

## بررسی تاثیر پوشش نانوامولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا بر پدیده‌ی ملانوزیس در میگوی نگهداری شده در شرایط سرد

عباس مهرایی<sup>۱</sup>، سعید خانزادی<sup>۲\*</sup>، محمد هاشمی<sup>۳</sup> و محمد عزیززاده<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۸/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۷

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

<sup>۲</sup> دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

<sup>۳</sup> استادیار مرکز تحقیقات سم شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

<sup>۴</sup> استادیار گروه تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

<sup>۵</sup> دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

\* مسئول مکاتبه: Email: khanzadi@um.ac.ir

### چکیده

**زمینه مطالعاتی:** بهینه‌یابی پوشش نانوامولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا باعث بهبود عملکرد این گروه از پوشش‌ها می‌گردد. **هدف:** در این مطالعه اثرات پوشش نانوامولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا روی پدیده‌ی ملانوزیس و ارزیابی رنگ قطعات میگو طی ۱۲ روز در ۴ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. **روش کار:** ابتدا اسانس زوفا به روش تقطیر با آب استخراج شد؛ اجزای تشکیل‌دهنده اسانس به وسیله GC/MS شناسایی شد. بیشترین ترکیبات آن شامل ایزوپینوکامفن (۳۵/۴۵٪)، پینوکامفن (۱۱/۸۱٪) و بتا-پاینن (۱۰/۱۲٪) می‌باشد. این مطالعه شامل دو مرحله‌ی تهیه‌ی پوشش و مدل‌سازی غذایی می‌باشد. پس از تهیه‌ی نانوامولسیون کیتوزان حاوی اسانس، سایز ذرات و PDI تعیین شد. سپس نمونه‌ها در ۱۰ تیمار آماده و برای ارزیابی رنگ و تعیین میزان ملانوزیس آنالیز شدند. **نتایج:** در روز ۱۲ کمترین میزان قرمزی و زردی در گروه‌های نانوامولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا (۱٪ و ۰/۵٪) در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. میزان روشنایی نمونه‌ها با افزایش زمان نگهداری در تمامی تیمارها کاهش یافت؛ یکی از دلایل این کاهش به دلیل ظهور لکه‌های سیاه است. تیمار نانوامولسیون کیتوزان حاوی زوفا ۱٪، بالاترین امتیاز و تیمارهای کنترل، کیتوزان و کیتوزان سونیکیت-شده پایین‌ترین امتیاز را به لحاظ ملانوزیس تا انتهای دوره در مقایسه با کنترل داشتند. **نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج این مطالعه پوشش نانوامولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا می‌تواند باعث حفظ شاخص رنگ در گوشت میگو در مقایسه با گروه کنترل شود و رنگ آن را بهبود بخشد و به عنوان یک ترکیب ضدملانوزیس جایگزین ترکیبات سنتزی مانند متابی-سولفیت سدیم شود.

**واژگان کلیدی:** کیتوزان؛ نانوامولسیون؛ اسانس زوفا<sup>۱</sup>؛ ملانوزیس؛ لکه‌ی سیاه

<sup>1</sup> *Hyssopus officinalis*

## مقدمه

میگو به دلیل ارزش بالای غذایی یک منبع دریایی بسیار مهم در سراسر جهان است (یان و همکاران ۲۰۱۶). با این حال، به دلیل تغییرات فیزیکی، بیوشیمیایی و میکروبی پس از صید، محصولی با فسادپذیری بالا می‌باشد. ماندگاری میگو به دلیل ملانوزیس و فساد میکروبی در هنگام ذخیره‌سازی محدود است (فرج‌زاده و همکاران ۲۰۱۶). ملانوزیس یا سیاه شدن، ایجاد لکه‌های سیاه<sup>۱</sup> در سخت پوستان مانند میگو و خرچنگ طی ذخیره‌سازی پس از صید، می‌تواند باعث آسیب جدی به بازارپسندی محصول شده و کیفیت آن را کاهش دهد. ملانوزیس یک فرآیند قهوه‌ای شدن آنزیمی است که پس از مرگ میگو آغاز می‌شود. فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز که عمدتاً در کوتیکول میگو قرار دارد؛ علت اصلی لکه سیاه است. در واقع ملانوزیس یک فرآیند بیوشیمیایی پس از مرگ است که سرانجام باعث به وجود آمدن رنگدانه‌هایی با وزن مولکولی بالا و سیاه رنگ یا تیره نامحلول به نام ملانین می‌شود (مارتینز-آلوارز و همکاران ۲۰۲۰). برای به تاخیر انداختن ملانوزیس در سخت‌پوستان و اطمینان از ماندگاری بیشتر، عوامل ضدملانوزیس مانند ۴-هگزیل-۱،۳-بنزدنیول (۴-هکسیل‌سورسینول)، ترکیبات بر پایه-ی سولفیت (متا بی سولفیت سدیم) و فسفات‌ها مورد مطالعه قرار گرفته و تاثیر آن در مهار ملانوزیس به اثبات رسیده است (یان و همکاران ۲۰۱۶). با این حال، استفاده از ترکیبات سنتزی برای مهار ملانوزیس در غذاهای دریایی به دلیل افزایش توجه نظارتی و احتمال سمیت آن‌ها محدود می‌باشد. با توجه به خطرات احتمالی مواد افزودنی شیمیایی برای سلامتی، محصولات طبیعی، به ویژه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و عوامل ضد میکروبی، به عنوان گزینه‌های ایمن بطور وسیعی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (باطبی و همکاران ۲۰۲۲). اخیراً، برخی مطالعات در مورد استفاده از عصاره‌های طبیعی برای به تأخیر

انداختن تشکیل ملانوزیس و کاهش تغییرات رنگ انجام شده است (یان و همکاران ۲۰۱۶؛ مارتینز-آلوارز و همکاران ۲۰۲۰).

آستاگزانتین، رنگدانه کاراتنوئیدی موجود در حیوانات آبرزی است. آستاگزانتین عامل قرمزی در میگو و یک آنتی‌اکسیدان قوی می‌باشد. این رنگدانه در دماهای بالا و حضور اکسیژن دچار تخریب حرارتی و اکسیداسیون می‌شود و با تخریب آن در میگو، رنگ قرمز محصول کاهش می‌یابد (لاتسچا ۱۹۸۹). استفاده از پوشش‌های خوراکی به عنوان تکنولوژی مدرن علاوه بر داشتن فوایدی مانند قابلیت خوردن، سازگاری با محیط، غیر-سمی و ارزان بودن، مواد غذایی را از آسیب‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی حفظ می‌کند و مانند سدی در برابر تبادل گازها، رطوبت و میکروارگانیسم‌ها عمل می‌نماید (جورگر ۲۰۰۷). از عمومی‌ترین پوشش‌های خوراکی می‌توان به سه نوع؛ از جمله (۱) پلی‌ساکاریدی مانند نشاسته و مشتقات آن، مشتقات سلولز، پکتین، دکسترین، سلولز، آلزینات و کیتوزان (۲) پروتئینی مانند پروتئین-های آب پنیر، پروتئین‌های به دست آمده از منابع گیاهی، کلاژن، زئین، گلوتن و کازئین و (۳) لیپیدی مانند موم‌ها، آسپیل گلیسرول‌ها و اسیدهای چرب اشاره کرد (لین و ژاو ۲۰۰۷).

کیتوزان نوعی پلی‌ساکارید با گروه آمینی فعال می‌باشد که کاربردهای فراوانی در صنایع غذایی دارد (قهرومانی چرمهینی و صداقت ۲۰۲۲). ساختمان چند قندی و از واحدهای گلوکز آمین و ان استیل گلوکز آمین (با اتصالات بتا ۱ و ۴) تشکیل شده است و از پوسته سخت‌پوستانی مانند خرچنگ و میگو به دست می‌آید. کیتوزان ماده غیر-سمی، زیست تخریب‌پذیر و زیست‌سازگار است. همچنین خاصیت ضد میکروبی دارد که گستره وسیعی از میکروارگانیسم‌ها شامل: قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها را در برمی‌گیرد (رابا و همکاران ۲۰۰۳).

<sup>1</sup> Black spot

نانومولسیون‌ها مخلوط‌های روغن در آب هستند که با امولسیفایرها پایدار می‌شوند. اندازه‌ی ذرات نانومولسیون‌ها غالباً<sup>۱</sup> در بازه‌ی ۱۰۰ نانومتر (نانومولسیون‌های شفاف) تا ۶۰۰ نانومتر (نانومولسیون‌های با ظاهر شیری رنگ) می‌باشد (خانزادی و همکاران ۲۰۲۰). دلیل تمایل استفاده از نانومولسیون‌ها به خاطر پایداری بالای آن‌ها می‌باشد که در نگهداری‌های طولانی مدت دچار جداشدگی فاز نمی‌شوند. زمانی که امولسیون‌های متداول با تکنولوژی نانو تبدیل به نانومولسیون می‌شوند، خواص فیزیکی، مکانیکی و شیمیایی جدیدی بدست می‌آورند.

مطالعات زیادی در خصوص استفاده از پوشش کیتوزان در به تاخیر انداختن ملانوزیس انجام شده است (فرج زاده و همکاران ۲۰۱۶؛ یان و همکاران ۲۰۱۶؛ وانگ و همکاران ۲۰۱۸؛ مارتینز-آلوارز و همکاران ۲۰۲۰). با وجود مزایایی که نانومولسیون‌ها نسبت به امولسیون‌های مرسوم دارند و کاربردشان در محصولات غذایی محسوس است اما مطالعات کمی در این زمینه انجام شده است. هدف از مطالعه‌ی حاضر؛ یک ارزیابی مواد شیمیایی اسانس گیاهی زوفا؛ دو تهیه پوشش نانو-امولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا (*Hyssopus officinalis*)؛ سه ارزیابی اثرات پوشش بر پدیده‌ی ملانوزیس و تغییر رنگ میگو نگهداری شده در دمای یخچال به مدت ۱۲ روز می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

#### تهیه و آنالیز ترکیبات اسانس گیاهی زوفا

گیاه زوفا از مرکز گیاهان دارویی تهیه و به جهت تایید گیاه‌شناسی به محل هرباریوم گروه بیولوژی پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی ارسال شد. سپس مراحل استحصال و آنالیز اسانس زوفا در مرکز جهاد دانشگاهی دانشگاه شهید بهشتی انجام شد. فرایند اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب<sup>۱</sup> و بوسیله

گیاه زوفا با نام علمی *Hyssopus officinalis* از خانواده‌ی *Lamiaceae* در جنوب اروپا، آسیای میانه، روسیه و ایران رشد می‌کند. استفاده از آن در طب سنتی به عنوان بادشکن، نیروبخش، ضد عفونی‌کننده، خلط‌آور و ضد-سرفه، رفع ناراحتی‌های عصبی و افسردگی و درمان سرماخوردگی سابقه طولانی دارد. این گیاه حاوی مواد شیمیایی مانند ترپن‌ها، فلاونوئیدها، روغن‌های فرار، تانن و رزین است و در صنایع غذایی از آن به عنوان چاشنی برای طعم‌دار کردن نوشیدنی‌ها و فرآورده‌های گوشتی استفاده می‌شود. ترکیبات اصلی آن شامل ایزوپینوکامفون،  $\alpha$ - و  $\beta$ -پاینن، کامفن و الکل سسکوئیترن است. گیاه زوفا علاوه بر اثرات ضد میکروبی و ضد-قارچی، می‌تواند از اکسیداسیون چربی و تغییر رنگ فرآورده‌های دریایی جلوگیری کند و همچنین خاصیت ضد انعقادی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی از طریق کاهش تولید رادیکال‌های آزاد دارد. مقدار زیاد اسیدهای فنلی موجود در عصاره‌های فنلی آن ممکن است عامل فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن باشد. علاوه بر این گیاه تازه زوفا حاوی مقدار زیادی ویتامین C است (فرا ترنال و همکاران ۲۰۰۴).

ویژگی‌های آبریزی و فرار بودن اسانس‌های گیاهی و همچنین حساسیت آن‌ها نسبت به اکسیژن و نور، ثبات آن‌ها را در هنگام فرآوری و ذخیره کاهش می‌دهد (نوشاد و همکاران ۲۰۲۲). کاربرد مستقیم اسانس‌های گیاهی به غذا منجر به تعامل آن‌ها با اجزای آبرگیز غذا (به عنوان مثال چربی و پروتئین) می‌شود که اثر و یا کارایی آن‌ها را در برابر میکروارگانیسم‌ها به حداقل می‌رساند (برت ۲۰۰۴). بنابراین نانومولسیون‌ها ابزارهای مناسبی برای پراکنده کردن ترکیبات غیرقطبی مانند اسانس‌های گیاهی در فازهای آبی هستند و به عنوان یک روش نوظهور در جهت رسیدن به محصولات غذایی جدید با کارایی مطلوب مورد استفاده قرار می‌گیرند.

<sup>۱</sup> Hydrodistillation

گرم از اسانس) به عنوان فاز روغنی وزن شد و با ۰/۲ گرم توئین ۸۰ به عنوان سورفاکتانت تا به دست آمدن یک محلول هموزن مخلوط و در نهایت فاز روغنی به همراه سورفاکتانت به فاز آبی کیتوزان ۲٪ اضافه شد. امولسیون در دمای اتاق تا به دست آمدن یک دیسپرسیون همگن، با استفاده از مگنت هات پلیت استیرر (IKA, C-MAG HS 10, Germany) مخلوط شد. در نهایت امولسیون با استفاده از هموزناتور التراتراکس دیجیتال T-25 (IKA, Staufen, Germany) با دور ۱۰ هزار به مدت ۲ دقیقه مخلوط شد (خانزادی و همکاران ۲۰۲۰).

#### آماده‌سازی پوشش نانوامولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا

جهت آماده‌سازی نانوامولسیون، امولسیون درشت با استفاده از سونیکاتور (Sonopuls, Bandelin, Berlin, Germany) با ۴۵ ثانیه پالس و ۱۵ ثانیه استراحت به مدت ۶ دقیقه با قدرت ۵۰٪ به نانوامولسیون تبدیل شد. اطراف بشر حاوی نانوامولسیون، حمام آب به همراه یخ قرار می‌گیرد تا حرارت ناشی از فعالیت دستگاه، دمای نمونه را بالا نبرد (کیخسروی و همکاران ۲۰۲۰). غلظت نهایی پوشش نانوامولسیون کیتوزان حاوی زوفا شامل: کیتوزان (۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، استیک‌اسید (۰/۰۱ میلی‌لیتر بر میلی‌لیتر)، گلیسرول (۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، توئین ۸۰ (۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و اسانس‌ها (۵-۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بوده است.

#### اندازه‌گیری اندازه‌ی ذرات

تعیین سایز ذرات و شاخص پراکندگی اندازه ذرات<sup>۴</sup> نانوامولسیون‌ها توسط دستگاه پراکندگی نور دینامیکی انجام شد. نمونه‌ها با آب دیونیزه شده رقیق شدند تا طیف شمارش ذرات ویژه بین ۲۰۰۰-۲۰۰ KCPS<sup>۶</sup> حاصل شود (مقیمی و همکاران ۲۰۱۶).

دستگاه کلونجر<sup>۱</sup> انجام شد. جهت افزایش سطح تماس گیاه با آب مقطر، نمونه آسیاب شد. پس از گذشت ۶ ساعت اسانس آن جدا گردید. اسانس توسط نرمال-هگزان از آب جدا گردید و جهت آگیری از سولفات سدیم انیدر استفاده شد. اسانس آگیری شده در ظرف تیره درب‌دار جمع‌آوری شد و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

اجزای اسانس با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی<sup>۲</sup> شناسایی شد. دستگاه مجهز به ستون DB-5 (به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی-متر، ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر)، گاز حامل هلیم با جریان ۱/۱ میلی‌لیتر در دقیقه، برنامه‌ی دمایی ستون از ۶۰ تا ۲۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه در دقیقه می‌باشد. ترکیبات جدا شده ضمن مطابقت با کتابخانه دستگاه طیف سنج جرمی (Saturn version 4; Agilent Technology Inc., Santa Clara, USA)، الگوهای تجزیه ارائه شده در مقالات و نیز محاسبه اندیس کوئاس مورد شناسایی قرار گرفت و با توجه به درصد مساحت سطح زیر پیک، مقدار نسبی اجزا تعیین شد. اسانس‌های حاصل تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد در داخل بطری شیشه‌ای تیره، درون یخچال نگهداری شد.

#### آماده‌سازی پوشش امولسیون درشت<sup>۳</sup> کیتوزان حاوی اسانس زوفا

جهت آماده‌سازی امولسیون درشت، ۲ گرم کیتوزان (Low molecular weight, Sigma-Aldrich) (Chemical Co.; 50-190 kDa, 20-300 CP, 1wt %) در محلول آبی اسید استیک ۱٪ به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط شد. در ادامه ۰/۷۵ گرم گلیسرول به عنوان یک پلاستی‌سایزر<sup>۴</sup> به ازای هر گرم کیتوزان به مخلوط اضافه و به مدت ده دقیقه هم زده شد. در دو غلظت مجزا (۰/۵ و ۱

<sup>4</sup> Plasticizer

<sup>5</sup> Polydispersity Index (PDI)

<sup>6</sup> Kilo count per second

<sup>1</sup> Clevenger

<sup>2</sup> Gas chromatography-mass spectrometry

<sup>3</sup> Coarse emulsion

### آماده‌سازی نمونه‌های میگو و تیمارها

میگو با وزن متوسط ۱۶ گرم و طول تقریبی ۱۵۰ میلی‌متر از استخر پرورش میگو در گمیشان واقع در استان گلستان خریداری شد و سپس با اعمال زنجیره سرد به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد انتقال یافت. میگوها پس از جداسازی سر، جهت برداشتن مواد خارجی شست و شو داده شدند و از آن‌ها نمونه‌های ۱۰ گرمی در شرایط استریل تهیه شد. نمونه‌های ۱۰ گرمی به صورت تصادفی

به ۱۰ گروه تقسیم شدند (مطابق جدول ۱). به منظور پوشش‌دهی، نمونه‌ها به مدت ۲ دقیقه در تیمارهای مختلف محلول کیتوزان مطابق جدول ۱ غوطه ور گردیدند. سپس نمونه‌ها را از محلول خارج کرده و پس از اتمام چکیدن قطرات محلول پوشش، روی صفحات مشبک استریل قرار گرفتند. پس از خشک شدن پوشش در محیط آزمایشگاه، نمونه‌ها بسته بندی شدند و به مدت ۱۲ روز در دمای یخچال (۱±۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. آنالیزهای مربوطه در فواصل زمانی روزهای ۱۲، ۸، ۴، ۲، ۰ انجام شد.

جدول ۱- لیست‌های گروه‌های تیمار در مطالعه حاضر

Table 1- List of treatments in the present study

Treatment	Description
1 CON	without any coating + shrimp sample
2 CH	shrimp sample + Chitosan coating
3 SCH	shrimp sample + Sonicated chitosan coating
4 SMS	shrimp sample + Sodium Metabisulfite coating
5 HEO 0.5%	shrimp sample + <i>Hyssopus officinalis</i> essential oil (HEO) 0.5% (w/v)
6 HEO 1%	shrimp sample + <i>Hyssopus officinalis</i> essential oil (HEO) 1% (w/v)
7 CE+HEO 0.5%	shrimp sample + Chitosan coarse emulsion coating containing 0.5% (w/v) HEO
8 CE+HEO 1%	shrimp sample + Chitosan coarse emulsion coating containing 1% (w/v) HEO
9 NE+HEO 0.5%	shrimp sample + Chitosan nanoemulsion coating containing 0.5% (w/v) HEO
10 NE+HEO 1%	shrimp sample + Chitosan nanoemulsion coating containing 1% (w/v) HEO

### رنگ‌سنجی با استفاده از دستگاه سنجش رنگ

رنگ‌سنجی با استفاده از دستگاه سنجش رنگ هانتر لب (HunterLab, Model colourFlex, Virginia USA) سنجیده شد. سیستم رنگ‌سنجی CIE به صورت  $a^*1, b^*2$  و  $L^*3$  در نظر گرفته شد. شاخص L بیانگر روشنایی، مقدار آن از ۱۰ تا ۱۰۰ (سفید-سیاه) و شاخص a بین قرمز (+۶۰) و سبز (-۶۰) و شاخص b بین زرد (+۶۰) و آبی (-۶۰) متغیر است (صالحی و همکاران ۲۰۱۵). قبل از اندازه‌گیری رنگ میگو، دستگاه با استفاده از یک صفحه سفید استاندارد تنظیم شد. پارامترهای استاندارد دستگاه به صورت  $a^*, b^*, L^*$  تعیین گردیدند. نمونه‌ها

روی صفحه سفید استاندارد قرار داده شده و اندازه‌گیری صورت گرفت. هر نمونه از چهار جهت در زیر دستگاه مورد ارزیابی قرار گرفت و میانگین این چهار عدد گزارش شد. اندازه‌گیری‌ها به طور مستقیم بر روی میگو و نمونه‌های پوشش‌دهی شده و همچنین در تمام روزهای آزمون (۱۲، ۸، ۴، ۲، ۰) انجام گرفت. همچنین اندیس سفیدی<sup>۴</sup> (WI) و اختلاف رنگ کل<sup>۵</sup> ( $\Delta E$ ) نمونه‌ها به وسیله معادله زیر به دست آمد (یان و همکاران ۲۰۱۶).

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + (a)^2 + (b)^2}$$

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2}$$

4 Whiteness index

5 Total color difference

1 Redness & Greenness

2 Yellowness & Blueness

3 Lightness

## اندازه‌گیری ملانوزیس یا لکه سیاه

ملانوزیس یا لکه‌ی سیاه میگو بر اساس ارزیابی‌های چشمی انجام گردید. بدین جهت، ابتدا اعضای گروه با تکنیک‌های پایه‌ی ارزیابی حسی و خصوصیات گوشت میگو (مزه، بو، رنگ، بافت) آشنا شدند و ۲۱ ارزیاب در رده سنی ۲۰-۳۸ سال از بین پرسنل و دانشجویان آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد انتخاب شدند. ارزیاب‌ها، نمونه-ها را در پانل‌های فردی با نور کافی و به شکل تصادفی ارزیابی کردند. برای هر ارزیاب آب آشامیدنی برای فواصل بین تست کردن نمونه‌ها قرار داده شد. ارزیابی حسی با تکنیک امتیاز دهی ۴ نمره‌ای انجام شد. در این روش نمره‌ی چهار نشان دهنده عدم مشاهده نقاط سیاه رنگ بر روی میگو و نمره‌ی یک نشان دهنده وجود نقاط سیاه رنگ در سراسر سطح میگو بود (ثانی و همکاران ۲۰۱۷).

اندازه‌گیری عدد پراکسید<sup>۱</sup>

روش استاندارد ۲ IDF برای تخمین عدد پراکسید استفاده شد (استاندارد ملی آی دی اف). برای انجام این آزمون به دو محلول آهن و تیوسیانات آمونیوم نیاز است (بازرگانی گیلانی و همکاران ۲۰۱۵؛ شانتا و همکاران ۱۹۹۴). نحوه‌ی آماده‌سازی محلول آهن؛ ۰/۴ گرم باریوم کلراید دهیدراته در ۵۰ میلی‌لیتر آب حل گردید (محلول شماره یک). ۰/۵ گرم سولفات آهن دهیدراته در ۵۰ میلی-لیتر آب حل گردید (محلول شماره دو). محلول شماره‌ی (۱) به آرامی و تحت تکان مداوم به محلول شماره‌ی (۲) اضافه شود. سپس ۲ میلی‌لیتر هیدروکلریک‌اسید ۱۰ نرمال افزوده شد. رسوب باریوم سولفات صاف شد تا در نهایت محلول آهن II شفاف تهیه شود. محلول نهایی در شیشه‌های قهوه‌ای تیره در تاریکی نگهداری شد. نحوه‌ی آماده‌سازی محلول تیوسیانات؛ ۳۰ گرم آمونیوم

تیوسیانات در آب حل شد و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. برای انجام آزمون ابتدا ۰/۱ گرم چربی توزین و با ۹/۸ میلی‌لیتر مخلوط کلروفورم-متانول (با نسبت ۷:۳ حجمی) مخلوط و به مدت ۴-۲ ثانیه هم زده شد. در ادامه ۵۰ میکرولیتر از محلول آمونیوم تیوسیانات اضافه شد و مجدداً مخلوط به مدت ۴-۲ ثانیه هم زده شد. سپس ۵۰ میکرولیتر محلول آهن افزوده و مجدداً ۴-۲ ثانیه هم زده شد. در نهایت مخلوط به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و جذب نمونه‌ها در ۵۰۰ نانومتر در برابر بلانک (حاوی همه‌ی حلال‌ها به جز نمونه) بوسیله‌ی اسپکتروفتومتر قرائت شد. کل مراحل می‌بایست در نور کم و در خلال ۱۰ دقیقه انجام می‌شد. عدد پراکسید براساس میلی‌اکی‌والان اکسیژن در هر کیلوگرم نمونه بیان می‌شود که طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$\frac{(As - Ab) \times m}{55.84 \times mo \times 2}$$

As: جذب نمونه

Ab: جذب بلانک

m: شیب (بدست آمده از منحنی استاندارد)

55.84: وزن اتمی آهن

mo: گرم نمونه

## آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصله با نرم افزار SPSS<sup>۳</sup> انجام شد. برای مقایسه توزیع شاخص‌های حسی بین گروه‌ها از آزمون غیر پارامتریک فریدمن<sup>۴</sup> استفاده شد. در صورتی که آزمون فریدمن احتمال وجود اختلاف بین گروه‌ها را تایید می‌کرد؛ مقایسه‌ی دو به دو گروه‌ها توسط آزمون ویل کاکسون<sup>۵</sup> با تصحیح بونفرونی<sup>۶</sup> انجام شد. به دلیل تعدد مقایسه‌های دو به دو، در مقایسه‌های دو به دو  $P \leq 0.001$  سطح معنی دار

<sup>۴</sup> Friedman

<sup>۵</sup> Willcoxon signed rank test

<sup>۶</sup> Bonferroni

<sup>۱</sup> Peroxide value

<sup>۲</sup> Internatinal Dairy Federation

<sup>۳</sup> Statistical package for social science

## نتایج و بحث

## آنالیز ترکیبات اسانس

نتایج آنالیز اسانس زوفا با شماره هرباریومی HP-2567، با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به نتایج جدول مجموعاً ۳۳ ترکیب مختلف قابل جداسازی و شناسایی بود (نمودار ۱).

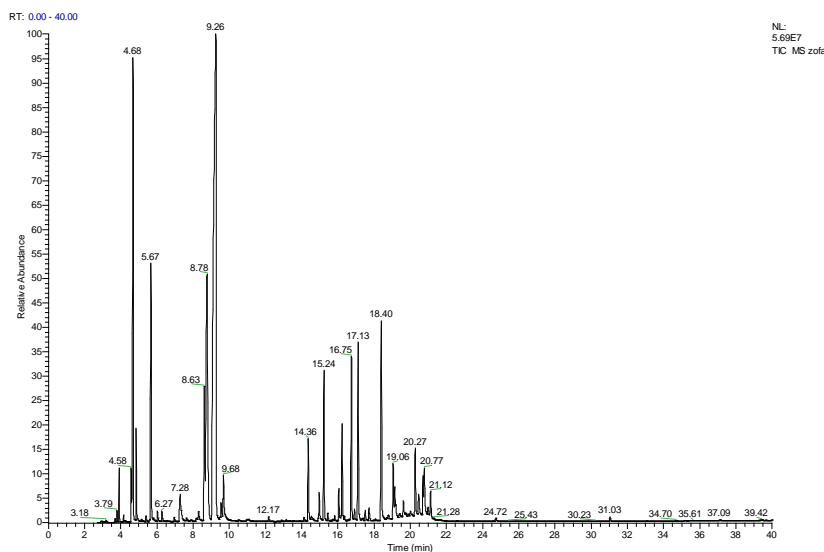
تلقی گردید. همچنین در آزمون هانتربل نیز با کمک آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر<sup>۱</sup> مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه ۲ تایی گروه‌ها توسط تست تعقیبی گیمز-هاول<sup>۲</sup> انجام شد. تمامی نمونه‌ها با سه تکرار انجام شد.

جدول ۲- ترکیبات شیمیایی اسانس زوفا بوسیله GC/MS

Table 2- Chemical composition of *Hyssopus officinalis* essential oil by GC/MS

Compounds	Concentration (Peak area %)	RI	
1	$\alpha$ -Thujene	0.13	926
2	$\alpha$ -Pinene	0.59	934
3	Sabinene	0.98	975
4	$\beta$ -Pinene	10.12	981
5	$\beta$ -Myrcene	1.21	992
6	$\beta$ -phellandrene	5.65	1032
7	E- $\beta$ -Ocimene	0.14	1048
8	$\gamma$ -Terpinene	0.15	1060
9	Linalool	1.14	1106
10	Pinocarveol<trans->	0.16	1147
11	Not identification	3.52	1161
12	Pinocamphone	11.81	1167
13	Isopinocamphone	35.45	1187
14	$\alpha$ -Terpinenol	0.27	1198
15	Myrtenol	0.88	1203
16	$\beta$ -Bourbonone	1.73	1381
17	$\alpha$ -Gurjunene	0.50	1404
18	E-Caryophyllene	3.25	1416
19	$\alpha$ -Humulene	0.61	1450
20	Caryophyllene<9-epi-(E)->	1.94	1458
21	Germacrene D	3.68	1480
22	Bicyclogermacrene	4.04	1496
23	$\gamma$ -Cadinene	0.17	1512
24	$\delta$ -Cadinene	0.24	1521
25	Elemol	5.11	1550
26	Spathulenol	1	1579
27	Caryophyllene oxide	0.6	1582
28	Globulol	0.29	1585
29	Ledol	0.31	1603
30	$\gamma$ -Eudesmol	1.47	1632
31	$\delta$ -Cadinol	0.53	1640
32	$\beta$ -Eudesmol	0.80	1651
33	$\alpha$ -Eudesmol	1.28	1654
	Total	99.75	

<sup>2</sup> Games- Howell<sup>1</sup> Repeated measure ANOVA



شکل ۱- کروماتوگرام اسانس زوفا

Figure 1- Chromatogram of *Hyssopus officinalis* essential oil

و ترکیبات خاک)، اندام‌های گیاه، شرایط تقطیر و تفاوت-هایی در کشت و روش‌های استخراج اسانس تغییر کند. بعضی از ترکیبات ممکن است به صورت عمومی در بسیاری از گیاهان وجود داشته باشند. ولی برخی از آن‌ها مختص یک گیاه خاص می‌باشند (گهرویه و همکاران ۲۰۱۷؛ نوری و همکاران ۲۰۱۸).

#### تعیین ویژگی‌های پوشش نانومولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا

اندازه ذرات، شاخص پراکندگی پوشش نانومولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا در جدول شماره ۳ مشاهده می‌شود. فاکتورهای متعددی روی اندازه‌ی ذرات موثر می‌باشند. این فاکتورها شامل مقدار اسانس، سرعت چرخش التراتراکس و شرایط دستگاه سونیکاتور (زمان و شدت پالس) می‌باشد (کیان و مکلمنت ۲۰۱۱؛ مندس و همکاران ۲۰۱۸). شرایط دستگاه سونیکاتور برای تشکیل نانومولسیون ارزیابی شد. کوچکترین اندازه‌ی ذرات در مدت زمان ۶ دقیقه پالس با قدرت ۵۰ درصد بدست آمد. شدت‌های بالاتر باعث افزایش چسبندگی ذرات و در نتیجه افزایش اندازه‌ی ذرات می‌شوند (جعفری و همکاران ۲۰۰۸). سرعت چرخش التراتراکس مستقیماً با قطر ذرات و پایداری امولسیون در ارتباط است. مندس

کل مواد موثره‌ی شناسایی شده‌ی اسانس ۹۹/۷۵٪ می‌باشد که بیشترین ترکیبات آن شامل ایزوپینوکامفن (۳۵/۴۵٪)، پینوکامفن (۱۱/۸۱٪) و بتا-پاینن (۱۰/۱۲٪) می‌باشد. دیگر ترکیبات مهم شامل: بتا-فلاندرن (۵/۶۵٪)، المول (۵/۱۱٪) و بایسیکلوزماسرن (۴/۰۴٪) می‌باشند. مطالعات دیگری روی ترکیبات اسانس زوفا توسط محققان انجام شده است که با نتایج گزارش شده در پژوهش حاضر مطابقت دارند؛ نجف پور نوایی در سال (۱۳۸۰)، عمده ترکیبات اسانس زوفا را ایزوپینوکامفن (۳۲/۴۳٪)، پینوکامفن (۱۴/۴۵٪)، بتا-پاینن (۱۲/۲۰٪) و پینوکاروان (۷/۵٪) گزارش کرد (نجف پور و همکاران ۲۰۰۱). فراترنال و همکاران در سال (۲۰۰۴) نیز عمده ترکیبات اسانس زوفا را ایزوپینوکامفن (۲۹٪)، پینوکامفن (۱۸/۵٪)، بتا-پاینن (۱۰/۸٪) گزارش کردند (فراترنال و همکاران ۲۰۰۴). برخلاف مطالعه حاضر، پیرنیا و همکاران در سال (۱۳۹۹) ترکیبات عمده اسانس زوفا را ۳-سیس پینانول (۲۸/۲٪)، کارواکرول (۲۱/۵٪) و ۳-ترانس پینانول (۱۳/۲٪) گزارش کردند (پیرنیا ۲۰۲۰). ترکیب شیمیایی اسانس هر گیاه می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلف مربوط به ویژگی‌های فیزیکی (مثل ژنتیک، سن و دوره‌ی بلوغ)، شرایط محیطی (مثل شرایط اقلیمی



مطالعه از مهارکننده‌ی رشد استفاده نشده است. مهارکننده‌هایی مثل لسیتین و روغن آفتابگردان می‌توانند پدیده‌های چسبندگی دوباره و استوالد رایپنینگ<sup>۳</sup> را به حداقل برسانند (دونسی و همکاران ۲۰۱۱). همچنین می‌توانند از تغییرات اندازه‌ی ذرات نانومولسیون در طول ذخیره سازی طولانی مدت در یخچال جلوگیری کنند (خانزادی و همکاران ۲۰۱۹). اما در مطالعه‌ی حاضر برای آماده‌سازی نانومولسیون کیتوزان، اسانس (فاز روغنی) به همراه امولسیفایر به محلول آبی (کیتوزان ۲٪) اضافه شد و سپس با کمک سونیکاتور تبدیل به نانومولسیون گشت. مطالعات زیادی در موافقت با این روش می‌باشند (سالویا و همکاران ۲۰۱۳؛ اسدوفانی و همکاران ۲۰۱۵). اندازه‌ی ذرات محلول کیتوزان ۲٪ در مطالعه حاضر، ۴۱۵۹ نانومتر می‌باشد. زمانی که محلول کیتوزان همراه با توئین ۸۰ سونیکیت می‌شود، اندازه‌ی ذرات آن به ۱۷۷۶ نانومتر کاهش می‌یابد (جدول ۳). این نتایج نشان‌دهنده‌ی تاثیر هموژنیزاسیون و حضور سورفاکتانت بر اندازه‌ی ذرات می‌باشد. به عبارتی وجود هموژنیزاسیون در مرحله‌ی نهایی آماده سازی پوشش نانومولسیون کیتوزان و اعمال هموژنیزاسیون بر پلی‌مر پوشش، علاوه بر اینکه از مشکلات روش ذکر شده جلوگیری می‌کند، باعث کاهش اندازه‌ی ذرات کیتوزان نیز می‌شود که می‌تواند اثرات دسترسی زیستی آن را نیز افزایش دهد (خانزادی و همکاران ۲۰۱۹).

مقادیر شاخص پراکندگی ذرات<sup>۴</sup> بین صفر و یک می‌باشد. زمانی که مقادیر PDI نزدیک صفر میل می‌کند، ذرات دارای توزیع یکنواخت بسیار عالی هستند و اگر نزدیک یک میل کند، نشان می‌دهد که نمونه دارای توزیع اندازه بسیار گسترده بوده و احتمالاً "مناسب روش اندازه‌گیری با دستگاه DLS نمی‌باشد.

و همکاران گزارش کردند که افزایش سرعت تا ۱۲۰۰۰ rpm باعث کاهش اندازه‌ی ذرات شده است (مهندس و همکاران ۲۰۱۸). افزایش در غلظت اسانس با غلظت سورفاکتانت ۰/۲٪ منجر به کاهش قطر ذرات نانومولسیون شد. همان طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، نانومولسیون‌های حاوی ۱٪ اسانس، اندازه‌ی ذرات کوچکتری نسبت به نانومولسیون‌های مشابه خود با ۰/۵٪ اسانس دارند (استرتاژ و همکاران ۲۰۱۲؛ اسدوفانی و همکاران ۲۰۱۵).

نکته‌ی قابل توجه دیگر، روش تهیه‌ی نانومولسیون این مطالعه، در مقایسه با سایر مطالعات می‌باشد. نوری و همکاران (۱۳۹۶)، پوشش خوراکی حاوی نانومولسیون اسانس زنجبیل<sup>۱</sup> را تهیه کردند. آن‌ها برای آماده‌سازی پوشش، ابتدا نانومولسیون اسانس را با استفاده از روش انرژی بالا تهیه کردند. سپس نانومولسیون اسانس زنجبیل به محلول پلی‌مری پوشش (سدیم کازئینات) اضافه گشت و یک هموژن‌سازی شدید به مدت ۲۰ دقیقه برای به دست آوردن یک محلول نهایی یکدست صورت گرفت (نوری و همکاران ۲۰۱۸). هموژن‌سازی شدید در مرحله‌ی نهایی این روش برای سعی در میکس کردن نانومولسیون اسانس زنجبیل در پوشش سدیم کازئینات، می‌تواند باعث شکسته شدن بخشی از ذرات پوشش شود که در نتیجه‌ی آن سطوح جدید ایجاد می‌شود. در غیاب سورفاکتانت کافی که سطوح جدید بوجود آمده را پوشش دهد، ذرات دوباره به یکدیگر ملحق شده و ذرات بزرگتر را بوجود می‌آورند که این پدیده چسبندگی دوباره<sup>۲</sup> نامیده می‌شود (جعفری و همکاران ۲۰۰۸). ذرات بزرگتر می‌تواند باعث افزایش اندازه‌ی ذرات نهایی محلول پوشش شود که در این مطالعه اندازه‌ی ذرات پس از اضافه نمودن نانومولسیون اسانس زنجبیل به پوشش گزارش نشده است. همچنین در این

<sup>3</sup> Ostwald Ripening

<sup>4</sup> Polydispersity Index

<sup>1</sup> *Zingiber officinale*

<sup>2</sup> Re-coalescence

## جدول ۳- ویژگی‌های پوشش نانوامولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا در گروه‌های آزمایش

Table 3- Characterization of chitosan-loaded nanoemulsion coating containing *Hyssopus officinalis* essential oil in the experimental groups

Treatments	Particle size (nm)	PDI	Essential oil (w/v)	Rotation speeds (rpm)	Time (min)	Amplitudes (%)
CH	4159.00 ± 107.40	0.07 ± 0.01	-	-	-	-
NCH	1776.00 ± 35.79	0.44 ± 0.05	-	12000	6	50
CE+HEO 0.5%	570.30 ± 15.83	0.63 ± 0.07	1	12000	6	50
CE+HEO 1%	402.20 ± 2.51	0.50 ± 0.05	0.5	12000	6	50
NE+HEO 0.5%	538.9 ± 4.46	0.76 ± 0.03	1	12000	6	50
NE+HEO 1%	385.70 ± 3.08	0.55 ± 0.01	0.5	12000	6	50

<sup>1</sup>Data are expressed as mean ± SD (n=3)

## ارزیابی رنگ

رنگ مهمترین ویژگی بصری برای مصرف کنندگان در غذاهای دریایی است. نتایج تغییرات رنگ برای نمونه‌های میگو در تیمارهای مختلف نگهداری شده در ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد در جدول ۴ نشان داده شده است. مولفه a نامحدود است و مقادیر مثبت معادل رنگ قرمز و مقادیر منفی معادل رنگ سبز است، مقادیر مولفه b نامحدود است و مقادیر مثبت معادل رنگ زرد و مقادیر منفی معادل رنگ آبی است و شاخص L معادل روشنایی تصویر که بین ۰ صفر معادل مشکی و ۱۰۰ معادل انعکاس کامل نور است، می‌باشد. در روز صفر میزان اولیه a و b به ترتیب، در گروه کنترل معادل ۰/۴۰ و ۰/۰۴ بود. با افزایش دوره‌ی نگهداری میزان قرمزی و زردی تیمارهای مختلف نگهداری شده در یخچال افزایش یافت (صالحی و همکاران ۲۰۱۸). روند افزایش در گروه کنترل نسبت به سایر گروه‌ها سریع‌تر بود. در روز ۱۲ کمترین میزان قرمزی در گروه‌های نانوامولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا (۱٪ و ۰/۵٪) (۰/۵۹ و ۰/۸۹) در مقایسه با گروه کنترل (۱/۸۴) دیده شد و همچنین کمترین زردی در دو گروه ذکر شده مشاهده شد. پوشش نانوامولسیون کیتوزان حاوی اسانس طی نگهداری می‌تواند باعث حفظ رنگ شود و از افزایش رنگ قرمزی و زردی گوشت میگو جلوگیری کند. پارامتر L در روز صفر در گروه کنترل

معادل ۵۷/۲۰ بود که در روز ۱۲ به ۴۶/۸۸ رسید. میزان روشنایی نمونه‌ها با افزایش زمان نگهداری در تمامی تیمارها کاهش یافت؛ این کاهش به دلیل ظهور لکه‌های سیاه است. الگوی کاهش در موافقت با یافته‌های فرج زاده و همکاران در سال (۲۰۱۶) بود که اثر پوشش کیتوزان-ژلاتین را روی کیفیت میگو در شرایط سرد بررسی کردند (فرج زاده و همکاران ۲۰۱۶). در پایان دوره نگهداری، مقدار ۱۰ واحد اختلاف با مقدار اولیه برای گروه کنترل وجود داشت، در حالی که این میزان برای میگوهای پوشش داده شده با امولسیون درشت کیتوزان (حاوی ۰/۵ و ۱ درصد زوفا) معادل ۵ واحد،

و برای میگوهای پوشش داده شده با نانوامولسیون‌های کیتوزان (حاوی ۰/۵ و ۱ درصد زوفا) ۴ واحد بود. اختلاف کل رنگ (EΔ) نشان دهنده‌ی میزان اختلاف رنگ بین میگوها در ابتدا و انتهای ذخیره سازی می‌باشد. در آغاز نگهداری هیچ اختلاف معناداری بین تیمارها مشاهده نشد. به طور کلی طی نگهداری در تمامی تیمارها کاهش یافت. همچنین نتایج مشابهی نشان داده شد که پوشش کیتوزان می‌تواند مقادیر رنگی میگو را بهبود بخشد (نوری و همکاران ۲۰۱۶).

جدول ۴- اثر پوشش نانوامولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا بر تغییرات رنگ میگو در طول نگهداری سرد

**Table 4- Effect of chitosan nanoemulsion coating containing *Hyssopus officinalis* essential oil on color changes of shrimp during chilled storage**

Attributes	Days	Treatments									
		CON	CH	NCH	SMS	HEO 0.5%	HEO 1%	CE+HEO 0.5%	CE+HEO 1%	NE+HEO 0.5%	NE+HEO 1%
a	0	0.40±0.13 <sub>a</sub>	0.39±0.07a	0.43±0.12a	0.40±0.12a	0.44±0.13a	0.42±0.14a	0.42±0.13a	0.41±0.13a	0.41±0.10a	0.41±0.10a
	2	0.54±0.09 <sub>a</sub>	0.56±0.04a <sub>c</sub>	0.57±0.12a	0.54±0.11a	0.62±0.06ac	0.55±0.04ac	0.55±0.07a	0.53±0.05a	0.41±0.02ab	0.37±0.06ab
	4	1.46±0.36 <sub>ac</sub>	1.15±0.33a	0.71±0.05a <sub>c</sub>	0.69±0.02a <sub>c</sub>	0.91±0.10ac	0.72±0.08ac	0.85±0.07ac	0.65±0.07a	0.48±0.01ab	0.45±0.03ab
	8	1.59±0.29 <sub>ac</sub>	1.35±0.18a <sub>c</sub>	1.68±0.13a <sub>cd</sub>	1.06±0.16a <sub>d</sub>	1.17±0.08ad	1.03±0.07ad	0.88±0.02ad	0.83±0.13ad	0.55±0.09abd	0.52±0.06abd
	12	1.84±0.25 <sub>ac</sub>	1.59±0.08a <sub>c</sub>	1.83±0.13a <sub>c</sub>	1.22±0.22a	1.30±0.0a	1.20±0.13a	1.16±0.17a	1.02±0.14ab	0.89±0.16ab	0.59±0.11ab
b	0	5.04±0.19 <sub>a</sub>	4.91±0.47a	4.90±0.19a	4.89±0.37a	5.10±0.61a	5.11±0.47a	5.10±0.46a	4.94±0.37a	5.10±0.34a	4.67±0.52a
	2	6.35±0.17 <sub>ac</sub>	5.42±0.53a	5.80±0.46a	5.01±0.75a	5.70±0.44a	5.92±0.76a	5.74±0.65a	5.44±0.37a	5.12±0.74a	5.03±0.09ab
	4	8.52±0.25 <sub>a</sub>	6.54±0.32b	5.93±0.57b	6.34±0.37b	7.34±1.11a	6.37±0.95a	6.52±0.47b	6.32±0.52b	5.86±0.15b	5.67±0.47b
	8	9.51±0.12 <sub>a</sub>	7.24±0.17b <sub>d</sub>	7.88±0.74a	6.36±0.28b <sub>e</sub>	6.73±0.31b	6.59±0.50b	7.78±0.22bd	6.99±0.72b	6.16±0.48b	6.54±0.28b
	12	12.01±0.3 <sub>3a</sub>	9.57±0.18b <sub>d</sub>	9.94±0.39b <sub>f</sub>	7.50±0.15b <sub>e</sub>	8.33±0.40be	7.37±0.40be	8.55±0.08bg	7.83±0.76b	6.74±0.55beg	6.41±0.27bce <sub>g</sub>
L	0	57.20±0.8 <sub>4a</sub>	57.50±1.12 <sub>a</sub>	57.13±1.21 <sub>a</sub>	57.07±0.65 <sub>a</sub>	57.02±1.19a	56.99±0.89a	57.02±0.59a	56.80±0.72a	57.09±0.32a	57.15±0.57a
	2	54.74±0.8 <sub>9a</sub>	55.16±0.77 <sub>a</sub>	55.50±1.15 <sub>a</sub>	56.09±1.09 <sub>a</sub>	55.04±0.93a	55.51±0.44a	54.98±0.90a	55.51±0.81a	56.45±0.25a	56.71±0.78a
	4	50.90±1.4 <sub>0a</sub>	52.22±0.75 <sub>ac</sub>	52.56±0.18 <sub>ae</sub>	53.88±0.30 <sub>af</sub>	52.02±0.49a <sub>e</sub>	53.13±0.35a	53.88±0.57a	54.24±0.77a	55.19±0.36ab	55.74±0.15b
	8	49.25±0.7 <sub>8ac</sub>	50.53±0.81 <sub>ac</sub>	51.58±0.21 <sub>a</sub>	52.21±0.80 <sub>bd</sub>	50.74±0.68a	51.31±0.42a	53.01±0.57ab	53.63±0.13ab	54.39±0.29ab	54.78±0.24b <sub>e</sub>
	12	46.88±0.5 <sub>9a</sub>	50.80±0.46 <sub>bc</sub>	50.16±0.73 <sub>bc</sub>	50.91±0.74 <sub>bc</sub>	50.12±0.72b <sub>c</sub>	50.79±0.15b <sub>c</sub>	51.53±0.49b	51.78±0.12bd	53.39±0.26bd	53.60±0.30bd
WI	0	56.90±0.0 <sub>1ac</sub>	57.23±0.01 <sub>abe</sub>	56.85±0.04 <sub>a</sub>	56.79±0.01 <sub>ab</sub>	56.72±0.03a <sub>bd</sub>	56.70±0.01a <sub>bd</sub>	56.72±0.01a <sub>bd</sub>	56.52±0.01a <sub>bd</sub>	56.79±0.03ad	56.90±0.04ad
	2	54.29±0.0 <sub>0a</sub>	54.90±0.01 <sub>b</sub>	55.13±0.01 <sub>bcd</sub>	55.84±0.01 <sub>bc</sub>	54.68±0.02b <sub>cde</sub>	55.11±0.01b <sub>cd</sub>	54.63±0.02b <sub>cde</sub>	55.18±0.01b <sub>cde</sub>	56.17±0.02b <sub>cde</sub>	56.40±0.01b <sub>cde</sub>
	4	50.14±0.0 <sub>2a</sub>	51.77±0.01 <sub>b</sub>	52.19±0.01 <sub>bcd</sub>	53.44±0.02 <sub>bc</sub>	51.60±0.00b <sub>cde</sub>	52.68±0.00b <sub>cdef</sub>	53.39±0.00b <sub>cdef</sub>	53.81±0.00 <sub>bcd</sub>	54.82±0.01 <sub>bcd</sub>	55.38±0.01 <sub>bcd</sub>
	8	48.34±0.0 <sub>0a</sub>	50.97±0.00 <sub>b</sub>	50.91±0.00 <sub>bcd</sub>	51.79±0.00 <sub>bc</sub>	50.28±0.00b <sub>cde</sub>	50.85±0.00b <sub>cdef</sub>	52.36±0.00 <sub>bcd</sub>	53.11±0.00 <sub>bcd</sub>	53.98±0.00 <sub>bcd</sub>	54.41±0.00 <sub>bcd</sub>
	12	45.52±0.0 <sub>1a</sub>	49.85±0.04 <sub>b</sub>	49.15±0.00 <sub>bcd</sub>	50.33±0.01 <sub>bc</sub>	49.42±0.00b <sub>cde</sub>	50.23±0.01b <sub>cdef</sub>	50.78±0.01 <sub>bcd</sub>	51.14±0.01 <sub>bcd</sub>	52.90±0.00 <sub>bcd</sub>	53.16±0.01 <sub>bcd</sub>
ΔE	0	57.41±0.0 <sub>0ac</sub>	57.60±0.42 <sub>a</sub>	57.33±0.02 <sub>bdg</sub>	57.28±0.02 <sub>bde</sub>	57.25±0.00b <sub>dh</sub>	57.23±0.00b <sub>dh</sub>	57.25±0.00b <sub>dh</sub>	57.02±0.00b <sub>fh</sub>	57.32±0.00b <sub>dh</sub>	57.35±0.00b <sub>dh</sub>
	2	55.11±0.0 <sub>1a</sub>	55.39±0.00 <sub>b</sub>	55.82±0.02 <sub>bc</sub>	56.30±0.01 <sub>bcd</sub>	55.34±0.02b <sub>c</sub>	55.83±0.00b <sub>c</sub>	55.27±0.05a	55.78±0.02bc	56.68±0.00bc	56.93±0.00bc
	4	51.63±0.0 <sub>2a</sub>	52.64±0.02 <sub>b</sub>	52.91±0.01 <sub>bc</sub>	54.26±0.01 <sub>bcd</sub>	52.42±0.01b <sub>cde</sub>	53.52±0.00b <sub>cdef</sub>	54.26±0.02b <sub>cdef</sub>	54.64±0.02b <sub>cdef</sub>	55.51±0.01b <sub>cdef</sub>	56.04±0.03b <sub>cdef</sub>
	8	50.18±0.0 <sub>0a</sub>	52.14±0.17 <sub>bc</sub>	52.21±0.00 <sub>bc</sub>	52.62±0.00 <sub>bc</sub>	51.21±0.00b <sub>d</sub>	51.74±0.00b <sub>d</sub>	53.60±0.00bd	54.10±0.00bd	54.75±0.00bd	55.09±0.00bd
	12	48.44±0.0 <sub>0a</sub>	51.67±0.08 <sub>b</sub>	51.17±0.00 <sub>bc</sub>	51.47±0.00 <sub>b</sub>	50.83±0.00b <sub>cd</sub>	51.33±0.00b <sub>cd</sub>	52.26±0.00b <sub>cde</sub>	52.38±0.01b <sub>cdef</sub>	53.82±0.01b <sub>cdef</sub>	54.00±0.01b <sub>cdef</sub>

Values are expressed as mean ± SD of triplication; a-h different letters indicate significant ( $P < 0.05$ ) differences in same row. See the caption for table 1.

ملانوزیس در تمامی نمونه‌ها در طول دوره‌ی نگهداری افزایش یافت. در روز صفر در تمام نمونه‌ها و در دو گروه نانوامولسیون کیتوزان حاوی یک درصد اسانس زوفا و متا بی سولفیت سدیم تا روز دوم هیچ لکه‌ی سیاهی مشاهده نشد. یان و همکاران در سال (۲۰۱۶)، اثر

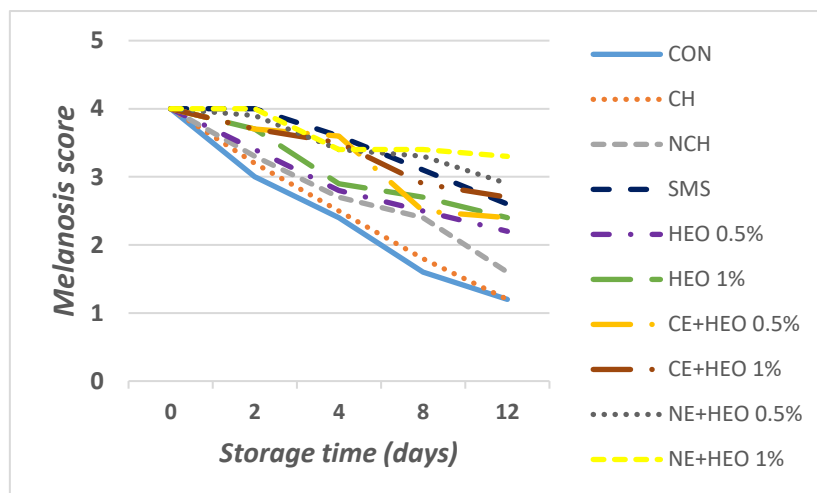
#### تعیین میزان ملانوزیس

نتایج تغییرات پدیده‌ی ملانوزیس برای نمونه‌های میگو در تیمارهای مختلف نگهداری شده در دمای ۴ درجه‌ی سانتی گراد در نمودار ۲ نشان داده شده است. بررسی پیشرفت این پدیده در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد که

همچنین کاهش کینون تشکیل شده در هنگام ذخیره‌سازی بوده است. به طور کلی کیتوزان به دلیل عمل شلاته-کنندگی و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و نقش آن به عنوان یک سد مکانیکی عملکرد خوبی در مهار فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز داشته و باعث کاهش ملانوزیس شده است. لذا می‌تواند به عنوان یک ترکیب زیست فعال طبیعی به همراه اسانس‌های گیاهی جایگزین ترکیبات سنتزی مانند متابی سولفیت سدیم شود. مطالعات قبلی نشان دادند که اسانس‌های گیاهی حاوی ترکیبات فنولیک می‌توانند به طور قابل توجهی آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در سفالوتراکس میگو را هنگام ذخیره‌سازی مهار کنند (نیرمال ۲۰۱۱، نصیری و همکاران ۲۰۱۴؛ آلپرسلان و بایگر ۲۰۱۷).

پوشش کیتوزان حاوی عصاره چای را بر روی ملانوزیس میگو مورد بررسی قرار دادند؛ تیمار متابی-سولفیت سدیم در بین سایر تیمارها بیشترین مهار ملانوزیس را نشان داد (یان و همکاران ۲۰۱۶). تیمار نانوامولسیون کیتوزان حاوی زوفا ۱٪، بالاترین امتیاز و تیمارهای کنترل، کیتوزان و کیتوزان سونیکیت شده پایین‌ترین امتیاز را تا انتهای دوره در بین سایر گروه‌ها داشتند.

دو تیمار اسانس زوفا (۱٪ و ۰/۵٪) در مقایسه با گروه کنترل توانایی مهار ملانوزیس را نشان دادند. اسانس زوفا دارای ترکیبات مونوترپنی و توانایی شلاته‌کنندگی مس را دارد (فرنناندز لویز و همکاران ۲۰۰۳). در نتیجه، مهار ملانوزیس در میگوی تیمار شده با اسانس زوفا احتمالاً به دلیل اثر ترکیبی بین مهار پلی‌فنول‌اکسیداز و



شکل ۲- اثر پوشش نانوامولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا روی شاخص ملانوزیس میگو طی نگهداری سرد

Figure 2- Effect of chitosan nanoemulsion coating containing *Hyssopus officinalis* essential oil on melanosis scores of shrimp during chilled storage

Each data is the mean values per treatment and time point (mean  $\pm$  SD of triplication). See the caption for table 1

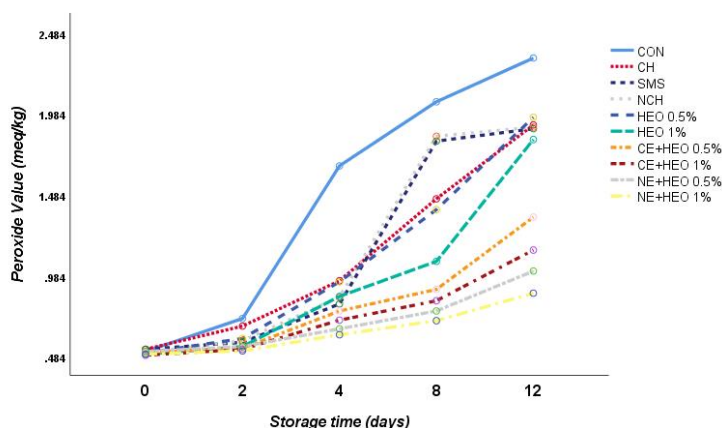
دوره بین  $0/51 \pm 0/02$  متغیر بود، پیشرفت اکسیداسیون چربی تا انتهای دوره مشاهده شد. الگوی افزایش پراکسید با مطالعات حق شناس و همکاران در سال ۱۳۹۴ مطابقت داشت. افزایش ممکن است به خاطر تشکیل سریعتر هیدروپراکسیدها نسبت به تخریب آن‌ها باشد (امرال و همکاران ۲۰۱۸). موثرترین تیمار در کاهش

#### تخمین عدد پراکسید

مقادیر عدد پراکسید، غلظت ترکیبات پراکسید و هیدروپراکسید تولید شده طی مراحل اولیه، فرآیند اکسیداسیون چربی را نشان می‌دهد و یک افزایش ناگهانی در میزان آن پایان ماندگاری گوشت می‌باشد (طاهری و همکاران ۲۰۱۸). سطوح پراکسید در شروع

نانومولسیون‌ها باعث افزایش پایداری اکسیداتیو می‌شود. نانومولسیون‌های کیتوزان حاوی اسانس زوفا ۰/۵ و ۱٪ نسبت به حالت غیرنانویی خود اثرات بهتری نشان دادند. در واقع تهیه نانومولسیون منجر به اثرات آنتی-اکسیدانی بهتر و قوی تری شده است. پوشش‌های خوراکی سدی برای ورود گازها، رطوبت و ... می‌باشند. حضور یک لایه روی سطح محصول مانع از جذب رطوبت و اکسیژن به گوشت می‌شود و متعاقباً میزان اکسیداسیون کاهش می‌یابد. بنابراین تیمارهای کیتوزان و کیتوزان سونیکیت شده در به تعویق انداختن تولید پراکسید در نمونه‌های میگو موثر بوده است. جیون و همکاران نشان دادند که کیتوزان به عنوان آنتی‌اکسیدان بالقوه و طبیعی برای افزایش پایداری ماندگاری مواد غذایی حاوی چربی می‌باشد.

مقادیر پراکسید، تیمار نانومولسیون کیتوزان حاوی زوفا ۱٪ بود. ترکیبات فنولی تشکیل رادیکال‌های آزاد چربی را مهار می‌کنند. این رادیکال‌ها طی فرآیند اکسیداسیون خود به خودی با اکسیژن وارد واکنش می‌شوند. مهار این رادیکال‌ها شروع فرایند اکسیداسیون در چربی را به تاخیر می‌اندازد (اوزوگل و همکاران ۲۰۱۷). فنول‌ها و فلاونوئیدهای گیاهی به عنوان مهارکننده‌های پرواکسیداسیون شناخته می‌شوند. آن‌ها رادیکال‌های پراکسی چربی‌ها را خاموش و یون‌های آهن در آنزیم‌های لیپواکسیژناز را شلاته می‌کنند و در نتیجه‌ی آن از آغاز واکنش‌های اکسیداسیون چربی جلوگیری بعمل می‌آید (طاهری و همکاران ۲۰۱۸). امیری و همکاران در سال ۱۳۹۸ گزارش کردند که اندازه‌ی ذرات کوچکتر در



شکل ۳- اثر پوشش نانومولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا روی شاخص پراکسید میگو طی نگهداری سرد  
**Figure 3. Effect of chitosan nanoemulsion coating containing *Hyssopus officinalis* essential oil on peroxide value of shrimp during chilled storage**

Each data is the mean values per treatment and time point (mean  $\pm$  SD of triplication). See the caption for table 1

ترکیبات سنتزی مانند متابی‌سولفیت سدیم شود و ویژگی‌های حسی آن را بهبود بخشد. پایداری اکسیداتیو گوشت میگو با پوشش نانومولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا افزایش یافت و به طور موثری مقادیر پارامتر شیمیایی کاهش یافت و باعث افزایش ویژگی‌های حسی شد. البته همچنان مطالعات گسترده‌تری در زمینه

### نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد نانومولسیون کیتوزان حاوی اسانس زوفا به دلیل حضور ترکیبات فنولیک و عمل شلاته‌کنندگی توسط کیتوزان عملکرد خوبی در مهار فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز داشته و باعث کاهش ملانوزیس شده است و می‌تواند به عنوان یک ترکیب زیست فعال طبیعی جایگزین

بررسی تاثیرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی نانوامولسیون اسانس‌ها لازم و ضروری به نظر می‌رسد.

### تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه فردوسی مشهد در گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان انجام گرفت. بدین وسیله از زحمات مهندس خواجه نصیرکارشناس محترم آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی و آبزیان دانشگاه فردوسی مشهد تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

### منابع مورد استفاده

- Acevedo-Fani A, Salvia-Trujillo L, Rojas-Grau MA and Martín-Belloso O, 2015. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids* 47: 168-177.
- Alparslan Y and Baygar T, 2017. Effect of chitosan film coating combined with orange peel essential oil on the shelf life of deepwater pink shrimp. *Food and Bioprocess Technology* 10 (5): 842-853.
- Amaral AB, Silva MVd and Lannes SCd S, 2018. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors—a review. *Food Science and Technology* 38: 1-15.
- Amiri E, Aminzare M, Azar HH and Mehrasbi MR, 2019. Combined antioxidant and sensory effects of corn starch films with nanoemulsion of *Zataria multiflora* essential oil fortified with cinnamaldehyde on fresh ground beef patties. *Meat Science* 153:66-74.
- Batebi K, Latifi Z, Sepahvand S, Zare gashti Gh, Jamshidi M, Tehranian and Chaharlang M, 2022. Antioxidant effect of hydroalcoholic extract of peppermint on chemical changes and sensory properties of rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*) at refrigerated temperature. *Journal of Food Research* 32 (4):149-166.
- Bazargani-Gilani B, Aliakbarlu J and Tajik H, 2015. Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 29: 280-287.
- Burt S, 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology* 94(3): 223-253.
- Donsì F, Annunziata M, Sessa M and Ferrari G, 2011. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT-Food Science and Technology* 44(9): 1908-1914.
- Farajzadeh F, Motamedzadegan A, Shahidi SA and Hamzeh S, 2016. The effect of chitosan-gelatin coating on the quality of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under refrigerated condition. *Food Control* 67: 163-170.
- Fernández-López J, Sevilla L, Sayas-Barberá E, Navarro C, Marin F and Pérez-Alvarez J, 2003. Evaluation of the antioxidant potential of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts in cooked pork meat. *Journal of Food Science* 68(2): 660-664.
- Fraternal D, Ricci D, Epifano F and Curini M, 2004. Composition and antifungal activity of two essential oils of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *Journal of Essential Oil Research* 16 (6): 617-622.
- Gahruie H, Ziaee E, Eskandari MH and Hosseini SMH, 2017. Characterization of basil seed gum-based edible films incorporated with *Zataria multiflora* essential oil nanoemulsion. *Carbohydrate Polymers* 166: 93-103.
- Ghahramani-Chermahini A and Sedaghat N, 2022. Evaluation of edible film and modified atmosphere packaging on the improvement of quality and shelf life of bell pepper. *Journal of Food Research* 32 (4):121-147.
- Haghshenas M, Hosseini H, Nayebzadeh K, Kakesh BS, Mahmoudzadeh M, and Fonood RK, 2015. Effect of beta glucan and carboxymethyl cellulose on lipid oxidation and fatty acid composition of pre-cooked shrimp nugget during storage. *LWT-Food Science and Technology* 62 (2): 1192-1197.
- IDF 1991, International IDF Standards.

- Jafari SM, Assadpoor E, He Y and Bhandari B, 2008. Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food Hydrocolloids* 22 (7): 1191-1202.
- Joerger RD, 2007. Antimicrobial films for food applications: a quantitative analysis of their effectiveness. *Packaging Technology and Science: An International Journal* 20 (4): 231-273.
- Keykhosravi K, Khanzadi S, Hashemi M and Azizzadeh M, 2020. Chitosan-loaded nanoemulsion containing *Zataria Multiflora* Boiss and *Bunium persicum* Boiss essential oils as edible coatings: Its impact on microbial quality of turkey meat and fate of inoculated pathogens. *International Journal of Biological Macromolecules* 150: 904-913.
- khanzadi S, Hashemi m and Keykhosravi k, 2019. Antimicrobial and antioxidant efficiency of nano emulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets. *Food Control* 106:1-2.
- Khanzadi S, Keykhosravi K, Hashemi M and Azizzadeh M, 2020. Alginate coarse/nanoemulsions containing *Zataria multiflora* Boiss essential oil as edible coatings and the impact on microbial quality of trout fillet. *Aquaculture Research* 51: 873-881.
- Latscha T, 1989. The role of astaxanthin in shrimp pigmentation. *Advances in Tropical Aquaculture, Workshop at Tahiti, French Polynesia*, 20: 25-29.
- Lin D and Zhao Y, 2007. Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews In Food Science and Food Safety* 6(3): 60-75.
- Martinez-Alvarez O, Lopez-Caballero M. E, Montero P and del Carmen Gomez-Guillen M, 2020. The effect of different melanosis-inhibiting blends on the quality of frozen deep-water rose shrimp (*Parapenaeus longirostris*). *Food Control* 889: 106-109.
- Mendes J, Martins H, Otoni C, Santana N, Silva R, Da Silva A, Silva M, Correia M, Machado G and Pinheiro A, 2018. Chemical composition and antibacterial activity of *Eugenia brejoensis* essential oil nanoemulsions against *Pseudomonas fluorescens*. *LWT- Food Science and Technology* 93: 659-664.
- Moghimi R, Ghaderi L, Rafati H, Aliahmadi A and McClements DJ, 2016. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*. *Food Chemistry* 194: 410-415.
- Najafpour NM, 2001. Compound recognition in essential oil of *Hyssopus Officinalis*. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research* 12: 78-89.
- Nasiri E, Moosavi-Nasab M, Shekarforoush S and Golmakani M, 2014. The effects of *Zataria multiflora* on inhibition of polyphenoloxidase and melanosis formation in shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Iranian Fisheries Sciences Research Institute* 23 (3): 109-118.
- Nirmal NP, 2011. Inhibition of polyphenoloxidase and melanosis in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by phenolic compounds. *Prince of Songkla University* 1-8.
- Noori S, Zeynali F and Almasi H, 2018. Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets. *Food Control* 84: 312-320.
- Noshad M, Alizadeh Behbahani B, Jooyandeh H, Rahmati-Joneidabad M, Ghodsi Sheikhjan M, Ghorani R and Ebrahimi Hemmati Kaykh M, 2022. The use of okra gum-peppermint essential oil bioactive edible coating to improve shelf-life of buffalo meat. *Journal of Food Research* 32 (4):13-36.
- Nouri M, Khodaiyan F, Razavi S. H and Mousavi MA, 2016. The effect of different chemical and physical processing on the physicochemical and functional characterization of chitosan extracted from shrimp waste species of indian white shrimp. *Progress in Rubber Plastics and Recycling Technology* 32(1): 39-54.
- Ostertag F, Weiss J and McClements DJ, 2012. Low-energy formation of edible nanoemulsions: factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. *Journal of Colloid and Interface Science* 388 (1): 95-102.
- Ozogul Y, Yuvk, İ, Ucar Y, Durmus M, Kösker A. R, Öz M and Ozogul F, 2017. Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. *LWT- Food Science and Technology* 75: 677-684.

- Pirnia M, Tabatabaee Yazdi F, Mortazavi S. A, Mohebbi M, 2020. Comparison and survey of chemical composition and antimicrobial effect *Hyssopus officinalis* and *Frankincense (Boswellia carteri)* oils against some of food infectious and spoiling microorganisms In Vitro. Food Science and Technology 17: 91-99.
- Qian C and McClements DJ, 2011. Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: factors affecting particle size. Food Hydrocolloids 25(5): 1000-1008.
- Rabea E. I, Badawy M. E.-T, Stevens C. V, Smagghe G and Steurbaut W, 2003. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. Biomacromolecules 4(6): 1457-1465.
- Salehi S, Khodanazary A and Zamani E, 2018. Comparative changes in peeled white shrimp (*Metapenaeus affinis*) during ice and refrigerator storage. Iranian Scientific Fisheries Journal 27(4): 123-136.
- Salvia-Trujillo L, Rojas-Graü M. A, Soliva-Fortuny R and Martín-Belloso O, 2013. Effect of processing parameters on physicochemical characteristics of microfluidized lemongrass essential oil-alginate nanoemulsions. Food Hydrocolloids 30 (1): 401-407.
- Sani MA, Ehsani A and Hashemi M, 2017. Whey protein isolate/cellulose nanofibre/TiO<sub>2</sub> nanoparticle/rosemary essential oil nanocomposite film: Its effect on microbial and sensory quality of lamb meat and growth of common foodborne pathogenic bacteria during refrigeration. International Journal of Food Microbiology 251: 8-14.
- Shantha NC and Decker EA, 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. Journal of AOAC International 77(2): 421-424.
- Taheri T, Fazlara A, Roomiani L and Taheri S, 2018. Effect of chitosan coating enriched with cumin (*cuminum cyminum l.*) essential oil on the quality of refrigerated turkey breast meat. Italian Journal of Food Science 30 (3): 628-640.
- Wang Q, Lei J, Ma J, Yuan G and Sun H, 2018. Effect of chitosan-carvacrol coating on the quality of Pacific white shrimp during iced storage as affected by caprylic acid. International Journal of Biological Macromolecules 106: 123-129.
- Yuan G, Lv H, Tang W, Zhang X and Sun H, 2016. 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 and Sun H, 2016. 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.





Journal of Food Research, 2023,33(1):49-67

<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.2023.48498.1810

## The effects of chitosan nanoemulsion coating containing *Hyssopus officinalis* essential oil on melanosis phenomenon in chill stored shrimp samples

A Mehraee<sup>1</sup>, S Khanzadi<sup>2</sup>, M Hashemi<sup>3,4</sup> and M Azizzadeh<sup>5</sup>

Received: November 13, 2021 Accepted: February 16, 2022

<sup>1</sup>PhD student, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

<sup>3</sup>Assistant Professor, Medical Toxicology Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

<sup>4</sup>Assistant Professor, Department of Nutrition, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

<sup>5</sup>Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

\*Corresponding author: E mail: [khanzadi@um.ac.ir](mailto:khanzadi@um.ac.ir)

**Introduction:** Shrimp are highly perishable due to the biochemical, microbiological or physical changes during Post-mortem storage, which results in limited shelf life of the product (Farajzadeh et al., 2016). Melanosis is considered a limiting factor for crustacean preservation. This alteration originates by the action of polyphenol oxidase and in some species, as deep-water rose shrimp, also by the action of activated hemocyanin (Martínez-Alvarez et al., 2020). Traditional methods for shrimp preservation such as cold storage, freezing and chilling can't suppress effectively spoilage (Farajzadeh et al., 2016). *Hyssopus officinalis*, as valuable medicinal herb, is widely used in traditional medicine. Due to the increased resistance of pathogenic microorganisms to antibiotics and increasing of treatment costs, attentions has been focused to compounds of natural origin (Pirnia et al., 1399). Nano-applications are named as one of the novel methods, which provide high immobilization efficiency for essential oils (keykhosravy e al., 2020). The nanoemulsion is a stable delivery system with unique physicochemical and practical characteristics including high physical stability, optical transparency and high bioavailability (khanzadi et al., 2020). In this study, the effects of chitosan nanoemulsion coating containing *Hyssopus officinalis* essential oil were investigated on melanosis phenomenon and color evaluation of shrimp samples during 12 days at 4 °C.

**Material and methods:** First, *Hyssopus officinalis* essential oil was prepared; *Hyssop* oil was extracted separately by water distillation. The essential oils components were identified by GC/MS (Pirnia et al., 1399). This study includes two phases of edible coating preparation and food modeling. After preparation of chitosan nanoemulsion containing essential oil, particle size and PDI were determined (keykhosravy e al., 2020). A dynamic light scattering (DLS) device (Malvern Instruments Ltd., United Kingdom) was utilized to measure the particle size of the nanoemulsion droplets. The

distribution of droplet size was considered in the terms of the mean droplet size (z-diameter) and polydispersity index (PDI) (Moghimi et al., 2016). Then, Shrimp samples were provided and they were immediately placed in insulated polystyrene ice flasks and transported to the laboratory of food hygiene, Ferdowsi university of Mashhad, Mashhad, Iran. The fillets were washed completely for removing external particles (Mohajer et al., 2021). Shrimp samples were randomly divided into ten groups:

CON: without any coating solution

CH: Chitosan coating

SCH: Sonicated Chitosan coating

SMS: Sodium Metabisulfite coating

HEO 0.5%: *Hyssopus officinalis* essential oil (HEO) 0.5% (W/V)

HEO 1%: *Hyssopus officinalis* essential oil (HEO) 1% (W/V)

CE+HEO 0.5%: Chitosan coarse emulsion coating containing 0.5% (W/V) HEO

CE+HEO 1%: Chitosan coarse emulsion coating containing 1% (W/V) HEO

NE+HEO 0.5%: Chitosan nanoemulsion coating containing 0.5% (W/V) HEO

NE+HEO 1%: Chitosan nanoemulsion coating containing 1% (W/V) HEO

The prepared samples were covered with different solutions for 2 min and were allowed to drain for 1 h. All the samples were placed into zip packs. Lastly, the samples were kept at  $4 \pm 1$  °C for 12 days and analyzed for color evaluation and melanosis during 2/4-day intervals (days 0, 2, 4, 8 and 12). Lightness (+L), yellowness (+b), and redness (+a) of samples were measured with a Hunterlab colorimeter (Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, Virginia, USA), using a CIELab scale (Salehi et al., 2018). Whiteness (W) was also calculated, as described by Park, 1994 (Park et al., 1994). Melanosis or black spot of shrimp was performed based on ocular evaluations (Sani et al., 2017). First, the basic sensory evaluation techniques and characteristics of shrimp meat (taste, smell, color, and texture) were introduced to the members of the group. 21 evaluators (20-38 years) were selected from among the staff and students of the Food Hygiene Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad. The evaluators evaluated the samples in individual panels with sufficient light and randomly. For each evaluator, drinking water was placed for the intervals between testing the samples (keykhosravy et al., 2021). Sensory evaluation was performed using a 4-point scoring technique. In this method, a score of four indicates the absence of black spots on the shrimp and a score of one indicates the presence of black spots across the surface of the shrimp.

**Results and discussion:** 33 compounds were identified in *Hyssop*. Most of its compounds include *isopinocamphe* (35.45%), *pinocamphe* (11.81%) and *beta-pinene* (10.12%). The results are in agreement with Najafpour et al. (2001) and Fraternal et al. (2004). The z-diameter and PDI values of CE+HEO 0.5% were determined to be  $570.3 \pm 15.83$  nm and  $0.63 \pm 0.07$ , while for CE+HEO 1% were  $402.2 \pm 2.50$  nm and  $0.50 \pm 0.05$ , respectively. Z-diameter of the NE+HEO 1% and NE+HEO 0.5% were measured as  $385.7 \pm 3.09$  nm and  $538.9 \pm 4.40$  nm, and their PDI values were  $0.55 \pm 0.03$  and  $0.76 \pm 0.01$ , respectively. Color is the most important visual feature for consumers in seafood. A value is infinite and positive values are equivalent to red and negative values are equivalent to green. B values are infinite and positive values are equivalent to yellow and negative values are equivalent to blue, and L index is equal to the brightness of the image which is between 0 zero equivalent to black and 100 Equivalent to full reflection of light (Salehi et al., 2018). On day 12, the lowest amount of redness and yellowness was observed in the groups of chitosan nanoemulsion containing *Hyssopus officinalis* essential oil (1% and 0.5%) compared to the control group. The brightness of the samples decreased with increasing storage time in all treatments; one of the reasons for this decrease is due to the appearance of black spots. Chitosan nanoemulsion treatment containing *Hyssopus officinalis* 1% had the highest score and control, chitosan and sonicated chitosan treatments had the lowest score in terms of melanosis by the end of the period compared to the control.

**Conclusion:** According to the results of this study, chitosan nanoemulsion coating containing *Hyssopus officinalis* essential oil can maintain the color index in shrimp meat compared to the control group and improve its color and replace synthetic compounds such as sodium metabisulfite as an anti-melanosis compound.

**Keywords:** Chitosan; Nanoemulsion; *Hyssopus officinalis*; Melanosis; Black Spot