مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۲ شماره ۴/ سال ۱۴۰۱/ صفحات ۱۳ تا ۳۶
DOI: 10.22034/FR.2022.16985.1401

استفاده از پوشش خوراکی زیست فعال صمغ بامیه-اسانس نعناع فلفلی جهت افزایش عمر نگهداری گوشت گاومیش

محمد نوشاد*[1]، بهروز علیزاده بهبهانی[1]، حسین جوینده[1]، مصطفی رحمتی جنیدآباد[2]، میترا قدسی شیخ‌جان[3]، رضا قرآنی[4] و محسن ابراهیمی همتی کیخا[4]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۷

[1] به ترتیب دانشیار، استادیار و استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
[2] استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
[3] دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
[4] فارغ التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
* مسئول مکاتبه: Email: Noshad@asnrukh.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: رشد میکروبی و اکسیداسیون لیپیدی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در کاهش عمر نگهداری گوشت و محصولات گوشتی می‌باشند. پوشش خوراکی زیست فعال بر پایه ترکیبات طبیعی قادر به افزایش عمر نگهداری محصولات گوشتی می‌باشد. **هدف**: این مطالعه با هدف استخراج صمغ بامیه و اسانس نعناع فلفلی و تهیه پوشش خوراکی زیست فعال از آن‌ها جهت افزایش عمر ماندگاری گوشت گاومیش انجام گردید. **روش کار**: در این مطالعه، ابتدا ترکیبات شیمیایی اسانس نعناع فلفلی شناسایی گردید و بعد از بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی آن، در غلظت‌های مختلف (۰-۲ درصد) به صمغ بامیه اضافه گردید. پوشش خوراکی صمغ بامیه-اسانس نعناع فلفلی جهت پوشش‌دهی گوشت گاومیش استفاده شد و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی، رنگی و حسی گوشت گاومیش طی دوره نگهداری تحت شرایط سرد بررسی گردید. **نتایج**: در مقایسه با نمونه کنترل، پوشش خوراکی به طور مؤثری از افزایش pH و عدد پراکسید و کاهش رطوبت و سفتی نمونه‌ها طی دوره نگهداری جلوگیری کرد ($p<0/05$). بررسی بار میکروبی نمونه‌های گوشت نشان داد که اگرچه تعداد کل میکروارگانیسم‌های زنده، باکتری‌های سرمادوست، *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و قارچ طی دوره نگهداری افزایش یافت، اما سرعت رشد میکروبی در نمونه‌های پوشش یافته با صمغ بامیه حاوی غلظت‌های بالای اسانس بمراتب کمتر از نمونه کنترل بود. ویژگی‌های رنگی و حسی نمونه‌های گوشت نیز به طور مؤثری توسط پوشش خوراکی زیست فعال حفظ گردید. **نتیجه‌گیری نهایی**: پوشش خوراکی زیست فعال صمغ بامیه-اسانس نعناع فلفلی قابلیت استفاده به عنوان نگهدارنده طبیعی جهت افزایش عمرماندگاری گوشت گاومیش را دارا می‌باشد.

واژگان کلیدی: اسانس نعناع فلفلی، آنتی‌اکسیدان، پوشش خوراکی، ترکیب شیمیایی، صمغ بامیه، ضدمیکروب، عمر نگهداری

مقدمه

آلودگی گوشت و محصولات گوشتی توسط تعدادی از باکتری‌های پاتوژن از جمله *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* منجر به بیماری‌های جدی و حتی مرگ می‌شود. از سوی دیگر، اکسیداسیون لیپیدها باعث کاهش ویژگی‌های کیفی و ارزش تغذیه‌ای محصولات گوشتی شده و به دنبال آن منجر به ضررهای اقتصادی همراه با خطرات سلامتی می‌شود (کیارسی و همکاران ۲۰۲۰). پوشش‌های خوراکی به عنوان بسته‌بندی‌های جدید مواد غذایی با جلوگیری از تغییرات بیولوژیکی، شیمیایی و فیزیکی در بهبود کیفیت ماده غذایی و افزایش عمر ماندگاری آن مؤثر می‌باشند. در سال‌های اخیر استفاده از پوشش‌های پلی‌ساکاریدی خوراکی و تجزیه‌پذیر افزایش یافته است (برزگر و همکاران ۲۰۲۰).

تمایل به استفاده از محصولات طبیعی و ایمن برای سلامتی در بین مصرف‌کنندگان افزایش یافته است، بنابراین صنعت غذا به دنبال کاهش افزودنی‌های شیمیایی و در مقابل افزایش استفاده از ترکیبات طبیعی می‌باشد. افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی به پوشش‌های خوراکی منجر به بهبود کیفیت و عملکرد آن‌ها می‌شود (اورینی و همکاران ۲۰۱٤). صمغ‌ها پلی-ساکاریدهای گیاهی، میکروبی یا مشتقاتی از آن‌ها می-باشند که در آب داغ و سرد پخش می‌شوند و محلول‌ها یا مخلوط‌هایی با گرانروی بالا تولید می‌کنند. صمغ‌ها هیدروکلوئیدهایی می‌باشند که با جذب آب در افزایش ویسکوزیته و پایداری سیستم‌های غذایی نقش دارند. همچنین این هیدروکلوئیدها در پایداری کف‌ها، آزاد کردن عطر و طعم، بهبود احساس دهانی و غیره مؤثر می‌باشند (سکونی رواسان و آصفی ۱۳۹۷). بامیه (نام علمی *Ablemoschus esculentus*) متعلق به خانواده پنیرکیان و گیاهی یک ساله می‌باشد. بامیه سرشار از مواد مغذی با ارزش مانند انواع ویتامین‌ها و عناصری مانند فسفر، منگنز، پتاسیم و کلسیم و حاوی فیتواسترول، تانن و کربوهیدرات‌ها می‌باشد. این گیاه حاوی مقادیر زیادی صمغ چسبنده و پکتین بوده و هنگامی که بریده می‌شود صمغ چسبنده با خاصیت قوام دهندگی خارج می‌شود (اشرفی یورقانلو و غیبی ۱۳۹۸).

پوشش‌های خوراکی قادر به حمل ترکیبات فعال مانند ترکیبات ضدمیکروبی، رنگ‌ها، مواد ضد قهوه‌ای شدن و همچنین ترکیبات مغذی و ادویه‌ها می‌باشند. امروزه نگهدارنده‌های بیولوژیکی طبیعی به دلیل ایمن بودن مورد توجه قرار گرفته‌اند. بسیاری از نگهدارنده‌های بیولوژیکی طبیعی از گیاهان به دست می‌آیند و اسانس‌های حاصل از این گیاهان به عنوان نگهدارنده‌های بسیار مؤثر شناخته شده‌اند. پوشش‌های خوراکی همراه با اسانس-های گیاهی با افزایش توزیع اسانس در محصول غذایی و جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها منجر به استفاده بیشتر از اسانس‌ها در غذاها می‌شوند (جو و همکاران ۲۰۱۹).

گیاه نعناع فلفلی (نام علمی *Mentha piperita*) با نام رایج Peppermint از پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی که از زمان‌های گذشته به دلیل ایجاد عطر و طعم، افزایش اشتها، خاصیت ضد اسپاسم، خاصیت ضد نفخ و جلوگیری از استفراغ مورد استفاده قرار می‌گرفته است (کاظم الوندی و همکاران ۱۳۸۹). گیاه نعناع فلفلی گونه‌ای هیبرید (دو رگه) بوده که از پیوند میان گونه‌های بین دو گونه *Mentha spicata* و *Mentha aquatica* به دست می‌آید. خانواده نعناع از ۲۰۰ جنس و بیش از ٤۰۰ گونه تشکیل شده و در مناطق مختلف جهان یافت می‌شود (طباطبایی یزدی و همکاران ۱۳۹۷). اسانس نعناع فلفلی حاوی ماده منتول بوده که در ایجاد احساس خنکی در دهان نقش دارد. بنابراین از اسانس این گیاه به عنوان طعم‌دهنده در تولید آدامس‌ها، شکلات نعناعی، داروها و خمیردندان‌ها استفاده می‌شود (کاظم الوندی و همکاران ۱۳۸۹). در مطالعات مختلف خاصیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره گیاه نعناع فلفلی بررسی شده است. قره نقده و همکاران (۱۳۹٦) خاصیت ضدمیکروبی عصاره متانولی، اسانس و نانولیپوزوم حاوی اسانس نعناع فلفلی

را بر باکتری‌های مختلف مانند *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* و *Bacillus cereus* و نمونه‌های قارچی *Candida albicans* بررسی و بیان کردند که اسانس گیاه در حالت آزاد و درون‌پوشانی شده فعالیت ضدمیکروبی قابل توجه ای در برابر این باکتری‌ها دارد در حالی که اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر می‌باشد. همچنین فدائی و همکاران (۱۳۸۸) حداقل غلظت بازدارندگی اسانس نعناع فلفلی و بنزوات سدیم (نگهدارنده شیمیایی مورد استفاده در صنایع غذایی) علیه ۳ باکتری *Bacillus subtilis*، *Escherichia coli*، *Salmonella typhimurium* بررسی کردند. نتایج این پژوهش نشان‌دهنده خاصیت ضدمیکروبی بالاتر اسانس نعناع فلفلی نسبت به بنزوات سدیم بود. در مطالعه دیگری خاصیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی ۳ گونه نعناع (*Mentha piperita*، *Mentha longifolia* و *Mentha aquatica*) بررسی و گزارش گردید تمامی اسانس‌ها دارای خاصیت ضدمیکروبی بالایی در برابر باکتری *Escherichia coli* بوده و در این بین بیشترین اثر در *Mentha piperita* مشاهده شد. همچنین بیان شده است که تمامی اسانس‌های مورد بررسی قادر به مهار رادیکال DPPHو OH می‌باشند (میمیکا دوکیک و همکاران ۲۰۰۳). طی پژوهشی که در سال ۲۰۲۱، انجام شده است مشخص گردید که استفاده از پوشش خوراکی بارهنگ کبیر در ترکیب با اسانس لیموترش به خوبی توانست از رشد باکتری‌های بیماری‌زا جلوگیری به عمل آورده و عمر ماندگاری گوشت گاومیش را نسبت به نمونه کنترل بیشتر نماید (نوشاد و همکاران ۲۰۲۱). پژوهش مشابهی نیز در سال ۱٤۰۰، در مورد استفاده از پوشش خوراکی موسیلاژ سپستان در ترکیب با اسانس پوست پرتقال انجام گردید. این پژوهشگران شمارش بار میکروبی کل، باکتری‌های سرمادوست و شمارش کلی قارچ‌ها را مورد بررسی قرار داده و گزارش کردند که با افزایش غلظت اسانس پوست پرتقال میزان تغییرات بار میکروبی نمونه–های گوشت گاومیش پوشش دهی شده نسبت به نمونه کنترل به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (نوشاد و همکاران ۱٤۰۰). نتایج مشابهی نیز در پژوهش‌های دیگر در مورد استفاده از پوشش‌های خوراکی همراه با اسانس‌های مختلف در انواع مختلف گوشت نیز گزارش شده است (سیاری و همکاران ۲۰۲۱؛ پورشایگان و همکاران ۱۳۹۸). از آنجایی که مطالعه‌ای در زمینه اثر پوشش خوراکی صمغ بامیه حاوی اسانس نعناع فلفلی بر کیفیت و ماندگاری گوشت در طول دوره نگهداری در یخچال یافت نشد، در این پژوهش اثر بازدارندگی این نوع پوشش خوراکی بر اکسیداسیون چربی و باکتری‌های عامل فساد گوشت بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

این پژوهش آزمایشگاهی در سال ۱۳۹۹ در آزمایشگاه–های میکروبیولوژی مواد غذایی و شیمی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. اسانس نعناع فلفلی از دزفول و بامیه از اهواز تهیه شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جنتامایسین، تتراسایکلین و کلرامفنیکل و دیسک‌های بلانک (پادتن طب)، محیط‌های کشت مولر هینتون آگار و مولر هینتون براث (مرک آلمان) از جمله مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش بودند. سایر مواد مورد استفاده نیز دارای درجه آزمایشگاهی بودند.

باکتری‌های *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus*، *Bacillus cereus* و *Bacillus subtilis* از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه شد.

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس نعناع فلفلی

از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس نعناع فلفلی استفاده شد (اوزیمر و همکاران ۲۰۱۸).

اندازه‌گیری فنول کل اسانس نعناع فلفلی

از روش فولین- سیوکالچو جهت اندازه‌گیری فنـول کل اسانس استفاده شد. ۵۰ میکرولیتر از اسانس به ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالچو (۱۰ درصد) و ۲ میلی-لیتر سدیم کربنات (۷/۵ درصد حجمی/وزنی) اضافه شد. پس از گذشت ۱۵ دقیقه در دمای ۴۵ °C جذب در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. میزان فنول کل بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید موجود در هر گرم اسانس (mg GAE/g) گزارش شد (نوشاد و همکاران a۱۳۹۹).

اندازه‌گیری فلاوونوئید اسانس نعناع فلفلی

در این روش ۰/۵ میلی‌لیتر از اسانس گیاه با ۰/۱ میلی‌لیتر پتاسیم استات ۱ مولار، ۰/۱ ملی لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد و ۴/۳ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۳ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب نمونه در ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. مقدار فلاوونوئید کل برحسب میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم اسانس (mg QE/g) گزارش گردید (رحمتی جنیدآباد و علیزاده بهبهانی ۱۴۰۰).

اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS اسانس نعناع فلفلی

رادیکال کاتیون ABTS ($ABTS^+$) با مخلوط کردن مقادیر یکسان محلول‌های ABTS ۰/۷ میلی‌مولار و پرسولفات پتاسیم ۲/۴۵ میلی‌مولار و نگهداری آن در مکانی تاریک در دمای اتاق به مدت ۱۶ ساعت تهیه شد. پس از آن محلول $ABTS^+$ تا رسیدن به جذب ۰/۷ در ۷۳۴ نانومتر توسط متانول رقیق شد. سپس ۰/۱۰ میلی‌لیتر اسانس با ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول رقیق شده $ABTS^+$ مخلوط و پس از گذشت ۶ دقیقه در دمای اتاق جذب نمونه در ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (حجتی و علیزاده بهبهانی ۱۴۰۰):

فعالیت (٪) = (۱- جذب نمونه / جذب کنترل) ×۱۰۰

اندازه‌گیری خاصیت ضدمیکروبی اسانس نعناع فلفلی

خاصیت ضدمیکروبی اسانس با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی بررسی گردید.

دیسک دیفیوژن

پس از افزودن و بسته شدن محیط کشت مولر هینتون آگار درون پلیت‌های استریل، ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از سوسپانسیون‌های میکروبی (معادل نیم مک‌فارلند; طول موج ۶۲۵ نانومتر) به آن اضافه شد و توسط میله‌ی ال شکل به طور دقیق پخش گردید. دیسک‌های بلانک (قطر ۶ میلی‌متر) آغشته شده به اسانس روی محیط به کمک پنسل استریل تثبیت شدند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ °C نگهداری و سپس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (ابراهیمی همتی کیخا و همکاران ۱۳۹۹).

چاهک آگار

در این روش، پس از ایجاد چاهک‌هایی با قطر ۶ میلی‌متر در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی به روش سطحی روی آن کشت داده شد. سپس اسانس نعناع فلفلی در چاهک ریخته شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C نگهداری شدند. پس از آن قطر هاله‌های عدم رشد بر حسب میلی-متر اندازه‌گیری شد (شهیدی و همکاران ۱۳۹۷).

حداقل غلظت مهارکنندگی

از پلیت ۹۶ خانه‌ای و معرف ۲ و ۳ و ۵ تری فنیل تترازولیوم (سیگما-آلدریچ، آمریکا) جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس نعناع فلفلی استفاده شد. پس از تهیه غلظت‌های مختلف اسانس (۰/۷۸، ۱/۵۶، ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی-لیتر)، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از آن‌ها درون چاهک‌ها ریخته شد. یک خانه به عنوان کنترل منفی (اسانس و محیط کشت فاقد سوسپانسیون میکروبی) و یک خانه به عنوان کنترل مثبت (محیط کشت حاوی سوسپانسیون میکروبی) در نظر گرفته شد. پس از آن ۱۰ میکرولیتر از

سوسپانسیون میکروبی به آن اضافه و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ °C نگهداری شد. پس از پایان زمان گرمخانه‌گذاری ۲۰ میکرولیتر از معرف تترازولیوم به هر یک از چاهک‌ها اضافه و مجدداً گرمخانه‌گذاری شد. اولین غلظتی که در آن تغییر رنگ (قرمز تیره یا ارغوانی) مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی گزارش گردید (برزگر و همکاران ۱۳۹۷).

حداقل غلظت کشندگی

به منظور تعیین حداقل غلظت کشندگی، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌های فاقد تغییر رنگ در روش تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی بر محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت سطحی کشت داده شد و به مدت ۲٤ ساعت در ۳۷ °C گرمخانه‌گذاری شد. غلظتی که در آن هیچگونه رشدی از باکتری‌های مورد بررسی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش گردید (شهیدی و همکاران ۱۳۹۸).

بررسی برهمکنش اسانس نعناع فلفلی در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه

از روش برزگر و همکاران (۱۳۹۸) جهت تعیین اثر ترکیبی اسانس با هر یک از آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، جنتامایسین و تتراسایکلین استفاده شد. برای تعیین اثر هم‌افزایی و کاهندگی اسانس بر آنتی‌بیوتیک از غلظت تحت مهاری استفاده می‌شود که معمولاً برابر ۱/۲ و ۱/٤ حداقل غلظت مهارکنندگی می‌باشد. در این مطالعه غلظت تحت مهاری (۱/۲ حداقل غلظت مهارکنندگی) اسانس به پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار اضافه گردید. سوسپانسیون باکتریایی استاندارد بر سطح محیط‌های حاوی غلظت تحت مهاری به صورت چمنی با استفاده از سوآپ کشت داده شد و دیسک‌های آنتی-بیوتیکی روی سطح محیط تثبیت گردید. پس از گذشت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ °C قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه

طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه در محدوده طول‌موج ٤۰۰–٤۰۰۰ cm^{-1} توسط دستگاه FTIR ثبت گردید (سوسنی غریبوند و همکاران ۱۳۹۹).

استخراج صمغ بامیه

پس از دم‌گیری و حذف دانه بامیه، گیاه در خردکن پودر گردید. ۲۰۰ گرم از پودر تهیه شده در ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ٤۸ ساعت در یخچال نگهداری شد. پس از عبور از صافی صمغ به دست آمده با استفاده از خشک‌کن انجمادی خشک گردید (سکونی رواسان و آصفی ۱۳۹۷).

تهیه پوشش خوراکی و پوشش دهی گوشت گاومیش

جهت تهیه پوشش ابتدا ۲ گرم صمغ به همراه ۰/۱ گرم توئین ۸۰ در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۲ ساعت حرارت داده شد. سپس درصدهای مختلف اسانس (۰– ۰/۵– ۱– ۱/۵ و ۲) به محلول هیدروکلوئیدی جهت تهیه پوشش اضافه گردید. در مرحله بعد قطعات گوشت گاومیش به مدت ۱ دقیقه در پوشش تهیه شده غوطه‌ور و در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه خشک گردید. نمونه‌های تهیه شده جهت انجام آزمون‌های مختلف به مدت ۱۰ روز در یخچال نگهداری شدند. از گوشت بدون پوشش به عنوان کنترل استفاده شد (برزگر و همکاران ۲۰۲۰).

آنالیز فیزیکوشیمیایی گوشت پوشش داده شده

اندازه‌گیری pH و محتوای رطوبت

pH از طریق هموژناسیون نمونه در آب مقطر (۱:۱۰) با استفاده از pH متر (مدل Dragon Lab, MX-S) (کابان ۲۰۰۹) و محتوای رطوبت با خشک کردن نمونه در آون و در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد (AOAC ۱۹۹۵).

اندازه‌گیری عدد پراکسید

بدین منظور، بخش لیپیدی گوشت با استفاده از محلول اسید استیک- کلروفرم استخراج گردید. سپس با یدید پتاسیم اشباع، محلول ۱ درصد نشاسته (جهت آزاد شدن ید) و آب مقطر رقیق شد. ید آزاد شده با تیوسولفات ۰/۰۱

نرمال تیتر و عدد پراکسید به صورت میلی اکی والان گرم اکسیژن در کیلوگرم لیپید ($meq\ O_2/kg$) گزارش شد (نوشاد و همکاران b۱۳۹۹).

اندازه‌گیری بافت

سفتی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه بافت سنج (مدل TA, XT2i, UK) اندازه‌گیری شد. قطعات گوشت (۲× ۲× ۲ سانتی‌متر) توسط پروب با قطر ۳۶ میلی‌متر، با سرعت ۵ میلی‌متر بر ثانیه تا ۵۰ درصد ارتفاع اولیه فشرده گردید و بیشترین نیرو (N) به عنوان سفتی بافت نمونه‌ها در نظر گرفته شد (نوشاد و همکاران ۲۰۲۱).

اندازه‌گیری رنگ

رنگ سطح نمونه‌ها با استفاده از پارامترهای *a، *b و *L با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج (مدل Konica Minolta, CR- 400 Japan) اندازه‌گیری شد (سوکو و همکاران ۲۰۱۸).

آنالیز میکروبی

۵ گرم گوشت به همراه ۴۵ گرم آب پپتونه ۰/۱ درصد به مدت ۱ دقیقه با ۲۰۰ دور در دقیقه مخلوط گردید. با استفاده از آب پپتونه رقت‌های متوالی (تا $۱۰^{-۹}$) از آن تهیه و به پلیت‌های حاوی محیط کشت منتقل شد. آزمون‌های میکروبی شامل شمارش کل باکتری‌ها، باکتری‌های سرمادوست، *E. coli*، *S. aureus* و کپک و مخمر بود (کیارسی و همکاران ۲۰۲۰).

آنالیز حسی

جهت ارزیابی خواص حسی گوشت پوشش داده شده، پس از کدگذاری نمونه‌های گوشت ظاهر کلی، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی نمونه‌ها توسط ۲۰ پنلسیت ارزیابی شد. مقیاس امتیازدهی اعداد ۱ تا ۱۰ بود که عدد ۱ نشان‌دهنده کمترین پذیرش و عدد ۱۰ بالاترین پذیرش بود.

آنالیز آماری

آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام و نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون واریانس یک‌طرفه ANOVA آنالیز شدند. جهت تعیین اختلاف بین میانگین نتایج از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) استفاده شد.

نتایج و بحث

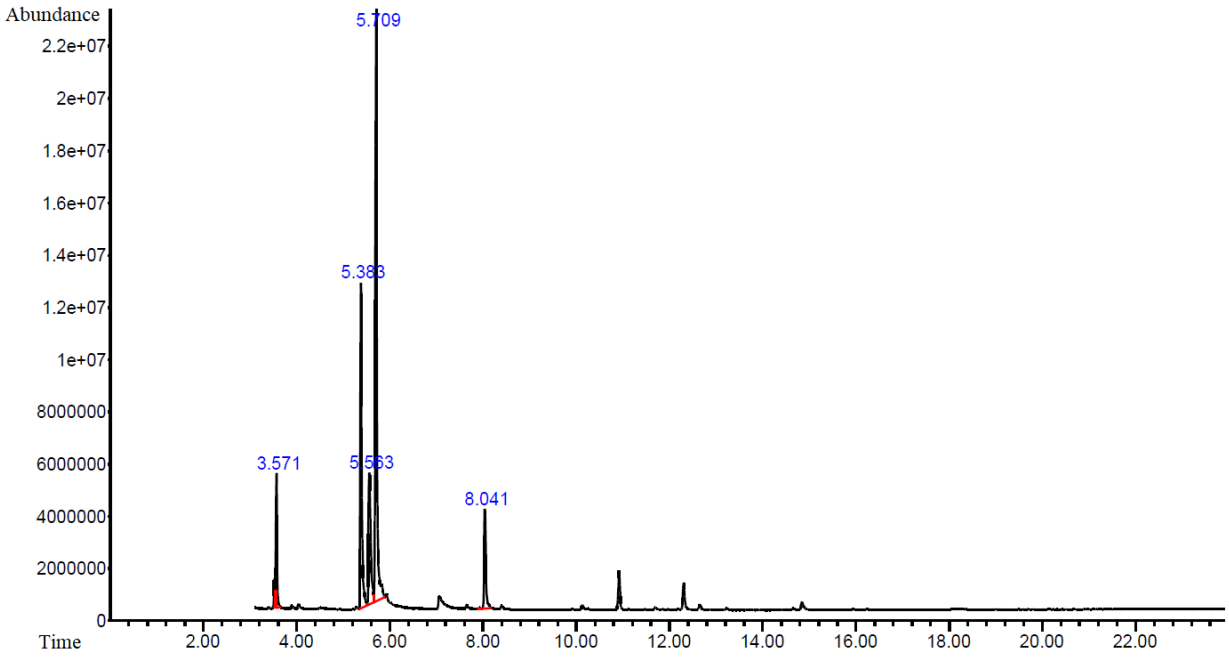
ترکیبات شیمیایی اسانس

ترکیبات شیمیایی و کروماتوگرام اسانس به ترتیب در جدول ۱ و شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، منتول با ۴۷/۱۷ درصد، منتون ۲۳/۲۹ درصد، بنزوفوران با ۱۴/۲۱ درصد، منتیل استات با ۷/۹۹ درصد و اوکالیپتول با ۳/۵۷ درصد مهم‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس نعناع فلفلی می‌باشند. کاظم الوندی و همکاران (۱۳۹۸) در بررسی ترکیب شیمیایی اسانس گیاه گلخانه‌ای نعناع فلفلی در کرج بیشترین ترکیب این اسانس را منتول (۳۹/۸۱ درصد) و پس از آن منتون (۱۹/۵۵ درصد) معرفی کردند. همچنین طی آنالیز اسانس گیاه نعناع فلفلی جمع‌آوری شده از منطقه آذربایجان غربی منتول (۴۰/۴۶ درصد)، منتون (۱۶/۳۳ درصد) به ترتیب از بیشترین ترکیبات اسانس بودند (قره نقده و همکاران ۱۳۹۶). علاوه بر این در استخراج اسانس گیاه جمع‌آوری شده در همدان به روش تقطیر با آب ۲۷ ترکیب شناسایی شد که منتول با ۴۷/۹ درصد و منتون با ۱۸/۲۸ درصد بیشترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس معرفی شدند (ایزدی و همکاران ۱۳۸۸). تفاوت‌های موجود در ترکیبات شیمیایی اسانس جمع‌آوری شده از مناطق مختلف می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع گونه، مدت زمان نگهداری و روش اسانس گیری، منطقه رویش گیاه و زمان جمع‌آوری آن باشد (قره نقده و همکاران ۱۳۹۶؛ حیدری و همکاران ۱۳۹۸).

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی اسانس نعناع فلفلی

Table 1- Chemical compounds of *Mentha piperita* essential oil

No.	Compounds	Retention time (min)	%
1	Eucalyptol	3.57	7.33
2	Menthone	5.38	23.29
3	Benzofuran	5.56	14.21
4	Menthol	5.70	47.17
5	Menthyl acetate	8.04	7.99
Total			99.99



شکل ۱- کروماتوگرام اسانس نعناع فلفلی

Figure 1- Chromatogram of *Mentha piperita* essential oil

فنول و فلاوونوئید کل اسانس

در اندازه‌گیری میزان فنول کل به روش فولین–سیوکالچو که یک روش ساده و راحت می‌باشد مولیبیدین موجود در کمپلکس phosphotungstic-phosphomolybdic به عنوان معرف در حضور آنتی‌اکسیدان احیا می‌شود (حجتی و علیزاده بهبهانی۱٤۰۰). در این مطالعه میزان فنول کل ۷۲/۲۰±۰/٥٦ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم اسانس و میزان فلاوونوئید کل ٤۷/٦۲±۰/٦۲ میلی‌گرم کوئرستین در گرم اسانس به دست آمد. غریب و داسیلوا (۲۰۱۳) میزان کل فنول اسانس نعناع فلفلی را ۱٦۳/۰۰٤±۰/۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میکرولیتر گالیک اسید گزارش کردند. در پژوهش دیگری میزان فنول کل برای هر ٥ گرم اسانس نعناع فلفلی ۱۲/٦۳±۰/۸۷۸ میکروگرم گالیک اسید گزارش شده است (زایدی و داهیا ۲۰۱٥). اگرچه فرناد و همکاران (۲۰۱٤) میزان فلاوونوئید کل عصاره‌های الکلی گیاه نعناع فلفلی را بین ۱/۳۱–۳/۳۳ گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم عصاره گزارش داده‌اند با این حال نتایجی در رابطه با میزان فلاوونوئید کل اسانس این گیاه یافت نشد.

فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS

میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS اسانس نعناع فلفلی ٦۲/٦۰±۰/٥۰ تعیین شد. در مطالعات مختلف خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نعناع فلفلی تائید شده است (دویچ و همکاران ۲۰۱۱؛ راموس و همکاران ۲۰۱۷؛ بنزاید و همکاران ۲۰۱۹). یانگ و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاهانی مانند اسطوخودوس، نعناع فلفلی، رزماری، لیمو، کندر، گریپ‌فروت میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS اسانس نعناع فلفلی را ۸۰/٦۰±۰/٦۰ گزارش و بیان کردند که پس از کندر بیشترین میزان فعالیت آنتی–اکسیدانی را نعناع فلفلی دارا می‌باشد. از آنجایی که ترکیبات فنولی در بروز خاصیت آنتی‌اکسیدانی مؤثر بوده و نقش مهمی در خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل گیاهان معطر دارند، بنابراین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای اسانس نعناع فلفلی را می‌توان به مقادیر بالای ترکیبات فنولی آن نسبت داد (زایدی و داهیا ۲۰۱٥). غریب و داسیلوا (۲۰۱۳) نیز در شناسایی ترکیبات شیمیایی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی ٤ گونه از خانواده *Lamiaceae* فعالیت

آنتی‌اکسیدانی بالای گونه نعناع فلفلی را به مقادیر بالای ترکیبات فنولی موجود در آن نسبت دادند.

خاصیت ضدمیکروبی

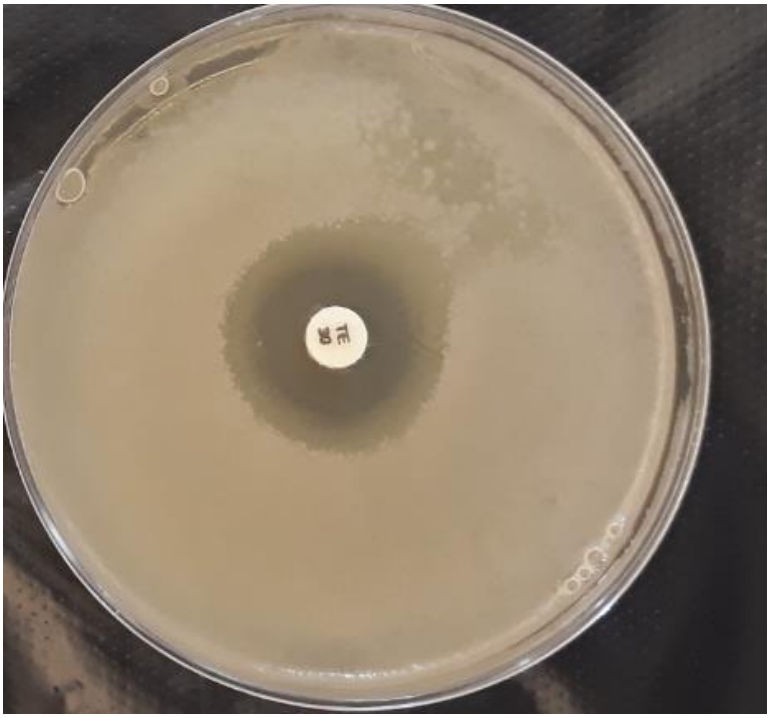
نتایج حاصل از قطر هاله عدم رشد اسانس و آنتی-بیوتیک‌های کلرامفتیکل، جنتامایسین و تتراسایکلین بر باکتری‌های مورد در جدول ۲ و شکل ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد اسانس نعناع فلفلی و آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیل (Chl)، جنتامایسین (Gen) و تتراسایکلین (Tet) بر بعضی میکروارگانیسم‌های پاتوژن بر پایه روش دیسک دیفیوژن آگار (DDA)

Table 1- The mean inhibition zone diameter (mm) *Mentha piperita* essential oil (MPEO) and antibiotics chloramphenicol (Chl), gentamicin (Gen), and tetracycline (Tet) on some pathogenic microorganisms, based on disc diffusion agar (DDA) method

Antimicrobial substance Microorganism	DDA			
	MPEO	In (Chl + MPEO)	In (Gen + MPEO)	In (Tet + MPEO)
Pseudomonas aeruginosa	11.30 ±0.30^{Cd}	18.00 ±0.30^{Cc}	23.80 ±0.20^{Ca}	20.30 ±0.51^{Bb}
Escherichia coli	10.10 ±0.10^{Dd}	22.20 ±0.20^{Bb}	24.10 ±0.10^{Ca}	12.10 ±0.17^{Cc}
Staphylococcus aureus	13.10 ±0.10^{Ac}	16.30 ±0.26^{Db}	20.10 ±0.10^{Da}	20.10 ±0.10^{Ba}
Bacillus cereus	11.10 ±0.13^{Cd}	22.20 ±0.17^{Bb}	32.20 ±0.20^{Aa}	20.00 ±0.25^{Bc}
Bacillus subtilis	12.30 ±0.30^{Bc}	28.00 ±0.40^{Ab}	27.20 ±0.14^{Bb}	32.00 ±0.21^{Aa}

در رابطه با قطر هاله‌های ایجاد شده توسط اسانس مشاهده می‌شود که بین باکتری‌های *S. aureus*، *B. subtilis* و *E. coli* با یکدیگر و با باکتری‌های *P. aeruginosa* و *B. cereus* اختلاف معنی‌داری وجود دارد درحالی که در باکتری‌های *P. aeruginosa* و *B. cereus* اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. در رابطه با آنتی-بیوتیک کلرامفتیکل اختلاف معنی‌داری بین باکتری‌های *B. subtilis*، *S. aureus* و *P. aeruginosa* با یکدیگر و با *B. cereus* و *E. coli* اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود در حالی که بین *B. cereus* و *E. coli* اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. نتایج آنتی‌بیوتیک جنتامایسین نشان می‌دهد که بین باکتری‌های *B. cereus*، *B. subtilis* و *S. aureus* با یکدیگر و با باکتری‌های *E. coli* و *P. aeruginosa* اختلاف معنی-داری در قطر هاله‌های ایجاد شده وجود دارد در صورتی که بین باکتری‌های *E. coli* و *P. aeruginosa* اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. در رابطه با آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین بین باکتری‌های *B. subtilis* و *E. coli* با یکدیگر و با *B. cereus*، *S. aureus* و *P. aeruginosa* اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود در حالی که بین ۳ باکتری *B. cereus*، *S. aureus* و *P. aeruginosa* اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. همچنین مشاهده می‌شود که در باکتری‌های *P. aeruginosa*، *E. coli* و *B. cereus* اختلاف معنی‌داری بین قطر هاله‌های ایجاد شده توسط اسانس، کلرامفنیکل، جنتامایسین و تتراسایکلین وجود دارد. در باکتری *S. aureus* بین قطر هاله‌های ایجاد شده توسط اسانس و آنتی‌بیوتیک کلرامفتیکل با یکدیگر و با آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و تتراسایکلین اختلاف معنی‌داری وجود دارد در صورتی که بین آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و تتراسایکلین اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. همچنین در باکتری *B. subtilis* بین قطر هاله‌های ایجاد شده توسط اسانس و آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین با یکدیگر و با آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفتیکل و جنتامایسین اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌شود در حالی که بین قطر هاله‌های ایجاد شده توسط آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفتیکل و جنتامایسین اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.



شکل ۲- برهمکنش اسانس نعناع فلفلی بهمراه آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین بر *باسیلوس سوبتیلیس*

Figure 2- The interaction of *Mentha piperita* essential oil (MPEO), with: Tetracycline antibiotics on *Bacillus subtilis*

به طور کلی بیشترین قطر هاله ایجاد شده توسط اسانس در باکتری *S. aureus* (حساس‌ترین باکتری) و کمترین قطر هاله در باکتری *E. coli* (مقاوم‌ترین باکتری) مشاهده شد. آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفتیکل و جنتامایسین به ترتیب با قطر ۱۶/۳۰ و ۲۰/۱۰ میلی‌متر کمترین اثر را بر باکتری نشان دادند. در حالی که آنتی‌بیوتیک کلرامفتیکل با ایجاد هاله‌ای با قطر ۲۸ میلی‌متر بیشترین اثر را بر باکتری *B. subtilis* و آنتی‌بیوتیک جنتامایسین با ایجاد هاله با قطر ۳۲/۲۰ میلی‌متر بیشترین اثر بازدارندگی را بر باکتری *B. cereus* نشان داد. همچنین بیشترین و کمترین قطر هاله ایجاد شده توسط آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین به ترتیب در باکتری‌های *B. subtilis* (۳۲ میلی‌متر) و *E. coli* (۱۲/۱۰ میلی‌متر) مشاهده شد.

نتایج قطر هاله‌های ایجاد شده در روش چاهک (جدول ۳) نشان می‌دهد که کمترین قطر هاله مربوط به باکتری *E. coli* و بیشترین میزان مربوط به *B. subtilis* می‌باشد و بین قطر هاله‌ها در باکتری‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود دارد.

حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی اسانس بر روی باکتری‌های مورد مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود حداقل غلظت مهارکنندگی برای باکتری‌های *E. coli*، *B. cereus* و *B. subtilis* برابر با ۱/۵۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، برای باکتری *S. aureus* برابر با ۱۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای باکتری *P. aeruginosa* برابر با ۳/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی-لیتر و حداقل غلظت کشندگی برای تمامی باکتری‌ها در غلظت‌های بیشتر از ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

جدول ۳- نتایج انتشار چاهک آگار، حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت باکتری کشی اسانس نعناع فلفلی بر بعضی میکروارگانیسم‌های پاتوژن

Table 3- The well diffusion agar (WDA), minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the *Mentha piperita* essential oil (MPEO), on some pathogenic microorganisms

Microorganism	WDA (mm)	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
Pseudomonas aeruginosa	10.10 ±0.26^{CD}	3.125	>400
Escherichia coli	9.10 ±0.36^{D}	1.56	>400
Staphylococcus aureus	13.20 ±0.20^{A}	12.5	>400
Bacillus cereus	10.30 ±0.39^{BC}	1.56	>400
Bacillus subtilis	11.20 ±0.18^{B}	1.56	>400

در پژوهش‌های مختلف اثر ضدمیکروبی اسانس نعناع فلفلی مورد مطالعه قرار گرفته است. به عنوان مثال، در بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس گونه‌های مختلف نعناع (*Mentha spicata* و *Mentha piperita*) به روش چاهک باکتری‌های گرم مثبت مانند *S. aureus* حساسیت بیشتری در مقایسه با انواع گرم منفی *E. coli* از خود نشان دادند (زایدی و داهیا ۲۰۱۵). همچنین گزارش شده است که در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، اسانس نعناع فلفلی روی باکتری‌های *S. aureus* و *E. coli* دارای اثر ضدمیکروبی می‌باشد (راموس و همکاران ۲۰۱۷). خاصیت ضدمیکروبی اسانس نعناع فلفلی بر رشد میکروارگانیسم‌های مختلف می‌تواند به دلیل اثر مستقیم آن بر ساختار دیواره سلولی باشد. به گونه‌ای که یکپارچگی غشای سیتوپلاسمیک را از طریق یون‌های هیدروژن و پتاسیم تغییر داده و منجر به مرگ میکروب می‌شوند (بنزاید و همکاران ۲۰۱۹؛ فرهمندفر و همکاران ۲۰۲۰).

طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه اسانس

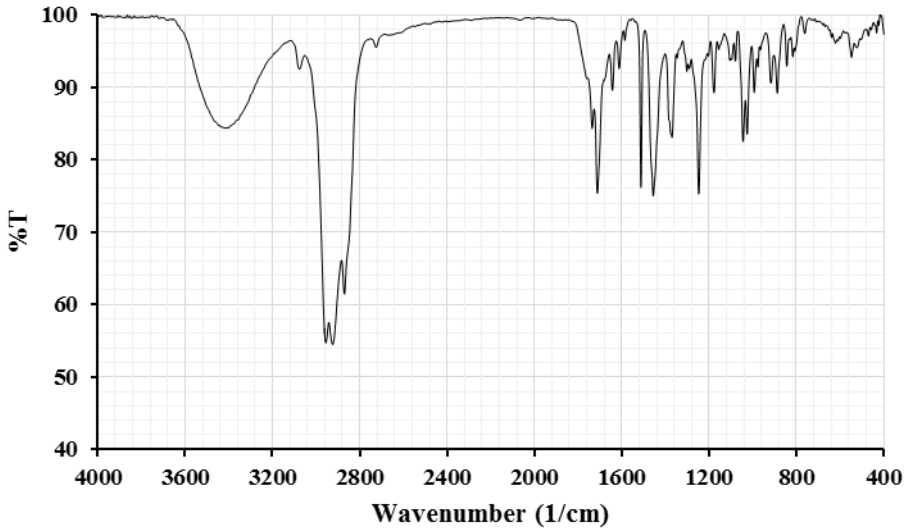
طیف FTIR اسانس نعناع فلفلی در شکل ۳ آورده شده است. محدوده جذبی ۳۰۰۰-۳۱۰۰ و ۳۰۵۰-۳۱۵۰ بر سانتی‌متر به ارتعاشات کششی گروه‌های C-H نسبت داده شده است. باند ظاهر شده در عدد موجی ۲۹۵۵ بر سانتی‌متر مربوط به ارتعاش کششی نامتقارن گروه‌های C-H، $-CH_3$ و $-CH_2$ می‌باشد. پیک‌های قرار گرفته در اعداد موجی ۲۹۲۳ و ۲۸۷۰ بر سانتی‌متر به ترتیب ممکن است ناشی از کشش نامتقارن C-H و $-CH_2$ و کشش متقارن C-H و CH باشد. باند در ۱۷۱۱ بر سانتی‌متر به ارتعاش کششی C=O نسبت داده شده است. علاوه بر این، ارتعاش دگرشکلی گروه‌های $-CH_2$ و CH_3 در عدد موجی حدود ۱٤٥٥ رخ می‌دهد. پیک ظاهر شده در عدد موجی ۱۳٦۹ بر سانتی‌متر مربوط به ارتعاش کششی گروه‌های C-H و $-CH_3$، باند در ۱۲٤۷ بر سانتی‌متر مربوط به ارتعاش کششی C-O یا ارتعاش دگرشکلی $-CH_2-$ و باند در ۱۰٤٤ بر سانتی‌متر مربوط به ارتعاش کششی C-O می‌باشد. علاوه بر این، پیک‌های قرار گرفته در اعداد موجی ۹۹۳ و ۸۸۷ بر سانتی‌متر ممکن است به ارتعاشات خمشی HC=CH- نسبت داده شوند. طیف FTIR اسانس نعناع فلفلی هم‌راستا با یافته‌های تایلان و همکاران (۲۰۲۱) می‌باشد.

تأثیر پوشش خوراکی زیست فعال بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی گوشت گاومیش

روند تغییرات pH نمونه‌های گوشت کنترل و پوشش داده شده طی نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در شکل ٤-A نشان داده شده است. تمام نمونه‌ها متحمل افزایش pH طی نگهداری شدند؛ pH اولیه نمونه کنترل برابر با ٥/٦۹ بود و به ٦/۲۳ در زمان ۱۰ روز نگهداری افزایش پیدا کرد ($p<0/05$). با اینحال، شدت افزایش pH نمونه‌های گوشت در حضور پوشش خوراکی کاهش یافت؛ به طوری که pH نمونه‌های پوشش یافته در زمان ۱۰ روز نگهداری به طور معنی‌داری کمتر از نمونه کنترل بود و

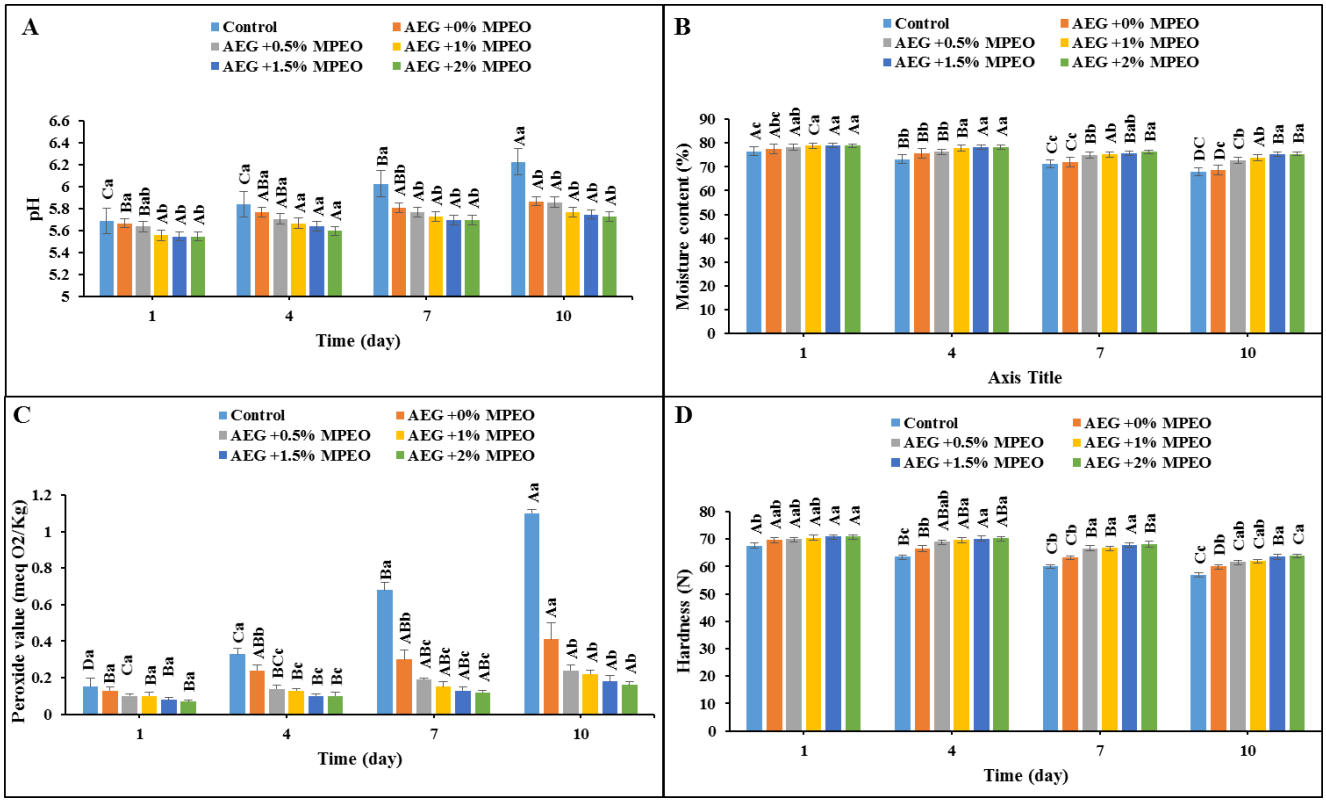
این حالت در نمونه‌های پوشش داده شده با غلظت‌های بالاتر اسانس بیشتر مشهود بود. در حقیقت افزایش غلظت اسانس در پوشش خوراکی بهطور مؤثرتری از افزایش pH نمونه‌های گوشت جلوگیری کرد. به طوری که اختلاف معنی‌داری بین میزان pH نمونه‌های پوشش یافته با صمغ حاوی غلظت‌های ۱، ۱/۵ و ۲ درصد اسانس نعناع فلفلی طی زمان نگهداری مشاهده نشد (p>۰/۰۵). افزایش pH نمونه‌های گوشت طی زمان نگهداری به تشکیل و تجمع ترکیبات قلیایی فرار حاصل از فعالیت باکتریایی و آنزیمی نسبت داده شده است (علیزاده بهبهانی و شهیدی ۱۳۹۹). در راستای نتایج این پژوهش، تغییرات کمتر pH نمونه‌ها در حضور پوشش خوراکی بارگذاری شده با اسانس‌های زیست فعال در مطالعات مختلف نشان داده شده است که این حالت می‌تواند ناشی از اثر بازدارندگی اسانس در برابر رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی و سویه‌های قارچی باشد (کیارسی و همکاران ۲۰۲۰).

نتایج محتوای رطوبت نمونه‌های گوشت گاومیش نگهداری شده در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در شکل ٤-B آورده شده است. نتایج نشان داد که محتوای رطوبت اولیه نمونه‌ها در محدوده ۷٦/٥۳ – ۷۸/۹۲ درصد بود. تمامی نمونه‌ها دستخوش کاهش معنی‌دار میزان رطوبت طی دوره نگهداری شدند (p<۰/۰۵)، اما سرعت کاهش رطوبت در حضور پوشش خوراکی غنی شده با اسانس نعناع فلفلی کاهش یافت. به طوری که نمونه‌های گوشت گاومیش کنترل و پوشش داده شده با صمغ و صمغ حاوی ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد اسانس نعناع فلفلی به ترتیب متحمل کاهش ۱۱/۲٦، ۱۱/٤۰، ۷/۲۵، ٦/٤۰، ٤/٥۱ و ٤/۳۹ درصدی محتوای رطوبت در انتهای زمان نگهداری شدند. به طور کلی محتوای رطوبت نمونه‌های پوشش یافته، بویژه در حضور غلظت‌های بالای اسانس بالاتر از نمونه کنترل بود. گزارش شده است که افزودن اسانس به پوشش خوراکی سبب کاهش نفوذپذیری پوشش به رطوبت می‌شود که این حالت ناشی از افزایش آبگریزی پوشش و متعاقباً کاهش خروج آب از آن می‌باشد (نیسار و همکاران ۲۰۱۹). نتایج مشابهی در مورد اثر پوشش خوراکی حاوی اسانس در جلوگیری از افت رطوبت نمونه‌های گوشت نگهداری شده در دمای یخچالی توسط سایر محققین گزارش شده است (برزگر و همکاران ۲۰۲۰؛ نوشاد و همکاران ۲۰۲۱).



شکل ۳- طیف FTIR اسانس نعناع فلفلی

Figure 3- FTIR spectrum of *Mentha piperita* essential oil (MPEO)



شکل ٤- تغییرات pH (A)، محتوای رطوبت (B)، عدد پراکسید (C) و سفتی (D) نمونه‌های گوشت طی دوره نگهداری

Figure 4- Changes in pH (A), moisture content (B), peroxide value (C), and hardness (D) of buffalo meat samples during storage

نتایج حاصل از پیشرفت اکسیداسیون چربی (عدد پراکسید) نمونه‌های گوشت گاومیش کنترل و پوشش یافته با صمغ بامیه حاوی غلظت‌های مختلف اسانس نعناع فلفلی، بعنوان تابعی از زمان نگهداری، در شکل C-٤ ارائه شده است. عدد پراکسید نمونه‌ها طی زمان نگهداری به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<۰/۰۵$) و بالاترین شدت افزایش عدد پراکسید در نمونه کنترل مشاهده گردید. به طوریکه در انتهای دوره نگهداری ۱۰ روزه نمونه‌های گوشت در دمای یخچالی، نمونه‌های کنترل، AEG+0%MPEO، AEG+0.5%MPEO، AEG+1%MPEO، AEG+1.5%MPEO و AEG+2%MPEO به ترتیب دستخوش افزایش ۷/۳۳، ۳/۱۵، ۲/٤، ۲/۲، ۲/۲۵ و ۲/۲۸ برابری در عدد پراکسید شدند؛ با اینحال، اختلاف معنی‌داری بین عدد پراکسید نمونه‌های پوشش یافته حاوی اسانس در روز ۱۰ ام نگهداری مشاهده نشد. عدد پراکسید پایین در نمونه‌های گوشت پوشش یافته با صمغ بامیه حاوی غلظت‌های مختلف اسانس نعناع فلفلی ممکن است ناشی از ویژگی ممانعت کنندگی از نفوذ اکسیژن پوشش خوراکی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در جلوگیری از تشکیل هیدروپراکسید در نمونه باشد که در راستای نتایج مطالعات پیشین می‌باشد (طباطبایی یزدی و همکاران، ۱۳۹۷؛ نوشاد و همکاران b۱۳۹۹).

اثر پوشش خوراکی بر سفتی نمونه‌های گوشت طی نگهداری در دمای یخچالی نیز بررسی و نتایج در شکل D -٤ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، اثر نوع پوشش خوراکی و زمان نگهداری بر میزان سفتی نمونه‌ها معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). میزان سفتی نمونه‌های گوشت با افزایش دوره نگهداری به طور معنی‌داری کاهش یافت و پوشش خوراکی حاوی اسانس سبب حفظ سفتی نمونه‌ها طی نگهداری گردید. به طور کلی میزان سفتی نمونه‌ها تابع غلظت اسانس نعناع فلفلی در پوشش بود و غلظت‌های بالاتر اسانس منجر به سفتی بالاتر

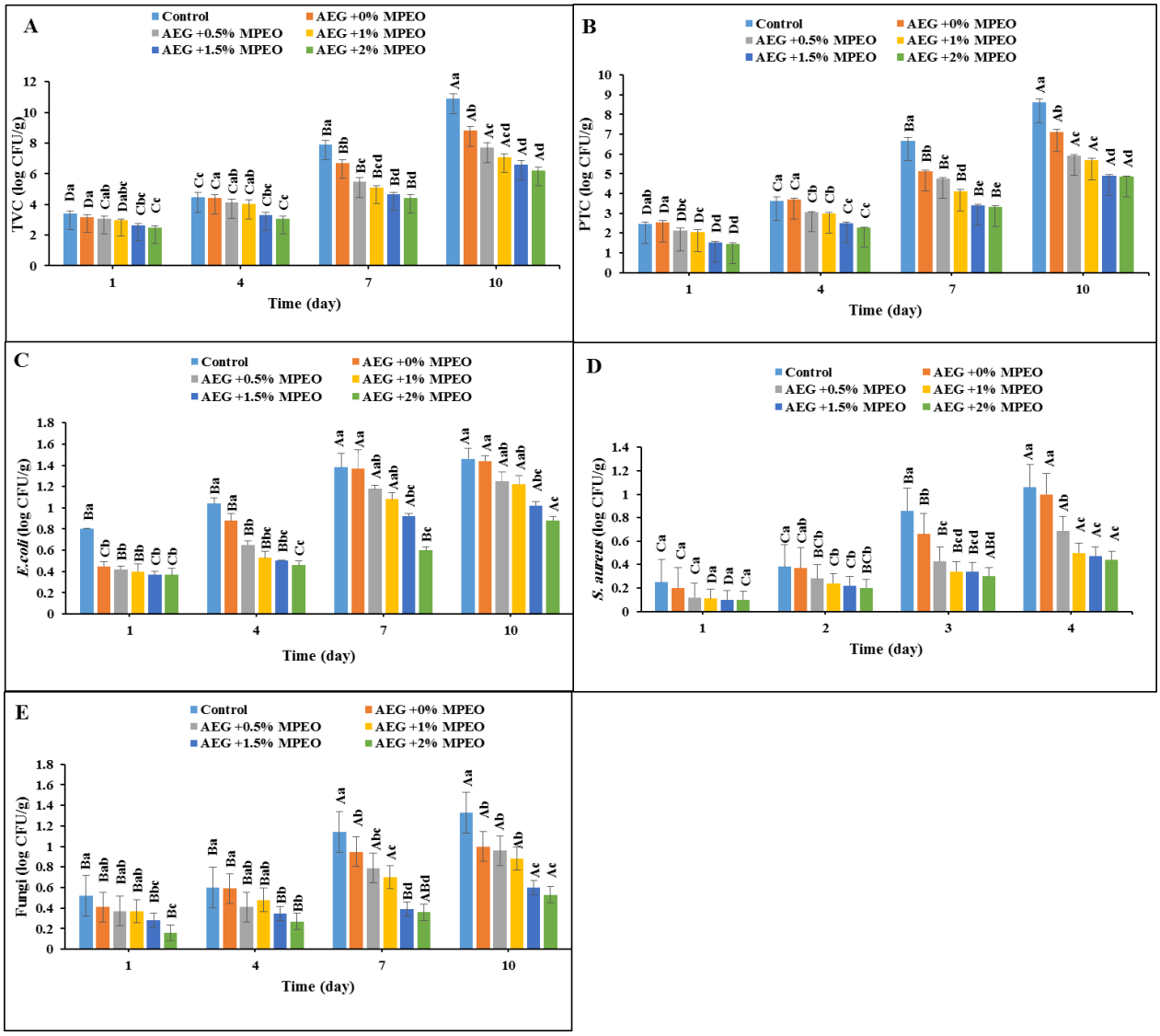
نمونه‌ها گردید. در روز اول نگهداری، میزان سفتی نمونه‌های پوشش یافته با صمغ بامیه بالاتر از نمونه کنترل بود که این حالت ممکن است ناشی از خاصیت ژل کنندگی صمغ موردنظر باشد (ناصحی و رضوی ۱۳۹۸). اگرچه سفتی نمونه‌ها بطور معنی‌داری طی زمان نگهداری کاهش یافت، اما میزان سفتی نمونه‌های پوشش یافته با صمغ بامیه و صمغ بارگذاری شده با غلظت‌های مختلف ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد اسانس نعناع فلفلی در روز آخر نگهداری به طور معنی‌داری بالاتر از نمونه کنترل بود. در حقیقت، نمونه‌های کنترل، AEG+0%MPEO، AEG+0.5%MPEO، AEG+1%MPEO، AEG+1.5%MPEO و AEG+2%MPEO به ترتیب متحمل ۱۵/۶۱، ۱۴/۰۴، ۱۲، ۱۱/۷۷، ۱۰/۳۳ و ۹/۷ درصدی کاهش سفتی در انتهای دوره ماندگاری شدند. سفتی بالاتر نمونه‌های گوشت پوشش یافته با صمغ حاوی غلظت‌های مختلف اسانس نعناع فلفلی ممکن است ناشی از فعالیت ضدمیکروبی اسانس و اثر بازدارندگی این ترکیب زیست فعال در برابر فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده بافت ذاتی گوشت مانند کلاژناز باشد (قانی و همکاران ۲۰۱۸). در مطابقت با یافته‌های این پژوهش، نوشاد و همکاران (۱۳۹۹) گزارش نمودند که پوشش خوراکی بر پایه موسیلاژ دانه بالنگوی سیاه بارگذاری شده با اسانس زیر سیاه قابلیت حفظ بافت گوشت گاومیش طی دوره نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد را دارا می‌باشد.

تأثیر پوشش خوراکی زیست فعال بر ویژگی‌های میکروبی گوشت گاومیش

تغییرات تعداد کل باکتری‌های زنده در نمونه‌های گوشت کنترل و پوشش‌دهی در شکل ٥-A نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش زمان ماندگاری تعداد کل باکتری‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافته است. به گونه‌ای که این افزایش در نمونه کنترل برابر با ۷/۵۱ log CFU^{1}/g، در نمونه پوشش‌دهی شده با صمغ بامیه برابر با ٥/٦١ log CFU^{1}/g، در پوشش حاوی ۰/۵ درصد اسانس برابر با ٤/٦٤ log CFU^{1}/g، در پوشش حاوی ۱ درصد اسانس برابر با ٤/١٥ log CFU^{1}/g، در پوشش حاوی ۱/۵ درصد اسانس برابر با ۳/۹۸ log CFU^{1}/g و در پوشش حاوی ۲ درصد اسانس برابر با ۳/۷٦ log CFU^{1}/g می‌باشد.

افزایش بار میکروبی کل در نمونه‌های حاوی پوشش و اسانس در مقایسه با نمونه کنترل و نمونه‌های حاوی پوشش کمتر بوده و در بین درصدهای مختلف، نمونه حاوی ۲ درصد اسانس (AEG+2%MPEO) کمترین افزایش بار میکروبی را دارا می‌باشند. همچنین مشخص شد با افزایش درصد اسانس در نمونه‌های مورد بررسی در هر روز میزان بار میکروبی نمونه‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت.

نتایج حاصل از شمارش باکتری‌های سرمادوست در شکل ٥-B نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که در تمامی نمونه‌ها پس از گذشت ۱۰ روز تعداد باکتری‌های سرمادوست به طور معنی‌داری افزایش یافته و این افزایش در نمونه کنترل بیشتر از سایر نمونه‌ها می‌باشد. فاکتورهایی مانند شامل کاهش میزان مواد مغذی، پتانسیل اکسیداسیون-احیای مناسب ایجاد شده توسط محیط برای رشد سایر میکروارگانیسم‌ها و متابولیت‌های تولیدی توسط آن‌ها می‌تواند دلایلی برای کاهش تعداد باکتری‌های سرمادوست طی دوره نگهداری باشد (سانی و همکاران ۲۰۱۷). رئیسی و همکاران (۲۰۱٦) در بررسی اثر پوشش‌های حاوی نایسین، اسانس دارچین و اسانس رزماری بر ماندگاری گوشت مرغ گزاش کردند که نمونه‌های گوشت با پوشش‌های حاوی اسانس در مقایسه با پوشش‌های دارای نایسین تعداد کل باکتری‌ها کمتر بوده و این کاهش را به ترکیبات فعال موجود در اسانس‌ها که می‌توانند باعث اختلال در عملکرد غشای سیتوپلاسمی، نیروی محرکه پروتون، جریان الکترون و انتقال فعال و همچنین انعقاد محتویات سلول شوند نسبت دادند.



شکل ۵- تغییرات تعداد کل باکتری‌های زنده (A)، باکتری‌های سایکروتروف (B)، *E. coli* (C)، *S. aureus* (D) و قارچ (E) نمونه‌های گوشت طی دوره نگهداری

Figure 5- Changes in TVC (A), PTC (B), E. coli (C), S. aureus (D), and fungi (E) counts of buffalo meat samples during storage

نتایج حاصل از شمارش باکتری‌های *E. coli* در شکل ۵-C نشان داده شده است. در تمامی نمونه‌ها با افزایش زمان نگهداری تعداد باکتری به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد، هر چند که در نمونه پوشش حاوی ۲ درصد اسانس (AEG+2%MPEO) کمترین افزایش مشاهده می‌شود. مقایسه نمونه‌های مختلف در هر روز نشان می‌دهد که در روز اول بین نمونه کنترل با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد ولی بین نمونه‌های حاوی پوشش و پوشش با درصدهای مختلف اسانس اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. در روز دهم بین نمونه‌های کنترل با پوشش‌دهی شده و بین نمونه‌های پوشش حاوی ۰/۵ و ۱ درصد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد اما مشاهده می‌شود که بین این نمونه‌ها با یکدیگر و با سایر نمونه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری وجود دارد.

شمارش تعداد باکتری‌های *S. aureus* (شکل ۵-D) نشان می‌دهد که پس از گذشت دوره نگهداری تعداد این باکتری‌ها در تمامی نمونه‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافته است و بیشترین میزان افزایش در نمونه کنترل

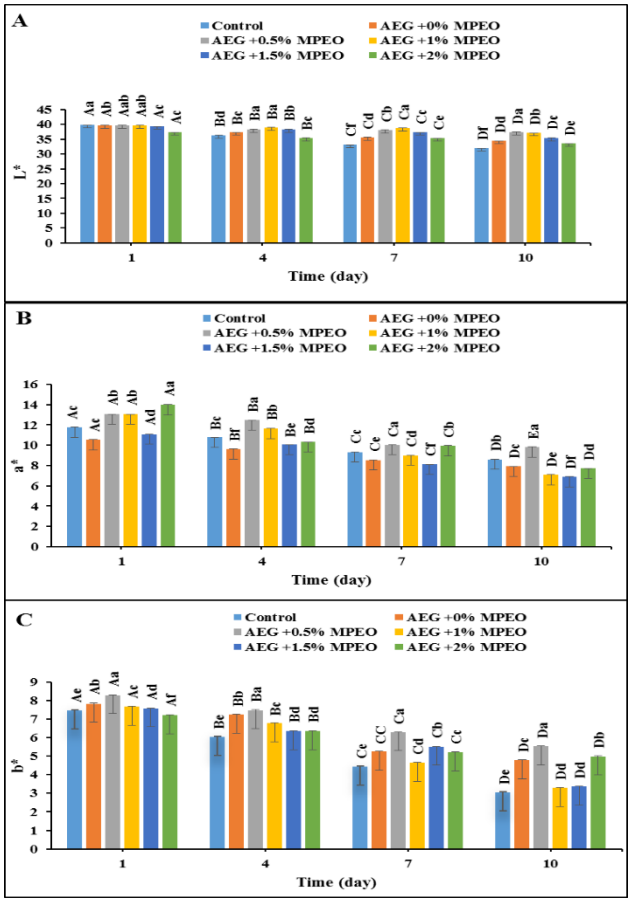
مشاهده شد. همچنین مشخص گردید که استفاده از درصدهای مختلف اسانس منجر به کاهش تعداد باکتری‌های *S. aureus* شده به گونه‌ای که در نمونه‌های پوشش داده شده با صمغ و ۲ درصد اسانس (AEG+2%MPEO) کمترین میزان رشد باکتری مشاهده گردید.

شمارش کپک و مخمر نمونه‌های کنترل، پوشش داده شده با صمغ و پوشش داده شده با صمغ و درصدهای مختلف اسانس در شکل ٥–E نشان داده شده است. در هر یک از نمونه‌های مورد آزمایش افزایش زمان ماندگاری منجر به افزایش معنی‌دار کپک و مخمر شده و بیشترین میزان افزایش در نمونه کنترل مشاهده می‌شود. از سوی دیگر با افزایش درصد اسانس میزان این میکروارگانیسم‌ها کاهش یافته است. به گونه‌ای که در هر روز نمونه‌های حاوی ۲ درصد اسانس (AEG+2%MPEO) با نمونه‌های کنترل دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند. در بررسی میزان ماندگاری گوشت پوشش داده شده با کیتوزان حاوی درصدهای مختلف اسانس آویشن شیرازی و زیره سیاه گزارش شده است که وجود اسانس در پوشش به دلیل افزایش ترکیبات زیست فعال منجر به کاهش کپک و مخمر طی دوره نگهداری می‌شود (کی‌خسروی و همکاران ۲۰۲۰). به طور کلی پوشش‌های خوراکی حاوی اسانس‌های گیاهی در برابر کپک و مخمر بسیار مؤثر می‌باشند، زیرا پوشش‌های خوراکی به عنوان مانعی جهت انتقال اکسیژن عمل می‌کنند (حامدی و همکاران ۲۰۱۷).

تأثیر پوشش خوراکی زیست فعال بر پارامترهای رنگی گوشت گاومیش

رنگ گوشت یکی از مهم‌ترین و اصلی‌ترین عوامل مؤثر در تعیین کیفیت آن می‌باشد. مطابق نتایج (شکل ٦–A)، شاخص روشنایی تمام نمونه‌ها طی دوره نگهداری به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). پوشش خوراکی نیز تأثیر معنی‌داری بر شاخص روشنایی نمونه‌ها نشان داد؛ در انتهای دوره نگهداری، نمونه‌های پوشش یافته با صمغ بامیه حاوی غلظت‌های مختلف اسانس نعناع فلفلی نسبت به نمونه کنترل شاخص روشنایی بالاتری نشان دادند ($p<۰/۰۵$).

شاخص قرمزی نمونه‌های گوشت نیز طی زمان نگهداری به طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ٦–B) و به استثناء نمونه پوشش یافته با صمغ بامیه حاوی غلظت ۰/۵ درصد اسانس (AEG+0.5%MPEO)، میزان قرمزی نمونه‌های پوشش داده شده به طور معنی‌داری کمتر از نمونه کنترل بود. میزان زردی نمونه‌های گوشت کنترل و پوشش یافته نگهداری شده در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در شکل ٦–C آورده شده است. همانگونه که از شکل قابل مشاهده می‌باشد، اگرچه افزایش زمان نگهداری سبب کاهش میزان زردی نمونه‌ها گردید، اما زردی نمونه‌های گوشت پوشش یافته با صمغ بامیه بارگذاری شده با غلظت‌های مختلف اسانس نعناع فلفلی میزان زردی در انتهای دوره نگهداری بالاتر از نمونه کنترل بود ($p<۰/۰۵$). نتایج این مطالعه توسط یافته‌های ویتال و همکاران (۲۰۱٦) و نوشاد و همکاران (۲۰۲۱) تائید می‌گردد. این محققین بیان داشتند که تجمع شیرابه و فشار پایین اکسیژن در نمونه‌های پوشش یافته که سبب تبدیل میوگلوبین به مت میوگلوبین می‌شود منجر به کاهش قرمزی نمونه‌های گوشت طی نگهداری می‌گردد. علاوه بر این، شاخص زردی بالاتر نمونه‌های گوشت پوشش یافته نسبت به نمونه کنترل نیز به رنگ زرد پوشش خوراکی مرتبط دانسته شده است.



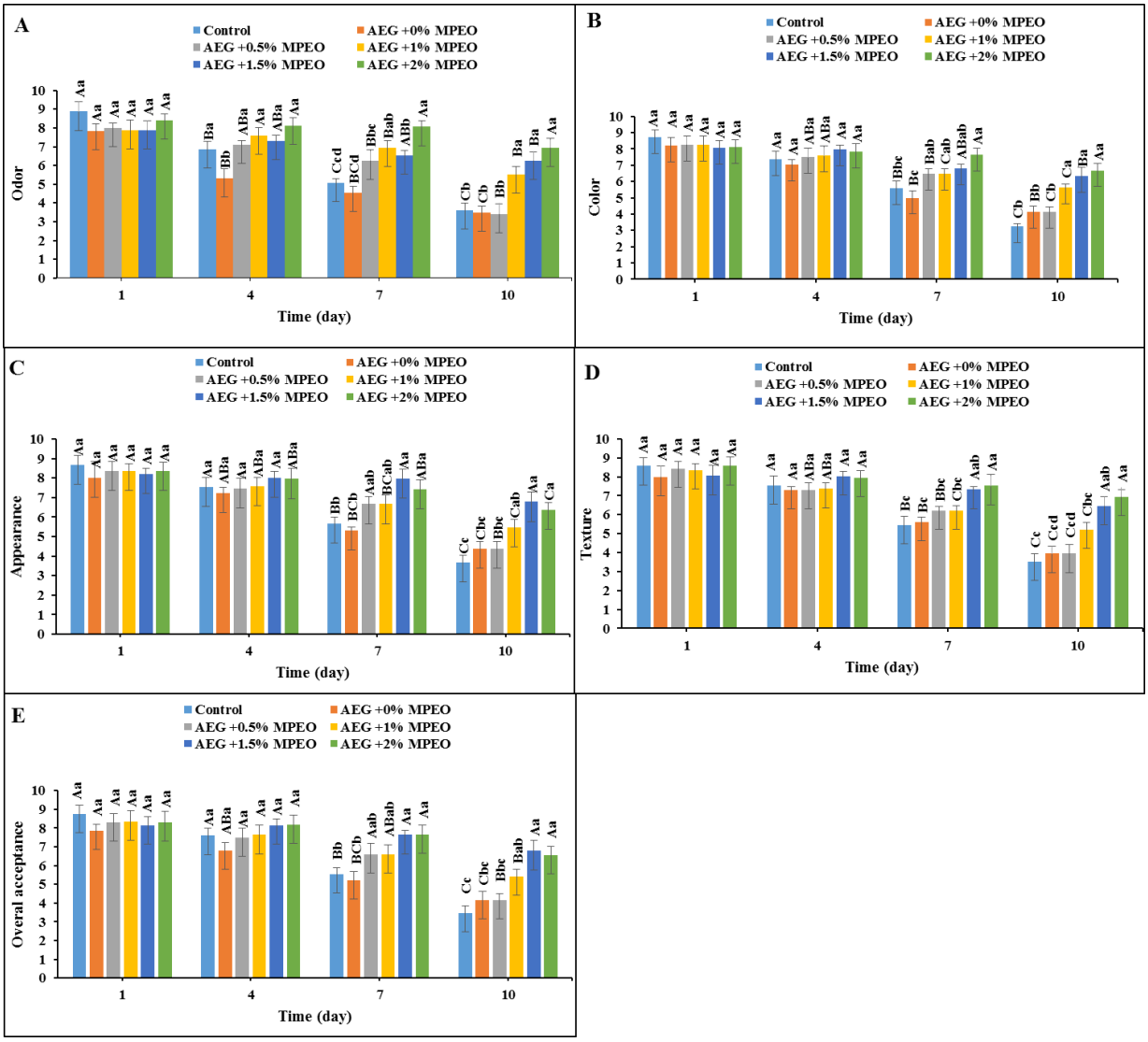
شکل ۶- تغییرات L* (A)، a* (B) و b* (C) نمونه‌های گوشت گاومیش طی نگهداری

Figure 6- Changes in L* (A), a* (B), and b* (C) of buffalo meat samples during storage

تأثیر پوشش خوراکی زیست فعال بر ویژگی‌های حسی گوشت گاومیش

ارزیابی حسی نشان داد که تیمارهای حاوی اسانس نعناع فلفلی پذیرش بالاتری نسبت به نمونه کنترل داشتند ($p<۰/۰۵$) (شکل ۷). نمونه‌های گوشت با امتیاز حسی بالاتر از ٤ از نظر مصرف‌کننده قابل پذیرش می‌باشند. امتیازات بو نمونه‌های گوشت طی نگهداری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$)، اما این کاهش در AEG+2%MPEO معنی‌دار نبود و سرعت کاهش امتیاز در نمونه‌های پوشش یافته با صمغ بامیه حاوی غلظت‌های بالای اسانس نعناع فلفلی کمتر از نمونه کنترل بود (شکل ۷-A). به طوری که در انتهای زمان نگهداری، نمونه‌های کنترل، AEG+0%MPEO و AEG+0.5%MPEO امتیاز بو کمتر از ٤ نشان دادند و از نظر مصرف‌کننده قابل پذیرش نبودند. کاهش امتیازات بو نمونه‌های گوشت طی نگهداری ممکن است ناشی از رشد میکروبی و تولید محصولات جانبی اکسیداسیون لیپید و پروتئین مانند آمونیاک باشد که سبب ایجاد بو و طعم‌های نامطلوب در نمونه می‌گردد (بازرگانی گیلانی و همکاران، ۲۰۱۵). نتایج مشابهی در مورد اثر پوشش خوراکی بر ویژگی حسی رنگ نمونه‌ها نیز مشاهده شد (شکل ۷-B). به استثناء نمونه AEG+2%MPEO، امتیاز رنگ نمونه‌های گوشت طی نگهداری به طور معنی‌داری کاهش یافت که به علت تیره شدن نمونه و در راستای نتایج رنگ‌سنجی می‌باشد (شکل ٦). با اینحال، پوشش خوراکی و افزودن اسانس نعناع فلفلی سبب حفظ بهتر رنگ نمونه‌ها طی نگهداری شد؛ به طوری که نمونه کنترل بعد از ۷ روز نگهداری غیرقابل مصرف بود (امتیاز رنگ کمتر از ٤)، اما امتیاز رنگ نمونه‌های پوشش یافته تا انتهای دوره نگهداری بالاتر از ٤ بود و از نظر مصرف‌کننده قابل پذیرش بودند.

امتیاز حسی ظاهر نمونه‌های گوشت نیز روند مشابهی نشان داد و پوشش خوراکی حاوی غلظت‌های بالاتر اسانس سبب حفظ بیشتر ظاهر نمونه‌ها طی دوره نگهداری شد (شکل ۷–C). نتایج ارزیابی حسی بافت نمونه همراستا با یافته‌های بافت سنجی بود (شکل ٤–D) و نمونه‌های گوشت در حضور پوشش خوراکی و اسانس نعناع فلفلی امتیاز حسی بافت بالاتری به خود اختصاص دادند (شکل ۷–D). به طور کلی، نمونه‌های گوشت پوشش یافته با صمغ بامیه حاوی غلظت‌های مختلف اسانس نعناع فلفلی پذیرش کلی بالاتری نسبت به نمونه کنترل نشان دادند و عمر نگهداری آن‌ها بالاتر از ۱۰ روز بود (شکل ۷–E)؛ در حالی که نمونه کنترل بعد از ۷ روز نگهداری در دمای یخچال غیرقابل مصرف بود (امتیاز پذیرش کلی کمتر از ٤). نتایج ارزیابی حسی با یافته‌های شیمیایی و میکروبی نمونه‌ها همخوانی بالایی داشت. نتایج مشابهی توسط سایر محققین گزارش شده است (بازرگانی گیلانی و همکاران، ۲۰۱۵؛ شین و همکاران، ۲۰۱۷).



شکل ۷– ویژگیهای حسی نمونه های گوشت گاومیش طی نگهداری

Figure 7- Sensory properties of buffalo meat samples during storage

نتیجه‌گیری

اسانس نعناع فلفلی حاوی ترکیبات زیست فعال (بویژه منتول) با فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجه در پوشش خوراکی صمغ بامیه بارگذاری شد. پوشش خوراکی زیست فعال صمغ بامیه-اسانس نعناع فلفلی به طور مؤثری از کاهش رطوبت و سفتی و افزایش pH و عدد پراکسید نمونه‌های گوشت گاومیش جلوگیری به عمل آورد. علاوه بر این، پوشش خوراکی حاوی غلظت‌های بالای اسانس منجر به جلوگیری از رشد میکروبی و افت رنگ نمونه‌ها طی دوره نگهداری گردید. ارزیابی حسی نمونه‌های گوشت نشان داد که ویژگی‌های حسی بو، رنگ، ظاهر، بافت و پذیرش کلی نمونه‌ها به طور مؤثری در حضور پوشش خوراکی حفظ گردید. به طور کلی، پوشش خوراکی حاصل از صمغ بامیه حاوی اسانس نعناع فلفلی می‌تواند بعنوان نگهدارنده طبیعی با قابلیت افزایش عمر نگهداری محصولات گوشتی و سایر مواد غذایی معرفی گردد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی کاربردی کلان با کد ۱/٤۱۱/٤۸۵ می‌باشد که توسط معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان حمایت گردیده است، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از حمایت‌های مادی و معنوی به عمل آمده صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع مورد استفاده

ابراهیمی همتی کیخا م، جوینده ح، علیزاده بهبهانی ب و نوشاد م، ۱۳۹۹. فعالیت ضدمیکروبی موسیلاژ میوه سپستان بر باکتری‌های بیماری‌زا: مطالعه در شرایط آزمایشگاهی "in vitro". علوم و صنایع غذایی ایران ۱۷ (۱۰۱)، ۷۱-۸۰.

اشرفی یورقانلو ر و غیبی ن، ۱۳۹۸. تأثیر پوشش موسیلاژ بامیه و صمغ کربوکسی متیل سلولز بر میزان جذب روغن و خواص فیزیکوشیمیایی سیب‌زمینی سرخ شده. مهندسی بیوسیستم ایران (علوم کشاورزی ایران) ۵ (۱)، ۲۰۳-۲۱۱.

ایزدی ز، اثنی‌عشری م، احمدوند گ، داودی پ و پیری خ، ۱۳۸۸. شناسایی ترکیب‌های شیمیایی و بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه نعناع فلفلی بر تعدادی از سویه‌های میکروبی. ارمغان دانش ١٤ (۳)، ٤٥-٥٤.

برزگر ح، مهرنیا م. ا و علیزاده بهبهانی ب، ۱۳۹۷. تعیین ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضد میکروبی اسانس گلپر برفی بر میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و مسمومیت. فصلنامه میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی ٤ (٤)، ١٥-٢٨.

برزگر ح، علیزاده بهبهانی ب و مهرنیا م. ا، ۱۳۹۸. شناسایی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضدباکتریایی اسانس ریحان سبز و برهمکنش آن با آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و کلرامفنیکل بر تعدادی از ریزاندامگان عامل عفونت و مسمومیت غذایی. علوم و صنایع غذایی ایران ١٦ (۹۰)، ۱۱۳-۱۲۵.

پورشایگان م، اسماعیل زاده کناری ر، فرهمندفر ر، ۱۳۹۸. اثرات جدا و ترکیبی نانو پوشش های صمغ دانه ریحان و قدومه شهری حاوی عصاره پوست کیوی در جهت افزایش عمر نگهداری گوشت تازه گوسفند. مجله علوم و صنایع غذایی ایران ١٦ (۸۸)،۸۳-۹۵.

حجتی م و علیزاده بهبهانی ب، ١٤٠٠. بررسی اثر روش استخراج با حلال‌های آب و متانول بر ویژگی‌های ضداکسایشی و ضدمیکروبی عصاره گیاه بن‌سرخ: مطالعه در شرایط آزمایشگاهی "in vitro". نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران ۱۷(۱)، ۹۱-۸۳.

حیدری س، جوینده ح، علیزاده بهبهانی ب و نوشاد م. ۱۳۹۸. تعیین ترکیبات شیمیایی و اثر ضدباکتریایی اسانس اسطوخودوس فلس دار بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در شرایط برون‌تنی . مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام ۲۷ (٤)، ۷۷-۸۹.

رحمتی جنیدآباد م و علیزاده بهبهانی ب، ۱٤۰۰. شناسایی ترکیبات شیمیایی، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضد قارچی اسانس آویشن دنایی (*Thymus daenensis*) بر قارچ‌های مولد فساد میوه سیب. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران. http://dx.doi.org/.10.22067/ifstrj.v18i1.87595

سکونی رواسان م و آصفی ن، ۱۳۹۷. استخراج صمغ از گیاه بامیه (Okra) و بررسی ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی آن. پژوهش‌های صنایع غذایی ۲۸(٤)، ۳۱-٤۳.

سوسنی غریبوند ز، علیزاده بهبهانی ب، نوشاد م و جوینده ح، ۱۳۹۹. بررسی گروه‌های عاملی ترکیبات زیست‌فعال، توانایی رادیکال گیرندگی، فعالیت ضدمیکروبی و اثر سمیت سلولی عصاره آبی گیاه شیشه‌شور (*Callistemon citrinus*) بر رده سلولی HT۲۹: یک مطالعه آزمایشگاهی. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان ۱۹ (٥)، ٤٦۳-٤۸٤.

شهیدی ف، طباطبایی یزدی ف، روشنک س، علیزاده بهبهانی ب، نوروزی ن و وسیعی ع، ۱۳۹۸. فعالیت ضد میکروبی عصاره مچه بر تعدادی از میکروارگانیسم‌های عامل عفونت در شرایط آزمایشگاهی. فصلنامه بیماری‌های عفونی و گرمسیری ۲٤(۸٥)، ۱-۹.

شهیدی ف، طباطبایی یزدی ف، روشنک س، علیزاده بهبهانی ب، وسیعی ع و نوروزی ن، ۱۳۹۷. مقایسه فعالیت ضد میکروبی عصاره برگ گیاه قاصدک (*Taraxacum pseudocalocephalum*) با آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی در شرایط برون‌تنی. فصلنامه بیماری‌های عفونی و گرمسیری ۲۳ (۸۳)، ۳۷-٤٦.

طباطبایی یزدی ف، علیزاده بهبهانی ب، وسیعی ع، مرتضوی س.ع و شهیدی ف، ۱۳۹۷. ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فیتوشیمیایی و ضد میکروبی اسانس نعناع فلفلی (Mentha piperita) بر جمعیت ریزاندامگان عامل مسمومیت و عفونت غذایی. علوم و صنایع غذایی ایران ۱٥(۷٦)، ٦۷-۷٦.

علیزاده بهبهانی ب و شهیدی ف، ۱۳۹۹. ارزیابی ویژگیهای میکروبی، شیمیایی و حسی گوشت گوسفندی پوشش دهی شده با موسیلاژ فرنجمشک در ترکیب با اسانس زنیان جهت افزایش عمرانبارمانی در دمای یخچال. نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران ۱٦ (٤)، ۳۸۳-۳۹٤.

فدائی س، آبرومندآذر پ، شریفان ا و لاریجانی ک، ۱۳۸۸. بررسی اثر ضدمیکروبی اسانس نعناع فلفلی و مقایسه آن با بنزوات سدیم. علوم غذایی و تغذیه ۸ (۱)، ۳٤-٤۲.

قره نقده س، فرقانی س، قره نقده س و صوتی خیابانی م، ۱۳۹٦. بررسی خاصیت ضدمیکروبی عصاره متانولی، اسانس و نانولیپوزوم حاوی اسانس نعناع فلفلی. علوم و صنایع غذایی ایران ۱٤ (٦۸)، ۹۳- ۱۰۲.

کاظم الوندی ر، شریفان ا و آقازاد همشگی م، ۱۳۸۹. بررسی ترکیب شیمیایی و اثر ضد میکروبی اسانس گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita*). پاتوبیولوژی مقایسه‌ای ۷(٤)، ۳٥٥-۳٦٤.

ناصحی ب و رضوی ر. ۱۳۹۸. بررسی اثر صمغ‌های بامیه و کربوکسی متیل سلولز بر ویژگی‌های کیفی و ماندگاری نان بربری. علوم و صنایع غذایی ۹۰ (۱٦)، ۲٥۹-۲٦۹.

نوشاد م، حجتی م و علیزاده بهبهانی ب، ۱۳۹۹. افزایش عمر نگهداری گوشت گاو با استفاده از پوشش خوراکی زیست فعال بر پایه موسیلاژ دانه بالنگوی سیاه بارگذاری شده با اسانس زیر سیاه. مهندسی بیوسیستم ایران ٥۱ (۲)، ٤۰۸-٤۱۸.

نوشاد م، علیزاده بهبهانی ب و دهقانی س، a۱۳۹۹. بررسی تأثیر روش استخراج با آب و اتانول بر بازده استخراج، ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره گیاه پولک. مجله علوم و صنایع غذایی ایران ۱۷ (۱۰۰)، ۱۱۷-۱۲٥.

نوشاد م، علیزاده بهبهانی ب و دهقانی س، b۱۳۹۹. افزایش پایداری اکسایشی و میکروبی گوشت گاو با استفاده از پوشش خوراکی زیست‌فعال حاصل از موسیلاژ بارهنگ صغیر بارگذاری شده با اسانس آویشن باغی. مجله علوم و صنایع غذایی ایران۱۷ (٤)، ۱-۱۳.

نوشاد م، علیزاده بهبهانی ب، جوینده ح، رحتمی جنیدآباد م، قدسی شیخ‌جان م و ابراهیمی همتی‌کیخا م، ۱٤۰۰. افزایش پایداری میکروبی و اکسایشی گوشت گاومیش با استفاده از پوشش خوراکی زیست‌فعال بر پایهٔ موسیلاژ میوهٔ سپستان و اسانس پوست پرتقال دزفولی. پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی ۱۰(۲)، ۲۱۷-۲۳٤.

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA (1995).

Barzegar H, Behbahani B. A and Mehrnia M. A, 2020. Quality retention and shelf life extension of fresh beef using *Lepidium sativum* seed mucilage-based edible coating containing *Heracleum lasiopetalum* essential oil: an experimental and modeling study. Food Science and Biotechnology 29(5), 717-728.

Bazargani-Gilani B, Aliakbarlu J, and Tajik H, 2015. Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. Innovative food science & emerging technologies, 29, 280-287.

Benzaid C, Tichati L, Djeribi R and Rouabhia M, 2019. Evaluation of the chemical composition, the antioxidant and antimicrobial activities of *mentha× piperita* essential oil against microbial growth and biofilm formation. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 22(2), 335-346.

da Silva Ramos R, Rodrigues A. B. L, Farias A. L. F, Simões R. C, Pinheiro M. T, Ferreira R. M. D. A ... and de Almeida S. S. M. D. S, 2017. Chemical composition and in vitro antioxidant, cytotoxic, antimicrobial, and larvicidal activities of the essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae). The Scientific World Journal, 2017.

Derwich E, Chabir R, Taouil R and Senhaji O, 2011. In-vitro antioxidant activity and GC/MS studies on the leaves of *Mentha piperita* (Lamiaceae) from Morocco. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 3(2), 130-136.

Farahmandfar, R., & Tirgarian, B, 2020. Essential oils: In vitro antioxidant activities and their utilizations in storage life increment of foods. Journal of Food and Bioprocess Engineering, 3(2), 128-137.

Farnad N, Heidari R and Aslanipour B, 2014. Phenolic composition and comparison of antioxidant activity of alcoholic extracts of Peppermint (*Mentha piperita*). Journal of Food Measurement and Characterization, 8(2), 113-121.

Ghani S, Barzegar H, Noshad M, and Hojjati M, 2018. The preparation, characterization and in vitro application evaluation of soluble soybean polysaccharide films incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsions. International journal of biological macromolecules, 112, 197-202.

Gharib F. A and da Silva J. T, 2013. Composition, total phenolic content and antioxidant activity of the essential oil of four Lamiaceae herbs. Medicinal and aromatic plant science and biotechnology, 7(1), 19-27.

Hamedi H, Kargozari M, Shotorbani P. M, Mogadam N. B and Fahimdanesh M, 2017. A novel bioactive edible coating based on sodium alginate and galbanum gum incorporated with essential oil of *Ziziphora persica*: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food model. Food hydrocolloids, 72, 35-46.

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

Kaban G, 2009. Changes in the composition of volatile compounds and in microbiological and physicochemical parameters during pastırma processing. Meat Science 82(1), 17-23.

Keykhosravy K, Khanzadi S, Hashemi M and Azizzadeh, M, 2020. Chitosan-loaded nanoemulsion containing *Zataria Multiflora* Boiss and *Bunium persicum* Boiss essential oils as edible coatings: Its impact on microbial quality of turkey meat and fate of inoculated pathogens. International journal of biological macromolecules, 150, 904-913.

Kiarsi Z, Hojjati M, Behbahani B. A and Noshad M, 2020. In vitro antimicrobial effects of *Myristica fragrans* essential oil on foodborne pathogens and its influence on beef quality during refrigerated storage. Journal of Food Safety 40(3), 12782.

Mimica-Dukić N, Božin B, Soković M, Mihajlović B and Matavulj M, 2003. Antimicrobial and antioxidant activities of three Mentha species essential oils. Planta medica 69(05), 413-419.

Nisar T, Yang X I, Alim A, Iqbal M, Wang Z.-C and Guo Y, 2019. Physicochemical responses and microbiological changes of bream (*Megalobrama ambycephala*) to pectin based coatings enriched with clove essential oil during refrigeration. International Journal of Biological Macromolecules 124, 1156–1166.

Noshad M, Alizadeh Behbahani B, Jooyandeh H, Rahmati-Joneidabad M, Hemmati Kaykha M. E and Ghodsi Sheikhjan M, 2021. Utilization of Plantago major seed mucilage containing *Citrus limon* essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions. Food Science & Nutrition, 10.1002/fsn3.2137.

Oriani V. B, Molina G, Chiumarelli M, Pastore G. M and Hubinger M. D, 2014. Properties of cassava starch-based edible coating containing essential oils. Journal of food science 79(2), 189-194.

Ozdemir N, Ozgen Y, Kiralan M, Bayrak A, Arslan N and Ramadan M. F, 2018. Effect of different drying methods on the essential oil yield, composition and antioxidant activity of *Origanum vulgare* L. and *Origanum onites* L. Journal of Food Measurement and Characterization 12(2), 820-825.

Raeisi M, Tabaraei A, Hashemi M and Behnampour N, 2016. Effect of sodium alginate coating incorporated with nisin, *Cinnamomum zeylanicum*, and rosemary essential oils on microbial quality of chicken meat and fate of Listeria monocytogenes during refrigeration. International Journal of Food Microbiology, 238, 139-145.

Sani M. A, Ehsani A and Hashemi M, 2017. Whey protein isolate/cellulose nanofibre/TiO2 nanoparticle/rosemary essential oil nanocomposite film: Its effect on microbial and sensory quality of lamb meat and growth of common foodborne pathogenic bacteria during refrigeration. International journal of food microbiology, 251, 8-14.

Sayyari, Z., Rabani, M., Farahmandfar, R., Esmaeilzadeh Kenari, R., & Mousavi Nadoshan, R, 2021. The Effect of Nanocomposite Edible Coating Enriched with Foeniculum vulgare Essential Oil on the Shelf Life of Oncorhynchus mykiss Fish Fillets during the Storage. Journal of Aquatic Food Product Technology, 30(5), 579-595.

Shin S. H, Chang Y, Lacroix M, and Han J, 2017. Control of microbial growth and lipid oxidation on beef product using an apple peel-based edible coating treatment. LWT, 84, 183-188.

Soncu E. D, Arslan B, Ertürk D, Küçükkaya S, Özdemir N and Soyer A, 2018. Microbiological, physicochemical and sensory characteristics of Turkish fermented sausages (sucuk) coated with chitosan-essential oils. LWT, 97, 198-204.

Taylan O, Cebi N, and Sagdic O, 2021. Rapid Screening of *Mentha spicata* Essential Oil and L-Menthol in Mentha piperita Essential Oil by ATR-FTIR Spectroscopy Coupled with Multivariate Analyses. Foods, 10(2), 202.

Vital A. C. P, Guerrero A, Monteschio J. D. O, Valero M. V Carvalho C. B, de Abreu Filho B. A ... and do Prado I. N, 2016. Effect of edible and active coating (with rosemary and oregano essential oils) on beef characteristics and consumer acceptability. PloS one, 11(8), e0160535.

Yang S. A, Jeon S. K, Lee E. J, Shim C. H and Lee I. S, 2010. Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. Natural Product Research, 24(2), 140-151.

Zaidi S and Dahiya P, 2015. In vitro antimicrobial activity, phytochemical analysis and total phenolic content of essential oil from *Mentha spicata* and *Mentha piperita*. International Food Research Journal, 22(6), 2440.

Journal of Food Research, 2022,32(4):13-36
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)

DOI: 10.22034/FR.2021.45878.1793

The use of okra gum-peppermint essential oil bioactive edible coating to improve shelf-life of buffalo meat

M Noshad[*1], B Alizadeh Behbahani[1], H Jooyandeh[1], M Rahmati-Joneidabad[2], M Ghodsi Sheikhjan[3], R Ghorani[4] and M Ebrahimi Hemmati Kaykha[4]

Received: May 5, 2021 Accepted: September 29, 2021

[1]Associate Professor, Assistant Professor and Professor respectively, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
[4]DVM, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
[5]MSc graduate, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
[*]Corresponding author: Email: Noshad@asnrukh.ac.ir

Introduction: Meat and their products are highly sensitive to microbial growth and lipid oxidation development, which lead to economic losses and health hazards (Kiarsi et al., 2020). The tendency to use natural and safe products for health has increased among consumers, so the food industry seeks to reduce chemical additives and increase the use of natural ingredients. The addition of natural antioxidants and antimicrobial compounds to food coatings improves their quality and performance. Gums are plant polysaccharides, microbes, or derivatives thereof that disperse in hot and cold water to form high-viscosity solutions or mixtures. Gums are hydrocolloids that increase the viscosity and stability of food systems by absorbing water. These hydrocolloids are also effective in stabilizing the foam, releasing the flavor, improving the mouthfeel, etc. In recent years, the use of edible and degradable polysaccharide coatings has increased. (Noshad et al., 2021). Edible coatings are currently receiving a great deal of attention as novel food packaging to increase the quality and shelf-life of various food products through preventing physical, chemical, and biological deteriorations (Barzegar et al., 2020). Okra (*Ablemoschus esculentus*) is an annual plant and rich in valuable nutrients such as vitamins and elements such as phosphorus, manganese, potassium and calcium and also contains phytosterols, tannins and carbohydrates. Okra contains large amounts of viscous gum with a thickening property. Edible coatings are able to carry active compounds such as antioxidants and antimicrobials, as well as nutrients and essential oils (Ashrafi Yorganloo and Gheybi, 2018). Peppermint (*Mentha piperita*) is one of the most widely used medicinal plants due to biological effects of its main components, especially menthol. Its essential oil is used as a flavoring in chewing gum, mint chocolate, medicines and toothpaste (Kazem Alvandi et al., 2010). The antimicrobial and antioxidant properties of peppermint essential oil have been investigated. To the best of our knowledge, there is no report in the literature regarding the effect of edible coating of Okra gum

containing peppermint essential oil on meat quality and shelf life during refrigeration. This study is therefore aimed to develop a novel edible coating based on Okra gum-peppermint essential oil to improve the shelf life of buffalo meat slices.

Material and methods: Peppermint essential oil and Okra were purchased from Dezful and Ahvaz, respectively. The chemical compounds of the essential oil were identified and quantified by a gas chromatography coupled to a mass spectrometer. The total phenol content (Noshad et al., 2020), total flavonoid content (Rahmati-Joneidabad and Alizadeh Behbahani, 2021), ABTS-radical scavenging effect (Hojjati and Alizadeh Behbahani, 2021), antimicrobial effect (Disc diffusion agar, well diffusion agar, and minimum inhibitory/bactericidal concentration) of the essential oil were determined. The oil (0, 0.5, 1, 1.5, 2%) was then added to Okra gum solution to prepare edible coatings for buffalo meat coating purposes. The physiochemical (pH, moisture content, peroxide value, and hardness), microbial (Total viable count, psychrotrophic count, *E. coli*, *S. aureus*, and Fungi count), color (L*, b*, and a*), and sensory (odor, color, appearance, texture, and overall acceptance) of buffalo meat slices were evaluated during storage period (10 days, 4 °C).

Results and discussion: The essential oil contained menthol (47.17%) and menthone (23.29%) and its total phenolic content, flavonoid content, and ABTS radical scavenging effect were 77.20 mg GAE/g, 47.50 mg QE/g, and 62.60% respectively. The essential oil was also able to inhibit the growth of *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, and *B. subtilis*. The functional groups of the compounds of peppermint essential oil were observed at 2955, 2923, 2870, 1711, 1455, 1369, 1247, 1044, 993, and 887 cm^{-1}. The edible coating was able to prevent the pH increase in buffalo meat samples during storage. The control and samples coated with Okra gum containing 0, 0.5, 1, 1.5, and 2% essential oil had 11.26, 11.40, 6.40, 4.51, and 4.39% water loss during storage. The peroxide value of control and Okra gum+2%essential oil coated samples were increased by 7.33- and 2.28-folds, respectively, as the storage time increased up to 10 days. The lower oxidation development in the coated samples could be probably due to the low oxygen permeability of the coating and the antioxidant activity of the essential oil. Although the hardness of samples decreased during storage, the essential oil-rich coated samples had remarkably higher hardness values compared to the control sample, likely due to the inhibitory effect of the essential oil against the activity of endogenous proteolytic enzymes of the buffalo meat. The edible coatings loaded with higher concentration of the oil were more effective in inhibiting microbial growth in buffalo meat samples during cold storage. This could be attributed to the antimicrobial effect of the essential oil and the oxygen-barrier function of the edible coating. The L* and b* of the coated samples were also higher in comparison to the non-coated sample; whilst, they were generally less red, probably due to myoglobin conversion to metmyoglobin under low-oxygen pressure conditions of the edible coating, along with exudate accumulation in the coated buffalo meat samples. The coated samples with higher essential oil concentrations were also generally more acceptable in term of sensory properties. Generally, the sensory attributes were in good agreements with the chemical and microbial results; the lower the microbial growth and oxidation, the higher were the sensory properties.

Conclusion: Peppermint essential oil containing bioactive compounds (especially menthol) with significant antimicrobial and antioxidant activity was loaded into the edible coating of okra gum. The bioactive edible coating of okra gum-peppermint essential oil effectively prevented the decrease of moisture content and firmness and the increase of pH and peroxide value of buffalo meat samples. In addition, edible coatings containing high concentrations of peppermint essential oil prevented microbial growth and discoloration of the samples during storage. Sensory evaluation of meat samples showed that the sensory characteristics of smell, color, appearance, texture and overall acceptance of the samples were effectively maintained in the presence of edible coating. Then, the Okra gum-peppermint essential oil based edible coating could be introduced as a novel edible coating to inhibit the microbial growth and lipid oxidation of buffalo meat and increase its shelf-life and other food products.

Keywords: Antimicrobial, Antioxidant, Chemical composition, Edible coating, Okra gum, Peppermint essential oil, Shelf-life