



بررسی خواص فیزیکی فیلم فعال گلو تن حاوی اسانس مرزنجوش
(*Origanum majorana L.*) آزاد و درون پوشانی شده و ارزیابی کارایی آن در کنترل فساد

میکروبی پنیر فراپالایش و گوشت قرمز

هانیه محمدی جارچلو^۱، سید حسین حسینی قابوس^{۲*}، هادی الماسی^۳

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.

۲- استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران.

۳- دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>تاریخ های مقاله :</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۹</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۱۹</p>	<p>هدف از این پژوهش تهیه فیلم فعال بر پایه گلو تن گندم حاوی اسانس مرزنجوش آزاد و درون پوشانی شده بود. اسانس مرزنجوش با نانوحامل های لیپیدی (نانوامولسیون) و پروتئینی (پیکرینگ امولسیون با ایزوله پروتئین آب پنیر) درون پوشانی شد و در سطوح ۳،۱ و ۵ درصد وزنی در ترکیب فیلم گلو تن گندم استفاده شد. اسانس آزاد نیز در همین غلظت ها به فیلم اضافه شد. ویژگی های فیزیکی فیلم فعال و کارایی آن در کنترل رشد میکروبی در مدل های غذایی پنیر فراپالایش و گوشت قرمز طی مدت زمان نگهداری ۹ روزه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش درصد اسانس آزاد، نفوذپذیری به بخار آب فیلم های گلو تن افزایش یافت، اما افزودن اسانس درون پوشانی شده منجر به کاهش معنادار نفوذپذیری به بخار آب نمونه ها گردید ($p < 0/05$). مقاومت کششی، مدول یانگ و ازدیاد طول تا نقطه شکست فیلم ها با افزایش درصد اسانس آزاد به طور معنادار کاهش و با افزودن اسانس درون پوشانی شده، خصوصیات مکانیکی فیلم ها ارتقا یافتند. همچنین نتایج شمارش کلی باکتری های <i>E. coli</i> و <i>L. monocytogenes</i> در پنیر فراپالایش و گوشت قرمز نشان داد که در تمامی نمونه ها، رشد باکتری ها با گذشت زمان روند صعودی داشته و با افزایش درصد اسانس مرزنجوش رشد باکتری ها نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت ($p < 0/05$). درون پوشانی تأثیر منفی در فعالیت ضد میکروبی اسانس نداشت. به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن اسانس مرزنجوش در شکل درون پوشانی شده، منجر به بهبود خصوصیات فیزیکی فیلم فعال گلو تن می شود و در کنترل رشد میکروبی در پنیر فراپالایش و گوشت نیز موثر است.</p>
<p>کلمات کلیدی:</p> <p>فیلم فعال، گلو تن، اسانس مرزنجوش، خواص فیزیکی، اثر ضد میکروبی، پنیر فراپالایش و گوشت.</p> <p>DOI: 10.22034/FSCT.19.130.121 DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.11.0</p> <p>* مسئول مکاتبات: hosseinihaboos@yahoo.com</p>	

۱- مقدمه

کو- کریستالیزاسیون) و طیف وسیعی از ترکیبات مورد استفاده به عنوان مواد دیواره شامل لیپیدها، پروتئین‌ها و چربی‌ها استفاده می‌شود. نانوامولسیون و پیکرینگ امولسیون از متداول ترین روش های درون پوشانی هستند که در روش اول از سورفکتانت‌های ریز مولکول و در روش دوم از بیوپلیمرهای پروتئینی یا پلی ساکاریدی برای درون پوشانی اسانس استفاده می‌شود.

مطابق بررسی‌های صورت گرفته، تاکنون تحقیقی در مورد تأثیر اسانس مرزنجوش آزاد و درون پوشانی شده بر خواص ساختاری فیلم‌های فعال گلو تن گندم و ارزیابی اثر آن بر فساد میکروبی مدل‌های غذایی (پنیر فراپالایش و گوشت قرمز) صورت نگرفته است. هدف از این پژوهش مطالعه تأثیر اسانس مرزنجوش در غلظت‌های مختلف بر روی خواص ساختاری فیلم‌های فعال تهیه شده و ارزیابی آن در کنترل فساد میکروبی مدل‌های غذایی (پنیر فراپالایش و گوشت قرمز) می‌باشد. از نانوحامل‌های لیپیدی و پروتئینی برای ریزپوشانی اسانس مرزنجوش استفاده گردید و سپس از آنها در فرمولاسیون فیلم گلو تن گندم استفاده شد و خصوصیات فیزیکی و عملکردی فیلم گلو تن مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۱-۲- مواد

گلو تن گندم از شرکت چی چست گلوکز ارومیه، گیاه مرزنجوش از بازار محلی ارومیه، پنیر فراپالایش بدون افزودن هیچ گونه مواد نگهدارنده از شرکت صنایع شیر پگاه ارومیه و گوشت گاو تازه نیز از کشتار روز تهیه گردید. سود ۰.۱ نرمال، گلیسرول با خلوص ۹۹/۵٪، کلسیم نیترات، کلسیم سولفات، پتاسیم سولفات و سورفکتانت توئین ۸۰ از برند شرکت مرک (آلمان) و ایزوله پروتئین آب پنیر (WPI) از برند شرکت آرلا (دانمارک) خریداری شدند. باکتری‌های *Escherichia coli* (ATCC 25922) و *Listeria monocytogenes* (ATCC 2283) از مرکز منابع بیولوژیک ایران (IBRC) خریداری شدند.

گوشت قرمز و پنیر از جمله مواد غذایی پرطرفدار هستند که فسادپذیری بالایی دارند. یکی از روش‌های موثر جهت افزایش مدت زمان نگهداری و کنترل رشد میکروبی، پوشش دهی ترکیبات ضد میکروبی طبیعی بر روی سطح محصول غذایی است [۱]. اما به دلیل انتشار غیر کنترل شده این مواد به داخل فرآورده‌های غذایی و همچنین غیر فعال شدن بخشی از این ترکیبات فعال به دلیل واکنش با مواد غذایی، کارایی این روش کاهش می‌یابد. در نتیجه استفاده از فیلم‌های خوراکی حاوی مواد فعال ضدباکتریایی می‌تواند مفید واقع شود زیرا منجر به رهاسازی آهسته این ترکیبات به داخل محصول غذایی شده و به حفظ غلظت‌های بالای مواد ضد باکتریایی در سطح محصول غذایی کمک می‌کند [۲]. فیلم‌های خوراکی می‌توانند از انواع گسترده‌ای از مواد بیوپلیمری شامل پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها و ترکیب آنها آماده شوند [۳]، که در این بین، فیلم‌های پروتئینی نظیر پروتئین گلو تن گندم به دلیل ویژگی‌های عملکردی نظیر توانایی تشکیل فیلم مطلوب، در دسترس بودن، تجزیه پذیری خوب و ممانعت کننده مناسب در برابر اکسیژن مورد توجه قرار گرفته است [۴].

امروزه برای افزایش خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های خوراکی و افزایش زمان ماندگاری محصولات غذایی از اسانس‌های گیاهی استفاده می‌شود [۵]. گیاه مرزنجوش با نام علمی *Origanum majorana L.* گیاهی معطر از خانواده‌ی نعناعیان می‌باشد. اسانس این گیاه به خاطر دارا بودن ترکیبات فنولی، بویژه تیمول، کارواکرول، رزمارینیکاسید و ترپنوئیدها دارای پتانسیل بسیار خوبی برای افزودن به محصولات غذایی به عنوان عامل ضد میکروبی می‌باشد. محققان بیشترین عملکرد ضدباکتریایی آن را به تیمول و کارواکرول نسبت داده‌اند [۶].

امروزه به دلیل وجود ترکیبات فرار در اسانس‌های گیاهی، از تکنیک ریزپوشانی به علت ویژگی‌های منحصر به فرد نظیر حفاظت از اجزای عطر و طعمی در مقابل تبخیر و تغییرات مخرب، اختلاط بهتر با ماتریکس غذایی و رهایش کنترل شده استفاده می‌شود [۷]. برای درون پوشانی از انواع مختلف روش‌ها (خشک کردن پاششی، سرد کردن پاششی، پوشش-دهی بستر سیال، اکستروژن، خشک کردن انجمادی، روش کواسرواسیون، جداسازی سوسپانسیون ساترئیفورژی،

۲-۲- استخراج اسانس مرزنجوش و درون

پوشانی آن

برای استخراج اسانس از روش تقطیر آبی با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت استفاده شد. مرزنجوش با نسبت ۱:۲ دمای ۴ درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمایشات در شیشه مات با فویل آلومینیومی نگهداری گردید [۸].

برای درون پوشانی اسانس مرزنجوش با نانوحامل لپیدی از روش تولید نانوامولسیون استفاده شد. بدین صورت که ۵۰ میلی گرم اسانس و ۸۰ میلی گرم کره کاکائو در مخلوط ۵ سی سی، ۱:۱ حلال دی کلرومتان و متانول حل شد و امولسیون اولیه تشکیل شد. سپس جهت تولید نانوامولسیون، به مدت ۵ دقیقه توسط پروب اولتراسوند تحت تیمار فراصوت قرار گرفت و نانوامولسیون پایدار و شیری رنگ تهیه شد [۹].

درون پوشانی اسانس مرزنجوش با WPI نیز به روش Hosseinnia و همکاران (۲۰۱۷) انجام شد [۱۰]. بدین صورت که ۵ سی سی محلول ۲٪ WPI تهیه و پس از ۲۴ ساعت هیدراسیون، مقدار ۵۰ میلی گرم اسانس مرزنجوش به آن اضافه و پس از هموژن کردن، با استفاده از هموژنایزر اولتراسونیک با توان ۱۰۰ وات و در فرکانس ۲۰ کیلوهرتز به مدت ۵ دقیقه تیمار شد تا میکروکپسول‌های WPI حاوی اسانس حاصل شود.

۲-۳- روش تهیه فیلم فعال بر پایه گلو تن گندم

حاوی اسانس مرزنجوش

به منظور تهیه فیلم گلو تن، ۶ گرم گلو تن گندم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر پخش و با استفاده از سود ۰/۱ نرمال pH روی ۱۱ تنظیم گردید. سپس محلول به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سلسیوس حرارت داده و پس از خنک شدن، گلیسرول به میزان ۳۵٪ وزن گلو تن به عنوان نرم کننده اضافه شد و در ادامه اسانس مرزنجوش آزاد و درون پوشانی شده در سطوح ۱، ۳ و ۵٪ (۰/۴-۰/۸-۱/۲ میلی گرم) اضافه گردید. پس از ۱۰ دقیقه هم زدن، محلول روی پلیت پلی استایرنی ۸ سانت پخش و در دمای اتاق خشک به مدت ۲۴ ساعت گردید [۱۱].

۲-۴- نفوذپذیری به بخار آب

برای انجام آزمون، نمونه فیلم‌ها بریده و در قسمت درب ویال‌های حاوی ۳ گرم کلسیم سولفات (RH=0%) قرار داده

شدند. ویال‌ها پس از توزین اولیه، در دسیکاتور حاوی پتاسیم سولفات (RH=97%) جای گرفته و سپس، مقدار بخار آب منتقل شده از فیلم توسط کلسیم سولفات جذب شده، از روی وزن اضافه شده بر ویال‌ها تعیین شد. ویال‌ها به مدت ۷۲ ساعت در فواصل زمانی معین وزن شدند. سرعت انتقال بخار آب (WVTR): (g/m²h) از روی شیب حاصل از آنالیز رگرسیون مقدار رطوبت منتقل شده در سطح فیلم در مدت زمان معین محاسبه گردید. سپس WVTR² فیلم‌ها برای محاسبه نفوذپذیری به بخار آب استفاده شد [۱۲].

$$WVTR = \frac{\Delta W}{A \Delta t}$$

$$WVP = \frac{WVTR \times X}{\Delta P}$$

WVTR: آهنگ انتقال بخار آب (g/m²h)، X: ضخامت فیلم (m)، A: مساحت سطح فیلم (m²), WVP: نفوذپذیری نسبت به بخار آب (g.mm/m². Pa. s): اختلاف فشار بخار آب بین سطح درونی و بیرونی فیلم در ویال‌ها (ΔP=3169Pa) می‌باشد.

۲-۵- خواص مکانیکی

مقاومت کششی، ازدیاد طول تا نقطه شکست و مدول یانگ فیلم‌ها توسط دستگاه بافت سنج (TA.TX.plus Texture analyser) اندازه‌گیری شدند. نمونه‌های فیلم در ابعاد ۱×۵ بریده و به مدت ۴۸ ساعت در رطوبت نسبی ۵۵٪ (کلسیم نیترات) و دمای محیط مشروط گردیدند. فاصله اولیه بین دو فک دستگاه و سرعت حرکت فک‌ها به ترتیب ۳۰ mm/s و ۰/۸۳ بود. پارامترهای مکانیکی با روابط زیر محاسبه شدند:

$$\text{مقاومت کششی} = F_{max}/A$$

$$\text{ازدیاد طول تا نقطه شکست} = (L_{max}/L_0) * 100$$

$$\text{مدول یانگ} = FL_0/\Delta L$$

که A برابر سطح مقطع عرضی فیلم (m²), F_{max} برابر حداکثر نیرو در نقطه شکست (N), L_{max} برابر کشیدگی فیلم در نقطه پارگی (m)، برابر طول اولیه نمونه فیلم (m), F برابر نیرو (N), ΔL برابر تغییر طول نمونه (m) می‌باشد.

۲-۶- تأثیر فیلم فعال گلو تن حاوی اسانس بر

کنترل رشد میکروبی در مدل‌های غذایی

بین رشته‌ها بیشتر شده و قابلیت عبور دهی بخار آب از مقطع عرضی فیلم‌ها افزایش یافت. گلوتن حاوی بخش‌های آبگریز مانند اسید آمینه متمایل به چرب می‌باشد که میتواند اسانس را در خود جای دهد، برهمکنش‌های آبگریز در گلوتن امکانپذیر هستند [۱۵]. نتایج در توافق با نتایج Al-Hashimi و همکاران (۲۰۲۰) بود که نشان دادند با افزایش اسانس میخک در فیلم نشاسته قابلیت نفوذپذیری به بخار آب افزایش یافت. از طرف دیگر، افزودن اسانس مرزنجوش درون‌پوشانی شده با نانوحامل لیپیدی و پروتئینی نیز منجر به کاهش معنادار نفوذپذیری به بخار آب نمونه‌ها شد ($p < 0.05$) [۱۶]. کاهش میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم‌های حاوی اسانس درون‌پوشانی شده به دلیل وجود دیواره آبدوست نانوحامل‌ها است که به طور یکنواخت در ماتریس پلیمر توزیع می‌شوند و به دلیل سازگاری بیشتر WPI و امولسیفایر با گلوتن گندم، اثر منفی آنها در کاهش تراکم بافتی و فضای آزاد بین رشته‌ها کمتر است و این را می‌توان عاملی برای کاهش نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های بیوپلیمیری بیان کرد [۱۷]. Xue و همکاران (۲۰۱۹) به نتایج مشابهی دست یافتند بطوری که با افزایش اسانس انکپسوله شده در فیلم خوراکی بر پایه WPI و صمغ اقاقیا، نفوذپذیری به بخار آب در فیلم‌ها کاهش یافت [۱۸].

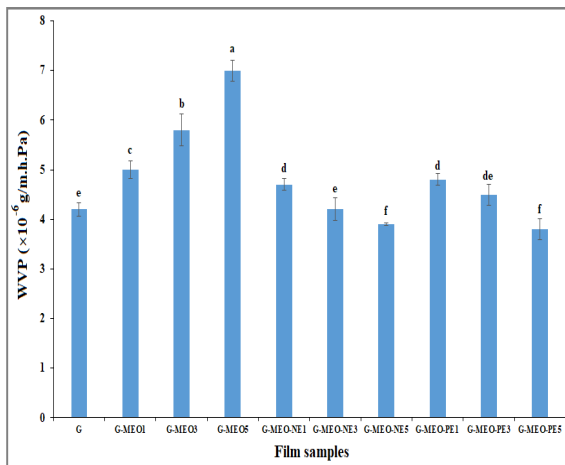


Fig 1 The effect of free and encapsulated Marjoram essential oil on the water vapor permeability (WVP) of gluten active film
 G: Control, G-MEO: free essential oil, G-MEO-NE: essential oil was encapsulated by lipid nanocarrier, G-MEO-PE: essential oil was encapsulated by protein-based nanocarrier
 Mean with different letters within columns indicate significant differences ($p < 0.05$)

به منظور بررسی کنترل رشد میکروبی، برش‌هایی از پنیر فراپالایش و قطعات گوشت در اندازه یکسان یک در یک تهیه شد و از سوسپانسیون باکتری‌های *E. coli* و *L. monocytogenes* به میزان ۵۰ میکرولیتر روی سطح این دو نمونه غذایی ریخته و به خوبی پخش گردید تا میزان اولیه باکتری روی سطح نمونه‌ها به حدود $5 \log \text{CFU/g}$ برسد. سپس قطعاتی از فیلم‌های فعال با استفاده از تابش نور UV استریل و بر روی سطح مدل‌های غذایی قرار داده شد. در نهایت نمونه‌ها در کیسه‌های پلی اتیلنی قرار گرفته و به مدت ۹ روز در دمای یخچال نگهداری شدند و در فواصل زمانی ۳ روزه، از آن‌ها نمونه برداری شد و شمارش میکروبی برای هرکدام از باکتری‌ها انجام و برحسب $\log \text{CFU/g}$ ماده غذایی گزارش گردید [۱۳].

۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری

همه آزمون‌ها در سه تکرار در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام گرفتند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام شد. جهت مقایسه آماری ویژگی‌های فیلم از تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و برای بررسی کنترل رشد میکروبی از واریانس دو طرفه استفاده شد. برای رسم نمودارها از برنامه Excel و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید. تمامی نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه گردید و مقایسه‌های آماری در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نفوذپذیری به بخار آب

مقدار نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های شاهد و حاوی اسانس مرزنجوش در شکل ۱ نشان داده شده است. افزودن اسانس مرزنجوش تأثیر معناداری روی نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها داشت ($p < 0.05$). نتایج حاصله نشان داد که با افزایش درصد اسانس آزاد، نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌های بر پایه گلوتن افزایش یافت. قابلیت نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی وابسته به وجود ترکیبات آبدوست و آبگریز و برهمکنش آن‌ها در ماتریس فیلم می‌باشد [۱۴]. در این تحقیق به دلیل حضور مقدار قابل توجهی ترکیبات آبگریز مانند ترکیبات فنولی در اسانس گیاه مرزنجوش، فضای آزاد

۲-۳- خواص مکانیکی

داده‌های مربوط به مقاومت کششی، مدول یانگ و ازدیاد طول تا نقطه شکست فیلم‌های بر پایه گلوتن گندم حاوی اسانس مرزنجوش در شکل ۲، ۳ و ۴ نشان داده شده است.

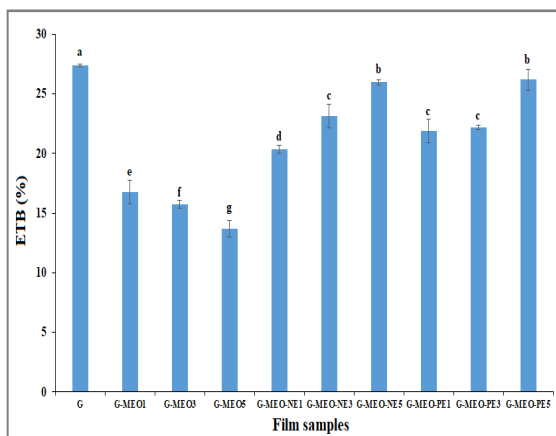


Fig 4 The effect of free and encapsulated Marjoram essential oil on elongation to break (ETB) of gluten active film

G: Control, G-MEO: free essential oil, G-MEO-NE: essential oil was encapsulated by lipid nanocarrier, G-MEO-PE: essential oil was encapsulated by protein-based nanocarrier. Mean with different letters within columns indicate significant differences ($p < 0.05$).

همانطور که ملاحظه می‌شود، فیلم‌های فاقد اسانس مرزنجوش با مقاومت کششی و مدول یانگ بیشتر نسبت به فیلم‌های دارای اسانس، محکم‌تر هستند و مقاومت کششی، مدول یانگ و ازدیاد طول تا نقطه شکست فیلم‌ها با افزایش درصد اسانس مرزنجوش به طور معنادار کاهش یافتند ($p < 0.05$). اسانس قادر است با قرار گیری در بین رشته‌های بیوپلیمر، شدت و تعداد برهمکنش‌های بین مولکولی را کاهش دهد. در نتیجه با کاهش اتصالات بین رشته‌ای، میزان مقاومت کششی و ازدیاد طول تا نقطه شکست کاهش یافت. در واقع اسانس مرزنجوش در ماتریس فیلم فعال گلوتن مانند یک نرم کننده عمل می‌کند و باعث کاهش اتصالات بین مولکولی می‌شود [۱۹]. نتایج مشابه توسط Almasi و همکاران (۲۰۲۱) ارائه شده است [۱۹]. بطوریکه با افزایش درصد اسانس رزماری در فیلم‌های بر پایه سلولز باکتریایی، مقاومت کششی فیلم‌ها کاهش یافت. با توجه به شکل‌ها، افزودن اسانس مرزنجوش درون-پوشانی شده با نانوحامل لیپیدی و پروتئینی منجر به افزایش معنادار مقاومت کششی، مدول یانگ و ازدیاد طول تا نقطه شکست نمونه‌ها شد و نمونه‌های حاوی ۵٪ بالاترین میزان پارامترها را در مقایسه با نمونه حاوی اسانس آزاد داشتند. فیلم

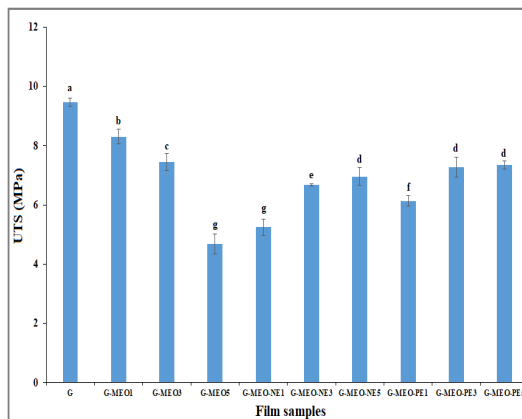


Fig 2 The effect of free and encapsulated Marjoram essential oil on tensile strength (UTS) of gluten active film

G: Control, G-MEO: free essential oil, G-MEO-NE: essential oil was encapsulated by lipid nanocarrier, G-MEO-PE: essential oil was encapsulated by protein-based nanocarrier. Mean with different letters within columns indicate significant differences ($p < 0.05$).

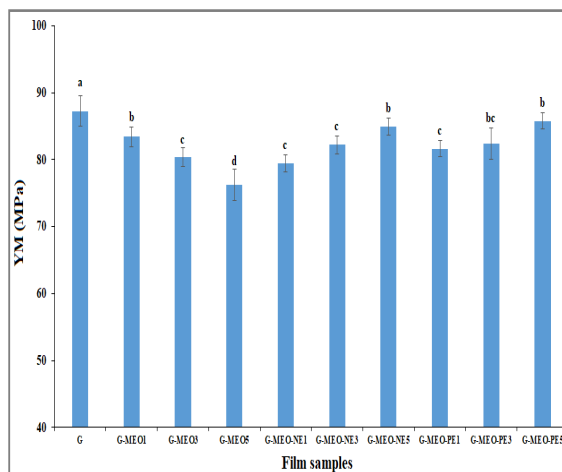


Fig 3 The effect of free and encapsulated Marjoram essential oil on Young's modulus of gluten active film

G: Control, G-MEO: free essential oil, G-MEO-NE: essential oil was encapsulated by lipid nanocarrier, G-MEO-PE: essential oil was encapsulated by protein-based nanocarrier. Mean with different letters within columns indicate significant differences ($p < 0.05$).

طور کلی نتایج نشان داد که استفاده از فیلم‌های بر پایه گوتن و حاوی اسانس مرزنجوش سبب کاهش شمار باکتری و افزایش عمر ماندگاری مدل‌های غذایی گردید. ترکیبات فنولی موجود در اسانس مرزنجوش مانند کارواکول و تیمول مسئول خاصیت ضد میکروبی قوی هستند که می‌توانند به دیواره سلولی فسفولیپیدی که سبب افزایش نفوذپذیری و نشتی سیتوپلاسم یا تعامل با آنزیم‌های موجود روی دیوار سلولی می‌شوند، حمله کنند [۲۲]. همچنین ترکیبات جزئی موجود در اسانس با عمل کردن به صورت سینرژیستی با دیگر ترکیبات می‌توانند سبب تاثیر روی فعالیت ضد میکروبی شوند Chang و همکاران (۲۰۲۱) عنوان کردند افزودن لینالول و تیمول به عنوان یک ماده ضد میکروبی در فیلم خوراکی بر پایه پلی اتیلن منجر به کاهش شمارش میکروبی باکتری‌های *E. coli*, *Staphylococcus aureus*، *L. monocytogenes* و *Saccharomyces cerevicea* در نمونه پنیر موزرلا گردید [۲۳]. Saravani و همکاران (۲۰۱۹) برای جلوگیری از فساد پنیر گودا از پوشش زیست تخریب پذیر حاوی اسانس *Bunium persicum* استفاده کردند. نتایج حاکی از این بود که با گذشت زمان شمار باکتری‌های لاکتیک اسید، *Pseudomonas*، *E. coli*، *Enterobacter* افزایش ولی با افزایش درصد اسانس مورد استفاده شمار باکتری‌ها نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت [۲۴]. Partovi و همکاران (۲۰۲۰) فعالیت ضد میکروبی فیلم پلی لاکتیک اسید ترکیب شده با اسانس مرزنجوش و میخک بر روی خواص میکروبی گوشت چرخ کرده در حین نگهداری در یخچال بررسی کردند نتایج نشان داد که با افزایش درصد اسانس‌های مورد استفاده شمار باکتری‌های سایکروتروف کاهش یافت [۲۵].

گلو تن خالص از مقاومت کششی بهتری نسبت به فیلم‌های حاوی اسانس مرزنجوش آزاد و درون پوشانی شده برخوردار است. به این علت که ذرات نانوحامل نیز تاحدودی با پیوند هیدروژنی فیلم‌های بر پایه گلو تن تداخل می‌کنند و در نهایت سفتی و مقاومت کششی کاهش می‌یابد [۲۰]. نتایج در توافق با نتایج Almasi و همکاران (۲۰۲۰) بود که با افزودن اسانس مرزنجوش درون پوشانی شده در فیلم بر پایه پکتین، مدول یانگ و مقاومت کششی فیلم‌ها کاهش یافت [۲۱].

۳-۳- تاثیر فیلم فعال گلو تن حاوی اسانس بر کنترل رشد میکروبی در پنیر فرآپالایش و گوشت قرمز

نتایج مقایسه میانگین شمارش باکتری‌های *E. coli* و *L. monocytogenes* در نمونه‌های پنیر فرآپالایش و گوشت قرمز شاهد و پوشش داده شده با فیلم حاوی غلظت‌های مختلف اسانس مرزنجوش در روزهای مختلف نگهداری پس از تولید در جداول ۱ الی ۴ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌گردد در تمامی نمونه‌ها، رشد باکتری‌ها با گذشت زمان روند صعودی داشت و نمونه شاهد بیشترین تعداد باکتری‌ها را داشت به طوری که نمونه فیلم شاهد بر پایه گلو تن و فاقد اسانس هیچ اثر ممانعت کنندگی در برابر رشد باکتری‌های مورد آزمون نداشت و شمار اولیه باکتری‌ها \log CFU/g $5/30$ و $5/38 \log$ CFU/g در حد قابل قبول به ترتیب برای گوشت تازه و پنیر می‌باشد. به علاوه شمارش باکتری‌ها در نمونه پنیر و گوشت پوشش داده شده با فیلم فعال گلو تن حاوی درصد‌های مختلف اسانس مرزنجوش نسبت به نمونه شاهد به طور معنی داری کاهش یافت ($p < 0.05$). به

Table 1 The effect of active film containing Marjoram (*Origanum majorana L.*) essential oil on the control of microbial growth of *E. coli* in UF cheese

Sample/ Days	3	6	9
G	5/53± 0/01 ^{Ca}	5/71± 0/01 ^{Ba}	5/84± 0/01 ^{Aa}
G-MEO1	5/44± 0/01 ^{Cb}	5/54± 0/005 ^{Bb}	5/60± 0/005 ^{Ab}
G-MEO3	5/38± 0/01 ^{Cc}	5/46± 0/004 ^{Bc}	5/55± 0/004 ^{Ac}
G-MEO5	5/17± 0/09 ^{Cd}	5/30± 0/005 ^{Bd}	5/41± 0/005 ^{Ad}

Mean with different letters within a column indicate significant differences ($p < 0.05$).

Table 2 The effect of active film containing Marjoram (*Origanum majorana L.*) essential oil on the control of microbial growth of *L.monocytogenes* in UF cheese

Sample/ Days	3	6	9
G	5/65± 0/01 ^{Ca}	5/71± 0/01 ^{Ba}	5/84± 0/01 ^{Aa}
G-MEO1	5/53± 0/02 ^{Cb}	5/60± 0/03 ^{Bb}	5/69± 0/04 ^{Ab}
G-MEO3	5/39± 0/01 ^{Cc}	5/46± 0/004 ^{Bc}	5/55± 0/004 ^{Ac}
G-MEO5	5/17± 0/09 ^{Cd}	5/27± 0/005 ^{Bd}	5/41± 0/005 ^{Ad}

Mean with different letters within a column indicate significant differences (p<0.05).

Table 3 The effect of active film containing Marjoram (*Origanum majorana L.*) essential oil on the control of microbial growth of *E.coli* in red meat

Sample/ Days	3	6	9
G	7/53± 0/01 ^{Ca}	7/97± 0/01 ^{Ba}	8/22± 0/01 ^{Aa}
G-MEO1	7/38± 0/00 ^{Cb}	7/80± 0/03 ^{Bb}	8/98± 0/00 ^{Ab}
G-MEO3	7/10± 0/02 ^{Cc}	7/39± 0/04 ^{Bc}	7/74± 0/03 ^{Ac}
G-MEO5	6/40± 0/03 ^{Cd}	6/66± 0/00 ^{Bd}	6/91± 0/05 ^{Ad}

Mean with different letters within a column indicate significant differences (p<0.05).

Table 4 The effect of active film containing Marjoram (*Origanum majorana L.*) essential oil on the control of microbial growth of *L.monocytogenes* in red meat

Sample/ Days	3	6	9
G	7/53± 0/02 ^{Ca}	7/97± 0/03 ^{Ba}	8/13± 0/02 ^{Aa}
G-MEO1	7/00± 0/00 ^{Cb}	7/36± 0/01 ^{Bb}	7/79± 0/01 ^{Ab}
G-MEO3	6/90± 0/01 ^{Cc}	7/00± 0/03 ^{Bc}	7/30± 0/00 ^{Ac}
G-MEO5	6/52± 0/04 ^{Cd}	6/94± 0/02 ^{Bd}	7/21± 0/04 ^{Ad}

Mean with different letters within a column indicate significant differences (p<0.05).

۴- نتیجه گیری

در این تحقیق، فیلم فعال ضد میکروبی بر پایه گلو تن گندم حاوی اسانس مرزنجوش تولید شد. به منظور افزایش پایداری اسانس و امتزاج پذیری آن با فیلم گلو تن، از درون پوشانی با نانوحامل لیپیدی و پروتئینی استفاده شد. نتایج نشان داد که افزودن اسانس آزاد مرزنجوش باعث تضعیف خصوصیات نفوذپذیری و مکانیکی فیلم گلو تن می شود. اما زمانیکه اسانس به شکل درون پوشانی شده درآمده و به ترکیب فیلم گلو تن اضافه می شود، بدلیل امکان برقراری اتصالات بین مواد دیواره و رشته های گلو تن، خواص فیلم بهبود می یابد. بررسی کارایی فیلم های تولید شده بر روی مدل های غذایی شامل گوشت قرمز و پنیر فرآپالایش نشان داد که با وجود درون پوشانی و افزایش پایداری، اثر ضد میکروبی اسانس کاهش نیافت و کلیه فیلم های حاوی اسانس آزاد و درون پوشانی شده قادر بودند رشد میکروبی *E.coli* و *L.monocytogenes* را در نمونه های غذایی کنترل کنند. بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که فیلم گلو تن حاوی اسانس مرزنجوش درون پوشانی شده، دارای پتانسیل کافی جهت استفاده به عنوان بسته بندی فعال در مواد غذایی می باشد.

۵- منابع

- [1] Panseri, S., Martino, P. A., Cagnardi, P., Celano, G., Tedesco, D., Castrica, M., ... Chiesa, L. M. (2018). Feasibility of biodegradable based packaging used for red meat storage during shelf-life: A pilot study. *Food Chemistry*, 249, 22–29.
- [2] Mlalila, N., Hilonga, A., Swai, H., Devlieghere, F., & Ragaert, P. (2018). Antimicrobial packaging based on starch, poly (3-hydroxybutyrate) and poly (lactic-co-glycolide) materials and application challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 74, 1-11.
- [3] Ogawa, Y., Azuma, K., Izawa, H., Morimoto, M., Ochi, K., Osaki, T., ... Ifuku, S. (2017). Preparation and biocompatibility of a chitin nanofiber/gelatin composite film. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 1882–1889.
- [4] Sartoria, T., Feltrea, G., Jose do Amaral Sobral, O., Lopes da Cunha, R., & Cecilia Menegallia, F. (2018). Properties of films produced from blends of pectin and gluten. *Food Packaging and Shelf Life*, 18, 221-229.
- [5] Souza, A., Goto, G., Mainardi, J., Coelho, A. C.V., & Tadini, C.C. (2013). Cassava starch composite films incorporated with

- [14] Piñeros-Hernandez, D., Medina-Jaramillo, C., LópezCórdoba, A. & Goyanes, S. (2017). Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 63, 488-495.
- [15] Sukhtezari, SH., Almasi, H., Pirs, S., Zandi, M., Pirouzifard, M. 2017, Development of bacterial cellulose based slow-release active films by incorporation of *Scrophularia striata* Boiss. Extract, *Carbohydrate Polymer*, 1-31.
- [16] Al-Hashimi, A.G., Ammar, A.B., Lakshmanan, G., Cacciola, F., & Lakhssassi, N. (2020). Development of a Millet Starch Edible Film Containing Clove Essential Oil. *Foods*, 9(184), 1-14.
- [17] Wu, Z., Zhou, W., Pang, C., Deng, W., Xu, C., & Wang, X. (2019). Multifunctional chitosan-based coating with liposomes containing laurel essential oils and nanosilver for pork preservation. *Food Chemistry*, 295, 16–25.
- [18] Xue, F., Gu, Y., Wang, Y., Li, C., & Adhikari, B. (2019). Encapsulation of essential oil in emulsion based edible films prepared by soy protein isolate-gum acacia conjugates. *Food Hydrocolloids*, 96, 178-189.
- [19] Almasi, H., Pourfathi, B., & Pournali, M. (2021). Effect of lamination and complex formation with β -cyclodextrin on physicochemical, antioxidant and release properties of bacterial cellulose film containing rosemary essential oil. *Food Science and Technology*, 18(111), 251-265.
- [20] Otoni, C. G., Avena-Bustillos, R. J., Olsen, C. W., Bilbao-Sáinz, C., & McHugh, T. H. (2016). Mechanical and water barrier properties of isolated soy protein composite edible films as affected by carvacrol and cinnamaldehyde micro and nanoemulsions. *Food Hydrocolloids*, 57, 72-79.
- [21] Almasi, H., Azizi, S., & Amjadi, S. (2020). Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and Pickering emulsion stabilized marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil. *Food Hydrocolloids*, 99, 105338.
- [22] Wu, J., Liu, H., Ge, S., Wang, S., Qin, Z., Chen, L., ... & Zhang, Q. (2015). The preparation, characterization, antimicrobial stability and in vitro release evaluation of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil nanoliposomes. *Food Hydrocolloids*, 43, 427-435.
- [23] Chang, S., Mohammadi Nafchi, A., & Baghaie, H. (2021). Development of an active packaging based on polyethylene cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties. *LWT-Food Science and Technology*, 54(2), 346-352.
- [6] Favoreto Nascimento, K., de Oliveira Monteschio, J., & Silveira, R.(2020).Active alginate-based edible coating containing cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) and marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oils on quality of Wagyu hamburgers. *Research Society and Development*, 9(10), e2459108429 DOI:10.33448/rsd-v9i10.8429
- [7] Faridi Esfanjani, A., Jafari, S.M and Assadpour, E., (2016). Preparation of a multiple emulsion based on pectin-whey protein complex for encapsulation of saffron extract nanodroplets. *Food Chemistry*, 221, 1962-1969.
- [8] Kazemi, M.(2014). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory activity of *carum copticum*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants oil*, 17, pp. 1040–1045.
- [9] Almasi, H., Zandi, M., Beigzadeh, S., Haghju, S., & Mehrnow, N., (2016). Chitosan films incorporated with nettle (*Urtica Dioica* L.) extract-loaded nanoliposomes: II. Antioxidant activity and release properties, *Journal of Microencapsulation*, 33(5), 449-459.
- [10] Hosseinnia, M., Alizadeh Khaledabad, M., & Almasi, H. (2017). Optimization of *Ziziphora clinopodiodes* essential oil microencapsulation by whey protein isolate and pectin: A comparative study, *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 958–966.
- [11] Rafieian, F., Shahedi, M., Keramat, J., Simonsen, J., (2014). Thermomechanical and morphological properties of nanocomposite films from wheat gluten matrix and cellulose nanofibrils, *Journal of Food Science*, 79,100-109.
- [12] Gholizadeh-Ghaleh, S., & Almasi, H. (2018). Physical Characteristics, Release Properties, and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Whey Protein Isolate Films Incorporated with Thyme (*Thymus vulgaris* L) Extract-Loaded Nanoliposomes, *Food and Bioprocess Technology*, 138, 221-229.
- [13] Lotfi, M., Tajik, H., Moradi, M., Forough, M., Divsalar, E., Kuswandi, B.(2018).Nanostructured chitosan/monolaurin film: Preparation, characterization and antimicrobial activity against *Listeria monocytogenes* on ultrafiltered white cheese, *LWT - Food Science and Technology*, In Press Paper.

- [25] Partovi, R., Talebi, F., Babaei, A., & Sharifzadeh, A. (2020). Antimicrobial Activity of Polylactic Acid Film Incorporated With Marjoram and Clove Essential Oils on Microbial and Chemical Properties of Minced Beef During Refrigerated Storage. *International Journal Of Enteric Pathogen*, [online], 8(1), 25-31.
- containing linalool or thymol for mozzarella cheese. *Food Science & Nutrition*.
- [24] Saravani, M., Ehsani, A., Aliakbarlu, J., & Ghasempour, Z. (2019). Gouda cheese spoilage prevention: Biodegradable coating induced by *Bunium persicum* essential oil and lactoperoxidase system. *Food science & nutrition*, 7(3), 959-968.



Investigation of the physical properties of gluten-based active film containing free and encapsulated Marjoram (*Origanum majorana L.*) essential oil and evaluation of its performance in the control of microbial spoilage in UF cheese and red meat

Mohammadi Jarchelo, H. ¹, Hosseini Ghaboos, S. H. ^{2*}, Almasi, H. ³

¹ PhD Student, Department of Food Science and Engineering, Azadshar Branch, Islamic Azad University, Azadshar, Iran.

² Assistant Professor, Department of Food Science and Engineering, Azadshar Branch, Islamic Azad

³ Associate professor of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received 2022/ 06/ 30

Accepted 2022/ 08/ 10

Keywords:

Active film, Gluten, Marjoram essential oil, Physical properties, Antimicrobial activity, Ultra-refined cheese and meat.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.121

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.11.0

*Corresponding Author E-Mail: hosseinighaboos@yahoo.com

The aim of this research was to fabricate wheat gluten based active film containing free and encapsulated Marjoram essential oil (MEO). The MEO was encapsulated by lipid nanocarrier (nanoemulsion) and protein-based nanocarrier (Pickering emulsion by WPI) and used at the concentrations of 1, 3 and 5% in the formulation of gluten films. The free MEO was used at same concentrations. The physical properties of active films and also their performance in the control of microbial spoilage in the real food models including UF cheese and red meat during 9 days of storage were evaluated. The results indicated that the water vapor permeability (WVP) increased by increasing free MEO but the encapsulated MEO caused to significant decrease in the WVP values ($p < 0/05$). The tensile strength, Young's modulus and elongation to break of films decreased by adding free MEO but the encapsulated samples caused to improve the mechanical properties. Moreover, the results of the colony counting of *E.coli* and *L. monocytogenes* cultured on the surface of UF cheese and red meat wrapped with active films, indicated that for all samples, the microbial growth had increasing manner during storage and by increasing the concentration of MEO, the microbial count decreased significantly in comparison to the control sample ($p < 0.05$). The encapsulation had no adverse effect on the antimicrobial activity of MEO. Generally, the results of this research indicated that loading of encapsulated MEO causes to improve the physical properties of active gluten film and is able to control the microbial growth in Ultra-refined cheese and meat.