Archive of SID

پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، علمی ـ پژوهشی، سال شانزدهم، پاییز، شماره ۳، ۱۳۹۸، ۲۸۷۶-۲۸۵۹

تولید نانوامولسیون اسانس کارکومین (Curcuma longa) به روش برگشت فاز (Emulsion phase inversion) و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی آن در شرایط یخچالی

لیلا خوشبوی لاهیجانی [۱] ، حامد اهری [۲*]، انوشه شریفان [۳]

چکیده

امروزه فساد سبب ایجاد بوی نامطبوع، تغییرات نامطلوب طعم، رنگ و بافت و کاهش ارزش غذایی می‌گردد.. دراستفاده از پوشش های فعالی که حاوی ترکیبات ضد میکروبی است ، فاکتورهای زیادی باید مورد توجه قرار گیرند اغلب این فاکتورها به ماهیت شیمیایی ماده ضدمیکروبی، نوع ماده غذایی ومیکروارگانیسم هدف بستگی دارند.در این پژوهش خواص شیمیایی و میکروبی ماهی قزل‌آلا پوشش داده شده با نانوامولسیون کارکومین مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌های تهیه شده به ٤ دسته تقسیم شدند که شامل تیمار شاهد، نانوامولسیون حاوی ۱، ۳ و ۵ درصد کارکومین می‌باشند. به منظور بررسی اثر تیمارها بر روی خواص شیمیایی اندازه‌گیری pH اسید چرب آزاد، آمین فرار کل انجام شد؛ و خصوصیات میکروبی از طریق شمارش کلی میکروبی، اندازه گیری کلیفرم‌های مدفوعی و استافیلوکوکوس اورئوس-های کوآگولاز مثبت مورد بررسی قرار گرفت. همچنین به منظور ارزیابی حسی توسط پانلیست‌ها بو، بافت، رنگ و پذیرش کلی ماهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد با استفاده از پوشش نانوامولسیون حاوی ۵٪ کارکومین می‌توان مدت زمان نگهداری ماهی را به ۱۰ روز افزایش داد، به طوری که از فساد شیمیایی و میکروبی جلوگیری نماید.

واژگان کلیدی: *کارکومین، ماندگاری، نانوامولسیون، تغییرات فیزیکوشیمیایی، تغییرات.*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/٤/۱٦

مقدمه

اخیرا، افزایش آگاهی مصرف کنندگان سبب شده است استفاده از فرآورده‌های دریائی افزایش یابد و از طرفی مضرات مصرف سایر محصولات گوشتی بر پایه‌ی گوشت قرمز و ماکیان به همان نسبت کاهش یافته است.اما ماهیت و ترکیبات شیمیائی ماهی تازه سبب شده است به راحتی هدف تهاجم میکروارگانیسم‌ها بوده و دچار آلودگی شوند (۱). میزان ضایعات سالانه ماهی حدود ٤-۵میلیون تن باشد که به دلیل فساد میکروبی و آنزیمی ناشی از نگهداری در شرایط نامناسب می‌باشد. درجات مختلف در فساد ماهیان به عوامل مختلفی شامل فلور میکروبی اولیه، کیفیت ماهی، روش‌های حمل و نقل و جا به جائی و دمای نگهداری بستگی دارد. همچنین شرایط نگهداری بر روی نوع میکروارگانیسم‌های درگیر در فساد نیز تاثیر گذار است. گونه‌های شوانلا، سودوموناس و فلورسنس‌ها از جمله میکروارگانیسم‌هایی هستند که در فساد ماهی‌های نگهداری شده در شرایط سرد و هوازی دخیل هستند؛ و فتوباکتریوم، موراکسلا، اسنیتوباکتر و آلکالیژنز در شرایطی سبب فساد می‌شوند که نگهداری در دما سرد و بی‌هوازی (بسته‌بندی) انجام شده باشد(۲).

یکی از رویکردهای اصلی برای جلوگیری از این‌گونه فسادها استفاده از ترکیبات شیمیایی سنتزی می‌باشد. اما در حال حاضر استفاده از این ترکیبات به دلیل اثرات نامطلوب نظیر سرطان زائی، سمیت حاد، ایجاد ناهنجاری‌های مادرزادی (Teratogenicity) و آلودگی‌های زیست محیطی، تا حد زیادی محدود شده است(۳).

در این راستا، اصطلاح ترکیبات ضد میکروبی طبیعی به اجزائی تلقی می‌شود که به صورت طبیعی و مستقیم از منشاء سامانه‌های زیستی و بدون هیچ گونه تغییر یا اصلاح

۱- کارشناس ارشد دانشکده ی علوم کشاورزی وصنایع غذایی واحد علوم وتحقیقات تهران
*۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (dr.h.ahari@gmail.com)
۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذای، واحد علوم وتحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

ساختاری در ابعاد آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می-گیرند(٤). این ترکیبات دارای خصوصیات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی فراوانی هستند که از فساد میکروبی و اکسید شدن چربی گوشت می‌توانند جلوگیری نمایند.

این ماده با ساختار فنولی از ساقه زیرزمینی گیاه کارکوما لوگنا (Curcuma longa) استخراج و از خانواده زنجبیل (Ginger) می‌باشد. کارکومین تحت عنوان ماده موثره ادویه زردچوبه در صنعت غذا کاربرد دارد. خواستگاه آن نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری است مانند چین و هندوستان که جزء تولید کننده اصلی این گیاه هستند و همچنین کارکومین حدود دو قرن پیش توسط Vogel و Peletier کشف شد. داشتن این خواص ویژه به همراه عدم سمیت، باعث شده است که این ترکیب منحصربه فرد موردتوجه جدی مراکز تحقیقاتی دارویی قرار داشته باشد.علی رغم داشتن این خواص عالی، مصرف کورکومین با محدودیت‌های جدی مواجه است. کورکومین حلالیت اندکی در حلال های آبی دارد (حدود ۲۰ میکروگرم در میلی لیتر). این ترکیب در pHهای فیزیولوژیک و اسیدی پایدار بوده اما در شرایط بازی (pH=۸) به سرعت تخریب می‌شود. برای رفع این مشکلات، فرمولاسیون‌های متعددی بر اساس انکپسوله کردن کورکومین به صورت نانو ذرات پلیمری و نانو ژل‌ها، سورفاکتانت‌ها، پروتئین‌ها، لیپوزوم‌ها، فسفولیپیدها، کانجوگه‌ها و غیره صورت پذیرفته است که در بسیاری از موارد این تلاش‌ها با نتایج رضایت بخشی همراه بودند (۵).

استفاده از کارکومین به عنوان پوشش مواد غذایی سبب می-شود، به دلیل حلالیت پایین آن‌ها در آب و اتصال آب گریز (Hydrophobic)با اجزای غذایی مانند چربی و پروتئین، فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی خود را نداشته باشند. بدین ترتیب روش‌های مختلفی برای جلوگیری از این اتفاق وجود دارد که می‌توان به انکپسولاسیون و تولید میکرو و نانومولسیون اشاره نمود. استفاده از این روش‌ها باعث کاهش اثرات سوء ترکیبات غذایی و نیز توزیع مناسب اسانس در ماده غذایی می‌گردد(٦).

به‌کارگیری فناوری نانو می‌تواند تا حد زیادی سبب افزایش کارایی و ارتقای کیفی مواد بسته‌بندی شده و در نتیجه منافذ ماده بسته‌بندی کوچکتر شود. این موضوع سبب شده است پوشش‌های طراحی شده به کمک فناوری نانو دارای کارایی بیشتری در مقایسه با پوشش‌های معمولی ایجاد نماید (۷). یکی از روش‌های مورد استفاده در تولید نانومولسیون روش برگشت فاز(Emulsion phase inversion)است که طی این روش فاز آبی به فاز روغنی در حال هم زدن اضافه می‌گردد. افزدون تدریجی آب به روغن سبب ایجاد مایع شفاف غلیظ شده و یک میکرومولسیون تشکیل می‌گردد. با مرور زمان قطرات این میکرومولسیون شکسته شده و امولسیون از حالت آب در روغن به طور ناگهانی به روغن در آب تبدیل می‌شود و قطرات روغن تشکیل می‌شود که به این روش برگشت فاز یا فاز معکوس گفته می‌شود(۸).

هدف از این تحقیق پوشش دهی ماهی قزل‌آلا با نانومولسیون حاوی کارکومین است به منظور افزایش مدت زمان نگهداری است.طی این مدت ارزیابی ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی انجام شد و بر این اساس مدت زمان نگهداری ماهی با پوشش نانومولسیونی حاوی کارکومین تخمین زده شد.

مواد و روش کار

تهیه و تعیین ویژگی‌های کارکومین

گیاهان این اسانس به صورت آماده از شرکت کشت و صنعت کازرون تهیه شد. این اسانس‌ها دارای ۲ سال ماندگاری در دمای 25^0C و شرایط دور از نور می‌باشند. تعیین ترکیبات اسانس توسط دستگاه کروماتوگرافی گازیانجام شد که این دستگاه همراه با طیف سنج جرمی برای شناسایی پیک‌ها مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز توسط

www.SID.ir

Archive of SID

دستگاه کروماتوگرافی گازی Perkin-Elmer 8500 انجام شد که مجهز به آشکار ساز FID بود، طول ستون آن ۳۰ متر، قطرآن ۰/۲۵میلی متر و ضخامت دیواره آن ۰/۲۵میکرومتر بود. همچنین در این روش گاز نیتروژن با سرعت ۲ml/minبه عنوان گاز حامل بکار رفته شد(۹).

آماده سازی نانوامولسیون O/Wاسانس کاکومین

برای آماده سازی نانوامولسیون به روش EPI عمل شد، برای ساختن نانوامولسیون با درصد های ۳،۱ و۵ درصد ابتدا به ترتیب میزان ۰/۲۵، ۰/۷۵و۱/۲۵گرم اسانس را با ۵ گرم سورفکتنت غیر یونی که مخلوطی ازاسپن ۸۰ وتویین ۸۰ است را داخل بشر مخلوط کرده و سپس آن را بر روی استیرر با دور ۸۰۰ rpm و دمای ٤ درجه سانتی گراد قرار داده تا اسانس و سورفکتنت به خوبی مخلوط یکدستی را تشکیل دهند.سپس مخلوط کلی به وسیله آب به ۲۵ گرم رسانده شد.(۱۰).

تعیین ویژگی نانوامولسیون حداقل

به منظور ارزیابی خصوصیات فیزیکی نانوامولسیونی شاخص پتانسیل DLS مورد بررسی قرار گرفت. یکی از شاخص‌های اصلی برای توصیف پایداری نانوامولسیون DLS (روش نور پویا) است که نام دیگر آن طیف سنجی همبستگی فوتون است و در این روش، اندازه ذرات، پراکندگی اندازه ذرات و شاخص پراکندگی ذرات (ناشی از گستردگی اندازه پراکندگی می‌باشد که اطلاعات زیادی درباره میزان همگن بودن امولسیون می دهد) و بی ثباتی آنها بر اساس شدت پراکندگی (ناشی از حرکت براونی ذرات می باشد) اندازه گیری شد(۱۱) برای این آزمون از دستگاه Nano Flex استفاده شد.

همچنین برای تعیین ویژگی مهارکنندگی در صد های مختلف نانوامولسیون، میزان MIC بر روی دو میکروارگانیسم اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس، مورد بررسی قرار گرفت . برای این کار ابتدا استاندارد نیم مک فارلند ساخته شد و بعد با استفاده از میکروپلیت، مهار کنندگی نانوامولسیون بر سوسپانسیون میکروبی ساخته شده در محیط کشتMuller Hinton Broth بررسی شد(۱۲).

آماده سازی نمونه ماهی

نمونه‌های ماهی به صورت زنده از منطقه پرورش ماهی پلور تهیه شد و در شرایط کاملا بهداشتی درcool box و با نسبت ۱به ۳ یخ خرد شده به صورت لایه لایه قرار داده شد و به سرعت به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات آورده شد(۱۳). فیله‌های۱۰ گرمیماهیدر نانوامولسیون مربوط به خود غوطه-ور شده و بسته‌بندی شده و در یخچال قرار گرفتند و برای روزهای هر تیمار یک نمونه فیله وجود داشت.

آزمون‌های شیمیایی

آزمون های شیمیایی انجام شده به سه دسته تقسیم می‌شود، که شامل اندازه‌گیری pH، آمین فرار کل و اسید چرب آزاد می‌باشد.

اندازه‌گیری مواد ازته کل

به بالن تقطیر کلدال ۱۰گرم از نمونه ی ماهی، ۲ گرم اکسید منیزیوم و۳۵۰ میلی لیترآب و چند قطعه سنگ جوش اضافه شد. در یک بشر ٤۰۰ با یک مزور٦۰ میلی لیتر اسید بوریک ۲ در صد به همراه4-3 قطره معرف متیل رد اضافه شدتا رنگ مایع داخل بشر صورتی ملایم شد. بالن تقطیر را به دستگاه تقطیر وصل شدوانتهای قسمت سرد کننده دستگاه تقطیر را به وسیله رابط به داخل بشر حاوی اسید بوریک وصل شد، محتوی بالن تقطیر را حرارت داده شد به طوری که در مدت ۱۰ دقیقه به جوش آمد و با همین مقدار عمل جوش دادن را آن‌قدر ادامه پیدا کردکه مایع داخل بشر به ۲۰۰ میلی لیتر برسدو رنگ مایع داخل بشر به دلیل اضافه شدن ازت ، آبی

www.SID.ir

Archive of SID

کم رنگ شود و نهایتا مایع داخل بشر را تا ظهور رنگ صورتی کم رنگ، با اضافه کردن HCl که در لوله تیتراسیون بود، تیتر شد، مقدار مواد ازته کل از رابطه۱ محاسبه شد(۱٤).

رابطه-۱ =TVB-N (mg/100g) مقدار اسید مصرفی×۱٤

اندازه‌گیری pH

۱۰گرم فیله ماهی را توسط دستگاهStomacher و با اضافه کردن ۹۰ میلی لیتر نرمال سالین استریل و همگن شد سپس‌بعد از کالیبره نمودن دستگاه pH متر و قرار دادن الکترود دستگاه در داخل مخلوط pH را محاسبه شد.(۱٤).

اندازه‌گیری اسید چرب آزاد

۱۰گرم از گوشت ماهی وزن و کاملا خورد می‌شود. تا روغن آن به طور کامل استخراج شود و بعد در داخل ارلن مایر در دار به آن ۵۰ میلی لیتر کلروفرم ($CHCL_3$)اضافه می‌گردد. طی ٦۰-۳۰ دقیقه با دستگاه استیرر و توسط مگنت روی همزن مغناطیسی قرار داده تا کاملاً یکنواخت گردد و بعدنمونه را روتاری شده تا مقدار چربی آن مشخص شود. ۲۵میلی لیتر از محلول کلروفرم صاف شده را با ۲۵ میلی لیتر الکل خنثی در یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری ریخته شده و بعد از ساختن سود(NaOH)۰/۱نرمال، در برابر معرف فنل فتالیین با سود ۰/۱نرمال تیتر می‌شود.

بعد از حاصل شدن رنگ صورتی کم رنگ، حجم تیتراسیون مصرفی در فرمول رابطه ۲ قرار می‌گیرد (۱٤).

$$FFA = \frac{(\text{حجم سود مصرفی} \times 28/2 \times 100)}{(\text{وزن چربی نمونه} \times 1000)}$$

آزمون‌های میکروبی

شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها

جهت شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی از روش کشت سطحی روی محیط کشت Plate Count Agar(PCA)استفاده شد. ۰/۱میلی‌لیتر از رقت‌های موازی ده برابر روی سطح محیط کشت ریخته شده و با میله‌یL شکل سترون کاملاً در سطح پلیت پخش گردید. پلیت‌ها در دمای ۳۵C° به مدت٤۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند.(۱۵).

شمارش استافیلوکوکوس

بعد ازآماده سازی نمونه (در روش شمارش کلی میکروبی بیان شد)، با استفاده از محیط کشت Baird Parker۱۵میلی-لیتر امولسیون استریل تلوریت زرده تخم مرغ به آن اضافه شده و به پلیت منتقل شد. نمونه را از هر رقت با سمپلر ۱۰۰ روی پلیت ریخته و با میله L شکل استریل آن را پخش شد. سپس ۲٤ ساعت در انکوباتور قرار گرفته و شمارش پرگنه‌ها انجام گرفت. همچنین در مراحل بعدی با استفاده از پلاسمای سیتراته خرگوش، تست کوآگولاز مثبت نیز انجام شد (۱٦).

شمارش کلیفرم‌ها

در این روش از محیط کشت Violet red bile agar(VRBA) استفاده شد و طبق آزمون‌ها میکروبی قبلی یک میلی‌لیتر از نمونه با رقت‌های مختلف را با سرسمپلر ۱۰۰۰ به گوشه‌ای از پلیت خالی انتقال داده شد و بعد از پخش کامل از طریق کشت به روش مخلوط۲٤ ساعت در انکباتور۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفته و نهایتا پرگنه‌های قرمز رنگ شمارش شدکه نشان دهنده کلی فرم ها بود و همچنین برای تایید وجود کلی فرم ۵ تا از کلونی های قرمز با هاله صفراوی را انتخاب و به ۵ لوله حاوی محیط کشتBrilliant green bile broth وPeptone water منتقل شدکه بعد ازقرار گیری ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در صورت تشکیل گازو اندول وجود کلی فرم تایید شدو نهایتا برای شناسایی وجود کلی فرم مدفوعی یا

www.SID.ir

Archive of SID

اشریشیا کلی‌از هر لوله دوباره ۱۰۰ میکرو لیتر برداشته و به Brilliant green bile broth و Peptone water منتقل گردیدو بعد از انکباتور گذاری در دمای ٤٤/٥ درجه سانتی گراد، در صورت تشکیل گاز و تولید اندول، نشان دهنده کلیفرم‌های مدفوعی بود.(۱۷).

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه‌های ماهی در روز ۱۰ نگهداری توسط ۱۰ ارزیاب حسی از بین دانشجویان آموزش دیده رشته‌ی صنایع غذائی انجام شد. نمونه‌های خام ماهی قزل آلا از نظر رنگ و ظاهر، بافت و بو و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرارگرفتند. نمونه‌ها با کدهای تصادفی نامگذاری شده و در شرایط یکسان توسط ارزیابان، ارزیابی شدند. برای ارزیابی حسی از روش هدونیک ۵ امتیازی استفاده شد(۱۸).

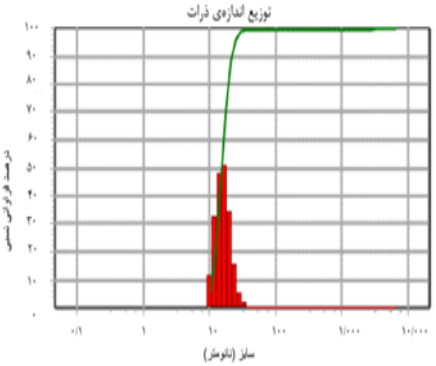
تجزیه و تحلیل آماری

جامعه آماری شامل ٤ گروه از نمونه‌های ماهی قزل آلای رنگین کمان می‌باشند که به صورت بدون پوشش و دارای پوشش نانوامولسیونی ۱، ۳ و ۵ درصد کارکومین مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌ها با انجام آزمون‌های مختلف شیمیائی، میکروبی و حسی روی نمونه‌های ماهی قزل آلا جمع آوری شد. رسم نمودارهای مربوط در نزم افزار اکسل انجام شد. برای تجزیه و تحلیل و مقایسه گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و مقایسه‌ی میانگین‌ها نیز با روش دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ که از نرم افزار SPSSاستفاده شد.

نتایج

بررسی خصوصیات فیزیکی و ضد میکروبی از طریق MIC (Minimum inhibitory concentration) نانوامولسیون

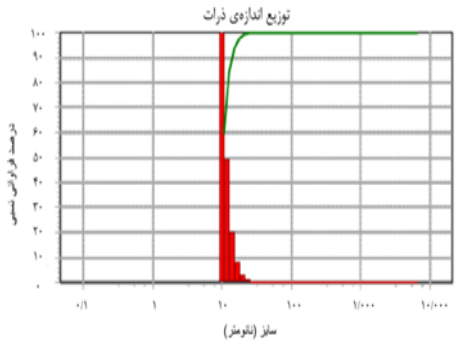
به منظور استفاده از پوشش نانوامولسیون برای بسته بندی ماهی، دو شاخص اصلی باید در حد مطلوبی باشد. اول این که نانوامولسیون باید در مدت زمان نگهداری پایدار باشد؛ یعنی نانوذرات موجود در نانوامولسیون تجمع نکنند و ساختار آن بهم نریزد. دوم آن که نانوامولسیون ایجاد شده باید خصوصیات ضد میکروبی مناسبی داشته باشد و از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری نماید. پایداری نانوامولسیون تا حد زیادی به دمای نگهداری و میزان سورفاکتانت مورد استفاده بستگی دارد(۱۹). گرچه نسبت سورفکتنت ها متفاوت بود ولی از آنجایی که میزان سورفاکتانت در تمام تیمارها یکسان بوده و تنظیم سورفاکتانت به طور موثری انجام شده است، این نانوامولسیون دارای پایداری بالایی در این شرایط است به طوری که در طی سه هفته در تمام تیمارها تغییرات چندانی مشاهده نشد و اندازه نانو ذارت طی این مدت کمتر از ۱۰۰ نانومتر بودکه به طور مثال نتایج مربوط به نانوامولسیون حاوی ۵٪ کارکومین درنگاره۱ نشان داده شده است.



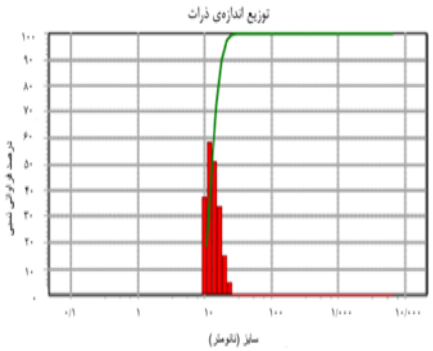
A:در نمونه ۵٪، ذرات با قطر ۱۵/۰٦ نانومتر بیشترین پراگندگی اندازه ذرات اندازه ذرات (۱۰۰٪) را در بعد از یک هفته داشته است.

www.SID.ir

Archive of SID



B: در نمونه ۰/۵٪، ذرات با قطر ۱۰/۳٤ نانومتر بیشترین پراگندگی اندازه ذرات (۱۰۰٪) را در بعد از دوهفته داشته است.



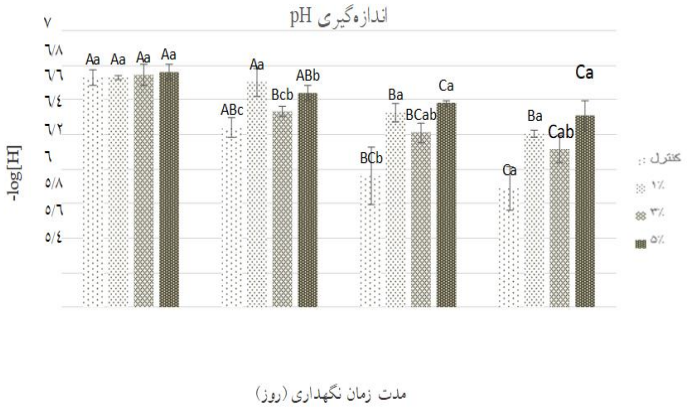
C: در نمونه ۰/۵٪، ذرات با قطر ۱۲/۹٦ نانومتر بیشترین پراگندگی اندازه ذرات (۱۰۰٪) را در بعد از سه هفته داشته است.

نگاره۱- روند تغییرات اندازه نانو ذرات نانوموسیون حاوی ۰/۵٪ کارکومین طی سه هفته؛ A: هفته اول، B: هفته دوم، C:هفته سوم.

همچنین ویژگی مهار کنندگی نانومولسیون یا همان MIC بر روی دو میکروارگانیسم اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس انجام شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد میزان MIC نانومولسیون حاوی کارکومین ۰/۵٪ برای اشرشیا کلی و استافیلوکوکوس به ترتیب ٦/۲۵µg/ml و ۱۲/۵ بود که در واقع نشان دهنده اثر بیشتر بر باکتری‌های گرم منفی می‌باشد.

ارزیابی pH ماهی در مدت نگهداری

گوشت ماهی زنده به طور تقریبی دارای pH نزدیک به ۷ می‌باشد که البته بعد از مرگ بین ٦-۷ قرار دارد. به طورکلی pH ماهی نگهداری شده در یخچال روند افزایش دارد. همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده، این روند به صورت کاهشی می‌باشد که احتمالا به دلیل واکنش تبدیل گلیکوژن به اسید می‌باشد. با این حال در تمام مدت نگهداری pH ماهی در محدوده مجاز قرار داشت. اما یکی از دلایل روند کاهشی pH می‌تواند تولید ترکیبات اسیدی توسط میکروارگانسیم‌ها باشد مانند باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک(۲۰ ,۲۱). رحیم آبادی و همکاران، گزارش کردند در اثر تولید اسیدلاکتک توسط باکتری‌های لاکتوباسیلوس این اتفاق می‌افتد.



نمودار ۱- روند تغییرات pH در مدت زمان نگهداری ماهی. حروف کوچک انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها و حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین روزها می‌باشد.

اندازه گیری اسید چرب آزاد

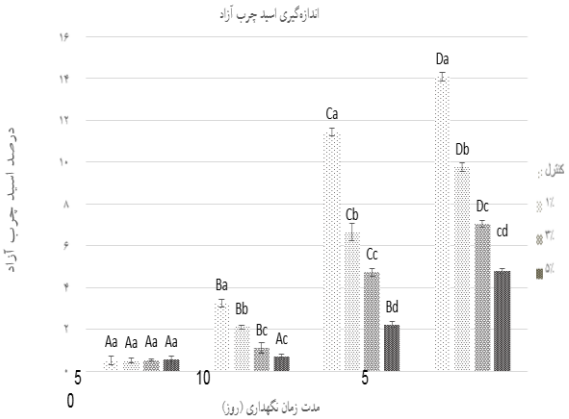
حضور اسید چرب در محیط باعث می‌شود ماهی بیشتر مستعد اکسایش باشد. نمودار ۲ نشان می‌دهد پوشش ماهی با نانومولسیون کارکومین موجب کاهش اسید چرب آزاد شده است به طوری که در همه‌ی روزها اختلاف معنی‌داری بین نمونه حاوی پوشش و کنترل مشاهده می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری آمین فرار کل

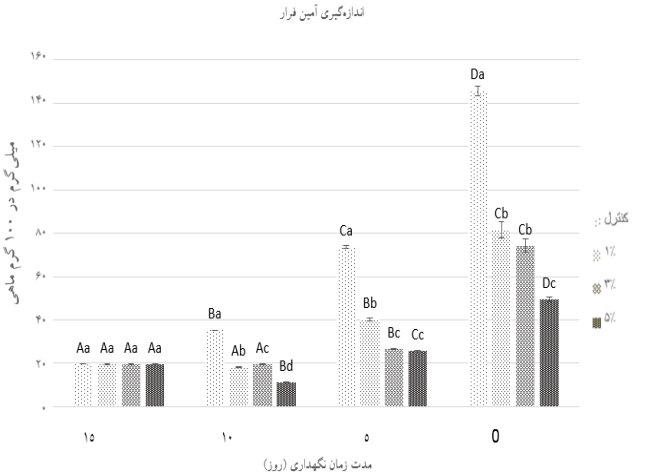
یکی از مهم‌ترین عوامل در تعیین فساد اندازه‌گیری شاخص آمین کل فرار گوشت ماهی است که بر اساس استاندارد معمولا این شاخص در حدودا ۲۷ میلی‌گرم ازت فرار در هر ۱۰۰ گرم در ماهی است (استاندارد ملی ایران). به طور کلی شاخص TVB-Nبه موارد مختلفی بستگی دارد که شامل آمونیاک، تری-متیل آمین، دی‌متیل آمین و متیل آمین می‌باشد که در اثر فعالیت میکروارگانیسم‌ها به وجود می‌آیند.همان‌طور در نمودار ۳ مشاهده می‌شود حضور نانوامولسیون سبب شده پس از گذشت ۵ روز تغییر چندانی در میزان آمین فرار ایجاد نشود. اگرچه بعد از ۱۵ روز همه نمونه حاوی پوشش نانوامولسیون دارای میزان TVB-N غیر مجاز هستند با این حال این پوشش در سطح ۰.۵٪ کارکومین توانسته به طور چشمگیری از تولید آمین جلوگیری نماید.



نمودار ۲-روند تغییرات اسید چرب آزاد در مدت زمان نگهداری. حروف کوچک انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها و حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین روزها می‌باشد.

شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی

حد مجاز تعیین شده برای کیفیت میکروبی ماهیVcfu/grlog است (۲۲). همان‌طور که در نمودار ٤ مشاهده می‌شود نمونه کنترل پس از حدودا ۵ روز دارای بار میکروبی شدیدی است. به عبارت دیگر، مدت زمان نگهداری ماهی بدون پوشش در یخچال ۵-٦روز است. بدین ترتیب تمامی شاخص‌ها حاکی از فساد ماهی بعد از ۵ روز می‌باشند. نمودار ٤ نشان می‌دهد در روز ۵ بار میکروبی ماهی ٦/٦logcfu/grاست که در حد مجاز قرار دارد. اما در روز ۱۰ و ۱۵ بار میکروبی بیش از حد مجاز شده است. این درحالی است که نمونه حاوی ۰.۵٪ کارکومین تا روز ۱۵ توانسته است جمعیت میکروبی را کنترل نماید. البته این نکته باید درنظر گرفته شود فلور میکروبی اولیه ماهی بسیار بالاست و این مورد به خودی خود، سبب کاهش مدت زمان ماندگاری ماهی شده است. در حالی که براساس تحقیقات این میزان (بار میکروبی اولیه) باید بین ۳ تا ٤ سیکل لگاریتمی باشد (۲۳).



نمودار ۳- تغییرات میزان ازت در مدت زمان نگهداری. حروف کوچک انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها و حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین روزها می‌باشد.

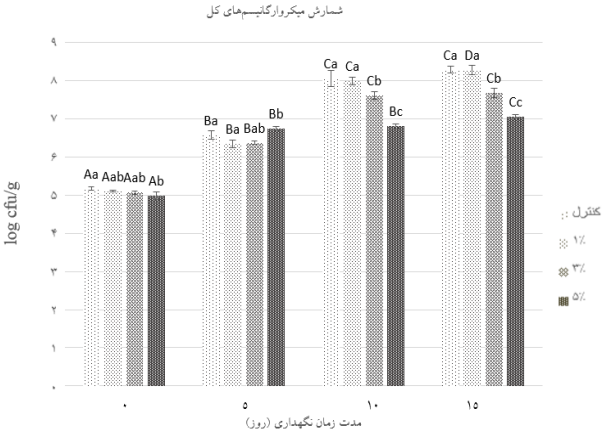
شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی

حد مجاز تعیین شده برای کیفیت میکروبی ماهیVcfu/grlog است (۲۲). همان‌طور که در نمودار ٤ مشاهده می‌شود نمونه کنترل پس از حدودا ۵ روز دارای بار میکروبی شدیدی است. به عبارت دیگر، مدت زمان نگهداری ماهی بدون پوشش در یخچال ۵-٦روز است. بدین ترتیب تمامی شاخص‌ها حاکی از

www.SID.ir

Archive of SID

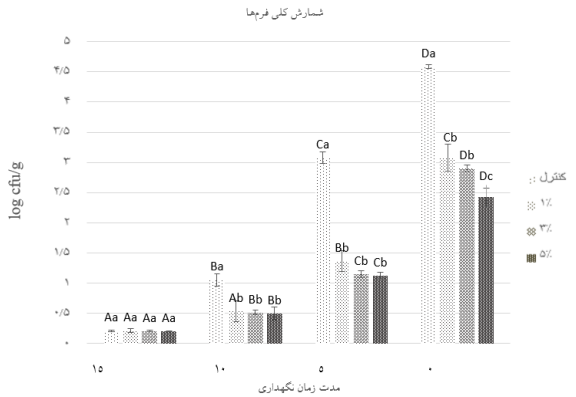
فساد ماهی بعد از ۵ روز می‌باشند. نمودار ٤ نشان می‌دهد در روز ۵ بار میکروبی ماهی ٦/٦logcfu/grاست که در حد مجاز قرار دارد. اما در روز ۱۰ و ۱۵ بار میکروبی بیش از حد مجاز شده است. این درحالی است که نمونه حاوی ۵٪ کارکومین تا روز ۱۵ توانسته است جمعیت میکروبی را کنترل نماید. البته این نکته باید درنظر گرفته شود فلور میکروبی اولیه ماهی بسیار بالاست و این مورد به خودی خود، سبب کاهش مدت زمان ماندگاری ماهی شده است. در حالی که براساس تحقیقات این میزان (بار میکروبی اولیه) باید بین ۳ تا ٤ سیکل لگاریتمی باشد (۲۳).



نمودار ٤-تاثیر تیمارهای مختلف بر تغییرات شمارش کلی میکروارگانیسم‌های ماهی. حروف کوچک انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها و حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین روزها می‌باشد.

شمارش باکتری‌های کلیفرم

کلیفرم‌ها باکتری‌های باسیلی هستند که معمولاً به عنوان شاخص کیفیت بهداشتی بودن غذاها و آب مورد استفاده قرار می‌گیرند. اشرشیاکلی، انتروباکتر، کلبسیلا، سیتروباکتر و از جمله خانوده‌هایی هستند که جزء کلیفرم‌ها می‌باشند. براساس استاندارد ملی ایران(استاندارد ۲۳۹٤-۱) میزان مجاز مصرفی برای کلیفرم‌ها ٤۰۰cfu/gr می‌باشد (۲/٦Log cfu/gr). همان‌طور که در نمودار ۵ مشاهده می‌شود نمونه کنترل و بدون پوشش پس از گذشت ۱۰ از حد مجاز کلیفرم عبور کرده است (Log ۳/۰۸cfu/gr) و غیرقابل مصرف است. اما نمونه‌های حاوی پوشش نانوامولسیون به طور چشمگیری از رشد کلیفرم‌ها جلوگیری کردند به طوری که نمونه حاوی ۵ درصد کارکومین پس از ۱۵ روز همچنان از حد مجاز کلیفرم‌ها خارج نشد (Log ۲/٤۲cfu/gr)و در تمامی مراحل آزمون ، تست کلی فرم های مدفوعی مثبت بوده است که با گذشت زمان مقدار آن بیشتر شد. باکتری‌های گرم منفی که قادر به تحمل دمای پایین می-باشند و معمولا تا حدی در برابر اسانس‌ها مقاوم هستند(۱۸). این در حالی است که نتایج حاصل از این بررسی عکس این موضوع را نشان داد. به طوری که غلظت‌های متفاوت کارکومین تاثیر چشم‌گیری در کاهش سیکل رشد میکروارگانیسم داشت. از طرفی حتی بعد از گذشت ۱۵ روز میزان کلیفرم‌ها در حد مجاز قرار داشت(۲٤). این نتایج به همراه نتایج استخراج شده از پژوهش ما نشان داد کارکومین می‌تواند ماده موثره‌ی مناسبی برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های کلیفرم باشد.



نمودار ۵- اثر بازدارندگی تیمارهای مختلف بر روی رشد باکتری‌های کلیفرم. حروف کوچک انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها و حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین روزها می‌باشد.

شمارش باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس

این باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین و اکثر آنتی‌بیوتیک‌های دیگر به شدت مقاومند و حضور آن‌ها نشان از عدم رعایت بهداشت و نکات ایمنی می‌باشد. در پژوهشی که توسط

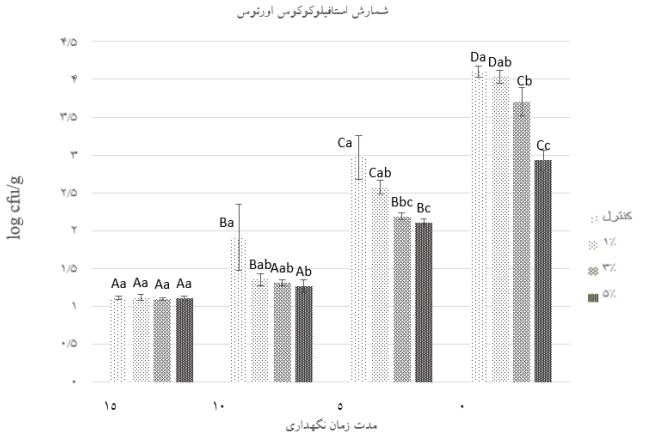
www.SID.ir

Archive of SID

انصاری و همکاران (۱۳۹۲)، بر روی اثر کارکومین بر استافیلوکوکوس اورئوس انجام شده، نتایج نشان داد فعالیت کارکومین در مقایسه با برخی آنتی‌بیوتیک‌ها اثرات مطلوبی داشته و می‌تواند به عنوان ضد استافیلوکوکوس قوی مطرح باشد (۲۵).و هم چنین ارزیابی تست تکمیلی گوآگولاز مثبت، نشان دهنده وجود استافیلو کوکوس اورئوس گوآگولاز + در تمامی مراحل آزمون بوده است که به طبع با بالا رفتن بار میکروبی میزان آن افزایش یافت. همان‌طور که در نمودار ٦ مشاهده می‌شود محدوده میکروبیاستافیلو کوکوس اورئوس ها طی مدت زمان نگهداری بین ٤Log cfu/gr–۱می‌باشد. براساس استاندارد ملی ایران (۲۲). حد مجاز مصرف و قابل قبول آلودگی به استافیلو کوکوس اورئوس ها۳Log cfu/gr می‌باشد که در روز ۱۵ همه‌ی نمونه‌ها به غیر از نمونه حاوی نانوامولسیون ۵٪ کارکومین که حتی بعد از گذشت ۱۵روز از مدت نگهداری در حد قابل قبولی قرار داشت. همچنین حضور غلظت متفاوت از کارکومین توانسته است تفاوت معنی‌داری در رابطه با کاهش سرعت رشد استافیلوکوکوس ایجاد نماید که در نمودار مشاهده می‌شود.

ارزیابی حسی عطر و بوی ماهی

در هنگام خرید ماهی معیارهای مختلفی مد نظر مصرف کنندگان قرار دارد که یکی از این موارد عطر و بوی ماهی است که مهم‌ترین پارامتر برای خرید ماهی است. همان‌طور که در جدول ۱ مشخص است نمونه‌های شاهد بدون پوشش از روز ۵ نسبتا دارای بوی نامطلوبی می‌باشد که در ارزیابی ازت فرار کل نیز این موضوع نشان داد میزان آمین فرار در روز ۵ بیش از حد تعیین شده، بود. آنچه که از جدول ۱ می‌توان دریافت این است که نمونه بدون پوشش پس از ۵ روز دارای بوی نامطلوبی بود که سبب شد پنلیست‌ها امتیاز ۳/۲ را به آن بدهند. از طرفی در آزمون‌های قبلی نیز مشخص شد ماهی قزل‌آلای بدون پوشش پس از ۵ روز دارای بارمیکروبی بالایی بوده و همچنین ترکیبات آمینی فرار زیادی نیز دارد که سبب شده عطر و بوی این ماهی برای پنلیست‌ها بسیار نامطلوب باشد. حضور پوشش نانوامولسیونی حاوی سطوح مختلفی از کارکومین توانست تفاوت معنی داری در ارزیابی طعم و بو ایجاد نماید. اگرچه حضور کارکومین در سطح ۱٪ تفاوت چندانی در روزهای ۱۰ و ۱۵ ایجاد نکرد با این حال حضور پوشش نانوامولسیونی حاوی ۵٪ کارکومین توانسته است تا حد قابل قبولی از به وجود آمدن بوی نامطلوب جلوگیری کرده و بوی نامطلوب ایجاد شده را پوشش دهد.



نمودار ٦–اثر بازدارندگی نانوامولسیون کارکومین بر روی رشد باکتری-های استافیلوکوکوس. حروف کوچک انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها و حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین روزها می‌باشد.

ارزیابی حسی رنگ ماهی

اما رنگ ماهی یکی دیگر از شاخص‌هایی است که برای مصرف‌کننده مدنظر می‌باشد و می‌تواند نشانه تازگی و فساد گوشت ماهی باشد. در طول زمان نگهداری رنگ ماهی از رنگ سفید مایل به قرمز به رنگ سفید تبدیل می‌شود. البته در برخی موارد ممکن است این رنگ به تیرگی متمایل شود. تغییرات رنگ بافت ماهی تا حد قابل توجهی مربوط به واکنش‌های اکسیداسیون و میلارد است، که حضور یک آنتی‌اکسیدان قوی

www.SID.ir

Archive of SID

می‌تواند با از دسترس خارج کردن اکسیژن، به طور چشمگیری از تغییرات رنگ جلوگیری نماید (۲۶). بدین منظور در مدت نگهداری شاخص رنگ مورد بررسی قرار گرفت و در تمام مراحل آزمون مقایسه بین رنگ طبیعی ماهی صورت گرفته است که نتایج این ارزیابی درجدول ۲ارائه شده است.

جدول ۱: میانگین امتیاز پنلیست‌ها برای ارزیابی عطر و بوی ماهی در مدت زمان نگهداری

نمونه	زمان (روز)			
	۰	۵	۱۰	۱۵
کنترل	۳/۷±۱/۱^{a}	۳/۲±۰/۹^{a}	۲/٤±۰/۵^{a}	۱/۷±۰/٦^{a}
پوشش ۱٪	٤/۸±۰/٤^{b}	٤/۲±۰/۹^{b}	۲/٦±۰/۵^{b}	۱/۹±۰/۷^{b}
پوشش ۳٪	٤/۳±۰/۸^{ab}	٤/۱±۰/۷^{b}	۳/۳±۰/٦^{b}	۳/۰±۰/٤^{b}
پوشش ۵٪	٤/۵±۰/۷^{b}	٤/۳±۰/۸^{b}	۳/۷±۰/٤^{b}	۳/٦±۰/۵^{b}

حروف کوچک انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها است

همان‌طور که ملاحظه می‌گردد با گذشت زمان پذیرش رنگ توسط پنلیست‌ها کاهش یافته است و تا روز ۵تاثیر معنی‌داری بین تیمارها ایجاد نشده است. رنگ ماهی بدون پوشش پس از گذشت ۱۰روز به حد نامطلوبی رسید این درحالی است که نمونه‌ها دارای پوشش نانوامولسیونی حاوی کارکومین قادر به حفظ رنگ ماهی بودند که ابن تفاوت‌ها معنی دار بود و حتی بعد از گذشت ۱۵ روز نیز تا حدی رنگ قابل پذیرشی داشت.

ارزیابی حسی بافت ماهی

یکی دیگر از معیارهای پذیرش ماهی بافت آن است خریدار توجه ویژه‌ای به آن دارد و با یک ارزیابی ساده می‌تواند به فساد ماهی پی‌ببرد. در حقیقت طی مدت زمان نگهداری ماهی ارتجاعیت و تازگی بافت از دست می‌رود که این شاخص از طریق ارزیابی حسی مورد بررسی قرار گرفت(۲۷). همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود؛ نتایج حاصل از این آزمون نشان داد در روزهای ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵بین تیمارها تفاوت معنی داری وجود ندارد. یعنی نانوامولسیون تاثیر بر جلوگیری از جمود نعشی و حفظ خصوصیات ارتجاعیت بافت ماهی نداشت و با گذشت زمان این ویژگی نامطلوب می‌گردد.

ارزیابی پذیرش کلی

ارزیابی پذیرش کلی نشان از ترجیح مصرف کننده به خرید ماهی با درنظر گرفتن همه معیارها می‌باشد. همان‌طور که در جدول ٤مشاهده می‌شود؛ نمونه بدون پوشش نانوامولسیونی بعد از ۵ روز مطلوبیت خود را از دست داده و امتیاز مناسبی کسب نکرده است. درحالی که نمونه دارای پوشش نانوموسیونی پذیرش بهتر و مطلوبی از نظر پنلیست‌ها داشته است. اگرچه درصدهای مختلف کارکومین در پوشش نانوامولسیونی چندان

www.SID.ir

Archive of SID

تفاوت معنی داری ایجاد نکرده اما حضور پوشش مثبتی در راستای کاهش کیفیت ماهی ایجاد نماید. نانوامولسیونی حاوی کارکومین توانسته از نظر حسی تغییرات

جدول۲:میانگین امتیاز پنلیست‌ها برای ارزیابی رنگ ماهی در مدت زمان نگهداری

نمونه	زمان (روز)			
	۰	۵	۱۰	۱۵
کنترل	٤/٤±۰/٦^{a}	۳/۸±۱/۱^{a}	۳/۱±۰/۵^{a}	۱/۷±۰/٤^{a}
پوشش ۱٪	٤/۳±۰/۸^{a}	۳/۹±۱/۱^{a}	۳/۵±۰/۸^{ab}	۳/۰±۰/٤^{b}
پوشش ۳٪	۳/۹±۰/۸^{a}	٤/٤±۰/۸^{a}	۳/۸±۰/٦^{b}	۳/۲±۰/٤^{b}
پوشش۵٪	۳/۸±۰/۷^{a}	٤/۱±۰/۷^{a}	۳/٦±۰/۵^{ab}	۳/۳±۰/٤^{b}

*حروف کوچک انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها است.

جدول ۳: میانگین امتیاز پنلیست‌ها برای ارزیابی بافت ماهی در مدت زمان نگهداری

نمونه	زمان (روز)			
	۰	۵	۱۰	۱۵
کنترل	٤/۸±۰/٤^{a}	۳/۸±۰/٦^{a}	۲/۷±۰/٦^{a}	۱/۵±۰/۸^{a}
پوشش ۱٪	٤/۷±۰/۵^{a}	٤/۱±۰/۹^{a}	۲/٦±۰/۵^{a}	۱/۹±۰/۷^{b}
پوشش ۳٪	٤/۹±۰/٤^{a}	٤/٤±۰/۸^{a}	۳/۲±۰/۹^{a}	۲/۱±۰/۵^{b}
پوشش۵٪	٤/۸±۰/٤^{a}	٤/۵±۰/۷^{a}	۳/۲±۰/۹^{a}	۲/٤±۰/۵^{b}

*حروف کوچک انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول٤میانگین امتیاز پنلیست‌ها برای ارزیابی پذیرش کلی ماهی در مدت زمان نگهداری

نمونه	زمان (روز)			
	۰	۵	۱۰	۱۵
کنترل	٤/۸±۰/٤^{a}	۳/۲±۰/۹^{a}	۲/٦±۰/۵^{a}	۱/۹±۰/۷^{a}
پوشش ۱٪	٤/۷±۰/٤^{a}	٤/۲±۰/۹^{b}	۳/٦±۰/۵^{b}	2/7±۰/۸^{b}
پوشش ۳٪	٤/۵±۰/۷^{a}	۱/٤±۰/۷^{b}	۳/۹±۰/٤^{b}	۳/۲±۰/٦^{c}
پوشش ۵٪	٤/٤±۰/۸^{a}	٤/۳±۰/۸^{b}	٤/۰±۰/۷^{b}	۳/۲±۰/٤^{c}

*حروف کوچک انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها است.

بحث

بررسی‌ها انجام شده در رابطه با پایداری نانوامولسیون حاوی کارکومین نشان داد بعد از گذشت سه هفته این نانوامولسیون پایدار است و اندازه نانو ذرات طی سه هفته در محدوده ۱۰۰ نانومتر قرار دارد که نتایج مشابهی در مطالعه نوری و همکاران (۲۰۱۷)، حاصل شد که نشان داد نانوامولسیون زنجبیل دارای ذارتی به اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر بودند و البته عنوان کردند روش ساخت نانوامولسیون نیز می‌تواند تاثیر زیادی در اندازه ذرات داشته باشد(۲۸). البته بر اساس نتایج MIC نانوامولسیون خصوصیات ضد میکروبی مناسبی نیز دارد، گونس و همکاران (۲۰۱۳)، به بررسی میزان MIC کارکومین پراختند که نتایج نشان داد MIC برای میکروارگانیسم‌ها (*Enterococcus faecalis*، *Klebsiella pneumoniae*، *Escherichia coli*) به ترتیب ۲۱۷µg/ml، ۲۹۳ و ۱٦۳ می‌باشد در حالی که این میزان برای استافیلوکوکوس ۲۱٦µg/ml بود (۲٤). از آنجایی که ماده مورد استفاده در پژوهش ما نانوامولسیون بود و خاصیت سینرژیستی وقدرت نفوذ بالاتری در قیاس با پودر کارکومین داشت در نتیجه MIC کم تر وخاصیت مهار بیشتری شاهد بودیم واین نتایج به همراه نتایج استخراج شده از پژوهش ما نشان داد کارکومین می‌تواند ماده موثره‌ی مناسبی برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های کلیفرم گرم منفی باشد.

به منظور ارزیابی اثر پوشش نانوامولسیون حاوی کارکومین باید فاکتورهای شیمیایی، میکروبی و حسی مورد ارزیابی قرار گیرد. اسید چرب یکی از شاخص‌های مورد بررسی در این پژوهش بود که به طور مستقیم نمی‌تواند نشان‌دهنده کیفیت ماهی باشد. اگرچه میزان اسید چرب موجود در ماهی نشان دهنده تازگی ماهی است (۳۰)؛ با این حال افزایش مقدار آن در ماهی سبب ایجاد طعم تند چربی و افزایش شدت اکسیداسیون می‌گردد که در مراحل بعدی و مدت زمان نگهداری مشکل ساز خواهد بود (۳۱). از طرفی Ozogul و همکاران (۲۰۱۷)، در مقایسه نانوامولسیون‌های مختلف تهیه شده از گیاهان دارویی (رزماری، مریم‌گلی و آویشن) برای پوشش ماهی قزل‌آلا نشان دادند تمامی این نانوامولسیون‌ها به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی قادر به کاهش در میزان اسید چرب هستند به طوری که عصاره

www.SID.ir

Archive of SID

رزماری تاثیر بیشتر نسبت به بقیه داشت (۱۸). در رابطه با میزان آمین فرار کل، Özyurt و همکاران (۲۰۰۹)، گزارش کردند ماهی حاوی بیش از ۳۵ میلی‌گرم ازته کل فرار، غیرقابل مصرف هستند(۱۳). بنابراین ماهی‌های حاوی پوشش نانوامولسیون تا روز ۱۰ قابل مصرف هستند (مقدار آمین کمتر از ۳۵ دارند) این در حالی است که ماهی بدون پوشش (کنترل) در روز ۵ حاوی ۳۵/۳میلی‌گرم آمین فرار می‌باشد و محدودیت مصرف دارد. همچنین نتایج مشابهی نشان دادند اسانس‌ها و ترکیبات دارویی به طور قابل توجهی قادرند در کاهش میزان آمین فرار کل اثر گذار باشند. بررسی عصاره آویشن و دارچین نشان داد تاثیر به-سزایی در کاهش تولید ترکیبات آمینی داشتند(۳۳، ۳۲).

اسانس کارکومین علاوه بر کاهش فساد شیمیایی و جلوگیری از واکنش اکسیداسیون و تولید ترکیبات آمینی، توانسته است از فساد میکروبی نیز جلوگیری نماید. تحقیقات زیادی در رابطه با استفاده از ماده موثره گیاهان برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها انجام شده است. یکی از این اسانس‌ها، اسانس زنیان است که کاووسی و همکاران نشان دادند به دلیل حضور ترکیباتی مانند تیمول، پی–سیمن و تریپنن در این اسانس سرعت رشد میکروارگانیسم کلی مزوفیل هوازی کاهش یافته است(۳٤). تحقیقات نشان داده است ماده اصلی کارکومین تورمرون (turmerone) است(۳۵). که به طور عمده ۹۵ درصد از کارکومین را شامل می‌شود و به دلیل خاصیت لیپیدی قادر است به غشا باکتری نفوذه کرده و سبب نشت محتویات سلولی به بیرون شود (۳٦). با بررسی ویژگی ضدمیکروبی نانوامولسیون مشخص شد نانوامولسیون کارکومین به خوبی قادر است از رشد انواع میکروارگانیسم‌های گرم منفی و گرم مثبت جلوگیری نماید. نوری و همکاران (۲۰۱۷)، به بررسی اثر ضدمیکروبی پوشش نانوامولسیون حاوی اسانس زنجبیل بر بر فلور (سالمونلا تایفی موریوم و لستریا مونوسیتوژنز) گوشت مرغ پرداختند طی این بررسی اثر پوشش امولسیونی و نانوامولسیونی در مقایسه با کلرامفنیکل و جنتامایسین مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد پوشش نانوامولسیونی نسبت به پوشش امولسیونی خصوصیات ضد میکروبی بیشتری داشت. همچنین پوشش نانوامولسیونی حاوی ۳٪ اسانس زنجبیل توانسته حتی قوی تر از آنتی بیوتیک کلرامفنیکل باشد و بازدارندگی بیشتری ایجاد نماید. که این موضوع در مطالعه علیزاده و همکاران (۱۳۹٤)، نیز اشاره شد. دراین بررسی خصوصیات ضد قارچی نانوامولسیون اسانس دارچین مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد نانوامولسیون نسبت به امولسیون خصوصیت ضد میکروبی مناسب‌تری ایجاد می‌نماید. حتی نانوامولسیون اسانس نسبت به اسانس خالص نیز خواص ضد میکروبی بهتری داشته است. این موضوع سبب شده است استفاده از پوشش‌های نانوامولسیونی مورد توجه قرار داشته باشد(۳۷). ozgul و همکاران (۲۰۱۷)، اثر نانوامولسیون آویشن، رزماری، لورل (Laurel) و مریم گلی را بر روی فیله ماهی قزل‌آلا مورد بررسی قرار دادند که نتایج نشان داد در مدت زمان نگهداری، اسانس این گیاهان دارویی به خوبی توانست علاوه بر کنترل رشد میکروارگانیسم‌های بر تولید اسیدهای چرب آزاد و میزان عدد پروکسید تاثیر گذار باشد(۱۸).

اگرچه باکتری‌های گرم منفی که قادر به تحمل دمای پایین می-باشند و معمولا تا حدی در برابر اسانس‌ها مقاوم هستند(۱۸).این در حالی است که نتایج حاصل از این بررسی عکس این موضوع را نشان داد. به طوری که غلظت‌های متفاوت کارکومین تاثیر چشم‌گیری در کاهش سیکل رشد میکروارگانیسم داشت و بعد از گذشت ۱۵ روز میزان کلیفرم‌ها در حد مجاز قرار داشت.

همچنین در بررسی انجام شده توسط شهابی و همکاران (۱۳۹۵)، بر روی ارزیابی ویژگی ضد میکروبی نانوامولسیون آویشن در مقایسه با کلرامفنیکل و آمپی‌سیلین نتایج حاصل از این بررسی نشان داد نانوامولسیون حاوی ۰٫۵٪ اسانس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های ذکر شده خواص ضدمیکروبی مناسب تری در

www.SID.ir

Archive of SID

مقابل دو میکروارگانیسم سالمونلا تایفی و لیستریا منوسیتوژنز داشت(۳۸). در این خصوص، قره‌نقده و همکاران (۲۰۱۷)، نشان دادند نانوامولسیون اسانس مریم گلی نیز قادر است خصوصیات ضدمیکروبی مناسبی بر اشرشیا، انتروکوکوس، کلبسیلا، موراکسلا و باسیلوس سرئوس داشته باشد. اگرچه در این مقالات و پژوهش‌ها عنوان شد اثر نانوامولسیون بر باکتری گرم منفی کمتر است با این حال نانوامولسیون کارکومین توانسته تاثیری مناسبی بر رشد باکتری‌های کلیفرم داشته باشد (۲۹).

در نهایت بررسی خصوصیات حسی نشان داد نمونه دارای پوشش نانوامولسیون حاوی کارکومین می‌تواند مدت زمان نگهداری ماهی را از ۵ به ۱۰ روز افزایش دهد و در روز ۱۰ دارای مطلوبیت باشد. در مطالعه‌ای که توسط شادمان و همکاران (۲۰۱۶)، بر روی ماهی قزل‌آلا انجام شد، بررس خصوصیات حسی ماهی پس از ۱۵ روز نشان داد؛ نامطبوع‌ترین بو مربوط به نمونه کنترل بود که بدون پوشش بود. از طرفی نشان داده شد تغییرات رنگ نمونه‌های دارای پوشش نانوامولسیونی معنی‌دار نبود اما رنگ نمونه کنترل متفاوت از نمونه‌های پوشش داده شده بود. در واقع نشان دادند حضور پوشش نانوامولسیونی سبب بهبود کیفیت رنگ و عطر و بو شده است که در نهایت سبب بهبود پذیرش کلی شد. نتایج به دست آمده در این بررسی در راستای نتایج ارائه شده در پژوهش ما نیز می‌باشد(۳۹). در پژوهش دیگری که توسط اوزگل و همکاران (۲۰۱۷)، بر روی پوشش دهی ماهی قزل‌آلا با نانوامولسیون انجام شد بررسی خصوصیات حسی نشان داد حضور پوشش نانوامولسیون توانسته مدت زمان ماندگاری را از۸ به ۱۰ روز افزایش دهد و عنوان شد روغن‌های گیاهی با پوشش عطر و بوی نامطلوب ماهی قادرند تا حد زیادی پذیرش کلی ماهی را افزایش دهند. همچنین در مقایسه روغن-های گیاهان دارویی مختلف (رزماری، آویشن، مریم گلی)، بیشترین پذیرش کلی مربوط به پوشش حاوی روغن رزماری بود (۱۸).

بررسی حاضر نشان داد پوشش با نانوامولسیون حاوی کارکومین می‌توان مدت زمان نگهداری ماهی را از۵به ۱۰ روز افزایش دهد. البته در صورتی که بارمیکروبی محصول اولیه صید شده کم و در حد مطلوبی قرار داشته باشد.نانوامولسیون ساخته شده حاوی کارکومین بر اساس نتایج دارای پایداری بسیار بالایی بوده به طوری که پس از گذشت سه هفته اندازه نانو ذرات کمتر از ۱۰۰ نانومتر بود. بنابراین ماندگاری ماهی پوشش داده شده با این ناموامولسیون می‌تواند در دمای انجماد نیز مورد بررسی قرار گیرد.برای بررسی زمان ماندگاری ماهی فاکتورهای کیفی باید در محدوده مجاز قرار داشته باشند که در این پژوهش ویژگی‌های شیمیایی (pH، اسید چرب آزاد و آمین فرار کل)، میکروبی و حسی به طور کلی برای نمونه دارای پوشش نانوامولسیون حاوی کارکومین ۰.۵٪ بعد از ۱۰ روز در حد قابل قبولی بودند. در واقع کارکومین به دلیل خاصیت ضد میکروبی از رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد جلوگیری کرده و همچنین از این طریق از تولید مواد ازته نیز جلوگیری به عمل آمد. از طرفی کارکومین دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی موثری در برابر واکنش اکسیداسیون و تولید محصولات ثانویه و میلارد داشته و سبب مطلوب نگه داشتن رنگ و بوی محصول شده است.بنابراین استفاده از پوشش نانوامولسیون حاوی کارکومین که دارای روش کار آسانی نیز می‌باشد می‌تواند جایگزین برخی روش‌ها پر دردسر شده و به طور مناسبی از فساد و هدر رفتن گوشت ماهی جلوگیری نماید.

فهرست منابع

1. Jasour MS, Ehsani A, Mehryar L, Naghibi SS. Chitosan coating incorporated with the lactoperoxidase system: an active edible coating for fish preservation. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2015;95(6):1373-8.

www.SID.ir

Archive of SID

2. Singh S, ho Lee M, Shin Y, Lee YS. Antimicrobial seafood packaging: a review. Journal of food science and technology. 2016;53(6):2505-18.
3. Calo JR, Crandall PG, O'Bryan CA, Ricke SC. Essential oils as antimicrobials in food systems–A review. Food Control. 2015;54:111-9.
4. Li M, Muthaiyan A, A O'Bryan C, E Gustafson J, Li Y, G Crandall P, et al. Use of natural antimicrobials from a food safety perspective for control of Staphylococcus aureus. Current pharmaceutical biotechnology. 2011;12(8):1240-54.
5. Valypoor A,Valipoor M.Study of chemical composition of curcumin and its role in the prevention and treatment of diseases. Clinical Excellence Journal.1395;6(1):35-54(in Persian).
6. Xue J, Davidson PM, Zhong Q. Antimicrobial activity of thyme oil co-nanoemulsified with sodium caseinate and lecithin. International journal of food microbiology. 2015;210:1-8.
7. Sahraeekhoshgardesh A, Badiee F, Yasiniardakani A. The Effect of Nanoemulsion Coating with Chitosan on Increasing the Shelf life of Apple Golab during Storage. Iranian Biosystems Engineering.1393;45(2):113-120(in Persian).
8. Bilbao-Sáinz C, Avena-Bustillos RJ, Wood DF, Williams TG, McHugh TH. Nanoemulsions prepared by a low-energy emulsification method applied to edible films. Journal of agricultural and food chemistry. 2010;58(22):11932-8.
9. Adams R. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Journal of the American Society for Mass Spectrometry. 1997;6(8):671-2.
10. Borrin TR, Georges EL, Moraes IC, Pinho SC. Curcumin-loaded nanoemulsions produced by the emulsion inversion point (EIP) method: an evaluation of process parameters and physico-chemical stability. Journal of Food Engineering. 2016;169:1-9.
11. Dizaj SM, Yaqoubi S, Adibkia K, Lotfipour F. 9 - Nanoemulsion-based delivery systems: preparation and application in the food industry A2 - Grumezescu, Alexandru Mihai. Emulsions: Academic Press; 2016. p. 293-328.
12. Wikler MA. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Eighth Edition 2009; M07-A8,Vo:29 No:2.
13. Özyurt G, Kuley E, Özkütük S, Özogul F. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (Mullus barbatus) and goldband goatfish (Upeneus moluccensis) during storage in ice. Food chemistry. 2009;114(2):505-10.
14. Parvaneh V. Food-Analysis and laboratory. 1St ed. Tehran:Tehran University Publishing؛1392(in Persian).
15. Da Silva N, Taniwaki MH, Junqueira VC, Silveira N, do Nascimento MdS, Gomes RAR. Microbiological examination methods of food and water: a laboratory manual: CRC Press; 2012.
16. Brown AE. Benson´ s. Microbiological applications: laboratory manual in general microbiology2009.
17. APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 14ed: APHA American Public Health Association; 1976.
18. 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.
19. Gadhave AD. Nanoemulsions: formation, stability and applications. International Journal for Research in Science and Advanced Technologies. 2014;2(3):038-43.
20. Angiş S, Oğuzhan P. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on chemical and microbiological properties of fresh rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fillets during storage at refrigerator temperatures. African Journal of Microbiology Research. 2013;7(13):1136-43.

www.SID.ir

Archive of SID

21. Song Y, Liu L, Shen H, You J, Luo Y. Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (Megalobrama amblycephala). Food Control. 2011;22(3-4):608-15.
22. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Control of the quality of fish and shrimp-microbial properties. National Standard No. 1- 2394(in Persian).
23. Frangos L, Pyrgotou N, Giatrakou V, Ntzimani A, Savvaidis I. Combined effects of salting, oregano oil and vacuum-packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets. Food microbiology. 2010;27(1):115-21.
24. Gunes H, Gulen D, Mutlu R, Gumus A, Tas T, Topkaya AE. Antibacterial effects of curcumin: an in vitro minimum inhibitory concentration study. Toxicology and industrial health. 2016;32(2):246-50.
25. Ansari A, Eesazadeh KH, Shoahoseini A. Antibacterial activity of nano-curcumum in methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection in pre-clinical conditions. World of Germs Journal.1392;7(1):26-37(in Persian).
26. Sedaghatbrojeni L, Keramat J, Ghsemipirbalooti A. Comparison of antioxidant activity of communisMyrtus and synthetic antioxidants on the physico-chemical properties of potato chips and its oil duringshelf life. Journal of Science in Food Technology.1393;6(4):68-74(in Persian).
27. Institute of Standards and Industrial Research of Iran.Fish, Hard-shells and molluscs. Sensory evaluation. National Standard No. 7431(in Persian).
28. Noori S, Zeynali F, Almasi H. Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (Zingiber officinale) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets. Food Control. 2018;84:312-20.
29. Gharenaghadeh S, Karimi N, Forghani S, Nourazarian M, Gharehnaghadeh S, Kafil HS. Application of Salvia multicaulis essential oil-containing nanoemulsion against food-borne pathogens. Food Bioscience. 2017;19:128-33.
30. Özogul Y, Özogul F, Kuley E, Özkutuk AS, Gökbulut C, Köse S. Biochemical, sensory and microbiological attributes of wild turbot (Scophthalmus maximus), from the Black Sea, during chilled storage. Food chemistry. 2006;99(4):752-8.
31. Lugasi A, Hovari J, Hagymasi K, Jakoczi I, Blazovics A. Antioxidant properties of a mixture of Lamiaceae plants intended to use as a food additive. Acta alimentaria. 2006;35(1):85-97.
32. Yanishlieva NV, Marinova EM, Gordon MH, Raneva VG. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. Food Chemistry. 1999;64(1):59-66.
33. Harpaz S, Glatman L, Drabkin V, Gelman A. Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater-reared Asian sea bass fish (Lates calcarifer). Journal of food protection. 2003;66(3):410-7.
34. Kavoosi G, Tafsiry A, Ebdam AA, Rowshan V. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of essential oils from Carum copticum seed and Ferula assafoetida latex. Journal of food science. 2013;78(2):T356-T61.
35. Asghari G, Mostajeran A, Shebli M. Curcuminoid and essential oil components of turmeric at different stages of growth cultivated in Iran. Research in pharmaceutical Sciences. 2010;4(1):55-61.
36. Gul P, Bakht J. Antimicrobial activity of turmeric extract and its potential use in food industry. Journal of food science and technology. 2015;52(4):2272-9.
37. Alizadeh H, Farzaneh M, Azami Z. The effect of nanoemulsion on cinnamon essential oil in putrefaction reducing post-harvest strawberry fruit. Journal of Biological Control of Pests and Plant.1394;4(1):57-64(in Persian).
38. Shahabi N, Tajik H, Moradi M, Mehrdad F. Antimicrobial properties of nanoemulsion of Shirazi citrus oil by EPI method. Food Microbiology.1395:3(3)(in Persian).

www.SID.ir

Archive of SID

39. Shadman S, Hosseini SE, Langroudi HE, Shabani S. Evaluation of the effect of a sunflower oil-based nanoemulsion with Zataria multiflora Boiss. essential oil on the physicochemical properties of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fillets during cold storage. LWT-Food Science and Technology. 2017;79:511-7

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir