

استفاده از اسانس شوید همراه با نانوذرات اکسید روی در ساختار پوشش فعال برپایه کربوکسی متیل سلولز جهت افزایش عمر ماندگاری میگو تحت شرایط یخچال

سویل تکلوی^a، تکتم مستقیم^{*b}، شهلا شهریاری^c

^a دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^b استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^c دانشیار گروه مهندسی شیمی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۱۱/۲۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۰۳/۰۲

چکیده

مقدمه: در میان مواد غذایی دریایی، میگو یکی از بیشترین تقاضاها در تجارت جهانی را دارا می‌باشد. با این وجود، میگو نسبت به فساد و تغییرات بیوشیمیایی، میکروبیولوژیکی یا فیزیکی پس از صید بسیار آسیب‌پذیر است، که منجر به زمان ماندگاری محدود محصول می‌شود. هدف از این تحقیق، بهبود زمان ماندگاری میگوی صید شده از دریا می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش تولید پوشش خوراکی فعال برپایه کربوکسی متیل سلولز (CMC) حاوی نانوذرات اکسید (ZnO) روی (۰/۰۳ درصد) و اسانس شوید با سطوح صفر، ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد به عنوان نگهدارنده طبیعی به منظور افزایش ماندگاری میگو در طول ۱۲ روز نگهداری در دمای یخچال صورت گرفت.

یافته‌ها: استفاده از پوشش خوراکی فعال برپایه CMC منجر به کاهش تغییرات pH نمونه‌های میگوی پوشش داده شده در طول دوره نگهداری گردید، به طوری که پوشش حاوی نانوذرات ZnO و ۴ درصد اسانس شوید تاثیر بیشتری داشت و باعث افزایش زمان نگهداری به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) شده و محتوی مواد نیتروژن‌دار فرار کل را تا پایان دوره نگهداری ۱۲ روزه افزایش داد، اما استفاده از نانوذرات ZnO و افزایش غلظت اسانس شوید از ۰ تا ۴ درصد منجر کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) محتوی مواد نیتروژن‌دار فرار کل شد. اگرچه بکارگیری اسانس شوید در مقایسه با نمونه شاهد به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) L^* را کاهش و b را افزایش داد، اما در طول دوره نگهداری نمونه‌های تیمار شده با سطوح بالاتر اسانس شوید تغییرات رنگی کمتری داشتند. با این وجود افزایش زمان نگهداری به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) شاخص b را افزایش و L^* نمونه‌های میگو را کاهش داد. افزایش زمان نگهداری باعث کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) سفتی نمونه‌های میگو شد اما استفاده از نانوذرات و اسانس روند نرم شدن نمونه‌های میگو را کاهش دادند. شمارش باکتری‌های هوازی، اشریشیاکلاسی و استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت نشان داد تعداد میکروارگانیسم‌ها وابسته به حضور نانوذرات و غلظت اسانس برای تیمار نمودن نمونه‌ها و همچنین مدت زمان نگهداری بود. استفاده از سطوح بالای اسانس منجر به افزایش معنی‌داری ($p < 0/05$) امتیاز پارامترهای حسی می‌شود به طوری که تیمار حاوی ۳ درصد اسانس شوید بالاترین پذیرش کلی را داشت.

نتیجه‌گیری: استفاده از ۳ درصد اسانس شوید به عنوان نگهدارنده طبیعی همراه با نانوذرات ZnO در ساختار پوشش خوراکی فعال برپایه CMC برای نگهداری میگو در دمای یخچال توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس شوید، پوشش فعال، کربوکسی متیل سلولز، میگو، نانوذرات اکسید روی

مقدمه

در میان مواد غذایی دریایی، میگو یکی از بیشترین تقاضاها در تجارت جهانی را دارا بوده با این وجود، میگو نسبت به فساد و تغییرات بیوشیمیایی، میکروبیولوژی یا فیزیکی پس از صید بسیار آسیب‌پذیر می‌باشد، که منجر به زمان ماندگاری محدود محصول می‌شود. این ماده غذایی سرشار از آمینواسیدها، پروتئین‌ها، پپتیدها و سایر مواد بیوشیمیایی مفید است. آمینواسیدهای آزاد و سایر ترکیبات محلول غیرنیتروژنی در میگو به عنوان منبع انرژی برای رشد میکروب‌ها به کار می‌رود، که به دلیل فراوانی آن‌ها در محصولات حاصل از گوشت سخت پوستان، فساد اولیه محصولات معمولاً با تشکیل مقدار زیادی ترکیبات فرار بر پایه نیتروژن^۱ همراه است که می‌تواند به عنوان شناساگری در تشخیص تازگی میگو استفاده شود. همچنین میگو شامل حدوداً ۱/۲ درصد چربی است که اکثر آن‌ها فسفولیپیدهای غیر اشباع‌اند. بیشتر این لیپیدها در زیر پوسته قرار دارند و در نتیجه اگر در معرض نور و اکسیژن قرار گیرند، اسیدهای چرب غیراشباع را به اکسیداسیون آسیب‌پذیر می‌کند. اکسیداسیون لیپیدها باعث تغییرات فیزیکی و شیمیایی، تند شدن و بد طعمی می‌شود (Aşik, and Candoğan, 2014). با این وجود مهم‌ترین عوامل فساد میگو، تجمع ترکیبات نامطلوب در نتیجه رشد میکروارگانیسم و واکنش‌های بیوشیمیایی و ملانوز^۲ (بد رنگی یا سیاهی؛ ایجاد نقاط سیاه در سخت پوستان مثل میگو در طی نگهداری پس از صید) می‌باشد که از پلیمریزاسیون فنول‌ها در رنگدانه‌های نامحلول مثل ملانین نشأت می‌گیرند (Gokoglu & Yerlikaya, 2008). با افزایش تقاضا برای میگو و سایر محصولات دریایی، روش‌های نوین متعددی جهت حفظ کیفیت و ایمنی این محصولات گسترش یافته است. برای برآورده کردن این الزامات استفاده از افزودنی‌های شیمیایی متداول در فرمولاسیون مواد غذایی کاهش پیدا کرده است. بنابراین استفاده از افزودنی‌های طبیعی جایگزین توجه روز افزونی را در این زمینه معطوف خود نموده است (Maftoonazad & Badii, 2009).

فیلیم‌ها و پوشش‌های بیوپلیمری ابزار مفیدی برای

استفاده از اسانس شوید همراه با نانوذرات اکسید روی جهت افزایش عمرماندگاری میگو

بکارگیری طیف وسیعی از افزودنی‌ها نظیر ترکیبات ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان‌ها، عوامل ضدقارچی، رنگ‌ها و سایر مواد مغذی محسوب می‌شوند (Rhim & Ng, 2007). بسته‌بندی فعال نوعی بسته‌بندی است که علاوه بر داشتن خواص بازدارندگی اصلی بسته‌بندی‌های معمول مانند خواص بازدارندگی در برابر گازها و بخار آب و تنش‌های مکانیکی، با تغییر شرایط بسته‌بندی، ایمنی، ماندگاری و یا ویژگی‌های ماده غذایی را بهبود می‌بخشد و در عین حال کیفیت ماده غذایی حفظ می‌گردد (Emiroğlu *et al.*, 2010). تکنولوژی بسته‌بندی فعال شامل برهم کنش‌هایی بین غذا، ماده بسته‌بندی و اتمسفر گازی داخل بسته می‌باشد که می‌بایست در عین حفظ کیفیت و امنیت محصول، قادر به افزایش ماندگاری آن نیز باشد. بسته‌بندی فعال می‌تواند نقش‌های متعددی از جمله رها کردن مواد طعمی داشته باشد. بسته‌بندی‌های پلیمری می‌تواند به‌عنوان مخزنی که ترکیبات غذا را به صورت کنترل شده به غذا می‌رساند به کار رود. آزاد کننده‌های ضد میکروبی، آزاد کننده‌های آنتی‌اکسیدانی و آزاد کننده‌های عطر و طعم مثال‌هایی برای سیستم‌های بسته‌بندی به منظور افزایش نگهداری غذا یا بهبود کیفیت هستند (Ozdemir & Floros, 2004; Koontz, 2006). مطالعات مختلفی تحت شرایط آزمایشگاهی نشان دهنده تاثیر چشمگیر اثر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه شوید بوده‌اند که پتانسیل بالای آن را برای استفاده در نگهداری مواد غذایی مطرح می‌نماید (Chahal *et al.*, 2018; Osanloo *et al.*, 2017). براین اساس مطالعات نشان داده که اسانس شوید دارای فعالیت ضد میکروبی مناسبی علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسییتوزن اشریشیا کلی، سالمونلا تیفی، سودوموناس آئروژینوزا و غیره در مقابل اسانس شوید حساسیت دارند و اثر این اسانس روی این گونه‌های باکتریایی به اثبات رسیده است (Hamza, 2017) که این امر قابلیت مناسب این اسانس برای استفاده به عنوان نگهدارنده طبیعی مواد غذایی را توجیه می‌نماید.

اکسید روی دارای فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی در

¹ Total Volatile Base-Nitrogen

² Melanosis

¹ Total Volatile Base-Nitrogen

کربوکسی متیل سلولز (CMC^۲) به عنوان اولین تلاش در تلفیق این دو ترکیب به منظور افزایش عمرماندگاری و پایداری میکروبی میگو در طول دوره نگهداری در یخچال می‌باشد.

مواد و روش‌ها

شوید (*Anethum graveolens* L.) تازه و همچنین میگوی سفید (*Litopenaeus vannamei*) تازه از بازار محلی خریداری شدند. محیط کشت آگار مغذی همراه با کربوکسی متیل سلولز، گلیسرول، توین ۸۰ و سایر مواد شیمیایی از شرکت مرک (Merck Co., Germany) خریداری شدند.

- استخراج اسانس شوید

ابتدا شوید در آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس خشک و سپس استخراج اسانس گیاه به وسیله تقطیر با آب به کمک دستگاه کلونجر انجام و اسانس حاصل تا زمان استفاده در ظرف تیره استریل در داخل یخچال نگهداری شد (Duarte *et al.*, 2015). براساس نتایج به دست آمده از استخراج اسانس شوید مشخص شد که راندمان استخراج برابر با ۱/۲۸±۰/۱۲ درصد (g/100g) بود.

- تهیه پوشش فعال حاوی اسانس شوید و نانوذرات اکسید روی

۲ گرم CMC در آب مقطر حل شد و ۰/۵ درصد گلیسرول (پلاستی‌سایزر) با آن مخلوط کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سلسیوس حرارت داده شدند. هنگامی که محلول سرد شد تحت همزنی ثابت ۰/۲ درصد Tween 80 (به‌عنوان امولسیفایر برای توزیع کامل اسانس‌ها در ساختار پوشش) به آن اضافه و پس از حل شدن، اسانس شوید در دمای محیط (در سطوح صفر، ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد براساس وزن CMC) و نانو ذرات اکسید روی (۰/۳ درصد براساس وزن CMC) به آن اضافه نموده و اجازه داده می‌شود کاملاً مخلوط گردد (Sedaghat & Zahedi, 2012). از این‌رو تیمارهای حاصل از این پژوهش شامل تیمار ۱ (شاهد)، تیمار ۲ (۰/۳ درصد ZnO)، تیمار

محدوده pH طبیعی (۷) می‌باشد و یکی از عناصر معدنی ضروری برای انسان محسوب می‌شود. محققین ویژگی ضد میکروبی نانو ذرات اکسید روی، ایمن بودن آن برای انسان و عدم آلودگی محیط در اثر استفاده از آن را به عنوان عامل ضد میکروبی مهم و مورد علاقه ذکر نموده‌اند (Ohira *et al.*, 2008). کاهش اندازه تا رسیدن به اندازه نانو می‌تواند سبب می‌شود که نانوذرات به شکل مناسب و منحصر به فردی با سلول‌های زیستی واکنش دهد و در نتیجه انتقال فیزیکی نانوذرات را به داخل ساختار سلولی تسهیل نماید. مواد نانوساختار درصد بالایی از اتم‌ها را در سطح ذرات خود دارند که منجر به واکنش‌پذیری سطحی زیاد آن‌ها می‌شود. نانوذرات اکسید روی خصوصیات ساختاری متفاوتی دارند و فعالیت ضد میکروبی چشم‌گیری را علیه طیف گسترده‌ای از گونه‌های باکتریایی از خود نشان می‌دهند (Shi *et al.*, 2014). هنگامی که اندازه ذرات اکسید روی تا حد نانو کاهش می‌یابد این ذرات فعالیت ضد میکروبی چشم‌گیری نشان می‌دهند، سپس نانوذرات اکسید روی می‌توانند با سطح باکتری و یا با هسته باکتریایی واکنش دهند و وارد سلول شوند و در نتیجه مکانیسم میکروب‌کشی خود را بروز دهد. واکنش‌های بین این ذرات منحصر به فرد و باکتری‌ها معمولاً سمی است که مشخص شده است برای کاربردهای ضد میکروبی در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مکانیسم‌های ضد باکتریایی متعددی برای نانوذرات پیشنهاد شده است و عمدتاً در ارتباط با نسبت سطح به حجم مخصوص و خصوصیات فیزیکوشیمیایی مناسب آن‌ها می‌باشد (Sirelkhatim *et al.*, 2015). اخیر توسط سازمان غذا و داروی آمریکا مشخص شده که نانوذرات اکسید روی جزء محصولات GRAS^۱ محسوب می‌شود و این ترکیبات دارای خصوصیات ضد میکروبی مناسبی علیه باکتری‌های پاتوژن و فسادزای مواد غذایی مثل لیستریا مونوسیتوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس، *E. coli* سالمونلا تیفی‌موریوم می‌باشند (Morsy *et al.*, 2014; Arfat *et al.*, 2015).

بر همین اساس هدف از این پژوهش استفاده از اسانس شوید به عنوان منبع ترکیبات زیست فعال در ترکیب با نانوذرات اکسید روی در ساختار پوشش فعال برپایه

¹ Generally Recognised As Safe

² Carboxymethyl Cellulose

استفاده از اسانس شوید همراه با نانوذرات اکسید روی جهت افزایش عمر ماندگاری میگو

۳ (۰/۰۳ درصد ZnO + ۱ درصد اسانس شوید)، تیمار ۴ (۰/۰۳ درصد ZnO + ۲ درصد اسانس شوید)، تیمار ۵ (۰/۰۳ درصد ZnO + ۳ درصد اسانس شوید) و تیمار ۶ (۰/۰۳ درصد ZnO + ۴ درصد اسانس شوید) بودند.

- پوشش میگو

به منظور پوشش دادن نمونه‌های میگو، نمونه‌های میگو سفید (*Metapenaeus affinis*) با ابعاد ۴×۸ سانتی‌متر مربع به مدت ۳۰ دقیقه در محلول پوشش دهنده (به دست آمده از تیمارهای مختلف که در بالا بیان شد) خوابانده و در نهایت آن‌ها را از محلول خارج و به مدت ۳ دقیقه در دمای محیط تحت شرایط اسپتیک اجازه چکیدن محلول اضافی را داده و سپس در بسته‌بندهای استریل تحت شرایط نگهداری یخچالی به مدت ۱۲ روز نگهداری شدند و طی روزهای صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ آزمون‌های مختلف فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی روی آن صورت گرفت (Yuan et al., 2016b).

- خصوصیات رنگی نمونه‌های پوشش داده شده

خصوصیات رنگی سطح هر نمونه با استفاده از هانتربل Gretag Macbeth, Model No. Color i5, Neu-) (Zsenburg, Germany) برای تعیین شاخص‌های رنگی L* (شاخص شفافیت)، a* (شاخص قرمزی) و b* (شاخص زردی) مورد ارزیابی قرار گرفت (Zhang et al., 2016).

- اندازه‌گیری pH

۱۰ گرم نمونه با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر کاملاً مخلوط شده و سپس pH نمونه‌ها توسط pH متر دیجیتال (Metrohm, model name 744 pH meter) سنجیده شد (Lopez-Caballero et al., 2007).

- بازهای نیتروژنی فرار کل (TVB-N)

برای تعیین میزان نیتروژن فرار نمونه‌ها مقداری از میگوی‌های پوشش داده شده خرد شد و با اکسید منیزیم و آب مقطر در داخل بالن دستگاه کلدال ریخته و سنگ

جوش و اکتان (ضدکف) به آن افزوده شد. در قسمت انتهایی دستگاه اسید بوریک و معرف متیل رد وجود دارد و به محض قلیایی شدن اسید بوریک توسط بازهای نیتروژنی فرار رنگ زرد حاصل می‌شود. سپس با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیترا شد تا دوباره قرمز شود. مقدار TVB-N به صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم فیله با توجه به حجم اسید سولفوریک مصرفی و وزن نمونه از رابطه زیر محاسبه گردید (Goulas & Kontominas, 2005):

$$\text{TVB-N} = \frac{\text{میزان اسید} \times 1.4 \times 100}{\text{وزن نمونه}}$$

- آنالیز میکروبی

شمارش باکتری‌های هوازی کل طبق روش Yuan و همکاران (۲۰۱۶a) انجام شد. برای این منظور به طور خلاصه ۲۵ گرم از نمونه‌های میگو همراه با ۲۲۵ میلی‌لیتر آب نمک استریل ۰/۸۵ درصد در همزن با ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه یکنواخت شد. نمونه‌ها به صورت رقت سازی لگاریتمی در آب نمک استریل رقیق شدند. جهت شمارش باکتری‌های هوازی کل نمونه‌ها روی محیط کشت آگار مغذی کشت داده شدند و در دمای ۳۶ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری گردیدند. در نهایت کلونی‌های باکتریایی شمارش شده و به صورت log CFU/g بیان شدند.

برای شمارش باکتری اشیریشیا کلای از محیط‌کشت اختصاصی مک کانکی آگار^۱ استفاده شد که تنها اجازه رشد باکتری اشیریشیا کلای را می‌دهد و از رشد سایر باکتری‌های جلوگیری می‌نماید. برای این منظور از رقت‌های تهیه شده از نمونه‌های مورد آزمون موجود در هر لوله با استفاده از سمپلر ۰/۱ میلی‌لیتر به محیط‌کشت مک کانکی آگار افزوده شد و در نهایت پلیت‌ها به منظور بررسی رشد و یا عدم رشد باکتری مورد نظر در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت قرار گرفتند. در نهایت تعداد باکتری‌ها به صورت log CFU/g بیان شدند (ISIRI No. 1-2394, 2008).

به منظور شمارش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت با استفاده از روش استاندارد ملی ایران به شماره ۱-۲۳۹۴ رقت‌های مختلف از هر کدام از نمونه‌ها

¹ Mac Conkey Agar

- ارزیابی حسی

جهت ارزیابی حسی، شاخص‌هایی نظیر (بافت، رنگ، بو و پذیرش کلی) از روش هدونیک ۵ امتیازی استفاده شد و امتیازبندی کلی حاصل میانگین مجموع امتیازات داده شده به شاخص‌های حسی (در سطوح ارزیابی ۱ تا ۵؛ ۱: غیر قابل مصرف یا خیلی ضعیف؛ ۲: غیر قابل قبول یا ضعیف؛ ۳: قابل قبول یا متوسط؛ ۴: رضایت بخش یا خوب و ۵: بسیار رضایت بخش یا خیلی خوب)، بود (Lawless & Heymann, 2010).

- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. نتایج حاصل از آزمایشات فیزیکیوشیمیایی، میکروبی و حسی به منظور بررسی اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها از طریق تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) با استفاده از نرم افزار SPSS.22 آنالیز شدند و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ($p < 0.05$) استفاده گردید.

یافته‌ها

- تغییرات pH نمونه‌های میگو

نتایج حاصل از تغییرات میزان pH نمونه‌های میگو پوشش داده شده با پوشش CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و درصد‌های مختلف اسانس شوید و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در طی ۱۲ روز نگهداری در شرایط در شکل ۱ نشان داده شده است. براساس نتایج به دست آمده در طی این مطالعه مشخص شد که تغییرات میزان pH نمونه‌های میگو پوشش داده شده با پوشش فعال CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و درصد‌های مختلف اسانس شوید به‌طور معنی‌داری ($p < 0.05$) وابسته به وجود نانوذرات اکسید روی و درصد بکارگیری اسانس در ساختار پوشش CMC و مدت زمان نگهداری نمونه‌ها تحت شرایط یخچال بود. همان‌طور که نتایج نشان داد در طول دوره نگهداری تحت شرایط یخچال در تمامی تیمارها pH نمونه‌های میگو پوشش داده شده با پوشش فعال CMC و نمونه شاهد به طور

تهیه شد. در ادامه از رقت ۰/۱ با حفظ شرایط استریل ۱ میلی‌لیتر به داخل محیط کشت آبگوشت پخته^۱ انتقال داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری صورت گرفت. بعد از اتمام دوره انکوباسیون، مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از محیط مذکور به محیط بردپارکر آگار منتقل شد و تحت شرایط قبلی (۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس) گرمخانه‌گذاری انجام شد. این اعمال در مورد رقت‌های دیگر نیز تکرار شد. از محیط آبگوشت پخته به عنوان محیط غنی کننده و از محیط بردپارکر آگار به عنوان محیط انتخابی استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت استفاده شد. پس انجام تست‌های مربوطه میکروارگانسیم‌های که کاتالاز، گلوکز، مانیتول و کواگولاز مثبت بودند به عنوان و از لحاظ مورفولوژیکی بصورت پرگنه‌های سیاه، براق، محدب و شفاف در محیط بردبارکر آگار بودند را به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت تلقی کرده و با توجه به رقت مورد نظر، در محیط برد پارکر آگار شمارش شدند و نتایج به صورت log CFU/g بیان شد (Eslami et al., 2015).

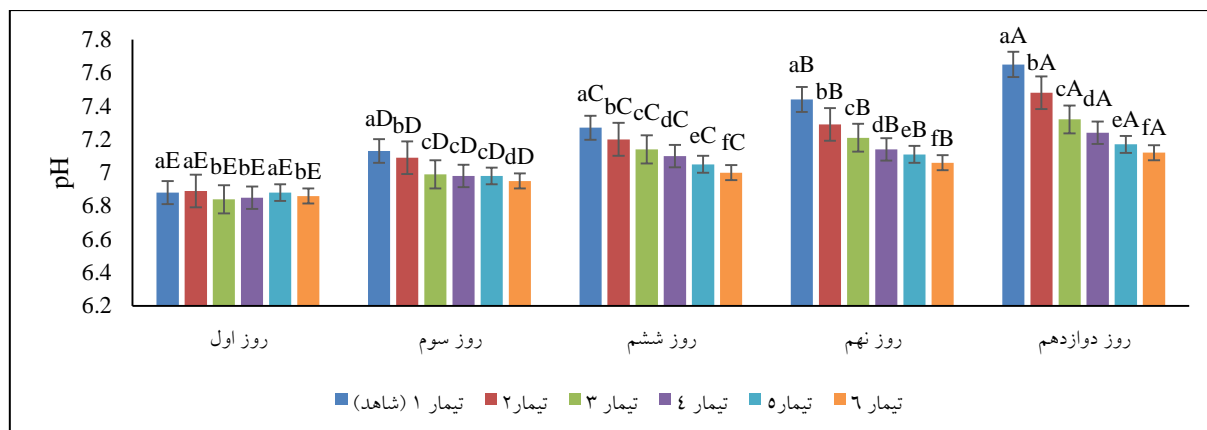
- خصوصیات بافتی (سفتی)

برای ارزیابی سفتی بافت نمونه‌های میگو از دستگاه بافت‌سنج (CNS Farnell Com, UK) به وسیله پروب با سرعت ۱ متر بر ثانیه جهت ایجاد تغییر شکل ۵۰ درصدی استفاده شد و با نیروی ۰/۰۵ نیوتن حداکثر نیروی لازم جهت ایجاد فشردگی ثبت گردید و به عنوان سفتی بافت گزارش شد (Yuan et al., 2016b).

- بررسی خصوصیات ریزساختاری فیلم‌ها

به منظور بررسی تاثیر افزودن نانوذرات اکسید روی (۰/۰۳ درصد) و اسانس شوید (۳ درصد) بر خصوصیات ریزساختاری فیلم‌های CMC تولید شده، از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی^۲ (SEM model S-4800, Hitachi Limited Company, Tokyo, Japan) از سطح فیلم‌ها استفاده می‌شود. فیلم‌ها قبل از تصویر برداری با ابعاد ۵×۱ میلی‌متر مربع بریده و با لایه‌ای از طلا پوشانده می‌شوند (Emam-Djomeh et al., 2015).

¹ Cooked Meat Broth² Scanning Electron Microscopy



شکل ۱- تغییرات میزان pH نمونه‌های مختلف میگو در طی دوره نگهداری در دمای یخچال

که با افزایش مدت زمان نگهداری به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) اندیس TVB-N تمامی نمونه‌ها افزایش می‌یابد که در این میان بالاترین میزان افزایش اندیس TVB-N در تیمار شاهد مشاهده شد و کمترین میزان تغییرات اندیس TVB-N در تیمارهای پوشش داده شده با پوشش CMC فعال حاوی نانوذرات اکسید روی و ۴ درصد اسانس شوید مشاهده گردید. مقایسه اثر افزودن نانوذرات اکسید روی و بکارگیری مقادیر مختلف اسانس شوید در ساختار پوشش CMC روی تغییرات میزان اندیس TVB-N نشان داد بکارگیری نانوذرات اکسید روی و نیز افزایش غلظت اسانس شوید در ساختار پوشش CMC به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) منجر به کاهش تغییرات اندیس TVB-N نمونه‌های میگو پوشش داده شده در مقایسه با تیمار شاهد می‌شوند.

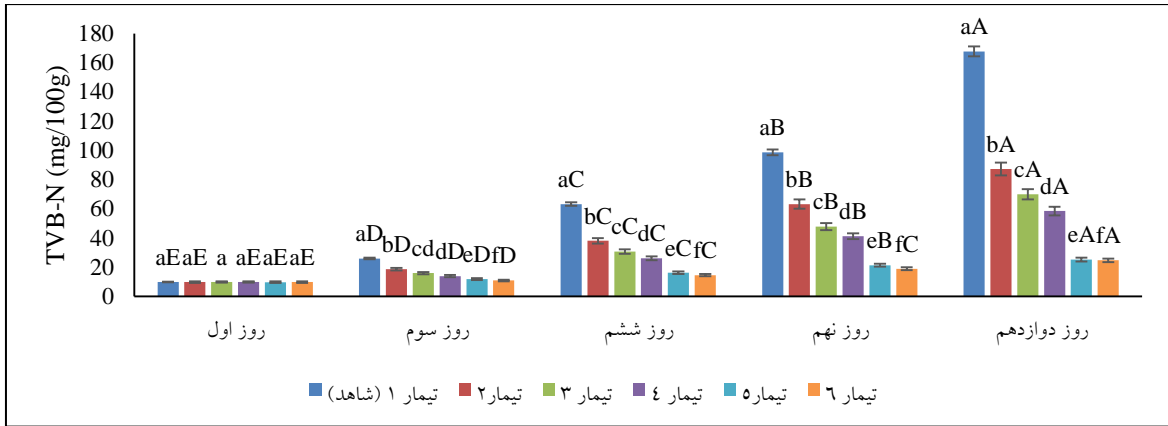
- تغییرات خصوصیات رنگی نمونه‌های میگو

جدول ۱ نتایج مربوط به تغییرات میزان خصوصیات رنگی (L^* , a و b) نمونه‌های میگو پوشش داده شده در نتیجه بکارگیری نانوذرات اکسید روی و مقادیر مختلف اسانس شوید در ساختار پوشش خوراکی برپایه CMC در طی ۱۲ روز نگهداری تحت شرایط یخچال و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن را نشان می‌دهد. براساس نتایج به دست آمده در طی این پژوهش نشان داده شد که شاخص‌های شفافیت (L^*) و زردی (b) به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) وابسته به درصد بکارگیری اسانس شوید در ساختار پوشش CMC و مدت زمان نگهداری بودند با این وجود شاخص قرمزی به طور

معنی‌داری ($p < 0.05$) روند افزایشی را از خود نشان داد. بنابراین با افزایش مدت زمان نگهداری از ۱ تا پایان روز دوازدهم به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) pH نمونه‌های میگو پوشش داده شده افزایش می‌یابد که این میزان افزایش به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) در تیمار شاهد و تیمارهای پوشش داده شده با CMC حاوی نانوذرات اکسید روی به تنهایی با شیب بیشتری رخ داد اما در تیمارهای پوشش داده شده CMC حاوی نانوذرات با افزایش غلظت اسانس شوید به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) شیب تغییرات pH کاهش یافت.

- تغییرات کل بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) نمونه‌های میگو

شکل ۲ نتایج مربوط به تغییرات اندیس TVB-N نمونه‌های میگو پوشش داده شده با پوشش CMC فعال خوراکی حاوی نانوذرات روی و درصد‌های مختلف اسانس شوید و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در طی ۱۲ روز نگهداری تحت شرایط یخچال را نشان می‌دهد. براساس نتایج به دست آمده در این پژوهش مشخص شد که تغییرات میزان اندیس TVB-N نمونه‌های میگو پوشش داده شده با پوشش فعال حاوی نانوذرات اکسید روی و درصد‌های مختلف اسانس شوید به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) وابسته به وجود نانوذرات اکسید روی و درصد بکارگیری اسانس در ساختار پوشش CMC و مدت زمان نگهداری نمونه‌ها تحت شرایط یخچال بود. نتایج مقایسه میانگین اندیس TVB-N نمونه‌های مختلف میگو در طی ۱۲ روز نگهداری نشان داد



شکل ۲- تغییرات میزان TVB-N نمونه‌های مختلف میگو در طی دوره نگهداری در دمای یخچال

جدول ۱- تغییرات شاخص‌های رنگی تیمارهای مختلف میگو در طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

| تیمار / زمان (روز) | اول | سوم | ششم | نهم | دوازدهم |
|------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| L* | | | | | |
| شاهد | ۷۳/۷۸ ± ۰/۰۵ ^{aA} | ۷۱/۲۱ ± ۰/۰۶ ^{aB} | ۶۸/۴۱ ± ۰/۰۹ ^{aC} | ۶۳/۳۰ ± ۰/۰۷ ^{aD} | ۵۸/۵۲ ± ۰/۰۴ ^{dE} |
| ZnO %/۰.۳ | ۷۱/۴۵ ± ۰/۰۶ ^{bA} | ۷۰/۵۴ ± ۰/۰۵ ^{bB} | ۶۶/۲۱ ± ۰/۰۴ ^{bC} | ۶۲/۷۱ ± ۰/۰۴ ^{bD} | ۵۹/۵۳ ± ۰/۰۸ ^{cE} |
| ۱+ZnO %/۰.۳ اسانس شوید | ۶۹/۵۴ ± ۰/۰۵ ^{cA} | ۶۸/۷۱ ± ۰/۰۳ ^{cB} | ۶۴/۳۸ ± ۰/۰۵ ^{cC} | ۶۱/۴۹ ± ۰/۰۳ ^{cD} | ۶۰/۳۵ ± ۰/۰۵ ^{bE} |
| ۲+ZnO %/۰.۳ اسانس شوید | ۶۷/۶۳ ± ۰/۰۷ ^{dA} | ۶۶/۱۹ ± ۰/۰۲ ^{dB} | ۶۳/۵۲ ± ۰/۰۴ ^{dC} | ۶۰/۶۸ ± ۰/۰۲ ^{dD} | ۵۹/۵۱ ± ۰/۰۶ ^{cE} |
| ۳+ZnO %/۰.۳ اسانس شوید | ۶۶/۴۰ ± ۰/۰۳ ^{eA} | ۶۴/۴۹ ± ۰/۰۴ ^{eB} | ۶۳/۲۵ ± ۰/۰۶ ^{eC} | ۶۲/۷۵ ± ۰/۰۵ ^{bD} | ۶۱/۴۹ ± ۰/۰۳ ^{eE} |
| ۴+ZnO %/۰.۳ اسانس شوید | ۶۵/۵۸ ± ۰/۰۴ ^{fA} | ۶۳/۱۵ ± ۰/۰۶ ^{fB} | ۶۲/۵۶ ± ۰/۰۵ ^{eC} | ۶۱/۶۴ ± ۰/۰۴ ^{cD} | ۶۰/۴۵ ± ۰/۰۴ ^{bE} |
| A | | | | | |
| شاهد | ۶/۵۷ ± ۱/۴۵ ^{aA} | ۶/۶۱ ± ۱/۴۵ ^{aA} | ۶/۶۰ ± ۱/۳۶ ^{aA} | ۶/۶۳ ± ۱/۳۵ ^{aA} | ۶/۷۲ ± ۱/۲۵ ^{aA} |
| ZnO %/۰.۳ | ۶/۴۸ ± ۱/۶۲ ^{aA} | ۶/۵۲ ± ۱/۶۲ ^{aA} | ۶/۴۵ ± ۱/۳۰ ^{aA} | ۶/۵۴ ± ۱/۶۳ ^{aA} | ۶/۶۸ ± ۱/۳۳ ^{aA} |
| ۱+ZnO %/۰.۳ اسانس شوید | ۶/۵۶ ± ۱/۴۱ ^{aA} | ۶/۴۷ ± ۱/۴۱ ^{aA} | ۶/۵۷ ± ۱/۳۳ ^{aA} | ۶/۵۸ ± ۱/۵۱ ^{aA} | ۶/۶۷ ± ۱/۵۱ ^{aA} |
| ۲+ZnO %/۰.۳ اسانس شوید | ۶/۳۴ ± ۱/۵۲ ^{aA} | ۶/۷۲ ± ۱/۵۲ ^{aA} | ۶/۶۲ ± ۱/۵۰ ^{aA} | ۶/۶۶ ± ۱/۳۵ ^{aA} | ۶/۶۹ ± ۱/۶۲ ^{aA} |
| ۳+ZnO %/۰.۳ اسانس شوید | ۶/۶۵ ± ۱/۳۴ ^{aA} | ۶/۵۳ ± ۱/۳۴ ^{aA} | ۶/۵۷ ± ۱/۵۴ ^{aA} | ۶/۶۰ ± ۱/۶۰ ^{aA} | ۶/۶۱ ± ۱/۴۴ ^{aA} |
| ۴+ZnO %/۰.۳ اسانس شوید | ۶/۴۸ ± ۱/۱۵ ^{aA} | ۶/۴۶ ± ۱/۱۹ ^{aA} | ۶/۵۲ ± ۱/۱۹ ^{aA} | ۶/۵۷ ± ۱/۰۵ ^{aA} | ۶/۶۳ ± ۱/۱۴ ^{aA} |
| B | | | | | |
| شاهد | ۲۳/۳۸ ± ۰/۴۵ ^{dE} | ۲۸/۴۲ ± ۰/۲۸ ^{dD} | ۳۳/۵۸ ± ۰/۳۵ ^{dC} | ۴۳/۲۷ ± ۰/۴۲ ^{aB} | ۴۷/۳۹ ± ۰/۵۴ ^{aA} |
| ZnO %/۰.۳ | ۲۷/۲۶ ± ۰/۶۲ ^{eE} | ۳۲/۳۱ ± ۰/۴۲ ^{eD} | ۳۷/۲۳ ± ۰/۳۳ ^{cC} | ۴۱/۴۲ ± ۰/۳۷ ^{bB} | ۴۶/۵۱ ± ۰/۳۷ ^{bA} |
| ۱+ZnO %/۰.۳ اسانس شوید | ۳۰/۳۵ ± ۰/۴۱ ^{dE} | ۳۴/۵۳ ± ۰/۳۱ ^{dD} | ۳۸/۴۰ ± ۰/۴۰ ^{bC} | ۴۰/۳۷ ± ۰/۳۵ ^{cB} | ۴۴/۲۸ ± ۰/۵۱ ^{cA} |
| ۲+ZnO %/۰.۳ اسانس شوید | ۳۳/۱۳ ± ۰/۵۲ ^{cE} | ۳۵/۴۵ ± ۰/۳۲ ^{cD} | ۳۷/۳۸ ± ۰/۲۹ ^{cC} | ۳۹/۳۶ ± ۰/۲۵ ^{dB} | ۴۲/۱۹ ± ۰/۶۲ ^{dA} |
| ۳+ZnO %/۰.۳ اسانس شوید | ۳۴/۴۶ ± ۰/۳۴ ^{bE} | ۳۶/۳۶ ± ۰/۳۰ ^{bD} | ۳۷/۱۸ ± ۰/۳۶ ^{cC} | ۳۹/۶۶ ± ۰/۲۴ ^{dB} | ۴۱/۵۴ ± ۰/۶۴ ^{eA} |
| ۴+ZnO %/۰.۳ اسانس شوید | ۳۶/۲۹ ± ۰/۱۵ ^{aE} | ۳۸/۳۹ ± ۰/۱۹ ^{aD} | ۳۹/۳۳ ± ۰/۴۳ ^{aC} | ۴۰/۳۲ ± ۰/۳۵ ^{cB} | ۴۲/۱۶ ± ۰/۲۵ ^{dA} |

* حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) در هر ردیف می‌باشند.

این‌رو همان‌طور که نشان داده شده است با افزایش درصد بکارگیری اسانس شوید در ساختار پوشش فعال برپایه CMC جهت پوشش دادن نمونه‌های میگو شاخص شفافیت به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) کاهش یافت. علاوه

معنی‌داری وابسته به درصد بکارگیری اسانس‌ها در ساختار پوشش و مدت زمان نگهداری نبود ($p > 0.05$). همچنین نتایج نشان داد که استفاده از نانوذرات اکسید روی تأثیری معنی‌داری روی شاخص‌های رنگی نداشت ($p > 0.05$). از

مشخص شد که تغییرات میزان سفتی بافت نمونه‌های میگوی پوشش داده شده با پوشش CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و درصد‌های مختلف اسانس شوید به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) وابسته به حضور نانوذرات، درصد بکارگیری اسانس در ساختار پوشش CMC و همچنین مدت زمان نگهداری نمونه‌ها تحت شرایط یخچال بود. ارزیابی نتایج میزان سفتی بافت میگو در طی دوره نگهداری تحت شرایط یخچال نشان داد که با افزایش مدت زمان نگهداری از ۱ تا ۱۲ روز به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) سفتی بافت کاهش یافت. با این وجود افزایش غلظت اسانس شوید و نیز حضور نانوذرات اکسید روی در ساختار پوشش فعال بر پایه CMC به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) از کاهش سفتی نمونه‌های میگو در طی دوره نگهداری جلوگیری نمود، به همین خاطر بالاترین میزان سفتی بافت مربوط به نمونه‌های میگوی پوشش داده شده با پوشش CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و ۴ درصد اسانس شوید بود و کمترین میزان سفتی در پایان دوره نگهداری مربوط به تیمار شاهد بود. بنابراین آنچه نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد بیانگر این بود که بافت نمونه‌ها تیمار شده با پوشش حاوی نانوذرات و اسانس شوید در مقایسه با تیمار شاهد بهتر حفظ شد. به همین خاطر می‌توان دید که نمونه میگوی پوشش داده شده با پوشش فعال حاوی ۳ درصد اسانس شوید و نانوذرات اکسید روی از کیفیت بافتی مطلوبی در طول دوره نگهداری برخوردار است که به عنوان نمونه بهینه در بین تیمارهای مختلف از لحاظ بافتی انتخاب شد.

بر این افزایش مدت زمان نگهداری به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) شاخص شفافیت را نیز کاهش داد ولی کاهش میزان شفافیت در تیمارهای حاوی درصد‌های بالای اسانس با شیب کمتری نسبت به سایر تیمارها و تیمار شاهد رخ داد. بررسی تغییرات میزان شاخص زردی نشان داد که با افزایش درصد بکارگیری اسانس در ساختار پوشش فعال بر پایه CMC میزان شاخص زردی به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش می‌یابد. همچنین افزایش مدت زمان نگهداری سبب افزایش شاخص زردی شد که این افزایش در تیمارهای پوشش داده شده با پوشش CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و ۴ درصد اسانس شوید نسبت به سایر تیمارها و تیمار شاهد کمتر بود. به دست آمدن خصوصیات مطلوب رنگی در نمونه‌های با مقادیر بالاتر اسانس (بخصوص نمونه‌های تیمار شده با ۳ درصد اسانس) احتمالاً بخاطر تاثیر مثبت اسانس روی این شاخص‌ها می‌باشد که سبب شده نمونه‌های پوشش داده شده با پوشش حاوی ۳ درصد اسانس شوید به عنوان نمونه با کیفیت رنگی مناسب انتخاب شود.

۵۶ - تغییرات سفتی بافت نمونه‌های میگو

نتایج مربوط به تغییرات میزان سفتی بافت نمونه‌های میگوی پوشش داده شده با پوشش CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و درصد‌های مختلف اسانس شوید و نیز مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در طی ۱۲ روز نگهداری تحت شرایط یخچال در جدول ۲ نشان داده شده است. براساس نتایج جدول تحلیل واریانس

جدول ۲- تغییرات میزان سفتی (نیوتن) تیمارهای مختلف میگو در طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

| تیمار / زمان | اول | سوم | ششم | نهم | دوازدهم |
|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| شاهد | ۵۲/۴۰ ± ۰/۲۴ ^{ba} | ۴۱/۲۳ ± ۱/۷۳ ^{efB} | ۳۳/۶۸ ± ۰/۵۹ ^{fC} | ۲۲/۴۸ ± ۰/۸۲ ^{fD} | ۱۴/۵۸ ± ۰/۸۳ ^{fE} |
| ZnO % ۰/۰۳ | ۵۱/۶۰ ± ۰/۲۵ ^{ca} | ۴۴/۱۶ ± ۱/۰۳ ^{eB} | ۳۶/۵۷ ± ۰/۵۲ ^{cC} | ۲۷/۳۱ ± ۰/۷۴ ^{ed} | ۱۹/۱۸ ± ۰/۴۵ ^{eE} |
| ZnO % ۰/۰۳ + ۱٪ اسانس شوید | ۵۳/۳۶ ± ۰/۳۴ ^{aA} | ۴۵/۷۷ ± ۰/۰۴ ^{dB} | ۳۹/۱۲ ± ۰/۳۳ ^{dC} | ۳۲/۲۶ ± ۰/۵۰ ^{dD} | ۲۶/۵۱ ± ۰/۳۳ ^{dE} |
| ZnO % ۰/۰۳ + ۲٪ اسانس شوید | ۵۱/۲۷ ± ۰/۱۵ ^{ca} | ۴۷/۳۷ ± ۰/۰۳ ^{eB} | ۴۲/۶۹ ± ۰/۰۳ ^{cC} | ۳۶/۵۹ ± ۰/۶۱ ^{cd} | ۲۹/۶۷ ± ۰/۲۱ ^{ce} |
| ZnO % ۰/۰۳ + ۳٪ اسانس شوید | ۵۲/۰۹ ± ۰/۲۵ ^{ba} | ۵۰/۴۲ ± ۰/۰۴ ^{ebB} | ۴۷/۲۳ ± ۰/۰۲ ^{bB} | ۴۵/۱۲ ± ۰/۰۵ ^{bB} | ۴۴/۴۲ ± ۰/۰۶ ^{bb} |
| ZnO % ۰/۰۳ + ۴٪ اسانس شوید | ۵۳/۱۹ ± ۰/۳۳ ^{aA} | ۵۱/۲۶ ± ۰/۰۳ ^{aB} | ۴۸/۴۱ ± ۰/۰۴ ^{aC} | ۴۶/۶۰ ± ۰/۰۱ ^{aD} | ۴۵/۴۴ ± ۰/۰۲ ^{aE} |

* حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) در هر ردیف می‌باشند.

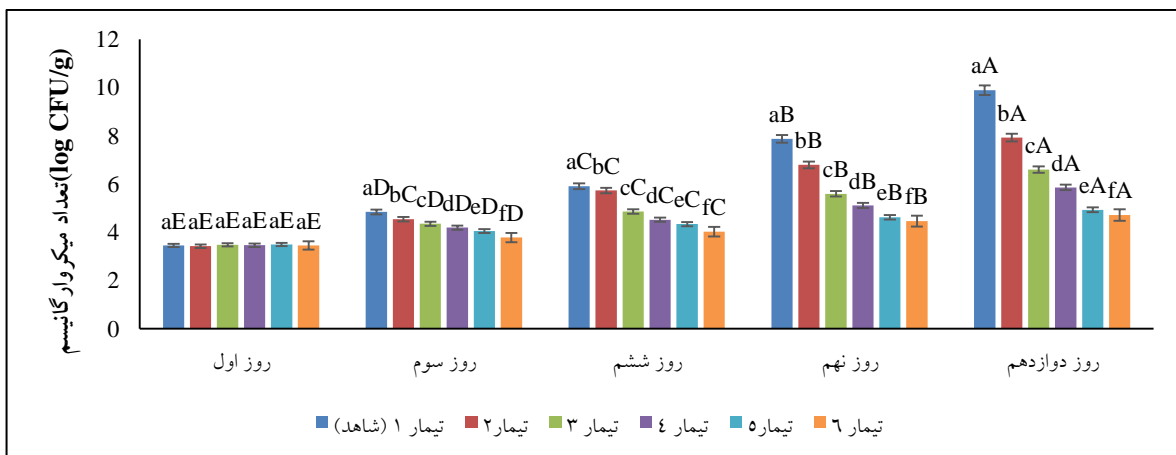
موثرتری قادر به کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها در طی دوره نگهداری ۱۲ روزه تحت شرایط یخچال بودند. با این وجود به دلیل اینکه استفاده از ۴ درصد اسانس در ساختار پوشش‌های فعال حاوی اسانس و نانوذرات اکسید روی از لحاظ برخی خصوصیات فیزیکی و ظاهری نسبت به نمونه‌های پوشش داده شده حاوی ۳ درصد اسانس از کیفیت کمتری برخوردار بودند لذا به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که نمونه‌های میگوی پوشش داده شده با پوشش فعال حاوی ۳ درصد اسانس شویید و نانوذرات اکسید روی به عنوان بهترین نمونه انتخاب شدند.

- تصاویر ریزساختاری فیلم‌ها

نتایج حاصل از بررسی خصوصیات ریزساختاری نانوکامپوزیت‌های CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و اسانس شویید در شکل ۴ نشان داده شده است. همان‌طور که نتایج حاصل از بررسی خصوصیات ریزساختاری نانوکامپوزیت‌های CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و اسانس شویید نشان داد فیلم خالص CMC دارای سطح صاف، بدون منفذ و فشرده بود (شکل ۴-A) اما با افزودن نانوذرات اکسید روی و ۳ درصد اسانس شویید ناهمواری‌های سطحی افزایش یافت. براساس نتایج مشخص شد که افزودن نانوذرات سبب پراکندگی منظم آن‌ها در ساختار فیلم CMC می‌شوند (شکل ۴-B) و همچنین افزودن ۳ درصد عصاره در ساختار فیلم سبب بهبود پراکندگی نانوذرات و قطرات در ساختار فیلم CMC شد (شکل ۴-C).

- تغییرات خصوصیات میکروبی نمونه‌های میگو

نتایج به دست آمده در طی این پژوهش نشان داد تغییرات شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها (شکل ۳)، شمارش کلی اشریشیاکالی (جدول ۳) و استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت (جدول ۴) موجود در نمونه‌های میگوی پوشش داده شده با پوشش CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و درصد‌های مختلف اسانس شویید به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) وابسته به حضور نانوذرات، درصد بکارگیری اسانس در ساختار پوشش CMC و همچنین مدت زمان نگهداری نمونه‌ها تحت شرایط یخچال بودند. بررسی روند تغییرات شمارش میکروارگانیسم‌ها (شمارش کلی، شمارش اشریشیاکالی و استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت) در طی دوره نگهداری ۱۲ روزه تحت شرایط یخچال نشان داد که با افزایش مدت زمان نگهداری تحت شرایط یخچال تعداد میکروارگانیسم‌های موجود در نمونه‌های میگوی پوشش داده شده با پوشش فعال برپایه CMC به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش می‌یابد که این افزایش در تیمار شاهد با شیب بالاتری نسبت به سایر تیمارها رخ می‌دهد. همچنین تغییرات شمارش میکروارگانیسم‌ها (شمارش کلی، شمارش اشریشیاکالی و استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت) در طی دوره نگهداری تحت شرایط یخچال نشان داد که شیب افزایش تعداد میکروارگانیسم‌ها در تیمارهای پوشش داده شده با پوشش CMC حاوی درصد‌های بالاتر اسانس شویید نسبت به سایر تیمارها و تیمار شاهد به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) کمتر بود که در این میان تیمارهای پوشش داده شده حاوی ۴ درصد اسانس شویید و نانوذرات اکسید روی به طور



شکل ۳ - تغییرات شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی نمونه‌های مختلف میگو در طی دوره نگهداری در دمای یخچال

جدول ۳- تغییرات شمارش/شریشیاکلای (log CFU/g) تیمارهای مختلف میگو در طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

| تیمار / زمان (روز) | اول | سوم | ششم | نهم | دوازدهم |
|--------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| تیمار ۱ (شاهد) | ۰/۵۷ ± ۰/۰۵ ^{aE} | ۰/۹۶ ± ۰/۰۶ ^{aD} | ۱/۴۱ ± ۰/۰۶ ^{aC} | ۲/۱۲ ± ۰/۰۹ ^{aB} | ۲/۸۷ ± ۰/۰۸ ^{aA} |
| تیمار ۲ | ۰/۵۲ ± ۰/۰۶ ^{aE} | ۰/۸۱ ± ۰/۰۷ ^{bD} | ۱/۲۴ ± ۰/۰۷ ^{bC} | ۱/۸۲ ± ۰/۰۸ ^{bB} | ۲/۵۷ ± ۰/۰۵ ^{bA} |
| تیمار ۳ | ۰/۵۳ ± ۰/۰۴ ^{aE} | ۰/۷۳ ± ۰/۰۴ ^{cD} | ۱/۱۱ ± ۰/۰۶ ^{cC} | ۱/۴۸ ± ۰/۰۶ ^{cB} | ۱/۸۸ ± ۰/۰۶ ^{cA} |
| تیمار ۴ | ۰/۵۵ ± ۰/۰۵ ^{aE} | ۰/۶۸ ± ۰/۰۵ ^{dD} | ۰/۹۷ ± ۰/۰۵ ^{dC} | ۱/۲۹ ± ۰/۰۴ ^{dB} | ۱/۶۳ ± ۰/۰۳ ^{dA} |
| تیمار ۵ | ۰/۵۲ ± ۰/۰۶ ^{aD} | ۰/۵۹ ± ۰/۰۴ ^{eD} | ۰/۶۸ ± ۰/۰۳ ^{eC} | ۰/۷۹ ± ۰/۰۵ ^{eB} | ۰/۸۹ ± ۰/۰۴ ^{eA} |
| تیمار ۶ | ۰/۵۶ ± ۰/۰۴ ^{aC} | ۰/۵۸ ± ۰/۰۵ ^{eBC} | ۰/۶۵ ± ۰/۰۴ ^{eB} | ۰/۷۴ ± ۰/۰۶ ^{eAB} | ۰/۸۰ ± ۰/۰۳ ^{fA} |

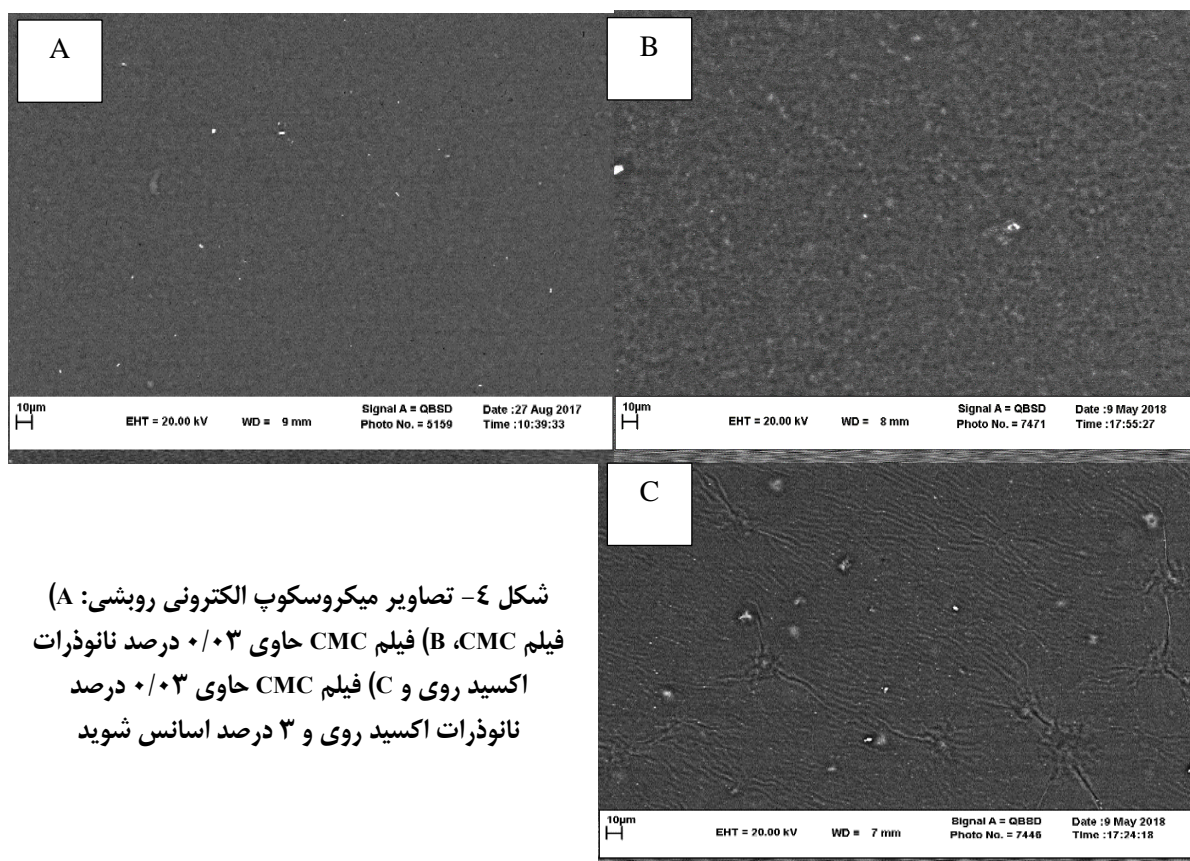
*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) در هر ردیف می باشند.

جدول ۴- تغییرات شمارش/استافیلوکوکوس اورئوس/کواگولاز مثبت (log CFU/g) تیمارهای مختلف میگو در طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

| تیمار / زمان (روز) | اول | سوم | ششم | نهم | دوازدهم |
|--------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| تیمار ۱ (شاهد) | ۱/۱۲ ± ۰/۰۸ ^{aE} | ۱/۹۲ ± ۰/۰۶ ^{aD} | ۲/۷۷ ± ۰/۰۵ ^{aC} | ۳/۴۹ ± ۰/۰۷ ^{aB} | ۴/۱۱ ± ۰/۰۸ ^{aA} |
| تیمار ۲ | ۱/۱۱ ± ۰/۰۶ ^{aE} | ۱/۶۱ ± ۰/۰۴ ^{bD} | ۲/۳۸ ± ۰/۰۴ ^{bC} | ۲/۸۲ ± ۰/۰۶ ^{bB} | ۳/۵۹ ± ۰/۰۷ ^{bA} |
| تیمار ۳ | ۱/۰۸ ± ۰/۰۷ ^{aE} | ۱/۴۳ ± ۰/۰۴ ^{cD} | ۱/۸۶ ± ۰/۰۷ ^{cC} | ۲/۳۸ ± ۰/۰۸ ^{cB} | ۲/۹۲ ± ۰/۰۷ ^{cA} |
| تیمار ۴ | ۱/۱۰ ± ۰/۰۵ ^{aE} | ۱/۲۹ ± ۰/۰۶ ^{dD} | ۱/۶۷ ± ۰/۰۳ ^{dC} | ۲/۱۴ ± ۰/۰۷ ^{dB} | ۲/۵۷ ± ۰/۰۶ ^{dA} |
| تیمار ۵ | ۱/۰۹ ± ۰/۰۶ ^{aD} | ۱/۱۶ ± ۰/۰۸ ^{eD} | ۱/۴۲ ± ۰/۰۶ ^{eC} | ۱/۷۴ ± ۰/۰۶ ^{eB} | ۲/۰۱ ± ۰/۰۵ ^{eA} |
| تیمار ۶ | ۱/۰۵ ± ۰/۰۷ ^{aD} | ۱/۱۳ ± ۰/۰۵ ^{eD} | ۱/۳۰ ± ۰/۰۴ ^{fC} | ۱/۵۷ ± ۰/۰۵ ^{fB} | ۱/۷۸ ± ۰/۰۸ ^{fA} |

*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) در هر ردیف می باشند.

۵۸



شکل ۴- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی: (A) فیلم CMC، (B) فیلم CMC حاوی ۰/۰۳ درصد نانوذرات اکسید روی و (C) فیلم CMC حاوی ۰/۰۳ درصد نانوذرات اکسید روی و ۳ درصد اسانس شوید

آنزیم‌های پروتئولیتیک و تجزیه پروتئین‌ها موجود در میگو ترکیبات آمینی، آمونیاک و اسیدهای آمینه آزاد تولید خواهد شد و میزان pH نمونه‌ها افزایش می‌یابد (Hyytiä *et al.*, 1999). همچنین با توجه به این که تاثیر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی و نیز اسانس شوید به اثبات رسیده و این ترکیبات دارای اثر ضد میکروبی روی فعالیت و رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشند (Derakhshan *et al.*, 2017; Jebel & Almasi, 2016) لذا احتمالاً اسانس در غلظت بالا و نیز وجود نانوذرات اکسید روی سبب کاهش فعالیت‌های آنزیمی میکروارگانیسم‌ها می‌شوند و در نتیجه تغییرات pH با شیب کمتری انجام می‌شود. نتایج این پژوهش با یافته‌های دیگر محققین نیز مطابقت داشت. Chamanara و همکاران (۲۰۱۲)، به مطالعه و ارزیابی خصوصیات فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان پوشش داده شده توسط پوشش کیتوزانی حاوی اسانس آویشن پرداختند. نتایج این محققین نشان دادند که با افزایش مدت زمان نگهداری تا ۳ روز موجب کاهش pH و افزایش مدت زمان نگهداری از ۳ تا ۱۵ روز موجب افزایش میزان pH نمونه‌های فیله ماهی شد. همچنین مشخص شد که در تیمارهای پوشش داده شده با اسانس میزان تغییرات pH کمتر بود. محققین افزایش ثانویه را به ترکیبات فرار نیتروژنی در نتیجه فعالیت‌های آنزیمی و کاهش تغییرات pH را به اثر بازدارندگی اسانس روی میکروارگانیسم‌ها نسبت دادند.

- تغییرات خصوصیات حسی نمونه‌های میگو

نتایج حاصل از ارزیابی حسی شاخص‌های حسی رنگ، بافت، بوی بد و پذیرش کلی نمونه‌های مختلف میگو پوشش داده شده با پوشش CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و سطوح مختلف اسانس شوید در پایان دوره نگهداری و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در جدول ۵ نشان داده شده است. براساس نتایج به دست آمده از جداول تحلیل واریانس مشخص شد که تغییرات خصوصیات حسی (رنگ، بافت، بوی بد و پذیرش کلی) در پایان دوره نگهداری به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) وابسته حضور نانوذرات، درصد بکارگیری اسانس در ساختار پوشش CMC و همچنین مدت زمان نگهداری نمونه‌ها تحت شرایط یخچال بود. بر این اساس همان‌طور که نتایج نشان داد از لحاظ تمامی خصوصیات حسی (رنگ، بافت و توسعه بوی بد) تیمار پوشش داده شده با پوشش CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و ۳ درصد اسانس شوید از بالاترین امتیاز حسی برخوردار بود. همچنین میزان پذیرش کلی نمونه‌های میگو پوشش داده شده با پوشش CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و ۳ درصد اسانس شوید به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) بیشتر از سایر تیمارها بود.

بحث

- تغییرات pH نمونه‌های میگو

در طی دوره نگهداری با افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های میگو به دلیل تولید

جدول ۵- تغییرات امتیاز خصوصیات حسی تیمارهای مختلف میگوی پوشش داده شده در پایان دوره نگهداری

| تیمار / زمان (روز) | رنگ | بافت | بوی بد | پذیرش کلی |
|----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| شاهد | ۲/۵۰ ± ۰/۰۴ ^f | ۲/۰۰ ± ۰/۰۰ ^e | ۱/۰۰ ± ۰/۰۰ ^e | ۱/۵۰ ± ۰/۰۵ ^f |
| ZnO ۱٪/۰۳ | ۳/۰۰ ± ۰/۰۰ ^e | ۲/۵۰ ± ۰/۰۶ ^d | ۱/۵۰ ± ۰/۰۵ ^d | ۲/۰۰ ± ۰/۰۰ ^e |
| ZnO ۱٪+۱٪ اسانس شوید | ۳/۵۰ ± ۰/۰۵ ^d | ۲/۵۰ ± ۰/۰۴ ^d | ۲/۰۰ ± ۰/۰۰ ^c | ۳/۰۰ ± ۰/۰۰ ^d |
| ZnO ۲٪+۲٪ اسانس شوید | ۴/۰۰ ± ۰/۰۰ ^c | ۳/۵۰ ± ۰/۰۵ ^c | ۳/۰۰ ± ۰/۰۱ ^b | ۳/۵۰ ± ۰/۰۵ ^c |
| ZnO ۳٪+۳٪ اسانس شوید | ۵/۰۰ ± ۰/۰۰ ^a | ۵/۰۰ ± ۰/۰۰ ^a | ۵/۰۰ ± ۰/۰۰ ^a | ۵/۰۰ ± ۰/۰۰ ^a |
| ZnO ۴٪+۴٪ اسانس شوید | ۴/۵۰ ± ۰/۰۵ ^b | ۴/۵۰ ± ۰/۰۵ ^b | ۵/۰۰ ± ۰/۰۰ ^a | ۴/۰۰ ± ۰/۰۶ ^b |

*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) در هر ستون می‌باشند.

استفاده از اسانس شوید همراه با نانوذرات اکسید روی جهت افزایش عمر ماندگاری میگو

- تغییرات کل بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) نمونه‌های میگو

ترکیبات نیتروژن دار فرار در نتیجه تجزیه پروتئین‌ها و ترکیبات نیتروژن دار غیر پروتئینی تولید می‌شوند که عمدتاً شامل آمونیاک و آمین‌های نوع اول، دوم و سوم می‌باشند. TVB-N معرف درجه فساد محصولات دریایی می‌باشد و عمدتاً در نتیجه رشد باکتریایی و فعالیت آنزیم‌های ذاتی این محصولات حاصل می‌شوند. در محصولات دریایی شاخص TVB-N ۲۰-۵ میلی‌گرم نیتروژن در هر ۱۰۰ گرم نشان دهنده کیفیت مناسب است، درحالی‌که شاخص‌های در محدوده ۳۵-۳۰ میلی‌گرم نیتروژن در هر ۱۰۰ گرم به طور کلی نشان دهنده قابلیت پذیرش کلی پایین و مقادیر بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم نیتروژن در هر ۱۰۰ گرم بیانگر کیفیت پایین در این محصولات می‌باشد (Papadopoulos *et al.*, 2004; Fan *et al.*, 2009; Paari *et al.*, 2012). شاخص TVB-N در مجموع شامل تری متیل آمین (حاصل از فساد باکتریایی)، دی متیل آمین (حاصل از خود هضمی آنزیمی)، آمونیاک و سایر ترکیبات فرار آمینی در ارتباط با فساد فرآورده‌های دریایی می‌باشد (Huss, 1994). پس بنابراین احتمالاً با بکارگیری نانوذرات اکسید روی و افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی، فعالیت باکتریایی و آنزیمی در نمونه‌های تیمار شده کاهش می‌یابد که این امر منجر به کاهش تشکیل مواد نیتروژن دار فرار می‌گردد. و از طرف دیگر با توجه به افزایش جمعیت میکروبی در طول دوره نگهداری، میزان مواد نیتروژن دار فرار با افزایش زمان نگهداری به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش می‌یابد. این نتایج با یافته‌های سایر محققین نیز مطابقت داشت. Nowzari و همکاران (۲۰۱۳)، تاثیر استفاده از پوشش کیتوزان-ژلاتین و نیز پوشش ژلاتین روی خصوصیات کیفی و شاخص TVB-N فیله ماهی قزل آلا پرداختند. براساس نتایج به دست آمده مشخص شد که با استفاده از این سیستم‌های پوششی و به دلیل خاصیت ضد میکروبی آن‌ها، فعالیت میکروبی فیله‌ها کاهش و گسترش شاخص TVB-N به تاخیر افتاد. همچنین این محققین دریافتند که افزایش زمان نگهداری به دلیل افزایش فعالیت آنزیمی و میکروبی سبب افزایش شاخص TVB-N تیمارهای مختلف می‌شود.

- تغییرات خصوصیات رنگی نمونه‌های میگو

از آنجایی که ماهیت اسانس استخراج شده از شوید به صورت زرد تا زرد متمایل به قهوه‌ای بود لذا افزایش سطح بکارگیری اسانس در ساختار پوشش CMC منجر به کاهش شفافیت نمونه‌های میگو خواهد شد و شاخص زردی نمونه‌های پوشش داده شده را افزایش می‌دهد. از طرف دیگر با توجه به آن که در طی دوره نگهداری احتمالاً شاخص‌های اکسیداتیو (اندیس پراکسید و اندیس تیوباریتوریک اسید) افزایش می‌یابند، لذا این افزایش شاخص‌های اکسیداتیو منجر به تولید ترکیبات رنگی تیره خواهد شد که این امر نیز باعث کاهش شاخص رنگی L^* و افزایش شاخص b می‌شود (Tananuwong & Tawaruth, 2010). از طرفی هم، افزایش درصد بکارگیری اسانس شوید در ساختار پوشش CMC به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی که دارد (Stanojevic *et al.*, 2016) احتمالاً منجر به کاهش شاخص‌های اکسیداتیو در نمونه‌های میگو پوشش داده شده با CMC حاوی اسانس خواهد شد به همین خاطر تغییرات شاخص‌های رنگی L^* و b در طی دوره نگهداری در تیمارهای پوشش داده شده با پوشش حاوی درصد‌های بالای اسانس شوید نسبت به سایر تیمارها کمتر بود. نتایج حاصل از این پژوهش با یافته‌های دیگر محققین نیز مطابقت داشت. Alotaibi و Tahergorabi (۲۰۱۸)، با بکارگیری اسانس آویشن در ساختار پوشش برپایه نشاسته سیب زمینی شیرین مشاهده کردند که با افزایش مدت زمان نگهداری شاخص روشنایی کاهش و شاخص زردی نیز افزایش می‌یابد. این محققین مشاهده نمودند که با افزایش درصد اسانس آویشن در ساختار پوشش‌ها شاخص زردی افزایش یافت که محققین این رفتار را به وجود رنگدانه‌های موجود در اسانس آویشن نسبت دادند.

- تغییرات سفتی بافت نمونه‌های میگو

یکی از اولین خصوصیات که توسط مصرف کنندگان در مورد ارزیابی کیفیت محصولات غذایی مورد بررسی قرار می‌گیرد، خصوصیات بافتی و سفتی محصول است که ارتباط مستقیمی با پذیرش کلی محصول نهایی دارد (Nasiri *et al.*, 2017). آنچه نتایج حاصل از این پژوهش

نشان داد بیانگر این بود که بافت نمونه‌ها تیمار شده با پوشش حاوی نانوذرات و اسانس شوید در مقایسه با تیمار شاهد بهتر حفظ شد. این حالت ممکن است در ارتباط با ترکیباتی (ترکیبات فنولی و ضد میکروبی موجود در اسانس شوید و همچنین فعالیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی) است که از فعالیت آنزیم‌ها یا میکروارگانیسم‌های ذاتی میگو جلوگیری یا به تاخیر باندازد زیرا این آنزیم‌ها و میکروارگانیسم‌ها سبب تجزیه پروتئین‌ها و به دنبال آن تشدید شکستن پروتئین‌ها می‌شوند (Mahmoud *et al.*, 2004). نتایج این پژوهش با یافته‌های دیگر محققین نیز مطابقت داشت. Cai و همکاران (۲۰۱۵)، تاثیر استفاده از اسانس نعنای روی خصوصیات بافتی (سفتی) فیله خار ماهی سرخ را مورد ارزیابی قرار دادند. براساس نتایج به دست آمده توسط این محققین مشخص شد که سفتی بافت در طول دوره نگهداری در یخچال کاهش یافت که در این میان نمونه‌های تیمار شده با اسانس به دلیل تاثیر بازدارنده آن روی میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌ها از سفتی بافت مطلوب‌تری در مقایسه با تیمار شاهد داشتند.

- تغییرات خصوصیات میکروبی نمونه‌های میگو

فساد میکروبی یکی از عوامل محدود کننده عمر ماندگاری محصولات غذایی می‌باشد. میکروارگانیسم‌ها در نتیجه رشد و تکثیر خود با تجزیه ترکیبات مغذی و تولید ترکیبات نامطلوب سبب ایجاد طعم و بوی نامطلوب می‌شوند. در نتیجه چنین فعالیت‌هایی ارزش غذایی محصول کاهش یافته و در نهایت ممکن است سطح فساد به حدی برسد که محصول غذایی مورد نظر قابل استفاده نباشد. بنابراین کنترل و ایجاد شرایطی جهت نابودی میکروارگانیسم‌ها و یا تاخیر در رشد و تکثیر آن‌ها می‌تواند سبب جلوگیری از فساد باکتریایی و تاثیرات نامطلوب ناشی از آن شود (Jay, 2012). استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی یکی روش‌های مهم برای جلوگیری از فعالیت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و فسادزا می‌باشد. با این وجود به دلیل این که این نگهدارنده‌ها دارای اثرات سرطان‌زایی و جهش‌زایی هستند و نیز باقیمانده آن‌ها نیز اثرات سمی دارد لذا استفاده از آن‌ها همراه با محدودیت است (Sanla-Ead *et al.*, 2012; Hou *et al.*, 2007). عصاره و اسانس گیاهان دارویی و همچنین نانوذرات اکسید روی به طور

کلی ایمن شناخته می‌شوند (GRAS) که دارای تاثیرات قابل توجهی روی میکروارگانیسم‌های فسادزا و بیماری‌زا هستند، در نتیجه عمر ماندگاری محصولات غذایی را افزایش می‌دهند (Ohira *et al.*, 2008; Shan *et al.*, 2007). طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۱-۲۳۹۴ حداکثر تعداد مجاز تعداد کل میکروارگانیسم‌ها، تعداد کلی اشریشیاکلای و استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در میگوی تازه به ترتیب برابر با 10^7 ، 4×10^2 و 2×10^3 (تعداد در گرم) می‌باشد (ISIRI No. 1-2394, 2008) که شمارش میکروبی در طی این پژوهش نشان داد که در پایان دوره نگهداری نمونه‌های تیمار شده با پوشش CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و اسانس شوید از ۱ تا ۴ درصد تعداد میکروارگانیسم‌های آن‌ها کمتر از حد استاندارد بود که این امر نشان دهنده موثر بودن پوشش فعال مورد استفاده در این پژوهش بود. براساس مطالعات صورت گرفته مشخص شده که اسانس‌هایی که دارای فعالیت ضد میکروبی قوی علیه پاتوژن‌های غذایی دارند حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات فنولی می‌باشند. بنابراین مکانیسم عمل اسانس‌ها مشابه با فعالیت ضد میکروبی ترکیبات فنولی است. یکی از خصوصیات ویژه اسانس‌ها خاصیت آب‌گریزی آن‌ها است که سبب ایجاد قابلیت واکنش آن‌ها با لیپیدهای موجود در غشای سلولی می‌شود. این حالت سبب قابلیت نفوذپذیری غشاء، اختلال در ساختار اصلی سلول‌ها و از بین بردن هموستازی سلولی (حفظ تعادل سلولی) می‌شود. هنگامی که تحت تاثیر این عوامل بخشی از محتوی سلولی باکتری به محیط اطراف نشت می‌کند این سلول‌ها نسبت به مرگ حساس‌تر می‌شوند (Seow *et al.*, 2014). بنابراین استفاده از اسانس‌ها در مواد غذایی از این طریق سبب واکنش با سلول‌های باکتریایی و در نتیجه مرگ آن‌ها می‌شود. علاوه بر این نانوذرات فلزی مانند نانوذرات اکسید روی و نانوذرات نقره برای طیف وسیعی از خصوصیات ضدباکتریایی و مواردی از این قبیل در ترکیب با مواد بسته بندی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این نانوذرات دارای خصوصیتی از قبیل مساحت سطحی بالا، اندازه خیلی ریز و پراکندگی بالا دارند. نانوذرات اکسید روی یک فلز ضدباکتریایی موثر و ایمن می‌باشد، زیرا این عنصر برای سلول‌های حیوانی غیرسمی و برای باکتری‌ها به شدت سمی می‌باشد. این فلز یکی از متداول‌ترین نانو مواد مورد

استفاده از اسانس شوید همراه با نانوذرات اکسید روی جهت افزایش عمر ماندگاری میگو

فیلم‌ها خواهد شد و در نهایت سبب بهبود قابلیت نفوذ فیلم‌ها می‌گردد (Li et al., 2017). نتایج حاصل از آن پژوهش با یافته‌های دیگر محققین نیز مطابقت داشت. Hosseini و همکاران (۲۰۱۳)، با مطالعه تاثیر بکارگیری اسانس پونه کوهی و نانوذرات کیتوزان مشاهده شد که استفاده از نانوذرات و اسانس سبب ایجاد یکنواختی و یکپارچگی ساختارها در مقایسه با تیمار شاهد شدند.

- تغییرات خصوصیات حسی نمونه‌های میگو

نتایج نشان داد از لحاظ تمامی خصوصیات حسی (رنگ، بافت و توسعه بوی بد) تیمار پوشش داده شده با پوشش CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و ۳ درصد اسانس شوید از بالاترین امتیاز حسی برخوردار بود. همچنین میزان پذیرش کلی نمونه‌های میگوی پوشش داده شده با پوشش CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و ۳ درصد اسانس شوید به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) بیشتر از سایر تیمارها بود. عدم استفاده از اسانس و نانوذرات در تهیه نمونه شاهد و همچنین استفاده از سطوح پایین اسانس در ساختار پوشش‌های فعال CMC به دلیل عدم توانایی مقابله کافی با رشد میکروارگانیسم‌های موجود در نمونه‌های میگوی پوشش داده شده سبب ایجاد بافت و بوی نامطلوب در نمونه‌های میگو می‌شود که احتمالاً سبب شده که ارزیاب‌ها امتیاز پایین‌تری از این لحاظ به نمونه‌های تیمار شده با سطوح پایین اسانس بدهند. بنابراین استفاده از پوشش CMC و افزایش درصد اسانس در ساختار آن و همچنین بکارگیری نانوذرات اکسید روی با توجه به این که تأثیرات مطلوبی روی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه‌های میگو داشتند به همین خاطر سبب شده تا ارزیاب‌ها امتیاز بیشتری به شاخص‌های حسی با افزایش درصد بکارگیری اسانس بدهند. اما افزایش میزان اسانس شوید از ۳ به ۴ درصد در ساختار پوشش CMC احتمالاً به دلیل تاثیر نامطلوبی که روی خصوصیات ظاهری نمونه‌های میگو داشته امتیاز کمتری نسبت به تیمار پوشش داده شده با ۳ درصد اسانس شوید کسب کرده است. بنابراین می‌توان گفت که استفاده از ۳ درصد اسانس شوید در ساختار پوشش CMC حاوی نانوذرات اکسید روی سبب بهبود خصوصیات حسی و پذیرش کلی نمونه‌های میگو تحت شرایط یخچال می‌شود. نتایج حاصل از این پژوهش با یافته‌های دیگر

استفاده می‌باشد که خصوصیات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی مناسبی دارد (Suresh et al., 2015). مکانیسم‌های ضدباکتریایی متعددی برای نانوذرات اکسید روی پیشنهاد شده است و عمدتاً در ارتباط با نسبت سطح به حجم مخصوص و خصوصیات فیزیکوشیمیایی مناسب آن‌ها می‌باشد (Sirelkhatim et al., 2015). بنابراین استفاده از نانوذرات اکسید روی در کنار نگهدارنده‌های طبیعی نظیر اسانس‌های گیاهی می‌تواند مقادیر آن‌ها را کاهش و اثر بخشی آن‌ها را افزایش دهد. نتایج و یافته‌های حاصل از این پژوهش با دستاوردهای دیگر محققین در مطالعات مختلف نیز مطابقت داشت. Arfat و همکاران (۲۰۱۴)، به مطالعه خصوصیات ضد میکروبی فیلم ایزوله پروتئین ماهی-ژلاتین پوست ماهی حاوی اسانس برگ ریحان و نانوذرات اکسید روی پرداختند. براساس نتایج به دست آمده مشخص شد که استفاده از اسانس ریحان و نانوذرات اکسید روی به طور همزمان سبب تقویت اثر ضد میکروبی فیلم شد که محققین این اثر در ارتباط با خاصیت ضد میکروبی اسانس و همچنین نفوذ یون‌های روی به درون دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها و واکنش با مولکول‌های آن‌ها نسبت دادند.

- تصاویر ریزساختاری فیلم‌ها

همان‌طور که نتایج حاصل از بررسی خصوصیات ریزساختاری نانوکامپوزیت‌های CMC حاوی نانوذرات اکسید روی و اسانس شوید نشان داد فیلم خالص CMC دارای سطح صاف، بدون منفذ و فشرده بود اما با افزودن نانوذرات اکسید روی و ۳ درصد اسانس شوید ناهمواری‌های سطحی افزایش یافت. افزودن نانوذرات سبب پراکندگی منظم آن‌ها در ساختار فیلم CMC می‌شوند و همچنین افزودن ۳ درصد عصاره در ساختار فیلم سبب بهبود پراکندگی نانوذرات و قطرات در ساختار فیلم CMC شد. دلیل این تغییر ساختارها ناشی از پراکندگی نانوذرات و اسانس در ساختار فیلم‌های CMC می‌باشد. این پراکندگی سبب تغییر در ساختار فیلم‌ها از تغییر پیوستگی زنجیرهای پلیمری می‌شود. بکارگیری نانوذرات و اسانس در ساختار فیلم CMC سبب ایجاد پیوندهای هیدروژنی و مولکولی بین گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل می‌شود که این امر سبب افزایش مقاومت مکانیکی و پیوستگی

isolate/fish skin gelatin-ZnO nanocomposite film incorporated with basil leaf essential oil. *Journal of Food Science and Technology*, 1-12.

Aşık, E. & Candoğan, K. (2014). Effects of Chitosan Coatings Incorporated with Garlic Oil on Quality Characteristics of Shrimp. *Journal of Food Quality*, 37(4), 237-246.

Cai, L., Cao, A., Li, Y., Song, Z., Leng, L. & Li, J. (2015). The effects of essential oil treatment on the biogenic amines inhibition and quality preservation of red drum (*Sciaenops ocellatus*) fillets. *Food Control*, 56, 1-8.

Chahal, K., Monika, A. K., Bhardwaj, U. & Kaur, R. (2017). Chemistry and biological activities of *Anethum graveolens* L. (dill) essential oil: A review. *Journal of Pharma Phytochemistry*, 6, 295-306.

Chamanara, V., Shabanpour, B., Gorgin, S. & Khomeiri, M. (2012). An investigation on characteristics of rainbow trout coated using chitosan assisted with thyme essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(3), 540-544.

Eslami, M., Koochi, M., Zadehashem, A., Khadiri, B. & Keshavarz, H. (2015). Investigating the presence of positive *Staphylococcus aureus* coagulase in traditional sheep cheeses offered in Marand city. *Journal of Food Science and Technology*, 12(46), 211-218 [In Persian].

Derakhshan, S., Navidinia, M. & Ahmadi, A. (2017). Antibacterial Activity of Dill (*Anethum graveolens*) Essential Oil and Antibiofilm Activity of Cumin (*Cuminum cyminum*) Alcoholic Extract. *Infection, Epidemiology and Microbiology*, 3(4), 122-126.

Duarte, J. L., Amado, J. R., Oliveira, A. E., Cruz, R. A., Ferreira, A. M., Souto, R. N. & Fernandes, C. P. (2015). Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of *Rosmarinus officinalis* essential oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(2), 189-192.

Emam-Djomeh, Z., Moghaddam, A. & Yasini Ardakani, S. A. (2015). Antimicrobial Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel Extract, Physical, Mechanical, Barrier and Antimicrobial Properties of Pomegranate Peel Extract-incorporated Sodium Caseinate Film and Application in

محققین نیز مطابقت داشت. Shahbazi و Rezaei (۲۰۱۸)، به مطالعه خصوصیات حسی فیله ماهی کپور نقره‌ای پوشش داده شده با پوشش فعال و زیست تخریب پذیر برپایه سدیم آلزینات-CMC حاوی اسانس آویشن، عصاره پوست سیب و نانوذرات اکسید روی پرداختند. نتایج نشان داد که استفاده از پوشش فعال خوراکی طرحی شده توسط این محققین منجر به بهبود خصوصیات حسی نمونه‌های فیله ماهی کپور نقره‌ای در طول دوره نگهداری سرد در مقایسه با تیمار شاهد شد.

نتیجه گیری

در سال‌های اخیر استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی به دلیل تاثیرات نامطلوبی که بر روی سلامتی انسان دارند، محدود شده و جای خود را کم کم به نگهدارنده‌های با منشأ طبیعی می‌دهند. بنابراین هدف از این مطالعه بکارگیری اسانس شوید به عنوان نگهدارنده طبیعی همراه با نانوذرات اکسید روی در ساختار پوشش خوراکی فعال برپایه CMC به منظور بهبود زمان نگهداری میگو تحت شرایط یخچال بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از ۳ درصد اسانس شوید به همراه نانوذرات اکسید روی در ساختار پوشش خوراکی برپایه CMC به طور معنی‌داری سبب بهبود خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی میگو در طی دوره نگهداری ۱۲ روزه در دمای یخچال شد. بنابراین بکارگیری پوشش CMC حاوی ۳ درصد اسانس شوید به همراه نانوذرات اکسید روی جهت افزایش ماندگاری میگو در دمای یخچال توصیه می‌شود.

منابع

Alotaibi, S. & Tahergorabi, R. (2018). Development of a sweet potato starch-based coating and its effect on quality attributes of shrimp during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology*, 88, 203-209.

Anon. (2008). Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Fish and Shrimp - Microbial Properties, National Standard of Iran No. 1-2394.

Arfat, Y. A., Benjakul, S., Vongkamjan, K., Sumpavapol, P. & Yarnpakdee, S. (2015). Shelf-life extension of refrigerated sea bass slices wrapped with fish protein

Packaging for Ground Beef. *Packaging Technology and Science*, 28(10), 869-881.

Emiroğlu, Z. K., Yemiş, G. P., Coşkun, B. K. & Candoğan, K. (2010). Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat science*, 86(2), 283-288.

Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. & Chi, Y. (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*, 115(1), 66-70.

Gokoglu, N. & Yerlikaya, P. (2008). Inhibition effects of grape seed extracts on melanosis formation in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). *International Journal of Food Science & Technology*, 43(6), 1004-1008.

Goulas, A. E. & Kontominas, M. G. (2005). Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 93(3), 511-520.

Hamza, L. F. (2017). Anethum graveolens: Physicochemical properties, medicinal uses, antimicrobial effects, antioxidant effect, anti-inflammatory and analgesic effects: A review. *World*, 5, 7.

Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M. & Farahmandghavi, F. (2013). Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 50-56.

Hou, L., Shi, Y., Zhai, P. & Le, G. (2007). Inhibition of foodborne pathogens by Hf-1, a novel antibacterial peptide from the larvae of the housefly (*Musca domestica*) in medium and orange juice. *Food Control*, 18(11), 1350-1357.

Huss, H. H. (1994). Assurance of seafood quality (No. 334). *Food and Agriculture Organization*.

Hyytiä, E., Hielm, S., Morkkila, M., Kinnunen, A. & Korkeala, H. (1999). Predicted and observed growth and toxigenesis by *Clostridium botulinum* type E in vacuum-packaged fishery product challenge tests. *International journal of food microbiology*, 47(3), 161-169.

Jay, J. M., Loessner, M. J. & Golden, D.

A. (2005). *Modern food microbiology* 7 th., 55-96.

Jebel, F. S. & Almasi, H. (2016). Morphological, physical, antimicrobial and release properties of ZnO nanoparticles-loaded bacterial cellulose films. *Carbohydrate polymers*, 149, 8-19.

Koontz, J. L. (2006). Special delivery: Controlled release of active ingredients from food and beverage packaging. Italian Packaging Technology Award (IPTA) Paper Competition.

Lawless, H. T. & Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: principles and practices*. Springer Science & Business Media.

Li, W., Zhang, C., Chi, H., Li, L., Lan, T., Han, P. & Qin, Y. (2017). Development of antimicrobial packaging film made from poly (lactic acid) incorporating titanium dioxide and silver nanoparticles. *Molecules*, 22(7), 1170.

Lopez-Caballero, M. E., Martinez-Alvarez, O., Gomez-Guillen, M. D. & Montero, P. (2007). Quality of thawed deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) treated with melanosis-inhibiting formulations during chilled storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 42(9), 1029e1038.

Maftoonazad, N. & Badii, F. (2009). Use of edible films and coatings to extend the shelf life of food products. *Recent patents on food, nutrition & agriculture*, 1(2), 162-170.

Mahmoud, B. S., Yamazaki, K., Miyashita, K., Il-Shik, S., Dong-Suk, C. & Suzuki, T. (2004). Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiology*, 21(6), 657-666.

Morsy, M. K., Khalaf, H. H., Sharoba, A. M., El-Tanahi, H. H. & Cutter, C. N. (2014). Incorporation of essential oils and nanoparticles in pullulan films to control foodborne pathogens on meat and poultry products. *Journal of food science*, 79(4), 675-684.

Nasiri, M., Barzegar, M., Sahari, M. A. & Niakousari, M. (2017). Application of Tragacanth gum impregnated with *Satureja khuzistanica* essential oil as a natural coating for enhancement of postharvest quality and shelf life of button mushroom (*Agaricus*

bisporus). *International journal of biological macromolecules*, 25(5), 53-67.

Nowzari, F., Shábanpour, B. & Ojagh, S. M. (2013). Comparison of chitosan–gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 141(3), 1667-1672.

Ohira, T., Yamamoto, O., Iida, Y. & Nakagawa, Z. E. (2008). Antibacterial activity of ZnO powder with crystallographic orientation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19(3), 1407-1412.

Osanloo, M., Sereshti, H., Sedaghat, M. M. & Amani, A. (2018). Nanoemulsion of Dill essential oil as a green and potent larvicide against *Anopheles stephensi*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(7), 6466-6473.

Ozdemir, M. & Floros, J. D. (2004). Active food packaging technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(3), 185-193.

Paari, A., Kanmani, P., Satishkumar, R., Yuvaraj, N., Pattukumar, V., Agrawal, M. & Arul, V. (2012). The combined effect of irradiation and antioxidant packaging on shelf life extension of goat fish (*Parupeneus indicus*): Microbial, chemical and EPR spectral assessment. *Journal of Food Processing and Preservation*, 36(2), 152-160.

Papadopoulos, A. N., Hill, C. A. S., Gkaraveli, A., Ntalos, G. A. & Karastergiou, S. P. (2004). Bamboo chips (*Bambusa vulgaris*) as an alternative lignocellulosic raw material for particleboard manufacture. *Holz als Roh-und Werkstoff*, 62(1), 36-39.

Rezaei, F. & Shahbazi, Y. (2018). Shelf-life extension and quality attributes of sauced silver carp fillet: A comparison among direct addition, edible coating and biodegradable film. *LWT-Food Science and Technology*, 87, 122-133.

Rhim, J. W. & Ng, P. K. (2007). Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 47(4), 411-433.

Sanla-Ead, N., Jangchud, A., Chonhenchob, V. & Suppakul, P. (2012). Antimicrobial Activity of cinnamaldehyde and eugenol and their activity after incorporation into cellulose-based packaging films. *Packaging Technology and Science*, 25(1), 7-17.

Sedaghat, N. & Zahedi, Y. (2012). Application of edible coating and acidic washing for extending the storage life of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Food Science and Technology International*, 18(6), 523-530.

Seow, Y. X., Yeo, C. R., Chung, H. L. & Yuk, H. G. (2014). Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Critical reviews in food science and nutrition*, 54(5), 625-644.

Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D. & Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of food microbiology*, 117(1), 112-119.

Shi, L. E., Li, Z. H., Zheng, W., Zhao, Y. F., Jin, Y. F. & Tang, Z. X. (2014). Synthesis, antibacterial activity, antibacterial mechanism and food applications of ZnO nanoparticles: a review. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31(2), 173-186.

Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M. & Mohamad, D. (2015). Review on zinc oxide nanoparticles: antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nano-Micro Letters*, 7(3), 219-242.

Stanojevic, L. P., Stanković, M. Z., Cvetković, D. J., Danilović, B. R. & Stanojević, J. S. (2016). Dill (*Anethum graveolens* L.) seeds essential oil as a potential natural antioxidant and antimicrobial agent. *Biologica Nyssana*, 7(1).

Suresh, D., Nethravathi, P. C., Rajanaika, H., Nagabhushana, H. & Sharma, S. C. (2015). Green synthesis of multifunctional zinc oxide (ZnO) nanoparticles using *Cassia fistula* plant extract and their photodegradative, antioxidant and antibacterial activities. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 31, 446-454.

Tananuwong, K. & Tewaruth, W. (2010). Extraction and application of antioxidants from black glutinous rice. *LWT-Food Science and Technology*, 43(3), 476-481.

Yuan, G., Lv, H., Tang, W., Zhang, X. & Sun, H. (2016b). Effect of chitosan coating combined with pomegranate peel extract on the quality of Pacific white shrimp during iced storage. *Food Control*, 59, 818-823.

Yuan, G., Zhang, X., Tang, W. & Sun, H. (2016a). Effect of chitosan coating combined

with green tea extract on the melanosis and quality of Pacific white shrimp during storage in ice. *CyTA-Journal of Food*, 14(1), 35-40.

Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Jiang, P. & Quek, S. (2016). Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control*, 59, 282-289.

The Application of Dill Essential Oil Combined with Zinc Oxide Nanoparticles in Active Coating Based on Carboxy Methyl Cellulose in order to Extend the Shelf Life of Shrimp under Refrigeration Condition

S. Taklavi^a, T. Mostaghim^{b*}, Sh. Shahriari^c

^a M. Sc. Student of the Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^b Assistant Professor of the Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^c Associate Professor of the Department of Chemical Engineering, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 10 February 2019

Accepted: 23 May 2019

Abstract

Introduction: Shrimp among the sea food has the highest commercial demand universally. Due to biochemical, microbiological and physical spoilage after receiving from sea, it has a short shelf life. The object of this research is to improve the shelf life of shrimp caught from the sea.

Materials and Methods: Active edible Carboxy Methyl Cellulose (CMC)-based coating containing Zinc Oxide nanoparticles (0.03%) and dill essential oil with 0, 1, 2, 3 and 4% levels as biopreservative were prepared to extend the shelf life of shrimp during 12 days of storage at 4 °C.

Results: Using active edible CMC-based coating led to the reduction of pH changes in shrimp coated samples during storage time, therefore coating containing ZnO nanoparticles and 4% dill essential oil were most effective in increasing storage time significantly ($p < 0.05$) and increased TVB-N content until the end of the 12 days but using ZnO nanoparticles and increasing the concentration of dill essential oil from 0 up to 4% resulted in a significant ($p < 0.05$) decrease in TVB-N content. Although incorporation of the dill essential oil compared to control significantly ($p < 0.05$) decreased the L^* and increased the b values during storage time and the treated samples with a higher levels of the essential oil had less color changes. However, extending the storage time significantly ($p < 0.05$) increases the b and reduces the L^* values of shrimp samples. Increasing the storage time caused a significant decrease ($p < 0.05$) in hardness of the shrimp samples but the use of nanoparticles and the essential oil reduces the process of softening. Total aerobic bacteria, *E.coli* and coagulase-positive *Staphylococcus aureus* counts showed that number of microorganisms was dependent on the presence of nanoparticles and the essential oil dosage used for treatment as well as storage time. Using high levels of the essential oil led to an increase ($p < 0.05$) in sensory parameter scores significantly, therefore the treatment containing 3% dill essential oil had the highest acceptability score.

Conclusion: The use of 3% dill essential oil as biopreservative along with ZnO nanoparticles in the structure of active edible CMC-based coating is recommended for the preservation of shrimp at 4 °C.

Keywords: Active Coating, CMC, Dill Essential Oil, Shrimp, ZnO Nanoparticles.

* Corresponding Author: toktammostaghim@yahoo.com