مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال نهم، شماره 4، زمستان 1393، صفحات 62-53

بررسی خواص ضد میکروبی فیلم کربوکسی متیل سلولز حاوی اسانس گشنیز و پوست لیموترش و تأثیر آن بر افزایش زمان ماندگاری گوشت گوسفند در دمای یخچال

ناصر صداقت[1]، مهدی محمدحسینی[2]، سارا خشنودی‌نیا[2]، محمد باقر حبیبی نجفی[3]، آرش کوچکی[4]

1- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران، پست الکترونیک: sedaghat@um.ac.ir
2- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی،دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
3- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
4- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

تاریخ دریافت: 93/2/25 تاریخ پذیرش: 93/5/16

چکیده

سابقه و هدف: رشد میکروبی مهم‌ترین دلیل فساد گوشت و فراورده‌های گوشتی است که ضمن تغییر بافت و مزه فرآورده خسارت اقتصادی و مسمومیت نیز به‌دنبال دارد. هدف از پژوهش حاضر، بررسی خواص ضدمیکربی فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز حاوی اسانس (گشنیز و پوست لیموترش) و تأثیر آن در کاهش بار میکربی گوشت گوسفند می‌باشد.

مواد و روش‌ها: فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز (CMC) با افزودن اسانس‌های گشنیز و لیموترش در چهار سطح (0/1، 0/2، 0/3 و 0/4درصد حجمی/حجمی محلول فیلم) تهیه و اثر آنها در محیط آگار بر روی بار میکربی کل، باکتری استافیلوکوکوس‌اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس‌آئوروژنس بررسی شد. فیلم CMC حاوی 0/4درصد اسانس گشنیز یا اسانس لیموترش و فیلم فاقد اسانس روی گوشت پیچیده و از نظر بار میکروبی (بار میکربی کل، باکتری‌های استافیلوکوکوس، کلی‌فرم و سودوموناس) و pH با نمونه شاهد در طول 8 روز نگهداری در دمای یخچال (4±1°C) مقایسه شد.

یافته‌ها: فیلم‌های حاوی اسانس گشنیز و لیموترش در محیط کشت آگار در مقابل میکروارگانیسم‌های اشرشیاکلی و سودوموناس‌آئوروژنس خاصیت ضدمیکربی داشتند، اما تأثیر معنی‌داری بر باکتری استافیلوکوکوس‌اورئوس نداشتند. فیلم CMC باعث کاهش بار میکربی کل و باکتری‌های سودوموناس، کلی‌فرم و استافیلوکوکوس گوشت شد و عملکرد فیلم حاوی اسانس بهتر از فیلم فاقد اسانس بود ($P<0/05$). تأثیر ضدمیکربی اسانس لیمو بر سودوموناس به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از اسانس گشنیز بود. حضور فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز باعث کاهش pH گوشت شد.

نتیجه‌گیری: فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز-اسانس لیموترش با کاهش بار میکربی گوشت، تخریب بافت و افزایش pH را به تعویق انداخت. لذا این فیلم می‌تواند به‌عنوان یک پوشش اقتصادی و زیست‌تخریب‌پذیر برای افزایش ماندگاری گوشت گوسفند در دمای یخچال پیشنهاد شود.

واژگان کلیدی: کربوکسی‌متیل‌سلولز، اسانس گشنیز، گوشت گوسفند، اسانس لیموترش، ماندگاری

• مقدمه

گوشت و فرآورده‌های گوشتی در زمان نگهداری مستعد فساد میکربی هستند (1). یکی از روش‌های سنتی کنترل رشد میکربی استفاده از محلول‌های ضدمیکربی به روش غوطه‌وری یا اسپری روی سطح گوشت است (2) در این روش به دلیل رهایش کنترل‌نشده و غیر فعال شدن بخشی از این ترکیبات ضدمیکربی (به دلیل ارتباط متقابل ترکیبات ماده غذایی و ترکیبات ضدمیکربی) کارایی این ترکیبات محدود می‌شود (3). روش جدیدی که برای برطرف کردن این محدودیت وجود دارد استفاده از فیلم‌های خوراکی حاوی مواد ضدمیکربی است. بسیاری از ترکیبات ضدمیکربی که در فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی استفاده می‌شوند از فساد میکربی در ماده غذایی جلوگیری کرده و خطر رشد

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا را کاهش می‌دهند. با توسعه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی ضدمیکربی استفاده از اسانس‌های ادویه‌جات و گیاهان به عنوان ترکیب ضدمیکربی متداول شد. معمولاً ترکیبات ترپنی حاوی گروه‌های فنلی مانند انواع اسانس‌های گیاهی تأثیر خوبی بر باکتری‌های بیماری‌زا دارند. در سال‌های اخیر، تحقیقات فراوانی برای ارزیابی آثار ضدمیکربی انواع عصاره‌ها و ادویه‌ها صورت گرفته است (4). از آن‌جا که این ترکیبات کاملاً طبیعی هستند، خطر کمتری نسبت به نگهدارنده شیمیایی برای سلامت انسان و محیط‌زیست دارند (5).

فعالیت ضدمیکربی اسانس‌ها مربوط به ترکیبات منوترپنی آنهاست. در مواد غذایی بین ترکیبات غذا (پروتئین، چربی) و ترکیبات فنلی تأثیر متقابل وجود دارد، که این موضوع باعث کاهش فعالیت ضدمیکربی ترکیبات فنلی می‌شود. بنابراین حضور اسانس‌های روغنی در فرمولاسیون فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی موجب ثبات این ترکیبات می‌شود. این دست فیلم‌ها و پوشش‌ها از طریق آزادسازی تدریجی ترکیبات ضدمیکربی آلودگی سطحی مواد غذایی را کاهش می‌دهند (6). در فرآورده‌های گوشتی استفاده از پوشش‌ها و فیلم خوراکی نه‌تنها می‌تواند خاصیت سلامت محصول را بهبود بخشد، از افت رطوبت در مدت نگهداری گوشت جلوگیری کرده و کاهش طعم و جذب بو را نیز کنترل می‌کند (8، 7). تنوع پوشش‌های خوراکی و اسانس‌های گیاهی در کنار تلاش برای تولید محصولاتی با حداقل ماده شیمیایی، در سال‌های اخیر پوشش‌های خوراکی حاوی مواد ضدمیکربی را به یکی از پرطرفدارترین حوزه‌های پژوهش تبدیل کرده است.

بعضی فیلم‌ها و پوشش‌ها که تاکنون در مورد آنها پژوهش انجام گرفته است عبارتند از: فیلم کازئینات‌کلسیم و سدیم حاوی کارواکرول (9)، ایزوله پروتئین نخود حاوی اسانس آویشن (5)، پوشش ژلاتین حاوی اسانس برگ‌لیمو (lemongrass) و ترنج (10)، کیتوزان حاوی اسانس میخک، دارچین و آویشن (11)، فیلم‌خوراکی پروتئین شیر دارای اسانس پونه (12)، کیتوزان حاوی عصاره پونه (13)، ایزوله پروتئین سویای حاوی دارچین و زنجبیل (14) پوشش کیتوزان حاوی عصاره چای (15)، فیلم پروتئین سویا حاوی نایسین و عصاره انگور (16). اما در میان این پژوهش‌ها تاکنون از اسانس‌های پوست لیموترش (به اختصار در متن از واژه اسانس لیموترش استفاده شده است) و گشنیز در ترکیب با فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز (CMC) استفاده نشده است. لذا این مطالعه با هدف تهیه فیلم‌خوراکی بر پایه کربوکسی‌متیل‌سلولز حاوی اسانس لیموترش یا گشنیز و ارزیابی قدرت ضدباکتریایی فیلم‌ها روی سوش‌های خالص عامل فساد گوشت قرمز و هم‌چنین استفاده از این فیلم‌ها برای توسعه زمان ماندگاری گوشت قرمز نگهداری شده در یخچال انجام شد.

• مواد و روش‌ها

مواد: گوشت تازه گوسفند و دانه گشنیز (Coriandrum Sativum) (خریداری شده از بازار محلی مشهد)، اسانس پوست لیموترش (Citrus lemon (L.)Burm.f.f) (تهیه شده از شرکت باریج اسانس، ایران، این اسانس بر اساس 19-14 میلی‌گرم در میلی‌لیتر لیمونن استاندارد شده است)، کربوکسی‌متیل‌سلولز با دانسیته پایین (شرکت سیگما آلدریچ، آمریکا)، امولسیفایر توئین 80 و گلیسرول (شرکت مرک، آلمان) سودوموناس‌آئوروژنس (PTCC6538) و استافیلوکوکوس‌ارئوس (PTCC25923) (تهیه شده از مرکز کلکسیون قارچ) و باکتری اشرشیاکلی (E.coliO157H7) (تهیه شده از دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد). محیط کشت‌های نوترینت‌آگار، مک‌کانکی‌آگار، پلیت‌کانت‌آگار، بردپارکر آگار (از شرکت مرک آلمان)، قرص رینگر و آب‌پپتونه و مخلوط زرده‌تخم، CFC آگار، تلوریت‌پتاسیم (شرکت سیگما آلدریچ، آمریکا).

اسانس‌گیری از بذر گشنیز: برای اسانس‌گیری از دانه‌های گشنیز از روش عصاره‌گیری آبی (hydro distillation) استفاده گردید. در این روش100 گرم از دانه‌های گشنیز را در بالن‌های دستگاه کلونجر ریخته سپس 650 میلی‌لیتر آب تصفیه شده به آن اضافه شد، بالن‌های کلونجر را به دستگاه تقطیر کلونجر متصل و محتویات آن حرارت داده شد. 3 ساعت بعد از جوشش محتویات بالن اسانس از آب‌مقطر جدا و قابل جمع‌آوری گردید (17).

تهیه فیلم‌خوراکی کربوکسی متیل سلولز: فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز با کمی تغییر به روش قنبرزاده و همکاران 2010 تهیه شد (18). محلول فیلم به وسیله حل کردن 1 گرم کربوکسی‌متیل‌سلولز در 100 میلی‌لیتر آب مقطر و افزودن 50 درصد وزنی کربوکسی‌متیل‌سلولز (0/5گرم) گلیسرول به عنوان نرم‌کننده و افزودن یک درصد امولسیفایر توئین 80 تهیه شد. محلول فیلم را روی گرم‌کننده مجهز به همزن مغناطیسی (با سرعت 1200 دور در دقیقه) به منظور حل شدن کامل کربوکسی‌متیل‌سلولز تا دمای 80°C حرارت می‌دهیم. پس از سرد شدن محلول، اسانس لیموترش یا گشنیز (0/1، 0/2، 0/3، 0/4درصد حجمی/حجمی) جداگانه به محلول‌های کربوکسی‌متیل‌سلولز افزوده و 4 دقیقه هم زده

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

شد. سپس محلول در قالب‌های پلی‌اتیلنی ریخته شده و برای یک ساعت در محیط آزمایشگاه و زیر هود تحت خلأ به منظور کاهش حباب قرار داده شد. بعد از آن محلول فیلم به داخل آون فن‌دار تحت دمای 37°C انتقال داده شد و فرایند خشک کردن به مدت 20 ساعت ادامه یافت و در نهایت فیلم‌های سالم و بدون حباب و ترک برای انجام آزمون انتخاب شدند.

اندازه‌گیری ویژگی ضد میکربی فیلم: برای اندازه‌گیری ویژگی‌های ضدمیکربی لازم است محلول استاندارد 0/5 مک‌فارلند و سوسپانسیون میکربی 0/5 مک‌فارلند تهیه شود. برای تهیه استانداردهای مک‌فارلند ابتدا محلول سولفات‌باریم (99/5 میلی‌لیتر اسیدسولفوریک 1% و 0/5 میلی‌لیتر کلریدباریم 1/175%) با دانسیته نوری مشخص تهیه شد. استاندارد 0/5مک‌فارلند کدورتی معادل با یک سوسپانسیون باکتریایی معادل با $1/5\times10^8$ cfu/ml ایجاد می‌کند. برای تهیه سوسپانسیون میکربی به کشت 24 ساعته از هر باکتری نیاز است. بنابراین 24 ساعت قبل از آزمایش، از کشت ذخیره به محیط کشت شیب‌دار آگار مغذی (Nutrient agar) تلقیح انجام شد. پس از رشد کشت مربوطه سطح آن با محلول رینگر شسته و سوسپانسیون غلیظ میکربی حاصل شد. سپس مقداری از سوسپانسیون میکربی درون لوله استریل درب‌دار حاوی محلول رینگر ریخته و کدورت آن با اسپکتروفوتومتر (طول موج 530 نانومتر) اندازه‌گیری شد. رقت‌سازی محلول سوسپانسیون تا زمان برابر شدن کدورت محلول 0/5مک‌فارلند و سوسپانسیون میکربی ادامه یافت (19).

برای تعیین خاصیت ضدمیکربی فیلم خوراکی از روش نفوذ ترکیب ضد میکروبی فیلم در محیط آگار (Film disk agar diffusion assay) استفاده شد. در این روش فیلم‌ها به صورت صفحه‌های دایره‌ای با قطر 6 میلی‌متر بریده و به محیط کشت آگار مغذی که از قبل با 10^5-10^6cfu/ml میکروارگانیسم از یکی از انواع استافیلوکوکوس‌اورئوس، سودوموناس‌ائوروژنس یا اشرشیاکلی تلقیح شده بود منتقل شدند، پس از آن پتری‌دیش‌های حاوی محیط کشت آلوده همراه با فیلم‌های ضدمیکربی برای مدت 24 ساعت در انکوباتور 37°C نگهداری شدند. برای دانستن میزان ممانعت‌کنندگی فیلم‌خوراکی از رشد میکروارگانیسم‌ها قطر هاله‌های تشکیل شده با استفاده از کولیس با دقت 0/01 میلی‌متر اندازه‌گیری شد (20).

تعیین خاصیت ضدمیکروبی فیلم تولید شده روی فلور میکروبی گوشت: قبل از تعیین تأثیر فیلم تولید شده روی بار میکروبی و pH گوشت ابتدا گوشت‌ها را به قطعاتی با وزن 50±5 گرم تقسیم کرده و سپس به 4 گروه بدون پوشش (شاهد)، گوشت پوشش‌داده شده با فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز فاقد اسانس، فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز حاوی 0/4درصد حجمی/حجمی اسانس لیموترش و پوشش‌دار با فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز حاوی 0/4درصد حجمی/حجمی اسانس گشنیز، تقسیم شدند. سپس گوشت‌ها به یخچال با دمای 4°C منتقل شدند. از گوشت‌ها به منظور انجام آزمون‌های میکربی در روز صفر، دوم، چهارم، ششم و هشتم نمونه‌برداری صورت گرفت. نمونه‌برداری و تهیه سوسپانسیون میکربی از گوشت‌ها به روش رینز (WCR) انجام شد (21). ازسوسپانسیون حاصله طبق استاندارد ملی 2-8923 رقت‌های اعشاری تهیه شد (22).

شمارش استافیلوکوس، اشرشیا کلی و سودوموناس به ترتیب مطابق استاندارد شماره 1-6806، 2964 و 4791 مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران انجام شد. انجام کشت پورپلیت (Pure plate) و شمارش کلی در گوشت و فرآورده‌های آن طبق استاندارد شماره 9263 مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران صورت گرفت (26-23).

تأثیر فیلم خوراکی تولید شده روی pH گوشت: گوشت‌ها اعم از پوشش‌دار و بدون پوشش در روزهای تعیین شده از یخچال خارج و پس از جدا کردن فیلم‌خوراکی از گوشت، pH گوشت طبق استاندارد ملی 1028 توسط pHمتر اندازه‌گیری شد (27).

تجزیه و تحلیل آماری: آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و در سه تکرار انجام شد. آنالیز واریانس نتایج نیز با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن و در سطح اطمینان 95 درصد انجام شد.

• یافته‌ها

خاصیت ضدمیکربی فیلم‌خوراکی در محیط آگار: افزودن اسانس به فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز باعث خاصیت ضدمیکربی فیلم در برابر اشرشیاکلی و سودوموناس‌آئروژنس گردید و در اطراف فیلم رشد میکربی صورت نگرفت (P<0/05). نوع اسانس بر میزان ممانعت‌کنندگی فیلم در برابر اشرشیاکلی تأثیر معنی‌دار داشت و عملکرد اسانس لیموترش در کنترل اشرشیاکلی بهتر بود. با این‌حال نوع اسانس تأثیر معنی‌داری در خاصیت ضدمیکربی فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز در برابر سودوموناس‌آئورژنس نداشت (P>0/05). با افزایش غلظت هر یک از اسانس‌ها، خاصیت ضدمیکربی فیلم افزایش یافت. فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز حاوی اسانس در غلظت‌های 0/1 تا

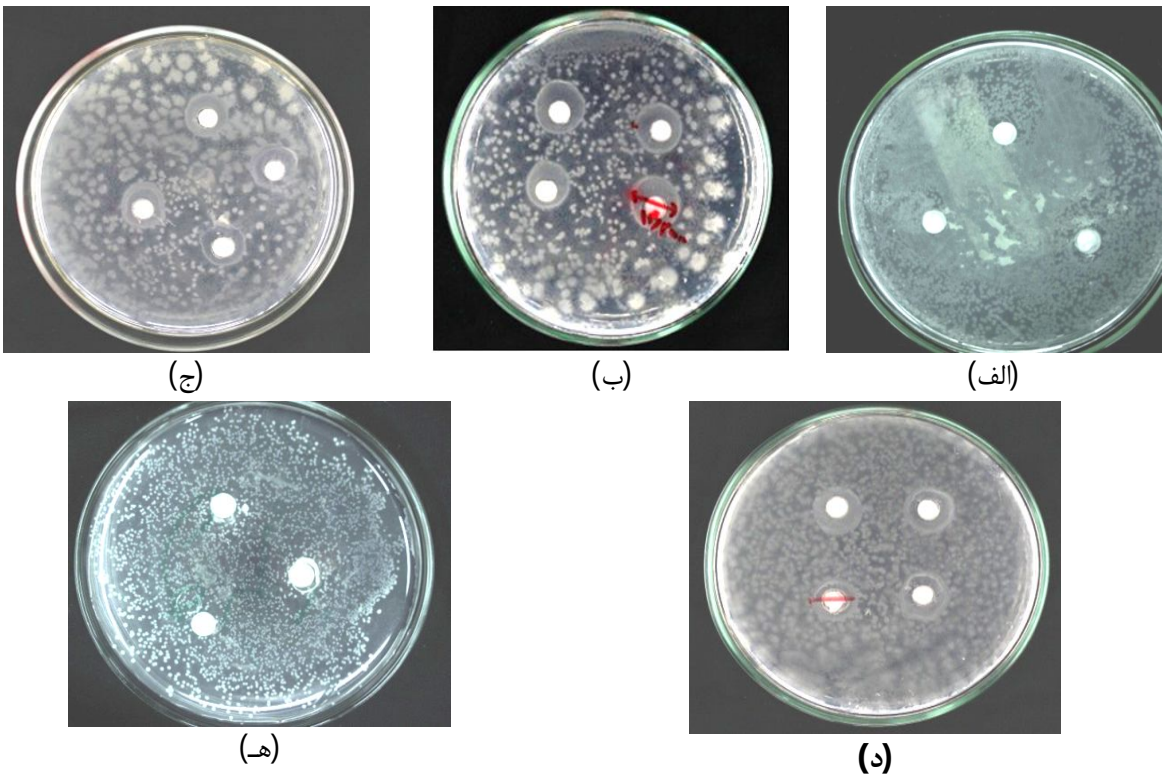
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

0/4درصد حجمی/حجمی اثر معنی‌داری بر استافیلوکوکوس‌اورئوس نداشت (شکل 1). اندازه هاله تشکیل‌شده توسط دیسک‌های فیلم CMC حاوی اسانس گشنیز و لیموترش در غلظت‌های مختلف هر یک از اسانس‌ها در جدول 1 نمایش داده شده است.

جدول 1. اندازه هاله ایجاد شده توسط فیلم CMC حاوی غلظت‌های مختلف اسانس گشنیز و لیموترش

نوع میکروارگانیسم	غلظت اسانس (درصد حجمی/حجمی)	هاله ایجاد شده توسط اسانس لیمو ترش (میلی متر)	هاله ایجاد شده توسط اسانس گشنیز (میلی متر)
سودوموناس ائورژنز	0	0	0
سودوموناس ائورژنز	0/1	11/375±0/8^{d*}	11/475± 1^{d}
سودوموناس ائورژنز	0/2	12/750±1/07^{cd}	13/675±2^{bc}
سودوموناس ائورژنز	0/3	14/450±0/5^{b}	14/875±1/2^{ab}
سودوموناس ائورژنز	0/4	14/975±0/4^{ab}	16± 0/9^{a}
E.coli$O_{157}H_7$	0	0^{e}	0^{e}
E.coli $O_{157}H_7$	0/1	11/90±0/5^{d}	14/30±0/3^{bc}
E.coli $O_{157}H_7$	0/2	13/825±0/3^{c}	14/60±0/5^{bc}
E.coli $O_{157}H_7$	0/3	15/30± 1/1^{b}	15/150± 1/6^{b}
E.coli $O_{157}H_7$	0/4	16/775±0/2 ^{a}	17/450± 0/4 ^{a}
استافیلوکوکوس ارئوس	0	0	0
استافیلوکوکوس ارئوس	0/1	0	0
استافیلوکوکوس ارئوس	0/2	0	0
استافیلوکوکوس ارئوس	0/3	0	0
استافیلوکوکوس ارئوس	0/4	0	0

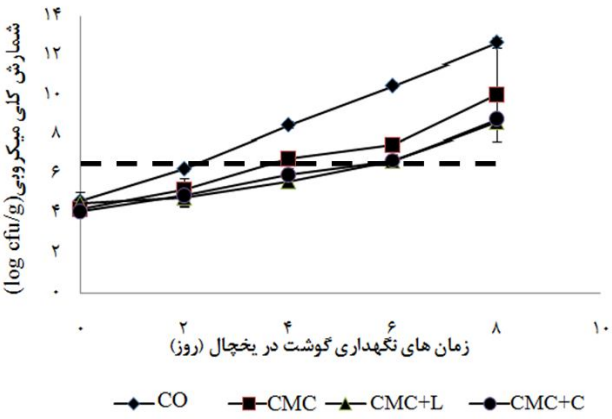
*حروف مشترک نشانه عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف در سطح 5 درصد است.



شکل 1. نمایش تأثیر فیلم CMC الف) بدون اسانس بر اشرشیاکلی ب) 0/2% v/v اسانس گشنیز بر اشرشیاکلی ج) 0/2% v/v اسانس لیمو ترش بر اشرشیاکلی د) 0/3% v/vدرصد اسانس لیموترش بر روی سودوموناس آئورژنس هـ) 0/4% v/vاسانس گشنیز برروی استافیلوکوکوس اورئوس

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

خاصیت ضد میکربی فیلم خوراکی روی فلور میکربی گوشت: بر اساس جداول آنالیز واریانس و نتایج آماری در نمونه‌های پوشش‌داده‌شده با فیلم CMC حاوی اسانس، به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه‌های دارای فیلم CMC فاقد اسانس شمارش کلی میکروب‌ها (Total count)کمتر بود (P<0/05). به‌طوری که میانگین بار میکربی گوشت پوشش‌داده‌شده با فیلم حاوی اسانس لیموترش 6/0553، فیلم حاوی اسانس گشنیز 6/1193، فیلم فاقد اسانس6/7447 و در گوشت بدون پوشش logcfu/g 8/5347 بود. علی‌رغم این‌که تأثیر اسانس لیموترش در کنترل بار میکربی بهتر بود، تفاوت بین دو اسانس معنی‌دار نبود. زمان نگهداری گوشت در یخچال در شمارش کلی میکروبی گوشت تأثیر معنی‌داری داشت (P<0/05). با گذشت زمان شمارش کلی میکربی در گوشت‌های فاقد فیلم‌خوراکی با سرعت زیادی افزایش یافت، اما این روند افزایشی در گوشت پوشش‌داده‌شده با فیلم و به‌ویژه فیلم حاوی اسانس به‌طور معنی‌داری کمتر بود (شکل 2).



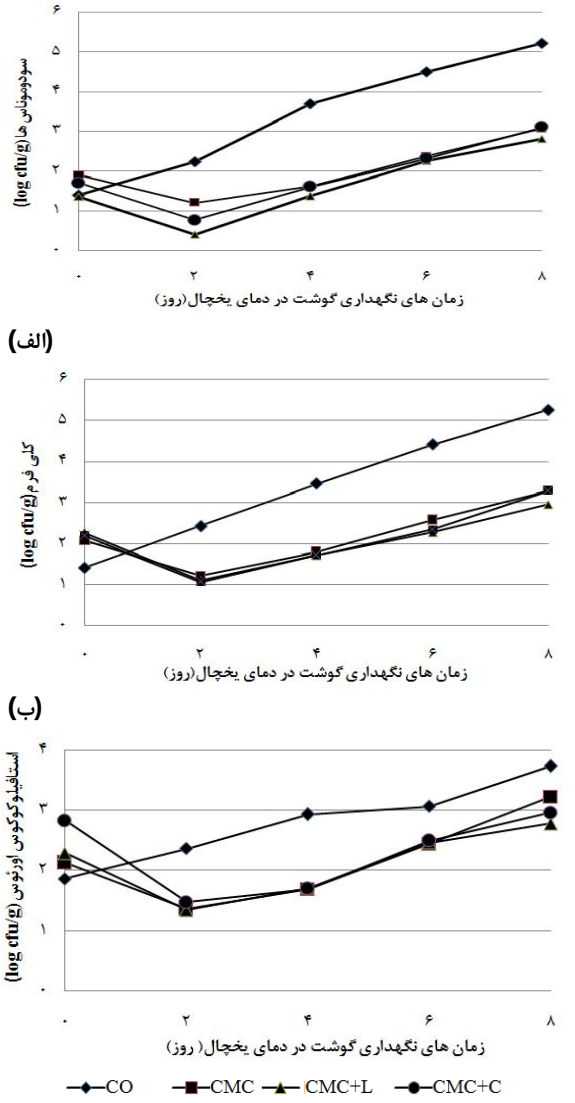
شکل2. اثر نوع فیلم خوراکی طی زمان نگهداری بر شمارش کلی میکربی گوشت تازه گوسفند

CO: گوشت فاقد پوشش .CMC: گوشت پوشش‌داده شده با فیلم CMC فاقد اسانس. CMC+L: گوشت پوشش‌داده شده با فیلم CMC حاوی 0/4% v/v اسانس لیموترش. CMC+C: گوشت پوشش‌داده شده با فیلم CMC حاوی 0/4% v/v اسانس گشنیز. (- - - : حداکثر میزان مجاز بار میکربی کل)

هم‌چنین شمارش باکتری‌های سودوموناس‌ها نشان داد تعداد این میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های دارای فیلم CMC به‌طور معنی‌داری کمتر از نمونه شاهد بود (P<0/05). مقایسه بین فیلم‌های حاوی اسانس لیموترش و گشنیز نشان داد، اسانس لیموترش اثر ضدمیکربی بهتری نسبت به اسانس گشنیز داشت. اما این اختلاف معنی‌دار نبود (شکل 3-الف).

زمانی که فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز حاوی اسانس گشنیز روی محیط کشت سودوموناس‌ائورژنس اعمال شد خاصیت ضدمیکروبی نشان داد اما این فیلم روی سودوموناس‌های گوشت تأثیر معنی‌داری نداشت.

در مورد اثر فیلم CMC روی اشرشیاکلی، نتایج هیچ تفاوت معنی‌داری را بین نمونه‌های دارای پوشش CMC حاوی اسانس و فاقد اسانس نشان نداد. اما بین نمونه‌های حاوی پوشش کربوکسی‌متیل‌سلولز و نمونه شاهد تفاوت در سطح 5 درصد معنی‌دار بود (شکل3-ب).



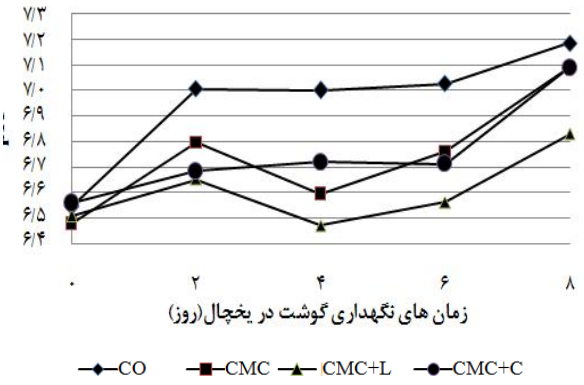
شکل 3. تأثیر نوع پوشش در طی زمان نگهداری در یخچال بر شمارش کلی الف) سودوموناس‌ها ب) کلی‌فرم‌ها ج) استافیلوکوکوس در گوشت تازه گوسفند.

CO: گوشت فاقد پوشش .CMC: گوشت پوشش‌داده شده با فیلم CMC فاقد اسانس. CMC+L: گوشت پوشش‌داده شده با فیلم CMC حاوی 0/4% v/v اسانس لیموترش. CMC+C: گوشت پوشش‌داده شده با فیلم CMC حاوی 0/4% v/v اسانس گشنیز.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

همان‌طور که پیش‌تر توضیح داده شد، حضور اسانس در فیلم خوراکی تأثیر معنی‌داری بر استافیلوکوکوس‌اورئوس تلقیح‌شده به آگار نداشت. چنین نتایج مشابهی در مورد استافیلوکوکوس‌های موجود در گوشت نیز حاصل شد. با این حال تفاوت بین تعداد استافیلوکوکوس‌های گوشتی پوشیده شده با فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز و گوشت فاقد پوشش در سطح 5 درصد معنی‌دار بود.

بررسی اثر فیلم خوراکی روی pH گوشت: آنالیز واریانس و نتایج آماری نشان داد pH در نمونه‌های حاوی فیلم CMC به طور معنی‌داری کمتر از نمونه شاهد بود (P<0/05). مقایسه بین pH گوشت دارای فیلم CMC با و بدون اسانس نشان داد، پوشش‌های دارای اسانس لیموترش به‌طور معنی‌داری دارای pH کمتری هستند. تفاوت pH نمونه پوشش‌داده شده با فیلم بدون اسانس و حاوی اسانس گشنیز در سطح 5 درصد معنی‌دار نبود (شکل 4).



شکل 4. pH گوشت تازه گوسفند در طی زمان نگهداری در یخچال تأثیر نوع پوشش بر

• بحث

خاصیت ضدمیکربی فیلم‌خوراکی در محیط آگار: حضور فیلم‌های کربوکسی‌متیل‌سلولز حاوی اسانس مانع رشد اشرشیاکلی شد. Fazilahو همکاران (2006) اعلام کردند که فیلم خوراکی آلژینات-نشاسته حاوی 0/1 تا 0/4 درصد اسانس علف لیمویی در برابر اشرشیاکلی دارای خاصیت ضدمیکربی بود (28). محققین دیگر نیز فیلم‌های خوراکی حاوی اسانس پونه، آویشن، برگ‌لیمو و دارچین، عصاره انگور و سیر را مانع رشد اشرشیاکلی عنوان کردند (30، 29، 16).

همچنین فیلم‌های CMC حاوی اسانس از رشد سودوموناس‌آئروژنس نیز جلوگیری کردند. این مطالب بیان‌گر این است که ترکیبات ضدمیکربی از فیلم به محیط کشت مهاجرت و از رشد میکروارگانیسم جلوگیری می‌کنند.

با این حال حضور اسانس‌ها در فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز تأثیر معنی‌داری بر رشد استافیلوکوکوس‌اورئوس نداشت، همسو با یافته‌های این مطالعه Seydim و همکاران (2006) تأثیر معنی‌داری در خصوص اسانس رزماری در فیلم پروتئین آب‌پنیر جهت کنترل رشد استافیلوکوکوس اورئوس گزارش نکردند. آنها دلیل احتمالی این مسئله را غلظت پایین اسانس‌های به کار رفته در فیلم به منظور ممانعت استافیلوکوکوس‌اورئوس دانستند (20). احتمالاً در این پژوهش نیز همین امر صادق بوده است. مغایر با یافته‌های مطالعه حاضر Oussalah و همکاران (2004) گزارش کردند که ترکیب 1 درصد اسانس پونه کوهی در فیلم پروتئین آب پنیر در کنترل اشرشیاکلی و سودوموناس‌های موجود بر سطح گوشت گاو مؤثر است (12). Pelissari و همکاران (2009) حداقل غلظت مؤثر اسانس پونه کوهی را برای ممانعت در برابر استافیلوکوکوس‌اورئوس 2% محلول فیلم پروتئین آب‌پنیر اعلام کردند (13). مطالعه هایونی و همکاران (2008) نیز نشان داد اسانس مریم گلی در شرایط آزمایشگاهی، اثرات ضدمیکربی معنی‌داری علیه گونه‌های سودوموناس و استافیلوکوکوس نداشت. آنها بیان داشتند، در بروز خصوصیات ضدمیکربی اسانس‌ها در گوشت و سایر محصولات عواملی همچون دمای نگهداری، نوع بسته‌بندی، میزان اکسیژن، میزان و نوع میکروارگانیسم‌های سطحی و نیز عواملی همچون میزان چربی، پروتئین و شرایط فیزیکوشیمیایی محصول دخالت دارند (31). با این حال Ahmad و همکاران (2012) تأثیر ضدمیکربی فیلم ژلاتین ماهی حاوی اسانس برگ‌لیمو را بر باکتری‌های گرم منفی (اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی‌موریم) کمتر از باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریامنوسیتوژنس) عنوان کردند. آنها دلیل این امر را حضور غشای خارجی اضافی در باکتری‌های گرم منفی اعلام کردند (10). Arrieta و همکاران (2013) نیز فیلم کازئینات کلسیم و سدیم حاوی کارواکرول مانع باکتری‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس‌اورئوس و سودوموناس‌آئروژینوس دانستند (9). مکانسیم فعالیت ضدمیکربی اسانس‌های روغنی علاوه بر حمله این ترکیبات به فسفولیپیدهای موجود در دیواره سلولی و متعاقباً افزایش نفوذپذیری و نشت سیتوپلاسم و خروج ATP (4) به عوامل دیگری نیز وابسته است؛ تفاوت بین ترکیبات فنلی اسانس (این امر نیز خود وابسته به واریته گیاه، اقلیم، زمان برداشت و شرایط ذخیره‌سازی است) موجب تغییر در عملکرد انواع اسانس می‌شود (32) به علاوه واکنش بین ترکیبات مختلف اسانس و آنزیم‌های دیواره سلولی (29) از

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

دیگر نکات مؤثر بر عملکرد ضدمیکربی این ترکیبات است. Hosseini و همکاران (2009) طبیعت و ویژگی‌های ساختاری ماتریکس حامل اسانس روغنی و نحوه ساخت آن را نیز بر ویژگی‌های ضدمیکربی فیلم مؤثر دانسته‌اند (11).

خاصیت ضدمیکربی فیلم خوراکی روی فلور میکروبی گوشت: فیلم CMC با و بدون اسانس باعث کاهش شمارش کلی میکرب‌های گوشت شد. از آن‌جایی که فیلم CMC جاذب الرطوبه است با کاهش فعالیت آبی به‌طور معنی‌داری امکان رشد را از میکرب‌ها می‌گیرد. فیلم CMC دارای اسانس گشنیز یا لیموترش نسبت به فیلم بدون اسانس به دلیل در مورد اثر بخشی بیش‌تر فیلم حاوی اسانس بر فلور میکروبی گوشت نیز باید گفت دلیل این امر به خاصیت ضدمیکروبی اسانس‌ها و آزادی تدریجی آنها از فیلم طی زمان نگهداری گوشت در یخچال برمی‌گردد. Pohlman و همکاران (2009) نیز فیلم ژلاتینی حاوی لاکتات‌پتاسیم را در کاهش باکتری‌های استیک گوشت گاو مؤثر دانستند (33).

در استاندارد ملی ایران شماره 2394 میزان حداکثر میکروارگانیسم‌های مجاز 10^6 در گرم یا سانتی‌متر مربع، میزان اشرشیا کلی 50 در گرم، میزان استافیلوکوکوس‌های کواگولاز مثبت 5×10^5 بیان شده است (34). به این ترتیب در حالی که در گوشت بدون پوشش بعد از دو روز شمارش میکربی کل به بالای حد استاندارد رسید، این زمان در گوشت قرمز پوشش داده شده با اسانس به حدود 6 روز افزایش یافت (شکل 2).

مقایسه بین تعداد سودوموناس‌های موجود در گوشت دارای فیلم CMC و بدون پوشش نشان داد به علت جاذب‌الرطوبه بودن CMC و جذب آب گوشت و کاهش فعالیت آبی، متعاقباً رشد میکرب‌ها کاسته می‌شود (35) نتایج بخش قبل نشان داد اسانس‌های گشنیز و لیموترش نسبت به سودوموناس‌ها خاصیت ضدمیکروبی دارند. اما زمانی‌که فیلم CMC حاوی اسانس گشنیز روی گوشت کشیده شد اثر ضدمیکروبی معنی‌داری نداشت که علت آن می‌تواند تفاوت مقاومت گونه‌های مختلف سودوموناس به ترکیبات ضدمیکروبی باشد (29).

اثر فیلم‌خوراکی روی pH گوشت: pH نمونه‌های دارای فیلمCMC کمتر از نمونه شاهد بود. در گوشت با گذشت زمان بافت توسط فعالیت آنزیمی میکروارگانیسم‌های گوشت تخریب می‌شود، این تخریب بافت با تجزیه ترکیبات پروتئینی و تولید ترکیبات ازته همراه است که این ترکیبات باعث افزایش pH گوشت می‌شوند (37، 36). حضور فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز با یا بدون اسانس روی گوشت با کاهش بار میکربی روند تخریب بافت گوشت را کندتر ساخت. در این میان pH گوشت دارای فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز-اسانس لیموترش به‌طور معنی‌داری کمتر از گوشت پوشیده شده با فیلم حاوی اسانس گشنیز بود تنفس گوشت و فعالیت میکربی باعث تولید دی‌اکسیدکربن می‌شود، Bifani و همکاران (2009) با تحقیق در مورد نفوذپذیری به گازها در فیلم‌های کربوکسی‌متیل‌سلولز حاوی عصاره گیاهی به این نتیجه رسیدند که نوع و غلظت عصاره به کار رفته در پوشش‌ها بر نفوذپذیری این فیلم‌ها نسبت به گاز دی‌اکسیدکربن مؤثر است. حضور برخی ترکیبات (مانند اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی) در فیلم خوراکی می‌تواند باعث کاهش یا افزایش انحلال دی‌اکسیدکربن در فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز شده و به این ترتیب نفوذپذیری فیلم به این گاز را تحت تأثیر قرار دهد (38). به نظر می‌رسد حضور اسانس روغنی گشنیز و لیموترش در فیلم‌خوراکی و به‌ویژه اسانس لیموترش نفوذپذیری به گاز دی‌اکسیدکربن را کاهش داده و متعاقباً باعث افزایش غلظت گاز دی‌اکسیدکربن در بسته شده است که این افزایش غلظت گاز با کاهش pH همراه است که به نوبه خود می‌تواند بر روی کاهش فلور میکربی گوشت نیز مؤثر باشد.

اثر زمان نگهداری گوشت روی pH در سطح 5 درصد معنی‌دار بود، که این امر ناشی از آزادی تدریجی ترکیبات ضدمیکروبی از فیلم بود. در ابتدا تعداد میکروارگانیسم ها از میزان غلظت ترکیب ضدمیکروبی بیشتر بود لذا از روز 0 تا روز 2 شاهد افزایش pH گوشت در راستای فعالیت میکروارگانیسم‌ها بودیم، اما از روز دوم به بعد با افزایش غلظت ماده ضدمیکروبی و دی‌اکسیدکربن حاصل از تنفس گوشت رفته‌رفته بیش‌تر شده و متعاقباً میکروارگانیسم‌ها کم‌تر شده‌اند و تجزیه ترکیبات ازته نیز در گوشت کاهش می‌یابد، بدین‌ترتیب pH گوشت با سرعت کمتری بالا می‌رود.

در مجموع می‌توان گفت فیلم حاوی اسانس، به‌ویژه اسانس پوست لیموترش، پتانسیل خوبی در کاهش بار میکربی گوشت گوسفند داشت، ضمن این‌که افزایش pH و تخریب بافت گوشت طی دوران نگهداری را به تعویق می‌اندازد. در نتیجه فیلم کربوکسی‌متیل‌سلولز حاوی اسانس لیموترش می‌تواند به عنوان یک پوشش اقتصادی و مؤثر و در عین حال زیست‌تخریب‌پذیر در افزایش زمان ماندگاری گوشت در دمای یخچال پیشنهاد شود.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

References

1. Cardenas FC, Giannuzzi L, Zaritzkay NE. Mathematical modeling of microbial growth in ground beef from Argentina.Effect of lactic acid addition, temperature and packaging film. Meat Sci 2008; 79: 509-20.

2. Zinoviadou K, Koutsoumanis KP, Biliaderis CG. Physical and thermomechanical properties of whey protein isolate films containing antimicrobial, and their effect against spoilage flora of fresh beef. Food Hydrocoll 2010; 24: 49-59

3. Pinheiro AC, Bourbon AI, Quintas MA., Coimbra MA, Vicente AA. K-carrageenan/chitosan nanolayered coating for controlled release of a model bioactive compound. Innov Food Sci & Emer Tech 2012; 16: 227–232.

4. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. Int J Food Microbiol 2004; 94(3), 223-253.

5. Meshkani M, Mortazavi A, Pourfallah Z. Antimicrobial and physical properties of a chickpea protein isolate-based film containing essential oil of thyme using response surface methodology. Iranian J Nutr Sci Food Tech 2013; 8(1): 93-104 [in Persian].

6. Buonocore GG, Del Nobilr M, Panizza A, Battaglia G, Nicolais L. Modeling the lysozime release kinetics from antimicrobial films intented for food packaging applications. J Food Sci 2003; 68(4): 1365-70.

7. Coma V. Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. Meat Sci 2008; 78: 90-103.

8. walsh, HM, Kery JP. Meat packaging. Meat processing improving quality. London: Wood head & CRC press 2002: 417-43.

9. Arrieta MP, Peltzer MA, Garrigós MC, Jiménez A. Structure and mechanical properties of sodium and calcium caseinate edible active films with carvacrol. J Food Eng 2013; 114: 486–94.

10. Ahmad M, Benjakul S, Prodpran T, Agustini TW. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. Food Hydrocoll 2012; 28:189-99.

11. Hosseini MH, Razavi SH, Mousavi MA. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. J Food Process and Preserv 2009; 33: 727–43.

12. Oussalah M, Caillet S, Salmiéri S, Saucier L, Lacroix M. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. J Agric Food Chem 2004; 52(18): 5598-5605.

13. Pelissari FM, Grossmann MVE, Yamashita F, Pineda EAG. Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. Journal of Agric Food Chem 2009; 57(16): 7499-7504.

14. Atares L, Jesus C, Talens P, Chiralt A. Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. J food Eng 2010; 99: 384-91.

15. Sánchez-González L, González-Martínez C, Chiralt A, Cháfer M. Physical and antimicrobial properties of chitosan–tea tree essential oil composite films. J Food Eng 2010; 98: 443-52.

16. Sivarooban T, Hettiarachchy NS, Johnson MG. Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. Food Res Int 2008; 41(8): 781-85.

17. Dadalioglu I, Evrendilek G. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (Origanum minutiflorum), bay laurel (Laurus nobilis), Spanish lavender (Lavandula stoechas L.), and fennel (Foeniculum vulgare) on common foodborne pathogenesis. Journal of Agric Food Chem 2004; 52(26): 8255-60.

18. Ghanbarzadeh B, Almasi H. Physical properties of edible emulsified based on carboxymethyl cellulose and oleic acid. Int j Biol Macromolecules 2011; 48: 44-49.

19. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of Diagnostic Microbiology. 4th ed. Philadelphia: W.B. Sunder. company, 2011. p. 182-276.

20. Seydim AC, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Res Int 2006: 39(5): 639-44.

21. Lillard HS. Comparison of sampling methods and implications for bacterial decontamination of poultry carcasses by rinsing. J Food Prot 1988: 51: 405-408.

22. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination-Part 2: specific rules for the preparation. ISIRI no 8923-2. 1st revision, Karaj: ISIRI; 2006 [in Persian].

23. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Microbiology of food and animal feeding stuffs – Enumeration of coagulase – Positive staphylococci (staphylococcus aureus and other species) – Test method Part 1 :Technique using baird – parker agar medium. ISIRI no 6806-1. 2nd revision, Karaj: ISIRI; 2005 [in Persian].

24. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Specification and test methods for egg yolk powder. ISIRI no 2964. 2nd revision, Karaj: ISIRI; 1994 [in Persian].

25. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Meat and Meat products - Enumeration of pseudomonas Spp. ISIRI no 4791. Karaj: ISIRI; 1999 [in Persian].

26. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony-count technique. ISIRI no 9263. 1st revision, Karaj: ISIRI; 2007 [in Persian].

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

27. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Meat and meat products – Measurement of pH – Reference test method. ISIRI no 1028. 1st revision, Karaj: ISIRI; 2007 [in Persian].

28. Fazilah A, Maizura M, Norziah MH. Antimicrobial Activity And Physical properties of Sago starch – Alginate edible film incorporate with lemon grass essential oil. National Conference Food Science & Nutrition, University of Malaysia Sabah, 13-14 December 2006: 32-37

29. Emiroglu Z K, Yemis GP, Coskun BK, Candogan K. Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. Meat Sci 2010; 86(2): 283-288.

30. Rojas-Graü MA, Avena-Bustillos RJ, Olsen C, Friedman M, Henika PR, Martín-Belloso O, et al. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginateapple puree edible films. J Food Eng 2007; 81(3): 634-641.

31. Hayouni EA, Chraief I, Abedrabba M, Bouix M, Leveau JY, Mohammed H and et al. Tunisian *Salvia officinalis L.* and *Schinus molle L.* essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. Int J Food Microbiol 2008; 125: 242–251.

32. Zivanovic S, Chi S, Draughon AF. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. J Food Sci 2005; 70: M45–M51.

33. Pohlman FW, Brown Jr AH, Dias-Morse PN, McKenzie LM, Rojas TN, Mehall LN, Evaluation of Potassium Lactate Incorporated Gelatin Coating as an Antimicrobial Intervention on Microbial Properties of Beef Steaks. Arkansas Animal Science Department Report 2007; AAES Res Series 574: 117-119.

34. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Microbiology red meat - Carcasses, minced red meat - Specifications and test methods. ISIRI no 2394. 1st revision, Karaj: ISIRI; 2007 [in Persian].

35. Sayanjali S, Ghanbarzadeh B, Ghiassifar S. Evaluation of antimicrobial and physical properties of edible film based on carboxymethyl cellulose containing potassium sorbate on some mycotoxigenic Aspergillus species in fresh pistachios. LWT-Food sci and technol 2011; 44: 1133-38.

36. Kennedy C, Buckley DJ, Kerry JP. Influence of different gas compositions on the short-term, storage stability of mother-packaged retailready lamb packs. Meat Sci 2005; 69: 27–33.

37. Jouki M, Khazaei N. Effects of Storage Time on Some Characteristics of Packed Camel Meat in Low Temperature. Int J Anim Vet Adv 2011; 3(6): 460-64.

38. Bifani V, Ramırez C, Ihl M, Rubilar M, Garcıa A, Zaritzky N. Effects of murta (Ugni molinae Turcz) extract on gas and water vapor permeability of carboxymethylcellulose-based edible films.. LWT-Food sci and technol 2007; 40: 1473–81.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

Antimicrobial Properties of CMC-based Edible Films Incorporated with Coriander and Citrus Lemon Essential oils on the Shelf-life of Fresh Lamb-meat at Refrigerator Temperature

Sedaght N[1], Mohammad-Hosseini M[2], Khoshnoudi-nia S[2], Habibi MB[3], Koocheki A[4]*

*1. *Corresponding author: Associate Prof, Dept.of Food Science, College of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran*
E-mail: sedaghat@um.ac.ir
2. M.Sc Graduate in Food Science, College of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran
3. Prof, Dept.of Food Science, College of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran
4 . Associate Prof, Dept.of Food Science, College of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

Received 15 May, 2014 **Accepted 7 Aug, 2014**

Background and Objectives: Microbial spoilage of meat and meat products leads to the development of off-odors, tissue breakdown, economic damages, and toxic effects to humans**.** The objective of this study was to assess the microbial properties and efficacy of coriander and lemon oils incorporated with carboxymethyl-cellulose (CMC) to minimize the presence of pathogenic-bacteria in lamb meat.

Materials and Methods: CMC films containing coriander and lemon oil (0, 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4%v/v film solution) were prepared. Antimicrobial properties of the films were investigated on *Staphylococcus-aureus*, *Escherichia* coli, and *Pseudomonas-aeruginosa* on agar medium. CMC films with 0.4% essence or without essence were wrapped around the meats and stored at 4±1°C for 8 days. The coated and uncoated samples were analyzed periodically to determine microbiological properties (total bacteria count, *Coliform*, *Staphylococcus.spp* and *Pseudomonas.spp*) and pH.

Results: Both films containing essence had antimicrobial effects on the nutrient-agar medium against the *Escherichia*coli and *Pseudomonas-aeruginosa*, while they had no anti-microbial effects on *Staphylococcus-aureus*. As compared with the control samples, significant decrease was observed in total count bacteria, *coliform*, *Staphylococcus.spp* and *Pseudomonas.spp* in lamb meat samples treated with CMC films ($p<0.05$). The anti-microbial effect of lemon oils on *Pseudomonas.spp* was significantly greater than coriander. The CMC films with or without essence caused a decrease in pH of the meat samples.

Conclusion: The CMC films enriched with essence, especially lemon essence, delayed tissue breakdown, and increases the pH by reducing the bacterial growth. Therefore, use of citrus lemon film as an economical and biodegradable coating has a good potential for increasing the shelf-life of lamb meat at the refrigerator temperature.

Keywords: Carboxymethyl cellulose, Coriander essence, Lamb meat, Lemon essence, Shelf-life

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]