



## بررسی اثر اسانس رزماری در فرم‌های نانوامولسیون و آزاد بر ماندگاری فیله مرغ نگهداری شده در یخچال

احمد موالی زاده<sup>۱</sup>، علی فضل آرا<sup>۲\*</sup>، مهدی پورمهدی<sup>۲</sup>، ندا باورصاد<sup>۳،۴</sup>

۱- دانشجوی PhD بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳- مرکز تحقیقات نانو فناوری، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

۴- گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

### چکیده

### اطلاعات مقاله

#### تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۰

#### کلمات کلیدی:

نانوامولسیون،

اسانس رزماری،

نگهدارنده طبیعی،

فیله مرغ.

محتوی رطوبت و پروتئین بالا و pH مناسب، گوشت مرغ را به یک محصول حساس برای رشد میکروارگانیسم‌های مولد فساد و بیماری‌زا تبدیل کرده است. در سال‌های اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی توجه زیادی به استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی با منشأ گیاهی به جای نگه‌دارنده‌های شیمیایی در محصولات خود نموده‌اند. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند اسانس رزماری دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بوده است. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر اسانس رزماری در فرم نانوامولسیون و آزاد بر خصوصیات شیمیایی، میکروبی و حسی فیله مرغ در طول نگهداری در یخچال بود. ارزیابی‌ها در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ صورت پذیرفت. نتایج حاکی از اثر بخشی چشمگیر هر دو فرم اسانس رزماری در بهبود ویژگی‌های میکروبیولوژیکی، شیمیایی و حسی نمونه‌ها در مقایسه با گروه کنترل طی زمان نگهداری بود. همچنین نتایج نشان داد که در مقایسه بین فرم آزاد و نانوامولسیون اسانس رزماری تیمار با فرم نانوامولسیون رزماری در مقایسه با اسانس رزماری توانست که به شکل مؤثرتری رشد باکتری‌های انتروباکتریاسه، مزوفیل و ساکروفیل را در طی زمان نگهداری محدود نماید ( $P < 0.05$ ). همچنین پس از بررسی آزمون‌های TVN و TBA و pH مشخص شد فرم نانوامولسیون اسانس رزماری در حفظ ویژگی‌های شیمیایی نمونه غذایی در مقایسه با فرم آزاد آن در طی زمان اثر بخشی بیشتری دارد ( $P < 0.001$ ). همچنین از نظر فاکتورهای حسی تیمار نانو رزماری باعث بهبود فاکتورهای حسی بو و پذیرش کلی نسبت به تیمار شاهد پس از ۱۲ روز نگهداری شد.

DOI: 10.22034/FSCT.19.125.381

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.5.4

\* مسئول مکاتبات:

a.fazlara@scu.ac.ir

## ۱- مقدمه

پلی فنول‌ها انواعی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که در جلوگیری از بیماری‌های مزمن از جمله سرطان نقش دارند، این ترکیبات بسیار متنوع هستند و اثرات متفاوتی دارند. در این میان، اسانس‌ها توجه بسیاری از محققین را برای این منظور به خود جلب کرده‌اند. گرچه فعالیت ضد میکروبی برای بسیاری از اسانس‌ها مشاهده شده است، اما محدودیت‌های ینیز در کاربرد آن‌ها در گوشت و محصولات گوشتی وجود دارد. برهم‌کنش بعضی اسانس‌ها با ترکیبات غذایی و ساختار غذا ممکن است اثر آن‌ها را کاهش دهد. از این رو با نانوکپسوله کردن اسانس‌ها و نیز مطالعات انجام گرفته در زمینه فناوری‌های ترکیبی می‌توان برای رفع این مشکلات عمل نمود. برای مثال اثبات شده است که بهترین نتایج، هنگام الحاق ترکیبات فرار اسانس‌ها درون پوشش‌های خوراکی و انکپسوله کردن اسانس‌ها درون پلیمرهای خوراکی و پوشش‌های زیست‌تخریب‌پذیر به دست می‌آید [۱].

اسانس‌ها مایعات معطری هستند که از اجزا گیاه ( گل، جوانه، دانه، برگ، پوست، چوب، میوه و ریشه) استخراج می‌شوند. برخی اسانس‌ها خواص ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد قارچی و اثرات آنتی‌اکسیدانی دارند [۲]. به‌طور رایج اسانس‌ها به عنوان عوامل طعم‌دهنده در غذا به کار می‌روند. همچنین به عنوان دسته‌ای از محافظت‌کننده‌های طبیعی شناخته شده‌اند [۱]. نگرانی روزافزون مصرف‌کننده در ارتباط با نگرانی‌های شیمیایی سنتزی منجر شده تا تمایل به استفاده از اسانس‌ها به عنوان عوامل ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی در صنعت غذا افزایش یابد [۳].

در صنعت غذا، چندین کاربرد جدید از نانو تکنولوژی شامل استفاده از اجزا نانو مانند میسل‌ها، لیپوزومها و نانوامولسیون مورد استفاده قرار گرفته است [۴]. نانوامولسیون‌های اسانس همچون روغن در آب مبتنی بر ذرات نانولیپیدی با قطر بین ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر می‌باشند که در محلول آبی پخش شده‌اند. فواید نانوامولسیون شامل شفافیت بیشتر، ارتقای ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی، پایداری بیشتر، اثر کمتر بر ویژگی‌های ارگانولپتیکی غذا و بهبود فعالیت‌های بیولوژیکی اسانس‌ها به علت افزایش سطح می‌باشد، این در حالی است که از غلظت‌های کمتری از اسانس استفاده شده است [۵].

رزماری با نام علمی *Rosmarinus officinalis* از خانواده نعنائیان گیاهی است بوته‌ای چندساله و همیشه‌سبز که در منشاء اولیه آن در جنوب اروپا بوده است [۶]. اکنون نیز در سراسر ایران به‌صورت پرورشی وجود دارد و در بسیاری از مناطق جهان رشد می‌کند. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند عصاره رزماری دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بوده که این خواص رزماری وابسته به محتوای اسیدهای فنولیک و دیترپن‌های آن است [۷]. اخیراً محققان آشکار ساختند ترکیبات حاصل از عصاره رزماری می‌تواند در درمان بسیاری از بیماری‌های مختلف همانند آلزایمر و بیماری‌های مشابهی که توسط رادیکال‌های آزاد ایجاد می‌شوند، مؤثر باشند [۸]. با توجه به خصوصیات شناسایی شده رزماری، عصاره و اسانس این گیاه می‌تواند نقش معنی‌داری در جلوگیری از فساد میکروبی در گوشت ایفا کند. در بین گیاهان و ادویه‌جاتی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند گیاه رزماری بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در مطالعات اخیر نشان داده شده است که گیاه مریم‌گلی و رزماری دارای ترکیبات فنلی مشابهی بوده و خصوصیات آنتی‌اکسیدانی آن‌ها عمدتاً به رزمارینیک اسید، کارنوسیک اسید و کارنوسول مربوط می‌شود [۹]. نهایت آن که اسانس رزماری به عنوان منبعی از چند عامل ضد میکروبی با ترکیبات مشخص شیمیایی معرفی گردیده است [۱۰]. تحقیقات مختلفی در گذشته اثر اسانس‌های روغنی و از جمله رزماری بر فعالیت میکروبی را گزارش داده‌اند. در تحقیقی که حسن زاد و همکاران در سال ۲۰۱۹ انجام دادند اثر آنتی‌باکتریایی اسانس رزماری را بر روی گروهی از باکتری‌های مواد غذایی از قبیل *استافیلوکوکوس آریوس*، *اشریشیا کلای*، *سودوموناس آئروجینوزا*، گونه *شوانلا*، *لیستریا مونوسیتوزنز* و *سالمونلا انتریتیدیس* بررسی نمودند. نتایج حاصل از تحقیق آن‌ها حاکی از اثر بخشی اسانس رزماری بر رشد کلیه باکتری‌های مورد مطالعه بود [۱۱]. در تحقیقی دیگر عابدی و همکاران در سال ۲۰۲۱ اثر پوشش خوراکی حاوی پروتئین آب‌پنیر تغلیظ شده و اسانس رزماری را بر زمان ماندگاری اسفناج تازه بررسی نمودند. نتیجتاً مشخص شد که پوشش با اسانس رزماری با غلظت ۰/۶ درصد جمعیت میکروبی کلی‌فرم‌ها و توتال کانت را در طی نگهداری کاهش و مدت زمان ماندگاری را افزایش داد [۱۲]. در مورد تفاوت فرم‌های نانوامولسیون و آزاد اسانس‌های روغنی، لاراسالویا و همکاران

## ۲-۲-۱- تعیین اندازه ذرات و پتانسیل زتا

سایز ذرات نانوامولسیون اسانس توسط دستگاه Dynamic light scattering (Scatterscope, Qudix, South Korea) اندازه گیری شد. همچنین پتانسیل زتا توسط دستگاه اندازه گیری زتا سائزر (Malvern Instruments, England, UK) تعیین شد. تمامی آزمایش‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با سه تکرار برای هر نمونه انجام شدند [۱۵].

## ۲-۳- تیمار سازی و آماده‌سازی نمونه‌ها

فیله‌های تازه مرغ به تاریخ کشتار روز از مراکز معتبر تهیه و پس از آب کشی با آب تصفیه شهری به قطعات با وزن ۱۰۰ گرم تقسیم شدند. به منظور انجام پوشش دهی، تکه‌های فیله شده در سه گروه تقسیم و تیمارهای مورد نظر به روش غوطه وری در محلول‌های پوششی به شرح ذیل صورت پذیرفت. مدت زمان غوطه‌ور سازی ۱۰ دقیقه و در دمای اتاق انجام شد. از پلی سوربات برای کمک به حلالیت اسانس و از گلیسرول جهت ایجاد پوشش دهی مناسب استفاده گردید. لازم به ذکر است که تیمار سازی‌ها با سه تکرار به انجام رسیدند [۱۶].

تیمار اول فیله مرغ غوطه‌ور شده در آب مقطر

تیمار دوم فیله مرغ غوطه‌ور شده در اسانس رزماری یک درصد تیمار سوم فیله مرغ غوطه‌ور شده در نانوامولسیون رزماری یک درصد نمونه‌ها پس از بیرون آوردن از محلول‌های مورد استفاده، جهت آبکشی بر روی آبکش‌های پلاستیکی استریل در زیر هود قرار داده شدند تا آب اضافی خارج شود. نمونه‌ها مدتی در زیر هود باقی ماندند تا سطح آن‌ها نسبتاً خشک شوند سپس هر قطعه فیله به‌طور جداگانه در یک ظرف پلی‌اتیلنی استریل شده به وسیله اشعه‌ی UV قرار داده شد و بسته‌های پلی‌اتیلنی در یخچال با دمای  $4 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ روز نگهداری شدند [۱۶].

## ۲-۴- نمونه برداری و انجام آزمون‌ها

نمونه برداری و انجام آزمایش‌های میکروبی، شیمیایی و ارزیابی حسی بر روی نمونه‌ها در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ انجام شد. نمونه برداری کاملاً تصادفی و آزمایش‌ها با سه بار تکرار به انجام رسید. بررسی نمونه کنترل (شاهد) به وسیله آب مقطر در شرایط مساوی با دیگر نمونه‌ها نیز صورت گرفت [۱۷].

در سال ۲۰۱۵ چندین اسانس روغنی از جمله برگ لیمو، میخک، برگ چای، آویشن، گل شمع‌دانی، مرزنجوش و مریم گلی را بررسی نمودند. در این تحقیق مشخص شد که فرم نانوامولسیون میخک و برگ لیمو در مقایسه با فرم آزاد آن رشد/شیرشیاکلای را محدودتر نمودند [۱۳]. با توجه به نکات فوق و آگاهی از این نکته که بر اساس جستجو در منابع موجود در دسترس، اطلاعات اندکی در خصوص مقایسه دو فرم اسانس رزماری مشاهده شد انجام مطالعه حاضر با هدف بررسی خاصیت نگهدارندگی اسانس رزماری بر فیله تازه مرغ به عنوان ماده غذایی و همچنین مقایسه فرم‌های نانوامولسیون و آزاد آن از نقطه نظر میکروبی، شیمیایی و حسی مد نظر قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- تهیه اسانس گیاه

اسانس رزماری به‌صورت تجاری و آماده به همراه برگه آنالیز ترکیبات شیمیایی اصلی متشکله آن که با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی GC-MS حاصل و ارائه شده بود، از یکی از شرکت‌های معتبر در زمینه تولید اسانس‌های گیاهی تهیه شد.

### ۲-۲- آماده‌سازی نانوامولسیون اسانس رزماری

آماده‌سازی نانوامولسیون طبق روش نوری (۲۰۱۷) انجام گرفت. برای آماده‌سازی از سورفاکتانت غیر یونی توپین ۸۰ (HLB:15) و آب مقطر و اسانس رزماری ۱ درصد استفاده گردید. به‌طور دائم و مرتب سورفاکتانت به همراه اسانس اضافه شده با سرعت ۳ هزار دور در دقیقه توسط هم‌وزنایزر (Mtops, South Korea) هم زده شد. سپس محلول امولسیون به سونیکاتور منتقل گشت. در تحقیق حاضر سونیکاتور (E\_Chrom Tech, Taiwan) ۲۰ کیلوهرتز مورد استفاده قرار گرفت و قدرت روی ۲۰۰ وات تنظیم گشت. همچنین پروب سونیکاتور ۲۵ میلی‌متر بود و سونیکاسیون به مدت ۵ دقیقه انجام شد. تفاوت دما میان امولسیون و نانوامولسیون نهایی کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد بود [۱۴].

## ۲-۴-۱- آزمایش‌های میکروبی

جهت بررسی نمونه‌ها از لحاظ میکروبی، شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل، شمارش کلی باکتری‌های ساکروفیل [۱۸] و همچنین شمارش انتروباکتریاسه‌ها صورت پذیرفت [۱۹]. برای شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل از محیط کشت مغذی پلیت کانت آگار استفاده شد. پلیت‌ها پس از کشت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند. همچنین برای شمارش میکروب‌های ساکروفیل نیز محیط پلیت کانت آگار مورد استفاده قرار گرفت که پس از کشت در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز نگهداری شدند و آنگاه نسبت به شمارش کلنی‌ها اقدام گردید. کشت و شمارش باکتری‌های خانواده انتروباکتریاس بر وی محیط کشت <sup>1</sup>VRBA انجام شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری گردید. سپس تعداد کلنی‌ها شمارش و نتایج حاصل از تمامی آزمون‌های میکروبی بر اساس لگاریتم واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم گزارش شدند.

## ۲-۴-۲- آزمایش‌های شیمیایی

برای بررسی نمونه از لحاظ شیمیایی از آزمون‌های اندازه‌گیری تیوباریتوریک اسید [۲۰]، اندازه‌گیری ازت آزاد فرار و اندازه‌گیری pH استفاده شد [۲۱ و ۲۲].

## ۲-۴-۱-۲- آزمون pH

برای تعیین pH ابتدا ۵ گرم نمونه را همراه با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر هموزن نموده، سپس توسط pH سنج دیجیتال اندازه‌گیری صورت پذیرفت.

۲-۴-۲-۲- آزمایش اندازه‌گیری مواد ازته فرار (TVN)<sup>2</sup>

به منظور اندازه‌گیری مواد ازته فرار از دستگاه کلدال اتوماتیک استفاده شد. بدین منظور مقدار ۱۰ گرم نمونه به همراه ۱/۵ گرم پودر اکسید منیزیم در بالن تقطیر دستگاه کلدال ریخته شد و به آن ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. یک ارلن حاوی ۱۰ قطره معرف توشیرو (معرف رنگی متشکل از بروم و کرزول گرین و متیل رد) به عنوان ظرف گیرنده به قسمت میرد یا سرد کننده دستگاه تقطیر وصل گردید. با شروع به کار دستگاه، به‌طور اتوماتیک مقدار ۴۰ میلی‌لیتر اسید بوریک ۲ درصد از مخزن اسید

بوریک برداشته و وارد ارلن شد و پس از ۱۸ دقیقه از شروع به کار دستگاه، عمل جوش و تقطیر پایان یافت. در نهایت محلول تقطیر شده توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیترا شده و مقدار اسید مصرفی و متعاقباً میزان میلی‌گرم مواد ازته فرار در ۱۰۰ گرم نمونه غذایی محاسبه شد [۲۳ و ۲۴].

۲-۴-۲-۳- آزمون اندازه‌گیری تیوباریتوریک اسید<sup>3</sup> (TBA)

معرف تیوباریتوریک اسید که جهت اندازه‌گیری محصولات ثانویه اکسیداسیون مورد استفاده قرار می‌گیرد برحسب میزان میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در هر کیلوگرم از نمونه اندازه‌گیری شد. برای این منظور مقدار ۵ گرم از نمونه به همراه ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول تری کلرو استیک اسید ۱۰ درصد در یک بشر ۲۵۰ میلی‌متری توسط هموزنایزر به‌طور کامل هموزن گردید و سپس محلول هموزن شده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده و محلول صاف‌شده دوباره به کمک محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. ۳ میلی‌لیتر از محلول صاف شده با ۳ میلی‌لیتر محلول تیوباریتوریک اسید ۰/۰۲ مولار مخلوط شده و به مدت ۴۵ دقیقه در آن ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. نهایتاً پس از سرد شدن، جذب محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. همچنین جهت تهیه نمونه شاهد از محلول ۳ میلی‌لیتر اسید کلرواستیک ۱۰ درصد به همراه ۳ میلی‌لیتر محلول تیوباریتوریک اسید ۰/۰۲ مولار استفاده شد و سپس با استفاده از فرمول زیر میزان میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید<sup>۴</sup> در هر کیلوگرم از گوشت اندازه‌گیری گردید [۲۳، ۲۵، ۲۶ و ۲۷].

(میزان جذب نوری نمونه‌ها=As، میزان جذب نوری محلول شاهد تیوباریتوریک اسید=Ab، وزن نمونه به میلی‌گرم=m)

$$TBA(mgMDA/kg\ of\ tissue) = \frac{50 \times (As - Ab)}{m}$$

## ۲-۴-۳- ارزیابی حسی

جهت بررسی ویژگی‌های حسی و ارگانولپتیکی گوشت مرغ دو عامل بو و رنگ اهمیتی اساسی دارد. رنگ صورتی فیله مرغ در طی نگهداری می‌تواند از رنگ صورتی خوش‌رنگ طبیعی آن تبدیل به صورتی کم‌رنگ یا رنگ پریده شده و همچنین بوی

3. Thiobarbituric acid  
4. Malondialdehyde (MDA)

1. Violet red bile lactose agar  
2. Total volatile nitrogen

منظور تحلیل داده‌ها با آنالیز واریانس با اندازه‌گیری تکراری (ANOVA)، آزمون فریدمن، کروسکالوالیس و همچنین آزمون تکمیلی LSD انجام شد.  $\alpha = 0/05$  مبنای قضاوت آماری لحاظ گردید.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- نتایج کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج

##### جرمی

در جدول ۱ ترکیبات شیمیایی اصلی اسانس رزماری با دستگاه کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی قابل مشاهده می‌باشد.

طبیعیان به بوی آمونیاک و یا ترشیدگی بدل گردد. هر کدام از این خصوصیات به طور جداگانه یا به همراه هم می‌تواند پذیرش کلی فیله مرغ را از لحاظ حسی دستخوش تغییراتی نماید. در تحقیق حاضر برای ارزیابی خصوصیات حسی از پانل ۵ نفری که نمونه‌ها را بر اساس بو، ظاهر و رنگ و پذیرش کلی مورد بررسی قرار می‌دادند، استفاده گردید و جهت ارزیابی، سیستم نمره دهی 9-point hedonics scale (نمره 1 بسیار بد و نمره 9 بسیار خوب) مورد استفاده قرار گرفت [۲۷].

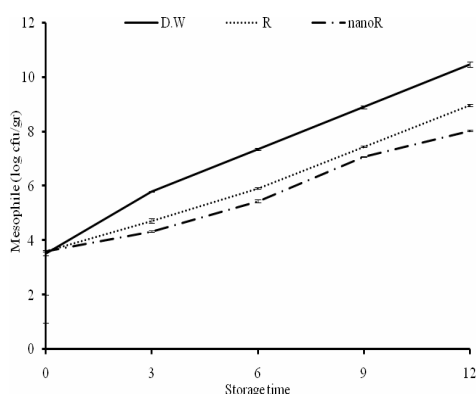
#### ۲-۵- تجزیه تحلیل آماری

داده‌های به دست آمده با کمک نرم‌افزار نسخه ۱۶ SPSS به صورت توصیفی و تحلیلی مورد بررسی قرار گرفت و بدین

**Table 1** Gas Chromatography-Mass Spectrometry of *Rosmarinus officinalis* essential oil

Number	Component	Retention time (min)	Percentage
1	Alpha-pinene	9.6356	27.2810
2	camphene	10.524	6.4295
3	Beta-pinene	11.4251	6.2357
4	Limonen	13.2415	7.4284
5	1,8-cineol	13.4218	23.1158
6	P-cymol	14.8517	3.54119
7	Camphor	18.4815	2.2168
8	Bomeol	21.1578	0.7519

رفت. جمعیت میکروبی تیمار شاهد، رزماری و نانورزماری در روز ششم به ترتیب  $5/35 \pm 0/04$  log CFU /gr،  $5/92 \pm 0/02$  log CFU /gr و  $5/42 \pm 0/05$  log CFU /gr بود (شکل ۱).



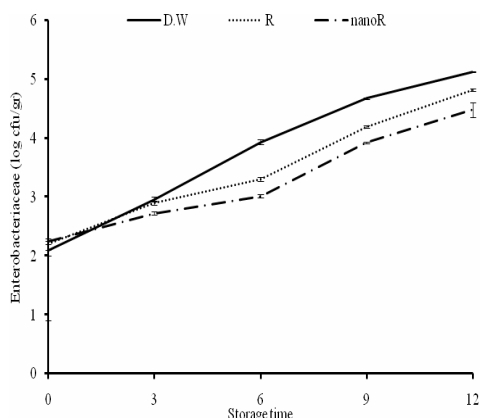
**Fig 1** Changes in total mesophilic count (log CFU/g) of chicken fillets during storage at 4°C

#### ۲-۳- نتایج اندازه ذرات و پتانسیل زتا

در تحقیق حاضر نتایج پایش و تعیین اندازه ذرات توسط روش تفرقن و رپویا (Dynamic light scattering) ۶۳ نانومتر و پتانسیل زتا ۱۷/۳ میلی ولت محاسبه شد.

#### ۳-۳- نتایج آزمایش‌های میکروبی

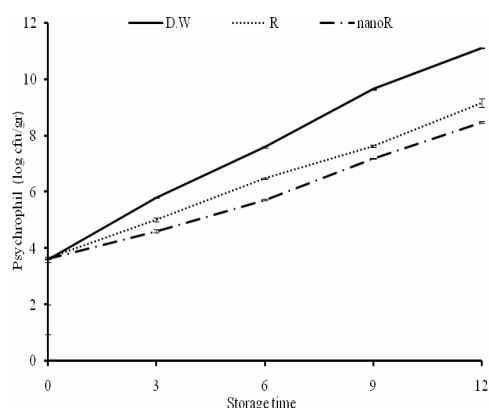
نتایج نشان داد که فرم نانومولسیون رزماری نسبت به فرم آزاد اسانس رزماری در کنترل رشد باکتری‌ها مؤثرتر عمل می‌نماید. در مورد رشد باکتری‌های مزوفیل در حالی که در تیمار شاهد جمعیت باکتری از  $3/52 \pm 0/06$  log CFU /gr در روز صفر به  $10/48 \pm 0/08$  log CFU /gr در روز دوازدهم نگهداری رسید. این میزان در مورد نانومولسیون رزماری  $0/03$  log CFU /gr و برای اسانس رزماری  $8/97 \pm 0/05$  log CFU /g بود. همچنین در روز ششم نگهداری بین تیمارهای شاهد و رزماری و نانورزماری اختلاف محسوس تری مشاهده گشت و بار میکروبی تیمار شاهد از آستانه فساد میکروبی  $7$  log CFU /gr فراتر



**Fig 3** Changes in total enterobacteriaceae count (log CFU/g) of chicken fillets during storage at 4 °C

استوجاویج و همکاران در سال ۲۰۱۸ اثر اسانس دو گیاه رزماری و ریحان بر روی باکتری سالمونلا/بیتربیتیدیس و شاخص‌های فیزیکوشیمیایی مثل pH، رنگ، بافت، تیوباریتوریک اسید و ویژگی‌های حسی را بر روی گوشت مرغ مورد بررسی قرار دادند. این تحقیق در دو دمای ۴ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد انجام شد. نتایج مطالعه آنان نشان داد که گوشت مرغ تیمار شده با هردو اسانس و یا یکی از آنها کاهش قابل توجهی در رشد باکتری سالمونلا و واکنش‌های اکسیداتیو داشتند و عنوان گردید که اسانس‌های گیاهی زمانیکه به تنهایی به کار می‌روند مؤثرتر می‌باشند [۲۸]. در تحقیق حاضر اثر محسوس فرم نانوامولسیون رزماری بر کیفیت نگهداری فیله مرغ نسبت به فرم آزاد رزماری مشاهده شد. اگرچه مطالعات متعددی برنتایج تحقیق حاضر در مورد برتری فرم نانوامولسیون در نگهداری مواد غذایی صحه گذاشته‌اند، اما گزارشاتی از برخی تحقیقات برخلاف نتایج مطالعه حاضر نیز وجود دارند به عنوان نمونه ماجد و همکاران در سال ۲۰۱۶ فعالیت فرم نانوامولسیون اسانس کانولا و میخک در حضور امولسیفایر نشاسته اصلاح شده را بررسی نموده و دریافتند که فرم نانوامولسیون فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به فرم آزاد تنها در برابر باکتری‌های گرم مثبت دارد. آن‌ها علت این امر را واکنش نشاسته اصلاح شده با دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت عنوان نمودند [۲۹]. همچنین حسن زاد و همکاران در سال ۲۰۱۹ با بررسی و مقایسه دو فرم نانوامولسیون و آزاد اسانس رزماری بر رشد باکتری‌های با منشأ غذایی دریافتند که در هر دو روش

در مورد باکتری‌های ساکروفیل در طی دوره نگهداری بیشترین میزان بازدارندگی جمعیت میکروبی پس از ۱۲ روز در تیمار نانوامولسیون رزماری مشاهده گشت که برابر با  $\log \text{CFU} / \text{gr}$   $8.48 \pm 0.03$  بود. به عبارتی با استفاده از این تیمار طی دوازده روز نگهداری ۳۱/۰۱ درصد کاهش رشد نسبت به تیمار شاهد صورت پذیرفت. همچنین در تیمار اسانس آزاد رزماری در روز دوازدهم جمعیت میکروبی به  $\log \text{CFU} / \text{gr}$   $9.16 \pm 0.15$  رسید که این میزان نیز اختلاف معنی داری با تیمار نانوامولسیون رزماری نشان داد ( $P < 0.001$ ). لازم به ذکر است که در طی دوره نگهداری در تیمار شاهد، جمعیت میکروبی از  $\log \text{CFU} / \text{gr}$   $3.61 \pm 0.1$  به  $\log \text{CFU} / \text{gr}$   $11.11 \pm 0.01$  رسید (شکل ۲).



**Fig 2** Changes in total psychrophilic count (log CFU/g) of chicken fillets during storage at 4 °C

در مورد باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه نیز درحالی‌که در تیمار شاهد رشد باکتری انتروباکتریاسه در روز صفر از  $\log \text{CFU} / \text{gr}$   $2.1 \pm 0.1$  به  $\log \text{CFU} / \text{gr}$   $5.0 \pm 0.1$  در روز دوازدهم نگهداری رسید، این میزان برای اسانس رزماری و نانوامولسیون رزماری در این بازه زمانی به ترتیب  $\log \text{CFU} / \text{gr}$   $4.82 \pm 0.02$  و  $\log \text{CFU} / \text{gr}$   $4.48 \pm 0.13$  بود. از روز سوم نگهداری با وجود آنکه جمعیت میکروبی تیمار رزماری در مقادیری نزدیک به تیمار شاهد بود، تیمار نانورزماری کاهش بیشتری را از خود نشان داد و از آن پس این اختلاف تا پایان دوره نگهداری مشهودتر شد. جمعیت میکروبی تیمار شاهد، رزماری و نانورزماری در روز سوم به ترتیب  $\log \text{CFU} / \text{gr}$   $2.96 \pm 0.04$ ،  $\log \text{CFU} / \text{gr}$   $2.72 \pm 0.03$  و  $\log \text{CFU} / \text{gr}$   $2.90 \pm 0.03$  بود (شکل ۳).

### ۳-۴- نتایج آزمایش‌های شیمیایی

در آزمون TVN پس از ۱۲ روز، در تیمار شاهد افزایش میزان مواد ازته فرار از  $14/23 \pm 0/31$  mg/100g به  $61/30 \pm 0/62$  mg/100g مشاهده شد. این مقدار برای اسانس رزماری از  $14/92 \pm 0/48$  mg/100g به  $51/66 \pm 0/66$  mg/100g و برای نانوامولسیون رزماری  $13/68 \pm 0/65$  mg/100g از  $38/36 \pm 0/48$  mg/100g رسید. در روز سوم میزان TVN در تیمارها نزدیک به هم بود. این میزان برای تیمار شاهد  $13/68 \pm 0/65$  mg/100g و برای هر دو تیمار رزماری و نانورزماری به ترتیب  $18/74 \pm 0/54$  mg/100g و  $14/23 \pm 0/31$  mg/100g بود. تغییرات TVN در گروه شاهد از روز ۶ تا ۱۲ با شیب بسیار تندتری از سایر گروه‌ها افزایش یافت و در روز ۶ نگهداری TVN در گروه شاهد، و در روز ۹ در سایر تیمارها میزان TVN به حدی رسید که گوشت غیر قابل مصرف بود (شکل ۴). براساس دستورالعمل دفتر نظارت بر بهداشت عمومی سازمان دامپزشکی کشور مورخ سال ۲۰۰۶، در صورتی که میزان TVN در گوشت مرغ بیش از ۲۷ میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم گوشت باشد، گوشت غیر قابل مصرف خواهد بود [۳۸].

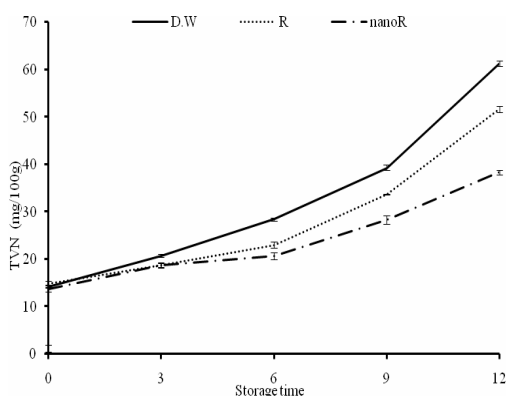


Fig 4 Changes in TVN (mg/100g) of chicken fillets during storage at 4 °C

جیمنز و همکاران در سال ۲۰۰۲ علت اصلی افزایش میزان TVN را تجزیه باکتریایی گوشت و افزایش آنرا همسو با افزایش شمار باکتری‌ها بیان کرده‌اند که این موضوع تأیید کننده نتایج به دست آمده مطالعه حاضر میباشد [۳۹]. انتصار و همکاران در سال ۲۰۱۸

انتشار دیسک و همچنین انتشار فاز بخار تفاوتی بین دو فرم از لحاظ ممانعت کنندگی رشد وجود ندارد [۱۱]. حال آن که ترجانگ و همکاران در سال ۲۰۱۲ نیز پس از نانوامولسیون نمودن اسانس اوژنول (*Eugenol*)، شاهد اثر منفی نانوامولسیون بر فعالیت ضد میکروبی اسانس مربوطه بودند. آن‌ها علت این کاهش فعالیت را تجمع اسانس در سطح مشترک ذره‌های نانوامولسیون بیان نمودند [۳۰]. از طرف دیگر ژانگ و همکاران در سال ۲۰۱۴ طی تحقیقی تاثیر نایزین روی اثر ضد میکروبی فرم آزاد و نانوامولسیون دی لیمونن (*D-limonene*) (را بررسی نمودند. نتیجه آن که در حضور امولسیفایر توپین ۸۰ تاثیر بیشتر فرم نانوامولسیون نسبت به فرم آزاد آن گزارش شد [۳۱]. همچنین لی و همکاران در سال ۲۰۱۵ نانوامولسیون اسانس اوژنول و لوبیا را با فرم آزاد آن مقایسه و مشاهده نمودند که فرم نانوامولسیون آن بر باکتری /شریشیاکلاسی تاثیر بیشتری دارد [۳۲]. مقیمی و همکاران در سال ۲۰۱۶ نیز با مطالعه نانوامولسیون آویشن شیرازی پی بردند که فرم نانوامولسیون موجب می‌شود تا دیواره سلولی باکتری بیشتر از فرم آزاد در معرض اسانس قرارگیرد [۳۳].

دانشمندان علل مختلفی را برای اثربخشی بیشتر فرم نانوامولسیون نسبت به فرم آزاد اسانس‌ها بیان داشته‌اند. باید توجه داشت که باکتری‌های گرم منفی به علت ماهیت ساختار دیواره سلولی خود نسبت به باکتری‌های گرم مثبت حساسیت کمتری به اسانس‌ها دارند [۳۴]. یکی از دلایل برتری فرم نانوامولسیون را احتمالاً باید در این دانست که ذره‌های نانوامولسیون با توجه به اندازه‌ای که دارند و همچنین نوع آرایش گروه‌های هیدروفوب خود می‌توانند به شکل مؤثرتری از طریق پروتئین‌های پورین غشای خارجی وارد باکتری شده و موجب فعالیت مؤثرتر اسانس‌ها بر غشای سلولی باکتری‌های گرم منفی شوند [۳۵]. همچنین ادغام ذره‌های امولسیفایر با فسفولیپید دولایه غشای سلولی احتمالاً موجب آزاد شدن اسانس در محل مناسبی گردد. علاوه بر این گزارش شده است که واکنش بین امولسیفایر و غشای سلولی نیز موجب افزایش فعالیت ضد میکروبی می‌گردد [۳۶]. علت دیگر فعالیت بیشتر فرم نانوامولسیون، احتمالاً واکنش الکترواستاتیک بین ذرات نانوامولسیون با بار مثبت و دیواره سلولی با بار منفی است که موجب افزایش غلظت اسانس در محل واکنش می‌گردد [۳۷].

از  $0.02 \pm 0.076$  به  $0.02 \pm 0.073$  و همچنین برای نانوامولسیون رزماری از  $0.03 \pm 0.078$  به  $0.05 \pm 0.073$  رسید (شکل ۵).

لاتیو و همکاران در سال ۲۰۱۴ علت اصلی افزایش pH در گوشت مرغ خام در دمای یخچال را تولید ترکیبات قلیایی مثل آمونیاک و تری متیل آمین طی تجزیه پروتئین‌های گوشت و پروتئین‌های میکروبی، گزارش نمودند [۴۲]. با افزایش زمان نگهداری میزان آمین‌های آزاد افزایش و سبب بالا رفتن pH می‌گردد [۴۳] که نتایج آنان با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. اوزگول و همکاران در سال ۲۰۱۷ تاثیر نانوامولسیون اسانس‌های رزماری، برگ بو و آویشن شیرازی را بر روی ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی فیله قزل آلائی رنگین کمان بررسی کردند. در طی این تحقیق مشخص شد که با وجود آن‌که در طی نگهداری میزان pH افزایش یافت، این روند افزایشی در مورد تیمارهای نانوامولسیون اسانس‌های گیاهی در مقایسه با تیمار شاهد شیب ملایم تری از خود نشان داد [۴۴]. در تطابق با پژوهش فوق تحقیق حاضر نیز تیمار نانوامولسیون روند افزایشی pH را در مقایسه با سایر تیمارها کندتر نمود.

مطابق آزمون TBA نیز مشخص شد که در تیمار شاهد طی ۱۲ روز میزان تیوباربتوریک اسید از  $0.14 \pm 0.02$  mgMDA/Kg به  $0.48 \pm 0.05$  mgMDA/Kg می‌رسد که در مقایسه با میزان نانوامولسیون رزماری  $0.08 \pm 0.00$  mgMDA/Kg و اسانس رزماری در روز دوازدهم نگهداری می‌تواند نمایانگر اثربخشی تیمارهای فرم‌های متفاوت اسانس رزماری باشد (شکل ۶).

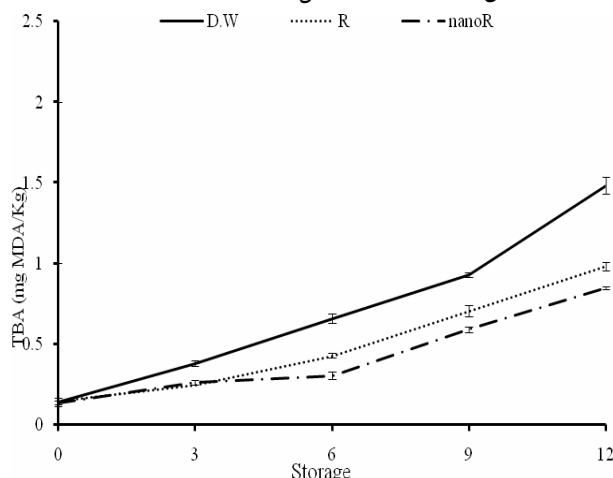


Fig 6 Changes in TBA (mg MDA/Kg) of chicken fillets during storage at 4°C

تاثیر سه نوع نانوامولسیون کورکومین<sup>۱</sup> را روی فیله مرغ بررسی نمودند. این نانوامولسیون‌ها در ترکیبات جداگانه‌ای با عصاره سیر، گل آفتابگردان و دارچین به کار رفتند. در طی این تحقیق در فیله مرغ پوشش داده شده با نانوامولسیون کورکومین-دارچین مقدار TVN به طرز محسوسی کاهش یافت [۴۰]. قنبری و همکاران در سال ۲۰۲۰ اسانس روغنی دانه انگور قرمز (*Vitis Vinefera*) در فرم آزاد و نانوامولسیون را روی فیله‌های مرغ بسته بندی شده و نگهداری شده در دمای ۴ درجه مورد بررسی قرار دادند. در طی این تحقیق کاهش قابل توجهی در مقدار TVN تیمار نانوامولسیون اسانس روغنی دانه انگور گزارش شد [۴۱]. در مطالعه حاضر نیز تیمار نانوامولسیون رزماری به شکل قابل توجهی موجب کاهش میزان TVN شد.

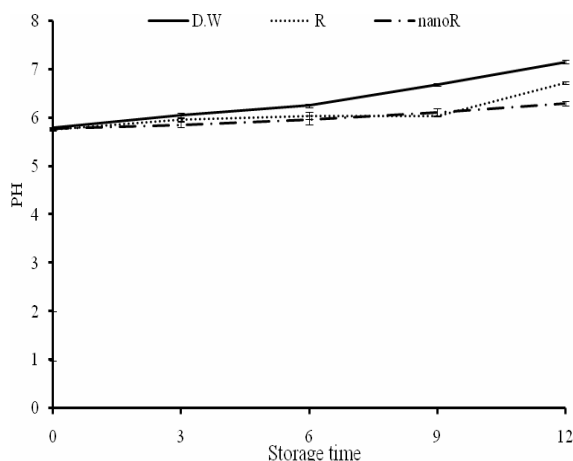


Fig 5 Changes in pH of chicken fillets during storage at 4°C

در مورد آزمون pH علی‌رغم تفاوتی که بین فرم‌های مختلف اسانس رزماری با تیمار شاهد مشاهده گشت، بین فرم نانوامولسیون رزماری و اسانس رزماری تفاوت معنی‌داری با لحاظ آماری مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ). همچنین با بررسی آزمون LSD نیز مشخص شد که با وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه شاهد و نانو رزماری در همه زمان‌ها بین تیمارهای شاهد و اسانس رزماری فقط در زمان‌های ۹ و ۱۲ تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. در تیمار شاهد میزان pH در طی دوازده روز از  $0.02 \pm 0.079$  به  $0.04 \pm 0.167$  رسید. این میزان برای اسانس رزماری



برطبق نتایج به دست آمده در هر سه شاخص بو، رنگ و پذیرش کلی در تمامی تیمارهای این آزمایش در روز ۱۲ کمترین امتیاز و در روز صفر بیشترین امتیاز به دست آمد. در گروه آب مقطر و رزماری روند معنی داری را لحاظ رنگ و بو و پذیرش کلی در طی زمان مشاهده گشت ( $P < 0.05$ ). همچنین بین تیمارنانورزماری و شاهد در آزمون های حسی رنگ، بو و پذیرش کلی اختلاف معنی داری مشاهده شد.

در تحقیق خداری و رومیانی در سال ۲۰۱۸ که بر روی اثر نانوامولسیون آویشن شیرازی در غلظت های ۰، ۱، ۵/۵ و ۱۰ درصد بر ویژگی های شیمیایی، میکروبی و حسی فیله کپور نقره ای صورت پذیرفت عنوان شد که از لحاظ بو و بافت دو تیمار نانوامولسیون ۱ و ۵/۵ درصد کیفیت بالاتری داشتند [۴۹]. اوزگول و همکاران در سال ۲۰۱۶ نیز عنوان داشتند که کیفیت فیله ماهی با استفاده از نانوامولسیون افزایش یافت. در این رابطه مطالعه ویژگی های حسی نشان داد که نانوامولسیون ها ماندگاری را از ۸ روز به ۱۰ روز افزایش دادند. همچنین در این تحقیق کیفیت در گروه کنترل با افزایش مدت زمان ماندگاری رابطه عکس داشت [۵۰]. همچنین در تحقیق دیگری از اوزگول و همکاران در سال ۲۰۱۷ پارامترهای رنگ، بو و بافت در تیمار نانوامولسیون آویشن امتیاز بالاتری داشتند که با یافته های تحقیق حاضر همخوانی دارد [۴۳]. در جدول ۲ نتایج آزمون های حسی این مطالعه قابل مشاهده است.

بر اساس منابع موجود، مقادیر متفاوتی در مورد میزان TBA و شروع فساد در گوشت مرغ گزارش شده است. برای مثال باین و همکاران در سال ۲۰۰۳، میزان ۲ میلی گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم گوشت را شروع اکسیداسیون چربی و آغاز تغییر در طعم گوشت طیور بیان کرده اند [۴۵]. در حالیکه تیتس و همکاران در سال ۲۰۰۸، میزان ۳ میلیگرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم را همراه با فساد اکسیداتیو در گوشت طیور گزارش نموده اند [۴۶]. در تحقیق حاضر، در هر سه گروه حداکثر TBA نیز در پایان روز دوازدهم کمتر از مقادیر گفته شده میباشد که علت آن احتمالاً میزان اندک چربی در گوشت سینه مرغ میباشد. در تایید یافته های تحقیق حاضر جو و همکاران در سال ۲۰۱۲ تاثیر نانوامولسیون اسانس گل آفتابگردان روی ماهی ماکرل اقیانوس هند-آرام را بررسی نمودند و گزارش نمودند که در تیمار شاهد در مقایسه با تیمار نانوامولسیون با سرعت بیشتری میزان مالون دی آلدئید افزایش یافت [۴۷]. همچنین کستاکی و همکاران در سال ۲۰۰۹ در بررسی تاثیر اسانس آویشن شیرازی ۲ درصد و سیستم بسته بندی با اتمسفر تغییر یافته عنوان کردند که این دو عامل باهم توانستند سبب کاهش مالون دی آلدئید شوند [۴۸].

### ۳-۵- نتایج ارزیابی حسی

**Table 2** changes in sensory scores of chicken fillets during storage at 4 °C

Overall Acceptability	Odor	Color	Storage time (day)	Group
9±0 <sup>Aa</sup>	9±0 <sup>Aa</sup>	9±0 <sup>Aa</sup>	0	DW
9±0 <sup>Aa</sup>	9±0 <sup>Aa</sup>	9±0 <sup>Aa</sup>		Rosemary
9±0 <sup>Aa</sup>	9±0 <sup>Aa</sup>	9±0 <sup>Aa</sup>		Nanorosemary
8.20±0.16 <sup>Aa</sup>	8.13±0.09 <sup>Aab</sup>	8.20±0.08 <sup>Aa</sup>	3	DW
8.40±0.16 <sup>Aa</sup>	8.26±0.09 <sup>Aab</sup>	8.26±0.09 <sup>Aab</sup>		Rosemary
8.46±0.09 <sup>Aab</sup>	8.53±0.18 <sup>Aab</sup>	8.40±0.16 <sup>Aab</sup>		Nanorosemary
7.20±0.16 <sup>Ab</sup>	7.20±0.28 <sup>Ab</sup>	7.13±0.24 <sup>Ab</sup>	6	DW
7.40±0.16 <sup>Ab</sup>	7.40±0.16 <sup>Ab</sup>	7.33±0.09 <sup>Ab</sup>		Rosemary
7.60±0.16 <sup>Ab</sup>	7.60±0.16 <sup>Ab</sup>	7.46±0.09 <sup>Ab</sup>		Nanorosemary
6.06±0.24 <sup>Ac</sup>	5.60±0.16 <sup>Ac</sup>	6±0.32 <sup>Ac</sup>	9	DW
6.46±0.24 <sup>Abc</sup>	6.13±0.09 <sup>Ac</sup>	6.40±0.16 <sup>Abc</sup>		Rosemary
7±0.16 <sup>Abc</sup>	6.66±0.24 <sup>Abc</sup>	6.86±0.24 <sup>Abc</sup>		Nanorosemary
4.86±0.24 <sup>Ad</sup>	4.20±0.00 <sup>Ad</sup>	4.80±0.28 <sup>Ad</sup>	12	DW
5.73±0.33 <sup>ABc</sup>	5.13±0.09 <sup>ABd</sup>	5.66±0.24 <sup>ABc</sup>		Rosemary
6.20±0.16 <sup>Bc</sup>	5.80±0.16 <sup>Bc</sup>	6.13±0.18 <sup>Bc</sup>		Nanorosemary

\*Means in the same column with different capital letters are significantly different between groups ( $P < 0.05$ ).

\*Means in the same column with different small letters are significantly different over the storage time ( $P < 0.05$ ).

potential toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51.4, pp.285-330.

- [6] Rozman, T. and Jersek, B., 2009. Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria*. *Acta Agriculturae Slovenica*, 93.1, pp.51-58
- [7] Visentin, A., Rodríguez-Rojo, S., Navarrete, A., Maestri, D. and Cocero, M.J., 2012. Precipitation and encapsulation of rosemary antioxidants by supercritical antisolvent process. *Journal of Food Engineering*, 109.1, pp.9-15.
- [8] Peshev, D., Peeva, L.G., Peev, G., Baptista, I.I.R. and Boam, A.T., 2011. Application of organic solvent nanofiltration for concentration of antioxidant extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Chemical Engineering Research and Design*, 89.3, pp.318-327.
- [9] Erkan, N., Ayranci, G. and Ayranci, E., 2008. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry*, 110.1, pp.76-82.
- [10] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46.2, pp.446-475.
- [11] Hassanzad Azar, H., Ghafari, A., Yousefizadeh, S., Fathollahi, M. and Aminzare, M., 2019. Antimicrobial effects of the nanoemulsion of rosemary essential oil against important foodborne pathogens. *Journal of Human, Environment, and Health Promotion*, 5.2, pp.79-85.
- [12] Abedi, A., Lakzadeh, L. and Amouheydari, M., 2021. Effect of an edible coating composed of whey protein concentrate and rosemary essential oil on the shelf life of fresh spinach. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45.4, pp.15-28.
- [13] Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, A., Soliva-Fortuny, R. and Martín-Belloso, O., 2015. Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food-grade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils. *Food Hydrocolloids*, 43.1, pp.547-556.
- [14] Noori, S., Zeynali, F. and Almasi, H., 2018. Antimicrobial and antioxidant efficiency of

## ۴- نتیجه گیری کلی

به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که با استفاده از اسانس رزماری در هر دو فرم نانوامولسیون و آزاد ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و ارگانولپتیکی فیله‌های مرغ در طی نگهداری در یخچال در مقایسه با تیمار شاهد با آب مقطر بهبود می‌یابد. همچنین تحقیق حاضر نشان داد که فرم نانوامولسیون موجب اثربخشی بیشتر اسانس شده و میزان ماندگاری فیله‌های مرغ را نسبت به فرم آزاد آن افزایش می‌دهد.

## ۵- سپاسگزاری

هزینه‌های انجام مطالعه حاضر از طریق پژوهانه سال ۱۳۹۹ به شماره SCU.VF99.417 دانشگاه شهید چمران اهواز تأمین شده است که بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه سپاسگزاری می‌گردد.

## ۶- منابع

- [1] Jayasena, Dinesh D. and Jo, Cheorun., 2013. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 34.2, pp.96-108.
- [2] Burt, Sara. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94.3, pp.223-253.
- [3] Viuda-Martos, M., El Gendy, A.E.N.G., Sendra, E., Fernandez-Lopez, J., Abd El Razik, K.A., Omer, E.A. and Perez-Alvarez, J.A., 2010. Chemical composition and antioxidant and anti-*Listeria* activities of essential oils obtained from some Egyptian plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58.16, pp.9063-9070.
- [4] Sozer, N. and Kokini, J.L., 2009. Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends in Biotechnology*, 27.2, pp.82-89.
- [5] McClements, D.J. and Rao, J., 2011. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and

- characteristics, functional properties and application in low-fat beef burger. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 9.3, pp.305-312.
- [23] Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. and Hosseini, S.M.H., 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120.1, pp.193-198.
- [24] Fattahian, A., Fazlara, A., Maktabi, S. and Bavarsad, N., 2020. The effects of edible chitosan coating containing *Cuminum cyminum* essential oil on the shelf-life of meat in modified atmosphere packaging. *Journal of Food Science and Technology*, 17.104, pp.79-91.
- [25] Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., and Shoemaker, C.F. 2005, *Handbook of Food Analytical Chemistry*, John Wiley and Sons, USA, pp.547-565.
- [26] Molaee Aghaee, E., Kamkar, A., Akhondzadeh Basti, A., Khanjari, A. and Kontominas, M.G., 2015. Effect of packaging with chitosan biodegradable films formulated with garlic essential oil (*Allium sativum* L.) on the chemical properties of chicken fillet. *Iranian Journal of Health and Environment*, 8.3, pp.379-390
- [27] Hassanzadeh, P., Moradi, M., Vaezi, N., Moosavy, M.H. and Mahmoudi, R., 2018. Effects of chitosan edible coating containing grape seed extract on the shelf-life of refrigerated rainbow trout fillet. *Veterinary Research Forum*, 9.1, pp. 87-100.
- [28] Stojanović-Radić, Z., Pejčić, M., Joković, N., Jokanović, M., Ivić, M., Šojić, B., Škaljac, S., Stojanović, P. and Mihajilov-Krstev, T., 2018. Inhibition of *Salmonella enteritidis* growth and storage stability in chicken meat treated with basil and rosemary essential oils alone or in combination. *Food Control*, 90, pp.332-343.
- [29] Majeed, H., Liu, F., Hategekimana, J., Sharif, H.R., Qi, J., Ali, B., Bian, Y.Y., Ma, J., Yokoyama, W. and Zhong, F., 2016. Bactericidal action mechanism of negatively charged food grade clove oil nanoemulsions. *Food Chemistry*, 197, pp.75-83.
- 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, pp.312-320.
- [15] Hassanzadeh, P., Tajik, H., Rohani, S.M.R., Moradi, M., Hashemi, M. and Aliakbarlu, J., 2017. Effect of functional chitosan coating and gamma irradiation on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. *Radiation Physics and Chemistry*, 141, pp.103-109.
- [16] Fazlara, A., Pourmahdi, M., Zarei, M. and Karimi, T., 2017. Effect of edible chitosan-rosemary coating on quality and shelf life of refrigerated chicken fillets. *Iranian Veterinary Journal*, 13.1, pp.78-90.
- [17] Shavisi, N., Khanjari, A., Basti, A.A., Misaghi, A. and Shahbazi, Y., 2017. Effect of PLA films containing propolis ethanolic extract, cellulose nanoparticle and *Ziziphora clinopodioides* essential oil on chemical, microbial and sensory properties of minced beef. *Meat Science*, 124, pp.95-104.
- [18] American Public Health Association, 2015. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 5th Edition, APHA. Washington DC.
- [19] Mojaddar Langroodi, A. and Tajik, H., 2017. Antimicrobial effects of hydroalcohol sumac extract with chitosan containing *Zataria multiflora* Boiss essential oil on beef meat in normal and modified atmosphere packaging. *Studies in Medical Sciences*, 28.3, pp.192-205.
- [20] Severino, R., Ferrari, G., Vu, K.D., Donsi, F., Salmieri, S. and Lacroix, M., 2015. Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nanoemulsion of essential oils, modified atmosphere packaging and gamma irradiation against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* on green beans. *Food Control*, 50, pp.215-222.
- [21] Kamkar, A., Khanjari, A., Oladi, M. and Molaee Aghaee, E., 2017. Effect of packaging with chitosan film containing *Bunium persicum* L. essential oil on chemical and microbial properties of chicken fillet. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*, 7.1, pp.104-115.
- [22] Namir, M., Siliha, H. and Ramadan, M.F., 2015. Fiber pectin from tomato pomace:

- filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82.10, pp.1154-1159.
- [40] Abdou, E.S., Galhoum, G.F. and Mohamed, E.N., 2018. Curcumin loaded nanoemulsions/pectin coatings for refrigerated chicken fillets. *Food Hydrocolloids*, 83, pp.445-453.
- [41] Ghanbari, M., Motallebi, A., Rokni, N. and Anvar, A., 2020. Evaluation of red grape seed essential oil nanoemulsion (*Vitis vinefera*) on the shelf life of fresh packaged chicken fillets during refrigerated storage at 4° C. *Archives of Pharmacy Practice*, 1, pp.120-127.
- [42] Latou, E., Mexis, S.F., Badeka, A.V., Kontakos, S. and Kontominas, M.G., 2014. Combined effect of chitosan and modified atmosphere packaging for shelf life extension of chicken breast fillets. *LWT-Food science and Technology*, 55(1), pp.263-268.
- [43] Hedayatifard, M. and Aroujalian, A.R., 2010. Improvement of shelflife for stellate sturgeon fillet, *Acipenser stellatus*, under Modified Atmosphere Packaging (MAP) and vacuum conditions. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 19.3, pp.127-140.
- [44] Ozogul, Y., Yuvka, 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*, 75.1, pp.677-684.
- [45] Byun, J.S., Min, J.S., Kim, I.S., Kim, J.W., Chung, M.S. and Lee, M., 2003. Comparison of indicators of microbial quality of meat during aerobic cold storage. *Journal of Food Protection*, 66.9, pp.1733-1737.
- [46] Teets, A.S., Sundararaman, M. and Were, L.M., 2008. Electron beam irradiated almond skin powder inhibition of lipid oxidation in cooked salted ground chicken breast. *Food Chemistry*, 111.4, pp.934-941.
- [47] Joe, M.M., Chauhan, P.S., Bradeeba, K., Shagol, C., Sivakumaar, P.K. and Sa, T., 2012. Influence of sunflower oil based nanoemulsion (AUSN-4) on the shelf life and quality of Indo-Pacific king mackerel (*Scomberomorus guttatus*) steaks stored at 20 C. *Food Control*, 23.2, pp.564-570.
- [30] Terjung, N., Löffler, M., Gibis, M., Hinrichs, J. and Weiss, J., 2012. Influence of droplet size on the efficacy of oil-in-water emulsions loaded with phenolic antimicrobials. *Food and Function*, 3.3, pp.290-301.
- [31] Zhang, Z., Vriesekoop, F., Yuan, Q. and Liang, H., 2014. Effects of nisin on the antimicrobial activity of D-limonene and its nanoemulsion. *Food Chemistry*, 150, pp.307-312.
- [32] Li, W., Chen, H., He, Z., Han, C., Liu, S. and Li, Y., 2015. Influence of surfactant and oil composition on the stability and antibacterial activity of eugenol nanoemulsions. *LWT-Food Science and Technology*, 62.1, pp.39-47.
- [33] Moghimi, R., Ghaderi, L., Rafati, H., Aliahmadi, A. and McClements, D.J., 2016. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of Thymus daenensis essential oil against *E. coli*. *Food Chemistry*, 194, pp.410-415.
- [34] Seow, Y.X., Yeo, C.R., Chung, H.L. and Yuk, H.G., 2014. Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54.5, pp.625-644.
- [35] Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R. and De Feo, V., 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6.12, pp.1451-1474.
- [36] Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, A., Soliva-Fortuny, R. and Martín-Belloso, O., 2015. Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food-grade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils. *Food Hydrocolloids*, 43, pp.547-556.
- [37] Chang, Y. and McClements, D.J., 2014. Optimization of orange oil nanoemulsion formation by isothermal low-energy methods: influence of the oil phase, surfactant, and temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62.10, pp.2306-2312.
- [38] Iran Veterinary Organization (IVO), 2006. The properties of poultry meat. Office of Public Health. Available at: Guidelines [http://www.ssu.ac.ir/cms/fileadmin/user\\_upload/Mtahghighat/tfood/file/aeen\\_nameli/rawmeat.pdf](http://www.ssu.ac.ir/cms/fileadmin/user_upload/Mtahghighat/tfood/file/aeen_nameli/rawmeat.pdf). p.32
- [39] Gimenez, B., Roncales, P. and Beltran, J.A., 2002. Modified atmosphere packaging of

- Nutrition Sciences and Food Technology*, 14.3, pp.63-74.
- [50] Özogul, Y., Durmus, M., Ucar, Y., Özogul, F. and Regenstein, J.M., 2016. Comparative study of nanoemulsions based on commercial oils (sunflower, canola, corn, olive, soybean, and hazelnut oils): Effect on microbial, sensory, and chemical qualities of refrigerated farmed sea bass. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 33, pp.422-430.
- [48] Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I.N. and Kontominas, M.G., 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food Microbiology*, 26.5, pp.475-482.
- [49] Khedri, N. and Roomiani, L., 2019. Effects of zataria multiflora essential oil nanoemulsion on chemical, microbial and sensory properties of silver carp fillets. *Iranian Journal of*



## Scientific Research

## Surveying the Effect of *Rosmarinus officinalis* essential oil (free and nanoemulsion) on shelf life of chicken fillet in refrigerated condition

Maalizadeh, A.<sup>1</sup>, Fazlara, A.<sup>2\*</sup>, PourMahdi, M.<sup>2</sup>, Bavarsad, N.<sup>3,4</sup>

1. Ph.D. Student of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
3. Nanotechnology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
4. Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

## ABSTRACT

Due to the high amount of pH, moisture and protein content, chicken meat is a sensitive product which could be a good host for pathogen and spoilage microorganisms. In the recent years there has been a remarkable attention to use natural preservative instead of chemical preservative among producers of food products. Different studies has shown rosemary essential oil contain antioxidant and antimicrobial properties. The present study was conducted to evaluate effect of rosemary essential oil (free and nanoemulsion) on chemical, microbial and sensorial quality of chicken fillet during refrigerated storage. Samples were examined in days of 0, 3, 6, 9 and 12. The results showed noticeable effects of both forms of rosemary essential oils in microbial, chemical and sensorial quality improvement. Moreover the results indicated that nanoemulsion form of rosemary had significant effects on delaying the increase trend of psychrophilic, enterobacteriaceae and mesophilic bacterial counts as compared to free form of rosemary ( $P < 0.05$ ). Furthermore The results of TVN, TBA and pH measurements indicated that nanoemulsion form of rosemary improved chemical quality of the samples in comparison with free form of rosemary during storage time ( $P < 0.001$ ). Also in terms of sensorial characteristics, application of nanoemulsion essential oil lead to improvement of odor and overall acceptance factors compared to control group after twelve days of storage.

## ARTICLE INFO

## Article History:

Received 2021/ 06/ 20  
Accepted 2021/ 10/ 12

## Keywords:

Nanoemulsion,  
Rosemary essential oil,  
Natural preservative,  
Chicken fillet.

DOI: 10.22034/FSCT.19.125.381

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.5.4

\*Corresponding Author E-Mail:  
a.fazlara@scu.ac.ir