

کاربرد پوشش خوراکی بر پایه ژل آلوه ورا حاوی نانوامولسیون اسانس زنجبیل جهت افزایش ماندگاری فیله ماهی قزل آلا

سحر جمالی^۱، محمدرضا پژوهی الموتی^۲، عباسعلی ساری^۳، نرجس آقاجانی^۴

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
پست الکترونیکی: Mr.pajohi@basu.ac.ir

۳- استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۴- استادیار گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی بهار، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۴

چکیده

سابقه و هدف: استفاده از پوشش‌های خوراکی حاوی ترکیبات ضد میکروبی طبیعی یک روش مناسب برای کنترل رشد میکروبی و به دنبال آن حفظ کیفیت و زمان ماندگاری محصولات تازه، منجمد و فرآوری شده ماهی می‌باشد. این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیر پوشش ژل آلوه ورا حاوی نانوامولسیون اسانس زنجبیل در افزایش ماندگاری فیله ماهی قزل آلا طی مدت ۱۲ روز نگهداری در یخچال (۴ °C) صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها: جهت بدست آوردن نانوامولسیون بهینه با روش اولتراسونیک و حل مشکل پدیده رسیدگی استوالد در نانوامولسیون‌ها، از لسیتین سویا در غلظت‌های صفر، ۵/۰ و ۱۰/۰ وزنی/وزنی و توپین در غلظت‌های ۵ و ۱۰/۰ استفاده گردید.

یافته‌ها: آنالیز اندازه ذرات، پتانسیل زتا و توزیع ذرات اسانس نشان داد که نانوامولسیون تهیه شده با ۱۰/۰ توپین و ۱/۰ لسیتین امتیاز پایداری بالایی داشته و به عنوان نانوامولسیون بهینه در جهت افزایش ماندگاری فیله ماهی مورد ارزیابی قرار گرفت. پوشش‌های حاوی نانوامولسیون و اسانس خالص زنجبیل نسبت به گروه کنترل و تیمار پوشش آلوه ورا، به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) شمارش کلی مزوفیل‌های هوازی، باکتری‌های سایکروتروف، انتروباکتریاسه و لاکتیک اسید باکتری‌ها را کاهش دادند. همچنین تغییرات شیمیایی فساد در تیمارهای کنترل و پوشش آلوه ورا زودتر از سایر تیمارها مشاهده گردید. در حالی که پوشش آلوه ورا حاوی نانوامولسیون اسانس زنجبیل توانست به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) با کنترل تغییرات میکروبی و شیمیایی نسبت به سایر تیمارها، ماندگاری فیله‌های ماهی را افزایش دهد. همچنین ارزیابی حسی تیمارها نشان داد که مقبولیت کلی برای تیمار حاوی نانوامولسیون اسانس در طول مدت نگهداری در شرایط سرد، رضایت بخش می‌باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه تأیید کرد که اسانس زنجبیل به طور مناسب در نانوامولسیون کپسوله شده و خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی افزایش یافته آن می‌تواند ماندگاری فیله ماهی را افزایش دهد.

واژگان کلیدی: عمر ماندگاری، اسانس، زنجبیل، نانوامولسیون، ماهی قزل آلا

• مقدمه

آن را کاهش داده است. روش‌های مرسوم نگهداری در شرایط برودت نمی‌تواند به‌طور کامل از فساد کیفی این محصولات جلوگیری نماید و از سویی دیگر نگرانی مصرف کنندگان از نگهدارنده‌هایی شیمیایی و جایگزینی آنها با محافظت کننده‌های با منشا طبیعی رو به افزایش است. در همین راستا مطالعات متعددی در جهت معرفی و بکارگیری روش‌های نوین

گوشت ماهی بدلیل دارا بودن انواع ریزمغذی‌ها مانند اسیدهای چرب غیراشباع، طعم دلپذیری، بازاریابی و پتانسیل پرورش و تولید بالا از نقش مهمی در رژیم غذایی و سلامت جوامع برخوردار می‌باشد. علی‌رغم ارزش غذایی بالای ماهی، فسادپذیری بالای آن در نتیجه تغییرات آنزیمی عضلات، فعالیت میکروبی و همچنین اکسیداسیون چربی‌ها، ماندگاری

همراه با اعمال سرما برای افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت این محصول صورت پذیرفته است (۳-۱).

بکارگیری پوشش‌های خوراکی حاوی ترکیبات ضد میکروبی طبیعی یک روش مناسب برای کنترل رشد میکروبی و به دنبال آن حفظ کیفیت و زمان ماندگاری محصولات تازه، منجمد و فراوری شده ماهی می‌باشد (۴). اسانس‌ها و مشتقات گیاهی به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی جایگزین مناسب نگهدارنده‌های شیمیایی بوده و با دارا بودن ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد قارچی در این پوشش‌های خوراکی استفاده می‌شوند (۵). مطالعات بر روی اثر پوشش‌های خوراکی حاوی اسانس‌های گیاهی بر ماندگاری محصولات دریایی، نمونه‌هایی از کاربرد این ترکیبات فرار در پوشش‌های خوراکی هستند (۸-۶).

گیاه زنجبیل با نام علمی *Zingiber officinalis* به عنوان یک ادویه پرخاصیت در درمان بیماری‌ها و با کاربرد فراوان در پخت انواع غذاها می‌باشد (۹). اسانس زنجبیل با دارا بودن ترکیبات زیست فعالی همچون زینجیبرن، کامفن، سزکویی فلاندرن و جینجرول دارای فعالیت ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی است (۱۱، ۱۰). مطالعات گوناگونی درباره استفاده از اسانس زنجبیل در پوشش‌های خوراکی صورت گرفته است (۱۳، ۱۲). علی رغم ویژگی‌های مفید آن، بکارگیری اسانس زنجبیل همچون سایر اسانس‌های گیاهی معطر؛ بدلیل فراریت بالا، انحلال پذیری پایین، ناپایداری در طول فراوری و عطر و طعم شدید در محصولات غذایی، مشکلات و نارضایتی‌هایی را برای مصرف کننده ایجاد کرده است. لذا بکارگیری راهکاری جهت افزایش پایداری این اسانس‌ها در محیط‌های غذایی و کنترل رهايش آنها در مدت نگهداری مورد نیاز است. در این راستا فناوری‌های گوناگونی جهت کپسوله کردن اسانس‌ها مطرح می‌شود که در این میان ساخت امولسیون اسانس می‌تواند از مهم ترین دستاوردها برای افزایش انتشار و محافظت این ترکیبات باشد (۱۴، ۳).

امولسیون سازی به عنوان یک روش کپسوله کردن اسانس‌ها شامل تعلیق های کلوئیدی با حداقل دو مایع غیر قابل امتزاج (معمولاً آب و روغن) هستند که فاز پراکنده به صورت قطره‌هایی کوچک درون فاز پیوسته بوسیله امولسیفایر قرار می‌گیرد به طور کلی ساختار اصلی سیستم امولسیون شامل آب، فاز روغنی و یک امولسیفایر می‌باشد، درحالی که ممکن است در برخی فرمولاسیون‌ها جهت بهبود برخی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی از دیگر ترکیبات از جمله آنتی اکسیدان‌ها، رنگ‌ها، نمک‌ها و پایدار کننده‌ها نیز استفاده شود (۱۵). کوچک بودن اندازه ذرات امولسیون‌ها و ویژگی‌های منحصر به فرد نانوامولسیون‌ها (سایز

کمتر از ۱۰۰ نانومتر) در مقایسه با امولسیون‌های معمولی، مزیتی برای استفاده از آن‌ها در بسیاری از فناوری‌های کاربردی محسوب می‌شود (۱۴). از جمله مزیت‌های نانوامولسیون‌ها می‌توان به شفافیت زیاد، طولانی بودن دوره فیزیکی، پایداری بیشتر، پوشاندن عطر و طعم ماده انکپسوله شده و به دنبال آن تأثیر کمتر بر خواص ارگانولپتیکی مواد غذایی، افزایش فعالیت زیستی اسانس روغنی به علت ریز بودن قطرات و بالا بودن سطح ویژه، قابلیت نفوذ خیلی بالا اشاره نمود (۱۶). فناوری تولید نانوامولسیون در جهت کنترل رهايش و کپسوله کردن ترکیبات فراسودمند مانند اسانس‌های معطر، روغن‌های خوراکی و انواع ویتامین‌ها در صنایع غذایی بسیار استفاده شده است (۱۷).

کارایی نانوامولسیون‌ها در مدت نگهداری مواد غذایی به پایداری آنها بستگی دارد و میزان این پایداری وابسته به رویه تولید نانوامولسیون، نوع و مقدار سورفکتانت، توزیع اندازه قطرات و ویژگی‌های فاز روغنی دارد. در ارزیابی پایداری نانوامولسیون‌ها پدیده‌های الحاق (Coalescence)، انبوهش (Flocculation)، خامه ای شدن (Creaming)، رسیدگی استوالد (Ostwald ripening) و وارونگی فاز (Phase inversion) از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشند (۷).

رسیدگی استوالد یکی از مهمترین دلایل پایین آمدن کارایی سیستم‌های نانوامولسیون به شمار می‌آید. این پدیده هنگامی رخ می‌دهد که فاز روغنی مانند اسانس‌های گیاهی و برخی روغن‌های معطر حلالیت نسبتاً بالایی در فاز آبی امولسیون داشته باشد در این حالت سایز قطرات روغن افزایش یافته و پایداری نانوامولسیون کاهش می‌یابد (۱۸). استفاده از ترکیبات بازدارنده پدیده استوالد در صورت تهیه امولسیون‌های پایدار اسانس در محلول آبی ضروری می‌باشد. لسیتین به عنوان یک بیوامولسیفایر کارآمد و بازدارنده پدیده استوالد در نظر گرفته می‌شود. این ترکیب با کاهش کشش سطحی بین دو فاز ناهمگون شانس مخلوط شدن بیشتر آنها را فراهم می‌کند این عملکرد به واسطه وجود فسفولیپیدهای آمفیپاتیک آن می‌باشد. چندین مطالعه به تأثیر لسیتین در پایداری نانوامولسیون اسانس‌ها با کنترل پدیده استوالد اشاره کرده اند (۲۱-۱۹).

ژل آلوتِه ورا به عنوان یک پوشش خوراکی پلی ساکاریدی، دارای خاصیت کشسانی است که به راحتی در آب حل شده و فیلمی با ضخامت یکنواخت در اطراف محصولات غذایی ایجاد می‌کند. همچنین این ژل شفاف و بی بو بوده و دارای ترکیبات زیست فعال مانند ویتامین‌ها، آمینواسیدها، املاح، ترکیبات فنولی و غیره می‌باشد. به صورت یک لایه حفاظتی به محصول خاصیت درخشندگی نیز می‌دهد (۲۲). تأثیر پوشش‌های خوراکی حاوی اسانس‌های گیاهی بر مدت ماندگاری محصولات

۳ دقیقه و سپس افزایش تدریجی دما از ۱۵ درجه سانتی گراد در هر دقیقه تا ۳۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴ دقیقه اعمال گردید. جهت شناسایی اجزای اسانس از شاخص بازداری طیف‌ها و مقایسه آنها با شاخص‌های موجود در کتابخانه طیف-جرمی Wiley 7N.L استفاده شد (۲۵).

سنتز نانوامولسیون اسانس

جهت تهیه نانوامولسیون بهینه اسانس زنجبیل، از روش امولسیون سازی با انرژی بالا استفاده گردید (۵). اجزا امولسیون شامل اسانس زنجبیل، توپین، لسیتین سویا به عنوان بازدارنده پدیده اوستوالد و آب دیونیزه بود. غلظت اسانس زنجبیل در تمامی امولسیون‌ها ۵٪ وزنی/وزنی در نظر گرفته شد. سنتز نانوامولسیون‌ها در دو مرحله صورت پذیرفت، ابتدا جهت ساخت امولسیون درشت، اسانس و توپین در نسبت‌های ۱:۱ و ۱:۲ در ترکیب با مقادیر ۰/۵ و ۱٪ وزنی/وزنی لسیتین با استفاده از دستگاه هموژنایزر (30000 rpm, Ultra-Turrax, T10 basic, IKA, Germany) به مدت ۲ دقیقه در آب دیونیزه به عنوان فاز آبی (دمای ۴ درجه سانتی گراد) مخلوط گردیدند. سپس امولسیون‌های بدست آمده تحت امواج فراصوت دستگاه اولتراسونیک امولسیون ساز با توان 400 W، فرکانس 20 kHz و قطر پراب ۱۳ میلی‌متر (Bandelin Sonopuls HD 3400, Berlin, Germany) قرار گرفتند. نانوامولسیون‌های تولید شده جهت آنالیزهای بعدی در دو دمای ۲۵ و ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

تعیین اندازه ذرات، پتانسیل زتا و توزیع ذرات

جهت اندازه‌گیری میانگین قطر ذرات، شاخص پراکندگی (Polydispersity index: PDI) و پتانسیل زتای نانوامولسیون‌ها از دستگاه تفریق نور پویا (Dynamic Light Scattering, model Malvern, ZS, England) استفاده شد. تمام اندازه‌گیری‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انجام گرفت (۱۸).

اندازه‌گیری کدورت نانوامولسیون‌ها

کدورت نانوامولسیون‌های سنتز شده از طریق طیف سنجی نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف سنج مرئی-ماوراء بنفش (Spectronic Helios alpha spectrophotometer, England) تعیین گردید.

درصد کپسوله شدن اسانس زنجبیل

جهت ارزیابی میزان اسانس کپسوله شده در نانوامولسیون‌ها، میزان ۱ میلی‌لیتر از هر نمونه نانوامولسیون در ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به همراه ۱۰ میلی‌لیتر هگزان به مدت ۱ دقیقه کاملاً همگن گردید. لوله‌های حاوی محلول همگن شده تحت حرارت ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار

دریایی و فیله ماهی در شرایط سرد بررسی شده است. اما گزارشات کمی از کاربرد پوشش خوراکی به همراه نانوامولسیون اسانس‌های گیاهی بر روی فیله قزل‌آلا وجود دارد (۲۴، ۲۳، ۱۲).

با توجه به علاقه‌مندی روزافزون در زمینه بهینه‌سازی شرایط تولید و بهبود ویژگی‌های نانوامولسیون‌ها جهت پایداری در مواد غذایی، تحقیق در این زمینه‌ها یک نیاز ضروری تلقی می‌شود. این پژوهش با هدف تهیه نانوامولسیون پایدار از اسانس ریشه زنجبیل به روش هموژنیزاسیون با انرژی بالا با استفاده از توپین ۸۰ و لسیتین سویا به عنوان کوسورفکتانت و بازدارنده پدیده اوستوالد و همچنین ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوامولسیون‌های تولیدی انجام شد. علاوه بر این، کارایی نانوامولسیون بهینه اسانس در مقایسه با اسانس خالص در ترکیب با ژل آلوه ورا به عنوان پوشش، جهت ماندگاری ماهی قزل‌آلا در شرایط سرد مورد بررسی قرار گرفتند.

• مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی و گیاهی

ریزوم زنجبیل تازه از بازار شهر همدان خریداری شد. توپین ۸۰ (PubChem CID: 5284448)، از شرکت مرک (Darmstadt, Germany) خریداری شد. لسیتین سویا (PubChem CID: 57369748) از شرکت Cargill (هلند) تهیه شد. تمام مواد شیمیایی و حلال‌ها از بهترین درجه کیفیت بودند و ماهی قزل‌آلا تازه از یک فروشگاه شیلات (همدان، ایران) تهیه گردید.

استخراج اسانس زنجبیل

پس از شستشو و خرد کردن ریزوم زنجبیل، از روش تقطیر با آب برای استخراج اسانس توسط دستگاه کلونجر در مدت ۳/۵ ساعت استفاده گردید. اسانس به دست آمده با سولفات سدیم آبگیری شد و در یک ظرف شیشه‌ای تیره در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

آنالیز کروماتوگرافی گازی - طیف سنجی جرمی (GC/MS)

آنالیز GC/MS اسانس زنجبیل توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (Agilent 6890, New York, USA) مجهز به طیف سنجی جرمی (Agilent N-5973) و آشکارساز یونیزاسیون شعله (FID) انجام شد. گاز هلیوم با سرعت جریان ۰/۹ میلی لیتر در دقیقه، به عنوان فاز متغیر جهت انتقال اسانس از یک ستون موئین با ضخامت داخلی ۰/۲۵ میکرومتر (طول ۳۰ متر و عرض ۰/۲۵ میلی‌متر) بکار گرفته شد. همچنین برنامه دمایی آون دستگاه به شرح زیر بود: ابتدا ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت

سانتی متری) کشت میکروبی صورت پذیرفت. شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی به روش کشت آمیخته با محیط مغذی پلیت کانت آگار و گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴ ساعت، باکتریهای سایکروتروف به روش کشت سطحی در پلیت‌های حاوی محیط پلیت کانت آگار و گرمخانه گذاری در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز، شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک به روش کشت سطحی در پلیت‌های حاوی محیط دمن روگوزا شارپ آگار و گرمخانه گذاری ۴۸ ساعت در ۳۵ درجه سانتی‌گراد، شمارش باکتریهای خانواده انتروباکتریاسه به روش کشت آمیخته دولایه در پلیت‌های حاوی محیط ویولت رد بایل دکستروز آگار و گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انجام شد (۴).

آنالیز شیمیایی

تعیین pH: جهت ارزیابی pH، مقدار ۵ گرم نمونه همگن شده فیله ماهی به همراه ۲۵ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۳۰ ثانیه با دستگاه استومکر هموژن و سپس مخلوط حاصله فیلتر شد. سپس pH نمونه فیلتر شده به کمک دستگاه pH متر دیجیتالی کالیبره شده (Denver Ultra basicUB10, USA)، در دمای اتاق اندازه گیری شد (۴).

سنجش عدد پراکسید (PV): پس از استخراج چربی نمونه ها، اندازه گیری مقدار پراکسید آنها طبق دستورالعمل فدراسیون بین المللی لینیات انجام شد و عدد پراکسید به عنوان میلی اکی والان اکسیژن در هر کیلوگرم چربی ماهی بیان گردید (۲۹).

تعیین شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBA): مقدار ۱۰ گرم از نمونه همگن شده فیله ماهی با اضافه کردن ۳۵ میلی لیتر اسید پرکلریک (۴٪) و ۱ میلی لیتر محلول بوتیل هیدروکسی تولوئن ۰/۵٪ در اتانول هموژنیزه گردید. مخلوط توسط فیلتر کاغذی واتمن شماره ۴ فیلتر شد و ۵ میلی لیتر از محلول صاف شده با ۵ میلی لیتر از محلول TBA ۰/۲ مولار در داخل لوله آزمایش درب دار مخلوط گردید و به مدت ۶۰ دقیقه در بن ماری آب جوش قرار داده شد. پس از خنک شدن نمونه‌ها میزان جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (LKB Novaspec II; Pharmacia, Stockholm, Sweden) در طول موج ۵۳۲ نانومتر در مقایسه با محلول کنترل (۵ میلی لیتر اسید پرکلریک ۴٪ و ۵ میلی لیتر از محلول TBA ۰/۲ مولار) قرائت گردید (۳۰).

تعیین میزان بازهای از ته فرار (TVB-N): جهت اندازه گیری مجموع ترکیبات باز از ته فرار (Total Volatile Basic

گرفتند. جهت جدا کردن هگزان از فاز آبی، لوله‌های سرد شده در دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ g سانتریفیوژ شدند. مقدار اسانس موجود در هگزان به وسیله اندازه گیری جذب نوری توسط دستگاه طیف سنج با طول موج ۲۶۰ نانومتر سنجیده شد (۲۶). میزان درصد اسانس کپسوله شده از طریق تقسیم مقدار اسانس کپسوله شده بر میزان کل اسانس بکار رفته محاسبه گردید.

ارزیابی پایداری نانوامولسیون‌ها

جهت ارزیابی پایداری نانوامولسیون‌های سنتز شده، هر نمونه به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ گردید و هرگونه تغییرات ظاهری در نانوامولسیون‌ها از جمله جدا شدن فاز و کریمینگ بررسی و ثبت شد (۵).

بررسی خاصیت ضد میکروبی نانوامولسیون‌ها

پس از ارزیابی‌های ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و پایداری نانوامولسیون‌های سنتز شده، در نهایت نانوامولسیون حاوی ۱۰٪ تووین و ۱٪ لسیترین با دارا بودن کوچکترین اندازه و پایداری بالاتر، به عنوان نانوامولسیون بهینه انتخاب شد و تأثیر آن در مقایسه با اسانس خالص در افزایش ماندگاری فیله ماهی مورد ارزیابی قرار گرفت.

آماده سازی محلول پوشش و تیمار نمونه ها: محلول پایه پوشش نمونه‌ها حاوی ۴۰٪ ژل آلوه ورا، با افزودن ژل همگن و پاستوریزه شده بدست آمده از این گیاه به آب مقطر استریل (حاوی ۰/۰۷۵٪ گلیسرول به عنوان نرم کننده) تهیه گردید (۲۷). سپس ۴ محلول پوشش خوراکی شامل تیمار ژل آلوه ورا حاوی ۵٪ اسانس خالص، تیمار ژل آلوه ورا حاوی نانوامولسیون اسانس ۵٪ و تیمار ژل آلوه ورا و آب مقطر استریل به عنوان تیمار کنترل، آماده شدند. نمونه‌های فیله ماهی درون محلول‌های پوشش مربوطه به مدت ۲ دقیقه غوطه ور شده و به منظور پوشش دهی بهتر همزمان روی شیکر قرار گرفتند. پس از گذشت این زمان، سطح نمونه‌ها در محیط استریل به مدت ۲ دقیقه خشک شد و درون کیسه‌های پلاستیکی استریل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ارزیابی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی نمونه‌ها در فواصل روزهای ۰، ۴، ۸ و ۱۲ نگهداری در شرایط سرد (۴ °C) صورت پذیرفت (۲۸).

آنالیز میکروبی: به منظور ارزیابی میکروبی فیله‌های ماهی تیمار شده طی مدت نگهداری در شرایط سرد، جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی، باکتری‌های سایکروتروف، باکتری‌های اسیدلاکتیک و خانواده انتروباکتریاسه مورد شمارش قرار گرفت. پس از رقت سازی سریالی نمونه‌ها با محلول استریل آب پپتونه (۰/۱٪)، از هر رقت در پلیت‌های استریل (۸

نانوامولسیون حاوی ۱۰٪ تویین و ۱٪ لسیتین دارای بیشترین پتانسیل زتا (۱۸-) بود. در مقابل پتانسیل زتا امولسیون‌های فاقد لسیتین مثبت و عددی نزدیک به صفر را نشان داد. با افزایش غلظت لسیتین و تویین، کاهش معنی داری ($P < 0.05$) در مقدار شاخص پراکندگی PDI مشاهده می‌شود. هرچه مقدار PDI کوچکتر و نزدیک به عدد صفر باشد، پایداری ذرات نانوامولسیون بیشتر است.

جدول ۱. آنالیز GC/MS ترکیبات شیمیایی اسانس زنجبیل

ترکیبات	زمان بازداری (دقیقه)	غلظت (%)
α -pinene	۴/۱۹	۰/۲۵
Camphene	۷/۴۰	۱۸/۷۰
Sabinene	۷/۹۶	۰/۱۷
β -Pinene	۸/۰۸	۰/۶۸
β Myrcene	۸/۵۰	۲/۶۲
Phellandrene	۸/۹۵	۰/۳۳
β phellandrene	۱۰/۰۹	۲۲/۴۹
α Terpinolene	۱۲/۰۳	۰/۳۹
Linalool	۱۲/۶۴	۰/۹۶
Methyl Bornyl eter	۱۳/۰۰	۰/۱۵
Camphor	۱۴/۴۲	۰/۲۲
1-propene,3-methoxy-2 methyl	۱۴/۶۰	۰/۱۵
Borneol	۱۵/۵۲	۳/۷۹
Cyclohexen,1-butenyl	۱۶/۵۲	۲/۰۷
Z-Citral	۱۹/۲۸	۴/۸۳
Geraniol	۱۹/۳۸	۰/۸۲
E-Citral	۲۰/۱۱	۶/۹۴
Bicyclo heptan	۲۰/۳۳	۰/۳۸
α Terineryl acetate	۲۲/۹۸	۱/۰۴
Geracrene	۲۸/۳۳	۱/۶۰
Benzene	۲۸/۴۳	۳/۵۴
Zingiberene	۲۸/۹۸	۱۰/۶۵
α Farnesene	۲۹/۳۸	۲/۸۰
Germacerenece-D	۲۹/۷۷	۱/۲۴
β Sesquiphellandrene	۳۰/۰۶	۳/۳۰
Formamide	۳۰/۶۵	۰/۳۷
Cyclohexanemethanol, 4 ethynl	۳۱/۱۳	۱/۰۵
Azulene	۳۱/۲۱	۰/۴۹
Dodecatrien	۳۱/۵۸	۰/۶۳
Naphthalebmethanol	۳۳/۸۸	۰/۲۹
β Eudesmol	۳۴/۹۸	۰/۶۷
Torreyol	۳۵/۱۰	۰/۵۷
α Guaiene	۳۵/۲۳	۰/۲۳
Methanoazulene	۳۶/۳۵	۰/۷۴
Thujopsene	۳۶/۴۵	۰/۴۰
مجموع		۹۴/۶۷

(Nitrogen) به روش تقطیر کدال، ابتدا ۱۰ گرم از هر نمونه همگن شده با ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر در یک بالن کدال حاوی چند عدد سنگ جوش و ماده ضد کف مخلوط گردید و تا زمان جوشیدن حرارت داده شد. سپس بخارات تقطیر شده به محلول اسید بوریک ۲٪ حاوی معرف فنول رد هدایت گردید و با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیترو شد. مقدار بازهای از ته فرار به صورت میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه ماهی با توجه به حجم اسید مصرفی بیان گردید (۳۰).

ارزیابی حسی: ارزیابی مقبولیت کلی نمونه‌های ماهی تیمار شده توسط یک پانل ۲۰ نفری (سن ۲۱ الی ۵۱ سال) از دانشجویان و کارکنان گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه بوعلی سینا، آشنا به خصوصیات کیفی گوشت ماهی انجام شد. امتیازدهی در مورد مقبولیت کلی با در نظر گرفتن ویژگی‌های بافت، رنگ و بو نمونه‌ها صورت گرفت. این آزمایش با ارزیابی ۵ امتیازی هدونیک (۵ کاملاً مورد قبول، ۱ کاملاً غیر قابل قبول) انجام شد. نقطه بحرانی مقبولیت امتیاز ۴ در نظر گرفته شد (۸).

آنالیز آماری

تمامی آزمایشات در ۳ تکرار انجام شد و آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS ورژن ۹/۲ و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت. مقادیر $P < 0.05$ به عنوان نتیجه معنی دار در نظر گرفته شد.

• یافته‌ها

نتایج آنالیز ترکیبات اسانس زنجبیل

نتایج آنالیز GC/MS ترکیبات اسانس روغنی ریزوم زنجبیل در جدول ۱ نشان داده شده است. از بین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس ۳۵ ترکیب که ۹۴/۶۷٪ ترکیبات را شامل می‌گردد، شناسایی شدند. عمده ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس شامل ۲۲/۴۹٪ β -phellandrene، ۱۸/۷٪ Camphene و ۱۰/۶۵٪ Zingiberene بود.

اندازه قطرات، پتانسیل زتا و توزیع ذرات

در بررسی اندازه قطرات (جدول ۲)، با افزایش غلظت سورفکتانت (تویین) و لسیتین کاهش معنی‌داری در اندازه قطرات دیده شد. در گروه فاقد لسیتین نانوامولسیون تشکیل نشد و میانگین قطر ذرات بیشتر از ۲۰۰ نانومتر بود. با توجه به نتایج نشان داده شده در جدول ۲ پتانسیل زتا در تیمارهای حاوی لسیتین عدد منفی بزرگی را نشان داد که این عدد منفی می‌تواند مربوط به گروه فسفات لسیتین باشد، به گونه‌ای که

جدول ۲. میانگین اندازه ذرات، شاخص پراکندگی (PDI)، پتانسیل زتای (Zeta potential) امولسیون‌های سنتز شده و درصد کپسوله شدن اسانس

تویین ۸۰ (% وزنی/وزنی)	لستین (% وزنی/وزنی)	اندازه ذرات (نانومتر)	شاخص پراکندگی (PDI)	پتانسیل زتا (ζ)	کپسوله شده اسانس (%)
۵	۰	۲۴۱/۱ ^a	۰/۴۷۱ ^a	۱/۸۲ ^a	۵۴/۴۰ ^f
	۰/۵	۸۹/۹ ^c	۰/۳۲۰ ^c	-۵/۷ ^d	۶۷/۲۲ ^d
	۱	۸۲/۶ ^d	۰/۳۰۳ ^d	-۴/۶۵ ^c	۷۸/۱۵ ^c
۱۰	۰	۲۰۳/۳ ^b	۰/۴۱۰ ^b	۱/۶۶ ^b	۴۸/۶۱ ^e
	۰/۵	۷۹/۴۳ ^e	۰/۲۶۳ ^e	-۱۰/۵ ^e	۸۸/۵۲ ^b
	۱	۶۰/۷۱ ^f	۰/۲۱۰ ^f	-۱۸ ^f	۹۱/۳۸ ^a

حروف غیر مشابه در یک ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) می‌باشد.

کدورت نانوامولسیون‌ها

کدورت نانوامولسیون‌ها بلافاصله پس از سنتز مورد بررسی قرار گرفت (نمودار ۱). نتایج نشان داد که ارتباط مستقیمی بین میزان کدورت نانوامولسیون‌ها و اندازه ذرات آن‌ها وجود دارد، به گونه‌ای که با افزایش مقدار تویین و افزودن لستین و به دنبال آن کاهش اندازه ذرات، کدورت محلول امولسیون‌ها کاهش می‌یابد. تیمار فاقد لستین و حاوی ۰/۵٪ تویین دارای بیشترین کدورت (معادل ۱/۵۴۱) و تیمار حاوی ۱۰٪ تویین و ۱٪ لستین دارای کمترین کدورت (معادل ۰/۱۷۱) در طول موج ۶۰۰ نانومتر بودند.

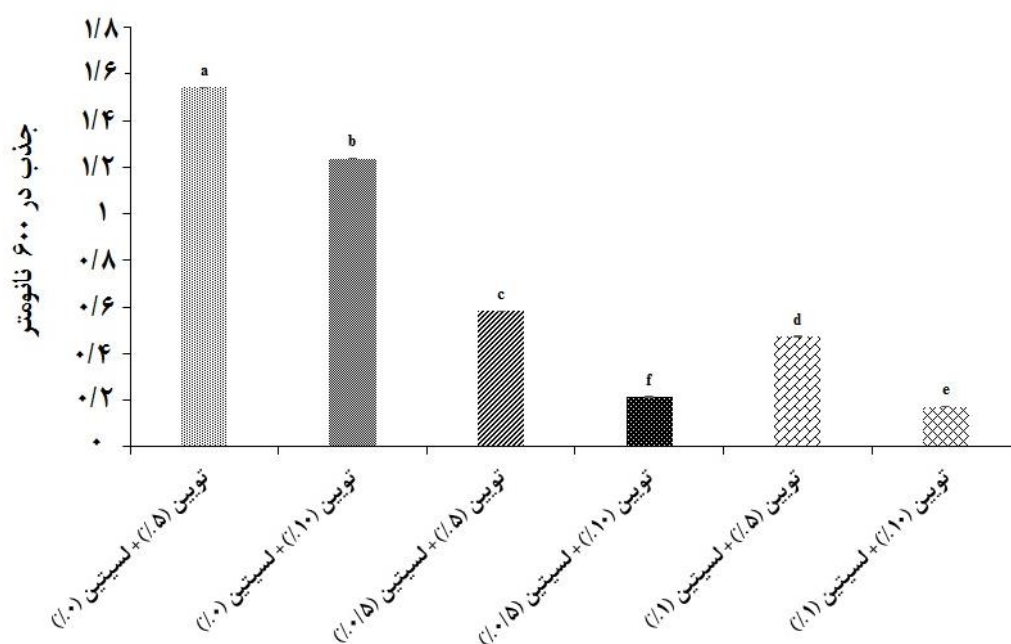
درصد انکپسوله شدن اسانس زنجبیل

همانطور که در جدول ۲ نشان داده می‌شود با افزایش مقدار تویین و لستین، قطر ذرات رو به کاهش رفته و میزان انکپسوله

شدن اسانس زنجبیل افزایش می‌یابد. بیشترین میزان کارایی انکپسولاسیون مربوط به تیمار ۱۰٪ تویین و ۱٪ لستین بود و کمترین آن مربوط به تیمارهای فاقد لستین بود.

پایداری نانوامولسیون‌ها

تست سانتیفریوژ از جنبه لخته سازی، ته نشینی یا کرم شدن برای پایداری اولیه ارزیابی شد. نتایج نشان داد که تیمارهای فاقد لستین پس از سانتیفریوژ به مدت ۲۰ دقیقه به طور کاملاً مشهودی دوفاز شدند. در حالی که تیمارها با حضور غلظت‌های ۰/۵٪ و ۱٪ لستین هیچ‌گونه تفکیک فازی نداشته و همچنان شفاف و پایدار باقی ماندند که نشان دهنده مقاومت ذرات کوچکتر در برابر نیروی گریز از مرکز و همچنین کریمینگ می‌باشد.



نمودار ۱. ارزیابی کدورت امولسیون‌های تهیه شده در طول موج ۶۰۰ نانومتر

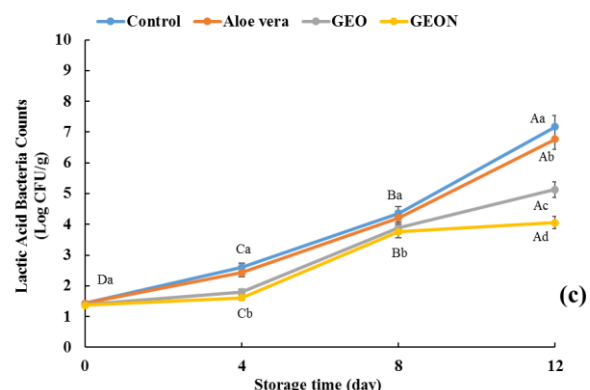
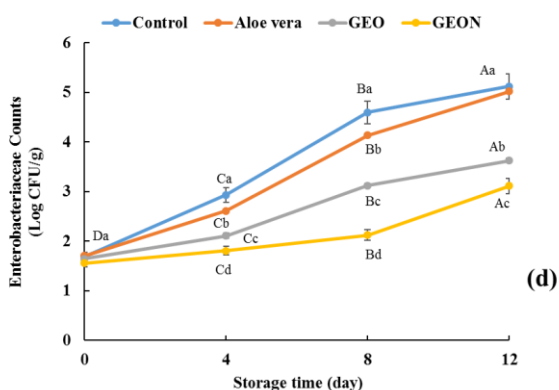
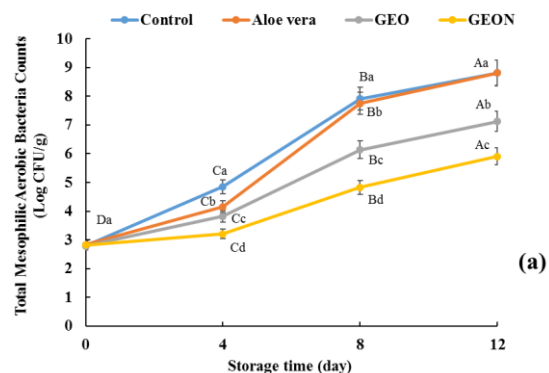
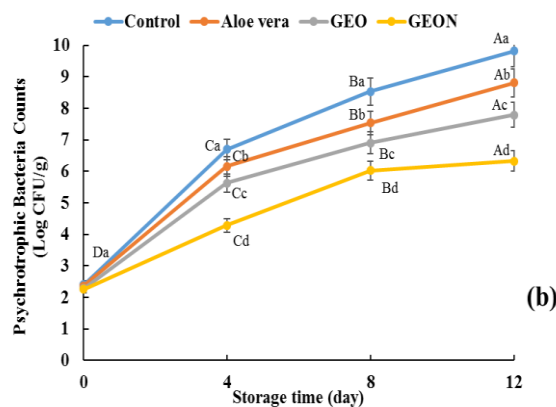
ارزیابی مدت ماندگاری فیله ماهی قزل آلا

تغییرات میکروبی نمونه‌های پوشش داده شده: تغییرات جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی، سایکروتروف، خانواده انتروباکتریاسه، باکتری‌های اسید لاکتیک در نمونه‌های پوشش داده شده با ژل آلوه و حاوی نانومولسیون اسانس، ژل آلوه و حاوی اسانس خالص، ژل آلوه و به تنهایی و گروه کنترل (بدون هیچ پوششی)، طی مدت نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در نمودار ۲ نشان داده می‌شود.

جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی در گروه کنترل و گروه پوشش داده شده با ژل آلوه و را، به استثناء روز ۴ نگهداری نمونه‌ها، تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($P > 0.05$). مقایسه نتایج ارزیابی میکروبی نشان داد که تیمار پوشش حاوی اسانس خالص و تیمار پوشش حاوی نانومولسیون در روز ۱۲ نگهداری

به ترتیب قادر به کاهش ۱/۶۹ و ۲/۹ سیکل لگاریتمی از جمعیت باکتری‌های مزوفیل نسبت به گروه کنترل بودند. بدین ترتیب تیمار اسانس و نانومولسیون اسانس توانستند مدت ماندگاری فیله‌های ماهی نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، را بیش از ۴ روز افزایش دهند.

نتایج تغییرات جمعیت باکتری‌های سایکروتروف در مطالعه حاضر نشان داد (نمودار ۲) که تیمارهای حاوی اسانس خالص و نانومولسیون اسانس در مقایسه با تیمار کنترل و پوشش ژل آلوه و را به تنهایی، تا روز ۸ نگهداری توانستند جمعیت این باکتری‌ها را به کمتر از میزان مجاز اعلام شده ($7 \log \text{CFU/g}$) کاهش دهند (۳۱). همچنین تیمار نانومولسیون اسانس نسبت به سایر تیمارها، بطور معنی‌داری ($P < 0.05$) تا روز ۱۲ نگهداری نمونه‌ها، کنترل چشم‌گیری در جمعیت این دسته از باکتری‌ها نشان داد.



نمودار ۲. تغییرات جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی (a)، سایکروتروف (b)، اسید لاکتیک (c) و باکتری‌های انتروباکتریاسه (d) در نمونه‌های ماهی قزل آلا پوشش داده شده با ژل آلوه و حاوی نانومولسیون اسانس (GEON)، ژل آلوه و حاوی اسانس خالص (GEO)، پوشش ژل آلوه و را به تنهایی (Aloe vera) و گروه کنترل (Control) نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد.

حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارها در هر روز بوده و حروف بزرگ غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) بین روزها در هر تیمار می‌باشد.

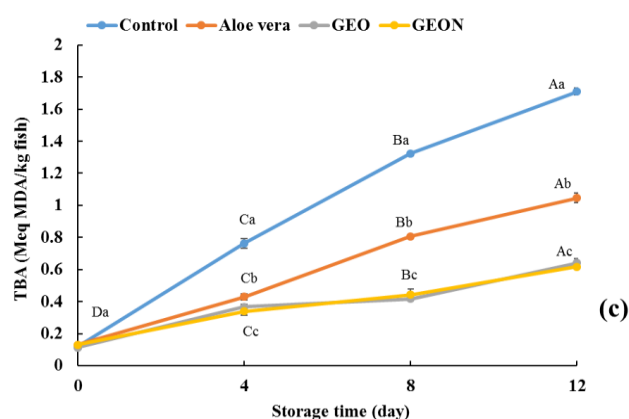
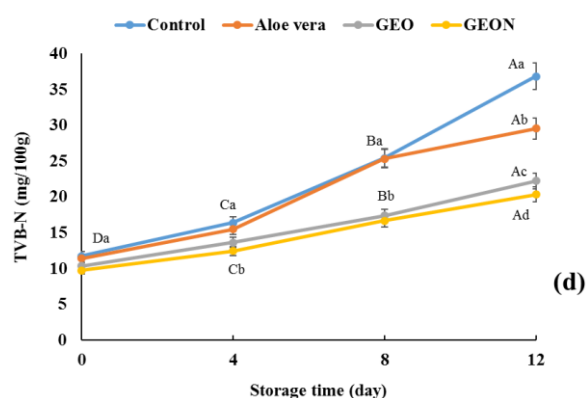
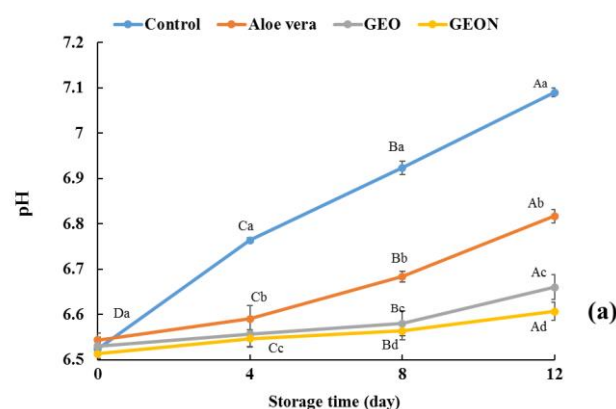
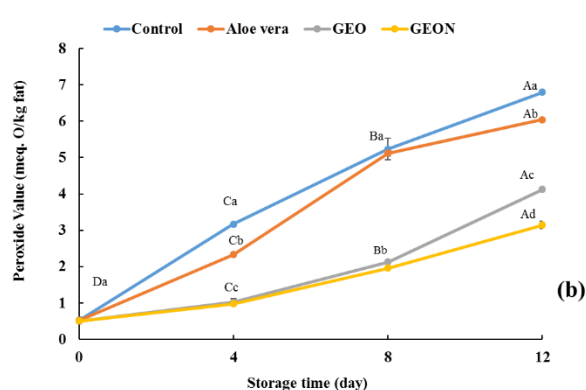
روزهای ۸ و ۱۲ نگهداری میزان جمعیت باکتری‌های خانواده آنتروباکتریاسه را کنترل نماید ($P < 0.05$).

تغییرات شیمیایی نمونه‌های پوشش داده شده: همانطور که در نمودار ۳ نشان داده می‌شود، pH اولیه نمونه‌های ماهی در تمامی تیمارها به طور میانگین حدود ۶/۵۳ بود. تیمار کنترل در طی زمان نگهداری، به طور معنی داری روند افزایشی pH را نشان داد در حالیکه این میزان در تیمار حاوی نانوامولسیون و اسانس خالص، با توجه به کنترل بیشتر رشد میکروبی، افزایش ملایم تری داشت ($P < 0.05$).

تغییرات عدد پراکسید (PV) در نمونه‌های تیمار شده طی مدت نگهداری در شرایط سرد در نمودار ۳ نمایش داده شده است. مقدار اولیه عدد پراکسید در روز صفر در تمامی تیمارها بین ۰/۵ تا ۰/۵۲ بود و این عدد در تمام تیمارها طی مدت نگهداری روند افزایشی داشت. تیمار کنترل بطور معنی داری بیشترین افزایش را نسبت به سایر تیمارها در روز آخر ارزیابی داشت ($P < 0.05$).

نتایج ارزیابی تغییرات جمعیت باکتری‌های مولد اسید لاکتیک در نمونه‌های تیمار شده (نمودار ۲) نشان داد که علی‌رغم پایین بودن جمعیت اولیه این باکتری‌ها ($1/4 \log \text{CFU/g}$)، در طی زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط سرد این جمعیت افزایش یافت و تفاوت معنی داری در تیمارهای کنترل و پوشش داده شده با ژل آلوه ورا مشاهده نگردید. در پایان روز ۱۲ نگهداری تیمارهای نانوامولسیون اسانس و اسانس خالص (به ترتیب با تعداد $4/05 \log \text{CFU/g}$ و $5/13 \log \text{CFU/g}$) بطور معنی داری ($P < 0.05$) جمعیت باکتری مولد اسید لاکتیک را در نمونه‌ها کنترل نمودند.

ارزیابی جمعیت باکتری‌های آنتروباکتریاسه نشان داد که بیشترین مقدار افزایش این باکتری‌ها در روز ۱۲ نگهداری مربوط به نمونه‌های کنترل بود به طوری که جمعیت اولیه این باکتری‌ها از $1/4 \log \text{CFU/g}$ به $5/12 \log \text{cfu/g}$ در پایان زمان نگهداری نمونه‌ها در یخچال افزایش یافت (نمودار ۲). تیمار نانوامولسیون اسانس توانست بطور معنی داری طی



نمودار ۳. تغییرات میزان pH، عدد پراکسید (PV)، تیوباربتوریک اسید (TBA) و بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) در نمونه‌های ماهی قزل آلا پوشش داده شده با ژل آلوه ورا حاوی نانوامولسیون اسانس (GEON)، ژل آلوه ورا حاوی اسانس خالص (GEO)، پوشش ژل آلوه ورا به تنهایی (Aloe vera) و گروه کنترل (Control) نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد.

حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) بین تیمارها در هر روز بوده و حروف بزرگ غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) بین روزها در هر تیمار می‌باشد.

نتایج ارزیابی سطح تیوباریتوریک اسید (TBA) نمونه‌ها نشان داد (نمودار ۳) که با گذشت زمان در همه تیمارها مقدار TBA افزایش یافت و این میزان در تیمار کنترل بصورت معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود ($P < 0.05$). با این وجود مقدار TBA برای همه تیمارها در کل دوره نگهداری پایین‌تر از حد قابل قبول پیشنهادی بود. در روز ۱۲ میزان TBA تیمار نانوامولسیون و اسانس خالص در مقایسه با سایر تیمارها به طور معنی‌داری کمتر بود ($P < 0.05$). همچنین این دو تیمار در روز ۴ و ۸ نگهداری تفاوت معنی‌داری در مقدار TBA نشان ندادند. گزارشات در زمینه شناسایی تغییرات شیمیایی فساد ماهی پیشنهاد داده اند که بالاترین سطح قابل قبول برای TVB-N در گوشت ماهی، ۳۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بافت ماهی می‌باشد (۳۱). همان طور که در نمودار ۳ نشان داده شده است میزان TVB-N در تیمارهای نانوامولسیون اسانس و اسانس خالص تا روز ۱۲ نگهداری از این میزان تجاوز نکرد. در حالی که میزان آن در تیمار پوشش آلونه و به تنهایی و تیمار کنترل از این میزان فراتر رفت و در پایان دوره نگهداری به ترتیب مقدار TVB-N در این تیمارها به ۳۶/۸۴ و ۲۹/۵۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بافت ماهی افزایش یافت. بطور معنی‌داری بهترین اثرگذاری در کاهش روند تولید TVB-N را تیمار نانوامولسیون اسانس داشت ($P < 0.05$) که در پایان زمان نگهداری میزان آن به ۲۰/۳۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم رسید.

ارزیابی حسی: نتایج مربوط به آنالیز حسی تیمارهای ماهی قزل‌آلا طی نگهداری در دمای یخچال در جدول ۳ آمده است. نتایج تیمارهای مختلف در این مطالعه نشان داد در روز صفر نگهداری جز در مورد شاخص بو که می‌تواند ناشی از بوی اسانس زنجبیل باشد، در تمام تیمارها بالاترین امتیاز را دارا بود و اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. امتیاز تمام فاکتورهای حسی در تمامی تیمارها با افزایش دوره نگهداری کاهش یافت. شدت این کاهش در تیمار کنترل بیشترین و در تیمار نانوامولسیون و اسانس خالص کمترین بود. تیمار نانوامولسیون اسانس به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) بالاترین نمره را در میان دیگر تیمارها در فاکتورهای حسی بافت و مقبولیت کلی کسب کرد و امتیاز آن بالاتر از حد قابل قبول بود. اما در مورد فاکتور بو، تیمار حاوی نانوامولسیون اسانس تا روز ۴ امتیاز خوبی را کسب کرد و این فاکتور در روزهای بعدی رضایت بخش نبود. تیمار پوشش آلونه و به تنهایی و تیمار کنترل از نظر فاکتور رنگ و بو اختلاف معنی‌داری نداشتند. از نظر مقبولیت کلی تمامی تیمارها تا روز ۴ نگهداری امتیاز قابل قبولی کسب کردند و پس از آن امتیاز مربوط به تیمار کنترل و پوشش آلونه و به تنهایی به شدت کاهش پیدا کرد.

جدول ۳. نتایج ارزیابی خصوصیات حسی (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد) نمونه‌های ماهی قزل‌آلا پوشش داده شده با ژل آلونه و حاوی نانوامولسیون اسانس (GEON)، ژل آلونه و حاوی اسانس خالص (GEO)، پوشش ژل آلونه و به تنهایی (Aloe vera) و گروه کنترل (Control) نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد.

خصوصیات حسی	تیمارها	زمان نگهداری (روز)			
		۰	۴	۸	۱۲
رنگ	Control	$5 \pm .01$ Aa	$4/33 \pm 0/51$ Bd	$2/33 \pm 0/25$ Cc	$1/16 \pm 0/40$ Dd
	Aloe vera	$5 \pm .01$ Aa	$4/83 \pm 0/40$ Bb	$1/83 \pm 0/75$ Cd	$1/33 \pm 0/40$ DC
	GEO	$5 \pm .01$ Aa	$4/66 \pm 0/51$ Bc	$3 \pm 0/63$ Cb	$2/33 \pm 0/54$ Db
	GEON	$5 \pm .01$ Aa	$5 \pm .01$ Aa	$3/5 \pm 0/54$ Ba	$3/5 \pm 0/51$ Ba
بو	Control	$5 \pm .01$ Aa	$4 \pm 0/51$ Bc	$1/33 \pm 0/51$ Cc	$1 \pm .01$ Dc
	Aloe vera	$5 \pm .01$ Aa	$4/16 \pm 0/40$ Bb	$1/33 \pm 0/51$ Cc	$1 \pm .01$ Dc
	GEO	$4/66 \pm 0/51$ Ab	$4/16 \pm 0/36$ Bb	$2/33 \pm 0/51$ Cb	$2/16 \pm 0/51$ Db
	GEON	$5 \pm .01$ Aa	$4/66 \pm 0/25$ Ba	$3/83 \pm 0/40$ Ca	$3/5 \pm 0/40$ Da
بافت	Control	$5 \pm .01$ Aa	$4/33 \pm 0/51$ Bd	$1/33 \pm 0/51$ Cd	$1/66 \pm 0/81$ Dd
	Aloe vera	$5 \pm .01$ Aa	$4/5 \pm 0/54$ Bc	$3/66 \pm 0/51$ Cc	$2/5 \pm 0/83$ Dc
	GEO	$5 \pm .01$ Aa	$4/83 \pm 0/40$ Bb	$4 \pm 0/40$ Cb	$3/83 \pm 0/54$ Db
	GEON	$5 \pm .01$ Aa	$5 \pm .01$ Aa	$4/16 \pm 0/40$ Ba	$4 \pm 0/63$ Ca
مقبولیت کلی	Control	$5 \pm .01$ Aa	$4 \pm 0/63$ Bc	$1/33 \pm 0/51$ Cd	$1 \pm .01$ Dc
	Aloe vera	$5 \pm .01$ Aa	$4 \pm 0/89$ Bc	$1/5 \pm 0/54$ Cc	$1 \pm .01$ Dc
	GEO	$5 \pm .01$ Aa	$4/33 \pm 0/51$ Bb	$3 \pm 0/63$ Cb	$2/16 \pm 0/71$ Db
	GEON	$5 \pm .01$ Aa	$4/5 \pm 0/54$ Ba	$4/33 \pm 0/81$ Ca	$4/16 \pm 0/63$ Da

حروف کوچک غیر مشابه در یک ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) بوده و حروف بزرگ غیر مشابه در یک ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد.

• بحث

ماهی قزل آلا به عنوان یکی از گونه‌های با ارزش تجاری و بازاریپسندی مطلوب در سراسر جهان شناخته می‌شود. با توجه به مدت ماندگاری کوتاه فیله این ماهی در شرایط سرد، اعمال شرایط و روش‌های مختلف جهت حفظ کیفیت آن و کنترل فساد آن ضروری می‌باشد. بکارگیری ترکیبات ضد میکروبی طبیعی همچون اسانس‌های گیاهی، با توجه به تأثیر ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آنها، می‌تواند در کنار شرایط سرد، راهکار مناسبی برای کنترل فساد و افزایش مدت ماندگاری این محصول باشد. با این وجود، محدودیت‌های استفاده از اسانس‌های فرار گیاهان در مواد غذایی همچون رهایش سریع آنها در مدت نگهداری ماده غذایی و کاهش فعالیت آنها در محیط غذا، منجر به انجام مطالعات گسترده در خصوص ارائه بهترین روش جهت کپسوله کردن اسانس‌ها و کنترل رهایش آنها در غذا شده است (۱۲، ۳، ۲).

نتایج ارزیابی ترکیبات شیمیایی اسانس ریزوم زنجبیل نشان داد که سه ترکیب نسبت به سایر اجزا اسانس در غلظت بالاتری وجود دارد. Baroty و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که مهمترین اجزای اسانس زنجبیل، β -Sesquiphellendenen، ۲۵،۱۶٪ و Zingiberene ۱۳/۹۷٪ بوده و بالاترین درصد را بین ترکیبات این اسانس دارا می‌باشند. در مطالعه دیگری که توسط Noori و همکاران (۲۰۱۷) صورت پذیرفت β -Sesquiphellendenen، Camphene و Zingiberene ترکیبات اصلی اسانس گیاه زنجبیل شناخته شد. در حالی که در مطالعه انجام گرفته توسط Singh و همکاران (۲۰۰۸) ترکیب اصلی اسانس زنجبیل را Geraniol معرفی کردند (۱۱). باید توجه داشت اجزای اسانس‌های گیاهی تحت تأثیر مناطق مختلف جغرافیایی، محل رشد، سن گیاه، قسمت مورد استفاده گیاه، روش اسانس گیری و نوع حلال به کار رفته می‌باشد. بنابراین علت متفاوت بودن درصد ترکیبات مختلف زنجبیل در مطالعات صورت گرفته، می‌تواند ناشی از تفاوت در عوامل ذکر شده باشد (۳۲).

در مطالعه حاضر اثر فاکتور سورفکتانت بر روی اندازه ذرات امولسیون بررسی گردید تا شرایط بهینه برای تهیه نانوامولسیون‌های اسانس زنجبیل بدست آید. شرایط بهینه عواملی است که منجر به کوچک‌ترین اندازه ذرات نانوامولسیون با باریک ترین شاخص پراکندگی ذرات (PDI) گردد. هرچه اندازه ذرات کوچک‌تر باشد امولسیون پایدارتری حاصل می‌گردد (۳۳). نتایج ارزیابی اندازه ذرات نانوامولسیون‌ها در مطالعه حاضر در توافق با مطالعه Ghosh و همکاران (۲۰۱۳) بود. آنها

نانوامولسیون اسانس ریحان به روش فراصوت به کمک توپین ۸۰ را تهیه نمودند (۳۳). نتایج ما نشان داد که در گروه‌های حاوی لسیتین به عنوان کوسورفکتانت و بازدارنده از پدیده اوستوالد، همزمان با افزایش غلظت توپین و لسیتین اندازه قطرات کاهش یافت. در همین راستا، Xue و Zhong (۲۰۱۴) نشان دادند که جهت سنتز نانوامولسیون اسانس آویشن، ترکیب لسیتین با ژلاتین به طرز چشمگیری اندازه ذرات نانوامولسیون را در مقایسه با کاربرد ژلاتین به تنهایی کاهش می‌دهد و همچنین قطر ذرات با افزایش غلظت لسیتین کاهش می‌یابد (۲۱). در توافق با نتایج مطالعه حاضر، Firoozi و همکاران (۲۰۲۰) گزارش نمودند که عواملی همچون سرعت همگن‌سازی، غلظت و نوع امولسیفایر تأثیر بسزایی در کاهش PDI نانوامولسیون اسانس زنجبیل دارد (۳۴).

پتانسیل ز تا بیانگر بزرگی بار الکتریکی و واکنش‌های الکترواستاتیک بین ذرات نانوامولسیون‌ها می‌باشد، بهترین شاخص برای تعیین وضعیت الکتریکی سطحی سیستم‌های کلوئیدی است. این شاخص نشان‌دهنده میزان تجمع بار در لایه غیرمتحرک و شدت جذب یون‌های مخالف به سطح ذره و در نتیجه میزان پایداری الکترواستاتیک است. هرچه بار الکتریکی ذرات نانوامولسیون منفی تر باشد پایداری ذرات بیشتر است (۳۳). Nasri و همکاران (۲۰۱۷) در تهیه نانوامولسیون اسانس زنجبیل با توپین ۸۰، نتایجی مشابه مطالعه ما بدست آوردند (۱۲). در مطالعه Xue و Zhong (۲۰۱۴) نانوامولسیون‌های آماده شده با لسیتین، پتانسیل زتای منفی بیشتری نسبت به سایر نانوامولسیون‌ها نشان دادند. این محققین پدیده رسیدگی اوستوالد را علت اصلی افزایش سایز ذرات گزارش کردند (۲۱).

نتایج ارزیابی کدورت نانوامولسیون‌ها در مطالعه حاضر حاکی از نسبت منطقی بین میزان کدورت نانوامولسیون‌ها و اندازه ذرات می‌باشد. در مطالعات صورت گرفته در خصوص سنتز نانوامولسیون اسانس‌ها، کاهش کدورت نانوامولسیون‌ها به واسطه بکارگیری توپین ۸۰ و لسیتین مورد تایید می‌باشد. Xue و Zhong (۲۰۱۴) گزارش نمودند که افزودن لسیتین تأثیر مستقیمی بر کاهش قطر ذرات و به دنبال آن شفاف شدن نانوامولسیون آویشن داشت. در حالی که امولسیون‌های آویشن سنتز شده با ژلاتین به طور معنی داری کدورت بیشتری داشتند (۳۵).

میزان کارایی نانوامولسیون در انکپسوله کردن اسانس از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. نسبت میزان انکپسولاسیون اسانس رابطه مستقیمی با قطر ذرات نانوامولسیون دارد (۳۶). در تطابق با نتایج مطالعه حاضر، Mansouri و همکاران (۲۰۲۰)

نشان دادند که یک همبستگی بالایی بین درصد انکپسولاسیون اسانس آویشن دناپی و افزایش غلظت توپین در حین سنتز نانوامولسیون‌ها وجود دارد (۵). با این وجود عوامل دیگری همچون نوع سورفکتانت و میزان آن و همچنین قدرت فراصوت جهت همگن سازی نانوامولسیون ها، بر درصد انکپسولاسیون اسانس‌ها موثر می‌باشد (۳۴).

نانوامولسیون‌ها به عنوان یک سیستم انتقالی با هدف اثرات ضدمیکروبی پایدار مورد استفاده قرار می‌گیرند، بنابراین آن‌ها از نظر فیزیکی و طی نگهداری بلند مدت نیز باید پایداری خوبی داشته باشند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هرچه غلظت توپین و لسیتین بیشتر گردد، قطر ذرات کاهش می‌یابد. همچنین نتایج بیانگر تأثیر مثبت لسیتین بر جلوگیری از پدیده رسیدگی استوالد و فراهم کردن پایداری ذرات نانوامولسیون می‌باشد. Moghimi و همکاران (۲۰۱۶) تأثیر ضدمیکروبی نانوامولسیون اسانس آویشن دناپی تهیه شده از توپین و لسیتین را مطالعه نمودند آنها گزارش کردند ذرات امولسیون حاوی کوسورفکتانت در برابر کریمینگ پس از سانتریفیوژ با دور بالا همچنان پایدار بودند (۳۷).

در مطالعه حاضر ارزیابی تغییرات جمعیت‌های میکروبی در نمونه‌های تیمار شده نشان داد که با گذشت زمان در همه تیمارها جمعیت باکتریایی افزایش یافت که این افزایش بطور معنی داری در تیمار کنترل و تیمار ژل آلوه ورا با شدت بیشتری همراه بود. جمعیت میکروبی ماهیان آب شیرین همچون قزل آلا، تحت شرایط نگهداری و پرورش آنها ممکن است متفاوت باشد. با این وجود میزان جمعیت اولیه و حداکثر میزان قابل قبول باکتری‌های مزوفیل هوازی در این دسته از ماهیان به ترتیب در حدود $2-6 \log \text{CFU/g}$ و $7 \log \text{CFU/g}$ پیشنهاد گردیده است (۳۸). علی رغم پایین بودن جمعیت‌های میکروبی در نمونه‌های مورد مطالعه طی روزهای ابتدایی نگهداری، به تدریج بار میکروبی به ویژه در گروه کنترل و پوشش داده شده با ژل آلوه ورا، افزایش پیدا نمود به گونه ایی که در روز ۸ نگهداری، این تیمارها مناسب مصرف نبودند. در روز ۱۲ نگهداری نمونه ها، جمعیت باکتری‌های مزوفیل در تیمارهای پوشش آلوه ورا حاوی اسانس خالص و نانوامولسیون اسانس به ترتیب $7/12 \log \text{CFU/g}$ و $5/91 \log \text{CFU/g}$ افزایش یافت. نتایج مطالعه حاضر با تحقیق صورت گرفته توسط Raeisi و همکاران (۲۰۱۶) بر روی پوشش کربوکسی متیل سلولز حاوی اسانس آویشن شیرازی و عصاره دانه انگور بر روی ماهی قزل آلا همخوانی دارد (۲۴). همچنین Nasri و همکاران (۲۰۱۸) تأثیر ضدمیکروبی مطلوب اسانس زنجبیل در پوشش ماهی قزل آلا در شرایط سرد را گزارش نمودند (۱۲).

یکی از مهمترین گروه‌های میکروبی مسئول فساد گوشت ماهی در شرایط سرد، باکتری‌های سایکروتروف از جمله سودوموناس، اسینتوباکتر و موراکسلا می‌باشند (۳۹). Noori و همکاران (۲۰۱۸) با مطالعه بر تأثیر پوشش کازئینات سدیم حاوی نانوامولسیون اسانس زنجبیل بر ماندگاری فیله سینه مرغ، نشان دادند تیمار نانوامولسیون اسانس زنجبیل ۶٪ بیشترین تأثیر را در کاهش باکتری‌های سایکروتروف داشت (۳). در تطابق با مطالعه ما، Nasri و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند پوشش یخ آب حاوی اسانس زنجبیل منجر به کاهش جمعیت سایکروتروف‌ها در ماهی قزل آلا شد (۱۲).

در مطالعات صورت گرفته بر تأثیر نانوامولسیون اسانس‌های گیاهی بر کنترل رشد باکتری‌های مولد اسید لاکتیک در نمونه‌های غذایی تأکیدی شده است بخشی از این اثرگذاری می‌تواند ناشی از حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت، بدلیل ویژگی‌های دیواره پلی ساکاریدی آنها، به ترکیبات فعال اسانس‌ها باشد (۴۰). در توافق با نتایج ارزیابی جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک در فیله‌های تیمار شده در مطالعه حاضر، نتایج مشابه ایی توسط سایر محققین گزارش شده است (۴۱، ۸، ۳).

شمارش باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه به عنوان نشانگر شاخص بهداشتی، از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. نتایج مطالعه ما با یافته‌های Ojagh و همکاران (۲۰۱۲) در استفاده از پوشش‌های ضدمیکروبی جهت افزایش ماندگاری ماهی قزل آلا همسو بود (۴۲). اگرچه برخی از اعضا خانواده آنتروباکتریاسه توانایی رشد در دماهای پایین را دارند، ولیکن تکثیر آن‌ها در طی نگهداری در شرایط سرد کند می‌شود (۴۳). رهایش آهسته ترکیبات موثره اسانس در تیمارهای حاوی نانوامولسیون در کنار سرما، بیشترین تأثیر را در کنترل جمعیت‌های باکتریایی داشت. حلالیت پایین اسانس‌های گیاهی در آب و اتصال هیدروفوبیک آنها به ترکیبات غذایی از جمله چربی و پروتئین، منجر به کاهش فعالیت آنها می‌گردد. ریزپوشانی و تولید نانوامولسیون از جمله روش های جلوگیری از این کاهش فعالیت می‌باشد. نانوامولسیون اسانس به دلیل کاهش اندازه ذرات و افزایش سطح تماس اسانس با میکروارگانیسم‌ها به عنوان ترکیب ضد میکروبی با پایداری مطلوب مطرح می‌باشد (۵).

نانوامولسیون بهینه اسانس زنجبیل تهیه شده به روش سونیکاسیون با قدرت بالا، نشان داد که توانایی کنترل رشد جمعیت‌های باکتریایی فسادزاد و بیماریزا در مدت نگهداری ماهی قزل آلا در شرایط سرد را دارا می‌باشد. زیرا ریز پوشانی ترکیبات فرار اسانس در نانوامولسیون بهینه، از پراکنش سریع ترکیبات مؤثر اسانس جلوگیری نموده و این ویژگی

یافته‌های مطالعه Singh و همکاران (۲۰۰۸) مبنی بر اثر آنتی اکسیدانی اسانس زنجبیل همخوانی دارد (۱۱).

اندازه گیری سطح تیوباربیتوریک اسید (TBA) یکی دیگر از شاخص‌های اکسیداسیون چربی در مواد غذایی می‌باشد در این شاخص سطح محصولات ثانویه اکسیداسیون مانند آلدئیدها (مالون دی آلدئید) مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. مطالعات نشان داده است که سطح قابل پذیرش TBA پیشنهادی در غذا بدون ایجاد بوی نامطبوع، می‌بایست کمتر از ۲-۱ میلی گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم ماده غذایی باشد (۶). نتایج این مطالعه نشان داد که در روز ۱۲ نگهداری نمونه‌ها، تیمار نانوامولسیون اسانس به واسطه رهایش آهسته ترکیبات فعال اسانس زنجبیل، تأثیر بیشتری در کنترل اکسیداسیون چربی‌ها و کاهش TBA دارد. این در حالیست که در مطالعه Noori و همکاران (۲۰۱۸) پوشش کاربنات سدیم حاوی نانوامولسیون اسانس زنجبیل هیچ‌گونه اثر خاصی بر کاهش اکسیداسیون چربی فیله مرغ نداشت و تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها نشان نداد (۳). به طور کلی آهسته شدن روند اکسیداسیون چربی و کنترل میزان TBA در تیمارهای حاوی نانوامولسیون اسانس و اسانس خالص می‌تواند ناشی از فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی رها شده از پوشش‌های ضد میکروبی و توانایی آنها در شکستن زنجیره رادیکال‌های آزاد (۸) و همچنین تأثیر پوشش آلوه ورا در کاهش نفوذپذیری به اکسیژن نسبت داد (۲۸).

تعیین میزان TVB-N به عنوان یکی از نشانگرهای اصلی تخریب و تجزیه گوشت و پروتئین‌های آن محسوب می‌شود. همزمان با رشد میکروارگانیسم‌ها و فعالیت آنزیم‌های درونی، پروتئین‌های فیله ماهی در طول مدت نگهداری شروع به تجزیه شدن کرده و میزان TVB-N که شامل آمونیاک و آمین‌های فرار می‌باشد، افزایش می‌یابد (۴۹). در مطالعه حاضر تیمارهای نانوامولسیون اسانس و اسانس خالص توانستند با کنترل رشد میکروبی در نمونه‌های تیمار شده، از افزایش میزان TVB-N جلوگیری کنند.

ایجاد تغییرات نامطلوب در رنگ، بو، بافت و طعم مواد غذایی که دلیل رشد میکروارگانیسم‌ها و تغییرات شیمیایی ناشی از اکسیداسیون و تولید ترکیبات فرار ایجاد می‌شود باعث کاهش ماندگاری آنها گردد. میزان این تغییرات در بین انواع گوشت‌ها و بر اساس عوامل مختلف متفاوت باشد (۵۰). نتایج ارزیابی حسی نمونه‌ها با نتایج حاصل از آزمایشات میکروبی و شیمیایی منطبق بود. زیرا همزمان با بالا رفتن جمعیت میکروبی و تولید محصولات حاصل از اکسیداسیون چربی و پروتئین‌ها نظیر آمونیاک، بوهای بد حاصل فساد نیز در نمونه‌ها آشکار گردید. نتایج مشابهی در مطالعه Noori و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی

نانوامولسیون‌ها به حفظ طولانی مدت خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس کمک می‌کند. اگرچه تیمارهای حاوی اسانس خالص نیز اثرات خوبی در کنترل میکروبی نشان دادند ولیکن رهایش سریع تر ترکیبات فعال اسانس در مدت نگهداری نمونه‌ها از کارایی این تیمار در ماندگاری نمونه‌ها کاسته بود. همچنین تفاوت در نتایج ارزیابی نانوامولسیون اسانس‌ها در مطالعات مختلف را می‌توان به تفاوت در نوع و مقدار ترکیبات فاز روغن و غلظت‌های مورد استفاده برای آزمایش‌ها نسبت داد (۵).

یکی از متغیرهای مهم در ارزیابی عمر ماندگاری ماهی، تغییرات شیمیایی همچون pH، عدد پراکسید (PV)، سطح تیوباربیتوریک اسید (TBA) و میزان بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) می‌باشد. عوامل متعددی از جمله گونه ماهی، نحوه صید، تغذیه ماهی، دما و شرایط نگهداری ماهی در میزان pH گوشت ماهی موثر هستند (۴۴). در توافق با نتایج مطالعه حاضر، Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) نیز نتایج مشابهی گزارش کردند. آنها نشان دادند که مقادیر pH در نمونه‌های کنترل و پوشش داده شده با کیتوزان افزایش یافت در حالیکه این افزایش در تیمار کیتوزان-اسانس دارچین به طور معنی‌داری کمتر بود (۸). Jeon و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که تجمع ترکیبات قلیایی نیتروژنی مانند آمونیاک و تری متیل آمین که ناشی از فعالیت‌های میکروبی و آنزیم‌های بین سلولی در طول تجزیه و فساد ماهی رخ می‌دهد، می‌تواند دلیل افزایش میزان pH در طول نگهداری ماهی باشد (۴۵).

گوشت ماهی به دلیل دارا بودن چربی‌های حاوی اسیدهای چرب غیراشباع، مستعد اکسیداسیون می‌باشد. لذا ارزیابی اکسیداسیون چربی می‌تواند یکی از شاخص‌های تعیین کننده عمر ماندگاری آن باشد. محصولات اولیه اکسیداسیون چربی از جمله هیدروپراکسیدها در بررسی کیفیت و شروع فساد در ماهی مورد ارزیابی قرار می‌گیرند (۴۶، ۴۷). از آنجائیکه سطح بالای ۵ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم چربی ماهی، حداکثر میزان قابل قبول برای مصرف کننده در نظر گرفته شده است (۴۸). نمونه کنترل و تیمار پوشش آلوه ورا عدد پراکسید مورد پذیرشی را در پایان دوره نگهداری نشان ندادند. در حالی که تیمارهای نانوامولسیون و اسانس خالص دلیل آزاد شدن ترکیبات فنلی اسانس و مهار تولید محصولات اولیه فساد چربی، نتایج بهتری داشتند. در روز چهارم ارزیابی، این دو تیمار تفاوت معنی‌داری نداشتند اما در پایان دوره نگهداری نمونه‌ها، تیمار نانوامولسیون با توجه به رهایش پیوسته و پایدار ترکیبات اسانس، کمترین میزان اکسیداسیون چربی‌ها را نسبت به سایر تیمارها داشت. نتایج ارزیابی عدد پراکسید در مطالعه حاضر با

مقایسه با سایر تیمارها بود به گونه ایی که مدت زمان ماندگاری فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان را با کاهش جمعیت باکتریایی و کنترل فساد شیمیایی به طور معنی داری تا روز ۱۲ نگهداری (بیش از ۴ روز نسبت به تیمار کنترل)، افزایش داد. نتایج این مطالعه تایید کرد که نانوامولسیون اسانس زنجبیل با ریزپوشانی اسانس زنجبیل و افزایش خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن می تواند پتانسیل استفاده در گوشت ماهی و افزایش مدت ماندگاری آن داشته باشد.

سپاسگزاری: مقاله حاضر برگرفته از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی سرکار خانم سحر جمالی است. نویسندگان از حمایت مالی و معنوی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا تشکر و قدردانی می نمایند.

اثر پوشش کازئینات سدیم حاوی نانوامولسیون اسانس زنجبیل بر فیله مرغ به دست آمد. آنها گزارش نمودند که کسب بیشترین امتیاز حسی توسط پوشش حاوی نانوامولسیون اسانس می تواند ناشی از کاهش سایز ذرات اسانس در قالب سیستم نانوامولسیون و به دنبال آن کنترل رشد میکروبی و فساد شیمیایی در نمونه ها باشد (۳).

در مطالعه حاضر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پایداری نانوامولسیون تهیه شده از اسانس زنجبیل مورد بررسی قرار گرفت. غلظت و نوع امولسیفایر کاربردی روی تشکیل نانوامولسیون های پایدار با ذرات کوچک تر تأثیر بسیار معنی داری داشت. در این راستا لسیترین سویا در کاهش قطر ذرات و افزایش پایداری ذرات سیستم نانوامولسیون موفق عمل کرد. در ادامه نتایج بیانگر اثر ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی قوی تر پوشش ژل آلونه و حاوی نانوامولسیون اسانس زنجبیل در

References

- Arashisar Ş, Hisar O, Kaya M, Yanik T. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *International journal of food microbiology*. 2004;97(2):209-14.
- Macé S, Joffraud J-J, Cardinal M, Malcheva M, Cornet J, Lalanne V, et al. Evaluation of the spoilage potential of bacteria isolated from spoiled raw salmon (*Salmo salar*) fillets stored under modified atmosphere packaging. *International journal of food microbiology*. 2013;160(3):227-38.
- Noori S, Zeinali 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.
- 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.
- Mansouri S, Pajohi-Alamoti M, Aghajani N, Bazargani-Gilani B, Nourian A. Stability and antibacterial activity of *Thymus daenensis* L. essential oil nanoemulsion in mayonnaise. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2021;101(9):3880-8.
- Dehghani P, Hosseini SMH, Golmakani M-T, Majdinasab M, Esteghlal S. Shelf-life extension of refrigerated rainbow trout fillets using total Farsi gum-based coatings containing clove and thyme essential oils emulsions. *Food Hydrocolloids*. 2018;77:677-88.
- Moradi M, Razavi R, Omer AK, Farhangfar A, McClements DJ. Interactions between nanoparticle-based food additives and other food ingredients: A review of current knowledge. *Trends in Food Science & Technology*. 2022.
- Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chemistry*. 2010;120(1):193-8.
- Bellik Y. Total antioxidant activity and antimicrobial potency of the essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2014;4(1):40-4.
- El-Baroty G, Abd El-Baky H, Farag R, Saleh M. Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils. *African journal of biochemistry research*. 2010;4(6):167-74.
- Singh G, Kapoor I, Singh P, de Heluani CS, de Lampasona MP, Catalan CA. Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food and chemical toxicology*. 2008;46(10):3295-302.
- Nasri M, Naseri M, Aalipour Eskandani M. Determination the optimal concentration of Ginger (*Zingiber officinale*) bioactive compounds incorporated in slurry ice for short-term storage of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Utilization and Cultivation of Aquatics*. 2017;6(1):15-23.
- Tongnuanchan P, Benjakul S, Prodpran T. Physico-chemical properties, morphology and antioxidant activity of film from fish skin gelatin incorporated with root essential oils. *Journal of Food Engineering*. 2013;117(3):350-60.
- Mirmajidi A, Abbasi S. Nanoemulsions; introduction, production, Application. *Nanotechnology monthly*. 2013;8:45-9.
- McClements DJ. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft matter*. 2012;8(6):1719-29.
- McClements DJ. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2007;47(7):611-49.

17. Solans C, Solé I. Nano-emulsions: formation by low-energy methods. *Current opinion in colloid & interface science*. 2012;17(5):246-54.
18. Chang Y, McLandsborough L, McClements DJ. Physical properties and antimicrobial efficacy of thyme oil nanoemulsions: Influence of ripening inhibitors. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012;60(48):12056-63.
19. Arnold G, Schuldt S, Schneider Y, Friedrichs J, Babick F, Werner C, et al. The impact of lecithin on rheology, sedimentation and particle interactions in oil-based dispersions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2013;418:147-56.
20. Nash JJ, Erk KA. Stability and interfacial viscoelasticity of oil-water nanoemulsions stabilized by soy lecithin and Tween 20 for the encapsulation of bioactive carvacrol. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2017;517:1-11.
21. Xue J, Zhong Q. Thyme oil nanoemulsions coemulsified by sodium caseinate and lecithin. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2014;62(40):9900-7.
22. Maan AA, Ahmed ZFR, Khan MKI, Riaz A, Nazir A. Aloe vera gel, an excellent base material for edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology*. 2021;116:329-41.
23. Mayeli M, Mehdizadeh T, Tajik H, Esmaeli F, Langroodi AM. Combined impacts of zein coating enriched with methanolic and ethanolic extracts of sour orange peel and vacuum packing on the shelf life of refrigerated rainbow trout. *Flavour and Fragrance Journal*. 2019;34(6):460-70.
24. Raeisi S, Sharifi-Rad M, Quek SY, Shabanpour B, Sharifi-Rad J. Evaluation of antioxidant and antimicrobial effects of shallot (*Allium ascalonicum* L.) fruit and ajwain (*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague) seed extracts in semi-fried coated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets for shelf-life extension. *LWT-Food Science and Technology*. 2016;65:112-21.
25. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry: Allured publishing corporation Carol Stream; 2007.
26. Lu W-C, Huang D-W, Wang C-C, Yeh C-H, Tsai J-C, Huang Y-T, et al. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of nanoemulsions incorporating citral essential oil. *Journal of food and drug analysis*. 2018;26(1):82-9.
27. Emamifar A. Evaluation of Aloe vera gel effect as an edible coating on microbial, physicochemical and sensorial characteristics of fresh strawberry during storage. *Innovative Food Technologies*. 2015;2(2):15-29.
28. Sharifimehr S, Soltanizadeh N, Hossein Goli SA. Effects of edible coating containing nano-emulsion of Aloe vera and eugenol on the physicochemical properties of shrimp during cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2019;99(7):3604-15.
29. Shantha NC, Decker EA. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*. 1994;77(2):421-4.
30. Tavakkoli E, Bazargani-Gilani B, Pajohi-Alamoti M. The impacts of tomato residuum extract with Arabic gum and dill essential oil on the shelf life improvement of trout fillets stored at chilly condition. *Journal of Food Safety*. 2020;40(4):e12812.
31. Gimenez B, Roncales P, Beltran JA. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2002;82(10):1154-9.
32. Munda S, Dutta S, Haldar S, Lal M. Chemical analysis and therapeutic uses of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) essential oil: a review. *Journal of essential oil bearing plants*. 2018;21(4):994-1002.
33. Ghosh V, Mukherjee A, Chandrasekaran N. Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. *Ultrasonics sonochemistry*. 2013;20(1):338-44.
34. Firoozi M, Rezapour-Jahani S, Shahvegharasl Z, Anarjan N. Ginger essential oil nanoemulsions: Preparation and physicochemical characterization and antibacterial activities evaluation. *Journal of Food Process Engineering*. 2020;43(8):e13434.
35. Xue J, Zhong Q. Blending lecithin and gelatin improves the formation of thymol nanodispersions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014;62(13):2956-62.
36. Erfani A, Pirouzifard M, Almasi H, Gheybi N. Microencapsulation of cinnamon essential oil Nano emulsion stabilized with β -cyclodextrin and sodium caseinate. *Journal of food science and technology (Iran)*. 2019;16(91):107-17.
37. Moghimi R, Ghaderi L, Rafati H, Aliahmadi A, McClements DJ. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*. *Food chemistry*. 2016;194:410-5.
38. Foods IAOMSICoMSf, Roberts T. Microorganisms in Foods: Sampling for Microbiological Analysis, Principles and Specific Applications: Blackie Acad. & Professional; 1986.
39. Gram L, Dalgaard P. Fish spoilage bacteria—problems and solutions. *Current opinion in biotechnology*. 2002;13(3):262-6.
40. Ouattara B, Simard RE, Piette G, Bégin A, Holley RA. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *International journal of food microbiology*. 2000;62(1-2):139-48.
41. Hosseini M, Razavi S, Mousavi M. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *Journal of food processing and preservation*. 2009;33(6):727-43.
42. Ojagh S, Rezaei M, Razavi S, Hosseini S. Effect of antimicrobial coating on shelf-life extension of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 2012.
43. Sallam KI. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control*. 2007;18(5):566-75.
44. 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.
45. Jeon Y-J, Kamil JY, Shahidi F. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2002;50(18):5167-78.

46. Lin C-C, Lin C-S. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. *Food control*. 2005;16(2):169-75.
47. Özyurt G, Polat A, Tokur B. Chemical and sensory changes in frozen (-18°C) wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) captured at different fishing seasons. *International journal of food science & technology*. 2007;42(7):887-93.
48. Yanar Y, Celik M, Akamca E. Effects of brine concentration on shelf-life of hot-smoked tilapia (*Oreochromis niloticus*) stored at 4°C . *Food Chemistry*. 2006;97(2):244-7.
49. Yin C, Wang J, Qian J, Xiong K, Zhang M. Quality changes of rainbow trout stored under different packaging conditions and mathematical modeling for predicting the shelf life. *Food Packaging and Shelf Life*. 2022;32:100824.
50. Yousefizadeh S, Hassanzadazar H, Aminzare M. Effect of Chitosan Coating Impregnated with Thymoquinone and Eugenol on the Quality Parameters of Rainbow Trout (*Onchoryncus mykiss*) during Cold Storage (4°C). *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 2022;31(2):170-86.

Use of Aloe Vera-based Edible Coating Containing Nanoemulsion of Ginger Essential Oil to Extend Trout Fillet Shelf-life

Jamali S¹, Pajohi-Alamoti MR^{2*}, Sari A³, Aghajani N⁴

1- MSC of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

2- *Corresponding author: Associate Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. Email: mr.pajohi@basu.ac.ir

3- Assistant Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

4- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Science and Technology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Received 1 Dec, 2022

Accepted 23 Feb, 2023

Background and Objectives : Edible coatings containing natural antimicrobial compounds are appropriate approaches to control the microbial growth and thus improve the quality and shelf-life of fresh, frozen and processed fish products. The aim of this study was to assess effects of aloe vera gel coating containing nanoemulsion of ginger essential oil to extend the shelf life of trout fillets during 12 days of storage in refrigerator (4° C).

Materials and Methods: To achieve the optimal nanoemulsion by ultrasonic method and solve Ostwald ripening phenomenon in nanoemulsions, lecithin was used in concentrations of 0, 0.5 and 1% (w/w) and Tween 80 in concentrations of 5 and 10% (w/w).

Results: Analyses of particle size, zeta potential and polydispersity indices showed that the prepared nanoemulsions with 10% of Tween and 1% of lecithin included high stability scores and were assessed as the optimal nanoemulsion to extend the shelf life of trout fillets. The coatings containing essential oil nanoemulsion and pure essential oil significantly ($p < 0.05$) decreased total aerobic mesophilic count, psychrotrophic bacteria, Enterobacteriaceae and lactic acid bacteria compared to the control. Furthermore, spoilage changes were observed earlier in control and aloe vera coatings compared to other treatments. While the coating containing the essential oil nanoemulsion could significantly ($p < 0.05$) increase the trout fillet shelf-life by controlling microbial and chemical changes compared to other treatments. Furthermore, sensory evaluation showed that the overall acceptability for the nanoemulsion coating was satisfactory during the storage period under cold conditions.

Conclusion: Results of this study verified that ginger essential oil was appropriately encapsulated in the nanoemulsion and increased antimicrobial and antioxidant characteristics could extend the shelf life of fish fillets.

Keywords: Shelf life, Essential oil, Ginger, Nanoemulsion, Trout