



تاثیر بسته بندی با فیلم خوراکی نشاسته ساگو حاوی عصاره گیاه پنیرباد بر خواص کیفی فیله مرغ

زهرا علیزاده^۱، حمید سرحدی^{۱*}، فاطمه شهدادی^۲

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد بم، دانشگاه آزاد اسلامی، بم، ایران

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۹۹/۰۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۰۷	صنعت غذا امروزه درصدد یافتن فناوری‌های جدید برای افزایش مدت ماندگاری محصولات مختلف می‌باشد. علاوه بر این، تقاضای مشتریان برای مواد غذایی سالم‌تر (فاقد نگهدارنده‌های شیمیایی مرسوم) در دهه‌ی اخیر افزایش پیدا کرده است. در این مطالعه فیلم خوراکی نشاسته ساگو حاوی عصاره برگ گیاه پنیرباد (۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب ۱ و ۲ برابر MIC) به منظور افزایش زمان ماندگاری فیله سینه مرغ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. بررسی فیله مرغ پوشش داده شده نشان داد که فیلم فعال نشاسته ساگو سبب مهار بار میکروبی (باکتری‌های هوازی، کلی‌فرم و استافیلوکوکوس اورئوس) فیله سینه مرغ گردید. نتایج بررسی شیمیایی فیله مرغ نیز نشان داد که نمونه‌های پوشش داده شده دارای مقادیر ترکیبات ازته فرار، شاخص تیوباربیتوریک اسید و عدد پرکسید کمتری نسبت به نمونه کنترل بودند. بطور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که فیلم خوراکی تولید شده از نشاسته ساگو حاوی عصاره پنیرباد سبب افزایش زمان ماندگاری فیله مرغ می‌گردد.
کلمات کلیدی: نشاسته ساگو، پنیرباد، فیلم خوراکی، زمان ماندگاری، فیله مرغ.	
DOI: 10.29252/fsct.18.05.06 * مسئول مکاتبات: sarhadi@iaubam.ac.ir	

۱- مقدمه

راهکارهای مختلف مانند نگهداری در شرایط انجماد، بسته‌بندی گوشت مرغ در فیلم‌های فعال حاوی ترکیبات نگهدارنده می‌باشد که از این طریق بتوان زمان ماندگاری گوشت ماکیان را افزایش داد. با توجه به مطالب مذکور، هدف این مطالعه بررسی اثر بسته‌بندی فیلم زیست‌تجزیه‌پذیر بر پایه نشاسته ساگو حاوی عصاره پنیرباد بر افزایش زمان ماندگاری و خواص کیفی فیله مرغ در دمای یخچال می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده در پژوهش شامل کلروفورم، متانول، دیدیپتاسیم، تیوسولفات پتاسیم، اکسیدمنیزیم و محیط‌های کشت بردپارکر آگار (BPA)، عصاره مغز قلب آگار (BHI)، آبگوشت سبز درخشان (BGB) و VRBA از کمپانی مرک آلمان و پلاستی سایر گلیسرول و توئین ۸۰ از کمپانی سیگما آمریکا تهیه شد. نشاسته ساگو (رطوبت ۱۲ درصد) به صورت آماده از شرکت سیم ۶ مالزی تهیه شد.

۲-۱- استخراج عصاره

برگ‌های گیاه پنیرباد پس از جمع‌آوری از شهرستان اراک در استان سیستان و بلوچستان به مدت ۴۸ ساعت در سایه و در دمای محیط خشک و پس از آسیاب از الکی با مش ۱۰۰ عبور داده شدند. پودر خشک شده گیاه با محلول اتانول ۸۰ درصد به نسبت ۱ به ۱۰ (وزنی/حجمی) مخلوط شد. برای استخراج از یک مایکروفر خانگی (سامسونگ مدل ME3410W، ساخت کشور مالزی) استفاده شد (زمان ۲۰ دقیقه، و شدت ۲۰۰ وات). بعد از اتمام اشعه‌دهی، مخلوط حاصله از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ عبور داده شد و جداسازی حلال و تغلیظ عصاره توسط تبخیرکننده چرخشی تحت خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و ۲۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت. به منظور حذف باقیمانده حلال، عصاره تغلیظ شده بر روی پلیت پخش و درون آن خلاء با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا عصاره به طور کامل خشک گردد. سپس عصاره تا انجام فرآیند آزمون در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۴].

امروزه، استفاده از پوشش‌های خوراکی حاوی نگهدارنده‌های طبیعی که بتوانند از طریق مهار رشد میکروارگانیسم‌ها و کنترل ورود و خروج گازها سبب افزایش ماندگاری ماده غذایی شوند، مورد توجه تولیدکنندگان صنعت غذا قرار گرفته‌است.

نشاسته ساگو از نخل ساگو به دست آمده که این نخل متعلق به جنس متروکسیلون^۱ و خانواده پالماسه^۲ می‌باشد. زیستگاه اصلی این گونه در کشورهای جنوب شرق آسیا و به ویژه مناطق گرمسیری می‌باشد. نشاسته ساگو از لحاظ قیمتی ارزان بوده و یک نخل ساگو در یک سال در حالی که بالغ باشد حدود ۵۵۰-۱۰۰ کیلوگرم آرد تولید می‌نماید. مطالعات نشان می‌دهد که حدود شصت میلیون تن نشاسته ساگو به صورت سالیانه در کشورهای جنوب شرق آسیا تولید می‌گردد [۱].

گیاه پنیرباد با نام علمی *Withania Somnifera* یک درختچه کوچک چوبی متعلق به خانواده سولاناسه^۳ می‌باشد. ویتانولیدها^۴ عمده ترین ترکیبات فعال پنیرباد هستند که از ریشه و برگ آن جدا شده‌اند. اخیراً، بررسی شده که این گیاه در درمان برخی از عفونت‌های باکتریایی موثر و از نظر خصوصیات ضد باکتریایی تست شده‌است. علاوه بر این عصاره این گیاه فعالیت تعدیل‌کننده سیستم ایمنی و ضد توموری نشان داده‌است [۲]. از دیگر خواص دارویی این گیاه می‌توان به ویژگی‌های ضد التهاب، ضد سرطان، ضد استرس، آنتی‌اکسیدان و ایمن سازی اشاره نمود. در عصاره پنیرباد ترکیبی به نام ویتافرین A^۵ وجود دارد که یک لاکتون استروئیدی می‌باشد و به‌عنوان یک داروی ضد سرطان به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته‌است. [۳]. بنابراین عصاره این گیاه به دلیل داشتن خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدان قوی می‌تواند نقش مهمی در تولید فیلم‌های خوراکی فعال داشته‌باشد.

محصولات غذایی سریع‌الفساد مانند گوشت مرغ (ماکیان) به دلیل دارا بودن رطوبت و پروتئین زیاد در شرایط نامساعد محیطی به شدت دچار فساد شده و مشکلات زیادی را برای صنعت‌گران غذا ایجاد می‌نماید. اما یک راه‌کار امیدبخش در راستای موازی با

1. Metroxylon
2. Palmaceae
3. Solanaceae
4. Withanolides
5. Withaferin A

6. SIM

۲-۲- تهیه فیلم فعال نشاسته ساگو حاوی عصاره

پنیرباد

ابتدا محلولی با غلظت ۴ درصد از نشاسته ساگو با استفاده از آب مقطر تهیه و در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه حرارت داده شد تا فرآیند ژلاتینه شدن کامل شود. در ادامه، ۴۵ درصد وزنی/وزنی پلاستی‌سایزر گلیسرول به محلول جهت جلوگیری از شکنندگی فیلم‌ها اضافه شد. عصاره پنیرباد در دو سطح مقادیر ۱ و ۲ برابر حداقل غلظت بازدارندگی^۱ (۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به محلول نشاسته ساگو اضافه شد. حجم مناسبی از محلول سازنده فیلم بر روی پلیت شیشه‌ای با ابعاد ۲۰×۲۰ سانتی‌متر مربع و ضخامت ۲ میلی‌لیتر ریخته شد و طی ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاه خشک گردید. سپس فیلم‌ها از سطح پلیت جدا گردیدند و در داخل دسیکاتور نگهداری شدند [۵].

۳-۲- تهیه و آماده سازی فیلم‌های مرغ

تعداد دو عدد لاشه مرغ تازه (کشتار روز) از بازار محلی شهرستان بم در استان کرمان خریداری و به سرعت توسط باکس‌های حاوی یخ به آزمایشگاه مواد غذایی انتقال داده شد. در ادامه از گوشت سینه، فیله‌هایی (با ابعاد تقریبی ۱۰×۲۵ سانتی‌متر مربع و وزن تقریبی ۵۵ گرم) به صورت دستی تهیه گردید. فیله‌ها در ابتدا با آب شستشو داده شد و سپس جهت آبکشی بر روی آبکش‌های پلاستیکی استریل شده قرار گرفت. در ادامه در شرایط استریل، قطعات مربع شکل از فیلم‌های نشاسته ساگو با ابعاد یکسان بریده و فیله‌های مرغ در داخل فیلم‌های نشاسته ساگو بسته‌بندی شد. نمونه‌های فیله در چهار تیمار قرار داده شدند:

تیمار اول: فیله مرغ بدون بسته‌بندی (نمونه کنترل)، تیمار دوم: فیله مرغ بسته‌بندی شده توسط فیلم نشاسته ساگو بدون عصاره، تیمار سوم و چهارم: به ترتیب شامل فیله‌های مرغ بسته‌بندی شده در فیلم نشاسته ساگو حاوی مقادیر ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب ۱ و ۲ برابر MIC. نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۶ روز در ظروف استریل جهت انجام آزمایش‌های (با بازه زمانی ۴ روز) میکروبی و شیمیایی نگهداری

شدند [۵].

۴-۲- ترکیب شیمیایی فیله مرغ

میزان پروتئین نمونه‌ها طبق روش کلدال اندازه‌گیری شد برای این منظور نمونه‌ها توسط اسید سولفوریک غلیظ و کاتالیزورهای سولفات پتاسیم و اکسید سلنیوم هضم شد. در این فرآیند، مواد از ته آلی به معدنی تبدیل می‌شوند. سپس مرحله تقطیر انجام شد. در نهایت با اندازه‌گیری مقدار ازت و ضریب پروتئینی ۶/۲۵، مقدار پروتئین تام محاسبه گردید. میزان چربی طبق روش سوسکله اندازه‌گیری شد. نمونه‌های فیله مرغ با اسیدکلریدریک رقیق مخلوط شد تا چربی‌های غیر آزاد رها شوند. توده تشکیل شده صاف و خشک گردید. در نهایت استخراج چربی بر روی کاغذ صافی با n-هگزان انجام شد [۶].

۵-۲- آنالیز میکروبی فیله مرغ

فیله تهیه‌شده از سینه مرغ در ابتدا خرد شد و سپس ۲۵ گرم از آن در شرایط استریل توزین و جدا گردید. فیله‌های خرد شده با ۲۲۵ میلی‌لیتر محلول آب پپتونه (۱/۰ درصد) مخلوط و در یک مخلوط‌کن با سرعت ۴۰۰ دور بر دقیقه و مدت زمان ۱ دقیقه در دمای محیطی همگن گردید. در ادامه محلول رقیق‌شده با رقت ۰/۱ به دست آمد. جهت آنالیز میکروبی از رقت به‌دست‌آمده جهت کشت باکتری‌ها بر روی محیط‌های کشت زیر استفاده شد: جهت شمارش کلی باکتری‌های هوازی (APC) از محیط کشت عصاره مغز قلب آگار (BHI^۲) با دمای گرمخانه گذاری ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده گردید [۷]. جهت شمارش کلی فرم‌ها از محیط کشت VRBA^۳ توسط کشت دو لایه با دمای گرمخانه گذاری ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد. سپس به منظور تایید گونه‌های کلی فرم از کلنی‌های مربوطه به کلی فرم‌های احتمالی ارغوانی رنگ، به محیط کشت آبگوشت سبز درخشان (BGB) انتقال یافت و از دمای گرمخانه گذاری ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده گردید. جهت شمارش استافیلوکوکوس اورئوس، از کشت سطحی بر روی محیط کشت BPA^۴ و از دمای گرمخانه-گذاری ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد.

2. Brain-Heart Infusion Agar

3. Violet Red Bile Agar

4. Baird Parker Agar

1. Minimum inhibitory concentration (MIC)

منیزیم و همچنین ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل یک بالن کلدال ریخته و این دستگاه از قسمت زیرین حرارت داده شد. سپس یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محلول اسید بوریک ۲ درصد (به حجم رساندن ۲ گرم اسید بوریک با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و همچنین چند قطره معرف متیل‌رد به انتهای بالن کلدال متصل گردید. معرف قرمز معرف است که به ترتیب رنگ قرمز و زرد را در محیط‌های اسیدی و بازی نمایان می‌سازد. عمل تقطیر با گذشت حدوداً ۴۵ دقیقه از زمان جوشش مواد درون بالن، یا جمع شدن حدود ۱۰۰ میلی‌لیتر مایع در ارلن مایر ادامه یافت. مواد از ته فرار تقطیر شده به ترتیب سبب قلیایی شدن و سپس زرد شدن محلول اسید بوریک می‌شود. در ادامه از اسید سولفوریک ۱/۰ نرمال به منظور تیتراسیون این محلول استفاده گردید و تا جایی ادامه یافت که اسید بوریک به رنگ قرمز درآمد. در نهایت مقدار ترکیبات از ته فرار به صورت میلی‌گرم در صد گرم فیله مرغ توسط معادله ۱ گزارش شد:

$$\text{TVB} - \text{N} = 14 \times \text{مصرفی اسید سولفوریک حجم} \quad (\text{معادله ۱})$$

۲-۶-۴- شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA)

به منظور اندازه‌گیری این شاخص از روش رنگ‌سنجی و طبق روش کریم‌نژاد و همکاران (۲۰۱۸) استفاده شد [۱۱]. برای این منظور در ابتدا، ۵ گرم نمونه چرخ شده مرغ با ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر هموزن گردید. در ادامه ۱ میلی‌لیتر از محلول مذکور با ۲ میلی‌لیتر از مخلوط TBA/TCA (۱۵ میلی‌مولار TBA و ۱۵ درصد TCA) مخلوط شد. محلول مذکور به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت تا رنگ صورتی ایجاد شود. سپس این محلول به مدت ۱۰ دقیقه در آب سرد قرار گرفت و در ادامه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد. جذب محلول رویی در طول موج ۵۳۱ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر قرائت گردید. صفر کردن اسپکتروفوتومتر با استفاده از ۱ میلی‌لیتر آب مقطر به اضافه ۲ میلی‌لیتر محلول TBA/TCA انجام شد.

۲-۷- روش آماری

تمامی آزمون‌ها حداقل در سه تکرار انجام شدند. تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم افزار آماری SPSS:23 در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام پذیرفت. میانگین‌ها در سطح

سپس جهت آزمون تکمیلی برای کلنی‌های احتمالی سیاه رنگ با هاله اطراف آن از محیط کشت قنددار MSA¹ و تست‌های اکسیداز، کاتالاز و کوآگولاز به منظور بررسی ایجاد لخته بکار رفت [۸].

۲-۶- آنالیز شیمیایی فیله مرغ در طول دوره

نگهداری

۲-۶-۱- اندازه‌گیری pH

مقدار ۱۰ گرم فیله مرغ با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر در استومیکر مخلوط شد. سپس pH مخلوط با استفاده از pH-متر مدل (Istek-کره جنوبی) قرائت گردید [۹].

۲-۶-۲- آزمون پراکسید (PV^۲)

برای اندازه‌گیری عدد پراکسید از روش جوکی و همکاران (۲۰۱۴) با کمی تغییرات استفاده شد [۱۰]. در ابتدا ۱۰ میلی‌گرم فیله مرغ چرخ شده با ۵۰ میلی‌لیتر حلال کلروفرم/متانول با نسبت ۲ به ۱ حجمی/حجمی در یک استومیکر به مدت زمان ۲ دقیقه هموزن گردید. محلول حاصله بر روی قیف سپراتور با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد. به منظور جدا شدن بهتر محلول از ۲۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد نمک طعام در ادامه استفاده گردید. فاز آبی-متانول دور ریخته شد و فاز کلروفرمی به منظور تبخیر حلال (باقیمانده چربی) بکار برده شد. سپس مقدار ۲۵ میلی‌لیتر حلال کلروفرم-اسید استیک به نسبت ۲ به ۳ با چربی به دست آمده مخلوط شد و در ادامه ۱ میلی‌لیتر محلول اشیاب یدید پتاسیم اضافه گردید. این مخلوط به مدت ۵ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. در ادامه ۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر معرف چسب نشاسته به این مخلوط اضافه و با استفاده از تیوسولفات پتاسیم ۰/۰۱ نرمال، محلول حاصله تیترا گردید. میزان عدد پراکسید نمونه‌ها بر اساس meq peroxide/kg چربی استخراج شده گزارش شد.

۲-۶-۳- اندازه‌گیری مواد از ته فرار (TVB-N)

ارزیابی بازهای نیتروژنی فرار به روش رنگ‌سنجی و بر اساس روش کریم‌نژاد و همکاران (۲۰۱۸) انجام شد [۱۱]. بدین منظور، در ابتدا ۱۰ گرم از فیله مرغ چرخ شده به همراه ۲ گرم اکسید

1. Manitol Salt Agar
2. Peroxide Value

شمارش باکتری هوازی اولیه بسیار کم حدود $3/0 \log \text{CFU/g}$ و $15/3$ برای فیله سینه مرغ در مطالعه فضل‌آرا و همکاران (۲۰۱۷) و حکیم و همکاران (۲۰۱۸) گزارش شده است [۱۴،۱۳]. مطابق با کمیسیون بین‌المللی استانداردهای میکروبی مواد غذایی (ICMSF², 1986)، محدودیت میکروبی برای شمارش باکتری‌های هوازی گوشت مرغ $7 \log \text{CFU/g}$ می‌باشد. با توجه به شکل ۲، شمارش باکتری‌های هوازی در نمونه کنترل حدود ۷ روز نگهداری در دمای یخچال به $7/0 \log \text{CFU/g}$ رسید و به تدریج تا $9/28 \log \text{CFU/g}$ در انتهای دوره ذخیره سازی افزایش یافت. بنابراین عمر انبارمانی فیله سینه مرغ بدون هرگونه پوششی در دمای یخچالی حدود ۷ روز می‌باشد. یک کاهش معنی‌دار ($P < 0.05$) در شمارش باکتری‌های هوازی در نمونه‌های پوشش داده‌شده در فیلم نشاسته ساگوی خالص در طی ۱۶ روز نگهداری نسبت به نمونه کنترل مشاهده شد که این امر نشان می‌دهد که فیلم نشاسته ساگوی خالص می‌تواند از رشد باکتری‌های هوازی جلوگیری کند. احتمالاً فیلم نشاسته ساگوی خالص از طریق ممانعت نفوذ هوا و رسیدن اکسیژن به باکتری‌های فاسد کننده مواد غذایی، از رشد آنها جلوگیری نموده است. مقدار شمارش باکتری‌های هوازی در همه نمونه‌های فیله سینه مرغ پوشش داده‌شده در فیلم‌های حاوی عصاره پنیرباد تا روز ۱۶ ام نگهداری در دمای یخچال زیر $7 \log \text{CFU/g}$ باقی ماند. فیلم حاوی ۲ MIC عصاره پنیرباد رشد میکروب‌ها را نسبت به فیلم حاوی ۱ MIC (۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره پنیرباد به‌طور موفقیت‌آمیزی به تاخیر انداخت. رشد میکروبی مشابهی در فیله‌های سینه مرغ پوشش داده‌شده در نانوکامپوزیت فعال کازئینات سدیم حاوی اسانس دارچین مشاهده شد به‌گونه‌ای که جمعیت میکروبی در طی ۱۲ روز نگهداری در دمای یخچال در زیر محدودیت میکروبی ($\log \text{CFU/g}$) قرار گرفت [۹]. مطالعات نشان داده که عصاره‌ها می‌توانند تأثیرات ضد میکروبی قوی داشته باشند. ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌ها سبب صدمه به غشای سلولی می‌شوند و در پی آن منجر به رهائش ATP از باکتری می‌گردند [۵].

احتمال خطای ۵ درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شد.

۳- نتایج و بحث

فیلم‌های نشاسته ساگو تولید شده توسط روش قالب گیری از انعطاف‌پذیری عالی برخوردار بود به طوری که به راحتی از سطح پلیت جدا شدند و دچار شکستگی نشدند. همچنین فیلم فعال تولید شده دارای سطح صاف و شفاف بود (شکل ۱). همچنین قابل ذکر است عصاره پنیرباد در غلظت‌های مورد استفاده تأثیری بر بو و مزه مرغ نداشت.



Fig 1 Sago Starch Film

۳-۱- آنالیز غذایی فیله مرغ

از آنجایی که مقدار پروتئین و چربی نقش کلیدی در کیفیت، ارزش تغذیه‌ای و همچنین فساد شیمیایی گوشت ماکیان دارد لذا ارزیابی آنها از اهمیت زیادی برخوردار است. نتایج نشان داد که مقدار پروتئین و چربی در فیله سینه مرغ در روز صفر به ترتیب برابر با ۲۲/۱ و ۳/۴ درصد بود. این مقادیر در راستا با مقادیر پروتئین و چربی (به ترتیب ۲۱/۳۵ و ۳/۱ درصد) گزارش شده برای فیله سینه مرغ توسط مولایی آقایی و همکاران (۲۰۱۵) می‌باشد [۱۲].

۳-۲- آنالیز میکروبی

۳-۲-۱- شمارش باکتری‌های هوازی

مقدار اولیه (روز ۰) شمارش باکتری‌های هوازی حدود $3/12 \log \text{CFU/g}$ بود که این مقدار کم نشان‌دهنده کیفیت اولیه خوب فیله سینه مرغ می‌باشد (شکل ۲). به‌طور مشابه، مقدار

2. International Commission of Microbiological Standards for Foods

1. Casting

سطح مختلف، اثر هم‌افزایی مشاهده شد. نتایج مشابهی در مطالعه کامکار و همکاران (۲۰۱۷) در کاهش میزان باکتری‌های کلی‌فرم در فیله سینه مرغ پوشش داده شده در پوش کیتوزان حاوی اسانس زیره مشاهده شد [۸].

۳-۲-۳- استافیلوکوکوس اورئوس

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از باکتری‌های عامل فساد محصولات گوشتی است که به عنوان یک شاخص بهداشت میکروبی گوشت ماکیان در نظر گرفته می‌شود. بنابراین مقادیر این باکتری در نمونه‌های فیله سینه مرغ در طی مدت نگهداری در دمای یخچال اندازه‌گیری شد (شکل ۴).

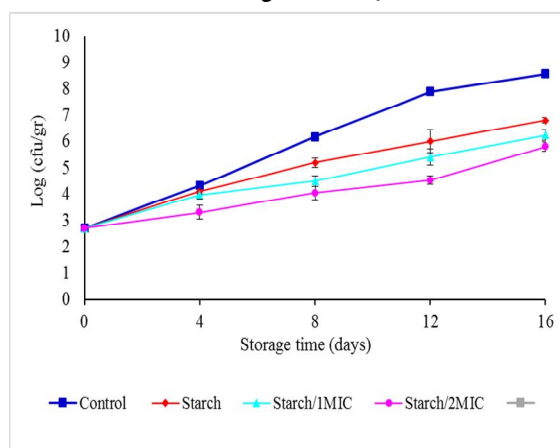


Fig 4 Changes of *Staphylococcus aureus* (means \pm standard deviation) in chicken fillets during 16 days of refrigerated storage.

در ابتدای نگهداری در یخچال (روز صفر)، مقدار شمارش باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس در فیله سینه مرغ \log 2.7 CFU/g بود. در روز ۱۶ نگهداری، شمار استافیلوکوکوس اورئوس تا $8.6 \log$ CFU/g افزایش پیدا نمود. در روز هشتم از نگهداری در دمای یخچال، تعداد این باکتری در نمونه فیلم بدون عصاره $5.9 \log$ CFU/g بود در حالی که مقدار این باکتری‌ها در فیله‌های پوشش داده‌شده در فیلم‌های نشاسته ساگو حاوی ۱ و ۲ برابر MIC (0.125 و 0.25 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. مقدار استافیلوکوکوس اورئوس در فیله‌های سینه مرغ پوشش داده‌شده در فیلم‌های حاوی ۱ و ۲ برابر MIC عصاره پنیرباد در کل زمان نگهداری (۱۶ روز) در دمای یخچالی در زیر مقدار $6.5 \log$ CFU/g باقی ماند. چنین رشد کم باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس به‌طور مشابه توسط مولایی آقایی و همکاران (۲۰۱۷) برای فیله سینه مرغ

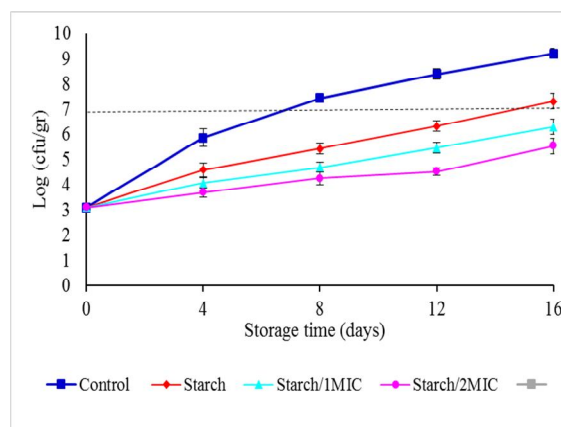


Fig 2 Changes of aerobic bacteria (means \pm standard deviation) in chicken fillets during 16 days of refrigerated storage.

۳-۲-۳- شمارش کلی‌فرم‌ها

شمارش باکتری‌های کلی‌فرم در شکل ۳ نشان داده شده است. تعداد اولیه (روز صفر) کلی‌فرم‌ها $2.9 \log$ CFU/g بود که از روز چهارم تا روز هشتم نگهداری بجز نمونه کنترل، روند کاهشی نشان داد. از روز هشتم روند افزایشی در پیش گرفته شد و نهایتاً بعد از هشت روز نگهداری، افزایش معنی‌دار در همه نمونه‌ها مشاهده شد ($P < 0.05$). در این میان کمترین افزایش مرتبط با فیله سینه مرغ پوشش داده شده در فیلم حاوی ۲ MIC (0.25 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره پنیرباد بود.

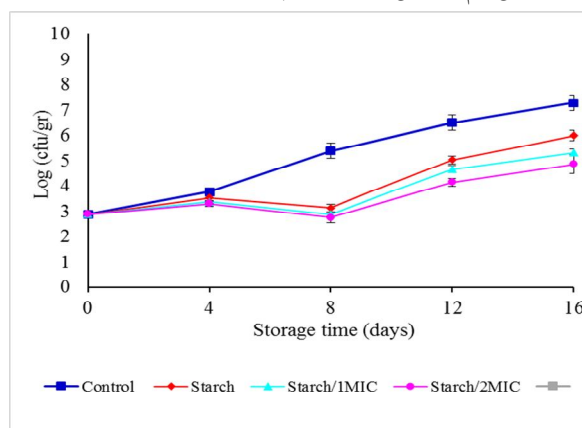


Fig 3 Changes of coliform bacteria (means \pm standard deviation) in chicken fillets during 16 days of refrigerated storage.

نمونه کنترل نیز از همان ابتدا با تفاوت معنی‌دار نسبت به سایر نمونه‌ها، روند افزایشی نشان داد. لذا نتایج نشان داد که فیلم نشاسته ساگو در کاهش رشد و تکثیر باکتری در فیله‌های مرغ موثر بود و با افزایش عصاره پنیرباد به فیلم نشاسته ساگو در

نمونه حاوی MIC ۲ عصاره پنیر باد (۰/۲۵ میلی گرم بر میلی-لیتر) در روز ۱۲ام بود و پس از آن در روز ۱۶ام افزایش کمی را نشان داد. در مجموع میان نمونه‌های بسته بندی شده با نمونه کنترل تفاوت معنی دار وجود داشت. افزایش سریع pH در نمونه کنترل می تواند به دلیل وجود و فعالیت آنزیم‌های میکروبی مانند لپاز و پروتئاز باشد که در پی فعالیت این آنزیم‌ها، افزایش بازهای فرار (آمونیاک و تری متیل آمین) را شاهد خواهیم بود [۱۲]. همچنین کمتر بودن مقادیر pH نسبت به نمونه کنترل در نمونه‌های حاوی درصد‌های زیاد عصاره می‌تواند به دلیل توانایی عصاره در ممانعت از تولید ترکیبات نیتروژن دار و آمینی عامل فساد در فیله مرغ باشد. شکست پروتئین‌های گوشت توسط فعالیت‌های آنزیمی و میکروبی تولید ترکیبات قلیایی مانند ترکیبات آمونیاکی می‌نماید [۱۳]. در مطالعه ای مشابه، بازرگانی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش نمودند که عصاره انار و اسانس آویشن شیرازی در ترکیب با پوشش کیتوزان سبب کاهش مقادیر pH فیله سینه مرغ نسبت به نمونه کنترل شدند [۱۵].

Table 1 pH values of chicken fillets coated by active sago starch film

Treatments/days	0	4	8	12	16
Control	6.13±0.031	6.07±0.011	6.25±0.01	6.32±0.01	6.54±0.014
Starch	6.13±0.031	6.09±0.01	6.20±0.012	6.29±0.014	6.48±0.01
Starch/1 MIC	6.13±0.031	6.1±0.022	6.19±0.01	6.24±0.015	6.42±0.017
Starch/2 MIC	6.13±0.031	6.11±0.019	6.15±0.013	6.19±0.014	6.37±0.011

بر میلی‌لیتر) از روند شیب افزایشی ملایمتری در میزان اندیس پراکسید نسبت به نمونه کنترل و نمونه بسته بندی شده در فیلم بدون عصاره برخوردار بودند. بیشترین مقدار پراکسید در نمونه کنترل در روز ۱۶ام نگهداری مشاهده شد در حالی که در همین روز مقدار پراکسید در نمونه حاوی MIC ۲ عصاره کمترین مقدار بود. مقدار پراکسید در نمونه کنترل در روز حدود نهم نگهداری از مقدار حد مجاز تعریف شده برای گوشت مرغ عبور نمودند ولی در نمونه‌های حاوی MIC ۱ و ۲ عصاره (۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ میلی گرم بر میلی‌لیتر)، زمان نگهداری و رسیدن به حد مجاز حدود ۱۴ روز بود. نتایج مشابه توسط گیاتراکاو^۱ و همکاران (۲۰۱۰) در کاهش مقدار اندیس پراکسید در فیله‌های مرغ پوشش داده شده در پوشش کیتوزان حاوی اسانس آویشن مشاهده شد [۱۷].

1. Giatrakou

پوشش داده شده توسط فیلم زیست تخریب پذیر کیتوزان حاوی اسانس سیر گزارش شد [۱۲].

۳-۳- تغییرات شیمیایی فیله مرغ در طول دوره

نگهداری

۳-۳-۱- مقادیر pH

مقادیر pH فیله سینه مرغ در جدول ۱ گزارش شده است. به طور کل، مقادیر pH در طول ۱۶ روز نگهداری یخچالی فیله مرغ افزایش یافت. مقدار pH در روز صفر، ۶/۱۳ بود که در روز چهارم، کلیه مقادیر pH روند کاهشی داشت. تولید اسید لاکتیک ناشی از گلیکولیز را می‌تواند دلیلی برای روند کاهش pH مذکور بیان نمود [۹]. بیشترین افزایش pH به ترتیب در نمونه کنترل (۶/۵۴) و سپس فیله مرغ پوشش داده شده در نمونه فیلم فاقد عصاره (۶/۴۸) مشاهده شد. مقادیر pH در نمونه‌های پوشش داده شده با فیلم حاوی ۱ و ۲ برابر MIC عصاره پنیرباد افزایش زیادی نشان نداد. کمترین مقدار pH (۶/۱۹) مربوط به

۳-۳-۲- مقادیر پراکسید

هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشند. حد مجاز پراکسید برای گوشت مرغ ۱۰ میلی اکی والان گرم بر کیلوگرم می‌باشد [۱۶]. مقادیر پراکسید فیله‌های نگهداری شده در دمای یخچالی در جدول ۲ آمده است. نتایج نشان داد با افزایش زمان ماندگاری یک روند افزایشی معنی‌دار در کلیه نمونه‌ها مشاهده شد. میزان اندیش پراکسید از روز چهارم تا هشتم نگهداری به ویژه در نمونه‌های پوشش داده شده در فیلم حاوی عصاره روند کاهشی محسوس را نشان داد. دلیل این امر می‌تواند به علت تجزیه هیدروپراکسیدها و تبدیل آنها به محصولات ثانویه اکسیداسیون باشد که این فرآیند به صورت کاهش محسوس در مقادیر پراکسید نمایان شد. از روز هشتم مطالعه تا پایان زمان نگهداری، نمونه‌های پوشش داده شده توسط فیلم‌های حاوی MIC ۱ و ۲ عصاره (۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ میلی‌گرم

Table 2 Peroxide values of chicken fillet coated by the active sago starch film

Treatments/days	0	4	8	12	16
Control	5.14±0.17	7.10±0.1	7.25±0.11	13.34±0.1	17.86±0.11
Starch	5.14±0.17	6.8±0.13	6.60±0.13	9.40±0.15	13.46±0.09
Starch/1 MIC	5.14±0.17	6.55±0.04	6.12±0.12	8.30±0.11	11.44±0.15
Starch/2 MIC	5.14±0.17	6.40±0.11	6.0±0.09	8.10±0.15	11.0±0.12

عصاره پنیر باد مانند ویتافرین A، ویتانولید و ویتا استرامونولید باشد. ترکیبات فنولی می‌توانند با یون‌های فلزی درگیر در پراکسیداسیون لیپیدها پیوند دهند و از شروع واکنش‌های رادیکالی زنجیره‌ای که مسئول تولید انواع رادیکال‌های اکسیژن هستند جلوگیری نمایند [۱۳].

۳-۳-۴- اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

مقدار اولیه TVB-N در فیله سینه مرغ حدود ۱۰/۴۰ TVBN/100 g بود (شکل ۶) که در توافق با مقدار TVB-N اندازه‌گیری شده توسط کریم نژاد و همکاران (۲۰۱۸) برای سینه مرغ بود [۱۱]. ماکزیمم محدودیت قانونی برای مقادیر TVB-N در گوشت ماکیان ۲۵ mg N/100g می‌باشد [۱۹]. در این مطالعه، مقادیر TVB-N در نمونه‌های فیله مرغ پوشش داده‌شده در فیلم‌های نشاسته ساگو حاوی عصاره پنیر باد کمتر از مقدار محدودیت قانونی مذکور بود. مقادیر TVB-N در نمونه کنترل و نمونه‌های فیله مرغ پوشش داده‌شده در فیلم نشاسته ساگو خالص از مقدار محدودیت قانونی به ترتیب بعد از ۱۲ و ۱۶ روز نگهداری در دمای یخچالی فراتر رفتند (شکل ۶). اگرچه مقادیر TVB-N در هر دو نمونه کنترل و پوشش داده‌شده با فیلم نشاسته فعال با گذشت زمان افزایش یافت اما مقادیر TVB-N در نمونه‌های پوشش داده‌شده به‌طور معنی داری ($P < 0.05$) کمتر از نمونه‌های کنترل بود. مقادیر TVB-N در نمونه کنترل در ۸ روز اول به آرامی افزایش یافت اما در ۸ روز دوم تا روز ۱۶ ام این سرعت افزایش معنی داری ($P < 0.05$). دلیل این افزایش تند می‌تواند مربوط به افزایش رشد میکروبی در فیله‌های مرغ در طی روزهای آخر نگهداری در دمای یخچالی باشد. نمونه‌های فیله مرغ پوشش داده‌شده در فیلم‌های حاوی مقادیر ۱ و ۲ برابر MIC (۰/۲۵ و ۰/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره پنیر باد، به ترتیب کمترین مقادیر TVB-N با مقادیر ۱۹/۸ و

۳-۳-۳- اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید (TBA)

مقدار مجاز تعریف شده برای شاخص تیوباربیتوریک اسید ۱-۲ mg/kg می‌باشد [۱۸]. مقدار اولیه (روز صفر) مالون دی آلدئید در فیله‌های مرغ حدود ۰/۳۰ mg MDA/kg بود که این عدد در گستره نرمال مالون دی آلدئید برای فیله مرغ می‌باشد (شکل ۵).

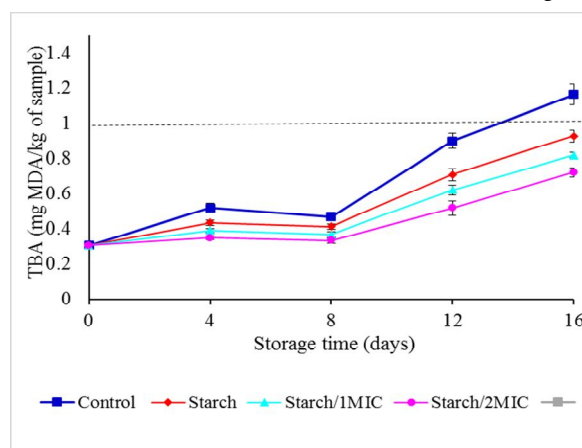


Fig 5 Changes in TBA in chicken fillets during refrigeration.

مقدار مالون دی آلدئید در نمونه کنترل و نمونه‌های پوشش داده‌شده با گذشت زمان افزایش یافت. در روز ۱۶ ام نگهداری، این مقدار برای نمونه کنترل، فیله مرغ پوشش داده‌شده در نشاسته خالص، فیلم حاوی ۲ MIC عصاره پنیر باد به ترتیب ۱/۱۶، ۰/۹۰ و ۰/۷۲ mg MDA/kg بود. مقدار تیوباربیتوریک اسید در روز ۱۳ ام نگهداری از مقدار حد مجاز تعریف شده کمتر بود بجز در نمونه کنترل که از این محدوده خارج شد و غیرقابل مصرف قلمداد گردید. فیلم نشاسته ساگو خالص مانع انتقال رطوبت و اکسیژن می‌شود و از این رو می‌تواند اکسیداسیون چربی‌ها را به تاخیر اندازد. نتایج شکل ۵ نشان داد که فیلم‌های حاوی عصاره پنیر باد به دلیل کاهش دادن مقدار مالون‌دی‌آلدئید در فیله‌های مرغ پوشش داده‌شده، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند. این امر می‌تواند مرتبط با ترکیبات فنولیک موجود در

پوشش داده شده توسط فیلم نشاسته ساگوی فعال شده توسط عصاره پنیرباد سبب شد که زمان ماندگاری فیله مرغ از حدود ۷ روز برای نمونه کنترل تا حدود ۱۵ روز برای نمونه پوشش داده شده با غلظت ۰/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر (۲ برابر MIC) عصاره پنیرباد افزایش یابد.

۵- منابع

- [1] Akhilesh, V. and Singh, K. 2012. Synthesis and evaluation of physicochemical properties of cross-linked sago starch, *International Journal of Biological Macromolecules*, 50:14-18
- [2] Bhattarai, J. P., Park, S. A. and Han, S. K. 2010. The methanolic extract of *Withania somnifera* acts on GABAA receptors in gonadotropin releasing hormone (GnRH) neurons in mice. *Phytotherapy Research*, 24: 1147-50.
- [3] Kulkarni, S.K. and Dhir, A. 2008. *Withania somnifera*: An Indian ginseng. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32: 1093-105.
- [4] Izadi, Z., Sorooshzadeh, A., Modarres Sanavi, S.A.M., Esna-Ashari, M., Agha Alikhani, P. and Davoodi, M. 2014. Effect of Extraction Method on Antimicrobial Properties of Shoot Extract of Purple Coneflower (*Echinacea Purpurea* L.) Against Some Pathogenic Bacteria. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 13(3): 266-280.
- [5] Heydari-Majd, M., Rezaeinia, H., Shadan, M. R., Ghorani, B. and Tucker, N. 2019. Enrichment of zein nanofibre assemblies for therapeutic delivery of Barije (*Ferula gummosa* Boiss) essential oil. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 54: 101290.
- [6] Parvaneh, V. 2011. *Quality Control and Chemical Analysis of Food*. 6th ed. Tehran: Tehran University Press, (in Persian).
- [7] Nouri, L. and Nafchi, A. M. 2014. Antibacterial, mechanical, and barrier properties of sago starch film incorporated with betel leaves extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 66: 254-259.
- [8] Kamkar, A., Javan, A. J., Asadi, F., and Kamalinejad, M. 2010. The antioxidative

را در میان همه نمونه‌ها بعد از ۱۶ روز نگهداری در دمای یخچال نشان دادند. بنابراین افزودن عصاره پنیرباد می‌تواند بازده فیلم بسته‌بندی را جهت حفاظت فیله مرغ از فساد بهبود بخشد. ترکیبات فنولی با ماهیت آبگریز موجود در ساختمان عصاره قادر به ایجاد اختلال در سیستم آنزیمی و غیرفعال کردن آن و تخریب مواد ژنتیک و همچنین اختلال در فاز فسفولیپیدی غشای سلول باکتری می‌شوند و در نتیجه افزایش نفوذپذیری و از دست رفتن محتویات سلول سبب مرگ باکتری و در نتیجه کاهش تولید ترکیبات ازته فرار می‌شوند [۲۰]. سایر تحقیقات مشابه نیز حاکی از این است که فیلم‌های حاوی اسانس‌های گیاهی سبب مهار ترکیبات ازته فرار می‌شوند. رنجبریان و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که محتوای TVB-N به‌طور معنی داری در فیله مرغ پوشش داده شده در فیلم پروتئین کازینات-سدیم حاوی اسانس دارچین نسبت به فیلم‌های بدون اسانس کمتر بود. این محققین بیان داشتند که این امر می‌تواند مرتبط با کاهش سریع جمعیت میکروبی در اثر حضور اسانس دارچین باشد [۹].

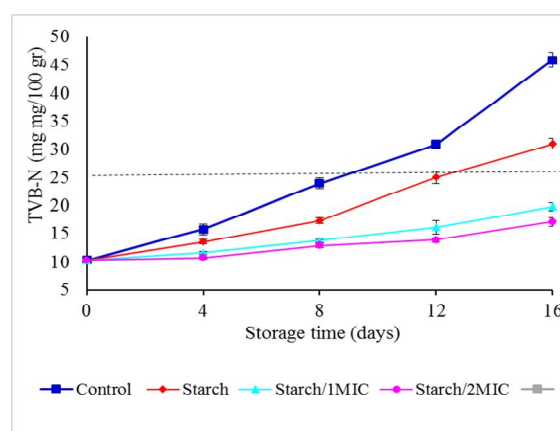


Fig 6 Changes in amount of volatile base nitrogen (TVB-N) in chicken breast fillets during refrigeration.

۴- نتیجه گیری

بطور کلی نتایج این پژوهش نشان داد عصاره پنیرباد از طریق کاهش رشد باکتری‌های کلی فرم، استافیلوکوکوس اورئوس و سایر باکتری‌های پاتوژن و همچنین از طریق مهار تولید بازهای ازته فرار سبب بهبود زمان ماندگاری فیله سینه مرغ گردید. بررسی خصوصیات میکروبی و شیمیایی فیله سینه مرغ

- Sciences and Technology, 75(15): 35-47.
- [15] Bazargani-Gilani, B., Aliakbarlu, J. and Tajik, H. 2015. Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29:280-287.
- [16] Jebelli Javan, A., Ghazvinian, Kh., Mahdavi A., Javaheri Vayeghan, A., Steji, H. and Ghaffari Khaligh, S. 2012. The effect of dietary *Zataria multiflora* Boiss. essential oil supplementation on microbial growth and lipid peroxidation of broiler breast fillets during refrigerated storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37 (3): 45-53.
- [17] Giatrakou, V., Ntzimani, A. and Savvaidis I. 2010. Combined chitosan–thyme treatments with modified atmosphere packaging on a ready-to-cook poultry product. *Journal of Food Protection*, 73(4):663-69.
- [18] Latou, E., Mexis, S.F., Badeka, A.V., Kontakos, S. and Kontominas, M.G. 2014. Combined effect of chitosan and modified atmosphere packaging for shelf life extension of chicken breast fillets. *LWT-Food Science and Technology*, 55: 263-268.
- [19] Gomes, H.A., Silva, E.N., Nascimento, M.R.L. and Fukuma, H.T. 2003. Evaluation of the 2- thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chemistry*, 80: 433-437.
- [20] Mahmoud, B.S.M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Shin, S. and Suzuki, T. 2004. Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiology*. 21: 657 – 666.
- effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food and Chemical Toxicology*, 48(7): 1796-1800.
- [9] Ranjbaryan, S., Rezazadeh Bari, M., Almasi, H. and Amiri, S. 2017. The effect of of sodium caseinate based nanocomposite active film and coating containing cinnamon essential oil on quality improving and shelf life extension of chicken fillets. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 14(71): 171-184
- [10] Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Koocheki, A., and Khazaei, N. 2014. Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 174: 88-97.
- [11] Karimnejad, F., Razvilor, V., Anvar, S.A.A. and Eskandari, S. 2018. Effects of Edible Chitosan Film Coataining Xenia Essential Oil on Some Chemical Properties of Chicken Meat. *Food Science and Nutrition*, 16(4): 91-100.
- [12] Molaee Aghaee, E., Kamkar, A., Akhondzadeh Basti, A., Khanjari, A. and Kontominas M.G. 2015. Effect of packaging with Chitosan biodegradable films formulated with Garlic essential oil (*Allium sativum* L.) on chemical properties of chicken fillet. *Iranian Journal of Health and Environment*, 8(3):379-390.
- [13] Fazlara, A., Pourmahdi, M.m Zareim M. and Karimi T. 2017. The effect of edible chitosan-rosemary coating on quality and shelf life of refrigerated chicken fillets. *Iranian Journal of Veterinary Medicine (Shahid Chamran University of Ahvaz)*, 13(1): 78-90.
- [14] Hakim, H., Fazlara, A. and Tadayoni, M. 2018. Effect of chitosan coating containing oregano essential oil on shelf life of chicken fillets during refrigerated storage. *Food*



Effect of packaging with edible film of sago starch containing *Withania Somnifera* extract on quality properties of chicken fillet

Alizadeh, Z.¹, Sarhadi, H.^{1*}, Shahdadi, F.²

1. Department of Food Science & Technology, Bam Branch, Islamic Azad University, Bam, Iran

2. Department of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article History:</p> <p>Received 2020/09/16 Accepted 2021/01/26</p> <hr/> <p>Keywords:</p> <p>Sago starch, <i>Withania Somnifera</i>, Edible film, Shelf life, Chicken fillet.</p> <hr/> <p>DOI: 10.29252/fst.18.05.06</p> <hr/> <p>*Corresponding Author E-Mail: sarhadi@iaubam.ac.ir</p>	<p>Nowadays, the food industry is looking for new technologies to increase the shelf life of various products. Furthermore, as consumer's demand for more “healthier” meals (free of conventional chemical preservatives) has increased in the last decade. In this study, edible sago starch coating containing leave extract of <i>Withania Somnifera</i> (0.125 and 0.25 mg/ml, 1 and 2 times MIC, respectively) was applied onto chicken fillet to extend its shelf life at 4 °C. Examination of coated chicken fillets showed that active film of sago starch inhibited the microbial load (aerobic bacteria, coliform and <i>Staphylococcus aureus</i> bacteria) of chicken fillets. The results of chemical analysis of chicken fillet also showed that the coated samples had less volatile nitrogen compounds, thiobarbituric acid index and peroxide value than control. In general, the results of this study showed that the edible film produced from sago starch containing <i>Withania Somnifera</i> extract increases the shelf life of chicken fillets.</p>