فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان جهت بسته‌بندی فیله مرغ: بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی آن

میلاد رنجبر[a]، محمد حسین عزیزی تبریززاد[b*]، غلامحسن اسدی[c]، حامد اهری[d]

[a] *دانشجوی دکتری گروه علوم وصنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران*
[b] *استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران*
[c] *استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران*
[d] *استاد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۵/۱۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۳/۰۶/۱۸

چکیده

مقدمه: امروزه تأثیرات مخرب محیطی ناشی از تجمع مواد پلاستیکی حاصل از بسته‌بندی مواد غذایی به عنوان یکی از مهم ترین نگرانی‌های جهان به شمار می‌رود. بسته‌بندی‌های زیست تخریب پذیر بر پایه فیلم‌های خوراکی به دلیل استفاده از مواد طبیعی و عدم ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی از اهمیت خاصی برخوردار هستند. کیتوزان نوعی پلیمر طبیعی است که به سبب ویژگی‌های فراوان مانند خاصیت ضد میکروبی بودن، می‌تواند در ترکیب فیلم بسته‌بندی نقش مهمی ایفا کند. آلژینات سدیم ترکیب صمغی چسبناکی است که به دلیل ویژگی‌های امولسیفابری در صنعت غذا کاربرد فراوان دارد. هدف از این پژوهش بررسی ویژگی‌های فیلم خوراکی تولیدی و سپس استفاده از آن در بسته‌بندی فیله مرغ و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و میکروبی فیله مرغ بسته‌بندی شده جهت انتخاب نمونه مناسب می‌باشد.

مواد و روش ها: نمونه‌های فیلم در ۵ سطح حاوی آلژینات سدیم (A) و کیتوزان (Ch) به صورت تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)) دسته‌بندی شدند. آزمون‌های انجام شده شامل: آزمون‌های فیلم (حلالیت، نفوذ پذیری نسبت به بخار آب، ضخامت) و آزمون‌های گوشت فیله مرغ (ازت فرار، تیوباربیتوریک اسید، پراکسید، آزمون‌های میکروبی و ارزیابی حسی) بودند.

یافته ها: در بررسی خواص آلژینات سدیم و کیتوزان در ترکیب فیلم خوراکی، افزایش درصد آلژینات سبب افزایش حلالیت (بیشترین مقدار ۴۷٫۶۴٪) و نفوذپذیری نسبت به بخار آب (بیشترین مقدار $4,48 g.mm.m^{-2}.h^{-1}.Pa^{-1}$) شد و از طرف دیگر براساس نتایج بررسی‌های خواص فیزیکوشیمیایی و میکروبی فیله مرغ بسته‌بندی شده، مشخص گردید که طی مدت زمان نگهداری کمترین شاخص پراکسید (۱/۸۰ meq/kg– ۰/۶۴)، ازته فرار (۱۱/۲۲ mgN/100g– ۶/۴۷)، میزان تیوبارکوییک اسید (۴/۷۵ mol DA/Kg– ۰/۰۰۲۳)، شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها (۰۶/۶۹ cfu/ml–۲/۳)، شمارش باکتری سرمادوست (۱۱/۹۰ cfu/ml–۴/۴)، باکتری اسید لاکتیک (۵۵/۱۱ cfu/ml–۲/۳) در نمونه بسته‌بندی شده با کیتوزان ۱۰۰٪ مشاهده گردید. همچنین براساس ارزیابی حسی (بو، طعم و پذیرش کلی)، نمونه حاوی ۱۰۰٪آلژینات امتیاز بالاتری در بین پانالیست‌ها کسب کرد.

نتیجه گیری: استفاده از کامپوزیت آلژینات سدیم و کیتوزان در فیلم خوراکی جهت بسته‌بندی ماده غذایی مانند گوشت فیله مرغ می‌تواند مدت زمان ماندگاری مواد غذایی را بالا ببرد؛ ولی با توجه به تمامی نتایج حاصله نمونه فیلم خوراکی ۱۰۰٪ کیتوزان از لحاظ ارزیابی خواص فیلم تولیدی بهتر از نمونه‌های حاوی آلرژینات بود و همچنین با بررسی خواص شیمیایی، میکروبی و حسی نمونه مرغ بسته‌بندی شده با فیلم خوراکی ۱۰۰٪ کیتوزان مطلوب تر از سایر نمونه‌ها بود لذا می‌توان به عنوان ماده بسته‌بندی جدید معرفی و استفاده گردد.

واژه‌های کلیدی: *آلژینات سدیم، فیلم خوراکی، فیله مرغ، کامپوزیت، کیتوزان*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: azizit_m@modares.ac.ir

مقدمه

تأثیرات مخرب محیطی ناشی از تجمع مواد پلاستیکی به عنوان یکی از مهم ترین نگرانی‌ها در جهان امروز به شمار می‌رود. حجم قابل توجهی از این زباله‌ها مربوط به پلیمرهای سنتزی مورد استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی می‌باشند. در این راستا متخصصان و فعالان صنعت بسته‌بندی مواد غذایی به دنبال یافتن راه‌حلی برای جایگزینی پلیمرهای سنتزی هستند (Paidari *et al.*, 2021). بسته بندی‌های فعال نه تنها ماده غذایی را در برابر عوامل محیطی حفظ می‌کنند، بلکه با جلوگیری و تأخیر در فساد میکروبی و شیمیایی، ماندگاری محصول را افزایش می‌دهند. فیلم‌های خوراکی تجزیه‌پذیر یکی از پیشرفت‌های مورد توجه در زیر مجموعه بسته‌بندی فعال هستند. از جمله کاربردهای مورد توجه این بسته‌بندی در صنعت مواد غذایی، جلوگیری از بروز یا کنترل واکنش‌هایی است که در داخل بسته‌بندی اتفاق می‌افتند. استفاده از بسته بندی‌های زیست سازگار بر پایه فیلم‌های خوراکی به دلیل دارا بودن قابلیت تجدید پذیری، استفاده از مواد طبیعی و عدم ایجاد آلودگی‌های زیست محیطی از اهمیت خاصی برخوردار است. قابلیت چنین فیلم‌هایی به‌عنوان حامل آنتی اکسیدانی و عوامل ضد میکروبی و نیز سایر عوامل فعال به منظور کنترل عوامل بیماری زا، بهبود کیفیت، افزایش مدت ماندگاری و نیز بهبود خصوصیات ارگانولپتیکی ماده غذایی کاربردهای بسیاری را برای آن‌ها در صنایع بسته‌بندی مواد غذایی مهیا نموده است (Chhikara & Kumar, 2021). درتعریفی فیلم‌های خوراکی لایه‌ای نازک از مواد بیوپلیمری با ضخامت کمتر از ۲۵۰ میکرومتر هستند. این پوشش‌ها در سطح یا بین اجزای مواد غذایی قرارگرفته و به عنوان سدی در برابر انتقال مواد (رطوبت، چربی و گازها) عمل می‌کنند. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی سیستم‌های امیدوار کننده ای برای بهبود کیفیت غذا، ماندگاری، ایمنی و عملکرد هستند. آنها می‌توانند به عنوان مواد بسته‌بندی فردی، مواد پوشش مواد غذایی، مواد فعال کننده و برای جدا کردن محتویات مواد ناهمگن درون غذاها استفاده شوند. کارایی و ویژگی‌های عملکردی فیلم‌های خوراکی بسیار وابسته به ویژگی‌های ذاتی مواد تشکیل دهنده فیلم یعنی بیوپلیمرها (مانند پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و لیپیدها)، نرم کننده‌ها و سایر مواد افزودنی است. فیلم‌های خوراکی به طور کلی به عنوان لایه نازک مستقل از مواد تعریف می‌شوند (Beikzadeh *et al.*, 2020). پلیمرها با منشأ طبیعی مانند کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها بهترین مواد در ساخت فیلم‌های خوراکی می‌باشند، چرا که کاملاً زیست تخریب پذیر می‌باشند و همچنین می‌توانند مانند مکملی در افزایش ارزش غذایی برخی از غذاها موثر باشند. با این حال، حلالیت زیاد در آب و نفوذپذیری فراوان در برابر بخار آب و مقاومت مکانیکی کم، استفاده از این پلیمرها را محدود نموده است. مطالعات متعددی به منظور بهبود ویژگی این فیلم‌ها از طریق ساخت فیلم‌های چند لایه و کامپوزیتی و یا ایجاد اتصال عرضی بین اجزای سازنده فیلم به طریق فیزیکی و شیمیایی صورت گرفته است. از آن جا که کیتوزان سازگار با محیط زیست و تاحدودی خاصیت ضد میکروبی دارد، اغلب به عنوان ماده خام برای آماده سازی فیلم‌های کامپوزیتی استفاده می‌گردد (Yuan *et al.*, 2022). کیتوزان یک پلیمر داستیله شده طبیعی پلی کاتیونی است که از واحدهای N– استیل D– گلوکز آمین تشکیل شده است. کیتوزان در وزن‌های مولکولی مختلف وجود دارد و دارای ویژگی‌های جالب توجهی است که به موجب آن می‌تواند کاربردهای زیادی در صنعت غذا و دارو داشته باشد. ذرات کیتوزان می‌توانند به صورت میکروکپسول، میکروسفر و نانو ذرات تولید شوند. کیتوزان از طریق گروه‌های آمین خود در واکنش‌های شیمیایی مختلف شرکت می‌کند. از میان روش‌های تولید نانو ذرات کیتوزان، روش Ionic gelation به علت ساده بودن، عدم استفاده از حلال آلی و حرارت بالا بیشتر استفاده می‌شود. این روش بر پایه میان کنش الکترواستاتیک بین گروه‌های آمین آزاد کیتوزان و گروه‌های پلی آنیون مثل تری پلی فسفات است و باعث تشکیل هیدروژلی از میکرو ذرات یا نانو ذرات می‌شود که می‌توانند برای انکپسوله شدن و یا رهایش کنترل شده مواد موثره و سایر ترکیبات مختلف استفاده گردد (Chen et al., 2023). آلژینات پلی ساکارید استحصالی دیواره سلولی جلبک قهوه ای phaeophyceae است و به شکل نمک‌های آلژینات سدیم، پتاسیم و کلسیم در صنایع غذایی کاربرد دارند. آلژینات سدیم ترکیب صمغی چسبناک متشکل از واحدهای بتا– دی– مانورونیک

اسید[1] و آلفا– ال– گلوکورونیک اسید[2] می‌باشد و به دلیل ویژگی‌های امولسیفابری، پایدارکنندگی، تغلیظ کنندگی، ژل سازی در حضور کاتیون‌های چند ظرفیتی، کشسانی و تشکیل فیلم‌های خوراکی نگهدارنده در صنعت غذا کاربرد فراوان دارد. قرار گرفتن فیلم آلژینات اطراف ماده غذایی موجب حفظ ظرفیت نگهداری آب و محافظت آن ماده در برابر فساد میکروبی و اکسیداسیون می‌گردد (Pavli *et al*., 2019). در طول دهه‌های اخیر، تقاضا برای گوشت مرغ به دلیل قیمت پایین تر نسبت به گوشت قرمز افزایش یافته است. گوشت مرغ همچنین دارای کیفیت تغذیه ای بالا و ویژگی‌های حسی و بافتی مطلوب می باشد، ولی این نوع گوشت بیشتر مستعد فساد میکروبی می‌باشد. گوشت مرغ از جمله مواد غذایی فساد پذیر است که در معرض تجزیه شیمیایی و فساد میکروبی قرار می‌گیرد و برای سلامت انسان خطرناک می‌باشد. در اثر فعالیت میکروب‌ها و آنزیم‌های طبیعی گوشت و یا آنزیم‌های که از باکتری‌ها ترشح می‌شوند، تغییرات مختلفی در ساختار گوشت حاصل می‌شود. از جمله این تغییرات تجزیه و شکسته شدن ساختمان پروتئینی گوشت و آزاد شدن نیتروژن فرار و آمونیاک از گوشت می‌باشد. از طرف دیگر رادیکال‌های آزاد تولیدی در طول نگهداری مواد غذایی باعث پراکسیداسیون لیپیدی، نابودی مواد غذایی و زمینه را برای رشد میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌کند (Wessels *et al*., 2021). هدف از این پژوهش بررسی ویژگی‌های کیفی فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان جهت بسته‌بندی فیله مرغ می‌باشد.

مواد و روش ها

- مواد اولیه مورد استفاده

به منظور انجام آزمایشات این پژوهش کلیه مواد لازم مانند: آلژینات با جرم مولکولی ۲۱۶,۱۲ گرم بر مول ، کیتوزان با وزن مولکولی متوسط و درصد خلوص ۹۹٪ و درجه دی استیلاسیون ۷۰٪ ، گلیسرول، اسید بوریک، معرف متیل، اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال، استیک اسید، کلروفرم، متانول، محیط‌های کشت میکروبی و ... از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

- تهیه فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم - کیتوزان

به منظور تهیه فیلم خوراکی حاوی آلژینات سدیم – کیتوزان، ابتدا محلول آلژینات سدیم wt% ۰/۵ به وسیله هم زدن آلژینات سدیم در آب مقطر به مدت یک ساعت در دمای محیط و یک ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد تهیه گردید. محلول کیتوزان (با وزن مولکولی ۳۱۰–۱۹۰ کیلو دالتون) wt% ۲ نیز با انحلال ۲ گرم پودر کیتوزان در ml ۱۰۰ محلول اسید استیک (v/v ۱%)، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد و با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه تهیه گردید. در مرحله بعد، محلول‌های فیلم به صورت وزنی/ وزنی با نسبت‌های آلژینات: کیتوزان به ترتیب تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪) تهیه و سپس دو محلول حاصل توسط هموژنایزر به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۱۰۰۰ هموژن شدند و به مدت ۱ ساعت در دمای محیط با همزن مغناطیسی هم زده شدند. گلیسرول به میزان ۵۰ درصد وزن پلیمر به محلول اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد هم زده شد. محلول حاصل با استفاده از پارچه تنظیف فیلتر شد و بعد از آن محلول به وسیله دستگاه تحت خلاء هواگیری شده و روی پلیت‌ها ریخته شدند و در انکوباتور با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. بعد ار این مدت زمان فیلم‌ها از روی پلیت جدا شده و آزمون‌های فیزیکوشیمیایی روی آن‌ها انجام گرفت. تمامی این مراحل با کمی تغییرات در قسمت تهیه محلول آلژینات و مدت زمان همزنی دو پلیمر مورد استفاده در این تحقیق جهت تهیه محلول الژینات و محلول کیتوزان صورت گرفته است. (Banerjee & Ganguly, 2019).

- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی فیلم

- اندازه‌گیری میزان حلالیت در آب

برای اندازه‌گیری میزان حلالیت نمونه‌های فیلم در آب، ابتدا قطعات ۲×۳ سانتی‌متری از فیلم بریده شده و در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت به منظور رسیدن به یک وزن ثابت قرار داده شدند. پس از آن فیلم‌های خشک شده در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر غوطه ور و

[1] β-(1→4)-linked D-mannuronic acid

[2] α-(1→4)-linked L-glucuronic acid

در حالی که به صورت مقطعی هم زده می‌شوند، در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۶ ساعت قرار گرفتند. در نهایت تکه‌های فیلم را به وسیله کاغذ صافی از آب جدا کرده و پس از خشک کردن در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، توزین شدند. درصد حلالیت از رابطه ی زیر محاسبه گردید (Dash *et al*., 2019).

$$\text{میزان حلالیت (٪)} = \frac{(\text{وزن نهایی} - \text{وزن اولیه})}{\text{وزن اولیه}} \times 100$$

- اندازه‌گیری ضخامت فیلم‌ها

به منظور تعیین ضخامت نمونه‌ها از ریزسنج دیجیتالی (دقت ۰/۰۰۱ میلی متر، Mitutoyo ساخت ژاپن) استفاده شد. اندازه گیری‌ها در پنج نقطه از هر نمونه تکرار شدند. میانگین ضخامت محاسبه شده و در تعیین خواص مکانیکی و نفوذ پذیری به بخار آب استفاده گردید (Ngo *et al*., 2020).

- تعیین میزان نفوذپذیری به بخار آب (WVP)

برای اندازه گیری نفوذپذیری نمونه‌های فیلم نسبت به بخار آب (WVP)[1] از روش Asdagh و همکاران (2021) استفاده شد. برای انجام آزمون از ویال هایی با قطر ۲۰ و عمق ۴۵ میلی‌متر استفاده گردید. فیلم‌های بریده شده در قسمت درب ویال‌های حاوی ۳ گرم کلسیم سولفات (RH=٪۰) قرار داده شدند. ویال‌ها پس از توزین اولیه، در دسیکاتور حاوی پتاسیم سولفات (RH= ٪۹۷) جای گرفتند. سپس، مقدار بخار آب منتقل شده از فیلم که توسط کلسیم سولفات جذب شده، از روی وزن اضافه شده بر ویال‌ها تعیین شد. ویال‌ها به مدت ۷۲ ساعت در فواصل زمانی معین توزین شدند. سرعت انتقال بخار آب (WVTR; $g \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$) از روی شیب حاصل از آنالیز رگرسیون مقدار رطوبت منتقل شده در سطح فیلم در مدت زمان معین محاسبه گردید. سپس WVTR[2] فیلم‌ها برای محاسبه نفوذ پذیری به بخار آب استفاده شدند.

$$WVTR = \frac{\Delta w}{A \Delta t}$$

$$WVP = \frac{WVTR \times x}{\Delta P}$$

WVP: برابر ضریب نفوذپذیری ($g \cdot mm \cdot m^{-2} \cdot h^{-1} \cdot Pa^{-1}$)، A: برابر مساحت فیلم، x: برابر ضخامت فیلم و ΔP: برابر اختلاف فشار بخار آب بین سطح درونی و بیرونی فیلم در ویال‌ها (ΔP= ۳۱۶۹ Pa) می‌باشد.

- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی گوشت مرغ در بسته‌بندی

برای بسته‌بندی، ۵۰ گرم از فیله مرغ (سینه مرغ) در فیلم‌های حاوی درصدهای مختلف آلژینات – کیتوزان بسته‌بندی و شماره گذاری شدند. پس از طی مدت زمان ماندگاری در دمای یخچال و در روزهای (۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روز) آزمون‌ها بر روی آن انجام شدند.

- اندازه گیری میزان ازت فرار (TVB-N)

برای اندازه گیری میزان ازت فرار، مقدار ۱۰ گرم نمونه به همراه ۲ گرم اکسید منیزیم با افزودن ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر به بالن کلدال متصل شدند و عصاره مورد نظر به محلول متشکل از اسید بوریک ۲ درصد و ۲ – ۱ قطره متیل رد به عنوان شاخص اضافه گردید. محلول زرد رنگ حاصله با اسید سولفوریک تا حاصل شدن رنگ ارغوانی تیتر شده و به صورت میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه گوشت مرغ بیان گردیدند (Wang *et al*., 2021).

- اندازه‌گیری میزان تیوباربیتوریک اسید (TBARs)

به منظور اندازه گیری میزان تیوباربیتوریک اسید ابتدا ۱ گرم از نمونه در حضور ۵ میلی لیتر محلول آبی ۵ درصد تری‌کلرواستیک اسید و همچنین ۵ میلی لیتر از محلول BHT[3] در هگزان با غلظت ۰/۸ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر همگن گردید. سپس مخلوط حاضر در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و پس از دور ریختن لایه بالایی ۲/۵ میلی لیتر از لایه پایینی با ۱/۵ میلی لیتر محلول آبی ۲-تیوبابیتوریک اسید با غلظت ۰/۸ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر مخلوط گردید و ترکیب حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد. جذب نوری مخلوط حاصل پس از سرد شدن در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد و عدد تیوباربیتوریک اسید بر مبنای میکروگرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم

[1] Water vapor permeability [2] Water vapor transfer rate [3] Butylated Hydroxy Toluene

از نمونه با استفاده از ماده استاندارد ۱و۱و۳و۳-تترا اتوکسی پروپان محاسبه شد (Nilsuwan *et al*., 2021).

- اندیس پراکسید

برای اندازه گیری مقدار پراکسید، در ابتدا ۱۰ میلی گرم فیله مرغ چرخ شد با ۵۰ میلی لیترحلال کلروفرم/ متانول با نسبت ۲ به ۱ حجمی/ حجمی در یک استومیکر به مدت زمان ۲ دقیقه هموژن گردید. محلول حاصل بر روی قیف سپراتور با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد. به منظور جدا شدن بهتر محلول از ۲۰ میلی لیتر محلول ۰/۵ درصد نمک طعام در ادامه استفاده گردید. فاز آبی – متانول دور ریخته شد و فاز کلروفرمی به منظور تبخیر حلال (باقیماندن چربی) به کار برده شد. سپس مقدار ۲۵ میلی لیتر حلال (کلروفرم – اسید استیک به نسبت ۲ به ۳ با چربی به دست آمده مخلوط شد و در ادامه ۱ میلی لیتر محلول اشباع یدید پتاسیم اضافه شد. این مخلوط به مدت ۵ دقیقه در تاریکی نگهداری گردید. در ادامه ۷۵ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر معرف چسب نشاسته به این مخلوط اضافه و با استفاده از تیوسولفات پتاسیم ۰/۰۱ نرمال، محلول حاصل تیتر شد. میزان عدد پراکسید نمونه‌ها بر اساس meq peroxide/kg چربی استخراج شده گزارش شد (Bharti *et al*., 2020).

- آزمون‌های میکروبی

ابتدا نمونه‌های گوشت مرغ بسته‌بندی شده را در زیر هود میکروبی قرار داده و سپس با استفاده از تیغ اسکالپل و پنس استریل، ۱۰ گرم گوشت جدا کرده و سپس به یک کیسه زیپک استریل که حاوی ۹۰ میلی لیتر محلول پپتون واتر ۰/۱ درصد بود، منتقل و توسط دستگاه استومیکر به مدت ۶۰ ثانیه به خوبی همگن شدند. سپس به کمک محلول پپتون واتر ۰/۱ درصد رقت‌های متوالی تهیه گردید.

- شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها

برای شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها از روش کشت مخلوط و از محیط کشت پلیت کانت آگار استفاده گردید. پلیت‌های اماده شده، پس از بستن محیط کشت به صورت وارونه در دسته‌های کمتر از ۶ تایی، در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد برای ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شدند. بعد از پایان مدت گرمخانه گذاری، تمام کلنی‌های موجود در پلیت‌ها در نور ملایم با استفاده از کلی کانتر شمارش گردیدند (Ji *et al*., 2023).

- کپک و مخمر

برای اندازه گیری میزان کپک و مخمر، در ابتدا تیمارهای فیله مرغ بسته بندی با فیلم خوراکی پس از نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد مورد مطالعه قرار گرفتند. در ادامه تحت شرایط استریل و زیر هود آزمایشگاهی لامینار، مقدار ۱۰ گرم از فیله توسط پنس و قیچی استریل از تیمار مورد نظر برداشته و سپس ۹۰ میلی لیتر آب پپتونه ۰/۱ به آن افزوده . کیسه هموژنیزاسیون محتویات به دستگاه استمیکر به مدت ۱دقیقه، منتقل شد. پس از تهیه رقت‌های مورد نیاز،۰/۱ میلی لیتر از هر رقت به روش سطحی در محیط کشت دی کلران رزینگال کلرامفنیکل آگار استفاده شد. برای شمارش کپک و مخمر انکوبه گذاری در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت انجام گرفت و تعداد میکروارگانیسم‌ها بر حسب لگاریتم CFU در هر گرم محاسبه شد (Hosseini *et al*., 2021).

- باکتری‌های سرماگرا

برای شمارش باکتری‌های سرماگرا از محیط کشت پلیت کانت آگار استفاده گردید. پلیت‌های کشت شده حاوی ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌های مورد نظر در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز نگهداری شدند و پس از گذشت مدت زمان گفته شده باکتری‌ها شمارش شدند (Padhi *et al*., 2023).

- شمارش باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه

جهت شمارش باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه پس از تهیه رقت‌های متوالی از نمونه‌های اولیه، این رقت‌ها با روش پورپلیت دو لایه در محیط ویولت رد بایل آگار VRBA[12] کشت شده و ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شدند و سپس مورد شمارش قرار گرفتند (Katiyo *et al*., 2020).

[1] Violet Red Bile Agar (VRBA)

- باکتری‌های اسید لاکتیک

به منظور اندازه گیری میزان باکتری‌های اسید لاکتیک ابتدا تیمارهای فیله مرغ بسته‌بندی با فیلم خوراکی پس از نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مورد مطالعه قرار گرفتند. در ادامه تحت شرایط استریل و زیر هود آزمایشگاهی لامینار، مقدار ۱۰ گرم از فیله توسط پنس و قیچی استریل از تیمار مورد نظر برداشته و سپس ۹۰ میلی لیتر آب پپتونه ۰/۱ به آن افزوده . کیسه هموژنیزاسیون محتویات به دستگاه استمیکر به مدت ۱دقیقه، منتقل شد. پس از تهیه رقت‌های مورد نیاز،۰/۱ میلی لیتر از هر رقت به روش سطحی در محیط کشت MRS آگار استفاده گردید (Sayadi *et al*., 2021).

- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی بر روی نمونه‌های گوشت فیله مرغ توسط۲۰ نفر که آموزش و راهنمایی‌های اولیه به آنها داده شده بود انجام پذیرفت. گروه پانل نمونه‌های گوشت مرغ را از لحاظ طعم، بو و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار دادند. نمونه‌ها با مقیاس هدونیک ۵ نقطه ای ارزیابی شدند که کمترین امتیاز عدد (۱) و بیشترین امتیاز عدد (۵) بود (Moradi *et al*., 2020).

- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 16 انجام شد. ابتدا بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف – اسمیرنوف و سپس همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون (Leven) انجام شد. نتایج این آزمون‌ها برای آنالیز آماری داده های مربوط به تیمارهای آزمایش (تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)) مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین اختلاف بین تیمارها از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) استفاده شد. در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی دار بود، برای مقایسه میانگین‌ها آزمون دانکن به کار رفت. خطای مجاز برای رد، $\mathbf{H_0}$ در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل ۵ درصد در نظر گرفته شد. همچنین برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2016 استفاده شد.

یافته ها

- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی فیلم

داده‌های مربوط به آزمون فیزیکوشیمیایی فیلم با استفاده از آزمون دوطرفه ANOVA با نرم‌افزار SPSS انجام شد. طبق نتایج به دست آمده از آنالیز تجزیه واریانس آزمون فیزیکوشیمیایی فیلم مشاهده شد که داده‌های حلالیت در آب و همچنین نفوذپذیری در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری دارند. بدین معنی است که حداقل داده‌های بین دو دسته از تیمارها دارای اختلاف است. برای بررسی بیشتر نتایج از آزمون مقایسه میانگین دانکن استفاده کردیم. که نتایج به تفصیل در زیر آمده است.

- میزان حلالیت فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در آب

با توجه به نتایج بدست آمده، بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری وجود دارد. با افزایش آلژینات و کاهش مقدار کیتوزان، میزان حلالیت فیلم‌ها به صورت معنی داری افزایش پیدا کرد ($p\leq$۰/۰۵) (شکل ۱). بالاترین میزان حلالیت مربوط به فیلم خالص آلژینات و کمترین میزان حلالیت مربوط به فیلم کیتوزان خالص بود.

- میزان ضخامت فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان

با توجه به نتایج بدست آمده در (جدول ۱) بین ضخامت تیمارهای مختلف فیلم کامپوزیت بر پایه آلژینات – کیتوزان تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($p>$۰/۰۵).

- میزان نفوذپذیری به بخار آب (WVP) فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان

طبق نتایج بدست آمده از شکل ۲، با مقایسه میانگین میزان نفوذپذیری به بخار آب (WVP) تیمارهای مختلف فیلم کامپوزیت بر پایه آلژینات سدیم – کیتوزان، تفاوت معنی‌داری وجود دارد. با افزایش آلژینات و کاهش مقدار کیتوزان، میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها به صورت معنی داری افزایش پیدا کرد ($p\leq$۰/۰۵). بالاترین میزان نفوذپذیری به بخار آب مربوط به فیلم خالص آلژینات و کمترین میزان نفوذپذیری به بخار آب مربوط به فیلم کیتوزان خالص بود.

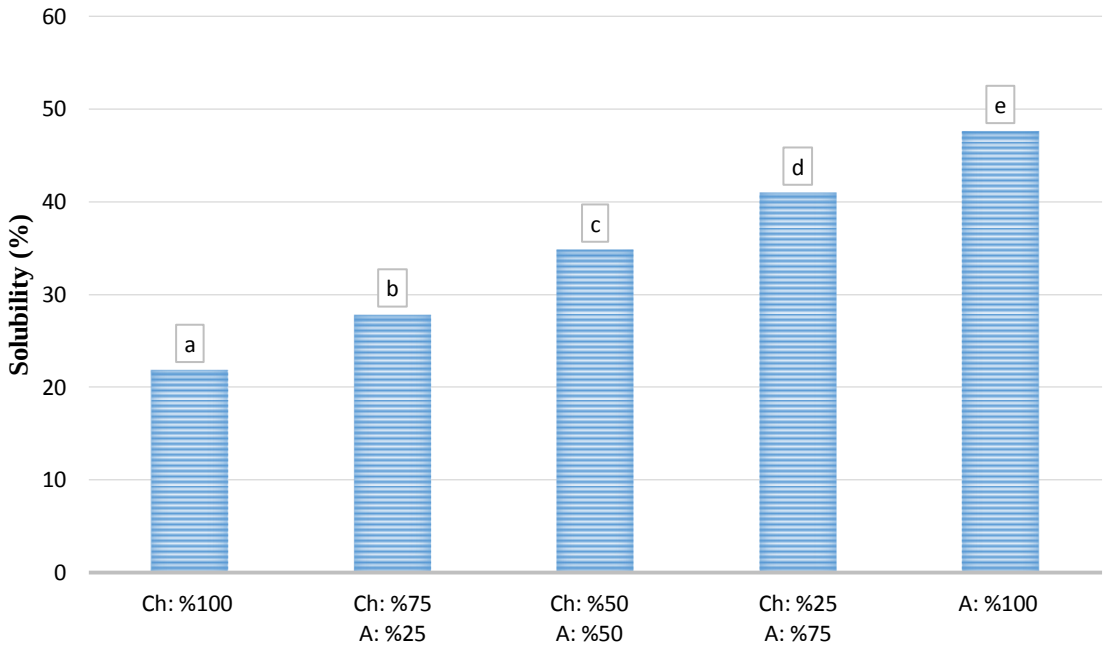

Figure 1- Chart of solubility values in different treatments of composite film containing sodium alginate (A) - chitosan (Ch)
Having the same letters in the same column indicates the absence of a significant difference between the means ($p<0.05$).

شکل ۱- مقادیر حلالیت در تیمارهای مختلف فیلم کامپوزیت حاوی آلژینات سدیم (A) - کیتوزان (Ch)
داشتن حروف مشابه در یک ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد (**p** <۰/۰۵).

Table 1- Thickness values in different treatments of composite film containing sodium alginate-chitosan
جدول ۱- مقادیر ضخامت در تیمارهای مختلف فیلم کامپوزیت حاوی آلژینات سدیم - کیتوزان

Treatment	Thickness (mm)
Alginate (100%)	۰/۰±۱۸/۰۰۰^{a}
Alginate (75%)- Chitosan (25%)	۰/۰±۱۸/۰۰۰^{a}
Alginate (50%)-Chitosan (50%)	۰/۰±۱۸/۰۰۰^{a}
Alginate (25%)- cHitosan (75%)	۰/۰±۱۸/۰۰۰^{a}
Chitosan (100%)	۰/۰±۱۸/۰۰۰^{a}

Having the same letters in the same column indicates the absence of a significant difference between the means ($p<0.05$).

داشتن حروف مشابه دریک ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها می‌باشد (p <۰/۰۵)

- آزمایشات فیزیکوشیمیایی فیله مرغ

در نتایج تجزیه واریانس آزمون فیزکوشیمیایی فیله مرغ مشاهده شد که بین همه تیمارها در صفات مختلف اختلاف معنی‌داری وجود دارد و این بدان معنی است که حداقل بین دو تیمار در همه صفات اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری وجود دارد، که برای بررسی دقیق‌تر این نتایج، از آزمون مقایسه میانگین دانکن استفاده می‌کنیم که اختلاف بین تیمارها مشخص گردد. در بخش‌های بعدی نتایج آزمون مقایسه میانگین دانکن در هر تیمار با جزییات بررسی گردیده است.

- میزان پراکسید فیله مرغ پوشش داده شده با فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

همانگونه که در شکل مقایسه میانگین میزان پروکسید در تیمارها و روزهای مختلف مشاهده می‌شود (شکل ۳)، بین همه تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. به طوری که با گذشت زمان غالباً در همه تیمارها افزایش میزان پروکسید معنی‌دار بوده البته قابل توجه است که در تیمار کیتوزان ۱۰۰ درصد (تیمار ۵) در بین روزهای سوم و ششم اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و همچنین در بین روزهای ۹ و ۱۲

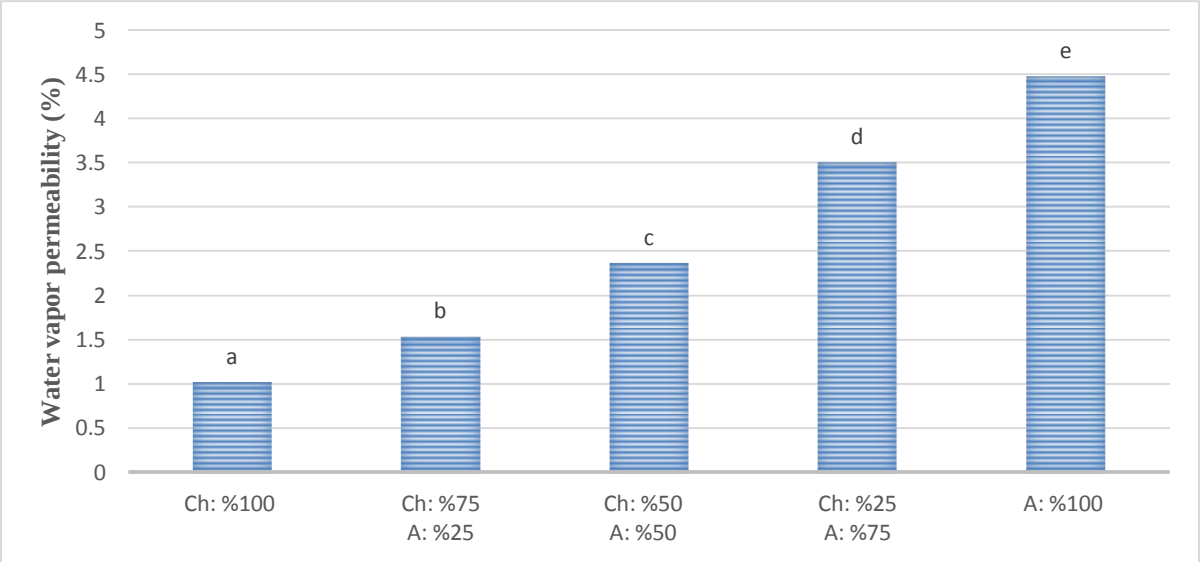

Figure 2- Graph of water vapor permeability (WVP) values of different composite film treatments containing sodium alginate (A) - chitosan (Ch).

Treatment 1 (Alginate 100%), Treatment 2 (Alginate 75% - Chitosan 25%), Treatment 3 (Alginate 50% - Chitosan 50%), Treatment 4 (Alginate 25% - Chitosan 75%), Treatment 5 (Chitosan 100%)

Having the same letters in the same column indicates the absence of a significant difference between the means ($p<0.05$).

شکل ۲- مقادیر نفوذپذیری بخار آب (WVP) تیمارهای مختلف فیلم کامپوزیتی حاوی آلژینات سدیم (A) - کیتوزان (Ch).

تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪- کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪- کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪- کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)

داشتن حروف مشابه دریک ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد ($p <$ ۰/۰۵)

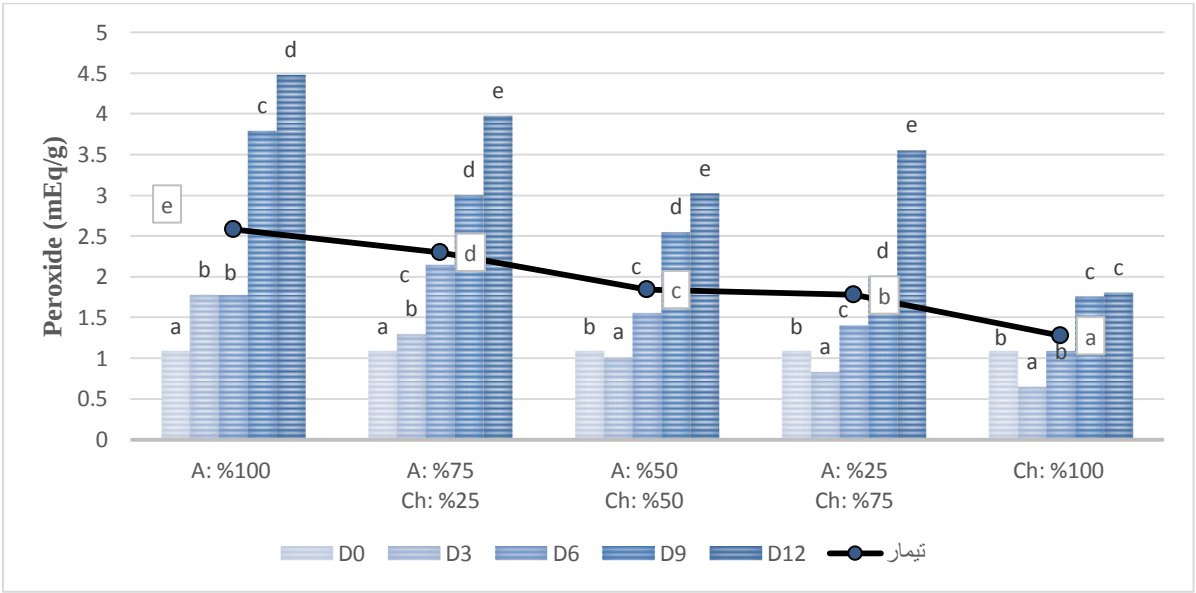

Figure 3- Graph of peroxide values of chicken fillet treatments in sodium alginate (A)-chitosan (Ch) composite film packaging during storage time

Treatment 1 (Alginate 100%), Treatment 2 (Alginate 75% - Chitosan 25%), Treatment 3 (Alginate 50% - Chitosan 50%), Treatment 4 (Alginate 25% - Chitosan 75%), Treatment 5 (Chitosan 100%)

Having the same small letters in a column indicates the absence of a significant difference between the means ($p>0.05$).

Having similar capital letters in a row indicates the absence of a significant difference between the **means ($p>0.05$).**

شکل ۳- مقادیر پراکسید تیمارهای فیله مرغ در بسته‌بندی فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم (A) – کیتوزان (Ch) طی

زمان نگهداری

تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)

داشتن حروف مشابه کوچک دریک ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد($p <$ ۰/۰۵)

داشتن حروف مشابه بزرگ دریک ردیف نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد($p <$ ۰/۰۵)

نیز در این تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، همچنین در تیمار آلژینات ۱۰۰ درصد (تیمار ۱) نیز بین روزهای سوم و ششم اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.

- اندازه گیری میزان ازت فرار (TVB-N) فیله مرغ پوشش داده شده با فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

همان‌گونه که در نتایج مقایسه میانگین شکل ۴ مشاهده می‌شود، بین همه تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌گردد، که کمترین میزان (TVB-N) در تیمار کیتوزان ۱۰۰ درصد (تیمار ۵) مشاهده گردید. همچنین در نتایج مقایسه میانگین در روزهای مختلف مشاده گردید که در تیمار کیتوزان ۱۰۰ درصد بین روز صفر و سوم اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و همچنین بین روزهای نهم و دوازدهم نیز اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. همان‌گونه که در شکل مشخص می‌باشد تغییرات (TVB-N) بین روز صفر و سوم در همه تیمارها افزایش چشمگیری داشته و تنها در تیمار ۴ و ۵ این اختلاف بسیار کم بوده است.

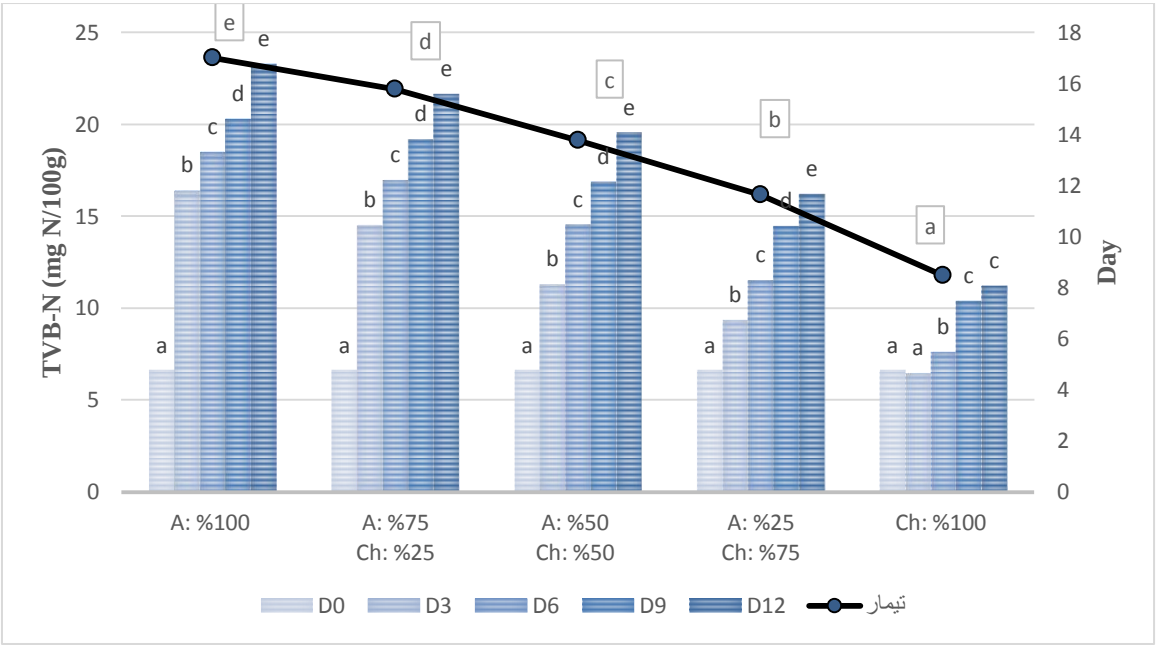

Figure 4- Chart of values (TVB-N) of chicken fillet treatments in sodium alginate (A)-chitosan (Ch) composite film packaging during storage time

Treatment 1 (Alginate 100%), Treatment 2 (Alginate 75% - Chitosan 25%), Treatment 3 (Alginate 50% - Chitosan 50%), Treatment 4 (Alginate 25% - Chitosan 75%), Treatment 5 (Chitosan 100%)

Having the same small letters in a column indicates the absence of a significant difference between the means (p>0.05).

Having similar capital letters in a row indicates the absence of a significant difference between the means (p>0.05).

شکل ٤– مقادیر (TVB-N) تیمارهای فیله مرغ در بسته‌بندی فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم (A) – کیتوزان (Ch) طی زمان نگهداری

تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)

داشتن حروف مشابه کوچک دریک ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد($p <$ ۰/۰۵)

داشتن حروف مشابه بزرگ دریک ردیف نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد($p <$ ۰/۰۵)

- میزان تیوباربیتوریک اسید (TBARs) فیله مرغ پوشش داده شده با فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

همانگونه که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، بین همه تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در میزان تیوبارکوییک اسید حتی بین روزهای مختلف نیز اختلاف معنی‌داری وجود دارد. ولی باید به این مورد اشاره گردد که در مورد تغییرات تیوباربیکوییک اسید در تیمارهایی که میزان کیتوزان بیشتر و آلژینات کمتری دارند بسیار کاهشی بوده است.

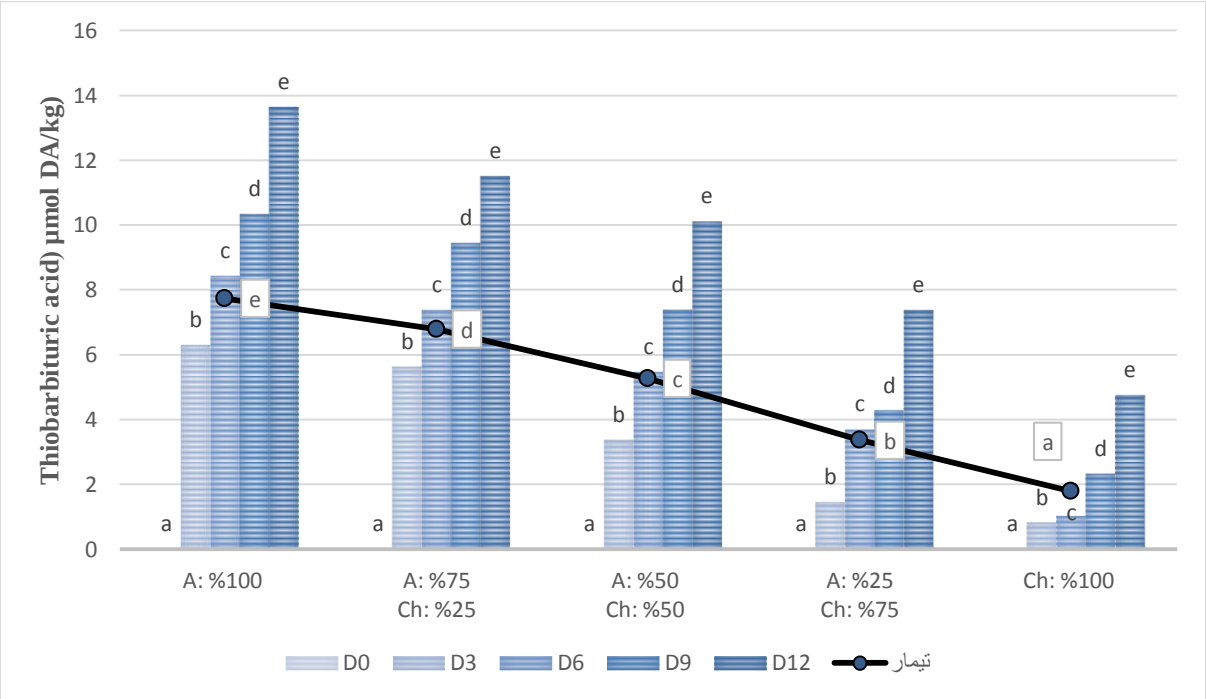

Figure 5- Chart of thiobarbituric acid values (TBARs) of chicken fillet treatments wrapped in sodium alginate (A)-chitosan (Ch) composite film during storage time

Treatment 1 (Alginate 100%), Treatment 2 (Alginate 75% - Chitosan 25%), Treatment 3 (Alginate 50% - Chitosan 50%), Treatment 4 (Alginate 25% - Chitosan 75%), Treatment 5 (Chitosan 100%)

Having the same small letters in a column indicates the absence of a significant difference between the means ($p>0.05$).

Having similar capital letters in a row indicates the absence of a significant difference between the means ($p>0.05$).

شکل ۵- مقادیر تیوباربیتوریک اسید (TBARs) تیمارهای فیله مرغ بسته‌بندی فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم (A) – کیتوزان (Ch) طی زمان نگهداری

تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)

داشتن حروف مشابه کوچک دریک ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد($p <$ ۰/۰۵)

داشتن حروف مشابه بزرگ دریک ردیف نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد($p <$ ۰/۰۵)

- لگاریتم شمارش کلی میکروارگانیسم‌های فیله مرغ پوشش داده شده با فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

همانگونه که در شکل ۶ مشاهده می‌کنید، میان تیمارهای مختلف تغییرات لگاریتم شمارشی میکروارگانیسم معنی‌دار بوده است، ولی در بین دو تیمار، تیمار آلژینات ۷۵٪ و کیتوزان ۲۵٪ (تیمار ۲) و تیمار آلژینات و کیتوزان ۵۰٪ (تیمار ۳) اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. اما با این وجود با کاهش میزان آلژینات و افزایش میزان کیتوزان لگاریتم شمارشی کاهشی بوده است. همچنین مشاهده شد که با

گذشت زمان میزان لگاریتم شمارشی میکروارگانیسم نیز افزایش یافته که در بین روزهای سوم، ششم و نهم اختلاف معنی داری مشاهده گردید. ولی به طور کلی تغییرات در تیمار کیتوزان ۱۰۰ درصد کمتر از سایر تیمارها مشاهده گردید.

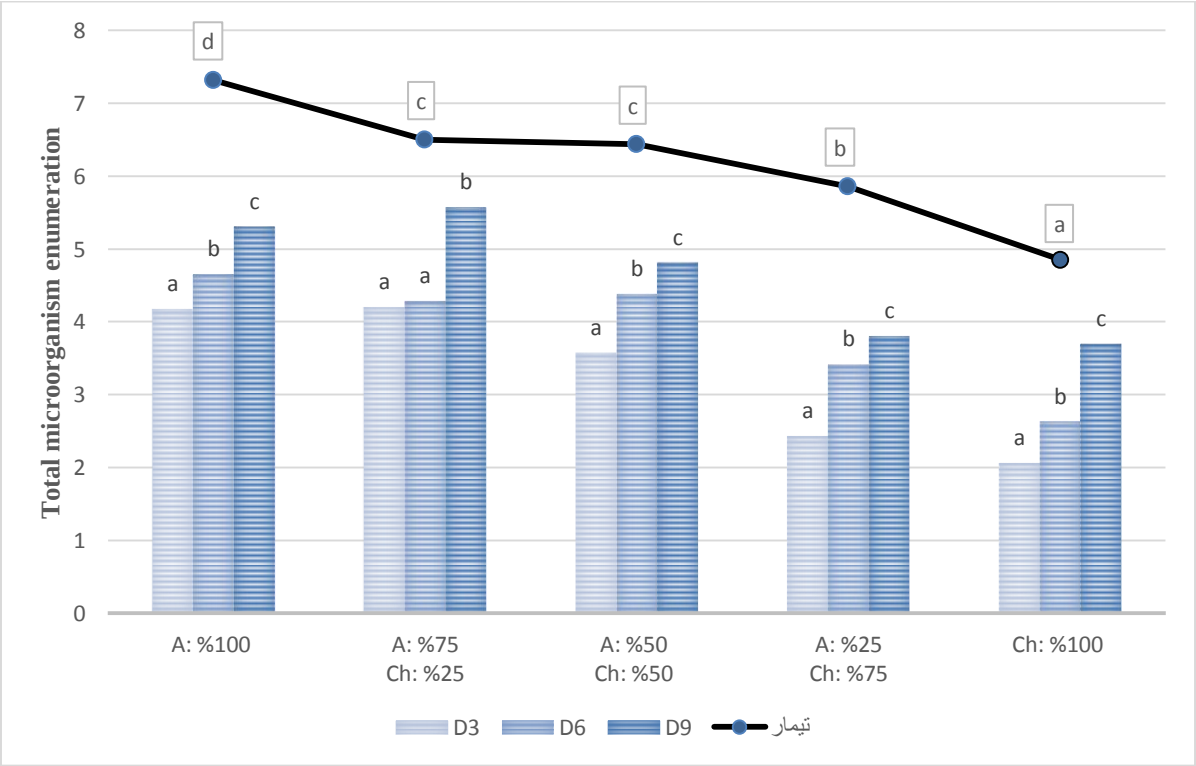

Figure 6- Graph of the logarithm values of total microorganism counts of chicken fillet treatments in sodium alginate (A)-chitosan (Ch) composite film packaging during storage time

Treatment 1 (Alginate 100%), Treatment 2 (Alginate 75% - Chitosan 25%), Treatment 3 (Alginate 50% - Chitosan 50%), Treatment 4 (Alginate 25% - Chitosan 75%), Treatment 5 (Chitosan 100%)

Having the same lowercase letters indicates the absence of a significant difference between the means (p>0.05).

شکل ٦- مقادیر لگاریتم شمارش کلی میکروارگانیسم تیمارهای فیله مرغ در بسته‌بندی فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم (A) – کیتوزان (Ch) طی زمان نگهداری

تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)

داشتن حروف مشابه کوچک نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد($p<0.05$)

- لگاریتم شمارش کپک و مخمر فیله مرغ پوشش داده شده فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

نتایج مقایسه میانگین میزان لگاریتم شمارش کپک و مخمر فیله مرغ پوشش داده شده با آلژینات و کیتوزان در طی زمان نگهداری در شکل ۷ آمده است. بین تیمارها اختلاف معنی داری در افزایش میزان کپک و مخمر وجود دارد. ولی بین دو تیمار ۲ و ۳ اختلاف معنی داری مشاهده نشد. همچنین در طی روزهای مختلف افزایش میزان کپک و مخمر معنی‌دار مشاهده گردید. البته باید ذکر شود در تیمارهایی که میزان کیتوزان بیشتر و آلژینات کمتری بودند افزایش میزان کپک و مخمر کمتر بوده است.

- لگاریتم شمارش باکتری‌های سرماگرای فیله مرغ پوشش داده شده فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

همانگونه که در شکل ۸ نمایان است، فقط بین دو تیمار ۴ و ۵ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و بین بقیه تیمارها اختلاف معنی داری وجود دارد. و همچنین مشاهده گردید که در همه تیمارها به جز تیمار ۲ افزایش معنی‌داری تا روز ششم مشاهده نشد که این افزایش رابطه مستقیمی با میزان آلژینات و رابطه معکوسی با میزان کیتوزان فیلم دارد. در تیمار ۵ با کیتوزان ۱۰۰ درصد مشاهده شد که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد، که در بقیه تیمارها این مورد مشاهده نشد.

- لگاریتم شمارش باکتری‌های انتروباکتریاسه فیله مرغ پوشش داده شده فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

همانگونه که در شکل ۹ مشاهده می‌گردد، بین تیمارهای ۲ و ۳، همچنین بین تیمارهای ۴ و ۵ اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود. از طرفی در مقایسه میانگین شمارش باکتری‌های انتروباکتریاسه فقط در تیمارهای ۴ و ۵ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری بین روزهای مختلف وجود نداشته است. که طبق نتایج با افزایش آلژینات میزان این باکتری‌ها نیز افزایش داشته است.

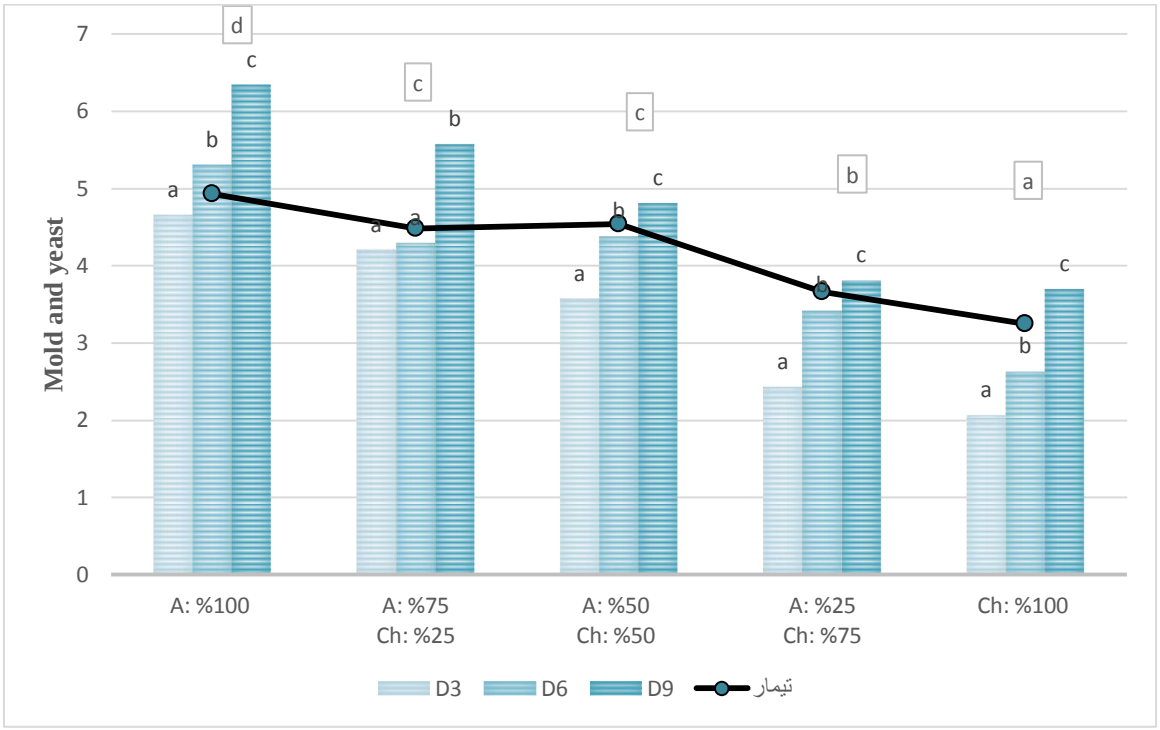

Figure 7- Graph of logarithmic values of mold and yeast counts of chicken fillet treatments in sodium alginate (A)-chitosan (Ch) composite film layering during storage time

Treatment 1 (Alginate 100%), Treatment 2 (Alginate 75% - Chitosan 25%), Treatment 3 (Alginate 50% - Chitosan 50%), Treatment 4 (Alginate 25% - Chitosan 75%), Treatment 5 (Chitosan 100%)

شکل ۷- مقادیر لگاریتم شمارش کپک و مخمر تیمارهای فیله مرغ در بسته‌بندی فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم (A) – کیتوزان (Ch) طی زمان نگهداری.

تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)

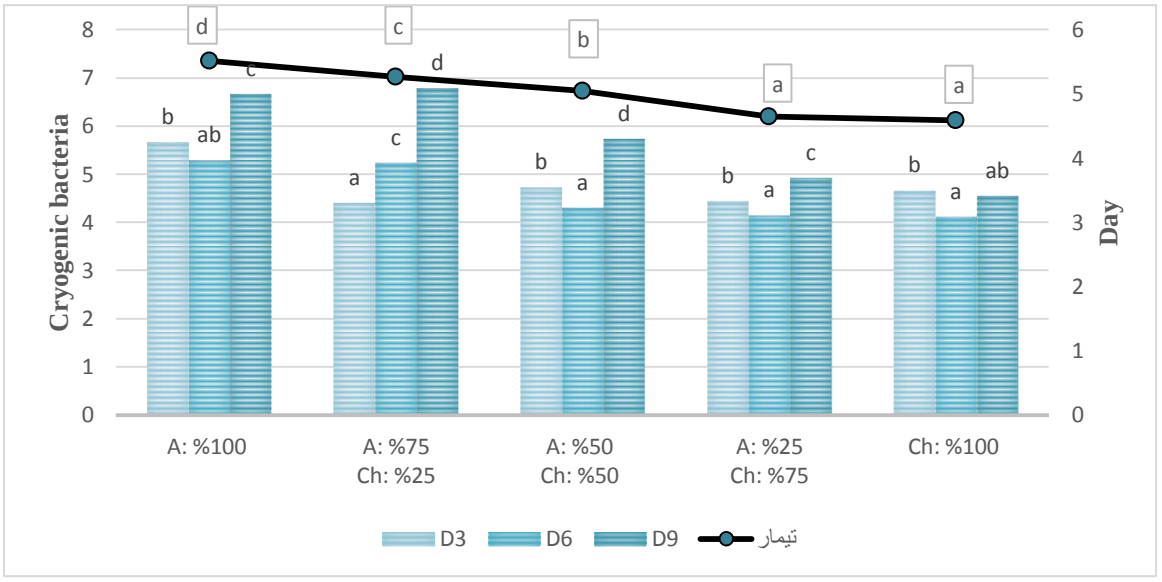

Figure 8- Graph of logarithmic values of cold-oriented bacteria counts of chicken fillet treatments in sodium alginate (A)-chitosan (Ch) composite film packaging during storage time

Treatment 1 (Alginate 100%), Treatment 2 (Alginate 75% - Chitosan 25%), Treatment 3 (Alginate 50% - Chitosan 50%), Treatment 4 (Alginate 25% - Chitosan 75%), Treatment 5 (Chitosan 100%)

شکل ۸- مقادیر لگاریتم شمارش باکتری‌های سرماگرای تیمارهای فیله مرغ در بسته‌بندی فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم (A) – کیتوزان (Ch) طی زمان نگهداری

تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)

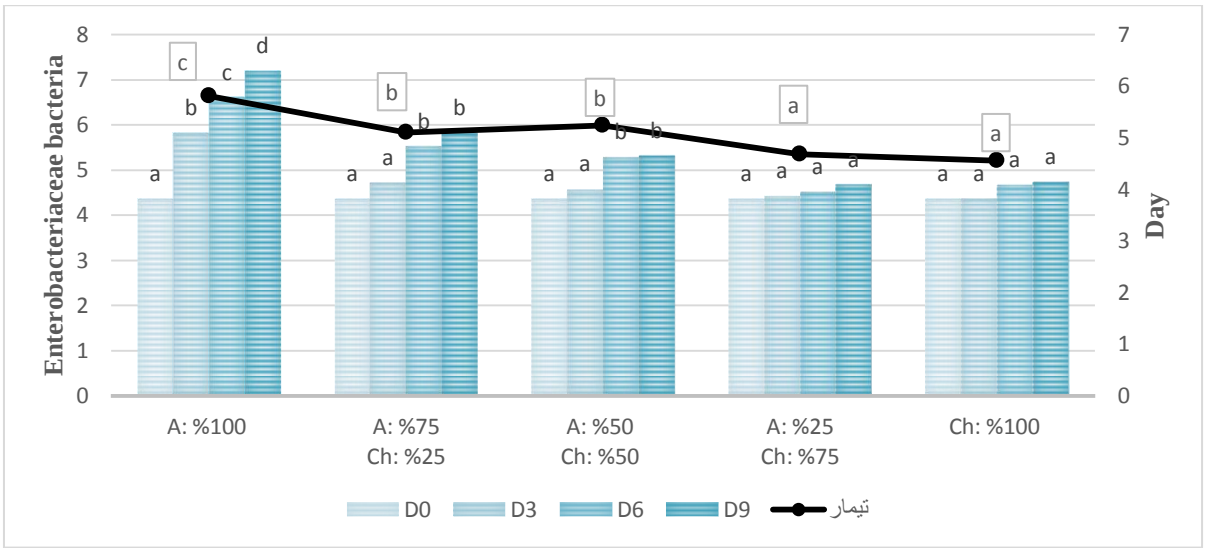

Figure 9- Diagram of the logarithm values of Enterobacteriaceae bacteria counts of chicken fillet treatments in sodium alginate (A)-chitosan (Ch) composite film stacking during storage time

Treatment 1 (Alginate 100%), Treatment 2 (Alginate 75% - Chitosan 25%), Treatment 3 (Alginate 50% - Chitosan 50%), Treatment 4 (Alginate 25% - Chitosan 75%), Treatment 5 (Chitosan 100%)(

Having the same small letters in a column indicates the absence of a significant difference between the means (p>0.05).

شکل ۹- مقادیر لگاریتم شمارش باکتری‌های انتروباکتریاسه تیمارهای فیله مرغ در بسته‌بندی فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم (A) – کیتوزان (Ch) طی زمان نگهداری

تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)

داشتن حروف مشابه کوچک دریک ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد(p <۰/۰۵)

- لگاریتم شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک فیله مرغ پوشش داده شده فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

همانگونه که در شکل ۱۰ مشاهده می‌کنید، بین همه تیمارها اختلاف معنی داری وجود دارد. که با افزایش میزان کیتوزان میزان باکتری‌های اسید لاکتیک کاهش داشته است. در تیمار ۴ و ۵ که عملکرد بهتری از خود نشان داده‌اند بین روزهای ۶ و۹ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

- ارزیابی حسی فیله مرغ

- طعم

نتایج مقایسه میانگین امتیاز طعم فیله مرغ پوشش داده شده با فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم - کیتوزان در طی زمان نگهداری در شکل ۱۱ قابل مشاهده است. بر اساس نتایج بدست آمده با افزایش درصد کیتوزان در فیلم امتیاز طعم نیز کاهش پیدا کرد که از لحاظ آماری اختلاف معناداری داشتند ($p\leq۰/۰۵$) که البته میان تیمارهای ۱ تا ۴ اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود. همچنین با گذشت زمان ۹ روز میزان امتیاز طعم کاهش معناداری پیدا کرد ($p\leq۰/۰۵$) که البته بین ۰ تا ۳ روز اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود. با توجه به نتایج شکل ۱۱ بالاترین امتیاز طعم در نمونه‌ها با گذشت زمان نگهداری مربوط به تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪) می‌باشد و پایین‌ترین امتیاز طعم مربوط به تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰ درصد) می‌باشد.

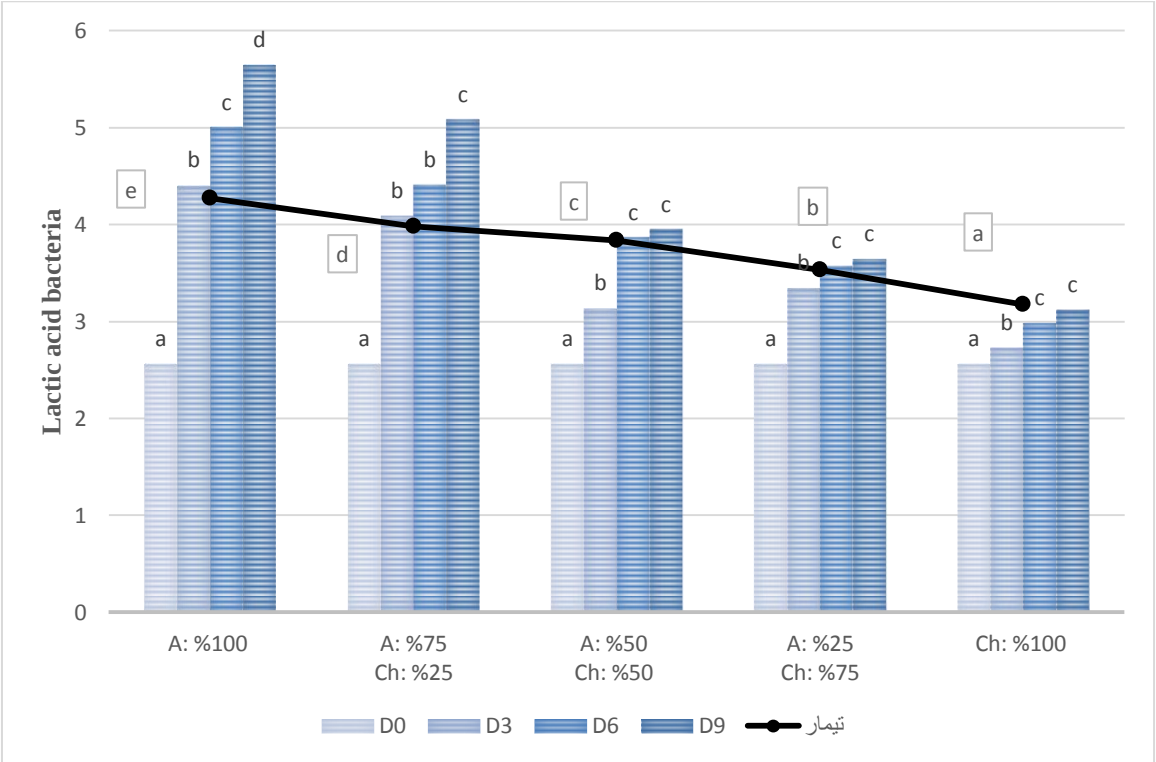

Figure 10- Chart of logarithmic values of lactic acid bacteria counts of chicken fillet treatments in sodium alginate (A)-chitosan (Ch) composite film packaging during storage time

Treatment 1 (Alginate 100%), Treatment 2 (Alginate 75% - Chitosan 25%), Treatment 3 (Alginate 50% - Chitosan 50%), Treatment 4 (Alginate 25% - Chitosan 75%), Treatment 5 (Chitosan 100%)

شکل ۱۰– مقادیر لگاریتم شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک تیمارهای فیله مرغ در بسته‌بندی فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم (A) – کیتوزان (Ch) طی زمان نگهداری

تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)

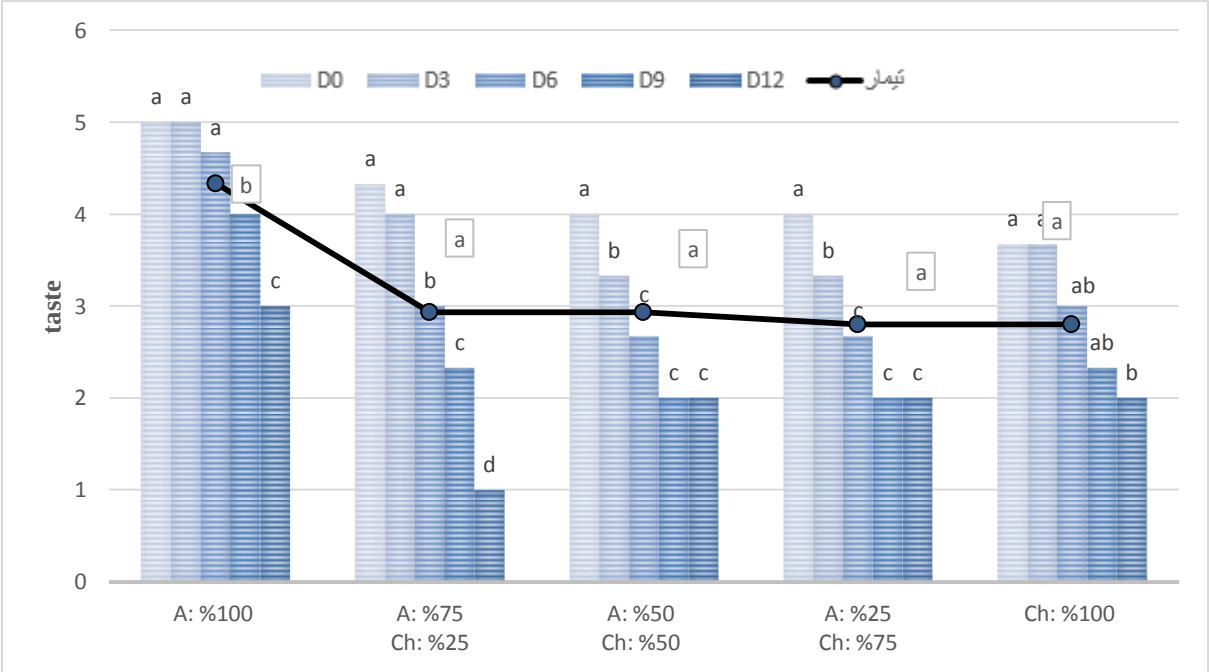

Figure 11- Taste score chart of chicken fillets packaged with sodium alginate (A)-chitosan (Ch) composite film during storage time

Treatment 1 (Alginate 100%), Treatment 2 (Alginate 75% - Chitosan 25%), Treatment 3 (Alginate 50% - Chitosan 50%), Treatment 4 (Alginate 25% - Chitosan 75%), Treatment 5 (Chitosan 100%)

شکل ۱۱- امتیاز طعم تیمارهای فیله مرغ بسته‌بندی فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم (A) – کیتوزان (Ch) در طی زمان نگهداری

تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)

- بو

نتایج مقایسه میانگین امتیاز بو فیله مرغ پوشش داده شده با آلژینات و کیتوزان در طی زمان نگهداری در شکل ۱۲ آمده است. بر اساس نتایج بدست آمده با افزایش درصد کیتوزان در فیلم امتیاز بو نیز کاهش پیدا کرد که از لحاظ آماری اختلاف معناداری داشتند ($p\leq$۰/۰۵) که البته میان تیمارهای ۱ تا ۴ اختلاف معنی داری مشاهده نمی شود. همچنین با گذشت زمان ۱۲ روز امتیاز بو کاهش معناداری پیدا کرد ($p\leq$۰/۰۵). با توجه به نتایج شکل ۹ بالاترین امتیاز بو در نمونه‌ها با گذشت زمان نگهداری مربوط به تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪) می‌باشد و پایین‌ترین امتیاز بو مربوط به تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰ درصد) می‌باشد.

- پذیرش کلی

نتایج مقایسه میانگین امتیاز پذیرش کلی فیله مرغ پوشش داده شده با فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طی زمان نگهداری در شکل ۱۳ آمده است. بر اساس نتایج بدست آمده با افزایش درصد کیتوزان در فیلم امتیاز پذیرش کلی نیز کاهش پیدا کرد که از لحاظ آماری اختلاف معناداری داشتند ($p\leq$۰/۰۵) که البته میان تیمارهای ۱ تا ۴ اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی شود. همچنین با گذشت زمان ۱۲ روز امتیاز پذیرش کلی کاهش معناداری پیدا کرد ($p\leq$۰/۰۵). با توجه به نتایج شکل ۱۳ بالاترین امتیاز پذیرش کلی در نمونه‌ها با گذشت زمان نگهداری مربوط به تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪) می‌باشد و پایین‌ترین امتیاز پذیرش کلی مربوط به تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰ درصد) می‌باشد.

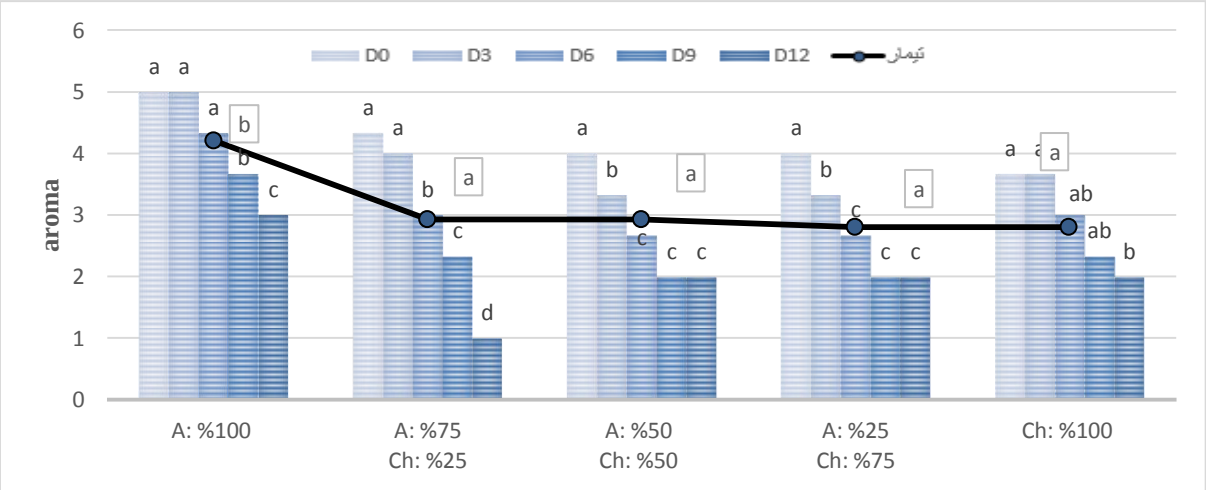

Figure 12- Diagram of the aroma score of chicken fillet treatments wrapped in sodium alginate (A)-chitosan (Ch) composite film during storage time

Treatment 1 (Alginate 100%), Treatment 2 (Alginate 75% - Chitosan 25%), Treatment 3 (Alginate 50% - Chitosan 50%), Treatment 4 (Alginate 25% - Chitosan 75%), Treatment 5 (Chitosan 100%)

Having the same small letters in a column indicates the absence of a significant difference between the means (p>0.05).

Having similar capital letters in a row indicates the absence of a significant difference between the means (p>0.05).

شکل ۱۲- امتیاز آروما تیمارهای فیله مرغ بسته‌بندی فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم (A) – کیتوزان (Ch) در طی زمان نگهداری

تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)

داشتن حروف مشابه کوچک دریک ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد($p <$ ۰/۰۵)

داشتن حروف مشابه بزرگ دریک ردیف نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد($p <$ ۰/۰۵)

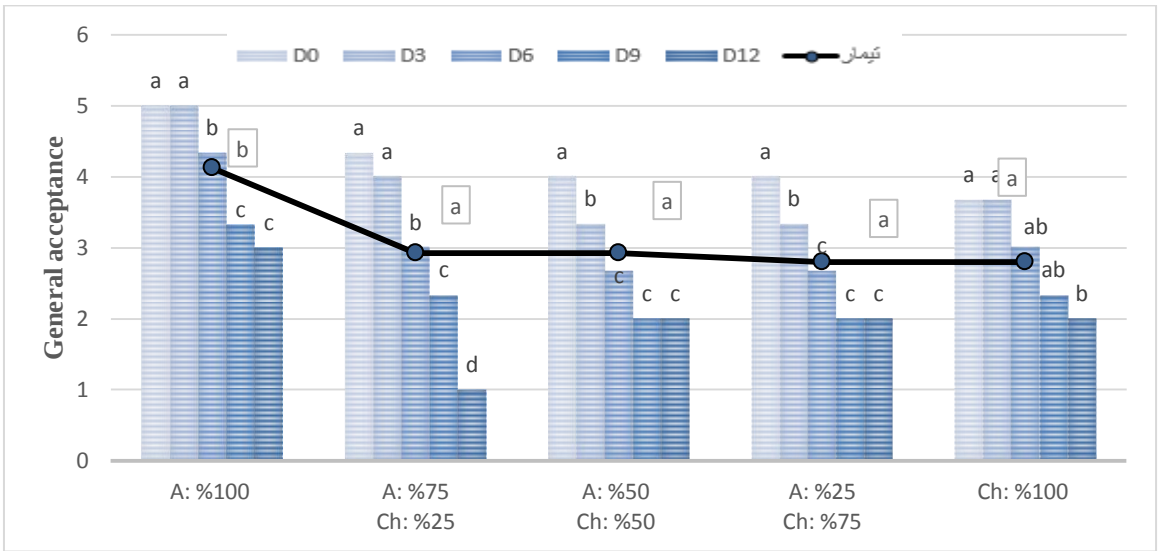

Figure 13-Graph of overall acceptance score of treatments of chicken fillet wrapped in sodium alginate (A)-chitosan (Ch) composite film during storage time

Treatment 1 (Alginate 100%), Treatment 2 (Alginate 75% - Chitosan 25%), Treatment 3 (Alginate 50% - Chitosan 50%), Treatment 4 (Alginate 25% - Chitosan 75%), Treatment 5 (Chitosan 100%)

Having the same small letters in a column indicates the absence of a significant difference between the means (p>0.05).

Having similar capital letters in a row indicates the absence of a significant difference between the means (p>0.05).

شکل ۱۳- امتیاز پذیرش کلی تیمارهای فیله مرغ بسته‌بندی فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم (A) – کیتوزان (Ch) در طی زمان نگهداری

تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰٪)، تیمار ۲ (آلژینات ۷۵٪– کیتوزان ۲۵٪)، تیمار ۳ (آلژینات ۵۰٪– کیتوزان ۵۰٪)، تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪– کیتوزان ۷۵٪)، تیمار ۵ (کیتوزان ۱۰۰٪)

داشتن حروف مشابه کوچک دریک ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد ($p <$ ۰/۰۵)

داشتن حروف مشابه بزرگ دریک ردیف نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها می‌باشد ($p <$ ۰/۰۵)

بحث

- میزان حلالیت فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در آب

معمولاً متخصصان میزان حلالیت فیلم‌های خوراکی متناسب با فرآورده مورد نظر جهت بسته‌بندی مشخص می‌نمایند. که در برخی فراورده‌ها نیاز به فیلم با انحلال پذیری بالا وجود دارد، در حالی که در اکثر موارد حلالیت کم فیلم مورد نیاز ما می‌باشد. طبق نتایج بدست آمده بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری وجود دارد، و با افزایش آلژینات و کاهش مقدار کیتوزان، میزان حلالیت فیلم‌ها به صورت معنی داری افزایش پیدا کرد ($p\leq$۰/۰۵) (شکل۱). بالاترین میزان حلالیت مربوط به فیلم خالص آلژینات و کمترین میزان حلالیت مربوط به فیلم کیتوزان خالص بود. بالابودن میزان نفوذ بخار آب به آلژینات سدیم نسبت به سایر ترکیبات به علت عدم ثبات ساختمان مارپیچ آلژینات می‌باشد. همچنین آب به عنوان یک نرم کننده در سطوح آبدوست مانند فیلم حاوی آلژینات سدیم عمل می‌کند و چگالی یا ویسکوزیته موضعی را کاهش داده و باعث افزایش تحرک مولکول‌های انتشاری می‌شود. (Liu *et al.*, 2023). به همین علت حلالیت و قابلیت نفوذ پذیری نسبت به بخار آب در مواجهه با آلژینات سدیم افزایش می‌یابد. اغلب فیلم‌های بر پایه پلی ساکارید و پروتئین به علت ماهیت آبدوست خود دارای حلالیت بالایی هستند، به همین علت در تیمار ۱ که حاوی آلژینات به تنهایی می‌باشد میزان حلالیت بالایی نسبت به کیتوزان دارد و هرچه درصد آلژینات در تیمارها افزایش می‌یابد میزان حلالیت نیز بالا رفته، به طوری که در تیمار حاوی ۷۵ درصد آلژینات میزان حلالیت بالاتری نسبت به تیمار حاوی ۲۵ درصد آلژینات را دارد. تحقیقات مشابهی را Mousavi و همکاران (2021)، با موضوع تأثیر نوع اتصالات عرضی(پیوند یونی و یا کوالانسی) بر خواص ساختاری، ضد میکروبی و رهاسازی کنترل‌شده لایه‌های کامپوزیت ژلاتین–کیتوسان ماهی همراه با ε–پلی–ال–لیزین و همچنین Lopes و همکاران (2020)، بررسی و شناسایی لایه‌های پلیمری زیستی با مزوکارپ نارگیل آلژینات و باباسو را انجام دادند.

- میزان ضخامت فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان

طبق نتایج بدست آمده در (جدول ۱) ضخامت فیلم‌های کامپوزیت بر پایه آلژینات سدیم – کیتوزان بررسی شد. بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($p>$۰/۰۵). به این صورت می‌توان گفت که آلژینات سدیم – کیتوزان تأثیر مشخصی بر روی میزان ضخامت فیلم‌ها ندارند.

- میزان نفوذپذیری به بخار آب (WVP) فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان

به انتشار مولکول‌های آب از سطح مقطع فیلم، نفوذ پذیری به بخار آب گفته می‌شود که می‌توان با استفاده از این ویژگی میزان ممانعت کنندگی فیلم را تخمین زد. به منظور جلوگیری از دست رفتن آب محصولات غذایی یا کاهش آن، فیلم‌های مورد استفاده باید بتوانند انتشار آب از محصول به محیط را کنترل کنند، از این رو نفوذ پذیری به بخار آب فیلم‌ها باید تا حد ممکن پایین باشد. مقایسه میانگین میزان نفوذپذیری به بخار آب (WVP) فیلم‌های کامپوزیت بر پایه آلژینات – کیتوزان بررسی شد. طبق نتایج بدست آمده بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری وجود دارد. با افزایش آلژینات و کاهش مقدار کیتوزان، میزان نفوذپذیری به بخار آب (WVP) فیلم‌ها به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($p\leq$۰/۰۵). شکل ۲، بالاترین میزان نفوذپذیری به بخار آب (WVP) مربوط به فیلم خالص آلژینات و کمترین میزان نفوذپذیری به بخار آب (WVP) مربوط به فیلم کیتوزان خالص بود. قابلیت نفوذ بالاتر آلژینات به بخار آب نسب به سایر ترکیبات به علت عدم ثبات ساختمان مارپیچ آلژینات می‌باشد. همچنین آب به عنوان یک نرم کننده در سطوح آبدوست مانند فیلم حاوی آلژینات سدیم عمل می‌کند و چگالی یا ویسکوزیته موضعی را کاهش داده و باعث افزایش تحرک مولکول‌های

انتشاری می‌شود. به همین علت حلالیت و قابلیت نفوذ پذیری نسبت به بخار آب در مواجهه با آلژینات سدیم افزایش می‌یابد (Júnior et al., 2021). همان طور که در نتایج بدست آمده مشاهده می‌گردد، فیلم حاوی ۵۰ درصد آلژینات توانایی عبور بخار آب کمتری نسبت به ۱۰۰ درصد آلژینات را دارد به عبارت دیگر بر هم کنش بین کیتوزان و آلژینات سبب ساختار متراکم تر فیلم‌های تهیه شده نسبت به آلژینات تنها می‌باشد که کاهش میزان نفوذ پذیری بخار آب را در پی دارد. تحقیقات مشابهی را García و همکاران (2020) با موضوع نفوذپذیری بخار آب لایه‌های کامپوزیت کیتوزان/ زئولیت تحت تاثیر غلظت‌های میکرو ذرات بیوپلیمر و زئولیت و همچنین Caicedo و همکاران (2022)، تأثیر محتوای نرم‌کننده بر نفوذپذیری مکانیکی و بخار آب فیلم‌های کامپوزیتی نشاسته ذرت/ PVOH/ کیتوزان انجام دادند.

- میزان پراکسید فیله مرغ پوشش داده شده با فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

شاخص پراکسید، پارامتر مناسبی برای بررسی روند اکسایش چربی گوشت است. بین عوامل پرو اکسیداسیونی و آنتی اکسیداسیونی که واکنش‌های اکسیداتیو چربی را در کنترل خود دارند تعادلی وجود دارد. اما پس از کشتار و با گذشت زمان تعادل فوق بهم خورده و فساد اکسیداتیو آغاز می‌شود. حساسیت گوشت نسبت به اکسایش چربی بستگی به فاکتورهای مختلفی از قبیل گونه حیوان، موقعیت تشریحی عضلات بدن، مدت زمان نگهداری، روش‌های بسته‌بندی و افزودن آنتی اکسیدان‌ها دارد. اکسیداسیون چربی باعث بو و طعم نامطبوع می‌شود بنابراین مرغ فیله شده و تازه را به مرور زمان غیر قابل مصرف می‌سازد. هیدروپراکسیدها و رادیکال‌های آزاد تشکیل شده طی اکسیداسیون ممکن است مستقیما با بافت‌های مرغ برای ایجاد واکنش‌های کمپلکس واکنش داده و باعث این فرآیند شوند. اگرچه رادیکال‌های آزاد به عنوان عامل تشدید کننده اکسایش چربی در گوشت مرغ شناخته شده اند، اما میزان چربی و ترکیب اسید چرب نیز اهمیت زیادی در اکسایش چربی مرغ در طی مدت نگهداری دارد. شاخص پراکسید با اکسایش اولیه چربی در ارتباط می‌باشد (Liu *et al.*, 2023). با توجه به نتایج شکل ۳، با گذشت زمان غالباً در همه تیمارها افزایش میزان پروکسید به صورت معنی‌دار بوده اما هر چه در تیمارها بر میزان کیتوزان افزوده و مقدار آلژینات کاسته شده، شاخص پراکسید هم رو به نزول بوده است به طوری که میزان پراکسید در تیمار ۵ در پایین ترین حد خود بوده است. که احتمالاً به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی کیتوزان و ممانعت از مجاورت اکسیژن با فیله مرغ می‌باشد. حد مجاز عدد پراکسید برای گوشت مرغ، ۱۰ میلی اکی والان بر کیلوگرم می‌باشد که نتایج حاصل در محدوده مجاز پراکسید قرار داشتند. در جهت این قضیه که تحقیقات مشابهی توسط Yan و همکاران (2022) با موضوع بهبود کیفیت نگهداری ماهی سالمون تازه (سالمو سالار) با استفاده از فیلم کامپوزیت قوی هیدرولیز پروتئین برنج و کیتوزان انجام دادند که معتقدند که میزان نفوذپذیری اکسیژن در پوشش‌های خوراکی وجود دارد و این امر می‌تواند بر روند اکسیداسیون مواد غذایی تاثیر بگذارد و همچنین Farokhzad و همکاران (۲۰۲۳)، تاثیر کیتوزان و اسانس رزماری بر ویژگی‌های کیفی برگر مرغ در زمان نگهداری انجام شده است.

- میزان ازت فرار (TVB-N) فیله مرغ پوشش داده شده با فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

بازهای ازت فرار یک شاخص کیفی است که نشانگر میزان فساد، تجزیه و شکستن پروتئین‌ها بوده و به واسطه فعالیت میکروبی و آنزیم‌های درونی خود گوشت مرغ افزایش می‌یابد. سوخت و ساز میکروبی آمینو اسیدها در گوشت مرغ منجر به تجمع آمونیوم، مونواتیل آمین[1]، در اتیل آمین[2]، تری اتیل آمین[3] و سایر بازهای فرار می‌شود که همگی موجب بد طعمی گوشت مرغ می‌گردند. از آنجا که حضور باکتری‌ها در گوشت منجر به اتولیز پروتئین‌ها و تجزیه آنها، شکستن ترکیباتی از جمله تری متیل آمین اکسیدها، پپتیدها، آمینو اسیدها و غیره می‌شود. مقادیر بیشتر بار میکروبی مشاهده شده در نمونه‌های شاهد می‌تواند توجیهی برای افزایش میزان بازهای نیتروژنی در

[1] Mono-Ethyle Amine [2] D-Ethyle Amine [3] Tri-Ethyle Amine

آنها باشد. همان‌گونه که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، بین همه تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌گردد، که کمترین میزان (TVB-N) در تیمار کیتوزان ۱۰۰درصد (تیمار ۵) مشاهده گردید. همچنین در نتایج مقایسه میانگین در روزهای مختلف مشاهده گردید که در تیمار کیتوزان ۱۰۰ درصد بین روز صفر و سوم اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و همچنین بین روزهای نهم و دوازدهم نیز اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. همان‌گونه که در چارت مشخص می‌باشد تغییرات (TVB-N) بین روز صفر و سوم در همه تیمارها افزایش چشمگیری داشته و تنها در تیمار ۴ و ۵ این اختلاف بسیار کم بوده است. کیتوزان بدلیل دارا بودن ترکیبات ضد میکروبی مانع تجزیه باکتریایی و آنزیمی پروتئین‌ها می‌شود همچنین حضور یک لایه محافظ که همان پوشش خوراکی یا روکش غذایی مانند سدی عمل کرده و نمونه‌های پوشش داده شده نسبت به تیمار شاهد دیرتر دچار افت کیفیت پروتئینی می‌شود (Liu *et al*., 2023). همچنین نمونه حاوی ۷۵ درصد کیتوزان میزان (TVB-N) کمتری نسبت به تیمار شاهد بوده است که این می‌تواند به دلیل، افزایش حفظ رطوبت در نمونه‌ها و جلوگیری از تاثیر آن بر تشکیل اسیدهای چرب آزاد و دناتوره شدن پروتئین می‌باشد. یکی از دلایل دیگر می‌تواند کاهش سریعتر جمعیت باکتریایی یا کاهش ظرفیت باکتری‌ها برای آمینو زدایی اکسایشی ترکیبات نیتروزنی و غیر نیتروزنی یا هردو می‌باشد. تحقیقات مشابهی توسط Salimiraad و همکاران (2022) با موضوع شناسایی فیلم‌های جدید نانوکامپوزیت پروبیوتیک مبتنی بر نانو کیتوزان/نانو سلولز/ژلاتین برای نگهداری فیله مرغ تازه و همچنین Yan و همکاران (2022) با موضوع بهبود کیفیت نگهداری ماهی سالمون تازه (سالمو سالار) با استفاده از فیلم کامپوزیت قوی هیدرولیز پروتئین برنج و کیتوزان انجام گرفته است.

- میزان تیوباربیتوریک اسید (TBARs) فیله مرغ پوشش داده شده با فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

اکسایش چربی دلیل اصلی کاهش کیفیت گوشت و مهمترین دلیل برای عدم پذیرش محصول توسط مصرف کننده است. شاخص تیوباربیتوریک اسید، محصولات ثانویه اکسایش چربی را اندازه گیری می‌کند و مسئول تندشدگی اکسیداتیو گوشت مرغ است. همان‌گونه که در شکل ۵ قابل مشاهده است، میزان تیوباربیتوریک اسید فیله سینه مرغ در بین همه تیمارها و حتی زمان نگهداری اختلاف معنی‌داری وجود دارد. ولی باید به این مورد اشاره گردد که در مورد تغییرات تیوباربیکوییک اسید در تیمارهایی که میزان کیتوزان بیشتر (تیمار ۵ با ۱۰۰٪) و آلژینات کمتری دارند بسیار کاهشی بوده است. وجود اسید چرب آزاد به واسطه اکسایش و آبکافت آنزیمی چربی‌های استری بوده و یک ترکیب نامطلوب می‌باشد، چون اسیدهای چرب آزاد می‌توانند به ترکیبات فرار بد بو تبدیل شوند. با اینکه تولید اسیدهای چرب آزاد به خودی خود منجر به افت کیفیت تغذیه‌ای نمی شود اما آزمون میزان ابکافت چربی در شرایط سرما و انجماد نیز ادامه دارد که تأثیر شدیدی بر اکسیداسیون چربی و دناتوره شدن پروتئین دارد. تأثیر پروکسیدانی اسیدهای چرب آزاد بر چربی نیز گزارش شده است، بدین صورت که اسیدهای چرب آزاد بر گروه کربوکسیل اثر تحریک کننده داشته و تشکیل هیدروپروکسیدها و متعاقباً رادیکال‌های آزاد را تسریع می‌بخشد. علاوه بر این به دلیل کوچک بودن اندازه مولکول‌های اسید چرب آزاد نسبت به چربی‌های بزرگتر (مهم ترین آنها تری آسیل گلیسرول‌ها و فسفولیپیدها)بیشتر در مقابل اکسیداسیون توسط آنزیم هایی چون لیپازها و فسفولیپازها می‌باشد. به واسطه آبکافت فسفولیپیدها و تری گلیسریدها توسط لیپاز و فسفولیپاز، افزایش تدریجی در تولید اسید چرب آزاد در تمام نمونه‌ها مشاهده شد اما در فیله‌های سینه مرغ پیچیده شده با فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان این افزایش در طول نگهداری کندتر شد. دلیل پایین تر بودن میزان اسیدهای چرب آزاد در تیمارهای دارای فیلم را شاید بتوان به فعالیت شلاته کنندگی کیتوزان نسبت داد چرا که کیتوزان به عنوان عامل شلاته کننده با پاره‌ای از فلزات پیوند یافته و لذا از رشد میکروبی جلوگیری می‌کند، همچنین کیتوزان همواره به عنوان بازدارنده آنزیم‌های مختلف شناسایی شده است (Peighambardoust *et al*., 2023). تحقیقات مشابهی توسط Tian و همکاران (2021) با موضوع فیلم بسته‌بندی فعال بر پایه نشاسته استری شده با عصاره سبوس گندم سیاه تارتاری و کیتوزان و کاربرد آن برای نگهداری گوشت

گوسفند و هچنین Souza و همکاران (2020)، فیلم‌های بیونانو کامپوزیت ZnO/Chitosan سازگار با محیط زیست برای بسته‌بندی گوشت مرغ تازه انجام دادند.

- لگاریتم شمارش کلی میکروارگانیسم‌های فیله مرغ پوشش داده شده با فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

همانگونه که در شکل ۶ مشاهده میگردد، میان تیمارهای مختلف تغییرات لگاریتم شمارش کلی میکروارگانیسم معنی‌دار بوده است، ولی در بین دو تیمار، تیمار آلژینات ۷۵٪ و کیتوزان ۲۵٪ (تیمار ۲) و تیمار آلژینات و کیتوزان ۵۰٪ (تیمار ۳) اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. اما با این وجود با کاهش میزان آلژینات و افزایش میزان کیتوزان لگاریتم شمارش کلی میکروارگانیسم کاهشی بوده است. همچنین مشاهده شد که با گذشت زمان میزان لگاریتم شمارشی میکروارگانیسم نیز افزایش یافته که در بین روزهای سوم، ششم و نهم اختلاف معنی داری مشاهده گردید. ولی به طور کلی تغییرات در تیمار کیتوزان ۱۰۰ درصد کمتر از سایر تیمارها مشاهده گردید. بدین ترتیب کاهش بار باکتریایی تیمارهای پوشش داده شده را می‌توان به خواص ضد میکروبی کیتوزان موجود در فیلم خوراکی نسبت داد. نتایج مشابهی توسط Qiu و همکاران (۲۰۲۳) در تحقیقی با موضوع تهیه و شناسایی یک فیلم زیست تخریب پذیر با استفاده از کیتوزان تابیده شده با لیزوزیم و کاراگینان و کاربرد آن در نگهداری خرچنگ به دست آمد.

- لگاریتم شمارش کپک و مخمر فیله مرغ پوشش داده شده فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

نتایج مقایسه میانگین میزان لگاریتم شمارش کپک و مخمر فیله مرغ پوشش داده شده با فیلم کامپوزیت آلژینات – کیتوزان در طی زمان نگهداری در (شکل ۷) آمده است. همانگونه که در شکل مشاهده می‌شود بین تیمارها اختلاف معنی داری در افزایش میزان کپک و مخمر وجود دارد. ولی بین دو تیمار ۲ و ۳ اختلاف معنی داری مشاهده نشد. همچنین در طی روزهای مختلف افزایش میزان کپک و مخمر معنی‌دار مشاهده گردید. البته باید ذکر شود در تیمارهایی که میزان کیتوزان بیشتر و آلژینات کمتری بودند افزایش میزان کپک و مخمر کمتر بوده است. طبق نتایج بدست آمده از روز اول هیچ کپک و مخمری رشد نکرد اما بعد از روز سوم لگاریتم تعداد مخمرها افزایش پیدا کرد اما همانگونه که از نتایج نشان می‌دهند با افزایش درصد کیتوزان در فیلم‌های خوراکی رشد آن‌ها کمتر شد که احتمالا به دلیل خواص ضد میکروبی فیلم و همچنین مربوط به لایه نفوذ ناپذیری که فیلم مربوطه ایجاد می‌کند می‌باشد. از آن جایی که معمولا کپک‌ها و مخمرهای هوازی می‌باشند و در شرایط هوازی بهتر رشد می‌کنند به همین دلیل فیلم‌های زیست تخریب پذیر با ایجاد لایه نفوذ ناپذیری ایجاد می‌کند از رشد مخمر و کپک‌ها جلوگیری می‌کند. همانگونه که بر اساس نتایج خواص مکانیکی فیلم‌ها گفته شد با افزایش درصد کیتوزان نفوذ فیلم کاهش یافت. نتایج مشابهی توسط Zhang و همکاران (2023) با موضوع اثرات اسانس زنجبیل بر خواص فیزیکوشیمیایی و ساختاری فیلم دولایه آگار سدیم آلژینات و کاربرد آن در یخچال گاو انجام شده است.

- لگاریتم شمارش سرماگرای فیله مرغ پوشش داده شده فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

باکتری‌های هوازی سرما گرا از قبیل گونه‌های Pseudomonas جزء گروه‌های باکتریایی غالب در گوشت طیور هستند که به‌طور گسترده‌ای به فساد گوشت نگهداری شده در شرایط هوازی کمک می‌کنند. بار باکتریایی مجاز برای باکتری‌های سرمادوست هوازی۷ log cfu/g گزارش شده است. این باکتری‌ها و عمدتاً گونه‌های سودوموناس، آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز تولید می‌کنند که سبب افزایش اسید چرب‌های آزاد می‌شوند. الگوی رشد این باکتری‌ها نیز همانند باکتری‌های کل، روند افزایشی نشان داد طوریکه میزان این باکتری‌ها در نمونه شاهد از روز نهم به بعد بیشتر از حد قابل قبول برای مصرف بود. که این پدیده نشان می‌دهد باکتری–های سرما دوست فلور غالب بوده و نقش عمده این باکتری‌ها در فساد گوشت فیله مرغ، آمین زدایی اسیدهای آمینه آزاد و تولید ترکیبات نیتروژنی فرار می‌باشد که علاوه بر کاهش ارزش غذایی گوشت، سبب ایجاد بو و طعم نامطبوع در آنها می‌شوند (Souza et al.,2019). با توجه به شکل ۸، مشخص است که فقط بین دو تیمار ۴ و

۵ اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی شود. همچنین مشاهده گردید که در همه تیمارها به جز تیمار ۲ افزایش معنی‌داری تا روز ششم مشاهده نشد که این افزایش رابطه مستقیمی با میزان آلژینات و رابطه معکوسی با میزان کیتوزان فیلم دارد. در تیمار ۵ با کیتوزان ۱۰۰ درصد مشاهده شد که بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود ندارد، که در بقیه تیمارها این مورد مشاهده نشد. از آن جهت که باکتری‌های سرما دوست گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیسم‌ها مسئول فساد فیله مرغ نگهداری شده به صورت سرد هستند می‌توان این گونه بیان کرد که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در برابر ترکیبات ضد باکتریایی حساس تر هستند. می‌توان نتیجه گرفت با افزایش میزان کیتوزان کیفیت فیلم و فیله مرغ افزایش یافته و فساد کمتری مشاهده شد، و تیمار ۵ بهترین تیمار بود که با گذشت ۹ روز افزایش معنی داری در میزان لگاریتم شمارشی باکتری‌های سرما گرما فیله مرغ نداشت. نتیج مشابهی در تحقیقی توسط Huang و همکاران (۲۰۲۳) فیلم ضد باکتریایی حاوی کمپلکس بنزیل ایزوتیوسیانات–β–سیکلودکسترین بارگذاری شده با κ–کاراگینان: خصوصیات و کاربرد در نگهداری مرغ انجام شده است.

- لگاریتم شمارش باکتری‌های انتروباکتریاسه فیله مرغ پوشش داده شده فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

گروه دیگری از باکتری‌ها که در فساد گوشت و فرآورده‌های آن در یخچال دخالت دارند خانواده انترو باکتریاسه و کلیفرم‌ها می‌باشند. اگر چه انتروباکتریاسه توانایی رشد در دماهای پایین را دارند، تکثیر آنها در یخچال کند صورت می‌گیرد زیرا سرعت رشدشان از دیگر باکتری‌های سرمادوست پایین تر است. این گروه به عنوان یکی از شاخص‌های بهداشتی محسوب می‌شوند. با توجه به نتایج به دست آمده از شکل ۹، کمترین میزان باکتری‌ها در تیمار ۴ و ۵ می‌باشد که با بکدیگر اختلاف معنی داری ندارند. طبق نتایج با افزایش آلژینات میزان این باکتری‌ها نیز افزایش داشته است. نیز تعداد این باکتری‌ها در نمونه ی حاوی پوشش داده شده با ۷۵ درصد کیتوزان در مقایسه با نمونه فاقد کیتوزان کاهش نشان داد که باعث بالا رفتن درصد کیتوزان کیفیت محصول از نظر بهداشتی و زمان ماندگاری محصول می‌شود به طوری که در نمونه حاوی ۷۵ درصد کیتوزان میزان رشد این گروه از باکتری کاهش یافت. اختلاف معنادار بین نمونه ی حاوی پوشش ۱۰۰ درصد آلژینات سدیم به تنهایی و نمونه‌های حاوی ۷۵ درصد کیتوزان به علت موثر بودن اثر کیتوزان بر باکتری‌های انتروباکتریاسه می‌باشد. اثرات ضد باکتریایی پوشش‌های کیتوزانی به دلیل بار مثبت گروه‌های آمینی آنها و واکنش با گروههای آنیونی سطح سلولی باکتری‌ها است که در نهایت سبب مرگ باکتری‌ها می‌شود. علت همسویی این تحقیقات ممکن است به دلیل خاصیت ضد باکتریایی پوشش‌های کیتوزانی و ممانعت از رسیدن مواد غذایی نظیر مواد آمینی به غشا سلول‌های باکتریایی و اتصال ترکیبات ضد باکتریایی کیتوزان با پروتئین‌ها در دیواره سلول باکتری‌هایی که منجر به لیز شدن و از بین رفتن دیواره سلولی می‌گردد، باشد (Farokhzad et al., 2023). نتایج مشابهی در پژوهش‌های Javaherzadeh و همکاران (2020) با موضوع اثر حفظ اسانس پلیلفیوم اینولوکراتوم ترکیب شده با پلی لاکتیک اسید / فیلم کامپوزیت نانوکیتوسان بر ماندگاری و ویژگی‌های حسی فیله مرغ در دمای سردخانه انجام شده است.

- لگاریتم شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک فیله مرغ پوشش داده شده فیلم کامپوزیت آلژینات سدیم – کیتوزان در طول زمان نگهداری

باکتری‌های اسید لاکتیک به عنوان باکتری‌های بی هوازی اختیاری هستند که در غلظت بالای CO_2 نیز می‌توانند رشد کنند. باکتری‌های اسید لاکتیک عامل فساد فرآورده‌های گوشتی بسته‌بندی شده تحت خلأ و گوشت‌های فرآوری شده، در دمای یخچال می‌باشند. در نتیجه فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک، بو، طعم نامطلوب ترشیدگی، تولید ترکیبات شیری رنگ، تورم بسته‌ها و رنگ متمایل به سبز ب روی فرآورده مشاهده می‌شود (Dini *et al.*, 2020). همانگونه که در شکل ۱۰ مشاهده می‌کنید، بین همه تیمارها اختلاف معنی داری وجود دارد ($p\leq$۰/۰۵)، در تیمار ۴ و ۵ که عملکرد بهتری از خود نشان داده‌اند با افزایش میزان کیتوزان از مقدار باکتری‌های اسید لاکتیک کاسته می‌شود. محققان نشان داده اند که کیتوزان اثر ضد

میکروبی بسیار قوی بر باکترهای گرم مثبت در مقایسه با انواع گرم منفی دارند. اثرات ضد باکتریایی پوشش‌های کیتوزانی به دلیل بار مثبت گروه‌های آمینی آنها و واکنش با گروههای آنیونی سطح سلولی باکتری‌ها است که در نهایت سبب مرگ باکتری‌ها می‌شود. علت همسویی این تحقیقات ممکن است به دلیل خاصیت ضد باکتریایی پوشش‌های کیتوزانی و ممانعت از رسیدن مواد غذایی نظیر مواد آمینی به غشا سلول‌های باکتریایی و اتصال ترکیبات ضد باکتریایی کیتوزان با پروتئین‌ها در دیواره سلول باکتری‌هایی که منجر به لیز شدن و از بین رفتن دیواره سلولی می‌گردد، باشد. نتایج مشابهی در تحقیقاتی با موضوع تولید، شناسایی و فعالیت ضد میکروبی فیلم‌های کامپوزیت صمغ بادام/پلی وینیل الکل/کیتوسان حاوی نانو امولسیون اسانس آویشن برای افزایش ماندگاری فیله‌های سینه مرغ Mirsharifi و همکاران (2023) به دست آمد.

- ارزیابی حسی فیله مرغ

فساد محصولات گوشتی با تغییرات در بو، رنگ، ظاهر و بافت آشکار می‌شود. آنالیز خواص حسی، علمی است که در آن از اندام‌های حسی بشر برای اندازه گیری و آزمایش اهداف خاصی استفاده می‌شود. پانل تربیت شده می‌تواند ظاهر، عطر، طعم، بافت، احساس دهانی یک فراورده را تعیین کند و صفات و خصوصیات یک فرآورده را برحسب ویژگی‌های ظاهری تعریف کند (Amjadi *et al*., 2019). در این مطالعه بررسی اثر فیلم‌های زیست تخریب پذیر روی خواص حسی نه تنها نا مطلوب نبود بلکه تاثیرات مثبتی بر روی طعم، بو و پذیرش کلی محصول داشت. طعم و بو مجموعه ای از خصوصیات هستند که عمدتاً به وسیله دو حس چشایی و بویایی احساس شده و به مغز منتقل می‌شوند. در واقع احساس حاصل از گذاشتن ماده ای در دهان نتیجه درک مزه و بوی آن ماده می‌باشد. طعم و بو از خصوصیات حسی فرآورده غذایی محسوب شده و در پذیرش کلی فرآورده توسط مصرف کننده بسیار موثر هستند. زیرا هر چقدر یک ماده غذایی از نقطه نظر ارزش غذایی در سطح بالایی قرار داشته باشد و مغذی باشد، تنها در صورت داشتن طعم و بوی مطلوب مورد پذیرش کلی مصرف کننده قرار می‌گیرد (Hematizad *et al*., 2021). فیلم زیست تخریب پذیر بسته‌بندی آلژینات سدیم و کیتوزان به دلیل اینکه فاقد عطر و طعم خاصی هستند سبب می‌شود که عطر و طعم فیله‌های مرغ مخصوص به خود باشند. بر اساس نتایج بدست آمده در شکل ۱۱ مربوط به طعم، (شکل ۱۲) بو و (شکل ۱۳) پذیرش کلی، بالاترین امتیازات ویژگی‌های حسی در نمونه‌ها مربوط به تیمار ۴ (آلژینات ۲۵٪- کیتوزان ۷۵٪) می‌باشد که اختلاف معناداری با سایر تیمارها داشت ($p\leq$۰/۰۵)، همچنین پایین ترین امتیازات مربوط به تیمار ۱ (آلژینات ۱۰۰ درصد) می‌باشد. از دلالیل این اثر خاصیت ضد میکروبی ک‌یتوزان است که از طریق تغییر نفوذ پذیری غشاء سیتوپلاسمی دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها منجر به نشت الکترولیت‌ها و مواد پروتئینی از سیتوپلاسم به خارج سلول شده و در نهایت باعث مرگ آن‌ها می‌شود که در ادامه باعث جلوگیری و به تأخیر انداختن فساد گوشت می‌شود (Sayadi *et al*., 2021).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده، با افزایش آلژینات و کاهش مقدار کیتوزان، میزان حلالیت فیلم‌ها به صورت معنی داری افزایش پیدا کرد ($p\leq$۰/۰۵). با افزایش آلژینات و کاهش مقدار کیتوزان، میزان نفوذپذیری به بخار آب فیلم‌ها به صورت معنی داری افزایش پیدا کرد ($p\leq$۰/۰۵). با گذشت زمان غالباً در همه تیمارها افزایش میزان پروکسید معنی‌دار بوده است. کمترین میزان (TVB-N) در تیمار کیتوزان ۱۰۰ درصد (تیمار ۵) مشاهده گردید و بین همه تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌گردد. ولی باید به این مورد اشاره گردد که در مورد تغییرات تیوباربیکوییک اسید در تیمارهایی که میزان کیتوزان بیشتر و آلژینات کمتری دارند بسیار کاهشی بوده است. در مورد آزمون‌های میکروبی و ارزیابی حسی، با افزایش میزان کیتوزان از بارمیکروبی فیله مرغ کاسته و بر مدت زمان نگهداری آن افزوده می‌شود، که به دنبال آن ویژگی‌های حسی گوشت مانند: طعم، بو و پذیرش کلی نیز حفظ می‌شود. بنابراین با توجه به ارزیابی فیزیکوشیمایی نمونه‌های فیلم تولیدی، فیلم خوراکی ۱۰۰٪ کیتوزان از لحاظ حلالیت و نفوذپذیری به بخار آب بهتر از نمونه‌های حاوی آلرژینات بود و از طرفی با بررسی و مقایسه نتایج خواص شیمیایی و میکروبی نمونه مرغ بسته‌بندی شده، مشخص گردید که نمونه بسته‌بندی شده با

فیلم خوراکی ۱۰۰٪ کیتوزان از لحاظ خواص مورد بررسی مطلوب تر از سایر نمونه‌ها بود لذا می‌توان به عنوان ماده بسته‌بندی جدید معرفی و استفاده گردد.

منابع

Amjadi, S., Emaminia, S., Nazari, M., Davudian, S. H., Roufegarinejad, L., & Hamishehkar, H. (2019). Application of reinforced ZnO nanoparticle-incorporated gelatin bionanocomposite film with chitosan nanofiber for packaging of chicken fillet and cheese as food models. *Food and Bioprocess Technology*, *12*, 1205-1219. https://doi.org/10.1007/s11947-019-02286-y

Asdagh, A., Karimi Sani, I., Pirsa, S., Amiri, S., Shariatifar, N., Eghbaljoo–Gharehgheshlaghi, H. & Taniyan, A. (2021). Production and characterization of nanocomposite film based on whey protein isolated/copper oxide nanoparticles containing coconut essential oil and paprika extract. *Journal of Polymers and the Environment*, *29*, 335-349.

Banerjee, A., & Ganguly, S. (2019). Alginate–chitosan composite hydrogel film with macrovoids in the inner layer for biomedical applications. *Journal of Applied Polymer Science*, *136*(22), 47599. https://doi.org/10.1002/app.47599

Beikzadeh, S., Khezerlou, A., Jafari, S. M., Pilevar, Z. & Mortazavian, A. M. (2020). Seed mucilages as the functional ingredients for biodegradable films and edible coatings in the food industry. *Advances in colloid and interface science*, *280*, 102164. https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102164

Bharti, S. K., Pathak, V., Alam, T., Arya, A., Singh, V. K., Verma, A. K. & Rajkumar, V. (2020). Materialization of novel composite bio-based active edible film functionalized with essential oils on antimicrobial and antioxidative aspect of chicken nuggets during extended storage. *Journal of Food Science*, *85*(9), 2857-2865. https://doi.org/10.1111/1750-3841.15365

Caicedo, C., Díaz-Cruz, C. A., Jiménez-Regalado, E. J. & Aguirre-Loredo, R. Y. (2022). Effect of plasticizer content on mechanical and water vapor permeability of maize starch/PVOH/chitosan composite films. *Materials*, *15*(4), 1274. https://doi.org/10.3390/ma15041274

Chen, Y., Liu, Y., Dong, Q., Xu, C., Deng, S., Kang, Y. & Li, L. (2023). Application of functionalized chitosan in food: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123716. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123716

Chhikara, S. & Kumar, D. (2021). Edible coating and edible film as food packaging material: A review. *Journal of Packaging Technology and Research*, 1-10. https://doi.org/10.1007/s41783-021-00129-w

Dash, K. K., Ali, N. A., Das, D. & Mohanta, D. (2019). Thorough evaluation of sweet potato starch and lemon-waste pectin based-edible films with nano-titania inclusions for food packaging applications. *International journal of biological macromolecules*, *139*, 449-458. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.07.193

Dini, H., Fallah, A. A., Bonyadian, M., Abbasvali, M. & Soleimani, M. (2020). Effect of edible composite film based on chitosan and cumin essential oil-loaded nanoemulsion combined with low-dose gamma irradiation on microbiological safety and quality of beef loins during refrigerated storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, *164*, 1501-1509. https://doi.org/10.1016/jijbiomac.2020.07.215.

Farokhzad, P., Dastgerdi, A. A. & Nimavard, J. T. (2023). The Effect of Chitosan and Rosemary Essential Oil on the Quality Characteristics of Chicken Burgers during Storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, *2023*. https://doi.org/10.1155/2023/8381828

Farokhzad, P., Dastgerdi, A. A. & Nimavard, J. T. (2023). The Effect of Chitosan and Rosemary Essential Oil on the Quality Characteristics of Chicken Burgers during Storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, *2023*. https://doi.org/10.1155/2023/8381828.

García, M. A., Rodríguez, M., Castro, C. & De La Paz, N. (2020). Water vapor permeability of chitosan/zeolite composite films as affected by biopolymer and zeolite microparticle concentrations. *Journal of Packaging Technology and Research*, *4*, 157-169. https://doi.org/10.1007/s41783-020-00092-y

Hematizad, I., Khanjari, A., Basti, A. A., Karabagias, I. K., Noori, N., Ghadami, F. & Teimourifard, R. (2021). In vitro antibacterial activity of gelatin-nanochitosan films

incorporated with Zataria multiflora Boiss essential oil and its influence on microbial, chemical, and sensorial properties of chicken breast meat during refrigerated storage. *Food Packaging and Shelf Life*, *30*, 100751. https://doi.org/10.22059/jvr.2022.337641.3231.

Hosseini, M., Jamshidi, A., Raeisi, M. & Azizzadeh, M. (2021). Effect of sodium alginate coating containing clove (Syzygium Aromaticum) and lemon verbena (Aloysia Citriodora) essential oils and different packaging treatments on shelf life extension of refrigerated chicken breast. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(3), e14946. https://doi.org/10.1111/jfpp.14946

Huang, Y., Liu, J., Li, Z., Cao, Z., Hao, H., Bi, J. & Zhang, G. (2023). Benzyl isothiocyanate-β-cyclodextrin inclusion complex loaded κ-carrageenan antibacterial film: Characterization and application in chicken preservation. *Food Hydrocolloids*, 109063.
https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109063.

Javaherzadeh, R., Bafroee, A. T. & Kanjari, A. (2020). Preservation effect of Polylophium involucratum essential oil incorporated poly lactic acid/nanochitosan composite film on shelf life and sensory properties of chicken fillets at refrigeration temperature. *Lwt*, *118*, 108783. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108783.

Ji, J., Shankar, S., Royon, F., Salmieri, S. & Lacroix, M. (2023). Essential oils as natural antimicrobials applied in meat and meat products—A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *63*(8), 993-1009. https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1957766

Júnior, L. M., da Silva, R. G., Vieira, R. P. & Alves, R. M. V. (2021). Water vapor sorption and permeability of sustainable alginate/collagen/SiO2 composite films. *LWT*, *152*, 112261. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112261

Katiyo, W., de Kock, H. L., Coorey, R. & Buys, E. M. (2020). Sensory implications of chicken meat spoilage in relation to microbial and physicochemical characteristics during refrigerated storage. *Lwt*, *128*, 109468. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109468

Liu, J., Wang, Y., Hou, X., Cui, Q., Wu, H., Shen, G. & Zhang, Z. (2023). Starch-based film functionalized with Zanthoxylum armatum essential oil improved the shelf life of beef sauce. *LWT*, 114930. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114930.

Liu, W., Kang, S., Xue, J., Chen, S., Yang, W., Yan, B. & Liu, D. (2023). Self-assembled carboxymethyl chitosan/zinc alginate composite film with excellent water resistant and antimicrobial properties for chilled meat preservation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125752. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125752

Lopes, I. A., Paixao, L. C., da Silva, L. J. S., Rocha, A. A., Barros Filho, A. K. D. & Santana, A. A. (2020). Elaboration and characterization of biopolymer films with alginate and babassu coconut mesocarp. *Carbohydrate polymers*, *234*, 115747. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115747

Mirsharifi, S. M., Sami, M., Jazaeri, M. & Rezaei, A. (2023). Production, characterization, and antimicrobial activity of almond gum/polyvinyl alcohol/chitosan composite films containing thyme essential oil nanoemulsion for extending the shelf-life of chicken breast fillets. *International Journal of Biological Macromolecules*, *227*, 405-415. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.183.

Moradi, E., Moosavi, M. H., Hosseini, S. M., Mirmoghtadaie, L., Moslehishad, M., Khani, M. R. & Shojaee-Aliabadi, S. (2020). Prolonging shelf life of chicken breast fillets by using plasma-improved chitosan/low density polyethylene bilayer film containing summer savory essential oil. *International journal of biological macromolecules*, *156*, 321-328. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.226

Mousavi, Z., Naseri, M., Babaei, S., Hosseini, S. M. H. & Shekarforoush, S. S. (2021). The effect of cross-linker type on structural, antimicrobial and controlled release properties of fish gelatin-chitosan composite films incorporated with ε-poly-l-lysine. *International Journal of Biological Macromolecules*, *183*, 1743-1752. https://doi.org/ 10.1016/j.ijbiomac.2021.05.159

Ngo, T. M. P., Nguyen, T. H., Dang, T. M. Q., Tran, T. X. & Rachtanapun, P. (2020). Characteristics and antimicrobial properties of active edible films based on pectin and nanochitosan. *International journal of molecular sciences*, *21*(6), 2224. https://doi.org/10.3390/ijms21062224

Nilsuwan, K., Arnold, M., Benjakul, S., Prodpran, T. & de la Caba, K. (2021).

Properties of chicken protein isolate/fish gelatin blend film incorporated with phenolic compounds and its application as pouch for packing chicken skin oil. *Food Packaging and Shelf Life*, *30*, 100761. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100761

Padhi, S., Singh, A. & Routray, W. (2023). Nanocellulose from agro-waste: A comprehensive review of extraction methods and applications. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *22*(1), 1-27. https://doi.org/10.1007/s11157-023-09643-6

Paidari, S., Zamindar, N., Tahergorabi, R., Kargar, M., Ezzati, S., Shirani, N. & Musavi, S. H. (2021). Edible coating and films as promising packaging: a mini review. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *15*(5), 4205-4214. https://doi.org/10.1007/s11694-021-00979-7

Pavli, F., Argyri, A. A., Skandamis, P., Nychas, G. J., Tassou, C. & Chorianopoulos, N. (2019). Antimicrobial activity of oregano essential oil incorporated in sodium alginate edible films: Control of Listeria monocytogenes and spoilage in ham slices treated with high pressure processing. *Materials*, *12*(22), 3726. https://doi.org/10.3390/ma12223726

Peighambardoust, S. H., Yaghoubi, M., Hosseinpour, A., Alirezalu, K., Soltanzadeh, M. & Dadpour, M. (2022). Development and application of dual-sensors label in combination with active chitosan-based coating incorporating yarrow essential oil for freshness monitoring

Souza, V. G. L., Rodrigues, C., Valente, S., Pimenta, C., Pires, J. R. A., Alves, M. M. & Fernando, A. L. (2020). Eco-friendly ZnO/Chitosan bionanocomposites films for packaging of fresh poultry meat. *Coatings*, *10*(2), 110. https://doi.org/10.3390/coatings10020110.

Tian, Z., Shi, X., Zhang, Y. & Li, R. (2021). An active packaging film based on esterified starch with Tartary buckwheat bran extract and chitosan and its application for mutton preservation. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(12), e16000. https://doi.org/10.1111/jfpp.16000.

Wang, D., Liu, Y., Sun, J., Sun, Z., Liu, F., Du, L. & Wang, D. (2021). Fabrication and characterization of gelatin/zein nanofiber films loading perillaldehyde for the preservation of chilled chicken. *Foods*, *10*(6), 1277. https://doi.org/10.3390/foods10061277

and shelf-life extension of chicken fillet. *Foods*, *11*(21), 3533. https://doi.org/10.3390/foods11213533.

Qiu, L., Luo, Q., Bai, C., Xiong, G., Jin, S., Li, H. & Liao, T. (2023). Preparation and Characterization of a Biodegradable Film Using Irradiated Chitosan Incorporated with Lysozyme and Carrageenan and Its Application in Crayfish Preservation. *Foods*, *12*(14), 2642. https://doi.org/10.3390/foods12142642.

Salimiraad, S., Safaeian, S., Basti, A. A., Khanjari, A. & Nadoushan, R. M. (2022). Characterization of novel probiotic nanocomposite films based on nano chitosan/nano cellulose/gelatin for the preservation of fresh chicken fillets. *Lwt*, *162*, 113429. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113429.

Sayadi, M., Amiri, S. & Radi, M. (2021). Active packaging nanocomposite gelatin-based films as a carrier of nano TiO 2 and cumin essential oil: The effect on quality parameters of fresh chicken. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-11. https://doi.org/10.1007/s11694-021-01169-1

Sayadi, M., Amiri, S. & Radi, M. (2021). Active packaging nanocomposite gelatin-based films as a carrier of nano TiO 2 and cumin essential oil: The effect on quality parameters of fresh chicken. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-11. https://doi.org/10.1007/s11694-021-01169-1.

Wessels, K., Rip, D. & Gouws, P. (2021). Salmonella in chicken meat: Consumption, outbreaks, characteristics, current control methods and the potential of bacteriophage use. *Foods*, *10*(8), 1742. https://doi.org/10.3390/foods10081742

Yan, Q., Wang, L., Sun, X., Fan, F., Ding, J., Li, P. & Fang, Y. (2022). Improvement in the storage quality of fresh salmon (Salmo salar) using a powerful composite film of rice protein hydrolysates and chitosan. *Food Control*, *142*, 109211. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109211

Yuan, D., Hao, X., Liu, G., Yue, Y. & Duan, J. (2022). A novel composite edible film fabricated by incorporating W/O/W emulsion into a chitosan film to improve the protection of fresh fish meat. *Food Chemistry*, *385*, 132647.

application to beef refrigeration. *Meat Science, 198*, 109051. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.109051.

https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132647

Zhang, B., Liu, Y., Peng, H., Lin, Y. & Cai, K. (2023). Effects of ginger essential oil on physicochemical and structural properties of agar-sodium alginate bilayer film and its

Sodium alginate-chitosan composite film for chicken fillet packaging: investigation of its physicochemical and microbial characteristics

M. Ranjabr[a], M. H. Azizi Tabrizzad[b*], Gh. Asadi[c], H. Ahari[d]

[a] PhD Student of the Department of Food Science and Industry, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[b] Professor of the Department of Food Science and Technology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
[c] Assistant Professor of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[d] Professor of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 9 August 2023 Accepted: 8 September 2024

Abstract

Introduction: Nowadays, the destructive environmental effects caused by the accumulation of plastic materials from food packaging are considered as one of the most important concerns in the world. Biodegradable packaging based on edible films are of particular importance due to the use of natural materials and the absence of environmental pollution. Chitosan is a natural polymer that can play an important role in the composition of packaging film due to its many properties such as antimicrobial properties. Sodium alginate is a viscous gum compound that is widely used in the food industry due to its emulsifying properties. The purpose of this research is to investigate the characteristics of the produced edible film and then its use in chicken fillet packaging and to investigate the physicochemical and microbial properties of packaged chicken fillet in order to select the appropriate sample.
Materials and Methods: film samples in 5 levels containing sodium alginate (A) and chitosan (Ch) as treatment 1 (alginate 100%), treatment 2 (alginate 75% - chitosan 25%), treatment 3 (alginate 50% - chitosan 50%), treatment 4 (alginate 25% - chitosan 75%), treatment 5 (chitosan 100%)) were categorized. The conducted tests included: film tests (solubility, water vapor permeability, thickness) and chicken fillet meat tests (volatile nitrogen, thiobarbituric acid, peroxide, microbial tests and sensory evaluation).
Results: In investigating the properties of sodium alginate and chitosan in the composition of edible film, increasing the percentage of alginate increases the solubility (the highest value is 47.64%) and the permeability to water vapor (the highest value is g.mm.m-2.h-1.Pa -14.48) and on the other hand, based on the results of the physicochemical and microbial properties of packaged chicken fillet, it was determined that during the storage period, the lowest peroxide index (0.64-1.80 meq/kg), volatile nitrogen (mgN/ 100g 11/22-6/47), the amount of thiobarcoic acid (4.75-4.0023 mol DA/Kg), the total count of microorganisms (cfu/ml 69/06-2.3), the count of cold-loving bacteria (cfu/ 4.4-11.90 ml), lactic acid bacteria (3.2-55.11 cfu/ml) were observed in the sample packed with 100% chitosan. Also, based on sensory evaluation (smell, taste and overall acceptance), the sample containing 100% alginate scored higher among the panelists.
Conclusion: The use of sodium alginate and chitosan composite in edible film for packaging food such as chicken fillet can increase the shelf life of food; But according to all the results obtained, the sample of 100% chitosan edible film was better than the samples containing allergens in terms of evaluating the properties of the produced film, and also by examining the chemical, microbial and sensory properties of the chicken sample packaged with 100% chitosan edible film, it was more favorable than Other samples were, therefore, it can be introduced and used as a new packaging material.

Keywords: *Chitosan, Chicken Fillet, Composite, Edible Film, Sodium Alginate.*

* Corresponding Author: azizit_m@modares.ac.ir