

## بررسی تأثیر پوشش خوراکی عصاره آلوئه‌ورا همراه با نانوذرات چربی جامد حاوی اسانس روغنی زنیان بر عمر نگهداری گوشت تازه گاو

الهام پاسبانی<sup>1</sup>، صدیقه امیری<sup>2,1</sup>

1- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

2- نویسنده مسئول: باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران. پست الکترونیکی: s.amiri@iauyasooj.ac.ir

تاریخ پذیرش: 95/4/11

تاریخ دریافت: 94/12/17

### چکیده

**سابقه و هدف:** گوشت تازه یک ترکیب غذایی با قابلیت فساد بالا است. هدف از این مطالعه افزایش قابلیت ماندگاری گوشت تازه گاو از طریق پوشش‌دهی آن با نانوذرات چربی حامل اسانس زنیان بود.

**مواد و روش‌ها:** برای این منظور قطعات 5 گرمی گوشت گاو تهیه گردیدند و در محلول‌های پوشش‌دهی که از قبل تهیه شده بودند، غوطه‌ور شدند. محلول‌های پوشش‌دهی شامل (1) نانوذرات چربی حامل اسانس زنیان (2) ژل آلوئه‌ورا به تنهایی (3) نانوذرات چربی حامل اسانس زنیان و ژل آلوئه‌ورا (4) ژل آلوئه‌ورا همراه با اسانس زنیان بودند. در نهایت خصوصیات فیزیکوشیمیایی (pH، افت وزن و رنگ) و میکروبی (شمارش کلی، باکتری‌های سرمادوست، لاکتیک اسید و انتروباکتریاسه) گوشت تازه گاو در طی دوره نگهداری 7 روزه در دمای یخچال مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که در تمامی تیمارها pH در طول دوره نگهداری افزایش یافت. بیشترین میزان افزایش pH در نمونه کنترل و کمترین میزان در نمونه پوشش‌دهی شده با نانوذرات چربی همراه با ژل آلوئه‌ورا مشاهده گردید. تعداد باکتری‌های کل، سرمادوست، انتروباکتریاسه و اسید لاکتیک باکتری‌ها با گذشت زمان افزایش پیدا کردند. در این رابطه، بیشترین میزان افزایش مربوط به کنترل بود، و کمترین میزان افزایش در نمونه‌های پوشش‌دهی شده با نانوذرات چربی همراه با ژل آلوئه‌ورا مشاهده گردید. بیشترین و کمترین میزان افت وزن به ترتیب در نمونه کنترل و نمونه‌های پوشش‌دهی شده با عصاره آلوئه‌ورا مشاهده شد. بیشترین مقدار فاکتور رنگ‌سنجی a مربوط به نمونه پوشش داده شده با نانوذرات چربی همراه با ژل آلوئه‌ورا بود که نشان از حفظ بهتر رنگ قرمز گوشت در این نمونه داشت.

**نتیجه‌گیری:** پوشش‌دهی گوشت گاو با پوشش ترکیبی عصاره آلوئه‌ورا و نانوذرات چربی حامل اسانس زنیان می‌تواند باعث حفظ بهتر کیفیت گوشت تازه شده و مدت ماندگاری آن را در مقایسه با نمونه بدون پوشش افزایش دهد.

**واژگان کلیدی:** گوشت گاو، نانوذرات چربی، پوشش‌دهی، اسانس زنیان، آلوئه‌ورا

### • مقدمه

میکروبی و شیمیایی گوشت، روش‌های نگهداری مختلفی از جمله نگهداری در دماهای پایین و انجماد، خشک کردن، نمک سود کردن، حرارت‌دهی و کنسرو کردن و استفاده از مواد نگهدارنده مورد استفاده قرار گرفته است (4-6). طی سال‌ها، به منظور افزایش مدت زمان نگهداری در دمای پایین، افزودنی‌های سنتزی زیادی استفاده شده است (7). افزودنی‌های سنتزی دارای خواص سرطان‌زایی و سمیت هستند؛ بنابراین با افزایش نگرانی مصرف‌کنندگان از مصرف چنین افزودنی‌هایی، تقاضا برای گوشت و محصولات گوشتی سالم‌تر

گوشت مجموعه‌ای از بافت‌های عضلانی-اسکلتی لاشه‌ی دام‌های کشتاری است که با بافت‌های چربی و پیوندی مربوطه همراه می‌باشد و از جمله مهم‌ترین منابع پروتئینی به شمار می‌رود و غنی از اسیدهای آمینه ضروری برای بدن، مواد معدنی مانند آهن و روی، انواع ویتامین‌ها و همچنین انرژی کافی است که سبب می‌شود تا در زمره‌ی بهترین و کامل‌ترین مواد غذایی طبقه‌بندی شود (1). اما مهم‌ترین چالش گوشت، فسادپذیری زیاد آن می‌باشد که از جنبه سلامت و کیفیت آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد (2-4). به منظور جلوگیری از فساد

شده است که بهترین نتایج به هنگام الحاق ترکیبات فرار اسانس‌ها درون فیلم‌ها یا پوشش‌های خوراکی و انکپسوله کردن اسانس‌ها درون پلیمرهای خوراکی و پوشش‌ها یا کیسه‌های زیست‌تجزیه پذیر یا درون نانوامولسیون‌ها به دست می‌آید (10). در این تحقیق از نانوذرات چربی برای پوشش‌دهی اسانس زنیان استفاده گردید. نانوذرات چربی جامد (SLN) به دلیل توانایی آن‌ها در غلبه بر نواقص میکروکپسول‌ها و سیستم‌های انتقال کلئیدی نانومقیاس، در صنعت غذا و دارو توجه زیادی به خود جلب کرده است. این ذرات، آخرین سیستم‌های انکپسولاسیون نانومقیاس تولیدی می‌باشند (13). نانوذرات چربی جامد از یک هسته‌ی لیپیدی جامد به همراه ترکیبات زیست‌فعال که بخشی از ماتریکس لیپیدی می‌باشند، تشکیل می‌شود. ذرات توسط یک لایه‌ی سورفاکتانتی که ممکن است از یک سورفاکتانت یا ترکیبی از سورفاکتانت‌ها تشکیل شده باشد، پایدار می‌شوند. به‌طور معمول، استفاده از لیپیدهای کریستاله شده به جای لیپیدهای مایع، افزایش کنترل طی رهاسازی و پایداری ترکیبات زیست‌فعال ملحق شده را نشان می‌دهد. افزایش کنترل به این دلیل است که تحرک ترکیبات زیست‌فعال می‌تواند با کنترل وضعیت فیزیکی ماتریکس لیپیدی کنترل شود (14). هدف از این تحقیق تولید نانوذرات چربی حامل اسانس زنیان و بررسی عملکرد این نانوکپسول‌ها برای افزایش عمر ماندگاری گوشت تازه بود.

### • مواد و روش‌ها

**مواد:** گوشت مورد استفاده به صورت فیله از کشتارگاه شرکت گوشتی سفیر خریداری گردید و تا زمان مصرف در انکوباتور  $5^{\circ}\text{C}$  نگهداری شد. دانه گیاه زنیان از کارخانه گلزاری میمند و آلوئه‌ورا از اطراف شیراز خریداری گردیدند. اسانس زنیان تا زمان مصرف درون یخچال و آلوئه‌ورا به‌صورت تازه مورد مصرف قرار گرفتند. تمامی محیط کشت‌های مورد استفاده (VRBA) Violet red bile lactose, Plate count agar (PCA) agar (MRS) MRS agar از شرکت Merck (آلمان) تهیه شدند.

**استخراج اسانس زنیان:** اسانس زنیان با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شد. به دلیل فرار بودن اسانس گیاه، دقایقی قبل از اسانس‌گیری، نمونه‌ی خشک شده‌ی زنیان آسیاب و درون بالون دستگاه کلونجر ریخته شد. سپس، بالون تا دو سوم حجم، از آب مقطر پر گردید. در طول 2 ساعت حرارت‌دهی، ترکیبات فرار تبخیر و بعد از عبور از مبرد دستگاه میعان شدند. اسانس به دلیل ترکیبات خود معمولاً دارای چگالی کمتر از آب است و بر روی آن قرار می‌گیرد. اسانس جمع‌آوری شده، پس از خشک شدن توسط سولفات سدیم، در ظرف

و افزودنی‌های غذایی طبیعی افزایش یافته است (1). در این میان، اسانس‌ها توجه بسیاری از محققین را برای این منظور به خود جلب کرده‌اند. در تحقیق حاضر از اسانس زنیان به‌عنوان یک ترکیب ضد میکروبی برای افزایش قابلیت ماندگاری گوشت تازه استفاده شد. Aida و همکاران (2015) ترکیبات شیمیایی و خصوصیات ضد میکروبی اسانس زنیان جمع‌آوری شده از منطقه خراسان ایران را مورد بررسی قرار دادند. نتایج به دست آمده نشان داد که اسانس گیاه زنیان دارای 43 ترکیب مختلف بوده که مهم‌ترین آنها به ترتیب تیمول (42/46%)، کارواکرول (16/85%)، p-سیمن (10/62%) و گاما-ترپینن (7/26%) می‌باشند. نتایج فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاه زنیان نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی 0/05 میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی 0/2 میلی‌گرم در میلی‌لیتر علیه باکتری باسیلوس سرئوس می‌باشد (8). Mansour و همکاران (2010) نشان دادند که اسانس گیاه زنیان به خوبی در برابر باکتری‌های پاتوژن مؤثر بوده و باعث جلوگیری از رشد و در نهایت مرگ آنها می‌شود. این محققین اظهار داشتند که از بین باکتری‌های مورد آزمون حساس‌ترین باکتری، استافیلوکوکوس/رئوس شناسایی گردید (9).

تحقیقات نشان می‌دهند که اسانس‌ها می‌توانند دیواره‌ی سلولی میکروارگانیسم‌ها را تجزیه، لایه‌ی فسفولیپیدی غشاء سلولی را تخریب کرده و به پروتئین‌های غشاء آسیب وارد کنند که منجر به افزایش نفوذپذیری غشاء سلولی و از بین رفتن اجزاء سلولی می‌شوند. به‌این ترتیب، مقادیر کمتر اسانس‌ها می‌تواند در ترکیب با روش‌های نگهداری متداول و نوین شامل دما و اسیدیت‌ی پایین، بسته‌بندی با اتمسفر تغییر یافته، فشار بالا، نگهدارنده‌ها و پرتودهی در دوزهای پایین به کار رود (10). افزودن اسانس رزماری یا آویشن به محصولات خمیر گوشت در برابر باکتری‌های هوازی و لاکتیک اسید باکتری‌ها مؤثر بوده است. در سوسیس‌های بولوگنای حاوی اسانس رزماری یا آویشن (0/02%) و فیبر پرتقال (1%)، کمترین سطح باکتری‌های هوازی و لاکتیک اسید باکتری‌ها مشاهده شده است (11). گرچه فعالیت ضد میکروبی برای بسیاری از اسانس‌ها مشاهده شده است، اما محدودیت‌هایی نیز در کاربرد آن‌ها در گوشت و محصولات گوشتی وجود دارد. برهم کنش بعضی اسانس‌ها با ترکیبات غذایی و ساختار غذا ممکن است اثر آن‌ها را کاهش دهد (10). به علاوه، احتمالاً به دلیل حضور چربی، کربوهیدرات، پروتئین و نمک‌ها در سیستم‌های غذایی مانند گوشت و محصولات گوشتی، فعالیت اسانس‌ها در مقایسه با اثر به دست آمده از آن‌ها در آزمایشگاه به‌طور قابل توجه کاهش می‌یابد (12). برای رفع این مشکلات، مطالعات زیادی بخصوص در زمینه‌ی تکنولوژی‌های ترکیبی انجام گرفته است. برای مثال، گزارش

آماده‌سازی عصاره‌ی ژل آلئوئورا: برگ‌های رسیده، سالم و تازه‌ی آلئوئورا تهیه، با آب تازه شستشو و به‌صورت عرضی به قطعات کوچک‌تر برش داده شدند. اپیدرم ضخیم برگ‌ها حذف، ژل جامد درون آن‌ها، استخراج و با استفاده از مخلوط‌کن تیغه‌ای هموژن و سپس صاف گردید.

**آزمون‌های انجام گرفته روی گوشت قرمز تازه:** مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی اثر عصاره‌ی آلئوئورا و نانوذرات چربی جامد حاوی اسانس زنیان، بر روی مدت ماندگاری فیله‌ی تازه-ی گوشت گاو، انجام گرفت. بعد از تهیه نانوذرات چربی حامل اسانس و عصاره‌ی آلئوئورا و برش دادن قطعات فیله‌ی گوشت تازه‌ی ران گاو در اندازه‌های 5 گرمی، از 4 تیمار مختلف برای ارزیابی اثر ترکیبات مورد بحث، استفاده گردید. در تیمار 1، از محلول SLN حاوی 0/3% اسانس زنیان، در تیمار 2، از محلول 10 میلی‌لیتر عصاره‌ی آلئوئورا و 90 میلی‌لیتر SLN حاوی 0/3% اسانس زنیان، در تیمار 3، از محلول حاوی 0/3% اسانس زنیان، 10 میلی‌لیتر عصاره‌ی آلئوئورا و 90 میلی‌لیتر آب و در تیمار 4 از محلول حاوی 10 میلی‌لیتر عصاره‌ی آلئوئورا و 90 میلی‌لیتر آب استفاده گردید. قطعات گوشت آماده شده درون محلول‌های تهیه شده قرار گرفتند و پس از خشک شدن درون انکوباتور یخچال‌دار در دمای  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  نگهداری شدند و در روزهای 1، 3، 5 و 7 مورد ارزیابی قرار گرفتند. یک تیمار بدون پوشش‌دهی به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. رنگ، pH، افت وزن و آزمایش‌های میکروبی بر روی قطعات گوشت انجام شد.

**آزمون‌های میکروبی:** 25 گرم از نمونه گوشت گاو به همراه 225 میلی‌لیتر آب پپتونه 0/1 درصد با هم مخلوط و هموژنیزه شد (رقت 1:10). متعاقب آن رقت‌های مورد نیاز (طبق استاندارد ملی ایران شماره 356) در لوله‌های حاوی آب پپتونه 0/1 درصد تهیه گردید. یک میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پور پلیت (Pour plate) در محیط پلیت کانت آگار (Plate Count Agar) (PCA)، برای کشت *انتروباکتریاسه* در محیط کشت (VRBA) و برای کشت *لاکتیک اسید باکتیریا* در محیط کشت (MRS) کشت داده شدند. نمونه‌های کشت داده شده، در انکوباتور  $37^\circ\text{C}$  به مدت 48 ساعت برای شناسایی لود باکتریایی (طبق استاندارد ملی شماره 5272) و در انکوباتور  $7^\circ\text{C}$  به مدت 10 روز برای شناسایی باکتری‌های سرمادوست (طبق استاندارد ملی شماره 2629) قرار گرفتند و پس از طی مدت انکوباسیون تعداد کلونی‌های مربوط به کل باکتری‌ها، باکتری‌های *لاکتیک اسید*، باکتری‌های *انتروباکتریاسه* و باکتری‌های سایکروفیل مورد شمارش قرار گرفتند.

**ارزیابی رنگ:** به منظور ارزیابی رنگ نمونه‌های گوشت، تصویربرداری از نمونه‌ها درون جعبه با نور یکنواخت و ثابت

شیشه‌ای غیر قابل نفوذ ریخته و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.

**آنالیز اسانس:** به این منظور از دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی استفاده شد (PerkinElmer, Clarus 680, USA) تعیین درصد اجزای اسانس توسط آشکارساز شعله‌ای و شناسایی ترکیبات توسط طیف‌سنج جرمی و در نهایت، تأیید شناسایی با تطابق با شاخص بازداری (Retention Index) RI ترکیبات ذکر شده در منابع انجام شد. به منظور محاسبه شاخص بازداری از مقایسه زمان بازداری ترکیبات اسانس با استاندارد آلکان‌های نرمال 30-7 کربنی (Sigma-Aldrich) استفاده شد. شرایط کاری دستگاه کروماتوگراف گازی به شرح زیر بود: دمای انجکتور 250 درجه؛ دمای ستون 5 دقیقه ثابت در 50 درجه سیلسیوس، از 50 درجه تا 170 درجه با سرعت افزایش 3 درجه در دقیقه و از 170 تا 250 درجه با سرعت 10 درجه در دقیقه؛ دمای آشکارساز شعله‌ای 280 درجه سیلسیوس؛ گاز مورد استفاده هلیوم با سرعت حجمی ثابت 0/8 میلی‌لیتر در دقیقه و ستون مورد استفاده DB-5 با طول 30متر، قطر 0/25 میلی‌متر و ضخامت پوشش 0/25 میکرومتر بود. شرایط کاری دستگاه طیف‌سنج جرمی در 70 الکترون-ولت و در حالت EI بود. شناسایی ترکیبات با مقایسه طیف جرمی ترکیبات با بانک طیف Wiley انجام شد.

**آماده‌سازی نانوذرات چربی جامد (SLN) حامل اسانس زنیان:** برای آماده‌سازی SLN، اسانس روغنی مورد نظر در دمای  $85^\circ\text{C}$  در لیپید انتخاب شده با نسبت 70:30 حل گردید تا اسانس در لیپید بارگذاری گردد. سپس محلول تولیدی در محلول سورفاکتانت (تویین 80) آبی داغ پخش شد. در مرحله بعد، مخلوط تولیدی توسط همزن به مدت 1 دقیقه در دور 3000rpm قرار گرفت و یک امولسیون اولیه ایجاد شد. سپس این امولسیون در دمای  $90^\circ\text{C}$  با استفاده از اولتراسونیک (QSonica, Q700, USA) در شدت 80 درصد و فرکانس 20 کیلوهرتز به ذرات ریز نانومتری تبدیل گردید (15).

**اندازه‌گیری ابعاد ذرات نانوذرات چربی با استفاده از تکنیک پراکنش دینامیک نوری (Dynamic Light Scattering):** برای تعیین توزیع اندازه ذرات از تکنیک پراکنش دینامیک نوری در دمای محیط و در طول موج 633 نانومتر (detection angles 70 and 90°) (dynamic viscosity of sample 8.76 mPa.s) استفاده گردید. اندازه هیدرودینامیک ذرات، توزیع اندازه ذرات و شاخص پراکنندگی (Polydispersity Index) از طریق نرم‌افزار DTS (5.02 version, Malvern Instrument Ltd., UK) محاسبه شد (16).

**آنالیز اسانس زنیان:** کروماتوگرام به دست آمده از آنالیز اسانس زنیان توسط گرومانوگراف گازی در جدول 1 نشان داده شده است. ترکیبات اصلی اسانس زنیان را پارا-سیمن (43/32%)، گاما-ترپینن (25/72%)، تیمول (9/3%) و کارواکرول (16/74%) تشکیل دادند. مشخص شده است که گاما-ترپینن می‌تواند با اکسید شدن به پارا-سیمن مانع از اکسیداسیون اسید لینولئیک شود و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل کند (19).

**جدول 1.** ترکیبات شناسایی شده اسانس زنیان از طریق کروماتوگرام گازی

| ردیف | زمان بازداری | شاخص بازداری | نام ترکیب             | درصد در اسانس |
|------|--------------|--------------|-----------------------|---------------|
| 1    | 11/19        | 927          | $\alpha$ -Thujene     | 0/27          |
| 2    | 11/49        | 934          | $\alpha$ -Pinene      | 0/33          |
| 3    | 13/48        | 978          | $\beta$ -Pinene       | 1/48          |
| 4    | 14/11        | 992          | Myrcene               | 0/71          |
| 5    | 16/16        | 1036         | <i>p</i> -Cymene      | 43/32         |
| 6    | 16/39        | 1041         | $\beta$ -Phellandrene | 0/05          |
| 7    | 17/72        | 1069         | $\gamma$ -Terpinene   | 25/72         |
| 8    | 18/82        | 1092         | unknown               | 0/25          |
| 9    | 22/47        | 1170         | Terpinene-4-ol        | 0/14          |
| 10   | 24/02        | 1203         | unknown               | 0/32          |
| 11   | 26/1         | 1249         | unknown               | 0/23          |
| 12   | 28/3         | 1298         | Thymol                | 9/3           |
| 13   | 28/91        | 1312         | Carvacrol             | 16/74         |
| 14   | 29/09        | 1316         | unknown               | 0/18          |

تغییرات pH نمونه‌های گوشت در طی دوره نگهداری: تغییرات pH نمونه‌های مختلف گوشت در طی دوره نگهداری 7 روزه در دمای یخچال در شکل 2-الف آورده شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که به طور کلی در تمامی تیمارهای مورد بررسی در این پژوهش، pH تا انتهای دوره نگهداری افزایش پیدا می‌کند. در روز اول دوره نگهداری pH نمونه کنترل برابر 5/58 بوده که پس از 7 روز نگهداری در دمای یخچال pH این نمونه به 7/45 (33/51 درصد افزایش) افزایش پیدا کرد که بیشترین میزان افزایش pH را نسبت به سایر نمونه‌ها نشان داده است. همچنین کمترین تغییرات pH در نمونه‌های پوشش‌دهی شده با ترکیب نانوذرات اسانس زنیان و آلوئه‌ورا و نمونه پوشش‌دهی شده با عصاره آلوئه‌ورا مشاهده گردید؛ به طوری که در روز اول، pH این نمونه‌ها به ترتیب برابر 5/49 و 5/55 بوده و پس از 7 روز نگهداری در دمای یخچال pH این نمونه‌ها به ترتیب به 6/20 و 6/23 رسید.

**تغییرات میزان افت وزن:** روند تغییرات میزان افت وزن نمونه‌های گوشت گاو پوشش‌دهی شده با استفاده از پوشش‌های مختلف در شکل 2-ب نشان داده شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که بیشترین میزان افت وزن در نمونه کنترل مشاهده گردید که میزان افت وزن در این نمونه پس از 7 روز نگهداری در دمای یخچال برابر 11/82% بوده که به

انجام گرفت. رنگ نور مورد استفاده و رنگ دیواره‌های داخلی جعبه سفید رنگ بوده و زاویه‌ی بین دوربین و نمونه، 90 درجه در نظر گرفته شد. تصاویر حاصل با استفاده از نرم‌افزار فتوشاپ CS6 تحت آنالیز قرار گرفته و پارامترهای  $L^*$  (روشنایی)،  $a^*$  (قرمزی - سبزی) و  $b^*$  (زردی - آبی)، اندازه‌گیری شدند (17).

**اندازه‌گیری pH:** مقدار 2 گرم نمونه‌ی گوشت به مدت یک دقیقه با 8 میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه مخلوط و هموزن شد. سپس pH مخلوط گوشت توسط pH متر در دمای 20°C اندازه‌گیری گردید (18).

**اندازه‌گیری افت وزن:** میزان کاهش وزن نمونه‌ها به خاطر از دست رفتن رطوبت محلول با وزن کردن نمونه‌ها توسط یک ترازوی دیجیتال و با استفاده از فرمول 1 محاسبه گردید (18).

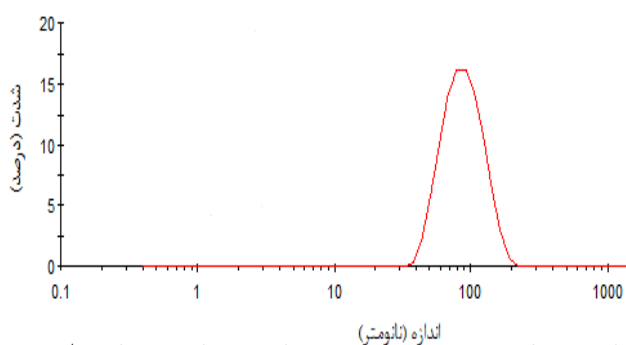
(فرمول 1)

وزن اولیه نمونه  $\times 100$  / (وزن ثانویه - نمونه - وزن اولیه نمونه) = درصد افت وزن

**آنالیز آماری:** در این تحقیق از طرح آماری کاملاً تصادفی استفاده و تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و روش تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) در سطح 0/05 صورت گرفت و پس از آنالیز واریانس، میانگین‌های مربوطه با استفاده از آزمون‌های چند دامنه‌ای دانکن در سطح 0/05 مورد آنالیز قرار گرفتند.

## • یافته‌ها

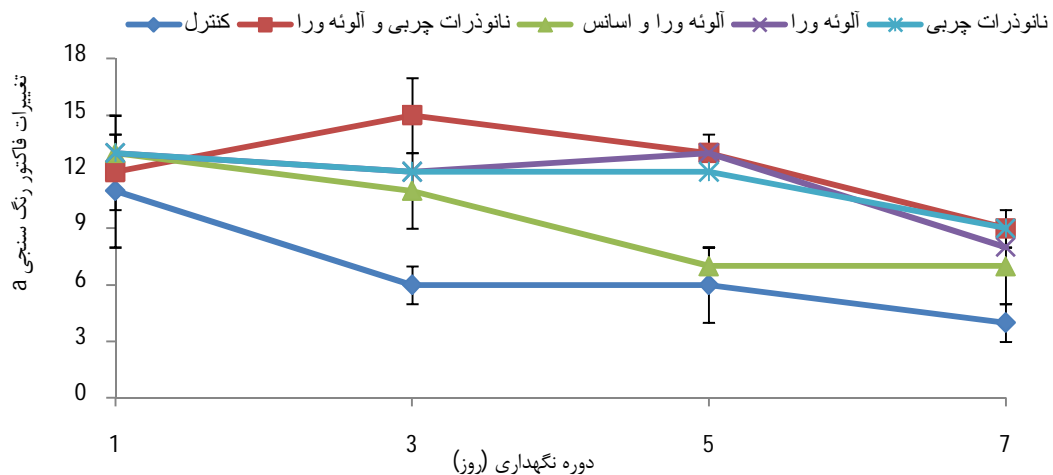
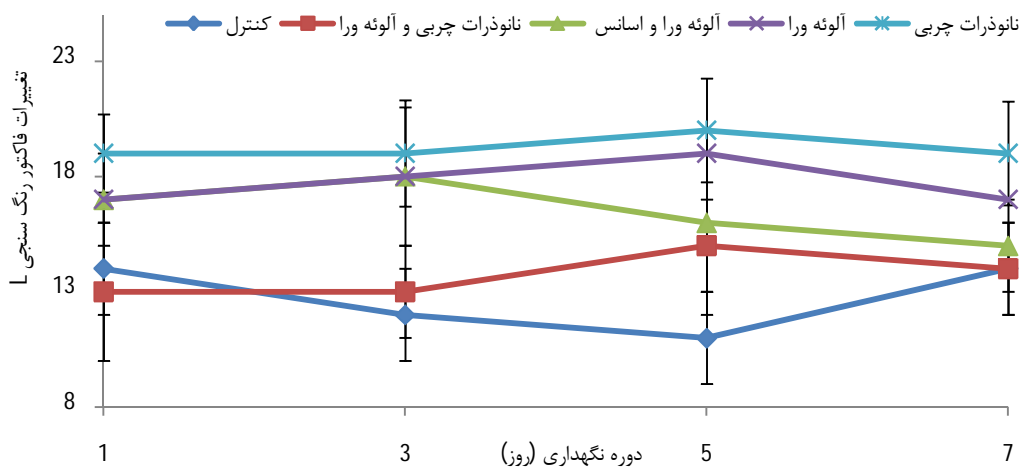
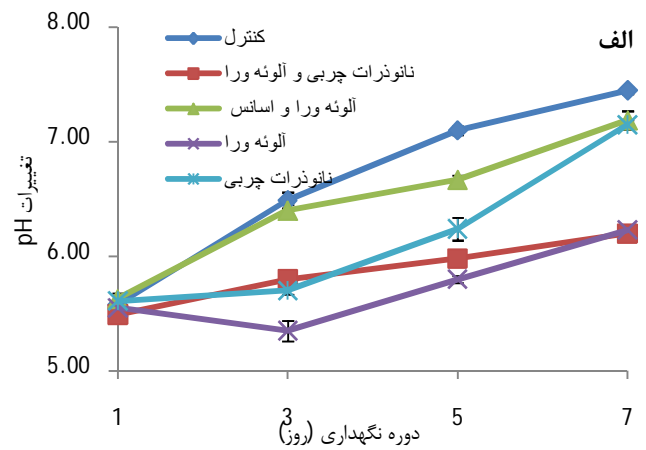
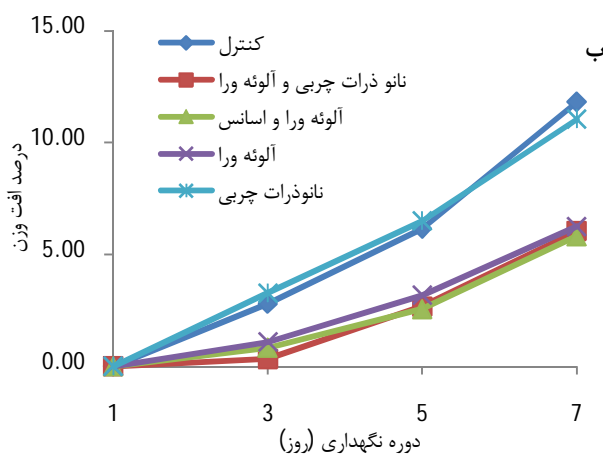
**اندازه‌گیری ابعاد ذرات با استفاده از تکنیک پراکنش دینامیک نوری (DLS):** بعد از تهیه نانوذرات چربی اندازه ذرات تعیین گردید. برای اندازه‌گیری ابعاد ذرات از تکنیک پراکنش دینامیک نوری استفاده گردید. شکل 1 نتایج حاصل از تکنیک پراکنش نوری را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل 1 مشاهده می‌شود یک پیک ظاهر شد که نشان‌دهنده ابعادی حدود 90/47 نانومتر برای اندازه ذرات چربی بود؛ ضمن اینکه توزیع اندازه ذرات در محدوده کمی (0/455) بود.



**شکل 1.** منحنی DLS نانوذرات چربی حامل اسانس زنیان

احتمال 95% نداشتند. همچنین میزان افت وزن نمونه‌های پوشش‌دهی شده با عصاره آلوئه ورا، عصاره آلوئه‌ورا و اسانس زنیان و اسانس زنیان ریز پوشانی شده در نانوذرات چربی جامد که در فرمولاسیون آنها از عصاره ژل آلوئه ورا استفاده گردیده بود اختلاف آماری معنی‌داری در میزان افت وزن ناشی از اتلاف رطوبت نشان ندادند.

صورت معنی‌داری در سطح احتمال 5% از سایر نمونه‌های پوشش‌دهی شده با عصاره آلوئه ورا بیشتر بود. نتایج به دست آمده نشان داد که میزان افت وزن در نمونه کنترل و نمونه پوشش‌دهی شده با اسانس زنیان ریز پوشانی شده در نانوذرات چربی جامد که در فرمولاسیون این پوشش از عصاره آلوئه ورا استفاده نگردیده بود اختلاف آماری معنی‌داری در سطح



شکل 2. برخی از خصوصیات فیزیکی-شیمیایی نمونه‌های گوشت پوشش‌دهی شده در طی دوره نگهداری در دمای  $4 \pm 1^\circ\text{C}$

پیدا کرد. در روز اول نگهداری تعداد باکتری‌های کل در هریک از 5 تیمار مورد بررسی در محدوده  $4/5 - 4/3 \text{ Log cfu/g}$  بوده و اختلاف آماری معنی‌داری در سطح 5% بین تیمارهای مختلف مشاهده نگردید. اما با گذشت زمان تعداد باکتری کل در تمامی نمونه‌ها به صورت معنی‌داری نسبت به گذشت زمان افزایش پیدا کرد. بیشترین میزان افزایش تعداد باکتری کل در نمونه کنترل مشاهده شد به طوری که معادل تقریباً  $\text{Log } 3/2 \text{ cfu/g}$  افزایش در تعداد باکتری‌های کل در این نمونه در طی دوره نگهداری 7 روزه در دمای یخچال مشاهده گردید. کمترین میزان باکتری در نمونه نانوذرات چربی حاوی اسانس زنیان و آلوئه‌ورا و سپس در نمونه حاوی نانوذرات چربی بود.

تغییرات تعداد باکتری‌های سرمادوست: شکل 3-ب روند تغییرات تعداد باکتری‌های سرمادوست را در نمونه کنترل و نمونه‌های پوشش‌دهی شده با اسانس زنیان ریز پوشانی شده در ذرات چربی و عصاره آلوئه‌ورا در طی 7 روز نگهداری در دمای  $4 \pm 1^\circ \text{C}$  نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده نشان داد که تعداد باکتری‌های سرمادوست به طور معنی‌داری در طی دوره نگهداری با گذشت زمان افزایش پیدا کرد. در روز اول نگهداری تعداد این باکتری‌ها در تیمارهای مختلف نمونه‌های گوشت گاو با نمونه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری در سطح 5% نشان ندادند. بیشترین میزان افزایش در تعداد باکتری‌های سرمادوست در نمونه کنترل مشاهده گردید که تعداد این باکتری‌ها از  $3/89 \text{ Log cfu/g}$  در روز اول نگهداری به  $5/69 \text{ cfu/g}$  پس از هفت روز نگهداری در دمای یخچال رسید. همچنین کمترین افزایش تعداد باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های پوشش‌دهی شده با عصاره آلوئه‌ورا همراه با اسانس زنیان ریز پوشانی شده در ذرات چربی جامد مشاهده شد که تعداد باکتری‌های سرمادوست در این نمونه در طی دوره نگهداری تقریباً یک سیکل لگاریتمی افزایش پیدا کرد. نتایج به دست آمده نشان داد که تأثیر پوشش‌دهی با آلوئه‌ورا در مقایسه با نمونه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری نداشت.

**تغییرات تعداد باکتری‌های اسید لاکتیکی: تأثیر پوشش‌دهی گوشت گاو با اسانس زنیان ریز پوشانی شده در نانوذرات چربی و عصاره آلوئه‌ورا و ترکیب آنها بر تغییرات تعداد باکتری‌های لاکتیکی در طی دوره نگهداری 7 روزه در دمای یخچال در شکل 3-پ آورده شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که تأثیر پوشش‌دهی با استفاده از اسانس زنیان ریز پوشانی شده در نانوذرات چربی و عصاره آلوئه‌ورا در مقایسه با نمونه کنترل در سطح احتمال 5% معنی‌دار بوده و استفاده از این ترکیبات توانسته در مقایسه با نمونه کنترل**

**تغییرات فاکتورهای رنگ سنجی: فاکتور L** از فاکتورهای رنگ سنجی نشان دهنده‌ی میزان روشنی - تیرگی نمونه‌ها می‌باشد. دامنه مقادیر این فاکتور بین 0 تا 100 است که عدد صفر نشان دهنده‌ی سیاهی و عدد صد نشان دهنده‌ی سفیدی یا روشنی نمونه می‌باشد. شکل 2-پ روند تغییرات فاکتور رنگ سنجی نمونه‌های گوشت در طی دوره نگهداری 7 روزه در دمای یخچال را نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده نشان داد که فاکتور رنگ سنجی L در طی دوره نگهداری در نمونه‌های مختلف تقریباً روند ثابتی داشت.

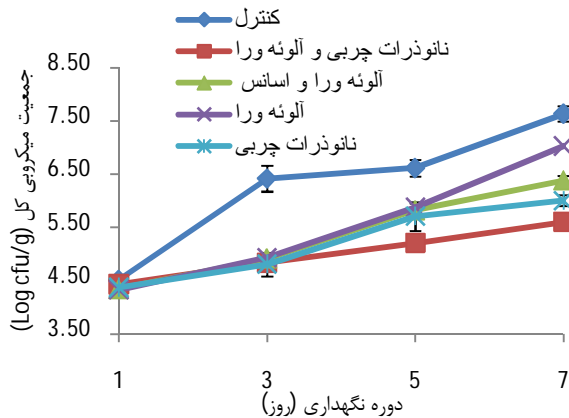
فاکتور a از فاکتورهای رنگ سنجی نشان دهنده‌ی میزان رنگ قرمزی - سبزی نمونه‌ها می‌باشد. این فاکتور بین a- تا a+ تغییر کرده که a- نشان دهنده‌ی رنگ سبز و a+ نشان دهنده‌ی قرمزی رنگ نمونه می‌باشد. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که تأثیر عامل زمان نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد بر روند تغییرات میزان فاکتور a در سطح احتمال 5% معنی‌دار بود (شکل 2-ت). همچنین تأثیر تیمارهای مختلف پوشش‌دهی بر میزان فاکتور a نمونه‌های گوشت در مقایسه با نمونه کنترل معنی‌دار بود. میزان فاکتور a نمونه‌های مختلف در طی دوره نگهداری به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. میزان فاکتور a نمونه‌های مختلف در روز اول نگهداری در محدوده 13-15 بوده که پس از 7 روز نگهداری در دمای یخچال در تیمارهای مختلف به حدود 3-9 رسید. کمترین مقدار فاکتور رنگ سنجی a مربوط به نمونه کنترل بود و تمامی نمونه‌های پوشش‌دهی شده خصوصاً نمونه‌های پوشش داده شده با نانوذرات چربی حاوی اسانس زنیان همراه با آلوئه‌ورا دارای مقادیر a بیشتری در طول مدت زمان نگهداری بودند.

فاکتور b از فاکتورهای رنگ سنجی نشان دهنده‌ی میزان زردی - آبی نمونه‌ها می‌باشد. این فاکتور بین b- تا b+ تغییر کرده که b- نشان دهنده‌ی رنگ آبی و b+ نشان دهنده‌ی رنگ زردی نمونه می‌باشد. نتایج به دست آمده نشان داد که به طور کلی مقادیر فاکتور رنگ سنجی b با گذشت زمان تغییر نکرد و در سطح احتمال 5% تأثیر پارامتر زمان بر فاکتور رنگ سنجی b معنی‌دار نبود (نتایج نشان داده نشده است).

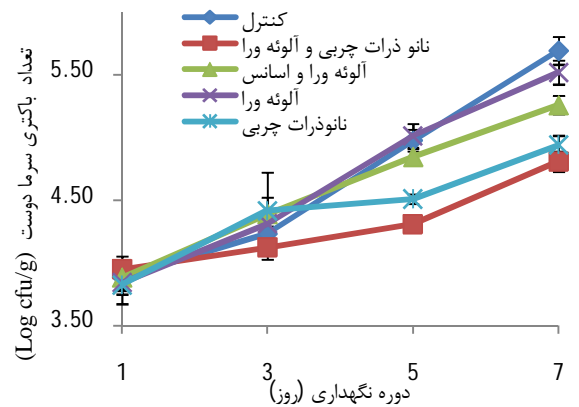
#### خصوصیات میکروبی نمونه‌های گوشت

**تغییرات باکتری کل:** تغییرات تعداد باکتری کل نمونه‌های مختلف گوشت در طی دوره نگهداری 7 روزه در دمای  $4 \pm 1^\circ \text{C}$  در شکل 3-الف نشان داده شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که تعداد باکتری‌های کل در تمامی تیمارهای مختلف مورد بررسی در این پژوهش با گذشت زمان افزایش

اسانس زنیان ریز پوشانی شده در نانوذرات چربی و عصاره آلوئه‌ورا کمترین میزان افزایش در تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک که تقریباً معادل  $1/4 \text{ Log cfu/g}$  می‌باشد مشاهده گردید. نمونه پوشش‌دهی شده با اسانس زنیان ریز پوشانی شده در نانوذرات چربی در رده بعدی از لحاظ تأثیرگذاری بر باکتری‌های اسید لاکتیک قرار داشت.

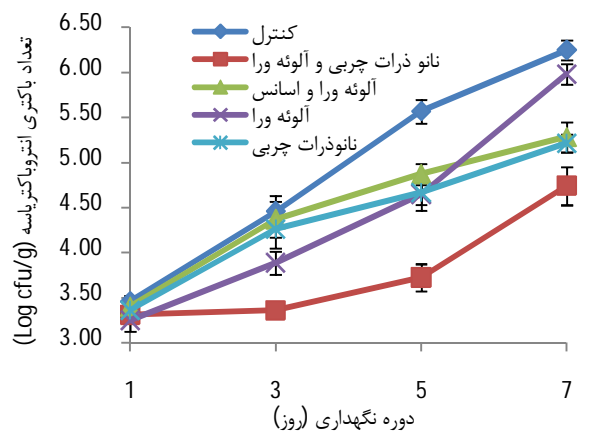
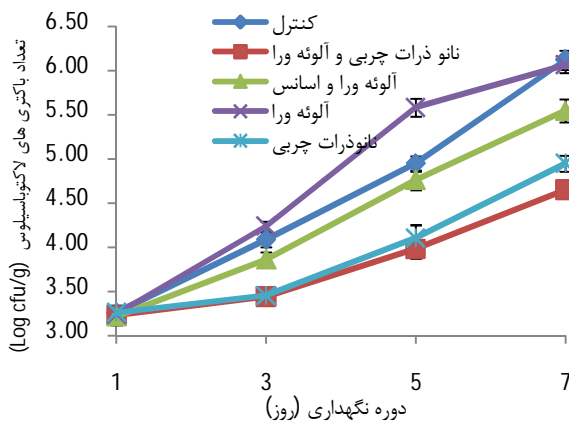


روند افزایش باکتری‌های اسید لاکتیک را کنترل کند. بیشترین افزایش در تعداد باکتری‌های لاکتیکی در نمونه کنترل مشاهده گردید که تعداد این باکتری‌ها از  $3/26 \text{ Log cfu/g}$  در روز اول به  $6/12 \text{ Log cfu/g}$  در پایان دوره نگهداری رسید که تقریباً معادل  $3 \text{ Log cfu/g}$  افزایش در تعداد باکتری‌ها بوده؛ در حالی که در نمونه پوشش‌دهی شده با



الف

ب



پ

ت

شکل 3. تغییرات جمعیت میکروبی نمونه‌های گوشت پوشش‌دهی شده در طی دوره نگهداری در دمای  $4 \pm 1^\circ\text{C}$

$4/74 \text{ Log cfu/g}$  رسیده که تقریباً برابر  $1/4 \text{ Log cfu/g}$  افزایش داشته است. نتایج به دست آمده نشان داد بین نمونه کنترل و نمونه پوشش‌دهی شده با عصاره آلوئه‌ورا اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال 5% مشاهده نمی‌گردد و بیشترین میزان افزایش در تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه در انتهای دوره نگهداری در نمونه کنترل و نمونه پوشش‌دهی شده با عصاره آلوئه‌ورا مشاهده گردید به طوری که تعداد این باکتری‌ها به ترتیب از  $3/46 \text{ Log cfu/g}$  و  $3/25 \text{ Log cfu/g}$  در روز اول به  $6/25 \text{ Log cfu/g}$  و  $5/98 \text{ Log cfu/g}$  در روز هفتم نگهداری رسیده است که معادل تقریباً  $2/8 \text{ Log cfu/g}$  افزایش در تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه در این نمونه‌ها بود.

تغییرات باکتری‌های انتروباکتریاسه: تغییرات تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه نمونه‌های پوشش‌دهی شده گوشت گاو در طی دوره نگهداری در دمای یخچال در شکل 3-ت آورده شده است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که اختلاف آماری معنی‌داری بین نمونه‌های مختلف در سطح احتمال 5% وجود دارد. نمونه پوشش‌دهی شده با پوشش حاوی اسانس زنیان ریز پوشانی شده در نانوذرات چربی و عصاره آلوئه‌ورا نسبت به سایر نمونه‌ها در کنترل تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه مؤثرتر بوده و کمترین میزان افزایش را در طی دوره نگهداری داشته است، به طوری که تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه در این نمونه در روز اول برابر  $3/31 \text{ Log cfu/g}$  بوده و پس از 7 روز نگهداری به

## • بحث

آنالیز اسانس زنیان چهار ترکیب اصلی پارا-سیمن، گاما-ترپینن، تیمول و کارواکرول را در آن مشخص کرد. پارا-سیمین و گاما-ترپینن اثر ضد میکروبی قابل توجهی ندارند در حالی که تیمول و کارواکرول دارای اثرات ضد میکروبی قوی هستند (20). Mohagheghzadeh و همکاران (2007) بیان کردند که اسانس زنیان با توجه به منطقه کشت گیاه و سایر شرایط محیطی دارای مقادیر متفاوتی از ترکیبات اصلی اسانس هستند (21) و گزارش‌های مختلفی از درصدهای مختلف ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس زنیان در منابع وجود دارد (22، 23). با توجه به این که در اسانس مورد استفاده در این تحقیق، مجموع مقدار تیمول و کارواکرول حدود 27% می‌باشد و با توجه به خصوصیات ضدمیکروبی اثبات شده اسانس زنیان، می‌توان اثرات ضدمیکروبی دیده شده در نتایج شمارش میکروبی را به این اسانس نسبت داد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری توزیع اندازه ذرات نانوذرات تولید شده نشان داد که دیسپرسیون تهیه شده دارای ذراتی با توزیع اندازه ذرات پایین بود. ظهور هر پیک در نتیجه DLS نشان دهنده وجود ذراتی با توزیع اندازه‌ای وسیع و یا باریک است. بر این اساس در نانوذرات چربی حامل اسانس زنیان یک پیک ظاهر شد (شکل 1) که نشان‌دهنده وجود ذراتی با میانگین قطر 90/47 نانومتر می‌باشد. شاخص پراکندگی کم (0/455) نشان‌دهنده توزیع اندازه ذرات در یک محدوده باریک است.

FAO در سال 1995 طی گزارشی اعلام کرد که pH مواد غذایی می‌تواند شاخص خوبی برای شرایط بهداشتی و ایمنی مواد غذایی باشد. مطابق با گزارش سازمان کدکس در سال 2003 برای گوشت حیوانات pH باید کمتر از 7-7/5 باشد تا از نظر کدکس این ماده غذایی برای مصرف کنندگان ایمن باشد. همان‌طور که نتایج این تحقیق نشان داد تغییرات pH در طول زمان نگهداری روندی افزایشی داشت که این تغییرات عمدتاً به دلیل فعالیت‌های میکروبی و فعالیت‌های آنزیمی در طی دوره نگهداری می‌باشد. با گذشت زمان بافت گوشت توسط فعالیت آنزیمی میکروارگانیسم‌های گوشت تخریب می‌شود. این تخریب در حقیقت با تجزیه ترکیبات پروتئینی صورت می‌گیرد که ماحصل آن تولید ترکیبات ازته است. تولید این ترکیبات باعث افزایش pH در گوشت می‌شود (24). روند تغییرات pH مستقیماً با روند تغییرات جمعیت میکروبی نمونه مورد نظر ارتباط دارد؛ یعنی با افزایش جمعیت میکروبی و در نتیجه فعالیت آنزیمی، روند افزایش pH نیز سرعت بیشتری پیدا می‌کند که این افزایش در نمونه کنترل نیز مشاهده شد. نتایج به‌دست آمده از تغییرات pH با نتایج آزمون جمعیت

میکروبی کل کاملاً مطابقت داشت؛ به این ترتیب که نمونه‌های پوشش‌دهی شده به دلیل جمعیت میکروبی پایین‌تر روند افزایش pH کندتری نسبت به نمونه کنترل داشتند. مقایسه نتایج به‌دست آمده در این تحقیق با نتایج گزارش شده توسط سایر محققین نشان داد که در بعضی از موارد pH نمونه‌های گوشت در ابتدای دوره کاهش و پس از آن در تمامی موارد، pH افزایش می‌یابد. کاهش اولیه pH عمدتاً به دلیل رشد باکتری-های اسید لاکتیک و در نتیجه تجمع اسید لاکتیک می‌باشد، در حالی که پس از آن افزایش pH عمدتاً به دلیل رشد باکتری‌های فساد زا که منجر به تجمع ترکیبات قلیایی مثل آمونیوم و تری متیل آمین می‌گردند می‌باشد (25، 26). نتایج مشابهی توسط Vasconez و همکاران (2010) در بررسی تأثیر پوشش‌دهی با فیلم‌های کیتوزان و ترکیب کیتوزان-تاپیوکا بر ماندگاری گوشت ماهی سالمون (26) و Duan و همکاران (2010) در بررسی اثر ترکیبی پوشش کیتوزان و بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده بر ماندگاری فیله ماهی لینگ کاد (27) نیز مشاهده شده است.

یکی از فاکتورهای مهم در نگهداری محصولات غذایی در انبار افت وزن ناشی از اتلاف رطوبت بوده که هرچه این فاکتور بیشتر باشد از لحاظ اقتصادی ضررهای بیشتری برای تولید کنندگان مواد غذایی به همراه دارد. افت وزن به دلیل تبخیر رطوبت از سطح ماده غذایی بوده و با دمای نگهداری مواد غذایی ارتباط مستقیم دارد. یکی از روش‌های کنترل افت وزن ناشی از اتلاف رطوبت پوشش‌دهی و تشکیل یک لایه محافظ در برابر تبخیر آب از سطح ماده غذایی است. نتایج حاصل از افت وزن نشان داد که پوشش عصاره آلوئه‌ورا به دلیل قابلیت تشکیل ژل بر قطعات گوشت تازه قادر است میزان تبخیر آب سطحی را کاهش دهد. Vasconez و همکاران (2010) گزارش کردند که پوشش‌دهی گوشت ماهی سالمون با کیتوزان باعث حفظ رطوبت در نمونه‌های پوشش‌دهی شده و در مقایسه با نمونه کنترل باعث کاهش افت وزن از 17/8% در نمونه کنترل به 11/9-12/9% در نمونه‌های پوشش‌دهی شده گردید (26). نتایج نشان داد که تمامی نمونه‌های پوشش‌دهی شده خصوصاً نمونه‌های پوشش داده شده با نانوذرات چربی حاوی اسانس زنیان همراه با آلوئه‌ورا دارای مقادیر a بیشتری در طول مدت زمان نگهداری بودند که نشان از حفظ بهتر رنگ قرمز گوشت در این نمونه‌ها در مقایسه با نمونه کنترل دارد. Linares و همکاران (2007) گزارش کردند که افزایش اکسیداسیون در طی دوره نگهداری به صورت مستقیمی با افزایش فاکتور رنگ سنجی L در گوشت گوسفند در ارتباط می‌باشد (28). Berruga و همکاران (2005) نیز گزارش کردند که فاکتورهای رنگ سنجی L و b در گوشت گوسفند در طی



پوشش‌دهی گوشت گاو با اسانس زنیان ریز پوشانی شده در نانوذرات چربی و عصاره آلوئه‌ورا نیز در مورد باکتری‌های اسید لاکتیک مشابه با نتایج فوق بود. Georgantelis و همکاران (2007) گزارش کردند که کاربرد ترکیبی پوشش کیتوزان و اسانس رزماری باعث کاهش  $2 \text{ Log cfu/g}$  در جمعیت باکتری‌های لاکتیکی گوشت خوک در طی دوره نگهداری در دمای یخچال گردید (34). نتایج یک تحقیق نشان داد که تیمار گوشت مرغ از طریق غوطه‌وری اولیه در آب انار و سپس پوشش‌دهی با کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی باعث کاهش  $1/5 \text{ Log cfu/g}$  جمعیت باکتری‌های لاکتیکی در مقایسه با نمونه کنترل در طی دوره نگهداری در دمای یخچال گردید (35).

متداول‌ترین آلوده‌کننده‌های گوشت و محصولات گوشتی باکتری‌های انتروباکتریاسه هستند که در نتیجه‌ی فعالیت آنها، آمین‌های بیوژنیک تولید می‌شود، که تشکیل این محصولات باعث بروز مسمومیت‌های غذایی و کاهش کیفیت محصول می‌گردد. جمعیت باکتری‌های انتروباکتریاسه در طول زمان نگهداری در نمونه‌های گوشت پوشش‌دهی شده با پوشش حاوی اسانس زنیان ریز پوشانی شده در نانوذرات چربی و عصاره آلوئه‌ورا نسبت به سایر نمونه‌ها کمتر بود. Jouki و همکاران (2013) اظهار داشتند که تعداد باکتری‌های *انتروباکتریاسه* در نمونه کنترل با سرعت بیشتری نسبت به نمونه‌های پوشش‌دهی شده با موسیلاژ دانه به حاوی اسانس پونه کوهی و آویشن باغی در فیله گوشت ماهی رنگین افزایش یافت (36). همچنین نتایج تحقیقات Saei-Dehkordi و همکاران در سال 2010 نشان داد که خصوصیات ضد میکروبی اسانس‌های آویشن شیرازی متعلق به مناطق مختلف ایران با هم متفاوت بوده اما در همگی، باکتری‌های گرم منفی مقاومت بیشتری در مقابل اسانس نشان داده و از بین باکتری‌های گرم منفی مقاوم‌ترین گونه باکتری *اشریشیا کلی* می‌باشد. در نتیجه می‌توان گفت تفاوت در نقاط جغرافیایی می‌تواند باعث اختلاف در مقدار و کیفیت اسانس استخراج شده گردد (37). Kazemi (2015) تأثیر اسانس زنیان را بر *سالمونلا تایفی‌موریم* و *اشریشیا کلی* بررسی کرد. نتایج این تحقیق نشان داد که این اسانس بر دو باکتری فوق بسیار مؤثر بود؛ به طوری که مقدار حداقل غلظت بازدارنده و کشنده آن برای *اشریشیا کلی* به ترتیب 5 و 10 و برای باکتری *سالمونلا تایفی‌موریم* 10 و 20 میکروگرم در میلی‌لیتر بود. این در حالی است که در همین تحقیق مقادیر غلظت بازدارنده و کشنده آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین برای باکتری *اشریشیا کلی* معادل اسانس زنیان و در مورد باکتری *سالمونلا تایفی‌موریم* چهار برابر غلظت اسانس

دوره نگهداری با گذشت زمان افزایش می‌یابند که افزایش پارامتر رنگ سنجی b ممکن است به دلیل تشکیل مت میوگلوبین که در شرایط غلظت‌های پایین اکسیژن تسریع می‌گردد باشد (29). همچنین پوشش‌دهی گوشت گوسفند با اسانس آویشن و پونه کوهی و همچنین بسته‌بندی آن‌ها در اتمسفر تغییر یافته باعث کند کردن روند افزایشی فاکتور رنگ سنجی L در مقایسه با نمونه کنترل در مدت نگهداری داشت در حالی که پارامتر رنگ سنجی a در روزهای مختلف تقریباً در محدوده ثابتی باقی ماند و پارامتر رنگ سنجی b با گذشت زمان روند افزایشی را نشان داد (30).

در این تحقیق، نمونه‌های گوشت پوشش‌دهی شده با نانوذرات چربی حاوی اسانس زنیان و آلوئه‌ورا کمترین جمعیت باکتری‌های کل را نشان دادند. Ojagh و همکاران نیز در سال 2010 گزارش کردند که پوشش‌دهی گوشت ماهی رنگین کمان با کیتوزان و کیتوزان حاوی اسانس دارچین باعث کاهش تعداد باکتری‌های کل به کمتر از  $6 \text{ Log cfu/g}$  در مقایسه با نمونه کنترل ( $7/88 \text{ Log cfu/g}$ ) در پایان دوره نگهداری می‌گردد (24). همچنین Vasconez و همکاران (2010) گزارش کردند که نمونه‌های پوشش‌دهی شده با کیتوزان و ترکیب کیتوزان-نشاسته تاپیوکا در مقایسه با نمونه کنترل جمعیت میکروبی (تعداد باکتری کل و باکتری‌های سرمادوست) کمتری در طی دوره نگهداری در یخچال داشتند (26). Li و همکاران (2012) گزارش کردند که جمعیت میکروبی در طی دوره نگهداری تحت تأثیر پلی فنول‌های چای و عصاره رزماری قرار می‌گیرد و غوطه‌ور کردن گوشت ماهی کپور در محلول 2% پلی فنول‌های چای و عصاره رزماری به صورت چشم‌گیری باعث کاهش سرعت افزایش جمعیت میکروبی کل در این نمونه‌ها می‌شود و در نتیجه باعث افزایش عمر ماندگاری ماهی می‌گردد (31).

Ibrahim Sallam در سال 2007 گزارش کرد که باکتری‌های سرمادوست مهم‌ترین گروه از میکروارگانیسم‌های مسئول فساد در محصولات نگهداری شده در دماهای پایین هستند (32). کمترین افزایش تعداد باکتری‌های سرمادوست در این تحقیق، در نمونه‌های گوشت پوشش‌دهی شده با عصاره آلوئه‌ورا همراه با اسانس زنیان ریز پوشانی شده در ذرات چربی جامد و بعد از آن در نمونه‌های پوشش‌دهی شده با اسانس زنیان ریز پوشانی شده در ذرات چربی جامد مشاهده شد. نتایج این تحقیق با نتایج به‌دست آمده توسط سایر محققین مطابقت دارد (24، 25). تأثیر اسانس‌هایی مانند اسانس آویشن و مرزنگوش که حاوی تیمول و کارواکرول بالایی هستند نیز بر شمارش کل باکتری‌های سرماگرایی موجود بر گوشت گزارش شده است (33).

بیشتری حفظ خواهد کرد. اسانس آزاد به دلیل فراریت و تبخیر و همچنین انتشار در بافت گوشت به سرعت غلظت لازم برای ممانعت از رشد باکتری‌ها در سطح را از دست خواهد داد و بنابراین کپسوله کردن اسانس تأثیر مثبتی بر کاهش سرعت رشد باکتری‌ها داشت. گفته می‌شود ذراتی که تا حد نانو کوچک می‌شوند قابلیت چسبندگی خوبی را به صورت مجزا به سطوح نشان می‌دهند. ذراتی که به سطح می‌چسبند باعث شکل‌گیری فیلم و انسداد سطح (occlusion effect) می‌شوند (41). این اثر با کاهش اندازه ذرات افزایش پیدا می‌کند. به این ترتیب اندازه کوچک قطرات اسانس در نانوذرات چربی باعث ایجاد تماسی نزدیک و در عین حال وسیع با سطح سلول‌های باکتریایی می‌شود (41). در نتیجه میزان نفوذ اسانس به سلول‌های باکتری‌ها افزایش پیدا می‌کند. Weiss و همکاران (2006) نشان دادند که نفوذ ترکیبات ضد میکروبی به سلول‌های باکتریایی با کاهش اندازه ذرات اسانس بهبود می‌یابد (42)، عاملی که به نظر می‌رسد دلیل عملکرد بهتر تیمارهای حاوی نانوذرات چربی حامل اسانس زنیان بود.

در مجموع می‌توان بیان کرد که پوشش دهی گوشت گاو با پوشش ترکیبی عصاره آلوئه‌ورا و اسانس زنیان ریز پوشانی شده در نانوذرات چربی جامد باعث حفظ بهتر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی نمونه گوشت شده و باعث افزایش مدت ماندگاری آن در مقایسه با نمونه کنترل در دمای یخچال می‌گردد. پوشش حاوی نانوذرات چربی حامل اسانس زنیان نیز تیمار بسیار مؤثری بود که بعد از تیمار عصاره آلوئه‌ورا و اسانس زنیان ریز پوشانی شده در نانوذرات چربی جامد خصوصیات کیفی گوشت را به خوبی حفظ کرد.

گزارش شد (38). پژوهش دیگری تأثیر تیمول و کارواکرول بر دو گونه شیگلا را تأیید کردند (39).

از آلوئه‌ورا بسیار برای پوشش‌دهی مواد غذایی خصوصاً میوه‌جات و افزایش طول عمر آن‌ها استفاده شده است. خصوصیت بازدارندگی ژل آلوئه‌ورا در مقابل گازهای تنفسی در کنار قابلیت عملکرد آن به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی باعث استفاده از این ترکیب به عنوان یک عامل پوشش شده است (40). در تحقیق حاضر، استفاده از این عصاره به تنهایی توانست روند رشد انتروباکتریاسه و جمعیت کل باکتری‌ها را به خوبی در مقایسه با نمونه کنترل کاهش دهد. هرچند این ترکیب بر باکتری‌های اسید لاکتیک و باکتری‌های سرمدوست بی‌تأثیر بود. ترکیب عصاره آلوئه‌ورا با اسانس زنیان در غالب موارد اثربخشی عصاره را بهبود بخشید، اما این افزایش قابل توجه نبود. اما پوشش‌دهی اسانس زنیان در نانو کپسول‌های چربی جامد توانست قابلیت ضد میکروبی آن را به طور چشم‌گیری افزایش دهد. زمانی که نانوذرات اسانس همراه با عصاره آلوئه‌ورا استفاده شدند بهترین نتیجه و بالاترین اثر ضد میکروبی به دست آمد. به این ترتیب به نظر می‌رسد که استفاده از نانوذرات چربی حامل اسانس زنیان در پوشش‌دهی گوشت بسیار مهم بوده است. نانوذرات چربی در حقیقت حامل‌های کلونیدی هستند که باعث آزادسازی ترکیبات به شکل کنترل شده می‌شوند. ضمن اینکه دسترسی زیستی مواد (خصوصاً داروها) را افزایش می‌دهند. به این ترتیب با افزایش قابلیت دسترسی اسانس، اسانس بهتر می‌تواند اثر ضد میکروبی خود را ایفا کند. از طرفی کپسوله شدن اسانس در ماتریس نانویی چربی جامد باعث آزادسازی کنترل شده و تدریجی ترکیبات اسانس خواهد شد و تأثیر آن را برای مدت

## • References

- Mariutti LRB, Nogueira GC, Bragagnolo N. Lipid and cholesterol oxidation in chicken meat are inhibited by sage but not by garlic. *J Food Sci* 2011; 76: 909-15.
- Solomakos N, Govaris A, Koidis P, Botsoglou N. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. *Food Microbiol* 2008; 25: 120-7.
- Fратиanni F, Martino LD, Melone A, Feo VD, Coppola R, Nazzaro F. Preservation of chicken breast meat treated with thyme and balm essential oils. *J Food Sci* 2010; 75: 528-35.
- Dave D, Ghaly AE. Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: A critical review. *Am J Agr Biol Sci* 2011; 6: 486-510.
- Zhou GH, Xu XL, Liu Y. Preservation technologies for fresh meat-A review. *Meat Sci* 2010; 86: 119-28.
- Hylgaard M, Mygind T, Meyer RL. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Fron Microbiol* 2012; 3: 1-24.
- Chen CH, Pearson AM, Gray JI. Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. *Food Chem* 1992; 45: 177-83.
- Aida A, Ali MS, Behrooz MV. Chemical composition and antimicrobial effect of the essential oil of *Zataria multiflora* Boiss endemic in Khorasan-Iran. *Asian Pac J Trop Med* 2015; 5: 181-85.
- Mansour A, Enayat K, Neda MS, Behzad A. Antibacterial effect and physicochemical properties of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss. *Asian Pac J Trop Med* 2010; 3: 439-42.
- Jayasena DD, Jo C. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends Food Sci Tech* 2013; 34: 96-108.
- Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernandez-Lopez J, Perez-Alvarez JA. Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf life of mortadella. *Meat Sci* 2010; 85: 568-76.
- Busattaa C, Vidala RS, Popiolskia AS, Mossia AJ, Darivab C, Rodriguesc MRA, et al. Application of

- Origanum majorana* L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage. *Food Microbiol* 2008; 25: 207–11.
13. zur Mühlen A, Schwarz C, Mehnert W. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery–drug release and release mechanism. *Eur J pharm biopharma* 1998; 45: 149-55.
  14. Weiss J, Decker EA, McClements DJ, Kristbergsson K, Helgason T, Awad T. Solid lipid nanoparticles as delivery systems for bioactive food components. *Food Biophys* 2008; 3: 146-54.
  15. Lai F, Wissing SA, Müller RH, Fadda AM. *Artemisia arborescens* L essential oil-loaded solid lipid nanoparticles for potential agricultural application: preparation and characterization. *Aaps Pharm Sci Tech* 2006; 7: 10-18.
  16. Zhong F, Yu M, Luo Ch, Shoemaker ChF, Li Y, Xia S, et al. Formation and characterization of mint oil/S and CS/water microemulsions. *Food Chem* 2009; 115: 539–44.
  17. Afshari-Jouybari H, Farahnaky A. Evaluation of Photoshop software potential for food colorimetry. *J Food Eng* 2011; 106: 170-5.
  18. Horwitz W, editor. AOAC (Official Methods of Analysis). 17<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists, Incorporated: Washington D.C. 2000.
  19. Foti MC, Ingold KU. Mechanism of Inhibition of Lipid Peroxidation by  $\gamma$ -Terpinene, an Unusual and Potentially Useful Hydrocarbon Antioxidant. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 2758-65.
  20. Sivropoulou A, Papanikolaou E, Nikolaou C, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Origanum* Essential Oils. *J Agric Food Chem* 1996; 44: 1202-5.
  21. Oroojalian F, Kasra-Kermanshahi R, Azizi M, Bassami MR. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species. *Food Chem* 2010; 120: 765-70.
  22. Khajeh M, Yamini Y, Sefidkon F, Bahramifar N. Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chem* 2004; 86: 587–91.
  23. Lucchesi ME, Chemat F, Smadja J. An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices. *Flavour Frag J* 2004; 19: 134–8.
  24. Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chem* 2010; 120: 193-8.
  25. Sedaght N, Mohammad-Hosseini M, Khoshnoudi-nia S, Habibi MB, Koocheki A. antimicrobial properties of CMC-based edible films incorporated with coriander and citrus lemon essential oils on the shelf-life of fresh lamb-meat at refrigerator temperature. *Iranian J Nutr Sci Food Tech* 2015; 9940: 53-62 [in Persian].
  26. Vasconez MB, Flores SK, Campson CA, Alvarado J, Gerschenson LN. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. *Food Res Int* 2010; 42: 762-9.
  27. Duan JY, Jiang Y, Cherian G, Zhao YY. Effect of combined chitosankrill oil coating and modified atmosphere packaging on the storability of cold stored lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets. *Food Chem* 2010; 122: 1035–42.
  28. Linares MB, Berruga MI, Bórnez R, Vergara H. Lipid oxidation in lambmeat: Effect of the weight, handling previous slaughter and modified atmospheres. *Meat Sci* 2007; 76: 715–20.
  29. Berruga MI, Vergara H, Gallego L. Influence of packaging on microbial and lipid oxidation in lamb meat. *Small Rumin Res* 2005; 57: 257–64.
  30. Karabagias I, Badeka A, Kontominas M. Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Meat Sci* 2011; 88: 109-16.
  31. Li T, Li J, Hu W, Zhang X, Li X, Zhao J. Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. *Food chem* 2012; 135: 140-5.
  32. Ibrahim Sallam K. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control* 2007; 18: 566–75.
  33. Van Haute S, Raes K, Van der Meeren P, Samper I. The effect of cinnamon, oregano and thyme essential oils in marinade on the microbial shelf life of fish and meat products. *Food Control* 2016; 68: 30-9.
  34. Georgantelis D, Ambrosiadis I, Katikou P, Blekas G, Georgakis SA. Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipidoxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Sci* 2007; 76: 172–81.
  35. Bazargani-Gilani B, Aliakbarlu J, Tajik H. Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. *Innov Food Sci Emerg Tech* 2015; 29: 280-7.
  36. Jouki M, Yazdi FT, Mortazavi SA, Koocheki A, Khazaei N. Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. *Int J Food Microbiol* 2014; 174: 88-97.
  37. Saei-Dehkordi SS, Tajik H, Moradi M, Khalighi-Sigaroodi F. Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss. from different parts of Iran and their radical scavenging and antimicrobial activity. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 1562-7.
  38. Kazemi M. Chemical composition and antimicrobial, antioxidant activities and anti-inflammatory potential of *Achillea millefolium* L., *Anethum graveolens* L., and *Carum copticum* L. essential oils. *J Herb Med* 2015; 5: 217-22.
  39. Bagamboula CF, Uyttendaele M, Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiol* 2004; 21: 33-42.
  40. Martínez-Romero D, Alburquerque N, Valverde J, Guillén F, Castillo S, Valero D and Serrano M. Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by Aloe vera treatment: a new edible coating. *Postharvest Biol Technol* 2006; 39: 93-100.
  41. Pardeike J, Hommos A, Muller RH. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. *Int J Pharm* 2009; 366: 170-84.
  42. Weiss J, Takhistov P, McClements DJ. Functional materials in food nanotechnology. *J Food Sci* 2006; 71: 107-16.

## Evaluating the Effect of Aloe Vera Gel Coating and Solid Lipid Nano-particles Containing Thymol Seed (*Carum Copticum*) Essential Oil on Shelf Life of Fresh Beef

Pasbani E<sup>1</sup>, Amiri S<sup>2\*</sup>

1. Department of Food Science and Technology, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran

2. \*Corresponding author: Young Researchers and Elite Club, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran  
Email: s.amiri@iauyasooj.ac.ir

Received 7 Mar, 2016

Accepted 1 Jul, 2016

**Background and Objectives:** The aim of this study was to coat fresh beef slices with solid lipid particles containing *carum copticum* essential oil to increase the shelf life of meat.

**Materials & Methods:** For this purpose, the effect of different treatments including coatings with *carum copticum* essential oil solid lipid nano-particle (CEOS), coating with aloe-vera gel, and aloe-vera gel incorporated with CEOS, aloe-vera gel incorporated with CEO on the physico-chemical (pH, color and weight loss) and microbiological properties (total viable count, psychrophilic bacteria, lactic acid bacteria and enterobacteriaceae bacteria) of fresh beef was evaluated during 7 days stored and refrigerated

**Results:** Results indicated that pH increased during the storage period. Furthermore, the highest and lowest increase in pH was observed in control and samples coated with aloe-vera gel and aloe-vera gel incorporated with CEOS, respectively. Microbiological analysis showed that total viable count, psychrophilic bacteria, *lactic acid bacteria* and *enterobacteriaceae* bacteria populations increased during the storage time. The control and samples coated with aloe-vera gel had highest microbiological population and samples coated with aloe-vera gel incorporated with CEOS had the lowest increase in microbial populations during the storage time. The highest weight loss was observed in control and the samples coated with aloe-vera gel showed the lowest weight loss. The color changes during the storage time indicated that samples coated with aloe-vera gel incorporated with CEOS maintained the red color of meat much better than other samples, especially compared to control.

**Conclusion:** Finally, it can be concluded that coating with aloe-vera gel incorporated with CEOS would maintain the quality parameters of fresh beef and extend its shelf life during storage.

**Keywords:** Beef meat, Solid lipid nano-particle, coating, *Carum copticum* essential oil, Aloe-vera