

بررسی اثر اسانس نانولیپوزومی زیره سبز بر ماندگاری فیله شترمرغ تازه در شرایط بسته‌بندی معمولی و اتمسفر اصلاح شده

لیلا نیک روان^{۱*}، رویا ذکاوتی^۲، سروش آخوندزاده^۳، سبا بنیادی دهکردی^۴

۱- گروه دامپزشکی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

۲- گروه میکروبیولوژی، دانشکده مامایی و پرستاری، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، خوزستان، ایران

۳- دانش آموخته، گروه دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

۴- دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

*نویسنده مسئول: ۱۷۵۷۲۰۱۱۵۷@iaui.ir

چکیده

طی سال‌های اخیر، تولیدکنندگان مواد غذایی به منظور افزایش مدت زمان نگهداری گوشت در دمای پایین، توجه ویژه‌ای به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی با منشأ گیاهی به جای نگهدارنده‌های شیمیایی در محصولات خود نموده‌اند. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر اسانس نانولیپوزومی زیره سبز بر ماندگاری فیله شترمرغ تازه در شرایط بسته‌بندی معمولی و اتمسفر اصلاح شده است. بدین منظور نمونه‌ها به طور تصادفی در ۶ گروه تقسیم و تیمارهای مورد نظر با ۳ تکرار به دو صورت (معمولی و MAP) تهیه شد. نمونه‌های گوشت درون محلول‌های مورد نظر جهت غوطه‌وری قرار گرفت. سپس هر قطعه گوشت به طور جداگانه در یک ظرف پلی اتیلنی استریل شده به وسیله ی اشعه ی UV قرار و در انتها با استفاده از بسته‌بندی معمولی و بسته‌بندی تحت شرایط MAP در پوشش مخصوص دستگاه MAP تهیه شد و بسته‌ها در یخچال با دمای 4 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. آزمایش‌ها در روزهای (۰، ۳، ۹، ۱۵، ۲۱ و ۲۷) انجام و آنالیزهای میکروبی شامل (شمارش باکتری‌های مزوفیل، سرما دوست، اسید لاکتیک و کپک و مخمر و آزمون‌های و شیمیایی شامل (ازت آزاد فرار، تیوباریتوریک اسید، پراکسید و pH) بر روی نمونه‌ها انجام شد. نتایج نشان داد استفاده از اسانس زیره سبز موجب کاهش بار میکروبی باکتری‌های هوازی کل، کپک و مخمر، باکتری‌های لاکتیک اسید و باکتری‌های سایکروفیل شد و اسانس‌های به فرم نانولیپوزوم کارایی بالاتری را در کاهش بار میکروبی در تمام میکروارگانیسم‌های بررسی شده داشت. پارامترهای مرتبط به اکسیداسیون گوشت شترمرغ نیز نشان داد که نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم و نگهداری شده در اتمسفر تعدیل یافته در روزهای ابتدایی نگهداری کمترین میزان پارامترهای اندیس تیوباریتوریک اسید، pH، اندیس پراکسید و نیتروژن فرار کل را داشت.

کلمات کلیدی: اتمسفر اصلاح شده، اسانس زیره سبز، فیله شتر مرغ، نانولیپوزوم، ماندگاری

مقدمه

واژه «meat» به طور معمول به تمام بخش‌های مصرف‌شدنی حیواناتی گفته می‌شود که برای تولید غذای موردنیاز انسان استفاده می‌شوند؛ بنابراین گوشت مجموعه‌ای از بافت‌های عضلانی - اسکلتی لاشه ی دام و طیور کشتاری است که با بافت‌های چربی و پیوندی مربوطه همراه است و از جمله مهم‌ترین منابع پروتئینی به شمار می‌رود و غنی از اسیدهای آمینه ضروری برای بدن، مواد معدنی مانند آهن و روی، انواع ویتامین‌ها و همچنین انرژی کافی است که سبب می‌شود تا در زمره بهترین و کامل‌ترین مواد غذایی طبقه‌بندی شود. اما مهم‌ترین چالش گوشت، فسادپذیری زیاد آن است که از جنبه سلامت و کیفیت آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. شترمرغ بزرگ‌ترین پرند زنده و متعلق به خانواده سینه پنهان است و در بیشتر کشورهای جهان به‌منظور تولید گوشت پرورش می‌یابد گوشت شترمرغ به‌جای اینکه شبیه مرغ باشد، گوشت قرمز است و از نظر طعم و بافت بسیار شبیه گوشت گاو است.

گوشت شترمرغ به‌عنوان یکی از بهترین گوشت‌های قرمز سالم به بازار عرضه می‌شود؛ چون دارای اسیدهای چرب اشباع نشده بالا، میزان اسیدهای چرب اشباع کم و سطح کلسترول پایین در مقایسه با گوشت قرمز، مانند گوشت گاو است، درحالی‌که طعم آن شبیه گوشت گاو بدون چربی است. طی چندین سال، جهت افزایش مدت‌زمان نگهداری در دماهای پایین، افزودنی‌های سنتزی زیادی بکار گرفته شده‌اند (Hyldgaard et al., ۲۰۱۲). افزودنی‌های سنتزی دارای خواص سرطان‌زایی و سمیت بسیار زیادی هستند؛ بنابراین به منظور کاهش نگرانی‌های مصرف‌کنندگان از مصرف چنین افزودنی‌های مضر، تقاضا جهت گوشت و محصولات گوشتی سالم و بدون ضرر استفاده از افزودنی‌های غذایی طبیعی افزایش یافته است. ماندگاری گوشت به طور قابل‌ملاحظه‌ای متأثر از نحوه ذبح و کیفیت استحصال و عرضه گوشت است چرا که در طی این مراحل بار میکروبی اولیه گوشت در نتیجه آلودگی با پوست دام، محتویات روده و آب مورد استفاده در ذبح و استحصال دام در ایران در کشتارگاه‌های سنتی انجام می‌شود. در دهه اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی توجه زیادی به استفاده از مواد نگهدارنده‌های طبیعی با منشأ گیاهی به‌جای نگهدارنده‌های شیمیایی و خطرناک در محصولات خود نموده‌اند. بیشتر اسانس‌های گیاهی به دلیل داشتن ترکیبات فیتوشیمیایی از قبیل

ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی نشان می‌دهند. ترکیبات پلی‌فنولی انواعی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که در جلوگیری از بیماری‌های مختلف از جمله سرطان‌ها نقش دارند، این ترکیبات بسیار متنوع و زیاد هستند و اثرات متفاوتی دارند که با بهره‌گیری از این خصوصیت‌ها، محققین سعی درافزایش مدت‌زمان ماندگاری گوشت‌های مختلف و تازه دارند. (Aalami et al, ۲۰۰۱, ۲۰۰۲).

مواد و روش‌ها

گوشت شترمرغ، محیط کشت پپتون واتر محیط کشت پلیت کانت آگار، محیط YGC آگار، محیط کشت MRS، محلول تری کلرو استیک اسید ۱۰ درصد، محلول سود یک نرمال، محلول اسید استیک، اسید بوریک ۲ درصد، محلول تیوباربتوریک اسید ۰/۲ درصد، معرف توشیرو (حاوی ۰/۱ درصد متیل رد و ۰/۱ درصد بروموکروزول گرین در اتانول می‌باشد)، کاتالیزور اکسید منیزیم، گلیسرین، اسانس زیره سبز (اسانس روغنی، شرکت باریج)، پلی سوربات، اتانول ۹۶ درجه، فسفاتیدیل کولین، کلسترول، یدورپتاسیم، کلروفرم، هیپوسولفیت سدیم، متانول، آب مقطر

وسایل موردنیاز

دستگاه بسته‌بندی MAP (کیان صنعت، ایران)، دستگاه استومیکر، دستگاه همزن برقی (مخلوط‌کن، پارس خزر)، همزن مغناطیسی، آون، ترازوی دیجیتالی، دستگاه کلدال اتوماتیک (بخشی، ۷۴۰، ایران)، دستگاه ماکروکلدال، دستگاه روتاری، دستگاه طیف‌سنج نوری pH متر دیجیتالی، دستگاه روتاری، پلاستیک بسته‌بندی MAP پلی‌اتیلنی (مهراتراپلاست، ایران)، کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱، کیسه پلاستیکی استریل، پلیت استریل، پلیت شیشه‌ای، استوانه مدرج، ارلن ۲۵۰ و ۵۰۰ سی‌سی، بورت، پنس و قیچی استریل، استوانه مدرج استریل، اتوکلاو، انکوباتور، آون، پرل شیشه‌ای، بالن شیشه‌ای، پنبه، سمپلر، سرسمپلر ۱۰۰ و ۱۰۰۰ لاند استریل

تهیه فیله شترمرغ و تیمارها

به میزان کافی فیله شترمرغ تازه باتوجه‌به تاریخ کشتار روز از بازار تهیه شد. فیله‌ها با وزن ۱۲۰-۱۰۰ گرم جهت عملیات تیمارها آماده‌سازی شدند. بدین ترتیب که پس از شست‌وشوی فیله‌ها با آب

۴- تیمار فیله شترمرغ تازه بسته‌بندی شده تحت اتمسفر اصلاح یافته

۵- تیمار فیله شترمرغ تازه حاوی اسانس زیره سبز بسته‌بندی شده تحت اتمسفر اصلاح یافته

۶- تیمار فیله شترمرغ تازه حاوی نانولیپوزوم اسانس زیره سبز بسته‌بندی شده تحت اتمسفر اصلاح یافته

نمونه‌برداری و انجام آزمون‌ها

نمونه‌برداری و انجام آزمایش‌ها در زمان‌های مشخص ۰، ۳، ۹، ۱۵، ۲۱ و ۲۷ روز انجام و آنالیزهای میکروبی و شیمیایی به شرح ذیل بر روی نمونه‌ها انجام خواهد گرفت. نمونه‌برداری به‌صورت کاملاً تصادفی و آزمایش‌ها با ۳ بار تکرار انجام خواهند شد (محمدی و همکاران، ۱۳۹۵).

آزمون‌های میکروبی

شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل

بدین منظور ۱۰ گرم از نمونه فیله شترمرغ به ۹۰ میلی لیتر پپتون-آب ۰.۱٪ اضافه خواهد شد و در مخلوط کن به مدت ۳ دقیقه میکس خواهد شد. سپس نسبت به تهیه سریال رقت‌های ده تایی اقدام می‌گردد. سپس ۰/۱ میلی لیتر از هر سریال رقت ده تایی نمونه به پلیت جداگانه حاوی محیط کشت استاندارد پلیت کانت آگار اضافه و به‌صورت کشت سطحی اقدام خواهد شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه خواهند شد و سپس نسبت به شمارش تعداد کلنی‌ها اقدام خواهد شد (APHA et al., ۱۹۹۲).

شمارش کلی باکتری‌های سرمادوست

به منظور شمارش باکتری‌های مزوفیل، مقدار ۱۰ گرم از نمونه فیله شترمرغ توزین و به ۹۰ میلی لیتر پپتون-آب ۰.۱٪ اضافه خواهد شد و توسط مخلوط کن به خوبی مخلوط خواهد شد. از سوسپانسیون تهیه شده برای تهیه رقت‌های سریالی ده‌تایی استفاده می‌شود. سپس مقدار ۰/۱ میلی لیتر از هر نمونه به پلیت حاوی محیط کشت استاندارد پلیت کانت آگار اضافه و به‌صورت کشت سطحی اقدام خواهد شد. پلیت‌ها به مدت ۷ روز در دمای

فراوان، آن‌ها را جهت آب‌کشی بر روی آبکشی‌های پلاستیکی که از قبل با اشعه UV استریل شده‌اند قرار دادند تا آب اضافی آن‌ها خارج شود. سپس فیله‌ها در ۴ گروه تقسیم کرده و تیمارهای موردنظر را به شرح ذیل بر روی آن‌ها انجام گرفت (لنگرودی و همکاران ۱۳۹۶).

آماده سازی نانولیپوزوم حاوی اسانس زیره سبز

اسانس زیره سبز از طریق شرکت باریج اسانس تهیه خواهد شد. برای تولید نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس زیره سبز از روش ethanol injection استفاده می‌شود. ابتدا ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر فسفولیپید، ۵ میلی گرم بر میلی لیتر کلسترول و مقادیر موردنظر از غلظت اسانس زیره سبز در ۱۰ میلی لیتر اتانول حل می‌گردد و توسط همزن مغناطیسی هم زده می‌شود. سپس به داخل ۲۰ میلی لیتر فاز آبی که بر روی همزن مغناطیسی با دور rpm ۴۰۰ قرار دارد، تزریق شد. پس از تشکیل لیپوزوم‌ها، محلول به مدت ۱۵ دقیقه دیگر بر روی هم زن هم زده شد و در نهایت با استفاده از روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، فاز آبی و اتانول جدا گردید. سوسپانسیون حاوی اسانس نانولیپوزومی در دمای یخچال نگهداری شد (Sebaaly et al., ۲۰۱۵).

تیمار سازی

با در نظر گرفتن یک گروه شاهد برای هر نوع بسته‌بندی (معمولی و MAP)، نمونه‌ها به طور تصادفی در ۶ گروه تقسیم و تیمارهای موردنظر با ۳ تکرار به شرح ذیل روی آن‌ها انجام می‌شود. پس از بیرون آوردن نمونه‌ها از محلول‌های مورد استفاده جهت غوطه‌وری، کلیه ی نمونه‌ها مدتی در زیر هود قرار خواهند گرفت تا خشک شوند. سپس هر قطعه گوشت به طور جداگانه در یک ظرف پلی‌اتیلنی استریل شده به وسیله ی اشعه ی UV قرار داده شده نسبت به بسته‌بندی معمولی و بسته‌بندی تحت شرایط MAP در پوشش مخصوص دستگاه MAP اقدام می‌گردد و بسته‌ها در یخچال با دمای 4 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند.

- ۱- تیمار فیله شترمرغ تازه بسته‌بندی شده معمولی
- ۲- تیمار فیله شترمرغ تازه حاوی اسانس زیره سبز بسته‌بندی شده معمولی
- ۳- تیمار فیله شترمرغ تازه حاوی نانولیپوزوم اسانس زیره سبز بسته‌بندی شده معمولی

نموده و با محلول هیپو سولفیت سدیم ۱/۵۰۰ نرمال تیترا گردید. عدد پراکسید عبارت است از مصرف هیپوسولفیت سدیم برحسب سانتی متر مکعب که هرگاه این عدد در ۲ ضرب گردد. عدد پراکسید برحسب میلی اکسی والان پراکسید برای هزار گرم ماده چربی به دست می آید (Coban, O. ۲۰۱۷).

اندازه گیری میزان ازت آزاد فرار

برای اندازه گیری میزان کل ازت آزاد فرار، مقدار ۱۰ گرم از نمونه فیله شترمرغ، ۲ گرم اکسید منیزیم (کانالیزور)، ۱۰ میلی لیتر ضد کف و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر به بالن کلدال اضافه خواهد شد. درون ارلن ۲۵۰ میلی لیتری گیرنده، مقدار ۱۰ میلی لیتر اسید بوریک ۲ درصد و ۲ قطره معرف متیل رد ریخته خواهد شد و نسبت به بستن ست تقطیر کلدال اقدام می شود. با روشن کردن دستگاه و گذشت ۲۰ دقیقه زمان از به جوش آمدن بالن، نسبت به خاموش کردن دستگاه و انجام تیتراسیون ارلن گیرنده با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال اقدام خواهد شد. در نهایت میزان ازت آزاد فرار مورد محاسبه قرار می گیرد (Molae Aghae et al., ۲۰۱۷).

اندازه گیری تیوباربیتوریک اسید

برای اندازه گیری تیوباربیتوریک اسید، مقدار ۲۰۰ میلی گرم از نمونه هموژن شده فیله شترمرغ به یک بالن ۲۵ میلی لیتر انتقال داده خواهد شد و با ۱-ب و تانول به حجم رسانده می شود و ۵ میلی لیتر از این مخلوط به معرف تیوباربیتوریک اسید اضافه خواهد شد. لوله های فوق به مدت ۲ ساعت در حمام آب ۹۵ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس تا دمای محیط سرد خواهد شد و جذب نوری آن ها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت خواهد شد. در نهایت شاخص تیوباربیتوریک اسید مورد محاسبه قرار می گیرد (Giovanna et al., ۲۰۱۴).

اندیس پراکسید

۵ گرم نمونه هموژن شده فیله شترمرغ در ارلن مایر شیشه ای ۲۵۰ میلی لیتری وزن خواهد شد و ۲۵ میلی لیتر محلول اسید استیک کلروفرم با نسبت ۲:۳ به محتویات ارلن اضافه خواهد شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر محلول نشاسته ۱٪ به محتویات ارلن اضافه خواهد شد. مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال

۱۰ درجه سانتیگراد آنکوبه خواهند گردید و و سپس نسبت به شمارش تعداد کلنی ها اقدام خواهد شد (APHA et al., ۱۹۹۲).

شمارش باکتری های اسید لاکتیک

به منظور شمارش باکتری های اسید لاکتیک، مقدار ۰/۱ میلی لیتر از سریال رقت های تهیه شده در مراحل قبل را به پلیت های حاوی محیط MRS آگار اضافه و به صورت کشت سطحی اقدام شد. پلیت ها به مدت ۷۲ ساعت (۳ روز) در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد در اتمسفر هوازی گرمخانه گذاری شدند و سپس تعداد پرگنه ها در هر پلیت شمارش شد (Doulgeraki et al., ۲۰۱۰). بعد از این مدت اقدام به شمارش تعداد کلنی ها گردید و نتایج حاصل بر اساس لگاریتم واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم گزارش گردید (Doulgeraki و ۲۰۱۰).

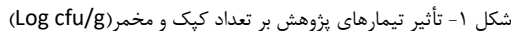
شمارش کپک و مخمر

برای شمارش کپک و مخمر، ۰/۱ میلی لیتر از سریال رقت های تهیه شده به پلیت حاوی محیط کشت جامد عصاره مخمر آگار اضافه و به صورت کشت سطحی اقدام شد. برای شمارش کپک و مخمر (Petrov و ۲۰۱۲) از محیط کشت YGC استفاده شد و به مدت ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. سپس اقدام به شمارش تعداد کلنی ها گردید و نتایج حاصل بر اساس لگاریتم واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم گزارش گردید (Petrov و ۲۰۱۲).

آزمون های شیمیایی

اندازه گیری پراکسید (PV)

جهت اندازه گیری عدد پراکسید مقدار یک گرم روغن استخراج شده از گوشت شترمرغ با حلال کلروفرم متانول را در یک لوله آزمایش خشک و تمیز وزن نموده و یک گرم یدور پتاسیم به شکل پودر به آن افزوده و ۲۰ سانتی متر مکعب از محلول استیک اسید و کلروفرم به آن اضافه گردید. لوله آزمایش را در یک بشر آب در حال جوش قرار داده تا حدود ۳۰ ثانیه جوشانده شد. سپس محتوی لوله آزمایش سریعاً درون ارلن مایر ۲۰ سانتی متر مکعب محلول یدور پتاسیم ۵ درصد ریخته و لوله آزمایش را دو بار، هر دفعه با ۲۵ سانتی متر مکعب آب شسته و به ارلن مایر اضافه نموده و با محلول هیپوسولفیت سدیم ۱/۵۰۰ نرمال تیترا گردید

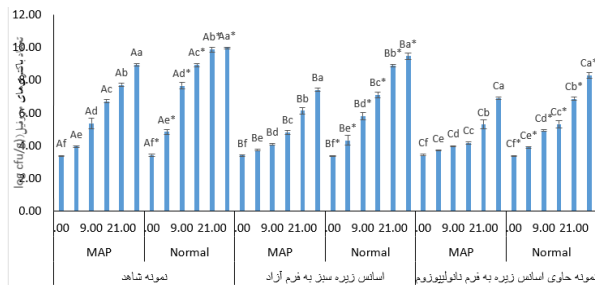


pH

نتایج

[illegible]

جدول ۱- نتایج تجزیه و تحلیل واریانس پارامترهای میکروبی



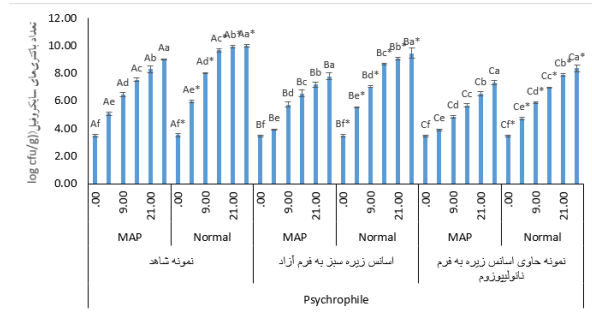
شکل ۲- تأثیر تیمارهای پژوهش بر تعداد باکتری‌های مزوفیل (Log cfu/g)

است ($p \leq 0.05$). همچنین مشخص شد که با افزایش مدت زمان نگهداری نمونه‌های گوشت شترمرغ، در تمام نمونه‌های حاوی اسانس آزاد و اسانس به فرم نانولیپوزوم و همچنین نمونه‌های شاهد، تعداد باکتری‌های مزوفیل افزایش یافته است که این افزایش نیز در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار بوده است ($p \leq 0.05$). اختلاف بین میانگین نمونه‌های آزمون تحت تأثیر شرایط انبارش با آزمون تی^۱، نیز نشان داد که نمونه‌های انبارش شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته نسبت به شرایط معمولی انبارش تعداد باکتری‌های مزوفیل کمتری را داشته است ($p \leq 0.05$). باتوجه به مطالب بیان شده و همچنین شکل ۲، مشخص شد که بیشترین آلودگی به باکتری‌های مزوفیل متعلق به نمونه شاهد در روز ۱۲۷م آزمون و در شرایط انبارش معمولی بوده است و کمترین تعداد باکتری‌های مزوفیل را نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم، در شرایط انبارش با اتمسفر تعدیل یافته و در روز صفر آزمون داشته است. بررسی تغییرات پارامتر تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش (Log cfu/g) جدول ۱ نشان داد که تأثیر تیمارهای استفاده از اسانس، مدت زمان نگهداری و شرایط انبارش به صورت مستقل و برهمکنش بر تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید تأثیر معنی‌دار داشته است ($p \leq 0.05$)؛ که به منظور بررسی تغییرات بین نمونه‌ها، آزمون مقایسه میانگین دانکن انجام شد و نتایج به صورت شکل ۳ ارائه شده است. نتایج شکل ۳ نشان می‌دهد که نمونه‌های تیمار شده با اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم نسبت به نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم آزاد و نمونه‌های شاهد، تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید (Log cfu/g) کمتری را داشته است که این کاهش در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است ($p \leq 0.05$)؛ همچنین مشخص

در شکل ۱ مشخص شد که نمونه‌های کنترل بیشترین میزان آلودگی به کپک و مخمر را داشته‌اند و نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به صورت نانولیپوزوم کمترین میزان کپک و مخمر را داشته است؛ اختلاف بین نمونه‌های پژوهش تحت تأثیر تیمار مستقل استفاده از اسانس معنی‌دار گزارش شده است ($p \leq 0.05$). همچنین مشخص شد که با افزایش مدت زمان نگهداری نمونه‌های گوشت شترمرغ میزان آلودگی به کپک و مخمر در سطح آماری ۹۵٪ به صورت معنی‌دار افزایش یافته است ($p \leq 0.05$)، و همان گونه که در شکل ۱ نیز نشان داده شده است در تمام نمونه‌های شاهد، نمونه‌های حاوی فرم آزاد اسانس زیره سبز و نمونه‌های حاوی فرم نانولیپوزوم اسانس زیره سبز، با افزایش مدت زمان نگهداری، آلودگی به کپک و مخمر افزایش معنی‌دار یافته است ($p \leq 0.05$). تأثیر نوع انبارش نیز بر تعداد کپک و مخمر شمارش شده معنی‌دار بوده است به گونه‌ای که نمونه‌های انبارش شده در شرایط اتمسفر تعدیل شده، نسبت به شرایط معمول انبارش، به طور معنی‌دار تعداد کپک و مخمر کمتری را نشان داده است ($p \leq 0.05$). باتوجه به شکل ۱ بیشترین میزان آلودگی به کپک و مخمر مربوط به نمونه شاهد در روز ۱۲۷م آزمون و در شرایط انبارش معمولی بوده است که (Log cfu/g) ۸/۲ را نشان داده است و کمترین تعداد کپک و مخمر مربوط به نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم در روز صفر آزمون بوده است که در شرایط اتمسفر تعدیل یافته نگهداری شده است، تعداد شمارش شده برای این نمونه برابر با (Log cfu/g) ۲ بوده است. بررسی تغییرات پارامتر تعداد باکتری‌های مزوفیل تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش (Log cfu/g). نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان داد که تأثیر تمام پارامترهای پژوهش (استفاده از اسانس زیره سبز، مدت زمان نگهداری و شرایط انبارش) بر تعداد باکتری‌های مزوفیل (Log cfu/g) نمونه‌های گوشت شترمرغ در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است ($p \leq 0.05$). آزمون مقایسه میانگین دانکن به منظور بررسی‌های بیشتر انجام و در شکل ۲ گزارش شده است.

در شکل ۲ نشان داده شده است که نمونه‌های تیمار شده با اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم نسبت به نمونه‌های حاوی اسانس به فرم آزاد و نمونه‌های شاهد، کمترین تعداد باکتری‌های مزوفیل را داشته‌اند، که این کاهش به صورت آماری معنی‌دار بوده

است (جدول ۱). بررسی‌های بیشتر با اجرای آزمون دانکن صورت گرفت و نتایج به صورت شکل ۴ بیان شده است. شکل ۴ نشان داد که نمونه‌های گوشت شترمرغ حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم نسبت به سایر نمونه‌های شاهد و نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم آزاد، کمترین تعداد باکتری‌های سایکروفیل (Log cfu/g) را داشته است ($p < 0.05$)، در مقایسه‌ی نمونه‌ها تحت تأثیر تیمار مدت‌زمان نگهداری نیز مشخص شد که با



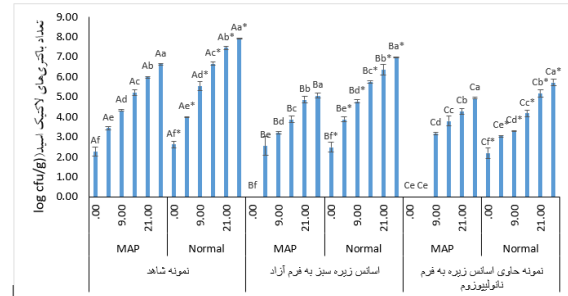
شکل ۴- تأثیر تیمارهای پژوهش بر تعداد باکتری‌های سایکروفیل (Log cfu/g)

افزایش مدت‌زمان نگهداری تعداد باکتری‌های سایکروفیل (Log cfu/g) به طور معنی‌دار در تمام نمونه‌ها افزایش یافته است ($p < 0.05$)، بررسی مقایسه‌ی میانگین بین نمونه‌های آزمون با در نظر گرفتن تأثیر شرایط انبارش به صورت مستقل نیز نشان داد که نمونه‌های انبارش شده در اتمسفر تعدیل یافته نسبت به اتمسفر معمولی تعداد باکتری‌های سایکروفیل (Log cfu/g) کمتری را در سطح آماری ۹۵ درصد به صورت معنی‌دار داشته است ($p < 0.05$). کمترین تعداد باکتری‌های سایکروفیل را نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم در روز صفر آزمون و در شرایط نگهداری شده در اتمسفر تعدیل شده داشته است و بیشترین تعداد باکتری‌های سایکروفیل نیز مربوط به نمونه‌های شاهد، در روز ۲۷ آزمون و در شرایط نگهداری شده در اتمسفر معمولی را داشته است ($p < 0.05$).

بررسی تغییرات پارامترهای شیمیایی تحت تأثیر متغیرهای

مستقل پژوهش (Log cfu/g)

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس در جدول ۲ بیان شده است، نتایج جدول ۲ نشان داد که تغییر در متغیرهای مستقل پژوهش منجر به تأثیر معنی‌دار در پارامترهای شیمیایی شده است ($p < 0.05$)



شکل ۳- تأثیر تیمارهای پژوهش بر تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید (Log cfu/g)

شد که کمترین تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید را نمونه‌های آزمون شده در روز صفر آزمون داشته است که با سایر روزهای آزمون تفاوت آماری معنی داری را نشان داده است ($p < 0.05$)؛ تأثیر شرایط انبارش نیز بررسی و مشخص شد که نمونه‌های نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید (Log cfu/g) کمتری را داشته است ($p < 0.05$)، به گونه‌ای که نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم آزاد و نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته در روز صفر آزمون و نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم و نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته در روز صفر و سوم آزمون، لگاریتم تعداد باکتری‌هایی برابر با صفر را داشته است. با توجه به نتایج بیان شده، بیشترین تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید (Log cfu/g) مربوط به نمونه شاهد در روز ۲۷ آزمون و در شرایط انبارش نگهداری شده در اتمسفر معمولی بوده است و کمترین تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید (Log cfu/g) را نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم آزاد و نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته در روز صفر آزمون و نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم و نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته در روز صفر و سوم آزمون، داشته است که این اختلاف با سایر نمونه‌های آزمون معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$).

بررسی تغییرات پارامتر تعداد باکتری‌های سایکروفیل

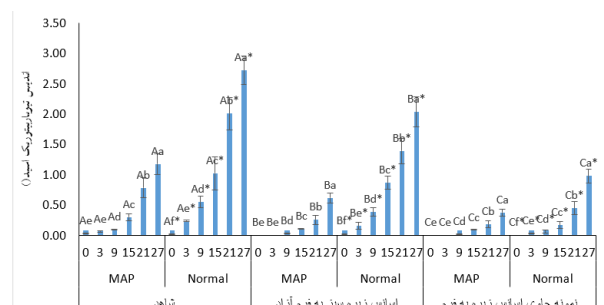
تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش (Log cfu/g)

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان داده است که تمام تیمارهای مستقل پژوهش به صورت مستقل و برهمکنش بر تعداد باکتری‌های سایکروفیل نمونه‌های گوشت شترمرغ تأثیر معنی‌دار داشته

که این تغییرات با آزمون دانکن مورد بررسی قرار گرفت و در ادامه بیان شده است.

بررسی تغییرات پارامتر اندیس تیوباریتوریک اسید تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش (TBA)

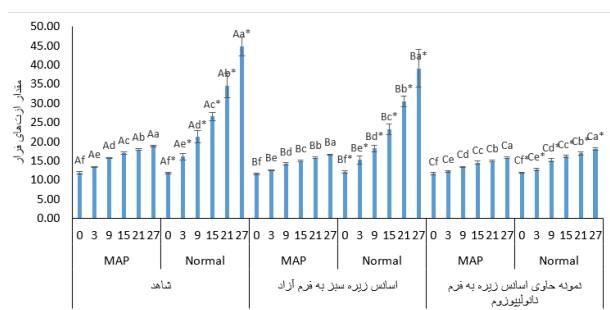
همان گونه که در جدول ۲ نشان داده شده است، تغییر در متغیرهای استفاده از اسانس زیره سبز، مدت زمان نگهداری و شرایط انبارش بر اندیس تیوباریتوریک اسید تأثیر معنی دار داشته است ($p \leq 0.05$) که در شکل ۵ جزئیات این تغییرات بیان شده است. همان گونه که شکل ۵ نشان می دهد کمترین میزان اندیس تیوباریتوریک را نمونه ای حاوی اسانس های زیره سبز به فرم لیپوزوم داشته است و نمونه های کنترل بیشترین میزان اندیس تیوباریتوریک را داشته است که اختلاف مشاهده شده در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی دار است ($p \leq 0.05$). همچنین با استاندارد



شکل ۵- تأثیر تیمارهای پژوهش بر اندیس تیوباریتوریک

از شکل ۴ می توان بیان داشت که با افزایش مدت زمان نگهداری میزان اندیس تیوباریتوریک اسید افزایش معنی دار یافته است ($p \leq 0.05$)، نتایج آزمون تی نیز نشان داده است که نمونه های انبارش شده در شرایط اتمسفر تعدیل شده در مقایسه با نمونه های انبارش شده در اتمسفر معمولی، کمترین میزان اندیس تیوباریتوریک را داشته است ($p \leq 0.05$). با توجه به نتایج شکل ۴ مشخص است که نمونه گوشت شترمرغ فاقد اسانس و نگهداری شده در شرایط اتمسفر معمولی و در روز ۲۷ ام آزمون بیشترین اندیس تیوباریتوریک اسید را داشته است و کمترین اندیس تیوباریتوریک مربوط به نمونه های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم و در روز صفر و سوم آزمون در شرایط اتمسفر تعدیل یافته و در روز صفر در شرایط اتمسفر معمولی می باشد که این اندیس برابر با صفر گزارش شده است. بررسی تغییرات پارامتر

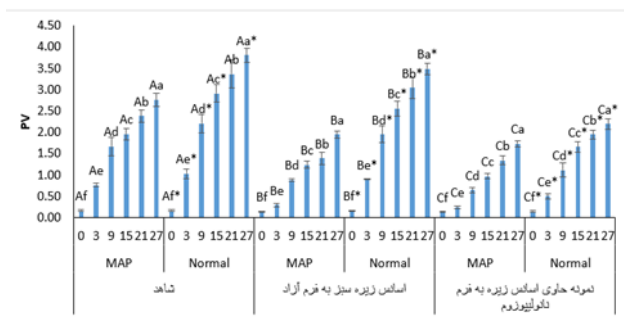
ترکیبات ازت فرار تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش در جدول ۲ بیان شد که تأثیر تیمارهای استفاده از اسانس، مدت زمان نگهداری و شرایط انبارش به صورت مستقل و متقابل بر میزان ترکیبات ازت فرار موجود در نمونه های گوشت شترمرغ تأثیر معنی دار داشته است و آنالیز مقایسه میانگین دانکن در شکل ۶ نشان داده شده است. بیشترین میزان ترکیبات ازت فرار را نمونه های شاهد داشته است و کمترین میزان را نمونه های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم داشته است، اختلاف مشاهده شده بین نمونه های آزمون تحت تأثیر تیمار استفاده از اسانس از اسانس قرار گرفته است و تفاوت مشاهده شده در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی دار بوده است ($p \leq 0.05$). با افزایش مدت زمان نگهداری میزان ترکیبات ازت فرار افزایش یافته است که این افزایش در تمام نمونه های آزمون معنی دار بوده است تفاوت بین شرایط نگهداری نمونه های آزمون نیز بررسی شد و مشخص شد که نمونه های در اتمسفر تعدیل شده نسب به نمونه های نگهداری شده در اتمسفر معمولی ترکیبات ازت فرار کمتری را داشته است که این تفاوت بر مبنای نتایج آزمون تی معنی دار بوده است ($p \leq 0.05$). بیشترین ترکیبات ازت فرار را نمونه های شاهد در روز ۲۷ ام آزمون و نگهداری شده در شرایط اتمسفر معمولی را داشته است و کمترین میزان ترکیبات ازت فرار را نمونه های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم در روز صفر آزمون در شرایط اتمسفر معمولی و تعدیل یافته داشته است.



شکل ۶- تأثیر تیمارهای پژوهش بر ترکیبات ازت فرار

بررسی تغییرات پارامتر pH تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش

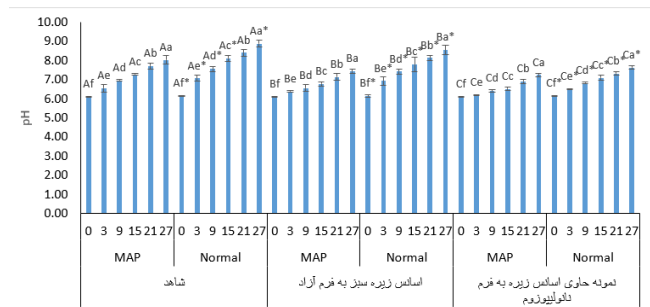
بررسی تغییرات پارامتر اندیس پراکسید تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش (PV)



شکل ۸- تأثیر تیمارهای پژوهش بر تغییرات PV

در شکل ۸ بیان شده است که بیشترین میزان اندیس پراکسید را نمونه‌های شاهد در شرایط انبارش معمولی و در روز ۲۷ ام آزمون داشت‌هاند و کمترین مقادیر اندیس پراکسید مربوط به نمونه‌های حاوی اسانس به فرم نانولیپوزوم و نگهداری شده در اتمسفر تعدیل شده بوده است. تغییرات مشاهده شده بین نمونه‌های حاوی اسانس به فرم آزاد، اسانس به فرم نانولیپوزوم و نمونه‌های فاقد اسانس در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است. همچنین نتایج نشان داد که افزایش در مدت‌زمان نگهداری منجر به افزایش در میزان اندیس پراکسید شده است که این تغییرات نیز معنی‌دار بوده است. تفاوت بین میزان اندیس پراکسید در نمونه ای نگهداری شده در شرایط اتمسفر معمول و اتمسفر تعدیل یافته، با آزمون تی بررسی شد و نتایج آزمون نشان داد که اختلاف بین میانگین اندیس پراکسید نمونه‌های نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته، به طور معنی‌دار کمتر از نمونه‌های نگهداری شده در شرایط اتمسفر معمولی بوده است. بیشترین و کمترین اندیس پراکسید به ترتیب مربوط به نمونه‌های شاهد در اتمسفر معمولی و در روز ۲۷ ام آزمون و نمونه‌های حاوی اسانس به فرم نانولیپوزوم در شرایط اتمسفر تعدیل یافته و معمول در روز صفر آزمون بوده است.

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان داد که تأثیر متغیرهای پژوهش بر تغییرات pH نمونه‌های آزمون در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است



شکل ۷- اختلاف بین نمونه های آزمون

در شکل ۷ بیان شده است که اختلاف بین نمونه‌های آزمون از نظر استفاده از اسانس در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار بوده است. به گونه‌های که نمونه‌های حاوی اسانس زیره به فرم نانولیپوزوم کمترین میزان pH را نسبت به نمونه‌های حاوی اسانس زیره‌ی سبز به فرم آزاد و نمونه‌های شاهد داشته است، همچنین مشخص شد که با افزایش مدت‌زمان نگهداری میزان pH نمونه‌ها افزایش یافته است که این افزایش نیز در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است. همچنین مشخص شد که میزان pH نمونه ای نگهداری شده در شرایط معمولی نسبت به نمونه‌های اتمسفر تعدیل یافته در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است ($p \leq 0.05$). بیشترین مقدار pH را نمونه شاهد در روز ۲۷ ام آزمون و در شرایط نگهداری شده در اتمسفر معمولی داشته است و کمترین میزان pH مربوط به نمونه‌های حاوی اسانس به فرم نانولیپوزوم در شرایط نگهداری اتمسفر معمول و تعدیل یافته داشته است، لازم به ذکر است که مقدار pH در نمونه‌های حاوی اسانس به فرم نانولیپوزوم از ۶/۱ تا ۷/۲ متغیر بوده است که pH قابل قبولی برای گوشت شترمرغ می‌باشد.

بحث

بررسی اثر تیمارهای پژوهش بر پارامترهای میکروبی گوشت شترمرغ و بررسی تأثیر استفاده از اسانس زیره‌ی سبز بر متغیرهای میکروبی پژوهش

نتایج بیان شده نشان داد که استفاده از اسانس زیره‌ی سبز موجب کاهش بار میکروبی باکتری‌های هوازی کل، کپک و مخمر، باکتری‌های لاکتیک اسید و باکتری‌های سایکروفیل شده است و اسانس‌های به فرم نانولیپوزوم کارایی بالاتری را در کاهش بار میکروبی در تمام میکروارگانیسم‌های بررسی شده داشته‌اند. همچنین مشخص شد که با افزایش مدت‌زمان نگهداری بار میکروبی افزایش می‌یابد. مکانیسم احتمالی برای توصیف فعالیت ضد میکروبی ترکیبات فنولیک در برابر پاتوژن‌های غذایی بر روی غشای سیتوپلاسمی متمرکز شده است، به طور دقیق‌تر، اسیدی شدن بیش از حد در اینترفاز غشای پلازما که ناشی از تفکیک اسیدهای فنولیک است، پتانسیل غشای سلولی را تغییر می‌دهد و منجر به افزایش نفوذپذیری می‌شود. این مکانیسم می‌تواند تفاوت‌های حساسیت نسبت به اسیدهای فنولیک را در بین میکروارگانیسم‌های مختلف بیماری‌زا توضیح دهد (۱، ۲). لازم به ذکر است که باکتری‌های گرم منفی فاقد غشای بیرونی هستند و همین امر اجازه می‌دهد که ترکیبات فنولیک نسبت به باکتری‌های گرم منفی راحت‌تر به درون سلول منتشر شوند. به عبارت دیگر، غشای بیرونی باکتری‌های گرم منفی، یک مانع در برابر اسیدی شدن بیش از حد غشا است و این امر می‌تواند تفاوت بین مقاومت‌های متفاوت باکتری‌های گرم منفی را نشان دهد (۱). به نظر می‌رسد که تیمار با اسانس زیره‌ی سبز به دلیل وجود ترکیبات ترپنی، غشای خارجی و ساختار سلول‌ها را تغییر داده و آن را نفوذپذیرتر می‌کند. تعادل اسمزی را مختل کرد و باعث نشت بیشتر مولکول‌های سلولی شد. دیواره سلولی باکتریایی یا پپتیدوگلیکان یک شبکه‌ای است که به سلول شکل، استحکام و پایداری اسمزی می‌دهد؛ بنابراین، ازدست‌دادن شکل منظم، یکپارچگی ساختاری و پایداری اسمزی پس از درمان ترکیبی ترپن، غشای خارجی یا دیواره سلولی باکتری را به احتمال زیاد هدف سلولی برای ترپن‌ها تأیید می‌کند. دیواره سلولی باکتریایی یا پپتیدوگلیکان یک شبکه‌ای است که به سلول شکل، استحکام و پایداری اسمزی می‌دهد؛ بنابراین، ازدست‌دادن شکل منظم، یکپارچگی ساختاری و پایداری اسمزی پس از تیمار با عصاره‌های

گیاهی، منجر به مرگ سلولی خواهد شد. دیواره سلولی باکتریایی یا پپتیدوگلیکان یک شبکه‌ای است که به سلول شکل، استحکام و پایداری اسمزی می‌دهد؛ بنابراین، ازدست‌دادن شکل منظم، یکپارچگی ساختاری و پایداری اسمزی پس از درمان ترکیبی ترپن، غشای خارجی یا دیواره سلولی باکتری را به احتمال زیاد هدف سلولی برای ترپن‌ها تأیید می‌کند. توضیحات احتمالی زیادی برای توجیه تغییرات ساختار باکتری وجود دارد. برخی از محققان آسیب به دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی و ازدست‌دادن یکپارچگی ساختاری را بیان کرده‌اند و برخی دیگر احتمال دادند که اجزای فعال عصاره‌های گیاهی ممکن است به سطح سلول متصل شده و سپس به مکان‌های هدف نفوذ کنند، احتمالاً لایه فسفولیپیدی غشای سیتوپلاسمی و آنزیم‌های متصل به غشاء باشند. علاوه بر برهمکنش با فسفولیپیدهای غشایی، برهمکنش با پروتئین‌های غشایی و اهداف درون سلولی نیز از دلایل دیگر تأثیر عصاره بر ساختار و مرگ باکتری بیان شده است (۶). این اثرات ممکن است شامل مهار نیروی محرکه پروتون، مهار زنجیره تنفسی و انتقال الکترون، و مهار اکسیداسیون سوپراکسید باشد و ممکن است جداسازی فسفوریلاسیون اکسیداتیو، مهار حمل‌ونقل فعال، از دست دادن متابولیت‌های استخر، و اختلال در سنتز DNA، RNA، پروتئین، لیپید و پلی ساکاریدها را به دنبال داشته باشد. باتوجه به موارد بیان شده تصاویر اصل از میکروسکوپ الکترونی در این پژوهش، از دست دادن شکل و یکپارچگی که با مرگ سلولی همراه بوده است را تأیید می‌کند، که ممکن است نتیجه از دست دادن گسترده محتویات سلولی، خروج مولکول‌ها و یون‌های حیاتی، یا شروع فرآیندهای اتولیتیک باشد. نتایج مندرج در این پژوهش هم راستا با نتایج Moghayedی و همکاران (۲۰۱۷) و LV و همکاران (۲۰۱۱) است (۷، ۸). همچنین Zengin و همکاران (۲۰۱۴) نیز در پژوهش خود با موضوع بررسی فعالیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی ترپن‌های اسانس در برابر باکتری‌های بیماری‌زا و فسادزا و روابط ساختار سلولی فعالیت با میکروسکوپ SEM بیان داشتند که مشاهدات SEM صدمه به یکپارچگی ساختاری سلول‌ها و تغییرات مورفولوژیکی قابل توجهی را در تمام باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی تأیید کرده است و واضح است که تیمار با ترپن‌ها باعث ایجاد منافذ در غشای خارجی سلول‌های E. coli O157:H7 می‌شود که باعث می‌شود اجزای سلولی به راحتی از این سلول‌ها عبور کنند و همچنین باعث فروپاشی سلول‌ها می‌شود. غشای

قرار داشت که مدت زمان نگهداری مناسب گزارش شده در این پژوهش برای نمونه‌های حاوی ترکیبات نانولیپوزوم تا روز ۲۱ ام، برای باکتری‌های سایکروفیل، تا روز ۲۷ آزمون برای باکتری‌های لاکتیک اسید، تا روز ۲۱ برای باکتری‌های مزوفیل و تا روز ۲۷ ام برای کپک و مخمرها بوده است که تعداد باکتری‌های گزارش شده در این مدت زمان‌ها کمتر از ۷ لگاریتم بوده است که شروع فساد در گوشت می‌باشد.

Gaysinsky و همکاران (۲۰۰۰) اوژنول و کارواکرول درون میسل‌های سورفاکتانت نانومتری (نانو امولسیون‌ها) انکپسوله کردند. نتایج حاصل از تحقیقات آن‌ها افزایش فعالیت ضد میکروبی این ترکیبات را نشان داد، که به علت افزایش انحلال پذیری اجزای اسانس در فاز آبی به دلیل حضور مواد فعال سطحی و همچنین بهبود بهمکنش آنتی بیوتیک‌ها با میکروارگانیسم‌ها بود. با این حال زمانی که اوژنول کپسوله شده به شیر اضافه شد منجر به کاهش یا به‌عنوان یک بازدارنده در برابر پاتوژن‌های مورد نظر عمل کرد Gortiz و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اجزای تشکیل دهنده اسانس لیمونترش-β Limonene, α-terpinene, γ-terpinene, neral) را قبل و بعد از انکپسوله شدن در لیپوزوم مورد بررسی قرار دادند. خواص ضد میکروبی اسانس با استفاده از روش انتشار دیسک در برابر چهار باکتری گرم مثبت و گرم منفی و سه قارچ بیماری‌زای انسان هم چنین لیستریا مونوسیژنوز بررسی شد. نتایج نشان داد که تمام ترکیبات پس از انکپسوله کردن در لیپوزوم فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بالاتری از حالت آزاد نشان دادند. در تحقیق دیگری که توسط Liolios و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اجزای اصلی تشکیل دهنده عصاره مرزنجوش قبل و بعد از انکپسوله شدن (۷-تریپتین، کارواکرول، تیمول و پی سیمین) و در لیپوزوم (فسفاتیدیل کولین و کلسترول) ارزیابی شد. نتایج نشان داد که تمام ترکیبات پس از انکپسولاسیون در لیپوزوم فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بالاتری از حالت آزاد نشان دادند. در تحقیق دیگری Afshan و همکاران (۲۰۱۲)، با بررسی خواص ضد میکروبی اسانس و نانو امولسیون دارچین به این نتیجه رسیدند که خاصیت ضد میکروبی نانوامولسیون نسبت به اسانس در محیط *in vitro* بیشتر است که علت آن می‌تواند به این دلیل باشد که نانوامولسیون‌ها توانایی انتقال ترکیب آنتی‌میکروبی از عرض غشا را دارد که در این صورت ترکیب می‌تواند

خارجی یا دیواره سلولی باکتری به احتمال زیاد هدف سلولی ترین‌ها به دلیل تشکیل سوراخ‌ها است. علاوه بر این، تفاوت در ترکیب دیواره سلولی (کم و بیش لیپیدها) بین گونه‌های مختلف باکتری تا حدی دلیل حساسیت متفاوت آن‌ها به ترین‌ها است. اجزای ترین اکالیپتول، α-تریپینول و لینالول باعث تغییر نفوذپذیری غشای خارجی، تغییر عملکرد غشای سلولی و نشت مواد داخل سلولی شدند. علیزاده و همکاران (۲۰۱۹) نیز نشان دادند که استفاده از اسانس روغنی زیره‌ی سبز منجر به ازهم‌پاشیدگی ساختار باکتری‌های اشریشیاکلاهی و لیستریلا اینوکویا شده است، وی بیان داشت که ترکیبات فنولیک موجود در اسانس روغنی زیره‌ی سبز مهم‌ترین دلیل اختلال در ساختار غشای سلولی است. Guliani و همکاران (۲۰۲۱) تأثیر نانو امولسیون‌های کارون و سیترال بر فعالیت باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس /رئوس را بررسی کردند و باتوجه‌به تصاویر میکروسکوپ الکترونی بیان داشتند که این ترکیبات منجر به ایجاد اختلال در غشای سلولی باکتری شده است که هم راستا با نتایج این پژوهش است (۹). فعالیت ضدباکتریایی و نحوه عملکرد دی هیدرومیریسستین از برگ‌های Ampelopsis grossedentata در برابر باکتری‌های مواد غذایی توسط Xiao و همکاران (۲۰۱۸) بررسی شد و نتایج مشابهی گزارش شد (۱۰). نتایج این پژوهش نشان داد که نمونه‌های گوشت شترمرغ حاوی اسانس زیره‌ی سبز به فرم لیپوزوم، بیشترین تأثیر را در کاهش بار میکروبی داشته است که این امر احتمالاً به دلیل رهایش کنترل شده و آرام ترکیبات فنولی اسانس زیره‌ی سبز بوده است به گونه‌ای که Wilson در سال ۲۰۰۵ گزارش کرده است که در نتیجه فرایند نانوکپسولاسیون طی گذشت زمان با آزاد سازی به موقع این ترکیبات اثر ضد میکروبی این ترکیبات حفظ شده است و سبب کاهش فعالیت باکتری‌های فاسد کننده دوغ و در نتیجه تولید کمتر ترکیبات فرار حاصل از فعالیت آن‌ها در طول زمان نگهداری شده است. نانوکپسول عصاره‌ها، محتویات خود را به‌صورت کنترل شده و تحت شرایط خاصی آزاد می‌کنند. این تکنولوژی باعث حفاظت مواد در برابر اکسیداسیون در مدت نگهداری، جلوگیری از ایجاد عطر و طعم نامطلوب و مانع هدر رفتن ارزش تغذیه‌ای

محصول می‌شود (Wilson, ۲۰۰۵). بار باکتریایی در مطالعه تقی‌زاده و رضایی (۲۰۱۲) در مورد اثر پوشش ژلاتین و دارچین بر فیلد ماهی در روز ۱۵ آزمون برای تمام نمونه‌ها در محدوده‌ی مجاز

میکروارگانسیم‌های بیماری‌زایی همچون کلستریدیوم بوتولینیوم وجود دارد (۱۳): بنابراین میزان اکسیژن توصیه شده در بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده برای میوه‌ها و سبزیجات چه از لحاظ ایمنی و چه از لحاظ کیفی بین ۱ تا ۵٪ است. از گاز نیتروژن در بسته‌بندی یا اتمسفر تعدیل ده باهدف جایگزینی اکسیژن برای به تأخیرانداختن اکسیداسیون، به تأخیرانداختن رشد میکروارگانسیم‌های فاسدکننده و به‌عنوان یک پرکننده که بسته‌بندی را به‌صورت شکل خاصی نگه دارد، استفاده می‌شود. از بین سه گازی که در MAP مورد استفاده قرار می‌گیرد، کربن‌دی‌اکسید تنها گازی است که خاصیت ضد میکروبی دارد. تئوری‌های زیادی برای تأثیر ضد میکروبی کربن‌دی‌اکسید پیشنهاد شده‌اند. به‌طور کلی، کربن‌دی‌اکسید در MAP منجر به طولانی‌تر شدن فاز تأخیری و زمان تولیدمثل در فاز لگاریتمی می‌شود. تئوری تأثیر ضد باکتری اتمسفر تعدیل یافته به‌صورت تغییر عملکرد غشای سلولی شامل تأثیرات بر روی جذب و دریافت مواد مغذی، جلوگیری مستقیم از عملکرد آنزیم‌ها و یا کاهش واکنش و فعالیت آنزیم‌ها، نفوذ به غشاء باکتری‌ها و تغییرات pH درون سلولی و تغییرات در خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین‌ها تعریف شده است. Brenesselová و همکاران (۲۰۱۵) رشد میکروبی در میوه‌های تازه انبارش شده در اتمسفر تعدیل شده را بررسی کردند و نشان دادند که استفاده از انبارش با اتمسفر تعدیل یافته، موجب بهبود بار میکروبی و افزایش مدت‌زمان نگهداری میوه‌های سیب تازه شده است که با نتایج این پژوهش هم خوانی دارد. همچنین Bingol همکاران (۲۰۱۱) تأثیر غلظت‌های مختلف گاز در اتمسفر تعدیل یافته بر پارامترهای میکروبی و مدت‌زمان نگهداری گوشت شترمرغ را بررسی کردند و بیان داشتند که کیفیت گوشت و ماندگاری گوشت شترمرغ تحت ترکیبات مختلف گاز بهبود یافت و رشد میکروبی به دلیل استفاده زیاد از CO₂ به تعویق افتاد و ماندگاری ۵ تا ۷ روز افزایش یافت. با این حال، از دست دادن ناخواسته رنگ قرمز گوشت شترمرغ ممکن است بر پذیرش مصرف کننده تأثیر بگذارد.

بررسی اثر مدت‌زمان ماندگاری بر بار میکروبی نمونه‌های گوشت شترمرغ

نتایج نشان داد که با افزایش مدت‌زمان ماندگاری در تمام نمونه‌های آزمون، بار میکروبی افزایش یافته است که تجزیه و تحلی واریانس نیز نشان داده است که این افزایش معنی‌دار بوده است. با این حال نمونه‌های حاوی اسانس به فرم نانولیپوزوم و همچنین نمونه‌های

داخل غشا شده و از داخل روی غشا اثر بگذارد، همچنین نانوامولسیون به‌عنوان حاملی عمل می‌کند که می‌تواند غلظت مورد نظر ترکیب را داخل فاز آبی به میکروارگانسیم برساند (Afshan et al., ۲۰۱۲). در مطالعه‌ای که توسط Cui و همکاران (۲۰۱۶) انجام شد، جهت افزایش فعالیت ضد میکروبی اسانس مریم گلی از نانولیپوزوم استفاده شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از انکپسولاسیون سبب ثبات و همچنین اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به حالت اسانس آزاد در برابر بیوفیلم / استافیلوکوکوس / اورئوس در ظروف شیر می‌شود (Cui et al., ۲۰۱۶). نتایج حاصل از تحقیق این محققان با نتایج حاصل از تحقیقات ما مطابقت دارد. این عمل مبتنی بر افزایش فعالیت ضد میکروبی سیستم‌های حامل در مقیاس نانو در مقایسه با حالت آزاد می‌باشد.

بررسی تأثیر شرایط انبارش بر کاهش بار میکروبی

در تمام گزارش‌های نتایج میکروبی مشخص شد که نمونه‌های نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل شده کاهش معنی‌داری را در بار میکروبی نشان دادند و نمونه‌های شاهد، نمونه‌های حاوی اسانس به فرم آزاد و اسانس به فرم نانولیپوزوم نیز در شرایط نگهداری با اتمسفر تعدیل یافته بار میکروبی کمتری را نسبت به انبارش در اتمسفر معمولی داشته‌اند. اکسیژن، کربن‌دی‌اکسید و نیتروژن عمده‌ترین گازهایی هستند که در MAP کاربرد دارند، گازهای ذکر شده به سه طریق در اتمسفر کنترل شده استفاده می‌شوند:

- ۱- استفاده از گاز نیتروژن بی‌اثر به تنهایی
- ۲- استفاده از ترکیب کربن‌دی‌اکسید و نیتروژن و یا استفاده از ترکیب اکسیژن، دی‌اکسید و نیتروژن (که به این روش نیمه واکنش‌پذیر می‌گویند)
- ۳- روش کاملاً واکنش‌پذیر با استفاده از کربن‌دی‌اکسید به تنهایی و یا ترکیب کربن‌دی‌اکسید و اکسیژن (۱۱). معمولاً غلظت اکسیژن در بسته بسیار پایین نگه داشته می‌شود (۱-۵ درصد) تا میزان تنفس میوه‌ها و سبزی‌های و فعالیت‌های میکروبی و اکسیداسیون را کاهش دهد (Ruiz et al., ۲۰۱۱). کاهش میزان تنفس با محدود کردن حضور اکسیژن، مدت‌زمان ماندگاری مواد غذایی را به‌وسیله تأخیر در فساد اکسیداتیو افزایش می‌دهد. به‌هرحال، در غلظت‌های بسیار پایین اکسیژن (کمتر از ۱ درصد) تنفس غیرهوازی اتفاق می‌افتد که می‌تواند منجر به تخریب بافت و ایجاد عطر و بوی نامناسب نماید (۱۲) و همچنین احتمال رشد

قنده و همکاران (۱۳۹۴) نشان داده شده است اثرات آنتی اکسیدانی نانوحاملها بیشتر از اسانس مریم گلی بدون درون پوشانی بود. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که اثر آنتی اکسیدانی تیمارها در سطح ۵٪ معنی دار بود، به طوری که بیشترین اثر آنتی اکسیدانی مربوط به نانوامولسیون و کمترین آن مربوط به اسانس در حالت آزاد بود. در حالت کلی اثر آنتی اکسیدانی نانوحاملها بیشتر از اسانس بدون درون پوشانی بود. لسیتین به کاررفته در نانولیپوزوم و پراکندگی بسیار بالای اسانس در نانوامولسیون باعث بیشتر بودن اثر بازدارنده نانوحاملها نسبت به اسانس بدون درون پوشانی شد که نتایج بیان شده با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. از طرفی اثر بیشتر آنتی اکسیدانی نانوامولسیون نسبت به نانولیپوزوم را می توان چنین بیان کرد، لیپوزوم به دلیل اینکه اسانس در داخل کپسولهای لستین قرار گرفته در نتیجه کمتر می تواند با رادیکالهای آزاد واکنش دهد؛ ولی چون در نانوامولسیون اسانس به صورت ذرات ریز در فاز آبی پخش شده است و از طرفی حلالیت اسانس نیز افزایش یافته در نتیجه با رادیکالهای آزاد بیشتری می تواند واکنش دهد و سرعت رهایش اسانس در نانوامولسیون به مراتب بیشتر از نانولیپوزوم است در نتیجه، فنل های موجود در اسانس نسبت به نانولیپوزوم، سریع تر در معرض رادیکالهای آزاد DPPH قرار می گیرند و عمل خنثی سازی را انجام می دهند. در مطالعه ای که توسط مایتی و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد، این نتیجه حاصل شد که کمپلکس کورکومین - فسفولیپید به دلیل خواص آنتی اکسیدانی بالاتر نسبت به کورکومین آزاد، اثر محافظتی و ضد اکسیداتیو بیشتری در موش ها دارد (Maiti et al., ۲۰۰۷). در پژوهش حاضر، در مورد نانولیپوزوم می توان گفت که فسفولیپید شرکت کننده در ساختار آن، تمایل به واکنش با رادیکال آزاد را دارد و بنابراین، اسانس به مقدار کمتری نسبت به اسانس خالص، تحت تأثیر رادیکال آزاد قرار گرفت، در واقع گروه های فسفات باعث احیای رادیکال آزاد DPPH شدند و در نتیجه تأثیر رادیکال بر خود اسانس کمتر از اسانس بدون درون پوشانی بود. در مورد نانوامولسیون هم می توان چنین گفت که ریز بودن اندازه ذرات، حلالیت بالا و بهبود نفوذ اسانس باعث شده بیشتر از اسانس آزاد، تحت تأثیر رادیکال آزاد قرار بگیرد Gortzi و همکاران (۲۰۰۷)، خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره مرزنجوش را قبل و بعد از کپسولاسیون در لیپوزوم بررسی کردند که نتایج نشان داد خاصیت آنتی اکسیدانی در حالت کپسوله بیشتر از حالت آزاد است. در مطالعه ای، نانوامولسیون حاوی لیکوپن را تولید و اثرات آنتی اکسیدانی آن ها را بررسی و چنین مشاهده کردند، اثر آنتی اکسیدانی نانوامولسیون حاوی لیکوپن بیشتر از ماده فعال

نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته، با افزایش مدت زمان نگهداری، با شدت کمتری نسبت به نمونه های شاهد، افزایش یافته است. همان گونه که در بالا بیان شد، وجود اسانس زیره ی سبز به صورت نانولیپوزوم و همچنین نگهداری در شرایط اتمسفر تعدیل یافته، منجر به کاهش بار میکروبی شده است که دلایل آن در قبل ذکر شده است و از تکرار آن ها خودداری می شود.

بررسی اثر تیمارهای پژوهش بر پارامترهای شیمیایی گوشت شترمرغ

پارامترهای TBA, TVN, pH, PV تحت تأثیر متغیرهای پژوهش بررسی شد و نتایج به طور کلی نشان داد که نمونه های حاوی اسانس به فرم آزاد و نانولیپوزوم به طور معنی داری مقادیر TBA, TVN, pH نسبت به نمونه های شاهد پایین تر بوده است و همچنین مشخص شد که مقادیر TBA, TVN, pH در نمونه های نگهداری شده در اتمسفر تعدیل یافته نسبت به نمونه های نگهداری شده در شرایط معمول به طور معنی دار کاهش یافته است. همچنین مشخص شد که با افزایش مدت زمان نگهداری مقادیر گزارش شده برای TBA, TVN, pH افزایش معنی دار یافته است.

Jayasingh و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند که بسته بندی اتمسفر اصلاح شده با اکسیژن بالا (O_2 ۸۰٪ و CO_2 ۲۰٪) و نمونه های بسته بندی شده با هوا از گوشت چرخ کرده دارای تفاوت pH قابل توجهی بود، به خصوص پس از ۱۰ روز نگهداری در دمای ۲ درجه سانتی گراد. آن ها کاهش pH را در نمونه های بسته بندی شده با هوا از ۵.۷ در روزهای ۱ تا ۵.۳ پس از ۱۰ روز نگهداری مشاهده کردند، در حالی که نمونه های MAP تنها کاهش جزئی از ۵.۸ به ۵.۷ را در مدت مشابه نشان دادند. Seydim و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که pH شترمرغ چرخ شده در اتمسفرهای مختلف در دمای 4 ± 1 درجه سانتیگراد در مدت زمان نگهداری تغییر معنی داری نداشت. pH اولیه گوشت شترمرغ آسیاب شده به طور متوسط 6.0 ± 0.16 و pH نهایی ۵/۹۵ و ۵/۹۷ برای (O_2 ۲۰٪ و CO_2 ۸۰٪) و نمونه های بسته بندی شده با هوا در روز نهم به ترتیب بود. Fernandez-Lopez و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند که مقادیر pH به دلیل زمان نگهداری و شرایط نگهداری، در استیک های شترمرغ با pH اولیه تفاوت معنی داری را داشته است به گونه ای که pH بالاتر از ۶.۰ نیز برای لاشه شترمرغ ۲ تا ۶ ساعت پس از خونریزی یافت شد. pH گوشت را می توان تحت تأثیر عوامل زیادی قرار داد. با این حال، رشد باکتری های اسید لاکتیک که منجر به تولید اسید لاکتیک می شود، عامل اصلی کاهش pH در گوشت های بسته بندی شده است (Gill, ۱۹۹۶). در مطالعه قره

شده و بسته‌بندی در خلأ سبب کاهش سرعت تشکیل هیدروپراکسید نسبت به نمونه شاهد گردید و اختلاف معنی‌داری بین اسانس‌های مورد بررسی از نظر کاهش اندیس پراکسید مشاهده شد (Coban et al., ۲۰۱۴). در این پژوهش مشخص شد که نمونه‌های حاوی نانولیپوزوم اسانس زیره‌ی سبز و نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل شده مقادیر نیتروژن فرار کل کمتری را نسبت به نمونه‌های دیگر و بخصوص کنترل نشان داده است؛ در مطالعه‌ی قنبری و همکاران (۱۴۰۱) نشان داده شده است که نمونه‌های حاوی نانومولسیون اسانس هسته‌ی انگور میزان نیتروژن فرار کل کمتری را نسبت به نمونه‌های کنترل داشته‌اند که هم راستا با نتایج این پژوهش است، وی بیان کرده است که کاهش بار میکروبی نمونه‌های فیله مرغ به دلیل حضور اسانس و در نتیجه کاهش اکسیداتیو انجام شده توسط باکتری‌ها از دلایل کاهش نیتروژن فرار کل می‌باشد. در پژوهشی دیگر سیف زاده و همکاران (۲۰۱۵) بیان داشتند که فاکتورهای پراکسید، تیوباریتوریک اسید، نیتروژن فرار کل در نمونه‌های حاوی عصاره هسته انگور و فرولیک اسید در مقایسه با نمونه‌های کنترل مقادیری کمتری را داشته‌اند.

نتیجه‌گیری

در پژوهش جاری، تغییرات رشد میکروارگانیسم‌های باکتری‌های *اُتروفیل کل*، *لاکتیک اسید باکتری*، *سایکروفیل‌ها* و *کیک و مخمر* و همچنین پارامترهای شیمیایی شامل اندیس تیوباریتوریک اسید، pH، اندیس پراکسید و نیتروژن فرار کل تحت تأثیر متغیر اسانس زیره سبز، مدت‌زمان نگهداری و شرایط انبارش بررسی شد. در این پژوهش اسانس به فرم آزاد و نالیپوزوم شده، شرایط نگهداری به صورت اتمسفر تعدیل‌یافته و اتمسفر معمولی و مدت‌زمان نگهداری از ۱ تا ۲۸ روز به عنوان متغیرهای اصلی پژوهش لحاظ شد. نتایج نشان داد که استفاده از اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم و در شرایط اتمسفر تعدیل شده و در روزهای ابتدایی نگهداری کمترین رشد میکروبی را نشان داده است و در مقابل نمونه‌های کنترل نگهداری شده در اتمسفر معمولی و در روزهای پایانی نگهداری گوشت شترمرغ بیشترین رشد میکروبی را گزارش کرده است. همچنین به طور مشابه پارامترهای مرتبط به اکسیداسیون گوشت شترمرغ نیز نشان داد که نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم و نگهداری شده در اتمسفر تعدیل‌یافته در روزهای ابتدایی نگهداری کمترین میزان پارامترهای اندیس تیوباریتوریک اسید، pH، اندیس پراکسید و نیتروژن فرار کل را داشته است. اسانس زیره سبز غنی از ترکیبات فنولیک هست

خالص بود و این تأثیر را ناشی از پراکندگی بسیار بالای لیکوپن در نانومولسیون و واکنش سریع آن با رادیکال‌های آزاد ربط دادند (Ha et al., ۲۰۱۵). این گزارش با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. Shi و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند که پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس هسته انگور ۲۵ برابر بیشتر از ویتامین‌های ای و سی بوده است، همچنین بیان شده است که کاهش عدد پراکسید را در نمونه‌های حاوی اسانس انگور به فرم نانومولسیون را به اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس و رهایش کنترل شده در زمان را مرتبط دانسته است. در تحقیق دیگری استفاده از اسانس‌های آویشن، مریم‌گلی، میخک و رزماری در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دودی شده و بسته‌بندی در خلأ سبب کاهش سرعت تشکیل هیدروپراکسید نسبت به نمونه شاهد گردید و اختلاف معنی‌داری بین اسانس‌های مورد بررسی از نظر کاهش اندیس پراکسید مشاهده شد (Coban et al., ۲۰۱۴).

همچنین نتایج بررسی TBA به عنوان محصول فرایند اکسیداسیون، مشابه نتایج تحقیق Seydim و Sogut (۲۰۱۸) می‌باشد که دریافتند پوشش کیتوزان همراه با عصاره‌ی هسته انگور می‌تواند به دلیل ویژگی‌های ضد میکروبی و ضد اکسیدانی خود باعث افزایش زمان ماندگاری فیله‌ی مرغ در دمای یخچال شود. همچنین در مطالعه‌ی مشابه Dzomba و همکاران (۲۰۱۴)، بیان نمودند که گوشت گاو شامل عصاره برگ گیاهان ایجاد پراکسیداسیون و تکثیر میکروب‌ها را کاهش می‌دهد و باعث افزایش زمان ماندگاری گوشت گاو می‌شود. در مطالعه‌ی مشابه Carpenter و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که افزودن عصاره‌ی هسته‌ی انگور و زرشک در گوشت خام خوک باعث کاهش اکسیداسیون چربی و کاهش عدد پراکسید در روزهای ۹ و ۱۲ نگهداری در مقایسه با نمونه کنترل شده است که هم‌راستا با نتایج بیان شده در این پژوهش است.

در قبل اشاره شد که تعدیل گازهای موجود در اتمسفر بسته‌بندی بخصوص حذف و کاهش اکسیژن تأثیر بسزایی بر واکنش‌های میکروبی دارد، از آن جا که در فرایند اکسیداسیون وجود اکسیژن یکی از عوامل مؤثر و تشدیدکننده فرایند است، بدیهی است که با حذف این عامل سرعت اکسیداسیون و در نتیجه میزان pH، تیوباریتوریک اسید و اندیس پراکسید کاهش یابد که در پژوهش‌های متفاوتی این امر بیان شده است به گونه‌ای که در تحقیق Coban و همکاران (۲۰۱۴) بیان شده است که استفاده از اسانس‌های آویشن، مریم‌گلی، میخک و رزماری در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دودی

که این ترکیبات خاصیت‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارند و ریزپوشانی آن‌ها به فرم نانولیپوزوم خود منجر به محافظت اسانس و حفظ خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود. از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر کاهش رشد میکروبی و پارامترهای شیمیایی در پژوهش حاضر، استفاده از اتمسفر تعدیل شده در مورد زمان نگهداری بوده است که با محدود کردن غلظت اکسیژن، رشد

میکروارگانیزم‌ها را کاهش داده است و از بروز اکسیداسیون و تولید ترکیبات نیتروژن‌دار جلوگیری کرده است. در مجموع می‌توان بیان داشت که ترکیب استفاده از اسانس زیره سبز و شرایط اتمسفر تعدیل شده تأثیر مثبت معنی‌داری بر خواص میکروبی و شیمیایی گوشت شترمرغ داشته است و مدت‌زمان ماندگاری را تا ۱۵ روز در یخچال افزایش داده است.

منابع

۱. Cueva C, Moreno-Arribas MV, Martín-Álvarez PJ, Bills G, Vicente MF, Basilio A, et al. Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in microbiology*. ۲۰۱۰; ۱۶۱(۵):۳۷۲-۸۲.
۲. Lou Z, Wang H, Zhu S, Ma C, Wang Z. Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid. *Journal of food science*. ۲۰۱۱; ۷۶(۶):M۳۹۸-M۴۰۳.
۳. Juliani H, Koroch A, Simon J. Chemical diversity of essential oils of *Ocimum* species and their associated antioxidant and antimicrobial activity. *Essential oils and aromas: Green extractions and applications*. ۲۰۰۹.
۴. Zengin H, Baysal AH. Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy. *Molecules*. ۲۰۱۴; ۱۹(۱۱):۱۷۷۷۳-۹۸.
۵. Bouarab Chibane L, Degraeve P, Ferhout H, Bouajila J, Oulahal N. Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. ۲۰۱۹; ۹۹(۴):۱۴۵۷-۷۴.
۶. Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V, Bazzaz BSF. Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. ۲۰۱۹; ۸(۱):۱-۲۸.
۷. Lv F, Liang H, Yuan Q, Li C. In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Research International*. ۲۰۱۱; ۴۴(۹):۳۰۵۷-۶۴.
۸. Moghayedhi M, Goharshadi EK, Ghazvini K, Ahmadzadeh H, Ranjbaran L, Masoudi R, et al. Kinetics and mechanism of antibacterial activity and cytotoxicity of Ag-RGO nanocomposite. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. ۲۰۱۷; ۱۵۹:۳۶۶-۷۴.
۹. Guliani A, Verma M, Kumari A, Acharya A. Retaining the 'essence' of essential oil: Nanoemulsions of citral and carvone reduced oil loss and enhanced antibacterial efficacy via bacterial membrane perturbation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. ۲۰۲۱; ۶۱:۱۰۲۲۴۳.
۱۰. Xiao M, Jasensky J, Foster L, Kuroda K, Chen Z. Monitoring antimicrobial mechanisms of surface-immobilized peptides in situ. *Langmuir*. ۲۰۱۸; ۳۴(۵):۲۰۵۷-۶۲.
۱۱. Ren, C., Ng, E. Y. Y., & Katzschnner, L. (۲۰۱۱). *Urban climatic map studies: a review. International journal of climatology*, 31(۱۵), ۲۲۱۳-۲۲۳۳.
۱۲. Church, N. (۱۹۹۴). *Developments in modified-atmosphere packaging and related technologies. Trends in food science & technology*, 5(۱۱), ۳۴۵-۳۵۲.
۱۳. Phillips CA. ۱۹۹۶. *Review: modified atmosphere packaging and its effects on the microbiological quality and safety of produce*. *International Journal of Food Science & Technology*, ۳۱:۴۶۳-۷۹.

Investigating the effect of *Cuminum cyminum* nanoliposomal essential oil on the shelf life of fresh ostrich fillet under aerobic and modified atmosphere packaging

Leila Nikravan ^{۱*}, Roya Zekavati ^۲, Soroush Akhondzadeh ^۳, Saba Bonyadi Dehkordi ^۴

^۱- Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran

^۲- Department of Microbiology, Faculty of Midwifery and Nursing, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Khuzestan, Iran

^۳-Graduated from Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Shushtar, Iran

^۴-Doctor of Veterinary Medicine Student, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Shushtar, Iran

*Corresponding author: ۱۷۵۷۲۰۱۱۵۷@iau.ir

Abstract

In recent years, food manufacturers have paid special attention to the use of natural preservatives of vegetable origin instead of chemical preservatives in their products in order to increase the duration of keeping meat at low temperatures. The aim of this study is to investigate the effect of cumin nano liposomal essential oil on the shelf life of fresh ostrich fillet under normal packaging conditions and modified atmosphere. For this purpose, the samples were randomly divided into ۶ groups and the desired treatments were prepared with ۳ repetitions in two ways (normal and MAP). Then each piece of meat was placed separately in a polyethylene container sterilized by UV rays and at the end it was prepared using normal packaging and packaging under MAP conditions in a special cover of the MAP machine and the packages were kept in the refrigerator at a temperature It was kept at $\pm 1^{\circ}\text{C}$. Experiments were performed on days (۰, ۳, ۹, ۱۵, ۲۱ and ۲۷) and microbial analyzes including (counting of mesophilic, cold-loving bacteria, lactic acid and mold and yeast and chemical tests including (volatile free nitrogen, Thio barbituric acid) , peroxide and pH) were performed on the samples. The results showed that the use of cumin essential oil reduced the microbial load of total aerobic bacteria, mold and yeast, lactic acid bacteria and psychrophilic bacteria, and essential oils in the form of nanoliposomes had a higher efficiency in reducing the microbial load in all the investigated microorganisms. The parameters related to the oxidation of ostrich meat also showed that the samples containing cumin essential oil in the form of nanoliposomes and stored in a modified atmosphere in the first days of storage had the lowest parameters of Thio barbituric acid index, pH, peroxide index and total volatile nitrogen. Cumin essential oil is rich in phenolic compounds that have antimicrobial and antioxidant properties.

Keywords: Modified atmosphere, cumin essential oil, ostrich fillet, nanoliposome, shelf life