Food Hygiene, Vol. 13, No. 52, Winter 2024

"Research article" **DOI: 10.71876/jhf.2024.3061408**

Production of edible nano chitosan- Iranian tragacanth gum film enriched *with Eryngium campestre* essential oil and its effect on microbial spoilage of goat meat

Ghafari, E., Ariaii, P.*, Bagheri, R., Esmaeili, M.

Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
*Corresponding Author: p.aryaye@yahoo.com

(Received: 2023/7/16 Accepted: 2023/10/28)

Abstract

This study aimed to investigate the effectiveness of a composite film comprising nano chitosan and Iranian tragacanth gum (NC-G), supplemented with *Eryngium campestre* essential oil (EO), in preserving the microbial quality of refrigerated goat meat at 4°C. Five film treatments were prepared, including NC + NC-G, and NC-G combined with 0.5%, 1%, and 1.5% EO. The antimicrobial efficacy of these films was evaluated against four microorganisms. Subsequently, these film treatments, along with an untreated control, were monitored for microbial changes [total viable count (TVC), psychrotrophic count (PTC), lactic acid bacteria, and *Enterobacteriaceae*] over a 16-day storage period. Results demonstrated significant antimicrobial activity of the films against tested pathogens, with effectiveness increasing with higher EO concentrations ($p< 0.05$). *Staphylococcus aureus* showed the highest susceptibility among the bacteria, while *Pseudomonas aeruginosa* exhibited the greatest resistance. Application of the nanocomposite film with EO effectively delayed microbial spoilage of goat meat, with TVC and PTC counts in treatments containing 1% and 1.5% EO remaining below the spoilage threshold (7 Log CFU/g) by the end of storage. Overall, findings suggest that incorporating EO into the nanocomposite film inhibits factors contributing to microbial spoilage in goat meat. Given similar inhibitory effects observed at 1% and 1.5% EO concentrations and considering economic factors, a concentration of 1% EO can be regarded as optimal.

Conflict of interest: None declared.
Keywords: Plant essential oil, Biodegradable film, Meat, Antimicrobial activity, Pathogenic bacteria

«مقاله پژوهشی» DOI: 10.71876/jhf.2024.3061408

تولید فیلم خوراکی نانوکیتوزان-صمغ کتیرای ایرانی حاوی اسانس گیاهی زولنگ و تأثیر آن بر کیفیت میکروبی در گوشت بز

بسته‌بندی گوشت بز با نانو فیلم خوراکی

الهام غفاری، پیمان آریایی*، رویا باقری، مهرو اسماعیلی

گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی،آمل، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: P.aryaye@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۴/۲۵ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۸/۶)

چکیده

پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تأثیر فیلم مرکب نانوکیتوزان-صمغ کتیرای ایرانی به همراه اسانس گیاهی زولنگ در حفظ کیفیت میکروبی گوشت بز در دمای یخچال (۴ درجه سلسیوس) طی دوره نگهداری انجام گرفت. بدین منظور ابتدا ۵ تیمار فیلم شامل: نانوکیتوزان، نانوکیتوزان+ صمغ کتیرای ایرانی و نانوکیتوزان+ صمغ به همراه غلظت‌های ۰/۵، ۱و ۱/۵٪ اسانس زولنگ تولید و فعالیت ضد میکروبی فیلم علیه ۴ میکروارگانیسم تعیین، سپس تیمارهای مذکور به همراه تیمار بدون فیلم (تیمار شاهد) در یک دوره ۱۶ روزه مورد ارزیابی میکروبی (باکتری‌های سرمادوست، باکتری‌های کل، باکتری‌های اسیدلاکتیک و *انتروباکتریاسه*) قرار گرفتند. بر اساس نتایج، فیلم‌های مذکور دارای خاصیت ضد میکروبی بالایی علیه باکتری‌های پاتوژن مورد آزمایش بود و با افزایش غلظت خاصیت ضد میکروبی افزایش یافت (p<۰/۰۵) همچنین باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* حساس‌ترین و باکتری‌های گرم منفی *سودوموناس آئروژینوزا* مقاوم‌ترین باکتری بود. نتایج مربوط به گوشت بز نشان دادند که فیلم نانو مرکب به همراه اسانس به‌طور مشخص فساد میکروبی را در گوشت به تعویق انداخت. تعداد باکتری‌های سرمادوست و تعداد کلی باکتری‌ها در انتهای دوره‌ی نگهداری در تیمارهای حاوی اسانس ۱ و ۱/۵٪ کمتر از حد مجاز تعیین‌شده برای گوشت (۷ Log CFU/g) بود. درمجموع نتایج نشان دادند که بسته‌بندی گوشت با فیلم نانو مرکب به همراه اسانس تأثیر بازدارندگی در افزایش عوامل مهم موثر در فساد میکروبی آن دارد. باتوجه به اثر مهارکنندگی نسبتاً مشابه مقادیر ۱ و ۱/۵٪ و نیز صرفه اقتصادی، میزان اسانس ۱ درصد اسانس می‌تواند دوز بهینه‌ای باشد.

واژه‌های کلیدی: اسانس گیاهی، فیلم زیست تخریب پذیر، گوشت، فعالیت ضد میکروبی، باکتری پاتوژن

مقدمه

گوشت بز محبوب‌ترین گزینه در میان گوشت گونه‌های نشخوارکنندگان است، که به گوشت نسبتاً بدون چربی معروف است و به رنگ قرمز تیره‌تر از گوشت بره و گاو و بافت زبرتری دارد (Kausar *et al*., 2021). طبق آمارUSDA (۲۰۰۱) گوشت بز دارای حدود ۷۵/۴ درصد رطوبت، ۲۰/۰ درصد پروتئین، ۳/۱ درصد چربی و ۱/۱ درصد خاکستر است بر اساس این آمار پروتئین بز تقریباً برابر با پروتئین گوشت گاو و مرغ می باشد، اما، گوشت بز دارای محتوای چربی کمتری است که تنها یک‌سوم چربی گوشت گاو و کمتر از نیمی از گوشت مرغ است (USDA, 2001). تغییرات اکسیداتیو و فساد ناشی از رشد میکروبی به‌عنوان یکی از دلایل اصلی افت کیفیت و کاهش ماندگاری گوشت تازه هست (Khanjani *et al*., 2023; Moudache *et al*., 2017). کاهش رشد میکروبی در طول نگهداری یک نگرانی مهم برای صنعت گوشت است و افزودن آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی یک روش معمول برای کاهش این تغییرات در فرآورده‌های گوشتی است. بااین‌حال، نگرش منفی مصرف‌کننده به نگه‌دارنده‌های مصنوعی مواد غذایی وجود دارد و این امر علاقه فزاینده‌ای به استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی (به‌عنوان منبع قابل‌توجهی از پلی‌فنول‌ها و پاک‌کننده‌های رادیکال آزاد) برای کنترل تغییرات اکسیداتیو و فساد میکروبی در گوشت و فرآورده‌های گوشتی ایجاد کرده است (Shahoseini *et al*., 2021; Aghababie *et al*., 2022).

رویشگاه‌های طبیعی ایران به‌عنوان منابع ارزشمند ژنی تعدادی زیادی از گیاهان دارویی مفید می‌باشند که ازجمله آن‌ها می‌توان به رشد خودرو زولنگ در شمال کشور اشاره نمود. زولنگ با نام علمی *Eryngium campestre* گیاهی علفی و چندساله از خانواده چتریان است که به‌وفور در نواحی شمالی کشور رویش می‌کند (Safari *et al*., 2015; Ismailzadeh and Moradi, 2022). اسانس برگ این گیاه دارای متابولیت‌های ثانویه زیست فعال حاوی مشتقات متیله فنیل پروپانوئید، اوژنول، متیل ایزواوژنول، بنزآلدهید استیلن، فلاوونوئید، ساپونین‌های تری ترپن است که برای تعیین فعالیت-های آنتی‌اکسیدانی و دارویی در نظر گرفته می‌شود (Ismailzadeh and Moradi, 2022; Safari *et al*., 2015; Azizkhani and Sudanloo, 2021).

فیلم‌های زیست تخریب پذیر با محتوای پلی ساکارید، پروتئین و چربی برای افزایش ماندگاری انواع مختلف مواد غذایی مؤثر هست. کیتوزان که از کیتین در پوسته خارجی سخت‌پوستان به دست می‌آید، به‌عنوان یک پلیمر زیستی غیرسمی و زیست تخریب پذیر در صنایع غذایی استفاده می‌شود. در مطالعات قبلی، اثرات ضد باکتریایی، آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی کیتوزان گزارش‌شده است (Valipour *et al*., 2017; Saeidi *et al*., 2021, Zarandi *et al*., 2022). با توسعه فناوری نانو، مواد پرکننده نانو به‌طور گسترده‌ای برای بهبود خواص مکانیکی و بازدارندگی فیلم‌های خوراکی مورداستفاده قرار گرفتند که به آن روش نانوکامپوزیت می‌گفتند. بنابراین، نانو ذرات کیتوزان به‌عنوان یک ماده پایه جدید بالقوه برای مواد بسته‌بندی در نظر گرفته می‌شود (Zhao *et al*., 2022). فیلم‌های خوراکی که از یک ماده تشکیل‌شده است از فناوری ساده‌ای برخوردار هستند، این فیلم‌ها معمولاً عملکرد فیزیکی و پایداری حرارتی

مناسبی برخوردار نیست. بنابراین، به نظر می‌رسد ترکیب فیلم‌های خوراکی استراتژی مؤثری برای بهبود ویژگی‌های عملکردی، فیزیکی و مکانیکی آن‌ها باشد (Hussain *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2022). صمغ کتیرای ایرانی (*Astragalus gossypinus*)، تراوه خشک‌شده طبیعی حاصل از برخی گونه‌های *Astragalus* بوده و یکی از معدود منابع گیاهی طبیعی پلی ساکاریدهای جایگزین شده با L-fucose است و به‌عنوان یک هیدروکلوئید باکیفیت، در فهرست (GRAS) (Generally Recognized As Safe) قرار دارد. این صمغ، به‌عنوان پایدارکننده، امولسیون کننده، قوام دهنده و جایگزین چربی کاربرد وسیعی در صنایع غذایی دارد (Abbasi *et al.*, 2019).

با توجه به اینکه اطلاعات مصرف‌کنندگان در مورد ارزش غذا، ایمنی و اجزای آن در سراسر جهان در حال افزایش است و مصرف‌کنندگان ترجیح می‌دهند از نگه‌دارنده‌های طبیعی استفاده نمایند. بنابراین استفاده از گیاهان بومی منطقه به همراه فیلم‌های خوراکی نانوکامپوزیت منطقی به نظر می‌رسد. بنابراین هدف از این مطالعه تولید و توسعه فیلم خوراکی فعال مرکب نانوکیتوزان/ صمغ کتیرای ایرانی به همراه اسانس بومی زولنگ جهت کنترل میکروبی گوشت بز طی دوره نگهداری در یخچال (۴ درجه سلسیوس) هست.

مواد و روش‌ها

-مواد اولیه

در این مطالعه قسمت‌های هوایی گیاه زولنگ از رویشگاه‌های طبیعی آن در استان مازندران، شهرستان آمل جمع‌آوری و پس از تائید توسط بخش گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی با آب شرب شستشو و در سایه و به دور از تابش مستقیم نور خورشید خشک و با استفاده از آسیاب پودر گردید و تا زمان مصرف در کیسه زیپ‌دار در یخچال نگهداری شد. تمامی مواد شیمیایی مورداستفاده از نوع آزمایشگاهی بومی بوده و تمامی آن‌ها از شرکت مرک آلمان خریداری شد. نانو کیتوزان نیز از شرکت نوین پلیمر تهیه شد.

-اسانس‌گیری از گیاه زولنگ

۱۰۰ گرم از پودر اندام‌های هوایی گیاه در بالن یک لیتری ریخته و به آن ۶۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل افزوده شد با استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) استخراج و توسط فیلتر استریل (۰/۴ میکرومتر) صاف و تا زمان استفاده در یخچال دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Safari *et al.*, 2015).

-تهیه فیلم

محلول فیلم به‌وسیله حل کردن ۱ گرم صمغ کتیرای ایرانی (w/ v)، ۱/۵ گرم نانوکیتوزان (w/ v) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای ۷۰ درجه سلسیوس حل شد و ۲ درصد گلیسرول، ۲ درصد توئین ۸۰ اضافه گردید. سپس غلظت‌های مختلف اسانس زولنگ (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) به محلول مذکور اضافه گردید، به‌منظور حل شدن کامل، محلول تهیه‌شده به مدت ۸ ساعت در دمای ۴۵ درجه سلسیوس بر روی هات پلیت شیکردار (IKA, Germany) قرار داده شد بعد از این مرحله فیلم از روی قالب شیشه‌ای جدا شد و تا زمان استفاده در ظرف حاوی سیلیکاژل قرار داده شد (Rezaei and Shahbazi, 2018).

-اندازه‌گیری نرخ عبور بخار آب از درون فیلم‌ها

برای انجام این آزمایش از روش شماره E ۹۶ مصوب ASTM استفاده گردید (ASTM, 1996). برای انجام آزمایش درون سلول‌های اندازه‌گیری نفوذپذیری، آب ریخته شد. سپس سطح سلول به‌وسیله روکش با استفاده از پارافین مذاب پوشانده شد. سلول‌ها درون دسیکاتور حاوی سیلیکاژل قرار گرفت. آب در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۱۰۰ درصد ایجاد می‌کند. اختلاف رطوبت در دو سمت روکش در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، گرادیانت فشار بخاری معادل $۲/۳۳۷ \times ۱۰^{۳}$ پاسکال ایجاد می‌کند. تغییرات وزن سلول‌ها طی زمان با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. در تمام نمونه‌ها با رسم منحنی تغییرات وزن سلول نسبت به زمان، یک خط راست (R^2>۰/۹۹) حاصل شد. نرخ انتقال بخار آب معادل با شیب خطوط حاصله تقسیم بر سطح سلول بود و از رابطه زیر حاصل شد. سطح سلول‌ها ۰/۰۰۲۸۷ مترمربع بود.

سطح سلول /شیب‌خط = نرخ انتقال بخار آب

-خواص مکانیکی فیلم‌ها

آزمون‌های مکانیکی فیلم‌ها بر اساس روش اصلاح‌شده ASTM D0882-۰۲ صورت می‌گیرد. فیلم‌ها در قطعات ۷۶۱ سانتی‌متر بریده و تحت شرایط رطوبت نسبی ۵۰ درصد و دمای ۲۵ درجه سلسیوس مشروط می‌شوند. ضخامت آن‌ها در ۵ نقطه اندازه‌گیری و ضخامت متوسط آن‌ها تعیین می‌شود. ویژگی‌های مکانیکی فیلم (میزان کشش‌پذیری (درصد)، مقاومت به کشش (مگاپاسکال) با استفاده از اینستران اندازه‌گیری می‌شود. در دستگاه اینستران فاصله بین دو فک ۵۰ میلی‌متر، سرعت حرکت فک بالایی ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه و فک پایینی ثابت می باشد (ASTM, 1996).

-تعیین فعالیت ضد میکروبی

میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در این تحقیق عبارتند از: *اشریشیاکلی* ATCC:۲۵۹۲۲ و *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC:۶۵۳۸ و *سودوموناس آئروژینوزا* ATCC:۲۷۸۵۳ و *باسیلوس سرئوس* ATCC:۱۱۷۷۸ که از مرکز تحقیقات و پژوهش علمی صنعتی ایران تهیه شد.

فعالیت ضدباکتریایی فیلم‌های خوراکی با اندکی تغییر به روش انتشار دیسک در آگار استفاده شد. برای فعال‌سازی باکتری‌ها، ابتدا سوسپانسیون میکروبی به‌صورت تازه از هر سوش میکروبی تهیه گردید و یک شبانه‌روز قبل از انجام آزمایش به کمک میله کشت استریل از کشت مادر به محیط کشت شیب‌دار برای باکتری تلقیح انجام شد. سپس سوسپانسیون غنی میکروبی با استفاده از محلول رینگر پس از رشد میکروارگانیسم بر سطح شیب‌دار آگار آن تهیه گردید. سپس مقداری از سوسپانسیون میکروبی درون لوله استریل درب دار حاوی محلول رینگر ریخته و کدورت آن با اسپکتروفتومتر (طول‌موج ۱۲۰ نانومتر) اندازه‌گیری شد. رقت سازی محلول سوسپانسیون تا زمان برابر شدن کدورت محلول نیم مک فارلند و سوسپانسیون میکروبی ادامه یافت. در روش انتشار در آگار، فیلم‌ها به‌صورت صفحه‌های دایره‌ای با قطر ۷ میلی‌متر بریده و به محیط کشت آگار که از قبل با $۱۰^{۵}$-$۱۰^{۶}$ CFU/ml میکروارگانیسم‌های آزمایش تلقیح شده بود منتقل شد. پس از آن پلیت های حاوی محیط کشت آلوده همراه با فیلم‌های ضد میکروبی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شد تا جهت تعیین میزان ممانعت کنندگی فیلم خوراکی از رشد باکتری‌ها،

قطر هاله‌های تشکیل‌شده با استفاده از کولیس تولید با دقت ۰/۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد (Seydim *et al.*, 2006).

-تهیه و آماده‌سازی گوشت بز

گوشت بز تقریباً ۳ ساعت پس از کشتار از کشتارگاه در استان مازندران خریداری و به سرعت توسط باکس‌های حاوی یخ به آزمایشگاه مواد غذایی انتقال داده شد. بافت همبند و چربی سطحی برداشته شد و گوشت به‌صورت دستی به تکه‌هایی با وزن تقریبی ۲±۴۰ گرم تقسیم و پس از شست‌وشو با آب فراوان، جهت آبکشی بر روی صافی‌های پلاستیکی قرار داده شدند. تکه‌های نمونه با استفاده از مدل ساندویچ، یعنی قرار دادن ۴۰ گرم نمونه در بین دو فیلم تهیه‌شده برای هر تیمار قرار گرفت. سپس در بسته های پلی‌اتیلنی استریل گذاشته شدند. سپس تیمارهای مختلف در یخچال ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس در طول دوره نگهداری، آنالیز میکروبیولوژیکی در روزهای ۰، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ انجام شد (Valipour *et al.*, 2017).

-شمارش باکتری کل و سرمادوست

برای آزمایش‌های میکروبی ۱۰ گرم از نمونه گوشت در شرایط استریل با ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل به مدت ۶۰ ثانیه در یک مخلوط‌کن آزمایشگاهی هموژن شد. از هر نمونه سه بار به‌صورت جداگانه نمونه‌برداری شد. برای شمارش تعداد باکتری‌های کل و باکتری‌های سرمادوست نمونه‌های تهیه‌شده، از محیط تریپتیک سویا آگار (Tryptic Soy Agar) (مرک، آلمان) استفاده شد. پلیت‌های کشت داده‌شده مربوط به تعداد باکتری‌های کل بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه سلسیوس و پلیت‌های مربوط به باکتری‌های سرمادوست بعد از ۱۰ روز انکوباسیون در دمای ۴ درجه سلسیوس شمارش شد (Valipour *et al.*, 2017).

-شمارش باکتری خانواده انتروباکتریاسه

به‌منظور شمارش میانگین تعداد باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه از روش کشت بر روی محیط ویولت رد بایل گلوکز آگار (Violet Red Bile Glucose) (مرک، آلمان) استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در داخل انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری و سپس شمارش شدند (Aghababaie *et al.*, 2022).

-شمارش باکتری اسیدلاکتیک

برای شمارش باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک از محیط MRS (Man, Rogosa , Sharpe) (مرک، آلمان) آگار استفاده و پلیت‌های کشت داده شد به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری و سپس شمارش شدند (Zarandi *et al.*, 2022).

جهت بالا بردن دقت کار در ارزیابی‌های میکروبی، سه تکرار از هر نمونه و برای هر تکرار چهار رقت مناسب در هر روز ارزیابی، در نظر گرفته شد. نهایتاً شمارش‌های انجام‌شده به‌صورت لگاریتم تعداد کلنی‌های تشکیل‌شده (Colony-forming unit (CFU) ثبت شد.

-تجزیه‌وتحلیل آماری

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها، با توجه به نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس، با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) استفاده شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. تمام داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف

معیار گزارش شد و ارزیابی‌ها در ۳ تکرار صورت پذیرفت. از نرم‌افزار SPSS version (18) برای آنالیز داده‌ها و Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

یافته‌ها

نتایج مربوط به فعالیت ضد میکروبی بیوسورفاکتانت‌های مختلف علیه باکتری‌های پاتوژن در جدول ۱ آورده شده است. با توجه به نتایج افزودن اسانس به فیلم سبب افزایش فعالیت ضد میکروبی فیلم‌ها شد و با افزایش غلظت نتایج بهتری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$) و فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت نظیر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* بالاتر از باکتری‌های گرم منفی نظیر *اشریشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* بود.

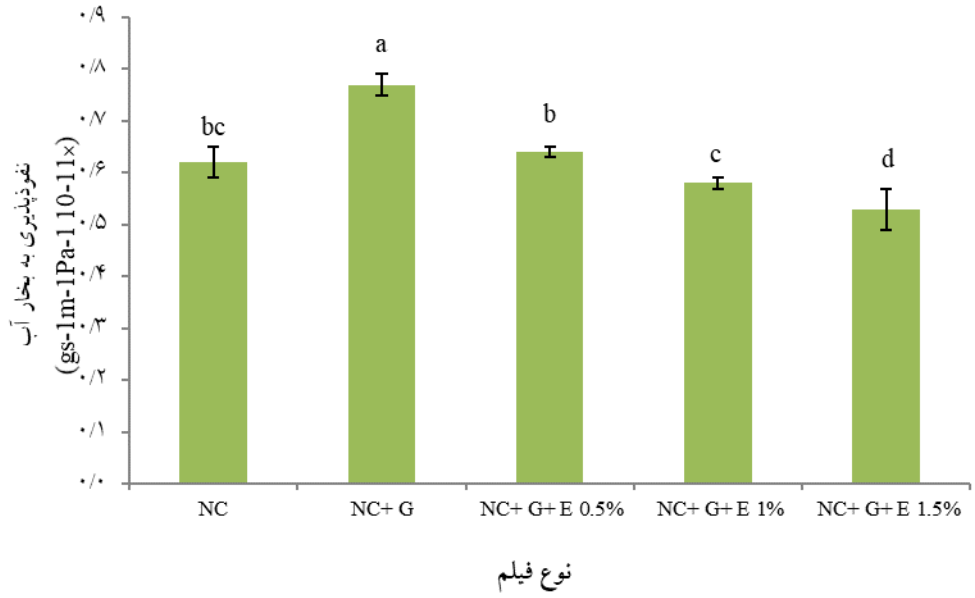
جدول (۱)- فعالیت ضد میکروبی (قطر هاله عدم رشد) فیلم‌ها

	استافیلوکوکوس اورئوس	*اشریشیاکلی*	*سودوموناس آئروژینوزا*	*باسیلوس سرئوس*
نانوکیتوزان (NC)	۸/۰±۳۵/۲۵^{Ae}	۶/۰±۵۵/۳۴^{Be}	۶/۰±۲۵/۲۲^{Be}	۷/۰±۷۵/۱۸^{Ae}
NC +صمغ	۱۳/۰±۵۵/۲۲^{Ad}	۱۱/۰±۶۵/۱۸^{Cd}	۱۰/۰±۵۶/۳۳^{Dd}	۱۲/۰±۴۹/۲۷^{Bd}
NC +صمغ+ اسانس ۰/۵٪	۱۹/۰±۹۵/۲۵^{Ac}	۱۷/۰±۵۵/۳۳^{Cc}	۱۶/۰±۵۴/۱۷^{Dc}	۱۸/۰±۲۵/۲۹^{Bc}
NC +صمغ+ اسانس ۱٪	۲۱/۰±۲۵/۵۵^{Ab}	۱۹/۰±۱۵/۴۲^{Cb}	۱۹/۰±۰۵/۲۴^{Cb}	۲۰/۰±۷۵/۴۵^{Bb}
NC +صمغ+ اسانس ۱/۵٪	۲۵/۰±۲۵/۹۵^{Aa}	۲۲/۰±۲۵/۷۵^{Ba}	۲۰/۰±۳۵/۱۵^{Ca}	۲۳/۰±۱۵/۵۰^{Ba}

۱) همه اعداد برحسب میلی‌متر بیان‌شده است (میانگین ± انحراف از معیار)

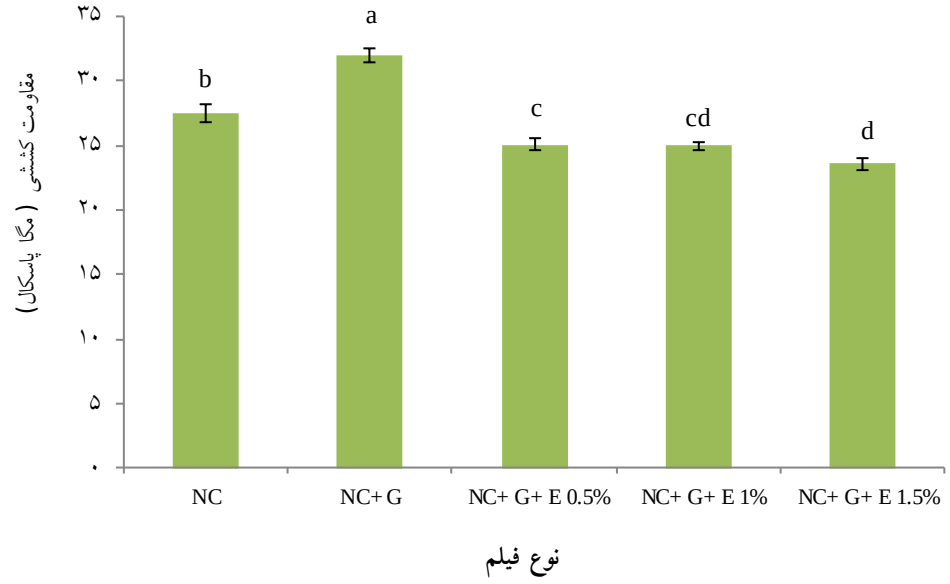
۲) اعداد در یک ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند. (a, b, c,..)

نتایج حاصل از نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخارآب (WVP) در نمودار ۱ آورده شده است. با توجه به نتایج بیشترین مقادیر WVP در فیلم نانوکیتوزان+ صمغ بوده است ($۰/۷۷\times10^{-11}$ $gs^{-1}m^{-1}Pa^{-1}$) ($p<۰/۰۵$). با افزودن اسانس به فیلم میزان WVP کاهش یافت به‌طوری‌که کمترین میزان WVP در فیلم نانوکیتوزان + صمغ+ اسانس ۱/۵٪ مشاهده شد ($۰/۵۳\times10^{-11}$ $gs^{-1}m^{-1}Pa^{-1}$) ($P<۰/۰۵$).



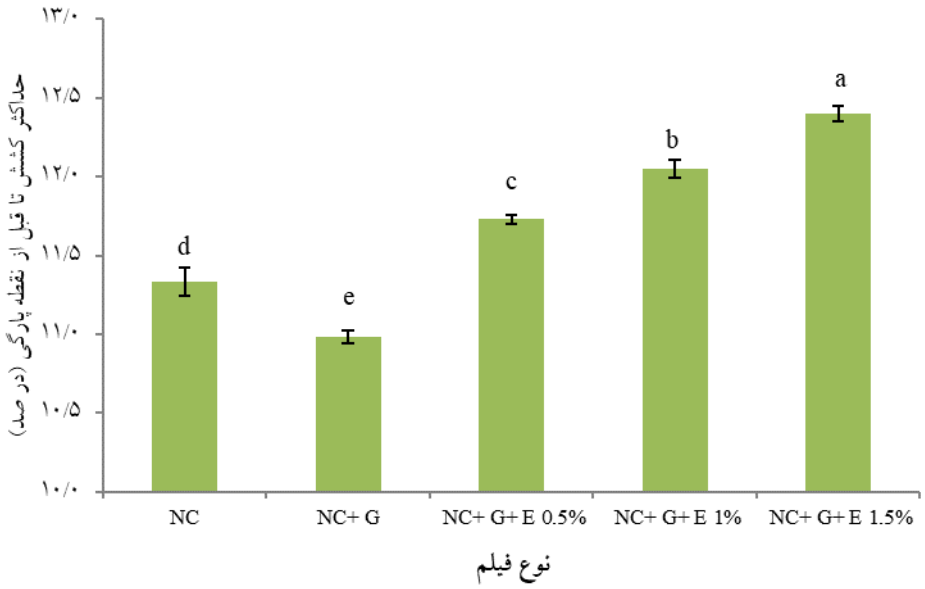
نمودار (۱)- نفوذپذیری فیلم‌ها در برابر بخارآب

نتایج مربوط به مقاومت کششی در فیلم‌های مختلف در نمودار ۲ آورده شده است. با افزودن صمغ به فیلم نانوکیتوزان مقاومت کششی افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین مقادیر مقاومت کششی در فیلم نانوکیتوزان اسید+ صمغ مشاهده شد (۳۲/۰۲ مگاپاسکال) (p<۰/۰۵). اما با افزودن اسانس مقاومت کششی کاهش یافت و کمترین مقادیر مقاومت کششی در فیلم نانو کیتوزان+ صمغ+ اسانس ۱/۵٪ به مشاهده شد (۲۳/۵۹ مگاپاسکال) (p<۰/۰۵).



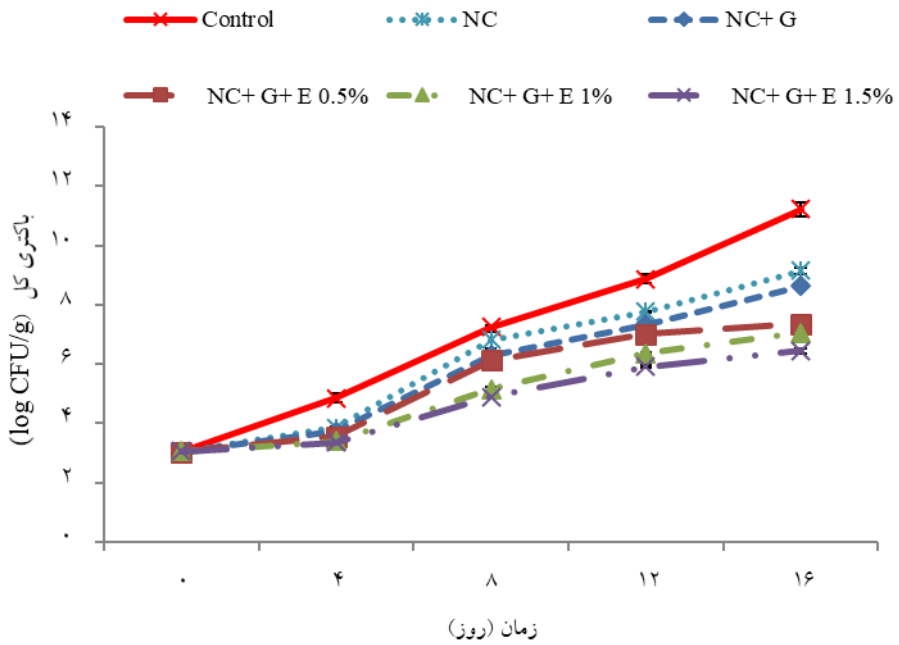
نمودار (۲)- مقاومت کششی فیلم‌ها

نتایج مربوط بـه حـداکثر کشـش تـا قبـل از نقطـه پارگی فیلم‌های مختلف در نمودار ۳ آورده شـده اسـت. با افزودن صمغ به فیلم نـانوکیتوزان حـداکثر کشـش تـا قبل از نقطه پارگی کـاهش یافـت به‌طوری‌کـه کمتـرین مقادیر حداکثر کشش تـا قبـل از نقطـه پـارگی در فـیلم نانوکیتوزان اسید+ صمغ مشـاهده شـد (۱۰/۹۸ درصـد) ($p<۰/۰۵$). اما با افزودن اسانس حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی افزایش یافـت و بیشـترین مقـادیر حـداکثر کشش تـا قبـل از نقطـه پـارگی در فـیلم نـانوکیتوزان+ صمغ+ اسانس ۱/۵٪ بـه مشـاهده شـد (۱۲/۴۰ درصـد) ($p<۰/۰۵$).



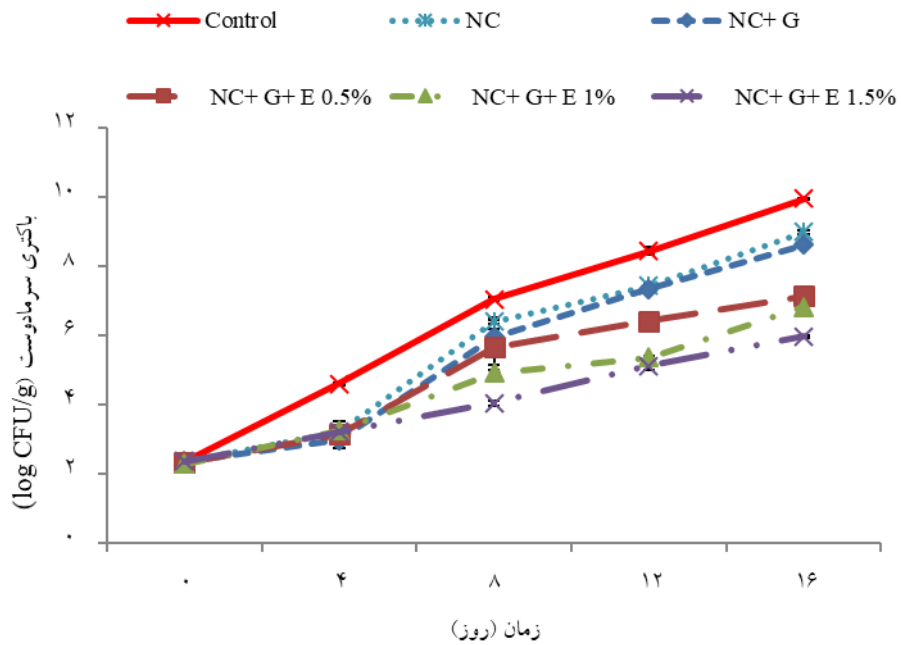
نمودار (۳)- حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی فیلم‌ها

نتایج مربوط به تغییـرات مقـادیر کلـی بـاکتری در نمودار ۴ آورده شده است. مقادیر اولیه کلی بـاکتری در مورد گوشت بـز تـازه در محـدوده ۳/۰۲ log CFU/g– ۳/۰۶ بود و در روز ابتدای دوره نگهـداری، تیمـارهـای مختلف اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند ($p<۰/۰۵$). با افزایش زمان، مقادیر کلـی بـاکتری در تمـامی تیمـارهـا افزایش یافت و این تغییرات در تیمار شاهد بیشـتر بـود ($p<۰/۰۵$). به‌طوری‌کـه در انتهـای دوره نگهـداری در تیمار شاهد برابر با ۱۱/۲۳ log CFU/g بـود. اسـتفاده از پوشش‌های خوراکی و اسانس سـبب کنـد شـدن رونـد افزایشـی مقـادیر کلـی بـاکتری شـد و افـزایش غلظـت اسانس تأثیر مثبتی بر این روند داشت و نتایج بهتـری در اکثر زمان‌های نگهداری در تیمـار ترکیبـی پوشـش‌هـای خوراکی و اسانس مشاهده شد به‌طوری‌که در روز ۱۶ ام نگهداری کمتـرین مقـادیر کلـی بـاکتری در تیمـار نـانو کیتوزان+ صمغ+ اسانس ۱/۵٪ بوده اسـت (log CFU/g ۶/۴۵) ($p<۰/۰۵$).



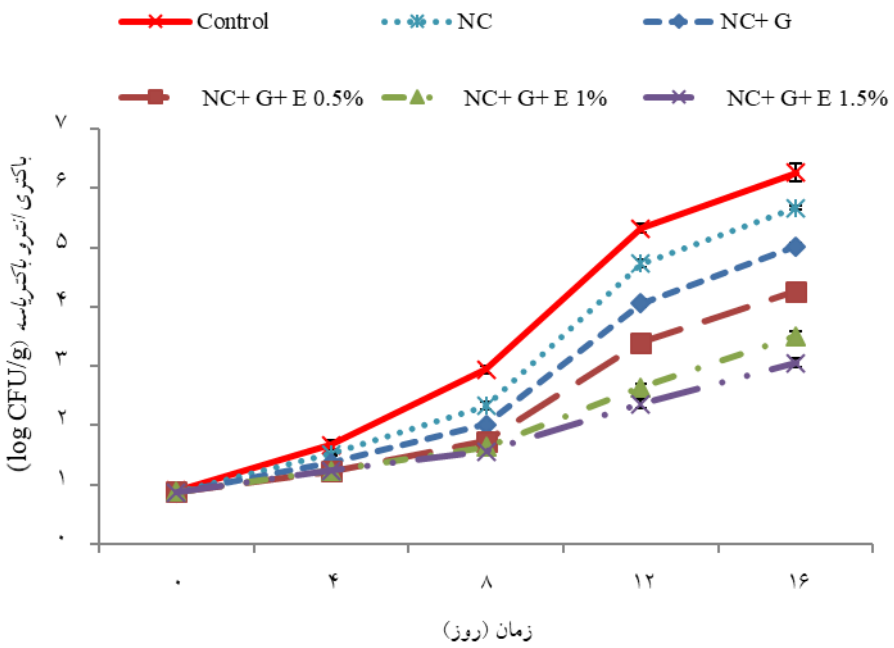
نمودار (۴)- مقادیر باکتری کل در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

نتایج مربوط به تغییرات مقادیر باکتری سرمادوست در نمودار ۵ آورده شده است. مقادیر اولیه مقادیر باکتری سرمادوست در مورد گوشت بز تازه در محدوده ۲/۳۵-۲/۲۹ log CFU/g بود و در روز ابتدای دوره نگهداری، تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (p>۰/۰۵). با افزایش زمان، مقادیر باکتری سرمادوست در تمامی تیمارها افزایش یافت و این تغییرات در تیمار شاهد بیشتر بود (p<۰/۰۵). به‌طوری‌که در انتهای دوره نگهداری در تیمار شاهد برابر با ۹/۹۶ log CFU/g بود. استفاده از پوشش‌های خوراکی و اسانس سبب کند شدن روند افزایشی مقادیر باکتری سرمادوست شد و افزایش غلظت اسانس تأثیر مثبتی بر این روند داشت و نتایج بهتری در اکثر زمان‌های نگهداری در تیمار ترکیبی پوشش‌های خوراکی و اسانس مشاهده شد به‌طوری‌که در روز ۱۶ ام نگهداری کمترین مقادیر باکتری سرمادوست در تیمار نانو کیتوزان+ صمغ+ اسانس ۱/۵٪ بوده است (log CFU/g ۵/۹۷) (p<۰/۰۵).



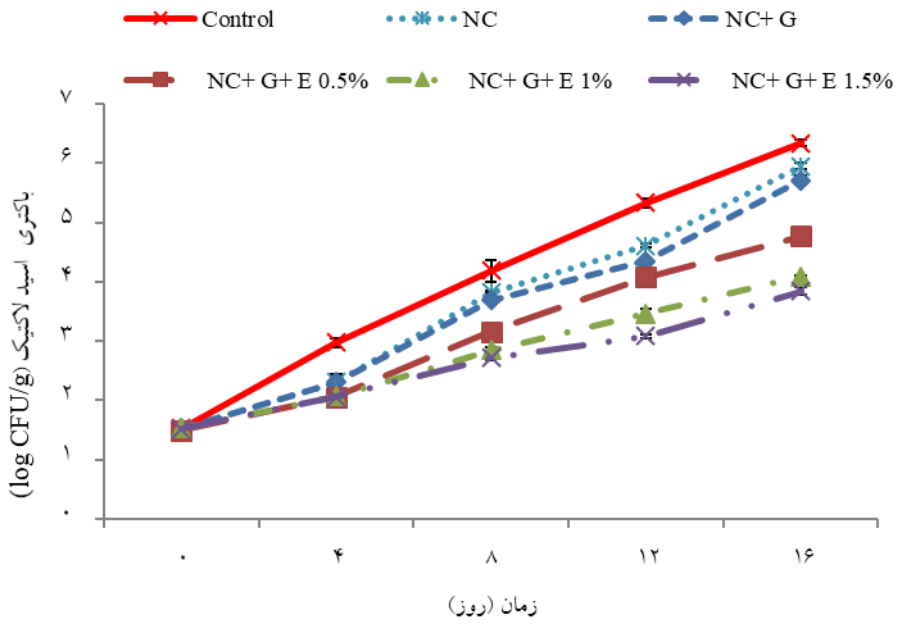
نمودار (۵)- مقادیر باکتری سرمادوست در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

نتایج مربوط به تغییرات مقادیر باکتری انتروباکتریاسه در نمودار ۶ آورده شده است. مقادیر اولیه مقادیر باکتری انتروباکتریاسه در مورد فیله بز تازه در محدوده ۰/۸۷ log CFU/g بود و در روز ابتدای دوره نگهداری، تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (P>۰/۰۵). با افزایش زمان، مقادیر باکتری انتروباکتریاسه در تمامی تیمارها افزایش یافت و این تغییرات در تیمار شاهد بیشتر بود (p<۰/۰۵). به‌طوری‌که در انتهای دوره نگهداری در تیمار شاهد برابر با ۶/۲۶ log CFU/g بود. استفاده از پوشش‌های خوراکی و اسانس سبب کند شدن روند افزایشی مقادیر باکتری انتروباکتریاسه شد و افزایش غلظت اسانس تأثیر مثبتی بر این روند داشت و نتایج بهتری در اکثر زمان‌های نگهداری در تیمار ترکیبی پوشش‌های خوراکی و اسانس مشاهده شد به‌طوری‌که در روز ۱۶ ام نگهداری کمترین مقادیر باکتری انتروباکتریاسه در تیمار نانو کیتوزان+ صمغ+ اسانس ۱/۵٪ بوده است (۳/۰۵ log CFU/g) (p<۰/۰۵).



نمودار (۶)- مقادیر باکتری انتروباکتریاسه در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

نتایج مربوط به تغییرات مقادیر باکتری اسیدلاکتیک در نمودار ۷ آورده شده است. مقادیر اولیه مقادیر باکتری اسیدلاکتیک در مورد فیله بز تازه در محدوده ۱/۴۹-۱/۵۲ log CFU/g بود و در روز ابتدای دوره نگهداری، تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (p<۰/۰۵). با افزایش زمان، مقادیر باکتری اسیدلاکتیک در تمامی تیمارها افزایش یافت و این تغییرات در تیمار شاهد بیشتر بود (p<۰/۰۵). به‌طوری‌که در انتهای دوره نگهداری در تیمار شاهد برابر با ۶/۳۴ log CFU/g بود. استفاده از پوشش‌های خوراکی و اسانس سبب کند شدن روند افزایشی مقادیر باکتری اسیدلاکتیک شد و افزایش غلظت اسانس تأثیر مثبتی بر این روند داشت و نتایج بهتری در اکثر زمان-های نگهداری در تیمار ترکیبی پوشش‌های خوراکی و اسانس مشاهده شد به‌طوری‌که در روز ۱۶ ام نگهداری کمترین مقادیر باکتری اسیدلاکتیک در تیمار نانو کیتوزان+ صمغ+ اسانس ۱/۵٪ بوده است (۳/۸۴ log CFU/g) (p<۰/۰۵).



نمودار (۷)- مقادیر باکتری اسیدلاکتیک در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

بحث و نتیجه‌گیری

یکی از وظایف اصلی بسته‌بندی مواد غذایی، جلوگیری یا به حداقل رساندن انتقال رطوبت بین مواد غذایی و محیط اطراف آن است، بنابراین نفوذپذیری به بخار آب به‌منظور بهینه‌سازی بسته‌بندی مواد غذایی و افزایش عمرماندگای محصول باید در صورت امکان به حداقل برسد (Hosseini *et al.*, 2015). که با افزودن صمغ کتیرا به فیلم PLA، مقادیر WVPدر فیلم افزایش یافت. این امر احتمالاً می‌تواند به دلیل آب‌دوستی بالاتر فیلم کتیرا و در نتیجه نفوذپذیری بیشتر آن و نیز گسستگی ساختاری بیشتر آن بوده باشد. به‌طورکلی فیلم‌های زیست تخریب پذیر در مقایسه با انواع فیلم‌های سنتزی از میزان نفوذپذیری بالایی به رطوبت برخوردارند و در واقع این مورد یکی از نقاط ضعف عمده آن‌ها به شمار می‌رود (Perdana *et al.*, 2021). با افزودن اسانس مقادیر WVPدر فیلم‌ها کاهش یافت. به‌طوری‌که کمترین مقادیر WVP در فیلم مرکب نانوکیتوزان-صمغ+ اسانس ۱/۵٪ مشاهده شد. علت این امر، ویژگی‌های آب‌گریزی اسانس است که باعث کاهش غلظت مولکول‌های آب می‌شود. هنگامی‌که اسانس به فیلم نانو مرکب اضافه می‌شود، پیوندهای کووالانسی بین گروه‌های عاملی زنجیره‌های نانوکیتوزان و اسانس با کاهش در دسترس بودن گروه‌های هیدروکسیل و آمینو تشکیل می‌شود و برهمکنش‌های پلی ساکارید-آب را برای پیوند هیدروژنی محدود می‌کند (de Oliveira Filho *et al.*, 2020).

خصوصیات مکانیکی پلیمرهای مرکب ازجمله خصوصیاتی است که به میزان برهمکنش‌ها در سطح مشترک ترکیبات بستگی دارد. به‌طورکلی، برقراری برهمکنش‌های مناسب میان ترکیبات، سبب بهبود

معنی‌دار در ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها می‌شود (Brindle and Krochta, 2008). با افزودن صمغ کتیرا و به فیلم نانوکیتوزان مقاومت کششی افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین مقادیر مقاومت کششی در فیلم نانوکیتوزان+ صمغ مشاهده شد. این پدیده، احتمالاً به دلیل ایجاد برهمکنش‌های بین‌مولکولی قوی در بین ماکرومولکول های کتیرا و نانوکیتوزان به دلیل شباهت ساختاری این دو ماده می باشد که می‌تواند با تقویت شبکه بیوپلیمر به بهبود خواص کششی فیلم کمک کند (Tabari kouchaksaraei *et al*., 2016). مقاومت کششی در فیلم‌های حاوی اسانس نسبت به فیلم نانو مرکب ضعیف‌تر بود و کمترین مقادیر در مقاومت کششی در فیلم نانوکیتوزان+ صمغ+ اسانس ۱/۵٪ به مشاهده شد. این امر را می‌توان به جایگزینی جزئی پیوندهای قوی پلیمر/ پلیمر با پیوندهای ضعیف پلیمر/ روغن در شبکه فیلم در حضور اسانس نسبت داد که ممکن است پیوستگی شبکه پلیمر را کاهش دهد و به دنبال آن کاهش مقاومت کششی فیلم‌ها صورت گیرد (Perdana *et al*., 2021). با افزودن صمغ کتیرا و به فیلم نانوکیتوزان حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی کاهش یافت به‌طوری‌که کمترین مقادیر حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی در فیلم نانوکیتوزان+ صمغ مشاهده شد. وقوع این رویداد می‌تواند به برهم‌کنش‌های مناسب میان دو پلیمر نسبت داد (Tabari kouchaksaraei *et al*., 2016). اما با افزودن اسانس حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی افزایش یافت و بیشترین مقادیر حداکثر کشش تا قبل از نقطه پارگی در فیلم نانوکیتوزان+ صمغ+ اسانس ۱/۵٪ به مشاهده شد. این پدیده را می‌توان به اثر پلاستی‌سایزری اسانس نسبت داد که باعث افزایش کشش‌پذیری فیلم می‌شود.

در سال‌های گذشته، تلاش‌های متعددی برای توسعه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی بر پایه مواد زیستی طبیعی مانند کیتوزان انجام‌شده است. با توجه به نتایج فیلم کیتوزان در برابر تمامی باکتری‌ها دارای خاصت ضد باکتریایی بود. اثر ضدمیکروبی کیتوزان به فاکتورهای زیادی از قبیل درجه دی استیلاسیون، وزن مولکولی، شرایط تشکیل فیلم، دما و pH بستگی دارد. کیتوزان با درجه دی استیلاسیون بالا و وزن مولکولی پایین، فعالیت ضدمیکروبی بالایی دارد که دلیل آن افزایش حلالیت و افزایش چگالی بار مثبت است که منجر به تخریب غشای سلولی باکتری‌ها می‌شود (Alizadeh *et al*., 2018). با افزودن صمغ کتیرا به فیلم نانوکیتوزان، مقادیر خاصیت ضد میکروبی فیلم علیه تمامی باکتری‌ها افزایش یافت. علت این امر خاصیت ضد میکروبی صمغ کتیرا است، فعالیت ضد میکروبی صمغ کتیرا علیه برخی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت و کپک‌ها و مخمرها گزارش‌شده است (Ghayempour *et al*., 2015; Emamifar *et al*., 2017). در مطالعه‌ای اعلام شد که برهمکنش بین گروهای آمینی صمغ کتیرا و دیواره سلولی باکتری گرم منفی و همچنین اتصال گروه‌های کربوکسیلات صمغ کتیرا با سلول گرم مثبت باکتری و دیواره سلولی قارچ از مهم‌ترین دلایل فعالیت ضد میکروبی این صمغ است (Emamifar *et al*., 2017). با افزودن اسانس به فیلم خاصیت ضد میکروبی فیلم‌ها افزایش یافت. معمولاً نمی‌توان خواص ضدمیکروبی گیاهان را مربوط به یک نوع متابولیت ثانویه دانست، بلکه به همکاری ترکیبات موجود در گیاه نسبت داده می‌شود. ترکیبات فیتوشیمیایی

با اثر ضدمیکروبی به چند گروه تقسیم می‌شوند که ترکیبات فنلی و پلی فنول‌ها شامل: فنل‌های ساده و اسید فنولیک، کینون‌ها، فلاوونوئیدها و تانن‌ها می‌باشند. ازآنجاکه اسانس زلنگ حاوی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی است بنابراین بخشی از فعالیت ضدمیکروبی این گیاه را می‌توان به این ترکیبات نسبت داد (Muñoz-Tebar *et al*., 2023; Behbahani *et al*., 2017). نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس، قطر هاله عدم رشد برای میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه افزایش یافت. اسانس زولنگ بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مؤثر بود، اما میزان اثربخشی آن بسته به نوع میکروارگانیسم (گرم مثبت، گرم منفی) متفاوت بود. بر اساس پژوهش‌های انجام‌شده باکتری‌های گرم مثبت نسبت به اسانس‌های گیاهی از باکتری‌های گرم منفی حساس‌تر هستند. دلیل این امر وجود غشاءهای خارجی احاطه‌کننده دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی این باکتری‌ها در برابر اثر ضدباکتریایی اسانس‌ها حساسیت کمتری از خود نشان می‌دهند (دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی پیچیده‌تر از دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت است). این غشاء خارجی انتشار مواد آب‌گریز از میان این لایه پوشاننده لیپو پلی‌ساکاریدی را محدود می‌کند (Anis *et al*., 2021; Muñoz-Tebar *et al*., 2023; Alizadeh Behbahani *et al*., 2020). در بررسی اثر ضد میکروبی اسانس گیاه زولنگ در مناطق مختلف الجزایر غربی گزارش گردید که اثر اسانس بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی بوده و خاصیت ضدمیکروبی اسانس به دلیل ماهیت ترکیبات شیمیایی آن می باشد (Medbouhi *et al*., 2019). نتایج مشابهی در ارتباط فیلم مرکب کیتوزان- نشاسته حاوی اسانس لیمو گزارش شد بر اساس آن مطالعه، افزودن اسانس به فیلم سبب افزایش خاصیت ضد میکروبی فیلم می‌شود (Perdana *et al*., 2021). در مطالعه‌ی دیگر فعالیت ضد باکتریایی فیلم نانو کامپوزیت‌های کیتوزان و سدیم مونتموریلونیت حاوی اسانس زنجبیل و رزماری بررسی شد. بر اساس نتایج، فیلم‌های نانو مرکب حاوی اسانس خاصیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های پاتوژن داشت و خاصیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت بالاتر از باکتری گرم منفی بود (Souza *et al*., 2019).

رشد میکروب‌ها یکی از عوامل اصلی فساد مواد غذایی است. کمیته بین‌المللی تعیین ویژگی‌های میکروبیولوژی مواد غذایی حد مجاز برای میزان بار باکتریایی کل و سرمادوست در گوشت خام را log ۷ CFU/g تعیین کرده است (ICMSF, 2005). نتایج مربوط به این دو باکتری باهم هم‌خوانی داشت. بار باکتریایی کل و سرمادوست در تمامی تیمارها با گذشت زمان افزایش یافت. البته شیب افزایش در نمونه شاهد بیش از سایر نمونه‌ها بود. با توجه به استاندارد ارائه‌شده هر دو باکتری ذر نمونه شاهد از روز هشتم به بعد و نمونه‌های پوشش دهی شده توسط نانوکیتوزان و نانوکیتوزان + صمغ از روز دوازدهم به بعد و نمونه‌های پوشش دهی شده توسط نانوکیتوزان + صمغ همراه با ۱ و ۱/۵ درصد اسانس زولنگ تا انتهای دوره نگهداری از حد مجاز .برخوردار بودند. مشخص‌شده است که پوشش دهی توسط فیلم نانوکیتوزان به همراه صمغ تا حدودی مانع از رشد بار میکربی کل و سرمادوست نسبت به نمونه کنترل می‌شود. علت این امر را خاصیت ضد میکروبی نانوکیتوزان، صمغ کتیرا و اسانس است.

مکانیسم دقیق عمل ضدمیکروبی کیتوزان هنوز به‌طور دقیق شناخته‌نشده است؛ اما مکانیسم‌های متفاوتی برای آن پیشنهاد گردیده است. یکی از دلایل ویژگی ضدمیکروبی کیتوزان، وجود گروه آمینی با بار مثبت است که با بار منفی غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها برهمکنش داده و موجب نشت مواد پروتئینی و سایر عناصر درون‌سلولی می‌گردد (Rabea *et al*., 2003; Aghababaei *et al*., 2022). همچنین پولگون یکی از ترکیبات صمغ کتیراست که دارای خاصیت ضد باکتریایی است. این ماده باعث مهار فعالیت ATPase و افزایش نفوذپذیری غیراختصاصی غشای سلول باکتری می‌شود و نه تنها خود باعث مهار جمعیت میکروبی می‌شود بلکه با افزایش نفوذپذیری غشاء باکتری‌ها، آن‌ها را نسبت به سایر مواد ضد باکتری حساس و آسیب‌پذیر می‌نماید (Emamifar *et al*., 2017). خاصیت ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی عموماً به دلیل وجود ترکیبات فنلی، ساپونین، تانن و فلاونوئیدهای موجود در ساختارهای آن‌ها است که با تأثیر بر روی غشای پلاسمایی و سلولی میکروارگانیسم‌ها و یا با مهار آنزیم‌های ساختاری غشای سلولی آن‌ها خاصیت ضد میکروبی خود را اعمال می‌نمایند (Sayadi *et al*., 2022). نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه‌ای در ارتباط با پوشش ترکیبی کیتوزان- صمغ چیا به همراه اسانس برگ بؤ بر مقادیر بر مقادیر بر مقادیر کلی باکتری و باکتری سرمادوست (Eslamian *et al*., 2021) و همچنین مطالعه دیگری در ارتباط با پوشش کیتوزان به همراه اسانس رزماری بر مقادیر باکتری سرمادوست گوشت خرگوش هم‌خوانی دارد (El Bayomi *et al*., 2023)، این پژوهشگران پوشش‌دهی گوشت را به‌عنوان روشی مناسب برای حفظ گوشت از فساد پیشنهاد دادند. تغییرات تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه در نمونه‌های گوشت بز در طی دوره نگهداری نشان می‌دهد که اختلاف آماری معنی‌داری بین نمونه‌های مختلف در سطح ٪۵ وجود دارد نتایج به‌دست‌آمده نشان داد بیشترین میزان افزایش در تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه در انتهای دوره نگهداری در نمونه شاهد مشاهده گردید به‌طوری‌که تعداد این باکتری‌ها به ترتیب از ۰/۹ log CFU/g در روز اول به ۶/۲۶ log CFU/g در روز شانزدهم نگهداری رسید. نمونه پوشش دهی شده با فیلم نانو کیتوزان+صمغ کتیرا و اسانس ٪۱/۵ نسبت به سایر نمونه‌ها در کنترل تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه مؤثرتر بوده و کمترین میزان افزایش را در طی دوره نگهداری داشته است، به‌طوری‌که تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه در این نمونه در روز اول برابر ۰/۸۷ log CFU/g بوده و پس از ۱۶ روز نگهداری به ۳/۰۵ log CFU/g رسید. تماس مستقیم بین ترکیبات اسانس و لایه‌های فسفولیپید در غشاء باکتریایی و نفوذپذیری یونی و در نتیجه نشت اجزای حیاتی می‌گردد. ترکیبات فنلی موجود در اسانس و صمغ کتیرا مسئول خواص ضد باکتریایی هستند. اثر ضد میکروبی ترکیبات فنلی احتمالاً مربوط به اثر آن‌ها بر روی آنزیم‌های هیدرولیتیک، برهمکنش با پروتئین‌های انتقال‌دهنده در دیواره سلولی و همچنین اثر متقابل با کربوهیدارت‌ها باشد. علت خاصیت ضد میکروبی کیتوزان را ممانعت از رسیدن مواد غذایی نظیر مواد آمینی به غشاء سلولی باکتری می‌دانند. خاصیت آنیونی و کاتیونی بین قند کیتوزان و پوشش باکتریایی باعث از بین

رفتن غشاء میکروبی می‌شود (Shakour *et al*., 2021; Raeisi *et al*., 2015). نتایج مشابهی در ارتباط با استفاده از کیتوزان، صمغ باریجه و اسانس زیره سبز بر مقادیر باکتری‌های انتروباکتریاسه فیله مرغ (Aghababaie *et al*., 2022) و در ارتباط با پوشش کیتوزان به همراه اسانس رزماری بر مقادیر باکتری‌های انتروباکتریاسه گوشت خرگوش (El Bayomi *et al*., 2023)، گزارش شد دارد به‌طوری‌که استفاده از پوشش‌های مذکور سبب کند شدن روند افزایشی باکتری انتروباکتریاسه شد.

نتایج مربوط به مقادیر باکتری اسیدلاکتیک با مقادیر باکتری انتروباکتریاسه هم‌خوانی داشت. به‌طوری‌که بیشترین میزان افزایش در تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در انتهای دوره نگهداری در نمونه شاهد مشاهده گردید که تعداد این باکتری‌ها به ترتیب از log ۱/۵۲ CFU/g در روز اول به ۶/۳۴ log CFU/g در روز شانزدهم نگهداری رسید. نمونه پوشش دهی شده با فیلم نانو کیتوزان+صمغ کتیرا و اسانس ۱/۵٪ نسبت به سایر نمونه‌ها در کنترل تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک مؤثرتر بوده و کمترین میزان افزایش را در طی دوره نگهداری داشته است، به‌طوری‌که تعداد باکتری‌ها در این نمونه در روز اول برابر ۱/۵۱ log CFU/g بوده و پس از ۱۶ روز نگهداری به ۳/۸۴ log CFU/g رسید. علت این امر خاصیت آنتی‌اکسیدانی نانوکیتوزان، صمغ و اسانس می باشد. با توجه به قابلیت رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک در pH های نسبتاً پایین و مقاوم‌تر بودن آن‌ها نسبت به اسیدهای آلی، استفاده هم‌زمان از اسانس، صمغ کتیرا و نانوکیتوزان به‌عنوان یک ترکیب ضدمیکروبی می‌تواند تا حد زیادی مانع از رشد افزایشی این باکتری‌ها گردد. عنوان‌شده است که دلیل مقاوم بودن این باکتری‌ها وجود مقادیر بالای پتاسیم درون‌سلولی در باکتری‌های گرم مثبت است که در مقابل آنیون‌های اسیدها فعالیت تقابلی دارند. شاید بتوان ویژگی ضد باکتریایی ترکیبات مذکور را به کاهش pH مربوط دانست این کاهش pH ممکن است سبب افزایش نسبت مولکول‌های بدون بار شده و در نتیجه امکان تماس اسید با دیواره سلولی باکتری را فراهم می‌کند (Pirnia *et al*., 2020; Giroux *et al*., 2001). نتایج مشابهی در ارتباط با استفاده از کیتوزان، صمغ باریجه و اسانس زیره سبز بر مقادیر باکتری‌های اسیدلاکتیک فیله مرغ (Aghababaie *et al*., 2022) و در ارتباط با پوشش نانو کیتوزان به همراه اسانس گلپر بر مقادیر اسیدلاکتیک فیله ماهی (Abdollahzadeh *et al*., 2023)، گزارش شد، به‌طوری‌که استفاده از پوشش‌های مذکور سبب کند شدن روند افزایشی باکتری اسیدلاکتیک شد.

در مجموع بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، استفاده از فیلم مرکب نانوکیتوزان- صمغ کتیرای ایرانی به همراه اسانس زولنگ در بسته‌بندی گوشت‌های بز سبب جلوگیری از افزایش عوامل تأثیرگذار در فساد میکروبی آن می‌شود. به‌طوری‌که گوشت بز در گروه کنترل حدود ۶ روز از محدوده مجاز میکروبی برخوردار بود اما تیمارهای پیچیده شده در دو فیلم مرکب نانوکیتوزان- کتیرا و اسانس ۱و ۱/۵٪ تا انتهای دوره نگهداری از محدوده مجاز برخوردار بودند. با توجه به اثر بازدارندگی نسبتاً مشابه مقادیر ۱و ۱/۵ درصد و نیز در نظر گرفتن صرفه اقتصادی، میزان اسانس ۱درصد در فیلم می‌تواند دوز بهینه‌ای باشد. با توجه به گرایش روزافزون به ترکیبات طبیعی کاربرد این

نوع فیلم‌ها همراه با اسانس‌های گیاهی در صنایع غذایی می‌تواند گسترش یابد.

تعارض منافع

نویسندگان تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Abbasi, E., Sarteshnizi, R. A., Gavlighi, H. A., Nikoo, M., Azizi, M. H. and Sadeghinejad, N. 2019. Effect of partial replacement of fat with added water and tragacanth gum (*Astragalus gossypinus* and *Astragalus compactus*) on the physicochemical, texture, oxidative stability, and sensory properties of reduced fat emulsion type sausage. Meat Science, 147: 135- 143.
- Abdollahzadeh, M., Elhamirad, A. H., Shariatifar, N., Saeidiasl, M. and Armin, M. 2023. Effects of nano-chitosan coatings incorporating with free/nano-encapsulated essential oil of Golpar (Heracleum persicum L.) on quality characteristics and safety of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). International Journal of Food Microbiology. 16, 385:109996.
- Alizadeh, V., Barzegar, H., Nasehi, B. and Samavati, V. 2018. Development of a chitosan montmorillonite nanocomposite film containing Satureja hortensis essential oil. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 13 (6): 131-143. [In Persian].
- Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F., Hesarinejad, M. A, Mortazavi, S.A and Mohebbi M. 2017. Plantago major seed mucilage: Optimization of extraction and some physicochemical and rheological aspects. Carbohydrate Polymers, 155(2): 68-77.
- Aghababaei, L., Hasani, M. and Shotorbani, P.M. 2022. Antioxidant and antimicrobial characteristics of chitosan and galbanum gum composite coating incorporated with cumin essential oil on the shelf life of chicken fillets. Journal of Food Measurement and Characterization, 16: 1820–1833.
- Anis, A., Pal, K. nad Al-Zahrani, S. M. 2021. Essential oil-containing polysaccharide-based edible films and coatings for food security applications. Polymers, 13: 575-589.
- ASTM. 1996. Standard test methods for tensile properties of thin plastic sheeting, D882-91. Annual book of ASTM. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Material.
- Azizkhani, M. and Sudanloo, A. 2021. Antioxidant activity of Eryngium campestre L., Froriepia subpinnata and Mentha spicata L. polyphenolic extracts nanocapsulated in chitosan and maltodextrin. Journal of Food Processing and Preservation, 45 (2): e15120.
- Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T, Mortazavi, S. A and Mohebbi M. 2017.Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (Artemisia dracunculus) extract and chemical composition of its essential oil. Journal of Food Measurement and Characterization, 11(2): 847-63.
- Brindle, L.P. and Krochta, J.M. 2008. Physical properties of whey protein hydroxy propylmethylcellulose blend edible films. Journal of Food Science, 73(9):24-66.
- De Oliveira Filho, J.G., de Deus, I.P.B., Valadares, A.C.F., Fernandes, C.C., Estevam, E.B.B. and Egea, M.B. 2020. Chitosan Film with Citrus limonia Essential Oil: Physical and Morphological Properties and Antibacterial Activity. Colloids Interfaces, 4: 18.
- El Bayomi, R. M., Shata, R.H.M. and Mahmoud, A. 2023. Effects of edible chitosan coating containing Salvia rosmarinus essential oil on quality characteristics and shelf-life extension of rabbit meat during chilled storage. Journal of Food Measurement and Characterization, 17: 2464–2474
- Emamifar, A. and Bavaisi, S. 2017. Effect of mixed edible coatings containing gum tragacanth and Aloe vera on postharvest quality of strawberries during storage. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 13(3): 39-54. [In Persian]

- Eslamian Amiri, M., Ahmady, M., Ariaii, P., Golestan, L. and Ghorbani-HasanSaraei, A. G. 2021. Use composite coating of chitosan-chia seed gum enriched with microliposomes of Bay laurel essential oil to increase the shelf life of quail fillets. Food Science & Nutrition, 9: 6524–6537.
- Ghayempour, S., Montazer, M. and Mahmoudi Rad, M. 2015. Tragacanth Gum as a Natural Polymeric Wall for Producing Antimicrobial Nanocapsules Loaded With Plant Extract. International Journal of Biological Macromolecules, 81: 514-520.
- Giroux, M., Ouattara, B., Yefsah, R., Smoragiewicz, W., Saucier, L. and Lacroix, M. 2001. Combined effect of ascorbic acid and gamma irradiation on microbial and sensorial characteristics of beef patties during refrigerated storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49: 919-25.
- Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M. and Farahmandghavi, F., 2015. Bio-based composite edible films containing Origanumvulgare L. essential oil, Industrial Crops and Products, 67: 403-413.
- Hussain, M. A., Sumon, T. A., Mazumder, S. K., Ali, M. M., Jang, W. J., Abualreesh, M. H., et al. 2021. Essential oils and chitosan as alternatives to chemical preservatives for fish and fisheries products: A review. Food Control, 129: 108244.
- ICMSF. 2005. Microorganisms in foods 6: microbial ecology of food commodities, 2nd published 1998). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- Ismailzadeh, M. and Moradi, H. 2022. Quantity and quality of antioxidant compounds and components of essential oil of the medicinal plant (Eryngium campestre) under the influence of altitude. Environmental Sciences, 20(1): 167-178.
- Kausar, T., Mohd, A., Kausar, S., Shafiul. H. and Azad, Z. R.A.A. 2021. Optimum Additive Composition to Minimize Fat in Functional Goat Meat Nuggets: A Healthy Red Meat Functional Food" Processe, 3: 475.
- Khanjani, M., Ariaii, P. and Najafian, L. 2023. Investigating the effect of polylactic acid-nanocellulose composite film along with Lactobacillus casei on the quality and shelf life of beluga sturgeon (Huso huso) fillet. Journal of Food Measurement and Characterization, 17: 4161-4174.
- Medbouhi, A., Benbelaïd, F., Djabou, N., Beaufay, C., Bendahou, M. and Quetin-Leclercq, J. 2019. Essential Oil of Algerian Eryngium campestre: Chemical Variability and Evaluation of Biological Activities. Molecules, 24: 2575.
- Moudache, M., Nerín, C., Colon, M. and Zaidi, F. 2017. Antioxidant effect of an innovative active plastic film containing olive leaves extract on fresh pork meat and its evaluation by Raman spectroscopy. Food Chemistry, 229: 98–103.
- Muñoz-Tebar, N., Pérez-Álvarez, J.A., Fernández-López, J. and Viuda-Martos, M. 2023. Chitosan Edible Films and Coatings with Added Bioactive Compounds: Antibacterial and Antioxidant Properties and Their Application to Food Products: A Review. Polymers, 15: 396.
- Perdana, M. I., Ruamcharoen, J., Panphon, S., and Leelakriangsak, M. 2021. Antimicrobial activity and physical properties of starch/chitosan film incorporated with lemongrass essential oil and its application. LWT, 141: 110934.
- Pirnia, M., Tabatabaei yazdi, F., Mortazavi, S. A. and Mohebi. M. 2020. Survey of antimicrobial gelatin-frankincense (Boswellia carteri) bilayer edible film incorporated with ascorbic acid and Hyssopus officinalis essential oil on ostrich fillets shelf life at refrigerator temperature. Journal of food science and technology, 17 (100): 43-56. [In Persian].
- Rabea, E. I., Badawy, M. E.-T., Stevens, C. V, Smagghe, G. and Steurbaut, W. 2003. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. Biomacromolecules, 4 (6): 1457–1465.
- Raeisi, M., Tajik, H., Aliakbarlu, J., Mirhosseini, S.H. and Hosseini, S.M. 2015. Effect of carboxymethyl cellulose-based coatings incorporated with Zataria multiflora Boiss, essential oil and grape seed extract on the shelf life of rainbow trout fillets. LWT-Food Science and Technology. 64(2): 898-904.

- Rezaei, F. and Shahbazi, Y. 2018. Shelf-life extension and quality attributes of sauced silver carp fillet: A comparison among direct addition, edible coating and biodegradable film. LWT-Food Science and Technology, 87: 122-133.
- Safari, R., Adel, M., Monji, H., Riyahi, Cholicheh, H. and Nematolahi A. 2015. Evaluation of antibacterial effect of some of the endemic herbal essential oils on Streptococcus iniae in invitro. Journal of Aquatic Sciences, 4 (4): 40-33.
- Sayadi, M., Mojaddar Langroodi, A., Amiri, S. and Radi, M. 2022. Effect of nanocomposite alginate-based film incorporated with cumin essential oil and TiO2 nanoparticles on chemical, microbial, and sensory properties of fresh meat/beef. Food Science & Nutrition, 10: 1401‑1413.
- Seydim, A. C., Acton, J. C., Hall, M. A., and Dawson, P. L. 2006. Effects of packaging atmospheres on shelf lifequality of ground ostrich meat. Meat Science, 73(3): 503-510.
- Shahhoseini, S. R., Safari, R. and Javadian, S. R. 2021. Evaluation antioxidant effects of Pullulan edible coating with watercress extract (Nasturtiumn officinale) on the chemical corruption of fresh beluga sturgeon fillet during storage in a refrigerator. Iranian Scientific Fisheries Journal, 30 (2):133-146. [In Persian].
- Shakour, N., Khoshkhoo, Z., Akhondzadeh Basti, A., Khanjari, A. and Mahasti Shotorbani P. 2021. Investigating the properties of PLA-nanochitosan composite films containing Ziziphora Clinopodioides essential oil and their impacts on oxidative spoilage of Oncorhynchus mykiss fillets. Food Science & Nutrition, 00:1–13.
- Souza, V. G. L., Rodrigues, C., Ferreira, L., Pires, J.R.A., Duarte, M.P. and Coelhoso, I. 2019. In vitro bioactivity of novel chitosan bionanocomposites incorporated with different essential oils. Ind. Crops Prod. 140: 111563.
- Tabari kouchaksaraei, F., Rezaei, M., Aryaee, P. and Abdollahi, M. 2016. Evaluation of some Physical and Mechanical Properties of Carboxymethyl cellulose/ Tragacanth Edible Film. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 12(1): 88-97.
- USDA. Nutrient Database for Standard Reference, Release 14; U.S. Government Printing Office: Washington, DC, USA, 2001.
- Valipour F, Ariaii P, Khademi D, N. M. 2017, Effect of chitosan edible coating enriched with eucalyptus essential oil and α-tocopherol on silver carp fillets quality during refrigerated storage. Journal of Food Safety, 37(1). e12295.
- Zarandi, M., Hasani, M. and Shotorbani, P.M 2022. Assessing edible composite coating of sodium alginate–galbanum gum impregnated with nettle extract on improving the shelf life of rainbow trout fillet. Journal of Food Measurement and Characterization, 16: 2556–2570.
- Zhao, R., Guan, W., Zheng, P., Tian, F., Zhang, Z., Sun, Z. and Cai, L. 2022. Development of edible composite film based on chitosan nanoparticles and their application in packaging of fresh red sea bream fillets. Food Control, 132: 108545.