



اثر فیلم خوراکی ضدباکتری کازئینات سدیم-نانوکریستال سلولز حاوی سلول و سوپرناتانت باکتری

لاکتوباسیلوس رئوتتری بر خواص کیفی کباب

پوران قادری^{۱*}، محمد علی نجفی^۲، ناصر سلطانی تهرانی^۳

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زابل، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زابل، ایران

۳- مربی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زابل، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

فیلم‌های خوراکی به دلیل سازگار بودن با محیط زیست می‌توانند جایگزین مناسبی برای بسته‌بندی‌های حاصل از مشتقات نفتی باشند. امروزه نگرانی مصرف‌کنندگان در مورد سمیت مواد نگهدارنده مصنوعی صنعت غذا را مجبور به یافتن منابع طبیعی آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی کرده است. غذاهای آماده مصرف مانند کباب به عنوان مستعدترین مواد غذایی برای رشد میکروب‌ها و شایع‌ترین عامل مسمومیت‌های غذایی شناخته شده‌اند. هدف از این تحقیق، بررسی اثر فیلم خوراکی ضدباکتری سدیم کازئینات-نانوکریستال سلولز حاوی سلول و سوپرناتانت باکتری لاکتوباسیلوس رئوتتری *PTCC 1655* بر خصوصیات میکروبی و شیمیایی، کباب می‌باشد. بدین منظور، فیلم سدیم کازئینات-نانوکریستال سلولز با افزودن 10^6 Cfu/cm² باکتری لاکتوباسیلوس رئوتتری *PTCC 1655* و سوپرناتانت فاقد میکروب تهیه و بر روی فیلم‌های تهیه شده آزمون‌های ارزیابی خصوصیات مکانیکی، نفوذپذیری بخار آب، حلالیت و رطوبت بررسی گردید. فیلم‌های تهیه شده، بر روی کباب پیچیده شدند و هر چهار روز نمونه‌برداری انجام و آزمون‌های میکروبی (شمارش کلی میکروارگانیسم‌های قابل رویت، باکتری‌های سرمادوست و شمارش کپک و مخمر)، شیمیایی (pH، اسیدیته، اسید تیوباریتوریک و بازهای نیتروژنی فرار، شاخص پراکسید) انجام شد. در بین تیمارهای مورد آزمون فیلم سدیم کازئینات-نانوسلولز محتوی لاکتوباسیلوس رئوتتری موثرترین تیمار در افزایش ماندگاری نمونه‌ی کباب تیمار شده بود. از این رو، پیشنهاد می‌شود از فیلم سدیم کازئینات-نانوسلولز حاوی لاکتوباسیلوس رئوتتری برای افزایش ماندگاری کباب استفاده شود.

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت:

تاریخ پذیرش:

کلمات کلیدی:

فیلم خوراکی،

ضد باکتری،

کباب،

نانوکریستال سلولز،

لاکتوباسیلوس رئوتتری

DOI: 10.22034/FSCT.20.142. 219
DOR:

* مسئول مکاتبات:

p.ghaderi700@gmail.com

۱- مقدمه

فرآورده‌های گوشتی منبع با ارزش پروتئین و اسیدهای آمینه ضروری هستند [1]. از جمله فرآورده‌های گوشتی که در کشور ما با استقبال عمومی روبرو است می‌توان به انواع کباب اشاره نمود. امروزه در سطح دنیا انواع فرآورده‌های گوشتی به مقدار بسیار زیاد استفاده می‌گردند و در ایران نیز به دلیل ماشینی‌شدن زندگی و کمبود وقت برای پخت و پز، مصرف آن روز به روز افزایش می‌یابد [2]. گوشت و فرآورده‌های گوشتی می‌توانند محیط مناسبی برای رشد میکروب‌های بیماری‌زا و خطرناک برای سلامت انسان باشند. گزارشات بسیاری در خصوص انتقال و شیوع بیماری‌های غذایی ناشی از گوشت و فرآورده‌های گوشتی در دست است. از این رو، ایمنی محصولات گوشتی یک نگرانی جدی برای سلامت جامعه است [3]. امروزه استفاده از سرمای بالای صفر (۴ درجه سانتی‌گراد)، یکی از روش‌های نگهداری گوشت به شمار می‌رود که موجب کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌های مولد فساد در فرآورده و در نتیجه تعویق فساد در آن می‌گردد. با توجه به محدودیت زمان نگهداری گوشت تازه در سرمای بالای صفر درجه سانتی‌گراد و اهمیت حفظ کیفیت آن تا هنگام مصرف، محققین به دنبال روش‌هایی هستند که ضمن افزایش مدت ماندگاری گوشت به صورت سرد و تازه، گوشت با کیفیت خوراکی مناسب به دست مصرف‌کنندگان برسد [4]. در سال‌های اخیر تمایل به استفاده از مواد غذایی تازه که متحمل کمترین فرایند شده باشند، گسترش زیادی یافته است. زیرا بسیاری از روش‌های رایج فرایند و نگهداری مواد غذایی، خصوصاً برای مواد غذایی تازه (گوشت تازه) مناسب نبوده و اثرات نامطلوبی بر کیفیت نهایی محصول دارند. استفاده از بسته بندی فعال، روش نوینی برای نگهداری این نوع مواد غذایی است. این نوع بسته‌بندی علاوه بر داشتن خواص بازدارندگی اصلی بسته‌بندی‌های

معمول (مانند خواص بازدارندگی در برابر گازها، بخار آب و تنش‌های مکانیکی)، با تغییر شرایط بسته‌بندی، ایمنی، ماندگاری و یا ویژگی‌های حسی ماده‌غذایی را بهبود می‌بخشند، در عین حال کیفیت ماده‌غذایی حفظ می‌گردد. در سال‌های اخیر بسته‌بندی‌های ضد میکروبی به دلیل بهبود در روند نگهداری مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته‌اند [5]. هدف اصلی آنها حفظ کیفیت و تضمین امنیت به واسطه مهار میکروارگانیسم‌های فسادزا و بیماری‌زا می‌باشد. اخیراً افزودن اسیدلاکتیک باکتری‌ها به فیلم‌های خوراکی زیست‌تخریب‌پذیر برای مهار باکتری‌های پاتوژن پیشنهاد شده است [6]. گزارش شده که برخی از اسیدلاکتیک باکتری‌ها می‌توانند رشد میکروب‌های مختلف از جمله باکتری‌ها، کپک‌ها و مخمرها را از طریق تولید اسیدهای آلی، هیدروژن پراکسیدها، آنزیم‌ها و ترکیبات باکتریوسین مانند محدود کنند [7]. همچنین اسیدلاکتیک باکتری‌های می‌توانند در خصوصیات مکانیکی و فیزیکی فیلم تغییراتی ایجاد نمایند که بسته به نوع باکتری این اثرات متفاوت می‌باشد [8]. فیلم‌های سدیم‌کازئینات بدون بو، مزه، دارای ارزش غذایی، خصوصیات مکانیکی و ممانعت‌کنندگی بالایی در برابر گازهای دی‌اکسیدکربن، اکسیژن و آروما می‌باشند [9]. در بسته‌بندی‌های ضد میکروبی، انتشار مواد ضد-میکروبی از ماتریکس پلیمری به سطح ماه غذایی به صورت آهسته و در زمان طولانی انجام می‌شود در نتیجه برای مدت طولانی غلظت بالایی از ماده ضد میکروبی در سطح فرآورده وجود خواهد داشت. مواد ضد میکروبی از طریق کاهش رشد و طولانی کردن فاز تاخیر میکروارگانیسم‌ها و یا نابود کردن میکروب‌ها، باعث افزایش ماندگاری فرآورده‌های غذایی می‌شوند [10] بنابراین به دلیل بهبود روند نگهداری مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته‌اند. هدف از این پژوهش تهیه فیلم‌های خوراکی جدید بر پایه‌ی گنجاندن باکتری اسیدلاکتیک لاکتوباسیلوس رئوتتری PTCC 1655 و

تهیه شد و برای جداسازی سلول‌های باقی‌مانده از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتری استفاده شد [11].

۲-۳- تهیه نانو ذرات سلولز

۲۰ گرم لیتر کتان در ۱۷۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۳۰٪ مخلوط شد و سپس به مدت ۶ ساعت در حمام آب گرم با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و دارای شیکر قرار داده شد. سوسپانسیون حاصل با آب مقطر رقیق شد و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. این فرآیند ۳ مرتبه برای حذف اسید سولفوریک تکرار گردید. بعد از آن سوسپانسیون به مدت ۲ ساعت در تماس با آب دیالیز شد و سپس به مدت یک شب در آب مقطر قرار داده شد تا در نهایت pH به ۴ رسید. در نهایت سوسپانسیون با اولتراسونیک تیمار شد و با دستگاه خشک‌کن انجمادی خشک شد [12].

۲-۴- تهیه فیلم سدیم کازئینات-نانوذرات سلولز

محلول آبی سدیم کازئینات با حل شدن ۲/۵ درصد وزنی-حجمی از پودر سدیم کازئینات در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر و سپس هم‌زدن به مدت ۳ ساعت به طور مداوم در دمای اتاق آماده شد. گلیسرول به مقدار مناسب (به طوری که نسبت گلیسرول به گلیسرول/کازئینات برابر ۰/۲۱) به محلول اضافه شد. نانو کریستال‌های سلولز به میزان ۲ درصد وزن خشک، در آب مقطر با استفاده از دستگاه اولتراسونیک حل و سپس به محلول فیلم اضافه شدند، به این ترتیب محلول فیلم شاهد تهیه گردید. همچنین به منظور تهیه فیلم حاوی باکتری لاکتوباسیلوس رئوتتری محلول بالا مجدداً تهیه و به آن باکتری لاکتوباسیلوس رئوتتری به تعداد 10^6 Cfu/cm² اضافه گردید و محلول فیلم سوپرناتانت با افزودن سوپرناتانت به محلول حاوی سدیم کازئینات-نانوسلولز تهیه گردید. سپس محلول‌های تهیه شده، در قالب ریخته و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک

سوپرناتانت آن در ماتریکس فیلم سدیم کازئینات-نانوکریستال سلولز می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه و تکثیر نمونه‌های میکروبی

باکتری‌های لاکتوباسیلوس رئوتتری (PTCC1655)، سالمونلا اینتریکا (PTCC 1709) و استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1189)، به صورت کشت لیوفیلیزه از کلکسیون کشت میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شدند. برای تلقیح اسیدلاکتیک باکتری محیط کشت MRS Broth برای سالمونلا اینتریکا و استافیلوکوکوس اورئوس محیط کشت BHI Broth مورد استفاده قرار گرفت. در شرایط کاملاً استریل آمپول میکروبی را شکسته و ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت را داخل آمپول حاوی میکروب ریخته تا پودر لیوفیلیزه میکروبی کاملاً حل شود. سوسپانسیون میکروبی به دست آمده داخل ۲۰ سی‌سی محیط کشت MRS براث برای اسیدلاکتیک باکتری و محیط کشت BHI Broth برای سالمونلا اینتریکا و استافیلوکوکوس اورئوس تلقیح شد. همچنین یک کشت خطی از سوسپانسیون‌های میکروبی به ترتیب روی محیط کشت‌های MRS Agar و BHI Agar تهیه گردید. سپس تمام لوله‌های آزمایش و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید. محیط کشت حاوی باکتری به دست آمده، به عنوان کشت مادری در یخچال و ۲ میلی‌لیتر محتوای لوله‌ی کشت نیز در لوله‌ی فالكون به نسبت ۳۰ به ۷۰ با گلیسرول مخلوط و در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

۲-۲- تهیه سوپرناتانت فاقد سلول میکروبی

باکتری لاکتوباسیلوس رئوتتری در محیط کشت MRS براث به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شد. سپس سوپرناتانت از طریق سانتریفیوژ کردن با دور 8000 g به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

ساخت ایران مقاومت کششی، درصد کشش پذیری و مدول الاستیک به ترتیب بر حسب مگاپاسگال، مقدار افزایش طول تقسیم بر طول اولیه بر حسب درصد و مگاپاسگال ارزیابی شدند. فاصله بین دو فک دستگاه ۵۰ میلی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه انتخاب شد. با استفاده از استاندارد D-882 مصوب ASTM از روی منحنی نیرو بر حسب تغییر شکل، مقاومت کششی، درصد کشش پذیری و مدول الاستیک به دست آمدند. سه تکرار برای هر روکش صورت گرفت [8].

۲-۴-۴- نفوذپذیری بخار آب فیلم

اندازه‌گیری میزان نفوذپذیری به بخار آب با روش Mchugh و همکاران در سال ۱۹۹۳ که اصلاح شده استاندارد ESTM-E96 می‌باشد، انجام شد. فیلم‌های مورد آزمایش روی ویال‌های شیشه‌ای نسبتاً پر از آب مقطر چسبانده و داخل دسیکاتور قرار گرفتند. برای انجام آزمایش ویال‌های شیشه‌ای که قطر خارجی ۲ cm، قطر داخلی ۱/۲ cm و ارتفاع ۴/۵ cm داشتند، مورد استفاده قرار گرفتند. درون ویال‌ها ۱۰ سی‌سی آب مقطر ریخته، بدین ترتیب رطوبت نسبی ۱۰۰٪ اعمال گردید. سپس هر نمونه فیلم را به ابعاد قطر خارجی دهانه بریده و بر روی دهانه ویال آغشته به گریس چسبانده و با یک واشر پلاستیکی بر روی ویال محکم شدند. ویال‌ها همراه با فیلم داخل دسیکاتور حاوی آب نمک فوق اشباع قرار گرفته (آب نمک فوق اشباع در ۵ درجه سانتی‌گراد رطوبت ۷۵٪ ایجاد می‌کند) و هر ۱۲ ساعت یکبار تغییرات وزن جهت تعیین میزان سرعت انتقال بخار آب فیلم‌ها با ترازوی ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری شد، منحنی تغییرات رسم و شیب هر خط رسم شده به وسیله‌ی رگرسیون خط $(R^2=0/999)$ محاسبه گردید. نرخ انتقال بخار آب (WVTR) از تقسیم شیب خط کشیده شده بر سطح فیلم به دست آمد.

شدند. فیلم‌های تهیه شده به مدت یک هفته در دسیکاتور با رطوبت نسبی ۷۵ درصد و دمای ۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا مشروط شوند [8,13].

۲-۴-۱- اندازه‌گیری رطوبت فیلم

قطعه‌هایی از فیلم به وزن ۵۰ میلی‌گرم (وزن مرطوب) در آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده، تا به وزن ثابت برسند. بعد از اینکه فیلم‌ها به تعادل رطوبتی رسیدند، درصد رطوبت فیلم‌ها از رابطه‌ی (۱) محاسبه گردید [8].

$$\text{درصد رطوبت} = \frac{\text{وزن آب}}{\text{وزن نمونه مرطوب}} \times 100 \quad (1)$$

۲-۴-۲- اندازه‌گیری حلالیت فیلم

فیلم‌ها به ابعاد ۳×۲ سانتی‌متر بریده و به مدت ۲۴ ساعت داخل آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. این فیلم‌های خشک شده را بعد از توزین کردن داخل ۸۰ سی‌سی آب مقطر ریخته و به مدت ۱ ساعت با سرعت ۲۰۰ دور بر دقیقه همزده شدند. سپس مخلوط بدست آمده توسط کاغذ صافی، صاف و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند. درصد حلالیت از رابطه‌ی (۲) محاسبه گردید [14].

$$\text{درصد حلالیت در آب} = \frac{\text{وزن فیلم خشک پس از غوطه‌وری} - \text{وزن ماده خشک اولیه موجود در فیلم}}{\text{وزن ماده خشک اولیه موجود در فیلم}} \times 100 \quad (2)$$

۲-۴-۳- ارزیابی خواص مکانیکی فیلم (مقاومت به

کشش، درصد طولیل شدن و مدول الاستیک) نمونه‌های فیلم به ابعاد ۲۵/۴ میلی‌متر عرض و ۱۰۰ میلی‌متر طول بریده به مدت یک هفته در دسیکاتور با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵ درصد ذخیره شدند. سپس با دستگاه بافت‌سنج مدل Santam STM1

۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. بر روی نمونه‌های گوشت در روزهای صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ آزمون‌های میکروبی (شمارش کلی، شمارش باکتری‌های سرمادوست، کپک و مخمر)، فیزیکی (pH، اسیدیته)، شیمیایی (اسید تیوباریتوریک و مجموع بازهای نیتروژنی فرار، شاخص پراکسید) انجام شد.

۲-۵-۱- شمارش کلی تعداد میکروپ

به منظور تعیین کل باکتری‌های قابل رویت از محیط کشت پلیت‌کانت‌آگار استفاده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه تهیه شده بر روی محیط کشت به طور سطحی پخش شد. در صورت نیاز (بالا بودن تعداد باکتری‌ها در یک پلیت) رقیق‌سازی نمونه‌ها (تا رقت 10^6) در محلول پپتون واتر ۰/۱ درصد انجام گرفت. پلیت‌های کشت داده شده پس از ۲-۳ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، به کمک دستگاه کلنی‌کانتر شمارش شدند [17].

۲-۵-۲- شمارش باکتری‌های سرمادوست

به منظور تعیین تعداد باکتری‌های سرمادوست، کشت به صورت سطحی بر روی محیط کشت پلیت‌کانت‌آگار انجام شد و پس از ۷ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، کلنی‌ها به کمک دستگاه کلنی‌کانتر شمارش شدند [18].

۲-۵-۳- شمارش کپک و مخمر

برای شمارش کپک و مخمر از محیط کشت رزبنگال کلرامفنیکول سلکتیو آگار استفاده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه تهیه شده بر روی محیط کشت به طور سطحی پخش شد. در صورت نیاز (بالا بودن تعداد باکتری‌ها در یک پلیت) رقیق‌سازی نمونه‌ها در محلول پپتون واتر ۰/۱ درصد انجام گرفت. پلیت‌های کشت داده شده پس از ۳-۵ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، شمارش شدند [19].

$$WVTR = \frac{\text{شیب خط}}{\text{سطح فیلم}} \quad (3)$$

در نهایت نفوذ پذیری به بخار آب از رابطه‌ی (۴) با ضرب کردن نرخ انتقال بخار آب در ضخامت فیلم (X) و تقسیم بر اختلاف فشار بین رطوبت نسبی درون سلول‌ها و رطوبت نسبی دسیکاتور (ΔP) به دست آمد.

$$WVP = \frac{WVTR \times X}{\Delta P} \quad (4)$$

۲-۴-۵- کدورت فیلم

برای تعیین کدورت، نمونه‌ها به شکل مستطیل بریده شدند و داخل سل اسپکتروفوتومتری (مدل Cecil ساخت کشور انگلستان) قرار گرفتند. سپس در طول موج ۶۵۰ نانومتر طیف جذبی نمونه‌های فیلم بدست آمد و طبق رابطه‌ی (۵) محاسبه شد [15].

$$\text{کدورت} = \frac{\text{جذب (650)}}{\text{ضخامت فیلم (میلی‌متر)}} \quad (5)$$

۲-۴-۶- مطالعه ریزساختار (مورفولوژی) فیلم

به منظور بررسی تاثیر افزودن اسیدلاکتیک باکتری، سوپرناتانت و نانوسولوز بر ریز ساختار فیلم‌های تولید شده، تصاویری با میکروسکوپ الکترونی مدل philips XI30 ساخت کشور هلند از مقطع سطحی و عرضی فیلم‌ها تهیه گردید. قبل از عکس‌برداری از مقطع سطحی، فیلم‌ها در اندازه $5 \times 1 \text{ mm}$ بریده و با لایه‌ای از طلا پوشانده شدند. در آماده سازی نمونه‌ها برای تصویربرداری از مقطع عرضی ابتدا نمونه‌ها در ازت مایع شکسته و سپس از سمت مقابل، بخش شکسته شده به کمک چسب دو طرفه بر روی پایه آلومینیومی قرار گرفتند. پایه‌ها در یک دستگاه پوشش دهنده به مدت ۵ دقیقه با طلا پوشش داده شدند [16].

۲-۵-۵- تهیه نمونه فرآورده گوشتی

گوشت مورد استفاده به مقدار لازم از کشتارگاه صنعتی تهیه و پس از انتقال به محیط آزمایشگاه تحت شرایط استریل خرد شد. کباب طبق دستورالعمل تهیه شد. پس از اختلاط کامل و قالب‌گیری با فیلم مورد نظر پوشش‌دهی و در دمای

۲-۵-۷- اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

۱۰ گرم گوشت چرخ شده را همراه با ۲ گرم اکسید منیزیم به عنوان کاتالیزور و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل بالن هضم کج‌الدال ریخته سپس چند عدد پرل شیشه‌ای به همراه اکتان نرمال (به عنوان ضدکف) به آن اضافه گردید. بالن هضم را به دستگاه وصل کرده و به آن حرارت داده شد. در انتهای دستگاه یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسید بوریک ۲ درصد به همراه چند قطره معرف متیل رد (۰/۱ متیل رد در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول به حجم رسانده شد) قرار داده شد. متیل رد ۱۴ در محیط اسیدی قرمز رنگ و در محیط بازی زرد رنگ است. عمل تقطیر تا گذشت ۳۰ دقیقه از زمان جوشش مواد درون بالن یا جمع شدن حدود ۱۲۵ میلی‌لیتر مایع تقطیر شده در ارلن مایر ادامه یافت. محلول اسید بوریک به محض قلیایی شدن توسط بازهای ازته فرار تقطیر شده، زرد رنگ می‌شود. عمل تیتراسیون این محلول توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا جایی ادامه یافت که اسید بوریک دوباره قرمز شد. مقدار TVB-N به صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت بلدرچین با استفاده از رابطه زیر به دست آمد [22].

$$(11) \quad \text{TVB-N} = (\text{نمونه وزن}) / (100 \times 1.4 \times \text{میزان اسید سولفوریک مصرفی})$$

۲-۵-۸- اندازه‌گیری مقدار pH

۵ گرم از نمونه تهیه شده با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و از مخلوط هموزن شده برای تعیین pH توسط pH متر دیجیتال استفاده شد [23].

۲-۵-۹- اندازه‌گیری مقدار اسیدیته

مقدار اسیدیته نمونه به صورت مقدار 0/1 M NaOH مورد نیاز برای خنثی کردن اسید در حضور فنل فتالین به عنوان معرف با روش تیتراسیون انجام شد [24] و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

۲-۵-۴- اندازه‌گیری شاخص پراکسید (PV)

۴۰ گرم از گوشت چرخ شده با ۱۰۰ میلی‌لیتر کلروفرم مخلوط و سپس با کاغذ صافی واتمن صاف گردید. ۲۵ سی سی از محلول صاف شده را برای استخراج چربی درون بشر ریخته و درون آن قرار داده تا کلروفرم آن تبخیر (اختلاف وزن بشر پس از تبخیر کلروفرم بیانگر وزن روغن خواهد بود) و ۲۵ میلی‌لیتر دیگر را درون ارلن ریخته و ۳۷ میلی‌لیتر اسید استیک به آن اضافه شد. به محلول یک میلی‌لیتر یدور پتاسیم اشباع اضافه گردید. پس از یک دقیقه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر محلول نشاسته به محلول اضافه و با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تا آنجا تیترا گردید که رنگ زرد محلول از بین رفته و به رنگ سفید شیری در بیاید. میزان پراکساید از رابطه زیر مورد محاسبه قرار گرفت [20].

$$(9) \quad 100 \times 0.1 \times \text{وزن روغن}$$

PV = مقدار تیوسولفات مصرفی /

۲-۵-۶- اندازه‌گیری اسید تیوباریتوریک (TBA)

اندازه‌گیری TBA با روش رنگ سنجی انجام شد. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه را به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری انتقال داده و سپس با ۱-بوتانول به حجم رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک درب‌دار اضافه شد و به آن ۵ میلی‌لیتر از معرف TBA اضافه شد (معرف TBA به وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی‌گرم از TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال بوتانول پس از فیلتر شدن بدست آمد). لوله‌های درب‌دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت قرار گرفتند و پس از آن در دمای محیط سرد شد. سپس مقدار جذب (As) در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد بوتانول (Ab) خوانده شد. مقدار TBA براساس رابطه زیر محاسبه گردید [21].

$$(10) \quad TBA = (As - Ab \times 50) / 200$$

حلالیت یک ویژگی مهم در فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر است زیرا سرعت آزاد شدن ترکیبات ضد اکسیداسیونی و ضد میکروبی فیلم را زمانی که در تماس با سطح ماده غذایی است، تعیین می‌کند [26]. همان‌طور که جدول ۱ نشان می‌دهد درصد انحلال فیلم‌های تهیه شده با یکدیگر دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$). بیشترین درصد انحلال (91.61 ± 0.50) در فیلم F3 و کمترین مقدار آن (82.01 ± 1.51) در فیلم F1 مشاهده شد. افزودن باکتری و سوپرناتانت به فیلم باعث افزایش معنی‌دار درصد انحلال شد. احتمالاً باکتری حاضر در فیلم، ترکیبات هیدروفیل تولید و در نتیجه باعث افزایش حلالیت فیلم می‌گردد. Hosseini و همکاران در سال ۲۰۰۹ بیان کردند، حضور ترکیبات ضد میکروبی در فیلم سبب افزایش درصد انحلال می‌گردد [27].

۳-۱-۳- نفوذپذیری بخار آب فیلم

تبادل رطوبتی بین ماده غذایی و محیط می‌تواند مشکلات زیادی از جمله فساد میکروبی، شیمیایی، آنزیمی، کاهش وزن محصول، از دست دادن طراوت و تازگی و کلوخه‌ای شدن محصولات پودری را ایجاد کند. بنابراین بازدارندگی فیلم‌های پلیمری در برابر رطوبت از نظر نگهداری مواد غذایی بسیار مهم است [28]. Souza و همکاران در سال ۲۰۱۰ بیان کردند فاکتورهای مختلفی از جمله ضریب حلالیت، پیوستگی ماتریکس فیلم، آبگریز بودن، نرخ دیفوزیون، توانایی حرکت زنجیرهای پلیمری و واکنش بین گروه‌های عاملی پلیمر در نفوذپذیری بخار آب فیلم‌های پلیمری تاثیر دارند [29]. همان‌طور که جدول ۱ نشان می‌دهد نفوذپذیری به بخار آب، فیلم‌های تهیه شده با یکدیگر دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$). بطوریکه بیشترین مقدار آن (19.00 ± 0.70) در فیلم F3 و کمترین مقدار آن 15.10 ± 0.60 g.mm/kpa.h.m² در فیلم F1 مشاهده شد. نتایج بدست آمده با یافته‌های Sanchez و همکاران در سال ۲۰۱۳ و ۲۰۱۴ مطابقت دارد [8,30]. افزودن باکتری و

$$TTA = (X \text{ ml NaOH} \times 0/009 \times 100) / (g \text{ Sample}) \quad (12)$$

۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش نتایج بدست آمده با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل گردید. مقایسه میانگین داده‌های میکروبی به کمک آزمون توکی و داده‌های شیمیایی و فیزیکی به کمک آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد توسط نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام گرفت. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 ترسیم و گزارش شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تغییر خصوصیات فیزیکی فیلم‌ها

۳-۱-۱- درصد رطوبت

همان‌طور که جدول ۱ نشان می‌دهد درصد رطوبت فیلم‌های تهیه شده با یکدیگر دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$). به‌طوریکه بیشترین مقدار آن (12.28 ± 0.12) در فیلم F3 و کمترین مقدار آن (10.65 ± 0.15) در فیلم F1 مشاهده شد. حضور لاکتوباسیلوس رئوتیری و سوپرناتانت آن در ساختار فیلم‌ها موجب افزایش معنادار رطوبت در آنها گردید. نتایج با یافته‌های اجاق و همکاران در سال ۱۳۹۶ در تضاد بود، آنها بیان کردند حضور باکتری در فیلم سدیم کازینات باعث کاهش محتوای رطوبت گردید. Kanmani و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند حضور باکتری در فیلم پلوان/نشاسته سیب زمینی و نشاسته تاپوکا باعث افزایش درصد رطوبت گردیده اما در فیلم پلوان خالص باعث کاهش محتوای رطوبت شده است [25]. در واقع لاکتوباسیلوس به منظور اطمینان از زنده‌مانی خود توانایی نگهداری آب را در فیلم افزایش می‌دهد، در نتیجه درصد رطوبت فیلم افزایش می‌یابد [8].

۳-۱-۲- حلالیت در آب

۶۵۰ نانومتر ارزیابی و نتایج آن در جدول ۱ نشان داده شده است. بیشترین مقدار کدورت ($1/82 \pm 0/04$) در فیلم F2 و کمترین مقدار آن ($1/11 \pm 0/01$) nm/mm در فیلم F3 مشاهده شد. افزودن سوپرناتانت به فیلم باعث افزایش معنی‌دار کدورت گردید. همچنین افزودن باکتری به فیلم نیز باعث کاهش معنی‌دار کدورت گردید ($P < 0/05$). از آنجائیکه رطوبت بر ظاهر فیلم موثر است، افزایش محتوی رطوبت می‌تواند دلیل کاهش کدورت باشد [8]. نتایج به‌دست آمده با یافته‌های Kanmani و همکاران در سال ۲۰۱۳ در تضاد بود، آنها گزارش کردند افزودن اسیدلاکتیک باکتری‌ها در فیلم پلوان، پلوان-نشاسته به دلیل متفاوت بودن ساختار فیلم کاهش یافته است [25].

سوپرناتانت به فیلم باعث افزایش قابل توجه نفوذپذیری بخار آب فیلم‌ها شده است ($P < 0/05$). افزودن باکتری و سوپرناتانت به فیلم باعث ایجاد ناپیوستگی‌هایی در ماتریکس فیلم گردیده، در نتیجه توانایی جابجایی زنجیرهای پلیمری و انتقال جرم مولکول آب افزایش می‌یابد. Pruneda و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند افزودن ترکیبات ضد میکروبی به فیلم ایزوله پروتئین سویا منجر به افزایش قابل توجه نفوذپذیری به بخار آب فیلم شد [31]. از طرفی Concha-Meyer و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیان کردند افزودن باکتری‌های اسیدلاکتیک به فیلم سدیم کازینات نفوذپذیری قابل توجهی ایجاد نکرد [32].

۳-۱-۴- کدورت فیلم

کدورت فیلم به دلیل تاثیر مستقیم بر ظاهر محصولات پوشش داده بسیار مهم است. این پارامتر فیلم در طول موج

Table 1- The effect of *Lactobacillus reuteri* bacteria and its supernatant on the physical properties of the film

Treatment	M%	S%	WVP (g.mm/kpa.h.m ²)	O (nm/mm)
F1	10.65±0.15 ^C	82.01±1.51 ^C	15.10±0.60 ^C	1.40±0.03 ^A
F2	11.30±0.10 ^B	84.04±0.75 ^B	16.50±0.50 ^B	1.82±0.04 ^B
F3	12.28±0.12 ^A	91.61±0.50 ^A	19.00±0.70 ^A	1.11±0.01 ^C

F1 sodium caseinate film - nanocellulose, F2 sodium caseinate film - nanocellulose - supernatant, F3 sodium caseinate film - nanocellulose - lactobacillus reuteri. ; M moisture percentage, ; S solubility, ; WVP permeability to water vapor, ; O turbidity. Similar common letters in each column indicate no significant difference in data ($P < 0.05$).

میکروسکوپ الکترونی مربوط به مقطع عرضی فیلم سدیم کازینات- نانوسلولز- سوپرناتانت و سدیم کازینات - نانوسلولز- لاکتوباسیلوس رئوتری نشان می‌دهند که سوپرناتانت و باکتری با اجزا فیلم واکنش داده و جایگزین پیوندهای قبلی شدند، و به خوبی در ساختار هر دو فیلم قرار گرفته‌اند (شکل ۱). Randazzo و همکاران در سال ۲۰۱۶ بیان کردند در صورتی که یک ترکیب ضد میکروبی در ساختار فیلم به خوبی قرار گیرد، نرخ دیفوزیون آن کاهش و غلظتش در طول مدت ذخیره‌سازی در سطح بالا حفظ می‌ماند [34].

۳-۱-۵- مطالعه ریزساختار (مورفولوژی) فیلم

بررسی ریزساختار بیوپلیمرها می‌تواند عامل مهمی در درک رفتار و خواص بیوپلیمرها باشد [33]. تصاویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی گرفته شده از سطح فیلم‌ها اطلاعات مفیدی از بستر بیوپلیمر را در اختیار ما قرار می‌دهد. واکنش بین اجزای سازنده و تغییراتی که در طی خشک کردن فیلم رخ می‌دهد، در میکروساختار نهایی فیلم تاثیر دارد. مطالعه ریزساختار فیلم اطلاعاتی درباره نحوه نظم و ترتیب اجزا سازنده فیلم می‌دهد که با استفاده از آن می‌توان ارزیابی شیمیایی و میکروبی را بهتر تفسیر کرد. فیلم F1 نسبت به فیلم F2 و F3 دارای سطح یکنواخت‌تری می‌باشد. تصاویر

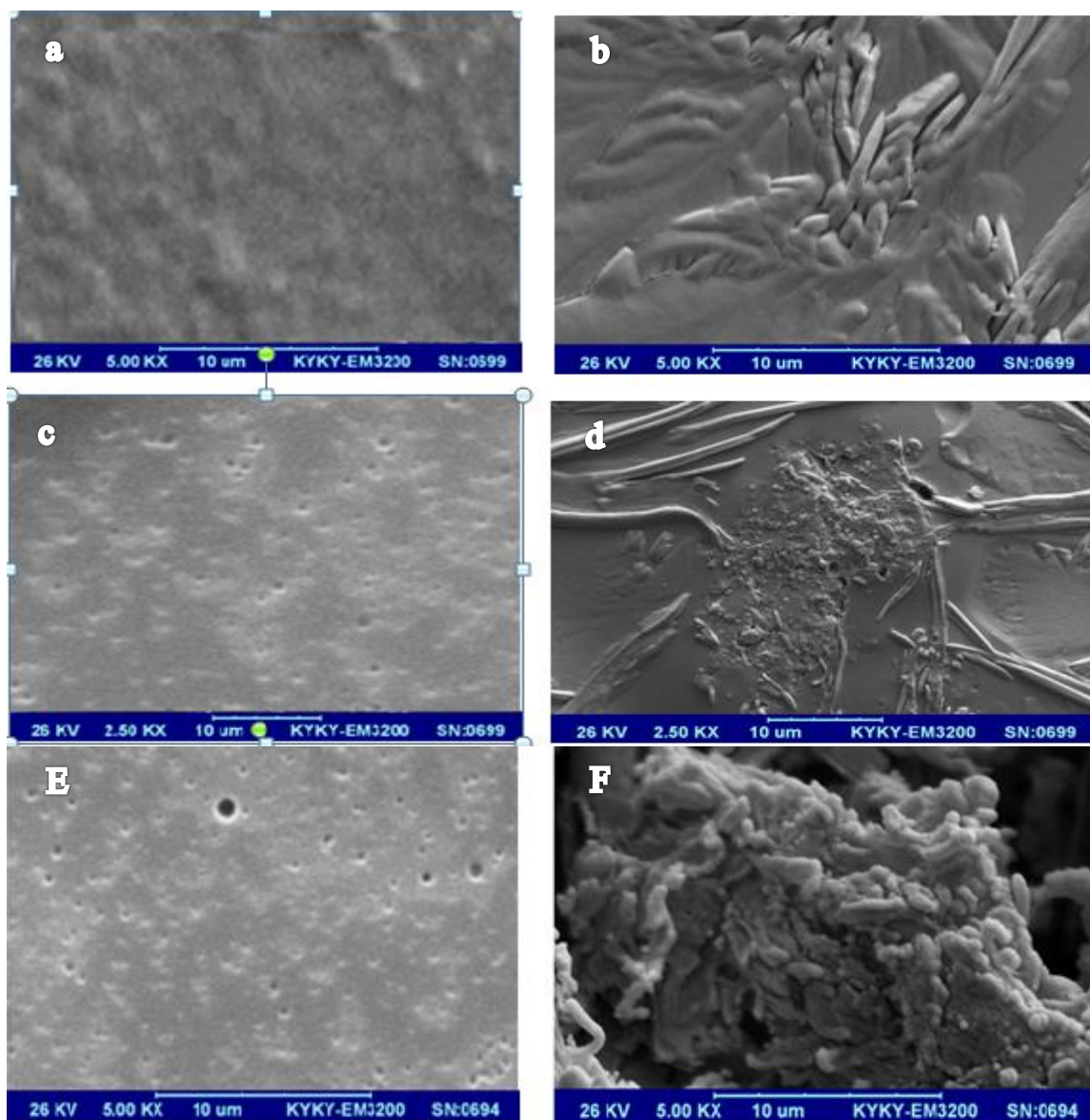


Figure 1 Electron microscope images.

Surface image (a) and cross-section (b) of sodium caseinate-nanocellulose film, surface image (p) and cross-section (t) of sodium caseinate-nanocellulose-supernatant film, surface image (c) and cross-section (c) of sodium caseinate film - Nanocellulose - *Lactobacillus reuteri*

سختی فیلم را بیان می‌کند. افزودن سوپرناتانت به فیلم باعث کاهش معنی‌دار مقاومت کششی شد. افزودن سوپرناتانت بر مدول الاستیک تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد (جدول ۲). افزودن سوپرناتانت به فیلم سبب افزایش معنی‌دار درصد کشش‌پذیری شد. افزودن باکتری به فیلم باعث کاهش معنی‌دار ($P < 0.05$) مقاومت کششی و مدول الاستیک گردید. درصد کشش‌پذیری در حضور باکتری افزایش معنی‌داری داشت. نتایج ما با یافته‌های Sanchez-Gonzalez

۳-۱-۶- ارزیابی خواص مکانیکی فیلم (مقاومت به کشش، درصد طولیل شدن و مدول الاستیک) معمولاً خصوصیات مکانیکی فیلم‌های پلیمری با سه پارامتر مقاومت به کشش (TS)، درصد طولیل شدن (E) و مدول الاستیسیت (EM) اندازه‌گیری می‌شود. TS: حداکثر تنش کششی بدون اینکه فیلم دچار کرنش دائمی شود. E: نسبت افزایش طول به طول اولیه فیلم، EM: این پارامتر میزان

کل میکروبیها در طی ۲۰ روز نگهداری در نمونه‌های کباب آماده شده با تیمارهای مختلف با یکدیگر متفاوت است. همان‌طور که دیده می‌شود از روز صفر تا پایان دوره نگهداری، مقدار TVC تیمار F1 و تیمار شاهد با شیب تندتری افزایش پیدا کرد. در تیمارهای F2 تا روز چهارم نگهداری تعداد باکتری با شیب تندتری افزایش پیدا کرد. پس از آن شیب افزایش تعداد باکتری کاهش پیدا کرد. به‌طوریکه در روز ۲۰ نگهداری تعداد باکتری در تیمارهای F2 به $7/9$ (Log CFU/gr) رسید. در تیمار F3 جمعیت میکروبی تا روز ۸ با شیب بسیار ملایمی افزایش یافت. اما از روز ۸ تا ۱۲ جمعیت میکروبی با شیب تندتری افزایش پیدا کرد و پس از آن مجدداً در یک شیب ملایمی قرار گرفت. کمترین میزان شمارش کل در تیمار F3 مشاهده گردید. به‌طوریکه در روز ۲۰ حداکثر تعداد میکروبی به $7/5$ سیکل لگاریتمی رسید. بیشترین حد پیشنهاد شده برای TVC گوشت تازه، 7 (Log CFU/gr) است [36]. تیمار کنترل روز ۴، تیمار F1 روز ۸، تیمار F2 روز ۱۲، تیمار F3 در روز ۱۳ نگهداری در محدوده پیشنهادی قرار گرفتند. در مجموع استفاده از فیلم خوراکی سدیم کازئینات-نانوسلولز به همراه باکتری لاکتوباسیلوس رئوتری و سوپرناتانت آن باعث کاهش بار میکروبی کل شده است. زرگر و همکاران در سال ۱۳۹۰ تاثیر پوشش خوراکی سدیم کازئینات بر کیفیت خوراکی ماهی قزل آلابی رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در دمای یخچال را مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد پوشش سدیم کازئینات در روزهای پایانی دوره نگهداری، به طور معنی‌داری باعث کاهش بار میکروبی به ویژه باکتری‌های هوازی مزوفیل (در روز ۲۰ در تیمار شاهد و دارای پوشش به ترتیب $9/1 \pm 1$ و $7/7 \pm 0/07$) ($P < 0/05$) در مدت نگهداری در یخچال شد [37]. رنجبریان و همکاران در سال ۱۳۹۶ تاثیر فیلم و پوشش نانوکامپوزیت فعال سدیم کازئینات حاوی اسانس دارچین در افزایش ماندگاری فیله

و همکاران در سال ۲۰۱۴ یکسان بود [8]. اما نتایج با یافته‌های Gialamas و همکاران در تضاد بود، آنها بیان کردند اسپری و تلقیح کردن لاکتوباسیلوس ساکی ۱۱۸۹ LQC به فیلم سدیم کازئینات تغییری در مقاومت کششی ایجاد نکرده است [35]. خصوصیات مکانیکی فیلم‌ها تحت تاثیر بهم پیوستگی زنجیرهای پلیمر در ماتریکس فیلم قرار دارد. احتمالاً افزودن سوپرناتانت و تلقیح باکتری سبب تغییر در ساختار منسجم ماتریکس پلیمر تصویر (ث) و (ج) می‌شوند. در نتیجه پیوندهای شبکه پلیمر و به دنبال آن مقاومت مکانیکی کاهش می‌یابد. از طرفی افزودن باکتری در ساختار فیلم باعث افزایش درصد رطوبت گردیده است. رطوبت به‌عنوان یک پلاستیسیزر عمل می‌کند و باعث کاهش مقاومت کششی، مدول الاستیک و افزایش درصد کشش پذیری می‌گردد.

Table 2- The effect of *Lactobacillus reuteri* bacteria and its supernatant on the mechanical properties of the film

Treatment	E%	TS(MPa)%	EM(MPa)%
F1	10.16 ± 0.31 C	15.40 ± 0.35 A	323 ± 23 A
F2	11.96 ± 0.24 B	12.69 ± 0.56 C	294 ± 24 A
F3	12.82 ± 0.19 A	13.96 ± 0.71 B	245 ± 15 B

F1 sodium caseinate –nanocellulose film, F2 sodium caseinate -nanocellulose-supernatant film, F3 sodium caseinate -nanocellulose-*Lactobacillus reuteri*, E percentage of stretch, TS tensile strength, EM modulus of elasticity.

Similar common letters in each column indicate no significant difference in data ($P < 0.05$).

۳-۲- اثر متغیرهای مورد بررسی بر ویژگی‌های کباب

۳-۲-۱- تغییرات بار میکروبی کل (TVC)

تغییرات بار میکروبی کل تیمارهای مختلف نمونه‌های کباب در طی زمان نگهداری، در شکل ۲ آورده شده است. مقدار بار میکروبی کل تیمارهای مختلف در روز صفر در محدوده $4/2 - 4/1$ (Log CFU/gr) بود. روند افزایش تعداد

دامنه قابل قبول برای مصارف انسانی قرار داشت. اما نمونه‌های شاهد و پوشش‌دار فراتر از حد مجاز بود [38].

سینه مرغ را بررسی کردند. نمونه‌های بسته بندی شده با فیلم نانوکامپوزیتی حاوی اسانس دارچین تا روز ۱۲ در

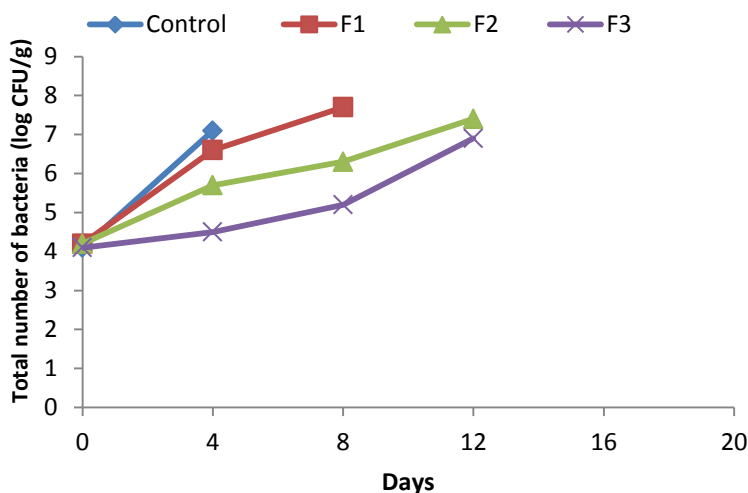


Figure 2- The effect of the examined variables on the total number of bacteria

Control, roast without coating; F1 roast - sodium caseinate – nanocellulose film, F2 roast - sodium caseinate – nanocellulose – supernatant film, F3 roast - sodium caseinate - nanocellulose - *Lactobacillus reuteri* film.

محدوده (Log CFU/gr) ۳/۴-۳/۸ بود. بار باکتریایی مجاز برای باکتری‌های سرمادوست هوازی نیز (Log CFU/gr) ۷ گزارش شده است [42]. تیمار کنترل و F1 در روز ۸، F2 روز ۱۲، F3 در روز ۱۴ در محدوده پیشنهادی قرار گرفتند. Fernandez-Pan و همکاران در سال ۲۰۱۴ اسانس پونه‌کوهی و میخک را در پوشش ایزوله پروتئین آب پنیر به کار بردند و به نتایج مشابهی دست یافتند [43]. رنجبریان و همکاران در سال ۱۳۹۶ تاثیر فیلم و پوشش نانوکامپوزیت فعال سدیم کازئینات حاوی اسانس دارچین در افزایش ماندگاری فیله سینه مرغ را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد میزان باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های بسته‌بندی شده با پوشش نسبت به نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم افزایش معنی‌داری داشته است ($P < 0.05$) [38].

۳-۲-۲- تغییرات تعداد باکتری‌های سرمادوست

باکتری‌های سرمادوست، باکتری‌های گرم منفی نظیر سودوموناس، آلتروموناس، شوانلا، فلاوباکتریوم می‌باشند [39]. باکتری‌های سرمادوست مهم‌ترین گروه از میکروارگانیسم‌های عامل فساد در محصولات نگهداری شده در دمای پایین هستند. از ویژگی‌های مهم باکتری‌های سرمادوست دارا بودن آنزیم پروتئولیتیک و لیپولیتیک قوی و سرعت تکثیر آنها در زمان کوتاه می‌باشد [40]. رشد میکروارگانیسم‌های سرمادوست بستگی به درجه حرارت محیط دارد و هرچه درجه حرارت کاهش یابد، میزان رشد به‌طور افزایشی کند می‌شود [41]. تغییرات میزان بار باکتریایی سرمادوست در شکل ۳ نشان داده شده است. تعداد اولیه باکتری‌های سرمادوست تیمارهای مختلف در

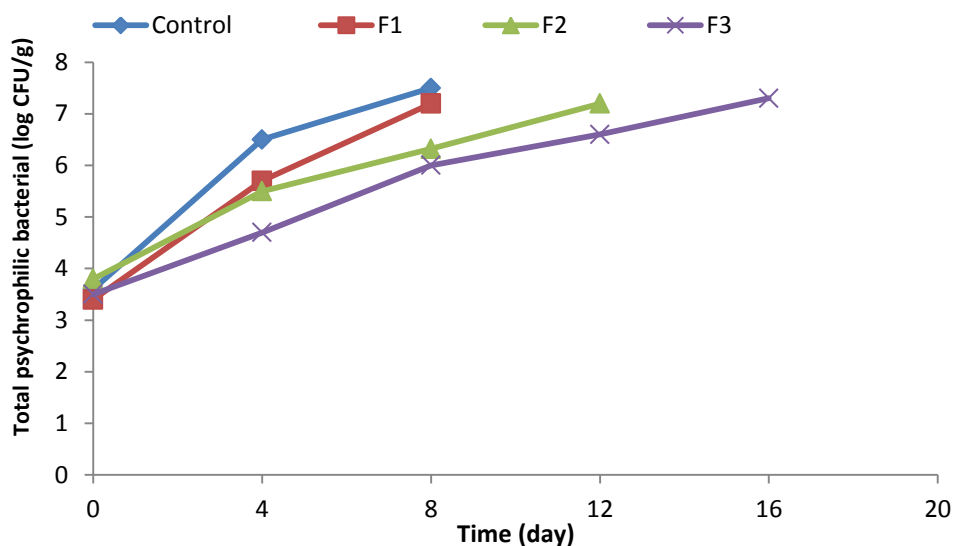


Figure 3- The effect of the examined variables on total psychrophilic bacteria.

Control roast without coating. F1 roast - sodium caseinate – nanocellulose film, F2 roast - sodium caseinate - nanocellulose – supernatant film, F3 roast - sodium caseinate - nanocellulose - *Lactobacillus reuteri* film.

افزایش یافت. تعداد کپک و مخمر در تیمار F1 و F2 تا روز ۴ با شیب تند و از روز ۴ تا پایان دوره نگهداری با شیب ملایمی افزایش یافت و در پایان دوره در تیمار F1 و F2 به ترتیب به ۶/۴ و ۵/۹ رسید. روند افزایش کپک و مخمر در تیمار F3 کند بود به طوری که در پایان دوره نگهداری به ۵/۳ (Log CFU/gr) رسید.

۳-۲-۳- تغییرات کپک و مخمر

همانطور که در شکل ۴ دیده می شود روند افزایش تعداد کپک و مخمر در طی ۲۰ روز نگهداری در نمونه های کباب آماده شده با تیمارهای مختلف با یکدیگر متفاوت است. تعداد اولیه کپک و مخمر در تیمارهای مختلف در محدوده ۲/۴-۲/۸ (Log CFU/gr) بود. از روز صفر تا پایان دوره نگهداری تعداد کپک و مخمر تیمار کنترل با شیب تندتری

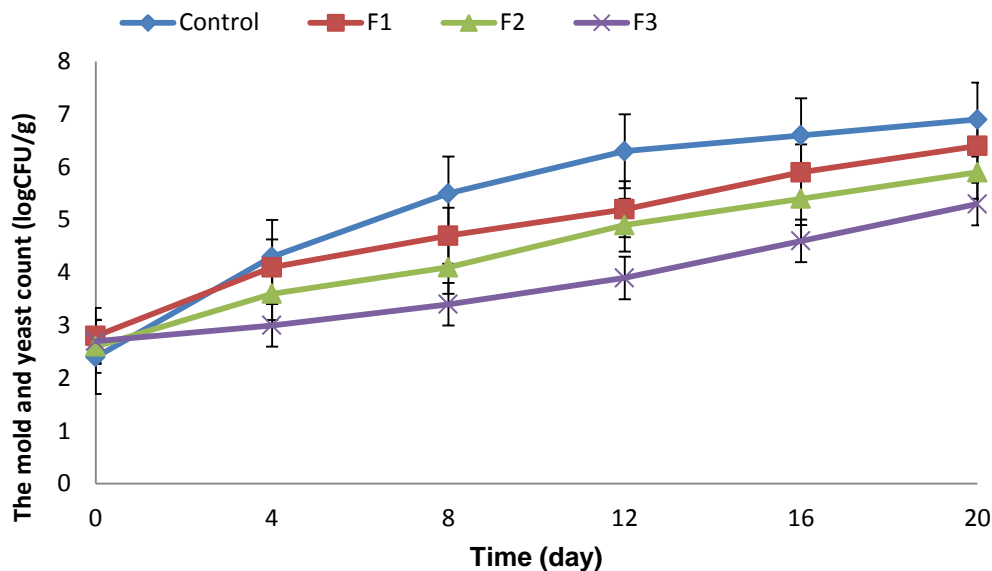


Figure 4- The effect of the examined variables on mold and yeast.

Control roast without coating. F1 roast - sodium caseinate – nanocellulose film, F2 roast - sodium caseinate - nanocellulose – supernatant film, F3 roast - sodium caseinate film - nanocellulose - *Lactobacillus reuteri* film.

در بین تیمارها بود و $(2/162 \pm 0/020)^{A,a}$ meq/kg oli تیمار F3 دارای کمترین مقدار پراکسید (meq/kg oli) $(1/080 \pm 0/006)^{A,d}$ بود. از روز ۱۲ تا پایان دوره نگهداری، اندیس پراکسید تمامی تیمارها به طور ناگهانی کاهش یافت. افزایش پراکسید می‌تواند به علت نرخ سریع‌تر تشکیل پراکسیدها در طول روزهای صفر تا دوازدهم نگهداری در مقایسه با تجزیه پراکسیدها به محصولات ثانویه اکسیداسیون باشد [45]. کاهش ناگهانی هیدروپراکسیدها ممکن است بدلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تولید کربونیل‌ها و ترکیبات فرار باشد [44]. بین مقادیر پراکسید در مدت زمان نگهداری در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$) که می‌تواند دلیلی بر ممانعت از عبور اکسیژن توسط پوشش کازئینی باشد، این نتایج با نتایج Ateres و همکاران در سال ۲۰۱۰ مبنی بر تشابه مقدار PV در نمونه روغن پوشانده شده با فویل آلومینیومی و روغن پوشانده شده با فیلم سدیم کازئینات در تأخیر فساد اکسیداسیونی نسبت به روغن فاقد محافظ، سازگار بود [46]. زرگر و همکاران در سال ۱۳۹۳ به بررسی تأثیر

۳-۲-۴- تغییرات اندیس پراکسید (PV)

از شاخص پراکسید به منظور اندازه‌گیری هیدروپراکسیدها که محصول اولیه اکسیداسیون چربی و اسیدهای چرب چند غیراشباعی هستند، استفاده می‌شود. از آنجا که پراکسیدها ترکیباتی بدون طعم و بو هستند، نمی‌توانند به وسیله مصرف کنندگان تشخیص داده شوند. اما این ترکیبات باعث به وجود آمدن ترکیبات ثانویه مانند آلدئیدها و کتون‌ها می‌شوند که سبب تند شدن اکسیداسیونی می‌شوند [44]. جدول ۳ مقدار عدد پراکسید را در نمونه‌های کباب تهیه شده در طی ۲۰ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. مقدار پراکسید در روز صفر در محدوده (meq/kg oli) $(0/476 - 0/493)$ است. با افزایش روزهای نگهداری این میزان روند افزایشی داشت و بین تیمارهای مختلف، اختلاف‌هایی در مقدار پراکسید مشاهده شد. از روز چهارم نگهداری روند افزایشی شدت بیشتری یافت و در روز دوازدهم در تمامی تیمارها به بالاترین حد خود رسید. تیمار شاهد در روز دوازدهم دارای بالاترین مقدار پراکسید

می‌شود. محصولات ثانویه اکسیداسیون سبب ایجاد طعم و بوی نامطلوب در محصول می‌شوند [44]. جدول مقدار TBA را در نمونه‌های کباب تهیه شده در طی ۲۰ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. مقدار TBA در روز صفر در محدوده (MgMDA/kg) ۰/۲۶-۰/۱۷ بود. با افزایش روزهای نگهداری این میزان در تمامی تیمارها روند افزایشی داشت. حد آستانه مالون‌دی‌آلدهید که منجر به تولید عطر و طعم نامطلوب در مواد غذایی می‌گردد، ۲ mg/kg است [17] که هیچ یک از تیمارها از این مرز عبور نکرد. تیمار کنترل در روز ۲۰ بالاترین مقدار (۰/۷۰±۰/۰۶^{A,c}) را داشتند که می‌تواند تاییدی بر تاثیر پوشش سدیم کازئینات در ممانعت از اکسیداسیون چربی در نمونه‌های کباب باشد. نتایج با تحقیقات زرگر و همکاران در سال ۱۳۹۰ مطابقت داشت [37]. همچنین این یافته‌ها، با نتایج Caprileo و همکاران در سال ۲۰۰۹ مبنی بر کاهش TBA در قطعات ۱۵ گرمی گوشت پخته بوقلمون بسته‌بندی‌شده با فیلم سدیم کازئینات در مقایسه با قطعات فاقد پوشش، مطابقت داشت [47].

Table 4- TBARs index (MgMDA/kg) in different kebab treatments during storage time at refrigerator temperature

Treat ment	Storage time (day)					
	0	4	8	12	16	20
Cont rol	0.26 ±0.0 6 ^{Fa}	0.70 ±0.0 3 ^{Ea}	0.92 ±0.0 3 ^{Da}	1.06 ±0.0 6 ^{Ca}	1.33 ±0.0 2 ^{Ba}	1.65 ±0.0 7 ^{Aa}
F1	0.25 ±0.0 3 ^{Ea}	0.45 ±0.0 2 ^{Db}	0.64 ±0.0 2 ^{Db}	0.84 ±0.0 5 ^{Bb}	0.88 ±0.0 2 ^{Bb}	0.95 ±0.0 3 ^{Ab}
F2	0.20 ±0.0 2 ^{Fab}	0.38 ±0.0 3 ^{Ec}	0.51 ±0.0 4 ^{Dc}	0.69 ±0.0 3 ^{Cc}	0.77 ±0.0 2 ^{Bc}	0.89 ±0.0 3 ^{Ab}
F3	0.17 ±0.0 1 ^{Fb}	0.25 ±0.0 3 ^{Ed}	0.33 ±0.0 2 ^{Dd}	0.43 ±0.0 4 ^{Cd}	0.55 ±0.0 4 ^{Bd}	0.70 ±0.0 6 ^{Ac}

Control roast without coating, F1 roast with sodium caseinate - nanocellulose film, F2 roast with sodium caseinate - nanocellulose - supernatant film, F3 roast with sodium caseinate - nanocellulose - *Lactobacillus reuteri*

پوشش خوراکی سدیم کازئینات بر کیفیت ماهی قزل‌آلای - رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پرداختند. نتایج نشان داد میزان پراکسید در هر دو تیمار شاهد و ماهی دارای پوشش کازئینی روند افزایشی داشت، اما این افزایش در تیمار شاهد شدت بیشتری داشت و در روز ۱۶ به بیشترین میزان خود (۱/۱±۱۶/۱) رسید؛ سپس کاهش آن در روز ۲۰ دیده شد [37].

Table 3- Peroxide index (meq/kg oil) in different kebab treatments during storage time at refrigerator temperature

Treat ment	Storage time (day)					
	0	4	8	12	16	20
Cont rol	0.493 ±0.02 0 ^{Fa}	1.077 ±0.04 0 ^{Ea}	1.648 ±0.01 0 ^{Da}	2.162 ±0.02 0 ^{Aa}	2.117 ±0.01 0 ^{Ba}	2.065 ±0.00 8 ^{Ca}
F1	0.476 ±0.00 7 ^{Fa}	1.007 ±0.02 5 ^{Eb}	1.501 ±0.01 0 ^{Db}	1.909 ±0.03 0 ^{Ab}	1.869 ±0.03 0 ^{Bb}	1.710 ±0.02 1 ^{Cb}
F2	0.484 ±0.01 0 ^{Fa}	0.822 ±0.02 7 ^{Ec}	1.372 ±0.00 7 ^{Cc}	1.608 ±0.01 0 ^{Ac}	1.492 ±0.01 2 ^{Bc}	1.223 ±0.02 3 ^{Dc}
F3	0.482 ±0.01 0 ^{Fa}	0.606 ±0.01 2 ^{Ed}	0.951 ±0.01 0 ^{Cd}	1.080 ±0.00 6 ^{Ad}	0.998 ±0.02 0 ^{Bd}	0.699 ±0.01 3 ^{Dd}

Control roast without coating, F1 roast with sodium caseinate - nanocellulose film, F2 roast with sodium caseinate - nanocellulose - supernatant film, F3 roast with sodium caseinate - nanocellulose - *Lactobacillus reuteri* film. Similar uppercase and lowercase letters respectively indicate the absence of significant data differences in each row and column (P<0.05).

۳-۲-۵- تغییرات ترکیبات واکنش تیوباریتوریک اسید (TBARs)

TBA جهت ارزیابی برای اکسیداسیون چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد. زمانی که نرخ تبدیل هیدروپراکسیدها به فرآورده‌های ثانویه از نرخ تشکیل آنها بیشتر می‌شود، مقدار هیدروپراکسیدها کاهش می‌یابد. در این تئوری، فرآورده‌های اولیه در مراحل ابتدایی و فرآورده‌های ثانویه در مراحل پایانی، غالب ترکیبات فرآیند اکسیداسیون را تشکیل می‌دهند. در مرحله دوم اتواکسیداسیون که هیدروپراکسیدها به آلدهید و کتون اکسید می‌شوند، مالون‌دی‌آلدهید تشکیل

روز ۸، تیمار F1 روز ۱۶، تیمار F2 در روز ۲۰ از حد مجاز گذشتند اما تیمار F3 تا پایان دوره نگهداری از حد مجاز تجاوز نکرد (جدول ۵). نتایج با یافته‌های Zolfaghari و همکاران ۲۰۱۰ [51] مطابقت داشت. رنجبریان و همکاران در سال ۱۳۹۶ به بررسی تاثیر فیلم و پوشش نانوکامپوزیت فعال سدیم کازئینات حاوی اسانس دارچین در افزایش ماندگاری فیله سینه مرغ پرداختند [38] و به نتایج مشابهی رسیدند. افزایش محتوای TVB-N وابسته به فساد باکتریایی و فعالیت آندوژن می‌باشد [48,49]. به این صورت که بازهای فرار با جدا شدن آمین‌ها از اسیدهای آمینه توسط آنزیم‌های میکروبی تولید می‌شوند [50]. علت افزایش میزان بازهای فرار نیتروژنی طی نگهداری، فساد ناشی از رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها و همچنین آنزیم‌های اتولیز (خوددهضمی) است [52].

film. Similar uppercase and lowercase letters respectively indicate the absence of significant data differences in each row and column ($P < 0.05$).

۳-۲-۶- تغییرات مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

افزایش محتوای TVB-N وابسته به فساد باکتریایی و فعالیت آندوژن می‌باشد [48,49]، به این صورت که بازهای فرار با جدا شدن آمین‌ها از اسیدهای آمینه توسط آنزیم‌های میکروبی تولید می‌شوند [50]. اندازه‌گیری بازهای نیتروژنی فرار به‌عنوان شاخصی برای تشخیص تازگی محصولات گوشتی است که دامنه وسیعی از ترکیبات فرار نظیر آمونیاک، متیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین و مشابه آنها که در اثر فعالیت‌های میکروبی تولید می‌شوند را در بر می‌گیرد [39]. میزان ۲۵ میلی‌گرم TVB-N در ۱۰۰ گرم محصول، بالاترین سطح مورد قبول برای مصارف انسانی می‌باشد. با توجه به این حد مجاز پیشنهاد شده، در مطالعه ما تیمار کنترل در

Table 5- TVB-N in different kebab treatments during storage time at refrigerator temperature

Treatment	Storage time (day)					
	0	4	8	12	16	20
Control	8.62±0.22 ^{Fa}	22.36±0.32 ^{Ea}	28.83±0.55 ^{Da}	30.22±0.21 ^{Ca}	33.90±0.62 ^{Ba}	37.66±0.35 ^{Aa}
F1	8.68±0.13 ^{Fa}	14.54±0.42 ^{Eb}	20.76±0.72 ^{Db}	22.99±0.32 ^{Cb}	28.53±0.52 ^{Bb}	30.67±0.34 ^{Ab}
F2	8.74±0.12 ^{Fa}	12.34±0.31 ^{Ec}	15.24±0.43 ^{Dc}	19.26±0.41 ^{Cc}	22.52±0.71 ^{Bc}	26.78±0.32 ^{Ac}
F3	8.66±0.21 ^{Fa}	11.21±0.20 ^{Ed}	14.97±0.61 ^{Dc}	16.77±0.42 ^{Cd}	21.11±0.41 ^{Bd}	23.61±0.09 ^{Ad}

Control roast without coating, F1 roast with sodium caseinate – nanocellulose film, F2 roast with sodium caseinate – nanocellulose – supernatant film, F3 roast with sodium caseinate - nanocellulose - *Lactobacillus reuteri* film.

Similar uppercase and lowercase letters respectively indicate the absence of significant data differences in each row and column ($P < 0.05$).

تیمار شاهد از روز صفر تا آخرین روز نگهداری نسبت به سایر تیمارها با سرعت بیشتری افزایش یافت. بیشترین pH در تیمار کنترل در روز بیستم ۷/۲۸ و کمترین pH در تیمار F3 در روز هشتم ۵/۴۲ مشاهده شد. کاهش pH و سپس افزایش آن طی نگهداری با نتایج رنجبریان و همکاران (۱۳۹۶) تاثیر فیلم و پوشش نانوکامپوزیت فعال سدیم کازئینات حاوی اسانس دارچین در افزایش ماندگاری فیله سینه مرغ مطابقت داشت [38]. همچنین با نتایج Song و همکاران در سال ۲۰۱۱ تاثیر پوشش سدیم آلرینات حتوی

۳-۲-۷- تغییرات pH

pH یکی از شاخص‌های مهم ارزیابی کیفیت گوشت است [53]. تغییرات مقدار pH محاسبه شده در تیمارهای مختلف کباب هنگام نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در جدول ۶ شان داده شده‌است. با توجه به جدول، مقدار pH ابتدایی تمامی تیمارها در محدوده ۶/۰۶ - ۶/۰۲ بود. در تمامی تیمارها به جز کنترل مقدار pH تا روز هشتم نگه‌داری کاهش و با گذشت زمان تا روز ۲۰ افزایش یافت. pH

زمان غلظت ترکیبات آمونیوم و مولکول‌های قلیایی افزایش یافته که زمینه مناسبی را برای رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها فراهم میکند و همچنین سبب فعالیت آنزیمی نیز می‌گردد [56].

آنتی‌اکسیدان‌های مختلف بر کیفیت و ماندگاری ماهی مطابقت داشت [54]. تشکیل اسیدهای معدنی از جمله اسیدلاکتیک در ابتدای دوره نگهداری که به علت تجزیه گلیکوژن است، سبب کاهش pH می‌گردد، از رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می‌کند [55]. با گذشت

Table 6- pH value in different kebab treatments during storage time at refrigerator temperature

Treatment	Storage time (day)				
	0	4	8	12	16
Control	6.06±0.05 ^{Fa}	6.27±0.03 ^{Ea}	6.49±0.13 ^{Da}	6.66±0.05 ^{Ca}	6.97±0.10 ^{Ba}
F1	6.02±0.02 ^{EDa}	5.99±0.03 ^{Eb}	6.17±0.07 ^{Db}	6.31±0.06 ^{Cb}	6.47±0.03 ^{Bb}
F2	6.03±0.03 ^{Ca}	5.89±0.05 ^{Dbc}	5.74±0.09 ^{Ec}	5.94±0.11 ^{DCC}	6.13±0.08 ^{Bc}
F3	6.04±0.03 ^{ABa}	5.82±0.12 ^{Cc}	5.42±0.09 ^{Ed}	5.68±0.06 ^{Dd}	5.92±0.07 ^{BCd}

Control roast without coating, F1 roast with sodium caseinate – nanocellulose film, F2 roast with sodium caseinate – nanocellulose – supernatant film, F3 roast with sodium caseinate - nanocellulose - *Lactobacillus reuteri* film.

Similar uppercase and lowercase letters respectively indicate the absence of significant data differences in each row and column (P<0.05).

تیمار F1 تا روز چهارم افزایش، سپس با گذشت زمان روند کاهشی داشت. بیشترین مقدار اسیدیته در تیمار F3 در روز هشتم 0.93 ± 0.02 و کمترین مقدار آن در تیمار کنترل در روز بیستم 0.08 ± 0.03 مشاهده گردید. در آزمایشی در سال ۲۰۰۰، اثر باکتری‌های لاکتوکوکوس لاکتیس و لاکتوباسیلوس پلاتناروم در ویژگی‌های حسی و میکروبی گوشت چرخ‌کرده‌ی بز مورد بررسی قرار گرفت. مقدار اسیدیته در نمونه‌های تیمار شده با لاکتیک اسید باکتری‌ها بالاتر از نمونه‌ی شاهد بود [24].

۳-۲-۸- تغییرات اسیدیته

تغییرات مقدار اسیدیته در تیمارهای مختلف کباب هنگام نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در جدول ۷ نشان داده شده‌است. با توجه به جدول، مقدار اسیدیته اولیه تمامی تیمارها با یکدیگر برابر و مساوی با 0.37 ± 0.01 درصد اسیدلاکتیک بود. مقدار اسیدیته تیمار کنترل از روز صفر تا پایان دوره نگهداری روند کاهشی داشت مقدار اسیدیته در تیمار F2 و F3 تا روز هشتم روند افزایشی داشت، از روز ۸ تا پایان دوره نگهداری اسیدیته کاهش یافت. اسیدیته

Table 7- Acidity value in different kebab treatments during storage time at refrigerator temperature

Treatment	Storage time (day)					
	0	4	8	12	16	20
Control	0.37±0.01 ^{Aa}	0.34±0.01 ^{Ba}	0.31±0.02 ^{Ba}	0.18±0.02 ^{Ca}	0.11±0.01 ^{Da}	0.08±0.03 ^{Ea}
F1	0.37±0.01 ^{Ba}	0.43±0.03 ^{Ab}	0.36±0.01 ^{Bb}	0.32±0.01 ^{Cb}	0.27±0.02 ^{Db}	0.22±0.01 ^{Eb}
F2	0.37±0.01 ^{Ca}	0.54±0.01 ^{Bc}	0.75±0.03 ^{Ac}	0.53±0.01 ^{Bc}	0.36±0.02 ^{Cc}	0.32±0.01 ^{Eb}
F3	0.37±0.01 ^{Fa}	0.65±0.02 ^{Cd}	0.93±0.02 ^{Ad}	0.75±0.03 ^{Bd}	0.56±0.02 ^{Dd}	0.41±0.02 ^{Ed}

Control roast without coating, F1 roast with sodium caseinate – nanocellulose film, F2 roast with sodium caseinate – nanocellulose – supernatant film, F3 roast with sodium caseinate - nanocellulose - *Lactobacillus reuteri* film.

Similar uppercase and lowercase letters respectively indicate the absence of significant data differences in each row and column (P<0.05).

۴- نتیجه‌گیری کلی

دهی با فیلم سدیم کازئینات- نانوسلولز، فیلم سدیم کازئینات- نانوسلولز- سوپرناتانت به ترتیب زمان ماندگاری را تا ۸ و ۱۲ روز افزایش دادند. فیلم سدیم کازئینات- نانوسلولز- لاکتوباسیلوس رئوتتری بیشترین زمان ماندگاری تا روز ۱۳ داشت.

فیلم سدیم کازئینات حامل خوبی برای اسیدلاکتیک باکتری است. ترکیبات افزوده شده به فیلم‌ها باعث افزایش نفوذپذیری بخار آب فیلم‌ها گردیدند. فیلم‌های حاوی لاکتوباسیلوس رئوتتری و سوپرناتانت خاصیت ضداستافیلوکوکی و سالمونلایی قابل توجهی داشتند. بر اساس نتایج آزمون‌های میکروبی (TVC) و شیمیایی (TVB-N)، تیمار کنترل ۴ روز ماندگاری داشت. پوشش

۶- منابع

- [1] Karimzadeh, L., Koohdani, F., Mahmoudi, M., Safari, F., & Babae, Z. (2010). Determination of nitrate and nitrite residues in smoked Caspian Kutum, *Rutilus frisii kutum* and Mullet, *Liza auratus* in the north of Iran. *World J Fish & Marine Sci*, 2(1), 62-65.
- [2] Nachvak, S. M., Soleimani, D., Gholizadeh, S., & Paknahad, Z. (2021). Kebab, a delicious food, but contaminated with harmful compounds: A literature review. *Journal of Isfahan Medical School*, 39(626), 376-383.
- [3] Mataragas, M., Skandamis, P. N., & Drosinos, E. H. (2008). Risk profiles of pork and poultry meat and risk ratings of various pathogen/product combinations. *International journal of food microbiology*, 126(1-2), 1-12.
- [4] Manheem, K., Adiamo, O., Roobab, U., Mohteshamuddin, K., Hassan, H. M., Nirmal, N. P., & Maqsood, S. (2023). A Comparative Study on Changes in Protein, Lipid and Meat-Quality Attributes of Camel Meat, Beef and Sheep Meat (Mutton) during Refrigerated Storage. *Animals*, 13(5), 904.
- [5] Appendini, P., & Hotchkiss, J. H. (2002). Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(2), 113-126.
- [6] De Lacey, A. L., López-Caballero, M. E., Gómez-Estaca, J., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2012). Functionality of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* incorporated to edible coatings and films. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16, 277-282.
- [7] Alzamora, S. M., Tapia, M. S., & López-Malo, A. (2000). Minimally processed fruits and vegetables: Fundamental aspects and applications. *Aspen Publishers, Inc*, 341-352.
- [8] Sánchez-González, L., Saavedra, J. I. Q., & Chiralt, A. (2014). Antilisterial and physical properties of biopolymer films containing lactic acid bacteria. *Food Control*, 35(1), 200-206.
- [9] Gennadios, A. (Ed.). (2002). *Protein-based films and coatings*. CRC press.
- [10] Vojdani, F., & Torres, J. A. (1990). Potassium sorbate permeability of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose coatings: Effect of fatty acids. *Journal of Food Science*, 55(3), 841-846.
- [11] Beristain-Bauza, S. C., Mani-López, E., Palou, E., & López-Malo, A. (2016). Antimicrobial activity and physical properties of protein films added with cell-free supernatant of *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Control*, 62, 44-51.
- [12] Wang, Y., Cao, X., & Zhang, L. (2006). Effects of cellulose whiskers on properties of soy protein thermoplastics. *Macromolecular bioscience*, 6(7), 524-531.
- [13] Pereda, M., Amica, G., Rácz, I., & Marcovich, N. E. (2011). Structure and properties of nanocomposite films based on sodium caseinate and nanocellulose fibers. *Journal of Food Engineering*, 103(1), 76-83.
- [14] Pinotti, A., Garcia, M. A., Martino, M. N., & Zarietzky, N. E. (2007). Study on microstructure and physical properties of composite films based on chitosan and methylcellulose. *Food Hydrocolloids*, 21(1), 66-72.
- [15] Irissin-Mangata, J., Bauduin, G., Boutevin, B., & Gontard, N. (2001). New plasticizers for wheat gluten films. *European polymer journal*, 37(8), 1533-1541.
- [16] Romano, N., Tavera-Quiroz, M. J., Bertola, N., Mobili, P., Pinotti, A., & Gómez-Zavaglia, A. (2014). Edible methylcellulose-based films containing fructo-oligosaccharides as vehicles for lactic acid bacteria. *Food Research International*, 64, 560-566.
- [17] Latou, E., Mexis, S. F., Badeka, A. V., Kontakos, S., & 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(1), 263-268.

- [18] Ben-Gigirey, B., De Sousa, J. M. V. B., Villa, T. G., & Barros-Velazquez, J. (1998). Changes in biogenic amines and microbiological analysis in albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. *Journal of Food Protection*, 61(5), 608-615.
- [19] Petrou, S., Tsiraki, M., Giatrakou, V., & Savvaidis, I. N. (2012). Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat. *International journal of food microbiology*, 156(3), 264-271.
- [20] AOAC. (2002). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th edn. MD, Gaithersburg, USA Association of Official Analytical Chemistry.
- [21] Namulema, A., Muyonga, J. H., & Kaaya, A. N. (1999). Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at- 13 and- 27 C. *Food research international*, 32(2), 151-156.
- [22] Goulas, A. E., & Kontominas, M. G. (2005). Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food chemistry*, 93(3), 511-520.
- [23] AOAC. 2005. Official Methods Of Analysis of AOAC International. 18th edn. MD, Gaithersburg, USA Association of Official Analytical Chemistry.
- [24] Babji, Y., & Murthy, T. R. K. (2000). Effect of inoculation of mesophilic lactic acid bacteria on microbial and sensory changes of minced goat meat during storage under vacuum and subsequent aerobic storage. *Meat science*, 54(2), 197-202.
- [25] Kanmani, P., & Lim, S. T. (2013). Development and characterization of novel probiotic-residing pullulan/starch edible films. *Food chemistry*, 141(2), 1041-1049.
- [26] Gómez-Estaca, J. (2010). A.; López-Caballero, ME; Gómez-Guillén, MC; Montero, P. Biodegradable gelatin chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27(7), 889-896.
- [27] Hosseini, M. H., Razavi, S. H., & 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), 727-743.
- [28] Chang, C. C., Trinh, B. M., & Mekonnen, T. H. (2021). Robust multiphase and multilayer starch/polymer (TPS/PBAT) film with simultaneous oxygen/moisture barrier properties. *Journal of Colloid and Interface Science*, 593, 290-303.
- [29] Souza, B. W., Cerqueira, M. A., Teixeira, J. A., & Vicente, A. A. (2010). The use of electric fields for edible coatings and films development and production: A review. *Food Engineering Reviews*, 2, 244-255.
- [30] Sánchez-González, L., Saavedra, J. I. Q., & Chiralt, A. (2013). Physical properties and antilisterial activity of bioactive edible films containing *Lactobacillus plantarum*. *Food Hydrocolloids*, 33(1), 92-98.
- [31] Pruneda, E., Peralta-Hernández, J. M., Esquivel, K., Lee, S. Y., Godínez, L. A., & Mendoza, S. (2008). Water vapor permeability, mechanical properties and antioxidant effect of mexican oregano-soy based edible films. *Journal of food science*, 73(6), C488-C493.
- [32] Concha-Meyer, A., Schöbitz, R., Brito, C., & Fuentes, R. (2011). Lactic acid bacteria in an alginate film inhibit *Listeria monocytogenes* growth on smoked salmon. *Food Control*, 22(3-4), 485-489.
- [33] Frinault, A., Gallant, D. J., Bouchet, B., & Dumont, J. P. (1997). Preparation of casein films by a modified wet spinning process. *Journal of Food Science*, 62(4), 744-747.
- [34] Randazzo, W., Jiménez-Belenguer, A., Settanni, L., Perdonés, A., Moschetti, M., Palazzolo, E., ... & Moschetti, G. (2016). Antilisterial effect of citrus essential oils and their performance in edible film formulations. *Food Control*, 59, 750-758.
- [35] Gialamas, H., Zinoviadou, K. G., Biliaderis, C. G., & Koutsoumanis, K. P. (2010). Development of a novel bioactive packaging based on the incorporation of *Lactobacillus sakei* into sodium-caseinate films for controlling *Listeria monocytogenes* in foods. *Food Research International*, 43(10), 2402-2408.
- [36] ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). (1986). *Microorganisms in foods*. 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and scientific applications. 2nd Edition. Toronto: University of Toronto Press.
- [37] Jeddi, S., Yeganeh, S., Jafarpour, S.A., & Naseri, M. (2019) Effect of Chitosan Coating incorporated with Marjoram Essential oil (*Origanum vulgare* L.) on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Shelf life During Refrigerated Storage. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 11(39), 21-36.
- [38] Ranjbaryan, S., Rezazadeh, B. M., Almasi, H., & Amiri, S. (2018). Effect of sodium caseinate based nanocomposite active films and coatings containing cinnamon essential oil on the quality improving and shelf life extension of chicken fillets.
- [39] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Rahmati-Joneidabad, M., Hemmati Kaykha, M. E., & Ghodsi Sheikhjan, M. (2021). Utilization of *Plantago major* seed mucilage containing Citrus limon essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions. *Food Science & Nutrition*, 9(3), 1625-1639.

- [40] Heydari, S., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2020). The impact of Qodume Shirazi seed mucilage-based edible coating containing lavender essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh ostrich meat: An experimental and modeling study. *Food Science & Nutrition*, 8(12), 6497-6512.
- [41] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A., & Tabatabaee Yazdi, F. (2021). Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a *Lepidium perfoliatum* seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil. *Food science & nutrition*, 9(5), 2458-2467.
- [42] Giménez, B., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2002). Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(10), 1154-1159.
- [43] Fernández-Pan, I., Carrión-Granda, X., & Maté, J. I. (2014). Antimicrobial efficiency of edible coatings on the preservation of chicken breast fillets. *Food Control*, 36(1), 69-75.
- [44] Farahmandfar, R., & Ramezanizadeh, M. H. (2018). Oxidative stability of canola oil by *Biarum bovei* bioactive components during storage at ambient temperature. *Food science & nutrition*, 6(2), 342-347.
- [45] 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. *Innovative food science & emerging technologies*, 29, 280-287.
- [46] Atarés, L., Bonilla, J., & Chiralt, A. (2010). Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*, 100(4), 678-687.
- [47] Caprioli, I., O'Sullivan, M., & Monahan, F. J. (2009). Use of sodium caseinate/glycerol edible films to reduce lipid oxidation in sliced turkey meat. *European Food Research and Technology*, 228, 433-440.
- [48] Özyurt, G., Kuley, E., Özkütük, S., & Özogul, F. (2009). Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food chemistry*, 114(2), 505-510.
- [49] Connell, J. J. (1990). Methods of assessing and selecting for quality. *Control of fish quality*, 2, 122-150.
- [50] Muratore, G., & Licciardello, F. (2005). Effect of vacuum and modified atmosphere packaging on the shelf-life of liquid-smoked swordfish (*Xiphias gladius*) slices. *Journal of Food Science*, 70(5), C359-C363.
- [51] Zolfaghari, M., Shabanpour, B., & Fallahzadeh, S. (2010). Comparison the effect of thyme, onion and ziziphora clinopodiodes extracts on shelf-life of rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 6(2).
- [52] Baixas-Nogueras, S., Bover-Cid, S., Veciana-Nogués, T., & Vidal-Carou, M. C. (2002). Chemical and sensory changes in Mediterranean hake (*Merluccius merluccius*) under refrigeration (6– 8 C) and stored in ice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), 6504-6510.
- [53] Chouliara, I., Samelis, J., Kakouri, A., Badeka, A., Savvaidis, I. N., Riganakos, K., & Kontominas, M. G. (2006). Effect of irradiation of frozen meat/fat trimmings on microbiological and physicochemical quality attributes of dry fermented sausages. *Meat science*, 74(2), 303-311.
- [54] Song, Y., Liu, L., Shen, H., You, J., & Luo, Y. (2011). Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food control*, 22(3-4), 608-615.
- [55] Opara, L. U., & Al-Jufiaili, S. M. (2006). Status of fisheries post harvest industry in the Sultanate of Oman: Part 2 Quantification of fresh fish losses. *Journal of fisheries International*, 1(2-4), 150-156.
- [56] Bhadra, S., Dora, K. C., Sarkar, S., Chowdhury, S., & Ganguly, S. (2012). Effect of chitosan coating on shelf life of black tiger shrimp (*Penaeus monodons*). *Exploratory Animal and Medical Research*, 2(2), 155-165.



Scientific Research

The effect of antibacterial edible film based on sodium caseinate-nanocrystal cellulose containing cells and supernatant of *Lactobacillus reuteri* on quality of kebab

Pouran Ghaderi^{1*}, Mohammad Ali Najafi², Naser Soltani Tehrani³

1- MSc, Department of Food Science and Technology, University of Zabol, Iran

2- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, University of Zabol, Iran

3- Instructor, Department of Food Science and Technology, University of Zabol, Iran

ABSTRACT

Edible films due to the environmental compatibility can be a good alternative to packaging made from oil materials. Today, consumers' concerns about the toxicity of artificial preservatives in the food industry have led to the search for natural antioxidants and antimicrobials sources. Ready-to-eat foods such as kebabs are known as the most susceptible foods for the growth of microbes and cause food poisoning. The purpose of this study was to investigate the effect of an antimicrobial film of caseinates-cellulose nanocrystal containing supernatant and *Lactobacillus reuteri* (PTCC 1655) on microbial and chemical properties of kebab. Therefore, a sodium caseinate-cellulose nanocrystal was prepared by adding 10^6 CFU/cm² *Lactobacillus reuteri* PTCC 1655 and germ-free supernatant, and mechanical properties evaluation tests, water vapor permeability, solubility and moisture were evaluated on the prepared films. The films were wrapped on kebab and each and every four days were monitored by microbial tests (total viable count, psychrophile bacteria and mold and yeast), chemical (pH, acidity, thiobarbituric acid and total volatile nitrogen, peroxide index). Among the treatments, the sodium caseinate - nanocellulose film containing *Lactobacillus reuteri* was the most effective treatment in increasing the shelf life of the kebab. As a result, it is suggested to use sodium caseinate-nanocellulose film containing *Lactobacillus reuteri* to increase the kebab shelflife.

ARTICLE INFO

Article History:

Received
Accepted

Keywords:

Edible film
Antimicrobial
Kebab,
Nanocrystal cellulose,
Lactobacillus reuteri

DOI: 10.22034/FSC.T.20.142.219
DOR:

*Corresponding Author E-Mail:
p.ghaderi700@gmail.com