مقاله پژوهشی

تأثیر بسته‌بندی با فیلم کیتوزان حاوی اسانس زیره سیاه بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی فیله مرغ

ابوالفضل کامکار[۱]، علی خنجری[۱]، محبوبه اولادی[۱]، ابراهیم مولایی آقایی[۲،۱*]

۱- گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲- گروه مهندسی بهداشت محیط، بخش بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۳/۱۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۱۱/۰۳

چکیده

زمینه و هدف: اسانس‌های گیاهی مانند اسانس زیره سیاه (*Bunium persicum L.*) با دارا بودن ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌توانند در افزایش ماندگاری مواد غذایی مؤثر باشند. با توجه به پیامدهای زیست‌محیطی بسته‌بندی‌های پلاستیکی، فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر مانند کیتوزان در ترکیب با اسانس‌های گیاهی برای کنترل عوامل میکروبی و شیمیایی مواد غذایی راهکار مناسبی می‌باشند. در این مطالعه، اثر ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس زیره سیاه در ترکیب با پوشش فیلم کیتوزان جهت بسته‌بندی گوشت مرغ هدف بررسی بود.

مواد و روش‌ها: تهیه فیلم‌های کیتوزان با درصدهای مختلف اسانس (۰، ۱ و ۲ درصد) انجام شد. با روش کستینگ و با استفاده از گلیسرول (پلاستیسایزر) و توین ۸۰ (امولسیفایر) پس از هموژن کردن و قالب‌گیری، فیلم‌ها تهیه شدند. آزمون‌های شیمیایی و میکروبی در روزهای ۰، ۲، ۴، ۷ و ۱۰ بر روی فیله‌های مرغ بدون فیلم (شاهد) و حاوی فیلم‌های مختلف و نگهداری شده در ۴ °C و آنالیز آماری به‌وسیله نرم‌افزار SPSS انجام یافت.

نتایج: نمونه‌های مرغ بسته‌بندی‌شده با فیلم‌های مختلف نسبت به نمونه‌های کنترل مقادیر پایین‌تری از عوامل شیمیایی و میکروبی را نشان دادند ($p\leq ۰/۰۵$) و به‌طورکلی روند مثبت وابسته به دوزی در اثر افزودن اسانس مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: بسته‌بندی مرغ با فیلم کیتوزان به‌ویژه با افزودن سطوح مختلف اسانس زیره سیاه می‌تواند در افزایش عوامل مؤثر در فساد شیمیایی و میکروبی آن نقش بازدارندگی داشته باشد.

کلمات کلیدی: فیلم کیتوزان، ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، اسانس زیره سیاه، مرغ

مقدمه

ازآنجاکه نگه‌دارنده‌های شیمیایی بر سلامت انسان اثرات نامطلوب دارند، استفاده از مواد نگه‌دارنده طبیعی ازجمله ترکیبات گیاهی همانند اسانس‌ها مورد توجه بسیار قرار گرفته‌اند. اسانس‌ها و ترکیبات آن‌ها دارای فعالیت ضد میکروبی گسترده‌ای می‌باشند (۱، ۲). از عوامل مؤثر در فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها، ترکیب، ساختار و گروه‌های عاملی آن‌ها است و غالباً ترکیبات با گروه‌های فنلی مؤثرترند (۳).

اسانس زیره سیاه (*Bunium persicum L.*) به‌عنوان طعم‌دهنده در صنایع غذایی کاربرد دارد و از خواص دارویی آن می‌توان به افزایش ترشح شیر، کاهش‌دهنده قند خون، اشتهاآوری، هضم‌کننده، رفع اسپاسم‌های معده و اثرات ضد سرطانی، ضد تشنج، ضد حشره و ضد آسم اشاره کرد. زیره سیاه حدود ۷-۳ درصد اسانس دارد. ماده اصلی اسانس، کارون (CARVONE) است که تا ۶۵ درصد اسانس را تشکیل می‌دهد. لیمونن، ماده مهم دیگر اسانس است که تا ۵۰ درصد اسانس را ممکن است تشکیل دهد (۴). اسانس‌ها سبب اختلال در ساختار غشای باکتری‌ها و ایجاد نفوذپذیری بیشتر می‌گردد و این مسئله موجب خروج و نشست یون‌ها و دیگر محتویات سلولی می‌شود. به‌طورکلی هر چه مقادیر مواد فنلیک در اسانس بالاتر باشد، خواص ضد باکتریایی آن‌ها علیه پاتوژن‌های غذایی بیشتر خواهد بود (۵).

بیوپلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر با داشتن مزایایی مانند تجزیه‌پذیری، امکان تولید از ضایعات و سازگاری با محیط‌زیست (۶) به‌صورت یک‌لایه فیلم خوراکی جهت بسته‌بندی ماده غذایی قابل کاربرد بوده و از این طریق تغییرات فیزیکی،

* **نویسنده مسئول:** ابراهیم مولایی آقایی، گروه مهندسی بهداشت محیط، بخش بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
Email: emolaeeaghaee@sina.tums.ac.ir

شیمیایی و میکروبی را کنترل می‌کنند (۷). همچنین می‌توانند به‌عنوان حامل بسیاری از افزودنی‌ها نظیر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عمل کنند (۸).

پلی ساکاریدهای مختلف مانند سلولز، پکتین، مشتقات نشاسته، جلبک‌های دریایی و صمغ‌ها در تولید فیلم‌ها به کار می‌روند (۹). کیتوزان یک بیوپلیمر پلی ساکاریدی خطی و با بار مثبت است که طی دی استیلاسیون قلیایی کیتین به دست می‌آید. کیتین دومین بیوپلیمر فراوان در زمین بوده که عمدتاً در بی‌مهرگان، حشرات، دیاتومه‌های دریایی، جلبک‌ها و قارچ‌ها دیده می‌شود. از ویژگی‌های بیولوژیکی و شیمیایی آن، زیست‌تخریب‌پذیری، زیست سازگاری و فعالیت زیستی، ویژگی‌های ضد میکروبی و تأخیر در اکسیداسیون است. از کیتوزان در انکپسولاسیون ترکیبات فعال مواد غذایی، تثبیت آنزیم‌ها و به‌عنوان حامل رهاسازی کنترل‌شده داروها و محافظت از آن‌ها طی دارورسانی نیز می‌توان بهره برد (۹-۱۲). خاصیت ضد میکروبی کیتوزان ناشی از گروه‌های آمینی با بار مثبت است. این گروه‌ها با غشا سلولی میکروارگانیزم‌ها که دارای بار منفی است واکنش داده و منجر به نشت اجزا پروتئینی و سایر اجزا درون‌سلولی میکروارگانیزم‌ها می‌شود (۱۳).

ازآنجاکه میزان بالای پروتئین و رطوبت سبب فساد میکروبی گوشت مرغ شده و شرایط هوازی موجب افزایش اکسیداسیون لیپید و پروتئین می‌شود، درنتیجه کاهش رشد میکروبی و تأخیر در اکسیداسیون لیپید و پروتئین در طول نگهداری می‌تواند منجر به افزایش ماندگاری گوشت شود (۱۴). اثرات نگه‌دارندگی فیلم کیتوزان همراه با اسانس سیر در کاهش فعالیت شیمیایی منجر به فساد در مرغ طی نگهداری در دمای ۴°C مشاهده گردید (۳۵). همچنین در مطالعه مشابه دیگری اثر ضدمیکروبی اسانس سیر در فیلم کیتوزان جهت بسته‌بندی مرغ نگهداری شده در دمای یخچالی نشان داده شد (۳۸). افزودنی‌های سنتتیک ممکن است اثرات نامطلوب و بعضاً سرطان‌زایی داشته باشند که اسانس‌ها می‌توانند جایگزین مناسبی برای آن‌ها باشند به‌ویژه که انکپسولاسیون می‌تواند میزان اسانس مصرفی موردنیاز را کاهش داده و منجر به کاهش تأثیرات منفی احتمالی اسانس نظیر بوی زننده و غیره شود. هدف این مطالعه نیز تهیه یک بسته‌بندی مناسب با استفاده از فیلم کیتوزان و تقویت ویژگی‌های ضدمیکروبی و شیمیایی آن با افزودن اسانس زیره سیاه بود.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس

اسانس زیره با استفاده از دستگاه کلونجر از دانه های آسیاب شده آن به روش تقطیر با آب به دست آمد. بدین ترتیب که پودر آسیاب شده زیره سیاه را در بالن ژوژه ریخته و حدود سه برابر آن آب مقطر اضافه شد. با بستن اتصالات بالن و مبرد و بازنمودن جریان آب سرد مرتبط به مبرد و حرارت دادن بالن عمل اسانس‌گیری صورت گرفت و با سولفات سدیم بدون آب، آبگیری شد (۱۵).

تهیه فیلم

جهت تهیه فیلم بر پایه بیوپلیمر کیتوزان، پودر کیتوزان (سیگما آلدریچ) با وزن مولکولی و درجه داستیلاسیون بالا را در اسید استیک (مرک-آلمان) ۱ درصد حل کرده تا محلول ۲ درصد به دست آمد. محلول به مدت یک‌شب در دمای اتاق روی مگنت استیرر با دور ۱۰۰۰ دور در دقیقه هم زده و با کاغذ صافی شماره ۳ صاف شد. سپس گلیسرول (مرک-آلمان) به مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر به ازای هر گرم کیتوزان به‌عنوان پلاستیسایزر و توئین ۸۰ (سیگما-امریکا) به مقدار ۰/۲۵ درصد به‌عنوان امولسیفایر اضافه شد و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق روی استیرر مخلوط گردید. pH محلول با استفاده از سود (مرک-آلمان) در حدود ۵/۸ تنظیم شد. بعد از اضافه کردن سطوح مورد نظر غلظت اسانس زیره سیاه (۰، ۱ و ۲ درصد حجمی-حجمی) و هموژن کردن آن در هموژنایزر مدل WiseTis HG-15D، فیلم‌ها به روش کستینگ در صفحات تفلون قالب‌گیری شد و به مدت ۳۶ تا ۴۸ ساعت در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک شد. فیلم‌های آماده ۴۸ ساعت پیش از استفاده در دسیکاتور حاوی برمید سدیم (دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۲±۵۰ درصد) نگهداری گردید (۱۶).

آماده‌سازی نمونه‌ها

نمونه‌های فیله مرغ از کشتار روز موجود در بازار تهیه شد و به‌سرعت در کنار یخ به آزمایشگاه انتقال داده و سپس با فیلم‌های مختلف کیتوزان و تهیه‌شده از قبل، بسته‌بندی

نمونه‌ها با رعایت شرایط سترون و زیر هود میکروبی انجام یافت. سپس در انکوباتور ۴ درجه سانتی‌گراد جهت آزمون‌های شیمیایی و میکروبی در روزهای صفر، ۲، ۴، ۷ و ۱۰ نگهداری شدند. تیمارهای موردمطالعه شامل فیله‌های مرغ بسته‌بندی‌شده با فیلم‌های مختلف یعنی کیتوزان بدون اسانس، کیتوزان با ۱ و ۲ درصد اسانس و نیز نمونه‌های مرغ بدون پوشش فیلم به‌عنوان کنترل بود. همچنین استفاده از تیمار نمونه با فیلم کیتوزان بدون اسانس به‌عنوان شاهد در برابر بکار بردن دوزهای مختلف اسانس در فیلم در سایر تیمارها می‌تواند باشد. درنهایت بر اساس حالات مختلف موردنظر، ۴ گروه مختلف نمونه و به تعداد روزهای مطالعه و برای هر روز دو نمونه در نظر گرفته شد، یعنی برای هر تیمار به ازای هر روز آزمایش ۲ نمونه تهیه گردید و از میانگین نتایج آن‌ها استفاده شد.

آزمون‌های میکروبی

شمارش کلی باکتری‌های هوازی[1]

کلیه محیط‌های کشت میکروبی برای آزمایش‌های مختلف از شرکت کیولب کانادا تهیه شد. برای شمارش کلی با تهیه سریال رقت از نمونه‌ها و کشت در محیط آگار BHI[2] شمارش کلی باکتری‌های هوازی انجام گرفت. به‌طوری‌که ۱۰ گرم نمونه را با ۹۰ میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده آب پپتونه ۰/۱ درصد در استومیکر مخلوط کرده و از آن رقت‌های مختلف تهیه و در پلیت‌های BHI کشت خطی داده شد. سپس در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری انجام گرفت.

جستجو و شمارش کلی فرم‌ها

از رقت‌های مختلف تهیه‌شده از هر نمونه در محیط VRBA[3] کشت دولایه داده و در دمای ۳۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. به‌منظور آزمایش کلی فرم‌های تائیدی[4] از کلنی‌های مربوط به کلیفرم‌های احتمالی (ارغوانی رنگ) به آبگوشت سبز درخشان[5] برده و ۲۴-۴۸ ساعت در ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند.

شمارش استافیلوکوکوس اورئوس

کشت سطحی از رقت‌های مختلف هر نمونه در محیط BPA[6] داده شد و سپس در دمای ۳۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری انجام شد. جهت آزمون تکمیلی برای کلنی‌های احتمالی (سیاه‌رنگ با هاله اطراف) از محیط قنددار MSA[7] و تست‌های اکسیداز، کاتالاز و کواگولاز جهت بررسی ایجاد لخته استفاده شد (۱۷).

آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری چربی و پروتئین

بعد از تهیه نمونه‌ها و در همان روز صفر، مقدار چربی و پروتئین نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. میزان چربی نمونه با روش سوکسله اندازه‌گیری شد. قسمت مورد آزمون با اسیدکلریدریک رقیق برای آزاد کردن چربی‌های غیرآزاد جوشیده و ترکیب‌شده، توده حاصل صاف و خشک شد و سپس استخراج چربی باقی‌مانده روی کاغذ صافی با n- هگزان یا پترولیئوم سبک انجام گرفت. میزان پروتئین نمونه با روش ماکروکلدال اندازه‌گیری شد. مواد آلی در برابر اسیدسولفوریک غلیظ و کاتالیزورهای سولفات پتاسیم و اکسید سلنیوم هضم شده و مواد ازته آلی به ماده ازته معدنی تبدیل شد. سپس با انجام مرحله تقطیر و اندازه‌گیری مقدار ازت با در نظر گرفتن ضریب پروتئینی (۶/۲۵) مقدار پروتئین تام برحسب ازت محاسبه شد (۱۸).

اندازه‌گیری pH

مقدار ۱۰g نمونه با ۹۰ml آب مقطر در استومیکر مخلوط شده، سپس با استفاده از دستگاه pH متر مدل (Istek-کره جنوبی) قرائت انجام گرفت.

اندازه‌گیری مواد ازته فرار (TVN)

مواد ازته فرار نمونه‌ها در اثر تجزیه مولکول‌های پروتئینی به وجود می‌آیند. مقدار ۱۰g از نمونه را همراه با ۲g اکسید منیزیم به‌عنوان کاتالیزور و ۳۰۰ml آب مقطر و چند عدد پرل شیشه‌ای در داخل بالن هضم کلدال ریخته شد. در ارلن گیرنده مقدار ۲۵ml اسید بوریک ۲ درصد و چند قطره معرف متیل اورانژ ۰/۱ درصد الکلی قرار داده شد. با حرارت دادن بالن هضم و انجام عمل تقطیر بازهای فرار در نمونه، تقطیر و جذب محتویات ارلن گیرنده شد. محلول تقطیرشده به‌وسیله اسیدسولفوریک ۰/۱N تا ظهور رنگ قرمز تیتر شد. با توجه به اینکه هر ml اسیدسولفوریک ۰/۱N معادل ۰/۰۰۱۴g و یا

[1] APC
[2] Brain-Heart Infusion Agar
[3] Violet Red Bile Agar
[4] Confirmed Coliform
[5] BGB
[6] Baird Parker Agar
[7] Manitol Salt Agar

۱/۴mg میلی‌گرم ازت است. مقدار بازهای فرار برحسب میلی‌گرم درصد از رابطه زیر محاسبه شد (۱۸):

TVN= مقدار مصرفی اسید ۰/۱ برای نمونه ×۱/۴×۱۰۰

اندازه‌گیری ترکیبات واکنش تیوباربیتوریک اسید (TBARs - Thiobarbituric acid-reactive substances)

مقدار ۱g از هر نمونه با ۵ml محلول ۵٪ اسید استیک و ۵ml محلول آماده‌شده BHA(Buthylated Hydroxy Anisole) مخلوط و هموژن شد. سپس به مدت ۱۰min با دور ۳۰۰۰rpm سانتریفیوژ انجام گرفت. آنگاه فاز رویی دور ریخته و مقدار ml ۲/۵ از فاز زیری برداشته شد و در لوله دیگری با ۱/۵ml محلول آماده‌شده TBA(Thiobarbituric acid) مخلوط و هموژن شد. در مرحله بعد در بن ماری °۷۵C به مدت ۳۰min قرار داده شد تا واکنش تکمیل گردد. نمونه‌ها پس از سرد شدن با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Jenway-M:6100، انگلستان) در طول‌موج ۵۳۲nm قرائت شدند. مقادیر خوانده‌شده در رابطه به‌دست‌آمده از منحنی استاندارد تهیه‌شده قرار داده شدند و به‌عنوان عدد TBA برحسب µg MDA/kg نمونه گزارش شدند (۱۹).

اندازه‌گیری اندیس پراکسید (PV -Peroxide Value)

به‌منظور استخراج چربی نمونه‌های فیله مرغ از روش سویر و همکاران (۲۰۱۰) با کمی تغییرات استفاده شد. مقدار ۱۰g نمونه با ۵۰ml مخلوط ۲ به ۱ حجمی/حجمی کلروفرم/متانول به مدت ۲min در استومیکر مدل (Inter science-W-فرانسه) هموژن شد. سپس محلول هموژن شده با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ بر روی قیف سپراتور فیلتر شد. مقدار ۲۰ml محلول ۰/۵ درصد NaCl به‌منظور جدا شدن بهتر محلول به دو فاز اضافه شد و بعد از چند بار تکان دادن تا دو فاز شدن کامل ثابت قرار داده شد. فاز آبی-متانول دور ریخته شد و فاز کلروفرمی برای تبخیر حلال و باقی ماندن چربی به‌دست‌آمده مورداستفاده قرار گرفت (۲۰). به مقدار مشخص چربی به‌دست‌آمده ml ۲۵ مخلوط کلروفرم-اسید استیک به نسبت ۲ به ۳ اضافه شد و بعد از مخلوط کردن و تکان دادن ۱ml محلول اشباع یدید پتاسیم اضافه شد و 5min در تاریکی نگهداری شد. بعد از افزودن ۷۵ml آب مقطر و ۰/۵ml معرف چسب نشاسته، محلول حاصل با تیوسولفات پتاسیم ۰/۰۱N تیتر شد. میزان عدد پراکسید برمبنای meq peroxide/kg چربی استخراج‌شده به دست آمد (۲۱).

آنالیز آماری

بررسی‌های آماری میان شرایط تیمار و کنترل توسط آزمون آنالیز واریانس در SPSS ویرایش ۲۲ انجام گرفت و سطح معناداری ۰/۰۵ لحاظ شد. همین‌طور جهت تغییرات فاکتورهای شیمیایی و میکروبی اندازه‌گیری شده در روزهای متوالی آزمایش در هر دسته از تیمارها از آزمون Repeated Measure Anova استفاده شد.

نتایج

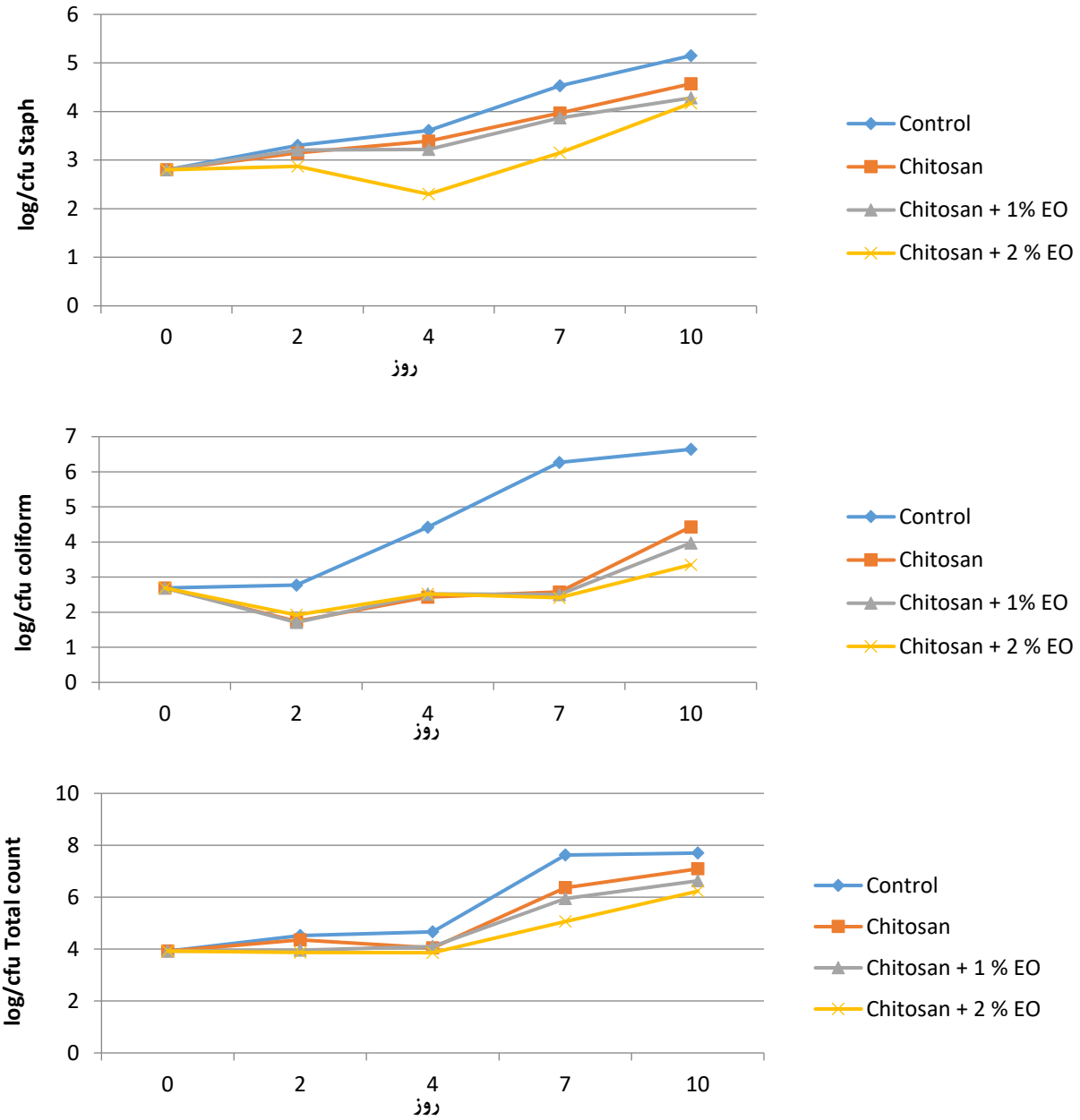
با توجه به اهمیت پروتئین و چربی در کیفیت و فساد شیمیایی نمونه‌های فیله مرغ، مقادیر اندازه‌گیری شده آن‌ها در ابتدای مطالعه و روز صفر به ترتیب برابر ۲۱/۸۷ و ۲/۱۲ درصد بود.

شمارش کلی باکتری‌های هوازی

همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده‌شده است در تمام نمونه‌ها به‌جز نمونه‌های با فیلم حاوی اسانس ۲٪ تا روز ۴ روند افزایشی نسبتاً ملایمی در میزان شمارش کلی مشاهده شد و سپس افزایش شدیدی یافت. دراین‌بین کمترین افزایش مربوط به نمونه‌های بسته‌بندی‌شده با فیلم کیتوزان حاوی بیشترین درصد اسانس یعنی ۲٪ بود و همان‌گونه که اشاره شد حتی تا روز چهارم روند نزولی را سیر کرد. شمارش کلی در نمونه‌های کنترل که فاقد فیلم بودند از همان ابتدا افزایش قابل‌توجهی نشان داد ($p\leq ۰/۰۵$).

شمارش کلی فرم‌ها

تعداد کلی فرم‌ها در روز دوم، به‌جز نمونه کنترل در سایر نمونه‌ها با کاهش قابل‌توجهی مواجه شد ($p\leq ۰/۰۵$). نکته جالب آنکه تا یک هفته بعد از شروع آزمایش شمارش کلی فرم‌ها در تمام نمونه‌های حاوی فیلم کیتوزان کمتر از میزان اولیه آن بود. البته از روز دوم به بعد روند افزایشی را در پیش گرفت و نهایتاً بعد از روز هفتم افزایش تعداد در همه نمونه‌ها مشاهده شد به‌طوری‌که اختلاف شمارش در روز آخر نسبت به ابتدای مطالعه قابل‌توجه بود ($p\leq ۰/۰۵$). دراین‌بین کمترین افزایش متعلق به نمونه‌های با فیلم‌های حاوی ۲٪ اسانس بود (۳/۳۵ ± ۰/۰۴ log cfu/g). نمونه‌های کنترل نیز از همان ابتدا با تفاوت معنادار نسبت به سایر نمونه‌ها روند افزایشی نشان



نمودار ۱- شمارش میکروبی (شمارش کلی باکتری‌های هوازی، کلی فرم و استافیلوکوکوس اورئوس) گوشت مرغ با انواع پوشش فیلم کیتوزان و حاوی سطوح مختلف اسانس زیره در طی ۱۰ روز و نگه‌داری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد.

دادند (نمودار ۱).

شمارش استافیلوکوکوس اورئوس

تعداد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* طبق نمودار ۱ در تمام نمونه‌ها تا روز آخر افزایش نشان داد و فقط در روز چهارم، نمونه‌های با فیلم حاوی ۲٪ اسانس کاهش نشان دادند. در طول مطالعه بالاترین میزان افزایش مربوط به نمونه‌های کنترل ($p\leq ۰/۰۵$) و کمترین افزایش در مورد نمونه‌های با فیلم حاوی ۲٪ اسانس مشاهده شد و این روند تا پایان تقریباً ثابت

ماند. اختلاف معناداری بین نمونه‌های پوشش داده شده با فیلم‌های کیتوزان حاوی سطوح بالاتر اسانس و نمونه‌های کنترل مشاهده شد (p≤۰/۰۵).

اندازه‌گیری pH

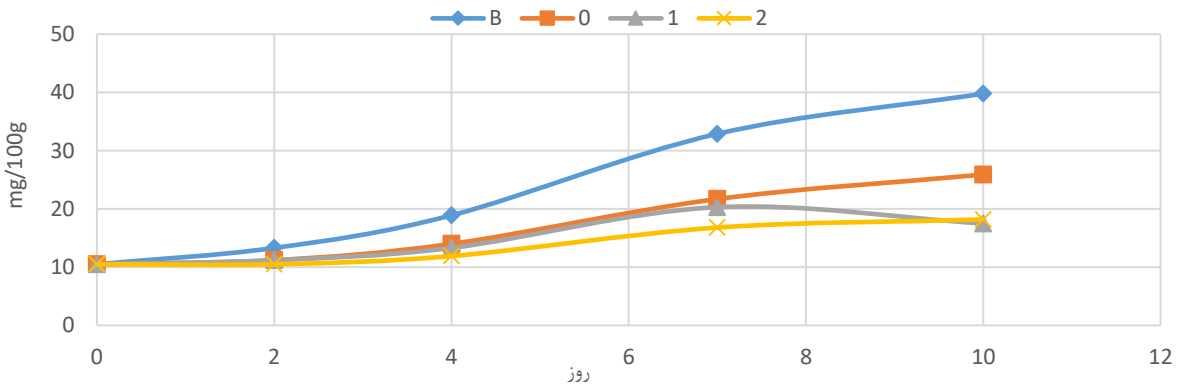
مقادیر pH نمونه‌ها در جدول ۱ نشان داده‌شده است. در پایان مطالعه بیشترین افزایش میزان pH به ترتیب در نمونه‌های کنترل (۶/۳۲) مشاهده گردید. کمترین pH ثبت‌شده در روز ۴ برای نمونه‌های با فیلم ۱٪ برابر ۶/۰۵ بود که با روزهای پیشین خود اختلاف قابل‌توجهی داشت و سپس در روزهای بعد با افزایش مواجه شد. درمجموع میانگین مقدار pH در فیله‌های مرغ بسته‌بندی‌شده با انواع پوشش‌ها در طول مطالعه اختلاف آماری معناداری با گروه کنترل نداشت (p>۰/۰۵). در روز آخر تفاوت معناداری (p≤۰/۰۵) میان انواع گروه‌ها مشاهده شد که کمترین میزان مربوط به نمونه با فیلم ۱٪ بود.

اندازه‌گیری TVN

در طی مطالعه و پس از روز صفر بالاترین میزان TVN در نمونه‌های کنترل و سپس نمونه‌های با پوشش فیلم بدون اسانس مشاهده شد، به‌طوری‌که در روز آخر به ترتیب به ۳۹/۸±۳/۱۱ و ۲۵/۹±۲/۹۶ mg/۱۰۰ g افزایش یافت (نمودار ۲). درمجموع اختلاف بین نمونه‌های کنترل با سایر گروه‌ها ازنظر آماری معنادار بود (p≤۰/۰۵). از طرفی، میان نمونه‌های با پوشش فیلم کیتوزان که دارای سطوح اسانس ۱ و ۲ درصد بودند اختلاف معناداری دیده نشد (p>۰/۰۵) و همان‌گونه که در نمودار ۲ مشخص است مقادیر اندازه‌گیری شده برای آن‌ها در روز آخر مطالعه با اختلاف کمی نسبت به یکدیگر پایین‌تر از

جدول ۱- مقادیر pH نمونه‌های کنترل و پوشش داده‌شده با فیلم‌های حاوی سطوح مختلف اسانس زیره در روزهای مختلف

گروه	روز صفر	روز دوم	روز چهارم	روز هفتم	روز دهم
کنترل	۶/۱۲±۰/۰۲۸	۶/۱۵±۰/۰۱۴	۶/۱۰±۰/۰۲۱	۶/۱۵±۰/۰۱۴	۶/۳۲±۰/۰۰۷^{b}
کیتوزان صفر	۶/۱۲±۰/۰۲۸	۶/۱۳±۰/۰۰۷	۶/۱۷±۰/۰۱۴	۶/۱۵±۰/۰۰۷	۶/۲۵±۰/۰۰۷^{b}
کیتوزان ۱ ٪	۶/۱۲±۰/۰۲۸	۶/۱۴±۰/۰۰۷	۶/۰۵±۰/۰۱۴	۶/۲۳±۰/۰۰۷	۶/۱۳±۰/۰۱۴^{a}
کیتوزان ۲ ٪	۶/۱۲±۰/۰۲۸	۶/۱۵±۰/۰۱۴	۶/۱۹±۰/۰۲۸	۶/۲۱±۰/۰۱۴	۶/۲۹±۰/۰۱۴^{b}

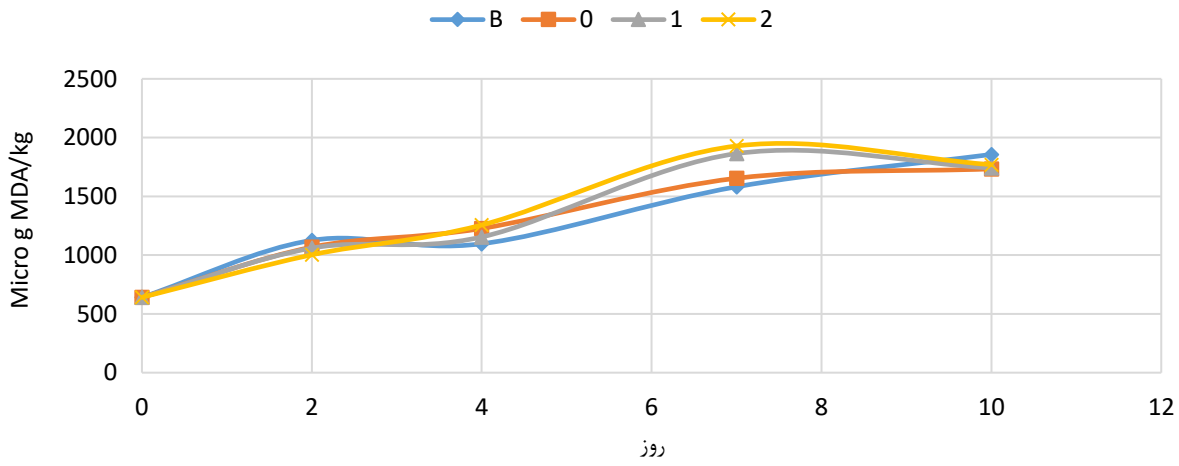


نمودار ۲- مقادیر TVN در گروه‌های مختلف موردمطالعه گوشت مرغ با پوشش فیلم کیتوان و حاوی اسانس زیره سیاه نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد.

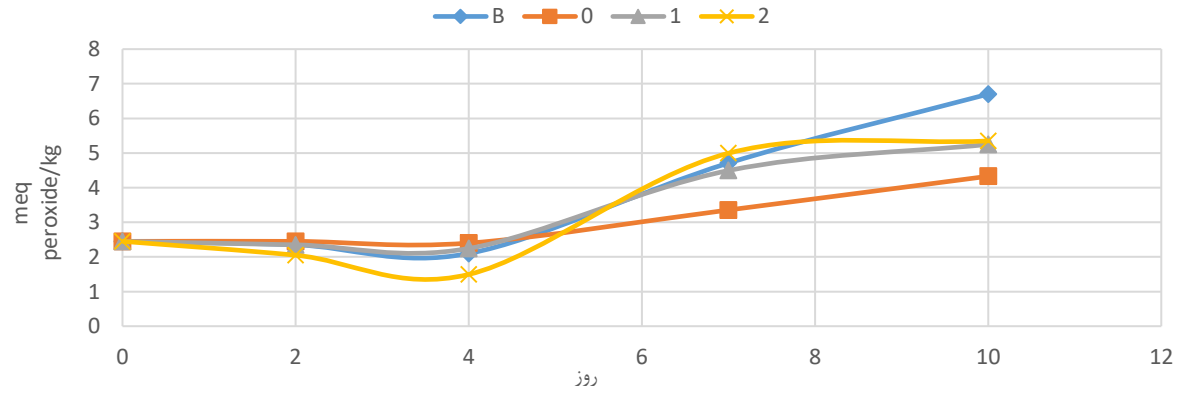
۲۵ mg/۱۰۰ g است و کماکان در محدوده قابل‌پذیرش وجود دارد. در پایان مطالعه نیز اختلاف قابل‌توجه آماری میان نمونه‌های حاوی فیلم بدون اسانس با سایر نمونه‌ها مشاهده گردید (p≤۰/۰۵).

اندازه‌گیری TBARs

میانگین مقدار TBARs در تمام نمونه‌ها همان‌طور که در حاوی فیلم با سطوح مختلف اسانس اختلاف چندان زیادی نسبت به یکدیگر نداشتند. در روز هفتم نمونه‌های با فیلم حاوی بالاترین سطوح اسانس مقادیر بالاتری TBARs را نشان دادند. همچنین در روز پایانی، تفاوت قابل‌توجه آماری میان گروه‌های مختلف نمونه‌ها دیده نشد (p>۰/۰۵)؛ اما کمترین مقادیر به‌دست‌آمده مربوط به نمونه‌های بسته‌بندی‌شده با



نمودار ۳- مقادیر TBARs در گروه‌های مختلف موردمطالعه گوشت مرغ با پوشش فیلم کیتوان و حاوی اسانس زیره سیاه نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد



نمودار ۴- مقادیر PV در گروه‌های مختلف موردمطالعه گوشت مرغ با پوشش فیلم کیتوان و حاوی اسانس زیره سیاه نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

نمودار ۳ نشان داده‌شده روند افزایشی پیدا کرد، به‌طوری‌که در همان روز ۲ اختلاف معناداری نسبت به ابتدای مطالعه ثبت شد (p≤۰/۰۵). در طول مطالعه میزان TBARs بین نمونه‌های فیلم‌های بدون اسانس و ۱۷۳۳/۴۵ g MDA/kg µ بود، درحالی‌که بالاترین میزان متعلق به نمونه‌های کنترل با مقدار g ۱۸۵۶/۷۳ MDA/kg µ بود.

اندازه‌گیری PV

مقادیر اندازه‌گیری شده اندیس پراکسید در نمونه‌ها در نمودار ۴ نشان داده‌شده است. تا روز چهارم نه‌تنها در نمونه‌ها روند افزایشی مشاهده نشد بلکه حتی در نمونه‌های حاوی فیلم با ۲٪ اسانس زیره سیاه نزولی دیده شد؛ اما از روز ۴ تا پایان افزایش معناداری در تمام نمونه‌ها ثبت گردید ($p\leq ۰/۰۵$) که دراین‌بین شیب افزایش در نمونه‌های کنترل تندتر بود. در پایان مطالعه کمترین مقدار پراکسید برای نمونه‌های با فیلم فاقد اسانس (۰/۲۴ ± ۴/۳۳ meq peroxide/kg) و بالاترین مقدار در نمونه‌های کنترل (۰/۷۰ ± ۶/۷ meq peroxide/kg) مشاهده شد.

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه فیلم‌ها از کیتوزان با وزن مولکولی بالا به دلیل به دست آمدن خصوصیات فیزیکی مناسب‌تر مانند استحکام و پیوستگی بهتر استفاده شد. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بسته‌بندی فیله مرغ با فیلم‌های مختلف کیتوزان در مقایسه با نمونه‌های کنترل می‌تواند اثر بازدارندگی در افزایش عوامل شیمیایی و میکروبی مؤثر در پذیرش نمونه داشته باشد. همچنین افزودن اسانس زیره سیاه نیز تأثیر هم‌افزایی در این رابطه دارد، به‌طوری‌که روند وابسته به دوزی در اکثر عوامل موردبررسی به‌ویژه میکروبی مشاهده شد و کمترین افزایش در مقادیر عوامل میکروبی در نمونه‌های بسته‌بندی‌شده با بیشترین سطح اسانس، ۲٪ و نیز ۱٪ به دست آمد. نمونه‌های کنترل تقریباً از روز چهارم عوامل شیمیایی بالایی را نشان دادند که می‌تواند آن‌ها را غیرقابل‌مصرف کند که می‌تواند به‌عنوان نمونه ناشی از افزایش pH در اثر ایجاد متابولیت‌هایی مانند ترکیبات نظیر آمونیاک و تری متیل آمین حاصل از باکتری‌های عامل فساد و نیز فعالیت‌های آنزیم‌های لیپاز و پروتئاز باشد.

اسانس‌های گیاهی منابع غنی از ترکیبات فنولیک بوده و طیف گسترده‌ای از اثرات بازدارندگی را در فیلم‌ها نشان می‌دهند (۵). ترکیبات زیستی فیلم‌ها حامل مناسبی برای افزودنی‌های غذایی ازجمله آنتی‌اکسیدان‌ها و مواد ضد میکروبی می‌باشند (۲۲-۲۳). برای مثال Moradi و همکاران (۲۰۱۱) خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی فیلم‌های کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی و عصاره هسته انگور را در کالباس نشان دادند (۲۴). فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم کیتوزان به‌تنهایی در بررسی با روش DPPH (۲ و ۲ دی فنیل - ۱ -پیکریل هیدرازیل) به‌واسطه به دام انداختن رادیکال‌های DPPH در اثر واکنش گروه‌های آمینوی آزاد کیتوزان با رادیکال‌های آزاد جهت تشکیل رادیکال‌های ماکرومولکولار پایدار و درنتیجه گروه‌های آمونیوم شکل یافته توسط جذب یون هیدروژن از محلول بیان‌شده است (۲۵). در مطالعه Genskowsky و همکاران (۲۰۱۵) به‌منظور بررسی اثر فیلم کیتوزان همراه با عصاره گیاه Maqui berry فیلم حاوی عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در تمام غلظت‌های بکار برده شده (۰/۵٪ و ۱٪) نشان داد و این فعالیت وابسته به دوز بود (۲۶). در مطالعه حاضر و در رابطه با عوامل شیمیایی، آزمایش‌های TBARs و PV این روند وابسته به دوز را به‌طور کامل نشان ندادند و البته لازم به ذکر است دوزهای اسانس بکار رفته بالاتر از مطالعه مورداشاره بود و ممکن است رابطه خطی بین اثر بازدارندگی و میزان اسانس اضافه‌شده وجود نداشته باشد. گرچه در مورد دو عامل دیگر یعنی pH و TVN اثر وابسته به دوز مشاهده گردید، به‌طوری‌که اختلاف نمونه‌های کنترل با نمونه‌های پوشش داده‌شده با انواع فیلم‌ها معنادار بود ($p\leq ۰/۰۵$).

در تحقیق Bazargani و همکاران (۲۰۱۵) با استفاده از ترکیب عصاره انار و پوشش کیتوزان غنی‌شده با اسانس آویشن در ماندگاری سینه مرغ، اندیس پراکسید، TBRAs و اکسیداسیون پروتئین‌ها در نمونه‌های تیمار به‌طور قابل‌توجهی پایین‌تر از گروه کنترل بود. افزایش پراکسید می‌تواند به علت نرخ سریع‌تر تشکیل پراکسیدها در طول روزهای ۵ و ۱۰ نگهداری در مقایسه با تجزیه پراکسیدها به محصولات ثانویه اکسیداسیون باشد. تجزیه پراکسیدها در سینه مرغ بعد از روزهای ۵ و ۱۰ نگهداری مشاهده شد. نمونه‌های با پوشش فیلم حاوی ۲٪ اسانس بیشترین کاهش پراکسید را در نمونه‌ها نشان دادند (۲۷). در تحقیق حاضر نیز اندازه‌گیری پراکسید در نمونه‌های گوشت مرغ حاکی از افزایش عامل پراکسید از روز ۴ به بعد داشت، گرچه اثر مشابه فوق در مورد فیلم‌های با اسانس ۲٪ مشاهده نشد. همچنین در بررسی‌های Bazargani و همکاران (۲۰۱۵) در آزمون TBARs تیمارهای مختلف منجر به کاهش مالون دی آلدهید (MDA) در مقایسه با کنترل شدند. در نمونه‌های کنترل و در تمام تیمارها یک‌روند افزایشی

در مقادیر TBARs به ترتیب تا روز ۵ و ۱۵ و به دنبال آن کاهش تا روز ۲۰ نگهداری مشاهده شد. این روند مشابه است با آنچه در تحقیق دیگری که روی گوشت مرغ گزارش‌شده (۲۸) که می‌تواند به علت تشکیل اولیه MDA و تجزیه احتمالی آن طی مراحل بعدی نگهداری باشد (۲۷). در مطالعه حاضر به‌جز روز هفتم، در سایر زمان‌ها مقدار TBA در نمونه‌های کنترل بالاتر از سایر نمونه بود؛ اما اثر اسانس با دوزهای مختلف مشاهده نشد. درواقع شاخص TBA مربوط به اندازه‌گیری میزان مالون آلدئید است که همان محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب چند غیراشباع است. در این تحقیق حداکثر میزان TBA گزارش‌شده به‌ویژه در نمونه‌های دارای فیلم کمتر از حد اعلام‌شده ۲ میلی‌گرم مالون آلدئید در هر کیلوگرم گوشت بود که علت آن احتمالاً میزان کم‌چربی فیله مرغ و اثر محافظت‌کنندگی فیلم‌ها است.

در مطالعات کونل و همکاران در سال ۱۹۹۹ حد مجاز عدد پراکسید در فیله مرغ ۵ میلی اکی والان در هر کیلوگرم روغن بیان شد (۲۹). در نمونه‌های کنترل مطالعه حاضر در روز دهم به ۶/۷ میلی اکی والان در هر کیلوگرم روغن رسید که بالاتر از حد مجاز بود. در تیمارهای حاوی فیلم و اسانس میزان پراکسید تا روز دهم کمی از محدوده قابل‌قبول تجاوز کرد. نتایج داده‌ها حاکی از آن است که فیلم کیتوزان و حاوی اسانس زیره سیاه با مهار اکسیداسیون لیپیدها در حفاظت فیله‌های مرغ نقش عمده دارد. کامکار و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که ترکیبات فنلی، فلاوونوئیدها و ترپنوئیدها ترکیبات اصلی گیاه زیره را تشکیل می‌دهند و ویژگی‌های مهارکنندگی اسانس زیره را می‌توان به وجود این ترکیبات نسبت داد (۳۰).

فیلم کیتوزان حاوی پلی فنول چای در پتی‌های گوشت خوک در تحقیق Qin و همکاران (۲۰۱۳) باعث کاهش pH نهایی در زمان نگهداری نسبت به گروه کنترل شد. همچنین با تأخیر در افزایش TBARS منجر به پایداری لیپیدها شده و رشد میکروبی نیز کاهش نشان داد و ماندگاری محصول تا ۶ روز افزایش یافت (۳۱). در مطالعه کنونی نیز با افزودن سطوح مختلف اسانس زیره سیاه، عامل pH محصولات در طول مطالعه نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ($p\leq ۰/۰۵$). در مطالعه Bazargani و همکاران (۲۰۱۵) مقادیر pH نمونه‌های کنترل در طول نگهداری افزایش یافت، درحالی‌که سایر نمونه‌ها روند کاهشی نشان دادند که به علت وجود تیمارهای ضد میکروبی اسیدی شده مانند عصاره انار، کیتوزان و اسانس آویشن شیرازی می‌تواند باشد. افزایش pH باگذشت زمان را می‌توان به تولید ترکیبات فرار مانند آمونیاک و تری متیل آمین حاصل از باکتری‌های عامل فساد، نسبت داد (۳۲).

شاخص TVB-N درمجموع شامل تری متیل آمین (حاصل فساد باکتری) و دی متیل آمین (حاصل خود هضمی آنزیمی)، آمونیاک و سایر ترکیبات فرار آمین در ارتباط با فساد فراورده‌های گوشتی است. شاید بتوان این موضوع را به کاهش جمعیت باکتری‌ها و یا توانایی اکسایشی باکتری‌ها در جدا کردن آمین‌ها از ترکیبات نیتروژنی غیر فرار ربط داد (۳۳). مقدار TVN پایین‌تر در نمونه‌های تیمار با فیلم حاوی اسانس زیره را می‌توان به علت ویژگی‌های آنتی باکتریایی گیاه و به‌خصوص ترکیبات فنلی دانست که ماهیت هیدروفوبیک این ترکیبات فنلی باعث می‌شود در فاز لیپیدی سلول باکتری یا به عبارتی فسفولیپیدی غشای سلولی اختلال ایجاد نمایند و سبب افزایش در نفوذپذیری و از دست رفتن محتویات سلول شوند. مکانیسم دیگری که برای فعالیت آنتی باکتریایی ترکیبات فنلی در منابع ذکرشده است اختلال در سیستم آنزیمی و غیرفعال کردن آن یا تخریب مواد ژنتیکی است (۳۴). در تحقیق مولایی آقایی و همکاران (۱۳۹۴) بر روی فیله‌های مرغ بسته‌بندی‌شده با فیلم کیتوزان و سطوح مختلف اسانس سیر، نشان داده شد که تیمارهای حاوی فیلم و اسانس در برابر افزایش pH، TVN و نیز تا حد قابل‌توجهی نسبت به افزایش TBARs و PV در مقایسه با گروه کنترل مقاومت نشان دادند (۳۵).

در بررسی خواص ضد میکروبی و فیزیکی-شیمیایی فیلم کیتوزان ترکیب‌شده با اسانس‌های مختلف بر روی سوسیس بولوگنا و محیط آزمایشگاهی توسط زیوانویچ و همکاران (۲۰۰۵) اثرات ضد میکروبی برابر اشریشیاکلای و لیستریا مونوسایتوژنز نشان داده شد. فیلم کیتوزان تعداد لیستریا را تا ۲ لگاریتم کاهش داده و با افزودن اسانس‌ها به‌خصوص اسانس مرزنگوش میزان کاهش رشد به بیش این مقدار رسید (۳۶). در مطالعه خنجری و همکاران (۲۰۱۳) بر روی بسته‌بندی گوشت فیله مرغ با استفاده از O,N-کربوکسی متیل کیتوزان و اسانس پونه کوهی جهت افزایش ماندگاری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، اثر ضد میکروبی به‌خوبی بر روی لیستریا

مونوسایتوژنز و شمارش کلی نشان داده شد (۳۷).

در مطالعه کنونی استفاده از بسته‌بندی فیلم کیتوزان و همین‌طور افزودن سطوح مختلف اسانس زیره سیاه به فیلم کیتوزان منجر به فعالیت ضد میکروبی در برابر استافیلوکوکوس، کلی فرم‌ها و نیز شمارش کلی باکتری‌های هوازی شد ($p\leq ۰/۰۵$). در تحقیق حاضر اثر ممانعت رشد میکروبی در نمونه‌های فیله مرغ پوشش داده‌شده با فیلم‌های دارای اسانس در مقایسه با فیلم بدون اسانس بیشتر بود، به‌طوری‌که با افزایش سطح اسانس میزان بازدارندگی میکروبی افزایش یافت. همین‌طور اختلاف معناداری میان تأثیر ممانعت کنندگی در رشد و تکثیر میکروبی نمونه‌های حاوی فیلم با نمونه کنترل مشاهده شد ($p\leq ۰/۰۵$). به‌طورکلی فیلم کیتوزان در کاهش رشد و تکثیر باکتریایی در نمونه‌های فیله مرغ مؤثر است. همین‌طور با افزودن اسانس زیره سیاه به فیلم‌های کیتوزان در سطوح مختلف اثر هم‌افزایی مشاهده شد.

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، استفاده از فیلم کیتوزان در بسته‌بندی فیله‌های مرغ سبب جلوگیری از افزایش عوامل تأثیرگذار در فساد شیمیایی و مخصوصاً میکروبی آن می‌شود. به‌ویژه افزودن سطوح مختلف اسانس زیره سیاه در فرمولاسیون فیلم‌ها اثر هم‌افزایی در این رابطه دارد. با توجه به گرایش روزافزون به ترکیبات طبیعی، کاربرد این نوع فیلم‌ها همراه با اسانس‌های گیاهی در صنایع بسته‌بندی جهت افزایش ماندگاری محصولات می‌تواند گسترش یابد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان کمال سپاسگزاری را از معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران در انجام این مطالعه دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

References

1. Kim J, Marshall MR, Wei CI. Antimicrobial activity of some essential oil components against five food borne pathogens. J Agri & Food Chem. 1995; 43(11): 2839-2845.
2. Packiyasothy EV, Kyle S. Antimicrobial properties of some herb essential oils. Food Aust, 2002; 54(9): 384-87.
3. Dorman HJD, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J Appl Microbiol. 2000; 88(2): 308-316.
4. Moghtader M, Iraj Mansouri A, Salari H, Farahmand A. Identification of chemical compounds and study of anti-microbial effect of (Bunium persicum Boiss). IJMAPR. 2009; 25 (1): 20-27.
5. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. Int J Food Microb. 2004; 94(3):223–53.
6. Osés J, Fabregat-Vázquez M, Pedroza-Islas R, Tomás SA, Cruz-Orea A, Maté JI. Development and characterization of composite edible films based on whey protein isolate and mesquite gum. J Food Eng. 2009;92(1):56-62.
7. Debeaufort F, Quezada-Gallo JA, Voilley A. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. Critic Rev in Food Sci. 1998;38(4):299-313.
8. Shen Z, Kamdem DP. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. Int J Bio Macromol. 2015;74:289-96.
9. Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. Food Chem. 2010; 122(1): 161-166.
10. Bourtoom, T. Edible films and coatings: Characteristics and properties. Int. Food res J. 2008; 3(3): 237-248.
11. Zhao LM, Shi LE, Zhang ZL, Chen JM, Shi DD, Yang J, et al. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. Braz J Chem Eng. 2011; 28(3): 353-362.
12. Maghsoudlou A, Maghsoudlou Y, Khomeiri M, Ghorbani M. Evaluation of anti-fungal activity of chitosan and its effect on the moisture absorption and organoleptic characteristics of pistachio nuts. Int J Adv Sci Eng Inform Tech. 2010;2(4):65.
13. Shahidi F, Arachchi JKV, Jeon YJ. Food application of chitin and chitosan. Trends Food Sci Tech. 1999; 10(2): 37-51.
14. Vaithiyanathan S, Naveena B, Muthukumar M, Girish P, Kondaiah N. Effect of dipping in pomegranate (Punica granatum) fruit juice phenolic solution on the shelf life of chicken meat under refrigerated storage (4 C). Meat science. 2011;88(3):409-14

15. Taherkhani P, Noori N, Akhondzadeh Basti A, Gandomi H, Alimohammadi M. Antimicrobial Effects of Kermanian Black Cumin (Bunium persicum Boiss.) Essential Oil in Gouda Cheese Matrix. J Med Plant. 2014; 54 (2): 76-86.
16. Moradi M, Tajik H, Razavi Rohani SM, Oromiehie AR. Effectiveness of Zataria multiflora Boiss essential oil and grape seed extract impregnated chitosan film on ready-to-eat mortadella-type sausages during refrigerated storage. J Sci Food Agr. 2011; 91(15): 2850-2857.
17. Karim G. Microbiological Examination of Foods. 2nd ed. Tehran: University of Tehran press; 2008,p 63-66, 376-385. [In Persian].
18. Parvaneh V. Quality control and chemical analysis of food. 6th ed. Tehran: University of Tehran press; 2011, p212, 241-251. [In Persian].
19. Jebelli Javan A, Ghazvinian K, Mahdavi A, Javaheri Vayeghan A, Steji H, Ghaffari Khaligh S. The effect of dietary Zataria multiflora Boiss. essential oil supplementation on microbial growth and lipid peroxidation of broiler breast fillets during refrigerated storage. J Food Process Preserv. 2013;37 (5):881-88.
20. Soyer A, Özalp B, Dalmıs U, Bilgin V. Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. Food Chem. 2010;120(4):1025-30.
21. Jebelli Javan A, Saberi M, Javaheri Vayeghan A, Ghaffari Khaligh S, Rezaian H, Nejabat N. The effect of dietary Aloe vera gel extract supplementation on lipid peroxidation of broiler breast fillets during frozen storage. J Vet Res. 2013;68(3):233-40. [Article In Persian].
22. Seydim A, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Res Int. 2006;39(5):639-44.
23. Ramos Ó, Silva S, Soares J, Fernandes J, Poças M, Pintado MEet al. Features and performance of edible films, obtained from whey protein isolate formulated with antimicrobial compounds. Food Res Int. 2012;45(1):351-61.
24. Moradi M, Tajik H, Razavi Rohani S, Oromiehie A, Malekinejad H, Ghasemmahdi H. Development and Evaluation of Antioxidant Chitosan Film Incorporated with Grape Seed Extract. J Med Plant. 2012;2(42):43-52. [Article In Persian].
25. Siripatrawan U, Harte B. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. Food Hydrocolloids. 2010;24(8):770-75.
26. Genskowsky E, Puente L, Pérez-Álvarez J, Fernandez-Lopez J, Muñoz L, Viuda-Martos M. Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with Maqui berry (Aristotelia chilensis). LWT - Food Sci Tech. 2015;64(2):1057-62.
27. Bazargani-Gilani B, Aliakbarlu J, Tajik H. Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with Zataria multifl ora Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. Innov. Food Sci. & Emerg. Technol. 2015;29:280-87.
28. Chouliara E, Karatapanis A, Savvaidis I, Kontominas M. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 C. Food Microb. 2007;24(6):607-17.
29. Connell JJ. Control of Fish Quality. 3rd ed. London: Fishing News Book;1990, p 226.
30. Kamkar A, Javan AJ, Asadi F, Kamalinejad M. The antioxidative effect of Iranian Mentha pulegium extracts and essential oil in sunflower oil. Food & Chem Toxic. 2010; 31;48(7):1796-800.
31. Qin YY, Yang JY, Lu HB, Wang SS, Yang J, Yang XC, et al. Effect of chitosan film incorporated with tea polyphenol on quality and shelf life of pork meat patties. Int J Bio Macromol. 2013;61:312-16.
32. Hyytia W, Hielm S, Mokila M, Kinnunen A, Korkeala H. Predicted and observed growth and toxigenesis by clostridiumtype E in vaccum, packaged fishery products chalenge tests. Int J Food Microb. 1999; 47(3):161-169
33. Fan W, Chi Y, Zhang S. The use of atea polyphemol dip to the dhelf life of silver crap (Hydpophthalmicthys molitrix) during storage in ice. Food Chem. 2008; 108(1):148-153.
34. Mahmoud BS, Yamazaki K, Miyashita K, Il-Shik S, Dong-Suk C, Suzuki T. Bacterial microflora of carp (Cyprinus carpio) and its shelf-life extension by essential oil compounds. Food Microb. 2004; 21(6):657-66.
35. Molaee Aghaee E, Kamkar A, Akhondzadeh Basti A, Khanjari A, Kontominas MG. Effect of packaging with Chitosan biodegradable films formulated with Garlic essential oil (Allium sativum L.) on chemical properties of chicken fillet. Iran J Health & Env. 2015; 8(3): 379-390. [Article In Persian].
36. Zivanovic S, Chi S, Draughon AF. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. J Food Sci. 2005; 70(1): M45-M51.
37. Khanjari A, Karabagias I, Kontominas M. Combined effect of N, O-carboxymethyl chitosan and oregano essential oil to extend shelf life and control Listeria monocytogenes in raw chicken meat fillets. LWT-Food Sci Tech. 2013; 53(1): 94-99.
38. Molaee Aghaee E, Kamkar A, Akhondzadeh Basti A, Khanjari A, Kontominas MG. Antimicrobial effect of Garlic essential oil (Allium sativum L.) in combination with Chitosan biodegradable coating films. J Med Plant. 2016; 2(58) [Article In Persian].

Original Article

Effect of Packaging with Chitosan Film Containing Bunium Persicum L. Essential Oil on Chemical and Microbial Properties of Chicken Fillet

Kamkar A[1], Khanjari A[1], Oladi M[1], Molaee Aghaee E[1,2]*

1- Food Hygiene & Control Dept. Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
2- Environmental Health Engineering Dept. Food Hygiene & Safety Division, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 07 Jun 2016 Accepted: 22 Jan 2017

Abstract

Background & Objective: Herbal essential oils like Bunium persicum L. due to having anti-microbial and anti-oxidant properties can be effective in prolongation of food shelf life. Considering environmental consequences arising from plastic packs, biodegradable covering films such as chitosan combined with herbal essential oils are an appropriate approach to controlling the chemical and microbial factors of food. This study aimed at investigating the anti-microbial and anti-oxidant effect of Bunium persicum L. essential oil combined with chitosan film on chicken meat packaging.

Materials & methods: Chitosan films were prepared with different percentage of Bunium persicum L. essential oil (0, 1 & 2%). Films were produced after homogenization and molding using casting method with glycerol (plasticizer) and tween 80 (emulsifier). Chemical and microbial tests were performed on days 0, 2, 4, 7 and 10 on chicken fillets without film (control) and those having different films, which were stored in °ϥC. Statistical analysis was conducted using SPSS.

Results: Chicken samples packed with various films indicated lower values of chemical and microbial factors compared with control samples ($p \leq 0.05$) and generally, a dose-response trend was observed by addition of essential oil.

Conclusion: Chicken meat packing with chitosan film, especially by adding different levels of Bunium persicum L. essential oil can play an inhibitory role in increasing effective factors related to chemical and microbial spoilage.

Keywords: Chitosan film, Antimicrobial, Antioxidant, Bunium persicum L. essential oil, Chicken

***Corresponding author: Ebrahim Molaee Aghaee,** Environmental Health Engineering Dept. Food Hygiene & Safety Division, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Email: emolaeeaghaee@sina.tums.ac.ir