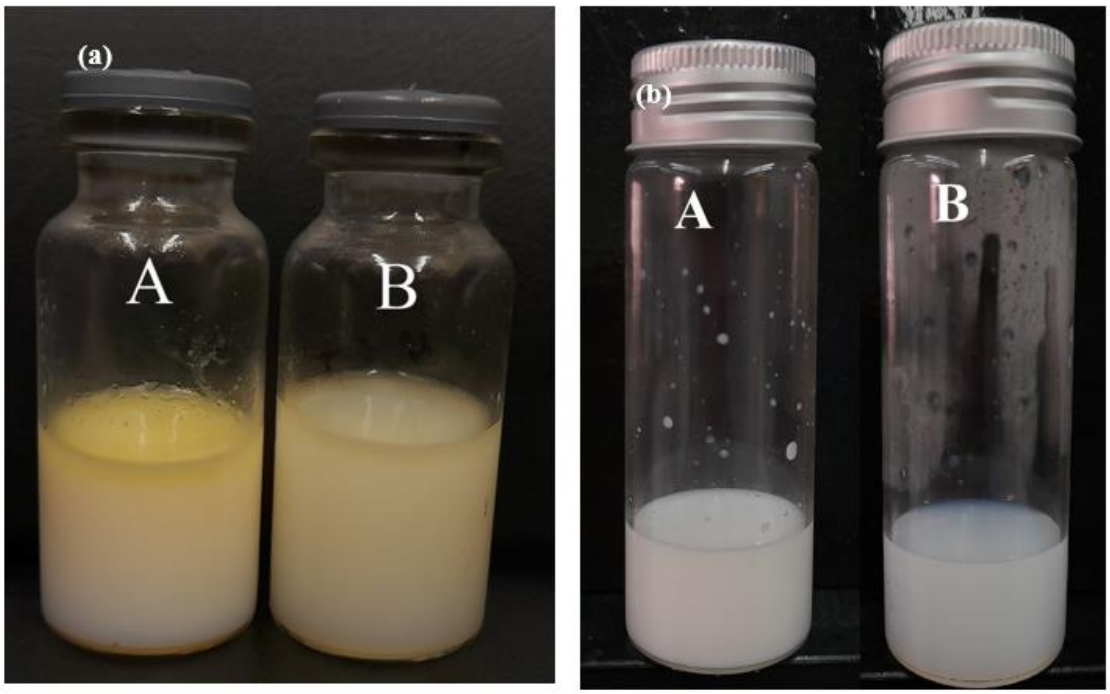
Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

به عامل بازدارنده رسیدگی ۳۰:۷۰) ناپایدار بودند (شکل 1a). با این حال زمانی که تحت همین شرایط (در SOR برابر با ۰/۵) به ترتیب ۱/۵ و ۱ درصد نشاسته اصلاح شده جهت تشکیل امولسیون با MCT و روغن ذرت بکار رفت، پایدار باقی ماندند (شکل 1b) (جدول ۲). بنابراین، درصدهای متفاوتی از نشاسته اصلاح شده برای تثبیت امولسیون‌های ناپایدار با توجه به نوع عامل بازدارنده رسیدگی استفاده شد. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می شود میانگین قطر نانوامولسیون‌ها به ترتیب برای نانو ذرت و نانو MCT، ۱۴۴/۸ و ۸۸/۳۸ نانومتر بدست آمد. مقدار کم PDI نشان دهنده توزیع باریک اندازه ذرات است. هنگامی‌که PDI کوچکتر از ۰/۲ باشد، به طور کلی یک توزیع تک پراکنده را نشان می‌دهد. از طرف دیگر، مقدار PDI بزرگتر از ۰/۷ نشان دهنده توزیع اندازه بسیار گسترده است. برای داشتن کاربردهای تجاری، اسانس‌ها باید در طول نگهداری خود از نظر فیزیکی پایدار باشند. به‌عبارت‌دیگر، باید توزیع اندازه ذرات نانوامولسیون‌های اسانس با تغییر کم یا بدون تغییر باشد؛ بنابراین، تأثیر زمان نگهداری در دمای محیط و دمای یخچال بر پایداری نانوامولسیون اسانس زنیان مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). مشاهده شد که هیچ جداسازی فاز قابل‌مشاهده با چشم در نمونه‌های نانوامولسیونی در طول یک ماه نگهداری در دمای ۴ °C و ۲۰ °C رخ نداد. میانگین قطر ذرات و مقادیر PDI نانوامولسیون‌های اسانس زنیان طی یک ماه نگهداری افزایش یافت که این افزایش برای امولسیون‌های نگهداری شده در دمای یخچال بالاتر بود. مقایسه قطر ذرات نانوامولسیون نشان داد که نانو MCT و نانو ذرت به ترتیب کمترین و بیشترین رشد ذرات را در دمای ۴ °C داشتند.

جدول ۲. میانگین اندازه ذرات، شاخص پراکندگی(PDI)، کدورت و تغیرات این شاخص‌ها در طی یک ماه نگهداری نانوامولسیون پایدار شده اسانس زنیان[۱و۲]

نسبت آب به روغن	SOR	نشاسته OSA-S (%)	ممانعت کننده از رسیدن	روز صفر		روز ۳۰ دمای یخچال ۴ °C		روز ۳۰ دمای محیط ۲۰ °C		کدورت (درصد جذب در ۶۰۰ نانومتر)
				شاخص پراکندگی	اندازه(نانومتر)	شاخص پراکندگی	اندازه(نانومتر)	شاخص پراکندگی	اندازه(نانومتر)	
۲۰:۸۰	۰/۵	۱/۵	روغن ذرت	۰/۳۲۳±۰/۰۱۲^{Xa}	۱۴۴/۸±۴/۳۱^{Aa}	۰/۳۶۹±۰/۰۰۸^{Ya}	۳۴۹/۲±۴/۲۲^{Ba}	۰/۶۳۹±۰/۰۱۲^{Za}	۱۶۴/۲±۳/۱۳^{Ca}	۲±۲۳^{a}
		۱	روغن MCT	۰/۲۵۷±۰/۰۱۹^{Xb}	۸۸/۳۸±۳/۲۲^{Ab}	۰/۲۶۷±۰/۰۱۰^{Yb}	۱۲۲/۵±۴/۴۳^{Bb}	۰/۲۱۷±۰/۰۰۴^{Zb}	۹۱/۸۰±۳/۱۶^{Cb}	۲±۱۲^{b}



شکل ۱. امولسیون‌های ناپایدار تهیه شده از اسانس زنیان تهیه شده با استفاده از روش امولسیون سازی خود به خودی بدون استفاده از نشاسته اصلاح شده (a) و با استفاده از نشاسته اصلاح شده (b): (A) امولسیون زنیان با روغن ذرت (نانو ذرت) در SOR:۰/۵، نسبت روغن به آب: ۲۰:۸۰. (B) امولسیون زنیان با روغن MCT (نانو MCT) در SOR:۰/۵، نسبت روغن به آب: ۲۰:۸۰.
در تمام فرمولاسیون‌ها نسبت روغن به اسانس ۳۰:۷۰ بود.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

کدورت

یکی از روش‌های ارزان برای بررسی پایداری فیزیکی امولسیون‌ها، ارزیابی ظاهر نمونه‌ها از نظر کدورت است. درصد عبور (T٪) نانوامولسیون‌های به‌دست‌آمده در محدوده ۲۳٪ برای نانو ذرت و ۱۲٪ برای نانو MCT گزارش شد، در نتیجه نمونه‌های نانوذرت به طور معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) رنگ روشن تری داشتند (جدول ۲).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

ترکیبات فنلی عمدتاً در گیاهان شناسایی می‌شوند و گزارش‌های علمی‌در مورد وجود هم افزایی بین محتوای پلی فنلی گیاهی و فعالیت آنتی اکسیدانی وجود دارد. همان طور که در جدول ۳ نشان داده شده است نانو MCT و نانو ذرت تفاوت معنی داری از نظر میزان مهار رادیکال‌های آزاد نشان ندادند ولی درصد مهار رادیکال آزاد دو نانوامولسیون به طور قابل توجهی در مقایسه با اسانس زنیان خالص بالاتر بود ($p<۰/۰۵$).

فعالیت ضد میکروبی در آزمون انتشار از دیسک

قطر هاله بازداری بزرگتری بر علیه هر دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* توسط نانو MCT و نانو ذرت در مقایسه با اسانس آزاد بدست آمد ($p <۰/۰۵$). این نتیجه حاکی از این است که امولسیون سازی زنیان توسط عوامل مذکور به میزان قابل توجهی فعالیت ضد میکروبی را در مقایسه با اسانس آزاد افزایش می دهد. هر چند فعالیت ضد میکروبی بر علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در مقایسه با *اشریشیاکلی* بیشتر بود.

اندازه گیری تغییرات میکروبی و شیمیایی فیله ماهی قزل‌آلا طی نگهداری:

تغییرات میکروبی نمونه‌های پوشش داده شده

نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه نشان داد که شمارش کلی باکتری‌ها و سرمادوست‌ها از روز ۸ به بعد، بین گروه کنترل و تیمارها در ۴°C به طور معنی‌داری ($p <۰/۰۵$) تفاوت پیدا کرد. نمونه‌های ماهی پوشش داده شده توسط نانوMCT و نانو ذرت فعالیت ضد میکروبی به طور قابل‌توجه بالاتری را در طی ۴ هفته نگهداری در یخچال نشان دادند (شکل ۲). شمارش باکتری‌های کلی و سرمادوست‌ها در روز ۱۲ برای نمونه‌های ماهی حاوی پوشش نانو MCT و نانو ذرت، به ترتیب ۳/۲۷ و ۴/۷ سیکل لگاریتمی کاهش برای باکتری‌های کلی و ۳/۲ و ۴/۵ سیکل لگاریتمی کاهش برای باکتری‌های سرمادوست در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. تیمار اسانس و نانوامولسیون اسانس توانستند مدت ماندگاری فیله‌های ماهی نگهداری شده در دمای ۴ °C را بیش از ۱۲ روز افزایش دهند. مقایسه اثر ضدمیکروبی تیمار پوشش حاوی نانو MCT و نانو ذرت تقریباً مشابه هم بودند؛ ولی نانوMCT به صورت غیر معنی داری ($p >۰/۰۵$) اثرگذاری اندکی بیشتر نشان داد.

جدول ۳. درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و میزان قطر هاله عدم رشد در برابر باکتری‌ها توسط اسانس زنیان امولسیون شده توسط MCT (نانو MCT)، ذرت (نانو ذرت) و اسانس آزاد [۱و۲]

فعالیت	تیمارها	نانو MCT	نانو ذرت	اسانس آزاد
مهار رادیکال آزاد (٪)		۸۸±۵[a]	۸۳±۵[a]	۷۲±۵[b]
قطر هاله عدم رشد بر علیه *استافیلوکوکووس اورئوس* (میلی‌متر)		۱۸/۲±۲[a]	۱۹/۶±۲[a]	۱۳/۳±۲[b]
قطر هاله عدم رشد برعلیه *اشریشیاکلی* (میلی‌متر)		۱۴/۷±۲[a]	۱۶/۳±۲[a]	۹/۱±۲[b]

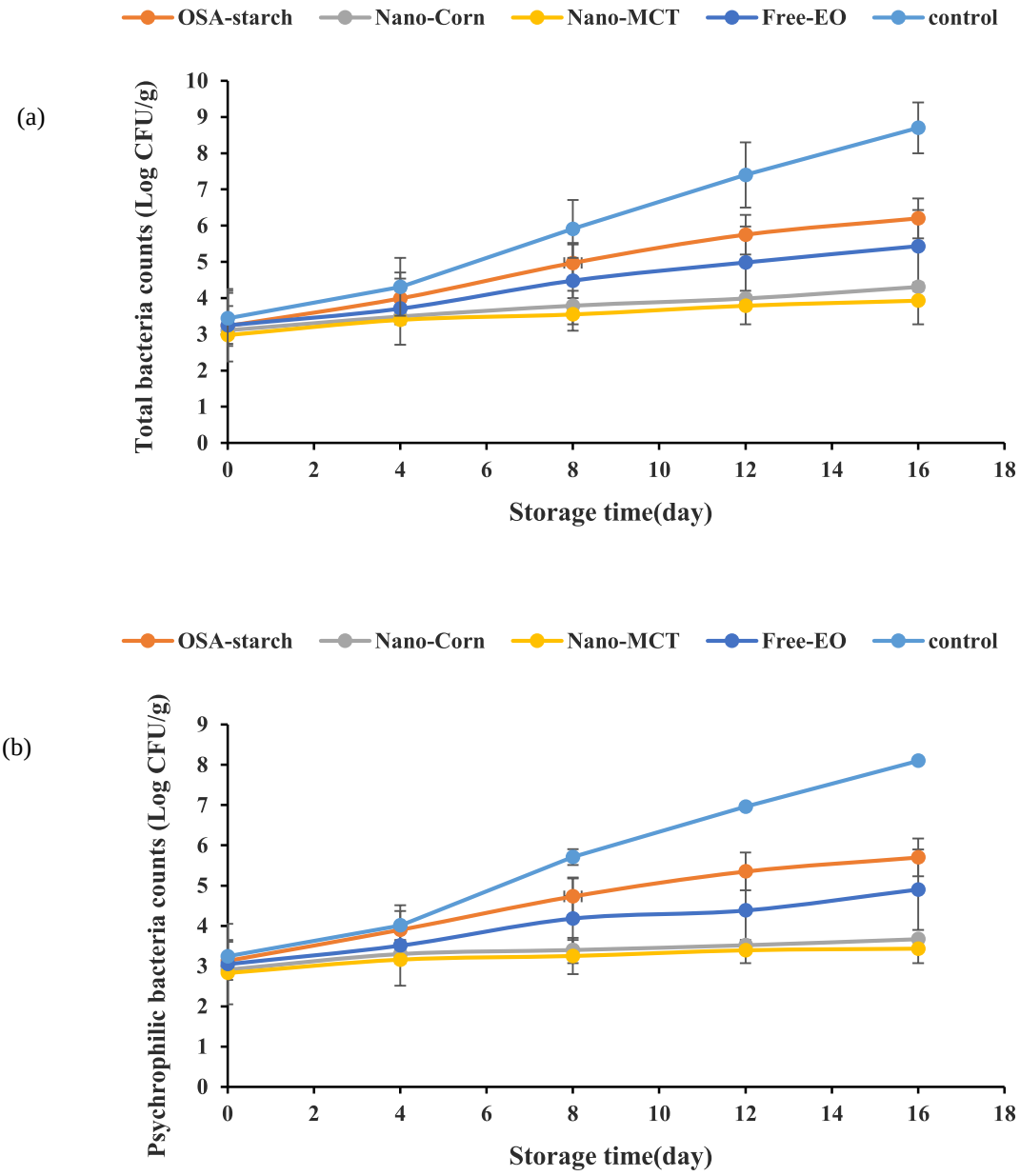
[۱] نمادهای حروف کوچک نمایانگر اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بین فرمولاسیون‌های مختلف نانوامولسیون و اسانس آزاد در هر ردیف می باشد.

[۲] داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف استاندارد بیان شده اند

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



شکل۲. تغییرات جمعیت (Log CFU/g) باکتری‌های کل (a) و باکتری‌های سرما دوست (b) در نمونه‌های ماهی قزل آلا پوشش داده شده با نشاسته اصلاح شده (OSA-Starch) بدون اسانس، نانومولسیون اسانس زنیان تهیه شده با روغن ذرت (نانو ذرت) و MCT (نانو MCT) به عنوان ممانعت کننده رسیدن طی امولسیون سازی خودبخودی و اسانس آزاد (Free EO) و نمونه بدون پوشش طی نگهداری در C °

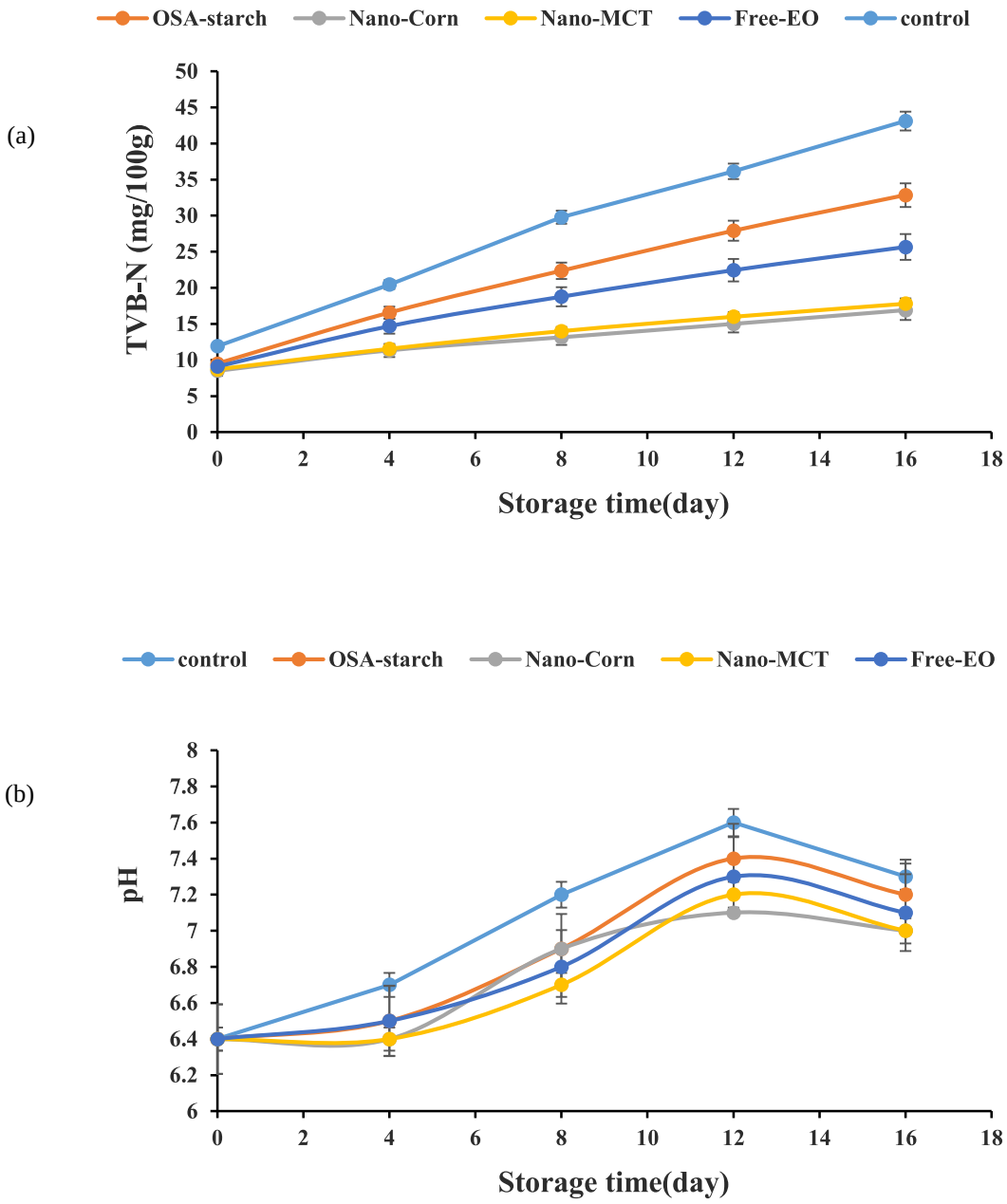
TVB-N

شکل (a) ۳ مقادیر TVB-N را برای تیمارهای مختلف در طی زمان نشان می‌دهد. مقادیر اولیه بازهای ازته فرار در نمونه ماهی در روز شروع ارزیابی، به ترتیب از ۱۱/۲ mg/100 g در نمونه‌های کنترل تا ۸/۵ mg/100 g برای نانو ذرت و mg/100 ۸/۷ g برای نانو MCT تغییر کرد. مقادیر TVB-N در تمام نمونه‌های با زمان نگهداری به طور معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۵) افزایش یافت و در پایان زمان نگهداری (روز ۱۶) نمونه‌های پوشش داده شده با نانو ذرت و نانو MCT به شکل معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۵) در مقایسه با نمونه‌های دیگر افزایش TVB-N کمتری نشان دادند. بالاترین سطح قابل قبول TVB-N در گوشت ماهی ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن به‌ازای ۱۰۰ گرم پیشنهاد شده است. در مطالعه حاضر این مقدار در نمونه‌های پوشش داده شده توسط نانو ذرت، نانو MCT و اسانس آزاد در کل دوره نگهداری همواره کمتر از مقدار ذکر شده بود. هر چند نمونه‌های حاوی اسانس آزاد نسبت به نمونه‌های دارای نانومولسیون به طور معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۵) مقادیر TVB-N بیشتری داشتند.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



شکل ۳. تغییرات TVB-N (mg/100 g) (a) و pH (b) در نمونه‌های ماهی قزل آلا پوشش داده شده با نشاسته اصلاح شده (OSA-Starch) بدون اسانس، نانوامولسیون اسانس زنیان تهیه شده با روغن ذرت (Nano corn) و MCT (Nano MCT) به عنوان ممانعت کننده رسیدن طی امولسیون سازی خودبخودی و اسانس آزاد (Free EO) طی نگهداری در ۴ ° C

pH

همان‌طور که در شکل ۳(b) مشاهده می‌شود، مقدار pH ابتدایی نمونه‌های ماهی به میزان ۶/۴ بود. نمونه کنترل بدون هیچ افزودنی بیشترین میزان pH را در طی تمام روزهای ارزیابی نشان داد و پس از آن نمونه پوشش داده شده با نشاسته اصلاح شده بالاترین میزان pH را داشت. هر چند در طول زمان نگهداری، یک افزایش معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) در مقدار pH وجود داشت. در عین حال، این روند در تیمارهایی که حاوی نانوموسیون‌های اسانس زنیان بود افزایش ملایم‌تری داشت به گونه‌ای که در انتهای دوره نگهداری ماهی حاوی پوشش با نانوامولسیون‌های مزبور کمترین میزان pH را نشان دادند.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

Archive of SID.ir

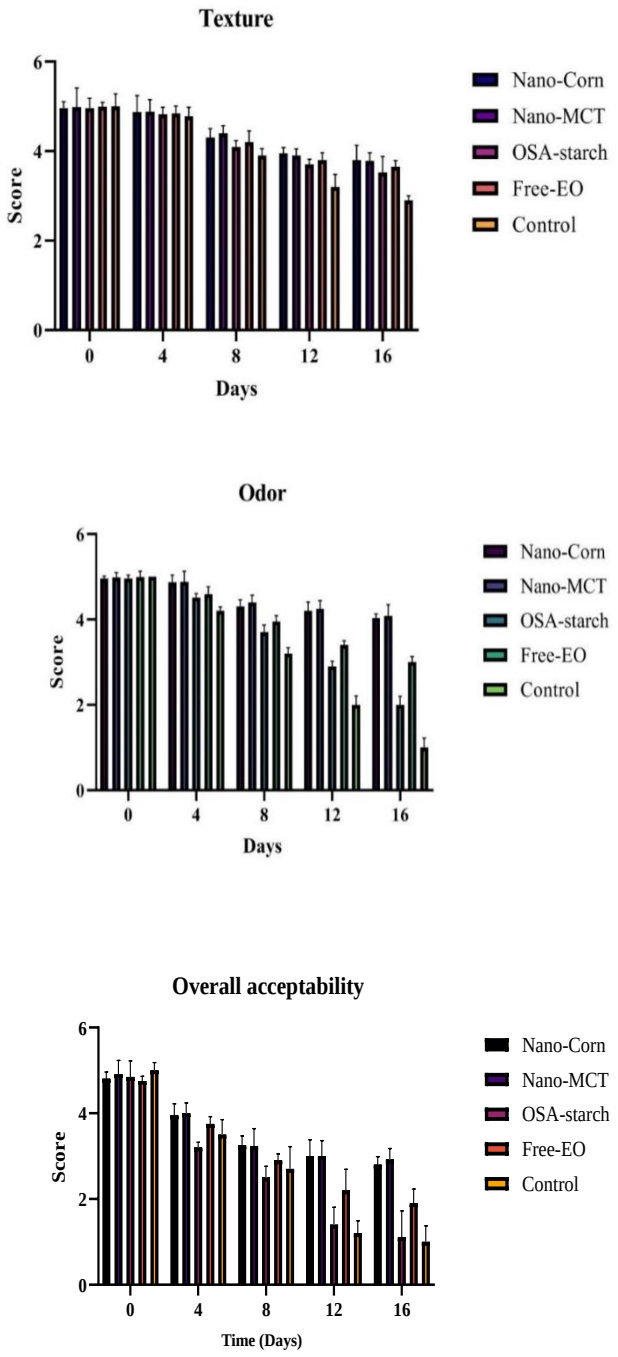
Archive of SID.ir

ارزیابی حسی

نتایج مرتبط با ارزیابی حسی تیمارهای ماهی قزل‌آلا در طول نگهداری در یخچال در شکل ۴ آورده شده است. در روز شروع ارزیابی هیچ اختلاف معنی‌داری در امتیازات مربوط به ارزیابی حسی (بافت، بو و پذیرش کلی) مشاهده نشد. امتیاز تمام فاکتورهای مورد بررسی حسی در همه تیمارها با گذشت زمان نگهداری کاهش یافت. این کاهش در تیمار کنترل بیشترین میزان و در تیمار نانومولسیون‌ها و پس از آن اسانس خالص کمترین میزان را داشت. تیمار نانومولسیون اسانس به‌طور معنی‌دار ($p < ۰/۰۵$) در فاکتورهای حسی بافت و بو نمره بالاتری را به‌دست آورد، اما در مورد فاکتور پذیرش کلی در روز ۴، میانگین امتیازها به کمتر از عدد ۴ رسید و در روزهای بعدی نگهداری کاهش بیشتری داشت. ارزیابی حسی نمونه ماهی دارای تیمارهای پوشش نشاسته اصلاح شده فاقد اسانس نیز در طی نگهداری کاهش یافتند ولی در کل این کاهش نسبت به نمونه کنترل کمتر بود (۲۷).

• بحث

فعالیت‌های قوی ضد باکتری، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی و نیز طعم مورد پسند عموم، اسانس زنیان را به یک نگهدارنده مناسب برای محصولات غذایی تبدیل کرده است. در این پژوهش، فرمولاسیون امولسیون‌های روغن در آب با استفاده از توین ۸۰ به عنوان سورفکتانت و روغن ذرت و MCT به عنوان عامل بازدارنده رسیدگی مورد بررسی قرار گرفتند. امولسیون‌های تشکیل شده در SOR برابر با ۰/۵ و بدون استفاده از نشاسته اصلاح شده در فاز آبی ناپایدار بودند؛ اما با استفاده از نشاسته اصلاح شده، امولسیون پایدار با قطر قطرات در حد نانومتر و PDI پایین شکل گرفت. هر چقدر شاخص PDI (شاخص پراکندگی ذرات) باریک‌تر باشد، به این معناست که اندازه ذرات کمتر است و امولسیون با پایداری بیشتری ایجاد می‌شود (۲۸، ۲۲). افزایش غلظت OSA-S بر بی ثباتی امولسیون و افزایش اندازه ذرات غلبه کرد، بنابراین به ساخت امولسیون‌های پایدار در SOR کمتر کمک کرد. در این راستا Wanyi و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که نشاسته اصلاح شده OSA کشش سطحی را در سیستم‌های روغن-آب به طور قابل توجهی نسبت به امولسیفایرهای پروتئینی کاهش می‌دهد و نشاسته اصلاح شده OSA فعالیت امولسیون کنندگی بیشتری نسبت به امولسیفایرهای پروتئینی دارد. همچنین در مطالعه Xiao و همکاران (۲۰۲۰) نتایج نشان داد که نانومولسیون پایدار شده با نشاسته اصلاح شده باعث کاهش استحکام کششی، محتوای آب و نفوذپذیری به بخار آب در فیلم‌های مبتنی بر پلولان شد، در حالی که افزایش طول در هنگام شکست و خواص ضد میکروبی فیلم‌ها افزایش یافت (۲۹، ۱۳).



شکل ۴. ارزیابی حسی نمونه‌های ماهی قزل آلا پوشش داده شده با نشاسته اصلاح شده (OSA-Starch) بدون اسانس، نانومولسیون اسانس زنیان تهیه شده با روغن ذرت (Nano corn) و MCT (Nano MCT) به عنوان ممانعت کننده رسیدن طی امولسیون سازی خودبخودی و اسانس آزاد (Free EO) و نمونه بدون پوشش طی نگهداری در ۴ °C

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

روغن ذرت به عنوان یک روغن LCT (Long chain triglycerides) معمولی مورد استفاده قرار گرفت. حلالیت کمتر روغن ذرت در آب، استفاده از درصدهای بالاتر امولسیفایر نشاسته اصلاح شده را اجتناب ناپذیر می‌کند. اندازه قطر کمتر امولسیون‌های تهیه شده توسط MCT را می‌توان با ویسکوزیته، وزن مولکولی و کشش سطحی کمتر MCT توضیح داد که باعث می‌شود MCT با رشد قطرات از طریق رسیدن Ostwald مخالفت کند. چندین مطالعه دیگر به این نتیجه رسیده اند که MCT در مقایسه با روغن ذرت عامل ممانعت کننده مؤثرتری است (۳۱، ۳۰، ۱۸). افزایش اندازه قطرات امولسیون‌ها در دمای یخچال با یافته‌های Li و Lu (۲۰۱۶) مطابقت داشت که نشان دادند رشد اندازه قطرات نانوامولسیون D-limonene در دمای ۴ °C به دلیل افزایش ویسکوزیته لایه‌های سورفکتانت و در نتیجه ایجاد اثر بی ثبات کنندگی است (۳۲).

کدورت به شدت به نوع بازدارنده عامل رسیدن استفاده شده و درصد نشاسته اصلاح شده بستگی دارد (۳۳) . کدورت امولسیونی تابعی از اندازه و غلظت قطرات است. بنابراین در مطالعه اخیر، کدورت متفاوت نشان دهنده اندازه قطرات متفاوت است (۳۲). امولسیون‌های تهیه شده با MCT در مقایسه با روغن ذرت کدورت کمتری را نشان دادند. این پدیده می‌تواند از تفاوت در اندازه ذرات و ویژگی‌های فاز پراکنده ناشی شود (۳۴).

فعالیت آنتی اکسیدانی نانوامولسیون‌های اسانس زنیان به نوع روغن مورد استفاده به عنوان عامل ممانعت کننده رسیدن بستگی داشت. فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافته نانو MCT را می‌توان به اندازه ذرات کوچکتر آن (۸۸/۳±۳۸/۳۲) در مقایسه با نانو ذرت (۱۴۴/۴±۸/۳۱) نسبت داد. علاوه بر این، درصد بیشتری از نشاسته اصلاح شده (۱/۵٪) برای تثبیت امولسیون‌های پایدار شده توسط روغن ذرت به عنوان ممانعت‌کننده رسیدن مورد نیاز بود که درصد بالاتر نشاسته اصلاح شده می‌تواند ویسکوزیته فاز پیوسته را افزایش داده و در نتیجه انتشار اسانس از سیستم امولسیونی را محدود کند.

در مطالعه اخیر، وجود نشاسته اصلاح شده هیچ تأثیر مخربی بر فعالیت ضد باکتریایی نشان نداد. در چندین مطالعه فعالیت ضد میکروبی بالاتری از نانوامولسیون‌های تثبیت شده حاوی روغن LCT مانند روغن ذرت به عنوان ممانعت کننده رسیدن گزارش شده است (۳۵، ۳۰). این را می‌توان به دلیل بار سطحی منفی میکروارگانیسم‌ها توضیح داد که می‌تواند قطرات نانو MCT را با کارایی بالاتری نسبت به نانوذرت به دلیل پتانسیل زتا منفی بالاتر دفع کنند (۳۶). باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت، مقاومت بیشتری در برابر نانوامولسیون‌های حاوی اسانس نشان دادند. این پدیده را می‌توان به تفاوت‌های ساختاری در دیواره سلولی این دو نوع باکتری نسبت داد. غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی از لیپوپلی ساکاریدها تشکیل شده است که می تواند به عنوان یک مانع عمل کند و نفوذ ترکیبات آبگریز مانند اسانس‌های موجود در نانوامولسیون‌ها را محدود کند (۳۸، ۳۷).

ارزیابی تغییرات جمعیت میکروبی باکتریایی کل و سرمادوست‌ها در نمونه‌های تیمار شده نشان داد که در طول زمان، جمعیت باکتریایی در همه تیمارها افزایش یافت. این افزایش به طور معنی‌داری در تیمار کنترل و تیمار پوشش نشاسته اصلاح شده با شدت بیشتری مشاهده شد. باید توجه داشت که جمعیت میکروبی در ماهیان آب شیرین، همچون قزل‌آلا، تحت شرایط نگهداری و پرورش ممکن است متفاوت باشد. اگرچه میزان جمعیت باکتری‌ها در تیمارهای حاوی نانوامولسیون حدود ۱/۳۰ سیکل لگاریتمی تغییریافته است، ولی مقادیر نهایی جمعیت باکتری‌ها به‌عنوان میزان قابل‌قبول موردنظر قرار گرفتند. Khanzadi و همکاران (۲۰۲۰) اثر پوشش‌های حاوی اسانس آویشن شیرازی برپایه آلژینات را بر کیفیت میکروبی فیله ماهی بررسی کردند. یافته‌های تمامی نمونه‌ها افزایش تعداد میکروبی را در طول دوره‌های نگهداری نشان دادند. بیشترین میزان کاهش حدود ۲ log CFU/g برای تعداد کل باکتری‌های زنده و حدود ۱ log CFU/g برای باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های حاوی نانوامولسیون آویشن شیرازی مشاهده شد (۳۹).

در نمونه‌های مورد مطالعه، به رغم پایین بودن جمعیت‌های میکروبی در روزهای ابتدایی نگهداری، به تدریج بار میکروبی به ویژه در گروه کنترل و نمونه‌های پوشش داده شده با نشاسته اصلاح شده، افزایش پیدا کرد. نتایج حاصل از این مطالعه با تحقیقات گذشته نیز همخوانی داشته و تأثیر مثبت اسانس‌های مورد استفاده بر جلوگیری از رشد باکتری‌ها را تأیید می‌کند. در مطالعه Shokri و همکاران (۲۰۲۰) کارایی پوشش‌های کیتوزان حاوی نانوامولسیون‌های چَویل (CH + EO) (Ferulago) بر افزایش ماندگاری فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج اثر بازدارندگی قابل توجهی بر رشد باکتری‌ها نشان داد. علاوه بر این، پوشش‌های حاوی نانوامولسیون باعث به تعویق انداختن افزایش TVB-N و پراکسیداسیون لیپیدی در فیله ماهی شدند. بافت، رنگ و پذیرش کلی نمونه‌های تیمار شده با نانوامولسیون CH + EO به طور قابل‌توجهی بهتر از نمونه‌های دیگر بود (۴۰).

تجزیه و تحلیل ترکیبات نیتروژنی فرار مانند تری‌متیل‌آمین به‌عنوان شاخصی جهت ارزیابی فرایند فساد در گوشت و

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

محصولات گوشتی در نظر گرفته می‌شود. این ترکیبات به‌عنوان معیارهای TVB-N در نظر گرفته می‌شوند که از تجزیه ترکیبات نیتروژن‌دار در اثر فعالیت‌های میکروبی و آنزیمی در گوشت ایجاد می‌شوند. با توجه به اینکه بازهای ازته فرار عمدتاً از تجزیه (فساد) باکتریایی در گوشت ماهی ایجاد می‌شوند، مشاهدات نشان می‌دهند که شمارش باکتری‌های کل در نمونه‌های شاهد، نسبت به نمونه‌های پوششی، پس از گذشت ۱۲ روز ممکن است با مقادیر بالای TVB-N نمونه‌های شاهد از روز ۱۲ به بعد مرتبط باشد. همچنین، در مطالعه حاضر مشاهده شد که بازهای ازته فرار در نمونه‌های پوششی با نانوامولسیون‌ها نسبت به نمونه‌های کنترل و پوششی با نشاسته اصلاح شده به شکل معنی‌داری کمتر است. این اختلاف ممکن است به کاهش جمعیت باکتریایی، کاهش توانایی اکسایشی آنها در جدا کردن آمین‌ها از ترکیبات نیتروژنی غیر فرار یا هر دو عامل مربوط شود. این موضوع می تواند به اثر مثبت و ضد میکروبی اسانس زنیان بر باکتری‌های موجود در فیله ارتباط داشته باشد. در مطالعه Yu و همکاران (۲۰۲۳) اثرات پوشش‌های فعال صمغ لوکاست و کربوکسی متیل کیتوزان همراه با نانوامولسیون‌های اسانس (MOEO) بر ماندگاری فیله‌های باس دریایی (Lateolabrax japonicus) در طول نگهداری در یخچال مورد بررسی قرار گرفت. پوشش‌های فعال به‌طور قابل‌توجهی تولید ترکیبات عامل فساد مانند تری متیل آمین،TVB-N و اسیدهای آمینه آزاد را کاهش دادند (۴۱). همچنین در مطالعه Durmus (۲۰۲۰) اثرات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی نانوامولسیون‌های اسانس پرتقال، گریپ فروت، ماندارین و لیمو را بر روی فیله‌های ماهی قزل آلای رنگین کمان بررسی شد. نتایج نشان داد استفاده از نانوامولسیون‌های مبتنی بر اسانس مرکبات باعث کاهش مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی و کاهش رشد باکتری‌ها در مقایسه با گروه کنترل شد. در بین تمام گروه‌ها، تنها گروه کنترل از مقدار مجاز حد TVB-N در روز دوازدهم نگهداری فراتر رفت. علاوه بر این، کمترین تعداد باکتری در گروه تیمار شده با نانوامولسیون‌های نارنگی و گریپ فروت مشاهده شد. نتایج نشان داد که تهیه نانوامولسیون از اسانس‌های مرکبات در نگهداری فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان مؤثر است (۴۲).

در مطالعه حاضر تغییرات در ویژگی‌های حسی فیله ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان، در طول دوره نگهداری ۱۶ روزه در دمای ۴°C، ارزیابی شد. همان طور که مشاهده می‌شود، به طور کلی، نمونه‌های بدون پوشش در تمام مدت نگهداری، به جز روز شروع، کمترین امتیاز را از سوی ارزیاب‌ها دریافت کردند. با توجه به نمره حسی قابل قبول برای مصرف، که در محدوده ۴ و بالاتر از آن قرار دارد، نمونه‌های پوشش داده شده با نانوامولسیون‌ها از نظر بافت و بو تا پایان روز ۱۶ قابل قبول برای مصرف بودند. با توجه به امتیازهای بدست آمده از پذیرش کلی می توان نتیجه گرفت که استفاده از پوشش نانوامولسیون منجر به افزایش ماندگاری فیله‌های ماهی قزل‌آلا تا حداقل ۸ روز شد. نتایج حسی با نتایج تجزیه و تحلیل میکروبی و شیمیایی همخوانی داشت. بنابراین تیمارهای دارای اسانس به صورت نانوامولسیون یا آزاد به دلیل ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی توانسته‌اند کیفیت حسی محصول را بهتر حفظ نمایند. این نتایج نشان دهنده امکان استفاده از پوشش فعال به شکل نانوامولسیون به منظور افزایش ماندگاری محصولات دریایی تازه می باشد. در مطالعه مشابه Remezani و همکاران (۲۰۱۵) نمونه‌های ماهی شاهد و پوشش‌داده‌شده را به‌طور دوره‌ای برای ویژگی‌های حسی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج نشان داد که هر دو پوشش کیتوزان و نانوکیتوزان برای حفظ فیله ماهی کپور نقره ای در طول نگهداری در یخچال مؤثر بودند. با این حال، نانوکیتوزان فعالیت ضد میکروبی بالاتری نسبت به کیتوزان در طول دوره نگهداری از خود نشان داد (۴۳).

نتیجه گیری

در سال‌های اخیر، باتوجه به تقاضای رو به افزایش مصرف‌کنندگان برای محصولات طبیعی و ایمن، تلاش‌های بسیاری برای جستجوی روش‌های نگهداری ملایم با هدف بهبود کیفیت و ایمنی میکروبی محصولات صورت‌گرفته است. در این زمینه، استفاده از ترکیبات ضد میکروبی طبیعی، به‌ویژه اسانس‌ها، به‌عنوان جایگزینی با پتانسیل بالا برای ارتقای خصوصیات کیفی و ایمنی محصولات، بدون اثر مخرب بر سلامت انسان، مطرح شده است. نتیجه تحقیق حاضر نشان داد که افزودن نشاسته اصلاح شده به فاز آبی می تواند منجر به تشکیل نانوامولسیون‌های پایدار از اسانس زنیان شده و کاهش قابل‌توجهی در SOR ایجاد کند. با توجه به یافته‌های به‌دست‌آمده از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از نانوامولسیون‌های حاوی اسانس زنیان در پایه نشاسته اصلاح شده بر مدت ماندگاری فیله‌های ماهی مؤثر است. استفاده از این نانوامولسیون‌ها به‌عنوان افزودنی در محصولاتی مانند ماهی قزل‌آلا، می‌تواند ماندگاری این محصولات را افزایش داده، فساد را کنترل کرده و باعث کاهش هزینه‌های جانبی ناشی از دور ریزی این محصول با ارزش گردد. علاوه بر این تولید نانوامولسیون هایی با حداقل مصرف سورفکتانت و با استفاده از مواد با درجه غذایی مانند نشاسته اصلاح شده و با استفاده از روش هایی مانند امولسیون سازی خودبخودی که نیازی به تجهیزات پیچیده ای ندارند و روش هایی آسان با کاربرد راحت تعریف می شوند می‌تواند گامی مؤثر در جهت کاهش استفاده

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

از نگهدارنده‌های مصنوعی و افزایش استفاده از نانوامولسیون‌های اسانس‌ها در صنعت غذا باشد.

سپاسگزاری: این تحقیق توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز و با شماره گرنت ۶۹۰۸۹ حمایت مالی شده است و در آزمایشگاه شیمی و میکروب دانشکده تغذیه و علوم غذایی علوم پزشکی تبریز به انجام رسیده است، بدین وسیله از واحدهای مزبور تشکر و قدردانی به عمل می آید.

• References

1. Manzoor M, Sharma P, Murtaza M, Jaiswal AK, Jaglan S. Fabrication, characterization, and interventions of protein, polysaccharide and lipid-based nanoemulsions in food and nutraceutical delivery applications: A review. International Journal of Biological Macromolecules. 2023:124485.

2. Yazgan H, Ozogul Y, Kuley E. Antimicrobial influence of nanoemulsified lemon essential oil and pure lemon essential oil on food-borne pathogens and fish spoilage bacteria. International Journal of Food Microbiology. 2019;306:108266.

3. Enayatifard R, Akbari J, Babaei A, Rostamkalaei SS, Hashemi SMH, Habibi E. Anti-microbial potential of nano-emulsion form of essential oil obtained from aerial parts of Origanum Vulgare L. as Food Additive. Advanced Pharmaceutical Bulletin.۳۲۷:(۲)۱۱;۲۰۲۱

4. Erceg T, Šovljanski O, Stupar A, Ugarković J, Aćimović M, Pezo L, et al. A comprehensive approach to chitosan-gelatine edible coating with β-cyclodextrin/lemongrass essential oil inclusion complex - Characterization and food application. International Journal of Biological Macromolecules. 2023;228:400-10.

5. Tian WL, Lei LL, Zhang Q, Li Y. Physical stability and antimicrobial activity of encapsulated cinnamaldehyde by self-emulsifying nanoemulsion. Journal of Food Process Engineering. 2016;39(5):462-71.

6. Ryu V. Use Of Different Ripening Inhibitors To Enhance Antimicrobial Activity Of Essential Oil Nanoemulsion. 2017.

7. Safaya M, Rotliwala Y. Nanoemulsions: A review on low energy formulation methods, characterization, applications and optimization technique. Materials Today: Proceedings. 2020;27:454-9.

8. Li Z, Xu D, Yuan Y, Wu H, Hou J, Kang W, et al. Advances of spontaneous emulsification and its important applications in enhanced oil recovery process. Advances in Colloid and Interface Science. 2020;277:102119.

9. Santamaria-Echart A, Fernandes IP, Silva SC, Rezende S, Colucci G, Dias MM, et al. New trends in natural emulsifiers and emulsion technology for the food industry. Natural Food Additives. 2021:1-31.

10. Moayedzadeh S, Gunasekaran S, Madadlou A. Spontaneous emulsification of fish oil at a substantially low surfactant-to-oil ratio: Emulsion characterization and filled hydrogel formation. Food Hydrocolloids. 2018;82:11-8.

11. Królikowska K, Fortuna T, Pietrzyk S, Gryszkin A. Effect of modification of octenyl succinate starch with mineral elements on the stability and rheological properties of oil-in-water emulsions. Food Hydrocolloids. 2017;66:118-27.

12. Wang L, Zhu S, Chen Y, Karthik P, Chen J. Fabrication and characterization of O/W emulsion stabilized by Octenyl Succinic Anhydride (OSA) modified resistant starch. Food Hydrocolloids. 2023;141:108750.

13. Feng X, Wang W, Chu Y, Gao C, Liu Q, Tang X. Effect of cinnamon essential oil nanoemulsion emulsified by OSA modified starch on the structure and properties of pullulan based films. LWT. 2020;134:110123.

14. Soltani Howyzeh M, Sadat Noori SA, Shariati J V, Niazian M. Essential oil chemotype of iranian ajowan (Trachyspermum ammi L.). Journal of Essential Oil Bearing Plants. 2018;21(1):273-6.

15. Izadi M, Jorf SAM, Nikkhah M, Moradi S. Antifungal activity of hydrocolloid nano encapsulated Carum copticum essential oil and Peganum harmala extract on the pathogenic fungi Alternaria alternata. Physiological and Molecular Plant Pathology. 2021;116:101714.

16. Chadha U, Bhardwaj P, Selvaraj SK, Arasu K, Praveena S, Pavan A, et al. Current trends and future perspectives of nanomaterials in food packaging application. Journal of Nanomaterials. 2022;2022:1-32.

17. Hai Y, Zhou D, Lam YLN, Li X, Chen G, Bi J, et al. Nanoemulsified clove essential oils-based edible coating controls Pseudomonas spp.-causing spoilage of tilapia (Oreochromis niloticus) fillets: Working mechanism and bacteria metabolic responses. Food Research International. 2022;159:111594.

18. Chang Y, McLandsborough L, McClements DJ. Physicochemical properties and antimicrobial efficacy of carvacrol nanoemulsions formed by spontaneous emulsification. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2013;61(37):8906-13.

19. Taarji N, Bouhoute M, Melanie H ,Hafidi A, Kobayashi I, Neves M, et al. Stability characteristics of O/W emulsions prepared using purified glycyrrhizin or a non-purified glycyrrhizin-rich extract from liquorice root (Glycyrrhiza glabra). Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2021;614:126006.

20. Saberi AH, Fang Y, McClements DJ. Fabrication of vitamin E-enriched nanoemulsions: Factors affecting particle size using spontaneous emulsification. Journal of Colloid and Interface Science. 2013;391:95-102.

21. Chang HW, Tan TB, Tan PY, Abas F, Lai OM, Wang Y, et al. Physical properties and stability evaluation of fish oil-in-water emulsions stabilized using thiol-modified β-lactoglobulin fibrils-chitosan complex. Food Research International. 2018;105:482-91.

22. Sampaio CI, Bourbon AI, Gonçalves C, Pastrana LM, Dias AM, Cerqueira MA. Low energy nanoemulsions as carriers of thyme and lemon balm essential oils. LWT. 2022;154:112748.

23. Khaledian Y, Pajohi-Alamoti M, Bazargani-Gilani B. Development of cellulose nanofibers coating incorporated with ginger essential oil and citric acid to extend the shelf life of ready-to-cook barbecue chicken. Journal of Food Processing and Preservation. 2019;43(10):e14114.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

24. Avan AN, Karakaş Ö, Demirci-Çekiç S, Apak R. Enzymatic determination of hypoxanthine in fish samples as a freshness indicator using the CUPRAC colorimetric sensor. Enzyme and Microbial Technology. 2023;162:110137.

25. Jnr MH, Gentleman PC, Adowei P, Dikio ED. Evaluation of total volatile bases and trimethylamine in hake (Merluccius capensis) fish preserved at low temperature in Vanderbijlpark, South Africa. 2023.

26. Ozogul Y, Yuvka İ, Ucar Y, Durmus M, Kösker AR, Öz M, et al. 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. 2017;75:677-84.

27. Yıldız PO, editor Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on proximate composition of rainbow trout fillets. AIP Conference Proceedings; 2017: AIP Publishing.

28. Yildirim ST, Oztop MH, Soyer Y. Cinnamon oil nanoemulsions by spontaneous emulsification: Formulation, characterization and antimicrobial activity. LWT. 2017;84:122-8.

29. Wanyi W, Lu L, Zehan H, Xinan X. Comparison of emulsifying characteristics of different macromolecule emulsifiers and their effects on the physical properties of lycopene nanoemulsions. Journal of Dispersion Science and Technology. 2019.

30. Ryu V, Corradini MG, McClements DJ, McLandsborough L. Impact of ripening inhibitors on molecular transport of antimicrobial components from essential oil nanoemulsions. Journal of Colloid and Interface Science. 2019;556:568-76.

31. Jang Y, Park J, Song HY, Choi SJ. Ostwald ripening rate of orange oil emulsions: Effects of molecular structure of emulsifiers and their oil composition. Journal of Food Science. 2019;84(3):440-7.

32. Li P-H, Lu W-C. Effects of storage conditions on the physical stability of D-limonene nanoemulsion. Food Hydrocolloids. 2016;53:218-24.

33. Nhouchi Z, Watuzola R, Pense-Lheritier AM. A review on octenyl succinic anhydride modified starch-based Pickering-emulsion: Instabilities and ingredients interactions. Journal of Texture Studies. 2022;53-٥٨١:(٥) .٦٠٠.

34. Jiang T, Charcosset C. Encapsulation of curcumin within oil-in-water emulsions prepared by premix membrane emulsification: Impact of droplet size and carrier oil on the chemical stability of curcumin. Food Research International. 2022;157:111.٤٧٥

35. Weiss J, Loeffler M, Terjung N. The antimicrobial paradox: why preservatives lose activity in foods. Current Opinion in Food Science. 2015;4:69-75.

36. Huang K, Liu R, Zhang Y, Guan X. Characteristics of two cedarwood essential oil emulsions and their antioxidant and antibacterial activities. Food Chemistry. 2021;346:128970.

37. Pabast M, Shariatifar N, Beikzadeh S, Jahed G. Effects of chitosan coatings incorporating with free or nano-encapsulated Satureja plant essential oil on quality characteristics of lamb meat. Food Control. 2018;91:185-92.

38. Tometri SS, Ahmady M, Ariaii P, Soltani MS. Extraction and encapsulation of Laurus nobilis leaf extract with nano-liposome and its effect on oxidative, microbial, bacterial and sensory properties of minced beef. Journal of Food Measurement and Characterization. 2020;14:3333-44.

39. Khanzadi S, Keykhosravy K, Hashemi M, Azizzadeh M. Alginate coarse/nanoemulsions containing Zataria multiflora Boiss essential oil as edible coatings and the impact on microbial quality of trout fillet. Aquaculture Research. 2020;51(3):873-81.

40. Shokri S, Parastouei K, Taghdir M, Abbaszadeh S. Application an edible active coating based on chitosan-Ferulago angulata essential oil nanoemulsion to shelf life extension of Rainbow trout fillets stored at 4 C. International Journal of Biological Macromolecules. 2020;153:846-54.

41. Yu H, Yan Q, Yang Z, Mei J, Xie J. Effect of Carboxymethyl Chitosan-Locust Bean Gum Active Coatings Incorporated with Melissa officinalis L. Essential Oil Nanoemulsions on the Quality of Sea Bass (Lateolabrax japonicus) During Refrigerated Storage at 4° C. Journal of Polymers and the Environment. 2023;31(2):565-78.

42. Durmus M. The effects of nanoemulsions based on citrus essential oils (orange, mandarin, grapefruit, and lemon) on the shelf life of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fillets at 4±2 C. Journal of Food Safety. 2020;40(1):e12718.

43. Ramezani Z, Zarei M, Raminnejad N. Comparing the effectiveness of chitosan and nanochitosan coatings on the quality of refrigerated silver carp fillets. Food Control. 2015;51:43-8.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

Investigating Effects of *Carum Copticum* Essential Oil Nanoemulsion Produced by Spontaneous Emulsification Using Modified Starch as A Coating to Increase the Shelf Life of Trout

Pourshamohammad S[1], Mahmoudzadeh M[2]*

1- Student Research Committee, Ms.c Student of Food Hygiene and safety, Faculty of Nutrition and Food Science, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran

2- Corresponding author: Assistant Prof, Dept of Food Science &Technology, Faculty of Nutrition and Food Science, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. Email: mahmoudzadehm@tbzmed.ac.ir*

Received 10 Dec, 2023 **Accepted 14 Feb, 2024**

Background and Objectives: In the field of food science and technology, it is critical to improve shelf life and quality of meat products. One of the effective approaches in this field includes use of coatings containing essential oil nanoemulsions. The present study was carried out to produce *Carum copticum* essential oil nanoemulsion using spontaneous emulsification method, coating on the surface of trout fillets and modified starch.

Materials & Methods: Emulsions of *Carum copticum* essential oil were prepared using modified starch emulsifier and two ripening inhibitors of corn and MCT oils via spontaneous emulsification method. Then, stability, turbidity, antimicrobial and antioxidant activity of the prepared nanoemulsions were investigated. Nanoemulsions were coated on the surface of trout and the fish spoilage characteristics were assessed during refrigeration.

Results: Nanoemulsions prepared with corn oil and MCT included particle sizes of 88.38 nm ±3.32 and 144.8 nm ±4.31, respectively. Coatings containing nanoemulsion significantly decreased the total bacteria count as well as psychrophile bacteria of fish during storage. At the end of the storage, fish samples containing essential oil nanoemulsions showed lower TVB-N and pH and higher overall acceptability, compared to that samples with pure essential oil and uncoated samples did.

Conclusion: Spontaneous emulsification method in presence of modified starch was able to produce stable nanoemulsions from essential oils. Nanoemulsions prepared as coatings increased the shelf life of trout, which highlights the role of using natural compounds to increase the shelf life of foods.

Keywords: *Carum copticum* essential oil, Spontaneous emulsification, Modified starch, Antimicrobial activity, Trout

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2024-08-04]

Archive of SID.ir