# افزایش پایداری اکسایشی و میکروبی گوشت گاو با استفاده از پوشش خوراکی زیست‌فعال حاصل از موسیلاژ بارهنگ صغیر بارگذاری شده با اسانس آویشن باغی

محمد نوشاد[1*]، بهروز علیزاده بهبهانی[1]، سمیرا دهقانی[2]

1- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

2- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

**(تاریخ دریافت: 98/07/14 تاریخ پذیرش: 98/09/11)**

## چکیده

این پژوهش با هدف تولید پوشش خوراکی زیست‌فعال با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی قابل توجه جهت افزایش عمر نگهداری گوشت گاو انجام گرفت. برای این منظور، ابتدا اسانس آویشن باغی با استفاده از روش تقطیر با آب استخراج گردید و سپس ویژگی‌هایآنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی آن تحت شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید. اسانس حاصله دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه بالایی بود و باعث جلوگیری از رشد باکتری‌های*اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلاتیفی موریوم* و *سودوموناس آئروژینوزا* شد. در ادامه، اسانس آویشن باغی با موسیلاژ دانه بارهنگ صغیرو به منظور تولید پوشش خوراکی ترکیب گردید. پوشش خوراکی به دست آمده برای پوشش‌دهی گوشت گاو و افزایش عمرنگهداری آن مورد استفاده قرار گرفت. استفاده از پوشش خوراکی حاوی غلظت‌های مختلف اسانس به طور معنی‌داری ($p<0.05$) از پیشرفت اکسیداسیون (محصولات اولیه و ثانویه) و افزایش تعداد کل باکتری‌های زنده، باکتری‌های سرمادوست و کلی‌فرم‌ها در نمونه‌های گوشت جلوگیری کرد و عمر انبارمانی محصول را تا 6 روز نگهداری در دمای یخچال بهبود بخشید. به طور کلی، پوشش خوراکی برپایه موسیلاژ دانه بارهنگ صغیر بارگذاری شده با اسانس آویشن باغی می‌تواند جهت کنترل اکسیداسیون لیپیدی و رشد میکروبی و همچنین بهبود عمرنگهداری محصولات گوشتی و یا سایر محصولات غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

**کلید واژگان:** آویشن باغی، اکسیداسیون، پوشش خوراکی، آنتی‌اکسیدان.

*مسئول مکاتبات: Noshad@asnrukh.ac.ir

## 1- مقدمه

اسانس و عصاره‌های زیست‌فعال حاصل از گیاهان دارویی قابلیت استفاده به عنوان نگهدارنده و آنتی‌اکسیدان طبیعی در محصولات دارویی، غذایی و آرایشی-بهداشتی را دارا می‌باشند؛ به طوریکه این ترکیبات طبیعی دارای ایمنی بالایی بوده و می‌توان از آن‌ها به عنوان جایگزین سایر عوامل نگهدارنده شیمیایی استفاده کرد[1].

آویشن یکی از این گیاهان دارویی می‌باشد که به دلیل دارا بودن عطر و طعم ویژه در کنار ویژگی‌های دارویی و سلامت بخشی کاربرد گسترده‌ای در صنعت غذا و دارویی پیدا کرده است. لازم به ذکر است که خواص دارویی و عطر و طعمی این گیاه به وجود غده‌های ترشحی در گل‌ها و سطح‌های برگ آن نسبت داده شده است[2]. آویشن باغی با نام علمی *Thymus vulgaris* معروف‌ترین گونه این جنس می‌باشد که اسانس آن دارای ترکیبات ضدمیکروبی از قبیل تیمول و کارواکرول و سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدان مانند فلاوونوئیدهای لوتئولین و اپیجنین است[3]. ترکیبات اصلی تشکیل دهنده‌ی اسانس آویشن باغی شامل تیمول (23-60 درصد)، گاما-ترپینن (18-50 درصد)، سیمن (8-44 درصد)، کارواکرول (2-8 درصد) و لینانول (3-4 درصد) می‌باشند که ویژگی‌های ضدباکتریایی، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی اسانس آویشن باغی و تیمول گزارش شده است [4]. بنابراین می‌توان از اسانس آویشن باغی به عنوان افزودنی زیست‌فعال جهت کنترل اکسیداسیون چربی‌ها و رشد میکروبی در محصولات مختلف غذایی استفاده کرد.

با اینحال، ناپایدار بودن و ماهیت آبگریزی اسانس‌های روغنی از اصلی‌ترین موانع افزودن مستقیم این ترکیبات زیست‌فعال به محصولات غذایی می‌باشند. بنابراین اسانس‌های روغنی باید در شبکه‌ای زیست تجزیه‌پذیر (سامانه‌های حامل) و به منظور حفظ فعالیت بیولوژیکی، کنترل سرعت رهایش و کاهش اثرات منفی آن‌ها بر ویژگی‌های حسی مواد غذایی، درون‌پوشانی گردند. پوشش‌های خوراکی (به ویژه انواع پلی‌ساکاریدی) یکی از این سامانه‌های حامل می‌باشند که به طور گسترده‌ای جهت افزایش کاربرد اسانس‌های روغنی در محصولات غذایی استفاده می‌شوند[5 و 6].

جنس بارهنگ، متعلق به خانواده Plantaginaceae، یکی از پرکابردترین گیاهان دارویی در جهان می‌باشد. گونه بارهنگ صغیرمشابه بارهنگ کبیر است که مقادیر زیادی بذر تولید می‌کند که به مدت طولانی جهت درمان آب مروارید، بیماری‌های تنفسی، سرفه و برونشیت استفاده می‌شده است. زمانیکه دانه‌های بارهنگ صغیر در آب خیسانده می‌شوند، ماده‌ای موسیلاژی از لایه‌های بیرونی دانه‌ها رها می‌شود که دارای ویژگی‌های رئولوژیکی قابل توجهی می‌باشد[7] که می‌توان از آن جهت تهیه پوشش خوراکی استفاده کرد.

هدف از این پژوهش، درون‌پوشانی اسانس آویشن باغی در پوشش خوراکی حاصل از موسیلاژ بارهنگ صغیرو استفاده از پوشش خوراکی زیست‌فعال حاصله جهت افزایش پایداری اکسایشی و میکروبی گوشت گاو می‌باشد که به شدت مستعد آلودگی به باکتری‌هایبیماری‌زای غذازاد مانند گونه‌های *سالمونلا*، *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسایتوژنز* و همچنین اکسیداسیون لیپیدی می‌باشد[9-11].

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1- مواد

رادیکال آزاد DPPH(۲،۲-دی فنیل پیکریل هیدرازیل)، بتا-کاروتن، گالیک اسید و مالون دی آلدئید از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری شدند. سایر مواد مورد استفاده در این پژوهش دارای درجه آزمایشگاهی بوده و از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

### 2-2- استخراج اسانس آویشن باغی

اسانس‌گیری از گیاه آویشن باغی با روش تقطیر با آب انجام گردید [3]. برای این منظور، میزان 100 گرم پودر آویشن باغی به دستگاه کلونجر حاوی آب مقطر (750 میلی‌لیتر) منتقل گردید و عمل اسانس‌گیری به مدت 3 ساعت انجام شد. سپس اسانس حاصله به ظروف شیشه‌ای تمیز منتقل و با کمک سولفات سدیم خشک گردید. بازده اسانس حاصل از روش تقطیر با آب برابر با 1/4 میلی‌لیتر در 100 گرم گیاه خشک بود.

### 2-3- اندازه‌گیری میزان فنول کل اسانس آویشن باغی

روش فولین-سیوکالتو جهت اندازه‌گیری مقدار فنول کل اسانس آویشن باغی مورد استفاده قرار گرفت[12]به طور خلاصه، مقدار 20 میکرولیتر از اسانس با 100 میکرولیتر معرف فولین-سیوکالتو و 2 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید. بعد از نگهداری محلول حاصله به مدت 3 دقیقه در دمای اتاق، مقدار 300 میکرولیتر محلول کربنات سدیم به آن اضافه شد. سپس محلول به مدت 2 ساعت در سرعت ثابت 50 دور در دقیقه همزده شد و در ادامه جذب آن در 765 نانومتر قرائت گردید. از گالیک اسید (صفر- 1000میلی‌گرم در لیتر) جهت رسم

منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج به صورت میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم وزن خشک اسانس گزارش شد.

## 2-4- بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن باغی

از دو روش آنتی‌اکسیدانی فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH و آزمون بتا-کاروتن/لینولئیک اسید جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن باغی استفاده شد.

### 2-4-1- فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH

در این آزمون، مقدار 50 میکرولیتر اسانس با 5میلی‌لیتر محلول اتانولی 0/12 میلی مولار DPPHترکیب و محلول حاصل به شدت همزده شد. بعد از نگهداری محلول در دمای اتاق و محیط تاریک به مدت 30 دقیقه، جذب آن در طول موج 517 نانومتر ثبت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه به صورت زیر محاسبه گردید.

$$\text{DPPH-RS activity} = [1-As/Ac] \times 100$$

که در این فرمول، Asو Ac به ترتیب جذب نمونه و کنترل (از آب مقطر به جای نمونه استفاده گردید) می‌باشند[13].

### 2-4-2- آزمون بتا-کاروتن/لینولئیک اسید

این آزمون بر پایه جلوگیری از اکسیداسیون لینولئیک اسید و رنگبری بتا-کاروتن توسط رادیکال‌های آزاد که قادر به تولید ترکیبات فرار و هیدروپراکسیدهای کونژوگه می‌باشند، استوار است. در این روش، اسانس آویشن باغی با محلول بتا-کاروتن/لینولئیک اسید مخلوط گردید و بعد از نگهداری محلول به مدت 120 دقیقه، درصد بازداری به صورت زیر محاسبه شد[14].

$$\text{Inhibitory percentage (\%)} = \frac{AA\ (120) - AC\ (120)}{AC\ (0) - AC\ (120)} \times 100$$

که AA (120)، AC (0) و AC (120) به ترتیب جذب نمونه اسانس بعد از 120 دقیقه، جذب نمونه کنترل در زمان صفر و جذب نمونه کنترل بعد از 120 دقیقه واکنش می‌باشد.

پس از محاسبه درصد بازداری، نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی برحسب فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH و مهار اکسیداسیون بتا-کاروتن به صورت$IC_{50}$ (غلظتی از اسانس که سبب مهار 50 درصد از رادیکال های DPPHیا اکسیداسیون بتا-کاروتن می‌شود) گزارش گردید.

## 2-5- بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس آویشن باغی

از چهار روش ضدمیکروبی دیسک دیفیوژن آگار، روش چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی جهت بررسی فعالیت ضدباکتریایی اسانس آویشن باغی در برابر باکتری‌های*شرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *سالمونلا تیفی موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده شد.

### 2-5-1- دیسک دیفیوژن آگار

برای انجام این آزمون ضدمیکروبی، مقدار 20 میکرولیتر از اسانس استریل شده (با استفاده از فیلتر سر سرنگی با قطر منافذ 0/22 میکرون) به آرامی روی دیسک‌های بلانک ریخته شد. سپس دیسک آغشته شده به اسانس بر محیط کشت مولر هینتون آگار که قبلا با باکتری‌های بیماری‌زا با استاندارد نیم مک فارلند آلوده شده بودند، قرار داده شد. در ادامه، محیط کشت به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری و سپس هاله عدم رشد میکروبی اطراف دیسک با خط‌کش اندازه‌گیری شد. در نهایت، فعالیت ضدمیکروبی اسانس بر حسب میلی‌متر گزارش گردید[15].

### 2-5-2- روش چاهک آگار

در این روش، ابتدا چاهک‌هایی با قطر 6 میلی‌متر روی محیط کشت مولر هینتون آگار حاوی باکتری‌های بیماری‌زا ایجاد شد و سپس مقدار 20 میکرولیتر اسانس آویشن به آن‌ها اضافه گردید. بعد از گرمخانه‌گذاری محیط کشت در دمای 37 درجه سلسیوس به مدت 24 ساعت، قطر هاله عدم رشد میکروبی با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و به صورت فعالیت ضدمیکروبی اسانس گزارش شد[16].

### 2-5-3- حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی

حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی اسانس آویشن باغی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا مطابق روش علیزاده بهبهانیو همکاران [17] با اندکی اصلاحات بررسی شد. ابتدا 20 میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی (استاندارد معادل نیم مک فارلند) به هر کدام از خانه‌های پلیت 96 خانه‌ای اضافه شد. در ادامه، اسانس استریل (با غلظت‌های متوالی 400، 200، 100، 50، 25، 12/5، 6/25، 3/5 و 1/56میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به میزان 100 میکرولیتر به چاهک‌ها اضافه گردید و پلیت به مدت 24 ساعت در دمای ثابت 37 درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد. سپس محلول تری‌فنیل تترازولیوم (20 میکرولیتر؛ 5 درصد وزنی/حجمی) به هر چاهک اضافه و پلیت‌ها مجددا در دمای 37 درجه سلسیوس به مدت 30 دقیقه گرمخانه گذاری شدند. بعد از این مدت، حداقل غلظتی از اسانس آویشن باغی که سبب جلوگیری از رشد باکتری‌ها و تشکیل رنگ قرمز تیره یا ارغوانی در چاهک‌ها شد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس ثبت گردید. سپس چاهک‌های فاقد رشد میکروبی (100 میکرولیتر) بر محیط کشت مولر هینتون آگار جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی

اسانس کشت داده شدند. بعد از گرمخانه‌گذاری به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سلسیوس، اولین غلظت اسانس که قادر به جلوگیری از تشکیل کلنی یا پرگنه در سطح محیط کشت بود، به عنوان حداقل غلظت کشندگی ثبت شد.

## 2-6- استخراج موسیلاژ دانه بارهنگ صغیر

موسیلاژ دانه بارهنگ صغیرمطابق شرایط بهینه گزارش شده توسط علیزاده بهبهانی و همکاران[18] استخراج گردید. برای این منظور، دانه‌های بارهنگ با نسبت آب به دانه برابر با 60 به 1 در آب مقطر خیسانده شدند. سپس pH دیسپرسون روی 6/8 تنظیم و عملیات استخراج در دمای 75 درجه سلسیوس به مدت 1/5 ساعت و تحت شرایط همزنی مداوم صورت گرفت. سپس دانه‌های متورم شده از یک اکسترودر جهت جداسازی موسیلاژ عبور داده شدند. در ادامه، موسیلاژ جمع‌آوری شده فیلتر، خشک (در دمای 45 درجه سلسیوس به مدت 12 ساعت)، آسیاب و الک شد. در نهایت، پودر به دست آمده بسته‌بندی و در یخچال نگهداری گردید.

## 2-7- تهیه پوشش خوراکی و پوشش‌دهی گوشت گاو

جهت تهیه پوشش خوراکی زیست‌فعال، مقدار 3 گرم از پودر موسیلاژ به همراه 0/2 گرم توئین 80 با آب مقطر استریل به حجم 100 میلی‌لیتر رسانده شد. سپس محلول به مدت 2 ساعت در دمای 40 درجه سلسیوس و تحت شرایط همزنی مداوم همزده شد. اسانس آویشن باغی در غلظت های صفر، 0/5، 1 و 1/5 درصد به محلول موسیلاژی اضافه و فرمولاسیون امولسیونی حاصله به مدت 2 دقیقه در 10 هزار دور در دقیقه هوموژن گردید. در ادامه، قطعات گوشت تازه گاو در محلول ویسکوز حاوی غلظت‌های مختلف اسانس به مدت 1 دقیقه قرارداده شد و سپس قطعات گوشت خارج شده و به مدت 15 دقیقه در دمای محیط خشک گردیدند. در نهایت نمونه‌های کنترل و پوشش داده شده در دمای 4 درجه سلسیوس به مدت 6 روز نگهداری و در فواصل زمانی مشخص از نظر پارامترهای کیفی مورد بررسی قرار گرفتند.

## 2-8- ارزیابی کیفیت گوشت گاو پوشش داده شده طی نگهداری

### 2-8-1- محتوای رطوبت

### 2-8-2- میزان پیشرفت اکسیداسیون

محتوای رطوبت نمونه‌ها از طریق خشک کردن در آون با دمای 105 درجه سانتی‌گراد به مدت 3 ساعت اندازه‌گیری گردید [19].

میزان پیشرفت اکسیداسیون نمونه‌ها طی نگهداری در دمای یخچالیبا تعیین عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید ارزیابی گردید[20].آزمون عدد پراکسید به طور گسترده‌ای جهت بررسی تشکیل محصولات اولیه اکسیداسیون لیپیدی مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای انجام این آزمون، فاز لیپیدی نمونه‌های گوشت با کمک محلول اسید استیک-کلروفرم استخراج و سپس با آب مقطر، یدید پتاسیم اشباع و محلول 1 درصد نشاسته به منظور آزاد شدن ید رقیق گردید. ید آزاد شده توسط تیوسولفات 0/01 نرمال تیتر گردید و نتایج عدد پراکسید به صورت میلی اکی والان گرم اکسیژن در کیلوگرم لیپید گزارش شد.

در آزمون تیوباربیتوریک اسید، تولید محصولات ثانویه حاصل از اکسیداسیون لیپیدها پایش می‌گردد. به طور خلاصه، مقدار 2 گرم از نمونه گوشت با 5 میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید 20 درصد ترکیب و همزده شد. محلول حاصله توسط کاغذ صافی فیلتر و میزان 5 میلی‌لیتر از محلول فیلتر شده با 5 میلی‌لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید 0/01 مولار ترکیب گردید. در ادامه، محلول به دست آمده در دمای 100 درجه سلسیوس تا ظهور رنگ حرارت داده شد و سپس جذب رنگ حاصله در طول موج 532 نانومتر قرائت شد.

### 2-8-3- آنالیز میکروبی

مقدار 5 گرم از نمونه‌های گوشت با 45 گرم آب پپتونه 0/1 درصد ترکیب و سپس به مدت 1 دقیقه در 200 دور در دقیقه هوموژن گردید. رقت‌های متوالی (تا $10^{-9}$) از نمونه با کمک آب پپتونه تهیه شد و به پتری دیش‌هایی که قبلا با محیط‌های کشت پر شده بودند، منتقل شد. در ادامه آزمون‌های میکروبی شامل کشت و شمارش کل باکتری‌های زنده (در محیط پلیت کانت آگار و با گرمخانه‌گذاری به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد)، باکتری‌های سرمادوست (در محیط پلیت کانت آگار و با گرمخانه‌گذاری به مدت 10 روز در دمای 7 درجه سانتی‌گراد) و کلی‌فرم‌ها انجام گرفت[17].

### 2-8-4- ویژگی‌های حسی

نمونه‌های گوشت به صورت تصادفی و با کدهای 3 رقمی کدگذاری شده و سپس از نظر رنگ، بو و پذیرش کلی توسط 15 نفر ارزیاب آموزش دیده مورد ارزیابی قرار گرفتند. ویژگی‌های حسی با استفاده از مقیاس امتیازدهی 9 نقطه‌ای که عدد 1 بیانگر کمترین و عدد 9 بیانگر بیشترین امتیاز حسی بود، انجام گرفت. نمونه‌هایی که امتیاز حسی کمتر از 4 را به خود اختصاص داده بودند به عنوان نمونه‌های غیرقابل پذیرش در نظر گرفته شدند[21].

### 2-9- آنالیز آماری

تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و نتایج حاصله با استفاده از نرم‌افزار Statistical package for social science (SPSS) نسخه 18 و آزمون واریانس یک طرفه ANOVA آنالیز شدند. آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان 95 درصد ($p<0.05$) جهت تعیین اختلاف بین میانگین نتایج مورد استفاده قرار گرفت.

## 3- نتایج و بحث

### 3-1- راندمان استخراج و میزان فنول کل اسانس آویشن باغی

میزان بازده و فنول کل اسانس آویشن باغی به دست آمده با استفاده از روش تقطیر با آب به ترتیب برابر با 1/4 میلی‌لیتر در 100 گرم وزن خشک گیاه و 1/15 ± 82/14 میلی‌گرم گالیک

اسید در یک گرم وزن خشک اسانس بود. در راستای نتایج این پژوهش، میزان بازده اسانس 1/65 و 1/6 میلی‌لیتر در 100 گرم گیاه خشک آویشن باغی به ترتیب توسط رحیمی و رمضانی [22] و مهران و همکاران [2] گزارش شده است. با اینحال، میزان فنول کل برابر با 51/73 و 77/6-165/1 میلی‌گرم گالیک اسید در یک گرم وزن خشک اسانس آویشن باغی نیز گزارش شده است[22 و 23]که این اختلاف بین نتایج می‌تواند ناشی از تفاوت‌های اکولوژیکی گیاه از قبیل ارتفاع، رطوبت، دما، طول و عرض جغرافیایی، اقلیم و خاک باشد[24]. علاوه براین، شرایط استخراج از قبیل دما، نوع حلال، زمان استخراج و نسبت حلال به ماده نیز تاثیر به سزایی در راندمان استخراج و میزان فنول کل اسانس حاصله دارد[25]. ترکیبات فنولی نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس گیاهان دارویی ایفا می‌کنند.

### 3-2- فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن باغی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن باغی با استفاده از دو روش فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPHو جلوگیری از اکسیداسیون بتا-کاروتن مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج به صورت $IC_{50}$ گزارش شد. مقادیر $IC_{50}$ برای آزمون DPPHو لینولئیک/بتا-کاروتن به ترتیب برابر با 0/01 ± 1/78 و 0/05 ± 1/49میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود که این مقادیر پایین$IC_{50}$ بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه قوی اسانس آویشن باغی می‌باشد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن به ترکیبات فنولی و تیمول به عنوان اصلی ترین ترکیب شیمیایی آن نسبت داده شده است [4]. در حقیقت وجود گروه های هیدروکسیل، کتونی و آلدئیدی در ترکیبات تشکیل دهنده اسانس که دارای ویژگی هیدروژن و الکترون دهندگیمی‌باشند، سبب شده است که از این ترکیبات طبیعی به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی جهت خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد که منجر به اکسیداسیون چربی‌ها در محصولات غذایی غنی از اسیدهای چرب غیراشباع می‌شوند، استفاده گردد [26 و 27]. مطابق نتایج این پژوهش، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای اسانس آویشن باغی در مطالعات مختلف نیز به اثبات رسیده است [28 و 29].

### 3-3- فعالیت ضدمیکروبی اسانس آویشن باغی

نتایج فعالیت ضدمیکروبی اسانس آویشن باغی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا در جدول 1، آورده شده است. همانطور که از نتایج مشخص است، اسانس آویشن فعالیت ضدباکتریایی بالایی نسبت به تمام باکتری‌های مورد مطالعه نشان داد و اثر آن نسبت به نوع باکتری متفاوت بود. بیشترین و کمترین قطر هاله عدم رشد به ترتیب برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفیموریوم*(در هر دو آزمون دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار) بود. لازم به ذکر است که قطر هاله عدم رشد در روش ضدمیکروبی چاهک آگار بالاتر از روش دیسک دیفیوژن آگار بود که این حالت به دلیل تماس مستقیم اسانس آویشن باغی با باکتری‌ها در روش چاهک آگار می‌باشد؛ در حالیکه در روش دیسک دیفیوژن آگار، اسانس باید از سطح دیسک‌های بلانک به محیط کشت انتشار یابد تا اثر بازدارندگی خود بر رشد باکتری‌ها را نشان دهد[30].

**Table 1** In vitro antibacterial effect of *T. vulgaris* essential oil

| Microbial strains | Antimicrobial tests | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Disc diffusion agar (mm) | Well diffusion agar (mm) | MIC ($mg\ mL^{-1}$) | MBC ($mg\ mL^{-1}$) |
| *Escherichia coli* | $11.60\pm0.20^{b}$ | $12.50\pm0.33^{a}$ | 25 | 100 |
| *Pseudomonas aeruginosa* | $11.00\pm0.50^{b}$ | $12.10\pm0.20^{a}$ | 50 | 100 |
| *Salmonella typhimurium* | $8.80\pm0.57^{a}$ | $9.90\pm0.15^{a}$ | 100 | 200 |
| *Staphylococcus aureus* | $15.20\pm0.56^{c}$ | $17.40\pm0.50^{a}$ | 6.25 | 25 |

Means within the same column with different small letters differ significantly ($p<0.05$).

مطابق نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی (جدول 1)، غلظت کمتری از اسانس آویشن باغی برای جلوگیری از رشد یا از بین بردن باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوساورئوس* در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی (*شرشیا کلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *سالمونلا تیفی موریوم*) مورد نیاز است. به طور کلی باکتری‌های گرم منفی نسبت به اسانس داروهای گیاهی دارای پایداری بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم مثبت می‌باشند. این حالت می‌تواند ناشی از حضور ساختار پیچیده‌ی لیپوپلی‌ساکاریدی در غشای بیرونی این باکتری‌های باشد که سبب کاهش سرعت نفوذ ترکیبات آبگریز موجود در اسانس‌ها به داخل سلول می‌گردد. در حالیکه باکتری‌های گرم مثبت دارای لایه موکوپپتیدی ساده و با نفوذپذیری بالایی می‌باشند که به حساسیت بیشتر این باکتری‌ها به ترکیبات زیست‌فعال و اسانس‌های روغنی منجر می‌شود [31]. فعالیت ضدمیکروبی اسانس آویشن باغی می‌تواند ناشی از ترکیبات فنولی آن باشد. به طوریکه این ترکیبات از طریق جلوگیری از فعالیت آنزیمی و یا واکنش با گروه‌های سولفیدریل پروتئین‌ها و اصلاح ویژگی‌های عملکردی آن‌ها، سبب مهار رشد باکتری‌ها می‌شوند[32].فعالیت ضدمیکروبی اسانس آویشن باغی توسط پژوهشگران دیگر نیز نشان داده شده است[33].

## 4-3- ویژگی‌های شیمیایی گوشت گاو پوشش داده شده با موسیلاژ دانه بارهنگ صغیر حاوی اسانس آویشن باغی

تغییرات رطوبت نمونه‌های شاهد و پوشش داده شده در شکل 1، نشان داده شده است.

محتوای رطوبت تمام نمونه‌ها به طور معنی‌داری ($p<0.05$) با افزایش زمان نگهداری کاهش یافت. با اینحال، همانطور که مشخص است، پوشش خوراکی به طور موثری از کاهش رطوبت نمونه‌ها جلوگیری کرد.

محتوای رطوبت نمونه شاهد از 66/66 درصد در روز اول به 48/12 درصد در روز ششم نگهداری در دمای یخچال کاهش یافت که بیانگر افت رطوبت معادل 27/1 درصد طی نگهداری در این نمونه می‌باشد. نمونه‌های پوشش داده شده با موسیلاژ دانه بارهنگ صغیر، به ویژه انواع حاوی اسانس آویشن باغی، افت رطوبت به مراتب کمتری نشان دادند؛ به طوریکه در انتهای دوره نگهداری شش روزه در دمای یخچال،نمونه‌های پوشش داده شده با موسیلاژ (فاقد اسانس)، موسیلاژ + 0/5 درصد اسانس، موسیلاژ + 1 درصد اسانس و موسیلاژ + 1/5 درصد اسانس به ترتیب افت رطوبتی معادل 15/66، 9/99، 7/89 و 6/23 درصد نشان دادند. این حالت ممکن است ناشی از نفوذپذیری پایین پوشش خوراکی به بخار آب و همچنین ایجاد مانع فیزیکی اطراف ماده غذایی توسط پوشش خوراکی باشد که متعاقبا از افت رطوبت نمونه‌هابه طور معنی‌داریجلوگیری می‌کند.

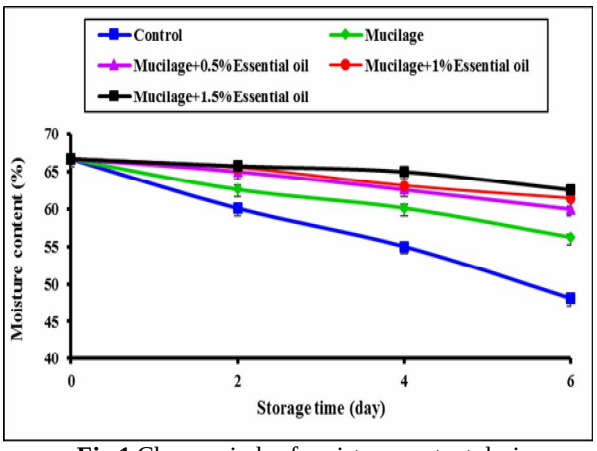


**Fig 1** Changes in beef moisture content during refrigerated storage.

نتایج مشابهی در مورد اثر پوشش خوراکی در جلوگیری از افت رطوبت محصولات غذایی گزارش شده است [34 و 35]. نتایج حاصل از پیشرفت اکسیداسیون چربی نمونه‌های گوشت طی زمان نگهداری نیز در شکل 2، آورده شده است. عدد پراکسید نمونه‌های گوشت به طور معنی‌داری ($p<0.05$) با افزایش زمان نگهداری افزایش یافت و شدت افزایش در نمونه شاهد بیشتر از سایر نمونه‌ها بود (شکل 2A)؛ به طوریکه عدد پراکسید نمونه فاقد پوشش از مقدار 1/05 میلی اکی‌والان گرم اکسیژن بر یک کیلوگرم لیپید در روزاول به 9/18 میلی اکی‌والان گرم اکسیژن بر یک کیلوگرم لیپید در روز ششم نگهداری افزایش یافت. در حالیکه پوشش خوراکی برپایه موسیلاژ بارهنگ صغیر و حاوی اسانس به طور معنی‌داریمانع از افزایش عدد پراکسید گوشت گاو طی نگهداری شد؛ عدد پراکسید 7/20، 6/70، 6/30 و 4/80 به ترتیب در نمونه‌های پوشش داده شده با موسیلاژ، موسیلاژ + 0/5 درصد اسانس، موسیلاژ + 1 درصد اسانس و موسیلاژ + 1/5 درصد اسانس مشاهده شد. همانطور که از نتایج مشخص است، استفاده از غلظت بالای اسانس در پوشش خوراکی تاثیر بیشتری در جلوگیری از افزایش عدد پراکسید نمونه‌های

گوشت داشته است که می‌تواند ناشی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در جلوگیری از تشکیل هیدروپراکسیدها و همچنین ویژگی ممانعت کنندگی از نفوذ اکسیژن پوشش خوراکی باشد.

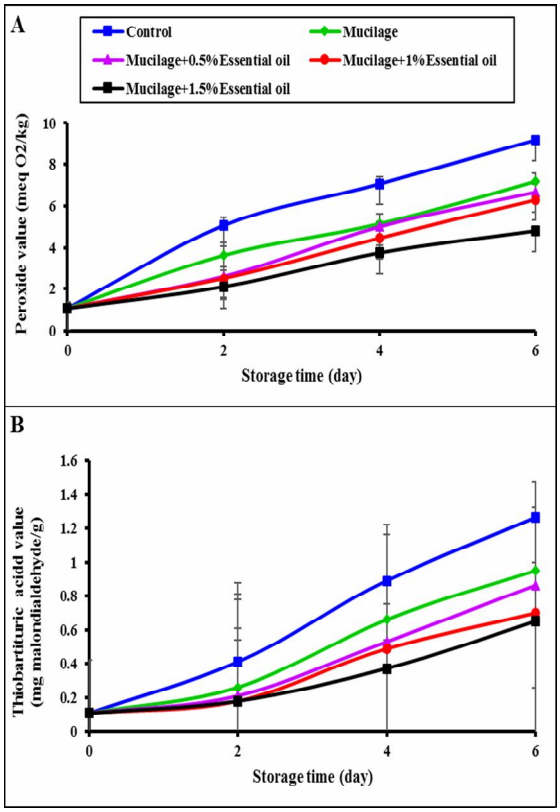


**Fig 2** Peroxide value (A) and thiobarbituric acid value (B) of beef samples during refrigerated storage.

پوشش خوراکی از افزایش تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون لیپیدی نمونه‌های گوشت نیز به طور معنی‌داری جلوگیری کرده است (شکل 2–B). اگرچه افزایش زمان نگهداری سبب افزایش عدد تیوباربیتوریک در تمام نمونه‌ها شد، اما پوشش خوراکی، به ویژه پوشش خوراکی بارگذاری شده با غلظت‌های بالاتر اسانس، از افزایش عدد تیوباربیتوریک نمونه‌ها به طور معنی‌داری جلوگیری کرد و کمترین میزان تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون در نمونه پوشش داده با موسیلاژ حاوی 1/5 درصد اسانس و در روز آخر نگهداری (6 روز) مشاهده شد. مطابق نتایج این پژوهش، گزارش شده است که استفاده از پوشش خوراکی حاوی اسانس، به علت فعالیت آنتی‌اکسیدانی و قابلیت ممانعت کنندگی از نفوذ اکسیژن، به طور موثری از توسعه اکسیداسیون محصولات غذایی جلوگیری می‌کند[36 و 37].

## 3-5- ویژگی‌های میکروبی گوشت گاو پوشش داده شده با موسیلاژ دانه بارهنگ صغیر حاوی اسانس آویشن باغی

شکل 3-A تغییرات تعداد کل باکتری‌های زنده نمونه‌های گوشت را به عنوان تابعی از زمان نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. تمام نمونه‌ها دستخوش افزایش معنی‌داری ($p<0.05$) در تعداد کل باکتری‌های زنده با افزایش زمان نگهداری شدند و این افزایش در نمونه شاهد بیشتر مشهود بود.

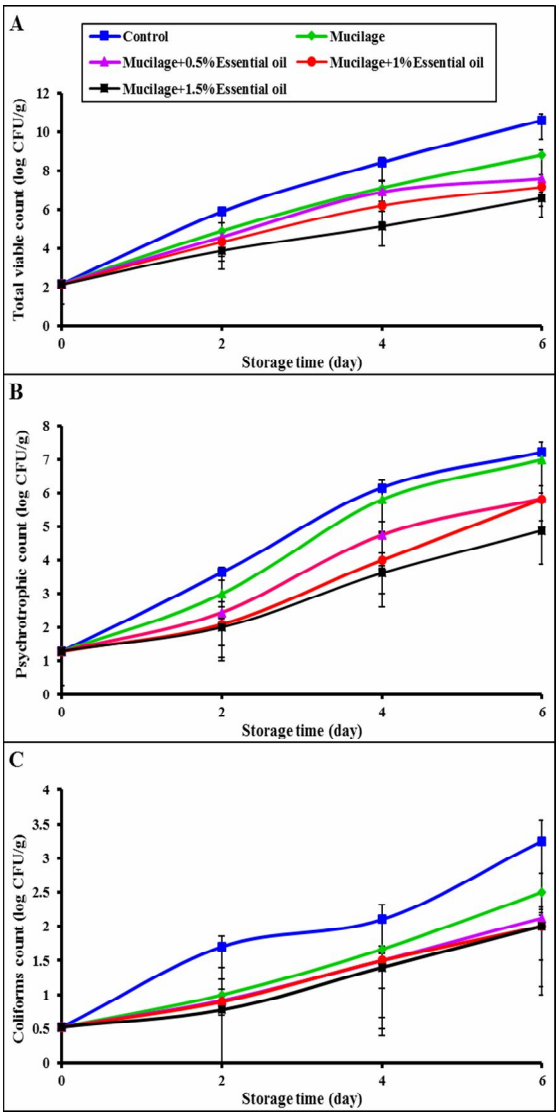


**Fig 3** Changes in microbial development of meat samples during refrigerated storage. (A) total viable count, (B) psychrotrophic count, and (C) coliforms count.

به طوریکه تعداد کل باکتری‌های زنده در این نمونه از log 2/15 CFU/g در روز اول به 10/60log CFU/g در روز ششم نگهداری افزایش یافت.

تعداد کل باکتری‌های زنده در نمونه‌های پوشش داده شده به طور معنی‌داری کمتر از نمونه شاهد بود و نمونه پوشش داده شده با موسیلاژ حاوی 1/5 درصد اسانس تعداد کل باکتری‌های زنده کمتری ($p<0.05$) نسبت به سایر نمونه‌ها داشت.

لازم به ذکر است که حداکثر حد مجاز تعداد کل باکتری‌های زنده در گوشت گاو تازه 7 log CFU/g گزارش شده است [38]. بنابراین، تعداد کل باکتری‌های زنده در نمونه فاقد پوشش در روزهای چهارم و ششم نگهداری بالاتر از حد مجاز بود که بیانگر عمر نگهداری دو روزه گوشت تازه در دمای یخچالی می‌باشد. در حالیکه نمونه پوشش یافته با موسیلاژ در روز چهارم و نمونه‌های پوشش یافته با موسیلاژ بارگذاری شده با غلظت‌های مختلف اسانس آویشن باغی (تا غلظت یک درصد) در روز ششم تعداد کل باکتری‌های زنده بالاتر از حد مجازی داشتند؛ اگرچه نمونه گوشت پوشش داده شده با موسیلاژ دانه بارهنگ صغیر غنی شده با 1/5 درصد اسانس آویشن باغی دارای بیشترین پایداری در برابر افزایش تعداد کل باکتری‌های زنده بود و عمر نگهداری یخچالی آن بالاتر از 6 روز پیش بینی شد.

تغییرات باکتری‌های سرمادوست طی نگهداری نمونه‌های گوشت در شکل 3-B نشان داده شده است. تعداد باکتری‌های سرمادوست از مقدار اولیه 1/28 log CFU/g به 7/20، 7، 5/82، 5/8 و 4/88log CFU/g در نمونه‌های شاهد و نمونه‌های پوشش یافته با موسیلاژ (فاقد اسانس)، موسیلاژ+ 0/5 درصد اسانس، موسیلاژ + 1 درصد اسانس و موسیلاژ + 1/5 درصد اسانس در روز ششم نگهداری افزایش یافت که بیانگر اثر معنی دار ($p<0.05$) پوشش خوراکی بارگذاری شده با اسانس آویشن باغی در جلوگیری از افزایش تعداد باکتری‌های سرمادوست گوشت گاو می‌باشد. در حقیقت گونه‌های سودوموناس به شدت هوازی بوده و قادر به تحمل فشار پایین اکسیژن نمی‌باشند. بنابراین، پوشش خوراکی حاصل از موسیلاژ دانه بارهنگ صغیر احتمالا از طریق کاهش فشار اکسیژن سبب جلوگیری از رشد این باکتری‌ها شده است که مهمترین میکروارگانیسم‌های سرمادوست و عامل فساد در نمونه‌های گوشتی نگهداری شده تحت شرایط سرد و هوازی می‌باشند[20].

نتایج تعداد باکتری‌های کلی‌فرم نمونه‌های گوشت شاهد و پوشش یافته با موسیلاژ بارگذاری شده با اسانس طی زمان نگهداری در دمای یخچال در شکل 3-C آورده شده است. تمام نمونه‌ها افزایش معنی‌داری ($p<0.05$) از نظر تعداد کلی‌فرم با افزایش زمان نگهداری نشان دادند. نمونه شاهد بیشترین تعداد کلی‌فرم (3/25log CFU/g) و نمونه پوشش یافته با موسیلاژ + 1/5 درصد اسانس کمترین تعداد کلی‌فرم (2 log CFU/g) را نشان دادند که بیانگر اثر مثبت پوشش خوراکی زیست‌فعال در جلوگیری از رشد باکتری‌های کلی‌فرم می‌باشد؛ اگرچه اختلاف معنی‌داری ($p>0.05$) بین نمونه پوشش داده شده با موسیلاژ و انواع پوشش یافته با موسیلاژ حاوی غلظت‌های مختلف اسانس مشاهده نشد. در راستای نتایج این مطالعه، پوشش‌های خوراکی حاوی اسانس‌های گیاهی قادر به جلوگیری از رشد قابل توجه باکتری‌های پاتوژن و مولد فساد در محصولات گوشتی می‌باشند[39 و 40].

## 3-6- ویژگی‌های حسی گوشت گاو پوشش داده شده با موسیلاژ دانه بارهنگ صغیر حاوی اسانس آویشن باغی

نتایج ویژگی‌های حسی رنگ، بو و پذیرش کلی نمونه‌های شاهد و پوشش یافته با موسیلاژ حاوی اسانس به عنوان تابعی از زمان نگهداری در شکل 4، گزارش شده است. اگرچه تمام نمونه‌ها متحمل کاهش معنی‌داری ($p<0.05$) در امتیازات حسی شدند، اما نمونه‌های پوشش یافته با موسیلاژ حاوی غلظت‌های مختلف اسانس آویشن باغی امتیازات حسی بالاتری را به خود اختصاص دادند و این حالت در نمونه پوشش یافته با موسیلاژ + 1/5 درصد اسانس بیشتر مشهود بود. به طورکلی نمونه‌های گوشت زمانی از نظر ویژگی‌های حسی قابل پذیرش می‌باشند که توسط ارزیاب‌های آموزش دیده، امتیازات حسی بالاتر از 4 را دریافت کرده باشند [30]. در این حالت، امتیاز رنگ نمونه‌های شاهد و پوشش یافته با موسیلاژ در روز ششم نگهداری پایین‌تر از حد قابل قبول بود (شکل 4-A)، درحالیکه نمونه‌های پوشش یافته با موسیلاژ بارهنگ صغیرحاوی غلظت‌های مختلف اسانس امتیاز رنگ بیشتری (بالاتر از حد قابل قبول) در تمام مراحل نگهداری در دمای یخچال به خود اختصاص دادند. روند مشابهی برای

پارامترهای بو و پذیرش کلی نمونه‌های گوشت گاو مشاهده شد (شکل 4-B و شکل 4-C) و مطابق نتایج پذیرش کلی، نمونه‌های شاهد و پوشش یافته با موسیلاژ (فاقد اسانس) و موسیلاژ حاوی درصدهای مختلف اسانس به ترتیب دارای عمر نگهداری 2 و 4 و 6 روز بودند که نقش موثر پوشش خوراکی زیست‌فعال در افزایش عمر نگهداری گوشت گاو را بازگو می‌کند. در حقیقت پوشش خوراکی حاصل از موسیلاژ دانه بارهنگ صغیر بارگذاری شده با اسانس آویشن باغی از طریق جلوگیری از افزایش رشد میکروبی (شکل 3) و اکسیداسیون چربی (شکل 2)، سبب افزایش عمر نگهداری گوشت شده است که در راستای نتایج سایر پژوهشگران می‌باشد[31].

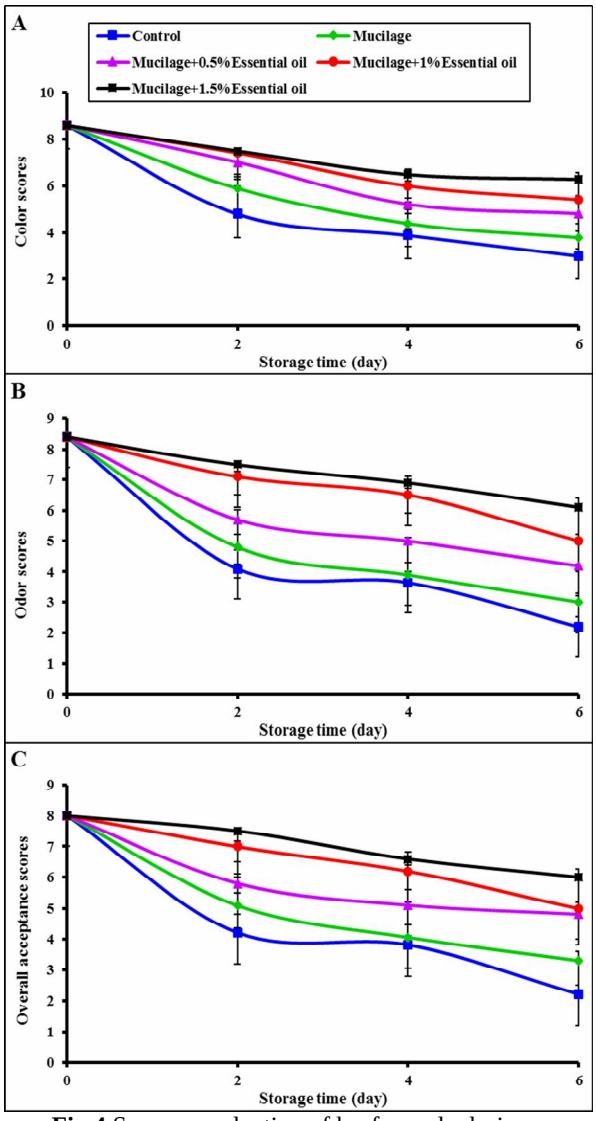


**Fig 4** Sensory evaluation of beef sample during cold storage; Color (A), odor (B), and overall acceptance (C).

## 4- نتیجه گیری

اسانس آویشن باغی حاصل از روش اسانس‌گیری تقطیر با آب دارای ترکیبات زیست‌فعال فنولی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی بالایی بود. افزودن اسانس به محلول موسیلاژی دانه بارهنگ صغیرسبب تولید پوشش خوراکی زیست‌فعالی گردید که جهت افزایش عمر نگهداری گوشت گاو مورد استفاده قرار گرفت. استفاده از پوشش خوراکی برپایه موسیلاژ و درصدهای مختلف اسانس آویشن باغی سبب افزایش معنی‌دار مقاوت اکسایشی و میکروبی و بهبود عمرنگهداری گوشت گاو گردید. بارگذاری اسانس در پوشش خوراکی علاوه بر اینکه تاثیر منفی بر ویژگی‌های حسی محصول نداشت، عمرنگهداری آن را تا روز آخر نگهداری در دمای یخچال (6 روز) بهبود بخشید؛ در حالیکه عمرنگهداری یخچالی گوشت فاقد پوشش 2 روز بود. نتایج نشان می‌دهد که پوشش خوراکی برپایه موسیلاژ بارهنگ صغیر به همراه اسانس آویشن باغی قابلیت استفادهبه عنوان نوع جدیدی از پوشش خوراکی فعال و ایمن جهت افزایش عمرنگهداری محصولات گوشتی را دارا می‌باشد.

## 5- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

## 6- منابع

[1] Rahimifard, N., Pakzad, S., Shoeibi, S., Hedayati, M., Hajimehdipour, H., Motaharinia, V., et al. 2009. Effects of Essential oil and Extract of Thymus vulgaris, Zataria multiflora and Eugenia caryophilata on Vero, Hela, HepII cell lines by MTT Assay. Journal of Medicinal Plants. 2 (30) :152-156 (full text in Persian).

[2] Mehran, M., Hoseini, H., Hatami, A., Taghizade, M., &Safaie, A. 2016. Investigation of Components of Seven Species of Thyme Essential Oils and Comparison of their Antioxidant Properties. Journal of Medicinal Plants. 2 (58) :134-140 (full text in Persian).

[12] Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K.,Kujala, T. S., &Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of agricultural and food chemistry. 47(10): 3954-3962.

[13] Kizil, S., Hasimi, N., Tolan, V., Kilinc, E., &Yuksel, U. 2010. Mineral content, essential oil components and biological activity of two mentha species (M. piperita L., M. spicata L.). Turkish Journal of Field Crops. 15(2): 148-153.

[14] Dapkevicius, A., Venskutonis, R., vanBeek, T. A., &Linssen, J. P. 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. Journal of the Science of Food and Agriculture. 77(1): 140-146.

[15] Fadli, M., Saad, A., Sayadi, S., Chevalier, J., Mezrioui, N. E., Pagès, J. M., &Hassani, L. 2012. Antibacterial activity of Thymus maroccanus and Thymus broussonetii essential oils against nosocomial infection–bacteria and their synergistic potential with antibiotics. Phytomedicine. 19(5): 464-471.

[16] Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., et al. 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of Salvia cryptantha (Montbret et Aucher ex Benth.) and Salvia multicaulis (Vahl). Food chemistry. 84(4): 519-525.

[17] Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., &Mohebbi, M. 2017. Use of Plantago major seed mucilage as a novel edible coating incorporated with Anethumgraveolens essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. International journal of biological macromolecules. 94: 515-526.

[18] Alizadeh Behbahani, B., Yazdi, F. T., Shahidi, F., Hesarinejad, M. A., Mortazavi, S. A., &Mohebbi, M. 2017. Plantago major seed mucilage: Optimization of extraction and some physicochemical and rheological aspects. Carbohydrate Polymers. 155: 68-77.

[19] AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists International (18th ed.). U.S.A Official methods: Gathersburg, MD.

[20] Alizadeh Behbahani, B., &Fooladi, A. A. I. 2018. Shirazi balangu (Lallemantiaroyleana) seed mucilage: chemical composition, molecular weight,

[3] Behnia, M., Haghighi, A., Komeylizadeh, H., Tabaei, S. J. S., & Abadi, A. 2008. Inhibitory effects of Iranian Thymus vulgaris extracts on in vitro growth of Entamoeba histolytica. The Korean journal of parasitology. 46(3): 153-156.

[4] Satyal, P., Murray, B., McFeeters, R., & Setzer, W. 2016. Essential oil characterization of Thymus vulgaris from various geographical locations. Foods. 5(4); 70.

[5] Noori, S., Zeynali, F., &Almasi, H. 2018. Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (Zingiber officinale) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets. Food Control. 84: 312-320.

[6] Ju, J., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., & Yao, W. 2019. Application of edible coating with essential oil in food preservation. Critical reviews in food science and nutrition. 59(15): 2467-2480.

[7] Hesarinejad, M. A., Jokandan, M. S., Mohammadifar, M. A., Koocheki, A., Razavi, S. M. A., Ale, M. T., & Attar, F. R. 2018. The effects of concentration and heating-cooling rate on rheological properties of Plantagolanceolata seed mucilage. International journal of biological macromolecules. 115: 1260-1266.

[8] Mataragas, M., Bellio, A., Rovetto, F., Astegiano, S., Greci, C., Hertel, C., ... &Cocolin, L. (2015). Quantification of persistence of the food-borne pathogens Listeria monocytogenes and Salmonella enterica during manufacture of Italian fermented sausages. Food control. 47: 552-559.

[9] Mataragas, M., Bellio, A., Rovetto, F., Astegiano, S., Decastelli, L., &Cocolin, L. 2015. Risk-based control of food-borne pathogens Listeria monocytogenes and Salmonella enterica in the Italian fermented sausages Cacciatore and Felino. Meat science. 103: 39-45.

[10] Guyon, C., Meynier, A., & de Lamballerie, M. 2016. Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. Trends in Food Science & Technology. 50: 131-143.

[11] Saucier, L. 2016. Microbial spoilage, quality and safety within the context of meat sustainability. Meat science. 120: 78-84.

comparison between supercritical fluid extraction and hydrodistillation. Journal of separation science. 33(14): 2211-2218.
[30] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A., Roshanak, S., & Mortazavi, A. 2017. Production of an antimicrobial edible coating based on Plantago major seed mucilage in combination with Heracleum persicum essential oil: its properties and application in beef. Applied Microbiology in Food Industries. 3(3): 1-21.
[31] Alizadeh Behbahani, B., & Imani Fooladi, A. A. 2018. Development of a novel edible coating made by Balangu seed mucilage and Feverfew essential oil and investigation of its effect on the shelf life of beef slices during refrigerated storage through intelligent modeling. Journal of food safety. 38(3): e12443.
[32] Dholwani, K. K., Saluja, A. K., Gupta, A. R., & Shah, D. R. 2008. A review on plant-derived natural products and their analogs with anti-tumor activity. Indian journal of pharmacology. 40(2): 49.
[33] Rota, M. C., Herrera, A., Martínez, R. M., Sotomayor, J. A., &Jordán, M. J. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of Thymus vulgaris, Thymus zygis and Thymus hyemalis essential oils. Food control. 19(7): 681-687.
[34] Vital, A. C. P., Guerrero, A., de Oliveira Monteschio, J., Valero, M. V., Carvalho, C. B., de Abreu Filho, B. A., et al. 2016. Effect of edible and active coating (with rosemary and oregano essential oils) on beef characteristics and consumer acceptability. PloS one. 11(8): e0160535.
[35] Cardoso, G. P., Dutra, M. P., Fontes, P. R., Ramos, A. D. L. S., de Miranda Gomide, L. A., & Ramos, E. M. 2016. Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display. Meat science. 114: 85-94.
[36] Raeisi, M., Tajik, H., Aliakbarlu, J., &Valipour, S. 2014. Effect of carboxymethyl cellulose edible coating containing Zataria multiflora essential oil and grape seed extract on chemical attributes of rainbow trout meat. In Veterinary research forum: an international quarterly journal. 5(2): 89-93.
[37] Krkić, N., Šojić, B., Lazić, V., Petrović, L., Mandić, A., Sedej, I., &Tomović, V. 2013. Lipid oxidative changes in chitosan-oregano coated traditional dry fermented biological activity and its evaluation as edible coating on beefs. International journal of biological macromolecules. 114: 882-889.
[21] Hansen, L. T., Gill, T., &Hussa, H. H. 1995. Effects of salt and storage temperature on chemical, microbiological and sensory changes in cold-smoked salmon. Food Research International. 28(2): 123-130.
[22] Rahimi, M., &Ramezani, M. 2017. The effects of temperature on antioxidant activity, total phenolics and agronomic traits of two thyme species. Nova BiologicaReporta. 4(3): 264-270.
[23] Mancini, E., Senatore, F., Del Monte, D., De Martino, L., Grulova, D., Scognamiglio, M., et al. 2015. Studies on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of five Thymus vulgaris L. essential oils. Molecules. 20(7): 12016-12028.
[24] Nooshkam, A., Mumivand, H., Hadian, J., Alemardan, A., &Morshedloo, M. R. 2017. Drug yield and essential oil and carvacrol contents of two species of Satureja (S. khuzistanicaJamzad and S. rechingeriJamzad) cultivated in two different locations. Journal of applied research on medicinal and aromatic plants. 6: 126-130.
[25] El-Ghorab, A. H., Nauman, M., Anjum, F. M., Hussain, S., & Nadeem, M. 2010. A comparative study on chemical composition and antioxidant activity of ginger (Zingiber officinale) and cumin (Cuminumcyminum). Journal of agricultural and food chemistry. 58(14): 8231-8237.
[26] Asensio, C. M., Nepote, V., & Grosso, N. R. 2012. Sensory attribute preservation in extra virgin olive oil with addition of oregano essential oil as natural antioxidant. Journal of food science. 77(9): S294-S301.
[27] Amorati, R., Foti, M. C., &Valgimigli, L. 2013. Antioxidant activity of essential oils. Journal of agricultural and food chemistry. 61(46): 10835-10847.
[28] Chizzola, R., Michitsch, H., & Franz, C. 2008. Antioxidative properties of Thymus vulgaris leaves: comparison of different extracts and essential oil chemotypes. Journal of agricultural and food chemistry. 56(16): 6897-6904.
[29] Grosso, C., Figueiredo, A. C., Burillo, J., Mainar, A. M., Urieta, J. S., Barroso, J. G., et al. 2010. Composition and antioxidant activity of Thymus vulgaris volatiles:

sausage Petrovskáklobása. Meat science. 93(3): 767-770.

[38] International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF). 1986. Microorganisms in Foods 2. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications (2nd ed.). Toronto, Canada: University of Toronto Press.

[39] Yemiş, G. P., &Candoğan, K. 2017. Antibacterial activity of soy edible coatings incorporated with thyme and oregano essential oils on beef against pathogenic bacteria. Food science and biotechnology. 26(4): 1113-1121.

[40] Emiroğlu, Z. K., Yemiş, G. P.,Coşkun, B. K., &Candoğan, K. 2010. Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. Meat science. 86(2): 283-288.

# Improving oxidative and microbial stability of beef by using a bioactive edible coating obtained from Barhang-e-Sagheerseed mucilage and loaded with Avishan-e-Baghi

**Noshad, M. [1*], Alizadeh Behbahani, B. [1], Dehghani, S. [2]**

1. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

**(Received: 2019/10/06 Accepted:2019/12/02)**

This study was aimed to fabricate a novel active edible coating with remarkable antioxidant and antimicrobial activity to ameliorate the beef shelf-life. For this purpose, the essential oil of Avishan-e-Baghi was firstly extracted by hydrodistillation method and its *in-vitro* antioxidant and antibacterial properties were then evaluated. The essential oil had a potentially high antioxidant activity and it was able to reduce the growth of bacteria *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, and *Pseudomonas aeruginosa*. The essential oil was then mixed with Barhang-e-Sagheerseed mucilage to fabricate an active edible coating. The edible coating was used to coat beef and increase its shelf-life. The use of edible coating containing different concentration of essential oil significantly ($p<0.05$) inhibit the fat oxidation extent (primary and secondary products) and increase in total viable count, psychrotrophic bacteria, and coliforms in beef samples, and improved its shelf-life up to 6-day storage at refrigeration condition. In general, the Avishan-e-Baghiessential oil-loaded Barhang-e-Sagheerseed mucilage-based edible coating could be used to control the lipid oxidation and microbial growth, as well as, to improve the shelf-life of meat products or other food products.

**Keywords:** *Thymus vulgaris*, Oxidation, Edible coating, Antioxidant.

[*] Corresponding Author E-Mail Address: Noshad@asnrukh.ac.ir