



تاثیر پوشش خوراکی آب‌پنیر، اسانس آویشن شیرازی و پونه‌کوهی بر کیفیت میکروبی و شیمیایی میگوی وانامی

طیبه غرغای^۱ و لاله رومیانی^{۲*}

تاریخ دریافت: ۹۸/۷/۲۰ تاریخ پذیرش: ۴۰/۴/۲۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

^۲ دانشیار گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

*مسئول مکاتبه: Email: l.roomiani@iauhvaz.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعه: فیلم خوراکی پروتئین آب پنیر غنی‌شده با اسانس گیاهی می‌تواند کیفیت میگوی وانامی (لیتوپنئوس وانامی) را بهبود ببخشد. هدف: هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر پوشش خوراکی آب‌پنیر به تنهایی و در ترکیب با اسانس‌های آویشن شیرازی (زاتاریا مولتی‌فلورا) و پونه کوهی (اورگانوم ولگارا) بر زمان ماندگاری میگوی وانامی که به روش اتمسفر تغییر یافته (5% O₂ - 45% N₂ - 50% CO₂) در جعبه‌های پلی‌پروپیلنی بسته‌بندی شده طی ۱۶ روز در دمای یخچال نگهداری شدند. روش کار: پارامترهای مورد بررسی شامل پراکسید، بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)، تیوباربیتوریک اسید (TBA) و بار میکروبی، در روزهای ۰، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ اندازه‌گیری شدند. تیمارهای مورد بررسی شامل تیمار شاهد، تیمار ۱ (پوشش خوراکی آب پنیر)، تیمار ۲ (پوشش خوراکی آب پنیر به همراه ۱ درصد اسانس پونه کوهی)، تیمار ۳ (پوشش خوراکی آب پنیر به همراه ۱ درصد اسانس آویشن شیرازی)، تیمار ۴ (پوشش خوراکی آب پنیر به همراه ۳ درصد اسانس پونه کوهی)، تیمار ۵ (پوشش خوراکی آب پنیر به همراه ۳ درصد اسانس آویشن شیرازی) بودند. نتایج: در تمام تیمارها آب پنیر به میزان ۱۰ درصد وزنی - وزنی استفاده شد. در مورد شاخص پراکسید، TBA و TVB-N تیمارهای شاهد و ۱ بالاترین مقدار و تیمارهای ۴ و ۵ کمترین میزان را نشان دادند (p<۰/۰۵). تیمار شاهد بالاترین بار میکروبی را داشت و با افزایش سطح اسانس بار میکروبی به شکل معنی‌داری کاهش یافت (p<۰/۰۵) و کمترین بار میکروبی مربوط به تیمارهای ۴ و ۵ بود. افزودن اسانس‌های گیاهی در دو سطح ۱ و ۳ درصد سبب افزایش زمان نگهداری میگو در شرایط دمایی یخچال شد و براساس استانداردهای TVB-N و میکروبی ۴ تیمار دارای اسانس تا روز هشتم و دو تیمار شاهد و تیمار آب پنیر تا روز چهارم برای مصرف انسان مناسب بودند. نتیجه‌گیری نهایی: استفاده از پوشش خوراکی آب پنیر همراه با سطوح ۱ و ۳ درصد اسانس آویشن شیرازی و پونه کوهی، ماندگاری میگو را به مدت چهار روز در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داد.

واژگان کلیدی: پوشش خوراکی، کیفیت میکروبی، کیفیت شیمیایی، لیتوپنئوس وانامی

مقدمه

آبزیان تازه در سراسر دنیا به عنوان یکی از مهمترین غذاهای مغذی مصرف می‌شود، از طرف دیگر به دلیل محتوی بالای آمینواسیدهای آزاد و نیتروژن فرار در بافت آبزیان در مقایسه با گوشت قرمز یا جوجه، سرعت فساد در آن‌ها بالاتر است. مراحل فساد آبزیان معمولاً با خارج شدن رایحه و طعم از حالت طبیعی که نتیجه رشد میکروارگانیسم‌های فساد است، شروع می‌شود. از طرف دیگر، ساختار بافت از بین رفته و بو و فساد قابل تشخیص می‌شود. همه این نوع تغییرات، زمان ماندگاری آبزیان را در صورت بسته‌بندی یا عدم بسته‌بندی محدود می‌نماید (ری ۲۰۰۴). باکتری‌هایی همانند *شوانلا*، *سودوموناس*، *آئروموناس*، *ویبریو* و *باکتری اسیدلاکتیکی* عمومی‌ترین باکتری‌های عامل فساد در آبزیان تازه و منجمد چه در شرایط اتمسفر تغییر یافته یا انجماد معمولی هستند. از این رو روش‌های جدید بر روی حفظ و گسترش ماندگاری آبزیان متمرکز شده است (نیکاس و درسینوز ۲۰۰۹). بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته، به شکل گسترده‌ای در صنعت غذا به عنوان یک روش محافظت کننده موثر مورد استفاده قرار می‌گیرند. این بسته‌بندی بر روی تغییر ترکیبات گازی درون بسته‌بندی که بر روی تنفس محصول و هم چنین گازهای درون بسته‌بندی موثر است، متمرکز شده است (آرواتیواناز ۲۰۱۲). براساس نتایج مطالعات قبلی، به نظر می‌رسد ترکیب اتمسفر تغییر یافته، روش مناسبی جهت افزایش زمان ماندگاری غذاهای دریایی است (پانتازی و همکاران ۲۰۰۸؛ پاراپانی و همکاران ۲۰۱۵). علاوه بر روش‌های سنتی مانند اتمسفر تغییر یافته و انجماد که برای افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی استفاده می‌شوند، استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی با محتوی ضدباکتریایی که سبب کاهش یا عدم رشد میکروارگانیسم‌های سطح غذا شده، رو به توسعه می‌باشد. تایکسرا و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی ویژگی‌های فیلم پروتئینی در ترکیب با اسانس‌های میخک و

پونه‌کوهی و سیر گزارش کردند، بیشترین قابلیت ضدباکتریایی فیلم بر علیه باکتری *شوانلا پتیریفاسینوس* بود. کاپاراو-هرنانداز و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه پوشش خوراکی کیتوزان بر کیفیت و زمان ماندگاری فیله تیلاپیا (*اورئوکرومیس نیلوتیکوس*) عنوان کردند که استفاده از کیتوزان همراه با کارواکرول یک روش مطلوب برای حفظ کیفیت و امنیت فیله‌های تیلاپیا بود. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی از ترکیبات پلی‌ساکاریدی، پروتئین و لیپید ساخته شده و همچنین فیلم‌های خوراکی دارای قابلیت انعطاف، بو و مزه می‌باشند و مانند ترکیبات آنتی-اکسیدانی، ضد میکروبی و سایر محافظت‌کننده‌ها به عنوان سدی جهت بهبود کیفیت و امنیت غذا عمل می‌کنند (کروچاتا ۲۰۰۲). ترکیبات فنولیک، عمده‌ترین ترکیبات فعال اسانس‌های گیاهی هستند که مسئول فعالیت‌های ضد میکروبی این اسانس‌ها محسوب می‌شوند. میزان کارایی ترکیبات فنلی موجود در اسانس‌های گیاهی به قدرت تخریب و هضم دیواره سلولی خارجی بستگی دارد (لینت ۱۹۹۸). از این رو استفاده از ترکیب، اسانس گیاهی، انجماد و اتمسفر تغییر یافته به عنوان یک تکنولوژی محافظت کننده متفاوت، می‌تواند راه حلی در جهت بهبود کیفیت میکروبی فیله آبزیانی نظیر میگو می‌باشد، زیرا به شکل بالقوه‌ای دارای تاثیرات سینرژیکی است (کاریون-گراندا ۲۰۱۵). هدف از این مطالعه ارزیابی کارآمدی پوشش خوراکی پروتئین آب پنیر غنی شده با اسانس‌های گیاهی بسته‌بندی شده در اتمسفر تغییر یافته بر کیفیت میگوی وانامی (*لیتوپنئوس وانامی*) در دمای یخچال است.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه و استخراج اسانس

گیاه آویشن شیرازی و پونه‌کوهی از استان فارس جمع-آوری و توسط گیاه‌شناسان پژوهش‌شده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران مورد بررسی قرار گرفت. اسانس‌گیری بر طبق روش نلسون و اونیاگابا (۲۰۰۷) صورت گرفت. ۵۰ گرم برگ خشک گیاه ابتدا آسیاب شده

همکاران ۱۳۸۹). به این ترتیب پوششی یکنواخت، یکدست و پیوسته روی میگوها تشکیل شد. نمونه‌ها در بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته ($50\% \text{CO}_2$ - $45\% \text{N}_2$ - $5\% \text{O}_2$) و به مدت شانزده روز نگهداری شدند. هم نمونه شاهد و هم نمونه‌های پوشش داده شده، در جعبه‌های پلی پروپیلنی بسته‌بندی شدند. میگوها به ۶ گروه تقسیم شدند:

- تیمار شاهد: میگو بدون اسانس و پوشش

۱- میگو بدون اسانس به همراه پوشش خوراکی آب پنیر
۲- میگو با ۱ درصد اسانس پونه‌کوهی به همراه پوشش خوراکی آب پنیر

۳- میگو با ۱ درصد اسانس آویشن شیرازی به همراه پوشش خوراکی آب پنیر

۴- میگو با ۳ درصد اسانس پونه‌کوهی به همراه پوشش خوراکی آب پنیر

۵- میگو با ۳ درصد اسانس آویشن شیرازی به همراه پوشش خوراکی آب پنیر

اندازه‌گیری بار میکروبی

تعیین بار میکروبی بر طبق استاندارد شماره ۲۳۲۵ (۱۳۸۰) انجام شد. به این منظور ۵ گرم نمونه با ۴۵ میلی-لیتر آب مقطر به کیسه استریل استومیکر منتقل و به صورت هموژن درآمد. سپس نمونه تا رقت 10^0 میلی‌لیتر رقیق شد. ۱ میلی‌لیتر از هر رقت در پلیت حاوی محیط کشت کانت آگار قرار داده شد. بعد از چند دقیقه همه پلیت‌ها وارونه و در انکوباتور به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. شمارش باکتری‌ها در روزهای صفر، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ انجام شد.

اندازه‌گیری بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

اندازه‌گیری TVB-N به کمک دستگاه کج‌دال صورت گرفت. ۱۰ گرم نمونه به یک بالن ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد. ۲ گرم اکسیدمنیزیم به عنوان کاتالیزور به آن اضافه و در نهایت ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر برای تقطیر به آن اضافه شد. در مرحله بعد ۲۵ میلی‌لیتر اسیدبوریک ۲ درصد در داخل ارلن‌مایر به رنگ زرد درآمد سپس با اسیدسولفوریک ۰/۰۱ نرمال تیترا شد تا به رنگ ارغوانی

و به همراه ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در دکانتور قرار داده شد. اسانس‌گیری به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. حلال توسط دستگاه روتاری با ایجاد خلاء تبخیر شد. ترکیبات اسانس آویشن شیرازی و پونه‌کوهی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مدل Agilent Technologies-7890A متصل به طیف‌سنجی جرمی مدل Agilent Technologies-5975C با ستون کاپیلاری HP-5MS (طول ۳۰ متر × قطر بیرونی ۰/۲۵ میلی‌متر × ۲۵ میکرومتر قطر داخلی) بدست آمد. غلظت‌های اسانس آویشن شیرازی و پونه‌کوهی مورد استفاده ۱ و ۳ درصد بود.

آماده‌سازی محلول تشکیل‌دهنده پوشش خوراکی

پروتئین آب‌پنیر ۱۰ درصد (w/w) در آب مقطر حل شده و گلیسرول ۵ درصد (w/w) به دلیل ایجاد خاصیت قالب‌پذیری به آن اضافه شد. محلول پوشش خوراکی تشکیل شده با استفاده از حمام ترمواستاتیک در ۹۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۳۰ دقیقه حرارت دید. اسانس‌های پونه‌کوهی و آویشن شیرازی به میزان ۱ و ۳ درصد (w/w) به آن اضافه شد و در دمای اتاق خنک گردید. سپس محلول پوشش خوراکی با استفاده از اولتراسونیک با سری به قطر ۷ میلی‌متری به مدت ۵ دقیقه و دامنه ۱۰۰ درصد هموژنیزه شد. در طی این زمان، محلول پوشش خوراکی، در یک حمام آب یخ برای اجتناب از بالا رفتن دما و رسیدن به ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (مطلبی و همکاران ۱۳۸۹).

آماده‌سازی نمونه‌های میگو

برای پوشش دادن میگوها، هر قطعه، در ۱۵۰ میلی‌لیتر پوشش خوراکی به مدت یک دقیقه فرو برده شد. سپس با آویزان کردن میگو به مدت ۴۵ ثانیه، اجازه داده شد تا پوشش خوراکی باقی‌مانده از میگو جدا شود. در نهایت میگوها به مدت ۵ دقیقه در هوا خشک شدند. سپس میگوها برای دومین بار به مدت ۱ دقیقه در محلول پوشش خوراکی فرو برده شده و به مدت ۴۵ ثانیه آویزان و به مدت ۳۰ دقیقه خشک شدند (مطلبی و

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

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. اختلاف معنی‌دار بین روزها و تیمارها در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد و با استفاده از آزمون دانکن مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

آنالیز ترکیبات شیمیایی آویشن‌شیرازی توسط دستگاه GC-MS نشان داد که ترکیبات غالب موجود شامل کارواکرول (۶۶/۸۲ درصد)، تیمول (۱۸/۳۴ درصد) و لینالول (۱۲/۷۱ درصد) بودند. بر اساس جدول ۱ ترکیبات مونوترپن جز اصلی‌ترین ترکیبات گیاه پونه‌کوهی بودند. پی‌پریتون (۳۲/۱ درصد)، پی‌پریتون (۲۱/۷۱ درصد) و پولگون (۱۵/۸۵ درصد) بیشترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس پونه را تشکیل دادند.

تاثیر پوشش خوراکی آب‌پنیر همراه با اسانس آویشن‌شیرازی و پونه‌کوهی و بسته‌بندی اتمسفرتغییریافته بر کیفیت میکروبی و شیمیایی

میگوی سفید (*Litopenaeus vannamei*)

میزان پراکسید (PV) با افزایش زمان نگهداری روند افزایشی را تا روز ۱۲ در تمام تیمارها نشان داد ($p < 0.05$) و در روز ۱۶ میزان این پارامتر در تمام تیمارها کاهش یافت ($p < 0.05$). در روز ۱۲، تیمار شاهد با 4.4 ± 0.11 میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم بالاترین میزان این پارامتر ($p > 0.05$) و در این روز تیمار ۵ با 3.0 ± 0.08 میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم کمترین میزان پراکسید را داشت و تفاوت بین تیمارها معنی‌دار بود ($p < 0.05$) (نمودار ۱). از نظر مقدار، تیمار شاهد و تیمار ۱ در تمام دوره بالاترین میزان پراکسید، تیمارهای ۲ و ۳ بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر در رتبه دوم ($p > 0.05$) و دو تیمار ۴ و ۵ بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر کمترین مقدار TBA را داشتند ($p > 0.05$).

درآمد. نمونه در دستگاه کج‌دال به مدت ۴۵ دقیقه حرارت داده شد تا زمانیکه محلول داخل ارلن مایر به رنگ زرد درآمد، سپس با اسیدسولفوریک ۰/۰۱ نرمال تیترا شد تا به رنگ اولیه (ارغوانی) درآمد (پروانه ۱۳۸۶).

اندازه‌گیری تیوباربیئوریک اسید (TBA)

اندازه‌گیری TBA به وسیله روش رنگ‌سنجی صورت گرفت. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه به یک بالن ۲۵ میلی-لیتری منتقل و با بوتانل به حجم رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک درب‌دار وارد و به آن ۵ میلی‌لیتر از معرف TBA افزوده شد (معرف TBA به وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی‌گرم از TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال بوتانل-۱ پس از فیلتر شدن به دست آمد). لوله‌های درب‌دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت و پس از آن در دمای محیط سرد شد. سپس توسط دستگاه اسپکتروفتومتری مقدار جذب (As) در ۵۲۰ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (As) خوانده شد. مقدار TBA (میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم بافت میگو) بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (پیرسون ۱۹۹۷).

$$TBA = \frac{(As - Ab) * 50}{200}$$

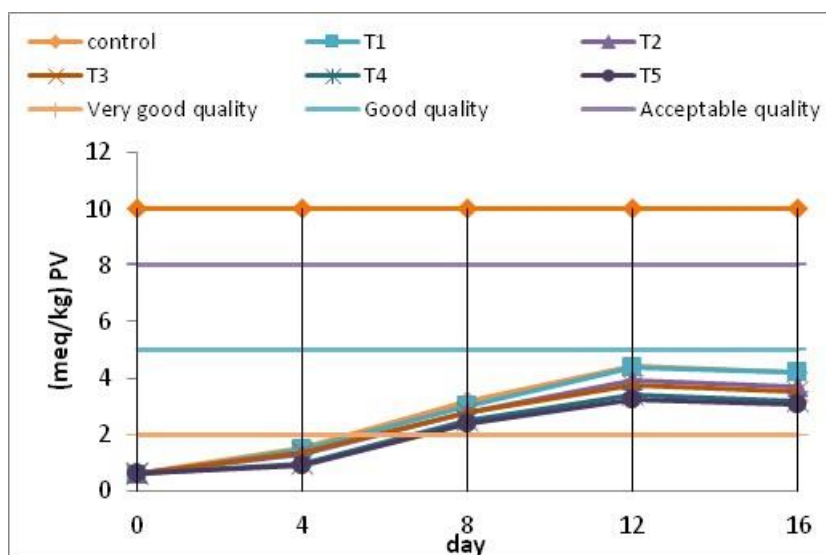
اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV)

روغن استخراج شده از میگو به دقت در ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری سرسمباده‌ای وزن و حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسیداستیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسیداستیک ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی‌لیتر از آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته یک درصد به مجموعه اضافه و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیترا شد. میزان پراکسید از رابطه زیر مورد محاسبه قرار گرفت (ای اوای سی ۲۰۰۲).

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس آویشن شیرازی و پونه کوهی

Table 1- Chemical composition of essential oil of Shirazi thymol and oregano

Compounds	Inhibition index	Oregano		Thymol Shirazi	
		Percent of essential oil	Compounds	Inhibition index	Percent of essential oil
Linalool	1000	2	1,8-Cineole	1099	21.71
α-terpineol	1031	1.29	Limonene	1203	1.34
β-caryophyllene	1154	3.39	Menthone	1437	1.09
Thymol	1165	1.68	Borneol	1271	18.34
Carvacrol	1189	4.52	4-Terpeneol	1031	46.82
Carvacrol methyl ether	1237	15.85	Pulegone	1252	2.23
Linalool	1252	32.1	Piperitone	1271	1.03
Spatulenol	1325	21.71	Piperitenone	1584	1.21
Trans-caryophyllene	1340	1.23	Piperitone oxide	1446	1.43



شکل ۱- تأثیر پوشش آب پنیر همراه با اسانس آویشن شیرازی و پونه کوهی و بسته بندی اتمسفر تغییر یافته بر میزان

پراکسید (میلی اکی والان در کیلوگرم) در میگوی وانامی

شاهد (کنترل)، تیمار ۱: پوشش خوراکی آب پنیر، تیمار ۲: پوشش خوراکی آب پنیر و ۱ درصد اسانس پونه کوهی، تیمار ۳: پوشش خوراکی آب پنیر و ۱ درصد اسانس آویشن شیرازی، تیمار ۴: پوشش خوراکی آب پنیر و ۳ درصد اسانس پونه کوهی، تیمار ۵: پوشش خوراکی آب پنیر و ۳ درصد اسانس آویشن شیرازی

Figure 1- Effect of edible whey protein coating with essential oil Shirazi thymol, oregano and Modified Atmosphere Packaging on PV parameter (meq/ kg) vannamei shrimp

Control treatment, 1: Edible whey protein, treatment 2: Edible whey protein and 1% oregano essential oil, Treatment 3: Edible whey protein and 1% Shirazi thymol essential oil. Treatment 4: Edible whey protein and 3% oregano essential oil, Treatment 5: Edible whey protein and 3% Shirazi thymol essential oil

پراکسید ارزیابی می شود (لین و لین ۲۰۰۵). در طول دوره نگهداری، میزان پراکسید به دلیل فعالیت اکسیداسیون روند افزایشی را در تمام تیمارها نشان داد. البته این روند تا روز ۱۲ افزایشی بود و در روز ۱۶ مقدار این شاخص کاهش یافت. در تمام دوره بررسی، دو تیمار

پراکسیدها در مرحله اول اکسیداسیون، به واسطه اتصال اکسیژن به باند دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع شکل می گیرند. هیدروپراکسید محصول اولیه اکسیداسیون چربی ها و اسیدهای چرب غیراشباع هستند، به همین دلیل اکسیداسیون اولیه چربی با استفاده از اندازه گیری میزان

می‌دهد، هر چند در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت، اما این پوشش در کنار فعالیت آنتی‌اکسیدانی آویشن شیرازی و پونه‌کوهی نتیجه بدست آمده را توجیه می‌کند.

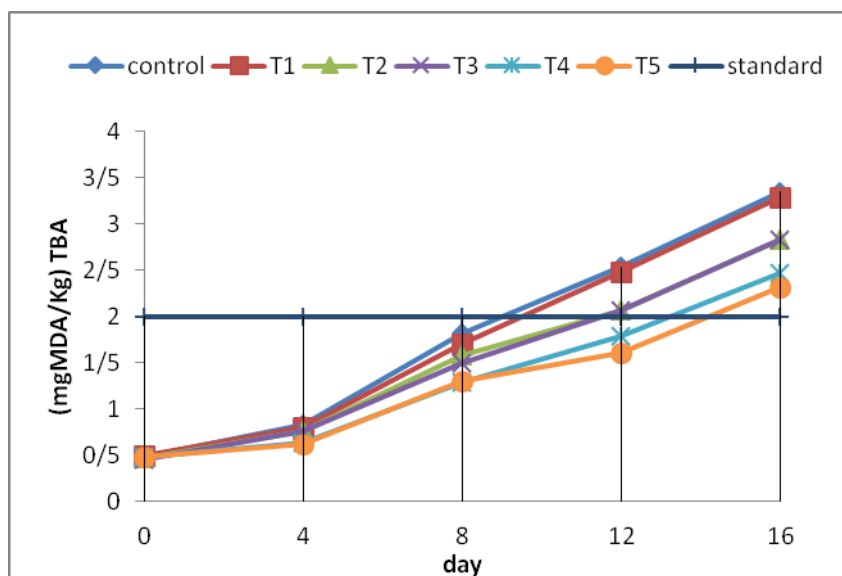
هیدروپراکسیدها به عنوان محصول اولیه اکسیداسیون، ترکیباتی ناپایدار و مستعد تجزیه هستند که پس از شکسته شدن به ترکیباتی نظیر آلدهیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، اسیدهای آلی و ترکیبات اپوکسی تبدیل می‌شوند که سبب افزایش میزان TBA می‌گردد (شهیدی و زونگ ۲۰۰۵). روند مشاهده شده در مورد TBA نشان داد که تیمار شاهد و تیمار آب‌پنیر در مقایسه با ۴ تیمار دیگر که دارای پوشش آب‌پنیر و نیز درصدهای مختلفی از اسانس دو گیاه پونه‌کوهی و آویشن شیرازی بودند، مقدار TBA بالاتری داشتند. بهترین کارایی در انتهای دوره به تیمار آب‌پنیر و ۳ درصد اسانس پونه‌کوهی و آویشن تعلق داشت و تفاوت بین تیمارها معنی‌دار بود ($p < 0.05$). با توجه به نتایج پوشش آب‌پنیر به تنهایی بر روی ماندگاری فیله موثر نبود. صبوری شکفته (۱۳۹۲)، پوشش خوراکی ساخته شده با آب‌پنیر را حاملی کاربردی برای مواد آنتی‌اکسیدانی معرفی کرد که این موضوع با عدم کارایی آب‌پنیر به عنوان پوششی جهت کاهش اکسیداسیون و کارایی بالاتر تیمار آب‌پنیر دارای ۳ درصد اسانس پونه‌کوهی و آویشن شیرازی همخوانی دارد. روند افزایشی TBA در تمام تیمارها مشاهده شد که این روند به اکسیداسیون لیپید و تولید متابولیت‌های فرار در حضور اکسیژن مربوط می‌باشد (چادانااید و سانیل ۲۰۰۹). نصیری و همکاران (۲۰۱۴) بیان نمودند که اسانس آویشن شیرازی می‌تواند یک ترکیب نگهدارنده طبیعی جهت افزایش ماندگاری میگو طی دوره نگهداری باشد.

در طول دوره ۱۶ روزه، پایین‌ترین میزان TBA در روز صفر (۰/۴۹ - ۰/۴۶ میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم) و بالاترین میزان این پارامتر در روز ۱۶ (۲/۳ - ۳۱/۳۴ میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در کیلوگرم)

شاهد و آب‌پنیر با یکدیگر، دو تیمار ۲ و ۳ با یکدیگر دو تیمار ۴ و ۵ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند. دو تیمار ۴ و ۵ به عنوان تیمارهایی با بالاترین سطح اسانس آویشن شیرازی و پونه‌کوهی، بدون اختلاف معنی‌دار با یکدیگر کمترین میزان پراکسید را داشتند ($p < 0.05$). ویودا-مارتوس و همکاران (۲۰۱۱) مقدار ترکیبات فنولی کل را برای اسانس پونه‌کوهی ۷۶۳/۹۷ میلی‌گرم گالیک اسید در لیتر نمونه گزارش کردند. هیدروکربن‌های مونوترپن (کارواکرول و تیمول) را عامل اصلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس پونه‌کوهی ذکر کردند (کیولیسیک و همکاران ۲۰۰۴). آویشن شیرازی و پونه‌کوهی به دلیل داشتن ترکیبات فنولی نظیر تیمول و کارواکرول دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و قادر به مهار رادیکال‌های آزاد به عنوان عامل اصلی اکسیداسیون هستند (ائیس‌چاباچ و همکاران ۱۹۹۴؛ روبرتو و باراتا ۲۰۰۰). از آنجا که اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنولی وابسته به غلظت است (یانیش‌لیوا و مارینوا ۲۰۰۶)، کاهش سطح پراکسید را با افزایش سطح اسانس تأیید می‌شود. قادرمزی و همکاران (۱۳۹۴)، در بررسی تأثیر اسانس پونه‌کوهی بر ویژگی‌های پوشش خوراکی هیدروکسی‌پروپیل متیل سلولز، بیش‌ترین نفوذپذیری به اکسیژن را در پوشش خوراکی بدون اسانس و کمترین مقدار نفوذپذیری به اکسیژن را در پوشش خوراکی حاوی اسانس پونه‌کوهی گزارش کردند. اسانس‌ها با پرکردن فضاهای خالی ایجاد شده در شبکه بزرگ با ساختار خطی HPMC، باعث ایجاد ساختاری با فضاهای خالی بین شبکه‌ای کم‌تر در مقابل عبور گاز شده است و در واقع افزودن اسانس‌ها بر نفوذپذیری گازها موثر است (سانچز-گیوزالز و همکاران ۲۰۱۱). از نظر محدوده تعیین شده برای پارامتر پراکسید، تمامی تیمارها در ۱۶ روز نگهداری، در محدوده کیفی قابل پذیرش برای میگوی وانامی قرار داشتند (نمودار ۱). گروسی و همکاران (۱۳۹۰) عنوان کردند که پوشش پروتئینی ایزوله پروتئین آب‌پنیر، با کاهش نفوذ اکسیژن سطح اکسیدان را کاهش

یکدیگر تفاوت معنی داری نداشتند ($p > 0.05$). دو تیمار ۴ و ۵ در روزهای ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ اختلاف معنی داری نداشتند ($P > 0.05$) و کمترین مقدار به این تیمارها تعلق داشت (نمودار ۲).

اندازه گیری شد. در تمام دوره این پارامتر بالاترین مقدار را در تیمار شاهد و تیمار ۱ داشت ($p < 0.05$). در طول دوره، دو تیمار ۲ و ۳ که پوشش خوراکی آب پنیر و ۱ درصد اسانس پونه کوهی و آویشن شیرازی بودند با



شکل ۲- تأثیر پوشش آب پنیر همراه با اسانس آویشن شیرازی، پونه کوهی و بسته بندی اتمسفر تغییر یافته بر میزان

تیوباربیتئوریک اسید (میلی گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم) میگوی وانامی

شاهد، تیمار ۱: پوشش خوراکی آب پنیر، تیمار ۲: پوشش خوراکی آب پنیر و ۱ درصد اسانس پونه کوهی، تیمار ۳: پوشش خوراکی آب پنیر و ۱ درصد اسانس آویشن شیرازی. تیمار ۴: پوشش خوراکی آب پنیر و ۳ درصد اسانس پونه کوهی، تیمار ۵: پوشش خوراکی آب پنیر و ۳ درصد اسانس آویشن شیرازی.

Figure 2- Effect of edible whey protein coating with essential oil Shirazi thymol, oregano and Modified Atmosphere Packaging on TBA parameter (mg MAD/ kg) vannamei Shrimp

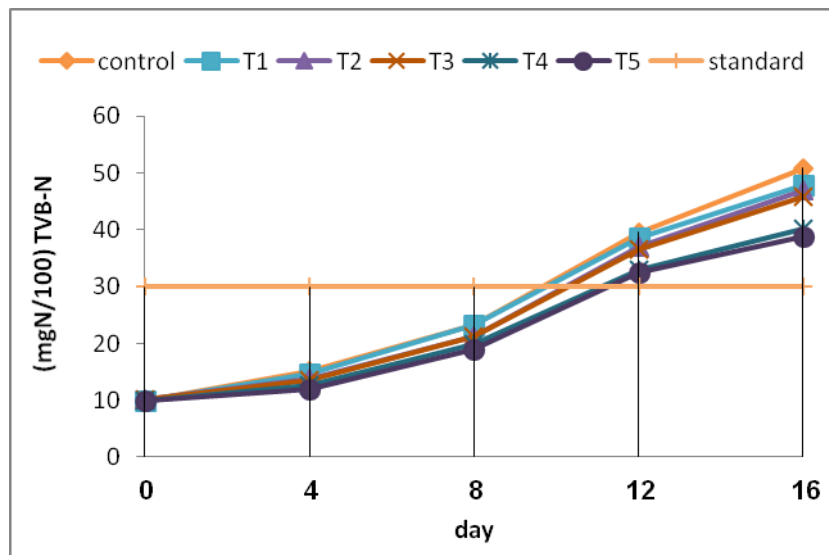
Control treatment, 1: Edible whey protein, treatment 2: Edible whey protein and 1% Oregano essential oil, Treatment 3: Edible whey protein and 1% Shirazi thymol essential oil. Treatment 4: Edible whey protein and 3% oregano essential oil, Treatment 5: Edible whey protein and 3% Shirazi thymol essential oil.

شیمیایی داشت. در مطالعه حاضر هر دو اسانس کارایی مشابه در ماندگاری فیله داشتند.

پارامتر TVB-N روند افزایشی با افزایش زمان نگهداری نشان داد ($p < 0.05$) و در تیمار شاهد در روز صفر از ۹/۸۳ میلی گرم ازت در ۱۰۰ گرم به ۵۰/۸۷±۰/۸۷ میلی-گرم ازت در ۱۰۰ گرم در روز ۱۶ رسید. در روز شانزدهم در تیمار ۵ میزان TVB-N به ۴۰/۲۹-۳۸/۹۰ میلی گرم ازت در ۱۰۰ گرم رسید. مقایسه بین تیمارهای دارای اسانس نشان داد که دو تیمار ۴ و ۵ (دارای ۳ درصد اسانس پونه و آویشن شیرازی) بدون اختلاف

میزان ۲ میلی گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم گوشت به عنوان شروع اکسیداسیون چربی و آغاز تغییر در طعم عنوان شده است (کونل ۱۹۹۰). براساس استاندارد TBA تیمارهای شاهد ۱، ۲ و ۳ تا روز ۸ و دو تیمار ۴ و ۵ تا روز ۱۲ در محدوده استاندارد برای این پارامتر قرار داشتند. بهنام و علی اکبرلو (۲۰۱۳) در مطالعه بر روی اثرات آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف اسانس آویشن شیرازی و اسانس پونه کوهی در فیله چرخ شده گوشت مرغ عنوان کردند که میزان TBA در مقایسه با پونه کوهی کارایی بالاتری در حفظ کیفیت و تاخیر فرایند فساد

معنی‌دار با یکدیگر در روزهای ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ کمترین مقدار را نشان دادند ($p > 0.05$) (شکل ۳).



شکل ۳- تاثیر پوشش آب‌پنیر همراه با اسانس آویشن شیرازی، پونه‌کوهی و بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته بر میزان بازهای نیتروژنی فرار کل (میلی‌گرم ازت در ۱۰۰ گرم) میگوی وانامی

شاهد، تیمار ۱: پوشش خوراکی آب‌پنیر، تیمار ۲: پوشش خوراکی آب‌پنیر و ۱ درصد اسانس پونه‌کوهی، تیمار ۳: پوشش خوراکی آب‌پنیر و ۱ درصد اسانس آویشن شیرازی. تیمار ۴: پوشش خوراکی آب‌پنیر و ۳ درصد اسانس پونه‌کوهی، تیمار ۵: پوشش خوراکی آب‌پنیر و ۳ درصد اسانس آویشن شیرازی

Figure 3- Effect of edible whey protein coating with essential oil Shirazi thymol, oregano and Modified Atmosphere Packaging on TVB-N parameter (mg N/ 100g) vanna mei Shrimp

Control treatment, 1: Edible whey protein, treatment 2: Edible whey protein and 1% oregano essential oil, Treatment 3: Edible whey protein and 1% Shirazi thymol essential oil. Treatment 4: Edible whey protein and 3% oregano essential oil, Treatment 5: Edible whey protein and 3% Shirazi thymol essential oil.

اسانس در مقایسه با تیمار شاهد به شکل معنی‌داری پایین‌تر بود که با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. ترکیبات مونوترپن (اکسیژنه و هیدروکربنه) به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در دو اسانس گیاهی پونه کوهی و آویشن شیرازی، سبب خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌شوند. ترپن‌ها ($C_{10}H_{16}$) به صورت دی‌ترپن، تری‌ترپن، تتراترپن، همی‌تتراترپن و سسکوئید ترپن وجود دارند که با عناصر مختلفی به خصوص اکسیژن ترکیب و تبدیل به ترپنوئید می‌شوند که دارای فعالیت ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدویروسی هستند. با توجه به اینکه آب پنیر حامل مناسبی برای مواد آنتی‌اکسیدانی است، آزادسازی اسانس‌های گیاهی با خاصیت آنتی‌باکتریایی توسط این پوشش خوراکی، بار میکروبی را کاهش داده

تغییرات TVB-N همانند دو پارامتر دیگر روندی افزایشی در طول دوره نگهداری داشت و تیمارهای دارای ۱ و ۳ درصد اسانس در مقایسه با تیمارهای شاهد و آب‌پنیر میزان TVB-N کمتری را داشتند ($p < 0.05$). اما با افزایش سطح اسانس میزان TVB-N روند کاهشی را نشان داد و بهترین کارایی به تیمار حاوی ۳ درصد اسانس تعلق داشت. با توجه به استاندارد ۳۰ میلی‌گرم ازت در ۱۰۰ گرم (جزک و بیوچتووا ۲۰۱۴) تمام تیمارها تا روز ۸ در محدوده استاندارد برای این پارامتر قرار داشتند. در مطالعه خیری احمدآباد و همکاران (۲۰۱۵) بر روی اثر پوشش خوراکی پروتئین آب‌پنیر حاوی اسانس آویشن شیرازی بر فیله قرل‌آلای رنگین‌کمان در طی ۱۶ روز نگهداری، میزان TVB-N نمونه‌های پوشش‌دار دارای

بار باکتریایی همانند سایر تیمارها، روندی افزایشی را در طول زمان نگهداری میگوی وانامی نشان داد ($p < 0.05$). تیمار شاهد و پس از آن تیمار آب‌پنیر در روزهای ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ بالاترین میزان بار میکروبی را داشت. دو تیمار دارای ۱ درصد اسانس پونه‌کوهی و ۱ درصد اسانس آویشن شیرازی با یکدیگر و نیز دو تیمار ۳ درصد پونه‌کوهی و ۳ درصد اسانس آویشن شیرازی با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند ($p > 0.05$) اما دو گروه با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند. کمترین بار میکروبی در تیمارهای دارای بالاترین درصد اسانس مشاهده گردید (نمودار ۴ و جدول ۲).

که منجر به کاهش میزان TVB-N نیز می‌شود، زیرا حضور باکتری‌ها در گوشت منجر به اتولیز پروتئین‌ها و تجزیه (ال-دیم و ال-شامری ۲۰۱۰) آنها و شکستن ترکیباتی از جمله تری‌متیل‌آمین اکسیدها، پپتیدها، آمینواسیدها و غیره می‌شود (گرم و هیوس ۱۹۹۶)، از این رو روند مشاهده شده برای بار میکروبی مشابه روند مشاهده شده برای TVB-N بود و تیمارهای دارای اسانس بخصوص سطح ۳ درصد اسانس پونه‌کوهی و آویشن شیرازی دارای کمترین بار میکروبی بودند. بهنام و علی‌اکبرلو (۱۳۹۲)، در بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی و پونه‌کوهی بر روی گوشت مرغ، وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی این دو اسانس را عامل فعالیت ضد میکروبی و ضد اکسیدانی گزارش کردند.

جدول ۲- تاثیر پوشش آب‌پنیر همراه با اسانس آویشن شیرازی و پونه‌کوهی و بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته بر میزان بار باکتریایی Log (cfu/g) در میگوی وانامی

Table 2: Effect of edible whey protein with essential oil of Shirazi thymol and oregano and Modified Atmosphere Packaging on TVC (Log cfu/ g) vannamei shrimp

Day	0	4	8	12	16
Treatment					
Control	4.53±0.10 ^{Aa}	5.91±0.02 ^{Ab}	7.63±0.14 ^{Ac}	8.95±0.04 ^{Ad}	9.95±0.01 ^{Ae}
Treatment 1	4.53±0.27 ^{Aa}	5.75±0.06 ^{Bb}	7.30±0.18 ^{Bc}	8.77±0.02 ^{Bd}	9.80±0.07 ^{Be}
Treatment 2	4.60±0.05 ^{Aa}	5.44±0.15 ^{Cb}	6.66±0.07 ^{Cc}	8.95±0.03 ^{Cd}	9.66±0.07 ^{Ce}
Treatment 3	4.51±0.27 ^{Aa}	5.07±0.14 ^{Db}	6.65±0.21 ^{Cc}	8.56±0.20 ^{Cd}	9.48±0.12 ^{Ce}
Treatment 4	4.40±0.21 ^{Aa}	4.84±0.03 ^{Eb}	5.88±0.07 ^{Dc}	7.17±0.34 ^{Dd}	8.25±0.41 ^{De}
Treatment 5	4.53±0.19 ^{Aa}	4.777±0.02 ^{Fb}	5.75±0.02 ^{Dc}	7.28±0.54 ^{Dd}	8.18±0.34 ^{De}

حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف است ($p < 0.05$). شاهد، تیمار ۱: پوشش خوراکی آب‌پنیر، تیمار ۲: پوشش خوراکی آب‌پنیر و ۱ درصد اسانس پونه‌کوهی، تیمار ۳: پوشش خوراکی آب‌پنیر و ۱ درصد اسانس آویشن شیرازی. تیمار ۴: پوشش خوراکی آب‌پنیر و ۳ درصد اسانس پونه‌کوهی، تیمار ۵: پوشش خوراکی آب‌پنیر و ۳ درصد اسانس آویشن شیرازی.

Different letters in each column indicate a significant difference between the meanings in different treatments ($p < 0.05$). The lower case letters in each row indicate a significant difference between the meanings in different days ($p < 0.05$). Control treatment, 1: Edible whey protein, treatment 2: Edible whey protein and 1% oregano essential oil, Treatment 3: Edible whey protein and 1% Shirazi thymol essential oil. Treatment 4: Edible whey protein and 3% oregano essential oil, Treatment 5: Edible whey protein and 3% Shirazi thymol essential oil.

بررسی اثر پوشش ژلاتین ۴ درصد حاوی اسانس آویشن شیرازی ۰/۲ درصد در افزایش ماندگاری فیله کپور نقره‌ای، میزان بار باکتریایی کل در انتهای دوره

بر اسانس استاندارد 10^7 Log cfu/g (آی‌سی‌ام‌اس‌اف ۱۹۸۶)، دو تیمار شاهد و تیمار آب‌پنیر (تیمار ۱) تا روز ۴ و ۴ تیمار دارای آب‌پنیر و اسانس تا روز ۸ در محدوده مجاز برای بار میکروبی مواد غذایی قرار داشتند. در

(مطلبی و همکاران ۱۳۸۹) که با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد.

نتیجه‌گیری

پوشش خوراکی زیست‌تخریب‌پذیر توانایی جایگزینی بسیاری از انواع بسته‌بندی‌های پلیمری را دارا می‌باشند. نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد، پوشش خوراکی آب‌پنیر بدون افزودن اسانس‌های گیاهی آویشن شیرازی و پونه‌کوهی، کارایی لازم در افزایش ماندگاری میگوی وانامی را نداشت. افزودن اسانس‌های گیاهی در دو سطح ۱ و ۳ درصد سبب افزایش زمان نگهداری میگو در شرایط یخچال شد و بر اساس استانداردهای TVB-N و میکروبی، ۴ تیمار دارای اسانس تا روز ۸ و دو تیمار شاهد و تیمار آب‌پنیر تا روز ۴ برای مصرف انسان مناسب بودند. استفاده از پوشش آب‌پنیر همراه با سطوح ۱ و ۳ درصد اسانس آویشن شیرازی و پونه‌کوهی، ماندگاری میگو را به مدت ۴ روز در مقایسه با تیمار شاهد بهبود بخشید.

(روز ۱۵) در تیمار شاهد به $7/33 \text{ Log cfu/g}$ و در نمونه‌های دارای پوشش و اسانس به $5/93 \text{ Log cfu/g}$ رسید (ابوالقاسمی و همکاران ۲۰۱۳). فیروزی و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه‌ای نشان دادند که اسانس پونه‌کوهی قادر به مهار و کشندگی علیه باکتری‌ها به خصوص یرسینا انتروکولیتیکا و لیستریا مونوسیتوژنز در جوجه سرخ شده داشت. همچنین شکر فروش و همکاران (۲۰۰۷)، نشان دادند که اسانس پونه‌کوهی اثرات مهارکنندگی خوبی علیه باکتری‌ها دارد که نتایج مطالعه حاضر را تایید می‌نماید. در مطالعه خیری احمدآباد و همکاران (۲۰۱۵) میزان بار میکروبی در تیمار آب‌پنیر دارای آویشن شیرازی به شکل معنی‌داری در مقایسه با شاهد کمتر بود که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. در مطالعه دیگر نشان داده شد که پوشش آب‌پنیر با غلظت ۱۳ درصد پروتئین آب‌پنیر پوشش مناسب برای ماهی کیلکا بود و همچنین اظهار داشتند که با توجه به خاصیت آبدوستی پوشش‌های خوراکی پروتئین آب‌پنیر، این پوشش‌ها خواص ممانعت‌کنندگی مناسبی برای جلوگیری از ورود رطوبت و افزایش بار میکروبی ندارند.

منابع مورد استفاده

- استاندارد ملی ایران، ۱۳۸۰. میکروبیولوژی. آیین کاربرد روش‌های عمومی آزمایش‌های میکروبیولوژی. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۲۳۲۵.
- بهنام ب و علی اکبرلو ج، ۱۳۹۲. اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی و پونه کوهی روی گوشت مرغ نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۳ (۴)، ۵۴۳-۵۳۳.
- پروانه و، ۱۳۸۶. کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه تهران، ۴۰۰ صفحه.
- قادرمزی ر، کرامت ج و گلی ا، ۱۳۹۴. تاثیر اسانس پونه کوهی بر ویژگی‌های فیلم خوراکی هیدروکسی پروپیل متیل سلولز. فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، ۲ (۷)، ۷۴-۶۱.
- صبوری شکفته مح، ۱۳۹۲. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی بر پایه‌ی پروتئین آب پنیر. دومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی، صفحه ۵.
- گروسی، ف، جوانمرد م و حسنی ف، ۱۳۹۰. کاربرد پوشش خوراکی بر پایه پروتئین آب پنیر و صمغ گلان برای میوه زرد آلو (*Prunus armeniaca*). فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۸ (۲۹)، ۴۸-۳۹.
- مطلبی ع، حسن ذاتی رستمی آ، خانی پور ع ا و سلطانی م، ۱۳۸۹. اثر پوشش خوراکی پروتئین آب پنیر بر رطوبت و ویژگی‌های حسی ماهی کیلکای شکم خالی. مجله علوم غذایی و تغذیه، ۹ (۴)، ۴۸-۳۹.
- Abolghasemi M, Zakipour RE, and Yadegari NA, 2013. Effects of edible gelatin-Avishan Shirazi essential oil coating on microbial characteristics of *Hypophthalmichthys molitrix* fillets during refrigerated storage. The

- second national conference on optimization of production distribution and consumption chain in the food industry. pp: 1758-1765
- Aeschbach R, Loliger J, Scott BC, Murcia A, Butler J, Halliwell B and Aruoma OI, 1994. Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food Chemical and Toxicology* 32: 31–36
- AOAC 2002. Official Methods of Analysis of AOAC International (17th ed.). MD, Gaithersburg, USA Association of Official Analytical Chemistry.
- Arvanitoyannis G, 2012. Principles of MAP and Definitions of MAP, CA, and AP, in *Modified Atmosphere and Active Packaging Technologies*, vol. 20120826 of *Contemporary Food Engineering*, pp. 3–7, CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Behnam B and Aliakbarlou J, 2013. Antioxidant effects of *Zataria multiflora* and *Mentha longifolia* essential oils on chicken meat stored at 4 °C. *Review of Food Industry* 23(4):533-534
- Carrion-Granda X, 2015. Development of active edible coatings to improve the microbiological quality and safety of fish and seafood products. Universidad P´ublica de Navarra.
- Chaparro-Hernández S, Ruíz-Cruz S, Márquez-Ríos E, Manuel Ocaño-Higuera V, Cecilia Valenzuela-López C, De Jesús Ornelas-Paz J and Lizette Del-Toro-Sánchez C, 2015. Effect of chitosan-carvacrol edible coatings on the quality and shelf life of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets stored in ice. *Food Science and Technology Communications* 34: 734-741.
- Chidanandaiah KR and Sanyal MK, 2009. Effect of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated storage. *Journal of Muscle Foods* 20: 275-292.
- Connell JJ, 1990. Methods of assessing and selecting for quality. *Control of fish quality*, Springer. pp: 186-192
- El-Deen G and El-Shamery MR, 2010. Studies on contamination and quality of fresh fish meats during storage. *Academic Journal of Biological Science* 2: 65-74.
- Firouzi R, Shekarforoush SS, Nazer AH, Borumand Z and Jooyandeh AR, 2007. Effects of essential oils of oregano and nutmeg on growth and survival of *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* in barbecued chicken. *Journal of Food Protection* 70(11): 2626-30
- Gram L and Huss H, 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. *Food Microbiology* 33: 121-137.
- Gram L and Dalgaard P, 2002. Fish spoilage bacteria—problems and solutions, *Current Opinion in Biotechnology* 13: 262–266.
- ICMSF, 1986. International Commission on Microbiological Specification Foods. 1986. Microorganisms in foods 2, Sampling for microbiological analysis. Principles and specific applications, 2nd ed., University of Toronto Press.
- Jezek F, and Buchtová H, 2014. The effect of vacuum packaging on physicochemical changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during cold storage. 83: 51-58
- Khezri Ahmadabad M, Rezaei M, and Ojagh SM, 2015. The effect of whey protein edible coating on microbial quality of rainbow trout fillet during cold storage. *Quarterly of Food Science* 12(49): 11-20.
- Krochta JM, 2002. Proteins as raw materials for films and coatings: Definitions, current status and opportunities,” in *Protein-Based Films and Coatings*, A. Gennadios, Ed., pp. 1–44, CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Kulicic T, Radonic A, Katalinic V and Milos M, 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential Oil. *Food Chemistry* 85: 633-40
- Lent LE, Vanasupa LS and Tong PS, 1998. Whey protein edible film structures determined by atomic force microscope. *Journal of Food Science* 63: 824-827.
- Lin CC and Lin CS, 2005. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea extracts. *Journal of Food Chemistry* 16: 169-175.
- Nasiri E, Moosavi-Nasab M, Shekarforoush SS and Golmakani MT, 2014. The effects of *Zataria multiflora* on inhibition of polyphenoloxidase and melanosis formation in shrimp. *Iranian Scientific fisheries Journal* 2(9): 205-215

- Nelson CA and Onyeagba RA, 2007. Antimicrobial properties of extracts of *allium cepa* (onions) and *zingiber officinale* (ginger) on escherichia coli, salmonella typhi and bacillus subtilis. The Internet Journal of Tropical Medicine 3(2): 1540-2681.
- Nychas GJ and Drosinos EH, 2009. Detection of Fish Spoilage, in *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*, L. M. L. Nollet and F. Toldr'a, Eds., pp. 537–555, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1st edition.
- Pantazi D, Papavergou A, Pournis N, Kontominas MG and Savvaidis IN, 2008. Shelf-life of chilled fresh Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions: Microbiological, biochemical and sensory attributes. Food Microbiology 25: 136–143.
- Parlapani FF, Haroutounian SA, Nychas GJE and Boziaris I.S. 2015. Microbiological spoilage and volatiles production of gutted European sea bass stored under air and commercial modified atmosphere package at 2°C," Food Microbiology 50: 44–53.
- Pearson D, 1997. Laboratory technic in food analysis, Butter Worth. London, UK, pp. 256-270.
- Ray B, *Fundamental Food Microbiology*, CRC Press, Boca Rat'on, FL, USA, 3rd edition, 2004.
- Ruberto G and Baratta MT, 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. Food Chemistry 69: 167–174.
- Sánchez-González L, Vargas M, González- Martínez C, Chiralt A, Cháfer M, 2011. Use of essential oils in bioactive edible coatings. Journal of Food Engineering Reviews 3: 1-16
- Shahidi F and Zhong Y, 2005. Lipid oxidation: measurement methods (6th Ed.). Memorial university of Newfoundland, Canada 357-385
- Shekarforoush SS, Nazer AHK, Firouzi R and Rostami M, 2007. Effects of storage temperatures and essential oils of Oregano and Nutmeg on the growth and survival of Escherichia coli O157: H7 in barbecued chicken used in Iran. Food Control 18:1428-33
- Teixeira B, Marques A, CristinaRamo C, .Batista I, AlexandreSaraiva J, LeonorNunes M, 2014. Characterization of fish protein films incorporated with essential oils of clove, garlic and origanum: Physical, antioxidant and antibacterial properties. LWT - Food Science and Technology 59: 533-539.
- Viuda-Martos MMA, Mohamady J, Fernández- López KA, Abd ElRazik EA, Omer JA, Pérez- Alvarez Sendra E, 2011. In vitro antioxidant and antibacterial activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants. Food Control 22: 1715-22
- Yanishlieva N and Marinova E, 2006. Natural antioxidants from herbs and spices European Journal of Lipid Science and Technology 108:776–79.



Journal of Food Research, 2022,32(2):1-14
<https://foodresearch.tabrizu.ac.ir>

OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)

DOI: 10.22034/FR.2021.34996.1687

Effect of edible whey protein, *Zataria multiflora* and *Origanum vulgare* essential oils on quality of microbial and chemical of *Litopenaeus vannamei*

T Gharghavi¹ and L Roomiani^{2*}

Received October 12, 2019:

Accepted: July 14, 2021

¹MSc Student. Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

²Associate Professor, Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

*Corresponding author: E mail: L.roomiani@iauahvaz.ac.ir

Introduction: Edible coating, as a new technology in food packaging, is applied directly on a food product by forming a thin layer of edible material. The edible coating system have some benefits such as edibility, biocompatibility and barrier properties. Edible film of whey protein enriched with essential oil can improve the microbial quality of vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Fish are consumed worldwide as one of the most important nutritious foods. On the other hand, due to the high content of free amino acids and nitrogen in the tissues of the body, as compared to red meat or chickens, the rate of corruption is higher. The stages of aquatic corruption usually begin by removing the natural flavor and aroma that result from the growth of microorganisms. On the other hand, the structure of the tissue is lost and odor and corrosion can be detected. These entire changes make the shelf-life of aquatic animals, both in the form of packaging and non-closure, very limited. In addition to traditional methods used to extend the shelf-life of fisheries products, like MAP or chilling storage, there is an increasing interest in the use of edible films and coatings with antimicrobial properties in order to reduce, inhibit, or delay the growth of microorganism on the surface of foods. Edible films and coatings can be made of polysaccharides, proteins, and lipids and can act as carriers of different compounds like antioxidant, antimicrobials, and other preservatives in order to improve food quality and safety. Therefore, the use of composition, herbal essential and modified atmosphere as a different protective technology can be a solution to improve the microbial quality of the aquatic fillet, such as shrimp, as potentially having synergistic effects (Carrion-Granda 2015). Whey protein, which obtained from by-product of cheese manufacturing, is a mix of two globular proteins, β -lactoglobulins and α -lactalbumin. Essential oils in the biopolymer matrix to the coatings can improve hydrophobicity of it. The purpose of this study was to investigate the effect of using edible whey protein coating enriched with essential oil on the shelf life of the *Litopenaeus vannamei* shrimp in a 16-day period in closed polypropylene boxes was modified atmospheric method (CO₂-50% - N₂45% -O₂ 5%) at refrigerator temperature. Then, the objectives of this work were (1) to evaluate the effectiveness of whey protein edible coatings enriched with essential oils on the microbiological quality of shrimp and (2) to assess the combined effects of edible coatings on the chemical quality of shrimp stored under refrigeration conditions.

Material and methods: The plant was collected from Fars province and was examined by botanists of the Institute of Medicinal Plants of Jahad University of Tehran University. The extraction was carried out according to the Nelson and Onyagaba method (2007). The 50 g dry leaves of the plant were first grinding and 500 mL of 95% ethanol was placed in a detonator. Essential oil was taken for 24 h. The solvent was evaporated by rotary device. Edible whey protein (10% w/w) was dissolved in distilled water and 5% glycerol (w/w) was added due to its formability. The coated food coating solution was heated to 90 °C using a thermostatic bath and heated for 30 min. Oregano and Shirazi thymol essential oils was added to it at 1 and 3% (w/w) and allowed to cool at room temperature. The edible coating solution was then homogenized using a series of 7 mm diameter series for 5 minutes and a range of 100%. During this time, the edible coating solution was stored in an ice-water bath to avoid rising temperatures and reaching 40°C. The parameters included PV, TVB-N, TBA and microbial load on days 0, 4, 8, 12 and 16. The treatments included control treatment, treatment 1 (edible whey protein), treatment 2 (edible whey protein and 1% *Origanum vulgare*), treatment 3 (edible whey protein and 1% essential oil of *Zataria multiflora*), Treatment 4 (edible whey protein and 3% *Origanum vulgare*), treatment 5 (edible whey protein and 3% essential oil of *Zataria multiflora*). Samples were packed in modified atmosphere (CO₂ 50% - N₂45% - O₂ 5%) and storage for 16 days.

Results and discussion: In the case of PV, TBA and TVB-N, control and the first treatment had the highest and fourth and fifth treatments had the least of these parameters ($p < 0.05$). Control treatment had the highest microbial load, and with increasing level of essential oil, the microbial load significantly decreased ($p < 0.05$) and the lowest microbial load was related to treatments 4 and 5. Adding herbal essential oils at two levels of 1 and 3% increased the duration of shrimp keeping in refrigerated temperatures and based on TVB-N and microbial standards, four treatments had essential oil until day 8 and two treatments were applied until the day 4 Suitable for human consumption. Fernandez et al. (2020) reported an insignificant different of between the control and the whey protein coating for bacteria population. However, Yildiz and Yangilar (2016) and Seifzadeh (2014) stated the whey protein concentrate coating inhibited the activity of microorganisms of rainbow trout fillet and kilka, respectively, because of barrier properties (suspension of gas transfer) of coated samples. TBA value of all samples increased up to day 16. The increase in TBA contents during storage may be attributed to the partial dehydration of shrimp. The whey protein coatings provided a better protection against oxidation than essential oils. Essential oil addition improved the antioxidant properties of the WPI coating. Whey proteins show antioxidant activity by several mechanisms: 1) forming a coating as a good barrier for O₂ permeability treated samples during storage (Bayram et al., 2008); 2) their free radical scavenging capacity by some amino acids (cysteine, tryptophan, and tyrosine) and metal chelation by proteins (lactoferrin, bovine serum albumin) (Tong et al., 2000; Elias et al., 2005); 3) sulfhydryl groups considered as only partially responsible for the antioxidant properties of whey proteins; 4) β -lactoglobulins have an important antioxidant activity due to some amino acid residues, which may even be increased when antioxidant amino acids, buried in the interior of the protein, are exposed by denaturation (Elias et al., 2005); 5) the antioxidant activity of α -lactalbumin has been related to the high amount of aromatic amino acids (tyrosine, tryptophan) in its sequence.

Conclusion: Food coatings are capable of replacing many types of polymer packages. The results of this study showed that the coating of whey without supplementing herbal essential oils of Shirazi thymol and Oregano did not have the necessary efficiency in increasing the shelf life of Shirazi thymol and Oregano. Adding herbal essential oils at two levels of 1% and 3% increased the maintenance of shrimp in a refrigerated temperature. Based on TVB-N and microbial standards, four treatments had essential oil until day 8, two control treatments and whey treatment until day 4 suitable for human consumption. In this way, the use of whey coating with 1 and 3% essential oils of Shirazi thymol and oregano, improved the shrimp shelf life for 4 days compared with the control.

Keywords: Edible coating, Microbial quality, Chemical quality, *Litopenaeus vannamei*