مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال سیزدهم، شماره 1، بهار 1397، صفحات 84-75

اثر فیلم‌های PLA حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز بر برخی خصوصیات میکروبی و شیمیایی گوشت چرخ کرده گوساله

فاطمه عشقی‌نژاد[1،2]، افشین آخوندزاده بستی[3]، علی خنجری[4]، پریوش خسروی[1]، نسیم شاویسی[5]، نسرین طیار هشتجین[6]

1- دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
2- دامپزشک گروه صنایع غذایی فارسی، تهران، ایران
3- نویسنده مسئول: استاد گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. پست الکترونیکی: aakhond@ut.ac.ir
4- استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
5- استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
6- کارشناس گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران

تاریخ دریافت: 95/11/21 تاریخ پذیرش: 96/4/4

چکیده

سابقه و هدف: با افزایش میزان تولید مواد غذایی، نیاز به نگهداری جهت رساندن مواد غذایی سالم و با کیفیت به دست مصرف‌کنندگان احساس می‌شود. یکی از مهمترین دلایل بسته بندی پیشگیری از رشد میکروارگانیسم های عامل فساد و بیماریزا در مواد غذایی می باشد. این تحقیق با هدف مطالعه تأثیر فیلم‌های پلی لاکتیک اسید (PLA) حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز بر برخی خصوصیات میکروبی و شیمیایی گوشت چرخ‌کرده گوساله انجام شد.

مواد و روش‌ها: جهت مطالعه اثر ضدمیکروبی PLA حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز، کشت میکروبی نمونه‌ها برای موارد شمارش کلی باکتری‌های هوازی، سایکروتروف‌ها، کلیفرم‌ها و استافیلوکوکوس اورئوس در 7 زمان مختلف یعنی روزهای 0، 1، 2، 3، 4، 6 و 8 صورت گرفت. همچنین جهت مطالعه اثر فیلم‌ها بر میزان ازت فرار کل گوشت چرخ کرده گوساله، آزمایشات مورد نظر، در روزهای مشابه آزمون میکروبی صورت گرفت.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که شمارش کلی باکتری‌های هوازی، سایکروتروف‌ها، کلیفرم‌ها و استافیلوکوکوس ارئوس در نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم PLA حاوی غلظت 0/8% اسانس زیره سبز به صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کمتر بود (P<0/05). همچنین، با افزایش غلظت اسانس در فیلم PLA، اثر ضدمیکروبی بصورت معنی‌داری افزایش یافت (P<0/05). همچنین نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم-های PLA حاوی غلظت‌های مختلف اسانس در طول مطالعه نسبت به نمونه‌های شاهد مقادیر پایین‌تری از ازت فرار کل نشان دادند (P<0/05) و بطور کلی روند وابسته به غلظت در اثر افزودن اسانس مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان چنین نتیجه گرفت که استفاده از فیلم PLA حاوی غلظت 0/8 درصد اسانس زیره سبز، روشی مناسب برای افزایش مدت زمان ماندگاری گوشت چرخ‌کرده گوساله حداقل به مدت 8 روز در دمای یخچال می‌باشد بدون آنکه فساد میکروبی و شیمیایی در آن مشاهده شود.

واژگان کلیدی: فیلم، PLA، اسانس زیره سبز، خصوصیات میکروبی و شیمیایی، گوشت چرخ کرده گوساله

• مقدمه

گوشت به دلیل ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی خاصی که دارد (فعالیت آبی، pH و مواد مغذی) به فساد میکروبی بسیار حساس است. رایج‌ترین روش نگهداری گوشت، نگهداری در یخچال است. در این شرایط امکان رشد میکروارگانیسم‌های مختلف به ویژه میکروارگانیسم‌های سرمادوست بیماری‌زا و مولدِ فساد فراهم می‌باشد (۱،۲). باکتری های سرماگرا جزو مهم‌ترین باکتری‌های عامل فساد گوشت هستند. همچنین از مهم‌ترین باکتری‌های بیماری‌زایی که می‌توانند از طریق گوشت به انسان منتقل شوند می‌توان به گونه‌های مختلف سالمونلا، استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کلی O157:H7 و لیستریا مونوسیتوژنز اشاره نمود (3). با توجه به افزایش بیماری‌های منتقله از مواد غذایی ناشی از عوامل بیماری‌زای مختلف و همچنین تلاش برای کاهش فساد مواد غذایی در

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-13]

کارخانجات صنایع غذایی موجب شده است تا تکنولوژی‌های نوین و مکمل نگهداری مورد بررسی قرار گیرد (4).

یکی از مهم‌ترین تکنولوژی‌هایی که در این زمینه توجه زیادی را به خود معطوف کرده است، بسته‌بندی فعال حاوی مواد ضدمیکروبی می‌باشد. مطالعات مختلف نشان داده است که با استفاده از این نوع بسته‌بندی می‌توان بار میکروبی مواد غذایی را کاهش و متعاقباً کیفیت محصول، تازگی و مدت زمان ماندگاری آن را افزایش داد (5). کاربرد پلی‌مرها در بسته‌بندی مواد غذایی به سایر ویژگی‌های کاربردی آن‌ها نظیر استحکام مکانیکی بالا، شفافیت و بازدارندگی در مقابل عبور نور ماوراءبنفش و اکسیژن بستگی دارد (7، 6). یکی از مهم‌ترین این پلی‌مرها، پلی‌لاکتیک اسید PLA (Polylactic acid) می‌باشد. پلی‌لاکتیک اسید، پلی‌استری ترموپلاستیک با زنجیر خطی است که از منابع تجدیدپذیر تولید می‌شود. اسیدلاکتیک به عنوان مونومر تشکیل‌دهندهٔ آن، از تخمیر مواد اولیهٔ گیاهی از جمله ذرت به دست می‌آید. پلی‌لاکتیک اسید از ویژگی‌های مطلوبی مانند استحکام مکانیکی بالا، شفافیت و بازدارندگی در مقابل عبور نور ماوراء بنفش برخوردار است. همچنین استفاده از آن به عنوان مادهٔ در تماس با مواد غذایی، از سوی سازمان غذا و داروی آمریکا مجاز شمرده شده است (8).

از طرف دیگر کاربرد اسانس‌های گیاهی و عصاره‌های طبیعی در مواد غذایی خام به خصوص مواد غذایی فرآوری‌شده به عنوان جایگزین مناسبی برای مواد نگهدارنده سنتتیک و افزودنی‌های شیمیایی افزایش یافته است (9). اسانس‌ها مایعات روغنی معطری هستند که از قسمت‌های مختلف گیاهان نظیر دانه، ریشه، جوانه، برگ، پوست، شاخه، غنچه و گل تهیه می‌شوند که به آن‌ها روغن‌های فرار، روغن‌های اتری و یا روغن‌های اسانسی هم می‌گویند. نقش اسانس‌ها در کنترل عوامل فساد و بیماری‌زا، توکسین‌های تولید شده توسط آن‌ها و افزایش طول مدت نگهداری غذاها قابل توجه است (11، 10). جنس زیره سبز (*Cuminum*) گیاهی است یک ساله، معطر، بدون کرک، ساقه علفی با انشعابات دوتایی و گاهی سه تایی که ارتفاع آن 10 تا 50 سانتی‌متر است. در طب سنتی مردم ایران، از این گیاه برای درمان ورم و نفخ معده، قولنج‌های شدید اطفال، بیماری‌های انگلی، اسهال و همچنین به منظور تحریک اشتها استفاده می‌شود (12). بنابراین به دلیل خواص متعدد دارویی، اسانس این گیاه از نظر ترکیبات تشکیل‌دهنده و اثرات دارویی توسط محققان مختلف مطالعه شده است (14-12). تاکنون مطالعات مختلفی در رابطه با تهیه فیلم‌های ضدمیکروبی زیست تخریب پذیر حاوی اسانس‌ها انجام شده و در حال انجام است ولی مطالعات اندکی در رابطه با فیلم PLA حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز در دنیا صورت گرفته است. به همین دلیل هدف از این تحقیق، مطالعه اثر فیلم PLA حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز (0، 0/45 ، 0/6 و 0/8%حجمی/حجمی) بر خصوصیات میکروبی و شیمیایی گوشت چرخ کرده گوساله در مدت 8 روز نگهداری در دمای یخچال (دمای 4 درجه سانتی‌گراد) بود.

• مواد و روش‌ها

تهیه اسانس زیره سبز و آنالیز ترکیبات شیمیایی آن: گیاه زیره سبز از حوالی شهر کرمان در فصل تابستان 1394 جمع‌آوری شد و نام علمی گیاه توسط پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تأیید شد. اسانس‌گیری به روش تقطیر با بخار آب از دانه‌های گیاه صورت گرفت و سپس توسط دستگاه رنگ‌نگار گازی متصل به طیف‌سنج جرمی GC/MS (Gas Chromatography/ Mass Spectrophotometer) (Thermo-Quest Finnigan/ آمریکا) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بدین منظور دستگاه ستون مویینه HP5 به طول 30 متر و قطر داخلی 250 میکرون و ضخامت لایه داخلی 0/25 میکرون مورد استفاده قرار گرفت. بدین جهت از برنامه دمایی50 تا 256°C، با افزایش تدریجی 2/5°C در دقیقه و در نهایت نگه‌داری ستون در دمای 265°C به مدت 30 دقیقه استفاده شد. دمای اتاقک تزریق 250°C و گاز حامل آن، هلیم بود که با سرعت 1/5 میلی‌متر بر دقیقه از لوله عبور می‌کرد. اجزای اسانس به ترتیب زمان استخراج بر مبنای انرژی یونیزاسیون، به کمک شناساگر FID با ظرفیت الکتریکی 70 الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون 250°C مورد شناسایی قرار گرفت (15).

تهیه فیلم PLA : مقدار 10 گرم از PLA (دانسیته: 1/3g/cm^3، وزن مولکولی: 197000g/mol، FkuR kunststoffm GmbH, Germany,) در 500 میلی‌لیتر کلروفرم به مدت 8 ساعت با همزن مغناطیسی هم زده شد، مقادیر مورد نظر از اسانس (0، 0/45 ، 0/6 و 0/8 % حجمی/حجمی) به محلول مذکور اضافه شد و به مدت 2 دقیقه با دور 11000 دور بر دقیقه با هموژنایزر (Wise Tis HG-15D) هموژن شد. ماده به دست آمده روی قالب‌های شیشه‌ای ریخته شد. بعد از بخار شدن حلال در دمای اتاق، فیلم‌های تهیه شده از قالب‌ها جدا و به مدت یک روز در آون با دمای حدود 40 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا باقیمانده حلال، که ممکن است نقش پلاستیسایزری داشته باشد، به طور کامل حذف شود (16).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-13]

آماده‌سازی نمونه‌های گوشت چرخ کرده: گوشت گوساله از کشتارگاه خریداری و در شرایط کاملاً استریل و در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس در شرایط استریل قطعه قطعه کرده و توسط دستگاه چرخ گوشت استریل چرخ گردید (17). پس از آن، با استفاده از مدل ساندویچ، یعنی قراردادن میزان 80 گرم گوشت در بین دو فیلم بسته بندی گوشت‌ها صورت گرفت. در نهایت نمونه‌ها داخل کیسه مخصوص Stomacher استریل (شرکت Interscience، فرانسه) و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. ویژگی‌های میکروبی و شیمیایی نمونه‌های مختلف در فواصل روزهای صفر، 1، 2، 3، 4، 6 و 8 بررسی شد.

بررسی میکروبی نمونه‌ها: جهت مطالعه اثر ضدمیکروبی فیلم‌ها، کشت میکروبی نمونه‌ها برای موارد شمارش کلی باکتری‌های هوازی (پلیت کانت آگار، PCA (Plant Count Agar): دمای 30 درجه سانتی‌گراد به مدت 72 ساعت)، سایکروتروف‌ها (PCA: دمای 10 درجه سانتی‌گراد به مدت 7 روز)، کلیفرم‌ها VRBA ((Violet Red Bile Agar): دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت و استافیلوکوکوس اورئوس (Baird Parker Agar: دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت) در 7 زمان مختلف یعنی روز 0 (ابتدای مطالعه) ، روز 1، روز 2، روز 3، روز 4، روز 6 و روز 8 (انتهای مطالعه) انجام گرفت. لازم به ذکر است نمونه‌ها در دمای یخچالی مناسب (4 درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند (18).

بررسی شیمیایی نمونه‌ها: به منظور بررسی شیمیایی نمونه‌ها شاخص مواد ازته فرار TVB-N (Total volatile base nitrogen) بر اساس روش بیان شده توسط AOAC (1995) صورت گرفت (19).

آنالیز آماری: این مطالعه با سه بار تکرار انجام گرفت. با انجام آزمایشات مختلف میکروبی و شیمیایی روی نمونه‌های فیلم PLA حاوی اسانس زیره سبز، داده‌ها در نرم افزار اکسل ثبت گردید. برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه 16 استفاده شد و مقدار P کمتر از 0/05 از نظر آماری معنی‌دار لحاظ گردید. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای بررسی اختلاف معنی‌دار میان شرایط تیمار و کنترل استفاده شد. از آزمون آماری دانکن برای مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها در سطح 0/05 استفاده شد. جهت بررسی روند تغییرات ویژگی‌های شیمیایی, میکروبی در تیمارها از آزمون Reapeted measure استفاده شد. در این حالت طراحی فاکتوریل با استفاده از دو پارامتر اصلی (اسانس زیره سبز در چهار غلظت 0، 0/45 ، 0/6 و 0/8% حجمی/حجمی و مدت زمان نگهداری در 7 سطح 0، 1، 2، 3، 4، 5، 6، 7 و 8 روز) به کار گرفته شد.

• یافته‌ها

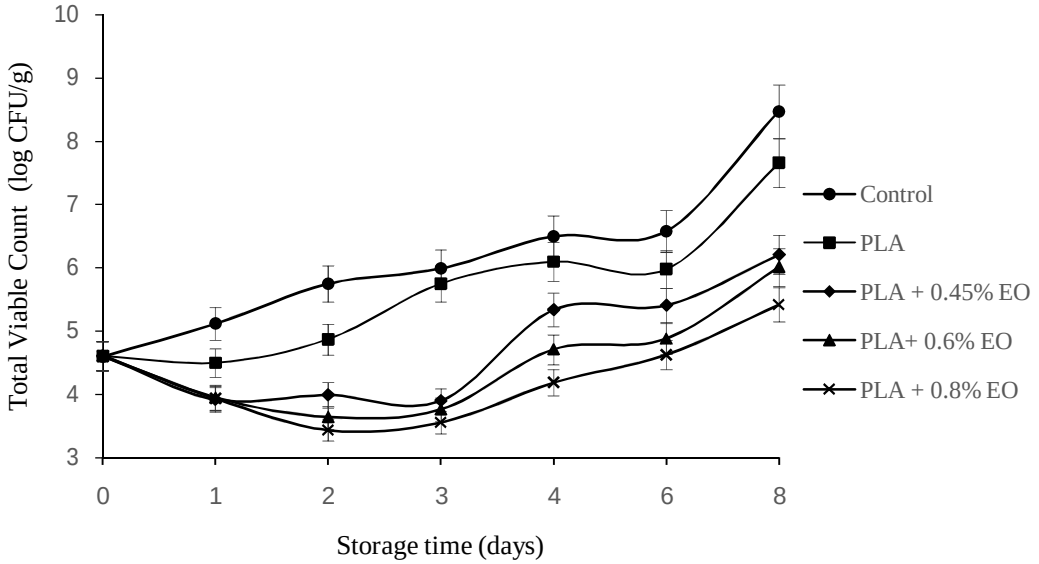
آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس زیره سبز: همان گونه که در جدول 1 نشان داده شده است، بیشترین ترکیبات اسانس زیره سبز شامل بیلرگون (71/47%)، 2-متیل-3-فنیل پروپانال (61/26%)، 1-ایزوپروپیلیدن-3-ان-بوتیل-2-سیکلوبوتن (81/9%)، گاما-ترپینن (41/5%)، اورتو-سیمن (31/2%)، کارواکرول (86/1%)، 2-بتاپینن (57/1%) و همچنین 3-سیکلوپنتین سیکلوپنتان یک (1%) بود.

بررسی میکروبی و شیمیایی نمونه‌های گوشت چرخ کرده گوساله بسته‌بندی شده با فیلم PLA: نتایج شمارش کلی باکتری‌های هوازی (TVC)، سایکروتروف‌ها، کلیفرم‌های مدفوعی و استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت در گوشت چرخ کرده گوساله بسته‌بندی شده با فیلم PLA حاوی اسانس زیره سبز (0، 0/45 ، 0/6 و 0/8% حجمی/حجمی) (ضخامت فیلم‌ها 0/02±082/0 میلی‌متر) در حین نگهداری در دمای یخچالی در طی 8 روز در شکل‌های 1 تا 4 نشان داده شده است. نتایج این مطالعه نشان داد تعداد باکتری‌های مذکور در نمونه‌های گوشت چرخ کرده بسته‌بندی شده با فیلم PLA حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زیره نسبت به گروه شاهد به صورت معنی‌داری کمتر می‌باشد (P<0/05). همچنین، در بین فیلم‌های مختلف بیشترین اثر ضدمیکروبی مربوط به فیلم PLAحاوی 0/8% اسانس زیره سبز بود. در مورد باکتری‌های مزوفیل هوازی، در روز صفر مطالعه جمعیت باکتری‌های گروه کنترل log CFU/g 4/6 بود که در پایان دوره نگهداری (روز 8) به log CFU/g 8/45 رسید (شکل 1). در این گروه در روز 6 مطالعه تعداد باکتری‌ها به حدود log CFU/g 7 (حد پیشنهاد شده برای شروع فساد در گوشت گوساله) رسید. شمارش کلی این دسته از باکتری‌ها در تیمارهای گوشت چرخ کرده بسته‌بندی شده با فیلم PLA حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز نشان داد که تا روز سوم مطالعه میزان این دسته از باکتری‌ها کمتر از روز شروع مطالعه بود که حاکی از اثر معنی‌دار فیلم‌های حاوی اسانس زیره سبز بر شمارش میکروبی نمونه‌ها بود (p<0/05). همچنین، مشخص گردید در روزهای مختلف شمارش کلی نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم‌های حاوی اسانس به‌صورت معنی‌داری کمتر از نمونه‌های بسته‌بندی نشده با فیلم یا بسته‌بندی شده با فیلم فاقد اسانس بود (p<0/05).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-13]

جدول 1. آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس زیره سبز با GC-MS

Compound	RT (min)	Hit Name	area (%)
1	6.04	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	0/03
2	6.26	α-Pinene	0/06
3	7.642	Sabinene	0/12
4	7.75	2-β-Pinene	1/56
5	8.32	β-Myrcene	0/16
6	8.813	1-Phellandrene	0/21
7	9.311	α-Terpinene	0/06
8	9.645	o-Cymene	2/31
9	9.809	β-Phellandrene	0/11
10	9.886	1,8-Cineole	0/04
11	11.129	γ-Terpinene	5/41
12	11.457	trans-Sabinene hydrate	0/06
13	12.813	cis-Sabinene hydrate	0/17
14	12.967	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	0/10
15	13.856	cis-2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl) cis-	0/06
16	14.682	cis-P-2-Menthen-1-ol	0/03
17	15.853	Borneol	0/08
18	16.382	4-Terpineol	0/37
19	16.87	Carvol	0/04
20	17.034	α-Terpineol	0/24
21	17.147	3-Cyclopentylcyclopentan-1-one	1/00
22	17.548	1,3-Cyclohexadiene, 2-methyl-5-(1-methylethyl) monoepoxide	0/03
23	17.841	2-Cyclohexen-1-ol, 3-methyl-6-(1-methylethyl) trans-	0/03
24	19.679	Propanal, 2-methyl-3-phenyl-	26/61
25	20.531	Geraniol	0/44
26	21.235	1-Cyclohexene-1 carboxaldehyde, 4-(1-methylethyl)	0/05
27	21.769	1-Isopropylidene-3-n-butyl-2-cyclobutene	9/81
28	22.426	Bilergon	47/71
29	22.863	Carvacrol	1/86
30	23.885	1,4-Cyclohexadiene-1-methanol, 4-(1-methylethyl)	0/31
31	24.203	3,5-Heptadienal, 2-ethylidene-6-methyl-	0/03
32	25.836	□-Cadinene	0/03
33	27.325	trans-Caryophyllene	0/06
34	29.323	diepi-α-Cedren I	0/11
35	31.675	cis-α-Bisabolene	0/04
36	32.748	(+) spathulenol	0.03
37	32.882	(-)-Caryophyllene oxide	0.17
38	33.324	Carotol	0.13
39	34.679	Bicyclo[4.4.0]dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene-	0.05
		Sum	99.73

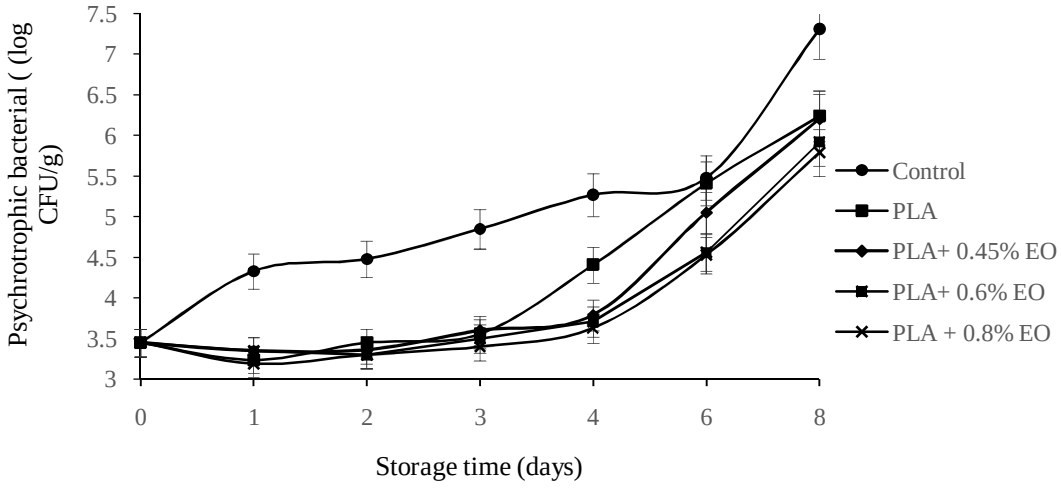


شکل1. تغییرات در شمارش کلی باکتری‌ها در گوشت چرخ کرده طی نگهداری در دمای یخچالی

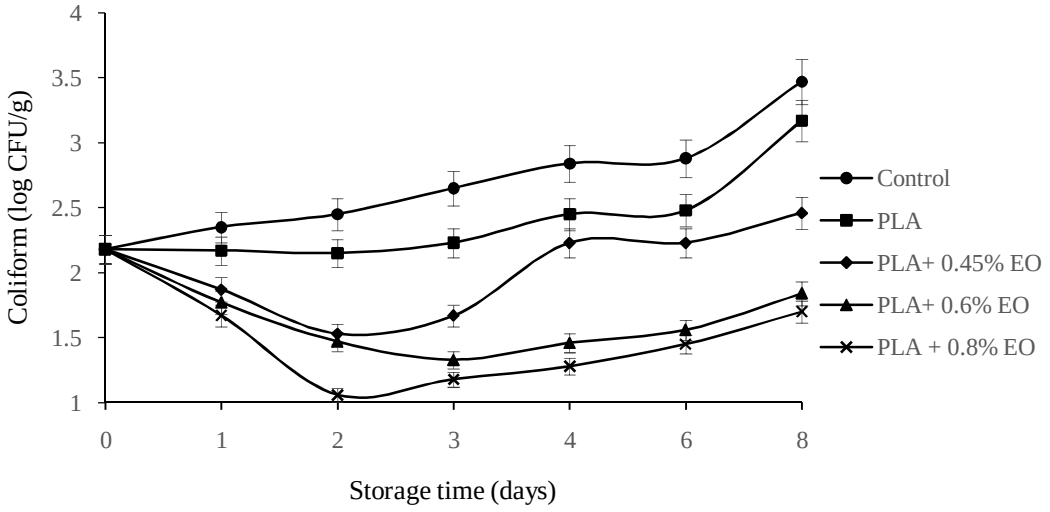
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-13]

نتایج استفاده از فیلم PLA حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زیره علیه باکتری‌های سایکروتروف به عنوان مهمترین دسته از باکتری‌های موثر در ایجاد و پیشرفت فساد میکروبی در گوشت قرمز در شکل 2 ارائه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، بطورکلی شمارش باکتری‌های سرماگرا از 45/3 log CFU/g در روز صفر آزمون، به 31/7 log CFU/g، 24/6 log CFU/g، 20/6 log CFU/g، 92/5 log CFU/g و 79/5 log CFU/g به ترتیب در تیمارهای شاهد و گوشت چرخ کرده بسته‌بندی شده با فیلم PLA حاوی اسانس زیره سبز (0 ، 0/45 ، 0/6 و 0/8% حجمی/حجمی) در روز هشتم آزمون رسید (p<0/05).

همان طور که در شکل 3 نشان داده شده است، شمارش کلیفرم‌های مدفوعی در تیمار شاهد و بسته‌بندی شده با فیلم PLA نسبت به نمونه‌های تیمار شده با فیلم PLA حاوی اسانس به صورت معنی‌داری بیشتر بود. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، تعداد باکتری‌های کلیفرم مدفوعی در گروه کنترل از 2/18 log CFU/g در روز صفر به 47/3 log CFU/g در روز 8 رسید. لازم به ذکر است، در گروهی که از اسانس 0/8% استفاده شده بود میزان رشد این دسته از باکتری‌ها در پایان روز 8 نگهداری تقریباً 2 لگاریتم کمتر از گروه کنترل بود. شمارش باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت نیز از 60/2 log CFU/g در روز صفر آزمون، به 69/5 log CFU/g، 97/4 log CFU/g، 66/4 log CFU/g، 4/44 log CFU/g و 4/06 log CFU/g به ترتیب در تیمارهای شاهد و گوشت چرخ شده بسته بندی شده با فیلم PLA حاوی اسانس زیره سبز (0 ، 0/45، 0/6 و 0/8% حجمی/حجمی) در روز هشتم آزمون رسید (p<0/05) (شکل 4).

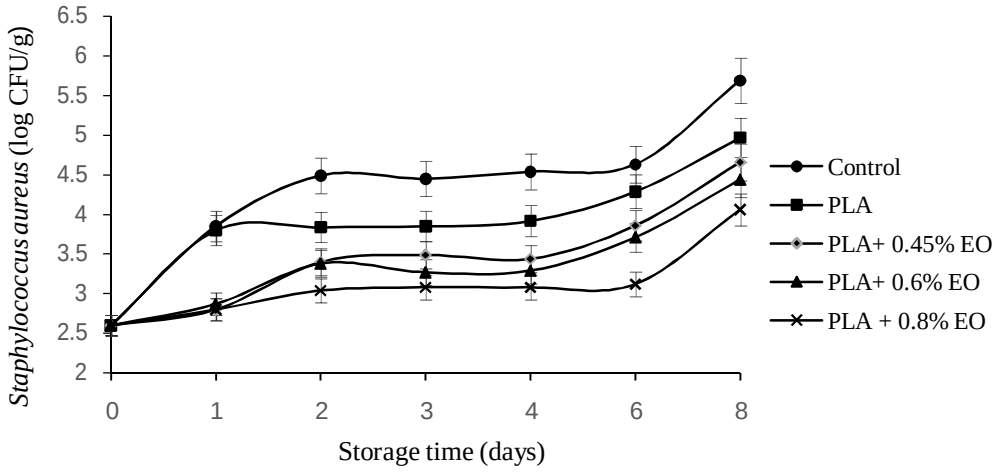


شکل2. تغییرات در شمارش باکتری های سایکروتروف در گوشت چرخ کرده طی نگهداری در دمای یخچالی



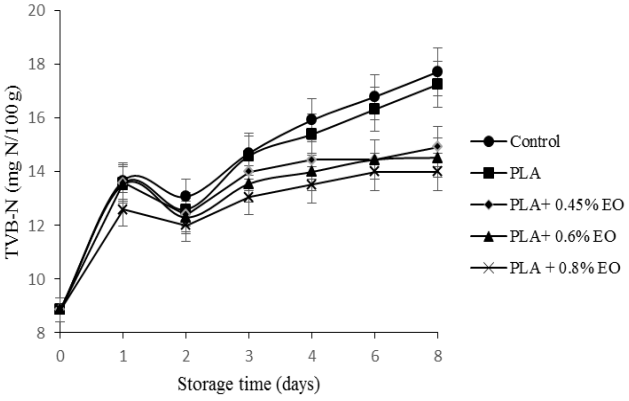
شکل3. تغییرات در شمارش کلیفرم‌ها در گوشت چرخ کرده طی نگهداری در دمای یخچالی

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-13]



شکل4. تغییرات در شمارش استافیلوکوکوس ارئوس در گوشت چرخ کرده طی نگهداری در دمای یخچالی

تغییرات میزان مواد ازته فرار در نمونه‌های گوشت چرخ کرده در شکل 5 نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، در تمامی روزها، مجموع بازهای نیتروژنی فرار، در کلیه تیمارها افزایش یافت ($p<0/05$). به‌طوری که این افزایش از 8/86 (در روز اول مطالعه) به 17/73، 17/26، 14/93، 14/53 و 14 (mg N/100g) (در روز آخر مطالعه) به ترتیب در تیمار شاهد و تیمارهای گوشت چرخ کرده بسته‌بندی شده با فیلم PLA بدون اسانس و 0/45% و 0/6% و 0/8% (حجمی/حجمی) اسانس زیره سبز در روز 8 آزمون رسید.



شکل5. تغییرات TVB-Nدر گوشت چرخ کرده طی نگهداری در دمای یخچالی

• بحث

همان گونه که در جدول 1 نشان داده شده است، بیشترین ترکیبات اسانس زیره سبز شامل بیلرگون (71/47%)، 2-متیل-3-فنیل پروپانال (61/26%)، 1-ایزوپروپیلیدن-3-ان-بوتیل-2-سیکلوبوتن (81/9%)، گاما-ترپینن (41/5%)، اورتو-سیمن (31/2%)، کارواکرول (86/1%)، 2-بتاپینن (57/1%) و همچنین 3-سیکلوپنتین سیکلوپنتان یک (1%) بود. لذا اثرات ضد میکروبی اسانس زیره سبز مورد استفاده در این مطالعه را می توان به ترکیبات فنلی موجود در این اسانس که دارای ویژگی ضد میکروبی می باشند نسبت داد. با توجه به اینکه ایران یکی از مهمترین مناطق رویش زیره سبز در دنیا محسوب می‌شود، مطالعات مختلفی ترکیبات شیمیایی موجود در این اسانس را مورد ارزیابی قرار داده‌اند. نتایج مطالعه توکلی و همکاران (2002) بر روی آنالیز اسانس زیره سبز نشان داد که مهم‌ترین ترکیبات موجود در زیره سبز شامل کومین آلدهید (09/21%)، گاما-ترپن (30/21%) و اورتو-سیمن (71/12%) بود (20). نتایج مطالعه محمدپور و همکاران بر روی آنالیز اسانس زیره سبز جمع آوری شده از کوه‌های البرز نشان داد که بیشترین ترکیبات موجود در آن شامل سیمونن (7/21%)، 1و8 سینئول (1/18%) و آلفا-پینن (2/29%) بود (19). از دلایل تفاوت در ترکیبات شیمیایی اسانس زیره سبز می‌توان به تفاوت در فاکتورهای متعددی از قبیل روش اسانس‌گیری، شرایط جغرافیایی، آب و هوا و فصل، گونه گیاه، سن آن و نحوه خشک کردن گیاه اشاره کرد. مطالعات مختلفی نشان داده اند که اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری گرم منفی بیشتر می باشد که علت آن را می توان به وجود غشای خارجی موجود در باکتریهای گرم منفی که محتوی لیپوساکاریدهای آبدوست می باشند، نسبت داد (22، 21).

نتایج این مطالعه نشان داد با استفاده از فیلم PLA حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زیره می‌توان رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی و سایکروتروف را به صورت قابل توجهی در گوشت چرخ کرده تازه نگهداری شده در یخچال به تاخیر

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-13]

انـداخت. بـاکتری‌هـای کلیفـرم مـدفوعی بـه عنـوان میکروارگانیسم‌های شاخص نیز بخشی از میکروفلور گوشت قرمز را تشکیل می‌دهند، بنابراین بررسی روند رشد آن‌ها در حین نگهداری گوشت قرمز در دمای یخچال ضروری می‌باشد (18). همان طور که در شکل 3 نشان داده شده است، شمارش کلیفرم‌های مدفوعی در تیمار شاهد و بسته‌بندی شده با فیلم PLA نسبت به نمونه‌های تیمار شده با فیلم PLA حاوی اسانس به صورت معنی‌داری بیشتر بود. بر اساس نتایج مطالعه حاضر، تعداد باکتری‌های کلیفرم مدفوعی در گروه کنترل از 2/18 log CFU/g در روز صفر به 47/3 log CFU/g در روز 8 رسید. لازم به ذکر است، در گروهی که از اسانس 0/8% استفاده شده بود میزان رشد این دسته از باکتری‌ها در پایان روز 8 نگهداری تقریباً 2 لگاریتم کمتر از گروه کنترل بود. شمارش باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت نیز از 60/2 log CFU/g در روز صفر آزمون، به log 69/5CFU/g، 97/4 log CFU/g، 66/4 log CFU/g، log 4/44 CFU/g و 4/06 log CFU/g به ترتیب در تیمارهای شاهد و گوشت چرخ شده بسته بندی شده با فیلم PLA حاوی اسانس زیره سبز (0، 0/45، 0/6 و 0/8% حجمی/حجمی) در روز هشتم آزمون رسید ($p<0/05$) (شکل 4).

اگرچه ویژگی‌های ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های گیاهی و ترکیبات ضدمیکروبی آن‌ها مشخص شده است ولی مکانیسم دقیق آن‌ها شناخته نشده است. با توجه به تعداد زیاد گروه‌های مختلف مواد شیمیایی حاضر در یک اسانس این احتمال وجود دارد که فعالیت ضدمیکروبی بر اساس یک مکانیسم خاص نیست و هدف‌های متعددی در سلول باکتری وجود دارد. بطور کلی با توجه به ماهیت آب‌گریز بودن ترکیبات شیمیایی اسانس‌های گیاهی، این ترکیبات موجب تغییر در غشای سلول‌های باکتریایی و میتوکندری شده و ساختار آن‌ها را نفوذپذیر می‌سازند (23). همچنین، ترکیبات شیمیایی فنولی موجود در اسانس می‌توانند آنزیم‌های باکتریایی را هیدرولیز نمایند و منجر به از بین رفتن نیروی محرک پروتونی، جریان الکترون، حمل و نقل فعال و انعقاد محتویات سلولی شود (24). اگرچه مقدار معینی از تروش ترکیبات داخل سلولی (در نتیجه آسیب از غشا) از سلول‌های باکتریایی می‌تواند بدون از دست رفتن امکان ادامه حیات تحمل شود، ادامه خروج محتویات سلولی یا خروج مولکول‌های حیاتی و یون‌ها به مرگ باکتری منجر خواهد شد. با این وجود، اثرات سینرژیک سایر ترکیبات غیرفنولی موجود در اسانس‌های گیاهی نظیر گاما-ترپینن، آلفا-پینن، بتا-پینن و او-سیمن را در بهبود مکانیسم عمل ترکیبات اصلی نباید نادیده گرفت، چراکه نشان داده شده است که میزان تاثیر اسانس به دست آمده از یک گیاه به مراتب بیشتر از ترکیباتی نظیر بیلرگون به تنهایی می‌باشد (18). بطورکلی، اثرات ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی بستگی به روش اسانس‌گیری، فاز رشد و میزان باکتری، نوع محیط کشت مورد استفاده، عوامل خارجی و داخلی مواد غذایی نظیر pH، چربی، پروتئین، آب، آنتی اکسیدان‌ها، مدت زمان و دمای نگهداری، روش بسته‌بندی و ساختار فیزیکی مواد غذایی دارد، به همین دلیل نتایج به دست آمده در مطالعات مختلف بعضاً متفاوت است (21). در زمینه مواد غذایی و پاتوژن‌های مهم، مطالعات کمی روی این اسانس صورت گرفته است. De و همکاران خواص ضدمیکروبی برخی از ادویه‌های هندی را مورد بررسی قرار داده و خاصیت ضدمیکروبی زیره سبز را علیه میکروب‌های مورد آزمایش (باسیلوس سوبتیلیس، اشریشیا کلی و ساکارومایسس سرویسیه) نشان دادند و مصرف آن به عنوان نگه‌دارنده غذایی ضدعفونی کننده مورد تأیید قرار گرفت (25). Nanasombat و Lohasupthawee نیز اثر 18 اسانس گیاهی مختلف را با روش دیسک دیفیوژن و MIC بر گونه‌های سالمونلا و چند گونه انتروباکتریاسه مورد بررسی قرار دادند که در این میان اسانس زیره سبز پس از اسانس گیاه میخک و کفیر بیشترین هاله عدم رشد را بر باکتری‌های مزبور نشان داد. همچنین اسانس زیره سبز به همراه اسانس میخک با کمترین میزان MIC (42/0 درصد) رشد گونه‌های باکتری مورد آزمایش را متوقف کردند (26). در مطالعه Masood Ahmed Chaudhry و همکاران نیز اثرات ضد باکتریایی عصاره گیاهان شبکور، زیره سبز و خشخاش با روش دیسک دیفیوژن بر علیه 188 گونه باکتریایی از جمله باسیلوس سوبتیلیس، ساکارومایسس سرویسیه و اشریشیا کلی مورد بررسی قرار گرفت که در این میان عصاره گیاه زیره سبز بیشترین تأثیر مهاری (73%) را بر باکتری‌ها نشان داد (27). نتایج مطالعه صادقی و همکاران نشان داد که اسانس زیره سبز حاوی 02/29% کومین آلدهید، 70/20% آلفا-ترپینن و همچنین 94/12% گاما-ترپینن می‌باشد. همچنین، این محققین نشان داده شد افزودن میزان 30 µl/100ml اسانس زیره سبز میزان رشد استافیلوکوکوس اورئوس را در پنیر طی 75 روز از نگهداری نسبت به گروه شاهد به صورت معنی‌داری کاهش می‌دهد (28).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-13]

مطالعات بسیار محدودی در زمینه بررسی خواص ضدمیکروبی فیلم پلی‌لاکتیک اسید به همراه اسانس‌های گیاهی در مواد غذایی و به خصوص در فرآورده‌های گوشتی صورت گرفته است. Woraprayote و همکاران خواص ضدلیستریایی پوشش پلی‌لاکتیک اسید را به همراه پدیوسین در گوشت خوک ورقه شده بررسی و گزارش کردند که پوشش پلی‌لاکتیک اسید به همراه پدیوسین می‌تواند به عنوان یک پوشش زیست تخریب پذیر علیه باکتری لیستریا مونوسیتوژنز در گوشت خوک و سایر مواد غذایی با رطوبت بالا مورد استفاده قرار گیرد. نتایج این مطالعه نشان داد خشک کردن و حرارت دادن موجب افزایش تأثیر ضدلیستریایی پوشش پلی‌لاکتیک اسید نمی‌شود (29). در مطالعه دیگر González و همکاران ویژگی‌های فیزیکوشیمایی پوشش پلی‌لاکتیک اسید حاوی تیمول و پروتئین سویا و همچنین خواص ضدمیکروبی آن را علیه آسپرژیلوس، ساکارومایسز سرویسیه، اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس در شرایط آزمایشگاهی بررسی کرده و نشان دادند بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی اثر ضدمیکروبی معنی‌داری دارد. بطورکلی، به هنگام استفاده از فیلم‌های ضدمیکروبی باید تاثیر عوامل خارجی بر اثربخشی پلی‌لاکتیک اسید حاوی ترکیبات ضدمیکروبی هم مورد توجه قرار گیرد (29). همان طور که در بخش نتایج نشان داده شده است بهترین اثر در استفاده فیلم‌ها در روزهای اولیه اتفاق افتاد. به نظر می‌رسد این حالت به دلیل آزاد شدن ترکیبات فعال موجود در فیلم‌ها در روزهای اولیه تماس فیلم با گوشت گاو بود. به طورکلی انتشار مواد ضدمیکروبی به فیلم مورد استفاده (نوع و روش تهیه)، ماده غذایی، خصوصیات هیدروفوبی، شرایط نگهداری (دما و زمان) محصول و نوع و میزان ترکیب دارد. مهم‌ترین عامل در میزان رهایش ترکیبات میزان آب گریزی آن‌هاست (6).

اندازه‌گیری بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)، یک عامل کمی برای تعیین میزان آمونیاک و آمین‌های نوع اول، دوم و سوم در گوشت قرمز می‌باشد. افزایش این عدد نشان‌دهنده افزایش میزان فعالیت باکتری‌های مولد فساد و آنزیم‌های گوشت می‌باشد. تغییرات میزان مواد ازته فرار در نمونه‌های گوشت چرخ کرده در شکل 5 نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، در تمامی روزها، مجموع بازهای نیتروژنی فرار، در کلیه تیمارها افزایش یافت ($p<0/05$). به‌طوری که این افزایش از 8/86 (در روز اول مطالعه) به 17/73، 17/26، 14/93، 14/53 و 14 (mg N/100g) (در روز آخر مطالعه) به ترتیب در تیمار شاهد و تیمارهای گوشت چرخ کرده بسته-بندی شده با فیلم PLA بدون اسانس و 0/45% و 0/6% و 0/8% (حجمی/حجمی) اسانس زیره سبز در روز 8 آزمون رسید. به طورکلی، اسانس زیره سبز با کاهش جمعیت باکتریایی نمونه‌های گوشت میزان تجمع ترکیبات غیرپروتئینی نظیر آمونیاک و آمین‌های نوع اول، دوم و سوم را کاهش می‌دهند (30).

طبق نتایج این مطالعه مشخص شد استفاده از فیلم‌های PLA حاوی اسانس زیره سبز به صورت معنی‌داری زمان ماندگاری گوشت چرخ کرده گوساله را افزایش می‌دهد بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان چنین نتیجه گرفت استفاده از فیلم PLA حاوی غلظت‌های مختلف اسانس زیره سبز روشی مناسب برای افزایش مدت زمان ماندگاری گوشت چرخ‌کرده گوساله حداقل به مدت 8 روز در دمای یخچال می‌باشد بدون آنکه فساد میکروبی و شیمیایی در آن مشاهده شود. لذا در صورت تولید آن به صورت صنعتی می توان از بسته‌بندی‌های مذکور در صنایع گوشتی بهره برد. البته با توجه به نتایج به دست آمده، مشخص شد که اختلاف معنی‌داری بین فیلم‌های حاوی اسانس زیره سبز با غلظت‌های 0/6 و 0/8% در میزان خاصیت ضدمیکروبی آن‌ها وجود ندارد. پس به لحاظ صرفه اقتصادی استفاده از فیلم حاوی اسانس زیره سبز با غلظت 0/6% برای بسته بندی مواد غذایی ارجحیت دارد.

• References

1. Khanjari, A., Karabagias, I., and Kontominas, M. Combined effect of N, O-carboxymethyl chitosan and oregano essential oil to extend shelf life and control *Listeria monocytogenes* in raw chicken meat fillets. LWT-Food Sci. Technol. 2013; 53: 94-99.
2. Solomakos N, Govaris A, Koidis P, Botsoglou N. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef during refrigerated storage. Meat Sci. 2008; 80: 159-166.
3. Al-Holy MA, Al-Nabulsi A, Osaili TM, Ayyash MM, Shaker RR.Inactivation of *Listeria innocua* in brined white cheese by a combination of nisin and heat. Food Control 2012; 23: 48-53.
4. Petrou S, Tsiraki M, Giatrako V, Savvaidis L. Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-13]

modified atmosphere packaged chicken breast meat. Food Microbiol. 2012; 156: 264-271.

5. González A, Igarzabal CIA. Soy protein–Poly (lactic acid) bilayer films as biodegradable material for active food packaging. Food Hydrocolloids 2013; 33: 289-296.

6. Bohlmann, G.M. General characteristics, processabilities, industrial application and market evolution of biodegradable polymers. Int. hand book of biodegradable polymers 2005; 183-218.

7. Javier O, Mayra FV, Rutha PI, Sergio AT, Alfredo CO, Jaun M. Development and characterization of composite edible films based on whey protein isolate and mesquite gum, J. Food Eng. 2009; 92: 56-62.

8. Samsudin H, Soto-Valdez H, Auras R. Poly (lactic acid) film incorporated with marigold flower extract (*Tagetes erecta*) intended for fatty-food application. Food Control 2014; 46: 55-66.

9. Basiri S, Shekarforoush SS, Aminlari M, Akbari S. The effect of pomegranate peel extract (PPE) on the polyphenol oxidase (PPO) and quality of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during refrigerated storage. LWT-Food Sci. Technol. 2015; 60: 1025-1033.

10. Gómez-Estaca J, de Lacey AL, López-Caballero M, Gómez-Guillén M, Montero P. Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. Food Microbiol. 2010; 27: 889-896.

11. Shahbazi Y, Shavisi N, Mohebi E. Effects of *Ziziphora clinopodioides* essential oil and nisin, both separately and in combination, to extend shelf life and control *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in raw beef patty during refrigerated storage. J. Food Safety 2016; 36: 227-231.

12. Allahghadri T, Rasooli I, Owlia P, Nadooshan MJ, Ghazanfari T, Taghizadeh M, et al. Antimicrobial property, antioxidant capacity, and cytotoxicity of essential oil from cumin produced in Iran. J. Food Sci. 2010; 75: H54-H61.

13. Derakhshan S, Sattari M, Bigdeli M. Effect of cumin (*Cuminum cyminum*) seed essential oil on biofilm formation and plasmid Integrity of *Klebsiella pneumoniae*. Pharmacogn. Mag. 2010; 6: 57-58.

14. Hajlaoui H, Mighri H, Noumi E, Snoussi M, Trabelsi N, Ksouri R, et al. Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. essential oil: A high effectiveness against *Vibrio* spp. strains. Food Chem. Toxicol. 2010; 48: 2186-2192.

15. Azizkhani M, Misaghi A, Basti AA, Gandomi H, Hosseini H. Effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on growth and gene expression of enterotoxins A, C and E in *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. In. J. Food Microbiol. 2013; 163: 159-165.

16. Salmieri S, Islam F, Khan RA, Hossain FM, Ibrahim HM, Miao C, et al. Antimicrobial nanocomposite films made of poly (lactic acid)–cellulose nanocrystals (PLA–CNC) in food applications-part B: effect of oregano essential oil release on the inactivation of *Listeria monocytogenes* in mixed vegetables. Cellulose 2014; 21: 4271-4285.

17. Khanjari A, Misaghi A, Basti AA, Esmaeili H, Cherghi N, Partovi R. et al. Effects of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil, nisin, pH and temperature on *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 43996 and its thermostable direct hemolysin production. J. Food Safety 2013; 33: 340-347.

18. Jouki M, Yazdi FT, Mortazavi SA, Koocheki A, Khazaei N. Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. Int. J. Food Microbiol. 2014; 174: 88-97.

19. AOAC. 1995. Official methods of analysis (16th ed.). Arlington, VA, USA: Association of official analytical chemists.

20. Tavakkoli Zeinali A. The effect of irrigation cessation at different growth stages on yield and its components in safflower seed. M.Sc. Thesis, Tehran University 2002; 120 p. (in Persian).

21. Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. Int. J. Food Microbiol. 2004; 94: 223-253.

22. Babuskin S, Babu PAS, Sasikala M, Sabina K, Archana G, Sivarajan M, et al. Antimicrobial and antioxidant effects of spice extracts on the shelf life extension of raw chicken meat. Int. J. Food Microbiol. 2014; 171: 32-40.

23. Gyawali R, Ibrahim SA. Natural products as antimicrobial agents. Food Control 2014; 46: 412-429.

24. Shahbazi Y, Shavisi N, Mohebi E. Potential application of *Ziziphora clinopodioides* essential oil and nisin as natural preservatives against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* O157:H7 in commercial barley soup. J. Food Safety 2016; 36 (4): 435-441.

25. De M, De AK, Mukhopadhyay R, Banerjee AB, Miro YM. Antimicrobial activity of *Cuminum cyminum* L. Ars Pharm. 2003; 44: 257-269.

26. Nanasombat S, Lohasupthawee P. Antimicrobial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against *Salmonella* and other *Enterobacteria*. Iran. J. Sci. Technol. 2005; 5: 527-538.

27. Masood Ahmed Chaudhry N, Tariq P. *In vitro* antibacterial activities of kalonji, cumin and poppy seed. Pak. J. Bot. 2008; 40: 461-467.

28. Sadeghi E, Akhondzadeh Basti A, Noori N, Khanjari A, Partovi R. Effect of *Cuminum cyminum* L. essential oil and *Lactobacillus acidophilus* (a probiotic) on *Staphylococcus aureus* during the manufacture, ripening and storage of white brined cheese. J. Food Process. Pres. 2008; 37: 449-455.

29. Woraprayote W, Kingcha Y, Amonphanpokin P, Kruenate J, Zendo T, Sonomoto K, et al. Anti-listeria activity of poly (lactic acid)/sawdust particle biocomposite film impregnated with pediocin PA-1/AcH and its use in raw sliced pork. Int. J. Food Microbiol. 2013; 167: 229-235.

30. Nowzari F, Shabanpour B, Ojagh SM. Comparison of chitosan-gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chem. 2013; 141: 1667-1672.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-13]

Effect of PLA Films Containing Cumin Essential Oil on Some Microbial and Chemical Properties of Minced Beef Meat

Eshghinezad F[1,2], Basti A.A[3], Khanjari A[4], Khosravi P[1], Shavisi N[5], Tayyar Hashtjin N[6]

1- Doctor of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary medicine, University of Tehran, Iran.

2-Veterinarian of Farsi food industrial group, Tehran, Iran.

*3-*Corresponding author: Prof, Dept. of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Email: aakhond@ut.ac.ir*

4- Assistant Prof. Dept. of Food Hygiene and Quality Control,, Faculty of Veterinary medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

5-Assistant Prof. Dept. of Food Hygiene and Quality Control,, Faculty of Veterinary medicine, University of Razi, Kermanshah, Iran.

6-Expert of Dept. of Food Hygiene and Quality Control,, Faculty of Veterinary medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

Background and Objectives: Due to increasing food production, it seems necessary a healthy and appropriate food delivered to consumers. One of the most important reasons for packaging is to prevent the growth of spoilage and pathogenic microorganisms in food. The aim of this study was to investigate the effect of polylactic acid (PLA) films containing different concentrations of cumin essential oil on some microbial and chemical characteristics of minced beef meat.

Materials & Methods: In order to study the antimicrobial effect of PLA films containing different concentrations of cumin essential oil, samples were examined for total aerobic bacterial count, psychotropic bacteria, coliform and *Staphylococcus aureus* at different times, day 0, 1, 2, 3, 4, 6 and 8. In order to study the effect of films on total volatile nitrogen (TVB-N) of minced beef, the intended tests, were conducted on the same days of the microbial tests.

Results: The results of the present study indicated that total aerobic bacterial count, psychotropic, coliforms and *S. aureus* in samples packed with PLA films containing 0.8% cumin essential oil were significantly lower than control group ($P<0.05$). Moreover, increasing the essential oil concentration in PLA films significantly enhanced antimicrobial effect ($P<0.05$). The samples packed with PLA films containing different concentrations of essential oil had lower TVB-N contents compared to control ($P<0.05$) and generally a dose dependant trend was observed in the effect of adding cumin essential oils.

Conclusion: Based on our findings, the use of PLA films containing 0.8 % concentration of cumin essential oil could be a good method to keep minced meat during cold storage at least 8 days without any significant microbial and chemical spoilage.

Keywords: Film, PLA, Cumin essential oil, Chemical and microbial properties, Minced beef

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-13]