Food Hygiene, Vol. 11, No. 41, Spring 2021

"Research article" DOI: 10.30495/JFH.2021.1926243.1311

Effect of orange waste based nanobiocomposite film containing nettle essential oil and cellulose nanofiber on microbial and chemical characteristics of beef

Mousavi Kalajahi, S.E.[1], Alizadeh, A.[2*], Hamishehkar, H.[3], Almasi, H.[4], Asefi, N.[5]

1. Ph.D Student of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
3. Professor, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
4. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran
5. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

*Corresponding author: a.alizadeh@iaut.ac.ir

(Received: 2021/3/16 Accepted: 2021/6/14)

Abstract

Beef is considered the main source of dietary protein despite being perishable. In this regard, utilization of biodegradable films containing plant essential oils, as antimicrobial compounds, is one of the concepts to prolong the beef shelf life. Accordingly, this study aimed to investigate the effect of the biodegradable film based on orange waste powder (OWP) containing nettle essential oil (NEO) and cellulose nanofiber (CNF) to increase the shelf life of the refrigerated beef samples stored for 12 days. As well, beef samples were divided into three groups of uncovered (control), wrapped with the OWP-based film without essential oil and nanofiber and wrapped with OWP-base film containing 3% NEO and 6% CNF and the microbial (aerobic mesophilic count, psychrophilic count, and coliform count) and chemical (pH, thiobarbituric acid and volatile nitrogen bases) properties were evaluated at regular intervals (0, 4, 8 and 12 days). According to the results, the beef sample wrapped with OWP-base film containing 3% NEO and 6% CNF showed the lowest growth rate of the mentioned bacteria after 12 days of storage; Moreover, the samples covered by the film containing NEO and CNF had lower levels of pH, thiobarbituric acid and volatile nitrogen bases values compared to the other two samples at 12th day of storage. The results of this study indicate that wrapping beef samples with an OWP-based nanobiocomposite film containing 3% NEO and 6% CNF could remarkably prolong its shelf life in refrigerated conditions.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Cellulose Nanofiber, Nanobiocomposite, Nettle, Orange

«مقاله پژوهشی» DOI: 10.30495/JFH.2021.1926243.1311

اثر فیلم نانوبیوکامپوزیت برپایه تفاله پرتقال حاوی نانوفیبرسلولز و اسانس گزنه بر خصوصیات میکروبی و شیمیایی گوشت گاو

سیده‌الهام موسوی‌کلجاهی[۱]، آیناز علیزاده[۲]*، حامد همیشه‌کار[۳]، هادی الماسی[٤]، نارملا آصفی[۲]

۱- دانشجوی دکتری تخصصی گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۳- استاد مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
٤- دانشیار گروه مهندسی علوم و صنایع‌غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۵. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: a.alizadeh@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۹/۱۲/۲٦ پذیرش نهایی: ۱٤۰۰/۳/۲٤)

چکیده

گوشت گاو با وجود فساد سریع یکی از منابع پروتئینی اصلی در رژیم غذایی است. در این راستا استفاده از فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر حاوی اسانس‌های گیاهی به‌عنوان ترکیبات ضدمیکروبی یکی از روش‌های افزایش ماندگاری تلقی می‌گردد. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر فیلم زیست‌تخریب‌پذیر حاصل از تفاله پرتقال حاوی اسانس گزنه و نانوفیبرسلولز در افزایش ماندگاری گوشت گاو در شرایط یخچالی به مدت ۱۲ روز بود؛ بدین منظور نمونه‌ها به سه گروه گوشت بدون پوشش (کنترل)، پیچیده شده در فیلم حاصل از تفاله پرتقال بدون اسانس و نانوفیبرسلولز و پیچیده شده در فیلم تفاله پرتقال حاوی ۳ درصد اسانس گزنه و ٦ درصد نانوفیبرسلولز تقسیم‌شده و در فواصل زمانی معین (روزهای ۰، ٤، ۸ و ۱۲) از نظر آزمون‌های میکروبی (شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی، سایکروفیل و کلی‌فرم) و شیمیایی (pH، تیوباربیتوریک‌اسید و بازهای ازته فرار) مورد ارزیابی قرار گرفتند. مطابق نتایج به‌دست‌آمده نمونه گوشت پیچیده شده در فیلم تفاله پرتقال حاوی ۳ درصد اسانس گزنه و ٦ درصد نانوفیبرسلولز دارای کمترین میزان رشد در میزان باکتری‌های ذکرشده بعد از ۱۲ روز نگهداری بود؛ همچنین نمونه‌های پیچیده شده در فیلم حاوی اسانس و نانوفیبرسلولز میزان کمتری از pH، تیوباربیتوریک‌اسید و بازهای ازته فرار را نسبت به دو نمونه دیگر بعد از ۱۲ روز نگهداری نشان دادند. به‌طورکلی نتایج این تحقیق حاکی از آن است که پوشش‌دهی با فیلم حاصل از تفاله پرتقال حاوی اسانس گزنه و نانوفیبرسلولز می‌تواند منجر به افزایش زمان ماندگاری گوشت نگهداری شده در شرایط یخچالی گردد.

واژه‌های کلیدی: پرتقال، گزنه، نانوبیوکامپوزیت، نانوفیبرسلولز

مقدمه

گوشت گاو از مهم‌ترین منابع پروتئینی است. با این‌حال اصلی‌ترین مشکل گوشت قرمز فساد سریع آن است. گوشت قرمز به‌دلیل رطوبت، مواد مغذی و pH بالا محیط مناسبی برای رشد میکروب‌های بیماری‌زا بوده و می‌تواند به‌سرعت از نظر میکروبی آلوده شده و باعث کاهش ماندگاری و به خطر افتادن سلامت مصرف‌کنندگان شود (Tayengwa *et al.*, 2020). از دیرباز روش‌های متفاوتی از جمله خشک‌کردن، منجمد کردن و افزودن نگه‌دارنده‌های شیمیایی جهت نگهداری مواد غذایی استفاده شده است (Majdinasab *et al*, 2020)؛ با توجه به تمایل مصرف‌کنندگان، استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی با استفاده از قابلیت فیلم‌های بسته‌بندی به‌عنوان حامل ترکیبات ضداکسایشی، ضدمیکروبی و فعال به‌منظور کنترل عوامل بیماری‌زا، بهبود کیفیت و بهبود ماندگاری مواد غذایی افزایش یافته است. از آن جمله می‌توان به استفاده از اسانس‌های گیاهی نظیر اسانس گزنه به‌دلیل اثرات ضدمیکروبی و ضداکسایشی آن اشاره نمود؛ گیاه گزنه (*Urtica dioica* L.) به‌عنوان گیاه دارویی در سطح جهان شناخته شده است و برگ‌های آن برای اهداف گوناگون در طب سنتی استفاده می‌شود. ترکیبات گزنه شامل فلاوونوئیدها، ترکیبات آب‌دوست مانند پلی‌ساکاریدها، اسیدفرمیک، اسیداستیک، تانن، موسیلاژ، ویتامین C، فیتوسرین و نوعی گلیکوزید است و اثرات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن به اثبات رسیده است (Mojaddar *et al*., 2018). با این‌حال استفاده مستقیم از این ترکیبات در مواد غذایی با ایجاد عطر و طعم شدید، می‌تواند بر ویژگی‌های ارگانولپتیک (عطر، طعم و رنگ) فراورده تأثیر گذارد؛ بنابراین با واردکردن اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در داخل پلیمرها، می‌توان بر این محدودیت فائق آمد، چرا که در این حالت به مقادیر کمتری از اسانس نیاز بوده و استفاده از افزودنی‌های طبیعی را به‌عنوان بسته‌بندی فعال در صنعت غذا مقدور می‌سازد (Mehdizadeh *et al.*, 2020).

در عصر حاضر، آلودگی‌های زیست‌محیطی یکی از مهم‌ترین چالش‌های پیش روی بشر در سراسر جهان است. موادی که برای بسته‌بندی مواد غذایی به‌کار می‌روند، شامل پلاستیک‌ها با منشأ نفتی بوده که به‌دلیل باقیمانده در طبیعت و تجزیه کند، منجر به ایجاد مشکلات زیست‌محیطی می‌گردند (Jouki *et al.*, 2013). در دو دهه اخیر به‌موازات تهیه فیلم و پوشش خوراکی از بیوپلیمرهای خالص، جهت بهره‌وری بیشتر و افزایش ارزش غذایی، تهیه پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی از پوره میوه‌ها و سبزی‌ها نیز توسعه پیدا کرده است. با این حال فضای زراعی اختصاص داده شده برای تولید این بیوپلیمرها قابل‌چشم‌پوشی است؛ لذا استفاده از مواد اولیه بر پایه زیستی و زیست‌تخریب‌پذیر بدون نیاز به زمین‌های زراعی، برای تولید بیوپلیمرها مورد توجه می‌باشد (Bátori *et al*, 2017).

مقدار ضایعات مرکبات به‌صورت جهانی بالا بوده که این امر چالشی جهانی به شمار می‌رود؛ به‌طوری که تولید سالانه مرکبات جهان در حدود ۸۵ میلیون تن می‌باشد (Oun and Rhim, 2015). باقیمانده حاصل از فرآوری صنعتی پرتقال، نظیر آب‌گیری و تولید آب‌پرتقال دارای ۶۰-۵۰ درصدی ضایعات است. این مقدار بالای ضایعات دارای مواد جامد زیاد، آب و pH ۴-۳ بوده و نگهداری نامناسب آن می‌تواند باعث آسیب

جدی به محیط‌زیست گردد. ضایعات پرتقال حاوی پکتین، قندهای محلول، همی‌سلولز، سلولز، نشاسته، لیگنین، خاکستر و فلاونوئیدها می‌باشد که بیانگر اهمیت عملیات بازیافت و استفاده مجدد از آن است؛ لذا این ترکیبات از نقطه‌نظر تولید بیوپلیمرها نیز جالب به‌نظر می‌رسند (Batori *et al.*, 2017). نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد، در فیلم‌های تهیه‌شده از پوره میوه‌ها و سبزی‌ها، وجود ترکیبات دارای وزن مولکولی پایین، مانع از ایجاد شبکه پیوسته فیلم می‌شود و اغلب از ترکیبات تقویت‌کننده بر پایه کربوهیدرات، پروتئین، چربی و یا ترکیبات پرکننده بر پایه نانو، به‌منظور ایجاد ساختار پیوسته و بهبود خصوصیات ممانعت کنندگی و مکانیکی در ترکیب با پوره میوه و سبزیجات استفاده می‌گردد (Oun and Rhim, 2015). نانوفیبرسلولز از نانو ذراتی است که به‌عنوان تقویت‌کننده در پلیمرهای مختلف یادشده است. مقاومت مکانیکی بالا، کاهش نفوذپذیری نسبت به بخارآب، افزایش بازدارندگی در برابر نفوذ گازها، افزایش مقاومت حرارتی ماده بسته‌بندی و ایجاد شفافیت فیلم از مزایای نانو کامپوزیت‌های حاوی نانو فیبر سلولز می‌باشند (Wang *et al.*, 2011). نانوفیبرسلولز پایداری شیمیایی و گرمایی زیادی در مقایسه با سایر نانو ذرات آلی مانند نانوبلورهای نشاسته و نانوکیتوزان دارد. این نانو ذرات در مقایسه با سایر نانو تقویت‌کننده‌ها نظیر نانوخاک رس زیست‌تخریب‌پذیر بوده و دارای چگالی کمتری می‌باشد. استفاده از نانو الیاف سلولزی به‌عنوان پرکننده، باعث افزایش استحکام و سفتی پلیمر شده و به‌علاوه، کاهش وزن شبکه نانو کامپوزیت را نیز به‌همراه دارد. از طرف دیگر حضور نانوفیبرسلولز در فیلم و پوشش می‌تواند رهایش ترکیبات فعال را به‌صورت کنترل‌شده درآورد و از حیث در طراحی فیلم و پوشش فعال بسیار مؤثر واقع شود (Xu *et al*, 2013)؛ با توجه به قابلیت تشکیل فیلم تفاله پرتقال و خصوصیات ضدمیکروبی اسانس گزنه، هدف از این مطالعه بهره‌گیری از تلفیق دو ترکیب نانوفیبرسلولز و اسانس گزنه به‌منظور بهبود خصوصیات عملکردی فیلم حاصل از تفاله پرتقال در حفظ خصوصیات شیمیایی، میکروبی و حسی گوشت گاو در طول دوره ارزیابی ۱۲ روز است.

مواد و روش‌ها

- مواد اولیه مورداستفاده

در این تحقیق، تفاله پرتقال حاصل از آبگیری (*Citrus sinensis osbeck*) از شرکت تک‌دانه (تبریز، ایران)، اسانس گزنه (*Utrica dioica* L.) از شرکت طبیب دارو (کاشان، ایران)، نانوفیبرسلولز (قطر متوسط ۳۵ نانومتر، طول متوسط در حدود ۵ میکرومتر، درصد خلوص ۹۹٪) از شرکت نانو نوین پلیمر، ایران و اسیدسیتریک (مونوهیدراته، درصد خلوص ۹۹٪) و گلیسرول از شرکت (Merck, Germany) تهیه گردید. *لیستریامونوسیتوژنز* (PTCC 1297)، *سالمونلا انتریکا* (PTCC 1709)، *سودوموناس آیروجینوزا* (PTCC 1310)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1764) و *اشرشیا کولای* (PTCC 1330) از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی (IROST, Iran) و برای آزمایش‌های میکروبی محیط آگار مولرهینتون، پلیت کانت آگار، ویولت ردبایل‌آگار و سایر محیط‌های کشت مورد استفاده از سیگما آلدریچ، آلمان (Sigma Aldrich, Germany) تهیه شد.

- روش آماده‌سازی تفاله پرتقال

جهت تهیه پودر، تفاله پرتقال به‌مدت ٢٤ ساعت در آب شهری در دمای ٢٥ درجه سلسیوس خیسانده شد (نسبت آب به تفاله ١/٥ به ١ بود)؛ سپس در دو مرحله غوطه‌وری تفاله در حمام آب ٣٥ درجه سلسیوس به‌مدت ٢٠ دقیقه و تحت هم زدن ١١٥ دور در دقیقه انجام پذیرفت. پس از جمع‌آوری تفاله‌ها، به‌مدت ١٦ ساعت در دمای ٤٠ درجه سلسیوس خشک‌شده و توسط دستگاه آسیاب (Hamilton, GH-108, USA) پودر گردید (Bátori *et al*, 2017).

- روش تهیه فیلم نانوبیوکامپوزیت حاصل از تفاله پرتقال

در این پژوهش با استفاده از نتایج تست‌های اولیه میکروبی و فیزیکی، غلظت بهینه تفاله پرتقال (٦ درصد وزنی/وزنی)، نانوفیبرسلولز (٦ درصد وزنی/وزنی بر مبنای وزن تفاله پرتقال) و اسانس گزنه (٣ درصد وزنی/وزنی برم بنای وزن تفاله پرتقال) به‌منظور بررسی اثر فیلم‌های نانوبیوکامپوزیتی بر پایه تفاله پرتقال بر ماندگاری گوشت گاو انتخاب شد (Mousavi Kalajahi *et al*, 2021)؛ برای این منظور محلول اولیه فیلم از ترکیب ٦ درصد تفاله پرتقال به همراه ٦ درصد نانوفیبرسلولز و با افزودن ٧ درصد وزنی/وزنی گلیسرول و ١ درصد وزنی/حجمی اسیدسیتریک تولید گردید؛ به‌منظور جلوگیری از کلوخه شدن نانوفیبرسلولز از اولتراسوند (Elma, Germany) با فرکانس ٤٠ کیلوهرتز به‌مدت ١٠ دقیقه استفاده شد و در ادامه نانوفیبرسلولز به محلول تهیه شده اضافه گردید. سوپانسیون ایجاد شده به‌مدت ٣٠ دقیقه در حمام آبی ٧٠ درجه سلسیوس همراه با هم‌زدن با سرعت ١١٥ دور بر دقیقه قرار داده شد و به‌منظور جداسازی ذرات درشت، از کاغذ صافی استفاده گردید. سپس محلول به‌دست‌آمده به‌منظور توزیع یکنواخت نانوذرات، به‌مدت ٢٠ دقیقه تحت اولتراسوند (٤٠ کیلوهرتز) قرار گرفت. در ادامه غلظت ٣ درصد اسانس گزنه (وزنی/وزنی بر اساس وزن تفاله) که این مقدار حدوداً معادل با ٠/١٩ درصد اسانس خالص می‌باشد؛ به‌عنوان عامل ضدمیکروبی به فرمولاسیون اولیه اضافه شد و محلول به‌مدت ٣ دقیقه با هموژنایزر (Heidolph, Germany) با شدت١٣٥٠٠ دور در دقیقه مخلوط شد. به‌منظور خروج حباب‌های هوا متعاقباً محلول آماده فیلم تحت اولتراسوند (٤٠ کیلوهرتز) به‌مدت ٢٠ دقیقه قرار گرفت. شایان ذکر است نمونه فیلم حاصل از تفاله پرتقال بدون استفاده از نانوفیبرسلولز و اسانس گزنه نیز به‌منظور بررسی مقایسه‌ای مطابق روش مذکور تولید گردید و در آخر تمامی نمونه‌های تهیه شده به پلیت‌های پلی‌استایرن منتقل و در دمای ٣٥ درجه سلسیوس به‌مدت ٣٦ ساعت خشک گردید (Bátori *et al*, 2017).

جدول (١)- نام‌گذاری تیمارهای مورد آزمون

نام تیمار	تیمار
T1	گوشت گاو بدون پوشش
T2	گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم حاوی ٦ درصد تفاله پرتقال
T3	گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم نانوبیوکامپوزیت حاوی ٦ درصد تفاله پرتقال، ٣ درصد اسانس گزنه و ٦ درصد نانوفیبرسلولز

- آماده‌سازی نمونه‌های گوشت

گوشت ماهیچه گاو (ماهیچه ران گاو نر ۲ ساله) مورد استفاده در آزمون، از بازار محلی خریداری گردید. برای این منظور ابتدا بخش‌های پیوندی متصل به گوشت جدا شد و به قطعات ۵×۵×۵ سانتی‌متر بریده شد. در ادامه نمونه گوشت با استفاده از فیلم حاوی اسانس گزنه و فیلم شاهد (بدون نانوفیبرسلولز و اسانس گزنه) بسته‌بندی گردید و نمونه گوشت بدون پوشش به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. قطعات گوشت به‌همراه فیلم فعال در داخل بسته‌های پلی‌اتیلن قرار گرفت و در دمای ٤ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۲ روز نگهداری گردید. در بازه‌های زمانی ٤ روزه (روز ۰، ٤، ۸ و ۱۲) آزمون‌های مختلف بر روی آن‌ها انجام پذیرفت.

- روش آزمایش

- تعیین غلظت کمینه بازدارنده (MIC) و کمینه غلظت کشندگی (MBC) اسانس گزنه

غلظت‌های کمینه بازدارنده با تست microdilution مشخص شد. کمترین غلظت اسانس گزنه که قابلیت جلوگیری از رشد مرئی میکروارگانیسم‌های تست شده را داشت به‌عنوان MIC انتخاب شد. در ادامه از هر لوله‌ای که رشد مرئی نداشت به‌منظور تعیین MBC در محیط آگار مولرهینتون کشت داده شد (Zabihollahi *et al*, 2020).

- تعیین ویژگی‌های میکروبی گوشت

برای انجام آزمون‌های میکروبی، مقدار ۱۰ گرم از نمونه گوشت با ۹۰ میلی‌لیتر از آب‌پپتون مخلوط و به مدت ۲ دقیقه با استفاده از دستگاه استومیکر (Interscience, France) هموژن گردید. سپس رقت‌های مختلف از نمونه با استفاده از سرم رینگر تهیه گردید. به‌منظور تعیین تعداد کل باکتری‌های مزوفیل هوازی و باکتری‌های سرمادوست از محیط پلیت کانت آگار و کلی‌فرم از محیط ویولت رد بایل آگار طبق روش مرسوم کشت در پلیت استفاده گردید (Zabihollahi *et al*, 2020).

- تعیین ویژگی‌های شیمیایی گوشت

برای تعیین میزان تیوباربیتوریک اسید مقدار ۵ گرم از نمونه گوشت به‌همراه ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک‌اسید ۱۰ درصد در یک بشر مخلوط شده و سپس با استفاده از دستگاه استومیکر (Interscience, France) هموژن گردیده و از کاغذ صافی واتمن شماره ٤۲ عبور داده شد. محلول صاف شده دوباره به کمک محلول تری‌کلرواستیک‌اسید ۱۰ درصد به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۳ میلی‌لیتر محلول تیوباربیوتیک اسید ۰/۰۲ مولار در یک لوله‌آزمایش در پیچ‌دار بر روی محلول قبلی اضافه گردید و به مدت ٤۵ دقیقه در آون با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید (Ojagh *et al.*, 2010). اندازه‌گیری بازهای ازته فرار از طریق تیتراسیون به روش کلدال انجام پذیرفت (Majdinasab *et al.*, 2020). برای تعیین میزان pH در نمونه‌های گوشت گاو، ۵ گرم از نمونه موردنظر با ۹۵ میلی‌لیتر آب مقطر هموژن شده و بعد از فیلتراسیون، میزان pH تیمارهای تولیدی مورد ارزیابی قرار گرفتند (Majdinasabi *et al*, 2020).

- بررسی تغییرات ویژگی‌های حسی

بررسی ویژگی‌های حسی نمونه‌های گوشت گاو توسط ۱۲ ارزیاب آموزش‌دیده با استفاده از آزمون

هـدونیـک ۵ نقطـه‌ای (۱: خیلی نـامطلوب تـا ۵: خیلی مطلوب) به‌منظور بررسـی بافت (عدم وجود لعاب روی عضله، و بازگشت سریع عضله به حالت اولیه)، بو، رنگ و پذیرش کلی نمونه‌های گوشـت گاو بسـته‌بندی‌شده با نمونـه‌هـای مختلف فیلم حاصـــل از تفاله پرتقال انجام پذیرفت (Majdinasabi *et al*, 2020).

- تجزیه و تحلیل آماری

تأثیر نوع پوشـــش بســـته‌بندی بر ویژگی‌های کیفی گوشـت گاو طی مدت نگهداری در قالب طرح G.L.M بـا آنـالیز واریانس یک‌طرفه ([One-Way ANOVA) مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت. تمام آزمون‌ها در ســه تکرار انجام پذیرفت و برای تائید اختلاف میانگین بین تیمارها، آزمون چند دامنه‌ای دانکن در ســطح احتمال ۰/۰۵ اسـتفاده شـد. آنالیز آماری داده‌ها توسـط نرم‌افزار آمـاری (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) SPSS 25 و رسـم نمودارها توسط نرم‌افزار Graph Pad Prism8 انجام شد.

یافته‌ها

حاصـــل از تعیین MIC و MBC اســـانس گزنه در جدول (۲) نشـان داده‌شـده است. مقادیر MIC و MBC ارزیابی‌شده برای نمونه‌های اسانس در مورد باکتری‌های مورد بررســی بین ۰/۰۱۲ تا ۰/۱۹ درصــد متغییر بودند؛ بـه‌طوری‌کـه بیشـــترین میزان MIC و MBC متعلق بـه باکتری *سـالمونلا انتریکا* (۰/۱۹ درصد) و کمترین مقدار متعلق به *اشریشیا کولای* (۰/۰۱۲ درصد) بود.

جدول (۲)- نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس گزنه

نام باکتری (PTCC)	آزمون	غلظت (درصد)							شاهد	شاهد	شاهد
		۰/۱۹	۰/۰۹	۰/۰۴۸	۰/۰۲۴	۰/۰۱۲	۰/۰۰۶۱	۰/۰۰۳	باکتری	اسانس	محیط
استافیلوکوکوس آرئوس ۱۷۶۴	MIC	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
	MBC	-	-	-	+	+	+	+	*	*	*
لیستریا مونوسیتوژنز ۱۲۹۷	MIC	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
	MBC	-	-	-	-	+	+	+	*	*	*
سالمونلا انتریکا ۱۷۰۹	MIC	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	MBC	-	+	+	+	+	+	+	*	*	*
اشریشیا کولای ۱۱۶۲	MIC	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
	MBC	-	-	-	-	-	+	+	*	*	*
سودوموناس آیروجینوزا ۱۰۱۵	MIC	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
	MBC	-	-	-	-	+	+	+	*	*	*

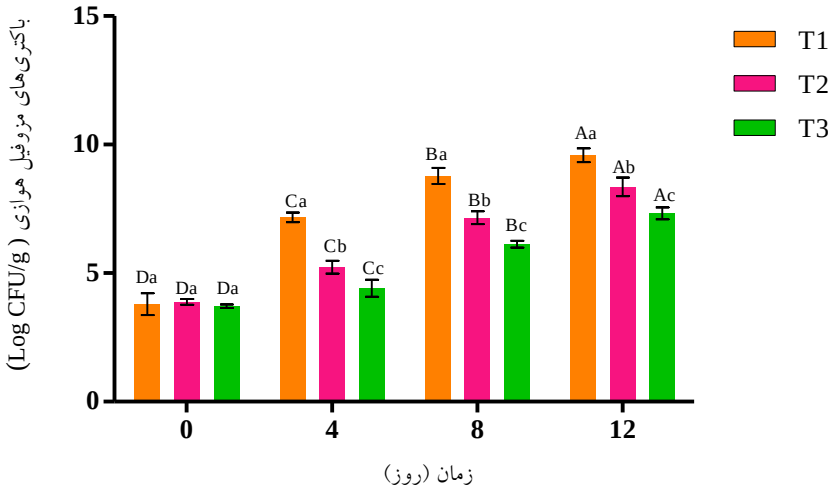
* عدم ارزیابی

مطابق نمودار (۱) در تمام نمونه‌ها با گذشـــت زمان، افزایش معنی‌داری ($p<0/05$) در جمعیـت بـاکتری‌هـای مزوفیل هوازی دیده شـد. طوری که بیشترین و کمترین میزان بـاکتری‌هـای مزوفیـل هوازی در پـایان مدت‌زمان نگهداری ۱۲ روزه به‌ترتیب در نمونه بدون پوشش (log ۹/۵۹±۰/۲۷ CFU/g) و نمونه بسته‌بندی‌شده در فیلم T3 (۷/۳۲±۰/۲۲ log CFU/g) بود.

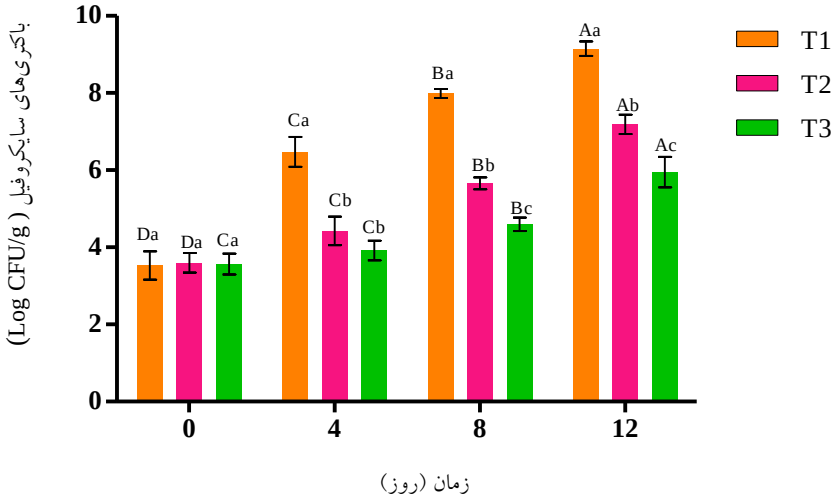
مطـابق نتایج به‌دســـت‌آمده در نمودار(۲) مقدار کل باکتری‌های ســرمادوســت در تمامی نمونه‌ها با گذشـت زمان از روند افزایشـی برخوردار بود. به‌طوری که میزان

آن در نمونه‌های گوشت بدون پوشش در روز چهارم به بیشـــتر از مقادیر قابل‌قبول رســـید. این در حالی بود که رشـد سـایکروفیل‌ها در نمونه‌های پیچیده شـده در فیلم T2 و T3 به‌ترتیب تا روز هشتم و روز دوازدهم کمتر از حداکثر حدود تعیین شده بود.

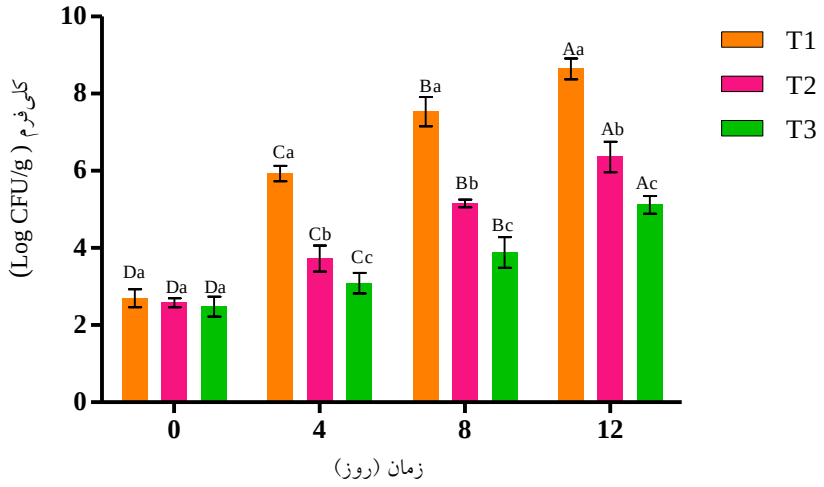
مطـابق نتـایج بـه‌دســـت آمده نمودار (۳) جمعیت کلی‌فرم‌هـا در روز دوازدهم ۸/٦٤±۰/۲۷ و ٦/۳٦±۰/۳۹ log CFU/g بـه‌ترتیـب برای نمونه‌های گوشـــت بدون پوشـش و نمونه بسـته‌بندی‌شـده با فیلم T2 بود. این در حالی اسـت که مقادیر کلی‌فرم در نمونه گوشت پیچیده شده در فیلم T3 بعد از ۱۲ روز نگهداری به ۵/۱۲±۰/۲۳ log CFU/g رسید.



نمودار (۱)- تغییرات میزان باکتری‌های مزوفیل هوازی در نمونه‌های گوشـت با گذشـت زمان در دمای ٤°C. حروف کوچک نشـانگر اثر نوع بسـته‌بندی و حروف بزرگ نشانگر اثر مدت‌زمان نگهداری است. (T1: گوشت گاو بدون پوشش، T2: گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال، T3: گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم نانوبیوکامپوزیت حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال حاوی ۳ درصد اسانس گزنه و ٦ درصد نانوفیبرسلولز)



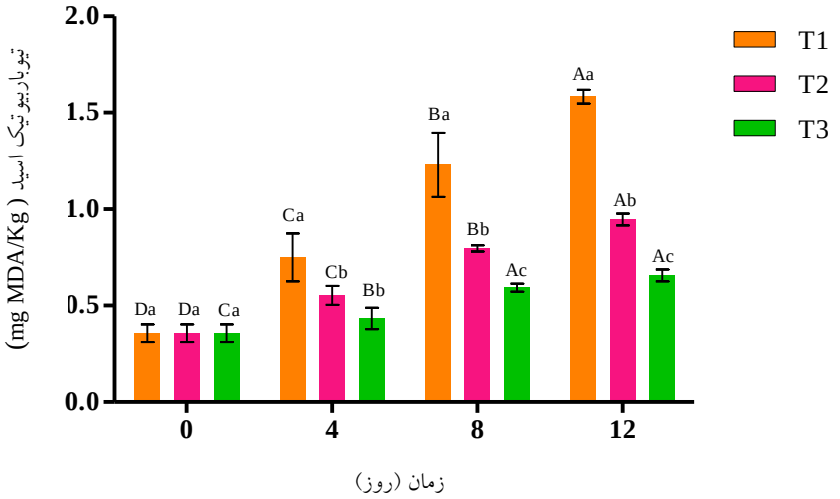
نمودار (۲)- تغییرات میزان باکتری‌های سایکروفیل در نمونه‌های گوشت با گذشت زمان در دمای ٤°C. حروف کوچک نشانگر اثر نوع بسته‌بندی و حروف بزرگ نشانگر اثر مدت‌زمان نگهداری است. (T1: گوشت گاو بدون پوشش، T2: گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال، T3: گوشت گاو بسته‌بندی شده با فیلم نانوبیوکامپوزیت حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال حاوی ۳ درصد اسانس گزنه و ٦ درصد نانوفیبرسلولز)



نمودار (۳)- تغییرات میزان باکتری‌های کلی‌فرم در نمونه‌های گوشت باگذشت زمان در دمای ٤°C. حروف کوچک نشانگر اثر نوع بسته‌بندی و حروف بزرگ نشانگر اثر مدت‌زمان نگهداری است. (T1: گوشت گاو بدون پوشش، T2: گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال، T3: گوشت گاو بسته‌بندی شده با فیلم نانوبیوکامپوزیت حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال حاوی ۳ درصد اسانس گزنه و ٦ درصد نانوفیبرسلولز)

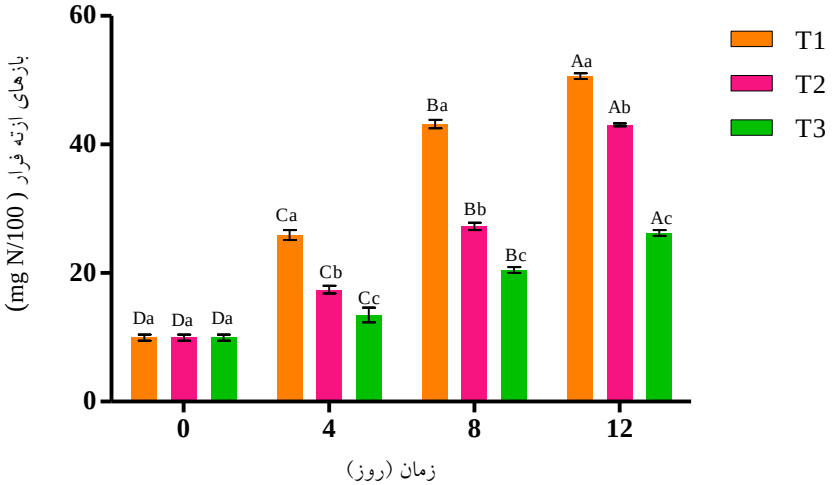
مطابق نتایج به‌دست‌آمده در نمودار (٤) میزان تیوباربیتوریک اسید نمونه شاهد به mg MDA/kg ۱/۵۸±۰/۰۳ در روز دوازدهم رسید. این در حالی بود که نمونه‌های با پوشش نسبت به نمونه‌های بدون پوشش از میزان تیوباربیتوریک اسید کمتری برخوردار بودند. در پایان مدت‌زمان نگهداری بیشترین و کمترین میزان

تیوباربیتوریک اسید به‌ترتیب مربوط به نمونه شاهد و نمونه پیچیده شده در فیلم T3 بود. همچنین مطابق نتایج به‌دست‌آمده، قرار دادن نمونه‌های گوشت در فیلم T2 به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) منجر به کند شدن روند افزایش تیوباربیتوریک اسید در مقایسه با نمونه بدون پوشش گردید.



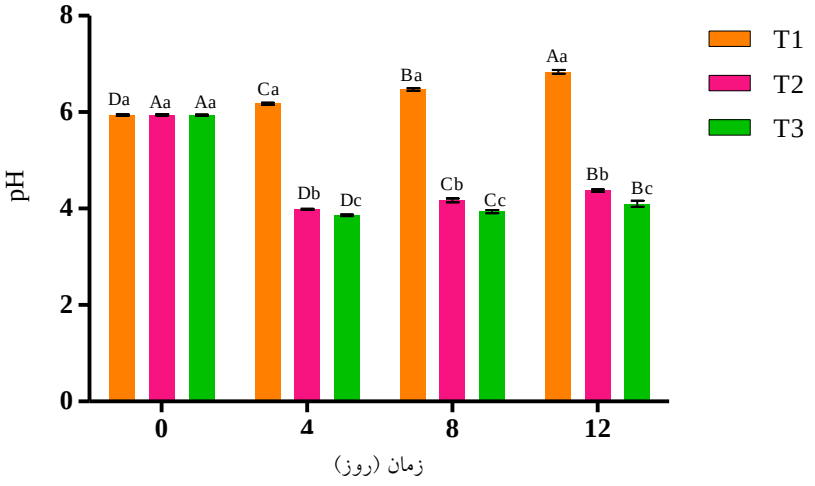
نمودار (٤)- تغییرات میزان تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های گوشت باگذشت زمان در دمای ٤°C. حروف کوچک نشانگر اثر نوع بسته‌بندی و حروف بزرگ نشانگر اثر مدت‌زمان نگهداری است. (T1: گوشت گاو بدون پوشش، T2: گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال، T3: گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم نانوبیوکامپوزیت حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال حاوی ۳ درصد اسانس گزنه و ٦ درصد نانوفیبرسلولز)

مطابق نمودار (۵) میزان بازهای ازته فرار در نمونه‌های گوشت شاهد بعد از ۱۲ روز نگهداری در دمای یخچال به ۵۰/٦۳±۰/٤۵ mgN/100 رسید که بالاتر از حداکثر مقدار قابل‌قبول بازهای ازته فرار (۲۵ mgN/100) بود. همچنین مطابق نتایج حاصله، میزان بازهای ازته فرار در نمونه‌های پیچیده شده در فیلم T2 نیز در طول زمان افزایش یافت؛ ولی سرعت افزایش آن به‌طور قابل‌توجهی نسبت به نمونه شاهد کندتر بود. همچنین بازهای ازته فرار نمونه‌های پیچیده شده در فیلم T3 در روز هشتم نیز کمتر از حداکثر تعیین شده برای شاخص فساد بود.



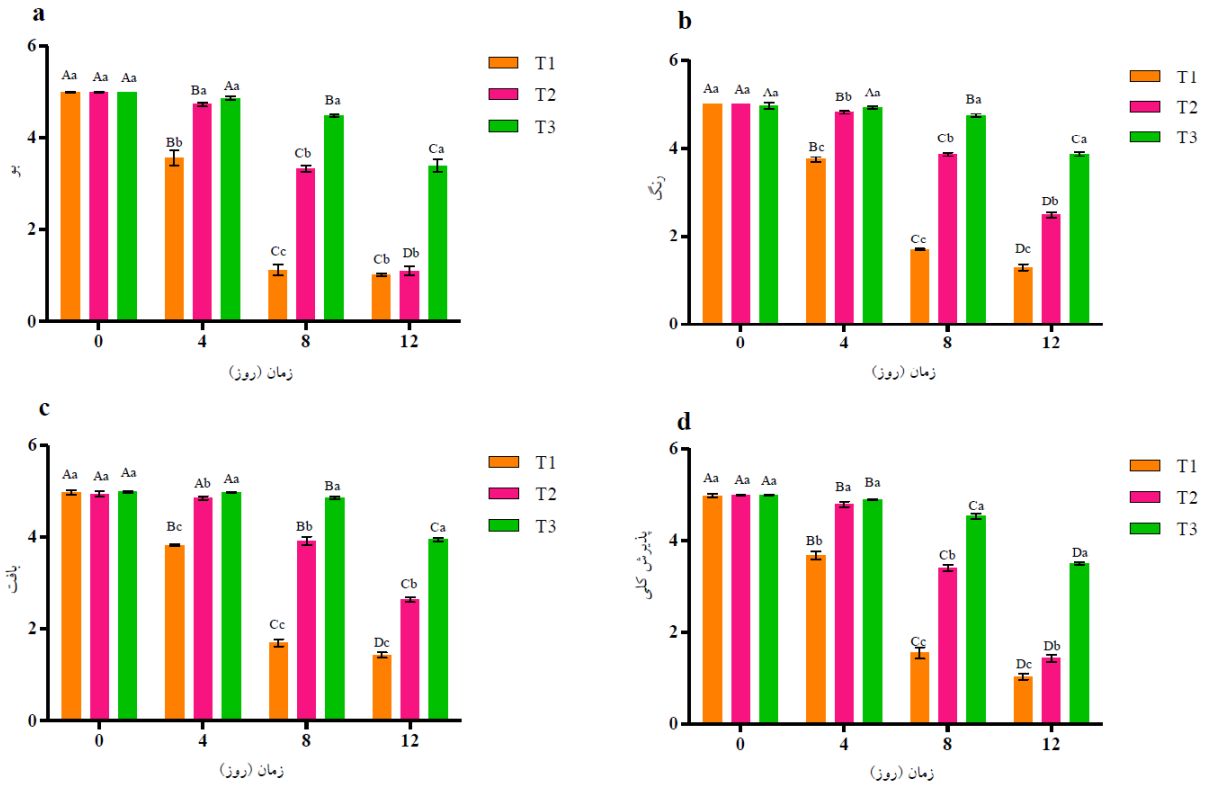
نمودار (۵)- تغییرات میزان بازهای ازته فرار در نمونه‌های گوشت باگذشت زمان در دمای ٤°C. حروف کوچک نشانگر اثر نوع بسته‌بندی و حروف بزرگ نشانگر اثر مدت‌زمان نگهداری است. (T1: گوشت گاو بدون پوشش، T2: گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال، T3: گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم نانوبیوکامپوزیت حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال حاوی ۳ درصد اسانس گزنه و ٦ درصد نانوفیبرسلولز)

مطابق نتایج نمودار (٦)، در روز چهارم، نمونه‌های T2 و T3 نسبت به نمونه بدون پوشش از pH پایین‌تری نسبت به‌روز صفر برخوردار بودند. روند تغییرات pH در نمونه‌های گوشت بدون پوشش در طول مدت نگهداری در یخچال، افزایشی بود. اما در نمونه‌های T2 و T3، pH به‌طور معنی‌داری بعد از ۱۲ روز کمتر از نمونه بدون پوشش بود. در پایان دوره نگهداری کمترین میزان pH مربوط به نمونه T3 (٤/۰۹±۰/۰٦) و بیشترین مقدار مربوط به نمونه بدون پوشش (٦/۸۳±۰/۰٤) بود.



نمودار (٦)- تغییرات میزان pH در نمونه‌های گوشت باگذشت زمان در دمای ٤°C. حروف کوچک نشانگر اثر نوع بسته‌بندی و حروف بزرگ نشانگر اثر مدت‌زمان نگهداری است. (T1: گوشت گاو بدون پوشش، T2: گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال، T3: گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم نانوبیوکامپوزیت حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال حاوی ۳ درصد اسانس گزنه و ٦ درصد نانوفیبرسلولز)

مطابق نتایج نمودار (۷)، امتیازات مربوط به کلیه ویژگی‌های حسی طی ۱۲ روز نگهداری در تمامی تیمارها روند نزولی داشت. با این حال، نمونه بسته‌بندی‌شده در فیلم حاوی ۳ درصد اسانس گزنه و ٦ درصد نانوفیبرسلولز از ویژگی‌های مطلوب‌تری نسبت به سایر نمونه‌ها برخوردار بود.



نمودار (۷)- تغییرات میزان (a) بو (b) رنگ (c) بافت و (d) پذیرش کلی در نمونه‌های گوشت باگذشت زمان در دمای ٤°C. حروف کوچک نشانگر اثر نوع بسته‌بندی و حروف بزرگ نشانگر اثر مدت‌زمان نگهداری است. (T1: گوشت گاو بدون پوشش، T2: گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال، T3: گوشت گاو بسته‌بندی‌شده با فیلم نانوبیوکامپوزیت حاصل از ٦ درصد تفاله پرتقال حاوی ۳ درصد اسانس گزنه و ٦ درصد نانوفیبرسلولز)

بحث و نتیجه‌گیری

مطابق نتایج حاصله، اگرچه تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی، سایکروفیل‌ها و کلی‌فرم در هر سه گروه مورد آزمون در طول دوره آزمایش به‌طور معنی‌داری از روند افزایشی برخوردار بود، اما در گروه کنترل، سرعت افزایش بیشتر از سایر گروه‌ها ارزیابی گردید. کاهش در تعداد باکتری‌های مزوفیل، سایکروفیل‌ها و کلی‌فرم در نمونه پیچیده شده در فیلم T2 می‌تواند به‌دلیل pH پایین فیلم‌های تهیه‌شده و ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی موجود در تفاله پرتقال باشد. نتایج به‌دست‌آمده با یافته‌های سایر محققین در رابطه با ویژگی‌های ضدمیکروبی عصاره پوست پرتقال و نیز در رابطه با اثر ضد میکروبی عصاره چندین میوه از جمله پرتقال به‌واسطه وجود ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی موجود در آن مطابقت داشت. به‌طوری‌که با افزایش غلظت فلاون در اسانس پرتقال قدرت ضدمیکروبی آن افزایش می‌یابد

(Batori *et al*., 2017)؛ همچنین مطابق نتایج حاصله، نمونه‌های گوشت پیچیده شده در فیلم T3 دارای کمترین میزان افزایش در تعداد کل باکتری‌های مزوفیل هوازی، سایکروفیل‌ها و کلی‌فرم در طی بازه زمانی ۱۲ روزه در دمای یخچال بودند. این امر علاوه بر خصوصیات ممانعتی قابل‌توجه این فیلم می‌تواند ناشی از حضور نانوفیبرسلولز باشد که منجر به رهایش کنترل‌شده ترکیبات ضدمیکروبی در بازه زمانی طولانی‌تر می‌شود (Oun and Rhim, 2015). همچنین اثر ضدمیکروبی اسانس گزنه می‌تواند ناشی از کارواکرول به‌عنوان ترکیب غالب (۵۱/۷٪) موجود در اسانس گزنه باشد که منجر به متلاشی نمودن غشا خارجی باکتری‌ها، خروج لیپوپلی‌ساکاریدها، افزایش نفوذپذیری غشا سیتوپلاسمی و متعاقباً ایجاد اثر ضدمیکروبی توسط اسانس گزنه می‌شود (Mousavi Kalajahi *et al*, 2021). نتایج به‌دست‌آمده با یافته‌های سایر محققان در رابطه با بهبود پایداری میکروبی و اکسیداتیو قطعات گوشت گاو با استفاده از پوشش‌دهی آن‌ها با موسیلاژ صمغ بالنگو حاوی اسانس کومین و همچنین اثر فیلم حاصل از کیتوزان و نشاسته حاوی عصاره پوست انار و اسانس آویشن در بهبود ماندگاری گوشت گاو مطابقت داشت (Alizadeh Behbahani *et al*., 2020).

طبق نتایج مطالعه حاضر، میزان اولیه تیوباربیتوریک اسید در تمام نمونه‌ها در مقادیر پایینی بود که این امر نشانگر تازه بودن محصول و عدم وقوع اکسیداسیون در نمونه‌های گوشت می‌باشد. با این حال باگذشت زمان در طول دوره نگهداری میزان تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌های گوشت افزایش یافت. طبق نتایج به‌دست‌آمده، اندیس تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های گوشت پیچیده شده در فیلم حاصل از تفاله پرتقال بدون اسانس نسبت به نمونه بدون پوشش به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود. اثر حفاظتی فیلم‌های حاصل از تفاله پرتقال را می‌توان به وجود آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در فیلم نظیر اسیدسیتریک مرتبط دانست، همچنین نفوذپذیری پایین نسبت به اکسیژن در فیلم‌های بر پایه پلی‌ساکارید از دلایل دیگر این امر محسوب می‌شود (Oun and Rhim., 2015). میزان تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌های گوشت پیچیده شده در فیلم حاوی ۳ درصد اسانس و ٦ درصد نانوفیبرسلولز در پایان دوره نگهداری نسبت به نمونه‌های فیلم شاهد فاقد اسانس، کاهش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) را نشان داد. وجود ترکیبات فنلی فراوان از جمله کارواکرول به‌عنوان ترکیب آنتی‌اکسیدانی غالب در اسانس گزنه، می‌تواند از دلایل اثر حفاظتی فیلم حاوی اسانس در برابر اکسیداسیون باشد (Mousavi Kalajahi *et al*, 2021). رهایش مداوم ترکیبات اسانس گزنه در طول دوره نگهداری، در اثر حضور نانوفیبرسلولز در فیلم T3، اثرات آنتی‌اکسیدانی طولانی‌تری را در نمونه‌های گوشت به‌همراه داشت (Majdinasab *et al*., 2020). همچنین، نانوفیبرسلولز به‌دلیل نفوذپذیری کم نسبت به رطوبت و اکسیژن می‌تواند میزان اکسیداسیون را در نمونه‌های گوشت پیچیده شده در فیلم کاهش دهد. تحقیقات انجام شده در این رابطه نتایج مشابهی را نیز در رابطه با اثر فیلم کیتوزان-نشاسته حاوی عصاره پوست انار و اسانس آویشن (Mehdizadeh *et al*., 2020) و همچنین در رابطه با اثر فیلم پلی‌وینیل الکل-کوردلان حاوی اسانس آویشن در ایجاد اثرات آنتی‌اکسیدانی و ممانعت از افزایش سریع میزان

تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌های گوشت گاو گزارش نموده است (Zhang *et al.*, 2020).

بیشترین میزان بازهای ازته فرار در پایان دوره نگهداری متعلق به نمونه گوشت پیچیده شده در فیلم شاهد (T1) بود که ناشی از فعالیت‌های آنزیمی میکروارگانیسم‌ها و یا پروتئازها و لیپازهای طبیعی گوشت بود که سبب افزایش سطح بازهای ازته فرار در طول دوره نگهداری شد (Talebi *et al.*, 2018). نتایج حاکی از افزایش میزان بازهای ازته فرار در نمونه‌های گوشت پیچیده شده در فیلم‌های بر پایه تفاله پرتقال بود که از روند بسیار کندتری نسبت به نمونه شاهد برخوردار بودند. همچنین pH پایین فیلم‌های حاصل از تفاله پرتقال و نیز وجود ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی در ساختار تفاله می‌تواند فعالیت میکروبی و یا توانایی اکسایشی باکتری‌ها را در جدا کردن ترکیبات آمینی کاهش داده و سبب افزایش زمان ماندگاری نمونه‌های گوشت شود (Viuda-Martos *et al.*, 2008).

نمونه گوشت پیچیده شده در فیلم حاوی ٦ درصد نانوفیبرسلولز و ۳ درصد اسانس گزنه، پس از اتمام دوره نگهداری ۱۲ روزه دارای کمترین میزان بازهای ازته فرار بود که می‌تواند باوجود ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی اسانس گزنه در ارتباط باشد. به‌عبارت‌دیگر، رهایش ترکیبات پلی‌فنلی موجود در اسانس گزنه به سطح نمونه‌های گوشت سبب کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه کاهش تجزیه پروتئین‌ها و تولید کمتر ترکیبات ازته فرار گردید (Majdinasab *et al*, 2020). همچنین، نانوفیبرسلولز موجود در این فیلم با رهایش آهسته ترکیبات اسانس ماندگاری طولانی‌تری را برای محصول فراهم نمود. در تحقیقی در رابطه با اثر فیلم حاصل از پلی‌وینیل‌الکل-کوردلان حاوی اسانس آویشن و همچنین در رابطه با اثر عصاره سماق و اسانس آویشن موجود در پوشش کیتوزان، نتایج مشابهی در ارتباط با کند نمودن روند تولید بازهای ازته فرار در نمونه‌های گوشت به‌دست آمد (Mojaddar *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2020).

میزان pH در نمونه‌های گوشت بدون پوشش در طول دوره نگهداری افزایش یافت که این امر می‌تواند در نتیجه افزایش فعالیت باکتری‌های پروتئولیتیک و فعال شدن سیستم‌های تجزیه‌ای آنزیمی و درنتیجه تولید ترکیبات قلیایی ازته مانند آمونیاک و آمین‌های بیوژنیک باشد (Mojaddar *et al*, 2020). همچنین pH پایین نمونه‌های بسته‌بندی‌شده در فیلم بهینه بعد از ۱۲ روز می‌تواند مربوط به اسیدیته بالای فیلم‌های حاصل از تفاله پرتقال به‌دلیل حضور اسیدسیتریک در ساختار فیلم باشد. بر اساس نتایج این تحقیق، نمونه‌های گوشت پوشش‌دار نسبت به نمونه شاهد بدون پوشش در روز ٤، pH پایین‌تری نسبت به روز صفر داشتند. مهاجرت ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی تفاله پرتقال به سطح نمونه‌های گوشت از دیگر دلایل کاهش رشد میکروب‌ها و در نتیجه ممانعت از افزایش سریع pH نمونه‌های گوشت پیچیده شده در فیلم بود (Takma and Korel, 2019). در این رابطه، نتایج مشابهی نیز توسط سایر محققان در رابطه با اثر غوطه‌وری قطعات گوشت در عصاره سماق و پوشش‌دهی آن‌ها با محلول کیتوزان حاوی اسانس آویشن و همچنین اثر بسته‌بندی قطعات گوشت قرمز یخ‌زده با فیلم ضدمیکروبی حاصل از نشاسته سیب‌زمینی حاوی اسانس آویشن در ممانعت از فعالیت میکروارگانیسم‌ها و متعاقباً جلوگیری از تولید

بازهای ازته فرار و افزایش pH گزارش گردیده است (Mojaddar *et al.*, 2018; Yuan *et al.*, 2020).

مطابق نتایج حاصل، فیلم حاوی ۳ درصد اسانس گزنه با کاهش سرعت اکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌ها منجر به ممانعت از تشکیل ترکیبات ثانویه اکسیداسیون نسبت به نمونه کنترل گردید که با نتایج حاصل از اندازه‌گیری بازهای ازته‌فرار و تیوباربیتوریک‌اسید در نمونه‌های گوشت هم‌راستا بود. مطابق نمودار ۷ نمونه کنترل بدون پوشش در روز چهارم از نظر رنگ، طعم و بو و پذیرش کلی در محدوده غیرقابل قبولی قرار داشت که این موضوع می‌تواند با رشد میکروبی بالا و اکسیداسیون چربی نمونه کنترل در ارتباط باشد. محققان در این زمینه گزارش نمودند که استفاده از فیلم حاصل از نشاسته ذرت حاوی نانوامولسیون آویشن و سینامآلدهید نقش قابل‌توجهی در به تأخیر انداختن فساد در گوشت چرخ‌کرده داشت (Amiri *et al.*, 2019).

بر اساس نتایج، استفاده از فیلم حاصل از تفاله پرتقال خالص در بسته‌بندی گوشت گاو به‌طور معنی‌داری سبب جلوگیری از افزایش عوامل تأثیرگذار در فساد میکروبی و شیمیایی آن گردید. استفاده از ٦ درصد نانوفیبرسلولز به‌همراه ۳ درصد اسانس گزنه در فرمولاسیون فیلم حاصل از تفاله پرتقال موجب افزایش ماندگاری نمونه‌های گوشت گردید. در کل، مدت ماندگاری نمونه‌های گوشت پیچیده شده در فیلم حاصل از تفاله پرتقال حاوی نانوفیبرسلولز و اسانس گزنه ازلحاظ عوامل شیمیایی و میکروبی موردبررسی به حداقل دو برابر زمان ماندگاری معمول افزایش یافت.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب تشکر صمیمانه خود را از دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز اعلام دارند.

تعارض منافع

نویسندگان تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M. and Jooyandeh, H. (2020). Improving oxidative and microbial stability of beef using Shahri Balangu seed mucilage loaded with Cumin essential oil as a bioactive edible coating. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 24: 101563.
- Amiri, E., Aminzare, M., Azar, H. H. and Mehrasbi, M. R. (2019). Combined antioxidant and sensory effects of corn starch films with nanoemulsion of Zataria multiflora essential oil fortified with cinnamaldehyde on fresh ground beef patties. Meat Science, 153: 66-74.
- Bátori, V., Jabbari, M., Åkesson, D., Lennartsson, P.R., Taherzadeh, M.J. and Zamani, A. (2017). Production of pectin-cellulose biofilms: A new approach for citrus waste recycling. International Journal of Polymer Science. 2017: 1-9.
- Jouki, M., Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, S.A. and Koocheki, A. (2013). Physical, barrier and antioxidant properties of a novel plasticized edible film from quince seed mucilage. International Journal of Biological Macromolecules. 62: 500–507.
- Majdinasab, M., Niakousari, M., Shaghaghian, S. and Dehghani, H. (2020). Antimicrobial and antioxidant coating based on basil seed gum incorporated with Shirazi thyme and summer savory essential oils emulsions for shelf-life extension of refrigerated chicken fillets. Food Hydrocolloids,

108: 1-45.
- Mehdizadeh, T., Tajik, H., Mojaddar Langroodi, A., Molaei, R. and Mahmoudian, A. (2020). Chitosan-starch film containing pomegranate peel extract and *Thymus kotschyanus* essential oil can prolong the shelf-life of beef. Meat science, 163: 108073.
- Mojaddar Langroodi, A., Tajik, H., Mehdizadeh, T., Moradi, M., Moghaddas Kia, E. and Mahmoudian, A. (2018). Effects of sumac extract dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss oil on the shelf-life of meat in modified atmosphere packaging. LWT - Food Science and Technology, 98: 372-390.
- Mousavi Kalajahi, S.E., Alizadeh, A., Hamishekar, H., Almasi, H. and Asefi, N. (2021). Orange juice processing waste as a biopolymer base for biodegradable film formation reinforced with cellulose nanober and activated with nettle essential oil. Journal of Polymers and the Environment. Journal of Polymers and the Environment, 1-21.
- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. and Hashem Hosseini, S.M. (2010). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. Food Chemistry, 122(1): 161-166.
- Oun, A.A. and Rhim, J.W. (2015). Preparation and characterization of sodium carboxymethyl cellulose/cotton linter cellulose nanofibril composite films. Carbohydrate Polymers, 127: 101-109.
- Sogut, E. and Seydim, A.C. (2018). The effects of chitosan and grape seed extract-based edible films on the quality of vacuum packaged chicken breast fillets. Food Packaging and Shelf Life, 18(12): 13-20.
- Takma, D.K. and Korel, F. (2019). Active packaging films as a carrier of black cumin essential oil: Development and effect on quality and shelf-life of chicken breast meat. Food Packaging and Shelf Life, 19: 210-217.
- Talebi, F., Misaghi, A., Khanjari, A., Kamkar, A., Gandomi, H. and Rezaeigolestani, M. (2018). Incorporation of spice essential oils into poly-lactic acid film matrix with the aim of extending microbiological and sensorial shelf-life of ground beef. LWT - Food Science and Technology, 96: 482-490.
- Tayengwa, T., Chikwanha, O.C., Gouws, P., Dugan, M.E.R., Mutsvangwa, T. and Mapiye, C. (2020). Dietary citrus pulp and grape pomace as potential natural preservatives for extending beef shelf-life. Meat Science, 162: 108029.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J. and Perez-Álvarez, J. (2008). Antibacterial activity of lemon (*Citrus Lemon* L.), mandarin (*Citrus Reticulata* L.), grapefruit (*Citrus Paradisi* L.) and orange (*Citrus Sinensis* L.) essential oils. Journal of Food Safety, 28(4): 567-576.
- Wang, X., Sun, X., Liu, H., Li, M. and Ma, Z. (2011). Barrier and mechanical properties of carrot puree films. Food and Bioproducts Processing, 89(2): 149-156.
- Xu, X., Liu, F., Jiang, L., Zhu, J.Y., Haagenson, D. and Wiesenborn, D.P. (2013). Cellulose nanocrystals vs. cellulose nanofibrils: A comparative study on their microstructures and effects as polymer reinforcing agents. ACS Applied Materials & Interfaces, 5(8): 2999-3009.
- Yuan, L., Feng, W., Zhang, Z., Peng, Y., Xiao, Y. and Chen, J. (2021). Effect of potato starch-based antibacterial composite films with thyme oil microemulsion or microcapsule on shelf-life ofchilled meat. LWT - Food Science and Technology, 139: 110462.
- Zabihollahi, N., Alizadeh, A., Almasi, H., Hanifian, S. and Hamishekar, H. (2020). Development and characterization of carboxymethyl cellulose based probiotic nanocomposite film containing cellulose nanofiber and inulin for chicken fillet shelf-life extension. International Journal of Biological Macromolecules, 160: 409-417.
- Zhang, Y., Zhou, L., Zhang, C., Show, P.L., Du, A., Fu, J. et al., (2020). Preparation and characterization of curdlan/polyvinyl alcohol/ thyme essential oil blending filmand its application to chilled meat preservation. Carbohydrate Polymers, 247: 116670.