

## بررسی اثر ضد میکروبی پوشش پروتئین سویا حاوی اسانس گیاه ترخون (*Artemisia dracunculud L.*) بر فیله مرغ نگهداری شده در دمای یخچال

نیلوفر رحمانی<sup>1</sup>، اکرم سادات طباطبایی بفرویی<sup>2</sup>، انوشه شریفان<sup>3\*</sup>

1- کارشناس ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

2- استادیار گروه زیست شناسی، واحد تهران شرق، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

3- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: 98/09/20 تاریخ پذیرش: 98/07/25)

### چکیده

گوشت مرغ یکی از مواد غذایی پر طرفدار و فساد پذیر می باشد. یکی از روشهای موثر جهت افزایش مدت زمان نگهداری گوشت تازه استفاده از پوششهای بسته بندی مناسب حاوی ترکیبات ضد میکروبی طبیعی است. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر ضد میکروبی پوشش پروتئین سویا حاوی اسانس گیاه ترخون بر گوشت مرغ نگهداری شده در یخچال می باشد. اسانس گیاه ترخون با روش تقطیر با آب استخراج شده و خواص ضد میکروبی آن بر باکتریهای *Staphylococcus aureus* PTCC 1113، *Salmonella enterica* PTCC 1709، *Escherichia coli* PTCC 1399 با روش رقیق سازی بر پایه آگار انجام شده است. پس از آن اثر غلظت های 0/2 و 0/3 درصد (حجمی/حجمی) اسانس محلول در پوشش پروتئین سویا بر روی این باکتری ها بررسی شده و در نهایت اثر ضد میکروبی پوشش پروتئین سویا حاوی اسانس ترخون بر فیله های مرغ نگهداری شده در یخچال بررسی شده و تغییرات ویژگیهای شیمیایی و حسی آن مورد ارزیابی قرار گرفت. بیشترین غلظت بازدارندگی اسانس مربوط به *Staphylococcus aureus* و کمترین آن مربوط به *Escherichia coli* و *Salmonella enterica* بود. شمارش کلی میکروبی برای نمونه تیمار شده با فیلم 3 درصد اسانس در طی 12 روز نگهداری در یخچال نسبت به نمونه ی شاهد کاهش معنی داری ( $P < 0/05$ ) پیدا کرد. بیشترین تأثیر فیلم ضد میکروبی پس از 12 روز نگهداری در یخچال، بر روی نمونه های تلقیح شده با *Staphylococcus aureus* بود. فیلم پروتئینی 3 درصد اسانس از افزایش pH و عدد پراکسید در طول دوره ی نگهداری در یخچال جلوگیری کرد و مطابق نتایج ارزیابی حسی فیلم حاوی 2 درصد اسانس توانست بالاترین امتیاز پذیرش کلی را داشت. اگرچه این خاصیت در اثر اختلاط اسانس با پوشش فیلم کاهش می یابد. همچنین پوشش حاوی اسانس اثرات مثبتی روی خواص شیمیایی و ارگانولپتیکی فیله مرغ گذاشته است.

کلید واژگان: اسانس ترخون، فیلم ایزوله پروتئین سویا، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی، سالمونلا انتریکا .

\*مستول مکاتبات: a\_sharifan2000@yahoo.com

## 1- مقدمه

فرآیندهای شیمیایی و فیزیکی بسیاری مانند اشعه دهی، فشار بالا، استریلیزاسیون و غیره برای حفظ کیفیت ماده غذایی بکار می روند. اما استفاده از یک بسته بندی مناسب همواره به عنوان آخرین مرحله فرآیند نگهداری پیش از مصرف ضروری است. ضمناً در مورد مواد غذایی اولیه و خام که هیچ فرآیندی از جهت تولید و نیز با اثر نگهدارندگی روی آنها صورت نمی گیرد، بویژه محصولات فساد پذیر نظیر انواع گوشت، اهمیت بسته بندی مناسب دوچندان می شود [1].

محصولات گوشتی حتی در دمای یخچالی فسادپذیر بوده و گوشت مرغ حدود 2 تا 3 برابر گوشت قرمز حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع می باشد. با توجه به اینکه بعضی روش های سنتی و صنعتی نگهداری مواد غذایی مثل فرآوری حرارتی، خشک کردن، انجماد و اشعه برای برخی از محصولات مانند گوشت تازه مناسب نیستند، به منظور کاهش رشد و گسترش میکروارگانیسم های عامل فساد و بیماری در مواد غذایی گوشتی استفاده از بسته بندی ضد میکروبی گسترش یافته و زمان نگه داری این محصولات را افزایش می دهد [2].

امروزه گیاهان دارویی، از گیاهان مهم از نظر اقتصادی هستند که به صورت خام یا فرآوری شده در طب سنتی و مدرن صنعتی، مورد استفاده و بهره وری قرار می گیرند. اعلام ممنوعیت سازمان بهداشت جهانی مبنی بر عدم استفاده از رنگ ها و اسانس های سنتتیک و عوارض جانبی داروهای مصنوعی در سال های اخیر باعث رونق کشت و صنعت گیاهان دارویی شده است. اسانس گیاه ترخون رنگ زرد روشن تا عنبری دارد. درغالب روغن ها حل می شود ولی در گلیسرین عملاً غیر محلول است. وزن مخصوص آن بین 0/914 تا 0/956 می باشد. گیاه تازه دارای 0/1 تا 0/4 درصد اسانس مرکب از 60 تا 70 درصد استراگول<sup>1</sup>، 15 تا 20 درصد از ترپنها: اوسیمن<sup>2</sup>، فلاندرن<sup>3</sup>، متیل کاپوایکول<sup>4</sup> و غیره است. به علاوه مقدار کمی تانن<sup>5</sup> نیز در گیاه وجود دارد. [3].

یوگنول<sup>6</sup> یا 4-allyl-2-methoxyphenol با فرمول  $C_{10}H_{12}O_2$  که در اسانس روغنی ادویه های مختلف از جمله ترخون وجود دارد، دارای پتانسیل درمانی قابل توجهی است. این خاصیت به توانایی یوگنول در دنا توره کردن پرتئینها، توانایی واکنش آن با غشا فسفولیپیدی سلولها و تغییر در نفوذ پذیری آنها بر می گردد [4].

هدف از این تحقیق بررسی اثر ضد میکروبی اسانس استخراج شده از گیاه ترخون به تنهایی و نیز در ترکیب با فیلم تهیه شده بر پایه ایزوله پروتئین سویا می باشد.

## 2- مواد و روش کار

### 2-1- تهیه اسانس گیاه ترخون

گیاه ترخون (*Artemisia dracunculud L.*) به صورت خشک شده از شرکت گیاهان سبز زندگی تهیه و پس از توزین به بالن حاوی آب مقطر افزوده شد، سپس به دستگاه کلونجر (Electromantle) متصل گردید و به مدت 4 ساعت اجازه داده شد تا اسانس از گیاه خارج شود. برای جدا کردن اسانس استخراج شده از آب، از سولفات سدیم<sup>7</sup> بدون آب (Merck, Germany) استفاده گردید. از آنجائیکه اسانس ها نسبت به نور، اکسیژن و دما حساسند و در چنین شرایطی ترکیبات آنها دچار تغییر و تحول می گردد، بلافاصله اسانس استخراج شده به یک شیشه تیره منتقل و تا زمان استفاده، در یخچال نگهداری شدند.

### 2-2- تهیه فیلم ایزوله پروتئین سویا

10 گرم از پودر پروتئین سویا 90 درصد از شرکت Shandong رابا 90 میلی لیتر آب به همراه 3/5 گرم گلیسرول حل کرده و جهت اطمینان به مدت 30 دقیقه با همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس این محلول به مدت 30 دقیقه در دمای 85 درجه سلسیوس در حمام آب گرم (England, Hanyoung nux Ax9) قرار گرفت و به طور مداوم همزده شد. پس از آن اسانس ترخون به غلظت 2 و 3 درصد محلول تشکیل دهنده فیلم اضافه گردید. محلول تشکیل دهنده فیلم بدون اسانس به عنوان شاهد مورد

1. Stragol
2. Ocimene
3. Phellandrene
4. Methyl chavicol
5. Tannin

6. Eugenol  
7. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

استفاده قرار گرفت [5].

## 2-3- فعال سازی سویه های میکروبی

آمپول های لیوفیلیزه حاوی سویه های استاندارد میکروارگانیسم های مورد آزمون شامل بر باکتریهای *Staphylococcus aureus* PTCC 1113، *Salmonella enterica* PTCC 1709، *Escherichia coli* PTCC 1399، از سازمان پژوهشهای علمی و تحقیقات صنعتی ایران تهیه شده و طبق دستورالعمل در شرایط کاملاً استریل باز شد کشت مادر روی محیط کشت نوترینت آگار آماده شد. از کشت مادر، کشت ذخیره تهیه شده و در مراحل بعدی استفاده گردید.

## 2-4- تهیه سوسپانسیون میکروبی 0/5 مک فارلند

از کشت ذخیره به محیط کشت آگار مغذی تلقیح گردید و به مدت 18-22 ساعت در دمای 37 درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شد. سپس توسط لوپ استریل تعدادی از کلونی های باکتری برداشته شده و با محلول سالین نرمال رقیق گشته تا زمانی که میزان جذب نوری این سوسپانسیون در طول موج 530 نانومتر با میزان جذب نوری محلول 0/5 مک فارلند برابر گردد. به عبارت دیگر سوسپانسیون میکروبی تولیدی حاوی CFU/ml  $1/5 \times 10^8$  باکتری باشد. جهت اطمینان از صحت تعداد کلونی های باکتری، تست کنترل کیفی انجام شد به این طریق که از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده، بر روی محیط کشت آگار مغذی کشت داده شد و به مدت 18-22 ساعت گرمخانه گذاری شد و سپس تعداد کلونی های هر باکتری شمارش گردید [6].

## 2-5- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی اسانس

### ترخون<sup>8</sup> (MIC)

در این تحقیق روش آگار دایلوژن مطابق با NCCLS با کمی تغییر انجام شد. محیط کشت مولر هیتون آگار<sup>9</sup> طبق به میزان 21 گرم محیط کشت در 1000 میلی لیتر آب مقطر تهیه و اتوکلاو شد. از آنجا که اسانس روغنی بوده و قابلیت انحلال کامل با محیط کشت را ندارد از توئین 80 به عنوان حلال استفاده شد. توئین به ترتیب (0/92، 0/85، 0/78، 0/70، 0/62، 0/55، 0/48 درصد) و اسانس (غلظت های 0/5، 1، 1/5، 2، 3/5، 2/5، 3 درصد) به

وسیله ی ورتکس در هم حل شده و داخل پلیت ها ریخته شد. پس از آن محیط کشت اضافه گردید و اجازه داده شد تا محیطها در دمای محیط بسته شوند. سپس 3 میکرو لیتر از سوسپانسیون های میکروبی با کدورت معادل 0/5 مک فارلند، در نقاط مشخص شده روی پلیت لکه گذاری شده و به مدت 24 ساعت داخل انکوباتور قرار داده شد. اولین پلیتی که در آن رشدی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی تعیین گردید. برای مشخص نمودن حداقل غلظت باکتری کشی، از رقت هایی که در آن کدورتی مشاهده نشد، در محیط آگار مغذی کشت سطحی داده شد سپس پلیت ها به مدت 18-22 ساعت در دمای 37 درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. غلظتی که شمارش تعداد کلونی ها در آن صفر بود، به عنوان حداقل غلظت باکتری کشی برای هر باکتری تعیین گردید. لازم به ذکر است که نمونه های فاقد اسانس و نیز نمونه دارای حلال توئین 80 به عنوان نمونه های شاهد (کنترل)، در نظر گرفته شدند [7].

## 2-6- آزمون چاهک گذاری (WD<sup>10</sup>) فیلم

### حاوی اسانس ترخون

فیلم حاوی پروتئین سویا مطابق روش قبل تهیه شد. به میزان 0 تا 11 درصد حجم فیلم تهیه شده اسانس گیاه ترخون اضافه کرده و به سرعت همزده شد. برای انجام آزمون چاهک گذاری از سوسپانسیون باکتری های موردنظر (*Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli* و *Salmonella enterica*) با کدورت معادل 0/5 مک فارلند، توسط سوآپ روی محیط کشت مولر هیتون آگار به صورت سطحی کشت داده شد. پس از آن به وسیله ی پیپت پاستور نقطه از محیط کشت را خالی کرده و به هر یک از چاهک ها فیلم حاوی درصد های مختلف (0-11 درصد) اسانس اضافه شد. سپس پلیت ها به مدت 24 ساعت در انکوباتور قرار گرفته و پس از آن قطرهاله های عدم رشد اندازه گیری شد [8].

## 2-7- بررسی ویژگیهای میکروبی فیله مرغ

مرغ کشتار روز در ساعات اولیه صبح به صورت فیله شده از فروشگاه شهروند خریداری شد و در یخچال یونولیتی حاوی یخ

10. Well Diffusion' Method

8. Minimum Inhibition Concentration

9. Muller Hinton Agar

با سوآپ استریل کشت سطحی داده شد و پلیت ها در دمای یخچال برای مدت 7 تا 10 روز قرار گرفتند [9].

شمارش *Staphylococcus aureus* بدین صورت انجام شد که 0/1 میلی لیتر از رقت های تهیه شده روی سطح محیط کشت برد پارکر آگار، تلوریت پتاسیم و زرده تخم مرغ ریخته و به وسیله ی میله ی ال شکل روی سطح و دور تا دور پلیت کشت سطحی داده شد تا تمام سطح پلیت به سوسپانسیون میکروبی آغشته گردد. سپس پلیت ها را به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سلسیوس قرار گرفت. کلنی های ریز سیاه رنگ با هاله ی براق نفتی معرف حضور *Staphylococcus aureus* می باشد [10].

جهت بررسی حضور *Salmonella* 25 گرم نمونه به همراه 225 میلی لیتر پپتون واتر یک درصد درون ظرفی که به طور کامل درز بندی شده بود درون انکوباتور 37 درجه سلسیوس به مدت 20-18 ساعت قرار داده شد. سپس یک میلی لیتر از کشت اولیه به منظور غنی سازی ثانویه به نه سی سی محیط کشت سلنیت سیستمین برات<sup>11</sup> (SC) اضافه و مدت 24 تا 48 ساعت در دمای 37 درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شد. بعد از مدت زمان سپری شده از کشت مذکور، کشت خطی در محیط شینگلا سالونلا آگار (SSA)<sup>12</sup> انجام شد. پلیت ها در دمای 37 درجه سلسیوس به مدت زمان 24 ساعت گرمخانه گذاری شدند. باکتری *Salmonella* بر روی محیط سالمونلا-شینگلا آگار پرگنه های بی رنگ، در زمینه زرد (مرکز بعضی پرگنه ها به علت تولید رسوب FeS سیاه رنگ است) ایجاد می کند [11].

به منظور شمارش کلی فرم ها 1 میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه و رقت های تهیه شده در سطح پلیت تلقیح شد و حدود 15 میلی لیتر محیط کشت وایولت رد بایل آگار (VRBA)<sup>13</sup> به سطح پلیت اضافه شد. پلیت ها در دمای 37 درجه سلسیوس به مدت 48 ساعت گرمخانه گذاری شدند [12].

## 2-8- بررسی ویژگی های شیمیایی فیله مرغ

برای بررسی میزان پراکسید مقدار 10 گرم از نمونه ها را به همراه 50 میلی لیتر مخلوط دو به یک حجمی/حجمی کلروفرم/متانول

به آزمایشگاه منتقل شد. پس از آن تا هنگام آزمایش در داخل یخچال قرار گرفت. بدین منظور فیله های مرغ به 4 گروه تقسیم شدند. گروه اول نمونه کنترل فاقد پوشش، گروه دوم مرغ پوشش داده شده با پوشش بدون اسانس، گروه سوم مرغ پوشش داده شده با پوشش حاوی 2 درصد اسانس، گروه چهارم مرغ پوشش داده شده با پوشش حاوی 3 درصد اسانس که طی روزهای ۱۰، ۳، ۵، ۷، ۱۲ مورد آزمون میکروبی قرار گرفتند. فیله های مرغ به ابعاد (1 × 1 × 1 سانتی متر) بریده شد و به وزن تقریبی 5 گرم رسید. فیله ها به طور کامل با آب سرد استریل شسته تا کاملاً تمیز و خونابه ها و سایر ضایعات از آنها جدا شدند. سپس به مدت 1 دقیقه زیر هود لامینار به طور جدا گانه در سوسپانسیونهای تهیه شده از باکتریهای *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* معادل با استاندارد نیم مک فارلند ( $1/5 \times 10^8$  CFU/ml) معلق گردید و به مدت 10 دقیقه در زیر هود لامینار قرار گرفت تا رطوبت اضافی سوسپانسیون تبخیر گردد [5].

هر یک از فیله های مرغ به مدت 1 دقیقه تحت هر یک از تیمارهای موردنظر (فیلم با رقتهای 0/2 و 0/3 درصد اسانس) به روش غوطه وری قرار گرفت و به مدت 10 دقیقه زیر هود لامینار قرار گرفت تا فیلم خشک شود [5].

25 گرم از نمونه مرغ را به همراه 225 میلی لیتر پپتون واتر 0/1 درصد داخل ظرف شیشه ای در بدار به خوبی هم زده شد و به مدت 20 دقیقه اجازه داده شد در دمای اتاق باقی بماند. 9 لوله حاوی 9 میلی لیتر پپتون واتر 0/1 درصد استریل آماده کرده و از رقت  $10^{-1}$  سریال تا رقت  $10^{-10}$  تهیه شد. جهت شمارش کلی میکروارگانیزم ها 1 میلی لیتر از هر رقت توسط سمپلر استریل درون پلیت های خالی استریل ریخته شد و سپس حدود 15 میلی لیتر محیط کشت نوترینت آگار مذاب با دمای حدود 40-45 به آن اضافه گردید. بعد از بستن محیط کشت پلیت ها را به انکوباتور 37 درجه سلسیوس به مدت 24 ساعت منتقل شد و با توجه به فاکتور رقت تعداد آنها به صورت cfu/g گزارش شد.

برای شمارش کلی سایکروترفها 0/1 میلی لیتر از رقت های تهیه شده با استفاده از سمپلر استریل به سطح پلیت های حاوی حدود 15 میلی لیتر محیط کشت نوترینت آگار اضافه شده، سپس

11. Selenite Cystine Broth  
12. Salmonella Shigella Agar  
13. Violet Red Bile Agar

نرم افزار SPSS نسخه 24 و آنالیز واریانس ANOVA و آزمون مقایسه چند دامنه ای دانکن در سطح معنی داری 0/05 <math>p</math> برای مقایسه میانگین داده ها استفاده شده است. هم چنین توسط نرم افزار اکسل نمودارهای مربوطه رسم گردید.

### 3- نتایج و بحث

در مورد مواد غذایی اولیه و خام که هیچ فرآیندی از جهت تولید و نیز با اثر نگهدارندگی روی آنها صورت نمی گیرد بویژه محصولات فساد پذیر نظیر گوشت و مرغ اهمیت بسته بندی مناسب دوجندان می شود. امروزه سیستم های بسته بندی فعال نه تنها با هدف حفاظت منفعلانه از ماده غذایی در برابر عوامل محیطی، بلکه به منظور جلوگیری و تاخیر در فساد میکروبی و شیمیایی و افزایش ماندگاری محصول طراحی می شوند [1].

#### 3-1- راندمان استحصال اسانس

راندمان وزنی-حجمی، با توجه به وزن گیاه اولیه و پس از محاسبه حجم اسانس استخراج شده و تعیین میانگین سه تکرار محاسبه و مورد بررسی قرار گرفت که جواب حاصله 2 درصد وزنی-حجمی بود.

در تحقیق مشابهی که طباطبایی یزدی و همکاران در سال 1396 به بررسی ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس ترخون، بر برخی از باکتری های بیماریزا در شرایط برون تنی پرداختند، مشخص شد راندمان استحصال اسانس 1/2 درصد وزنی-حجمی و رنگ آن متمایل به زرد بود. راندمان استحصال در بررسی کنونی 2 درصد وزنی-حجمی به دست آمده است که در صد بالاتری است. این افزایش راندمان ممکن است به دلیل تازه بودن گیاه و استفاده از تمامی قسمت های گیاه به جز ریشه بوده باشد [15].

اسانس ترخون خواص بیولوژیکی از جمله خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی دارد که ترکیب آروماتیک عمده ی آن متیل چاویکول است. متیل چاویکول یک ایزومر با پیوند دوگانه انتول است. ترکیبات مختلف شیمیایی اسانس ترخون ممکن است به زمان برداشت، موقعیت جغرافیایی، شرایط زمین و عوامل ژنتیک بستگی داشته باشد ترکیبات موجود در اسانس ترخون ممکن است برای سرطان و تصلب شرایین مناسب باشند، چرا که

به مدت دو دقیقه در استومکر (INTERSCIENCE (French، هموزن شد. سپس محلول هموزن شده با استفاده از کاغذ صافی مانکتل 368 بر روی قیف سپراتور فیلتر شد. مقدار 20 میلی لیتر محلول 0/5 درصد نمک طعام به منظور دو فاز شدن محلول اضافه شد. فاز آبی-متانول دور ریخته شد و فاز کلروفرمی برای تبخیر حلال و باقی ماندن چربی به دست آمده مورد استفاده قرار گرفت. به مقدار مشخص چربی به دست آمده 25 میلی لیتر مخلوط کلروفرم- اسید استیک به نسبت دو به سه اضافه شد و بعد از مخلوط کردن و تکان دادن یک میلی لیتر محلول اشباع پتاسیم یدید اضافه شد و پنج دقیقه در تاریکی نگهداری شد. بعد از افزودن 75 میلی لیتر آب مقطر و 0/5 میلی لیتر معرف چسب نشاسته، محلول حاصل با تیوسولفات پتاسیم 0/01 نرمال تیترو شد. میزان عدد پراکسید بر مبنای meq peroxide/kg چربی استخراج شده بدست آمد [13].

مقدار 10 گرم نمونه با 90 میلی لیتر آب مقطر در استومکر مخلوط شد، سپس با استفاده از دستگاه pH متر (مدل 827 pH (Switzerland, Metrohm lab) اندازه گیری pH انجام گرفت [13].

#### 2-9- ارزیابی حسی

جهت ارزیابی اثر اسانس بر خصوصیات ارگانولپتیک (شامل طعم، بو، خصوصیات ظاهری و رنگ و پذیرش کلی)، نمونه های مرغ پخته شده حاوی فیلم پروتئین آب پنیر و اسانس ترخون همراه با یک نمونه شاهد در شرایط یکسان توسط هشت پانلیست مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه ها در زمان برگزاری ارزیابی به روش گریبل پخته شدند و بلافاصله جهت ارزیابی در اختیار پانلیست ها قرار گرفتند. جهت آزمون پانل بر روی هر صفت، از سیستم ارزیابی پنج رتبه ای استفاده گردید، به این ترتیب که به هر یک از فاکتورهای اشاره شده، امتیازی از یک تا پنج اختصاص داده شد. نحوه ی امتیاز دهی بر این اساس بود که عدد پنج نشان دهنده ی بالاترین امتیاز و بهترین حالت و عدد یک نشان دهنده ی کمترین امتیاز و بدترین حالت بود [14].

#### 2-10- تجزیه و تحلیل داده ها

در این تحقیق هریک از داده ها سه بار تکرار شد و به منظور بررسی وجود اختلاف آماری معنی دار بین تیمارهای مختلف از

اکسیداسیون چربی را کاهش می دهد [16].

### 3-2- نتایج آزمون های میکروبی

اغلب مطالعات انجام شده در خصوص اثر اسانس های گیاهی بر روی میکروارگانیسم های عامل فساد و پاتوژن های غذایی مثل انواع *Salmonella* و *Staphylococcus aureus* نشان می دهند که اثر اسانس های گیاهی بر روی باکتری های گرم مثبت قدری بیشتر از تأثیر آنها بر روی باکتری های گرم منفی است. علت حساسیت کمتر گرم منفی ها شاید بعلت وجود غشاء خارجی در باکتری های گرم منفی باشد که سبب محدود شدن انتشار اجزاء هیدروفوبیک اسانس به لایه لیپوبلی ساکارید می شود [17].

در زمینه خاصیت ضد میکروبی اسانس ترخون تحقیقاتی صورت گرفته است، از جمله محسن زاده در سال 2007 از اسانس های آویشن، نعنا فلفلی، زیره سیاه، رازیانه، ترخون وپونه به میزان 0/01 تا 15 درصد بر روی باکتری های *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* در محیط کشت نوترینت براث استفاده کرد. MIC اسانس ترخون در برابر *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* به ترتیب 7 و 6 درصد و MBC به ترتیب 9 و 8 درصد گزارش شد که نسبت به نتایج آزمون انجام شده در درصد های بسیار بالاتری اتفاق افتاده است [18].

بنیادیان و همکاران در سال 2008 روی خواص آنتی میکروبی پونه، نعنا بیابانی، زیره و ترخون بر باکتری های *Listeria monocytogenes*، *Bacillus cereus* و *Yersinia enterocolitica* مطالعه کردند. طی این تحقیق مشخص شد MIC *Listeria monocytogenes* 4 درصد و MBC 5 درصد بوده است [19].

در سال 1396 طباطبائی یزدی و همکارانش ترکیبات شیمیایی و فعالیت ضد میکروبی اسانس ترخون، بر برخی از باکتری های بیماری زا در شرایط برون تنی (*In vitro*) را بررسی نموده و طی این بررسی 18 ترکیب موجود در اسانس ترخون را شناسایی کردند که p-Allylanisole فراوان ترین ترکیب یافت شده بود. قطر هاله عدم رشد برای باکتری های *Listeria innocua*

*Salmonella*، *Staphylococcus epidermidis* و *Enterobacter aeruginosa typhimurium* به ترتیب 11/2، 14/2، 8/1 و 9/8 میلی متر بوده است. MBC اسانس ترخون برای *Staphylococcus epidermidis*، *Listeria innocua*، 9/2 و برای *Salmonella typhimurium* و *Enterobacter aeruginosa* به ترتیب 36/8 و 73/6 میلی گرم بر میلی لیتر گزارش شده است [15].

Kordali و همکاران در سال 2005 به خصوصیات شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس گونه های مختلف ترخون و خواص ضدقارچی و ضدباکتریایی آن ها پرداختند. بر این اساس قطر هاله عدم رشد در دیسک حاوی 600-1200 میکروگرم اسانس برای باکتری های *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* و *Salmonella typhimurium* به ترتیب 8، 9 و 7-9 میلی متر تعیین شد و *Staphylococcus aureus* گرم مثبت به عنوان حساس ترین باکتری شناخته شد [20].

در سال 2014 Sharafati Chaleshtori و همکاران به ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی اسانس ترخون در برگر گوشت گاو پرداختند. غلظت های 0، 0/062، 0/125 و 0/25 درصد طی 12 روز بر اکسایش چربی ها، خواص ارگانولیتیک و فعالیت ضد *Staphylococcus aureus* بررسی شد. اسانس ترخون با غلظت 0/25 بیشترین اثر کاهندگی بر *Staphylococcus aureus* را داشت. مطلوب ترین درصد اسانس برای خواص ارگانولیتیکی 0/125 گزارش شد ولیکن تأثیر چشمگیری در جلوگیری از جلوگیری از اکسیداسیون چربی ها نداشت [21]. صفایی و همکاران در سال 94 طی 14 روز اثر 2 و 3 درصدی اسانس ترخون بر روی ماهی قزل آلا بررسی کردند. نتایج حاصله از این قرار بود که در صورت بایین بودن میزان اولیه بار میکروبی، اسانس ترخون باعث کاهش میزان رشد این باکتری می شود [22].

استفاده از فیلم های ضد میکروب در مقایسه با افزودن مستقیم ماده ضد میکروب بسیار موثرتر است، زیرا ترکیب ضد میکروب به کندی از سطح بسته بندی به ماده غذایی آزاد می شود و در غلظت مورد نیاز برای جلوگیری از رشد میکروبی حفظ می گردد. آزاد شدن تدریجی عامل ضد میکروب از فیلم به سطح

### 3-2-2- تعیین بار میکروبی اولیه فیله های مرغ مورد آزمون

با توجه به تعداد کلی میکروارگانیسم ها، شمارش باکتری *Staphylococcus aureus*، شمارش کلی فرم ها، تعداد باکتری های سرما دوست و نیز شمارش باکتری *Salmonella* کمتر از حد تعیین شده در استانداردهای مربوطه بود.

### 3-2-3- بررسی خواص ضد میکروبی فیلم حاوی اسانس ترخون

نتایج قطر هاله عدم رشد فیلم حاوی غلظت های مختلف اسانس به روش چاهک در جدول 1 نشان داده شده است. همانطور که مشخص شده است به دلیل عدم مشاهده اثر ضد میکروبی در غلظتهای اولیه مقادیر بالاتری از اسانس مورد آزمون قرار گرفت که نتایج آن در جدول زیر ارائه گردیده است. طی این تحقیق نیز مشخص شد بیشترین هاله عدم رشد در غلظت 11 درصد اسانس ترخون مربوط به باکتری *Salmonella enterica* است با قطر هاله 11/92 میلی متر و کمترین هاله عدم رشد مختص باکتری *Staphylococcus aureus* با قطر 11/2 میلی متر است. هاله ی عدم رشد باکتری اشیریشیاکلی ما بین این دو قرار دارد و 11/59 میلی متر می باشد.

ماده غذایی از راه تبخیر در مقایسه با غوطه ورسازی ماده غذایی در محلول ضد میکروبی، اسپری نمودن بر سطح ماده غذایی مزیت دیگری نیز دربردارد. در روش های اخیر، احتمال کاهش سریع فعالیت ضد میکروبی به دلیل غیرفعال شدن آن در اثر تماس با مواد تشکیل دهنده ماده غذایی (واکنش با ترکیب های ماده غذایی) یا انتشار سریع از سطح به توده ماده غذایی و در نتیجه کاهش مقدار مؤثر ترکیب ضد میکروب به علت انتقال به توده ماده غذایی وجود دارد [23].

### 3-2-1- تعیین MIC و MBC اسانس ترخون

به منظور تعیین MIC اسانس ترخون، غلظت های 0، 0/5، 1، 1/5، 2، 3 و 3/5 درصد انتخاب گردید و مورد استفاده قرار گرفت. نتایج بررسی پلیت ها پس از 48 ساعت نشان داد که اسانس ترخون در غلظت 0/5 درصد از رشد *Staphylococcus aureus* ممانعت به عمل آورده است. MBC اسانس برای *Staphylococcus aureus* برابر یک درصد می باشد. هم چنین اسانس ترخون در غلظت یک درصد از رشد *Escherichia coli* و *Salmonella enterica* ممانعت به عمل آورده MIC و MBC اسانس برای باکتری های مذکور برابر 1/5 درصد به دست آمد، که مؤید اثر بازدارندگی و کشندگی بیشتر اسانس بر روی باکتری های گرم مثبت نسبت به گرم منفی هاست

**Table 1** Results of Inhibitaion zone diameter with different essential oil percentages by method of well diffusion

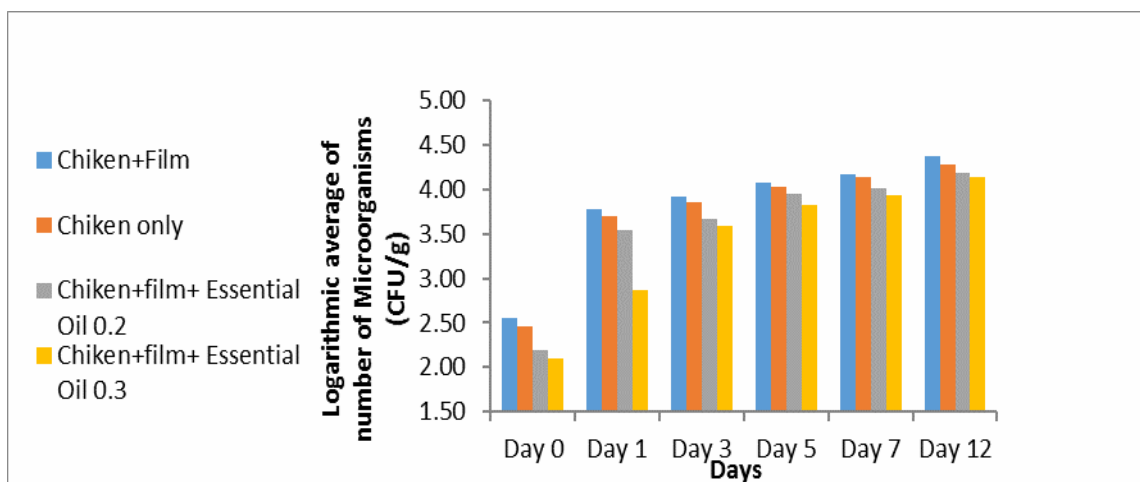
| Microorganism                | MIC range in millimeters      |                               |                               |                               |
|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                              | Film with 0%<br>Essential oil | Film with 1%<br>Essential oil | Film with 2%<br>Essential oil | Film with 3%<br>Essential oil |
| <i>Escherichia coli</i>      | -                             | 7.80 ± 0.03                   | 9.98 ± 0.03                   | 11.20 ± 0.02                  |
| <i>Salmonella enterica</i>   | -                             | 7.87 ± 0.05                   | 10.06 ± 0.04                  | 11.59 ± 0.02                  |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | -                             | 8.30 ± 0.02                   | 10.50 ± 0.02                  | 11.92 ± 0.02                  |

همانطور که مشاهده می گردد در تمامی نمونه ها، رشد باکتری با گذشت زمان روند صعودی داشته است. اما نمونه مرغ های پوشش داده شده با فیلم حاوی 2 و 3 درصد اسانس به طور معنی داری اختلاف وجود دارد ( $P < 0.05$ ).

### 3-2-4- نتایج ارزیابی شمارش باکتری

#### *Staphylococcus aureus*

نتایج مقایسه میانگین شمارش باکتری *Staphylococcus aureus* در نمونه های مرغ شاهد و مرغ پوشش داده شده با فیلم حاوی غلظت های مختلف اسانس ترخون در روزهای 0، 1، 3، 5، 7 و 12 پس از تولید در نمودار 1 نشان داده شده است.

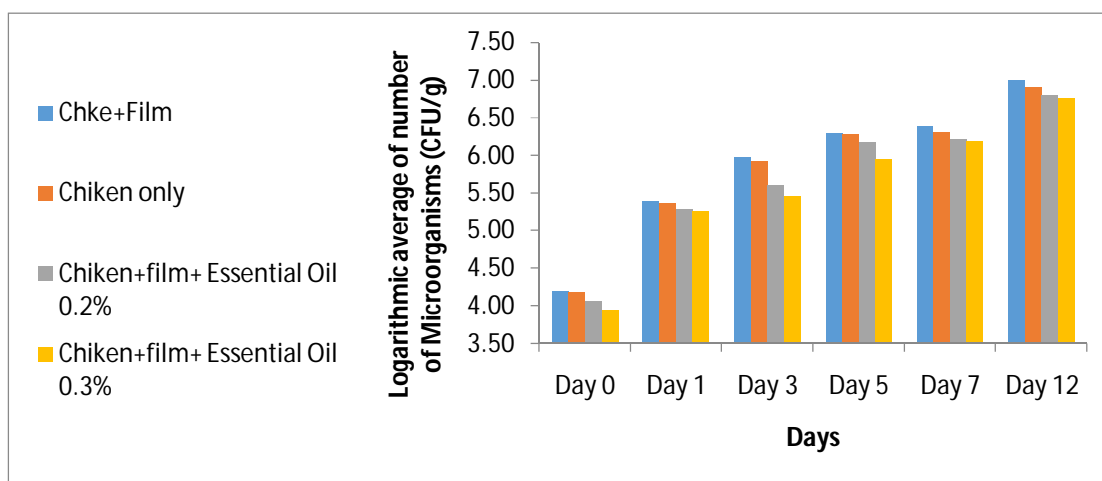


**Graph 1** Average count of *Staphylococcus aureus* bacteria in blank chicken sample and samples coated with film of different concentration of Tarragon in 0, 1, 3, 5, 7, and 12 days after production

*Escherichia coli* کلی در نمونه مرغ پوشش داده شده با فیلم حاوی غلظت 3 درصد طی 12 روز آزمایش از سایر نمونه ها از همه کندتر بوده است.

### 5-2-3- نتایج ارزیابی شمارش باکتری *Escherichia coli*

همانطور که در نمودار 2 مشاهده می گردد روند رشد باکتری ها با گذر زمان صعودی است. ولی سرعت افزایش باکتری



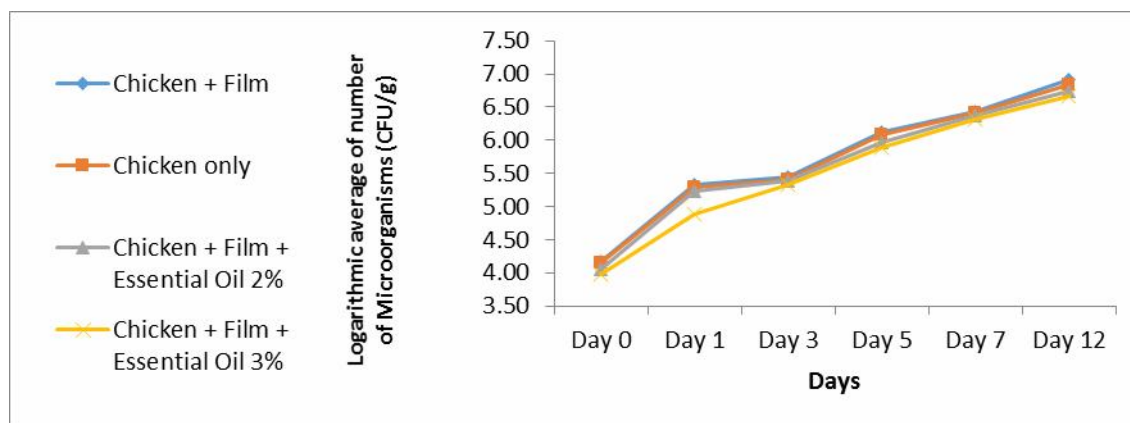
**Graph 2** Average count of *Escherichia coli* bacteria in blank chicken sample and samples coated with film of different concentration of Tarragon in 0, 1, 3, 5, 7, and 12 days after production

فیلم حاوی غلظت 3 درصد اسانس ترخون به نسبت سایرین کمترین میزان رشد را نشان می دهد.

### 6-2-3- نتایج ارزیابی شمارش باکتری *Salmonella enterica*

نمودار 3 نیز روند رو به رشد افزایش باکتری ها را در تمامی نمونه ها، طی 12 روز نشان می دهد. مرغ پوشش داده شده با





**Graph 3** Average count of *Salmonella enterica* bacteria in blank chicken sample and samples coated with film of different concentration of Tarragon in 0 , 1 , 3 , 5 , 7 , and 12 days after production

بافت گوشت با گذشت زمان توسط فعالیت آنزیمی میکروارگانیسم ها تخریب می شود، این تخریب بافت با تجزیه ی ترکیبات پروتئینی و تولید ترکیباته ازته فرار مانند آمونیاک و تری متیل آمین همراه است که منجر به افزایش  $pH$  گوشت می گردد [24]. در این تحقیق با به کار بردن فیلم پروتئین سویا با 3 درصد اسانس و کاهش بار میکروبی منتج شده از آن روند تخریب بافت فیله مرغ به تأخیر افتاد، که به دنبال آن  $pH$  در مقایسه با نمونه شاهد کاهش یافت. همچنین کمترین میزان اکسیداسیون نیز مختص به همین نمونه بوده است.

رنجبریان و همکاران در سال 1396 به بررسی تأثیر فیلم و پوشش نانوکامپوزیت فعال کازئینات سدیم حاوی اسانس دارچین در افزایش ماندگاری فیله سینه مرغ پرداختند. در این پژوهش عنوان شد نمونه های پوشش داده شده به اسانس اندیس TBA، پراکسید و  $pH$  کمتری در مقایسه با نمونه شاهد داشتند. اما در تمام نمونه ها تغییرات این 3 فاکتور روند صعودی داشت که در مورد نمونه شاهد این تغییر بسیار محسوس تر بود [26].

در تحقیق Bazargani و همکاران 2015 با استفاده از ترکیب عصاره انار و پوشش کیتوزان غنی شده با اسانس آویشن در ماندگاری سینه مرغ، اندیس پراکسید، TBRAs و اکسیداسیون پروتئینها در نمونه های تیمار به طور قابل توجهی پایین تر از گروه کنترل بود. افزایش پراکسید میتواند به علت نرخ سریعتر تشکیل پراکسیدها در طول روزهای 5 و 10 نگهداری در مقایسه با تجزیه پراکسیدها به محصولت ثانویه اکسیداسیون باشد. تجزیه

### 3-3- نتایج آزمون های شیمیایی

نتایج آزمون های شیمیایی نیز نشان داد که به طور کلی نمونه های دارای فیلم و به خصوص نمونه های دارای اسانس باعث به تاخیر انداختن اکسیداسیون در طول مدت نگهداری شده و روند افزایش  $pH$  را نیز کند کرده اند که در این رابطه نمونه حاوی فیلم و 3 درصد اسانس اندیس پراکسید و  $pH$  کمتری در طول دوره نگهداری داشت. بافت گوشت با گذشت زمان توسط فعالیت آنزیمی میکروارگانیسم ها تخریب می شود، این تخریب بافت با تجزیه ی ترکیبات پروتئینی و تولید ترکیباته ازته فرار مانند آمونیاک و تری متیل آمین همراه است که منجر به افزایش  $pH$  گوشت می گردد [24].

اثر آنتی اکسیدانی اسانس ترخون و BHT در مطالعه خنجری و همکاران (2013) بر روی بسته بندی گوشت فیله مرغ با استفاده از O,N-کربوکسی متیل کیتوزان و اسانس پونه کوهی جهت افزایش ماندگاری و بررسی لیستریا مونوسایتوزنز، نمونه ها در شرایط هوای بسته بندی و در دمای 4 درجه سلسیوس تا 14 روز نگهداری شدند. تعداد کل باکتری ها در نمونه های شاهد از روز 6 و نمونه های تیمار شده با اسانس پونه کوهی از روز 10 به بعد از  $7 \log/cfu$  تجاوز کرد. شمارش کلی در نمونه های تیمار شده با کیتوزان و اسانس پونه کوهی تا انتهای مطالعه به این حد نرسید و نیز در مورد *Listeria monocytogenes* با دوز تلقیح اولیه  $105 \log/g$  و 103 بعد از روز 4 و 2 به ترتیب یافت نشد [25].

بسته بندی شده با فیلم کیتوزان و سطوح مختلف اسانس سیر، نشان داده شد که تیمارهای حاوی فیلم و اسانس در برابر افزایش pH و نیز تا حد قابل توجهی نسبت به افزایش PV در مقایسه با گروه کنترل مقاومت نشان دادند [13].

### 3-3-1- اندازه گیری اندیس پراکسید

نتایج آزمون های اندازه گیری عدد پراکسید مطابق جدول زیر است.

پراکسیدها در سینه مرغ بعد از روزهای 5 و 10 نگهداری مشاهده شد. نمونه های با پوشش فیلم حاوی 2 درصد اسانس بیشترین کاهش پراکسید را در نمونه ها نشان دادند. مقادیر pH نمونه های کنترل در طول نگهداری افزایش یافت، درحالیکه سایر نمونه ها روند کاهشی نشان دادند که به علت وجود تیمارهای ضد میکروبی اسیدی شده مانند عصاره انار، کیتوزان و اسانس آویشن شیرازی می تواند باشد [27].

در تحقیق مولایی آقایی و همکاران 1394 بر روی فیله های مرغ

**Table 2** Results of Peroxide index measurement in produced samples at 0, 1, 3, 5, 7, and 12 days

| Sample                               | Peroxide Index (mEq/kg of extracted fat) Day 0 average $\pm$ standard deviation | Peroxide Index (mEq/kg of extracted fat) Day 1 average $\pm$ standard deviation | Peroxide Index (mEq/kg of extracted fat) Day 3 average $\pm$ standard deviation | Peroxide Index (mEq/kg of extracted fat) Day 5 average $\pm$ standard deviation | Peroxide Index (mEq/kg of extracted fat) Day 7 average $\pm$ standard deviation | Peroxide Index (mEq/kg of extracted fat) Day 12 average $\pm$ standard deviation |
|--------------------------------------|---|---|---|---|---|--|
| Chicken (Control Sample)             | 2.71 $\pm$ 0.03 <sup>Aa</sup>   | 3.50 $\pm$ 0.01 <sup>Cb</sup>   | 4.95 $\pm$ 0.05 <sup>Dc</sup>   | 5.43 $\pm$ 0.03 <sup>Cd</sup>   | 5.82 $\pm$ 0.04 <sup>Be</sup>   | 6.72 $\pm$ 0.02 <sup>Df</sup>  |
| Chicken + Film with 0% Essential Oil | 2.75 $\pm$ 0.04 <sup>Aa</sup>   | 3.33 $\pm$ 0.03 <sup>Bb</sup>   | 4.07 $\pm$ 0.06 <sup>Cc</sup>   | 5.16 $\pm$ 0.10 <sup>Bd</sup>   | 5.61 $\pm$ 0.34 <sup>ABe</sup>  | 6.64 $\pm$ 0.05 <sup>Cf</sup>  |
| Chicken + Film with 2% Essential Oil | 2.72 $\pm$ 0.02 <sup>Aa</sup>   | 3.18 $\pm$ 0.07 <sup>Ab</sup>   | 3.79 $\pm$ 0.04 <sup>Bc</sup>   | 4.64 $\pm$ 0.03 <sup>Ad</sup>   | 5.38 $\pm$ 0.02 <sup>Ae</sup>   | 6.02 $\pm$ 0.04 <sup>Bf</sup>  |
| Chicken + Film with 3% Essential Oil | 2.70 $\pm$ 0.05 <sup>Aa</sup>   | 3.12 $\pm$ 0.03 <sup>Ab</sup>   | 3.69 $\pm$ 0.01 <sup>Ac</sup>   | 4.62 $\pm$ 0.02 <sup>Ad</sup>   | 5.31 $\pm$ 0.02 <sup>Ae</sup>   | 5.83 $\pm$ 0.03 <sup>Af</sup>  |

Different uppercase letters in each column indicate a significant difference ( $P < 0.05$ ).

Different lowercase letters in each row indicate a significant difference ( $P < 0.05$ ).

مرغ پوشش داده شده با فیلم اختلاف معنی داری داشته ( $P < 0.05$ ) و روند اکسیداسیون را کاهش داده اند.

### 3-3-2- نتایج آزمون اندازه گیری pH

با توجه به نتایج حاصله غیر از روز اول آزمایش اختلاف معنی داری بین نمونه مرغ های پوشش داده شده با 2 و 3 درصد اسانس وجود ندارد. این درحالیست که هر دوی این تیمارها نسبت به مرغ شاهد و مرغ پوشش داده شده با فیلم اختلاف معنی

همانطور که در جدول 2 مشاهده می شود در روز صفر آزمون، بین اندیس پراکسید نمونه ها هیچ اختلاف معنی داری وجود ندارد ( $P > 0.05$ ).

در روز اول آزمون، بین اندیس پراکسید نمونه های مرغ پوشش داده شده با فیلم دارای 2 درصد اسانس و مرغ پوشش داده شده با فیلم دارای 3 درصد اسانس نیز اختلاف معنی داری مشاهده نمی گردد ( $P > 0.05$ ). اما این دو تیمار نسبت به نمونه شاهد و

### 3-4- نتایج ارزیابی حسی

از نظر پذیرش کلی نمونه مرغ پوشش داده شده با فیلم دارای 2 درصد اسانس با اختلاف معنی داری با سایر نمونه ها، توانسته است بالاترین امتیاز را کسب کند.

داری وجود داشته، اگرچه با گذشت زمان روند افزایش pH صعودی بوده ولیکن در این بین نمونه های بوشش داده شده با اسانس 3 درصد از افزایش کمتری برخوردارند.

Table 3: Results of comparison of mean sensory evaluation in Chicken and Chicken coated with film containing different concentrations of tarragon essential oil

| Sample                                  | Flavor<br>average $\pm$ standard<br>deviation | Aroma<br>average $\pm$ standard<br>deviation | Color<br>average $\pm$ standard<br>deviation |
|---|---|--|--|
| Chicken (Control Sample)                | 1.0 $\pm$ 75.70 <sup>A</sup>                  | 1.0 $\pm$ 37.51 <sup>A</sup>                 | 3.0 $\pm$ 00.75 <sup>A</sup>                 |
| Chicken + Film with 0%<br>Essential Oil | 2.0 $\pm$ 75.88 <sup>B</sup>                  | 1.0 $\pm$ 87.35 <sup>A</sup>                 | 3.0 $\pm$ 62.91 <sup>A</sup>                 |
| Chicken + Film with 2%<br>Essential Oil | 4.0 $\pm$ 37.74 <sup>C</sup>                  | 3.0 $\pm$ 87.64 <sup>B</sup>                 | 3.0 $\pm$ 37.51 <sup>A</sup>                 |
| Chicken + Film with 3%<br>Essential Oil | 3.0 $\pm$ 87.83 <sup>C</sup>                  | 4.0 $\pm$ 25.70 <sup>B</sup>                 | 3.0 $\pm$ 75.70 <sup>A</sup>                 |

Different uppercase letters in each column indicate a significant difference ( $P < 0.05$ ).

ضدمیکروبی و فیزیوشیمیایی فیلم ژلاتین حاوی اسانس برگ لیمو و ترنج پرداخته. در این پژوهش مشخص شد نمونه های فیلم دارای اسانس از نظر ویژگی های طعم و بو توانستند امتیاز بالاتری را توسط ارزیاب ها کسب کنند [30].

یکی از تغییرات حسی مهم گوشت ایجاد تغییرات نامطبوع در رنگ، بو و طعم آن میباشد که به علت رشد باکتریایی تغییرات شیمیایی ناشی از اکسیداسیون و تولید ترکیبات فرار میباشد که باعث کاهش ماندگاری گوشت می شود [28]. در این تحقیق مطلوب ترین نمونه مربوط به مرغ پوشش داده شده با اسانس 2 درصد گزارش داده شد که نسبت به مرغ پوشش داده شده یا 3 درصد از ویژگی حسی بالاتری برخوردار است که این مسئله می تواند مربوط به بو و طعم تند اسانس باشد.

### 4- نتیجه گیری کلی

در این پژوهش به بررسی اثر ضد میکروبی فیلم پروتئین سویا خوراکی حاوی اسانس گیاه ترخون (*Artemisia dracunculud L.*) بر مدت زمان ماندگاری فیله مرغ در دمای 4 درجه سلسیوس پرداخته شده است. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که اسانس این گیاه ایرانی اثر مهارکنندگی و میکروبیکی متفاوتی بر دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی داشته و نتایج آزمونهای مربوط به فیلم تهیه شده بر پایه ایزوله پروتئین سویا حاوی غلظتهای مختلف اسانس نشان داد که غلظت 3 درصد بیشترین تاثیر را داشته است و همچنین نسبت به سایر غلظت ها در جلوگیری از اکسیداسیون و افزایش pH موفق تر عمل کرده است. از لحاظ خواص ارگانولپتیکی مرغ پوشش داده شده با 2 درصد اسانس از بیشترین مقبولیت برخوردار بود.

رنجبریان و همکاران در سال 1396 به بررسی تاثیر فیلم و پوشش نانوکامپوزیت فعال کازئینات سدیم حاوی اسانس دارچین در افزایش ماندگاری فیله سینه مرغ پرداختند. در این پژوهش عنوان شد تنها نمونه ای که بالاترین امتیاز را کسب کرد نمونه پوشش داده شده حاوی 2/5 درصد اسانس دارچین بود که عمر نگهداری مرغ را در یخچال از 7 روز به 12 روز افزایش داد [26].

Hosseini و همکاران در سال 2009 به بررسی خصوصیات فیلم های کیتوزان حاوی اسانس آویشن، میخک و دارچین در مواد غذایی پرداختند. در این پژوهش عنوان شد نمونه های پوشش داده شده با فیلم حاوی اسانس بالاترین امتیاز را از نظر ارزیابی حسی در مقایسه با نمونه شاهد داشتند [29].

Ahmad و همکاران در سال 2012 به بررسی خصوصیات

## 5- منابع

- Microbiology - A Comprehensive Method for Searching and Identifying Salmonella Species. Iranian Institute of Standards and Industrial Research, National Iranian Standard, No. 1810.
- [12] No name. 1384. Microbiology of food and feed - The method of searching and counting *Escherichia coli* using the most probable method. Iranian Institute of Standards and Industrial Research, National Iranian Standard, No. 2946.
- [13] Molaie Aghaei, E. Kamkar, A. Khangari, A. Oladi, M. 1396. Effect of Chitosan Packaging with Cumin Essential Oil on Chemical and Microbial Properties of Chicken Fillet. Journal of Fasa University of Medical Sciences. Seventh year. No. 1. 115-104 pages
- [14] Sharifan, A. 1384 . The Effect of Essential Oil of Thyme and Shirazi Plants on *Staphylococcus aureus* Bacteria. PhD thesis in Agriculture-Food Science and Technology
- [15] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, Fakhri., Mortazavi, A. Mohebi, V., Mohabbat. 1396 . Investigation of chemical composition and antimicrobial activity of Tarragon essential oil on some pathogenic bacteria in vitro. Qom University of Medical Sciences Journal. Eleventh Edition, No. 9, pp. 51-42.
- [16] Sharafati Chaleshtori, R., Rokni, N., Razavilar, V., Rafieian Kopaei, M. 2012 .The Evaluation of the Antibacterial and Antioxidant Activity of Tarragon. Jundishapur J Microbiol. 2013;6(9):e7877
- [17] Marino, M., Bersani, C. and Comi, G. 1999. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. Journal of food protection, 62(9), pp.1017-1023.
- [18] Mohsenzadeh M .2007. Evaluation of antibacterial activity of . selected Iranian essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in nutrient broth medium. Pak J Bio; 10: 3693-3697.
- [19] Bonyadian M, Moshtaghi H .2008. Bacteriocidal Activity of Some Plants Essential Oils Against *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica*. Res J Microbiol. ;3(11):648-653.
- [20] Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A., Cakir, A.,
- [1] Azerdo, H. M. C. 2013. Antimicrobial nanostructures in food packaging, trends in food science & technology, 30(1):56-69
- [2] Rokni, N. 1394 . Principles of food hygiene. Ninth Edition. Tehran University Press. Pages 27-29.
- [3] Zargari, A . 1375 . Medicinal plants. Sixth Edition, Institute. University of Tehran Press. Volume Three of Pages 117-121.
- [4] Briozzo, J., Núñez, L., Chirife, J., Herszage, L., D'aquino, M. 1989. Antimicrobial activity of clove oil dispersed in a concentrated sugar solution", Journal of Applied Bacteriology, Vol. 66, No. 1, pp. 69-75.
- [5] Sivarooban, T., Navam, S. Hettiarachchy, and Michel, G., Johnson. 2006. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Nisin Combined with Grape Seed Extract or Green Tea Extract in Soy Protein Film Coated on Turkey Frankfurters. Journal of food science—Vol. 71.
- [6] Mahon, C.R. and Manuselis, G. 1995. Textbook of diagnostic microbiology. W.B. Saunders Company, Tokyo. pp. 121-122.
- [7] Clinical and laboratory standards Institute (formerly NCCLS), 2006. Method for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; approved guideline .M45-A. clinical and Laboratory Standards institute, wayne, PA.
- [8] Magaldi, S. and Camero, T. 1997. Susceptibilidad de *Candida albicans* 'in vitro' mediante los pozos de difusión. Boletín Venezolano de Infectología, 7, pp.5-8.
- [9] No name. 1393 . Food Chain Microbiology - A Comprehensive Approach to Counting Microorganisms - Part 2- Colony Counting at 30 ° C Using Surface Culture Method. Iranian Institute of Standards and Industrial Research, National Iranian Standard, no 2-5272
- [10] No name. 1384 . Microbiology of food and feed - Counting of coagulase-positive *Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* and other species) -Test method-Part I: Method of use of culture medium-Parkragar. Iranian Institute of Standards and Industrial Research, National Iranian Standard, no 1-6806
- [11] No name. 1393. Food and Feed

- Food Science and Technology, 53: 94-99
- [26] Ranjbarian, S., Rezazad Bari, M., Diamond, H. And Amiri, S. 1396 . The effect of film and coating of sodium caseinate active nanocomposite containing cinnamon essential oil on enhancing shelf life of chicken breast. Journal of Food Science and Technology, Volume 14, Number 71, pp. 184-171.
- [27] Bazargani-Gilani, B., Aliakbarlu, J., 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. Elsevier Ltd All rights reserved
- [28] Brannan, R.G. 2009. Effect of grape seed extract on descriptive sensory analysis of ground chicken during refrigerated storage. Meat science, 81(4), pp.589-595.
- [29] Hosseini, M.H., Razavi, S.H. and Mousavi, M.A. 2009 . Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. Journal of Food Processing and Preservation, 33(6), pp.727-743.
- [30] Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T. and Agustini, T.W. 2012. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. Food Hydrocolloids, 28(1), pp.189-199.
- Ala, A. and Yildirim, A. 2005. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. Journal of agricultural and food chemistry, 53(24), pp.9452-9458.
- [21] Sharafati-Chaleshtoria, R. Roknib, N. Rafieian-Kopaeic, M. Dreesd, F. Sharafati-chaleshtoric, A and Salehic, E. 2014. Antioxidant and Antibacterial Activity of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Essential Oil in Beef Burger. Journal of food science. vol. 26 .
- [22] Safaei, M., Hosseini, E. And Shabani, S. 1394. First International Conference on Iranian Food Industries, Tehran, Iran Development Conferences Center
- [23] Appendini, P. and Hotchkiss, J.H. 2002. Review of antimicrobial food packaging. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 3(2), pp.113-126..
- [24] Jouki, M. and Khazaei, N. 2011. Effects of storage time on some characteristics of packed camel meat in low temperature. Int J Anim Vet Adv, 3(6), pp.460-64.
- [25] Khanjari, A., Karabagias, I.K., Kontominas, M.G. 2013. Combined effect of N,O-carboxymethyl chitosan and oregano essential oil to extend shelf life and control *Listeria monocytogenes* in raw chicken meat fillets,

## Antimicrobial effect of soy protein coating containing tarragon essential oil (*Artemisia dracunculud L.*) on chicken fillet kept at refrigerated temperature

Rahmani, N. <sup>1</sup>, Tabatabaee Bafroee, A. <sup>2</sup>, Sharifan, A. <sup>3\*</sup>

1. M.Sc Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Sciences and Food Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Deptment of Biology, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran,
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Sciences and Food Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received: 2019/10/17 Accepted:2020/02/03)

Chicken meat is one of the most popular and perishable foods. One of the effective ways to increase the retention time of fresh chicken meat is the use of appropriate packaging coatings containing natural antimicrobial compounds. The aim of this study was to investigate the antimicrobial effect of soy protein coating containing tarragon essential oil on chicken meat stored in a refrigerator. Tarragon essential oil was extracted by water distillation method and its antimicrobial properties were tested on *Staphylococcus aureus* PTCC 1113, *Salmonella enterica* PTCC 1709, *Escherichia coli* PTCC 1399, and then the effect of concentration 0, 2 and 3% (vol / vol) soluble essential oil in soybean protein coating on these bacteria were studied. Finally, the antimicrobial effect of soy protein content containing tarragon essential oil on chicken fillets kept in the refrigerator was investigated and characteristics of the changes in its chemical and organoleptic properties were evaluated. The highest inhibitory concentration of essential oil was from *Staphylococcus aureus*, and the lowest was *E.coli* and *Salmonella enterica*. The total microbial count for the sample treated with 3% essential oil during the 12 days storage in the refrigerator was significantly lower than the control sample ( $P < 0.05$ ). The greatest effect of antimicrobial films after 12 days of storage in the refrigerator was on inoculated samples of *Staphylococcus aureus*. Protein film of 3% essential oil prevented the increase of pH and peroxide value during the storage period in the refrigerator. According to the sensory evaluation results, the film containing 2% essential oil obtained the highest overall acceptance rating. Although this property is reduced by the mixing of essential oil with film coating. The essential oil coating also has positive effects on the chemical and organoleptic properties of chicken fillet.

**Key words:** Tarragon essential oil, Soy protein isolate film, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*.

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: a\_sharifan2000@yahoo.com