ارزیابی اثر ضدمیکروبی اسانس سیر (*Allium sativum* L.) در ترکیب با فیلم‌های پوشش‌دهنده و زیست تخریب‌پذیر کیتوزان

ابراهیم مولایی‌آقایی[1]، ابوالفضل کامکار[2*]، افشین آخوندزاده بستی[3]، علی خنجری[4]، مایکل کونتومیناس[5]

۱- دانشجوی دکترای تخصصی، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۲- دانشیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۳- استاد، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۴- استادیار، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۵- استاد، گروه تکنولوژی و شیمی مواد غذایی، دانشگاه یوآنینا، یونان
* آدرس مکاتبه: تهران، خیابان آزادی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی
کدپستی: ۱۴۱۹۹۶۳۱۱۱، تلفن: ۰۹۱۲۶۴۸۵۴۵۹
پست الکترونیک: akamkar@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۳۱ **تاریخ تصویب:** ۹۴/۶/۲۹

چکیده

مقدمه: ترکیبات گیاهی متعددی نظیر اسانس سیر با داشتن ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌توانند در ترکیب با پوشش فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر با منشاء طبیعی مانند کیتوزان در کنترل عوامل میکروبی محتویات خود مؤثر باشند و منجر به تقویت اثرات فوق شوند.

هدف: افزایش اثر ضدمیکروبی بوسیله اسانس سیر در فیلم کیتوزان جهت بسته‌بندی یک مدل غذایی برای نمونه مورد توجه قرار گرفت.

روش بررسی: فیلم کیتوزان به روش کستینگ با استفاده از گلیسرول (پلاستیسایزر) و توین۸۰ (امولسیفایر) همراه با سطوح مختلف اسانس سیر (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد) پس از هموژن کردن و قالب‌گیری تهیه شد. بعد از بسته‌بندی ماده غذایی با فیلم‌های مختلف و نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در روزهای ۰، ۲، ۴، ۷، ۱۰ و ۱۴ آزمون‌های میکروبی انجام گرفت. آنالیز آماری بوسیله نرم افزار SPSS صورت پذیرفت.

نتایج: نمونه‌های کنترل در مقایسه با نمونه‌های بسته‌بندی شده با انواع فیلم کیتوزان در شمارش کلی، کلیفرم، استافیلوکوکوس اورئوس و سرماگراها اختلاف معنی‌داری نشان دادند. در پایان میزان شمارش کلی ماده غذایی بسته‌بندی شده با فیلم کیتوزان حاوی ۲، ۱ و ۰/۵ درصد اسانس سیر به ترتیب به میزان ۱/۵، ۱/۱ و ۱ لگاریتم نسبت به کنترل کاهش داشت.

نتیجه‌گیری: افزودن اسانس سیر تأثیر هم‌افزایی قابل توجهی در بازدارندگی میکروبی در بسته‌بندی با فیلم‌های کیتوزان دارد. لذا این ترکیب می‌تواند در آینده به عنوان پوشش جهت افزایش ماندگاری مواد غذایی و بعضاً ترکیبات دارویی مورد استفاده قرار گیرد.

گل‌واژگان: اسانس سیر، بازدارندگی میکروبی، فیلم کیتوزان

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

امروزه با توجه به عوارض جانبی و نامطلوب نگهدارنده‌های شیمیایی بر سلامت انسان، گرایش زیادی به استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی از جمله ترکیبات گیاهی همانند اسانس‌ها وجود دارد. اسانس‌ها و ترکیبات آنها دارای طیف وسیعی از فعالیت ضدمیکروبی می‌باشند [۲، ۱]. ترکیب، ساختار و گروه‌های عاملی اسانس‌ها نقش مهمی در تعیین فعالیت ضدمیکروبی آنها بازی می‌کنند و به طور عمده ترکیبات با گروه‌های فنلی مؤثرترند [۳].

سیر (*Allium sativum* L.) دارای اجزای آلی گوگردی نظیر تیوسولفات‌ها بخصوص آلیسین می‌باشد که در ایجاد طعم و بوی سیر نیز نقش دارند. این ترکیبات دارای فعالیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. آلیسین ترکیب ناپایداری بوده و به ترکیبات ارگانوسولفور نظیر دی‌آلیل سولفید، دی‌آلیل دی‌سولفید، دی‌آلیل تری‌سولفید و سایر مشتقات سولفوردار تبدیل می‌شود. این ترکیبات همراه با آلفاتوکوفرول اثر سینرژیستی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن و پایداری لیپیدها دارند. به کارگیری اسانس و عصاره‌های مختلف سیر در غذا از سوی اداره غذا و داروی امریکا ایمن اعلام شده است، از جمله اسانس سیر در فرمولاسیون و هنگام تهیه خمیر در تولید سوسیس و کالباس کاربرد دارد. همچنین با افزودن مکمل روغن سیر به گوشت ران و سینه مرغ، تشکیل محصولات اکسیداسیون اولیه و ثانویه کاهش می‌یابد [۵، ۴].

از سوی دیگر، در حال حاضر بسته‌بندی‌های عمومی تولید شده از انواع پلاستیک‌ها مانند پلی‌پروپیلن، پلی‌اتیلن، پلی‌وینیل کلراید، پلی‌استایرن و غیره گسترش زیادی یافته‌اند. تولید ضایعات فیزیکی تجزیه‌ناپذیر و سوزاندن آنها سبب آلودگی‌های محیط زیست شده و استفاده مجدد از آنها محدودیت‌های بهداشتی زیادی دارد. ترکیبات تشکیل‌دهنده آنها نیز اکثراً به تجزیه میکروبی مقاوم‌اند [۶].

فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی به صورت لایه‌های پوششی نازکی از مواد خوراکی جهت بسته‌بندی روی سطح ماده داخل خود قرار گرفته و از این طریق تغییرات بیولوژیکی، فیزیکی، شیمیایی و میکروبی را کنترل می‌کنند [۷]. استفاده از بیوپلیمرهای زیست تخریب‌پذیر مزایای زیادی مانند تجزیه‌پذیری، امکان تولید از ضایعات و سازگاری با محیط زیست را دارد و بهره برداری از منابع مختلف بهینه می‌شود [۸]. تحقیقات بسیاری نیز صورت گرفته و در حال انجام است که ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی این فیلم‌ها را با افزودن ترکیبات مختلف از جمله نگهدارنده‌های طبیعی مانند اسانس‌های گیاهی افزایش دهد [۹].

پلی‌ساکاریدهای مختلفی مانند سلولز، پکتین، مشتقات نشاسته، جلبک‌های دریایی و صمغ‌ها در تولید فیلم به کار می‌روند [۱۰]. کیتوزان یک بیوپلیمر پلی‌ساکاریدی خطی و با بار مثبت می‌باشد که طی دی‌استیلاسیون قلیایی کیتین به دست می‌آید. از جهت فراوانی کیتین دومین بیوپلیمر فراوان در زمین بوده که عمدتاً در بی‌مهرگان، حشرات، دیاتومه‌های دریایی، جلبک‌ها و قارچ‌ها یافت می‌شود. از ویژگی‌های بیولوژیکی و شیمیایی آن می‌توان به زیست تخریب‌پذیری، زیست سازگاری و فعالیت زیستی، ویژگی‌های ضدمیکروبی و تأخیر در اکسیداسیون اشاره نمود. از کیتوزان در انکپسولاسیون ترکیبات فعال مواد غذایی، تثبیت آنزیم‌ها و به عنوان حامل رهاسازی کنترل شده داروها و محافظت از آنها طی دارورسانی می‌توان استفاده کرد. همچنین با وجود نفوذپذیری به بخار آب می‌توانند از دست دادن رطوبت ماده غذایی را به تأخیر بیاندازند [۱۳-۱۰]. خاصیت ضدمیکروبی کیتوزان ناشی از گروه‌های آمینی با بار مثبت نیز است. این گروه‌ها با غشای سلولی میکروارگانیزم‌ها که دارای بار منفی است، واکنش داده و منجر به نشت اجزای پروتینی و سایر اجزای درون سلولی میکروارگانیزم‌ها می‌شود [۱۴].

در مجموع، با توجه به افزایش تقاضا و عرضه مواد غذایی و بعضاً ترکیبات دارویی، نیاز به بهبود در صنعت بسته‌بندی بیش از پیش احساس می‌شود. آلودگی ثانویه میکروبی، انتقال رطوبت، نفوذ اکسیژن، از دست دادن یا جذب بو یا روغن نمونه‌هایی از مشکلات موجود است. از سویی، به کار بردن مقادیر کنترل شده مواد ضدمیکروبی طبیعی در پوشش بسته‌بندی می‌تواند باعث افزایش زمان ماندگاری ماده داخل آن نظیر ماده غذایی و یا حتی ترکیبات دارویی شود. در تحقیق

Archive of SID

www.SID.ir

حاضر به عنوان نمونه با توجه به اینکه گوشت مرغ از جمله مواد پروتئینی با ارزش غذایی بالا و مورد مصرف روزمره است و از طرفی مستعد فساد میکروبی می‌باشد مورد مطالعه قرار گرفت. همین طور از اسانس سیر به علت ویژگی‌های ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و درمانی آن در ترکیب با فیلم کیتوزان به منظور بررسی تأثیر آن بر رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌های مهم و شاخص مانند کلیفرم‌ها و استافیلوکوکوس اورئوس و همچنین شمارش کلی و سایکروتروف‌ها استفاده شد.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس

با استفاده از دستگاه کلونجر از حبه‌های سیر اسانس آن به روش تقطیر با آب استحصال شد. بدین‌ترتیب که حبه‌های سیر پوست‌گیری و آسیاب شده 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 برپایه 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 یک شب در دمای اتاق روی مگنت استیرر هم‌زده شد و با کاغذ صافی شماره ۳ صاف شد. سپس گلیسرول (مرک- آلمان) به مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر به ازای هر گرم کیتوزان به عنوان پلاستیسایزر و توئین ۸۰ (سیگما- امریکا) به مقدار ۰/۲۵ درصد به عنوان امولسیفایر اضافه شد و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق روی استیرر مخلوط شد. PH محلول با استفاده از سود (مرک- آلمان) در حدود ۵/۸ تنظیم شد. بعد از اضافه کردن سطوح مورد نظر غلظت اسانس سیر (۰، ۰/۵، 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 شد [۱۶].

آماده‌سازی نمونه‌ها

به منظور بررسی اثر ضدمیکروبی فیلم‌های کیتوزان همراه با اسانس سیر در این مطالعه به عنوان نمونه و با توجه به مستعد بودن آن به فساد میکروبی از مدل غذایی گوشت مرغ استفاده شد. بدین‌منظور، نمونه‌های فیله مرغ از کشتار روز شرکت مهرگوشت تهیه شد و به سرعت در کنار یخ به آزمایشگاه انتقال داده و سپس با فیلم‌های مختلف کیتوزان و تهیه شده از قبل، بسته‌بندی نمونه‌ها با رعایت شرایط استریل و زیر هود میکروبی انجام یافت. سپس در انکوباتور ۴ درجه سانتی‌گراد جهت آزمون‌های میکروبی در روزهای صفر، ۲، ۴، ۷، ۱۰ و ۱۴ نگهداری شدند. تیمارهای مورد مطالعه شامل فیله‌های مرغ بسته‌بندی شده با فیلم‌های مختلف یعنی کیتوزان بدون اسانس، کیتوزان با ۰/۵، ۱ و ۲ درصد اسانس و نیز نمونه‌های مرغ بدون پوشش فیلم به عنوان کنترل بود. همچنین استفاده از تیمار نمونه با فیلم کیتوزان بدون اسانس به عنوان شاهد در برابر به کار بردن دوزهای مختلف اسانس در فیلم در سایر تیمارها می‌تواند باشد. در مجموع ۵ گروه و در هر گروه به تعداد روزهای مطالعه و برای هر روز دو نمونه جهت انجام آزمایش در نظر گرفته شد.

آزمون‌های میکروبی

شمارش کلی باکتری‌های هوازی (APC)

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 (Brain-Heart Infusion Agar) شمارش کلی باکتری‌های هوازی انجام گرفت. به طوری که ۱۰ گرم نمونه را با ۹۰ میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده آب پپتونه ۰/۱ درصد در استومیکر

Archive of SID
www.SID.ir

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 گرمخانه‌گذاری انجام گرفت. با توجه به فاکتور رقت تعداد آنها به صورت log cfu/g (colony forming unit/gram) گزارش شد.

شمارش باکتری‌های سرماگرا

همانند شمارش کلی انجام گرفت، با این اختلاف که انکوباسیون در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ – ۷ روز بود.

جستجو و شمارش کلی فرم‌ها

از رقت‌های مختلف تهیه شده از هر نمونه در محیط VRBA (Violet Red Bile Agar) کشت دولایه داده و در دمای ۳۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. به منظور آزمایش کلی فرم‌های تأییدی (Confirmed Coliform) از کلنی‌های مربوط به کلیفرم‌های احتمالی (ارغوانی رنگ) به آبگوشت سبز درخشان (BGB) برده و ۴۸-۲۴ ساعت در ۳۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند.

شمارش استافیلوکوکوس اورئوس

کشت سطحی از رقت‌های مختلف هر نمونه در محیط BPA (Baird Parker Agar) داده شد و سپس در دمای ۳۵ درجه به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری انجام شد. جهت آزمون تکمیلی برای کلنی‌های احتمالی (سیاه رنگ با هاله اطراف) از محیط قنددار MSA (Manitol Salt Agar) و تست‌های اکسیداز، کاتالاز و کواگولاز جهت بررسی ایجاد لخته استفاده شد [۱۷].

آنالیز آماری

بررسی‌های آماری میان شرایط تیمار و کنترل توسط آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و تست تکمیلی توکی در SPSS ویرایش ۲۲ انجام گرفت و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ لحاظ شد.

نتایج

شمارش کلی باکتری‌های هوازی

همان‌طور که در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است در تمام نمونه‌ها بجز کنترل تا روز ۴ روند کاهشی در میزان شمارش کلی مشاهده شد و سپس افزایش یافت که در این بین کمترین افزایش مربوط به نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم کیتوزان حاوی بیشترین درصد اسانس یعنی ۲ درصد بود. شمارش کلی در نمونه‌های کنترل که فاقد فیلم بودند از همان ابتدا افزایش نشان داد ($P\leq ۰/۰۵$).

شمارش کلی فرم‌ها

کلیفرم‌ها در روز دوم افزایش اندکی نسبت به ابتدای آزمایش نشان دادند، گرچه در نمونه‌های کنترل مقدار افزایش به طور معنی‌داری بیشتر از سایر نمونه‌ها بود ($P\leq ۰/۰۵$). در سایر نمونه‌ها سپس روند کاهشی در تعداد کلیفرم‌ها مشاهده شد که بیشترین افت شمارش در روز هفتم ثبت شد و بعد از آن مجدداً افزایش نشان داد (نمودار شماره ۲).

شمارش استافیلوکوکوس اورئوس

تعداد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس طبق نمودار شماره ۳ در تمام نمونه‌ها در روز دوم افزایش نشان داد، این در حالی است که بالاترین میزان افزایش مربوط به نمونه‌های کنترل ($P\leq ۰/۰۵$) و کمترین افزایش در مورد نمونه‌های با فیلم حاوی ۲ درصد اسانس و بعد از آن ۱ درصد اسانس مشاهده شد و این روند تا پایان مطالعه تقریباً ثابت ماند. اختلاف معناداری بین نمونه‌های پوشش داده شده با فیلم‌های کیتوزان و نمونه‌های با فیلم بدون اسانس مشاهده شد ($P\leq ۰/۰۵$).

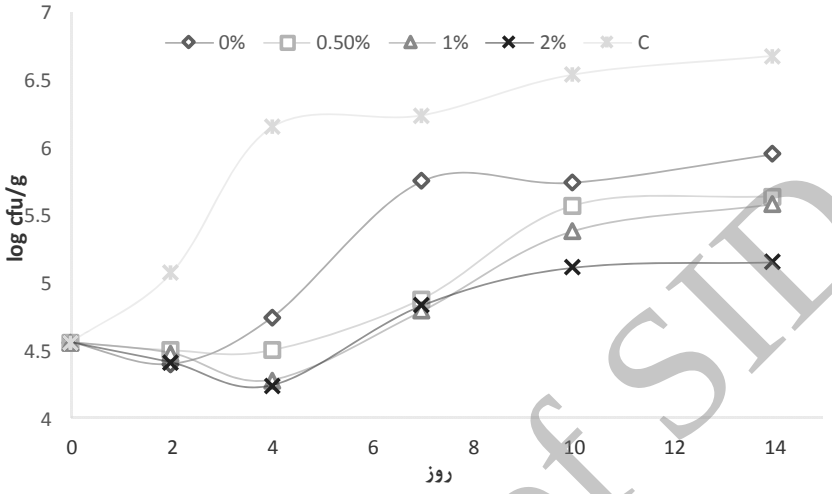
شمارش سرماگراها

با توجه به نمودار شماره ۴ مشاهده می‌شود که فیلم‌های کیتوزان حاوی ۲ درصد و ۱ درصد اسانس سیر بیشترین اثر

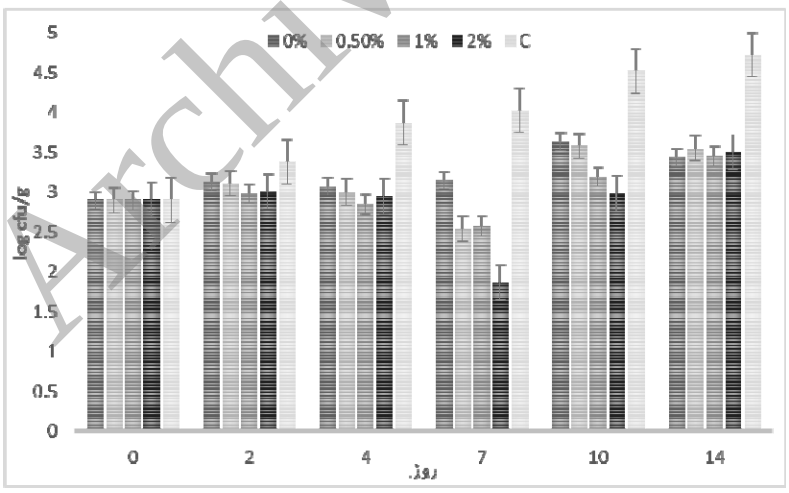
Archive of SID

www.SID.ir

بازدارندگی را در افزایش شمارش باکتری‌های سرماگرا داشتند. همین‌طور نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم حاوی ۰/۵ درصد اسانس رشد کمتری را در مقایسه با نمونه‌های با فیلم بدون اسانس و نیز نمونه‌های کنترل نشان دادند. اختلاف میان نمونه‌های با فیلم حاوی سطوح مختلف اسانس معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$) در حالی که اختلاف معناداری بین آنها و نمونه‌های با فیلم بدون اسانس مشاهده شد ($P\leq۰/۰۵$).

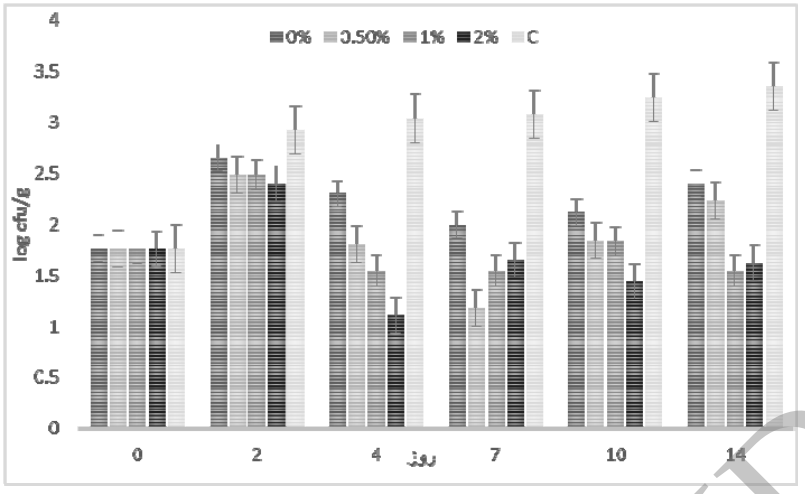


نمودار شماره ۱- روند شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم کیتوزان و حاوی سطوح مختلف اسانس و نمونه کنترل طی روزهای مختلف آزمایش (۰ درصد: فیلم بدون اسانس، ۰/۵ درصد: فیلم با اسانس ۰/۵ درصد، ۱ درصد: فیلم با اسانس ۱ درصد، ۲ درصد: فیلم با اسانس ۲ درصد، C: نمونه کنترل بدون فیلم)

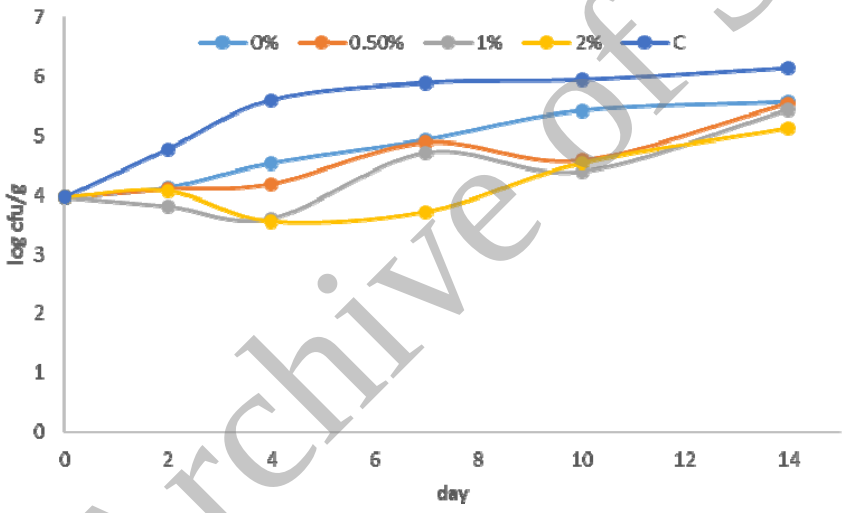


نمودار شماره ۲- تغییرات شمارش کلیفرم‌ها در نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم کیتوزان و حاوی سطوح مختلف اسانس و نمونه کنترل طی روزهای مختلف آزمایش (۰ درصد: فیلم بدون اسانس، ۰/۵ درصد: فیلم با اسانس ۰/۵ درصد، ۱ درصد: فیلم با اسانس۱ درصد، ۲ درصد: فیلم با اسانس ۲ درصد، C: نمونه کنترل بدون فیلم)

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار شماره ۳- لگاریتم تعداد باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس در نمونه‌های بسته بندی شده با فیلم کیتوزان و حاوی سطوح مختلف اسانس و نمونه کنترل طی روزهای مختلف آزمایش (۰ درصد: فیلم بدون اسانس، ۰/۵ درصد: فیلم با اسانس ۰/۵ درصد، ۱ درصد: فیلم با اسانس۱ درصد، ۲ درصد: فیلم با اسانس ۲ درصد، C: نمونه کنترل بدون فیلم)



نمودار شماره ۴- روند شمارش باکتری‌های سرماگرا در نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم کیتوزان و حاوی سطوح مختلف اسانس و نمونه کنترل طی روزهای مختلف آزمایش (۰ درصد: فیلم بدون اسانس، ۰/۵ درصد: فیلم با اسانس ۰/۵ درصد، ۱ درصد: فیلم با اسانس ۱ درصد، ۲ درصد: فیلم با اسانس ۲ درصد، C: نمونه کنترل بدون فیلم)

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بسته‌بندی نمونه‌ها با فیلم کیتوزان در مقایسه با نمونه‌های بدون فیلم می‌تواند اثر بازدارندگی در رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها داشته باشد. همین طور افزودن اسانس سیر تأثیر هم‌افزایی در این رابطه دارد. در مطالعات مربوط به فیلم‌های بیولوژیک، مواد مختلفی در ترکیب این فیلم‌ها افزوده شده است. زیرا این ترکیبات زیستی حامل مناسبی برای افزودنی‌های غذایی از جمله آنتی‌اکسیدان‌ها، مواد ضدمیکروبی، طعم‌دهنده‌ها، مواد غنی کننده و ادویه جات مانند ترکیبات سیر می‌باشند [۱۹، ۱۸]. بورلیا (۲۰۰۸) نیز از پوشش خوراکی کیتوزان جهت کنترل لیستریا مونوسیتوژنز بر روی روست بیف آماده همراه با اسید

Archive of SID

www.SID.ir

لاکتیک و اسید استیک استفاده کرده است و نتایج تحقیق آنها نشان داد که پوشش کیتوزان توانایی کنترل لیستریا را در این ماده غذایی دارد [۲۰]. فیلم‌های تهیه‌شده از کیتوزان و کیتوزان/کازئینات سدیم در تحقیق موریرا و همکاران (۲۰۱۱) اثر مهاری خفیفی نسبت به میکروفلور طبیعی استحصال شده از سالامی در دماهای نامناسب نگهداری (۲۰-۱۰ درجه سانتی‌گراد) در محیط آزمایشگاهی نشان دادند. ولی کاربرد این فیلم‌ها در مدل غذایی تأثیر قابل توجهی بر کاهش میکروارگانیسم‌های مزوفیل، سرماگرا و کپک و مخمرهای سالامی نشان داد به طوری که جمعیت میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه حدود ۴-۲ لگاریتم کاهش یافت [۲۱]. اوتارا و همکاران (۲۰۰۰) تأثیر فیلم‌های کیتوزان در ترکیب با اسیدهای آلی را در گوشت‌های فراوری‌شده (سوسیس بلوگنا، گوشت ران خوک فرآوری‌شده و پاسترامی) مورد مطالعه قرار دادند. استفاده از ترکیب اسیدهای آلی با کیتوزان تأثیری روی فساد توسط باکتری‌های لاکتیک اسید نداشت، ولی فساد باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه را مهار کرد. در این تحقیق اعلام شد که فیلم کیتوزان به تنهایی به عنوان کنترل تأثیر چندانی در برابر باکتری‌های مورد بررسی نداشت [۲۲]. در بررسی خواص ضدمیکروبی و فیزیکی- شیمیایی فیلم کیتوزان ترکیب شده با اسانس‌های مختلف بر روی سوسیس بولوگنا و محیط آزمایشگاهی توسط زیوانویچ و همکاران (۲۰۰۵) اثرات ضدمیکروبی برابر اشریشیاکلای و لیستریا مونوسایتوژنز نشان داده شد. فیلم کیتوزان تعداد لیستریا را تا ۲ لگاریتم کاهش داده و با افزودن اسانس‌ها بخصوص اسانس مرزنگوش میزان کاهش رشد به بیش این مقدار رسید [۲۳]. در مطالعه ما استفاده از بسته‌بندی فیلم کیتوزان و همین طور افزودن سطوح مختلف اسانس سیر به فیلم کیتوزان منجر به فعالیت ضدمیکروبی در برابر استافیلوکوکوس، کلی فرم‌ها و نیز شمارش کلی باکتری‌های هوازی و سرماگرا شد ($P\leq ۰/۰۵$). در پایان مطالعه حاضر فیلم کیتوزان حاوی ۲ درصد اسانس میزان شمارش کلی را ۱/۵ لگاریتم نسبت به گروه کنترل کاهش داد. همین طور فیلم‌های با ۱ درصد و ۰/۵ درصد اسانس بیش از یک لگاریتم این مقدار را کاهش دادند و این میزان برای فیلم‌های بدون اسانس برابر ۰/۷ لگاریتم بود. مشابه این حالت در مورد باکتری‌های سرماگرا نیز با اثر کمتری مشاهده شد.

فیله‌های ماهی بسته‌بندی شده در شرایط هوازی و خلاء با استفاده از فیلم‌های کیتوزان در مطالعه فرناندز و همکاران (۲۰۱۳) بررسی شدند. اثر مهاری معنی‌داری در برابر مزوفیل‌های هوازی، لیستریا مونوسایتوژنز، لاکتیک اسید باکتری‌ها، سودوموناس‌ها، باکتری‌های تولیدکننده سولفید هیدروژن، انتروباکتریاسه مشاهده شد و فاز تأخیری رشد باکتری‌ها نیز افزایش یافت [۲۴]. اثر ضدمیکروبی اسانس سیر بر ضدسالمونلا انتریتیدیس و استافیلوکوکوس اورئوس در فیلم بر پایه جدایه پروتئینی سویا در مطالعه بقایی و همکاران در سال ۲۰۱۲ مشاهده شد اما اثر مهاری رشد قابل توجهی در مورد اشریشیاکلای دیده نشد [۲۵]. آلیسین سیر در مطالعه آنکری و همکاران (۱۹۹۹) نشان داده شد که بر طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، از جمله سویه‌های انتروتوکسیکوژنیک اشرشیاکلای مقاوم به داروهای مختلف موثر است و علت آن واکنش با گروه‌های تیول آنزیم‌های مختلف است و همچنین فعالیت ضد قارچی بخصوص بر ضد کاندیدا آلبیکنس دارد [۲۶]. ژیراکاکال (۲۰۱۳) اثر فیلم کیتوزان را در ترکیب با روغن سیر، روغن برگ لیمو و گالانگال روی سوسیس مویور در ۲ دمای مختلف نگهداری بررسی کردند. در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تا ۲ روز در تمام حالت‌ها ممانعت از رشد میکروبی مشاهده شد، ضمن اینکه خواص حسی نیز کاملاً مطلوب بود اما در دمای یخچالی تا روز ۳۵ و حتی ۴۵ ممانعت از رشد میکروبی وجود داشت، در صورتی‌که خواص حسی سوسیس غیرقابل قبول بود [۲۷].

خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی ترکیبات ارگانوسولفوره مشتق از سیر (دی‌آلیل سولفید، دی‌آلیل دی‌سولفید، s اتیل سیستئین و n استیل سیستئین) در گوشت چرخ‌کرده گوساله در تحقیق محققانی به نام این و چنگ (۲۰۰۳) مورد مطالعه قرار گرفت. همگی اکسیداسیون لیپیدی را به تأخیر انداخته و خواص آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به آلفا توکوفرول نشان دادند. دو ترکیب دی‌آلیل سولفید و دی‌آلیل دی‌سولفید نیز شدیداً رشد باکتری‌های هوازی، سالمونلا تیفی

Archive of SID
www.SID.ir

موریوم، اشریشیاکلای، لیستریا مونوسایتوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس و کمپیلوباکتر ججونی را کاهش دادند [۲۸]. مرادی و همکاران (۲۰۱۱) نیز خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی فیلم‌های کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی و عصاره هسته انگور را در کالباس نشان دادند [۲۹]. در مطالعه خنجری و همکاران (۲۰۱۳) بر روی بسته‌بندی گوشت فیله مرغ با استفاده از O, N– کربوکسی متیل‌کیتوزان و اسانس پونه کوهی جهت افزایش ماندگاری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، اثر ضدمیکروبی به خوبی بر روی لیستریا مونوسایتوژنز و شمارش کلی نشان داده شد [۳۰]. در تحقیق حاضر اثر ممانعت رشد میکروبی در نمونه‌های فیله مرغ پوشش داده شده با فیلم‌های دارای اسانس در مقایسه با فیلم بدون اسانس بیشتر بود، به طوری که با افزایش سطح اسانس میزان بازدارندگی میکروبی افزایش یافت. همین‌طور اختلاف معناداری میان تأثیر ممانعت‌کنندگی در رشد و تکثیر میکروبی نمونه‌های حاوی فیلم با نمونه کنترل مشاهده شد ($P\leq ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری

به طورکلی فیلم کیتوزان در کاهش رشد و تکثیر باکتریایی در نمونه‌های فیله مرغ مؤثر می‌باشد. همین طور با افزودن اسانس سیر به فیلم‌های کیتوزان در سطوح مختلف اثر هم‌افزایی مشاهده شد با توجه به نتایج حاصل فیلم کیتوزان بویژه فیلم فرموله شده با اسانس سیر می‌تواند به عنوان پوشش بسته‌بندی گوشت مرغ به کار گرفته شود. سایر عوامل میکروبی، شرایط دیگر نگهداری و مواد غذایی فسادپذیر دیگر و یا حتی ترکیبات دارویی نیز می‌توانند در مطالعات بعدی مورد توجه قرار گیرند.

منابع

1. Kim J, Marshall MR and Wei CI. Antimicrobial activity of some essential oil components against five food borne pathogens. *J. Agri. & Food Chem.* 1995; 43 (11): 2839 - 45.

2. Packiyasothy EV and Kyle S. Antimicrobial properties of some herb essential oils. *Food Aust*. 2002; 54 (9): 384 - 7.

3. Dorman HJD and Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol* 2000; 88: 308 - 16.

4. Serge A and David M. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes Infect*. 1999; 1: 125 - 9.

5. Rohani SMR, Moradi M, Mehdizadeh T, Saei-Dehkordi SS and Griffiths MW. The effect of nisin and garlic (*Allium sativum* L.) essential oil separately and in combination on the growth of Listeria monocytogenes. *LWT-Food Sci Technol.* 2011; 44: 2260 - 5

6. Bohlmann GM. General characteristics, processability, industrial applications and market evolution of biodegradable polymers. Handbook Biodegradable Polymers, Rapra Technology Ltd, Shawbury, UK, 2005, pp: 183 - 218.

7. Debeaufort F, Quezada-Gallo JA and Voilley A. Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Crit. Rev. Food Sci.* 1998; 38(4): 299 - 313.

8. Osés J, Fabregat-Vázquez M, Pedroza-Islas R, Tomás SA, Cruz-Orea A and 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.

9. Rojas-Graü MA, Avena-Bustillos RJ, Olsen C, Friedman M, Henika PR, Martín-Belloso O, Pan Z and Mchugh TH. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate – apple puree edible films. *J. Food Eng*. 2007; 81 (3): 634 - 41.

10. Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH and Hosseini SMH. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and

Archive of SID

www.SID.ir

cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chem.* 2010; 122: 161 - 6.

11. Bourtoom, T., Edible films and coatings: Characteristics and properties. *Int. Food Res. J.* 2008; 3: 237 - 48.

12. Zhao L-M, Shi L-E, Zhang Z-L, Chen J-M, Shi D-D, Yang J and Tang Z-X. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers. *Braz. J. Chem. Eng*. 2011; 28 (3): 353 - 62.

13. Maghsoudlou A, Maghsoudlou Y, Khomeiri M, Ghorbani M. Evaluationof anti-fungal activity of chitosan and its effect on the moisture absorption and organoleptic characteristics of pistachio nuts. *Int. J. Adv. Sci. Engin. Inform. Tech*. 2010; 2 (4): 65.

14. Shahidi F, Arachchi JKV and Jeon YJ. Food application of chitin and chitosan. *Trends Food Sci. Tech.* 1999; 10 (2): 37 - 51.

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. Plants* 2014; 54 (2): 76 - 86.

16. Moradi M, Tajik H, Razavi Rohani SM and 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: 2850 - 7.

17. Karim G. Microbiological Examination of Foods. 2nd ed. (In Persian). University of Tehran press. Tehran. 2008.

18. Seydim A and Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Res. Int.* 2006; 39: 639 - 44.

19. Ramos ÓL, Silva SI, Soares JC, Fernandes JC, Poças MF, Pintado ME and Malcata FX. Features and performance of edible films, obtained from whey protein isolate formulated with antimicrobial compounds. *Food Res. Int*. 2012; 45: 351- 61.

20. Beverlya RL, Janes ME, Prinyawiwatkula W and No HK. Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of Listeria monocytogenes. *Food Microbiol.* 2008; 25: 534 - 7.

21. Moreira MDR, Pereda M, Marcovich NE and Roura SI. Antimicrobial effectiveness of bioactive packaging materials from edible chitosan and casein polymers: assessment on carrot, cheese, and salami. *J. Food Sci*. 2011; 76: M54 - M63.

22. Ouattara B, Simard RE, Piette G, Bégin A and Holley RA. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *Int. J. Food Microbiol.* 2000; 62: 139 - 48.

23. Zivanovic S, Chi S and Draughon AF. Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *J. Food Sci.* 2005; 70: M45-M51.

24. Fernández-Saiz P, Sánchez G, Soler C, Lagaron J and Ocio M. Chitosan films for the microbiological preservation of refrigerated sole and hake fillets. *Food Control* 2013; 34: 61 - 8.

25. Baghaee H, Aghaee F, Sedaghat N and Mohebi M. Study of the effect of garlic essential oil on mechanical, physicochemical, microbial and sesory properties of edible films of soy protein isolate. *Iran. Food Sci. Tech. Res. J*. 2012; 8: 279 - 87.

26. Ankri D, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes Infect*. 1999; 2: 125 - 9.

27. Jirukkakul N. A study of Mu Yor sausage wraps using chitosan films incorporating garlic oil, lemon grass oil and galangal oil. *Int. Food Res. J.* 2013; 20: 1199 - 204.

28. Yin M-C and Cheng W-S. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. *Meat Sci.* 2003; 63: 23 - 8.

29. Moradi M, Tajik H, Razavi Rohani S, Oromiehie A, Malekinejad H and Ghasemmahdi H. Development and Evaluation of Antioxidant

Archive of SID
www.SID.ir

Chitosan Film Incorporated with Grape Seed Extract. *J.M.P*. 2012; 2 (42): 43 - 52.

30. Khanjari A, Karabagias I and 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 - 9.

Archive of SID

www.SID.ir