فعالیت ضدمیکروبی فیلم خوراکی پروتئین آب پنیر غنی شده با اسانس دارچین بر روی فیله‌های فیل‌ماهی در شرایط نگهداری در یخچال

*سمیه بهرام[۱]، مسعود رضایی[۲]، مهدی سلطانی[۳]، ابوالقاسم کمالی[۴] و سیدمهدی اجاق[۵]

[۱]دانشجوی دکتری گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران، [۲]دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران، [۳]استاد گروه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران، [۴]استاد گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران، [۵]استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۶/۱۵

چکیده

فیلم پروتئینی زیست تخریب‌پذیر از طریق همراهی اسانس دارچین در غلظت‌های ۰/٤، ۰/۸ و ۱/۵ درصد حجمی/ حجمی با کنسانتره پروتئین آب پنیر ساخته شد. سپس فعالیت ضدمیکروبی آن در برابر ٦ باکتری و یک قارچ شامل *Lactobacillus lactis* (PTCC 1366)، *Streptococcus agalactiae* (PTCC 1768)، *Pseudomonas putida* (PTCC 1694)، *Esherichia coli* (PTCC 3315)، *Listeria monocytogenes* (PTCC 1163)، *Bacillus subtilis* (ATCC 465) و قارچ *Candida albicans* مورد بررسی قرار گرفت. فیلم‌های شامل اسانس دارچین فعالیت ضدباکتریایی معنی‌داری را در برابر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و نیز اثرات بازداری معنی‌داری را در مقابل قارچ مورد بررسی نشان دادند. در روکش‌ها و محلول تشکیل‌دهنده فیلم ناحیه بازداری با افزایش غلظت اسانس دارچین در ماتریکس پلیمر افزایش پیدا کرد ($P<۰/۰۵$). به‌طورکلی ناحیه بازداری محلول تشکیل‌دهنده فیلم بالاتر از روکش‌ها بود. براساس نتایج، پوشش کنسانتره پروتئین آب پنیر شامل ۱/۵ درصد اسانس دارچین برای ارزیابی میکروبی گوشت فیل‌ماهی در شرایط سرد نگهداری (٤ درجه سانتی‌گراد) استفاده شد که توانست از رشد باکتری‌های کل و باکتری‌های سرماگرا فیله جلوگیری نماید.

واژه‌های کلیدی: کنسانتره پروتئین آب پنیر، دارچین، فعالیت ضدمیکروبی، فیل‌ماهی

مقدمه

ماده غذایی می‌تواند از طریق واکنش‌های شیمیایی، میکروبیولوژیکی و آسیب‌های فیزیکی فاسد شود. با این وجود، علت اصلی فساد غذا رشد و متابولیسم میکروبی است که منجر به تشکیل ترکیباتی با بوی نامطلوب و ناخوشایند می‌شود (Mohan و همکاران، ۲۰۱۰). بیماری ناشی از مصرف غذاهای آلوده شده با باکتری‌های پاتوژن موجب نگرانی مهم در سلامت عمومی شده است. به‌نظر می‌رسد برای کاهش موارد خطرناک سلامتی استفاده از فرآورده‌های طبیعی مثل ترکیبات ضدمیکروب راه جالبی برای کنترل باکتری‌های پاتوژن و توسعه زمان ماندگاری غذاهای فرآوری شده باشد (Oussalah و همکاران، ۲۰۰۷). از طرفی گروهی از مصرف‌کنندگان خواهان استفاده از غذاهای طبیعی، بدون افزودنی‌های شیمیایی، از نظر میکروبی سالم و نیز بسته‌بندی شده در مواد مناسب از نظر زیست‌محیطی می‌باشند (Wang و همکاران، ۲۰۰۷؛ Campos و

*مسئول مکاتبه: bahramsomi@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

همکاران، ۲۰۱۰؛ Siripatrawan و Harte، ۲۰۱۰؛ Kuorwel و همکاران، ۲۰۱۱). برای برآورده کردن این خواسته یکی از چالش‌های بزرگ در صنایع غذایی کاهش افزودنی‌های شیمیایی رایج و استفاده از ترکیبات طبیعی در فرمولاسیون غذاست (Sánchez-González و همکاران، ۲۰۱۱). اسانس‌های گیاهی از جمله ترکیبات طبیعی هستند که خواص ضدمیکروبی آنها توسط پژوهشگران مختلف به اثبات رسیده است (Burt، ۲۰۰٤؛ Oussalah و همکاران، ۲۰۰۷؛ Mejholm و Dalgaard، ۲۰۰۲). آن‌ها می‌توانند به‌عنوان یک منبع خوب از عوامل ضدمیکروب در برابر پاتوژن‌های غذا به‌کار گرفته شوند. برای مثال؛ در برخی از مطالعات منتشر شده امکان استفاده از اسانس‌های گیاهی مانند دارچین و میخک به‌عنوان ترکیبات ضدمیکروب طبیعی در شیر و ماهی، مریم گلی و آویشن برای نگهداری پنیر پیشنهاد شده است (Gómez-Estaca و همکاران، ۲۰۱۰؛ Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰a). اسانس‌های گیاهی و ترکیبات مؤثر آن‌ها در برابر انواع گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت فعال شناخته شدند. معمولاً باکتری‌های گرم منفی به‌دلیل داشتن دیواره لیپو پلی‌ساکاریدی در غشاء خارجی خود نسبت به باکتری‌های گرم مثبت در برابر اسانس‌ها مقاومت بیش‌تری نشان می‌دهند، هر چند در برخی بررسی‌ها باکتری‌های گرم مثبت مقاومتی مانند باکتری‌های گرم منفی نشان دادند (Oussalah و همکاران، ۲۰۰۷). با این وجود استفاده از اسانس‌ها در بخش نگهداری غذا به‌دلیل هزینه به‌کارگیری و دیگر مشکلات مانند شدت بو و سمیت بالقوه، انتشار غیرکنترل‌شده این مواد به داخل فرآورده‌های غذایی و همچنین غیرفعال شدن بخشی از ترکیبات فعال آن‌ها به‌دلیل واکنش با بسیاری از مواد غذایی مانند ماهی، محدود می‌شود. ماهی در طول نگهداری در یخچال بسیار فسادپذیر است که این به‌طور اساسی به‌دلیل رشد سریع میکروارگانیسم‌هایی است که به‌طور طبیعی در ماهی وجود دارند و یا طی آلودگی ثانویه در ماهی رشد می‌کنند که خود موجب ضررهای اقتصادی و مشکلات مرتبط با سلامت می‌شود. یک استراتژی جالب برای کاهش دوز مصرفی اسانس با حفظ اثر بخشی آن‌ها می‌تواند همراهی این ترکیبات طبیعی با فیلم‌های خوراکی باشد (Sánchez-González و همکاران، ۲۰۱۱؛ Gómez-Estaca و همکاران، ۲۰۱۰). برتری اصلی این تکنولوژی آن است که نرخ انتشار عوامل ضدمیکروب را به داخل فرآورده کند می‌کند و به این ترتیب غلظت‌های بالایی از ترکیبات فعال را برای دوره‌های زمانی طولانی در سطح فرآورده، جایی‌که بیش‌تر در معرض هجوم باکتری‌ها می‌باشد، حفظ می‌کند. به‌علاوه، اضافه کردن عصاره‌های گیاهی به پوشش‌های خوراکی به آن‌ها ویژگی ضدمیکروبی و ضداکسیدانی می‌دهد (Gómez-Estaca و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین این روکش‌ها به‌دلیل زیست تخریب‌پذیربودن‌شان در بین مصرف‌کنندگان از محبوبیت بسیاری برخوردار هستند (Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰a) و می‌توانند به‌عنوان جایگزین بالقوه برای مواد پلاستیکی مورد استفاده در صنعت بسته‌بندی مواد غذایی که مشکلات فراوانی را از نظر آلودگی‌های زیست‌محیطی ایجاد کرده‌اند، مورد استفاده واقع شوند (Gómez-Estaca و همکاران، ۲۰۱۰). فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی می‌توانند از انواع گسترده‌ای از مواد خام شامل هیدروکلوئیدها (پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها)، چربی‌ها و کامپوزیت‌ها (ترکیبی ساخته شده از دو طبقه قبلی) آماده شوند که در بسیاری از موارد فرآورده‌های جنبی صنایع مختلف هستند. در بین آن‌ها فیلم‌ها و پوشش‌های پروتئینی به‌دلیل ویژگی‌های عملکردی و تغذیه‌ای بیش‌تر مورد توجه‌اند.

پروتئین آب پنیر به‌عنوان فرآورده جنبی کارخانجات پنیرسازی، به مقدار زیاد تولید می‌شود. کنسانتره پروتئین آب پنیر می‌تواند فیلم‌های شفاف، انعطاف‌پذیر،

Archive of SID

www.SID.ir

بدون رنگ و بو با ویژگی‌های سدی خوب در برابر گازها، مواد معطر و روغن و ویژگی سدی ضعیف در مقابل آب تولید کند (Morr و Ha، ۱۹۹۳).

بنابراین هدف از این پژوهش تقویت خواص ضدمیکروبی فیلم پروتئین آب پنیر با اسانس دارچین برای کنترل رشد باکتری‌های بیماری‌زا و استفاده از آن برای نگهداری فرآورده‌های دریایی با حساسیت بالا به فساد باکتریایی در شرایط نگهداری در یخچال می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تولید روکش‌های خوراکی از کنسانتره پروتئین آب پنیر: ابتدا محلول ۸ درصد (وزنی- حجمی) پودر کنسانتره پروتئینی آب پنیر (شرکت DMV، هلند) در آب مقطر تهیه گردید. سپس محلول تهیه شده به‌مدت ۳۰ دقیقه درون بن‌ماری در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و توسط ظرف محتوی یخ سرد شد. بعد از آن گلیسرول به‌عنوان نرم‌کننده به‌میزان برابر با پودر کنسانتره پروتئینی آب پنیر (وزنی- وزنی) به محلول اضافه شد (Chae و Heo، ۱۹۹۷). پس از سرد شدن محلول به ٤ بخش مساوی تقسیم شد. به این ترتیب محلول‌های شامل اسانس دارچین به‌طور جداگانه در غلظت‌های ۰/٤، ۰/۸ و ۱/۵ درصد حجمی- حجمی تهیه شد و به یک بخش نیز اسانسی افزوده نشد. قبل از افزودن اسانس، توئین ۸۰ به‌عنوان امولسیفایر به‌میزان ۰/۲ درصد حجم اسانس به محلول اضافه گردید. سپس به‌مدت ۳۰ دقیقه عمل هم‌زدن به آرامی صورت گرفت تا امولسیفایر به‌صورت یکنواخت درون محلول پخش شود. پس از آن اسانس دارچین در غلظت‌های ذکر شده به هر کدام از محلول‌ها اضافه گردید و به‌مدت ۲ دقیقه عمل هم‌زدن صورت گرفت تا اسانس‌ها به‌طور یکنواخت در مجموعه پخش شوند (Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰a). چون محلول‌های تشکیل‌دهنده پوشش مراحل هم‌زدن شدیدی را گذرانده بودند و نیز به‌علت وجود امولسیفایر، کف زیادی در محلول‌ها تشکیل شده بود، محلول به‌مدت ٢٤ ساعت در یخچال (دمای ٤ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت تا هواگیری به‌طور کامل انجام شود. پس از آن برای خارج شدن حلال (آب) ١٦٠ گرم از هر محلول به آرامی درون قاب‌های شیشه‌ای ریخته شد. سپس قاب‌ها در یک سطح کاملاً تراز قرار داده شدند تا در دمای محیط خشک شده و روکش‌ها تشکیل شوند. پس از تشکیل روکش‌ها، عمل جدا کردن آن‌ها از قاب‌های شیشه‌ای صورت گرفت. سپس این روکش‌ها تا زمان انجام آزمایش میکروبی برای تعدیل رطوبتی (رسیدن به وزن ثابت) درون چمبر با رطوبت نسبی ۵۰±۲ درصد و دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

بررسی فعالیت ضدمیکروبی محلول تشکیل‌دهنده فیلم و روکش‌های خوراکی: فعالیت ضدمیکروبی محلول تشکیل‌دهنده فیلم و روکش‌های خوراکی بر روی ٦ میکروارگانیسم پاتوژن و عامل فساد شامل: *Lactobacillus lactis* (PTCC 1366)، *Streptococcus agalactiae* (PTCC 1768)، *Pseudomonas putida* (PTCC 1694)، *Esherichia coli* (PTCC 3315)، *Listeria monocytogenes* (PTCC 1163)، *Bacillus subtilis* (ATCC 465) و قارچ *Candida albicans* با استفاده از روش نفوذ در محیط آگاردار (Agar diffusion method) مورد بررسی قرار گرفت. میکروارگانیسم‌های مورد بررسی از دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس تهیه گردیدند. ارگانیسم‌ها به‌مدت یک شبانه‌روز در محیط کشت ب اچ آی آگار (BHI-agar) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند. ۷۰ میکرولیتر از محلول‌های مختلف تشکیل‌دهنده فیلم بر روی چاهک‌هایی به قطر

Archive of SID
www.SID.ir

۷/۹ میلی‌متر در محیط کشت مولر هینتون آگار (MH-agar) ریخته شد. روکش‌های خوراکی تولید شده با استفاده از یک قالب به دیسک‌هایی به قطر ۱۳/٤ میلی‌متر تبدیل شدند. قبل از قرار دادن دیسک‌ها بر روی سطح محیط کشت، عمل کشت سطحی با استفاده از ۰/۱ میلی‌لیتر کشت مایع (تقریباً برابر با $۱۰^{۷}$-$۱۰^{٦}$) هر کدام از باکتری‌های مورد آزمایش انجام گرفت. سپس پلیت‌ها ٤۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه قرار گرفتند. قطر هاله‌های تشکیل شده با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۲ میلی‌متر اندازه‌گیری شد و سپس از قطر دیسک کم شد. این اختلاف به‌عنوان ناحیه بازداری محلول تشکیل‌دهنده فیلم و روکش‌ها گزارش شد (Gómez-Estaca و همکاران، ۲۰۱۰).

تهیه محلول پوششی از کنسانتره پروتئین آب پنیر: بریا تهیه پوشش پروتئین آب پنیر، نخست محلول ۸ درصد (وزنی- حجمی) پروتئین آب پنیر در آب مقطر تهیه گردید و برای انحلال کامل و یکنواخت، محلول به‌مدت ۱ ساعت بر روی هم‌زن مغناطیسی قرار داده شد. محلول بالا به‌مدت ۳۰ دقیقه بر روی حمام آبی قرار گرفت و پس از سرد شدن توسط یخ به مقدار مشابه با پودر پروتئین به‌کار رفته، گلیسرول به محلول اضافه شد و به‌مدت ۲۰ دقیقه با هم‌زن مخلوط گردید سپس توئین ۸۰ به‌میزان ۰/۲ درصد حجم اسانس به محلول اضافه شد و پس از ۳۰ دقیقه هم‌زدن توسط هم‌زن به‌میزان ۱/۵ درصد اسانس دارچین به محلول اضافه شد که به‌مدت ۲ دقیقه با هموژنایزر مخلوط شد. محلول کنترل با همین روش و بدون افزودن توئین و اسانس دارچین تهیه شد.

آماده‌سازی ماهی و تهیه تیمارهای مورد نیاز

آماده‌سازی ماهی: فیل‌ماهی مورد نیاز از مزرعه پرورش ماهی واقع در شهرستان بابلسر خریداری شد و با رعایت شرایط صحیح انتقال به آزمایشگاه فرآوری دانشکده علوم دریایی دانشگاه دانشکده تربیت مدرس منتقل گردید و پس از آماده‌سازی ماهی فیله‌هایی با وزن ۱۰۰-۸۰ گرم تهیه شد.

ایجاد پوشش بر روی فیله‌ماهی: برای ایجاد پوشش بر سطح فیله‌ها، ابتدا فیله‌ها به‌مدت ۱ دقیقه در محلول‌های تهیه شده غوطه‌ور گردیدند. سپس آن‌ها را از محلول خارج نموده و پس از گذشت تقریباً ۲ دقیقه، دوباره ۱ دقیقه دیگر در محلول پوششی قرار گرفتند. نمونه‌های کنترل بدون پوشش باقی ماندند. برای خشک کردن فیله‌ها آن‌ها را به‌مدت ۵ ساعت از صفحات مشبک استریل آویزان نموده و در دمای محیط (حدود ۱۰ درجه سانتی‌گراد) تا تشکیل پوشش بر روی فیله‌ها باقی ماندند (Jeon و همکاران، ۲۰۰۲؛ Yingyuad و همکاران، ۲۰۰٦) پس از خشک شدن پوشش، فیله‌ها به یخچال منتقل شده و در دمای ٤±۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ روز نگهداری شدند و در فواصل زمانی ٤ روز مورد ارزیابی میکروبی قرار گرفتند. لازم به ذکر است که یک تیمار بدون پوشش نیز به‌عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد.

آنالیز میکروبی نمونه‌ها: برای شمارش باکتریایی نمونه‌ها، ۱۰ گرم از نمونه گوشت فیله در شرایط استریل با ۹۰ میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم ۰/۸۵ مخلوط و هموژن شد و به دنبال آن رقت‌های مورد نیاز تهیه گردید. ۱ میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پور پلت مورد استفاده قرار گرفت. شمارش تعداد باکتری‌های کل و باکتری‌های سرماگرا در محیط پلیت کانت آگار به‌ترتیب در دماهای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ روز و ۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ روز با شمارش کلنی‌های موجود بر روی پلیت انجام گرفت. تمامی شمارش‌ها به‌صورت log CFU/g گزارش گردید (Hernández و همکاران، ۲۰۰۹؛ Ibrahim Sallam، ۲۰۰۷؛ Arashisara و همکاران، ۲۰۰٤).

Archive of SID

www.SID.ir

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده با نرم‌افزار SPSS17 انجام پذیرفت. به‌منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی به‌دست آمده از آزمایش‌های میکروبی از آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح معنی‌دار ۵ درصد استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج فعالیت ضدمیکروبی محلول تشکیل‌دهنده فیلم و روکش‌های خوراکی در غلظت‌های مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است. روکش‌ها و محلول تشکیل‌دهنده فیلم بدون اسانس (شاهد) هیچ اثر بازداری را در برابر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی نشان ندادند. این نتایج در موافقت با نتایج به‌دست آمده توسط Cagri و همکاران (۲۰۰۱) در مورد فیلم‌های پروتئین آب پنیر می‌باشد. محلول فیلم و روکش‌های شامل اسانس دارچین بازداری قابل‌توجهی را در برابر بیش‌تر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی نشان دادند. اثر ضدباکتریایی اسانس با ایجاد ناحیه بازداری مشاهده شد. اضافه کردن اسانس دارچین به پروتئین آب پنیر موجب انتشار اسانس به محیط کشت و فراهم کردن ناحیه بازداری اطراف فیلم و محلول تشکیل‌دهنده آن شد. فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌ها را به ترکیبات فرار موجود در آن‌ها نسبت داده‌اند. اسانس دارچین شامل مقادیر بالایی از سینامالدهید[1] و اجنول[2] می‌باشد (Hosseini و همکاران، ۲۰۰۹؛ Ojagh و همکاران، a۲۰۱۰). Ouattara و همکاران (۱۹۹۷) گزارش نمودند که در اسانس‌هایی که اثرات بازدارندگی کمی داشتند، اجنول و سینامالدهید نیز وجود نداشتند و یا به‌میزان کمی وجود داشتند؛ بنابراین بیان نمودند که حضور اجنول و سینامالدهید می‌تواند به‌طور مستقیم با خواص ضدباکتریایی مرتبط باشد. با بررسی‌های مختلف مشخص شد که اسانس دارچین می‌تواند از رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی جلوگیری کند (Ouattara و همکاران، ۲۰۰۰؛ Chang و همکاران، ۲۰۰۱؛ Valero و Salmerón، ۲۰۰۲؛ Rojas-Graü و همکاران، ۲۰۰۶؛ Goñi و همکاران، ۲۰۰۹؛ Ojagh و همکاران، a۲۰۱۰). نتایج نشان داد که هم در محلول تشکیل‌دهنده فیلم و هم فیلم‌های خوراکی با افزایش غلظت اسانس در ماتریکس پلیمر ناحیه بازداری افزایش پیدا کرد. در غلظت ۱/۵ درصد اسانس حساس‌ترین باکتری ***Bacillus subtilis*** بود که ناحیه بازداری آن برای محلول تشکیل‌دهنده فیلم و روکش‌های خوراکی به‌ترتیب ٤٥/٧٤ و ۳۷/۲۵ میلی‌متر بود. باکتری ***Bacillus subtilis*** یک گرم مثبت بوده و اصولاً باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر اسانس‌ها حساس‌ترند (Sánchez-González و همکاران، ۲۰۱۱).

همچنین در غلظت ۱/۵ درصد اسانس دارچین کم‌ترین ناحیه بازداری در باکتری ***Streptococcus agalactiae*** مشاهده شد که به‌ترتیب در فیلم و محلول تشکیل‌دهنده آن ۱۹/۷۹ و ۱۵/۳٦ میلی‌متر بود که همانند باکتری‌های گرم منفی مقاوت بالایی نشان داد. مطالعاتی وجود دارد که به مقاومت مشابه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و حتی مقاومت بالاتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی اشاره نموده‌اند (Ojagh و همکاران، a۲۰۱۰). در این مطالعه باکتری ***Listeria monocytogenes*** مقاومتی مانند باکتری گرم منفی نشان داد. در بررسی Ojagh و همکاران (a۲۰۱۰) بر روی خواص ضدباکتریایی اسانس دارچین در برابر پنج باکتری عامل فساد گوشت ماهی، باکتری گرم مثبت ***Listeria monocytogenes*** تقریباً مقاومتی مانند باکتری‌های گرم منفی نشان داد. این اختلاف در مقاومت باکتری‌های گرم مثبت در

1- Cinnamaldehyde
2- Eujenol

Archive of SID
www.SID.ir

برابر اثرات اسانس‌ها ممکن است در نتیجه مقاومت بین سویه‌های مختلف باشد (Gómez-Estaca و همکاران، ۲۰۱۰). به‌طورکلی ناحیه بازداری در محلول تشکیل‌دهنده فیلم نسبت به فیلم‌های خوراکی بالاتر بود که ممکن است به‌دلیل انتشار غلظت بالاتر اسانس از محلول نسبت به فیلم باشد. فعالیت ضدقارچی فیلم‌های پروتئین آب پنیر فعال شده در برابر قارچ *Candida albicans* در جدول ۱ نشان داده شد. فیلم‌های شامل اسانس دارچین فعالیت ضدقارچی قابل‌توجهی را نشان دادند و همان‌طورکه انتظار می‌رفت، ناحیه بازداری بر ضدقارچ در محلول تشکیل‌دهنده فیلم به‌طور معنی‌داری با افزایش غلظت اسانس دارچین افزایش پیدا کرد ($P<0/05$). با این وجود، در فیلم خوراکی شامل ۰/٤ و ۰/۸ درصد اسانس دارچین هیچ ناحیه بازداری مشاهده نشد. با افزایش اسانس دارچین به ۱/۵ درصد ناحیه بازداری مشاهده شد (۱۸/۸۷ میلی‌متر). این نتایج موافق با یافته‌های Dalirsani و همکاران (۲۰۱۱) و Singh و همکاران (۱۹۹۵) است که گزارش کردند دارچین می‌تواند از رشد قارچ جلوگیری کند.

جدول ۱- فعالیت ضدباکتریایی (ناحیه بازداری) محلول‌ها و روکش‌های شامل غلظت‌ها مختلف اسانس دارچین در برابر میکروب (میلی‌متر).

نوع محلول	*L. lactis*	*S. agalactiae*	*L. monocytogenes*	*B. subtilis*	*P. putida*	*E. coli*	*C. albicans*
شاهد	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
م- د (۰/٤)	۱۲/۸۳±۰/۷۳^{c*}	۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۱٤/۹۱±۰/۸۷^{b}	۲۸/۵٦±٤/٤^{c}	۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۲۰/۱۷±۱/۰۵^{b}	۱۵/۰٤±۰/۹۵^{b}
م- د (۰/۸)	۱۷/۲۲±۰/۱٦^{b}	۱۳/٤۷±۰/٦٤^{b}	۱۵/۸۰±٤/۰٦^{b}	۳٦/۰۲±٤/۰۳^{b}	۲۲/۰۰±۱/۰۰^{b}	۲۰/۳٦±۱/٦۱^{b}	۱۲/۳۰±۱/۱۰^{b}
م-د (۱/۵)	۳۰/۵۹±۱/۵۳^{a}	۱۹/۷۹±۰/۷٤^{a}	۲٤/۹٦±۲/۹٦^{a}	٤۵/۷٤±۲/۰۱^{a}	۲٦/۲۱±۳/۲۳^{a}	۲۸/۱۷±۰/٤۷^{a}	۲٤/۸۱±۵/٦٦^{a}
ر-د (۰/٤)	۰/۰۰±۰/۰۰^{C}	۰/۰۰±۰/۰۰^{B}	۰/۰۰±۰/۰۰^{C}	۲۱/۳٤±۵/۰۹^{C}	۰/۰۰±۰/۰۰^{B}	۲۰/٦۷±۳/۵^{B}	۰/۰۰±۰/۰۰^{B}
ر-د (۰/۸)	۱۵/۸۹±۰/۹۹^{B}	۰/۰۰±۰/۰۰^{B}	۱۷/۷۱±۱/۳۰^{B}	۳۰/٤۵±۲/۷۹^{B}	۰/۰۰±۰/۰۰^{B}	۲٤/٦۹±٤/۱^{B}	۰/۰۰±۰/۰۰^{B}
ر-د (۱/۵)	۲۳/۲۷±۱/۲^{A}	۱۵/۳٦±۰/٤۷^{A}	۲۵/۸۰±۳/۵^{A}	۳۷/۲۵±۱/۹٦^{A}	۲۲/۱۸±۱/۲۹^{A}	۲۵/۳۳±۳/۰۲^{A}	۱۸/۸۷±۲/۳۵^{B}

ش: شاهد؛ م- د: محلول پروتئین آب پنیر غنی شده با اسانس دارچین؛ م- ر: روکش پروتئین آب پنیر غنی شده با اسانس دارچین.

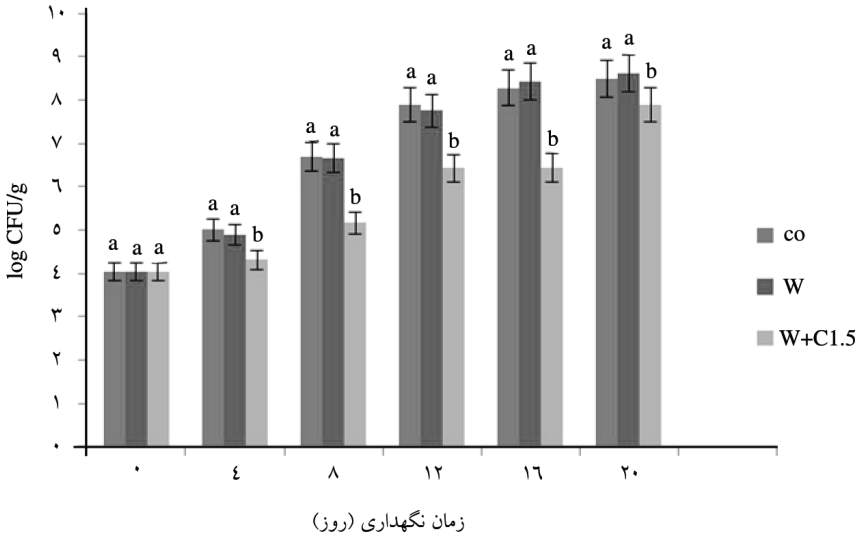
* میانگین ± معیارانحراف؛ حروف کوچک در هر ستون نشان از تفاوت معنی‌دار در محلول‌های مختلف پروتئین آب پنیر است.

حروف بزرگ در هر ستون نشان از تفاوت معنی‌دار در روکش‌های مختلف پروتئین آب پنیر است.

تغییرات بار میکروبی کل در شکل ۱ نشان داده شده است. میزان بار باکتریایی کل برای فیل‌ماهی در روز صفر نگهداری ٤/۰۳ log CFU/g بود. با افزایش زمان نگهداری این مقدار در همه تیمارها افزایش یافت. افزایش بار میکروبی کل در گوشت ماهی طی نگهداری ثابت شده است (Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰b؛ Lu و همکاران، ۲۰۰۸). تا روز هشتم نگهداری میزان بار باکتریایی کل برای همه تیمارها در حد قابل‌قبول برای ماهی (۷log CFU/g) بود (Ibrahim Sallam، ۲۰۰۷). هر چند تیمار شاهد و تیمار پوششی بدون اسانس دارچین به این عدد نزدیک‌تر بودند. پوشش فیله‌ماهی با پروتئین آب پنیر غنی شده با اسانس دارچین موجب کند شدن رشد میکروبی به مقدار ٦/٤٤ و ۷/۹۸ log CFU/g به‌ترتیب در روزهای شانزدهم و بیستم نگهداری شد. میزان بار میکروبی کل تیمار پوششی شامل اسانس دارچین تا روز شانزدهم نگهداری در حد قابل‌قبول برای ماهی بود و تنها در روز بیستم نگهداری از حد مجاز برای ماهی گذشت. پیش از این نیز اثرات ضدمیکروبی اسانس دارچین در افزایش زمان نگهداری ماده غذایی به اثبات رسیده بود. در بررسی انجام شده توسط Mejholm و Dalgaard (۲۰۰۲) دریافتند که به‌کارگیری اسانس

Archive of SID
www.SID.ir

مرزنگوش و دارچین به‌همراه سیستم بسته‌بندی در اتمسفر تعدیل شده ضمن داشتن اثرات ضدباکتریایی قوی موجب افزایش مدت زمان نگهداری در فیله‌ماهی کاد شده است. همچنین Ojagh و همکاران (۲۰۱۰b) گزارش نمودند که استفاده از پوشش کیتوزان به‌همراه اسانس دارچین توانست بار میکروبی کل را در ماهی قزل‌آلا کاهش دهد و زمان ماندگاری ماهی را طی نگهداری در یخچال افزایش دهد.

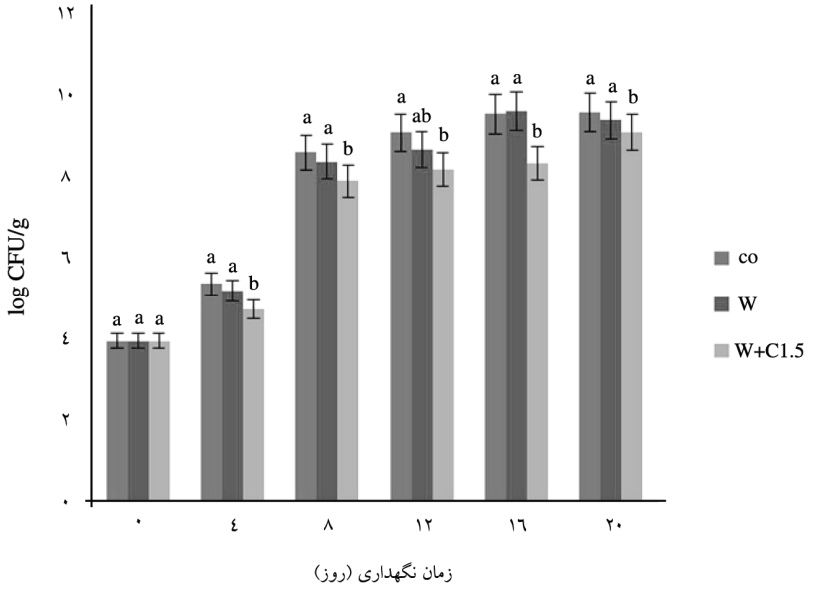


شکل ۱- تغییرات در مجموع بار باکتریایی کل تیمارهای مختلف نگهداری شده در دمای یخچال.

co: تیمار شاهد، W: تیمار پروتئین آب پنیر بدون اسانس دارچین، W+C1.5: تیمار پروتئین آب پنیر شامل ۱/۵ درصد اسانس دارچین. حروف کوچک متفاوت در هر فاز نشان از تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است.

تغییرات در تعداد باکتری‌های سرماگرا در شکل ۲ نشان داده شده است. باکتری‌های سرمادوست گرم منفی گروه اصلی از باکتری‌های عامل فساد گوشت ماهی طی شرایط نگهداری به‌صورت سرد هستند (Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰b). تعداد باکتری‌های سرما گرا در روز صفر نگهداری ۳/۹۸ log CFU/g بوده است. میزان این باکتری‌ها با گذشت زمان نگهداری افزایش پیدا کرد. تعداد این باکتری‌ها در روز بیستم نگهداری به ۹/۵٤، ۹/۵۲ و ۸/۹٦ log CFU/g به‌ترتیب در تیمار شاهد، تیمار پوششی بدون اسانس و تیمار پوششی با اسانس دارچین رسید. به‌طورکلی تیمار پوششی شامل ۱/۵ درصد اسانس دارچین تعداد باکتری‌های کم‌تری نسبت به دو تیمار دیگر داشتند. که این نتایج با نتایج به‌دست آمده توسط سایر پژوهشگران مطابقت دارد (Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰b؛ Lu و همکاران، ۲۰۰۹).

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۲- تغییرات تعداد باکتری‌های سرماگرا تیمارهای نگهداری شده در دمای یخچال.

co: تیمار شاهد، W: تیمار پروتئین آب پنیر بدون اسانس دارچین، W+C1.5: تیمار پروتئین آب پنیر شامل ۱/۵ درصد اسانس دارچین. حروف کوچک متفاوت در هر فاز نشان از تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است.

به‌طورکلی نتایج اندازه‌گیری بار میکروبی فیله‌ماهی نشان داد بین تیمار شاهد با تیمار پروتئین آب پنیر بدون اسانس دارچین، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (P>۰/۰۵). این با نتایج به‌دست آمده در جدول ۱ که نشان داد محلول تشکیل‌دهنده فیلم پروتئین آب پنیر بدون اسانس دارچین بدون فعالیت‌های ضدمیکروبی است، مطابقت دارد. همچنین به‌دلیل آب‌دوست بودن پوشش پروتئینی و نیز فعالیت آبی بالای بافت ماهی احتمالاً پوشش بدون اسانس نتوانسته سد خوبی در برابر اکسیژن باشد و به این دلیل همانند تیمار شاهد نتوانسته مانع رشد باکتری شود. پیش از این اثبات شده که همراهی اسانس دارچین با روکش‌های خوراکی آب‌دوست ضمن تقویت خواص ضدباکتریایی روکش‌ها منجر به کاهش آب‌دوستی روکش‌ها می‌شود (Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰a).

منابع

1.Arashisara, S., Hisara, O., Kayab, M., and Yanik, T., 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout. (*Oncorynchus mykiss*) fillets. Inter. J. Food Microbiol. 97, 209-214.
2.Burt, S.A., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. Inter. J. Food Microbiol. 94, 223-253.
3.Cagri, A., Ustunol, Z., and Ryser, E.T., 2001. Antimicrobial, mechanical and moisture barrier properties of low pH whey proteind-based edible films containing p-aminobenzoic or Sorbic acids. J. Food Sci. 66 (6), 865-870.
4.Campos, C.A., Gerschenson, L.N., and Flores, S.K., 2010. Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. Food and Bioprocess Technology. 4, 849-875.
5.Chae, S., and Heo, T.R., 1997. Production and properties of edible films using whey protein. Biotechnology and Bioprocessing Engineering. 2, 122-125.

Archive of SID
www.SID.ir

6.Chang, S.T., Chen, P.F., and Chang, S.C., 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. J. Ethnopharmacol. 77, 123-127.
7.Dalirsani, Z., Adibpour, M., Aghazadeh, M., Amirchaghmaghi, M., Falaki, F., Mohsannen Mozafari, P., and Mojara Hamzei, F., 2011. In vitro comparision of inhibiyory activity of 10 plant extracts against *Candida albicans*. Austr. J. Basic Appl. Sci. 5, 930-935.
8.Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., López-Caballero, M.E., Gómez-Guillén, M.C., and Montero, P., 2010. Biodegradable gelatine-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. Food Microbiology. 27, 889-896.
9.Gómez-Estaca, J., Montero, P., Giménez, B., and Gómez-Guillén, M., 2007. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). Food Chemistry. 105 (2), 511-520.
10.Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R., and Nerín, C., 2009. Antimicrobial activity in the vapour phase of combination of cinnamon and clove essential oils. Food Chem. 116, 982-989.
11.Hernández, M.D., López, M.B., Álvarez, A., Ferrandini, E., GarcíaGarcía, B., and Garrido, M.D., 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquaculture dmeagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. Food Chemistry. 114, 237-245.
12.Hosseini, M., Razavi, S., and Mousavi, M., 2009. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. J. Food Process. Preserv. 33, 727-743.
13.Ibrahim Sallam, K., 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control. 18, 566-575.
14.Jeon, Y.I., Kamil, J.Y.V.A., and Shahidi, F., 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. J. Agric Food Chem. 20, 5167-5178.
15.Kuorwel, K.K., Carn, M.J., Sonneveld, K., Miltz, J., and Bigger, S.W., 2011. Antimicrobial activity of biodegradable polysaccharide and protein-based films containing active agents. J. Food Sci. 76, 90-102.
16.Lu, F., Liu, D., Ye, X., Wei, Y., and Liu, F., 2009. Alginate–calcium coating incorporating Nisin and EDTA maintains the quality of fresh northern snakehead (*Channa argus*) fillets stored at 4 °C. J. Food Sci. Agric. 89, 848-854.
17.Mejholm, O., and Dalgaard, P., 2002. Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism photobacterium phosphoreum in liquid media and fish products. Lett. Appl. Microbiol. 34, 27-31.
18.Morr, C.V., and Ha, E.Y.W., 1993. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional. Food Sci. Nutr. 33 (6), 431-476.
19.Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., and Hosseini, S.M.H., 2010a. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry. 120, 193-198.
20.Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., and Hosseini, S.M.H., 2010b. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry. 120, 193-198.
21.Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P., and Be´gin, A., 1997. Inhibitory effect of organic acids upon meat spoilage bacteria. J. Food Prot. 60, 246-253.
22.Ouattara, B., Simard, R.E., Piette, G., Bégin, A., and Holley, R.A., 2000. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. Inter. J. Food Microbiol. 62, 139-148.
23.Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., and Lacroix, M., 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E coli* 0157: H7, *Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control. 18, 414-420.
24.Rojas-Graü, M.A., Avena-Bustillus, R.J., Friedman, M., Henika, P.R., Martín-Belloso, O., and Mchugh, T., 2006. Mechanical, Barrier and antimicrobial Properties of Apple puree Edible Films Containing Plant Essential Oil. J. Agric. Food Chem. 54, 2262-2267.

Archive of SID
www.SID.ir

25.Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., and Cháfer, M., 2011. Use of Essential oils in Bioactive Edible Coatings. Food Engineering Reviews. 3, 1-16.
26.Singh, H.B., Srivastava, M., Singh, A.B., and Srivastava, A.K., 1995. Cinnamon bark oil, apotent fungitoxicant agent fungi causing respiratory tract mycoses. Allergy. 50, 995-9.
27.Siripatrawan, U., and Harte, B.R., 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film form chitosan incorporated with green tea extract. Food Hydrocolloids. 23, 536-547.
28.Valero, M., and Salmeron, M.C., 2002. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. International Food Microbiology. 85, 73-81.
29.Wang, L., Liu, L., Holmes, J., Kerry, J.F., and Kerry, J.P., 2007. Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysacharied-based biopolymer films. J. Food Sci. Technol. 42, 1128-1138.
30.Yingyuad, S., Ruamsin, S., Reekprkhon, D., Douglas, S., Pongamphai, S., and Siripatrawan, U., 2006. Effect of chitosan coating and vacuum packaging on the quality of refrigerated grilled pork. Packaging Technology and Science. 19, 149-157.

Archive of SID

www.SID.ir