

کاربرد پوشش نانوکامپوزیتی کاپا-کاراگینان دارای اسانس آویشن شیرازی بر ماندگاری گوشت گوسفند در دمای ۴°C

سعیده شجاعی علی آبادی^۱، لیلا میرمقتدایی^۲

۱- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات علوم تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
 ۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات علوم تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: le_mirmoghtadaie@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۸/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۶/۲۳

چکیده

سابقه و هدف: فراورده‌های غذایی معمولاً در معرض آلودگی میکروبی قرار دارند که می‌توانند نه تنها منجر به فساد آنها در طول ماندگاری بلکه ایجاد بیماری در مصرف کننده شوند. پوشش‌های زیست تخریب پذیر ضد میکروبی راهکار مناسبی برای حفظ ماندگاری مواد غذایی هستند. در این مطالعه اثر پوشش‌های کاپا-کاراگینان، کاپا-کاراگینان-آویشن ۳٪ (ک-آویشن ۳)، کاپا-کاراگینان-نانورس (ک-نانو) و کاپا-کاراگینان-نانورس-آویشن (ک-نانو-آویشن ۳) بر زمان ماندگاری گوشت گوسفند در دمای ۴°C بررسی شد.

مواد و روش‌ها: فراورده‌های غذایی معمولاً در معرض آلودگی میکروبی قرار دارند که می‌توانند نه تنها منجر به فساد آنها در طول ماندگاری بلکه ایجاد بیماری در مصرف کننده شوند. لپوشش‌های زیست تخریب پذیر ضد میکروبی راهکار مناسبی برای حفظ ماندگاری مواد غذایی هستند. در این مطالعه اثر پوشش‌های کاپا-کاراگینان، کاپا-کاراگینان-آویشن ۳٪ (ک-آویشن ۳)، کاپا-کاراگینان-نانورس (ک-نانو) و کاپا-کاراگینان-نانورس-آویشن (ک-نانو-آویشن ۳) بر زمان ماندگاری گوشت گوسفند در دمای ۴°C بررسی شد.

یافته‌ها: بر اساس نتایج بدست آمده همه تیمارهای مورد بررسی توانستند ماندگاری را نسبت به نمونه کنترل (بدون پوشش) افزایش دهند اما بیشترین کارایی مربوط به پوشش ک-نانو-آویشن و سپس ک-آویشن ۳ بود که به ترتیب ماندگاری گوشت را به بیش از ۱۲ و ۱۵ روز افزایش دادند. یافته‌های ارزیابی حسی هم نشان داد که دو نمونه پوشش ک-نانو-آویشن و ک-آویشن ۳ دارای پذیرش کلی قابل قبولی بودند.

نتیجه‌گیری: می‌توان از پوشش‌های دارای اسانس آویشن شیرازی بعنوان پوشش خوراکی برای افزایش تا دو برابری زمان ماندگاری گوشت گوسفند در دمای ۴°C استفاده کرد.

واژگان کلیدی: پوشش ضد میکروبی، گوشت، کاپا-کاراگینان، اسانس آویشن شیرازی، نانوکامپوزیت

پیام‌های اصلی

- گوشت گوسفند پوشش داده شده با پوشش کاپا-کاراگینان نسبت به گوشت بدون پوشش ماندگاری بیشتری داشت
- افزودن نانورس به پوشش کاپا-کاراگینان سبب افزایش بیشتر ماندگاری گوشت گوسفند شد.
- افزودن اسانس آویشن ماندگاری به پوشش کاپا-کاراگینان حاوی نانورس زمان ماندگاری گوشت را تا دو برابر افزایش داد.

• مقدمه

با کیفیت بالاتر و عمر انبارمانی بیشتر رو به افزایش است. برآورده کردن مجموعه این نیازها از چالش‌های اصلی صنعت غذا محسوب

امروزه با وجود پیشرفت های نوین به منظور افزایش ایمنی و عمر انبارمانی فراورده های غذایی، همچنان نگرانی در مورد ایمنی غذا وجود دارد و تقاضا برای فراورده های غذایی ایمن تر،

میکروبی و اکسیداسیونی گوشت گوسفند در طول انبارمانی در دمای یخچالی انجام شد.

• مواد و روش‌ها

مواد مصرفی مورد استفاده در تولید فیلمهای کاپا-کاراگینان و آزمون‌های مربوط به آنها

کاپا-کاراگینان (شرکت ریکو، فیلیپین)، گلیسرول، توئین ۸۰ (شرکت مرک آلمان)، اسانس آویشن شیرازی تهیه شده با روش تقطیر با بخار دارای ترکیبات اصلی تیمول (۰/۴۸/۲)، کارواکرول (۰/۱۳) و پی-سیمن (۰/۸/۵)، طبق آنالیز GC-MS از شرکت باریج اسانس، استخراج و فرآوری کننده مواد موثره گیاهان دارویی) خریداری شدند. گوشت گوسفند که از کشتارگاه زیر نظر سازمان دامپزشکی کل کشور خریداری گردید. متانول، ۱-بوتانول، اتانول، معرف تیوباربیوریک اسید (TBA)، اکسید منیزیم، اسید بوریک، متیل رد و اسید سولفوریک که همه مواد شیمیایی از شرکت مرک تهیه شدند. نانورس (مونت‌مورینولیت) با اندازه ذرات ۲۰-۵۰ نانومتر و سطح ویژه $750 \text{ m}^2/\text{g}$ استفاده شد.

آماده سازی گوشت

میزان ۲۵ کیلوگرم گوشت گوسفند نر، تهیه و بلافاصله به آزمایشگاه دانشکده تغذیه و صنایع غذایی منتقل گردید و بعد گذراندن جمود نعی قطعات 5×4 سانتیمتر با وزن حدوداً ۲۵ گرم از آن تهیه گردید.

تهیه محلول پوششی از کاپا-کاراگینان

برای تهیه پوشش کاپا-کاراگینان روش Park (۱۹۹۶) با انجام اصلاحات لازم بکار رفت (۶). بطور خلاصه، محلول ۰/۱ کاپا-کاراگینان در آب مقطر تهیه شد و در 82°C حل شد. پس از ۱۵ دقیقه گلیسرول (۰/۵ وزنی/وزنی پلیمر) افزوده شد. محلول حاصله برای تهیه پوشش کنترل بکار رفت. برای تهیه پوشش دارای اسانس، اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) با ترکیبات اصلی تیمول (۰/۴۸) و کارواکرول (۰/۱۳) به مقدار ۳ درصد (حجمی/حجمی) به محلول کاپا-کاراگینان افزوده شد. قبل از افزودن اسانس، توئین ۸۰ به عنوان امولسیفایر اضافه گردید. پس از افزودن اسانس آویشن محلول‌ها به مدت سه دقیقه با هموژنایزر (IKAT25-Digital Ultra ساخت کشور آلمان) هموژنایز شد. برای تهیه محلول دارای نانورس ابتدا محلول نانورس با غلظت دو برابر مقدار موردنظر (بر حسب وزن کاپا-کاراگینان) با افزودن نانورس به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر و همزدن آن به مدت ۲۴ ساعت در

شده که منجر به توسعه روشهای جدید نگهداری مانند فشار بالا، پرتودهی و بسته بندی فعال گردیده است (۱).

تکنولوژی بسته بندی فعال بعنوان نوعی از بسته بندی که شرایط بسته را با هدف افزایش عمر انبارمانی و بهبود ایمنی یا ویژگی‌های حسی تغییر دهد درحالیکه کیفیت غذا حفظ شود، شناخته می شود (۲).

آویشن شیرازی با نام علمی *Zataria multiflora* دارای اثر ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی قابل توجه است که امروزه اسانس و عصاره آن بعنوان نگهدارنده‌های برای استفاده در مواد غذایی از جمله بسته بندی‌های فعال مورد توجه قرار گرفته اند.

نگرانی از آلودگی‌های زیست محیطی پلیمرهای سنتزی منجر به افزایش توجه به بیوپلیمرها در بسته بندی مواد غذایی بصورت فیلم یا پوشش شده است از جمله کاراگینان که پلی-ساکارید بدست آمده از جلبک قرمز رودوفیسه آ با توانایی تشکیل فیلم شفاف با ویژگی‌های مناسب مکانیکی و بازدارندگی است. اما همچنان یکی از معایب فیلم‌های بیوپلیمری نفوذپذیری بالای آنها به بخار آب است که ناشی از ماهیت آبدوست آنها می باشد که این امر در کنار ضعیف بودن ویژگی‌های مکانیکی آنها نسبت به پلیمرهای سنتزی محدودیت اصلی در کاربردهای صنعتی آنها محسوب می گردد. راهکارهایی برای غلبه بر مشکل نفوذپذیری بالا به بخار آب پیشنهاد شده است از جمله؛ افزودن ترکیبات هیدروفوب مانند اسانس‌ها و افزودن پرکننده های مناسب برای تولید کامپوزیت‌هایی با ویژگی‌های بازدارندگی بیشتر.

نانوکامپوزیت‌های دارای سیلیکات لایه ای مانند مونت مورینولیت (نانورس) توانایی بهبود ویژگی‌های فیزیکی مانند ویژگی‌های بازدارندگی در برابر گازها و بخار آب، مقاومت کششی و پایداری حرارتی را دارا می باشند که در کنار ارزانی نانورسها، آنها را بعنوان یکی از پرکننده های مورد توجه در صنعت بسته بندی مبدل ساخته است (۳، ۴). بنابراین تولید نانوکامپوزیت‌های بیوپلیمری بعنوان یکی از راهکارهای مناسب برای رفع همزمان این دو محدودیت بزرگ تلقی می گردد.

گوشت بعلت دارا بودن ترکیبات مغذی محیط مناسبی برای رشد میکروب‌های مولد فساد و پاتوژن بوده که بسته بندی مناسب می تواند ماندگاری آن را افزایش دهد (۵).

تاکنون مطالعات محدودی اثر پوشش‌های نانوکامپوزیتی کاپا-کاراگینان را بر گوشت گوسفند بررسی کرده‌اند، که این پژوهش برای پر کردن این شکاف طراحی شده است. بنابراین این پژوهش با هدف بررسی اثر پوشش‌های زیست تخریب‌پذیر کاپا-کاراگینان دارای اسانس آویشن شیرازی و نانورس بر فساد

(میلی گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم بافت ماهی) بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (۸).

$$TBA = \frac{(A_s - A_b) \times 50}{200}$$

تعیین مقدار مجموع بازهای نیتروژنی فرار (Total Volatile basic-Nitrogen)

اندازه گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVN) به روش کلدال و با قرار دادن ۱۰ گرم نمونه گشت هموزن شده به همراه ۲ گرم اکسید منیزیم و ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر داخل بالن کلدال و گرمادهی آن انجام شد. بازهای نیتروژنی فرار در داخل محلول شامل اسید بوریک ۲٪ جمع آوری شده و در حضور متیل رد به عنوان شاخص با اسید سولفوریک تا ایجاد رنگ ارغوانی تیترا شد و به صورت میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه گوشت بیان شد (۸). میزان بازهای نیتروژنی فرار از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$TVN = 14 \times \text{حجم اسید سولفوریک مصرفی}$$

بررسی روند تغییرات رشد باکتریایی در تیمارها

بار باکتریایی به ترتیب شامل بار باکتریایی کل، بار گونه های استافیلوکوکوس، باکتری های لاکتیک اسید و جمعیت گونه های سودوموناس مطابق روش شجاعی و همکاران انجام شد (۸).

ارزیابی حسی نمونه های گوشت پخته

ارزیابی نمونه ها توسط ۲۵ فرد که قبل از تست نمونه ها، آموزش دیده بودند، انجام پذیرفت. نمونه های گوشت بدون پوشش و نمونه های پوششی (بدون شستشو و حذف پوشش) به مدت ۱/۵ ساعت آب پز شدند. نمک به میزان ۰/۵ درصد افزوده شد. بافت، طعم، بد طعمی، ظاهر و پذیرش کلی نمونه ها با مقیاس هدونیک بصورت زیر امتیاز دهی شد؛ ۵: عالی، ۴: خیلی خوب، ۳: خوب، ۲: متوسط و ۱: بد، بر اساس ویژگی های طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار داده شدند (۹).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده های حاصله با نرم افزار SPSS انجام شد. به منظور مقایسه میانگین ها از آنالیز واریانس یکطرفه استفاده گردید و در صورت معنی داری از آزمون تعاقبی دانکن استفاده گردید. برای مقایسه تیمارها در روزهای مختلف از

دمای اتاق با دور شدید (۱۲۰۰ دور بر دقیقه) همزن مغناطیسی تهیه شد. سپس ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه با همزنایزر با دور ۱۳۵۰۰ دور بر دقیقه هموزن شده و آنگاه به مدت ۱۰ دقیقه اولتراسوند (Ultrasonic Processor B03-100W، کشور تایوان) شد. پس از بالا بردن دمای آن تا ۸۲°C این محلول به آرامی به ۱۰۰ میلی لیتر محلول کاپا-کاراگینان اضافه گردید و به مدت ۱ ساعت با همزن مغناطیسی مخلوط شد.

ایجاد پوشش بر سطح برشهای گوشت گوسفند

جهت ایجاد پوشش بر سطح برش ها، ابتدا آنها دو بار و هر بار به مدت ۱۵ ثانیه در ۵۰۰ میلی لیتر از هر یک از محلول فیلم غوطه ور شدند پس از خشک شدن پوشش بر سطح برش ها، آنها داخل پوشش با جنس پلی اتیلنی قرار گرفته و به یخچال منتقل شده و در دمای ۱°C ± ۴ به مدت ۱۸ روز نگهداری گردیدند. در فواصل زمانی سه روز یکبار مورد ارزیابی میکروبی، شیمیایی و حسی قرار گرفتند.

آزمون های مربوط به تیمارهای گوشت گوسفند

تعیین ترکیب تقریبی نمونه گوشت گوسفند

تعیین ترکیب تقریبی گوشت گوسفند شامل مقادیر چربی، پروتئین، خاکستر و رطوبت طبق روش استاندارد AOAC (۲۰۰۵) انجام شد (۷).

اندازه گیری pH

۱۰ گرم از نمونه گوشت گوسفند با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر هموزن شد و pH نمونه با کمک دستگاه pH متر که در pH ۴ و ۷ استاندارد شده بود، اندازه گیری شد (۸).

تعیین اکسیداسیون چربی

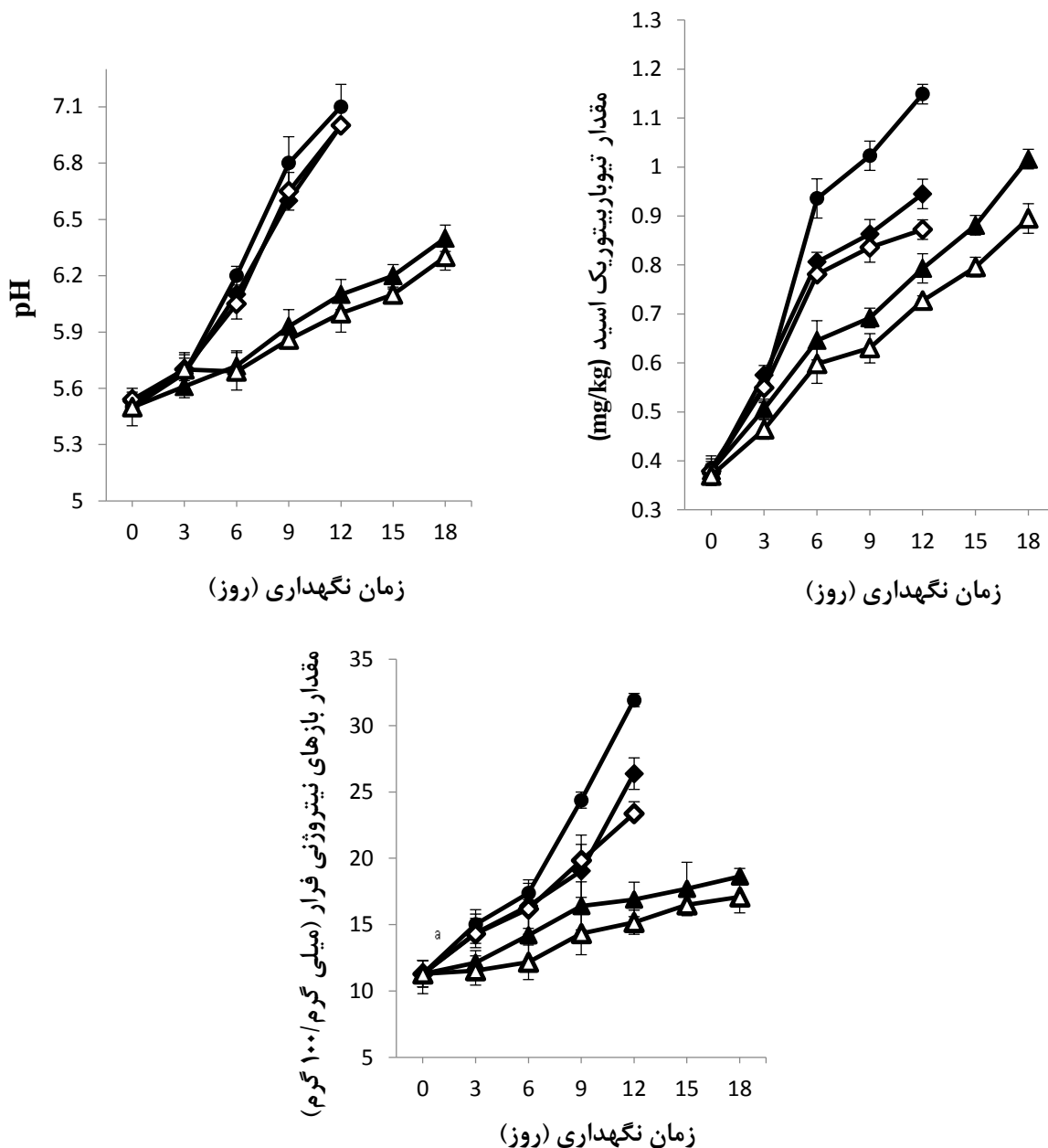
آزمون تیوباریتوریک اسید نمونه به روش رنگ سنجی صورت گرفت. مقدار ۲۰۰ میلی گرم از روغن استخراج شده (با کمک هگزان) به یک بالن ۲۵ میلی لیتری انتقال یافت و سپس با ۱- بوتانل به حجم رسانده شد. ۵ میلی لیتر از مخلوط فوق به لوله های خشک درب دار وارد شده و به آن ۵ میلی لیتر از معرف TBA افزوده گردید (معرف TBA به وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی گرم از TBA در ۱۰۰ میلی لیتر حلال ۱- بوتانل پس از فیلتر شدن بدست می آید). لوله های درب دار در حمام آب با دمای ۹۵°C به مدت ۲ ساعت قرار گرفته و پس از آن در دمای محیط سرد شدند. سپس مقدار جذب (As) در ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد. مقدار TBA

GLM استفاده شد. لازم به ذکر است که تمامی مراحل تجزیه و تحلیل، در سطح معنی‌داری ($\alpha=0/05$) انجام شد.

• یافته‌ها

تغییرات pH تیمارها

مقادیر pH تیمارهای مختلف گوشت در شکل ۱ آمده است. pH اولیه گوشت بدون پوشش (۵/۵) در طول نگهداری افزایش یافت، اما تیمارهای حاوی اسانس آویشن (ک-آویشن ۳ و ک-نانو-آویشن ۳) به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) این افزایش را کاهش دادند.



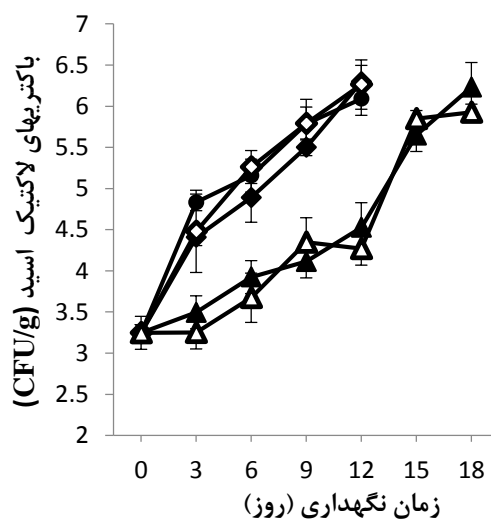
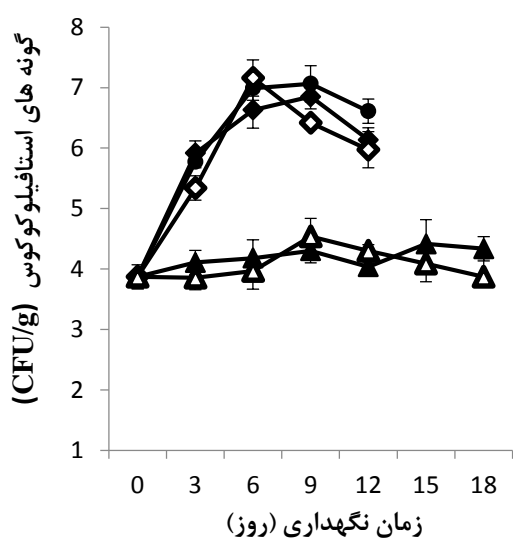
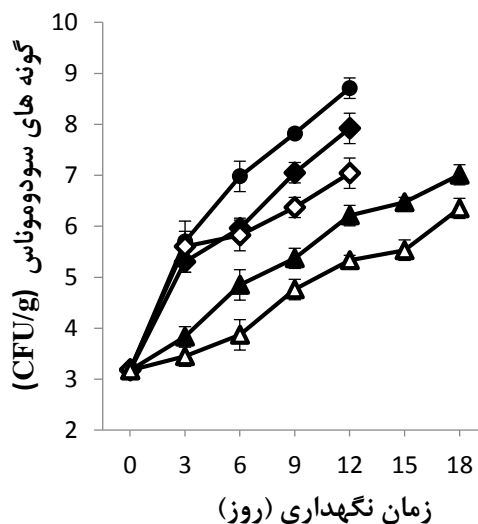
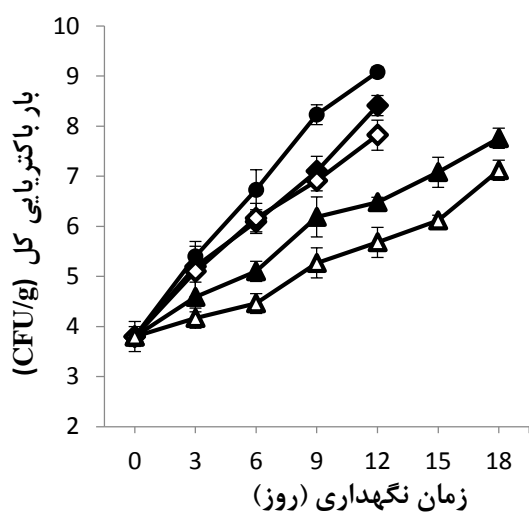
شکل ۱. مقادیر (الف pH، ب TBA، ج TVN) نمونه‌ها در طی زمان نگهداری در دمای ۴°C

● نمونه کنترل، ◆ پوشش کاراگینان، ▲ ک-آویشن ۳، ◇ ک-نانو، △ ک-نانو-آویشن ۳

ک-آویشن ۳ توانستند بازداري قابل توجهی در اکسیداسیون لیپیدها ایجاد کنند.

مجموع بازهای نیتروژنی فرار تیمارها

مجموع بازهای نیتروژنی فرار در گوشت گوسفند ($11/30 \text{ mg}/100 \text{ g}$) با افزایش زمان روند افزایشی در همه نمونه ها نشان داد ($p < 0/05$) (شکل ۱). در نمونه کنترل در روز دوازدهم مقدار آن به $41/92 \text{ mg}/100 \text{ g}$ رسید. پس از گذشت نه روز اختلاف معنی داری بین تیمارهای کاراگینان و ک-نانو دیده شد. با وجود افزایش تدریجی مقدار TVN در نمونه های ک-آویشن ۳ و ک-نانو-آویشن ۳، همچنان مقدار آن در این تیمارها نسبت به کنترل بسیار کمتر بود بویژه در مورد تیمار ک-نانو-آویشن ۳ که کمترین افزایش را نشان داد.



شکل ۲. رشد باکتریایی تیمارهای مختلف در طی زمان نگهداری در دمای 4°C : الف) بار باکتریایی کل، ب) گونه های سودوموناس، ج) گونه های

استافیلوکوکوس، د) باکتریهای اسید لاکتیک؛

● نمونه کنترل، ◆ پوشش کاراگینان، ▲ ک-آویشن ۳، ◇ ک-نانو، △ ک-نانو-آویشن ۳

روند تغییرات رشد باکتریایی تیمارها

بار باکتریایی اولیه همه نمونه‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر حدود $3/80 \log \text{cfu/g}$ بود (شکل ۲). نتایج نشان داد که بار باکتریایی کل در تمام نمونه‌های مورد بررسی در طول مدت نگهداری در 4°C افزایش یافت. بار باکتریایی کل در تیمارهای ک-آویشن ۳ و ک-نانو-آویشن ۳ به ترتیب در روزهای پانزدهم و هجدهم به حد مجاز ($7 \log \text{cfu/g}$) رسیدند. بیشترین میزان بازدارندگی رشد باکتریایی در مورد تیمار ک-نانو-آویشن ۳ دیده شده که منجر به کاهش حدود $3/4$ لگاریتمی نسبت به نمونه کنترل در روز دوازدهم گردید، در حالی که در مورد تیمارهای پوششی کاراگینان، ک-نانو پس از روز سوم اثر ضد میکروبی مشاهده شد.

جمعیت اولیه گونه‌های سودوموناس همه نمونه‌های مورد بررسی در طول دوره نگهداری افزایش یافته و در نمونه کنترل در روز دوازدهم نگهداری به جمعیت نهایی $8/71 \log \text{cfu/g}$ رسید (شکل ۲)، در حالیکه در مورد تیمارهای ک-آویشن ۳ و ک-نانو-آویشن ۳ به ترتیب $2/5$ و $3/38$ سیکل لگاریتمی کاهش نسبت به نمونه کنترل بود.

در مدت نگهداری در دمای 4°C در مورد همه نمونه‌ها تعداد باکتریهای لاکتیک‌اسید به تدریج افزایش یافت که روند افزایشی آن نسبت به بقیه میکروارگانیسم‌های مورد بررسی کمتر بود. نتایج نشان داد که بکار بردن پوشش کاپا-کاراگینان

و نیز افزودن نانورس به پوشش اثر معنی داری بر بازدارندگی رشد باکتریهای لاکتیک‌اسید نسبت به کنترل نداشت. در مورد تیمارهای ک-آویشن ۳ و ک-نانو-آویشن ۳ اگرچه اختلاف معنی داری بین آنها در بازدارندگی باکتری‌های لاکتیک‌اسید دیده نشد، اما اثر بازدارندگی معنی داری را نسبت به نمونه کنترل سبب گردید، بگونه‌ای در مورد تیمار ک-نانو-آویشن ۳، پس از دوازده روز نگهداری ۲ سیکل لگاریتمی کاهش نشان داد.

جمعیت اولیه گونه‌های استافیلوکوکوس $3/87 \log \text{cfu/g}$ بود که در طول زمان تا پایان دوره نگهداری در همه نمونه‌ها افزایش یافت (شکل ۲). پروفایل تغییرات گونه‌های استافیلوکوکوس نیز در مدت نگهداری در تیمارهای پوشش کاراگینان و ک-نانو همانند نمونه کنترل بوده و تفاوت معنی‌داری نشان نداد، در حالیکه افزودن اسانس آویشن سبب کاهش معنی‌داری گردید. هرچند وجود نانورس تأثیری بر توانایی بازدارندگی پوشش دارای آویشن نداشت.

ارزیابی حسی تیمارها

نتایج بدست آمده از ارزیابی حسی تیمارها پس از پخت نشان داد که پوشش دادن با کاپا-کاراگینان و نانورس در غلظت (0.5%) وزن کاپا-کاراگینان اثرات حسی نامطلوب ایجاد ننمود، در حالیکه افزودن اسانس آویشن در غلظت مورد استفاده (0.3%) سبب کاهش امتیاز طعم و پذیرش کلی گردید، البته در هیچیک از موارد امتیاز از ۳ کمتر نشد (جدول ۱).

جدول ۱. ارزیابی حسی در تیمارهای مختلف گوشت گوسفند پس از پخت^a و^b

تیمارها	طعم	بو	رنگ	بافت	پذیرش کلی
بدون پوشش	$4/00 \pm 0/29^a$	$3/60 \pm 0/35^a$	$4/20 \pm 0/23^a$	$3/60 \pm 0/38^a$	$4/00 \pm 0/25^a$
کاراگینان	$3/60 \pm 0/32^a$	$3/70 \pm 0/22^a$	$4/40 \pm 0/31^a$	$3/70 \pm 0/15^a$	$3/50 \pm 0/21^a$
ک-نانو ۵	$3/70 \pm 0/26^a$	$3/50 \pm 0/33^a$	$4/10 \pm 0/16^a$	$3/70 \pm 0/32^a$	$3/70 \pm 0/34^a$
ک-آویشن ۳	$3/20 \pm 0/14^b$	$3/30 \pm 0/27^a$	$4/20 \pm 0/13^a$	$3/50 \pm 0/27^a$	$3/10 \pm 0/17^b$
ک-نانو ۵-آویشن ۳	$3/00 \pm 0/99^b$	$3/40 \pm 0/29^a$	$4/00 \pm 0/23^a$	$3/60 \pm 0/15^a$	$3/30 \pm 0/95^b$

^a میانگین \pm انحراف استاندارد

^b مقادیر با حروف متفاوت بر اساس در هر ستون با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند.

جدول ۲. ترکیب تقریبی گوشت گوسفند^a

آنالیز تقریبی	رطوبت	پروتئین	چربی کل	خاکستر
	$76/158 \pm 0/53$	$18/25 \pm 0/09$	$3/51 \pm 0/71$	$1/07 \pm 0/05$

^a میانگین \pm انحراف استاندارد

● بحث

روز هجدهم توانستند مقدار TVN گوشت گوسفند نگهداری شده در ۴°C در حد قابل قبول حفظ کنند. بطور کلی مقدار TVN همبستگی خوبی را با بار باکتریایی کل در هر نمونه نشان داد که نشان‌دهنده این مطلب است که اثر بازدارندگی فیلم‌ها توانست تولید محصولات تجزیه ای میکروبی را کاهش دهد.

در مورد نمونه بدون پوشش بار باکتریایی کل به سرعت افزایش یافته بگونه ای که پس از ۶ روز نگهداری سرد به $7 \log \text{cfu/g}$ که حد مورد پذیرش است رسید. بدین ترتیب میانگین زمان نگهداری گوشت کنترل در ۴°C حدود ۶-۷ روز بود که با نتایج Zinoviadou و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت داشت (۱۶). در حالی که تیمارهای پوششی کاراگینان، ک-نانو، به ترتیب در روزهای نهم و دوازدهم به بالای حد پذیرش رسیدند البته اختلاف میان آنها در بویژه در روز نهم بسیار کم بود و بدین ترتیب توانستند مدت ماندگاری گوشت را افزایش دادند. بدین ترتیب تیمار ک-نانو-آویشن ۳ بیشترین اثر را در بازدارندگی رشد سودوموناس‌ها در نمونه گوشت گوسفند نگهداری شده در دمای ۴°C داشت.

باکتریهای لاکتیک‌اسید جزو فلور مولد فساد گوشت در سرما بوده و در فساد گوشت از عوامل مهم اما نه مهمترین محسوب می شوند (۱۰). جمعیت اولیه باکتریهای لاکتیک اسید $3/25 \log \text{cfu/g}$ بود (شکل ۲) که کمتر بودن جمعیت آنها نسبت به مزوفیل‌ها و گونه های سودوموناس را می توان به غلظت کم قندهای گوشت نسبت داد که این امر سبب غلبه باکتری‌های گرم منفی در فساد آن می شود.

نتایج بدست آمده نشان می دهد که تیمارهای پوشش کاراگینان و ک-نانو توانستند بار باکتریایی کل و گونه‌های سودوموناس را نسبت به کنترل کاهش دهد. علت آنرا می توان به اثر بازدارندگی این فیلمها در برابر اکسیژن نسبت داد زیرا دو گروه اول باکتریها هوازی بوده و برای رشد به اکسیژن نیاز دارند، احتمالاً علت تفاوت اثر ضد میکروبی بین این دو تیمار به اثر بازدارندگی بیشتر فیلم ک-نانو نسبت به فیلم کاراگینان در برابر اکسیژن وابسته است. در طول روزهای اول نگهداری، جمعیت کم باکتری‌ها و حضور اکسیژن موجود در محیط احتمالاً توجیه عدم وجود اختلاف بین دو تیمار در روزهای آغازین است، در حالیکه با گذشت زمان، بازدارندگی بیشتر فیلم ک-نانو در برابر اکسیژن سبب ایجاد اختلاف معنی دار در جمعیت این باکتری-های هوازی گردید. از سویی وجود نانورس در فیلم سبب کاهش حلالیت آنها در آب می شود (۸)، با توجه به رطوبت بالای گوشت، در طول زمان نگهداری، فیلم که در تماس مستقیم با سطح گوشت است رطوبت جذب کرده و هیدراته شده و لذا فضای شبکه ساختاری آن بزرگتر شده و نفوذپذیری آن به

ترکیب تقریبی گوشت در جدول ۲ آمده است که بیانگر کیفیت مناسب گوشت است. افزایش pH نشان‌دهنده درجه فساد گوشت است که ناشی از تجزیه پروتئین‌ها و تبدیل آنها به اسیدهای آمینه است که خود منجر به تولید آمونیاک، آمین‌ها و متابولیت‌های ثانویه دیگر می شود (۱۰). تاخیر مشاهده شده در افزایش pH در تیمارهای دارای پوشش در طول نگهداری، خود ممکن است عاملی در جلوگیری از رشد میکروبی و بازدارندگی از فعالیت آنزیم‌های پروتئاز ذاتی گوشت باشد، بنابراین می تواند در افزایش زمان ماندگاری گوشت گوسفند موثر باشد.

علت افزایش اکسیداسیون (مقدار TBA) در تیمارهای دارای پوشش، احتمالاً جذب آب و هیدراته شدن فیلم در طول زمان است که سبب کاهش اثر حفاظتی آن و لذا افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع می شود (۱۲). یافته ها نشان‌دهنده کارآمد بودن فیلم کاپا-کاراگینان در کاهش سرعت اکسیداسیون است. احتمالاً لایه کاراگینان بر سطح گوشت در برابر نفوذ اکسیژن مقاومت کرده و می تواند سرعت اکسیداسیون را کم کند. گزارش شده است که فیلمهای پروتئینی و کربوهیدراتی مانند کیتوزان ویژگی‌های سدی خوبی در برابر گازها از جمله اکسیژن دارند (۱۲). کارایی بیشتر پوشش ک-نانو و کاراگینان نسبت به ک-نانو-آویشن ۳ و ک-آویشن ۳ موید مؤثر بودن حضور اسانس در کاهش اکسیداسیون است همچنین باید اشاره نمود که افزودن اسانس سبب افزایش کدورت فیلم‌ها گردید (۱۳) که از آنجاییکه کاهش شفافیت به مفهوم کاهش عبور نور است، بنابراین خود می تواند در کاهش میزان اکسیداسیون موثر باشد.

از سویی گونه های سودوموناس تولید لیپاز و فسفولیپازهایی می کنند که منجر به افزایش مقدار اسیدهای چرب آزاد شده در فرآورده می شود که آنها را نسبت به اکسیداسیون بسیار حساس کرده و سبب تشکیل محصولات زنجیر کوتاه مانند آلدهیدهای واکنش دهنده با TBA می شوند. اکسیداسیون کمتر لیپیدها با رشد کمتر میکروبی در نمونه‌های پوشش داده شده همخوانی داشت (۱۴).

افزایش TVN به فعالیت باکتری‌های مولد فساد و آنزیم‌های ذاتی گوشت نسبت داده شده که منجر به تولید بازهای فرار می‌شود. در گوشت معمولاً مقدار TVN زیر $17 \text{ mg}/100 \text{ g}$ بعنوان حد قابل پذیرش و تازگی در نظر گرفته می شود (۱۵). با توجه به حد مجاز، گوشت کنترل تا سه روز تازگی خود را حفظ کرد در حالیکه تیمارهای کاراگینان، ک-نانو تا روز نهم، ک-آویشن ۳ تا روز پانزدهم و تیمار ک-نانو-آویشن ۳ تا نزدیک

فرآورده های نگهداری شده در 4°C به مدت دوازده روز مانند گوشت مرغ آماده پخت دارای اسانس آویشن توسط Giatrakou و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت دارند (۱۸).

بنابراین بکارگیری پوشش های کاراگینان و ک-نانو، ک-آویشن ۳ و سپس ک-نانو-آویشن ۳ در مورد همه باکتری های مورد بررسی اثر بازدارندگی کارامدی داشت که در میان آنها پوشش های حاوی اسانس و بویژه ک-نانو-آویشن ۳ بیشترین اثر نگهدارندگی را نشان داد.

نتایج بدست آمده از ارزیابی حسی نشان داد که افزودن نانورس به پوشش های خوراکی کاپا-کاراگینان اثر نامطلوبی بر ویژگی های حسی گوشت گوسفند پخته نداشت و وجود اسانس آویشن شیرازی نیز سبب کاهش قابلیت پذیرش آن به حد نامطلوب نگردید (جدول ۲).

یافته های بدست آمده از این پژوهش نشان داد که کاربرد پوشش های کاپا-کاراگینان، ک-آویشن ۳، ک-نانو و ک-نانو-آویشن ۳ سبب افزایش زمان ماندگاری گوشت گوسفند در دمای 4°C شد که در این میان پوشش های ک-آویشن ۳ و ک-نانو-آویشن بسیار موثرتر عمل کرده و توانستند زمان ماندگاری را از حدود هفت روز در نمونه بدون پوشش به ترتیب به بیش از دوازده و پانزده روز افزایش دهند. هرچند همه نمونه ها در روز ۱۸ فاسد شدند.

فیلم های کاپا-کاراگینان دارای اسانس آویشن شیرازی بویژه در ترکیب با نانورس می تواند در افزایش زمان ماندگاری گوشت گوسفند در دمای یخچالی بطور کارامدی موثر واقع گردد.

محدودیت ها و پیشنهادها

اگرچه پوشش های کاراگینان-آویشن-نانورس کارایی بالایی در افزایش ماندگاری گوشت گوسفند نشان دادند، اما این مطالعه در شرایط آزمایشگاهی انجام شده است و اثرات این پوشش ها در محیط های واقعی بازار (مانند بسته بندی تجاری یا حمل و نقل) بررسی نشده است. پیشنهاد می شود تحقیقات آینده بر بهینه سازی هزینه تولید پوشش ها و ارزیابی عملکرد آنها در مقیاس صنعتی و شرایط نگهداری متنوع تمرکز کنند.

اکسیژن افزایش می یابد. بنابراین دیگر نمی تواند سد خیلی موثری در برابر اکسیژن باشد که این امر در مورد فیلم ک-نانو کمتر رخ داده و لذا اثر بازدارندگی طولانی تری را نشان داد (۱۶).

در مورد باکتری های لاکتیک اسید و گونه های استافیلوکوکوس اختلاف معنی داری بین تیمارهای پوشش کاراگینان و ک-نانو با نمونه کنترل دیده نشد که علت آنرا می توان با توجه به نیاز به اکسیژن آنها توجیه نمود زیرا باکتری های لاکتیک اسید میکروآئروفیل و گونه های استافیلوکوکوس بی هوازی اختیاری می باشند و بنابراین وجود نانورس تاثیر معنی داری بر روند رشد آنها نداشت. گزارش شده است که در گوشت های بسته بندی شده در خلأ فلور میکروبی به سمت باکتری های لاکتیک اسید و انتروباکتریاسه گرایش می یابد (۱۷).

کاهش قابل توجه در جمعیت همه باکتری های مورد بررسی در گوشت گوسفند نگهداری شده در 4°C توسط تیمارهای ک-آویشن ۳ و ک-نانو-آویشن ۳ نسبت به کنترل را عمدتاً می توان به آزاد شدن ترکیبات ضد میکروبی اسانس آویشن نسبت داد که بر سرعت رشد میکروبی اثرگذار بود. اثر ضد میکروبی اسانس آویشن بعلت وجود ترکیبات تیمول، کارواکرول، گاما-تریپنین و پی-سیمن است (۸).

یکی از دلایل کارایی حضور اسانس در اثر ضد میکروبی فیلم، ویژگی آبگریزی آن است که خود سبب کاهش حلالیت فیلم در محیط مرطوب گوشت و بنابراین حفظ یکپارچگی آن می شود. از سویی وجود اسانس در فیلم، کاهش نفوذ اکسیژن را به همراه دارد. بنابراین علت موثر بودن نانورس در حضور آویشن شاید به دلیل اثر سینرژیستی آنها باشد که همانند هر دل هم در مورد کاهش نفوذ اکسیژن و هم کاهش حلالیت در آب رفتار می کنند.

در میان باکتری های مورد بررسی در این پژوهش به نظر می رسد که باکتری های لاکتیک اسید و سپس گونه های سودوموناس از مقاومترین گروهها به عملکرد ضد میکروبی اسانس آویشن شیرازی بودند. احتمالاً وجود غشای لیپوبلی ساکارییدی اطراف دیواره سلولی در گونه های سودوموناس عامل مقاومت آنها است. این یافته ها با نتایج پژوهش های پیشین بر

• References

1. Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A, and Cháfer, M. Use of Essential Oils in Bioactive Edible Coatings: A Review. *Food Engineering Reviews*. 2011;3:.
2. Kerry, J., O'grady, M, and Hogan, S. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Science*. 2006; 74: 113-30.
3. Uddin, M.N., Hossain. T., Mahmud. N., Alam. S., Jobaer, Md., Mahedi, S., Ali, A. Research and applications of nanoclays: A review. 2024; 5: 507-535.
4. Duncan, T.V. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: Barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2011; 363:1-24.
5. Figueroa-Enríquez, M., Francisco, R., Saúl. R., Castro-Enríquez., D., Humberto, G. Application of Active Packaging Films for Extending the Shelf Life of Red Meats: A Review. *Processes*. 2024; 1-25.
6. Park, H. Gas and mechanical barrier properties of carrageenan-based biopolymer films. *Food Science and Industry*. 1996; 29: 47-53.
7. Association of Analytical Communities. *Official Methods of Analysis of AOAC International* (18th Ed.). Gaithersburg, MD. 2005.
8. Nadeem, Ahmed S., Chattopadhyay, U., Sherikar, A., Waskar, V., Paturkar, A, and Latha, C. Chemical sprays as a method for improvement in microbiological quality and shelf-life of fresh sheep and goat meats during refrigeration storage (5–7 C). 2003. *Meat Science*; 63: 39-44.
9. Michalczyk, M., Macura, R., Tesarowicz, I, and Banaś, J. Effect of adding essential oils of coriander (*Coriandrum sativum*) and hyssop *Hyssopus officinalis* L.) on the shelf life of ground beef. *Meat Science*. 2011; 90: 842-850.
10. Nychas, G.J.E., Skandamis, P.N., Tassou, C.C, and Koutsoumanis, KP. Meat spoilage during distribution. *Meat Science*. 2008; 78: 77-89.
11. Verma, S, and Sahoo, J. Improvement in the quality of ground chevon during refrigerated storage by tocopherol acetate preblending. *Meat Science*. 2000; 56: 403-413.
12. Song, Y., Liu, L., Shen, H., You, J, and Luo, Y. Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control*. 2011; 22: 608-615.
13. Shojaee-Aliabadi, S, Hosseini, H, Mohammadifar, M.A, Mohammadi, A, Ghasemlou, M, Ojagh, S.M, Hosseini, S.M, Khaksar, R. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ -carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. *International journal of biological macromolecules*. 2013; 52: 116-124
14. Ahmad, M., Benjakul, S., Sumpavapol, P, and Nirmal, N.P. Quality changes of sea bass slices wrapped with gelatin film incorporated with lemongrass essential oil. *International Journal of Food Microbiology*. 2012; 155: 171-178.
15. Giménez, B., Gómez-Guillén, M.C., López-Caballero, M.E., Montero, P. Active packaging systems for improving the shelf life of fresh meat: A review. *Food Control*, 2023; 145: 109-156.
16. Zinoviadou, K.G., Koutsoumanis, K.P, and Biliaderis, C.G. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat Science*. 2009; 82: 338-45.
17. Uhlig, E., Bucher, M., Strenger, M., Svenja Kloß, S., Schmid, M. Towards Reducing Food Wastage: Analysis of Degradation Products Formed during Meat Spoilage under Different Conditions. *Foods*, 2024; 13(17), 27-51.
18. Giatrakou, V., Ntzimani, A, and Savvaadis, I. Effect of chitosan and thyme oil on a ready to cook chicken product. *Food Microbiology*. 2010; 27: 132-6.

Application of Carrageenan Nano-Composite Coating Containing *Zataria multiflora* Essential Oil on the Shelf Life of Mutton at Refrigerated Temperature

Shojaee- Aliabadi S¹, Mirmoghtadaie L^{*2}

1- Associate Prof, Dept. of Food Sciences and Technology, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- *Corresponding author: Associate Prof, Dept. of Food Sciences and Technology, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: le_mirmoghtadaie@yahoo.com

Received 13 Sep, 2025

Accepted 8 Nov, 2025

Background and Objectives: Food products are often exposed to microbial contamination that can not only lead to spoilage during shelf life but also cause illness in the consumer. Biodegradable antimicrobial coatings are a suitable solution for preserving the shelf life of food. In this study, the effect of carrageenan, carrageenan-thyme 3%, nano-carrageenan-nano and nano-carrageenan-thyme coatings on the shelf life of mutton at 4°C was investigated.

Materials & Methods: Shelf life tests including pH changes, thiobarbituric acid, growth of spoilage microbes and pathogens during storage at refrigerated temperature, as well as sensory evaluation of cooked meat were performed.

Results: Based on the results obtained, all the studied treatments were able to increase the shelf life compared to the control sample, but the highest efficiency was related to the nano-carrageenan-thyme coating and then nano-carrageenan-thyme 3%. The findings showed that Shirazi thyme essential oil has high potential for use in kappa-carrageenan coating and the production of antimicrobial and antioxidant coatings.

Conclusion: Coatings containing Shirazi thyme essential oil can be used as an edible coating to increase the shelf life of mutton at 4°C.

Keywords: Antimicrobial coating, Meat, Kapa-carrageenan, Avishan-shirazi essential oil, Nano-composite