

اثرات ضد میکروبی عصاره سماق با پوشش خوراکی کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی بر گوشت قرمز در بسته بندی اتمسفر اصلاح شده و معمولی

علی مجدر لنگرودی^{۱*}، حسین تاجیک^۲

تاریخ دریافت ۱۳۹۵/۱۱/۲۸ تاریخ پذیرش ۱۳۹۶/۰۲/۰۱

چکیده

پیش زمینه و هدف: گوشت گاو به دلیل داشتن مواد مغذی ضروری، مستعد فساد میکروبی بوده و در طبیعت دچار فساد می گردند. امروزه بسیاری از مصرف کنندگان، به دلیل اثرات جانبی نگره دارنده های شیمیایی نظیر سرطان زایی و ناقص الخلقه زایی متقاضی استفاده از جایگزین های طبیعی آن ها می باشند. **مواد و روش ها:** در این مطالعه اثر عصاره آبی-الکلی سماق (۲ درصد و ۴ درصد)، اسانس آویشن شیرازی (۱ درصد) و کیتوزان به تنهایی و به شکل ترکیبی بر خصوصیات میکروبی گوشت قرمز در بسته بندی معمولی و بسته بندی اتمسفر اصلاح شده (۸۰ درصد اکسیژن و ۲۰ درصد دی اکسید کربن) در دمای یخچال مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه ها به مدت ۲۰ روز در دمای چهار درجه نگره داری و در روزهای صفر، چهار، هشت، ۱۶ و ۲۰ مورد آزمایش قرار گرفتند. **یافته ها:** کاهش معنی داری در شمارش کلی باکتری ها، باکتری های اسیدلاکتیک، گونه های سودوموناس، خانواده انتروباکتریاسه و کپک-مخمر در همه تیمارها نسبت به تیمار کنترل در طول زمان نگره داری مشاهده گردید. بیشترین اثر ضد میکروبی در تیمار کیتوزان، عصاره سماق ۴ درصد و اسانس در شمارش کلی باکتریها (۳/۶۹ و ۴/۰۴ log CFU/g (لگاریتم شمارش کلنی/ گرم) کاهش درمقایسه با کنترل، انتروباکتریاسه (۳/۶۱ و ۳/۷۳ log CFU/g در مقایسه با کنترل) و باکتری های اسیدلاکتیک (۲/۶۷ و ۲/۵۳ log CFU/g کاهش) به ترتیب در بسته بندی معمولی و اتمسفر اصلاح شده یافت گردید. **بحث و نتیجه گیری:** این نتایج پتانسیل کیتوزان، عصاره آبی-الکلی سماق و اسانس آویشن شیرازی را به عنوان نگره دارنده های طبیعی در دمای یخچال در بسته بندی معمولی و اتمسفر اصلاح شده پیشنهاد می دهد. **کلیدواژه ها:** عصاره سماق، اتمسفر اصلاح شده، اثرات ضد میکروبی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هشتم، شماره سوم، ص ۲۰۵-۱۹۲، خرداد ۱۳۹۶

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی. تلفن: ۰۹۱۲۶۱۳۴۷۳۲

Email: drali_ml2@yahoo.com

مقدمه

گوشت گاو فسادپذیری بالایی داشته و همواره در جهت حفاظت و افزایش زمان ماندگاری آن تلاش هایی صورت گرفته است (۱). از روش های مورد استفاده جهت افزایش ماندگاری گوشت قرمز استفاده از پوشش های مصنوعی است که گاهی به دلیل داشتن مشکلات جانبی نظیر سرطان زایی و ناقص الخلقه زایی کم تر مورد پذیرش مردم قرار گرفته و تمایل بیشتر به سمت استفاده از پوشش های طبیعی و اغلب با منشأ گیاهی می باشد (۳). سماق از گیاهان دارویی مورد استفاده در این زمینه می باشد. گیاه سماق با

مواد غذایی با منشأ حیوانی به عنوان یک منبع تغذیه ای بسیار مهم از جهت دارا بودن پروتئین بالا و اسیدهای آمینه ضروری در رژیم غذایی انسان به حساب می آیند (۱). با این حال این منابع به دلیل حساسیت بالا در نگره داری و از جهت فساد میکروبی برای سلامت مصرف کننده می توانند مشکل ساز باشند. طبق آمار مراکز کنترل بیماری^۱ در آمریکا سالانه ۴۸ میلیون نفر درگیر بیماری های با منشأ غذایی می شوند که از این بین سه هزار مورد باعث مرگ، ۱۲۸ هزار مورد بستری در بیمارستان و حدود ۷۷/۷ بیلیون دلار ضرر اقتصادی وارد می گردد (۲). در بین مواد غذایی با منشأ حیوانی

^۱ دانشجوی دکتری تخصصی گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

^۲ استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

^۱ Centers for Disease Control

نام علمی رأس کوریاریا^۲ از تیره پسته‌ی درختچه‌ای کوچک، دارای برگ‌های کوچک و پوشیده از کرک و دندانه است. این گیاه در مناطق مدیترانه، شمال آفریقا، جنوب اروپا، افغانستان و ایران رشد می‌کند. گیاه سماق در ایران، در نقاط مختلف از جمله اطراف تهران (تجریش، دربند)، کرج، قزوین، قم، تبریز، همدان، شیراز (کوه‌های دشتک)، تربت جام، مازندران، گیلان و تبریز می‌روید (۴). از برگ سماق به علت وجود مقدار قابل توجه تانن، در دباغی پوست استفاده می‌شود. برگ‌های جمع‌آوری شده در پاییز، برای تهیه رنگ و به‌عنوان ثابت کننده رنگ به کار می‌روند. از خواص میوه این گیاه می‌توان به بهبود مشکلات دستگاه گوارش، درمان درماتیت، تب، اسهال و سرطان اشاره نمود و همچنین به‌عنوان یک ترکیب ادرارآور، ضد عفونی‌کننده و اشتها آور شناخته می‌شود (۵).

سماق آنزیم آلفا آمیلاز را به شکل مؤثری مهار می‌کند و تحمل بیماران دیابتی را به گلوکز افزایش می‌دهد. همچنین سماق می‌تواند به‌صورت غیررقابتی آنزیم گزانتاین اکسیداز را مهار کند که مهار این آنزیم یکی از راه‌های کاهش میزان اسید اوریک خون در بیماران مبتلا به نقرس است. سماق سرشار از فلاونوئیدها، آنتوسیانین، اسیدگالیک، فلاون‌هایی مثل کوئرستین، میریستین و کمپفرول، نیترات و نیتريت می‌باشد. همچنین دارای مالیک، پالمیتیک، استئاریک، اولئیک و لینولئیک اسید می‌باشد (۶). علاوه بر آن، آنتوسیانین دارای محدوده گسترده‌ای از خواص بیولوژیکی، فارماکولوژیکی و نگه‌دارندگی نیز می‌باشد که حضور آن در سماق اهمیت این گیاه را به‌عنوان نگه‌دارنده طبیعی برای افزایش مدت ماندگاری گوشت مشخص می‌کند (۷). تانن‌ها بخش مهمی از عصاره‌های قطبی سماق را تشکیل می‌دهند (۶). به‌طور کلی استفاده از این گیاه حتی در مقادیر پایین اثرات قابل توجهی در جلوگیری از رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی دارد. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که عصاره سماق sumac extract (SE) بر روی باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیا، پروتئوس وولگاریس، سودوموناس- آئروژینوزا، شیگلا دیسنتریا، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیس، باکتری‌های اسیدلاکتیک، استرپتوکوکوس پیوژنز، سالمونلا تیفی، انتروکوکوس فکالیس و یرسینیا انتروکولیتیکا اثرات ضد میکروبی قوی دارد. در این بین سودوموناس، کلی فرم‌ها و سالمونلا تیفی نسبت به بقیه حساس‌تر به نظر می‌رسند (۸).

کیتوزان (CH) Chitosan پلیمری غیرسمی، قابل تجزیه در طبیعت و سازگار با محیط زیست بوده که به‌طور طبیعی در پوست خرچنگ، میگو و نیز دیواره سلولی قارچ‌ها یافت می‌گردد (۹).

مطالعات متعددی در اثبات اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی این پلیمر در مواد غذایی گوشتی صورت گرفته است (۱۰) که البته اثر آن روی باکتری‌های گرم منفی نسبت به گرم مثبت بیشتر اثبات گردیده است. ضمن اینکه کیتوزان پتانسیل استفاده در بسته‌بندی‌ها خصوصاً در انواع بسته‌بندی و پوشش‌های خوراکی را نیز دارا می‌باشد (۱۱). همچنین ساختار پلی‌کاتیونیک این پلیمر شرایط را جهت فرم‌پذیری در آن مهیا می‌سازد. استفاده از پوشش خوراکی کیتوزان به همراه روغن‌ها و اسانس‌های مختلف به دلیل اثرات قابل توجه در مدت‌زمان نگهداری مواد غذایی خصوصاً در سال‌های اخیر کاربرد گسترده‌ای در صنعت مواد غذایی دارد (۱۲). در سال‌های اخیر مطالعات بسیار زیادی در استفاده از کیتوزان به‌تنهایی و یا در ترکیب با سایر عوامل ضد میکروبی به‌عنوان پوشش در مواد غذایی صورت گرفته است (۱). از دیگر مواد با منشأ طبیعی که در جهت بهبود شرایط نگهداری گاه‌ها در بعضی از مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند اسانس‌های گیاهی هستند که در این بین اسانس آویشن شیرازی (ZEO) از اهمیت زیادی برخوردار است. این گیاه از جهت جغرافیای رشد در ایران، پاکستان و افغانستان رشد می‌کند (۱۳). آویشن شیرازی در ایران به‌عنوان طعم‌دهنده در غذاهای مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۴). از ترکیبات اصلی موجود در این گیاه می‌توان به ترکیبات فنلی مثل تیمول و کاروکرول اشاره کرد و به دلیل وجود همین ترکیبات FDA^۳ این گیاه را به‌عنوان ترکیب ضد میکروبی در بسته‌بندی مواد غذایی تأیید کرده است. از روش‌های استفاده اسانس‌ها در مواد غذایی، وارد کردن آن‌ها در پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی مثل کیتوزان، آلژینات و پروتئین سویا می‌باشد، به دلیل آنکه در این روش با کنترل میزان تماس عصاره و اسانس بر سطح ماده غذایی می‌توان باعث کاهش مقدار مصرفی آن‌ها در محصول مورد نظر شد (۱۵).

بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده Modified (MAP) atmosphere packaging به‌عنوان یک روش مؤثر برای نگهداری مواد غذایی مطرح می‌باشد. به‌طور کلی ترکیب مناسب و معمول مورد استفاده برای این نوع بسته‌بندی در گوشت قرمز گاو استفاده از ۸۰ درصد اکسیژن و ۲۰ درصد دی‌اکسید کربن می‌باشد که بر بافت گوشت تأثیری نداشته و در عین حال بر رنگ گوشت قرمز تأثیر مثبتی دارد (۱۶). اثر مثبت استفاده از اکسیژن به میزان بیش از ۵۰ درصد به بقای رنگ قرمز گوشت و جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی و میکروآتروفیلیک بر می‌گردد (۱۷). با این حال زمان نگهداری گوشت به میزان دی‌اکسید کربن با غلظت ۲۰ تا ۴۰ درصد جهت کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها بستگی دارد (۱۸). اعضای

² Rhus coriaria³ Food and drug administration

گوشت ران گوساله از یکی از کشتارگاه‌های صنعتی شهر ارومیه تهیه گردید و سپس جهت تقسیم‌بندی در گروه‌های مختلف با استفاده از وسایل استریل به قطعات ۷۰ تا ۱۰۰ گرمی قطعه بندی شد. نمونه‌ها به‌طور تصادفی در ۱۲ گروه شامل کنترل ۱ (بدون عصاره، اسانس، کیتوزان و در بسته‌بندی معمولی) (کنترل ۲ (بدون عصاره، اسانس، کیتوزان و با MAP)، تیمار نمونه با کیتوزان CH، تیمار نمونه با سماق ۲ درصد و کیتوزان CH-SE 2%، تیمار نمونه با سماق ۴ درصد و کیتوزان CH-SE 4%، تیمار نمونه با سماق ۲ درصد، کیتوزان و اسانس آویشن شیرازی Z-CH-SE 2%، تیمار نمونه با سماق ۴ درصد، کیتوزان و اسانس آویشن شیرازی CH-SE 4%-Z در بسته‌بندی معمولی و پنج تیمار اخیر پس از بسته بندی در پوشش مخصوص دستگاه MAP با ضخامت ۱۲ میکرون تحت شرایط MAP (۸۰ درصد اکسیژن و ۲۰ درصد دی‌اکسید کربن) (VAC Star, S 220 MP, Switzerland) قرار گرفتند.

تهیه‌ی محلول کیتوزان حاوی غاظت‌های مختلف عصاره و اسانس:

ترکیب محلول کیتوزان به همراه عصاره سماق (۲ و ۴ درصد) و اسانس آویشن (۱ درصد) تهیه گردید (دلیل استفاده از این غلظت‌ها، آزمون‌های ابتدایی و بهترین اثر ضد میکروبی این غلظت‌ها به‌صورت ترکیبی بوده است) و بعد از آن گوشت ران گاو در آن فرو برده شد و قبل از بسته‌بندی به مدت سی دقیقه در مجاورت هوا خشک گردید. مدت‌زمان غوطه‌وری و ترکیب نمونه با پوشش‌ها برای همه تیمارها ۱/۵ تا دو دقیقه بود. در مورد تیمارهای با پوشش کیتوزان، محلول کیتوزان (سیگما-آلدریج با وزن مولکولی متوسط) ۲ درصد (w/v) درون اسید استیک (سیگما-آلدریج) یک درصد (v/v) تهیه گردید. سپس به آن به اندازه ۰/۷۵ درصد گلیسرول (سیگما-آلدریج) به‌عنوان پلاستی‌سایزر اضافه شد. در مورد تیمارهایی که در آن‌ها اسانس به کار می‌رود، به‌منظور پخش یکنواخت و کامل اسانس در محلول کیتوزان ابتدا اسانس موردنظر با توپین ۸۰ (سیگما-آلدریج) مخلوط شده و سپس به محلول کیتوزان اضافه گردید. پس از اعمال همه تیمارها بر نمونه‌ها آن‌ها را در بسته‌های مخصوص قرار داده و به مدت ۲۰ روز در یخچال در دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار دادند و در این بین در روزهای صفر، چهار، هشت، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ از لحاظ میکروبی و حسی مورد آزمون قرار گرفت (۲۱).

آزمون‌های میکروبی:

خانواده انتروباکتریاسه، سودوموناس و باکتری‌های اسیدلاکتیک جز عوامل فساد در گوشت قرمز به حساب می‌آیند. توزیع و فراوانی فساد در گوشت قرمز تا حد زیادی به مدت‌زمان نگهداری آن بستگی دارد (۱۹).

با تکیه بر مطالب مذکور، در این مطالعه که به‌صورت مداخله‌ای تجربی انجام شد، استفاده از پوشش کیتوزان به همراه عصاره سماق و اسانس آویشن شیرازی بر ویژگی‌های میکروبی و حسی گوشت قرمز ران گاو^۴ بسته‌بندی شده به روش معمولی و اتمسفر اصلاح شده به‌صورت مقایسه‌ای برای نخستین بار مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آماده سازی عصاره آبی-الکلی سماق:

برای این منظور پس از خریداری سماق برای عصاره‌گیری، سماق در هوای آزاد خشک گردید. سپس توسط آسیاب به‌صورت پودر درآورده و از الک به اندازه ۶۰ مش عبور داده شد. سپس ۲۵۰ گرم پودر در یک لیتر الکل اتانول خالص و آب به نسبت ۷۰ به ۳۰ از طریق شیکر حل شده و به مدت شش ساعت در روتاری شیکردار (Brochure, India) با دور ۱۵۰ rpm قرار داده شد. بعد از این مدت از کاغذ واتمن شماره ۴۱ عبور داده شده و سپس در تبخیرکننده با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای حذف حداقل ۹۰ درصد حلال قرار داده شد و در نهایت برای تغلیظ نهایی در دسیکاتور قرار داده شده و تا زمان استفاده در شیشه‌های عایق نور و هوا در دمای یخچال نگه‌داری گردید (۲۰).

آماده سازی و شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن شیرازی:

بخش‌های هوایی گیاه آویشن شیرازی خشک از بازار شهر ارومیه خریداری و پس از شناسایی گونه و جنس گیاه در موسسه گیاهان دارویی کرج، اسانس روغنی آن به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر^۵ جدا گردید. اسانس حاصله با سولفات سدیم آنهیدروز، آبگیری و از فیلترهای ۰/۲۲ میکرونی عبور داده شد و تا زمان استفاده در شیشه‌های مخصوص درب‌دار در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی روغن فرار گیاه، از دستگاه کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی^۶ استفاده شد. دستگاه گاز کروماتوگرافی از نوع Hewlet Packard 6890N با ستون HP-5MS استفاده گردید. طیف نگار جرمی مدل Hewlet Packard 5973N مورد استفاده قرار گرفت.

آماده کردن نمونه‌های گوشت:

⁶- Gas Chromatography-Mass Spectrometry

⁴- Quadriceps femoris

⁵- Clevenger

به صورت عمقی به میزان یک میلی لیتر بر روی محیط کشت ویولت ردبایل گلوکز آگار^{۱۰} و در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت نگه داری گردید. کشت و شمارش کپک و مخمر به صورت کشت سطحی بر روی محیط رزبنگال کلرام فنیکول سلکتیو آگار^{۱۱} که به مدت سه تا پنج روز در دمای اتاق نگهداری گردید.

آنالیز آماری داده‌ها:

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و نرم‌افزار SPSS (IBM spss statistics 20) و مقایسه‌ی میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و مقادیر $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. کلیه آزمون‌ها با سه بار تکرار صورت پذیرفت.

یافته‌ها

آنالیز شیمیایی اسانس آویشن شیرازی:

جدول (۱) آنالیز ترکیبات شیمیایی آویشن شیرازی را توسط GC-MS^{۱۲} نشان می‌دهد. به‌طور کلی ۳۵ ترکیب به میزان ۹۹/۴۹ درصد از ترکیبات ZEO تشخیص داده شد. ترکیبات غالب موجود شامل: کاروکرول (۴۶/۸۲ درصد)، تیمول (۱۸/۳۴ درصد)، لینالول (۱۲/۷۱ درصد) بودند.

مقدار ۱۰ گرم نمونه به همراه ۹۰ میلی لیتر آب پیتونه‌ی ۰/۱ درصد (مرک-آلمان) را داخل کیسه‌ی مخصوص استومکر مخلوط کرده و در استومکر با ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت سه دقیقه هموزن گردید. سایر رقت‌ها در لوله‌های حاوی آب پیتونه‌ی ۰/۱ درصد تهیه گردید. آزمایشات میکروبی صورت گرفته شامل:

کلیه محیط‌های کشت میکروبی مورد استفاده در این آزمون از شرکت مرک آلمان تهیه گردید. کشت و شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی به روش کشت سطحی در پلیت‌های محتوی محیط کشت پلیت کانت آگار^۷ انجام گردید. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. کشت و شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک که در محیط کشت دمن روگوسا شارپ آگار^۸ صورت پذیرفت. پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در جار بی‌هوازی به همراه گازیک نوع C (Merck Millipore) نگهداری گردیدند. کشت و شمارش باکتری‌های سودوموناس به روش کشت سطحی بر روی محیط کشت سودوموناس آگار بیس حاوی ستریماید فوسیدین سفالوریدین^۹ گرمخانه‌گذاری به مدت دو روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. کشت و شمارش باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه

جدول (۱): ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس آویشن شیرازی

ترکیبات	درصد	شاخص بازداری
آلفا پینن	۰/۷۱	۹۳۵
۳-اکتانول	۰/۷۸	۹۸۶
۳-اکتانول	۰/۲۷	۱۰۰۲
پاراسیمن	۰/۸۹	۱۰۳۱
لیمونن	۰/۱۵	۱۰۵۲
۱ و ۸ سینئول	۰/۶۹	۱۰۳۵
لینالول	۱۲/۷۱	۱۰۹۹
۲ نونانول	۰/۴۲	۱۱۰۷
بورنئول	۰/۲۷	۱۱۷۸
آلفا ترپینئول	۱/۳۴	۱۲۰۳
آلفا ترپینولن	۰/۱۱	۱۱۹۱
کاریوفیلن اکسید	۰/۹۴	۱۵۹۲
بتا کاروفیلن	۱/۰۹	۱۴۳۷

¹⁰ (VRBG) Violet Red Bile Glucose agar

¹¹ (RBCA) Rose Bengal Chloramphenicol Selective agar

¹² gas-chromatography and mass spectrometry

⁷ Plate count agar

⁸ de Man Rogosa Sharp agar

⁹ (CFC) Cetrimeid Fusidin Cephaloridine

شاخص بازداری	درصد	ترکیبات
۱۰۰۴	۰/۷۱	بتا میرسن
۱۴۷۲	۰/۹۴	آرومادندرن
۱۰۸۱	۰/۵۹	گاما ترپینن
۱۱۵۱	۰/۳۲	هوترینول
۱۲۳۷	۰/۸۲	تیمول متیل اتر
۱۰۸۱	۰/۴۲	ترانس سابینن هیدرات
۱۲۷۱	۱۸/۳۴	تیمول
۱۰۳۱	۴۶/۸۲	کاروکرول
۱۲۵۲	۲/۲۳	کاروکرول متیل اتر
۱۳۹۴	۰/۵۲	کاروکرول استات
۱۲۷۱	۱/۰۳	لینالیل استات
۱۵۸۴	۱/۲۱	اسپاتولنول
۱۴۴۶	۱/۴۳	ترانس کاریوفیلین
۱۵۰۴	۰/۵۲	وریدیفلورن
۱۱۰۷	۰/۷۱	سیس لینالولوکسید
۱۱۷۲	۰/۹۴	ترپینن ۴ آل
۱۲۷۶	۰/۳۲	ژرانیول
۱۱۴۷	۰/۳۲	۱,۳,۸ منتاترین
۱۵۱۲	۰/۲۴	بایسیکلوجرماکرن
۱۴۹۲	۰/۳۶	کیورکیومن (آر)
۱۱۳۷	۰/۰۶	۳-اکتانول استات
۱۴۰۲	۰/۲۷	ژرانیل استات
-	۹۹/۴۹	جمع کل

آنالیز میکروبی:

تیمارهای با بسته‌بندی MAP هم وجود داشته ولی مقادیر باکتری-های موجود به غیر از باکتری‌های اسیدلاکتیک و کپک-مخمر در بسته‌بندی MAP کم‌تر بود. با توجه به نتایج جدول (۲) میزان ابتدایی باکتری‌های مزوفیل هوازی به ترتیب در بسته‌بندی معمولی و MAP ۴/۶۳ و ۴/۲۱ log CFU/g بوده و دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ($p < 0.05$). در کنترل ۱ در روز ۴ و در کنترل ۲ در روز ۸ تعداد باکتری‌های مزوفیل از ۷ log CFU/g تجاوز نمود ولی در سایر تیمارها (غیر از کیتوزان در بسته‌بندی معمولی) سطح باکترهای مزوفیل تا روز پایانی از ۷ log CFU/g تجاوز نکرد.

نتایج مربوط به تغییرات جمعیت‌های میکروبی شامل باکتری-های اسیدلاکتیک، انتروباکتریاسه، سودوموناس، باکتری‌های مزوفیل هوازی و کپک-مخمر در شرایط بسته‌بندی معمولی و MAP در جداول ۲ تا ۶ در شرایط نگهداری در یخچال نمایش داده شده است. در همه موارد مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره سماق میزان باکتری‌ها در قیاس با نمونه‌های کنترل کاهش یافته است. در مجموع بیشترین تأثیر ضد میکروبی تیمارها در بسته‌بندی معمولی به ترتیب مربوط به CH-SE2%-Z، CH-SE4%-Z، CH-SE2%-Z، CH-SE4%-Z و کنترل می‌باشد. همین الگو در مورد

جدول (۲): میانگین تعداد باکتری‌های مزوفیل در تیمارهای مختلف گوشت قرمز در بسته‌بندی معمولی و اتمسفر اصلاح شده

روزها نگهدار							
۲۰	۱۶	۱۲	۸	۴	صفر	تمار	
۸/۹۵±۰/۱۴ ^{Da}	۸/۵۳±۰/۰۶ ^{Ca}	۸/۳۹±۰/۰۷ ^{Ca}	۸/۲۶±۰/۰۶ ^{Ca}	۷/۱±۰/۱۱ ^{Ba}	۴/۶۳±۰/۰۷ ^{Aab}	C	
*۸/۷۵±۰/۱ ^{Db}	*۸/۳۳±۰/۰۵ ^{Cb}	*۸/۰۹±۰/۱۲ ^{Cb}	*۷/۸۱±۰/۰۴ ^{Cb}	*۶/۴۷±۰/۱۶ ^{Bb}	*۴/۲۱±۰/۰۴ ^{Ab}		
۷/۰۱±۰/۱۳ ^{Cb}	۶/۲۹±۰/۰۶ ^{Bb}	۶/۱۲±۰/۰۱ ^{Bb}	۵/۹±۰/۰۵ ^{Bb}	۵/۶۱±۰/۱۵ ^{Bb}	۴/۵۹±۰/۰۹ ^{Aa}	CH	
*۶/۵۱±۰/۱ ^{Cc}	*۶/۱۲±۰/۰۱ ^{Cc}	*۵/۸۲±۰/۰۹ ^{Bc}	*۵/۵۲±۰/۰۱ ^{Bc}	*۵/۳۴±۰/۰۷ ^{Bc}	*۴/۱۹±۰/۰۹ ^{Ab}		
۶/۳۸±۰/۰۶ ^{Cc}	۵/۸۶±۰/۰۴ ^{Bc}	۵/۶±۰/۰۳ ^{Bc}	۵/۲۶±۰/۰۵ ^{Bc}	۴/۸۶±۰/۰۴ ^{Ac}	۴/۵±۰/۰۸ ^{Acb}	CH-SE2%	
*۶/۰۹±۰/۰۱ ^{Cd}	*۵/۶۴±۰/۰۴ ^{Cd}	*۵/۲۶±۰/۰۳ ^{Bd}	*۴/۹۳±۰/۰۵ ^{Bd}	*۴/۵۱±۰/۰۹ ^{Bd}	*۳/۹۵±۰/۱۵ ^{Ac}		
۵/۹۱±۰/۰۶ ^{Cd}	۵/۶۲±۰/۰۶ ^{Cd}	۵/۳۲±۰/۰۴ ^{Bd}	۴/۹۲±۰/۰۴ ^{Ad}	۴/۶۷±۰/۰۴ ^{Ad}	۴/۴۸±۰/۰۳ ^{Acb}	CH-SE4%	
*۵/۷۴±۰/۱ ^{Ce}	*۵/۲۲±۰/۰۹ ^{Ce}	*۵/۱۱±۰/۰۱ ^{Ce}	*۴/۶۵±۰/۰۳ ^{Be}	*۴/۲۱±۰/۰۲ ^{Be}	*۳/۷۸±۰/۱۱ ^{Ad}		
۵/۴±۰/۰۶ ^{Bc}	۵/۲۱±۰/۰۵ ^{Bc}	۴/۹۳±۰/۰۳ ^{Ae}	۴/۷۶±۰/۰۳ ^{Ae}	۴/۵۹±۰/۰۲ ^{Ae}	۴/۴۵±۰/۰۶ ^{Ac}	CH-SE2%-Z	
*۵/۲۳±۰/۱ ^{Bf}	*۴/۷۹±۰/۰۸ ^{Bf}	*۴/۷۱±۰/۰۴ ^{Bf}	*۴/۳۳±۰/۱ ^{Af}	*۳/۹۸±۰/۱ ^{Af}	*۳/۷۱±۰/۰۲ ^{Ad}		
۵/۲۶±۰/۰۳ ^{Bf}	۵/۰۳±۰/۰۶ ^{Af}	۴/۸۵±۰/۰۵ ^{Ae}	۴/۷۱±۰/۰۱ ^{Ae}	۴/۶±۰/۰۲ ^{Ae}	۴/۵±۰/۰۳ ^{Acb}	CH-SE4%-Z	
*۴/۷۱±۰/۰۵ ^g	*۴/۱۳±۰/۰۴ ^{Ag}	*۳/۸۵±۰/۰۵ ^{Ag}	*۳/۷۱±۰/۰۱ ^{Ag}	*۳/۶±۰/۰۵ ^{Ag}	*۳/۷۴±۰/۰۸ ^{Ad}		

(حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها و تیمارها می‌باشد)

(C کنترل، CH کیتوزان، CH-SE 2%-CH سماق ۲ درصد و کیتوزان، CH-SE 4% سماق ۴ درصد و کیتوزان، CH-SE 2%-Z سماق ۲ درصد

و اسانس و کیتوزان، CH-SE 4%-Z سماق ۴ درصد و اسانس و کیتوزان)

(اعداد ستاره‌دار مربوط به تیمارهای با بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده می‌باشند)

به بسته‌بندی معمولی به میزان کم‌تری صورت می‌گیرد. میزان باکتری‌های اسیدلاکتیک به ترتیب در بسته‌بندی معمولی و MAP برای تیمار CH-SE 2%-Z در روز ۲۰، ۵/۹۴ و ۵/۶۷ log CFU/g بود. در بین همه تیمارها، CH-SE 2%-Z و CH-SE 4%-Z دارای بیشترین اثر مهار کنندگی در مقابل رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک را دارا بودند. در مطالعه حاضر در پایان روز ۲۰ شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک در تیمار CH-SE 4%-Z نسبت به گروه کنترل ۱ به میزان ۲/۶۷ log CFU/g کم‌تر گزارش گردید.

اثر عصاره سماق، کیتوزان و اسانس آویشن شیرازی بر مهار رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک در بسته‌بندی معمولی و MAP در جدول (۳) نمایش داده شده است. میزان اختلاف شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک در بسته‌بندی معمولی و MAP در روز ابتدایی نسبت به روز پایانی آزمایش به ترتیب ۳/۶۲ log CFU/g و ۳/۲۸ log CFU/g بود. در پایان دوره آزمایش شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک در بسته‌بندی معمولی و MAP در تیمار CH-SE 4%-Z به ترتیب ۴/۷۳ و ۴/۸۳ log CFU/g بود که نشان می‌دهد در شرایط MAP میزان مهار رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک نسبت

جدول (۳): میانگین تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در تیمارهای مختلف گوشت قرمز در بسته‌بندی معمولی و اتمسفر اصلاح شده

تیمار	روزهای نگهداری					
	صفر	۴	۸	۱۲	۱۶	۲۰
C	۳/۷۸±۰/۰۱ ^{Aa}	۴/۷۵±۰/۰۳ ^{Ba}	۵/۴±۰/۰۷ ^{Ca}	۵/۸۴±۰/۰۲ ^{Ca}	۶/۲۸±۰/۰۲ ^{Ca}	۷/۴±۰/۰۴ ^{Da}
CH	۴/۰۸±۰/۰۹ ^{Ab}	۴/۹۱±۰/۰۷ ^{Bb}	۵/۶۹±۰/۰۷ ^{Cb}	۶/۱۱±۰/۰۱۳ ^{Da}	۶/۳۷±۰/۰۳ ^{Db}	۷/۳۶±۰/۰۱ ^{Ea}
CH-SE2%	۳/۷۳±۰/۰۳ ^{Aa}	۳/۸۱±۰/۰۱ ^{Ac}	۴/۱۵±۰/۰۳ ^{Ac}	۴/۵۴±۰/۰۳ ^{Bc}	۴/۸۵±۰/۰۳ ^{Bc}	۵/۹۴±۰/۰۵ ^{Cc}
CH-SE4%	۳/۶۶±۰/۰۳ ^{Acb}	۳/۷۶±۰/۰۱ ^{Ad}	۳/۹۳±۰/۰۲ ^{Ad}	۴/۲۸±۰/۰۳ ^{Bd}	۴/۶۴±۰/۰۵ ^{Bd}	۵/۶۷±۰/۰۱ ^{Cd}
CH-SE2%-Z	۳/۶۳±۰/۰۳ ^{Ac}	۳/۷۲±۰/۰۱ ^{Ac}	۳/۸۱±۰ ^{Ac}	۳/۹۲±۰/۰۱ ^{Ae}	۴/۲۵±۰/۰۳ ^{Bc}	۴/۸۷±۰/۰۵ ^{Be}
CH-SE4%-Z	۳/۶۷±۰/۰۱ ^{Acb}	۳/۷۲±۰ ^{Ae}	۳/۷۹±۰/۰۱ ^{Ae}	۳/۸۹±۰/۰۱ ^{Ae}	۴/۱۲±۰ ^{Af}	۴/۷۳±۰/۰۲ ^{Bf}
	۳/۶۹±۰/۰۲ ^{Ad}	۳/۷۸±۰/۰۹ ^{Ae}	۳/۸۵±۰/۰۵ ^{Ag}	۳/۹۷±۰/۰۳ ^{Ag}	۴/۱۹±۰/۰۵ ^{Af}	۴/۸۳±۰/۰۹ ^{Bf}

(حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها و تیمارها می‌باشد)

(C کنترل، CH کیتوزان، SE 2%-CH سماق ۲ درصد و کیتوزان، CH-SE 4% سماق ۴ درصد و کیتوزان، CH-SE 2%-Z سماق ۲ درصد

و اسانس و کیتوزان، CH-SE 4%-Z سماق ۴ درصد و اسانس و کیتوزان)

(اعداد ستاره‌دار مربوط به تیمارهای با بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده می‌باشند)

MAP در بسته‌بندی در کاهش رشد خانواده *انتروباکتریاسه* تأثیر قابل توجهی را نشان داد. به طوری که میزان این گروه از باکتری‌ها در تیمار CH-SE 4%-Z در روز آخر آزمون در شرایط بسته‌بندی معمولی ۴ log CFU/g و در بسته‌بندی MAP این میزان ۳/۸۶ log CFU/g گزارش گردید. تعداد باکتری‌های متعلق به خانواده *انتروباکتریاسه* در روز ۲۰ در شرایط MAP تیمار CH-SE 4%-Z نسبت به CH-SE 2%-Z به میزان معنی‌داری بیشتر گزارش گردید.

شمارش ابتدایی باکتری‌های *انتروباکتریاسه* تقریباً در همه تیمارها حدود ۳/۶ log CFU/g بود. در مطالعه حاضر در تمام مراحل افزایشی در میزان باکتری‌ها مشاهده گردید که این افزایش در نمونه‌های کنترل نسبت به سایر تیمارها به شکل معنی‌داری بیشتر بود. در همه تیمارها کاهش ۱ تا ۳ log CFU/g در میزان شمارش باکتری‌های متعلق به این خانواده نسبت به گروه کنترل ۱ تا پایان روز ۲۰ مشاهده شد. کاهش ۳/۷۳ log CFU/g در CH-SE 2%-Z در قیاس با کنترل ۲ دیده شد. استفاده از تکنولوژی

جدول (۴): میانگین تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه در تیمارهای مختلف گوشت قرمز در بسته‌بندی معمولی و اتمسفر اصلاح شده

تیمار	روزهای نگهداری					
	صفر	۴	۸	۱۲	۱۶	۲۰
C	۳/۷۴±۰/۰۱ ^{Aa}	۶/۸۴±۰/۰۱۲ ^{Ba}	۷/۲۱±۰/۰۹ ^{Ca}	۷/۳۴±۰/۰۳ ^{Ca}	۷/۴۴±۰/۰۴ ^{Ca}	۷/۶۴±۰/۰۸ ^{Ca}
CH	۳/۶۳±۰/۰۵ ^{Aa}	۶/۶۱±۰/۰۸ ^{Bb}	۶/۹۲±۰/۰۴ ^{Cb}	۷/۱۴±۰/۰۴ ^{Db}	۷/۳۱±۰/۰۷ ^{Da}	۷/۵۹±۰/۰۱ ^{Da}
CH-SE2%	۳/۷۱±۰/۰۳ ^{Aa}	۵/۵۱±۰/۰۱ ^{Bc}	۵/۸۴±۰/۰۵ ^{Bc}	۶/۱۱±۰/۰۱ ^{Bc}	۶/۲۶±۰/۰۸ ^{Bb}	۶/۵۶±۰/۰۱ ^{Cb}
CH-SE4%	۳/۵۷±۰/۰۶ ^{Ab}	۴/۶۶±۰/۰۵ ^{Bc}	۴/۸۸±۰/۰۴ ^{Bc}	۵/۱۹±۰/۰۳ ^{Cc}	۵/۳۲±۰/۰۱ ^{Cc}	۵/۴۸±۰/۰۳ ^{Cc}
	۳/۳۴±۰/۰۹ ^{Ab}	۴/۲۷±۰/۰۱۵ ^{Bd}	۴/۵۸±۰/۰۱۴ ^{Bd}	۴/۸۲±۰/۰۲۵ ^{Bd}	۵/۱۲±۰/۰۱۳ ^{Cc}	۵/۲۸±۰ ^{Cc}
	۳/۵۹±۰/۰۷ ^{Ab}	۳/۹۲±۰/۰۴ ^{Ad}	۴/۱۶±۰/۰۴ ^{Ad}	۴/۳۶±۰/۰۳ ^{Bd}	۴/۴۸±۰/۰۸ ^{Bd}	۴/۷۲±۰/۰۵ ^{Bd}

تیما	روزهای نگهداری					
	صفر	۴	۸	۱۲	۱۶	۲۰
	$3/21 \pm 0.24^{Ac}$	$3/78 \pm 0.4^{Ac}$	$3/92 \pm 0.16^{Ac}$	$4/16 \pm 0.5^{Bc}$	$4/38 \pm 0.12^{Bd}$	$4/59 \pm 0.1^{Bd}$
CH-SE2%-Z	$3/57 \pm 0.5^{Ab}$	$3/67 \pm 0.4^{Ac}$	$3/71 \pm 0.1^{Ac}$	$3/81 \pm 0.1^{Ac}$	$3/93 \pm 0.2^{Ac}$	$4/18 \pm 0.7^{Bc}$
	$3/0.2 \pm 0.6^{Ad}$	$3/81 \pm 0.8^{Ac}$	$3/49 \pm 0.21^{Bf}$	$3/66 \pm 0.3^{Bf}$	$3/71 \pm 0.2^{Bc}$	$3/79 \pm 0.1^{Bc}$
CH-SE4%-Z	$3/58 \pm 0.6^{Ab}$	$3/65 \pm 0.4^{Ac}$	$3/68 \pm 0.4^{Ac}$	$3/73 \pm 0.1^{Af}$	$3/83 \pm 0.1^{Af}$	4 ± 0.8^{Af}
	$3/99 \pm 0.11^{Ad}$	$3/43 \pm 0.7^{Af}$	$3/4 \pm 0.9^{Ag}$	$3/61 \pm 0.5^{Af}$	$3/65 \pm 0.5^{Af}$	$3/86 \pm 0.7^{Bf}$

(حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک به ترتیب نشاندهنده اختلاف معنی دار بین روزها و تیمارها می باشد)

(C کنترل، CH کیتوزان، SE 2%-CH سماق ۲ درصد و کیتوزان، CH-SE 4% سماق ۴ درصد و کیتوزان، CH-SE 2%-Z سماق ۲ درصد و اسانس و کیتوزان، CH-SE 4%-Z سماق ۴ درصد و اسانس و کیتوزان)

(اعداد ستاره دار مربوط به تیمارهای با بسته بندی اتمسفر اصلاح شده می باشند)

سودوموناس CH-SE 4%-Z و در شرایط CH-SE 4%-MAP، SE 4%-CH، در روز ۱۲ اختلاف شمارش گونه سودوموناس در تیمار SE 4%-CH-Z نسبت به کنترل ۱، میزان $\log CFU/g$ ۲/۲۹ و در شرایط MAP، $\log CFU/g$ ۲/۵۷ بود. تعداد باکتری های سودوموناس در روز ۲۰ در شرایط MAP تیمار CH-SE 2%-Z نسبت به SE 4%-CH و CH-SE 2% به میزان معنی داری بیشتر گزارش گردید ($p < 0.05$).

شمارش ابتدایی سودوموناس در بسته بندی معمولی بین ۲/۶۹ تا $\log CFU/g$ ۲/۹۴ بوده است، در حالی که این رقم در تیمارهای MAP بین ۲/۹۹ تا $\log CFU/g$ ۳/۷۴ گزارش گردید. در پایان روز بیستم شمارش این باکتری در بسته بندی معمولی ۵/۹۶، ۴/۶۰ و $\log CFU/g$ ۴/۱۸ به ترتیب در تیمار کنترل ۱، CH-SE 4% و CH-SE 4%-Z گزارش گردید. این ارقام در همین تیمارها در شرایط MAP، ۵/۶۶، ۳/۷۲ و $\log CFU/g$ ۴/۱۸ بود. بنابراین در بسته بندی معمولی بهترین تیمار در جهت کاهش رشد گونه های

جدول (۵): میانگین تعداد باکتری های سودوموناس در تیمارهای مختلف گوشت قرمز در بسته بندی معمولی و اتمسفر اصلاح شده

تیما	روزهای نگهداری					
	صفر	۴	۸	۱۲	۱۶	۲۰
C	$2/94 \pm 0.3^{Aa}$	$3/24 \pm 0.2^{Aa}$	$4/88 \pm 0.3^{Ba}$	$5/43 \pm 0.4^{Ca}$	$5/74 \pm 0.3^{Ca}$	$5/96 \pm 0.4^{Ca}$
	$2/64 \pm 0.5^{Ab}$	$2/94 \pm 0.7^{Ab}$	$4/65 \pm 0.4^{Cb}$	$5/11 \pm 0.9^{Db}$	$5/59 \pm 0.3^{Da}$	$5/66 \pm 0.1^{Db}$
CH	$2/81 \pm 0.2^{Ac}$	$3/14 \pm 0.2^{Bb}$	$3/95 \pm 0.3^{Cb}$	$4/33 \pm 0.2^{Cb}$	$4/57 \pm 0.4^{Db}$	$5/16 \pm 0.4^{Db}$
	$2/55 \pm 0.2^{Ac}$	$3/71 \pm 0.9^{Ac}$	$3/67 \pm 0.5^{Bc}$	$4/0.9 \pm 0.17^{Bc}$	$4/39 \pm 0.7^{Bc}$	$4/52 \pm 0.4^{Cc}$
CH-SE2%	$2/69 \pm 0.2^{Ad}$	$2/96 \pm 0.1^{Ac}$	$3/52 \pm 0.2^{Bc}$	$3/86 \pm 0.3^{Bc}$	$4/3 \pm 0.2^{Cc}$	$4/79 \pm 0.1^{Cc}$
	$2/42 \pm 0.9^{Ad}$	$2/59 \pm 0.12^{Ad}$	$2/72 \pm 0.5^{Ad}$	$3/56 \pm 0.4^{Bd}$	4 ± 0.2^{Bd}	$4/19 \pm 0.4^{Bd}$
CH-SE4%	$2/82 \pm 0.2^{Ab}$	$2/92 \pm 0.1^{Ad}$	$3/34 \pm 0.2^{Ad}$	$3/54 \pm 0.3^{Bd}$	$4/0.2 \pm 0.6^{Bd}$	$4/0.6 \pm 0.2^{Bd}$
	$2/51 \pm 0.2^{Acc}$	$2/45 \pm 0.5^{Ac}$	$2/61 \pm 0.6^{Ac}$	$3/5 \pm 0.1^{Bc}$	$3/59 \pm 0.3^{Bc}$	$3/72 \pm 0.1^{Bc}$
CH-SE2%-Z	$2/76 \pm 0.4^{Ac}$	$2/89 \pm 0.1^{Ad}$	$3/14 \pm 0.3^{Ac}$	$3/37 \pm 0.1^{Bc}$	$3/67 \pm 0.4^{Bc}$	$4/51 \pm 0.1^{Cc}$
	$2/43 \pm 0.4^{Afd}$	$2/49 \pm 0.9^{Af}$	$2/52 \pm 0.7^{Af}$	$2/75 \pm 0.7^{Af}$	$3/67 \pm 0.4^{Bf}$	$4/51 \pm 0.6^{Cf}$
CH-SE4%-Z	$2/76 \pm 0.2^{Ac}$	$2/85 \pm 0.3^{Ac}$	3 ± 0.1^{Af}	$3/14 \pm 0.2^{Af}$	$3/46 \pm 0.3^{Bf}$	$4/18 \pm 0.1^{Bf}$
	$2/31 \pm 0.5^{Ag}$	$2/35 \pm 0.8^{Ag}$	$2/4 \pm 0.6^{Ag}$	$2/54 \pm 0.11^{Ag}$	$3/28 \pm 0.8^{Ag}$	$4/18 \pm 0.4^{Bg}$

(حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک به ترتیب نشاندهنده اختلاف معنی دار بین روزها و تیمارها می باشد)

(C کنترل، CH کیتوزان، SE 2%-CH سماق ۲ درصد و کیتوزان، CH-SE 4% سماق ۴ درصد و کیتوزان، CH-SE 2%-Z سماق ۲ درصد و اسانس و کیتوزان، CH-SE 4%-Z سماق ۴ درصد و اسانس و کیتوزان)

(اعداد ستاره دار مربوط به تیمارهای با بسته بندی اتمسفر اصلاح شده می باشند)

رشد کپک-مخمر نسبت به بسته‌بندی معمولی گردید. به‌طوریکه در پایان روز آزمون در تیمار Z-2% CH-SE در شرایط بسته‌بندی معمولی شمارش کپک-مخمر $10^{1.18}$ log CFU/g کم‌تر از بسته‌بندی MAP بود.

شمارش ابتدایی کپک-مخمر در نمونه‌های کنترل ۱ و ۲ به‌ترتیب $3/03$ و $3/28$ log CFU/g بودند. در پایان روز ۲۰ آزمون، نمونه‌های کنترل دارای رشد کپک و مخمر بیشتری نسبت به سایر تیمارها بودند. درصد بالای اکسیژن در شرایط MAP باعث بهبود

جدول (۶): میانگین تعداد کپک-مخمر در تیمارهای مختلف گوشت قرمز در بسته‌بندی معمولی و اتمسفر اصلاح شده

تیمار	روزهای نگهداری				
	۰	۱۶	۱۲	۸	۴
C	$3/03 \pm 0.06^{Ac}$	$3/28 \pm 0.06^{Ab}$	$4/92 \pm 0.06^{Bb}$	$4/77 \pm 0.05^{Ba}$	$5/3 \pm 0.03^{Ca}$
CH	$3/14 \pm 0.03^{Ab}$	$3/23 \pm 0.05^{Ab}$	$4/57 \pm 0.04^{Bb}$	$4/95 \pm 0.03^{Bb}$	$5/56 \pm 0.08^{Bb}$
CH-SE2%	$3/17 \pm 0.01^{Ab}$	$3/26 \pm 0.06^{Ab}$	$4/35 \pm 0.03^{Bc}$	$4/65 \pm 0.03^{Bc}$	$6/66 \pm 0.04^{Cc}$
CH-SE4%	$3/13 \pm 0.01^{Ab}$	$3/17 \pm 0.02^{Ac}$	$4/34 \pm 0.03^{Bd}$	$4/29 \pm 0.02^{Bd}$	$6/24 \pm 0.01^{Cd}$
CH-SE2%-Z	$3/29 \pm 0.01^{Aa}$	$3/64 \pm 0.03^{Ae}$	$3/92 \pm 0.01^{Ae}$	$4/49 \pm 0.07^{Be}$	$6/36 \pm 0.08^{Ce}$
CH-SE4%-Z	$3/11 \pm 0.03^{Ac}$	$3/16 \pm 0.02^{Ab}$	$3/77 \pm 0.03^{Ae}$	$4/21 \pm 0.08^{Bf}$	$5/78 \pm 0.06^{Cf}$
	$3/16 \pm 0.05^{Ac}$	$4/51 \pm 0.05^{Bc}$	$4/13 \pm 0.02^{Bg}$	$5/51 \pm 0.06^{Dg}$	$5/94 \pm 0.04^{Cg}$

(حروف غیرمشابه بزرگ و کوچک به‌ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها و تیمارها می‌باشد)

C) کنترل، CH کیتوزان، CH-SE 2%-CH 2% سماق ۲ درصد و کیتوزان، CH-SE 4%-CH 4% سماق ۴ درصد و کیتوزان، CH-SE 2%-Z 2% سماق ۲ درصد و اسانس و کیتوزان، CH-SE 4%-Z 4% سماق ۴ درصد و اسانس و کیتوزان (اعداد ستاره‌دار مربوط به تیمارهای با بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده می‌باشند)

بحث و نتیجه‌گیری

به بررسی اثرات کیتوزان در ترکیب با اسانس آویشن شیرازی به همراه آب انار پرداخته شده است، کاهش میزان آلودگی میکروبی و همچنین افزایش زمان ماندگاری گوشت مرغ در ۱۵ روز نگهداری به اثبات رسیده است (۱).

میزان ابتدایی باکتری‌های مزوفیل هوازی در آزمون تاجیک و همکاران (۲۰۱۵) $4/75$ (log CFU/g) برای گوشت بوفالو و بینگول و همکاران (۲۰۱۲) $4/5$ (log CFU/g) برای گوشت شترمرغ و همچنین مرفی و همکاران (۲۰۱۳) با نتایج آزمون حاضر مشابهت دارند (۲۵). در شرایط بسته‌بندی معمولی و MAP نتایج شمارش باکتری‌های مزوفیل در تیمارهای مختلف با یکدیگر دارای اختلاف معنی‌دار بوده و این میزان در بسته‌بندی MAP نسبت به بسته‌بندی معمولی در روزهای مختلف آزمون به میزان کم‌تری می‌باشد.

میتسوموتو و همکاران (۲۰۰۵) به این نتیجه رسیدند که زمان نگهداری گوشت خام در شرایط یخچالی حدود هفت روز می‌باشد

نتایج آزمون ترکیبات شیمیایی ZEO با نتیجه مطالعه کوردساردویی و همکاران (۲۰۱۳) یکسان بوده و مشخص گردید که کاروکرول و تیمول جز اصلی ترکیبات اسانس آویشن شیرازی می‌باشد (۲۲). با توجه به نتایج مطالعه پیش رو، مشخص گردید که استفاده توام از پوشش خوراکی کیتوزان، عصاره آبی-الکلی سماق و اسانس آویشن شیرازی اثرات سینرژیستی قابل‌توجهی در مهار رشد باکتری‌های مختلف در گوشت قرمز دارند. این اثرات در بسته‌بندی معمولی و MAP تا حدودی متفاوت بوده است. طبق مطالعه گذشته مشخص گردید که خواص ضد میکروبی ZEO به ترکیبات فنولیک مانند تیمول و کاروکرول بستگی دارد (۲۳). کاظمی و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند که افزودن اسانس آویشن شیرازی به گوشت باعث کاهش میزان آلودگی باکتریایی و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری آن می‌گردد (۲۴). در مطالعه بازرگانی و همکاران (۲۰۱۵) نیز که

انتروباکتریاسه گزارش نمودند (۳۵). مطابق با نتایج مطالعه حاضر، کاظیم و همکاران (۲۰۱۱) به اثرات قابل توجه اسانس آویشن شیرازی بر مهار رشد خانواده انتروباکتریاسه در برگر گوشت اشاره نمودند (۲۴). سولداتو و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که میزان باکتری خانواده انتروباکتریاسه در گوشت بره در سراسر دوره ننگه-داری افزایش می‌یابد (۳۶). نتایج مطالعه حاضر اثر سینرژیمی عصاره سماق، اسانس آویشن شیرازی و کیتوزان را بر مهار رشد این خانواده مشخص می‌کند.

گونه‌های سودوموناس با مصرف سیدوروفورها به‌عنوان عوامل رقیب در مقابل میکروارگانیسم‌های پاتوژن و عوامل فساد به حساب می‌آیند که می‌توانند باعث کاهش رشد این میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی گردند (۱). در مطالعه تاجیک و همکاران (۲۰۱۵) که بر روی اثرات اسانس آویشن شیرازی و عصاره دانه انگور بر گوشت بوفالو صورت گرفت، اختلاف شمارش گونه سودوموناس بعد از ۱۲ روز $1/62 \log \text{CFU/g}$ گزارش گردید (۲۶). نتایج اسمر و همکاران (۲۰۱۱) مطابق با نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که استفاده از MAP با شرایط (O₂/CO₂/N₂:70/30/0) و (O₂/CO₂/N₂:50/30/20) باعث محدودیت در رشد گونه‌های سودوموناس می‌شود (۳۷). بر خلاف مطالعه حاضر که افزایش غلظت اکسیژن، باعث کاهش میزان سودوموناس در طول دوره ننگه‌داری گردید، مطالعه مک میلین (۲۰۰۸) نشان داد که میزان بالای اکسیژن در بسته‌بندی باعث افزایش روند رشد باکتری سودوموناس می‌گردد که دلیل این امر می‌تواند به اثر سایر ترکیبات استفاده شده در این آزمون در کنار درصد بالای اکسیژن مربوط گردد. باید توجه داشت که سودوموناس از طریق تولید لیپاز و پروتئاز خارج سلولی باعث کاهش کیفیت گوشت می‌گردد (۲۸).

بررسی خصوصیات ضدقارچی اسانس آویشن شیرازی در مطالعه تاجیک و همکاران (۲۰۱۵) صورت گرفته است (۲۵). مهار رشد میکروارگانیسم‌ها در مطالعه کنونی تا روز پایانی نشانگر باقیماندن اثرات ضد میکروبی عصاره سماق و اسانس آویشن شیرازی در کنار پوشش خوراکی کیتوزان می‌باشد.

از مطالعه حاضر نتیجه‌گیری می‌شود که در درجه اول کیتوزان، عصاره آبی-الکلی سماق و اسانس آویشن شیرازی دارای خواص ضد میکروبی بوده و این خاصیت در صورتیکه این ترکیبات کنار هم به‌صورت ترکیبی استفاده شوند اثر بیشتری خواهد داشت و این اثر حداقل تا ۲۰ روز نیز دوام دارد تا جاییکه قابلیت نگهداری گوشت قرمز را تا این دوره زمانی افزایش می‌دهد. در ضمن هر چه غلظت عصاره سماق افزایش پیدا کند خاصیت ضد میکروبی آن نیز افزایش می‌یابد. از طرفی مشخص گردید که استفاده از MAP با غلظت بالای اکسیژن در جلوگیری از رشد خانواده انتروباکتریاسه،

اما در مطالعه حاضر نمونه‌ها با پوشش‌های مختلف تا پایان روز آزمایش قابل استفاده بودند. طبق نظر International Commission on Microbiological Specifications قابل پذیرش میکروبی در گوشت $7 \log \text{CFU/g}$ می‌باشد (۲۷). در همه تیمارها در مطالعه حاضر (غیر از تیمارهای کنترل و کیتوزان با بسته‌بندی معمولی) سطح باکتری‌های مزوفیل تا روز پایانی از $7 \log \text{CFU/g}$ تجاوز نکرد. در مطالعه علی‌اکبرلو و همکاران (۲۰۱۴) برای نمونه کنترل در روز چهارم و پنجم و برای تیمارهای حاوی کیتوزان در روز ۲۰ از این میزان تجاوز نمودند (۲۸). استفاده مجزا از اسانس و ترکیبات عصاره منجر به خواص سینرژیمی و یا آنتاگونیسمی در کاهش میزان رشد باکتری‌ها می‌گردد (۲۹) که بر اساس نتایج مطالعه حاضر این تأثیر به شکل سینرژیمی است. مطابق با نتایج زاگریس والیواندر و همکاران (۲۰۱۱) که بر روی استیک‌های بسته‌بندی گوشت گوساله صورت گرفت مشخص گردید که زمان ننگه-داری نمونه‌ها با استفاده از ۸۰ درصد اکسیژن در بسته‌بندی MAP حداقل ۱۴ روز می‌باشد (۳۰).

باکتری‌های اسیدلاکتیک، باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری هستند و به‌عنوان بخشی از فلور میکروبی گوشت شناخته می‌شوند. بعضی از گونه‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک می‌توانند به‌عنوان عوامل فساد در گوشت مطرح باشند (۳۱). میزان باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌ترتیب در بسته‌بندی معمولی و MAP برای تیمار CH-SE 2% در روز ۲۰، $5/94 \log \text{CFU/g}$ و $5/67$ بود که این میزان در مطالعه تاجیک و همکاران (۲۰۱۵) که به بررسی اثرات عصاره دانه انگور و اسانس آویشن شیرازی بر گوشت قرمز پرداخته در روز نهم مشاهده گردید (۲۵). مطالعه ارکولینی و همکاران ۲۰۰۶ نیز به تفاوت میزان شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک در شرایط MAP و بسته‌بندی معمولی اشاره نموده است (۳۲). این در حالی است که این اختلاف در کنترل ۲ به میزان $2/53 \log \text{CFU/g}$ گزارش شد. کوتسومانیس و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک تا روز هشتم نگهداری در فیلم با نفوذ پذیری پایین به دلیل تولید دی‌اکسیدکربن افزایش یافته و سپس شروع به کاهش می‌کند (۳۳).

به‌طور کلی، انتروباکتریاسه به‌عنوان گروهی از باکتری‌های بی-هوازی اختیاری قسمتی از میکرو فلور گوشت را تشکیل می‌دهند. شمارش ابتدایی انتروباکتریاسه در مطالعه بینگول و آرگون ۲۰۱۲، $3/5 \log \text{CFU/g}$ و سیدیم و همکاران ۲۰۰۶ به میزان $2/3 \log \text{CFU/g}$ و فرناندز-لوپز و همکاران (۲۰۰۸)، $2 \log \text{CFU/g}$ گزارش گردید (۳۴). در حالی که این میزان در مطالعه حاضر برای اکثر تیمارها حدوداً $3/6 \log \text{CFU/g}$ گزارش گردید. داهام و همکاران (۲۰۱۰) اثر ترکیبی کیتوزان و سولفیت را بر مهار رشد باکتری‌های

تشکر و قدردانی

انجام این تحقیق با مساعدت بی دریغ دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه و زحمات فراوان اساتید محترم، دکتر تورج مهدیزاده و دکتر مهران مرادی در قالب پایان نامه میسر گردید که بدین وسیله تشکر و قدردانی از آن‌ها به عمل می‌آید.

سودوموناس و شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل اثر مثبت و در مورد باکتری‌های اسیدلاکتیک و کپک-مخمر دارای اثر محرک رشد نسبت به شرایط بسته‌بندی معمولی در وضعیت میکروبی گوشت قرمز دارد. بررسی خواص ضد اکسیدانی این ترکیبات طبیعی بر روی گوشت قرمز و سایر مواد غذایی، می‌تواند موضوع تحقیقات آینده باشد.

References

1. Bazargani-gilani B, Aliakbarlu J, Tajik H. 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. *Innov Food Sci Emerg Technol* 2015; 29: 280–7.
2. Scharff R. Economic burden from health losses due to foodborne illness in the United States. *J Food Prot* 2012; 75: 123–31.
3. Giatrakou VI, Savvaiddis IN. Bioactive packaging technologies with chitosan as a natural preservative agent for extended shelf-life food products. *Modified atmosphere and active packaging technologies*. CRC Press; 2012. p. 689–734
4. Bozkurt H. Investigation of the effect of sumac extract and BHT addition on the quality of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). *J Sci Food Agric* 2006; 86: 849–56.
5. Ali-Shtayeh MS, Al-Assali AA, Jamous RM. Antimicrobial activity of Palestinian medicinal plants against acne-inducing bacteria. *Afr J Microbiol Res* 2013; 7: 2560–73.
6. Abu-Reidah IM, Ali-Shtayeh MS, Jamous RM, et al. HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits. *Food Chem* 2015; 166: 179–91.
7. Vaithyanathan S, Naveena BM, Muthukumar M, Girish PS, Sen AR, Babji Y. Effect of methyl gallate on physico-chemical qualities of spent hen meat patties. *J Food Sci Tech* 2009; 46: 577–80.
8. Fazeli MR, Amin GHR, Ahmadian Attari MM, Ashtiani H, Jamalifar H, Samadi N. Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. *Food Control* 2007; 18: 646–9.
9. Soleimai N, Mohabati Mobarez A, Seyed Jafari Olia M, Atyabi F. Synthesis, characterization and effect of the antibacterial activity of chitosan nanoparticles on vancomycin-resistant *Enterococcus* and Other gram negative or gram positive bacteria. *Int J Pure Appl Sci Tech* 2015; 26: 14-23.
10. Kim KW, Thomas RL. Antioxidative activity of chitosans with varying molecular weights. *Food Chem* 2007; 101: 308-13.
11. Cerqueira MA, Lima AA, Souza BWS, Teixeira JA, Moreira RA, Vicente AA. Functional polysaccharides as edible coatings for cheese. *J Agric Food Chem* 2009; 57: 1456-62.
12. Sung SY, Sina LT, Tee TT, Bee ST, Rahmat AR, Rahman W. Antimicrobial agents for food packaging applications. *Trends Food Sci Tech* 2013; 33: 110–23.
13. Ali MS, Saleem M, Ali Z, Ahmad VU. Chemistry of *Zataria multiflora* (Lamiaceae). *Phytochem* 2000; 55: 933–6.
14. Gandomi H, Misaghi A, Basti AA. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil on growth and aflatoxin formation by *Aspergillus flavus* in culture media and cheese. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 2397–400.
15. Moradi M, Tajik H, Razavi Rohani SM, Oromiehie AR. Effectiveness of *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract impregnated chitosan film on ready-to-eat mortadella-type

- sausages during refrigerated storage. *J Sci Food Agric* 2011; 91: 2850-7.
16. Shah MA, Bosco SJD, Mir SA. Effect of *Moringa oleifera* leaf extract on the physicochemical properties of modified atmosphere packaged raw beef. *Food Packaging Shelf Life* 2015;3:31-8.
 17. 1. Amanatidou A. High oxygen as an additional factor in food preservation. (Dissertation). Wageningen: Wageningen University; 2001.
 18. Vihavainen AJ, Björkroth KJ. Spoilage of value-added, high-oxygen modified-atmosphere package raw beef steaks by *Leuconostoc gasicomitatum* and *Leuconostoc gelidum*. *Int J Food Microbiol* 2007; 119: 340-5.
 19. Pennacchia C, Ercolini D, Villani F. Spoilage-related microbiota associated with chilled beef stored in air or vacuum pack. *Food Microbiol* 2011; 28: 84-93.
 20. Aliakbarlu J and Tajik H. Antioxidant and antibacterial activities of various extracts of *Borago officinalis* flowers. *J Food Process Preserv* 2012; 36: 539-44.
 21. Skandamis PN, Nychas G-JE. Preservation of fresh meat with active and modified atmosphere packaging conditions. *Int J Food Microbiol* 2002; 79: 35- 45.
 22. Kordsardouei H, Barzegar M, Sahari MA. Application of *Zataria multiflora* Boiss and *Cinnamon zeylanicum* essential oils as two natural preservatives in cake. *AJP* 2013; 3: 238-47.
 23. Saei-Dehkordi SS, Tajik H, Moradi M, Khalighi-Sigaroodi F. Chemical composition of essential oils in *Zataria multiflora* Boiss from different parts of Iran and their antioxidant and antimicrobial efficacy. *Food Chem Toxicol* 2010 48: 1562-67.
 24. Kassem GM, Atta-Alla OA, Ali FHM. Improving the quality of beef burger by adding thyme essential oil and jojoba oil. *Arch Zootec* 2011; 60: 787-95.
 25. Tajik H, Aminzare M, Mounesi T, Hashemi M, Hassanzad H, Raeisi M, Naghili H. Effect of *zataria multiflora* boiss essential oil and grape seed extract on the shelf life of raw buffalo patty and fate of inoculated *listeria monocytogenes*. *J Food Process Pres* 2015; 6: 3005-13.
 26. Mitsumoto M, O'grady MN, Kerry JP, Buckley DJ. Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation, colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties. *Meat Sci* 2005; 69, 773-9.
 27. ICMFS. International commission on microbiological specifications for foods. In *Microorganisms in Foods, Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications*, 2nd Ed. (International Commission on Microbiological specifications for Foods, ed.), University of Toronto Press, Toronto; 1986. p. 133-4.
 28. Aliakbarlu J, Mohammadi S, Khalili S. A study on antioxidant potency and antibacterial activity of water extracts of some spices widely consumed in Iranian diet. *J. Food Biochem* 2014; 38: 159-66.
 29. Fu Y, Zu Y, Chen L, Shi X, Wang Z, Sun S, et al. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytother Res* 2007; 21: 989-94.
 30. Zakrys-Waliwander PI, O'Sullivan MG, Walsh H, Allen P and Kerry JP. Sensory comparison of commercial low and high oxygen modified atmosphere packed sirloin beef steaks. *Meat Sci* 2011; 88: 198-202.
 31. Jay JM, Loessner MJ and Golden DA. *Modern Food Microbiology*. New York: NY. Springer; 2005. P. 63-91.
 32. Ercolini D, Russo F, Torrieri E, Masi P, Villani F. Changes in the spoilage-related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions. *Appl Environ Microbiol* 2006; 4663-71.
 33. Koutsoumanis KP, Stamatou AP, Drosinos EH, Nychas, GJE. Control of spoilage microorganisms in minced pork by a self-developed modified

- atmosphere induced by the respiratory activity of meat flora. *Food Microbiol* 2008; 25, 915–21.
34. Fernández-López J, Sayas-Barberá E, Muñoz T, Sendra E, Navarro C, Pérez-Alvarez JA. Effect of packaging conditions on shelf-life of ostrich steaks. *Meat Sci* 2008; 70: 143–52.
35. Dahham SS, Ali MN, Tabassum H, Khan M. Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum L.*). *Am Eurasian J Agric Environ Sci* 2010; 9: 273-81.
36. Soldatou N, Nerantzaki A, Kontominas MG, Savvaidis IN. Physicochemical and microbiological changes of “Souvlaki”—A Greek delicacy lamb meat product: Evaluation of shelf-life using microbial, color and lipid oxidation parameters. *Food Chem* 2009; 113, 36–42.
37. Esmer OK, Irkin R, Nurcan Degirmencioglu N, Degirmencioglu A. The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat. *Meat Sci* 2001; 88: 221-6.
38. McMillin KW. Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. *Meat Sci* 2008; 80: 43–65.

ANTIMICROBIAL EFFECTS OF HYDROALCOHOL SUMAC EXTRACT WITH CHITOSAN CONTAINING *ZATARIA MULTIFLORA* BOISS ESSENTIAL OIL ON BEEF MEAT IN NORMAL AND MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGING

Ali Mojaddar Langroodi^{1*}, Hossein Tajik²

Received: 17 Feb, 2017; Accepted: 21 Apr, 2017

Abstract

Background & Aims: Beef meat is highly prone to microbial spoilage as it is rich in essential nutrients and putrefying in nature. Nowadays, consumers are applicant to usage of natural replacements causing to side effects of synthetic preservatives such as carcinogenicity and teratogenicity.

Materials & Methods: In this study the influence of hydro alcohol sumac extract (SE) and chitosan coating alone or in combination with *Z. multiflora* Boiss essential oil (ZEO) added, on microbial attributes of beef meat were investigated during refrigerated storage in normal and modified atmosphere packaging (MAP: 80% oxygen and 20% dioxide carbon). The samples were stored at 4 °C for 20 days and microbial analysis were conducted at zero, four, eight, 12, 16 and 20 days.

Results: Total viable counts, lactic acid bacteria, *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae* and yeasts-molds were significantly lower in all treatments than control over the storage time. The highest level of antimicrobial effect of chitosan, SE 4% and ZEO were found on TVC (by 3.69 and 4.04 log CFU/g (colony forming unit / gram) reduction compared with control), *Enterobacteriaceae* (3.61 and 3.73 log CFU/g reduction) and lactic acid bacteria (2.67 and 2.53 log CFU/g reduction), in normal packaging and MAP, respectively.

Conclusion: These results suggest the potential of chitosan, SE and ZEO as biopreservatives under refrigerated storage in normal packaging and MAP.

Keywords: Sumac extract, Modified atmosphere, Antimicrobial effect

Address: Urmia university, Faculty of veterinary medicine, Urmia, Iran

Tel: +98- 26-34495206

Email: drali_ml2@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2017; 28(3): 205 ISSN: 1027-3727

¹ PhD Student in Food Hygiene and Quality Control, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Author)

² Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran