تأثیر پوشش مرکب فعال بر پایه پلی‌وینیل‌الکل/کیتوزان حاوی عصاره آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) بر کیفیت داخلی و پوسته تخم‌مرغ طی انبارمانی

اسماعیل یوسفی زیرابی[a]، داریوش خادمی شورمستی[b]*

[a] *دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه کشاورزی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران*
[b] *استادیار گروه کشاورزی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۱/۰۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۰۴/۰۶

چکیده

مقدمه: تخم‌مرغ یکی از منابع ارزان قیمت پروتئینی و با کیفیت تغذیه‌ای متعادل و در عین حال فسادپذیر است. حفظ کیفیت آن طی دوره ذخیره‌سازی چالشی است که باید با استفاده از فناوری‌هایی که ایمنی محصول را تضمین می‌کند، برطرف شود. تحقیق حاضر با هدف تهیه، توصیف و ارزیابی کارایی پوشش نانو چندسازه‌ای بر تغییرات فیزیکوشیمیایی و میکروبی تخم‌مرغ طی دوره نگهداری به‌مدت ۴ هفته اجرا شد.

مواد و روش‌ها: شاخص‌های کیفیت داخلی و پوسته تخم‌مرغ‌های فاقد پوشش (شاهد) و تخم‌مرغ‌های تیمار شده با پوشش دو سازه‌ای پلی وینیل الکل/کیتوزان (PC)، فیلم سه سازه‌ای پلی وینیل‌الکل/کیتوزان/مونت‌موریلونیت (PCM)، و فیلم‌های PCM حاوی غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی در مجموع ۵ تیمار و ۳ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: عصاره آویشن شیرازی در غلظت ۴ درصد اثر ضدمیکروبی قوی در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* و متوسط تا قوی در برابر *اشرشیاکلی* داشت. فیلم‌های سه‌جزیی PCM فعال دارای ضخامت، استحکام کششی، مدول الاستیسیته، کدورت بیشتر و کرنش، نفوذپذیری کمتر بودند ($p<۰/۰۵$). در پایان ۴ هفته نگهداری، تخم‌مرغ‌های دارای پوشش نانو سه سازه‌ای PCM فعال، پوسته ضخیم‌تر (۰/۴۰۰ میلی‌متر)، مستحکم‌تر (۳/۱۰۰ کیلوگرم)، افت وزنی کمتر (حدود ۴ درصد)، واحدها و (۷۰/۰۰) و اندیس زرده (۰/۴۳) بالاتر و شمار باکتریایی کل کمتر (۴/۰۰ log cfu/ml) بودند.

نتیجه‌گیری: بنابراین می‌توان از فیلم و پوشش نانو سه سازه‌ای PCM حاوی ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی به‌عنوان بسته‌بندی زیست تخریب‌پذیر مواد غذایی از جمله تخم‌مرغ جهت حفظ کیفیت و افزایش زمان نگهداری آن در دمای محیط استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: *آویشن شیرازی (Zataria multiflora Boiss)، تخم‌مرغ، ماندگاری، مونت‌موریلونیت، نانوکامپوزیت*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: dkhademi@gmail.com

مقدمه

طی سالیان اخیر بدنبال بکارگیری مواد و روش‌هایی جهت بسته‌بندی مواد غذایی که ضمن رفع دغدغه‌ها و مخاطرات زیست‌محیطی ناشی از استفاده از مواد مصنوعی، موجب حفظ کیفیت غذا در طول عمر مفید محصول شود، توجه محققان را به خود جلب کرده است. در این خصوص فیلم/ پوشش‌های ساخته شده از پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر به‌عنوان یک فناوری پیشرو و امیدوارکننده جهت بسته‌بندی فعال مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته‌اند.

پلی وینیل‌الکل (PVA) و کیتوزان (CH) از جمله پلیمرهای به‌ترتیب مصنوعی و طبیعی هستند که با دارا بودن توانایی بالا در تشکیل فیلم، خواص مانع خوب، زیست تخریب‌پذیری، عدم سمیت و خواص زیست‌سازگاری مشخص می‌شوند (Yaghoubi *et al*., 2021). این پلیمرها در برابر آب مقاوم نیستند؛ برای غلبه بر خواص مکانیکی ضعیف PVA معمولاً آن را با کیتوزان مخلوط می‌کنند تا از فعل و انفعالات بین این دو ماده استفاده شود (Liu *et al*., 2018). مطالعات متعددی بر روی فیلم‌های کامپوزیت ساخته شده از کیتوزان و PVA در کاربردهای غذایی انجام شده است (Choi *et al*., 2022; Khademi *et al*., 2023). همچنین نتایج مطالعات نشان داد تشکیل نانوکامپوزیت‌ها با استفاده از سیلیکات‌های لایه‌ای به‌خصوص مونت‌موریلونیت (MMT) می‌تواند ضمن بهبود خواص این محصولات، کارایی مواد ضدباکتریایی طبیعی مانند عصاره‌های گیاهی در بسته‌بندی‌های نانومرکب را از طریق کاهش دسترسی به اکسیژن و رطوبت، افزایش دهند (Dehghan and Roomiani, 2020). نشان داده شد که استفاده از سطوح افزایشی نانورس با بهبود خصوصیات ممانعتی، موجب افزایش کارایی پوشش نانوکامپوزیت شد (Mardani and Khademi, 2020). از طرفی طیف وسیعی از عصاره‌ها و اسانس‌های مشتق گیاهی به‌صورت آنتی‌اکسیدان‌ها و ضدمیکروبی‌های طبیعی در فیلم‌ها و پوشش‌ها گنجانده شده است. چراکه عوامل ضدباکتری مصنوعی که عمدتاً برای طولانی‌تر کردن ماندگاری مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند، احتمالاً با عوارض جانبی همراه هستند.

آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) از تیره نعناعیان، بومی مناطق گرم ایران، افغانستان و پاکستان است. عصاره و اسانس مشتق شده از آن به‌دلیل ترکیبات زیست‌فعال کارواکرول، تیمول، سیمن و ترپینن خصوصیات ضداکسیدانی و ضدمیکروبی دارند و لذا به‌تنهایی یا در ترکیب فیلم/پوشش خوراکی مورد استفاده قرار گرفتند (Zafarmand and Khademi, 2021; Sharma *et al*., 2020).

ارزش غذایی تخم‌مرغ بر اساس کیفیت آن است. کاهش کیفیت داخلی تخم‌مرغ بلافاصله پس از تخم‌گذاری آغاز و تا زمان مصرف به‌طور مستمر و پیشرونده ادامه می‌یابد. تخم‌مرغ در کشورمان غالباً خارج از یخچال و در دمای محیط توزیع و عرضه می‌شود، لذا افزایش ماندگاری تخم‌مرغ‌ها با حفظ کیفیت مشابه تخم‌مرغ‌های تازه، چالشی است که به عوامل متعددی بستگی دارد. می‌توان از پوشش‌دهی تخم‌مرغ جهت محدود کردن از دست دادن آب و انتقال اکسیژن و دی‌اکسیدکربن استفاده کرد و در نتیجه، ماندگاری تخم‌مرغ را حفظ کرد. در این رابطه مطالعات نسبتاً گسترده‌ای با استفاده از مواد پوششی زیست‌پلیمری مختلف مانند کربوکسی‌متیل سلولز، پکتین، کیتوزان و نشاسته (Oliveira *et al*., 2020; Mota *et al*., 2017; Suresh *et al*., 2015; Ehsan and Khademi, 2021) انجام شده است. این مطالعه با هدف ارزیابی ابتدایی خصوصیات مکانیکی، فیزیکی و ضدمیکروبی فیلم سه‌جزیی پلی‌وینیل‌الکل، کیتوزان و مونت‌موریلونیت حاوی غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره اتانولی آویشن شیرازی و در ادامه بررسی تأثیر پوشش نانومرکب فعال مذکور بر کیفیت داخلی تخم‌مرغ طی دوره نگهداری ۲۸ روزه با تعیین افت وزنی، pH سفیده، واحد هاو و اندیس زرده اجرا شد.

مواد و روش‌ها

- مواد

پودر کیتوزان با وزن مولکولی ۱۹۰- ۵۰ کیلودالتون (نانو نوین پلیمر، ایران)، پلی‌وینیل‌الکل و نانو مونت‌موریلونیت (MMT, K10) از شرکت سیگما آلدریچ (آلمان)، سایر مواد شیمیایی و محیط‌های کشت مورد نیاز با درجه خلوص تجزیه‌ای از شرکت مرک (آلمان) خریداری شد. گیاه آویشن شیرازی از عطاری معتبر محلی خریداری و توسط بخش گیاهشناسی دانشگاه تأیید علمی شد. تخم‌مرغ خوراکی پوسته سفید، بدون ترک خوردگی و بدون آلودگی به مدفوع

با میانگین وزنی تقریبی ۵±۵۷ گرم از یک مزرعه پرورش مرغ تخمگذار محلی انتخاب و خریداری و با رعایت اصول بهداشتی به آزمایشگاه منتقل شد.

- تهیه عصاره و محلول تشکیل فیلم

ابتدا عصاره‌گیری به‌روش خیساندن با حلال اتانول و به روش توصیفی Choi و همکاران (۲۰۲۲) انجام شد. به‌طور خلاصه مقدار ۳۰ گرم از گیاه پودر شده با ۶۰۰ میلی‌لیتر اتانول (۹۹/۸ درصد) ترکیب و به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای محیط شیکر (RF 602، فاطر الکتریک)، سپس با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و با استفاده از اواپراتور چرخشی (IKA RV-10، آلمان) در دمای ۴۰ درجه سلسیوس تغلیظ شدند.

محلول کیتوزان (۲ درصد وزنی/حجمی) در اسید استیک ۱ درصد، محلول پلی‌وینیل الکل (۵ درصد وزنی/حجمی) و محلول نانومونت‌موریلونیت (۴ درصد وزنی/وزنی) در آب مقطر آماده شد. در فیلم‌های چندجزیی، هر محلول از CH، PVA و MMT در نسبت جرمی برابر مخلوط شدند. دو غلظت مختلف (۲ و ۴ درصد) از عصاره آویشن شیرازی (Av) به محلول‌ها مورد نظر اضافه شد و به‌مدت ۱ ساعت در دمای اتاق همزده شد. فیلم‌ها به‌روش ریخته‌گری تهیه شدند (Haghighi *et al.*, 2019). ۲۰ گرم از محلول در پتری ریخته شده و در آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت خشک و سپس فیلم‌های خشک شده با دقت جدا شده و تا زمان تجزیه و تحلیل در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵۰ درصد نگهداری شدند.

- اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی، مکانیکی و ضدمیکروبی فیلم‌ها

ضخامت فیلم با استفاده از یک ریزسنج با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. خصوصیات مکانیکی شامل استحکام کششی[1] (TS) و ازدیاد طول در نقطه شکست[2] (EB) با استفاده از دستگاه بافت‌سنج (مدل TA-XT2، انگلستان) مورد ارزیابی قرار گرفت و مطابق با دستورالعمل شماره D882-18 استاندارد ASTM مستقیماً از منحنی‌های تنش- کرنش تعیین شدند. مدول یانگ[3] (YM) بر حسب مگاپاسکال به‌صورت شیب ناحیه الاستیک منحنی‌های تنش-کرنش محاسبه شد. نفوذپذیری در برابر بخار آب[4] (WVP) فیلم با استفاده از روش Fu و همکاران (۲۰۲۱) اندازه‌گیری شد. کدورت فیلم براساس دستورالعمل شماره D1746-97 استاندارد ASTM با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری (Staffordshire، انگلستان) به‌صورت نسبت لگاریتم میزان درصد جذب در ۶۰۰ نانومتر بر ضخامت فیلم (میلی‌متر) محاسبه و گزارش شد.

فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های حاوی عصاره‌های گیاهی با روش دیسک انتشاری ارزیابی شد. دیسک‌های با کشت سطحی سوش‌های استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* PTCC1431 و *اشریشیا کلی* PTCC1399 (تهیه شده به‌صورت لیوفیلیزه از مجموعه میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران) بر روی محیط‌کشت مولرهینتون آگار قرار گرفته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. اختلاف قطر هاله‌های تشکیل شده پیرامون دیسک‌ها به‌عنوان شاخص فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌ها در نظر گرفته شد (Ansarifar and Moradinezhad, 2022).

- پوشش‌دهی تخم‌مرغ

تخم‌مرغ‌ها پس از توزین به‌روش غوطه‌وری به‌مدت ۱ دقیقه در محلول‌های پوششی قرار گرفتند. پس از خروج از محلول‌های پوششی و خشک شدن، تخم‌مرغ‌های تیمار شده و شاهد به‌مدت ۴ هفته در دمای محیط نگهداری شدند و فراسنجه‌های کیفیت داخلی به‌طور هفتگی اندازه‌گیری و تعیین شدند (Rachtanapun *et al.*, 2022).

- اندازه‌گیری فراسنجه‌های کیفیت تخم‌مرغ

درصد افت وزنی[5] (WL)، با محاسبه نسبت اختلاف وزن اولیه و نهایی به وزن اولیه تخم‌مرغ اندازه‌گیری شد. جهت ارزیابی واحد هاو[6] (HU) از رابطه $HU= 100 \log (H + 7.57 - 1.7 W^{0.37})$ استفاده شد که در آن H: ارتفاع سفیده (میلی‌متر) و W: وزن تخم‌مرغ

[1] Tensile strength (TS) [2] Elongation at break (EB)
[3] Young's Modulus (YM)
[4] Water Vapor Permeability (WVP)
[5] Weight Loss (WL) [6] Haugh Unit (HU)

(گرم) است. اندیس زرده[1] (YI)، با اندازه‌گیری ارتفاع (h) و قطر زرده (d) با استفاده از رابطه YI= h/d تعیین شد (Haugh, 1937). استحکام پوسته با استفاده از دستگاه بافت‌سنج و ضخامت پوسته با استفاده از میکرومتر دیجیتال به‌صورت میانگین اندازه ضخامت ۳ نقطه از پوسته تعیین شد. برای اندازه‌گیری شاخص اسید تیوباربیتوریک (TBA)، ۵ گرم زرده و ۵۰ میکرولیتر BHT به ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و هموژن گردید. ماده هموژن شده و محلول TBA- تری‌کلرواستیک اسید تیمار شده، سپس جذب سوپرناتانت با اسپکتروفتومتر قرائت شد و به‌صورت میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم (MDA/Kg) نمونه گزارش شد (Draper and Hadeley, 1990). برای ارزیابی آلودگی میکروبی سطح پوسته تخم‌مرغ، با استفاده از روش کشت آمیختنی از نمونه‌ها بر روی محیط پلیت کانت آگار کشت و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. سپس پلیت‌ها شمارش و نتایج بر حسب لگاریتم واحد تشکیل دهنده کلنی بر میلی‌لیتر (log cfu/ml) گزارش گردید (Mallmann *et al.*, 1953).

- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش در قالب طرح‌های کاملاً تصادفی با ۵ تیمار شامل محلول تشکیل فیلم‌های پایه PVA، دوجزیی PVA/CH، سه‌جزیی PVA/CH/MMT و سه‌جزیی فعال حاوی غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی در ارزیابی فراسنجه‌های فیلم و ۵ تیمار شامل تخم‌مرغ‌های فاقد پوشش (شاهد) و تخم‌مرغ‌های حاوی پوشش‌های دوجزیی، سه‌جزیی و سه‌جزیی فعال مطابق فرمولاسیون محلول‌های تشکیل فیلم در ارزیابی فراسنجه‌های کیفیت داخلی و پوسته تخم‌مرغ اجرا شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۶ با ۵ تیمار و ۳ تکرار به روش آنالیز واریانس یکطرفه در مورد فیلم‌ها و دو طرفه در مورد پوشش تخم‌مرغ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و به‌صورت انحراف استاندارد ± میانگین ارائه شدند. میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد مقایسه شدند.

یافته‌ها

- ارزیابی خصوصیات مکانیکی فیلم

داده‌های جدول ۱ نشان داد اضافه شدن نانو مونت‌موریلونیت به ساختار فیلم مرکب دو جزیی PC و تشکیل فیلم سه‌جزیی PCM موجب افزایش حدود ۱۳ درصدی ضخامت فیلم، حدود ۳۳ درصدی استحکام کششی و حدود ۳ درصدی مدول الاستیسیته و کاهش حدود ۳۲ درصدی ازدیاد طول در نقطه شکست شد ($p<0.05$). در عین حال غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره آویشن موجب افزایش معنی‌دار ضخامت، استحکام کششی و مدول یانگ فیلم مرکب سه‌جزیی PCM نشد. همچنین تشکیل فیلم دوجزیی با افزوده شدن کیتوزان به پلی وینیل‌الکل نیز تأثیر معنی‌داری بر استحکام کششی و مدول یانگ فیلم نداشت اما موجب افزایش ضخامت و کشیدگی در نقطه شکست فیلم دوجزیی PC شد (جدول ۱).

جدول ۱- اثر تیمارها برضخامت، ویژگی‌های مکانیکی (مقاومت کششی، ازدیاد طول در نقطه شکست و مدول الاستیسیته) فیلم‌ها

Table 1- Effect of treatments on thickness (mm), and tensile strength (MPa), elongation at break (%), young's modulus (MPa) of films

Treatment	Thickness (mm)	Mechanical Properties		
		YM (MPa)	EB (%)	TS (MPa)
P	0.14±0.00^{c}	0.11±0.00^{b}	75.54±1.16^{b}	23.58±1.20^{b}
PC	0.15±0.02^{b}	0.10±0.04^{b}	94.52±2.21^{a}	21.88±3.15^{b}
PCM	0.17±0.00^{a}	0.13±0.07^{a}	64.51±5.12^{c}	29.10±2.15^{a}
PCM+Av2%	0.17±0.02^{a}	0.14±0.05^{a}	65.52±3.47^{cd}	31.50±1.86^{a}
PCM+Av4%	0.17±0.01^{a}	0.14±0.03^{a}	71.75±2.14^{d}	30.10±1.13^{a}

Values are presented as Mean±SD, n=3. Means with different superscripts indicate significant differences in column (P<0.05), P: poly(vinyl alcohol), C: Chitosan, M: Montmorillonite, Av: thyme extract, TS: Tensile Strength, EB: Elongation at Break, YM: Young's Modulus

[1] Yolk Index (YI)

- تعیین نفوذپذیری بخار آب و کدورت فیلم

نفوذپذیری فیلم به بخار آب در فیلم دوجزیی تفاوت قابل توجهی نسبت به فیلم پلی وینیل‌الکل نداشت. افزودن نانو مونت‌موریلونیت به ساختار فیلم مرکب موجب کاهش معنی‌دار نفوذپذیری فیلم‌ها شد ($p<0.05$). غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره با وجود کاهش عددی نفوذپذیری به بخار آب، اما تأثیر معنی‌داری بر این فراسنجه فیلم نداشتند. در عین حال فیلم مرکب سه‌جزیی حاوی ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی، کمترین نفوذپذیری به بخار آب را داشتند (جدول ۲). افزودن نانو مونت‌موریلونیت به فیلم دوجزیی PC ، موجب ساخت فیلم‌های سه‌جزیی و کدر تر شد ($p<0.05$). همانطوری‌که در جدول ۲ نشان داده شد؛ سطوح مختلف عصاره آویشن شیرازی تأثیر معنی‌داری بر کدورت فیلم PCM نداشت.

- تعیین قطر هاله عدم رشد باکتری در فیلم‌ها

همانطوری‌که در شکل ۱ نشان داده شد گنجاندن کیتوزان و نانو مونت‌موریلونیت در ساختار فیلم‌های مرکب موجب افزایش قطر ناحیه عدم رشد هر دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی شد. در عین حال بکارگیری غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی در ساختار فیلم مرکب فعال موجب افزایش قابل توجه قطر ناحیه عدم رشد و به‌عبارت دیگر اثر ضدباکتریایی فیلم شد ($p<0.05$). به‌عبارتی اثر ضدباکتریایی آویشن شیرازی وابسته به غلظت عصاره بود. بیشترین قطر هاله عدم رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی (به‌ترتیب log cfu/ml ۲۴/۱۵ و ۱۸/۰۰) در فیلم سه‌جزیی فعال حاوی ۴ درصد عصاره آویشن دیده شد.

- ارزیابی افت وزنی، واحد هاو و اندیس زرده تخم‌مرغ

طی دوره نگهداری در تمام تخم‌مرغ‌ها، افت وزنی با یک روند افزایشی، واحد هاو و اندیس زرده با یک روند کاهشی همراه بود (جدول ۳). در پایان دوره نگهداری، تخم‌مرغ‌های فاقد پوشش (شاهد) بیشترین کاهش وزن و کمترین واحد هاو و اندیس زرده را داشتند ($p<0.05$). پوشش‌دهی تخم‌مرغ‌ها موجب کاهش افت وزنی تخم‌مرغ‌ها شد. اثر افزوده شدن نانو مونت‌موریلونیت به ترکیب پوشش دوجزیی PC و ساخت پوشش سه‌جزیی PCM موجب کاهش معنی‌دار افت وزنی شد اما غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره آویشن در پوشش‌های مرکب فعال تأثیر معنی‌داری در افت

جدول ۲- اثر تیمارها بر نفوذپذیری بخار آب و کدورت فیلم‌ها

Table 2- Effect of treatments on water vapor permeability (gmm/m^2 h Pa) and opacity of films

Treatment	P	PC	PCM	PCM+Av2%	PCM+Av4%
WVP (gmm/m^2 h Pa)	6.85±1.61^a	6.00±1.30^a	4.70±0.94^b	4.10±0.85^b	3.90±1.55^b
Opacity	0.84±0.14^b	1.25±0.55^b	2.91±0.80^a	3.12±1.10^a	3.15±1.10^a

Values are presented as Mean±SD, n=3. Means with different superscripts indicate significant differences in rows (P<0.05), P: poly(vinyl alcohol), C: Chitosan, M: Montmorillonite, Av: thyme extract, WVP: Water Vapor Permeability

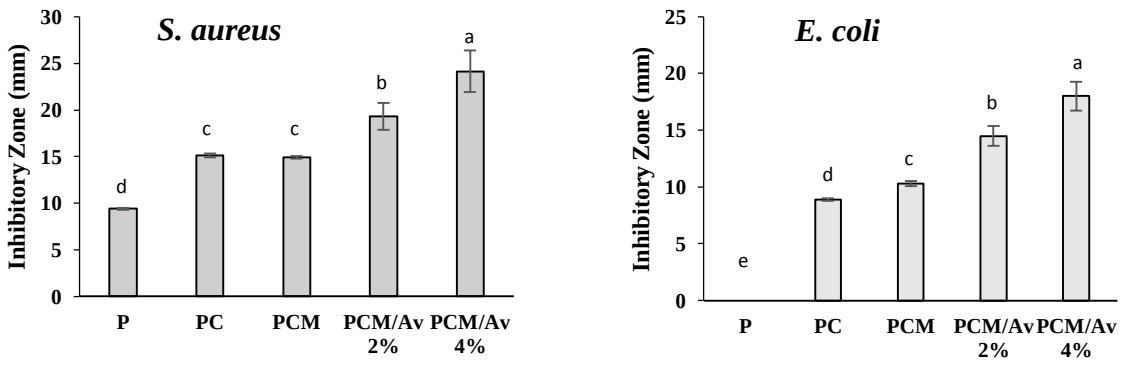

Figure 1- The mean of an inhibitory zone (mm) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in films
Means with different superscripts indicate significant differences in column (P<0.05).

شکل ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد علیه *استافیلوکوکوس* و *اشریشیا کلی* در فیلم‌ها

وزنی تخم‌مرغ‌ها نداشت. تخم‌مرغ‌های حاوی پوشش مرکب سه‌جزیی فعال حاوی غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره آویشن در بازه‌های زمانی و پایان دوره نگهداری بیشترین واحد هاو و اندیس زرده را داشتند ($p<0.05$). در بررسی این فراسنجه‌ها مشخص شد که کارایی پوشش مرکب فعال به غلظت عصاره آویشن وابسته نبود.

- ارزیابی اندیس اسید تیوباربیتوریک

میانگین اندیس اسید تیوباربیتوریک (TBA) زرده تخم‌مرغ طی دوره نگهداری با افزایش تدریجی همراه بود (شکل ۲). در شروع مطالعه میانگین TBA زرده تخم‌مرغ‌ها mg MDA/Kg ۰/۰۴۰ بود. پس از ۴ هفته نگهداری، میانگین TBA در تخم‌مرغ‌های فاقد پوشش به mg MDA/Kg ۰/۱۹۵ افزایش یافت، در حالی‌که کمترین مقدار (mg MDA/Kg ۰/۰۷۵) این فراسنجه در نمونه‌های دارای پوشش مرکب PCM حاوی ۴ درصد عصاره آویشن دیده شد ($p<0.05$). در بازه‌های زمانی مورد مطالعه بکارگیری پوشش‌ها به‌خصوص پوشش مرکب سه‌جزیی موجب شد میانگین TBA تخم‌مرغ‌ها کمتر باشد. بطور کلی با گذشت زمان نگهداری، کارایی پوشش‌ها در کاهش تغییرات TBA مشهودتر بود.

- تعیین ضخامت و استحکام پوسته تخم‌مرغ

در شکل ۳ مقادیر ضخامت و استحکام پوسته تخم‌مرغ‌ها نشان داد؛ پوشش‌دهی پوسته موجب افزایش ضخامت و استحکام پوسته شد ($p<0.05$). ضخامت پوسته از ۰/۳۶۰ میلی‌متر در تخم‌مرغ‌های فاقد پوشش تا ۰/۴۰۰ میلی‌متر در تخم‌مرغ‌های دارای پوشش مرکب سه‌جزیی فعال حاوی ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی متغیر بود. پوسته تخم‌مرغ‌های فاقد پوشش کمترین استحکام (۲/۸۵۵ کیلوگرم) را داشتند. استحکام پوسته تخم‌مرغ‌های دارای پوشش مرکب سه‌جزیی PCM بیش از تخم‌مرغ‌های دارای پوشش دوجزیی PC بود. بکارگیری غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی تأثیر معنی‌داری بر استحکام پوسته تخم‌مرغ‌های دارای پوشش PCM نداشت.

جدول ۳- اثر پوشش بر افت وزنی (درصد)، واحد هاو و اندیس زرده تخم‌مرغ طی نگهداری

Table 3- Effect of coatings on Weight Loss (%), Haugh Unit and Yolk Index of egg during storage (week)

Treatments	Storage Duration (Week)				
	0	1	2	3	4
Weight Loss (%)					
Ctl	-	1.30 ± 0.30^{aD}	3.25 ± 0.60^{aC}	4.50 ± 0.80^{aB}	6.40 ± 1.00^{aA}
PC	-	0.90 ± 0.25^{bD}	2.50 ± 0.35^{bC}	3.30 ± 0.65^{bB}	5.00 ± 1.10^{bA}
PCM	-	0.65 ± 0.20^{cC}	1.90 ± 0.25^{cB}	2.30 ± 0.55^{cB}	3.70 ± 0.85^{cA}
PCM/Av2%	-	0.70 ± 0.15^{cC}	2.05 ± 0.30^{cB}	2.25 ± 0.30^{cB}	3.75 ± 0.70^{cA}
PCM/Av4%	-	0.70 ± 0.20^{cC}	1.90 ± 0.20^{cB}	2.20 ± 0.45^{cB}	3.90 ± 0.80^{cA}
Haugh Unit					
Ctl	84.75 ± 0.00^{Aa}	61.50 ± 0.55^{Bc}	43.75 ± 0.80^{Cb}	31.45 ± 1.05^{Dd}	27.90 ± 0.85^{Dd}
PC	84.75 ± 0.00^{Aa}	75.70 ± 0.60^{Bb}	70.20 ± 0.75^{Ba}	60.50 ± 0.80^{Cc}	55.00 ± 1.00^{Cc}
PCM	84.75 ± 0.00^{Aa}	80.10 ± 0.50^{Aa}	72.00 ± 0.50^{Ba}	66.50 ± 0.75^{Cb}	61.00 ± 0.90^{Db}
PCM/Av2%	84.75 ± 0.00^{Aa}	81.20 ± 0.90^{Aa}	73.10 ± 0.70^{Ba}	71.00 ± 0.55^{Ba}	68.60 ± 0.80^{Ba}
PCM/Av4%	84.75 ± 0.00^{Aa}	81.40 ± 0.60^{Aa}	74.85 ± 0.65^{Ba}	72.50 ± 0.60^{Ba}	70.00 ± 0.90^{Ba}
Yolk Index					
Ctl	0.49 ± 0.00^{Aa}	0.40 ± 0.05^{Bb}	0.33 ± 0.08^{Cc}	0.27 ± 0.03^{Dc}	0.25 ± 0.04^{Dd}
PC	0.49 ± 0.00^{Aa}	0.42 ± 0.03^{BCb}	0.40 ± 0.05^{Cb}	0.37 ± 0.05^{Db}	0.36 ± 0.05^{Dc}
PCM	0.49 ± 0.00^{Aa}	0.45 ± 0.05^{BCa}	0.43 ± 0.04^{Cab}	0.42 ± 0.07^{CDa}	0.40 ± 0.06^{Db}
PCM/Av2%	0.49 ± 0.00^{Aa}	0.46 ± 0.06^{Ba}	0.44 ± 0.08^{BCa}	0.43 ± 0.03^{BCa}	0.42 ± 0.06^{Ca}
PCM/Av4%	0.49 ± 0.00^{Aa}	0.46 ± 0.04^{Ba}	0.45 ± 0.05^{BCa}	0.44 ± 0.05^{BCa}	0.43 ± 0.00^{Ca}

Values are presented as mean±SD, n=3. Means with different superscripts (a-d) in columns and (A-D) in rows indicate significant differences respectively (P<0.05), Crl: control, P: poly (vinyl alcohol), C: Chitosan, M: Montmorillonite, Av: thyme extract

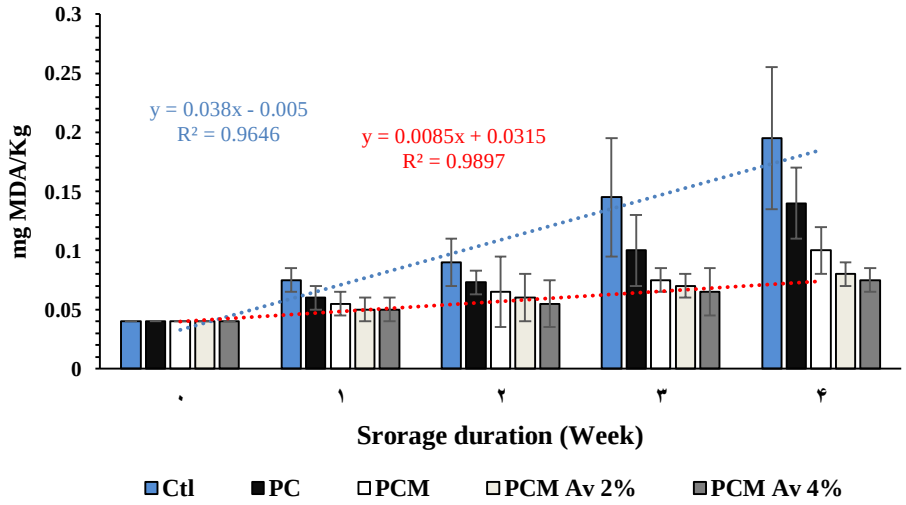

Figure 2- Effect of coatings on thiobarbituric acid (mg MDA/Kg)
Crl: control, P: poly (vinyl alcohol), C: Chitosan, M: Montmorillonite, Av: thyme extract

شکل ۳- اثر پوشش بر میانگین اندیس اسید تیوباربیتوریک (میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید بر کیلوگرم) طی نگهداری

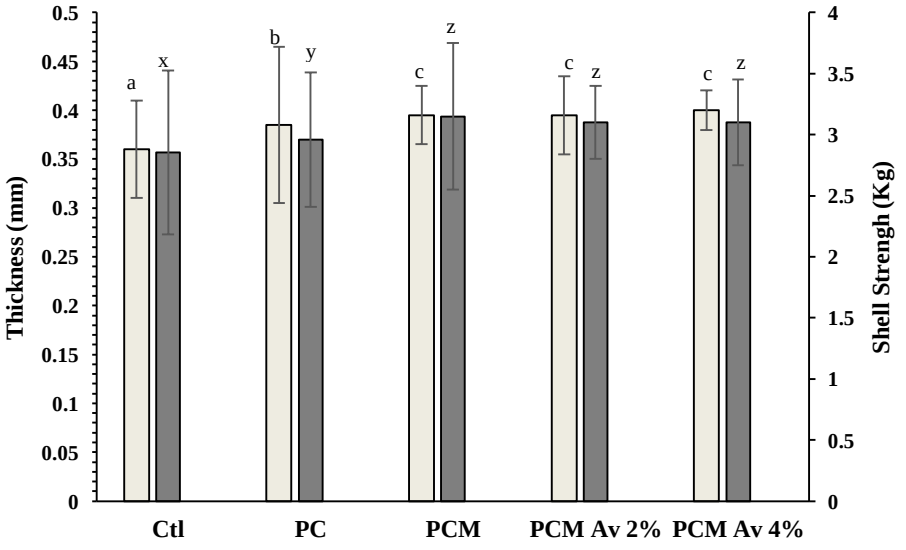

Figure 3- Effect of coatings on eggshell thickness (mm) and shell strength (Kg)
Means with different superscripts (a-c: Thickness and x-z: Shell Strength) indicate significant differences in column (P<0.05). Crl: control, P: poly(vinyl alcohol), C: Chitosan, M: Montmorillonite, Av: thyme extract

شکل ۳- اثر پوشش بر ضخامت پوسته (میلی‌متر) و استحکام پوسته (کیلوگرم) تخم‌مرغ

- ارزیابی تغییرات باکتری کل پوسته تخم‌مرغ

روند تغییرات شمارش کلی باکتریایی بر روی پوسته تخم‌مرغ طی دوره نگهداری که در شکل ۴ آمده نشان داد با گذشت زمان نگهداری این مقدار با افزایش معنی‌دار همراه بود. شمارش کلی باکتریایی بر روی پوسته تخم‌مرغ‌ها در شروع آزمایش ۲/۷۰ Log cfu/ml بود. در پایان دوره نگهداری، بیشترین تعداد کلی باکتریایی (۶/۹۰ cfu/ml) در پوسته تخم‌مرغ‌های فاقد پوشش و کمترین مقدار (۴/۷۰ Log cfu/ml) در پوسته تخم‌مرغ‌های دارای پوشش مرکب PCM فعال حاوی ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی دیده شد ($p<0.05$). بکارگیری عصاره آویشن شیرازی در ترکیب پوشش مرکب PCM موجب بهبود کارایی ضدباکتریایی پوشش‌ها شد اما تحت تأثیر معنی‌دار غلظت عصاره نبود.

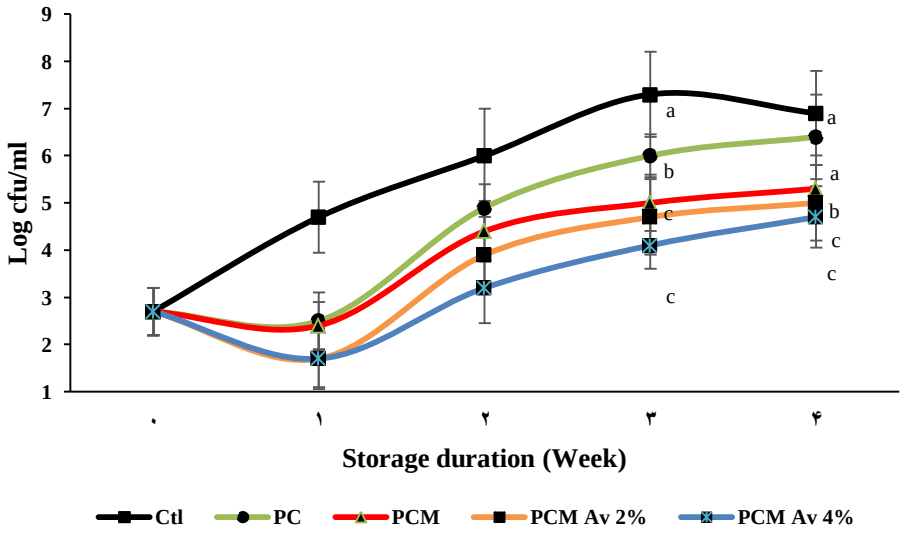

Figure 4- Effect of coatings on eggshell Total Viable Count (Log cfu/ml) during storage
Means with different superscripts indicate significant differences (P<0.05). Crl: control, P: poly(vinyl alcohol), C: Chitosan, M: Montmorillonite, Av: thyme extract
شکل ٤- اثر پوشش بر شمارش کلی باکتریایی پوسته تخم‌مرغ طی نگهداری

بحث

- بررسی نتایج خصوصیات مکانیکی و فیزیکی فیلم‌ها

ضخامت یک فراسنجه مهم در هنگام مطالعه خواص مکانیکی و ممانعتی در برابر بخار آب فیلم‌هاست. هنگامی‌که حجم محلول ریخته شده روی صفحه یکسان است، تفاوت در ضخامت، ناشی از تفاوت در غلظت کل جامدات در سوسپانسیون‌های تشکیل دهنده فیلم است (Aisyah *et al.*, 2018). همسو با نتایج این تحقیق، تفاوت معنی‌داری بین ضخامت فیلم‌های کنترل صمغ دانه ریحان و فیلم‌های ترکیب شده با نانوامولسیون آویشن شیرازی وجود نداشت (Hashemi Gahruie *et al.*, 2017).

خواص مکانیکی زیست‌پلیمرها مانند استحکام کششی و ازدیاد طول در هنگام شکست به عوامل زیادی از جمله نوع و غلظت ماتریس پلیمری و مواد افزودنی (نرم کننده، عامل اتصال عرضی، پرکننده) بستگی دارد. استحکام کششی حداکثر کششی است که می‌توان تا زمانی‌که فیلم شکسته شود به‌دست آورد. هر چه استحکام کششی بیشتر باشد، فیلم خوراکی بهتر می‌تواند آسیب مکانیکی را تحمل کند [۴]. نتایج آزمون استحکام کششی (TS) نشان داد که افزودن نانو مونت‌موریلونیت و متعاقباً عصاره باعث افزایش TS فیلم‌های خوراکی شد. این نشان می‌دهد که عصاره‌ها می‌توانند به‌عنوان عوامل پیوند متقابل عمل کنند. پیوند متقاطع به این دلیل ایجاد شد که مولکول‌هایی که وزن مولکولی پایینی دارند می‌توانند راحت‌تر وارد بافت زمینه‌ای شوند. فعل و انفعالات بین مولکولی منجر به پیوندهای عرضی بین زنجیره‌ها می‌شود که منجر به بهبود خواص فیلم می‌شود (Azizah *et al.*, 2023). گزارش شد که گنجاندن ۳ درصد نانوامولسیون آویشن شیرازی در فیلم‌های خوراکی مبتنی بر صمغ دانه ریحان، مقدار TS را افزایش داد (Hossain *et al.*, 2018). علاوه بر این، TS فیلم‌های بر پایه متیل سلولز که با نانوامولسیون گیاهی (پونه کوهی و آویشن) ترکیب شدند، تقریباً ۳۰٪ افزایش یافت (Ma *et al.*, 2008). این پدیده را می‌توان با تقویت شبکه ناشی از پیوندهای هیدروژنی گسترده (برهم‌کنش‌های دوقطبی–دوقطبی) بین گروه‌های قطبی توضیح داد (Hashemi Gahruie *et al.*, 2017).

ازدیاد طول در هنگام شکست (EB) حداکثر تغییر طولی است که فیلم تا زمانی‌که شکسته شود تجربه می‌کند. در این تحقیق گنجاندن نانو مونت‌موریلونیت موجب کاهش EB فیلم‌ها شد. در عین حال در فیلم‌های سه‌جزیی PCM، افزودن ۲ و ۴ درصد عصاره موجب افزایش EB این دسته از فیلم‌ها شد. ممکن است عصاره به‌عنوان یک نرم‌کننده

عمل کرده و باعث پلاستیکی‌تر شدن فیلم‌ها شود که با تحقیق Azizah و همکاران (۲۰۲۳) مطابقت دارد. به‌طور کلی، مواد با استحکام کششی بالا و مدول یانگ، اما درصد کرنش کم، بدون در نظر گرفتن ضخامت ماده، دارای پیوند متقاطع بالاتری هستند (Kaur *et al*., 2024). نتایج نشان می‌دهد که مواد زمینه‌ای و افزودنی‌ها در فیلم‌های کامپوزیت و فعال تأثیر قابل‌توجهی بر خواص مکانیکی فیلم‌های خوراکی دارند.

نفوذپذیری به بخار آب (WVP) به‌صورت آزاد شدن رطوبت از طریق بخش آبدوست ماتریس فیلم تعریف می‌شود و یکی از مهم‌ترین عواملی است که باید در هنگام انتخاب بسته‌بندی برای نگهداری مواد غذایی در نظر گرفته شود (Ghani *et al*., 2018). فیلم‌هایی که به‌عنوان بسته‌بندی یا پوشش استفاده می‌شوند باید انتقال رطوبت از محصول به محیط را کنترل کنند تا مانع از دهیدراته‌شدن مواد غذایی شده یا آن را کاهش دهند، بنابراین WVP فیلم‌های خوراکی باید تا حد امکان پایین باشد (Ma *et al*., 2008). در این تحقیق، گنجاندن غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی به فیلم سه‌جزیی تأثیر معنی‌داری بر WVP فیلم نداشت. افزایش غلظت امولسیون‌های گیاهی تا یک غلظت مشخص، WVP فیلم‌ها را کاهش می‌دهد، به احتمال زیاد به این دلیل که گنجاندن امولسیون خاصیت آبگریز محلول‌های فیلم را افزایش می‌دهد (Acevedo-Fani *et al*., 2015). نتیجه تحقیق نشان داد در حالی‌که ادغام ۰/۲ درصد اسانس دارچین در فیلم‌های خوراکی تأثیر قابل‌توجهی بر WVP نداشت، هنگامی‌که غلظت اسانس از ۰/۴ به ۰/۸ درصد افزایش یافت، WVP فیلم‌های خوراکی به‌طور قابل توجهی کاهش یافت (Ghani *et al*., 2018). علاوه بر این، WVP در فیلم‌های نانوکامپوزیت برپایه متیل سلولز/ نانوبلور سلولز حاوی ترکیبی از نانوامولسیون‌های آویشن و پونه کوهی در مقایسه با فیلم کنترل برپایه متیل سلولز حدود ۹ درصد کاهش یافت (Hossain *et al*., 2018). این کاهش قابل توجه در WVP در تطابق با یافته‌های تحقیق حاضر هنگام افزوده شدن نانو مونت‌موریلونیت به ترکیب فیلم دوجزیی PC، به پراکندگی نانو بلور سلولز در ماتریس نسبت داده شد، که منجر به طول مسیر طولانی‌تر برای مولکول‌های پخش کننده بخار آب به‌دلیل اثر پیچ‌خوردگی شد (Kong *et al*., 2022). از طرف دیگر می‌توان کاهش نفوذپذیری به بخار آب را به ایجاد برهم‌کنش قوی بین نانوذرات خاک رس و زیست‌پلیمرها نسبت داد. در واقع، این برهم‌کنش‌ها فراسنجه انتشارپذیری را که در تعیین مقدار نفوذپذیری بسیار مؤثرند، تحت تأثیر قرار می‌دهد. زیرا با قرارگیری لایه‌های نانوذرات خاک رس در بین زنجیره‌ها و کاهش فضای آزاد مقدار انتشارپذیری مولکول‌های آب کنترل می‌شود (Zahed Karkaj & Peighambardoust, 2018).

شفافیت از ویژگی‌های نوری فیلم‌ها هستند که بر ظاهر، قابلیت‌های بازار و مناسب بودن آن‌ها برای کاربردهای مختلف تأثیر می‌گذارند. کدورت فیلم نشان دهنده ممانعت فیلم در برابر عبور نور است که می‌تواند به محصول آسیب برساند. در این تحقیق بیشترین کدورت با افزودن عصاره به ترکیب فیلم دیده شد. انتقال نور به توزیع عصاره در ماتریس فیلم و فعل و انفعالات بین عصاره، و سایر اجزای فیلم بستگی دارد که باعث تفاوت در مورفولوژی ماتریس فیلم با انتقال نور می شود. عصاره می‌تواند از انتقال نور از طریق فیلم‌ها جلوگیری کند. این کاهش در انتقال نور احتمالاً ناشی از پراکندگی نور در سطح مشترک قطرات عصاره تعبیه شده در ماتریس فیلم است. در مواد شفاف، عدم یکنواختی در ترکیب مواد باعث تغییرات قابل توجهی در خواص نوری می‌شود. بنابراین، ادغام عصاره در فیلم‌ها به‌طور مستقیم بر انتقال نور و شفافیت فیلم‌های حاصل تأثیر می‌گذارد (Azizah *et al*., 2023).

- بررسی نتایج خصوصیات ضدمیکروبی فیلم‌ها

اثر ضدمیکروبی عصاره آویشن شیرازی در این تحقیق وابسته به غلظت بود. نشان داده شد فیلم‌های حاوی ۰/۸ درصد اسانس دارچین، هر دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی را مهار کرد، در حالی‌که در غلظت‌های ۰/۴ و ۰/۶ درصد هیچ اثر بازدارنده‌ای نداشتند یا فقط باکتری‌های گرم مثبت را مهار کردند (Ghani *et al*., 2018). حضور مولکول‌های تیمول، که ترکیب اصلی در آویشن است، احتمالاً مسئول اثر مهاری قوی گزارش‌شده در فیلم‌های حاوی آن است. این ترکیب می‌تواند از طریق فعل و انفعالات آبگریز به پروتئین‌های غشایی سلول‌های میکروبی

بچسبد و بر نفوذپذیری غشاء تأثیر بگذارد (Acevedo-Fani *et al*., 2015). از طرفی، بالاتر بودن کارایی ضدمیکروبی فیلم‌های حاوی کیتوزان ممکن است به‌دلیل فعالیت ضدمیکروبی ذاتی آن باشد. متداول‌ترین مکانیسم اثر ضدمیکروبی کیتوزان مبتنی بر حضور گروه‌های آمینه با بار مثبت است که به تعامل کیتوزان با بار منفی کمک می‌کند. اجزای دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها حساس هستند و در نهایت باعث اختلال در سلول می‌شوند (Nagy *et al*., 2011). در مورد هر دو باکتری، تهیه فیلم‌های مرکب صرفنظر از وجود عصاره، توانست کارایی ضدمیکروبی فیلم‌ها را افزایش دهد. این نتیجه ممکن است به‌دلیل تجمع بیش از حد مواد ضدمیکروبی ناشی از تشکیل لایه‌های متعدد باشد که ممکن است از انتشار ماده ضدمیکروبی جلوگیری کند (Choi *et al*., 2022).

قطر بیش از ۲۰ میلی‌متر ناحیه بازدارنده رشد باکتری به‌عنوان اثر قوی ضد باکتری، ۶ تا ۱۰ میلی‌متر به‌عنوان اثر ضد باکتریایی متوسط و کمتر از ۵ میلی‌متر به‌عنوان اثر ضد باکتری ضعیف طبقه‌بندی می‌شوند (Naseri *et al*., 2020). بر این اساس می‌توان گفت غلظت‌های ۲ و ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی در برابر استافیلوکوکوس اثر ضدباکتریایی قوی (۲۴/۵ – ۱۹/۳ میلی‌متر) و در برابر اشریشیا کلی اقر ضد باکترایی متوسط تا قوی (۱۸/۰۰ – ۱۴/۵۰ میلی‌متر) داشته است.

- بررسی نتایج فراسنجه‌های کیفیت داخلی تخم‌مرغ

یکی از روش‌های مستقیم در ارزیابی کیفیت تخم‌مرغ، کاهش وزن از طریق تبخیر آب است. کاهش وزن در طول دوره ذخیره‌سازی را می‌توان با از دست دادن آب از آلبومین به محیط به‌دلیل نفوذپذیری پوسته تخم‌مرغ به بخار و گازها مرتبط دانست. از دست دادن جرم به‌طور مستقیم با فراسنجه‌های دیگری مانند درصد، ضخامت، استحکام و چگالی پوسته تخم‌مرغ نیز مرتبط است. بنابراین، می‌توان کیفیت تخم‌مرغ‌ها را با پایش افت وزنی ارزیابی کرد (Almeida e Silva *et al*., 2020). مطابق جدول ۳ پوشش‌دهی تخم‌مرغ‌ها توانست مانع از توسعه فرآیند افت وزنی در طول دوره ذخیره‌سازی شود. کاهش حدود ۶۰ درصدی افت وزنی در طول دوره نگهداری که در تخم‌های پوشش‌داده شده با PCM مشاهده شد، می‌تواند با افزایش کیفیت تخم‌مرغ در ارتباط باشد، زیرا کاهش ارتفاع آلبومین را کاهش می‌دهد و فعالیت ضد میکروبی پروتئین‌ها را حفظ می‌کند (Pires *et al*., 2020). پوشش زیست تخریب‌پذیر توسعه یافته مورد استفاده توانست از تخم‌مرغ‌ها در برابر از دست دادن رطوبت از طریق تبخیر محافظت کند. پوشش‌ها به‌عنوان یک لایه روی سطح تخم‌مرغ‌ها، عمدتاً روی ریزشکستگی‌ها و منافذ عمل می‌کند. عملکرد آنها باعث افزایش ماندگاری محصول می‌شود، زیرا به‌عنوان یک سد فیزیکی و/ یا از نظر بیولوژیکی فعال در برابر میکروارگانیسم‌ها و از دست دادن جرم عمل می‌کند (Almeida e Silva *et al*., 2020).

هر چه زمان نگهداری طولانی‌تر شود، تبخیر بخار آب و دی‌اکسید کربن افزایش می‌یابد که باعث نازک‌تر شدن سفیده تخم‌مرغ غلیظ و کاهش ویسکوزیته سفیده تخم‌مرغ می‌شود. رقیق شدن سفیده تخم‌مرغ به‌دلیل تغییر در ساختار ژل آن، به‌دلیل آسیب فیزیکوشیمیایی به الیاف اوموسین که باعث آزاد شدن آب از شبکه‌های تشکیل شده آن می شود، رخ می‌دهد (Pires *et al*., 2020). از طرفی، نفوذ مداوم و پیشرونده آب از سفیده به زرده از طریق غشا ویتلینی ناشی از فشار اسمزی موجب آبکی شدن و مسطح شدن زرده و در نتیجه کاهش شاخص زرده طی دوره نگهداری می‌شود (Caner & Yuceer, 2015). در برخی کشورها از واحد هاو (از کمتر از ۳۱ تا بیشتر از ۷۲) برای درجه‌بندی تخم‌مرغ استفاده می‌شود. مطابق جدول ۳ در پایان دوره نگهداری، درجه تخم‌مرغ‌های فاقد پوشش به‌تدریج از AA (بیش از ۷۲) در شروع به C (کمتر از ۳۱) در پایان دوره نگهداری تغییر یافت در حالی‌که تخم‌مرغ‌های حاوی پوشش نانو مرکب سه سازه‌ای در پایان هفته چهارم درجه A (بیش از ۶۰) داشتند. اندیس زرده تخم‌مرغ‌های پوشش‌دار تا پایان دوره نگهداری در محدوده استاندارد (۰/۴۵ – ۰/۳۰) بودند در حالی‌که اندیس زرده تخم‌مرغ‌های فاقد پوشش در پایان هفته سوم خارج از محدوده استاندارد قرار گرفت. بنابراین بکارگیری پوشش، موجب کاهش از دست دادن دی‌اکسید کربن و رطوبت و کند شدن تغییرات ساختاری سفیده ناشی از افزایش فشار اسمزی بین سفیده و زرده و در نتیجه بهبود کیفیت زرده می‌شود (Xu *et al*., 2018). در تطابق با یافته‌های تحقیق حاضر، نشان داده شد استفاده از پوشش کامپوزیت فعال

موجب حفظ و بهبود شاخص‌های کیفیت داخلی تخم‌مرغ شد (Ehsan & Khademi, 2021; Ehsan & Khademi, 2022; Khademi *et al*., 2023; Roudashtian *et al*., 2021).

آویشن شیرازی حاوی ترکیبات فنلی به‌ویژه کارواکرول و تیمول است. اتم‌های هیدروژن از گروه هیدروکسیل در ترکیبات فنلی الکترون‌هایی را برای اتصال به رادیکال‌های آزاد اهدا می‌کنند و از اکسید شدن سایر اجزا جلوگیری می‌کنند (Azizah *et al*., 2023). از ارزیابی TBA می‌توان به‌عنوان شاخصی جهت تعیین محصولات ثانویه اکسیداسیون لیپید زرده تخم‌مرغ استفاده کرد. در شکل ۲ نشان داده شد که TBA در تمامی گروه‌ها با افزایش تدریجی همراه بود اما پوشش‌دهی تخم‌مرغ با نانوکامپوزیت فعال حاوی ۴ درصد عصاره، موجب کاهش روند اکسیداسیون لیپید طبق معادله درجه اول با $R^2 = 0.9897$ ($y= 0.0085x + 0.0315$) شد که با خواص آنتی‌اکسیدانی محتوای ترکیبات فنلی آویشن شیرازی مرتبط است. در عین حال روند افزایش TBA در تخم‌مرغ‌های فاقد پوشش با سرعت بیشتر و طبق معادله درجه اول با $R^2 = 0.9646$ ($y= 0.038x - 0.005$) به ۰/۱۹۵ میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم رسید. مطالعات نشان داد که کنترل تبادلات گازها با محیط منجر به کمبود اکسیژن موجود جهت تنفس و در نتیجه مهار فرآیندهای متابولیک و در نهایت تأخیر در اکسیداسیون چربی می‌شود (Bonilla *et al*., 2012). نتایج این تحقیق در تطابق با مطالعه قبلی با استفاده از پوشش نانوکامپوزیت کربوکسی‌متیل سلولز حاوی عصاره مرزنجوش بود (Ehsan & Khademi, 2021).

- بررسی نتایج فراسنجه‌های فیزیکی و میکروبی پوسته تخم‌مرغ

کیفیت فیزیکی پوسته از اهمیت اقتصادی زیادی برخوردار است. چراکه پوسته ضخیم و البته مستحکم، با کاهش نسبت تخم‌مرغ‌های حذفی به‌دلیل ترک خوردگی یا شکستگی، موجب افزایش ماندگاری و در نهایت منافع اقتصادی می‌گردد (Caner & Yuceer, 2015). گنجاندن نانو رس و عصاره به ترکیب پوشش موجب افزایش تدریجی ضخامت پوسته شد. ضخامت پوسته تخم‌مرغ‌های حاوی پوشش نانومرکب فعال حدود ۱۱ درصد بیشتر از پوسته فاقد پوشش بود (۰/۴۰۰ در برابر ۰/۳۶۰ میلی‌متر). استحام پوسته نیز از روند مشابهی پیروی کرد. استحکام پوسته تخم‌مرغ‌های حاوی پوشش نانومرکب فعال حدود ۸/۵ درصد بیشتر از پوسته فاقد پوشش بود (۳/۱۰۰ در برابر ۲/۸۵۵ کیلوگرم). همچنین داده‌ها نشان داد بین ضخامت و استحکام پوسته همبستگی مثبت شدیدی (۰/۹۲۹) وجود داشت. لذا تخم‌مرغ‌های ضخیم‌تر حاوی پوشش نانومرکب فعال، استحکام و قدرت بیشتری داشتند. در تحقیقات مشابهی نشان داده شد؛ بکارگیری پوشش نانو مرکب موجب افزایش قدرت و استحکام پوسته تخم‌مرغ شد (Roudashtian *et al*., 2022; Ehsan & Khademi, 2022).

عمر مفید تخم‌مرغ معمولاً بین ۲۱ تا ۳۵ روز متغیر است. ماندگاری با کیفیت تخم‌مرغ مرتبط است که می‌تواند تحت تأثیر شرایط محیطی مانند دما و رطوبت نسبی باشد. باکتری‌ها می‌توانند بیوفیلم‌هایی را روی سطوح پوسته تخم‌مرغ تشکیل دهند که موجب تسهیل بقای طولانی مدت‌تر آن می‌شود و معمولاً در دماهای بالاتر رخ می دهد (Chousalkar *et al*., 2021). تعداد باکتریایی کل (TVC) روی پوسته تخم‌مرغ تحت تأثیر عوامل مدیریت مزرعه و شیوه‌های نگهداری تخم‌مرغ بوده و از اهمیت قابل توجهی برخوردار است زیرا با ایمنی تخم‌مرغ و ماندگاری محصول مرتبط است (Chousalkar *et al*., 2021). مطابق شکل ۴ پوشش‌دهی به‌طور معنی‌داری بر کاهش روند آلودگی پوسته تأثیر مثبت داشت. به‌دلیل ماهیت ذاتی ضدمیکروبی کیتوزان و نیز نقش نانو مونت‌موریلونیت در تشکیل لایه‌های متعدد که ممکن است از انتشار ماده ضدمیکروبی جلوگیری کند از یکسو و خصوصیات ضدمیکروبی عصاره آویشن شیرازی از سوی دیگر، شمارش باکتریایی کل در پوسته تخم‌مرغ‌های حاوی پوشش نانومرکب فعال کمتر بود.

مونت‌موریلونیت، پس از پراکنش در آب به باکتری‌هایی با بار منفی حمله کرده و آنها را جذب و خواص ضدمیکروبی مواد را تقویت میکند. نشان داده شد که نمونه‌های فیلم کربوکسی‌متیل سلولوز دارای انواع نانوذرات خاک‌رس دارای اثر ضدمیکروبی علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی* بود (Zahed

Karkaj & Peighambardoust, 2018). از سوی دیگر تیمول و کارواکرول موجود در آویشن نقش مهمی در خاصیت ضدباکتریایی عصاره دارند. افزوده شدن عصاره به ترکیب پوشش مرکب، به‌دلیل اثر همکوشی افزودنی‌ها، منجر به مقاومت بیشتر تخم‌مرغ‌ها در برابر فساد میکروبی و اکسیداتیو شد. یکی از سازو کارهای پیشنهادی عمل ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی، تماس مستقیم بین اجزای عصاره و غشاهای باکتریایی است که منجر به نفوذپذیری یونی و متعاقباً نشت اجزای حیاتی داخل سلولی می‌شود (Burt, 2004).

نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد فیلم‌های سه‌جزیی (پلی‌وینیل الکل/کیتوزان/مونت‌موریلونیت) فعال با دارا بودن برخی خصوصیات فیزیکی و مکانیکی به‌ویژه WVP پایین‌تر، استحکام کششی بالاتر و در عین حال خصوصیات ضدمیکروبی بهتر می‌توانند به‌راحتی جایگزین فیلم‌های پلاستیکی مانند پلی‌اتیلن شوند. پوشش‌دهی تخم‌مرغ با محلول سه سازه‌ای فعال به‌دلیل خواص ضدمیکروبی و ضداکسیدانی عصاره آویشن شیرازی و خواص ضدمیکروبی و تقویت‌کنندگی نانو مونت‌موریلونیت با انسداد منافذ پوسته و جلوگیری از تبادل گاز، رطوبت و میکروارگانیسم‌ها، ضمن ایجاد پوسته ضخیم‌تر و مستحکم‌تر، موجب کاهش افت وزنی، کاهش تغییرات TBA، واحد هاو و اندیس زرده بالاتر و شمارش باکترایی کل پایین‌تر طی دوره نگهداری شده و درنهایت منجر به افزایش زمان ماندگاری تخم‌مرغ حداقل به‌مدت ۳-۲ هفته شد. لذا استفاده از پوشش نانومرکب سه‌سازه‌ای فعال حاوی ۴ درصد عصاره آویشن شیرازی به‌عنوان بسته‌بندی زیست تخریب‌پذیر تخم‌مرغ طی دوره نگهداری در دمای محیط توصیه می‌شود.

منابع

Acevedo-Fani, A., Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, M.A. & Martín-Belloso, O. (2015). Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. Food Hydrocoll., 47, 168-177.

Aisyah, Y., Irwanda, L.P., Haryani, S. & Safriani, N. (2018). Characterization of corn starch-based edible film incorporated with nutmeg oil nanoemulsion. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 352, 012050.

Almeida e Silva, T., Fernando Gorup, L., Pires de Araújo, R., Graciano Fonseca, G., Martelli, S.M., Pires de Oliveira, K.M. & Faraoni, L.H. (2020). Synergy of biodegradable polymer coatings with quaternary ammonium salts mediating barrier function against bacterial contamination and dehydration of eggs. Food and Bioprocess Technology, 13, 2065-2081. https://doi.org/10.1007/s11947-020-02545-3

Ansarifar, E. & Moradinezhad, F. (2022). Encapsulation of thyme essential oil using electrospun zein fiber for strawberry preservation. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 9, 1-11. https://doi.org/10.1186/s40538-021-00267-y

Azizah, F., Nursakti, H., Ningrum, A. & Supriyadi, S. (2023). Development of edible composite film from fish gelatin–pectin incorporated with lemongrass essential oil and its application in chicken meat. Polymers, 15, 2075. https://doi.org/10.3390/polym15092075

Bonilla, J., Atares, L., Vargas, M. & Chiralt, A. (2012). Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: possibilities and limitations. Journal of Food Engineering, 110(2), 208-213. https://doi.org/1016/j.jfoodeng.2011.05.034.

Burt, S. (2004). Essential oil: their antibacterial properties and potential applications in foods e a review. International Journal of Food Microbiology, 94, 223-253.

Caner, C. & Yuceer, M. (2015). Efficacy of various proteinbased coating on enhancing the shelf life of fresh eggs during storage. Poultry Science, 94, 1665–1677.

Choi, H.J., Choi, S.W., Lee, N. & Chang, H.J. (2022). Antimicrobial activity of chitosan/ gelatin/ Poly (vinyl alcohol) ternary blend film incorporated with *Duchesnea indica* extract in strawberry applications. Foods, 11, 3963. https://doi.org/10.3390/foods11243963

Chousalkar, K.K., Khan, S. & McWhorter, A.R. (2021). Microbial quality, safety and storage of eggs. Current Opinion in Food Science, 38, 91-95. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.022

Dehghan, H. & Roomiani, L. (2020). Antimicrobial activity of nanoclay films enriched with citrus aurantium essential oil against indicator food borne pathogens in

multiflora essential oil nanoemulsion. Carbohydrate Polymers, 166, 93-103.

Haugh, R.R. (1937). A new method for determining the quality of an egg. US Egg Poultry, 39, 27-49.

Hossain, F., Follett, P., Vu, K.D., Salmieri, S., Fraschini, C., Jamshidian, M. & Lacroix, M. (2018). Antifungal activity of combined treatments of active methylcellulose-based films containing encapsulated nanoemulsion of essential oils and γ–irradiation: In vitro and in situ evaluations. Cellulose, 26, 1335-1354.

Kaur, N., Somasundram, C., Razali, Z., Mourad, A.H.I., Hamed, F. & Ahmed, Z.F.R. (2024). Aloe vera/chitosan-based edible film with enhanced antioxidant, antimicrobial, thermal, and barrier properties for sustainable food preservation. Polymers, 16, 242. https://doi.org/10.3390/polym16020242

Khademi Shurmasti, D., Riazi Kermani, P., Sarvarian, M. & Godswill Awuchi, CH. (2023). Egg shelf life can be extended using varied proportions of polyvinyl alcohol/chitosan composite coatings. Food Science & Nutrition, 11, 5041–5049. https://doi.org/10.1002/fsn3.3394

Kong, I., Degraeve, P. & Pui, L.P. (2022). Polysaccharide-based edible films incorporated with essential oil nanoemulsions: physico-chemical, mechanical properties and its application in food preservation- a review. Foods, 11, 555. https://doi.org/10.3390/foods11040555

Liu, L., Wang, S. & Lan, W. (2017). Fabrication of antibacterial chitosan-PVA blended film using electrospray technique for food packaging applications. International Journal of Biological Macromolecules, 107, 848-854.
https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.044

Ma, X., Chang, P.R. & Yu, J. (2008). Properties of biodegradable thermoplastic pea starch/carboxymethyl cellulose and pea starch/microcrystalline cellulose composites. Carbohydrate Polymers, 72, 369-375.

Mallmann, W.L., Dawsan, L.E., Sultzer, B.M. & Wright, H.L. (1953). Studies on microbiological methods for predicting self-life of dressed poultry. Food Technology, 7, 122-125.

Mardani Kiasari, M. & Khademi Shurmasti, D. (2020). Effect of lemon grass (*Cymbopogon citratus*) extract and nanoclay in nanocomposite coating on the physicochemical and microbial properties of chicken fillets

fishery products. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 14(4), 103-111. [In Persian].

Draper, H.H. & Hadeley, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. Methods Enzym, 186, 421–431. https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86135-i

Ehsan, M. & Khademi Shurmasti, D. (2021). Effect of washing and active nanocomposite coating of carboxymethyl cellulose-nanoclay containing marjoram extract (*Origanum vulgare* L) on egg quality during storage at ambient temperature. Iranian Journal of Food Science and Technology, 118(18), 107-118. https://doi.org/10.52547/fsct.18.09.09 [In Persian].

Ehsan, M. & Khademi Shurmasti, D. (2022). Effects of washing and nanocomposite active coating of carboxymethyl cellulose containing nanoclay and marjoram extract (*Origanum vulgare* L) on the internal quality and eggshell during cold storage. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 16(4), 111-120 (In Persian).

Fu, B., Mei, S., Su, X., Chen, H., Zhu, J., Zheng, Z., Lin, H., Dai, C., Luque, R. & Yang, D.P. (2021). Integrating waste fish scale-derived gelatin and chitosan into edible nanocomposite film for perishable fruits. International Journal of Biological Macromolecules, 191, 1164-1174. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.171

Ghani, S., Barzegar, H., Noshad, M. & Hojjati, M. (2018). The preparation, characterization and in vitro application evaluation of soluble soybean polysaccharide films incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsions. International Journal of Biological Macromolecules, 112, 197-202.

Haghighi, H., De Leo, R., Bedin, E., Pfeifer, F., Siesler, H.W. & Pulvirenti, A. (2019). Comparative analysis of blend and bilayer films based on chitosan and gelatin enriched with LAE (lauroyl arginate ethyl) with antimicrobial activity for food packaging applications. Food Packaging and Shelf Life, 19, 31-39. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.11.015

Hashemi Gahruie, H., Ziaee, E., Eskandari, M.H. & Hosseini, S.M.H. (2017). Characterization of basil seed gum-based edible films incorporated with Zataria

during refrigerated storage. Journal of Food Science and Technology, 106(17), 13-21. [In Persian].

Nagy, A., Harrison, A., Sabbani, S., Munson, R.S., Dutta, P.K. & Waldman, W.J. (2011). Silver nanoparticles embedded in zeolite membranes: Release of silver ions and mechanism of antibacterial action. International Journal of Nanomedicine, 6, 1833.

Naseri, H.R., Beigmohammadi, F., Mohammadi, R. & Sadeghi, E. (2020). Production and characterization of edible film based on gelatin - chitosan containing *Ferulago angulate* essential oil and its application in the prolongation of the shelf life of turkey meat. Journal of Food Processing and Preservation, 44, e14558. https://doi.org/10.1111/jfpp.14558

Oliveira, G.S, dos Santos, V.M, Rodrigues, J.C. & Santana, A.P. (2020). Conservation of the internal quality of eggs using a biodegradable coating. Poultry Science, 99, 7207-7213. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.057

Pires, P. G. S., Leuven, A. F. R., Franceschi, C. H., Machado, G. S., Pires, P. D. S., Moraes, P. O., Kindlein, L. & Andretta, I. (2020). Effects of rice protein coating enriched with essential oils on internal quality and shelf life of eggs during room temperature storage. Poultry Science, 99(1), 604–611. https://doi.org/10.3382/ps/pez546

Rachtanapun, P., Homsaard, N., Kodsangma, A., Phongthai, S., Leksawasdi, N., Phimolsiripol, Y. & Seesuriyachan, P. (2022). Effects of storage temperature on the quality of eggs coated by cassava starch blended with carboxymethyl cellulose and paraffin wax. Poultry Science, 101, 101509. https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101509

Roudashtian, R., Shabani, Sh. & Asadi, GH. (2021). Effect of active coating with carboxymethyl cellulose and tragacanth containing cloves extract on some quality and shelf life of eggs during storage. Food Technology & Nutrition, 18(2), 121-132 [In Persian].

Sharma, Sh., Barkauskaite, S., Duffy, B., Jaiswal, A.K. & Jaiswal, S. (2020). Characterization and antimicrobial activity of biodegradable active packaging enriched with clove and thyme essential oil for food packaging application. Foods, 9, 1117. https://doi.org/10.3390/foods9081117

Suppakul, P., Jutakorn, K. & Bangchokedee, Y. (2010). Efficacy of cellulose-based coating on enhancing the shelf life of fresh eggs. Journal of Food Engineering, 98, 207-213. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.12.027

Suresh, P.V, Raj, K.R, Nidheesh, T., Pal, G.K, & Sakhare, P.Z. (2015). Application of chitosan for improvement of quality and shelf life of table eggs under tropical room conditions. Journal of Food Science and Technology, 52, 6345–6354. https://doi.org/10.1007/s13197-015-1721-7

Xu, D., Wang, J., Ren, D. & Wu, X. (2018). Effects of chitosan coating structure and changes during storage on their egg preservation performance. Coatings, 8, 317. https://doi.org/10.3390/coatings8090317

Yaghoubi, M., Ayaseh, A., Alirezalu, K., Nemati, Z., Pateiro, M. & Lorenzo, J.M. (2021). Effect of chitosan coating incorporated with *Artemisia fragrans* essential oil on fresh chicken meat during refrigerated storage. Polymers, 13, 716. https://doi.org/10.3390/polym13050716

Yun, D., Cai, H., Liu, Y., Xiao, L., Song, J. & Liu, J. (2019). Development of active and intelligent films based on cassava starch and Chinese bayberry (*Myrica rubra*) anthocyanins. RSC Advances, 9, 30905-30916.

Zafarmand Kashani, F. & Khademi Shurmasti, D. (2021). Antioxidant and antimicrobial effects of *Zataria multiflora* Boiss. and *Cuminum cyminum* L. alcoholic extracts in bioactive coatings on chicken meat shelf life. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 73(3), 424-433. [In Persian].

Zahed Karkaj, S. & Peighambardoust, S.J. (2018). Physical, mechanical and antibacterial properties of nanobiocomposite films based on carboxymethyl cellulose/nanoclay. Iranian Journal of Polymer Science and Technology, 30(6), 557-572. https://doi.org/10.22063/JIPST.2018.1536

The Effect of Polyvinyl Alcohol/Chitosan-Based Active Composite Coating Containing *Zataria multiflora* Boiss. Extract on Internal Quality and Eggshell during Storage

E. Yousefi Zirabi [a], D. Khademi Shurmasti [b *]

[a] MSc. Graduated of the Department of Agriculture, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran.

[b] Assistant Professor of the Department of Agriculture, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran.

Received: 20 March 2024 Accepted: 26 June 2024

Abstract

Introduction: Eggs are one of the low-cost sources of protein with balanced nutritional quality and at the same time they are perishable. Maintaining its quality during storage period is a challenge that needs to be overcome by using technologies that guarantee the product's safety. The present research was carried out to prepare, describe and evaluate the effectiveness of multi-component nano-coating on the physicochemical and microbial changes of eggs during the storage period of 4 weeks.

Materials and Methods: internal and shell quality indicators of uncoated eggs (control) and eggs treated with two-components polyvinyl alcohol/chitosan (PC) coating, three-components Polyvinyl alcohol/chitosan/montmorillonite (PCM), and PCM films containing at concentrations of 2% and 4% of thyme extract were evaluated in 5 treatments and three replicate orders in a completely randomized design.

Results: Thyme extract at a concentration of 4% had a strong antimicrobial effect against *Staphylococcus aureus* and moderate to strong against *Escherichia coli*. Three-components active PCM films had higher thickness, tensile strength, elasticity modulus, opacity, lower strain, and permeability ($p<0.05$). At the end of 4 weeks of storage, the eggs coated with three-component active PCM, had thicker (0.400 mm), stronger (3.100 kg) eggshells, less weight loss (about 4 %), higher haugh unit (70.00) and yolk index (0.43) and less total viable count (log cfu/ml 4.00).

Conclusion: Therefore, it is possible to use PCM three-components nanofilm and coating containing 4% of thyme extract as a biodegradable packaging of food products including eggs to maintain the quality and extend its storage time in ambient temperature.

Keywords: *Egg, Montmorillonite, Nanocomposite, Shelf life, Thyme (Zataria multiflora Boiss).*

* Corresponding Author: dkhademi@gmail.com