

## ارزیابی اثرات نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی بر ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و حسی فیله کپور نقره‌ای

نسیم خدری<sup>۱</sup>، لاله رومیانی<sup>۲</sup>

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۲- نویسنده مسئول: گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران. پست الکترونیکی: l.roomiani@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۷/۳/۱۹

### چکیده

**سابقه و هدف:** صنعت غذا همواره در جستجوی روش‌های جدیدتر و ارزان‌تر برای تولید و نگهداری غذا است. حوزه فناوری نانو گزینه‌های زیادی را برای تولید، کپسوله‌کردن و تولید امولسیون‌های غذایی پیشنهاد می‌کند. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی بر روی ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی فیله کپور نقره‌ای انجام شده است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تأثیر افزودن نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی با درصدهای مختلف (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) بر روی ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی فیله کپور نقره‌ای (نگهداری شده در دمای یخچال) در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** با افزایش غلظت نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی در فیله کپور میزان شاخص‌های شیمیایی (pH، TVB-N، TBA، PV، FFA) کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). همچنین بار میکروبی در تمام تیمارها به جز در تیمار نانومولسیون ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی در روز پانزدهم از حد مجاز ( $10^6 \text{ Log cfu/g}$ ) عبور کرد. از نظر بو و بافت دو تیمار نانومولسیون ۱ و ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی کیفیت بالاتری داشتند. در هر چهار تیمار شاخص رنگ در وضعیت روشن و قهوه‌ای قرار داشت.

**نتیجه‌گیری:** نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اسانس نانومولسیون گیاه آویشن شیرازی به عنوان یک ماده نگهدارنده طبیعی عمل کرده و ضمن حفظ ویژگی‌های کیفی فیله، آهنگ افزایش سطح پارامترهای شیمیایی (pH، TBA، TVB-N، PV، FFA) و سرعت رشد باکتری‌ها را کاهش داد. تیمار امولسیون ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی بالاترین کارایی را داشت و توانست ماندگاری فیله کپور نقره‌ای را تا روز دوازدهم (۴ روز بیشتر از شاهد) افزایش دهد.

**واژگان کلیدی:** نانومولسیون، اسانس آویشن شیرازی، ماهی کپور نقره‌ای

### • مقدمه

دهد. از طرفی دیگر نانومولسیون‌ها خود ذاتاً عوامل ضدباکتری محسوب می‌شوند زیرا به دلیل ساختارشان به ذرات آب متصل شده و آب را از دسترس میکروارگانیسم‌ها خارج می‌سازند (۴). ماهیان نسبت به فساد بسیار حساس بوده و زودتر از سایر گوشت‌ها فاسد می‌شوند. واکنش‌های آنزیمی و شیمیایی مسبب افت اولیه در تازگی ماهی هستند، ولی فعالیت‌های میکروبی مسئول فساد ثانویه و تعیین‌کننده زمان ماندگاری ماهی می‌باشند. نگهداری در یخچال به تنهایی برای کاهش دمای ماهی مناسب نیست و به تدریج هیدرولیز و

نانوتکنولوژی در بسیاری از زمینه‌های علوم غذایی همانند عمل‌آوری، بسته‌بندی و غنی‌سازی غذاها کاربرد دارد (۱، ۲). کاربردهای جدید نانوتکنولوژی در تولیدات غذایی شامل رشد و توسعه غذاها و اجزای غذایی نانو ذره و افزودنی‌ها به عنوان سیستم‌های زیست فعال و ابداعی برای بسته‌بندی غذاها می‌باشد (۳). نانومولسیون‌ها یکی از معروفترین این مواد هستند و یک حمل‌کننده ایده‌آل برای تحویل مواد چربی دوست هستند زیرا به آسانی آماده شده، اندازه کوچکی داشته و دسترسی، تأثیرگذاری زیستی و پایداری آنها را افزایش می-

متصل و تقطیر به مدت ۴ ساعت انجام شد. ترکیبات اسانس آویشن شیرازی با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی مجهز به دتکتور یونیزاسیون شعله (FID) (Agilent 6890) با طول ستون ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS آنالیز شد. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۴۰ درجه سانتیگراد و توقف در این دما به مدت ۱ دقیقه بود. سپس تا رسیدن به دمای نهایی ۲۳۰ درجه سانتیگراد، افزایش دما با شیب حرارتی ۳ درجه سانتیگراد در هر دقیقه انجام گرفت. دمای اتاق تزریق ۲۵۰ درجه سانتیگراد بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۱ میلی‌متر در دقیقه استفاده شد. جهت شناسایی ترکیبات اسانس از مقایسه پیک‌های به دست آمده با استانداردهای موجود و با سه بار تکرار به دست آمد (۹).

**آماده‌سازی نانومولسیون:** از روش امولسیون‌سازی به روش برگشت فاز یا EPI و بر اساس فرمولاسیون ارائه شده توسط Gosh و همکاران (۱۰) استفاده گردید. برای آماده‌سازی نانومولسیون از آب مقطر و ۱ درصد امولسیفایر توئین ۸۰ به عنوان سورفکتانت استفاده گردید. به این ترتیب که اسانس و توئین با استفاده از همزن مگنت دار با ۸۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه همزده شد. سپس با فرسدم فسفات (pH=7) با سرعت جریان ۳/۵ میلی‌لیتر در دقیقه به آن افزوده شد. مخلوط با سرعت ۸۰۰ دور در دقیقه به مدت ۶۰ دقیقه هم زده شد. محلول تهیه شده در دمای اتاق نگهداری گردید.

**آماده‌سازی نمونه‌ها:** ماهی کپور نقره‌ای از استخرهای پرورش ماهی تهیه شد. ماهی‌ها در مدت ۲-۳ ساعت بعد از صید در یخ به آزمایشگاه منتقل و پس از تخلیه شکم، پوست آنها کنده و به قطعات کوچک بریده شدند. سپس فیله‌های ماهی برای ۳ دقیقه در نانومولسیون آویشن شیرازی با ۳ سطح ۰/۵، ۱، ۱/۵ درصد غوطه‌ور شدند. نمونه‌ها به صورت غوطه‌ور در نانومولسیون با استفاده از دستگاه بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده (۵ درصد اکسیژن، ۴۵ درصد نیتروژن و ۵۰ درصد دی‌اکسیدکربن) (Jet Pack)، ساخت شرکت ماشین-سازی استیل غرب آسیا) بسته بندی و در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تیمار شاهد، فقط در بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده قرار گرفت.

#### اندازه‌گیری پارامترهای شیمیایی

**اندازه‌گیری pH:** برای اندازه‌گیری pH ۵ گرم از نمونه با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و صاف گردید. سپس pH

اکسیداسیون چربی اتفاق می‌افتد که باعث نامطلوب شدن فیله ماهی می‌شود (۵). اسانس‌های گیاهی متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که در پزشکی و صنعت غذا مورد استفاده قرار می‌گیرند. در طی سال‌های اخیر استفاده از اسانس‌های گیاهی به دلیل افزایش تقاضای مصرف‌کنندگان برای تولیدات طبیعی و جایگزینی آنها به جای مواد افزودنی شیمیایی در صنعت غذا رشد و توسعه یافته است. با توجه به افزایش تقاضا برای مصرف انواع غذاهای بسته‌بندی، ترکیب مواد غذایی با نانومولسیون‌ها با توجه به خواص ضدباکتریایی می‌تواند به افزایش ماندگاری انواع مواد غذایی بسته‌بندی شده، کمک کند (۶). در مطالعات مختلفی تأثیر استفاده توأم از نانومولسیون‌های اسانس‌های گیاهی و بسته‌بندی با اتمسفر تغییر یافته (MAP) در مواد غذایی مورد بررسی قرار گرفته است، از جمله این مطالعات می‌توان به پژوهش Saliva-Trujillo و همکاران بر روی ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی نانومولسیون‌های اسانس‌های گیاهی (۶)، Prakash و همکاران بر روی استفاده از نانومولسیون‌های اسانس‌های گیاهی برای بالا بردن کیفیت مواد غذایی (۷)، Donsi و Ferrari بر روی نانومولسیون‌های اسانس‌ها به عنوان عوامل ضد میکروبی (۸) و نیز Ozogul و همکاران بر روی تأثیر نانومولسیون همراه با اسانس‌های رزماری، برگ بو، آویشن بر روی ویژگی‌های حسی، شیمیایی و میکروبیولوژی فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (۵) اشاره کرد. اما تاکنون مطالعات محدودی بر روی ترکیب نانومولسیون اسانس‌های گیاهی بر روی ویژگی‌های فیله ماهی انجام شده است (۵). ماهی کپور نقره‌ای یکی از مهم‌ترین ماهیان پرورشی کشور است که به علت استفاده از رژیم غذایی کم هزینه به مقدار زیاد پرورش می‌یابد. به علت تولید بالای سالیانه و قابلیت دسترسی برای مصرف‌کننده و پراکنش مناسب از اهمیت زیادی بین پرورش دهندگان و تولیدکنندگان فیله آن برخوردار است. از این رو این پژوهش تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر ویژگی‌های حسی، شیمیایی و میکروبی فیله کپور نقره‌ای را مورد بررسی قرار داد.

#### • مواد و روش‌ها

**تهیه اسانس آویشن شیرازی و آنالیز ترکیبات آن:** گیاه آویشن شیرازی از موسسه گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران تهیه شد. جهت تهیه اسانس، ۱۰۰ گرم از پودر گیاه در یک بالن ته گرد یک لیتری که دو سوم آن از آب مقطر پر شده بود، ریخته شد. سپس بالن به دستگاه کلونجر

**اندازه‌گیری مقدار اسید چرب آزاد:** جهت انجام این آزمون، ابتدا ۲ تا ۱۰۰ گرم چربی توسط هیدرولیز اسیدی استخراج گردید. سپس در یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و مقدار ۵۰ میلی‌لیتر اتانول که توسط سود ۰/۱ نرمال در حضور فنل-فتالئین ۱ درصد الکل خنثی گردیده به آن اضافه تا چربی کاملاً حل شود. سپس مقدار ۱ میلی‌لیتر فنل فتالئین ۱ درصد الکل به آن افزوده و محتویات ارلن با سود ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ صورتی تیترا گردید. با توجه به اینکه هر سانتی‌متر مکعب سود ۰/۱ نرمال معادل ۰/۰۲۸۲ گرم اسید اولئیک است، درصد اسیدهای چرب آزاد بر حسب اسید اولئیک به دست آمد (۱۳).

**شمارش کلی باکتری‌ها (TVC):** تعیین بار میکروبی بر طبق استاندارد شماره ۲۳۲۵ (۲۰۱۱) انجام شد (۱۴). به این منظور ۵ گرم نمونه با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر به کیسه استریل استومیکر منتقل و توسط دستگاه استومیکر به صورت هموزن درآمد. سپس نمونه تا رقت  $10^5$  میلی‌لیتر رقیق شد. یک میلی‌لیتر از هر رقت در پلیت قرار داده و محیط کشت پلیت کانت آگار به آن افزوده شد. هر پلیت به منظور توزیع همگن نمونه به دقت تکان داده شد. بعد از چند دقیقه همه پلیت‌ها وارونه شده و در انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. شمارش باکتری‌ها در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۵ انجام شد.

**ارزیابی حسی:** نمونه‌های مربوط به هر تیمار پس از باز شدن بسته، از نظر بو مورد ارزیابی قرار گرفتند و طعم آنها پس از پخت به مدت ۱ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه بخارپز خانگی، بررسی شد. برای انجام این ارزیابی از روش توصیفی ساختار یافته (Structured Descriptive Test) استفاده شد. پنل ارزیابی از ۲۵ فرد آموزش دیده تشکیل شد (۱۵). ویژگی‌های بو (۰ = بوی خاص، ۱ = بوی خنثی، ۲ = مقداری بوی ماهی، ۳ = بوی شدید ماهی)، رنگ (۰ = رنگ قرمز و نارنجی، ۱ = رنگ قرمز و صورتی، ۲ = رنگ روشن و قهوه‌ای، ۳ = رنگ قهوه‌ای و خاکستری) و بافت (۰ = بافت سخت، ۱ = بافت محکم، ۲ = نیمه محکم، ۳ = بافت نرم) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

**آنالیز آماری:** نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف بررسی شد. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس و آزمون تعقیبی دانکن در نرم افزار SPSS۲۳ انجام شد. سطح معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد در نظر گرفته و کلیه نمودارها با اکسل ۲۰۱۰ رسم شدند. آزمون‌ها با سه بار تکرار انجام شدند.

نمونه‌ها در دمای اتاق با استفاده از دستگاه pH متر مدل ۳۵۱۰ شرکت Jenway انگلستان اندازه‌گیری گردید (۱۱).

**اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N):** ۱۰ گرم نمونه گوشت ماهی در یک بالن تقطیر ۱۰۰۰ میلی‌لیتری قرار داده و ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به همراه چند عدد سنگ جوش و کمی ضدکف به آن افزوده شد. بالن به مدت ۱۵ دقیقه جهت رسیدن به دمای جوش حرارت داده شد، بخارهای خارج شده از بالن تقطیر مستقیماً در داخل ارلن که حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محلول اسید بوریک ۲ درصد و چند قطره معرف متیل رد بود، جمع شد تا این که حجم اسید بوریک و بخارهای میعان یافته در داخل آن به ۱۵۰ میلی‌لیتر رسید. در پایان، محلول حاصل از تجمع بخارهای تقطیر به وسیله اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا رسیدن به رنگ پوست پیازی تیترا شدند. مقدار مواد ازت بر حسب میلی‌گرم در نمونه بدست آمد (۱۱).

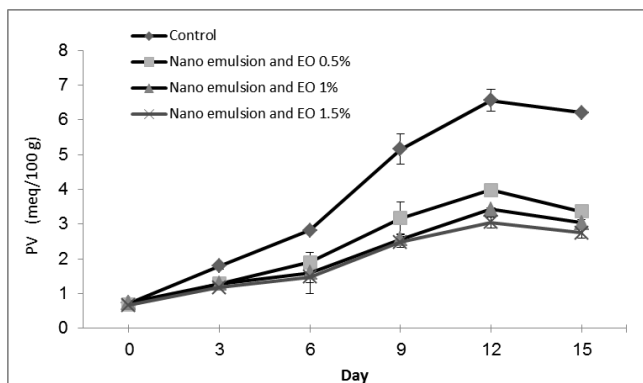
**اندازه‌گیری اسید تیوباربیتئوریک (TBA):** مقدار ۵ گرم فیله چرخ شده به بالن تقطیر منتقل و روی آن ۵۰ سی‌سی آب مقطر اضافه و به مدت ۲ دقیقه هم‌زده شد. مجدداً ۴۷/۵ سی‌سی آب مقطر همراه با ۲/۵ سی‌سی اسید کلریدریک ۴ نرمال روی آن اضافه شد. سپس ۵ سی‌سی از محلول تقطیر شده به داخل لوله آزمایش با درپیش تفلونی منتقل و روی آن ۵ سی‌سی معرف تیوباربیتئوریک اضافه شد. به منظور تهیه شاهد، ۵ سی‌سی آب مقطر همراه با ۵ سی‌سی معرف تیوباربیتئوریک اسید به لوله آزمایش دیگری اضافه شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۵ دقیقه در حمام آبی در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در آب سرد خنک شدند. بعد از آن به کمک دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۳۸ نانومتر میزان جذب قرائت شد (۱۲).

**اندازه‌گیری پراکسید (PV):** نمونه‌ای از روغن استخراج شده از ماهی به دقت در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری سرسمباده‌ای توزین و حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسید استیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته ۱ درصد به مجموعه اضافه و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیترا شد. میزان پراکسید از رابطه زیر مورد محاسبه قرار گرفت (۱۳).

$$PV = \frac{100 * \text{نرمالیتة} * \text{حجم مصرفی}}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

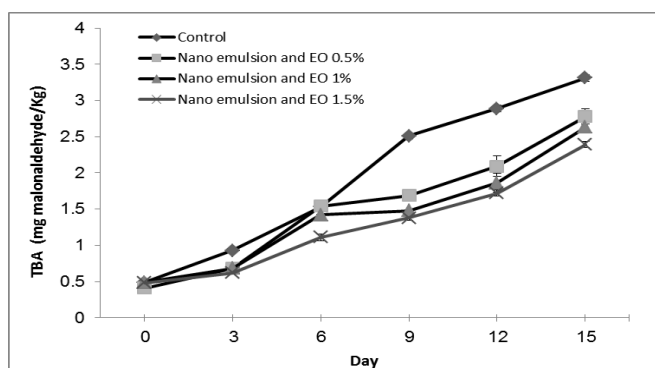
• یافته‌ها

در کیلوگرم) بالاترین میزان شاخص پراکسید و تیمار نانومولسیون ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی (۰/۱۴ ± ۲/۷۵ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم) کمترین میزان پراکسید را داشت (P < ۰/۰۵) (شکل ۲).



شکل ۲. تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی در تیمارهای مختلف بر عدد پراکسید (PV) فیله کپور نقره‌ای بسته‌بندی شده با اتمسفر تغییر یافته (MAP)

اسید تیوباربیتوریك: بررسی میزان TBA در تیمارهای نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی نشان داد که تشکیل مالون‌آلدهید در فیله کپور نقره‌ای در تمام تیمارها با گذشت زمان روند افزایشی داشت، به شکلی که بالاترین مقدار در روزهای ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ در تیمار شاهد و کمترین مقدار در تیمار نانومولسیون ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی (۰/۰۴ ± ۲/۳۹ میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم در روز پانزدهم) بود (شکل ۳).



شکل ۳. تأثیر تیمارهای مختلف نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی بر اسید تیوباربیتوریك (TBA) فیله کپور نقره‌ای بسته‌بندی شده با اتمسفر تغییر یافته (MAP)

اسیدهای چرب آزاد: در شکل ۴ تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی بر اسیدهای چرب آزاد (FFA) فیله کپور نقره‌ای در بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته نشان داد که

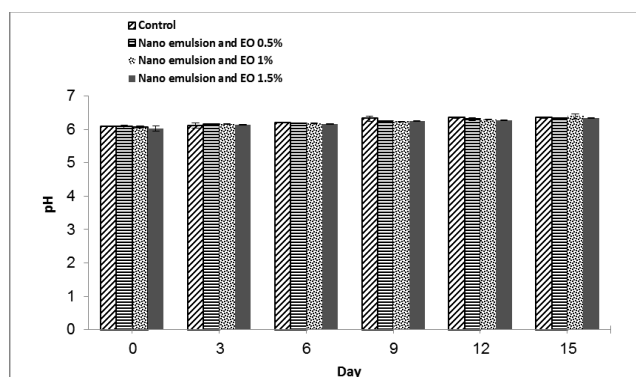
ترکیبات اسانس آویشن شیرازی: در جدول ۱، آنالیز ترکیبات شیمیایی گیاه آویشن شیرازی توسط دستگاه GC-MS نشان داده شده است. ترکیبات غالب موجود شامل کارواکرول (۴۶/۸۲ درصد)، تیمول (۱۸/۳۴ درصد) و لینالول (۱۲/۷۱ درصد) بودند.

جدول ۱. ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس آویشن شیرازی

ترکیبات	درصد	شاخص بازداری
آلفا پینن	۰/۷۱	۹۳۵
۳-اکتانون	۰/۷۸	۹۸۶
لینالول	۲۱/۷۱	۱۰۹۹
آلفا ترپینئول	۱/۳۴	۱۲۰۳
کاربوفیلن اکسید	۰/۹۴	۱۵۹۲
بتاکاروفیلن	۱/۰۹	۱۴۳۷
ترانس سابتین هیدرات	۰/۴۲	۱۰۸۱
کارواکرول	۴۶/۸۲	۱۰۳۱
کارواکرول متیل اتر	۲/۲۳	۱۲۵۲
کارواکرول استات	۰/۵۲	۱۳۹۴
لینالین استات	۱/۰۳	۱۲۷۱
اسپانولتول	۱/۲۱	۱۵۸۴

بررسی ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی

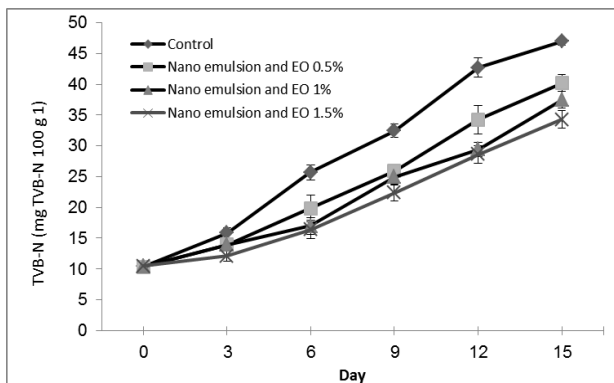
pH: بررسی تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن بر pH فیله کپور نقره‌ای در بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده در شکل ۱ نشان داد که میزان این پارامتر در طول دوره بررسی بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نداشت (P > ۰/۰۵). در روز ۱۵ بالاترین میزان این پارامتر در تمام تیمارها اندازه‌گیری شد.



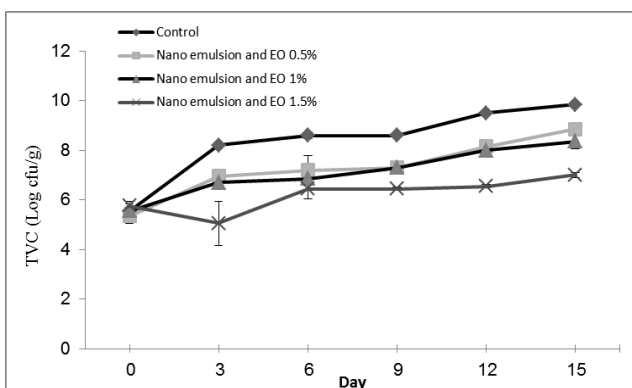
شکل ۱. تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی در تیمارهای مختلف بر pH فیله کپور نقره‌ای بسته‌بندی شده با اتمسفر تغییر یافته (MAP)

پراکسید: میزان (PV) در تمامی تیمارها در طول زمان روند افزایشی داشت. تیمار شاهد (۰/۰۵ ± ۶/۲۱ میلی‌اکی‌والان

شکلی که در روز ۱۵ تیمار شاهد با  $9/85 \pm 0/07 \text{ Log cfu/g}$  بالاترین میزان باکتری و تیمارهای نانومولسیون حاوی  $0/5$ ،  $1/5$  و  $0/7 \text{ Log cfu/g}$  در ترتیب به ترتیب با  $7/00 \pm 0/14$  و  $8/35 \pm 0/35$  و  $8/85 \pm 0/35$  داشتند (شکل ۶).



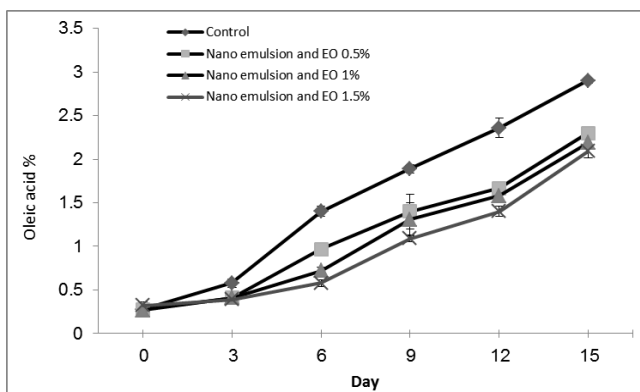
شکل ۵. تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی در تیمارهای مختلف بر بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) فیله کپور نقره‌ای بسته‌بندی شده با اتمسفر تغییر یافته (MAP)



شکل ۶. تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی در تیمارهای مختلف بر شمارش کلی باکتری‌های (TVC) فیله کپور نقره‌ای بسته‌بندی شده با اتمسفر تغییر یافته (MAP)

**ارزیابی حسی:** بر طبق نتایج بدست آمده در هر سه شاخص بو، رنگ و بافت فیله کپور نقره‌ای در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۱۵ بیش‌ترین امتیاز و در روز صفر دارای کم‌ترین امتیاز بود. بین زمان‌های مختلف آزمایش در همه تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). در مورد هر سه شاخص، در روز ۱۵ کمترین امتیاز مربوط به تیمار نانومولسیون  $1/5$  درصد اسانس آویشن شیرازی بود ( $P < 0/05$ ) (جدول ۲).

تغییرات FFA بین تیمارها در زمان صفر اختلاف معنی‌داری نداشت ( $P > 0/05$ ). اما از روز ۶ به بعد تیمار شاهد با اختلاف معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) در مقایسه با تیمارهای نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی مقادیر بالاتری را نشان داد. در روز ۱۵ بالاترین میزان اسیدهای چرب آزاد با اختلاف معنی‌دار نسبت به تیمار  $1/5$  درصد اسانس آویشن ( $2/90 \pm 0/03$ ) درصد اولئیک و کمترین میزان آن با مقدار  $2/39 \pm 0/04$  درصد اولئیک به تیمار نانومولسیون  $1/5$  درصد اسانس آویشن تعلق داشت ( $P < 0/05$ ).



شکل ۴. تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی در تیمارهای مختلف بر اسیدهای چرب آزاد (FFA) فیله کپور نقره‌ای بسته‌بندی شده با اتمسفر تغییر یافته (MAP)

**بازهای نیتروژنی فرار:** در مطالعه حاضر نتایج مقدار کل بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) نشان داد که بین تیمارهای شاهد و نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی اختلاف معنی‌دار وجود داشت ( $P < 0/05$ ). به جز روز صفر، در تمامی روزهای مورد بررسی تیمار نانومولسیون  $1/5$  درصد اسانس آویشن شیرازی کمترین مقدار TVB-N را داشت. در روز ۱۵، تیمار شاهد با  $46/94 \pm 0/61$  میلی‌گرم ازت در  $100$  گرم بالاترین میزان این شاخص و تیمار نانومولسیون  $0/5$  درصد اسانس آویشن با مقدار  $40/18 \pm 1/37$  میلی‌گرم ازت در  $100$  گرم در رتبه دوم، تیمار نانومولسیون  $1$  درصد اسانس آویشن با مقدار  $37/48 \pm 1/37$  میلی‌گرم ازت در  $100$  گرم در رتبه سوم و تیمار نانومولسیون  $1/5$  درصد اسانس آویشن با مقدار  $24/34 \pm 1/43$  میلی‌گرم ازت در  $100$  گرم در رتبه چهارم قرار داشت (شکل ۵).

**میزان شمارش باکتری‌ها:** در تمام تیمارهای دارای نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی، میزان باکتری‌ها در مقایسه با نمونه شاهد کمتر بود و نتایج نشان داد با افزایش سطح اسانس میزان باکتری نیز کاهش معنی‌داری داشت به

جدول ۲. تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی بر ویژگی‌های حسی فیله کپور نقره‌ای بسته‌بندی شده با اتمسفر تغییر یافته (MAP)

ویژگی حسی	زمان (روز)	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
بو	شاهد	۰/۳۴±۰/۰۱ <sup>Aa</sup>	۱/۶۹±۰/۰۵ <sup>Ab</sup>	۲/۱۴±۰/۰۲ <sup>Ac</sup>	۲/۱۶±۰/۰۷ <sup>Ad</sup>	۲/۶۸±۰/۰۹ <sup>Ae</sup>	۲/۸۷±۰/۰۲ <sup>Af</sup>
	۰/۵ درصد	۰/۳۶±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۰/۵۷±۰/۰۲ <sup>Bb</sup>	۱/۷۸±۰/۰۹ <sup>Bc</sup>	۲/۲۱±۰/۰۵ <sup>Bd</sup>	۲/۵۸±۰/۱۰ <sup>Be</sup>	۲/۶۳±۰/۰۶ <sup>Bf</sup>
	۱ درصد	۰/۳۳±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۰/۵۶±۰/۰۲ <sup>Bb</sup>	۱/۷۵±۰/۰۷ <sup>Bc</sup>	۲/۱۸±۰/۰۲ <sup>Bd</sup>	۲/۲۶±۰/۰۴ <sup>Be</sup>	۲/۶۲±۰/۰۴ <sup>Cf</sup>
	۱/۵ درصد	۰/۳۰±۰/۰۱ <sup>Aa</sup>	۰/۵۰±۰/۰۲ <sup>Bb</sup>	۱/۶۷±۰/۰۳ <sup>Bc</sup>	۲/۱۵±۰/۰۲ <sup>Bd</sup>	۲/۴۳±۰/۰۶ <sup>Be</sup>	۲/۵۷±۰/۰۵ <sup>Cf</sup>
رنگ	شاهد	۰/۴۵±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۱/۲۰±۰/۰۴ <sup>Ab</sup>	۱/۵۲±۰/۰۳ <sup>Ac</sup>	۲/۲۳±۰/۰۹ <sup>Ad</sup>	۲/۳۲±۰/۰۱ <sup>Ae</sup>	۲/۹۰±۰/۰۶ <sup>Af</sup>
	۰/۵ درصد	۰/۴۲±۰/۰۱ <sup>Aa</sup>	۱/۱۲±۰/۰۲ <sup>Bb</sup>	۱/۳۴±۰/۰۲ <sup>Bc</sup>	۲/۰۹±۰/۰۴ <sup>Bd</sup>	۲/۱۶±۰/۰۴ <sup>Be</sup>	۲/۳۰±۰/۰۷ <sup>Bf</sup>
	۱ درصد	۰/۴۴±۰/۰۴ <sup>Aa</sup>	۰/۸۷±۰/۰۲ <sup>Bb</sup>	۱/۲۹±۰/۰۲ <sup>Cc</sup>	۱/۶۶±۰/۰۲ <sup>Cd</sup>	۱/۹۶±۰/۰۴ <sup>Ce</sup>	۲/۲۴±۰/۰۴ <sup>Cf</sup>
	۱/۵ درصد	۰/۴۵±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۰/۸۶±۰/۰۱ <sup>Bb</sup>	۱/۲۶±۰/۰۳ <sup>Cc</sup>	۱/۵۷±۰/۰۳ <sup>Cd</sup>	۱/۸۶±۰/۰۲ <sup>De</sup>	۲/۱۴±۰/۰۱ <sup>Df</sup>
بافت	شاهد	۰/۵۲±۰/۰۱ <sup>Aa</sup>	۱/۱۰±۰/۰۴ <sup>Ab</sup>	۱/۳۲±۰/۰۳ <sup>Ac</sup>	۲/۶۲±۰/۰۴ <sup>Ad</sup>	۲/۸۹±۰/۰۲ <sup>Ae</sup>	۲/۹۰±۰/۰۵ <sup>Af</sup>
	۰/۵ درصد	۰/۵۱±۰/۰۳ <sup>Aa</sup>	۰/۸۸±۰/۰۴ <sup>Bb</sup>	۱/۲۵±۰/۰۰۷ <sup>Bc</sup>	۱/۷۸±۰/۰۴ <sup>Bd</sup>	۲/۰۸±۰/۰۴ <sup>Be</sup>	۲/۲۴±۰/۰۱ <sup>Bf</sup>
	۱ درصد	۰/۵۱±۰/۰۷ <sup>Aa</sup>	۰/۷۵±۰/۰۲ <sup>Bb</sup>	۱/۲۲±۰/۰۳ <sup>Cc</sup>	۱/۶۲±۰/۰۱ <sup>Cd</sup>	۱/۶۹±۰/۰۱ <sup>Ce</sup>	۱/۸۸±۰/۰۴ <sup>Cf</sup>
	۱/۵ درصد	۰/۵۱±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۰/۷۱±۰/۰۲ <sup>Bb</sup>	۱/۲۰±۰/۰۲ <sup>Cc</sup>	۱/۵۴±۰/۰۴ <sup>Cd</sup>	۱/۶۶±۰/۰۲ <sup>Ce</sup>	۱/۷۱±۰/۰۴ <sup>Df</sup>

حروف کوچک متفاوت در هر سطر به طور جداگانه، بیانگر معنی‌دار بودن بین روزهای مختلف است ( $P < 0.05$ ).

حروف بزرگ متفاوت طی روزهای نگهداری در هر ستون به طور جداگانه، بیانگر معنی‌دار بودن بین تیمارها است ( $P < 0.05$ ).

## • بحث

### تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی بر pH:

افزایش pH تحت تأثیر تولید ترکیبات فرار مثل آمونیوم است که توسط باکتری‌های عامل فساد تولید می‌شود (۱۶). با افزایش زمان نگهداری میزان آمین‌های آزاد افزایش (۱۷) و سبب بالارفتن pH در نمونه‌ها می‌شوند که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. pH در فرآورده‌های شیلاتی به عنوان شاخص فساد تلقی می‌گردد و pH بالاتر از ۷ در گوشت ماهی نشان‌دهنده فساد است (۱۸) که تمام تیمارها در پژوهش حاضر در محدوده مجاز برای pH قرار داشتند. Ozogul و همکاران (۵) تأثیر نانومولسیون همراه با اسانس‌های رزماری، برگ بو، آویشن شیرازی بر روی ویژگی‌های شیمیایی فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را مورد بررسی قرار دادند. در پژوهش آنها نیز همانند تحقیق حاضر، pH با گذشت زمان به شکل معنی‌داری افزایش یافت و در تیمارهای دارای امولسیون گیاهی این روند افزایشی در مقایسه با شاهد مقدار کمتری را نشان داد، به شکلی که میزان این پارامتر در روز ۲۴ نگهداری ۷/۲۱ در تیمار شاهد و ۷/۱۲ در تیمار آویشن شیرازی، ۷/۱۰ در تیمار رزماری و ۷/۰۷ در تیمار برگ بو بود.

### تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی بر عدد

پراکسید: اکسیداسیون چربی باعث ایجاد بو و طعم نامطبوع در ماهی و فرآورده‌های آن می‌شود و هیدروپراکسید و رادیکال

های آزاد تشکیل شده ممکن است مستقیماً با بافت ماهی برای ایجاد کمپلکس واکنش داده و باعث فرآیند اکسیداسیون شوند (۱۹). در مطالعه‌ای نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی توانست جمعیت باکتری‌ها مثل برخی از گونه‌های سودوموناس و برخی از باکتری‌های گرم مثبت مرتبط با اکسیداسیون چربی در فیله را کاهش دهد (۲۱، ۲۰) و از این طریق سطح پراکسید در فیله در تیمارهای دارای این ترکیب کاهش یافت. حد قابل قبول پیشنهادی برای میزان پراکسید ۲۰-۱۰ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم چربی ماهی می‌باشد (۲۲). در تحقیق حاضر میزان پراکسید در تمام دوره بررسی در تمام تیمارها در محدوده مجاز قرار داشت. در مطالعه Ozogul و همکاران (۵) سطح اولیه پراکسید از ۱۸/۲۳ meq O<sub>2</sub>/ Kg در تیمار شاهد (فاقد نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی) در روز ۲۴ به ۱۶/۳۳ meq O<sub>2</sub>/ Kg در تیمار آویشن شیرازی، ۱۴/۸۵ meq O<sub>2</sub>/ Kg در تیمار رزماری و ۱۳/۶۵ meq O<sub>2</sub>/ Kg در تیمار برگ بو رسید. آنها این کاهش را نتیجه کاهش محصولات اکسیداسیون اولیه و ثانویه و همچنین واکنش هیدروپراکسید با پروتئین عنوان کردند. همچنین آن‌ها ذکر کردند که گرفتار شدن ذرات کوچک چربی درون نانومولسیون و اتصال اسانس به سطح دیواره سلولی و محصور کردن ذرات چربی، مانع از رسیدن اکسیژن به ذرات چربی شده و در نتیجه از اکسیداسیون چربی می‌کاهد. در مطالعه Ozogul و همکاران (۲۳) بر روی نانومولسیون ذرت، آفتاب‌گردان، سویا، زیتون و

برگ بو ۱/۲۱ و آویشن شیرازی ۱۰۰g/mg TVB-N (۱/۳۳) اتفاق افتاده است که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. همچنین چنین نتیجه‌ای در مطالعه Joe و همکاران (۲۹) بر روی ماکرل اقیانوس هند- آرام تحت تیمار نانومولسیون همراه با اسانس آفتاب گردان نیز مشاهده شد.

#### تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی بر اسیدهای

**چرب آزاد:** بعد از مرگ ماهی میزان اسیدهای چرب آزاد گوشت ماهی افزایش می‌یابد. از این رو اندازه‌گیری میزان اسیدهای چرب آزاد شاخص خوبی برای بیان اثر آنزیم‌های لیپولیتیک بر چربی ماهی هستند، زیرا این آنزیم‌ها استرهای اسید چرب را کاتالیز می‌کنند که این امر منجر به تشکیل اسیدهای چرب آزاد می‌شود که در فرآیند اکسیداسیون چربی شرکت کرده و با افزایش اکسیداسیون چربی، سبب گسترش طعم نامطلوب، تسریع در فساد، کاهش کیفیت محصول و داناتوره شدن پروتئین می‌شوند (۳۰). بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده با کاهش سطح اکسیژن در مجاورت بافت فیله، روند اکسیداسیون را کاهش می‌دهد (۳۱) که این موضوع در حضور نانومولسیون را می‌توان دلیل برتری این تیمار اعلام کرد. در ماهیان میزان ۲۰-۱۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نشان دهنده کیفیت مطلوب و میزان ۵۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نشان دهنده کیفیت پایین می‌باشد (۳۲) که در تمام تیمارها میزان اسیدهای چرب آزاد از حد مجاز تعیین شده کمتر بود. در مورد تیمار شاهد این امر را می‌توان به بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده مرتبط دانست. Mastromatteo و همکاران (۶) نشان دادند استفاده از بسته‌بندی و ترکیبات طبیعی به صورت مجزا و نیز با هم، موجب کندتر شدن تشکیل اسیدهای چرب آزاد می‌شود (۶) که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. در مطالعه Ozogul و همکاران (۲۳) نانومولسیون اسانس‌های گیاهی سبب کندتر شدن فرآیند هیدرولیز شدن چربی شد. همچنین Yazgan (۲۴) در بررسی که بر روی مقدار اسیدهای چرب آزاد در فیله سیم دریایی (*Abramis brama*) و باس دریایی (*Latea calcarifer*) انجام دادند، عنوان کردند نانومولسیون روغن آفتاب‌گردان میزان اسیدهای چرب هیدرولیز شده را پایین‌تر از شاهد نگهداشته است که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد.

#### تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی بر بازهای

**نیتروزنی فرار:** مجموع بازهای نیتروزنی فرار، شاخصی برای ارزیابی تازگی ماهی هستند (۳۳). مقدار این پارامتر به دلیل

فندق بر روی کیفیت شیمیایی فیله باس دریایی عنوان شد در تیمارهای نانومولسیون اسانس سویا به دلیل حضور مواد آنتی-اکسیدانی و مهارکننده رادیکال‌های آزاد و نیز ساختار نانومولسیون، اکسیداسیون چربی با سرعت کمتری در مقایسه با شاهد اتفاق افتاد. چنین نتیجه‌ای در مطالعه Yazgan (۲۴) بر روی تغییرات پراکسید در فیله سیم دریایی و باس دریایی تحت تیمار با نانومولسیون روغن آفتاب گردان نیز دیده شد.

#### تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی بر اسید

**تیوباربیتوریک:** اسید تیوباربیتوریک شاخصی برای ارزیابی درجه اکسیداسیون چربی است که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به ویژه آلدهیدها (مالون‌آلدهید) را نشان می‌دهد (۲۵). محصولات اولیه اکسیداسیون چربی، هیدروپراکسیدها هستند که ترکیباتی ناپایدارند و نقشی در طعم نامطلوب ماهی ندارند، ولی پس از تجزیه موادی شامل آلدهیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، استرها، فوران‌ها و لاکتون‌ها را به وجود می‌آورند که مسبب طعم نامطلوب می‌شوند (۲۱). Tarladgis و همکاران (۲۶) مقدار بالاتر از ۴-۳ میلی‌گرم تیوباربیتوریک اسید در کیلوگرم گوشت ماهی را به عنوان افت کیفیت آن به حساب می‌آورند (۲۶) که با توجه به نتایج روز پانزدهم تمام تیمارها در محدوده مجاز برای این پارامتر قرار داشتند، که نشان می‌دهد نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی به خوبی توانسته اکسیداسیون چربی در فیله ماهی کپور نقره‌ای را کنترل کند. همچنین میزان مجاز تیوباربیتوریک اسید در گوشت ماهی جهت مصرف انسانی ۸-۷ میلی‌گرم مالون‌آلدهید در کیلوگرم می‌باشد (۲۷) که با توجه به این استاندارد تمام نمونه‌ها برای مصرف انسانی مناسب هستند، که این امر با توجه به بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده و نیز استفاده از نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی قابل توجیه است. Kostaki و همکاران (۲۸) در بررسی تأثیر اسانس آویشن شیرازی (۲ درصد) و سیستم بسته‌بندی با اتمسفر تغییر یافته عنوان کردند که این دو عامل با هم توانستند سبب کاهش سطح TBA شوند. Ozogul و همکاران (۵) تأثیر نانومولسیون اسانس‌های رزماری، برگ بو، آویشن شیرازی بر روی ویژگی‌های حسی، شیمیایی و میکروبیولوژی فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) را بررسی کردند که در تیمار شاهد به علت سرعت بالاتر اکسیداسیون، تخریب چربی با سرعت بسیار بیشتری در مقایسه با تیمارهای نانومولسیون (در تیمار شاهد ۱/۷۷ و در تیمارهای امولسیون رزماری ۱/۲۰،

توانست تا روز ۱۲ بر روی جمعیت باکتریایی تأثیر مهارکنندگی داشته و فیله کپور نقره‌ای را در وضعیت مطلوب نگه دارد و در روز ۱۵ تمام تیمارها بار میکروبی بالاتری از استاندارد داشتند. در مجموع تیمار نانومولسیون ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی تا روز نهم توانستند بار میکروبی فیله را در محدود مجاز نگه دارند. Moghimi و همکاران (۳۶) فعالیت ضدباکتریایی نانومولسیون اسانس (*Salvia officinalis*) علیه برخی از پاتوژن‌های غذایی (*Escherichia coli*, *Shigella dysentery*, *Salmonella typhi*) را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که رشد پاتوژن‌های مورد بررسی بعد از استفاده از اسانس به دلیل تخریب دیواره سلولی کاهش یافت و آنها این مکانیسم را عامل اصلی عملکرد اسانس در کاهش بار میکروبی دانستند که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. آویشن شیرازی یکی از مهم‌ترین گیاهانی است که به دلیل داشتن ترکیبات فنلی دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی قابل توجهی است که عمده‌ترین آنها شامل ترپن، کارواکرول و تیمول است که نشان می‌دهد نتیجه بدست آمده در تحقیق حاضر با نتایج Goulaz و Kontominaz (۳۷) هم‌خوانی دارد. نتایج این تحقیق با نتایج مطالعه Ozogul و همکاران (۵) بر روی نانومولسیون آویشن شیرازی در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان نیز هم‌خوانی دارد، زیرا در بررسی آن‌ها نیز تیمار نانومولسیون آویشن شیرازی در مقایسه با شاهد در پایان ۲۴ روز نگهداری بار میکروبی پایین‌تری را نشان داد و توانست تا روز هفدهم بار باکتریایی فیله کپور معمولی را در محدود استاندارد نگه دارد.

**تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی بر ارزیابی حسی فیله ماهی:** ارزیابی حسی به عنوان یکی از روش‌های سنجش کیفیت ماهیان طی دوره نگهداری و از آن به عنوان روشی جهت برآورد کیفیت ماهی استفاده می‌شود (۴۲، ۳۸). در تیمار شاهد، در روزهای مورد مطالعه از نظر فاکتور بو تفاوت معنی‌دار آماری مشاهده گردید ( $p < 0/05$ ) ولی در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌دار آماری دیده نشد ( $p > 0/05$ ). اما از روز سوم به بعد تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارهای مختلف مشاهده گردید ( $p > 0/05$ ). فیله‌های ماهی از نظر فاکتور بو از روز ششم به بعد نتوانستند امتیاز خوبی را کسب کنند. از نظر فاکتور رنگ از روز سوم به بعد هم بین تیمارها و هم بین روزهای مختلف مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار آماری دیده شد ( $p < 0/05$ ). تیمار ۰/۵ درصد نانومولسیون اسانس

فعالیت باکتری‌های عامل فساد (۳۵، ۳۴) و آنزیم‌های داخلی افزایش می‌یابد (۳۷، ۳۶). ترکیبات فرار بازی که در این مجموعه قرار می‌گیرند شامل متیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین، تری‌متیل‌آمین و آمونیاک هستند که سبب ایجاد طعم نامناسب در ماهی می‌شوند (۳۸). همچنین دامیلاسیون اسیدهای آمینه نیز عاملی برای افزایش این پارامتر محسوب می‌شود (۳۹).

Goulaz و Kontominaz (۳۷) در بررسی که بر روی سیم دریایی بسته‌بندی در شرایط اتمسفر اصلاح شده انجام دادند، عنوان کردند که نمک‌های آلی به همراه اسانس پونه، باعث افزایش زمان ماندگاری و کاهش سطح بازهای نیتروژنی فرار شد که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. در بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته، اکسیژن توسط گازهای دی‌اکسیدکربن و ازت جایگزین و این امر عاملی برای کند شدن فعالیت و رشد میکروارگانیسم‌ها محسوب می‌شود (۴۱، ۴۰). با توجه به اینکه TVB-N به طور عمده در اثر تجزیه باکتریایی گوشت ماهی ایجاد می‌شود، افزایش بار باکتریایی در طول دوره دلیلی بر افزایش آن است که در تحقیق حاضر نیز همان‌طور که پیش از این ذکر شد بار میکروبی به شکل معنی‌داری در طول دوره نگهداری افزایش معنی‌دار پیدا کرد ( $P < 0/05$ ). حد مجاز بیان شده برای بازهای نیتروژنی فرار ۳۵-۳۰ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه (۵) بیان شده است که با توجه به مقدار این پارامتر در روز پانزدهم فقط تیمار نانومولسیون ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی در محدوده مجاز قرار داشت و سایر تیمارها مقدار TVB-N بالاتر از حد مجاز را نشان دادند. میزان TVB-N در تیمار ۱ درصد نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی تا روز دوازدهم و در تیمار ۰/۵ درصد نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی تا روز نهم در محدوده مجاز قرار داشت. نتایج Ozogul و همکاران (۲۳) نشان داد که در تیمارهای دارای نانومولسیون گیاهی به ویژه در تیمار رزماری، مقدار TVB-N در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت.

**تأثیر نانومولسیون اسانس آویشن شیرازی بر کل باکتری‌های زنده:** با توجه به اینکه میزان بار اولیه میکروبی در ماهیان آب شیرین بسته به دما و وضعیت آب تغییر می‌کند، محدوده بین  $\text{Log CFU/g}$  ۶-۲ برای شمارش کل باکتری‌های اولیه در گونه‌های مختلف آب شیرین نظیر تیلپیا، باس راهراه، قزل‌آلای رنگین‌کمان و سوف نقره‌ای پیشنهاد شده است (۳۵-۳۳) که با توجه به نتایج بدست آمده از این مطالعه فقط در تیمار نانومولسیون ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی

عنوان کردند که کیفیت فیله با استفاده از نانوامولسیون‌ها بهبود یافت. در مطالعه آنها، آنالیز ویژگی‌های حسی نشان داد، نانوامولسیون‌ها ماندگاری فیله باس دریایی را از ۸ روز به ۱۰ روز افزایش دادند. همچنین در بررسی آنها کاهش کیفیت فیله با افزایش زمان نیز مشاهده شد. در مطالعه Ozogul و همکاران (۵) پارامترهای رنگ، بو و بافت در تیمار نانوامولسیون آویشن شیرازی امتیاز بالاتری داشتند که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد.

#### نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد اسانس نانوامولسیون گیاه آویشن شیرازی به عنوان یک ماده نگهدارنده طبیعی عمل کرده و ضمن حفظ ویژگی‌های کیفی فیله، آهنگ افزایش سطح پارامترهای بیوشیمیایی (FFA, PV, TVB-N, TBA, pH) و سرعت رشد باکتری‌ها را کاهش داد. در میان تیمارهای مورد بررسی تیمار امولسیون ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی بالاترین کارایی را داشت و توانست ماندگاری فیله کپور نقره‌ای تا روز دوازدهم (۴ روز بیشتر از تیمار شاهد) افزایش دهد.

توانست تا روز ششم رنگ فیله‌ها را حفظ کند در حالی که تیمارهای ۱ و ۱/۵ درصد نانوامولسیون اسانس توانستند تا روز ۱۲ امتیاز کسب کنند. از نظر فاکتور بافت، تیمار شاهد از روز نهم به بعد نتوانست کیفیت فیله‌ها را نگه دارد، درحالی که تیمار ۰/۵ درصد سه روز بیشتر امتیاز کسب کرد ( $p > 0.05$ ). تیمار ۱/۵ درصد نانوامولسیون اسانس شیرازی از نظر بافت توانست تا روز آخر مطالعه امتیاز خوبی به دست آورد ولی از نظر بو و رنگ این ویژگی را نداشت.

Mastromatteo و همکاران در بررسی که بر روی اثر بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده و عصاره آبی چای سبز بر عمر ماندگاری گوشت چرخ شده کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) انجام دادند (۶)، تیمارهای دارای عصاره و بسته‌بندی شده در اتمسفر اصلاح شده، امتیاز کیفی بالاتری کسب کردند که با توجه به این موضوع در مورد دو تیمار نانوامولسیون ۱ و ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی در مورد بو و بافت صادق است، اما به نظر می‌رسد سطح ۰/۵ درصد اسانس نانوامولسیون نتوانسته است کیفیت فیله کپور را در حد مطلوب حفظ کند. Ozogul و همکاران (۲۳)

## References

- Huang JY, Li X, Zhou W. Safety assessment of nano-composite for food packaging application. *Trend Food Sci Technol* 2015; 45: 187-199.
- Metak AM, Nabhani F, Connolly SN. Migration of engineered nanoparticles from packaging into food products. *LWT – Food Sci Technol* 2015; 64:781-787.
- Handford CE, Dean M, Spence M, Henchion M, Elliott CT, Campbell K. Awareness and attitudes towards the emerging use of nanotechnology in the agri-food sector. *Food Control* 2015; 57: 24-34.
- Al-Adham IS, Khali IE, Al-Hmoud ND, Kierans M, Collier PJ. Microemulsions are membrane-active, antimicrobial, self-preserving systems. *J Appl Microbiol* 2000; 89 (1):32-39.
- Ozogul Y, Yuvka I, Ucar Y, Durmus M, Kosker D, Mustafa O, Ozogul F. Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. *LWT – Food Sci Technol* 2017; 75: 677- 684.
- Salvia-Trujillo M, Rojas-Graü MA, Soliva-Fortuny R, Martín-Belloso O. Effect of processing parameters on physicochemical characteristics of microfluidized lemongrass essential oil-alginate nanoemulsions. *Food Hydrocolloids* 2013; 30: 401-407.
- Prakash A, Baskaran R, Paramasivam N, Vadivel V. Essential oil based nanoemulsions to improve the microbial quality of minimally processed fruits and vegetables: A review. *Food Research International* 2018; 111: 509-523.
- Donsi F, Ferrari G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. *Journal of Biotechnology* 2016; 233: 106-120.
- Ligor M, Stankevicius M, Wenda-Piesik A, Obelevicius K, Rega Zinskiene O, Zydrunas Stanius Z. Comparative gas chromatographic mass spectrometric evaluation of hop (*Humulus lupulus*) essential oils and extracts obtained using different sample preparation methods. *Food Anal Method* 2014; 7: 1433-1442.
- Gosh V, Mukherjee A, Chandrasekaran N. Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. *Ultrasonic Sono-chemistry* 2013; 20: 338-344.
- Parvaneh V. *Quality Control and Food Chemistry*. Tehran Publications; 1998:325.
- Pearson D. *Laboratory techniques food analysis*, Butter Worth. London, UK; 1997: pp. 256-270.

13. AOAC. Fatty acids (free) in crude and refined oils, titration method. Official methods of analysis. 15<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington; 1990: 940.
14. National Iranian Standard. Microbiology, Application of General Methods of Microbiological Tests. Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2001: 23-25.
15. Yousefi AR, Moosavi-Nasab M, Govahian M. Investigation and comparison of some physicochemical and sensory properties of produced sausage from minced meat and surimi of Talang Queenfish (*Scomberoides commersonianus*). Iranian J Sci Fish 2012; 22: 157-170.
16. Kashiri H, Haghparast S, Shabanpour B. Effects of Sodium Salt Solutions (Sodium Acetate, Lactate and Citrate) on Physico-chemical and Sensory Characteristics of Persian Sturgeon (*Acipenser persicus*) Fillets under Refrigerated Storage. J Agric Technol 2011; 13: 89-98.
17. Hedayatifard M, Aroujalian AR. Improvement of shelflife for stellate sturgeon fillet, *Acipenser stellatus*, under Modified Atmosphere Packaging (MAP) and vacuum conditions. Iranian Sci Fish J. 2010; 127-140.
18. Ozogul Y, Uçar Y. The effects of natural extracts on the quality changes of frozen chub mackerel (*Scomber 72aponicas*) burgers. Food Bioprocess Technol 2013; 6: 1550-1560.
19. AL- Bulushi IM, Kasapis S, AL- Oufi H, AL-Mamari S. Evaluating the quality and storage stability of the fish burgers during frozen storage. J Fish Sci 2005; 71: 648- 654.
20. Faghani Langroudi H, Soltani M, Kamali K, Ghomi MR, Hoseini SE, Benjakul, S, Heshmatipour Z. Effect of *Listeria monocytogenes* inoculation, 72odium acetate and nisin on microbiological and chemical quality of grass carp *Ctenopharyngodon idella* during refrigeration storage. African J Biotechnol 2011; 10(42): 8484-8490.
21. Shirazinejad AR, Noryati I, Rosma A, Darah I. Inhibitory effect of lactic acid and nisin on bacterial and spoilage of chilled shrimp. World Academy Sci Eng Technol 2010; 65:163-167.
22. 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: 193-198.
23. Ozogul Y, Durmus M, Ucar Y, Ozogul F, Regenstein JM. Comparative study of nanoemulsion based on commercial oils (sunflower, canola, corn, olive, soybean and hazelnut oils): effect on microbial, sensory and chemical quality of refrigerated farmed sea bass. Innov Food Sci Emerg Technol 2016; 33: 422-430.
24. Yazgan H. Effects of nanoemulsion based on sunflower oil on sensory, chemical and microbiological quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*) stored at chilled temperature. Ph. D. Thesis. Adana, Turkey: Institute of Natural and Applied Sciences, Cukurova University. 2013.
25. Nishimoto J, Suwetja IK, Miki H. Estimation of keeping freshness period and practical storage life of mackerel muscle during storage at low temperatures. Memoirs of the Faculty of fisheries Kagoshima University 1985; 34 (1): 89-96.
26. Tarladgis BG, Watts BM, Jonathan M. Distillation method for the determination of malonaldehyde in rancid foods. J American Oil Chem Soci 1969; 37: 44-48.
27. Schormuller J. Handbuch der lebensmittel chemie. Band IV. Fette und 72ipoid (LIPIDS), Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin, 1969; 872-878.
28. Kostaki M, Giatrakou V, Savvaidis IN, Kontominas MG. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. Food Microbiol 2009; 26: 475-482.
29. Joe MM, Chauhan PS, Bradeeba K, Shagol C, Sivakumaar PK, Sa T. Influence of sunflower oil based nanoemulsion (AUSN-4) on the shelf life and quality of Indo-Pacific king mackerel (*Scomberomorus guttatus*) steaks stored at 20 °C. Food Control 2012; 23:564-570.
30. Zolfaghari M, Shabanpour B, Falahzadeh S. Study of trend of chemical and microbial changes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to determine its optimum shelf-life during storage in refrigerator temperature (4°C). J Natural Environ 2011; 64: 107-119.
31. Hudecová K, Buchtová H, Steinhäuserová I. The effects of modified atmosphere packaging on the microbiological properties of fresh common carp (*Cyprinus carpio* L.). Acta Vet Brno 2010; 79: 93-100.
32. Connell JJ. Quality deterioration and extrinsic quality defects in raw material, *In: Control of fish Quality*, Fishing News Books Ltd. Surrey, England. 1995; 31-35.
33. Hamouda T, Hayes MM, Cao ZH, Johnson K, Wright DC, Brisker J. A novel surfactant nanoemulsion with broad-spectrum sporicidal against *Bacillus* species. J Infect Diseases 1999; 180: 1939-1949.
34. Gelman A, Glatman L, Drabkin V, Harpaz S. Effects of storage temperature and preservative treatment on shelf life of the pond raised freshwater fish, silver perch (*Bidyanus bidyanus*). J Food Protet 2001; 64: 1584-1591.
35. Rezaei M, Hosseini S. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. J Food Sci 2008; 73: 6-93.
36. Moghimi R, Aliahmadi A, McClements DJ, Rafati H. Investigations of the effectiveness of nanoemulsions from sage oil as antibacterial agents on some food borne pathogens. LWT – Food Sci Technol 2016; 71: 69-76.

37. Goulas AE, Kontominas MG. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelflife of sea bream biochemical and sensory attributes. *Food Chem* 2007; 100: 287-296.
38. Özogul F, Polat A, Özogul Y. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Chem* 2004; 85: 267-273.
39. Ruiz-Capillas C, Moral A. Sensory and biochemical aspects of quality of whole bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. *Food Chem* 2005; 89: 347-354.
40. Pacheco-Aquilar R, Lugo-Sanchez ME, Robles-Burgueno MR. Post mortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0 °C. *J Food Sci* 2000; 65 (1): 40-47.
41. Sivertsvik M, Jeksrud WK, Rosnes JT. A review of atmosphere packaging of fish and fishery products: significance of microbial growth, activities and safety. *InterJ Food Sci Technol* 2002; 37: 107-127.
42. Chime SA, Kenechukwu FC, Attama AA. Chapter 3: Nanoemulsionsadvances in formulation, characterization and applications in drug delivery. In Sezer Ali Demir (Ed.). 2014; <http://dx.doi.org/10.5772/58673>.

## Effects of *Zataria multiflora* Essential Oil Nanoemulsion on Chemical, Microbial and Sensory Properties of Silver Carp Fillets

Khedri N<sup>1</sup>, Roomiani L<sup>\*2</sup>

1- Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

2- \*Corresponding author: Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

Email: l.roomiani@yahoo.com

Received 9 Jun, 2018

Accepted 12 Sept, 2018

**Background and Objectives:** Food industries are searching newer and cheaper ways to safely produce and storage foods. Nanotechnology offers several options for the production, encapsulation and emulsion of foods. The aim of this study was to investigate effects of nanoemulsion of *Zataria multiflora* essential oil on microbial, chemical and sensory properties of silver carp fillets.

**Materials & Methods:** In general, effects of four treatments of 1) fillet without nanoemulsion of *Z. multiflora* essential oil (control), treatment; 2) 0.5% nanoemulsion of *Z. multiflora* essential oil, treatment; 3) 1% nanoemulsion of *Z. multiflora* essential oil and treatment; and 4) 1.5% nanoemulsion of *Z. multiflora* essential oil on microbial and chemical parameters of silver carp fillets were investigated trice on Days 0, 3, 6, 9, 12 and 15 at refrigerator temperature.

**Results:** With increasing *Z. multiflora* essential oil nanoemulsion, the chemical indices (pH, TVB-N, TBA, PV and FFA) decreased. Microbial count in all treatments, except for 1.5% *Z. multiflora* essential oil nanoemulsion, crossed the eligible limit ( $10^7$  Log cfu/g) on Day 15. For sensory evaluation 1.5 and 1% of treatments of *Z. multiflora* essential oil nanoemulsion included higher qualities. In all four treatments, the color index included bright brown. Results have shown that *Z. multiflora* essential oil nanoemulsion acts as a natural preservative and increases biochemical parameters (pH, TBA, TVB-N, PV and FFA) while preserving qualitative characteristics of the fillets. Furthermore results demonstrated that the bacterial growth rate was slowed down.

**Conclusion:** Treatment of 1.5% *Z. multiflora* essential oil nanoemulsion included the highest efficiency and increased shelf life of the silver carp fillets by 12 (4 days longer than the control).

**Keywords:** Nanoemulsion, *Zataria multiflora* essential oil, Silver carp