

آماده انتشار

نانوفیبرهای زئین حاوی اسانس گلپر و سینامالدهید در نگهداری فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان

مریم ندیمی پاک^۱، نسیم شاووسی^{۲*}، نگین کرمی^۳

^۱گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

^۲گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

ایمیل نویسنده مسئول: nassim.shavisi@yahoo.com

Zein nanofibers containing *Heracleum persicum* essential oil and cinnamaldehyde in preserving rainbow trout fillets

Maryam Nadimi Pak¹, Nassim Shavisi^{1*}, Negin Karami²

¹Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran

²Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

*Corresponding author: nassim.shavisi@yahoo.com

چکیده

سابقه و هدف: فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان به دلیل داشتن مواد مغذی غنی از جمله اسیدهای چرب غیراشباع، محتوای پروتئین بالا، رطوبت بالا و آنزیمهای اتولیتیک، در شرایط نگهداری در دمای یخچال در برابر تغییرات نامطلوب میکروبی و شیمیایی بسیار آسیب پذیر است. اگرچه بسته بندی سنتی مواد غذایی بخش مهمی از تحویل مناسب محصولات شیلاتی به مصرف کننده است، اما نمی تواند آن ها را در برابر تخریب میکروبی و اکسایشی حین نگهداری طولانی مدت و حمل و نقل محافظت کند. نانوفیبرهای زیست تخریب پذیر تهیه شده به روش الکتروریسی به دلیل بهبود پایداری ترکیبات ضد میکروبی و آنتی اکسیدان انکپسوله شده می توانند در بسته بندی فعال مواد غذایی فساد پذیر استفاده شوند. لذا هدف از پژوهش حاضر، مطالعه کاربرد نانوفیبرهای زئین حاوی اسانس گیاه گلپر ۱٪ و سینامالدهید ۵/۰٪ بر ویژگی های شیمیایی و میکروبی فیله ماهی قزل آلائی رنگین

کمان حین نگهداری در دمای یخچال به مدت ۱۰ روز بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، نانوفیبرهای بر پایه زئین حاوی ۱٪ اسانس گلپر و ۰/۵٪ سینامالدهید با استفاده از روش الکتروریسی تحت شرایط تنظیم‌شده ذیل تهیه شدند: تعداد نازل = ۵، نرخ جریان = ۰/۸ ml/h، فاصله سرسرنج تزریق از غلطک جمع‌کننده = ۲۰ cm و ولتاژ منبع تزریق = ۲۵ kV. تیمارهای طراحی‌شده در مطالعه حاضر برای بسته‌بندی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان شامل موارد ذیل بود: (۱) گروه کنترل، (۲) گروه بسته‌بندی شده با نانوفیبر زئین خالص، (۳) گروه بسته‌بندی شده با نانوفیبر زئین + سینامالدهید ۰/۵٪، (۴) گروه بسته‌بندی شده با نانوفیبر زئین + اسانس گلپر ۱٪ و (۵) گروه بسته‌بندی شده با نانوفیبر زئین + اسانس گلپر ۱٪ + سینامالدهید ۰/۵٪. پارامترهای شیمیایی (میزان بازهای نیتروژنی فرار کل و عدد پراکسید) و میکروبی (تعداد باکتری‌های کل، سایکروتروف و انتروباکتریاسه) نمونه‌های فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در مدت ۱۰ روز نگهداری در دمای یخچال بررسی گردید. محیط کشت‌های مورد استفاده به ترتیب شامل پلیت کانت آگار و ویولت رد بایل گلوکز آگار بود. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ صورت گرفت. ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی با استفاده از Tukey HSD آنالیز شد.

یافته‌ها: طبق یافته‌های مطالعه حاضر، Butanoic acid, 2-methyl hexyl ester (۳۶/۱۸٪) و Acetic acid, octyl ester (۲۲/۹۴٪) مهمترین ترکیبات شیمیایی شناسایی‌شده در اسانس گیاه گلپر بود. در تمامی گروه‌های طراحی‌شده شامل فیله‌های ماهی بسته‌بندی‌شده با نانوفیبر زئین خالص، زئین + سینامالدهید ۰/۵٪، زئین + اسانس گلپر ۱٪ و زئین + اسانس گلپر ۱٪ + سینامالدهید ۰/۵٪ رشد میکروبی (شمارش باکتری‌های کل، باکتری‌های سایکروتروف و خانواده انتروباکتریاسه) و فساد شیمیایی (بازهای نیتروژنی فرار کل و عدد پراکسید) روند افزایشی داشت، اما این روند در گروه کنترل نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بود. گروه‌های طراحی‌شده شامل فیله‌های ماهی گروه کنترل، بسته‌بندی‌شده با نانوفیبر زئین خالص، زئین + سینامالدهید ۰/۵٪ و زئین + اسانس گلپر ۱٪ به ترتیب در روزهای ۴، ۶، ۶ و ۸ نگهداری در دمای یخچال فاسد شدند.

نتیجه‌گیری کلی: یافته‌های این مطالعه نشان داد، نانوفیبرهای الکتروریسی‌شده دارای فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌توانند به عنوان بسته‌بندی فعال برای افزایش مدت زمان نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دمای یخچال مورد استفاده قرار گیرند. با این وجود پیشنهاد می‌گردد، ویژگی‌های فیزیکی-مکانیکی پلیمرهای طراحی‌شده و پایداری اسانس گلپر و سینامالدهید در دماهای مختلف در مطالعات آینده مدنظر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: الکتروریسی، زئین، بسته‌بندی فعال، اسانس گلپر، سینامالدهید

مقدمه

فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان یکی از پرمصرف‌ترین محصولات دریایی در سراسر جهان است و به دلیل داشتن پروتئین بالا و چربی کم و همچنین طعم مناسب مورد توجه مصرف‌کنندگان قرار گرفته است (۱). حساسیت زیاد به آسیب‌های فیزیکی، تخریب پروتئین، اکسیداسیون چربی‌ها و رشد سریع میکروارگانیسم‌های مولد فساد در حین نگهداری این محصول در دمای یخچال، منابع

جهانی تولید ماهی را به صورت قابل توجهی به خطر انداخته است (۲). استفاده از مواد بسته‌بندی جدید ضد میکروبی می‌تواند کیفیت و ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را حین نگهداری در دمای یخچال بهبود بخشد (۱). بسته‌بندی ضد میکروبی یک روش بسته‌بندی فعال نوین در صنعت مواد غذایی است که می‌تواند عوامل بیماری‌زای منتقله از مواد غذایی را غیرفعال و رشد میکروارگانیسم‌های مولد فساد را در سطح محصولات غذایی تازه و فاسدشدنی به تاخیر بیندازد و در عین حال ویژگی‌های تغذیه‌ای و حسی محصول را حفظ نماید (۳). انکپسوله کردن در ابعاد نانو روشی کاربردی و مفید برای بهبود پایداری، حلالیت، دسترسی و رهایش پایدار ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدان می‌باشد (۴). الکترورسی روشی نوین برای تولید فیبرها در مقیاس نانو از پلیمرهای خوراکی و زیست‌تخریب‌پذیر می‌باشد (۵). نانوفیبرهای الکترورسی شده دارای نسبت سطح به حجم بالا، اندازه و شکل یکنواخت، پراکندگی یکسان، انعطاف‌پذیری و پایداری فیزیکی-مکانیکی و حرارتی بالایی در مقایسه با سایر نانومواد می‌باشند (۱). در سال‌های اخیر، از الکترورسی برای تولید نانوفیبر بر پایه پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر نظیر ژئین (۵)، موسیلاژ دانه کتان-کیتوزان (۶)، ژلاتین (۷)، پلی‌لاکتیک اسید (۸) و ژلاتین-صمغ عربی (۹) استفاده شده است.

پلیمرهای سنتزی به‌دست‌آمده از مشتقات نفتی به دلیل داشتن ویژگی‌های ممانعت از نفوذ بخار آب و اکسیژن، پایداری و تولید آسان به‌طور گسترده در بسته‌بندی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶). با این حال، افزایش آگاهی عمومی و نگرانی در رابطه با تاثیر مخرب پلیمرهای سنتزی بسته‌بندی بر محیط زیست و ضرورت کاهش هزینه‌های انرژی در بخش بازیافت، سبب ترغیب محققین برای بکارگیری مواد بسته‌بندی زیست‌تخریب‌پذیر در صنعت شده است (۱۰). ژئین به عنوان پروتئین ذخیره‌ای ذرت به طور خاص، پتانسیل فوق‌العاده‌ای برای جایگزینی پلیمرهای سنتزی دارد و استفاده بالقوه از آن به عنوان یک منبع جایگزین پلاستیک‌ها در کاربردهای بسته‌بندی به طور گسترده‌ای مطالعه شده است (۱۱-۱۴). ژئین به سبب حضور اسیدهای آمینه غیرقطبی به عنوان پلیمری آب‌گریز شناخته شده است. ژئین از نظر استحکام، شفافیت، آب‌گریز بودن، مقاوم در برابر روغن و قابلیت الکترورسی مناسب مورد توجه قرار گرفته است (۱۵-۱۶).

امروزه به طور گسترده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در صنعت غذا استفاده می‌شود (۲، ۳، ۴، ۸). بسیاری از ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدان به‌دست‌آمده از گیاهان دارای گستره وسیعی از فعالیت در برابر باکتری‌ها، قارچ‌ها و نیز کنترل روند اکسیداسیون چربی‌ها هستند و این امر منجر به استفاده از این ترکیبات به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی می‌گردد (۳). گیاه گلپر با نام علمی *Heracleum persicum* نوعی گیاه علفی چندساله و از خانواده Apiaceae است (۱۷). در مطالعات فیتوشیمیایی گلپر ترکیباتی مانند آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، فورانوکومارین‌ها، استات هکسیلیک، استات استیک، بوتیرات متیلیک، بوتیرات اتیلیک استات، آنتول، ترپینولن، گاما-ترپنین، لیمونن و بتا-پینن در قسمت‌های مختلف گیاه گزارش شده است (۲، ۱۷). همچنین، خاصیت ضد میکروبی اسانس گلپر علیه *اشریشیا کلی*^۱، *استافیلوکوکوس اورئوس*^۲ و *ویبریو پاراهمولیتیکوس*^۳ گزارش شده است (۱۸). نشان داده است که گیاه گلپر دارای ترکیبات فعال آنتی‌اکسیدان، ضد تشنج، ضد درد، ضد التهاب و تقویت‌کننده

^۱. *Escherichia coli*

^۲. *Staphylococcus aureus*

^۳. *Vibrio parahaemolyticus*

سیستم ایمنی می‌باشد (۱۹). از اسانس و عصاره گیاه گلپر به منظور افزایش مدت زمان نگهداری مواد غذایی نظیر سوسیس حرارت‌دیده (۱۷)، پنیر (۲۰)، ناگت میگو (۲۱) و فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (۲) استفاده شده است. یکی دیگر از ترکیبات ضد میکروبی، سینامالدهید حاصل از اسانس دارچین است که ۷۵٪-۶۰٪ کل آن را تشکیل می‌دهد و به عنوان افزودنی طعم‌دهنده به ماده غذایی توسط سازمان غذا و دارو مورد تایید قرار گرفته شده است (۲۲). سینامالدهید عملکرد مناسبی در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بیماری‌زا از خود نشان داده است (۷). بر اساس اطلاعات محققین این پژوهش، از نانوفیبرهای الکترورسی شده بر پایه کیتوزان-ژلاتین حاوی اسانس آویشن شیرازی (۲۳)، کاپا-کاراگینان حاوی عصاره آلو قرمز (۲۴)، پلی-وینیل الکل حاوی اسانس دارچین (۲۵)، کیتوزان-پلی اتیلن اکسید حاوی عصاره پوست انار (۲۶) و پلی وینیل پیرولیدون حاوی اسانس اسطوخودوس (۲۷) برای افزایش مدت زمان ماندگاری مواد غذایی مختلف استفاده شده است، اما تاکنون مطالعه‌ای در مورد تهیه نانوفیبر بسته‌بندی بر پایه پلیمر زئین حاوی اسانس گلپر و سینامالدهید به منظور افزایش مدت زمان نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان صورت نگرفته است. لذا هدف از پژوهش حاضر، مطالعه کاربرد نانوفیبرهای زئین حاوی اسانس گیاه گلپر ۱٪ و سینامالدهید ۵٪ بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان حین نگهداری در دمای یخچال به مدت ۱۰ روز بود.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس میوه گیاه گلپر: میوه گیاه گلپر به میزان لازم از بازار واقع در شهرستان صحنه، استان کرمانشاه خریداری گردید. تعیین گونه و جنس گیاه (کد هرباریوم = ۲۹۱۹) در آزمایشگاه هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی صورت گرفت. **میوه گیاه گلپر** با استفاده از آب مقطر شستشو و به مدت ۵ روز در دمای اتاق (1 ± 25 درجه سانتی‌گراد) خشک گردید. سپس، میوه گیاه خشک‌شده با استفاده از آسیاب برقی (Moulinex، فرانسه) آسیاب شده و ۵۰ گرم میوه گیاه پودر شده پس از عبور از الک ۶۰ مش در بالون ریخته و ۴۰۰ ml آب مقطر اضافه گردید. با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب، اسانس میوه گیاه گلپر به مدت ۲ ساعت و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق گرفته شد. در نهایت اسانس به دست آمده با سولفات سدیم بدون آب خشک و در ویال شیشه‌ای ریخته شد و در جای تاریک و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۲۸).

تهیه محلول الکترورسی: پودر تجاری زئین با وزن مولکولی ۲۹۰۰۰-۲۵۰۰۰ دالتون و سینامالدهید از شرکت Sigma-Aldrich، آلمان خریداری گردید. محلول زئین از طریق حل کردن پودر زئین به میزان ۲۶ گرم در ۱۰۰ ml اتانول:آب مقطر به نسبت (۸۰:۲۰، حجمی/حجمی) و همزدن روی هیتز استیرر (IKA، آلمان) در دمای 1 ± 45 درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت صورت گرفت. اسانس گیاه گلپر ۱٪ (حجمی/حجمی) و سینامالدهید ۵٪ (حجمی/حجمی) به محلول زئین اضافه و به مدت ۱ ساعت دیگر روی هیتز استیرر در دمای 1 ± 25 درجه سانتی‌گراد همزده شد. به منظور حل کردن ترکیبات مذکور در محلول زئین از توئین ۸۰ (۲۵ ml/۲۵) به ازای هر میلی‌لیتر اسانس گلپر/سینامالدهید استفاده شد (۲۹). بر اساس پژوهش‌های صورت گرفته توسط محققین این مطالعه، در غلظت‌های بالاتر از ۱٪ اسانس گیاه گلپر و ۵٪ سینامالدهید ویسکوزیته محلول زئین به صورت قابل توجهی

کاهش و تولید نانوفیبرها از طریق فرآیند الکترورسی امکان‌پذیر نبود. همچنین، در غلظت‌های پایین‌تر از ۱٪ اسانس گیاه گلپر و ۵/۰٪ سینامالدهید خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی مشاهده نگردید.

فرآیند الکترورسی: در این مطالعه، از دستگاه الکترورسی مجهز به یک منبع انرژی با ولتاژ بالا و دارای ۵ نازل ساخت شرکت نانورس، کرمانشاه، ایران استفاده گردید (شکل ۱). شرایط دستگاه به صورت ذیل تنظیم گردید: فلوریت^۱ = ۰/۸ ml/h، فاصله سرسرنگ تزریق از غلطک جمع‌کننده = ۲۰ cm و ولتاژ منبع تزریق = ۲۵ kV. آند دستگاه به سرسرنگ فلزی متصل بود، که این سرسرنگ به محلول‌های پلیمری (ویسکوزیته = ۲۷۶/۷۳-۳۶۳/۲۳ cP و هدایت الکتریکی = ۵۶/۳۲-۹۳/۴۵ $\mu\text{S/cm}$) که درون سرسرنگ‌های پلاستیکی ۱ میلی‌لیتری نگهداری می‌شدند، ارتباط می‌یافت. سرسرنگ‌ها در وضعیت افقی روی پمپ سرنگ قرار می‌گرفتند. سرسرنگ به الکتروود دارای قطبیت مثبت و منبع انرژی بالا متصل می‌شد. از مخروط تیلور فواره‌ای از محلول پلیمری با بار مثبت شکل گرفت که در فاصله ۲۰ cm جابجا می‌شد و روی غلطک جمع‌کننده می‌نشست. نانوفیبرها روی ورق فویل آلومینیومی که به غلطک مورد استفاده به عنوان جمع‌کننده وصل می‌شد، تجمع می‌یافتند (۲۴، ۳۰).



شکل ۱. دستگاه الکترورسی.

Fig. 1. Electrospinning instrument.

مورفولوژی نانوفیبرهای الکترورسی‌شده: فیبرها به منظور آماده‌سازی برای عکس میکروسکوپ الکترونی به قطعات یک در یک سانتی‌متر مربع درآورده شدند. به منظور بررسی شکل فیبرهای الکترورسی‌شده، پس از پوشش‌دهی با طلا از میکروسکوپ الکترونی (مدل Fei, Quanta 450، آمریکا) در ولتاژ ۱۵ کیلوولت استفاده شد. قطر الیاف الکترورسی‌شده با استفاده از نرم‌افزار Image J از روی نانوالیاف میکروسکوپ الکترونی با اندازه‌گیری ۵۰ فیبر از هر تصویر تعیین گردید. میانگین این داده‌ها به عنوان میانگین قطر فیبرهای آن تصویر در نظر گرفته شد (۱۷).

بسته‌بندی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان: تیمارهای طراحی‌شده در مطالعه حاضر برای بسته‌بندی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان شامل موارد ذیل بود: (۱) گروه کنترل، (۲) گروه بسته‌بندی شده با نانوفیبر زئین خالص، (۳) گروه بسته‌بندی شده با نانوفیبر زئین + سینامالدهید (۵/۰٪)، (۴) گروه بسته‌بندی شده با نانوفیبر زئین + اسانس گلپر (۱٪ و ۵٪) گروه بسته‌بندی شده با نانوفیبر زئین + اسانس گلپر (۱٪ + سینامالدهید ۵/۰٪). مقدار ۵ کیلوگرم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از بازار واقع در شهر کرمانشاه خریداری و در

¹. Flow rate

مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. بعد از عملیات مربوط به تخلیه شکمی و سرزنی، از هر ماهی فیله‌هایی به ابعاد ۳ در ۳ سانتی‌متر تهیه و پس از شستشو جهت بسته‌بندی مورد استفاده قرار گرفت. در مرحله بعد، میزان ۹۰-۱۰۰ گرم فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در داخل دو عدد نانوفیبر از هرکدام از تیمارهای طراحی‌شده به قطر ۱۲ سانتی‌متر قرار داده و به مدت ۱۰ روز در دمای یخچال برای بررسی آزمایشات میکروبی و شیمیایی نگهداری گردید. **تصاویر بسته‌بندی تیمارهای طراحی‌شده در شکل ۲ نشان داده شده است.**

آزمایش‌های میکروبی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان: ۵ گرم فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با ۴۵ ml آب پپتونه ۱/۰٪ مخلوط و با استفاده از دستگاه استومیکر (BagMixer، فرانسه) هموژن شده و متعاقباً رقت‌های موردنیاز تهیه شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر رقت تهیه‌شده برای کشت باکتری‌های کل (¹TVC)، سایکروتروف‌های کل (²PTC) و خانواده انتروباکتریاسه^۳ به روش کشت سطحی به ترتیب در محیط‌های کشت پلیت کانت آگار^۴، پلیت کانت آگار و ویولت رد بایل گلوکز آگار^۵ قرار گرفت. نمونه‌های کشت‌داده شده به ترتیب در انکوباتور دارای دمای 1 ± 37 درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، 1 ± 7 درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز و 1 ± 37 درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و پس از طی انکوباسیون، کلونی‌ها شمارش شدند (^{۳۱}).

آزمایش‌های شیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان: اندازه‌گیری عدد پراکسید^۶ (PV) و میزان بازهای نیتروژنی فرار^۷ (TVB-N) نمونه‌های ماهی قزل‌آلای رنگین در روزهای نمونه‌برداری مختلف مطابق با روش‌های گزارش‌شده در مطالعه Ghafouri-Oskuei و همکاران، (۲۰۲۰) صورت گرفت (^{۳۲}). به منظور اندازه‌گیری TVB-N نمونه‌های ماهی، ۱۰ g نمونه خردشده با ۳۰۰ ml آب مقطر و ۲ g اکسید منیزیم مخلوط شد. ترکیبات فرار در ارلن مایر حاوی ۲۵ ml اسید بوریک (۲ g در ۱۰۰ ml) و با استفاده از دستگاه تقطیر کدال به مدت ۲۵ دقیقه جمع‌آوری گردید. در این مطالعه، از معرف‌های متیل رد (۰/۰۶۶ g در ۱۰۰ ml) و بروموکروزول گرین (۰/۰۳۳ g در ۱۰۰ ml) استفاده شد. تیتراسیون با استفاده از اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال انجام و نتایج به صورت mg N/100 g گزارش گردید. برای ارزیابی PV، ۱۰ g نمونه ماهی در ۳۰ ml اسید استیک:کلروفرم (۲:۳، حجمی/حجمی) به مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق مخلوط شد. پس از آن، ۱ ml یدید پتاسیم اشباع اضافه و مخلوط به‌دست آمده به مدت ۱ دقیقه تکان داده شد. در مرحله بعد، ۳۰ ml آب مقطر و ۰/۵ ml محلول نشاسته (۱٪، وزنی/حجمی) اضافه و محتویات به مدت ۱ دقیقه در دمای اتاق مخلوط شدند. نمونه با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیترو PV به صورت meq peroxide/kg گزارش گردید.

1. Total viable count (TVC)

2. Total psychrotrophic count (PTC)

3. Enterobacteriaceae

4. Plate count agar

5. Violet red bile glucose agar

6. Peroxide value (PV)

7. Total volatile basic nitrogen (TVB-N)



شکل ۲. تصاویر بسته‌بندی فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان: زئین (a)، زئین + سینامالدهید ۰/۵٪ (b)، زئین + اسانس گلپر ۱٪ (c)، زئین + اسانس گلپر ۱٪ + سینامالدهید ۰/۵٪ (d) و گروه کنترل (e).

Fig. 2. Packaging images of rainbow trout fillets: zein (a), zein + cinnamaldehyde 0.5% (b), zein + *Heracleum persicum* essential oil 1% (c), zein + *Heracleum persicum* essential oil 1% + cinnamaldehyde 0.5% (d), and control group (e).

آنالیز آماری

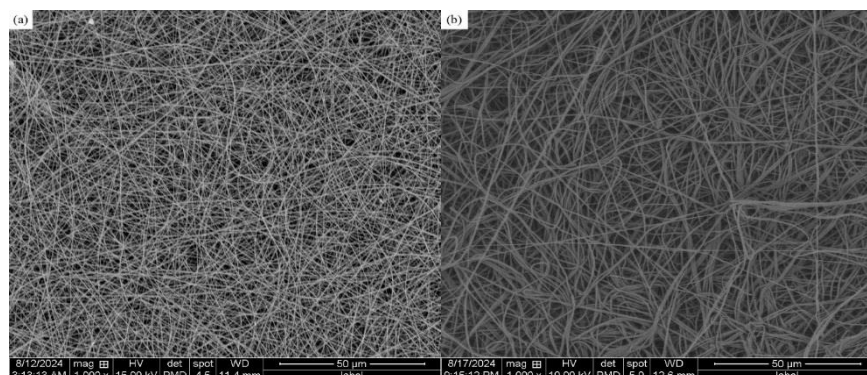
این مطالعه با سه بار تکرار انجام شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ صورت گرفت. ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی با استفاده از Tukey HSD آنالیز شد. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش و مقادیر $p < 0.05$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

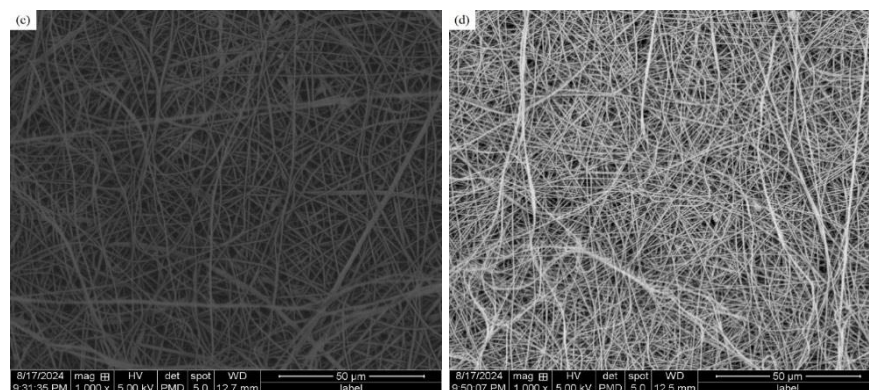
نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی اسانس گلپر: Butanoic acid, 2-methyl hexyl ester (۳۶/۱۸٪) و Acetic acid, octyl ester (۲۲/۹۴٪) مهمترین ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در اسانس گیاه گلپر بود (۳۳). در مطالعه Ehsani و همکاران، (۲۰۱۹) و Ghavam (۲۰۲۳) نیز Butanoic acid, 2-methyl hexyl ester مهمترین ترکیب شناسایی شده در اسانس گیاه گلپر بود (۳۴، ۳۵). با این

وجود، در برخی از مطالعات، این ترکیبات شیمیایی جزء ترکیبات غالب شناسایی شده در اسانس گیاه گلپر نبوده و لیمونن، پولگون و لینالول مهمترین ترکیبات شیمیایی اسانس گلپر گزارش شده است (۳۶، ۳۷). تفاوت در درصد ترکیبات شیمیایی شناسایی شده اسانس های گیاهی در مطالعات مختلف می تواند به دلیل تفاوت در نحوه خشک کردن، روش استخراج و زمان برداشت گیاه باشد (۳۴).

مورفولوژی نانوفیبرهای الکتروریسی شده: مورفولوژی شامل شکل و قطر نانوفیبرها، یکی از مهمترین شاخصه های نانوفیبرهای تولید شده با روش الکتروریسی محسوب می شود که میزان موفقیت آمیز بودن روش تولید را نشان می دهد (۳۰). همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، تمامی نانوفیبرهای تهیه شده دارای شکل استوانه ای، صاف، یکنواخت، در هم تنیده، و بدون شکستگی و تشکیل گره های مهرمانند می باشند، بنابراین می توان نتیجه گرفت افزودن اسانس گلپر و سینامالدهید بر قابلیت الکتروریسی محلول ژئین و شکل نانوفیبرها تاثیر منفی نمی گذارد. چنین نتیجه مطلوبی نشان دهنده قابلیت بالای بیوپلیمر ژئین جهت استفاده در تولید نانوفیبرها به روش الکتروریسی می باشد. میانگین قطر نانوفیبرهای ژئین، ژئین + سینامالدهید ۰/۵٪، ژئین + اسانس گلپر ۱٪ و ژئین + اسانس گلپر ۱٪ + سینامالدهید ۰/۵٪ به ترتیب $28/45 \pm 356/34$ nm، $39/77 \pm 410/59$ nm، $33/90 \pm 489/92$ و $59/52 \pm 501/11$ اندازه گیری شد. افزایش قطر نانوفیبرهای ژئین حاوی اسانس گیاه گلپر/سینامالدهید نسبت به گروه کنترل را می توان به تغییر در میزان هدایت الکتریکی محلول الکتروریسی نسبت داد. نشان داده شده است که افزایش هدایت الکتریکی از جدا شدن قطرات از نوک نازل جلوگیری کرده و موجب افزایش قطر نانوفیبرها می گردد. **Charemsriwilaiwat و همکاران، (۲۰۱۳)** گزارش کردند افزودن عصاره *garcine* موجب افزایش قطر نانوفیبرهای کیتوزان از ۲۰۵ nm به ۲۵۱ nm می شود (۳۸). نتایج مشابهی درباره انکپسوله کردن اسانس پونه کوهی در نانوفیبرهای ژلاتین به دست آمده است که قطر نانوفیبرها از ۳۳۰/۵۰ nm به ۴۴۸/۹۸ nm رسید (۳۹). **Li و همکاران، (۲۰۲۱)** گزارش کردند قطر نانوفیبرهای ژلاتین + اوژنول (۶۱ nm $\pm$ ۲۹۳) بیشتر از نانوفیبرهای گروه کنترل (۵۷ $\pm$ ۱۶۵) بود (۷).





شکل ۳. تصاویر میکروسکوپ الکترونی نانوفیبرهای الکترورسی شده زئین (a)، زئین + سینامالدهید ۰/۵٪ (b)، زئین + اسانس گلپر ۱٪ (c) و زئین + اسانس گلپر ۱٪ + سینامالدهید ۰/۵٪ (d) در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد.

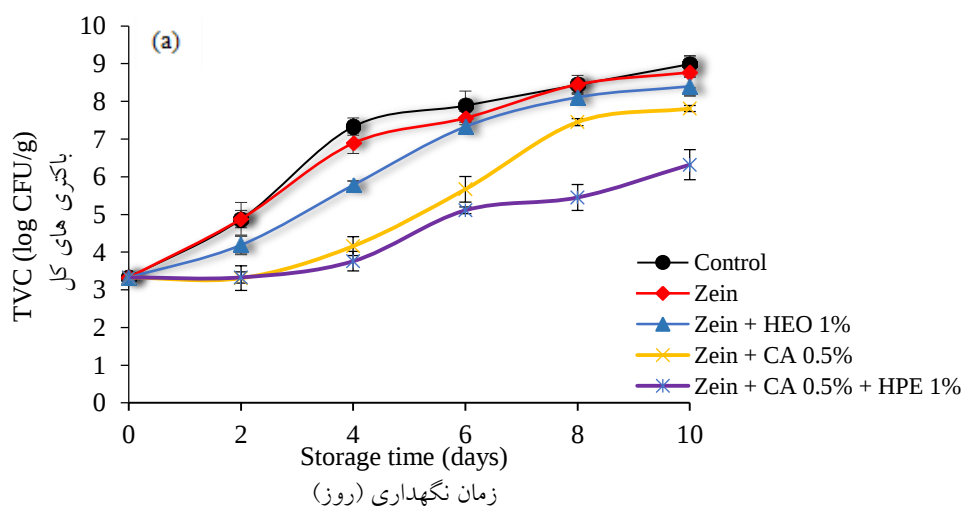
Fig 3. SEM images of electrospun zein (a), zein + cinnamaldehyde 0.5% (b), zein + *Heracleum persicum* essential oil 1% (c), and zein + *Heracleum persicum* essential oil 1% + cinnamaldehyde 0.5% (d) at 25 ± 1 °C.

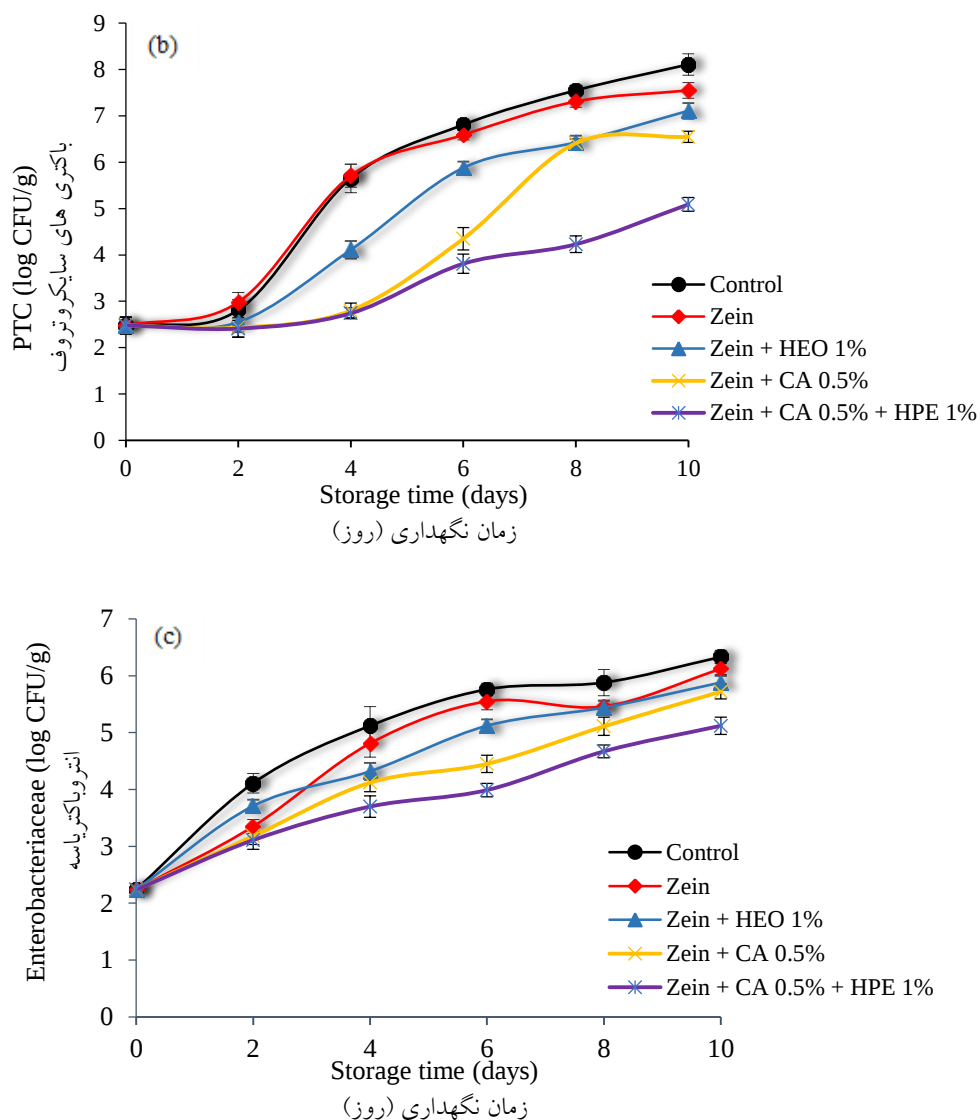
بسته‌بندی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان: تیمارهای طراحی شده در مطالعه حاضر برای بسته‌بندی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان شامل موارد ذیل بود: (۱) گروه کنترل، (۲) گروه بسته‌بندی شده با نانوفیبر زئین خالص، (۳) گروه بسته‌بندی شده با نانوفیبر زئین + سینامالدهید ۰/۵٪، (۴) گروه بسته‌بندی شده با نانوفیبر زئین + اسانس گلپر ۱٪ و (۵) گروه بسته‌بندی شده با نانوفیبر زئین + اسانس گلپر ۱٪ + سینامالدهید ۰/۵٪ (شکل ۲). بر اساس نتایج به دست آمده در شکل ۴-a، در روز صفر نمونه‌برداری، میزان TVC، PTC و باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه به ترتیب $\log \text{CFU/g}$ ۳/۳۳، ۲/۴۸ و ۲/۲۴ شمارش گردید، که نشان‌دهنده تازگی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تهیه شده بود. TVC و PTC فیله ماهی قزل‌آلای تازه باید بین $\log \text{CFU/g}$ ۲-۵ باشد، که به فاکتورهای مختلفی نظیر گونه ماهی، دما و شرایط آب و انتقال آن بستگی دارد (۴۰). در روز صفر نمونه‌برداری، بین گروه‌های مختلف از نظر بار میکروبی شامل TVC، PTC و خانواده انتروباکتریاسه اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ($p > 0.05$). در تمامی گروه‌های طراحی شده شامل فیله‌های ماهی بسته‌بندی شده با نانوفیبرهای زئین خالص، زئین + سینامالدهید ۰/۵٪، زئین + اسانس گلپر ۱٪ و زئین + اسانس گلپر ۱٪ + سینامالدهید ۰/۵٪ جمعیت میکروبی روند افزایشی داشت، اما این روند در گروه کنترل نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر بود. به طوری که در روز دهم نمونه‌برداری، میزان جمعیت میکروبی در گروه کنترل با سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). در روز آخر نمونه‌برداری (روز ۱۰)، در گروه کنترل میزان TVC، PTC و باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه به ترتیب $\log \text{CFU/g}$ ۸/۹۹، ۸/۱۱ و ۶/۳۳ شمارش گردید، در صورتی که در گروه‌های تیماری حاوی اسانس گلپر/سینامالدهید میزان باکتری‌های مذکور به ترتیب در محدوده $\log \text{CFU/g}$ ۶/۳۲-۸/۴۰، ۵/۰۹-۷/۱۱ و ۵/۱۲-۵/۸۸ قرار داشت. Erbay و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش کردند که میزان TVC و PTC نمونه‌های فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان بسته‌بندی شده با استفاده از نانوفیبر پلی‌کاپرولاکتون + عصاره *Urtica dioica* به صورت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کمتر بود (۴۱). Ceylan و همکاران (۲۰۱۸)

گزارش کردند که نانوفیبر کیتوزان + تیمول موجب کاهش ۶۰ درصدی میزان رشد باکتری‌های مزوفیل و سایکروتروف در فیله ماهی *sea boss* شده است (۴۲). حد مجاز PTC، TVC و خانواده انتروباکتریاسه در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به ترتیب log CFU/g، ۷، ۷ و ۵ می‌باشد (۳۱). بر این اساس، گروه‌های طراحی شده شامل فیله‌های ماهی گروه کنترل، بسته‌بندی شده با نانوفیبرهای زئین خالص، زئین + سینامالدهید ۰/۵٪ و زئین + اسانس گلپر ۱٪ به ترتیب در روزهای ۴، ۶، ۶ و ۸ نگهداری در دمای یخچال فاسد شدند. دلیل پایین بودن بار میکروبی در گروه‌های حاوی اسانس گلپر و سینامالدهید را می‌توان به خاصیت ضد میکروبی آن‌ها نسبت داد. خاصیت ضد میکروبی سینامالدهید می‌تواند به دلیل ماهیت الکترون دوست بودن بالای گروه‌های کربونیل نزدیک به پیوندهای دوگانه باشد، که قادرند با نوکلئوفیل‌ها شامل گروه‌های آمینی و پروتئین‌های میکروارگانیزم‌ها واکنش دهد (۴۳، ۴۴). سایر مطالعات نشان داده‌اند که سینامالدهید در نانوفیبرهای پلی‌اتیلن ترفتالات-بتا سیکلودکسترین و زئین به صورت موثری به ترتیب موجب بهبود مدت زمان ماندگاری گوشت خوک تازه و سوسیس گوشت گوساله شده است (۴۴، ۴۵). Sun و همکاران، (۲۰۲۴) گزارش کردند که گوشت خوک پوشش داده شده با اسانس رازیانه-سینامالدهید کمترین میزان TVC و کپک/مخمر را داشت و باعث افزایش مدت زمان ماندگاری نمونه‌ها از ۱ روز به ۱۰ روز در مقایسه با گروه کنترل گردید (۴۶). خاصیت ضد میکروبی اسانس گلپر نیز ممکن است به دلیل تاثیر اسید بوتانوئیک و اسید استیک باشد، که می‌تواند به غشای سلولی میکروارگانیزم‌ها نفوذ کنند و با تغییر در ساختار غشای سلولی موجب مرگ میکروارگانیزم‌ها گردند (۴۷). بیشتر بودن اثر ضد میکروبی گروه زئین + سینامالدهید ۰/۵٪ + اسانس گلپر ۱٪ در مقایسه با سایر گروه‌های تیماری را می‌توان به اثرات سینرژیک ترکیبات ضد میکروبی انکپسوله شده نسبت داد که شامل مهار مسیرهای بیوشیمیایی مشترک و سیستم‌های آنزیمی و همچنین افزایش تعداد و اندازه منافذ در غشای سلولی باکتری‌های مولد فساد می‌باشد (۲۴).

TVB-N به صورت گسترده برای ارزیابی تازگی ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد و در ارتباط با رشد و تکثیر میکروارگانیزم‌های مولد فساد و فعالیت آنزیمی می‌باشد (۴۳). رشد و تکثیر میکروارگانیزم‌ها و فعالیت آنزیمی موجب تغییر در ساختار ترکیبات نیتروژنی غیرپروتئینی و پروتئین‌ها و تخریب ساختار سلولی گوشت ماهی و در نهایت رهايش اسیدهای آمینه می‌شود (۲). میزان اولیه TVB-N در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تازه بین ۲۰-۵۰ mg N/100 g می‌باشد. همچنین، عدد TVB-N بالاتر از ۲۵ mg N/100 g به عنوان شاخص فساد در نظر گرفته می‌شود (۴۸). در تحقیق حاضر (شکل ۵a)، میزان اولیه TVB-N نمونه‌های فیله ماهی قزل‌آلا ۷/۴۵ mg N/100 g اندازه‌گیری شد. در طول مطالعه میزان TVB-N در تمامی تیمارها روند صعودی داشت و در انتهای مطالعه شاخص TVB-N تیمارهای کنترل، نانوفیبرهای زئین خالص، زئین + سینامالدهید ۰/۵٪، زئین + اسانس گلپر ۱٪ و زئین + اسانس گلپر ۱٪ + سینامالدهید ۰/۵٪ به ترتیب به ۳۲/۱۷، ۳۰/۵۵، ۲۹/۴۵، ۲۷/۸۸ و ۲۳/۴۲ رسید. بر این اساس، نمونه‌های گروه کنترل و بسته‌بندی شده با نانوفیبرهای زئین خالص، زئین + سینامالدهید ۰/۵٪ و زئین + اسانس گلپر ۱٪ به ترتیب در روزهای ۴، ۶، ۶ و ۸ نگهداری در دمای یخچال فاسد شدند. افزایش میزان بازهای نیتروژنی فرار به فعالیت باکتری‌های موجود در گوشت و آنزیم‌هایی که در خود گوشت فعالیت دارند، مرتبط است. در اثر فعالیت‌های میکروبی ترکیباتی همچون

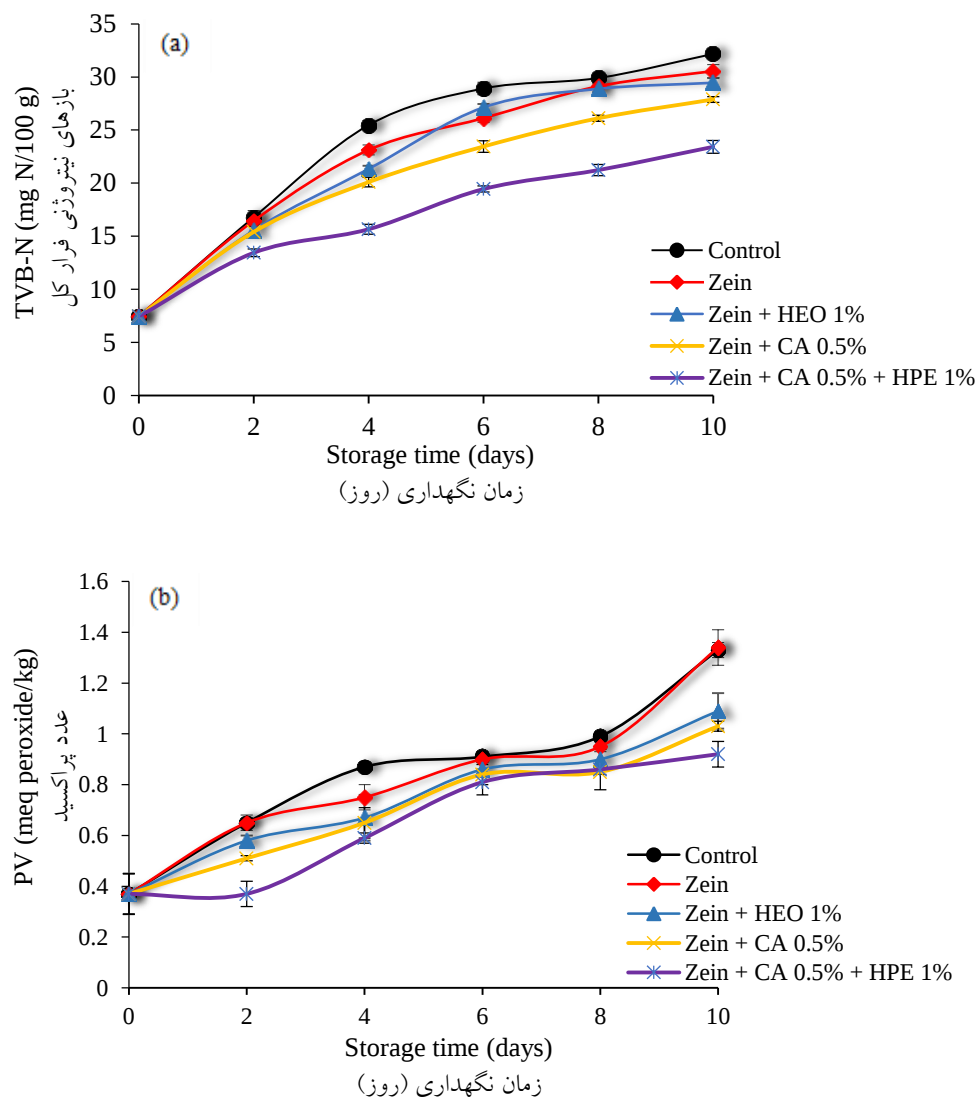
تری‌متیل آمین اکسید، پپتیدها و آمینواسیدها در بافت ماهیچه‌ای به ترکیبات فراری همچون آمونیاک، متیل آمین، دی‌متیل آمین و تری‌متیل آمین و دیگر ترکیبات ازته فرار تبدیل می‌شوند. کاهش میزان TVB-N در نمونه‌های تیمار شده را می‌توان به فعالیت ضد میکروبی اسانس گلپر و سینامالدهید در کاهش رشد میکروارگانیسم‌های مولد فساد نسبت داد که قادر به تولید مقادیر بالایی از بازهای نیتروژنی فرار کل در طول نگهداری ماده غذایی در دمای یخچال می‌باشند (۴۹، ۵۰). ماهی قزل‌آلا به دلیل غنی بودن از اسیدهای چرب غیراشباع به فساد اکسیداتیو بسیار حساس می‌باشد. در طول مدت نگهداری اکسیداسیون می‌تواند مشکلات زیادی بر کیفیت ماده غذایی مانند طعم و بو ایجاد نماید. هیدروپراکسید، محصولات اولیه اکسیداسیون چربی‌ها و اسیدهای چرب غیراشباع و نشان‌دهنده میزان پیشرفت اکسیداسیون هستند، به همین دلیل اکسیداسیون اولیه چربی با اندازه‌گیری میزان PV ارزیابی می‌شود (۳۳). همانطور که در شکل b5 نشان داده شده است، پس از گذشت ۱۰ روز نگهداری نمونه‌های فیله ماهی در دمای یخچال، شاخص PV برای همه تیمارها روند افزایشی داشت که این افزایش به صورت معنی‌داری در گروه کنترل بیشتر از سایر تیمارها بود ($p < 0.05$). در پایان روز ۱۰ نمونه‌برداری میزان PV تیمارهای کنترل، نانوفیبرهای زئین خالص، زئین + سینامالدهید ۰/۵٪، زئین + اسانس گلپر ۱٪ و زئین + اسانس گلپر ۱٪ + سینامالدهید ۰/۵٪ به ترتیب به ۱/۴۳، ۱/۳۳، ۱/۰۹ و ۰/۹۲ اندازه‌گیری شد. مطالعات پیشین تاثیر بسته‌بندی‌های فعال حاوی اسانس و عصاره‌های گیاهی نظیر نانوفیبرهای کاراگینان-پلی‌وینیل الکل حاوی عصاره آلو قرمز (۲۴)، نانوذرات کیتوزان حاوی سینامالدهید (۵۱) و نانوفیبرهای پروتئین آب پنیر حاوی تیتانیوم دی اکسید و اسانس رزماری (۵۲) را در کاهش تولید بازهای نیتروژنی فرار کل در مواد غذایی فسادپذیر گزارش کرده‌اند. نتایج مشابهی در مورد جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها در فیله ماهی قزل‌آلا (۱)، فیله مرغ (۵۳) و گوشت خوک (۵۴) حین نگهداری طولانی مدت در دمای یخچال گزارش شده است.





شکل ۴. تغییرات جمعیت میکروبی شامل باکتری‌های کل (a, TVC)، سایکروتروف‌ها (b, PTC)، و باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه (c) در نمونه‌های فیله ماهی قزل‌آلای بسته‌بندی شده با نانوفیبرهای زئین حاوی اسانس گیاه گلپر (HEO) و سینامالدهید (CA).

Fig 4. Microbial changes, including total viable count (TVC, a), psychrotrophic bacterial count (PTC, b), and Enterobacteriaceae (c), in rainbow trout fillets packaged with zein nanofibers containing *Heracleum persicum* essential oil (HEO) and cinnamaldehyde (CA).



شکل ۵. تغییرات ویژگی‌های شیمیایی شامل میزان بازهای نیتروژنی فرار کل (TVB-N، a) و عدد پراکسید (PV، b) در نمونه‌های فیله ماهی قزل‌آلای بسته‌بندی شده با نانوفیبرهای زئین حاوی اسانس گیاه گلپر (HEO) و سینامالدهید (CA).

Fig. 5. Chemical changes, including total volatile base nitrogen (TVB-N, a) and peroxide value (PV, b), in rainbow trout fillets packaged with zein nanofibers containing *Heracleum persicum* essential oil (HEO) and cinnamaldehyde (CA).

نتیجه‌گیری

طبق یافته‌های این مطالعه، بسته‌بندی فعال بر پایه نانوفیبرهای زئین حاوی اسانس گلپر و سینامالدهید می‌تواند به صورت موثری رشد میکروارگانیسم‌های مولد فساد و پارامترهای شیمیایی را در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان حین نگهداری در دمای یخچال به مدت ۱۰ روز کنترل نمایند. پیشنهاد می‌گردد (۱) ویژگی‌های فیزیکی-مکانیکی و پایداری اسانس و سینامالدهید موجود در نانوفیبرهای طراحی شده در زمان نگهداری طولانی مدت در دماهای مختلف؛ (۲) تاثیر فیبرهای

الکترواسپون طراحی شده در افزایش ماندگاری سایر مواد غذایی پروتئینی؛ و ۳) خاصیت ضد میکروبی فیبرهای الکترواسپون تهیه شده علیه طیف گسترده تری از عوامل بیماری زای منتقله از مواد غذایی مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

1. Ceylan, Z. (2019). A new cost-effective process for limitation of microbial growth in fish fleshs: Wrapping by aluminum foil coated with electrospun nanofibers. *Journal of Food Safety*, 39(5), e12697.
2. Abdollahzadeh, M., Elhamirad, A. H., Shariatifar, N., Saeidiasl, M., & Armin, M. (2023). Effects of nano-chitosan coatings incorporating with free/nano-encapsulated essential oil of Golpar (*Heracleum persicum* L.) on quality characteristics and safety of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food Microbiology*, 385, 109996.
3. Shahbazi, Y. (2017). The properties of chitosan and gelatin films incorporated with ethanolic red grape seed extract and *Ziziphora clinopodioides* essential oil as biodegradable materials for active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 99, 746-753.
4. Alizadeh-Sani, M., Khezerlou, A., & Ehsani, A. (2018). Fabrication and characterization of the bionanocomposite film based on whey protein biopolymer loaded with TiO₂ nanoparticles, cellulose nanofibers and rosemary essential oil. *Industrial Crops and Products*, 124, 300-315.
5. Altan, A., & Çayır, Ö. (2020). Encapsulation of carvacrol into ultrafine fibrous zein films via electrospinning for active packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100581.
6. Karami, N., Kamkar, A., Shahbazi, Y., & Misaghi, A. (2020). Electrospinning of double-layer chitosan-flaxseed mucilage nanofibers for sustained release of *Ziziphora clinopodioides* essential oil and sesame oil. *LWT*, 110812.
7. Li, M., Yu, H., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., & Yao, W. (2021). Fabrication of eugenol loaded gelatin nanofibers by electrospinning technique as active packaging material. *LWT*, 139, 110800.
8. Zhang, W., Huang, C., Kusmartseva, O., Thomas, N. L., & Mele, E. (2017). Electrospinning of polylactic acid fibres containing tea tree and manuka oil. *Reactive and Functional Polymers*, 117, 106-111.
9. Zhang, C., Li, Y., Wang, P., Li, J., Weiss, J., & Zhang, H. (2020). Core-shell nanofibers electrospun from O/W emulsions stabilized by the mixed monolayer of gelatin-gum Arabic complexes. *Food Hydrocolloids*, 105980.
10. Yang, Y., Zheng, S., Liu, Q., Kong, B., & Wang, H. (2020). Fabrication and characterization of cinnamaldehyde loaded polysaccharide composite nanofiber film as potential antimicrobial packaging material. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100600.
11. Wu, X., Liu, Z., He, S., Liu, J., & Shao, W. (2023). Development of an edible food packaging gelatin/zein based nanofiber film for the shelf-life extension of strawberries. *Food Chemistry*, 426, 136652.
12. Ge, X., Huang, X., Zhou, L., & Wang, Y. (2022). Essential oil-loaded antimicrobial and antioxidant zein/poly (lactic acid) film as active food packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 34, 100977.

13. Bueno, J. N., Corradini, E., de Souza, P. R., Marques, V. D. S., Radovanovic, E., & Muniz, E. C. (2021). Films based on mixtures of zein, chitosan, and PVA: Development with perspectives for food packaging application. *Polymer Testing*, 101, 107279.
14. Pavlátková, L., Sedlářková, J., Pleva, P., Peer, P., Uysal-Unalan, I., & Janalíková, M. (2023). Bioactive zein/chitosan systems loaded with essential oils for food-packaging applications. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(3), 1097-1104.
15. Aman Mohammadi, M., Ramezani, S., Hosseini, H., Mortazavian, A. M., Hosseini, S. M., & Ghorbani, M. (2021). Electrospun antibacterial and antioxidant zein/polylactic acid/hydroxypropyl methylcellulose nanofibers as an active food packaging system. *Food and Bioprocess Technology*, 14(8), 1529-1541.
16. Wang, J., Shan, H., Qin, Y., Qin, D., Zhao, W., Yang, Z., & Li, S. (2025). Electrospinning zein with theaflavin: Production, characterization, and application in active packaging for cold-fresh pork. *International Journal of Biological Macromolecules*, 287, 138594.
17. Mohebi, E., Abbasvali, M., & Shahbazi, Y. (2023). Development of biomaterials based on chitosan-gelatin nanofibers encapsulated with *Ziziphora clinopodioides* essential oil and *Heracleum persicum* extract for extending the shelf-life of vacuum-cooked beef sausages. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127258.
18. Soleimani, S., Golestan, L., Motalebi Moghanjoughi, A., & Anvar, S. A. (2023). Physicochemical and antibacterial properties of psyllium gum/sodium-alginate edible films as affected by incorporating CuO nanoparticles and *Heracleum persicum* essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(6), 5683-5696.
19. Firuzi, O., Asadollahi, M., Gholami, M., Javidnia, K., 2010. Composition and biological activities of essential oils from four *Heracleum* species. *Food Chemistry*, 122, 117-122.
20. Rajaei Lak, H., Bazargani-Gilani, B., & Karami, M. (2024). Different coating application methods: Zein-based edible coating containing *Heracleum persicum* essential oil for shelf-life enhancement of whey-less cheese. *Food Science & Nutrition*, 12(8), 5990-6010.
21. Hamzehie, M., & Roomiani, L. (2023). Antimicrobial and antioxidant effects of essential oil nanoemulsion of *Heracleum persicum* on quality and shelf-life of shrimp nuggets. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 18(2), 97-110.
22. Vafania, B., Fathi, M., & Soleimani-Zad, S. (2019). Nanoencapsulation of thyme essential oil in chitosan-gelatin nanofibers by nozzle-less electrospinning and their application to reduce nitrite in sausages. *Food and Bioprocess Technology*, 116, 240-248.
23. US Food and Drug Administration (FDA), (1998). Cinnamaldehyde (040506) Fact Sheet.
24. Goudarzi, J., Moshtaghi, H., & Shahbazi, Y. (2023). Kappa-carrageenan-poly (vinyl alcohol) electrospun fiber mats encapsulated with *Prunus domestica* anthocyanins and epigallocatechin gallate to monitor the freshness and enhance the shelf-life quality of minced beef meat. *Food Packaging and Shelf Life*, 35, 101017.
25. Nazari, M., Majdi, H., Milani, M., Abbaspour-Ravasjani, S., Hamishehkar, H., & Lim, L. T. (2019). Cinnamon nanophytosomes embedded electrospun nanofiber: Its effects on microbial quality and shelf-life of shrimp as a novel packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 21, 100349.
26. Surendhiran, D., Li, C., Cui, H., & Lin, L. (2020). Fabrication of high stability active nanofibers encapsulated with pomegranate peel extract using chitosan/PEO for meat preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, 23, 100439.

27. Doğan, C., Doğan, N., Gungor, M., Eticha, A. K., & Akgul, Y. (2022). Novel active food packaging based on centrifugally spun nanofibers containing lavender essential oil: Rapid fabrication, characterization, and application to preserve of minced lamb meat. *Food Packaging and Shelf Life*, 34, 100942.
28. Ušjak, L., Petrović, S., Drobac, M., Soković, M., Stanojković, T., Ćirić, A., & Niketić, M. (2017). Edible wild plant *Heracleum pyrenaicum* subsp. *orsinii* as a potential new source of bioactive essential oils. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 2193-2202.
29. Shahbazi, Y., Shavisi, N., & Daraei, P. (2024). Characterization of zein nanofiber mats encapsulated with *Foeniculum vulgare* and *Carum carvi* essential oils as active packaging materials. *LWT*, 206, 116615.
30. Wang, P., Li, Y., Zhang, C., Feng, F., & Zhang, H. (2020). Sequential electrospinning of multilayer ethylcellulose/gelatin/ethylcellulose nanofibrous film for sustained release of curcumin. *Food Chemistry*, 308, 125599.
31. Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2008). *Modern food microbiology*. Springer Science & Business Media.
32. Ghafouri-Oskuei, H., Javadi, A., Asl, M. R. S., Azadmard-Damirchi, S., & Armin, M. (2020). Quality properties of sausage incorporated with flaxseed and tomato powders. *Meat Science*, 161, 107957.
33. Shavisi, N., Shahbazi Y., (2025). Active locust bean gum-guar gum aerogels containing *Heracleum persicum* essential oil and chitosan nanoparticles to extend the shelf-life of peeled shrimps. *Applied Food Research*, 101235.
34. Ehsani, A., Rezaeiyan, A., Hashemi, M., Aminzare, M., Jannat, B., & Afshari, A. (2019). Antibacterial activity and sensory properties of *Heracleum persicum* essential oil, nisin, and *Lactobacillus acidophilus* against *Listeria monocytogenes* in cheese. *Veterinary World*, 12(1), 90-96.
35. Ghavam, M. (2023). *Heracleum persicum* Desf. ex Fisch., CA Mey. & Avé-Lall. fruit essential oil: content, antimicrobial activity and cytotoxicity against ovarian cancer cell line. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 1-12.
36. Ebadollahi, A., Zavieh, E. A., Nazifi, A., Sendi, J. J., Farjaminezhad, M., Samadzadeh, A., & Tajmiri, P. (2014). Chemical composition and bio-pesticidal values of essential oil isolated from the seed of *Heracleum persicum* Desf. ex Fischer (Apiaceae). *Spanish Journal of Agricultural Research*, 12(4), 1166-1174.
37. Davari, M., & Ezazi, R. (2017). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Zhumeria majdae*, *Heracleum persicum* and *Eucalyptus* sp. against some important phytopathogenic fungi. *Journal de Mycologie Medicale*, 27(4), 463-468.
38. Charernsriwilaiwat, N., Rojanarata, T., Ngawhirunpat, T., Sukma, M., & Opanasopit, P. (2013). Electrospun chitosan-based nanofiber mats loaded with *Garcinia mangostana* extracts. *International Journal of Pharmaceutics*, 452(1-2), 333-343.
39. Tang, Y., Zhou, Y., Lan, X., Huang, D., Luo, T., Ji, J., & Wang, W. (2019). Electrospun gelatin nanofibers encapsulated with peppermint and chamomile essential oils as potential edible packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(8), 2227-2234.
40. Eghbalian, M., Shavisi, N., Shahbazi, Y., & Dabirian, F. (2021). Active packaging based on sodium caseinate-gelatin nanofiber mats encapsulated with *Mentha spicata* L. essential oil and

- MgO nanoparticles: Preparation, properties, and food application. *Food Packaging and Shelf Life*, 29, 100737.
41. Erbay, E. A., Dağtekin, B. B. G., Türe, M., Yeşilsu, A. F., & Torres-Giner, S. (2017). Quality improvement of rainbow trout fillets by whey protein isolate coatings containing electrospun poly (ϵ -caprolactone) nanofibers with *Urtica dioica* L. extract during storage. *LWT*, 78, 340-351.
 42. Ceylan, Z., Sengor, G. F. U., & Yilmaz, M. T. (2018). Nanoencapsulation of liquid smoke/thymol combination in chitosan nanofibers to delay microbiological spoilage of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Journal of Food Engineering*, 229, 43-49.
 43. Azizi, M., Jahanbin, K., & Shariatifar, N. (2024). Evaluation of whey protein coating containing nanoliposome dill (*Anethum graveolens* L.) essential oil on microbial, physicochemical and sensory changes of rainbow trout fish. *Food Chemistry: X*, 21, 101110.
 44. Karim, M., Fathi, M., & Soleimani-Zad, S. (2021). Nanoencapsulation of cinnamic aldehyde using zein nanofibers by novel needle-less electrospinning: Production, characterization and their application to reduce nitrite in sausages. *Journal of Food Engineering*, 288, 110140.
 45. Zhou, Z., Liu, Y., Liu, Z., Fan, L., Dong, T., Jin, Y., & Sun, W. (2020). Sustained-release antibacterial pads based on nonwovens polyethylene terephthalate modified by β -cyclodextrin embedded with cinnamaldehyde for cold fresh pork preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100554.
 46. Sun, J., Leng, X., Zang, J., & Zhao, G. (2024). Bio-based antibacterial food packaging films and coatings containing cinnamaldehyde: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(1), 140-152.
 47. Majidi, Z., & Lamardi, S. S. (2018). Phytochemistry and biological activities of *Heracleum persicum*: A review. *Journal of Integrative Medicine*, 16(4), 223-235.
 48. Rezaei, F., Tajik, H., & Shahbazi, Y. (2023). Intelligent double-layer polymers based on carboxymethyl cellulose-cellulose nanocrystals film and poly (lactic acid)-*Viola odorata* petal anthocyanins nanofibers to monitor food freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, 252, 126512.
 49. Akyuz, L., Kaya, M., Ilk, S., Cakmak, Y. S., Salaberria, A. M., Labidi, J., & Sargin, I. (2018). Effect of different animal fat and plant oil additives on physicochemical, mechanical, antimicrobial and antioxidant properties of chitosan films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 475-484.
 50. Shahinfar, R., Khanzadi, S., Hashami, M., Azizzadeh, M., & Bostan, A. (2017). The effect of *Ziziphora clinopodioides* essential oil and nisin on chemical and microbial characteristics of fish burger during refrigerated storage. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 36(5), 65-75.
 51. Hosseini, S. F., Ghaderi, J., & Gómez-Guillén, M. C. (2022). Tailoring physico-mechanical and antimicrobial/antioxidant properties of biopolymeric films by cinnamaldehyde-loaded chitosan nanoparticles and their application in packaging of fresh rainbow trout fillets. *Food Hydrocolloids*, 124, 107249.
 52. Alizadeh-Sani, M., Mohammadian, E., & McClements, D. J. (2020). Eco-friendly active packaging consisting of nanostructured biopolymer matrix reinforced with TiO₂ and essential oil: Application for preservation of refrigerated meat. *Food Chemistry*, 322, 126782.

53. Ala, M. A. N., & Shahbazi, Y. (2019). The effects of novel bioactive carboxymethyl cellulose coatings on food-borne pathogenic bacteria and shelf life extension of fresh and sauced chicken breast fillets. *LWT*, *111*, 602-611.
54. Ruan, C., Zhang, Y., Sun, Y., Gao, X., Xiong, G., & Liang, J. (2019). Effect of sodium alginate and carboxymethyl cellulose edible coating with epigallocatechin gallate on quality and shelf life of fresh pork. *International Journal of Biological Macromolecules*, *141*, 178-184.

Zein nanofibers containing *Heracleum persicum* essential oil and cinnamaldehyde in preserving rainbow trout fillets

Abstract

Background and objectives: Rainbow trout fillet is very vulnerable to adverse microbial and chemical changes under storage at refrigerated conditions owing to the rich nutrients, including unsaturated fatty acids, high protein content, high moisture content, and autolytic enzymes. Although traditional food packaging is a crucial part of the suitable delivery of fishery products to the consumer, it cannot protect them from microbial and oxidative degradation through extended shelf-life and transportation. Biodegradable nanofibers prepared by electrospinning technique can be used in active packaging of perishable food products due to improved stability of encapsulated antimicrobial and antioxidant compounds. The aim of the present experiment was to study the application of zein nanofibers containing *Heracleum persicum* essential oil 1% and cinnamaldehyde 0.5% on the chemical and microbial properties of rainbow trout fillets during storage at refrigerated temperature for 10 days.

Materials and methods: In this experiment, zein nanofibers containing *H. persicum* essential oil 1% and cinnamaldehyde 0.5% were prepared using the electrospinning technique which was set as follows: nuzzle number = 5, flow rate = 0.8 ml/h, tip-collector distance = 20 cm, and voltage = 25 kV. The treatments designed in the present study for rainbow trout packaging were as follows: 1) control group, 2) zein nanofibers, 3) zein + cinnamaldehyde 0.5% nanofibers, 4) zein + *H. persicum* essential oil 1% nanofibers, and 5) zein + *Heracleum persicum* essential oil 1% + cinnamaldehyde 0.5% nanofibers. The chemical (total volatile basic nitrogen and peroxide value) and microbial (total viable count, psychrotrophic bacterial count, and Enterobacteriaceae) of rainbow trout fillets during 10 days storage at refrigerated conditions were evaluated based on standard methods. The culture media were used as follows: plate count agar and violet red bile glucose agar. The experiment was performed three times. The analysis of microbial and chemical properties was conducted by employing a Tukey HSD test.

Results: Butanoic acid, 2-methyl hexyl ester (36.18%) and acetic acid, octyl ester (22.94%) were the most important chemical compounds identified in *H. persicum* essential oil. In all designed groups including trout fillets packaged with pure zein, zein + cinnamaldehyde 0.5%, zein + *H. persicum* essential oil 1%, and zein + *H. persicum* essential oil 1% + cinnamaldehyde 0.5% nanofibers, microbial growth and chemical properties had an increasing trend, but this trend was greater in the control group than in the other groups. The designed groups, including trout fillets of the control group, packaged with pure zein, zein + cinnamaldehyde 0.5%, and zein + *H. persicum* essential oil 1% nanofibers, spoiled on days 4, 6, 6, and 8 of storage at refrigerated temperature, respectively.

Discussion: The findings of this study showed that electrospun nanofibers with antimicrobial and antioxidant activity can be used as active packaging to increase the shelf-life of rainbow trout fillets at refrigerated conditions. It is suggested that the physic-mechanical properties of the designed polymers and the stability of *H. persicum* essential oil and cinnamaldehyde at different temperatures should be considered in future studies.

Keywords: Electrospinning, zein, active packaging, *Heracleum persicum* essential oil, cinnamaldehyde