

# بررسی خواص ضد میکروبی فیلم خوراکی کازئینات سدیم حاوی عصاره پوست انار بر روی گوشت چرخ کرده

آرزو کرمی مقدم<sup>۱</sup>، زهرا امام جمعه<sup>۲\*</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۳)

## چکیده

در این مطالعه فعالیت ضد میکروبی فیلم کازئینات سدیم حاوی MIC × ۰، ۱، ۱/۵ و ۲ عصاره پوست انار بر روی گوشت چرخ کرده طی یخچال گذاری مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی اثر ضد میکروبی عصاره بر روی *Staphylococcus aureus*، لاکتیک اسید باکتری ها و جمعیت کل میکروارگانیسم های زنده مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج این تحقیق می توان گفت که حضور پروتئین کازئینات سدیم به تنهایی هیچ تاثیری بر رشد هیچ یک از گونه های مورد مطالعه در این تحقیق نداشت و جمعیت کل میکروبی در پایان مطالعه تقریباً تا  $\log CFU/g$  ۳/۵ برای هر سه نمونه ی شاهد و ضد میکروبی رسید. همچنین با اینکه حساسیت باکتری های گرم مثبت نسبت به مواد ضد میکروبی بسیار زیاد است اما اسید لاکتیک باکتری ها در مقابل ترکیبات پلی فنلی عصاره پوست انار مقاومت بسیار بالایی را از خود نشان می دهند.

**کلید واژگان:** کازئینات، فیلم خوراکی، عصاره پوست انار، فعالیت ضد میکروبی، گوشت چرخ کرده

\* مسئول مکاتبات: emamj@ut.ac.ir

## ۱- مقدمه

دفن زباله‌های ناشی از مواد بسته بندی پلاستیکی در جهان از چالش‌های مسئله ساز می‌باشد که می‌توان با استفاده از روش‌های مناسب کاهش یابند. از روش‌های مورد استفاده در این امر استفاده از بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر می‌باشد که برای محیط اطراف (طبیعت) مضر نیستند [۲۱]. زیست تخریب پذیر بودن فیلم‌های خوراکی و نقش موثری که در کاهش آلودگی‌های زیست محیطی دارند سبب شده که اخیراً بسیاری از محققین به مطالعه ویژگی‌های فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی به عنوان مواد بسته بندی جدید و جایگزین مناسب بسیاری از بسته بندی‌های پلاستیکی و فیلم‌های پلیمری سنتزی روی آورند [۳، ۴].

رشد میکروبی بر روی سطح مواد غذایی از عوامل عمده فساد و کاهش کیفیت می‌باشد. امروزه پیشرفت‌های زیادی در مواد پلیمری مورد استفاده در بسته بندی مواد غذایی روی داده است. برخی از این فیلم‌ها حاوی مواد ضد میکروبی بوده و به محض تماس با سطح ماده غذایی از رشد میکروبی جلوگیری می‌کنند، بنابراین عمر نگهداری مواد غذای را افزایش می‌دهند. در بین مواد مختلف، بیوپلیمرها (پلیمرهای زیستی) از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشند. فیلم‌های خوراکی لایه نازکی از بیوپلیمرها هستند که برای بهبود و نگهداری بهتر مواد غذایی بر روی سطح ماده غذایی کشیده می‌شوند و یا بین اجزای ماده غذایی قرار داده می‌شوند. فیلم‌های خوراکی همچنین ممکن است به عنوان لایه‌ای از بسته بندی چند لایه مورد استفاده قرار گیرند. انتقال رطوبت، نفوذ اکسیژن، از دست دادن یا جذب آروما یا روغن نمونه‌هایی از مشکلاتی است که ماده غذایی می‌تواند در حین بسته بندی و نگهداری با آن‌ها مواجه شود. با استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی تا حدی می‌توان این مشکلات را بهبود بخشید و موجب بهبود پایداری، بافت، طعم و آرومای مواد غذایی گردید [۵، ۶].

بیوپلی‌مرهای مورد استفاده در بسته‌بندی را می‌توان بر اساس ساختار شیمیایی به چهار دسته پروتئین‌ها، پلی ساکاریدها، لیپیدها و پلی استرها تقسیم کرد. این مواد می‌توانند به تنهایی یا در ترکیب با هم بکار روند [۷].

پروتئین‌های که در ساخت فیلم‌های خوراکی در بسته بندی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند عبارتند از: پروتئین غلات، گلوتن گندم، پروتئین سویا، پروتئین آب پنیر، کازئین شیر، کلاژن و ژلاتین [۸-۱۲].

پروتئین اصلی شیرکازئین می‌باشد. تقریباً ۸۰٪ مجموع پروتئین‌های شیر را کازئین تشکیل می‌دهد. چهار ترکیب اصلی کازئین  $K, \beta, \alpha s 2, \alpha s 1$  کازئین و یک ترکیب فرعی  $\gamma$  کازئین شناخته شده‌اند [۱۳]. از فیلم‌های خوراکی و پوشش‌های تهیه شده از پروتئین‌های شیر خصوصیات کارکردی و کاربردهای بالقوه‌ای شناخته شده است [۱۳].

فیلم‌های کازئینی کاملاً در آب محلول می‌باشند درحالی که آنها دارای محتوای اسیدآمینه غیرقطبی بالایی (۳۵-۴۵٪ از کل اسیدآمینه) بوده و در دمای بالای ۲۰ درجه سانتی گراد می‌توانند تهیه شوند. وجود ساختار و ترتیب و ترکیب اسید آمینه‌های کازئینی احتمال ایجاد پیوند هیدروژنی و باندهای الکتروستاتیک و نیروهای آبریز در شکل گیری فیلم‌های خوراکی تهیه شده از کازئین موثر می‌باشند [۱۴]. فیلم‌های کازئینی واضح و شفاف هستند با خواص ممانعت کنندگی اکسیژن بسیار بالا اما نفوذپذیری به بخار آب آن‌ها زیاد می‌باشد [۱۵].

هر ماده ضد میکروبی که جهت ترکیب با پلی‌مرهای در نظر گرفته می‌شود باید بر پایه طیف فعالیت، طرز فعالیت، ترکیب شیمیایی، سرعت رشد و حالت فیزیولوژیکی میکروارگانیسم هدف انتخاب شود. ماده ضد میکروبی که به پلیمر متصل می‌شود بایستی بتواند به صورت فعال باقی بماند این فعالیت به شیوه‌ی عمل آن بستگی دارد [۱۶].

تاکنون هیچ تحقیقی درباره اثر ضد میکروبی عصاره پوست انار بر روی فیلم حاصل از سدیم کازئینات گزارش نشده است بنابراین هدف از انجام این تحقیق، بررسی تاثیر عصاره پوست انار به عنوان بخش ضد میکروبی فیلم کازئینات سدیم بر روی گوشت چرخ کرده مورد بررسی قرار گرفته است. این نتایج برای ارزیابی کاربردهای ممکن فیلم ضد میکروبی کازئینات حاوی عصاره پوست انار به عنوان ماده بسته بندی فیلم تولیدی در آینده حائز اهمیت می‌باشد.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- مواد

پودر کازئینات سدیم (مرک-آلمان) با درجه غذایی خریداری شد. ترکیب کازئینات ۸۳/۴ درصد پروتئین، ۱/۶ درصد چربی و ۱/۹ درصد خاکستر بود. گلیسرول از شرکت Acros (انگلستان) به عنوان نرم کننده برای بهبود خواص مکانیکی فیلم کازئینات سدیم مورد استفاده قرار گرفت. همچنین امولسیفایر توئین ۸۰، متانول و استون از شرکت مرک (آلمان) تهیه گردید.

### ۲-۲- تهیه عصاره پوست انار

میوه ها ابتدا شسته و تمیز شدند و سپس بوسیله چاقوی دستی پوست آن ها جدا گردید. پوست ها بوسیله آون در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به طور کامل خشک گردیدند و با الک مش ۴۰ یکنواخت گردیدند. پودر بدست آمده تا زمان استفاده در ظرف های دربسته و در تاریکی در دمای فریزر (۱۴ درجه سانتی گراد) نگهداری می شدند.

به منظور استخراج عصاره پوست انار از روش های پرتیان و همکاران (۲۰۱۲) [۱۷] استفاده گردید. پودر انار را توزین کرده و درون ظرف های درب دار شیشه ای مات ریخته و به نسبت ۱:۱۰ با حلال اولیه مخلوط شده و به مدت ۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد روی شیکر مغناطیسی قرار گرفت. سپس عصاره را از تفاله توسط کاغذ صافی جدا کرده و تفاله را مجدداً با حلال دوم تحت شرایط مشابه روی شیکر مغناطیسی قرار می دهیم. هر دو عصاره بدست آمده را با یکدیگر مخلوط کرده و توسط آون تحت خلا با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد نمونه را تغلیظ می کنیم تا یک عصاره نسبتاً غلیظ به عنوان عصاره نهایی بدست آید.

حلال اولیه مورد استفاده برای استخراج عصاره پوست انار شامل متانول/آب به نسبت ۲۰/۸۰ (حجمی/حجمی) حلال دوم مورد استفاده شامل متانول/استون/آب به نسبت ۲۰/۴۰/۴۰ (حجمی/حجمی) می باشد.

البته باید توجه کرد که اتانول و استون هر دو از حلال های آلی می باشند که می توانند جایگزین یکدیگر شوند.

### ۲-۳- آماده سازی محلول فیلم ها

جهت تهیه فیلم از روش برومند و همکاران در سال ۲۰۱۱ [۹] استفاده گردید. سپس بعد از سرد شدن محلول فیلم و قبل از

قالب ریزی، عصاره مورد نظر نیز به میزان  $MIC^1 \times 0.1$ ، ۱، ۱/۵ و ۲ (MIC = ۱۲۵ ppm) به فرمولاسیون اضافه گردید. به دلیل ماهیت هیدروفوبیک ترکیبات ضد میکروبی عصاره پوست انار به میزان ۳۰ درصد مقدار عصاره پوست انار از امولسیفایر توئین ۸۰ جهت تولید امولسیون مناسب استفاده گردید. میزان استفاده از عصاره پوست انار از طریق آزمون اندازه گیری خاصیت ضد میکروبی برآورد گردید. در ادامه محلول فیلم را در قالب های تفلونی ریخته و در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۳/۵ ساعت خشک شد.

### ۲-۴- آماده سازی نمونه گوشت

به منظور تهیه گوشت مورد استفاده در آزمون ابتدا بخش های پیوندی متصل به گوشت جدا شده و گوشت بوسیله یک چاقوی تیز به قطعات ۵×۵ سانتی متر بریده شد. سپس نمونه ها دوبار بوسیله چرخ گوشت برقی (با قطر سوراخ ۴ میلی متر) خرد شده تا کاملاً یکنواخت گردند.

### ۲-۵- بررسی قدرت ضد میکروبی فیلم کازئینات

#### سدیم

در ابتدا نمونه های گوشت به چهار قسمت تقسیم گردیدند تا برای تولید و مقایسه چهار نوع بسته بندی استفاده می شوند:

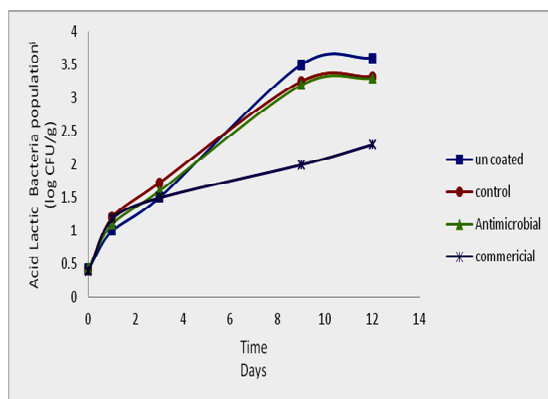
- ۱) نمونه کنترل (فاقد روکش)
  - ۲) نمونه شاهد (فیلم شاهد کازئینات سدیم به عنوان روکش)
  - ۳) نمونه ضد میکروبی (فیلم ضد میکروبی کازئینات سدیم به عنوان روکش)
  - ۴) نمونه تجاری (پلیمر سنتزی سلفون به عنوان روکش)
- برای تولید این بسته بندی ها ۵۰ گرم از نمونه گوشت چرخ کرده را به هر کدام از پتری دیش های پلاستیکی استریل (قطر ۹ میلی متر) منتقل می کنیم. فیلم های مورد نظر را بر روی پتری دیش ها کشیده (شکل ۳-۴ تا ۳-۶) (به جز نمونه کنترل) تا یک بسته بندی فرضی ایجاد شود و در داخل یخچال تحت دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۲ روز قرار می دهیم. از آنجایی که بعد از استفاده از هر بسته بندی حاوی گوشت شرایط میکروبی طی نمونه برداری و جابه جایی از بین می رود، از همان ابتدا از هر بسته بندی ۵ تکرار (برای هر روز آزمون) تولید می کنیم و در روزهای اول، سوم، نهم و دوازدهم

1. Minimum inhibitory concentration

میکروبی کاملاً مطلوب نام برد و جایگزین خوبی برای پوشش های با ماهیت سنتزی مانند سلوفان نمی باشد.

انواع متعددی از بسته بندی های مواد غذایی را به همراه روش های مختلف ذخیره سازی برای افزایش ماندگاری گوشت می توان مورد استفاده قرار داد. یکی از اقدامات کلیدی در طول نگهداری، حفظ گوشت از فساد میکروبی و تکثیر میکروارگانیسم های بیماری زا می باشد. بسته بندی فعال یکی از راهکارهای نوآورانه برای پاسخ به خواسته های مصرف کنندگان در راستای ایمنی، ماندگاری و کیفیت بالای مواد غذایی می باشد [۱۸].

تغییرات رشد باکتری های اسید لاکتیک در نمونه های بسته بندی شده در شکل ۱ آورده شده است. همان طور که از مشاهدات نتیجه می شود هیچ تفاوت قابل مشاهده ای بین رشد باکتریایی بر روی نمونه های گوشت کنترل و آنهایی که با فیلم های شاهد و ضد میکروبی کازئینات سدیم پوشیده شده بودند مشاهده نشد. این نشان می دهد که حضور پروتئین کازئینات سدیم به تنهایی هیچ تاثیری بر رشد هیچ یک از گونه های مورد مطالعه در این تحقیق نداشت و جمعیت کل میکروبی در پایان مطالعه تقریباً تا  $3/3-3/6 \log \text{CFU/g}$  برای هر سه نمونه ی کنترل، شاهد و ضد میکروبی رسید. به دلیل رطوبت بالای سطح گوشت، فیلم ها به مقدار زیادی هیدراته شده و احتمالاً ویژگی های سد کنندگی در برابر اکسیژن زیادی از خود نشان نمی دهند و به همین دلیل تفاوتی در پروفایل میکروبی نمونه های حاوی فیلم های فاقد از ماده ی ضد میکروبی (شاهد) مشاهده نشد [۱۹].



**Fig1** Growth changes of Acid Lactic population

همچنین میتوان نتیجه گرفت با اینکه حساسیت باکتری های گرم مثبت نسبت به مواد ضد میکروبی بسیار زیاد است اما

یخچال گذاری و همچنین یکبار در روز تولید بسته بندی ها (روز صفرم) یکی از آن ها را به منظور انجام آزمون های میکروبی استفاده می کنیم.

## ۶-۲- آنالیزهای آماری

اختلاف بین تیمارهای مختلف، با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) در سطح احتمال ۰.۰۵ تعیین شد. مقایسه میانگین داده ها براساس آزمون دانکن با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ و EXCEL نسخه (2013Chicago, USA) انجام گرفت.

## ۳- نتایج و بحث

همانطور که در بخش مواد و روش ها بیان شد به منظور بررسی قابلیت فیلم شاهد و ضد میکروبی کازئینات سدیم برای استفاده به عنوان یک پوشش جایگزین برای بسته بندی های سنتزی، نمونه گوشت را بوسیله چهار نوع بسته بندی به شرح زیر در شرایط یخچالی نگهداری نمودیم:

(۱) نمونه کنترل (فاقد روکش)

(۲) نمونه شاهد (فیلم شاهد کازئینات سدیم به عنوان روکش)

(۳) نمونه ضد میکروبی (فیلم ضد میکروبی کازئینات سدیم به عنوان روکش)

(۱) نمونه تجاری (پلیمر سنتزی سلوفان به عنوان روکش)

به منظور بررسی رشد میکروارگانیسم ها بر روی نمونه گوشت، تغییرات رشد *Staphylococcus aureus* و لاکتیک اسید باکتری ها به همراه جمعیت میکروبی کل میکروارگانیسم های موجود در گوشت مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در شکل های ۱ تا ۳ نمایش داده شده است.

با توجه به شکل های حاصل از آنالیز میکروبی نمونه های گوشت می توان نتیجه گرفت فیلم کازئینات سدیم با اینکه استحکام مکانیکی و قابلیت های فیزیکی بسیار خوبی دارد، به عنوان یک پوشش برای مواد غذایی حساس به میکروارگانیسم های عامل فساد و بیماری کاربرد زیادی نخواهد داشت. اما با افزودن عصاره پوست انار به فیلم کازئینات سدیم به عنوان یک ماده ضد میکروبی، قابلیت میکروب کشی و نگهداری و حفظ مواد غذایی آن بهبود می یابد اما با توجه به ماهیت میکروارگانیسم ها نمی توان از آن به عنوان یک فیلم ضد

بودند به طور عمده حاصل رشد و فعالیت متابولیکی سودوموناس ها می باشد [۲۱]. ارکالینی و همکاران در سال ۲۰۰۶ [۲۲] گزارش کردند که باکتری های مزوفیل با گذشت ۱۴ روز پس از نگهداری تحت شرایط انجمادی تقریباً  $\log$  vCFU/gr رشد کردند که تا روز ۷ ام فلور باکتریایی غالب سودوموناس ها بودند در حالی که بیشتر باکتری های اسید لاکتیک تا سطوح بالاتری نیز رشد کردند. اما رشد *Staphylococcus aureus* بر روی نمونه های گوشت بسته بندی شده با فیلم ضد میکروبی حاوی عصاره انار به نحو چشمگیری کاهش پیدا کرده است و اثری مشابه سلوفان به عنوان یک پوشش تجاری از خود نشان داد که با توجه به نتایج حاصل از آزمون دیسک های انتشاری قابل انتظار بود. در شکل ۳ روند تغییرات کل میکروارگانیسم های زنده را در بسته بندی های مختلف مشاهده می کنیم.

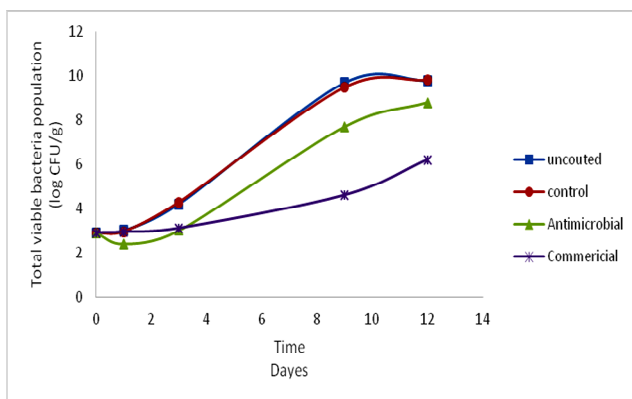


Fig 3 Growth changes of total viable bacteria populations.

با توجه به تغییرات رشد *Staphylococcus aureus* و اسید لاکتیک باکتری ها تفاوت قابل مشاهده ای بین رشد باکتریایی بر روی نمونه های گوشت کنترل و آن هایی که با فیلم های شاهد کازئینات سدیم پوشیده شده بودند مشاهده نشد که قابل انتظار بود. نمونه گوشت بسته بندی شده با پوشش ضد میکروبی منجر به کاهش رشد کلی باکتری ها گردیده است اما نتوانسته است یک اثر همانند یک بسته بندی تجاری همانند سلوفان را از خود بر جای بگذارد. این کمتر بودن تاثیر گذاری می تواند به دو دلیل باشد: همانطور که اشاره شد فلور میکروبی غالب گوشت بسته بندی شده در شرایط هوایی سودوموناس ها می باشد. فعالیت ضد میکروبی پایین تر در مقابل سودوموناس ها می تواند به این حقیقت نسبت داده شود که باکتری های گرم منفی به طور معمول بخاطر

اسید لاکتیک باکتری ها در مقابل ترکیبات پلی فنلی عصاره پوست انار مقاومت بسیار خوبی را از خود نشان می دهند. با توجه به این امر احتمالاً عصاره پوست انار به عنوان یک ماده ضد میکروبی در مواد غذایی که زنده مانده اسید لاکتیک باکتری ها در آن ها اهمیت دارد استفاده نمود. با توجه به ماهیت میکروآئروفیل اسید لاکتیک باکتری ها و نفوذ پذیری پایین سلوفان به اکسیژن، این پوشش موجب افزایش رشد اسید لاکتیک باکتری ها می گردد و نمی تواند بازدارندگی کاملی را در مقابل اسید لاکتیک باکتری ها از خود نشان دهد. تغییرات رشد باکتری های *Staphylococcus aureus* در نمونه های بسته بندی شده در شکل ۲ آورده شده است.

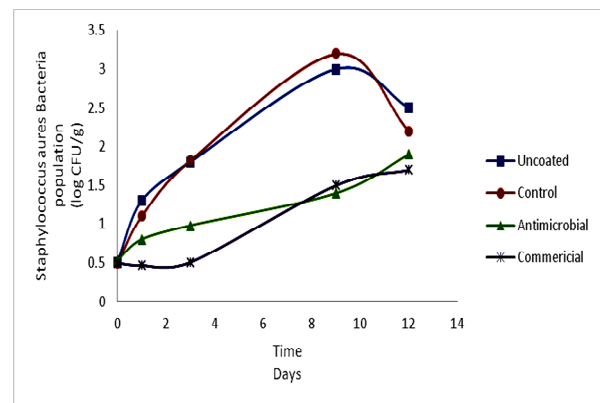


Fig 2. Growth changes of *Staphylococcus aureus* populations.

همان طور که از مشاهدات نتیجه می شود هیچ تفاوت قابل مشاهده ای بین رشد باکتریایی بر روی نمونه های گوشت کنترل و آن هایی که با فیلم های شاهد کازئینات سدیم پوشیده شده بودند مشاهده نشد. البته بعد از گذشت ۹ روز از بسته بندی میزان *Staphylococcus aureus* در نمونه های کنترل و شاهد روند کاهش را از خود نشان دادند که احتمالاً ناشی از تولید ترکیبات مهارکننده رشد بوسیله خود میکروارگانیسم می باشد. کاراگز و همکاران در سال ۲۰۱۰ [۲۰] روند مشابهی را برای رشد *Staphylococcus aureus* بر روی نمونه گوشت مشاهده کردند که بعد از ۷ روز تعداد استافیلوکوکس ها کاهش می یابد. البته بر خلاف انتظار کاراگز و همکاران (۲۰۱۰) آویشن و پونه کوهی تاثیری بر روی رشد *Staphylococcus aureus* نداشتند. همچنین با گذشت زمان، سودوموناس ها بر استافیلوکوکوس غالب شدند که این نتایج غیر قابل انتظار نبودند زیرا فساد گوشت های تازه ای که تحت شرایط هوایی نگهداری شده

در این تحقیق نداشت و جمعیت کل میکروبی در پایان مطالعه تقریباً تا  $3 \times 10^5$  CFU/g برای هر دو نمونه‌ی شاهد و ضد میکروبی رسید.

## ۵- منابع

- [1] Bohlmann, G.M., General characteristics, processability, industrial applications and market evolution of biodegradable polymers. Handbook of Biodegradable Polymers, Rapra Technology Ltd, Shawbury, UK, 2005: p. 183-212.
- [2] Tian, H., et al., Biodegradable synthetic polymers: Preparation, functionalization and biomedical application. Progress in Polymer Science, 2012. 37(2): p. 237-280.
- [3] Lee, K.Y., J. Shim, and H.G. Lee, Mechanical properties of gellan and gelatin composite films. Carbohydrate Polymers, 2004. 56(2): p. 251-254.
- [4] Dainelli, D., et al., Active and intelligent food packaging: legal aspects and safety concerns. Trends in Food Science & Technology, 2008. 19: p. S103-S112.
- [5] Krotchta, J.M. and M.O. Nisperos-Carriedo, Edible coatings and films to improve food quality. 1994: CRC Press.
- [6] Debeaufort, F., J.-A. Quezada-Gallo, and A. Voilley, Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. Critical Reviews in Food Science, 1998. 38(4): p. 299-313.
- [7] Bourtoom, T., Edible films and coatings: characteristics and properties. International Food Research Journal, 2008. 15(3): p. 237-248.
- [8] Gennadios, A., M.A. Hanna, and L.B. Kurth, Application of edible coatings on meats, poultry and seafoods: a review. LWT-Food Science and Technology, 1997. 30(4): p. 337-350.
- [9] Broumand, A., et al., Antimicrobial, water vapour permeability, mechanical and thermal properties of casein based Zataria multiflora Boiss. Extract containing film. LWT-Food Science and Technology, 2011. 44(10): p. 2316-2323.
- [10] Cuq, B., et al., Selected functional properties of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997. 45(3): p. 622-626.

لیوپلی ساکاریدی که پپتیدوگلیکان را احاطه کرده است، مقاوم تر هستند. البته زینوویادو و همکاران در سال ۲۰۰۹ [۱۹] اثر ضد میکروبی فیلم پروتئین آب پنیر به همراه عصاره ضد میکروبی پونه کوهی را بر روی سودوموناس بررسی کردند و به نتایج مثبتی دست یافتند. آن‌ها اشاره کردند که ترکیبات آب گریز عصاره پونه کوهی توانایی دسترسی به لایه ی پری پلاسمایی باکتری های گرم منفی از طریق پروتئین های غشای خارجی را دارند که افزایش نفوذ پذیری غشا، محرک انتشار محتویات سلولی به خارج سلول و کاهش تولید ATP در سلول ها و کاهش pH درون سلولی می باشد و منجر به کاهش رشد باکتری های گرم منفی می گردد. همچنین ترکیبات غذایی می توانند بر مکانیسم مهاجرت عوامل ضد میکروبی به درون ساختار غذایی را باعث شوند. ترکیبات فعال عصاره پوست انار عمدتاً آبگریز هستند و انتشار آن‌ها به درون محصول می تواند تحت تاثیر حضور چربی قرار گیرد. اوسالا و همکاران در سال ۲۰۰۷ به تاثیر همبستگی میان عوامل ضد میکروبی و ماتریس محصولات پرداختند و دریافتند که این همبستگی بر روی اثرگذاری مواد ضد میکروبی تاثیر گذار است [۲۳].

## ۴- نتیجه گیری

با توجه به نتایج این تحقیق می توان گفت با اینکه حساسیت باکتری های گرم مثبت نسبت به مواد ضد میکروبی بسیار زیاد است اما اسید لاکتیک باکتری ها در مقابل ترکیبات پلی فنلی عصاره پوست انار مقاومت بسیار بالایی را از خود نشان می دهند. علت این پدیده به دیواره سلولی این دو گروه از باکتری ها مربوط می شود. باکتری های گرم منفی به دلیل داشتن غشا خارجی در اطراف دیواره سلولی حساسیت کمتری را به ترکیبات ضد میکروبی نشان می دهند. غشا خارجی نفوذ ترکیبات هیدروفوب را از پوشش لیوپلی ساکاریدی محدود می کند. ترکیب اصلی دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت پپتید و گلیکان به همراه مقدار کمی پروتئین است، اما دیواره سلولی باکتری های گرم منفی با وجود ضخامت کمتر، پیچیدگی بیشتری داشته و علاوه بر پپتید و گلیکان حاوی ترکیبات دیگری مانند پلی ساکارید های مختلف، پروتئین ها و لیپید ها می باشد. همچنین حضور پروتئین کازئینات سدیم به تنهایی هیچ تاثیری بر رشد هیچ یک از گونه های مورد مطالعه

- [18] Ercolini, D., et al., Development of spoilage microbiota in beef stored in nisin activated packaging. *Food microbiology*, 2010. 27(1): p. 137-143.
- [19] Zinoviadou, K. G., K. P. Koutsoumanis, and C. G. Biliaderis, Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat Science*, 2009. 82(3): p. 338-345.
- [20] Emiroğlu, Z.K., et al., Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat science*, 2010. 86(2): p. 283-288.
- [21] Koutsoumanis, K.P., et al., Effect of single or sequential hot water and lactic acid decontamination treatments on the survival and growth of *Listeria monocytogenes* and spoilage microflora during aerobic storage of fresh beef at 4, 10, and 25C. *Journal of Food Protection®*, 2004. 67(12): p. 2703-2711.
- [22] Ercolini, D., et al., Changes in the spoilage-related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006. 72(7): p. 4663-4671.
- [23] Oussalah, M., et al., Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004. 52(18): p. 5598-5605.
- [11] Seydim, A. and G. Sarikus, Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food research international*, 2006. 39(5): p. 639-644.
- [12] Chen, H., Functional properties and applications of edible films made of milk proteins. *Journal of dairy science*, 1995. 78(11): p. 2563-2583.
- [13] Kristo, E. and C.G. Biliaderis, Water sorption and thermo-mechanical properties of water/sorbitol-plasticized composite biopolymer films: Caseinate-pullulan bilayers and blends. *Food hydrocolloids*, 2006. 20(7): p. 1057-1071.
- [14] Avena-Bustillos, R. and J. Krochta, Water Vapor Permeability of Caseinate - Based Edible Films as Affected by pH, Calcium Crosslinking and Lipid Content. *Journal of food science*, 1993. 58(4): p. 904-907.
- [15] Chick, J. and Z. Ustunol, Mechanical and Barrier Properties of Lactic Acid and Rennet Precipitated Casein-Based Edible Films. *Journal of Food Science*, 1998. 63(6): p. 1024-1027.
- [16] Appendini, P. and J.H. Hotchkiss, Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2002. 3(2): p. 113-126.
- [17] Hayrapetyan, H., W.C. Hazeleger, and R.R. Beumer, Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*Punica granatum*) peel extract in meat paté at different temperatures. *Food Control*, 2012. 23(1): p. 66-72.

## Antimicrobial activity of caseinate – based edible film incorporated with pomegranate peel extract on minced meat

Karami moghadam, A. <sup>1</sup>, Emam-Djomeh, Z. <sup>2</sup> \*

1. M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Yazd. Iran.

2. Prof, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran

(Received: 93/12/24 Accepted: 94/4/3)

In this study, antibacterial activity of caseinate – based edible film incorporated with 0, 1, 1.5 and 2 ×MIC pomegranate peel extract was evaluated on veal minced meat during storage at refrigeration conditions (at 4 °C). In this study the antimicrobial effect of different films on *staphylococcus aureus*, lactic acid bacteria and total microorganisms population was studied. According to results the presence of caseinate sodium alone has no effect on the growth of any of the microbial species studied in this research and total microbial population was observed about the 3/5 log CFU / g for all control and antimicrobial samples. Although the sensitivity of gram-positive bacteria to antimicrobial agents is very high but the lactic acid bacteria show high resistance to the polyphenolic compounds in pomegranate peel extract.

**Keywords:** Caseinate; Edible film, Pomegranate peel extract, Antimicrobial activity, Minced meat

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: emamj@ut.ac.ir