

تهیه بسته‌بندی فعال بر پایه آئروژل سلولزی بارگذاری شده با اسانس آویشن شیرازی و اثر ضد میکروبی آن بر اشریشیا کلی O157:H7 در گوشت نگهداری شده در شرایط یخچالی

سیده سحر میرمعینی^۱، مهران مرادی^{۲*}، حسین تاجیک^۳، هادی الماسی^۴

۱ دانش‌آموخته دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲* و ۳ استاد، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۴ استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
تاریخ ارسال: ۱۴۰۳/۰۳/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۴

چکیده

بسته‌بندی ضد میکروبی نوعی از بسته‌بندی است که از طریق تماس با غذا یا آزادسازی ماده ضد میکروبی در فضای بسته‌بندی اثر ضد میکروبی خود را اعمال می‌کند و می‌تواند رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری‌زا را در ماده غذایی کاهش دهد، به تأخیر اندازد یا از آن جلوگیری کند. هدف از این مطالعه، تهیه آئروژل سلولزی و آئروژل کامپوزیت سلولز - ثعلب و سپس بارگذاری آن با اسانس آویشن شیرازی برای آزادسازی آن در بسته‌بندی ضد میکروبی فعال گوشت به منظور کنترل اشریشیا کلی طی نگهداری در یخچال است. بدین منظور دو نوع آئروژل سلولز (۱/۵ درصد وزنی - حجمی) و آئروژل سلولز (۱/۵ درصد وزنی - حجمی) - ثعلب (۳ درصد وزنی - حجمی) با نسبت ۱:۱ تهیه شد. با بارگذاری مقادیر مختلف اسانس در ساختار آئروژل‌ها، حداقل دوز مهارکنندگی فاز بخار اسانس آویشن برای اشریشیا کلی ۲۵۶ میکرولیتر اسانس به ازای هر لیتر فضا به دست آمد. تصویرهای میکروسکوپ الکترونی روبشی لیز و تخریب سلولی اشریشیا کلی را در مواجهه با فاز بخار اسانس آویشن شیرازی نشان می‌دهند. جمعیت اشریشیا کلی تلقیح شده در گوشت در نمونه کنترل، طی ۱۶ روز نگهداری از $5/43 \pm 0/17 \log CFU/g$ به $5/90 \pm 0/35 \log CFU/g$ افزایش یافته است در حالی که در بسته‌بندی‌های حاوی تیمار ۱۰ برابر غلظت MID، اسانس بارگذاری شده روی آئروژل سلولزی و سلولز ثعلب به ترتیب $0/73$ و $0/93$ سیکل لگاریتمی کاهش در جمعیت اشریشیا کلی پس از ۱۶ روز نگهداری گوشت در یخچال دیده شد. با توجه به اهمیت اشریشیا کلی در گوشت، بسته‌بندی فعال حاوی ترکیبات ضد میکروبی می‌تواند بیشتر مورد توجه قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: بسته‌بندی فعال، آویشن شیرازی، فاز بخار، اسانس، گوشت

مقدمه

پر از هوا تعریف می‌شود (Zheng et al., 2020). بر اساس ریزساختار، آئروژل‌ها را می‌توان به میکرو متخلخل (قطر منافذ کمتر از ۲ نانومتر)، مزو متخلخل (۲ تا ۵۰ نانومتر) و ماکرو متخلخل (بیش از ۵۰ نانومتر) طبقه‌بندی کرد، و براساس ماهیت ماتریس می‌توان آن‌ها را به عنوان آئروژل‌های آلی،

آئروژل ماده‌ای منحصر به فرد بسیار متخلخل منسجم (حالت جامد) با چگالی کم و سطح ویژه بالا و ساخته شده با روش سل-ژل و سپس فرآیند خشک‌کردن است و شامل شبکه‌های سه بعدی از پلیمرهای متصل به هم با منافذ متعدد

معدنی و هیبریدی دسته‌بندی کرد (Yan et al., 2020). به طور خلاصه، مراحل تهیه آئروژل‌ها شامل حل شدن پلیمر در حلال مناسب و هم‌زدن آن در مدت‌زمان معین، سپس تشکیل هیدروژل دارای شبکه‌ای منسجم و به‌دنبال آن خشک‌شدن و خروج حلال از شبکه ژلی و جایگزین شدن حلال موجود در منافذ با هوا و تشکیل آئروژل است (El-Naggar et al., 2020). در این میان، آئروژل‌های زیستی (بیوآئروژل‌ها) مزیت‌های جذاب دارند شامل هزینه کم، تجدید پذیری، زیست سازگاری و تجزیه‌پذیری سلولی، پتانسیل ساخت، درجه غذایی، و ایمن بودن. استفاده از آئروژل‌های زیستی به‌عنوان ماده سبز برای کپسوله‌کردن و رهاسازی کنترل شده افزودنی‌های غذایی، ترکیبات عملگرا و مواد زیست فعال در ده سال گذشته افزایش یافته است. در تولید بیوآئروژل‌ها، نوع و غلظت بیوپلیمر، روش ژل‌سازی، دمای خشک‌سازی، تبادل حلال و فرآیندهای خشک‌کردن ژل مرطوب، پارامترهای مهمی هستند که در نهایت بر شکل‌گیری و خواص نهایی آن‌ها حاکم هستند با توجه به کاربردهای غذایی، دستکاری این پارامترها برای کنترل سطح خاص، چگالی و توزیع اندازه منافذ اهمیت زیادی دارد که بر خواص ریزساختاری، مکانیکی و عملکردی آئروژل‌های زیستی تأثیرگذار است (Abdullah et al., 2022). مهم‌ترین و منحصر به فردترین ویژگی آئروژل‌ها برای بسته‌بندی مواد غذایی، ساختار متخلخل آن‌هاست که منجر به وزن کم و سطح ویژه بالا می‌شود. این ویژگی فرصت‌های جالب توجهی را برای حفاظت مکانیکی، عایق حرارتی یا مواد بسته‌بندی فعال با قابلیت جذب یا آزادسازی ترکیبات خاص فراهم می‌کند (Manzocco et al., 2021).

بسته‌بندی جزء جدایی‌ناپذیر از صنعت غذا به شمار می‌رود و به‌عنوان یک استراتژی برای محافظت از محصولات غذایی در برابر آلودگی و بهبود کیفیت و ایمنی مواد غذایی طی حمل و نقل، ذخیره‌سازی و توزیع در نظر گرفته می‌شود (Han et al., 2018). نقش بسته‌بندی مواد غذایی تا حد زیادی طی زمان تکامل یافته است و از عملکردهای اساسی آن یعنی جلوگیری از نفوذ عوامل خارجی، محافظت و سهولت حمل و نقل فراتر رفته است. امروزه بسته‌بندی مواد غذایی به عاملی کلیدی برای بازاریابی شرکت‌های مواد غذایی تبدیل شده است (Ares et al., 2022). بسته‌بندی ضد میکروب مواد غذایی که نوعی از بسته‌بندی فعال است، از طریق تماس با غذا یا آزادسازی ماده ضد میکروب در فضای بسته‌بندی اثر ضد میکروبی خود را اعمال می‌کند، می‌تواند رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری‌ها را در ماده غذایی کاهش دهد یا به تاخیر اندازد یا از آن جلوگیری کند. ساشه‌ها و پدهای آزاد کننده ترکیبات فعال در فضای بسته‌بندی، یکی از موفق‌ترین کاربردهای بسته‌بندی فعال مواد غذایی است. ترکیبات موجود در این ساشه‌ها و پدها می‌تواند شامل ترکیبات فرار با فعالیت ضد میکروبی شناخته شده علیه میکروارگانیسم‌های منتقل شده از ماده غذایی باشد (Otoni et al., 2016). بسته‌بندی فعال مبتنی بر آئروژل‌های زیستی (بیوآئروژل) جدید می‌تواند ضایعات مواد غذایی را کاهش دهد. آئروژل‌های پلی‌ساکاریدی به‌عنوان مواد نوظهور در صنایع بسته‌بندی مواد غذایی به شکل‌های مختلف مانند ساشه‌های جاذب اکسیژن و رطوبت، لایه‌های داخلی بسته‌بندی مواد غذایی و روکش‌ها پدیدار شدند (Selvasekaran & Chidambaram, 2022).

ترکیبات ضد میکروب موجود در ساشه‌ها و پدها را می‌توان، بسته به ماهیت آن‌ها، به غیرفرار یا فرار طبقه‌بندی کرد. در سال‌های اخیر، طیف گسترده‌ای از ترکیبات فرار برای استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی گزارش شده است. این مواد عمدتاً شامل مواد شیمیایی مانند ترپن‌ها، ترکیبات گوگردی و آلدئیدها هستند (Beltrán Sanahuja & Valdés García, 2021). مواد ضد میکروبی فرار به راحتی به صورت گاز به فضای فوقانی داخل بسته‌بندی آزاد می‌شوند و می‌توانند مستقیماً در

بستر) و اسانس آویشن شیرازی (به‌عنوان ماده ضد میکروب) و سپس استفاده از آن در بسته‌بندی گوشت قرمز برای آزادسازی اسانس در فضای بسته‌بندی به‌منظور کنترل باکتری /شریشیا کلی تلقیح شده در دوره نگهداری گوشت در شرایط یخچالی است.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

باکتری /شریشیا کلی (ATCC25922) از کلکسیون میکروبی میکروارگانسیم‌های صنعتی ایران تهیه شد، گیاه آویشن شیرازی از استان آذربایجان غربی شهرستان ارومیه خریداری شد و گیاه‌شناس دانشکده گیاهان دارویی دانشگاه ارومیه آن را تأیید کرد. از محیط کشت مولر هینتون آگار و ویولت رد بایل آگار (ایبرسکو، کانادا)، تولوئن و پتاسیم هیدروکسید (مرک آلمان)، سدیم کلریت (سیگما آلدریج آمریکا)، اتانول (زیست فراورده سپاهان ایران) در این تحقیق استفاده شد.

استخراج سلولز از ساقه درخت انگور

به‌منظور استخراج سلولز، ساقه درخت انگور کاملاً با آب گرم شسته شد تا آلودگی‌ها و گردوغبار آن پاک شود. ساقه‌ها در محیط آزمایشگاه پهن شدند و فرصت داده شد تا در دمای محیط خشک شوند. پس از خشک شدن کامل، ساقه‌های خشک شده آسیاب شدند و پودر به‌دست آمده از آن، از الک ۶۰ مش گذرانیده شد تا جایی که ۳۰ گرم پودر به دست آید. برای حذف موم، رنگدانه و روغن، از حلال (تولوئن/ اتانول با نسبت ۲ به ۱) استفاده شد و به مدت ۲۰ ساعت روند حذف موم، رنگدانه، روغن به طول انجامید. پودر به‌دست آمده در آن ۵۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک گردید. برای حذف لیگنین، از ۷۰۰ میلی‌لیتر سدیم کلریت با غلظت ۱/۴ درصد استفاده شد که pH آن روی ۳ تنظیم شده بود و به‌مدت

ماتریس پلیمری و در کیسه‌ها برای توسعه سیستم‌های بسته‌بندی ضد میکروبی گنجانده شوند. مزیت اصلی استفاده از مواد ضد میکروبی فرار این است که نیازی به تماس مستقیم بین مواد غذایی و مواد بسته‌بندی نیست. ضمن اینکه ترکیب ضد میکروب در فاز گازی می‌تواند تقریباً به هر ماتریس غذایی موجود در سیستم بسته‌بندی نفوذ کند (Otoni et al., 2016).

آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) عضوی از خانواده لامیاسه یا لابیاته است. به‌رغم تنوع زیاد در ترکیب شیمیایی اسانس از اکوتیپ‌های مختلف این گیاه، به خوبی مستند شده است که ترکیبات مونوترپنیک اکسیژن‌دار، عمدتاً تیمول و کارواکرول، اجزای اصلی این اسانس هستند. این دو ترکیب ۳۰-۸۶ درصد از کل ترکیب اسانس ارزیابی شده در آزمایش‌های مختلف را تشکیل می‌دهند (Basti et al., 2016). دیگر ترکیبات اصلی گزارش شده عبارت‌اند از p-سایمن، γ -ترپینن، کاریوفیلن، لینالول و α -پینن که مقدار آن‌ها در انواع این گیاه در مناطق مختلف متفاوت است. اما به نظر می‌رسد که خواص دارویی گیاه را به اسانس و ترکیبات فنلی (به ویژه کارواکرول و تیمول) نسبت می‌دهند (Ghorani et al., 2022).

فعالیت بازدارندگی اسانس‌ها در برابر رشد میکروارگانسیم‌ها در فاز بخار عمدتاً بیشتر از فاز آبی است و به شدت به نوع و ترکیبات آن بستگی دارد (Amiri et al., 2020). مولکول‌های چربی‌دوست در فاز آبی پیوند می‌خورند و میسل تشکیل می‌دهند، بنابراین اتصال اسانس به میکروارگانسیم‌ها را مهار می‌کنند، در حالی که فاز بخار اجازه اتصال آزاد را می‌دهد. باین‌حال، هر ترکیب فراریت متفاوتی دارد و هنگامی که این مخلوط به محیطی غیراشباع وارد می‌شود، ترکیبات فرار با سرعت‌های متفاوتی با توجه به وزن مولکولی خود شروع به انتشار می‌کنند تا زمانی که در محیط بسته به تعادل برسند (Reyes-Jurado et al., 2020). هدف از این مطالعه، تهیه آئروژل‌های زیستی (بیوآئروژل) فعال بر پایه سلولز (به‌عنوان

به دست آمده تا زمان مصرف در شیشه تیره رنگ و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

آنالیز شیمیایی اجزای تشکیل دهنده اسانس

ترکیبات شیمیایی اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی یونیزاسیون الکترونی، MS-5975C شناسایی شد. ستون مورد استفاده برای جداسازی یک ستون HP-5MS (طول ۳۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر) بود و هلیوم با درجه خلوص بالا ۹۹/۹۹ درصد به عنوان گاز حامل با سرعت جریان خطی ۱ میلی لیتر بر دقیقه استفاده شد (Mirmoeini *et al.*, 2023).

ارزیابی ویژگی های ضد میکروبی فاز بخار اسانس بارگذاری شده در آئروژل

برای این منظور حداقل دوز مهارکننده (MID) بخار اسانس بر *شریشیا کلی* تعیین شد. به این ترتیب که سوسپانسیون باکتری ها با غلظت 10^8 CFU/mL در پیتون واتر ۰/۱ درصد تهیه و با سواب روی پلیت های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. غلظت های مختلف اسانس ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶، ۵۱۲ میکرو لیتر از اسانس به ازای هر لیتر فضا روی آئروژل های با قطر ۲ سانتی متر بارگذاری شد. آئروژل ها در داخل درپوش پلیت چسبانده و پلیت ها به طور کامل با پارافیلیم مهر و موم شدند. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گذاری شدند. از آئروژل بدون اسانس به عنوان شاهد استفاده شد. اثربخشی بخار اسانس آویشن شیرازی برای مهار رشد *شریشیا کلی* به صورت درصد مهارکنندگی بیان شد که با تقسیم قطر ناحیه مهار بر قطر پلیت محاسبه گردید. کمترین دوز بخار اسانس که رشد ۹۹/۹ درصد از باکتری را مهار کرده بود به عنوان MID در نظر گرفته شد (Tao *et al.*, 2021).

۵ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد انکوبه شد. برای حذف همی سلولز از محلول پتاسیم هیدروکسید با غلظت ۵ درصد در حجم ۴۰۰ میلی لیتر استفاده شد و نمونه پخش شده در محلول پتاسیم هیدروکسید به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار گرفت و پس از اتمام ۲۴ ساعت به منظور تکمیل فرایند دو ساعت دیگر در ۹۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. در پایان این دو ساعت، پودر توسط فیلتر خلأ از حلال جدا شد (Martínez-Sanz *et al.*, 2018).

تهیه آئروژل ها

آئروژل سلولزی به روش سل - ژل با حل کردن پودر سلولز در آب (۱/۵ درصد وزنی-حجمی) و پس از آن همگن سازی (هوموژنیزاسیون) به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۷/۵۰۰ rpm برای دستیابی به محلول کلئیدی یکنواخت به کار گرفته شد. محلول ۳ درصد ثعلب نیز به طور جداگانه با حل کردن پودر ثعلب در آب تهیه شد. آئروژل کامپوزیت نیز با مخلوط کردن سلولز و ثعلب با نسبت ۱:۱ تهیه شد. پس از انجماد مخلوط های به دست آمده در ۴۵- درجه سانتی گراد و لیوفیلیزاسیون آن ها به مدت ۴۸ ساعت، آئروژل های سلولزی و سلولز- ثعلب آماده شدند. لازم است گفته شود، آئروژل های مختلف با غلظت های مختلف سلولز و نسبت اختلاط متفاوت تهیه گردید و برای هر یک از آن ها میزان تخلخل، دانسیته، پراکندگی قطر منافذ محاسبه شد و از بین فرمولاسیون های مختلف در این مطالعه، متراکم ترین آئروژل برای کمک به رهایش آرام اسانس استفاده شد.

تهیه اسانس

اسانس گیاه با استفاده از دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب استخراج شد. برای این منظور ۱۰۰ گرم از گیاه آویشن خشک شده به بالون ته گرد منتقل و ۹۰۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. بالون روی هیتر قرار گرفت و اسانس در هر مرحله در مدت زمان ۳ ساعت استخراج گردید. اسانس

بررسی یکپارچگی غشای سلولی با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

تغییرات مورفولوژیکی سلول‌های باکتریایی در حضور فاز بخار اسانس آویشن بارگذاری شده بر آئروژل سلولزی توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی بررسی شد. سلول‌های باکتریایی ابتدا با غلظت MID فاز بخار اسانس به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تیمار شدند. سلول‌های باکتریایی تیمار نشده (شاهد) و تیمار شده با سانتریفیوژ (با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) جمع‌آوری و با استفاده از محلول بافر فسفات (pH = ۷) شسته شدند. سلول‌های باکتریایی با گلوآرال‌دئید (۲/۵ درصد در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد) تثبیت شدند و پس از شستشو با محلول بافر فسفات، سلول‌ها با محلول‌های استون درجه‌بندی شده (۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۹۵ و ۱۰۰ درصد) در هر مرحله به مدت ۳۰ دقیقه آب‌گیری شدند. نمونه‌ها در دمای محیط با طلای ۲۴ عیار روکش داده شدند و برای بررسی ساختار مورفولوژیکی توسط SEM عکس‌برداری شدند (Saldanha et al., 2020).

استفاده از آئروژل فعال در بسته‌بندی گوشت

سوسپانسیون با غلظت 10^6 CFU/mL از *شریشیا کلی* تهیه شد. نمونه‌های گوشت در ابعاد مشخص $2/5 \times 2$ سانتی‌متر با مقدار ۵۰ گرم برش داده و به مدت ۲ دقیقه در این سوسپانسیون غوطه‌ور شدند. قطعات گوشت به مدت ۱۰ دقیقه در زیر هود میکروبیولوژی نگهداری شدند تا خشک شوند. گوشت چرخ‌کرده گاو به صورت تازه از بازار خریداری و در شرایط سرد و استریل به آزمایشگاه منتقل شد. قطعات گوشت در ظرف‌های پلاستیکی پلی استایرن قرار داده شد و آئروژل‌های فعال شامل (آئروژل سلولزی بارگذاری شده با ۱ و ۱۰ برابر غلظت MID اسانس) و (آئروژل کامپوزیت سلولز ثعلب آئروژل سلولزی بارگذاری شده با ۱ و ۱۰ برابر غلظت MID

اسانس) با ابعاد (۴×۲×۰/۵) سانتی‌متر تهیه و بدون تماس با ماده غذایی به قسمت داخلی درپوش ظرف چسبانده شد (شکل ۱). از گوشت بسته‌بندی شده فاقد آئروژل به عنوان نمونه کنترل استفاده شد. بعد از خشک‌شدن تیمارها برای شمارش باکتری و مشخص کردن تعداد باکتری در تیمار اولیه، ۱۰ گرم از نمونه گوشت را در ۹۰ میلی‌لیتر پپتون واتر ۰/۱ درصد هوموژنیزه و رقیق‌سازی گردید و ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های رقیق‌سازی در پلیت حاوی محیط کشت مک‌کانکی سوربیتول آگار ریخته و با میله شیشه‌ای در سطح پلیت پخش گردید. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، شمارش صورت گرفت (Alavi et al., 2020). تیمارها در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و در روزهای صفر، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ شمارش باکتری در محیط کشت مک‌کانکی آگار صورت گرفت (Emamifar, 2019).

تجزیه و تحلیل آماری

تمام آزمون‌ها در این مطالعه در ۳ تکرار اجرا شد. اطلاعات به دست آمده با نرم‌افزار Graph Pad (version 5.00 for windows, Graph Pad Software, San Diego California USA تجزیه و تحلیل گردید. تحلیل واریانس با روش ANOVA و تست دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد برنامه‌ریزی گردید.

نتایج و بحث

ترکیبات تشکیل‌دهنده و سهم هریک از اجزا در اسانس آویشن شیرازی استفاده شده در این مطالعه در جدول (۱) نشان داده شده است. تفاوت در میزان ترکیبات موثر به عوامل مختلف از جمله منطقه جغرافیایی کشت گیاه و روش استخراج وابسته است.

جدول (۱): اجزای تشکیل‌دهنده اسانس آویشن شیرازی

Table (2) Chemical composition of *Zataria multiflora* essential oil

شماره	نام ترکیب شیمیایی	زمان بازداری (دقیقه)	درصد
No.	Chemical compounds	Retention time (min)	Percentage
1	alpha-Thujene	11.20	0.15
2	alpha-Pinene	11.59	2.07
3	Camphene	12.48	0.11
4	beta-Pinene	13.93	0.18
5	1-Octen-3-ol	14.23	0.12
6	beta.-Myrcene	14.50	1.50
7	alpha-Phellandrene	15.45	0.17
8	alpha-Terpinene	15.98	1.09
9	Cymene	16.48	7.96
10	Limonene	16.64	0.29
11	Eucalyptol	16.82	0.40
12	gamma-Terpinene	18.18	3.61
13	3-Crene	18.92	0.16
14	Terpinolene	19.57	0.08
15	Linalool	20.39	0.67
16	Borneol	24.25	0.11
17	Terpinen-4-ol	24.59	0.46
18	alpha-Terpineol	25.39	0.35
19	Carvone, dihydro-	25.60	0.09
20	Thymol, methyl ether	26.85	0.18
21	Carvacrol, methyl ether	27.26	1.69
22	Bornyl acetate	29.45	0.11
23	Thymol	30.02	19.63
24	Carvacrol	30.47	55.29
25	Thymol acetate	32.22	0.29
26	Carvacrol acetate	33.08	0.91
27	Caryophyllene< (E)>	35.33	1.22
28	Aromadendrene	36.14	0.20
29	Viridiflorene	38.34	0.12
30	Caryophyllene oxide	42.18	0.29
31	جمع	-	99.5

ارزبایی و بیژگی‌های ضد میکروبی فاز بخار اسانس بارگذاری شده در آئروژل

(Mukurumbira *et al.*, 2023) با ارزیابی اثر ۱۰ میکرولیتر اسانس لیمون میترل، آویشن، توت فلفل تاسمانی در فاز بخار بر /شیریشیا کلی و سودوموناس آئروژینوز/ تنها هاله عدم رشد ۲۵ میلی‌متری را برای آویشن روی /شیریشیا کلی گزارش کردند در حالی که فاز بخار هر سه اسانس بر سودوموناس بی‌اثر گزارش شد. لویز و همکاران (López *et al.*, 2007) درصد مهار /شیریشیا کلی توسط اسانس‌های آویشن، دارچین و پونه کوهی را به ترتیب ۴۰، ۲۸ و ۶۸ درصد برای ۱۷۵ میکرولیتر اسانس در لیتر فضا گزارش کردند علاوه بر این،

نتایج ارزیابی برای تعیین حداقل دوز مهارکنندگی اسانس آویشن شیرازی در فاز بخار و بارگذاری شده روی آئروژل سلولزی و سلولز-ثعلب در شکل (۲) نشان داده شده است. حداقل دوز مهارکنندگی برای /شیریشیا کلی ۲۵۶ میکرولیتر از اسانس به ازای هر لیتر از فضا بود. باکتری /شیریشیا کلی نیز به عنوان یک باکتری بیماری‌زای مهم در گوشت مورد ارزیابی قرار گرفت. موکورومبیرا و همکاران

تهیه بسته‌بندی فعال بر پایه آئروژل سلولزی بارگذاری شده با اسانس آویشن شیرازی و اثر ضد میکروبی ...

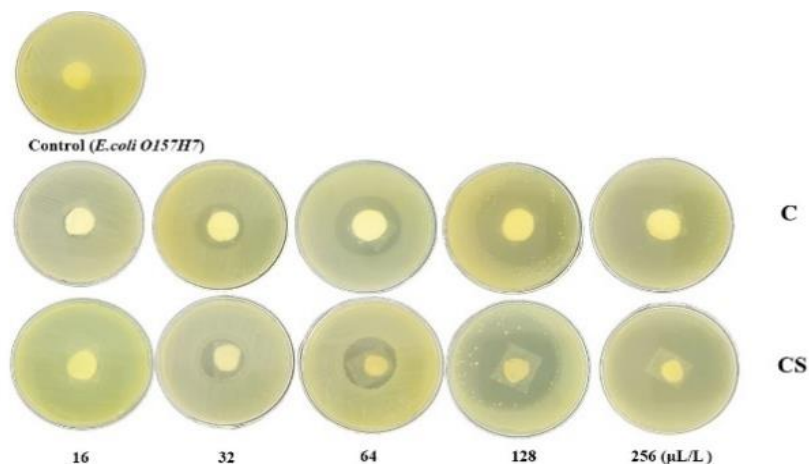
اسانس‌ها به طور کلی بررسی نشده است. علاوه بر این، استاندارد مشخصی برای ارزیابی اثر اسانس‌ها در فاز بخار وجود ندارد. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که اثر ضد میکروبی اسانس‌ها در فاز بخار احتمالاً در نتیجه جذب مستقیم مواد فرار روی میکروارگانیسم‌ها یا به طور غیرمستقیم از طریق جذب بخار در محیط و سپس انتشار آن در میکروارگانیسم‌هاست (Mukurumbira *et al.*, 2023).

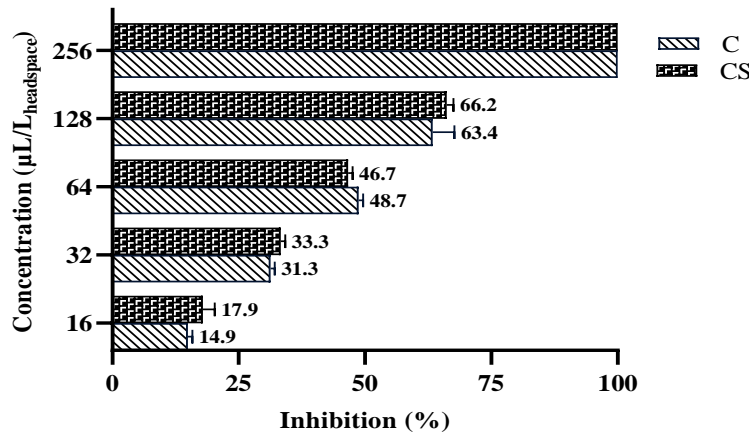
وو و همکاران (Wu *et al.*, 2019) حداقل دوز مهارکنندگی را ۲۰۰ میکرولیتر در لیتر فضا برای اسانس درخت چای، ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر برای کاسیا، مرزنجوش، رزماری، اکالیپتوس و بادیان ختایی، ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر برای اسانس میخک، ۱۵۰۰ میکرولیتر در لیتر برای نعنا وحشی و ۲۵۰۰ میکرولیتر در لیتر برای اسانس مریم گلی روی *اشریشیا کلی* گزارش کردند. فعالیت ضد میکروبی فاز بخار



شکل (۱). شکل موقعیت قرار گیری آئروژل ضد میکروبی در بسته‌بندی گوشت چرخ کرده

Figure.1. The shape and position of the antimicrobial aerogel in the packaging of ground meat.





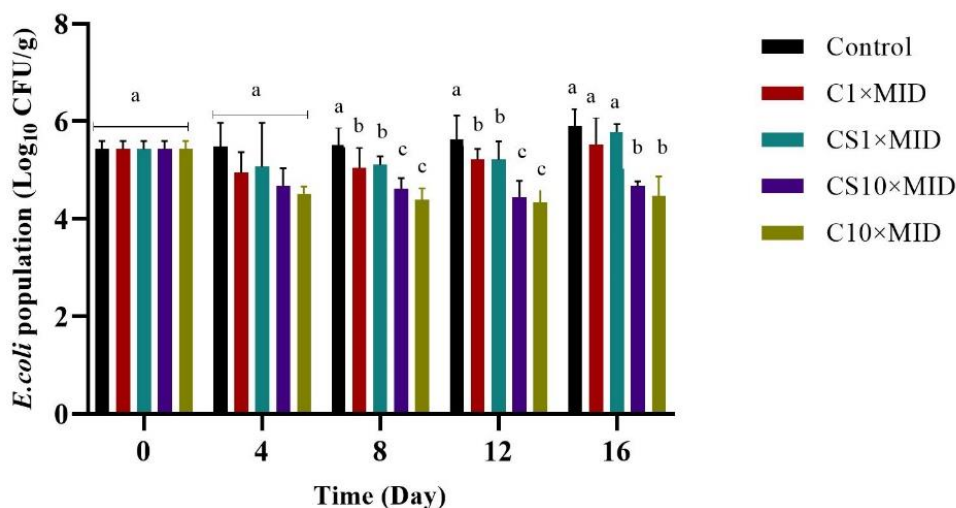
شکل (۲): درصد مهپار/شریشیا کلی در مواجهه با فاز بخار اسانس آویشن شیرازی در غلظت‌های مختلف بارگذاری شده روی آئروژل سلولز (C) و آئروژل سلولز-ثعلب (CS)

Figure. 2. Inhibition percentage of *E.coli* in the presence of cellulose (C) and Salep-cellulose(CS) aerogels with different concentrations of vapor phase of essential oil.

در شکل (۳) روند اثر فاز بخار اسانس آویشن شیرازی در بسته‌بندی‌های حاوی آئروژل سلولزی و آئروژل سلولز-ثعلب بارگذاری شده با غلظت‌های یک و ۱۰ برابر MID در کنترل/شریشیا کلی در گوشت گاو در گروه‌های کنترل و تیمار نشان داده شده است. طی ۱۶ روز نگهداری در دمای یخچال، جمعیت باکتریایی در نمونه کنترل از $5/4 \pm 0/35$ به $5/17 \pm 0/17$ و ۵/۹ سیکل لگاریتمی افزایش پیدا کرده است در حالی که در بسته‌بندی‌های حاوی آئروژل سلولزی و آئروژل سلولز-ثعلب بارگذاری شده با غلظت‌های یک و ۱۰ برابر MID اسانس پس از نگهداری در شرایط یخچالی نسبت به روز صفر نگهداری کاهش شمارش باکتریایی مشاهده می‌شود و برای نمونه‌های حاوی آئروژل سلولزی بارگذاری شده با ۱ و ۱۰ برابر غلظت MID اسانس به $5/53 \pm 0/55$ و $4/47 \pm 0/40$ و برای نمونه حاوی آئروژل سلولز-ثعلب بارگذاری شده با ۱ و ۱۰ برابر غلظت MID اسانس به $5/78 \pm 0/17$ و $4/67 \pm 0/1$ کاهش یافته است. هرچند طی نگهداری ۱۶ روزه همانند نمونه کنترل افزایش شمارش باکتریایی مشاهده گردید. با افزایش غلظت اسانس در

فاز بخار، کاهش رشد باکتریایی طی نگهداری در شرایط سرد نشان داده شده است. داده‌ها نشان می‌دهد در غلظت MID تفاوت معنی‌داری در رشد باکتری نسبت به نمونه کنترل وجود ندارد. در مقایسه بین استفاده از آئروژل سلولزی و آئروژل سلولز-ثعلب برای بارگذاری اسانس در هر دو غلظت ۱ و ۱۰ برابر MID، هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. مطالعات نشان داده است که اسانس‌ها در برابر باکتری‌های گرم مثبت، به دلیل ساختار دیواره باکتریایی، اثر ضد باکتریایی بالاتری نشان می‌دهد اما شکل باکتری‌های میله‌ای آن‌ها را نسبت به فعالیت ضد باکتریایی اسانس، نسبت به شکل کوکوس‌ها، حساس‌تر می‌کند (Mukurumbira et al., 2022). در مورد اثر اسانس‌ها بر گوشت و فرآورده‌های گوشتی مطالعات متعددی شده است که نشان دهنده توانایی ضد میکروبی بالای آن‌ها برای افزایش ماندگاری محصولات است (Beltrán Sanahuja et al., 2021). روش‌های گوناگونی برای به‌کارگیری اسانس‌ها در گوشت و فرآورده‌های گوشتی به کار گرفته شده است که از جمله آن‌ها می‌توان به اضافه کردن مستقیم اسانس‌ها به

گوشت، اضافه کردن اسانس به محلول مرینیت کردن و اضافه کردن اسانس به پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی اشاره کرد (Munekata *et al.*, 2020). ثابت شده است که اسانس‌های پونه کوهی (*Origanum vulgare*)، آویشن (*Thymus vulgaris*)، پرتقال (*Citrus sinensis var. valencia*) مورد استفاده در فاز بخار دارای خواص ضد میکروبی خوبی هستند (Ji *et al.*, 2023). در مطالعه‌ای دیگر، از اسانس نعنا در غلظت ۱۰ میلی‌گرم اسانس در هر گرم گوشت به‌عنوان نگهدارنده‌ای طبیعی در سوسیس گوشت بوقلمون استفاده و کاهش ۱/۲ سیکل لگاریتمی در جمعیت/شیرشیا کلی در هنگام نگهداری به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. این اثر ضد میکروبی وابسته به غلظت گزارش شد (Ed-dra *et al.*, 2018). در مطالعات کریستینا و همکاران (Cristina *et al.*, 2018) گزارش شده است که اسانس O157:H7 تلفیح شده به میزان 10^8 CFU/g گوشت سوسیس خوک طی ۲۰ روز نگهداری و تیمار با ۱۲۵ ppm اسانس سیر و ۲۵۰ ppm آلایل ایزوتیوسیونات، بعد از ۲۰ روز نگهداری ۰/۷ سیکل لگاریتمی کاهش یافت.



شکل (۳): اثر استفاده از آئروژل سلولزی و سلولز-ثعلب بارگذاری شده با غلظت‌های ۱ و ۱۰ برابر MID اسانس (میکرولیتر اسانس به ازای هر لیتر از فضا) بر جمعیت/شیرشیا کلی در مدت ۱۶ روز نگهداری در دمای یخچال. حروف مشابه در هر ستون بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار در سطح خطای ۵ درصد است

Figure 3. The effects of cellulose abn Salep-cellulose aerogels with essential oil at 1×MID and 10× MID on *E.coli* population during cold storage for 16 days. Similar letters in each column indicate no significant differences at the 5% level

اثر فاز بخار اسانس آویشن بارگذاری شده بر آئروژل سلولزی بر دیواره سلولی و مورفولوژی ریخت‌شناسی سلول‌های باکتریایی، در شکل (۴) نشان داده شده است. در نمونه‌های تیمار نشده (کنترل)، ساختار معمولی سلول‌های باکتریایی با ظاهر صاف و دیواره یکپارچه و بدون آسیب نشان داده شده است. در مقابل، در سلول‌های تیمار شده با فاز بخار اسانس، تغییرات مورفولوژیکی در غشای سلولی و ناهموار به همراه عدم یکپارچگی دیواره سلولی و تخریب سلول را نشان می‌دهد.

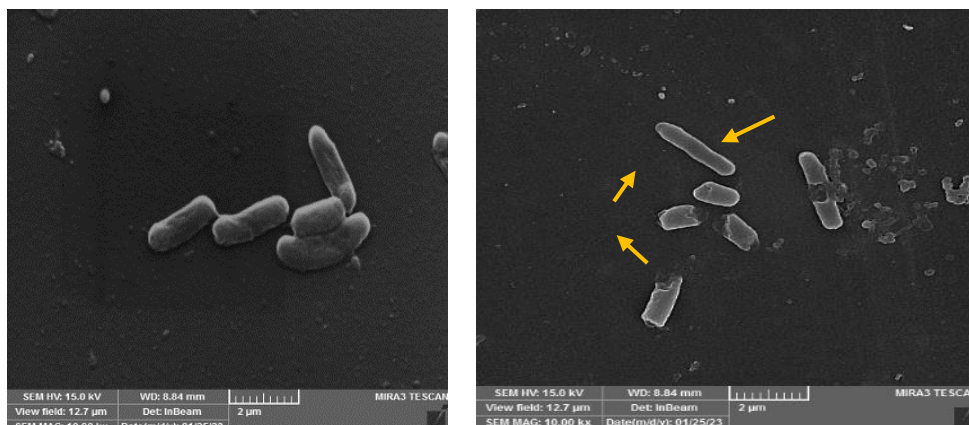
سلولی باکتری یا غشا برجسته‌تر از اثر فاز مایع آن است. چنین مشاهداتی نشان از آن دارد که برای به حداقل رساندن اثرها روی خواص ارگانولپتیک، فاز گازی اسانس به غلظت‌های موثر باکتری‌کشی کمتری نیاز دارد (Yap *et al.*, 2021). در مطالعه تصویرهای به‌دست آمده از SEM برای بررسی اثر فاز بخار اسانس گیاه *ماگنولیا آلبا* بر *باسیلوس سرئوس* نشان داده شد که بخار اسانس سبب شکستگی و ناهمواری دیواره سلولی و نشت الکترولیت‌ها از سلول شده است که به لیز سلولی و مرگ باکتری می‌انجامد (Songsamoe *et al.*, 2021).

نتیجه‌گیری

گوشت گاو رایج‌ترین عامل شناخته شده برای ایجاد عفونت ناشی از برخی عوامل بیماری‌زای منتقل شده از غذا از جمله *شریشیا کلی* است. استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی برای مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زای با منشأ غذایی مهم مانند *شریشیا کلی* در صنعت گوشت مورد توجه است. در این مطالعه، از فاز بخار اسانس بارگذاری شده روی آئروژل سلولزی برای کنترل *شریشیا کلی* در بسته‌بندی فعال گوشت استفاده شد. تصویرهای به‌دست آمده از SEM تخریب دیواره سلولی و نشت محتویات سلولی و مرگ سلولی را نشان داد. بر مبنای حداقل دوز مهارکنندگی به‌دست آمده در شرایط آزمایشگاهی و دو نوع آئروژل سلولزی و کامپوزیت سلولزی - ثعلب بسته‌بندی‌های فعال تهیه شد. هنگام به‌کارگیری آئروژل سلولزی بارگذاری شده با ۱۰ برابر غلظت MID کاهش شمارش *شریشیا کلی* طی نگهداری گوشت در شرایط یخچالی به دست آمد. با این حال، در غلظت‌های بالای اسانس تغییرات حسی ایجاد شده ممکن است نامطلوب به نظر برسد که توصیه می‌شود از روش‌های نگهداری مختلف غذا به‌صورت توأم برای به‌کارگیری اسانس‌ها در فاز بخار در مواد غذایی استفاده شود.

فعالیت بازدارندگی اسانس‌ها در برابر رشد میکروارگانیسم‌ها در فاز بخار عمدتاً بیشتر از حالت مایع است و به شدت به نوع و ترکیبات آن بستگی دارد. به طور کلی، اسانس‌ها به دلیل داشتن ساختار غشایی مشابه (آب‌گریز) و اثر نفوذپذیری، فعالیت ضدباکتریایی بیشتری را در برابر باکتری‌های گرم مثبت نشان می‌دهند (Amiri *et al.*, 2020). مولکول‌های چربی‌دوست در فاز آبی پیوند می‌خورند و میسل تشکیل می‌دهند، بنابراین، اتصال اسانس به میکروارگانیسم‌ها را مهار می‌کنند، در حالی که فاز بخار اجازه اتصال آزاد را می‌دهد. اسانس‌ها مخلوطی از بسیاری از ترکیبات شیمیایی هستند و در فاز مایع نسبت این ترکیبات منفرداً نسبتاً پایدار است. با این حال، هر ترکیب فراریت متفاوتی دارد و هنگامی که این مخلوط به محیطی غیراشباع وارد می‌شود، ترکیبات فرار با سرعت‌های متفاوتی با توجه به وزن مولکولی خود شروع به انتشار می‌کنند تا زمانی که در محیط بسته به تعادل برسند. فاز بخار اسانس به دلیل رشد سطحی کپک‌ها تأثیر خاصی بر آن‌ها دارد که آن‌ها را نسبت به ترکیبات فرار اسانس حساس‌تر می‌کند (Reyes-Jurado *et al.*, 2020).

در مطالعات مختلف، مکانیسم اثر اسانس‌های مختلف در فاز بخار بر میکروارگانیسم‌ها بزرسی شده است. برای مثال، بررسی تغییرات مورفولوژیکی و فراساختاری *شریشیا کلی* تحت تیمار با اسانس علف لیمو و بخار آن با استفاده از تصویرهای به‌دست آمده از SEM نشان داد که سلول‌های تیمار شده با بخار اسانس تجمع یافته، منقبض شده و تا حدی تغییر شکل داده‌اند، در حالی که میکروگراف‌های میکروسکوپ الکترونی عبوری ناهمواری ضخامت دیواره سلولی را نشان داد. سلول‌های تیمار شده با بخار علف لیمو بیش‌ترین آسیب و اضمحلال داخلی را در مقایسه با علف لیمو در فاز مایع در تصاویر میکروسکوپی نشان دادند. تجزیه و تحلیل میکروسکوپ نیروی اتمی تأیید کرد که اثر فاز بخار این اسانس بر دیواره



شکل (۴): میکروگرافهای SEM سلول‌های *E. coli* اثرشیرینیا کلی با (سمت راست) و بدون MID $\times 1$ اسانس آویشن شیرازی (سمت چپ)

Figure 4. The SEM micrographs of *E. coli* cell with (right) and without (left) essential oil at $1\times$ MID

تعارض منافع

نویسندگان تعارض منافی برای اعلام ندارند.

سیاسگزاری

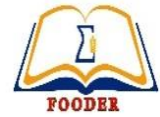
این اثر با حمایت مادی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF)، برگرفته شده از طرح شماره "۴۰۰۳۳۱۴" تهیه شده است.

منابع

- Abdullah, Zou, Y. C., Farooq, S., Walayat, N., Zhang, H., Faieta, M., Pittia, P., & Huang, Q. (2022). Bio-aerogels: Fabrication, properties and food applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *In press*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2037504>
- Amiri, A., Mottaghipisheh, J., Jamshidi-Kia, F., Saeidi, K., Vitalini, S., & Iriti, M. (2020). Antimicrobial potency of major functional foods' essential oils in liquid and vapor phases: A short review. *Applied Sciences*, *10*(22), 8103–8112. <https://doi.org/10.3390/app10228103>
- Ares, G., Velázquez, A. L., Vidal, L., Curutchet, M. R., & Varela, P. (2022). The role of food packaging on children's diet: Insights for the design of comprehensive regulations to encourage healthier eating habits in childhood and beyond. *Food Quality and Preference*, *95*, 104366–104374. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2021.104366>
- Basti, A. A., Gandomi, H., Noori, N., & Khanjari, A. (2016). Shirazi thyme (*Zataria multiflora* Boiss.) Oils. In *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* (pp. 731–736). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00083-3>
- Beltrán Sanahuja, A., & Valdés García, A. (2021). New trends in the use of volatile compounds in food packaging. *Polymers*, *13*(7), 1053–1062. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/polym13071053>
- Ed-dra, A., Filai, F. R., Bou-idra, M., Zekkori, B., Bouymajane, A., Moukrad, N., Benhallam, F., & Bentayeb, A. (2018). Application of *Mentha suaveolens* essential oil as an antimicrobial agent in fresh turkey sausages. *Journal of Applied Biology & Biotechnolog*, *6*(1), 7–12. <https://doi.org/10.7324/jabb.2018.60102>
- El-Naggar, M. E., Othman, S. I., Allam, A. A., & Morsy, O. M. (2020). Synthesis, drying process and medical

- application of polysaccharide-based aerogels. *International Journal of Biological Macromolecules*, 145, 1115–1128. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.037>
- Emamifar, A. (2019). Effect of salep-based edible coating enriched with grape seed extract on postharvest shelf life of fresh strawberries. *Journal of Food Safety*, 39, e12710. <https://doi.org/10.1111/jfs.12710>
- Ghorani, V., Beigoli, S., & Boskabady, M. H. (2022). The effect of Zataria multiflora on respiratory allergic and immunologic disorders , experimental and clinical evidence : A comprehensive review. *Phytotherapy Research*, 36, 1135–1155. <https://doi.org/10.1002/ptr.7382>
- Han, J. W., Ruiz-Garcia, L., Qian, J. P., & Yang, X. T. (2018). Food packaging: A comprehensive review and future trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), 860–877. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12343>
- Ji, J., Shankar, S., Royon, F., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2023). Essential oils as natural antimicrobials applied in meat and meat products — a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–17. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1957766>
- López, P., Sánchez, C., Battle, R., & Nerín, C. (2007). Vapor-phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4348–4356. <https://doi.org/10.1021/jf063295u>
- Manzocco, L., Mikkonen, K. S., & García-González, C. A. (2021). Aerogels as porous structures for food applications: Smart ingredients and novel packaging materials. *Food Structure*, 28, 100188–100197. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2021.100188>
- Mirmoeini, S. S., Hosseini, S. H., Lotfi Javid, A., Esmaeili Koutamehr, M., Sharafi, H., Molaei, R., & Moradi, M. (2023). Essential oil-loaded starch/cellulose aerogel: Preparation, characterization and application in cheese packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 244, 125356–125365. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125356>
- Mukurumbira, A. R., Shellie, R. A., Keast, R., Palombo, E. A., & Jadhav, S. R. (2022). Encapsulation of essential oils and their application in antimicrobial active packaging. *Food Control*, 136, 108883. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108883>
- Mukurumbira, A. R., Shellie, R. A., Keast, R., Palombo, E. A., Muir, B. W., & Jadhav, S. R. (2023). The antimicrobial efficacy of native Australian essential oils in liquid and vapour phase against foodborne pathogens and spoilage microorganisms. *Food Control*, 151, 109774–109783. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109774>
- Munekata, P. E. S., Pateiro, M., Rodríguez-Lázaro, D., Domínguez, R., Zhong, J., & Lorenzo, J. M. (2020). The role of essential oils against pathogenic Escherichia coli in food products. *Microorganisms*, 8(6), 1–16. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060924>
- Otoni, C. G., Espitia, P. J. P., Avena-Bustillos, R. J., & McHugh, T. H. (2016). Trends in antimicrobial food packaging systems: Emitting sachets and absorbent pads. *Food Research International*, 83, 60–73. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.02.018>
- Reyes-Jurado, F., Navarro-Cruz, A. R., Ochoa-Velasco, C. E., Palou, E., López-Malo, A., & Ávila-Sosa, R. (2020). Essential oils in vapor phase as alternative antimicrobials: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(10), 1641–1650. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1586641>
- Saldanha, A., Lima, D., Volcan, D., Haubert, L., Larré, T., Maria, Â., Valmor, C., Padilha, W., de Lima, A. S., Maia, D. V., Haubert, L., Oliveira, T. L., Fiorentini, Â. M., Rombaldi, C. V., & da Silva, W. P. (2020). Action mechanism of araçá (Psidium cattleianum Sabine) hydroalcoholic extract against Staphylococcus aureus. *LWT*, 119, 108884. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108884>
- Selvasekaran, P., & Chidambaram, R. (2022). Bioaerogels as food materials : A state-of-the-art on production and application in micronutrient fortification and active packaging of foods. *Food Hydrocolloids*, 131, 107760–107769. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107760>

- Songsamoe, S., Khunjan, K., & Matan, N. (2021). The application and mechanism of action of *Michelia alba* oil vapour in GABA enhancement and microbial growth control of germinated brown rice. *Food Control*, *130*, 108401–108411. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108401>
- Tao, R., Sedman, J., & Ismail, A. (2021). Antimicrobial activity of various essential oils and their application in active packaging of frozen vegetable products. *Food Chemistry*, *360*, 129956–129966. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129956>
- Wu, K., Lin, Y., Chai, X., Duan, X., Zhao, X., & Chun, C. (2019). Mechanisms of vapor-phase antibacterial action of essential oil from *Cinnamomum camphora* var. *linaloofera* Fujita against *Escherichia coli*. *Food Science & Nutrition*, *7*(8), 2546–2555. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/fsn3.1104>
- Yan, Y., Ge, F., Qin, Y., Ruan, M., Guo, Z., He, C., & Wang, Z. (2020). Ultralight and robust aerogels based on nanochitin towards water-resistant thermal insulators. *Carbohydrate Polymers*, *248*, 116755–116764. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116755>
- Yap, P. S. X., Yusoff, K., Lim, S. H. E., Chong, C. M., & Lai, K. S. (2021). Membrane disruption properties of essential oils—a double-edged sword? *Processes*, *9*(4), 595–604. <https://doi.org/10.3390/pr9040595>
- Zheng, Q., Tian, Y., Ye, F., Zhou, Y., & Zhao, G. (2020). Fabrication and application of starch-based aerogel : Technical strategies. *Trends in Food Science & Technology*, *99*, 608–620. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.038>



Original Research

Active packaging based on cellulose aerogel loaded with *Zataria multiflora* essential oil and its antimicrobial effect on *Escherichia coli* O157:H7 in meat stored in the refrigerator

Seyedeh Sahar Mirmoeini, Mehran Moradi*, Hosein Tajik, Hadi Almasi

*Corresponding Author: Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.

Email: m.moradi@urmia.ac.ir

Received: 14 June 2024 Accepted: 14 September 2024

[http://doi: 10.22092/FOODER.2024.366082.1394](http://doi.org/10.22092/FOODER.2024.366082.1394)

Abstract

Antimicrobial packaging is a type of active packaging that exerts its antimicrobial effects through contact with food or through release of antimicrobial agent in the packaging space and it can delay, reduce or prevent the growth of spoilage and pathogenic microorganisms in food. The aim of this study is to prepare cellulose aerogel and composite cellulose-Salep aerogel and then load it with *Zataria multiflora* (ZMEO) essential oil in order to release it into active antimicrobial packaging of meat to control *Escherichia coli* O157:H7 during refrigeration. For this purpose, two types of cellulose aerogel (1.5% W/V) and cellulose aerogel (1.5% W/v) - Salep (3% w/V) were prepared with a ratio of 1:1. By loading different amounts of ZMEO on aerogels, the minimum dose of inhibition of the vapor phase of ZMEO for *E. coli* was obtained 256 microliters of essential oil per liter of space. Scanning electron microscope images showed the lysis and cell destruction of *E. coli*, in expose to the vapor phase of ZMEO. While in the meat samples containing $10 \times$ MID concentration of ZMEO loaded on cellulose and cellulase-Salep aerogel, 0.93 and 0.73 logarithmic cycles of reduction in the population of *E. coli* after 16 days of meat storage in the refrigerator was determined. Given the importance of *E. coli* as one of the causes of food-borne diseases due to the lack of hygiene and the need to control it in meat, active packages containing antimicrobial compound releasers can be appropriate solution.

Keywords: Active Packaging, *Zataria Multiflora*, Vapor Phase, Essential Oil, Meat

