

(Original Research Paper)
**Effect of Edible Active Coating Based on Sodium Caseinate
on Shelf Life of Chicken Fillet During Cold Storage Period**

Milad Babaei¹, Daryoush Khademi Shurmasti^{2*}

1-M.Sc Graduated of Agriculture, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran.

2-Assistant Professor, Department of Agriculture, Savadkooh Branch, Islamic Azad University, Savadkooh, Iran.

Received:03/01/2023

Accepted:23/02/2023

Abstract

In order to the environmental hazards, the use of biodegradable packaging materials has been developed as an alternative to synthetic ones extending shelf life of food products. The present experiment aims to investigate the effect of sodium caseinate active edible coating on the shelf life of chicken fillet during cold conditions storage. Also to compare the efficiency of different levels of plant extract with butylated hydroxyanisole (BHA) in the composition of the active coating, an experiment was carried out in a completely randomized design with 5 treatments and 3 replications for 12 days at $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. The treatments include chicken fillets without coating (control), coated with sodium caseinate (4%), coated with sodium caseinate containing BHA (200 ppm), coated with sodium caseinate containing *Calendula officinalis* extract at 0.5 and 1% levels. Coating was done by immersion method and sampling every 3 days. The results showed that the use of active coating of sodium caseinate improved the indicators and increased the shelf life of fillets. At the same time, the efficiency of the extract was affected by their concentration. The use of 1% extract in the composition of active edible coating reduces bacterial load ($6.10 \log \text{cfu/g}$), total volatile nitrogen (26.50 mg/100g), thiobarbituric acid index (1.45 mg MDA/Kg) and pH (5.66) and increased water holding capacity (55.50%) of the treated fillets at the end of the storage period ($p < 0.05$). The efficiency of the extract at the level of 0.5% was similar to the efficiency of BHA. Therefore, it is possible to use sodium caseinate edible active coating containing 1% *Calendula officinalis* extract as a biodegradable packaging to increase the shelf life of chicken fillet at cold condition. Besides, the level of at least 0.5% of *Calendula officinalis* extract can easily replace the synthetic compound of BHA.

Key words: Biodegradable Coating, Sodium Caseinate, *Calendula officinalis*, BHA.

*Corresponding Author: dkhademi@gmail.com

(مقاله پژوهشی)

تأثیر پوشش فعال خوراکی بر پایه کازئینات سدیم بر ماندگاری فیله مرغ طی دوره نگهداری در شرایط سرد

میلاذ بابایی^۱، داریوش خادمی شورمستی^{۲*}

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه کشاورزی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران.

۲- استادیار، گروه کشاورزی، واحد سوادکوه، دانشگاه آزاد اسلامی، سوادکوه، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۰۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۳

چکیده

با توجه به مخاطرات زیست محیطی، استفاده از مواد بسته بندی زیست تخریب پذیر به عنوان جایگزین نمونه های سنتتیک در نگهداری و افزایش ماندگاری محصولات غذایی توسعه یافته است. آزمایش حاضر با هدف بررسی تأثیر پوشش فعال خوراکی کازئینات سدیم بر ماندگاری فیله مرغ طی دوره نگهداری در شرایط سرد و نیز مقایسه کارایی سطوح مختلف عصاره گیاهی با هیدروکسی آنیزول بوتیله در ترکیب پوشش فعال، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۳ تکرار به مدت ۱۲ روز در دمای 4 ± 1 درجه سلسیوس اجرا شد. تیمارها شامل فیله های مرغ فاقد پوشش (شاهد)، دارای پوشش کازئینات سدیم (۴ درصد)، دارای پوشش کازئینات سدیم حاوی هیدروکسی آنیزول بوتیله (۲۰۰ ppm)، دارای پوشش کازئینات سدیم حاوی ۰/۵ و ۱ درصد عصاره گل همیشه بهار بود. نتایج نشان داد به کارگیری ۱ درصد عصاره در ترکیب پوشش فعال خوراکی موجب کاهش باکتری های سرمادوست ($6/10 \log \text{cfu/g}$)، مجموع ترکیبات از ته فرار ($26/50 \text{mg}/100\text{g}$)، اندیس اسید تیوباربتوریک ($1/45 \text{mgMDA}/\text{Kg}$) و pH ($5/66$) و افزایش ظرفیت نگهداری آب ($55/50$ درصد) فیله های تیمار شده در پایان دوره نگهداری شد ($p < 0/05$). کارایی عصاره در سطح ۰/۵ درصد، مشابه کارایی هیدروکسی آنیزول بوتیله بود. بنابراین می توان از پوشش فعال خوراکی کازئینات سدیم حاوی ۱ درصد عصاره گل همیشه بهار به عنوان بسته بندی زیست تخریب پذیر جهت افزایش ماندگاری فیله مرغ در دمای سرد استفاده کرد. ضمن این که سطح حداقل ۰/۵ درصد عصاره گل همیشه بهار می تواند به راحتی جایگزین ترکیب سنتتیک هیدروکسی آنیزول بوتیله شود.

واژه های کلیدی: پوشش زیست تخریب پذیر، کازئینات سدیم، گل همیشه بهار (*Calendula officinalis*)،

هیدروکسی آنیزول بوتیله.

۱- مقدمه

تنوع در تولید محصولات تجاری، هزینه تولید نسبتاً کم، غنای مواد مغذی و برخی ویژگی‌های کیفی گوشت مرغ، موجب تقاضای بیشتر استفاده از این منبع پروتئینی طی سالیان اخیر شده است. از طرفی گوشت مرغ با توجه به محتوای رطوبت و مواد مغذی، مستعد فساد بوده و لذا به کارگیری روش‌های مختلف فرآوری، نگهداری و بسته‌بندی جهت افزایش زمان ماندگاری آن چالش مهمی در این صنعت محسوب می‌شود. در عین حال افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان نسبت به استفاده از ترکیبات طبیعی و دوستدار محیط زیست، صنعت بسته‌بندی را به سمت به کارگیری ترکیبات زیست تخریب‌پذیر به عنوان جایگزین‌های ایمن محصولات بر پایه مشتقات نفتی سوق داده است. نتایج تحقیقات اخیر بیانگر امکان کاربرد تجاری ترکیبات زیست پلیمری از جمله پروتئین‌ها در غذاهای گوشتی است (۱۶). در میان پروتئین‌های طبیعی، کازئین و مشتقات آن به دلیل زیست تخریب‌پذیری کامل، در دسترس بودن و هزینه کم، در دهه گذشته به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (۲۲). کازئینات سدیم نمک سدیمی کازئین محلول در آب بوده و به دلیل تشکیل پیوندهای وسیع بین مولکولی تشکیل ژل می‌دهد و به راحتی امکان تهیه فیلم‌های شفاف با مقاومت مکانیکی نسبتاً مطلوب را فراهم می‌سازد و لذا پتانسیل بالایی در تولید فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی نشان می‌دهد (۲۳). استفاده از کازئینات سدیم به عنوان پوشش خوراکی جهت افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلا و گوشت پخته بوقلمون مورد مطالعه قرار گرفته است (۳ و ۱۴). همچنین این پوشش‌ها می‌توانند به عنوان حامل‌های ترکیبات ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی به منظور حفظ غلظت‌های بالای این مواد در سطح فرآورده‌های پوشش داده شده که بیشتر در معرض هجوم باکتری‌ها هستند، استفاده شوند (۲۷). در این راستا تحقیقات حکیم و همکاران (۱۳۹۷) در بررسی تأثیر پوشش کیتوزان حاوی اسانس پونه در نگهداری فیله مرغ، طباطبایی و همکاران

(۱۳۹۸) در بررسی تأثیر فیلم کازئینات سدیم همراه با عصاره بذر چای و یگانه و زرگر (۱۴۰۰) در بررسی تأثیر پوشش کازئینات سدیم حاوی اسانس رزماری بر روی ماندگاری فیله ماهی نشان داد استفاده از اسانس و عصاره‌های گیاهی در ترکیب پوشش‌های زیست تخریب‌پذیر جهت افزایش ماندگاری گوشت فیله ماهی و فیله مرغ با نتایج مثبتی همراه بود (۴، ۱ و ۹). فیلم‌ها و پوشش‌های فعال (به دلیل وجود ترکیبات فعال) می‌توانند مانع کاهش کیفیت تغذیه‌ای ناشی از اکسیداسیون و رشد میکروب‌ها شوند. از آن جایی که حضور ترکیبات فعال در ماتریس پلیمری از طریق بیان گروه‌های عاملی خاص که خواص ضد میکروبی / آنتی‌اکسیدانی دارند می‌تواند خواص مکانیکی و ممانعتی فیلم و پوشش را ارتقاء داده و در نهایت منجر به بهبود ماندگاری محصولات غذایی شود، بنابراین، برجسته کردن تأثیر ترکیبات فعال بر ساختار مواد و ماندگاری محصول ضروری است (۱۵). گل همیشه بهار با نام علمی (*Calendula officinalis*) یکی از گیاهان پر اهمیت جنس کاندولا^۱ محسوب می‌شود و دارای ترکیبات بسیاری از جمله ساپونین‌ها، فلاونوئیدها، کلیگوزیدها، رزین و ترکیبات استروئیدی است. محصولات استحصالی از این گیاه دارای اثر ضد میکروبی بوده و با داشتن پتانسیل بسیار بالا در مهار واکنش‌های رادیکال آزاد، به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی نیز می‌تواند در صنایع مختلف مورد استفاده قرار گیرد (۱۰). از عصاره‌های گیاهان مختلف برای تهیه بسته‌بندی فعال بر پایه کازئین استفاده شده است. بسته به ماهیت آب دوستی و آب‌گریزی و نیز غلظت عصاره مورد استفاده، خواص مکانیکی پوشش فعال از جمله نفوذپذیری بخار آب متفاوت بود (۱۲). با توجه به تمایل فزاینده صنایع غذایی و دارویی به استفاده از منابع طبیعی آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی به جای انواع سنتتیک و شیمیایی، بررسی کارآیی عصاره این گیاه می‌تواند جالب توجه باشد. لذا

مدت ۲۰ دقیقه در محلول‌های پوششی از قبل تهیه شده، غوطه‌ور شدند. پس از خروج فیله‌های پوشش داده شده از محلول‌های آزمایشی، جهت خشک شدن و تشکیل پوشش بر روی سطح فیله‌ها، مدتی در زیر هود قرار گرفتند. فیله‌های گروه شاهد در مدت مشابه صرفاً در آب معمولی غوطه‌ور شدند. سپس فیله‌ها با توجه به تیمارهای آزمایشی در دمای 4 ± 1 درجه سلسیوس به مدت ۱۲ روز نگهداری شدند. در فواصل زمانی هر ۳ روز نمونه‌گیری جهت انجام آزمایشات صورت گرفت (۱).

۲-۴- آنالیز میکروبی

جهت آزمایش میکروبی مقدار ۱۰ گرم نمونه از فیله مرغ در ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی مخلوط و هموژن گردید. سپس رقت‌های مورد نیاز تهیه گردید. شمارش باکتری‌های سرمادوست در محیط پلیت کانت آگار در دمای ۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت با شمارش کلنی‌های موجود انجام گرفت و نتایج حاصل بر اساس لگاریتم واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم ($\log \text{cfu/g}$) گزارش گردید (۲۶).

۲-۵- آنالیز شیمیایی

به منظور اندازه‌گیری مجموع مواد ازته فرار از دستگاه کلدال (بخشی ۷۴۰، ایران) استفاده گردید. به طور خلاصه؛ مقدار ۱۰ گرم فیله مرغ در هر تیمار نمونه‌گیری و به همراه سایر مواد در قسمت تقطیر دستگاه قرار گرفت. محلول تقطیر شده به وسیله اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تیترا شد. نتایج بر اساس میزان مواد ازته فرار برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ($\text{mg}/100\text{g}$) فیله مرغ محاسبه گردید (۲۶). اندیس اسید تیوباریتوریک به روش اجاق و همکاران (۲۰۱۰) اندازه‌گیری شد. به ۲۰۰ گرم از نمونه فیله مرغ چرخ‌شده در هر تیمار پس از آماده‌سازی اولیه معرف اسید تیوباریتوریک افزوده و سپس در دمای ۹۵ درجه سلسیوس بن‌ماری شد. در نهایت مقدار جذب نور در حضور شاهد آب مقطر

هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر عصاره گل همیشه بهار در سطوح ۰/۵ و ۱ درصد و مقایسه کارایی آن با آنتی‌اکسیدان سنتزی هیدروکسی آنیزول بوتیله- شده در ترکیب پوشش خوراکی فعال بر پایه کازئینات سدیم بر ماندگاری فیله مرغ طی دوره نگهداری ۱۲ روزه در دمای یخچال است.

۲-مواد و روش‌ها

۱-۲- مواد

فیله مرغ (ساوانا، ایران) از نمایندگی فروش شرکت خریداری و با رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه منتقل شد. پودر کازئینات سدیم (سیگما آلدریج، آمریکا)، گلیسرول، توئین ۸۰، هیدروکسی آنیزول بوتیله و محیط کشت پلیت کانت آگار^۱ (مرک، آلمان)، عصاره هیدرو الکلی گل همیشه بهار (زردبند، ایران) خریداری شد. تمام مواد شیمیایی با درجه آزمایشگاهی خریداری شده و محلول‌ها به صورت تازه تهیه شدند.

۲-۲- تهیه پوشش خوراکی بر پایه کازئینات سدیم

محلول‌های کازئینات سدیم با غلظت ۴ درصد با افزودن پودر کازئینات سدیم در آب دیونیزه و هم زدن مداوم (JKA MS 3 Digital Vortex، آلمان) به مدت ۴ ساعت در دمای اتاق به دست آمد. گلیسرول به عنوان نرم‌کننده به نسبت ۱۰ درصد وزن کازئینات مصرفی و توئین ۸۰ بعنوان امولسیفایر اضافه شد. برای تهیه پوشش پوشش فعال، سطوح ۰/۵ و ۱ درصد عصاره هیدرو الکلی گل همیشه بهار یا هیدروکسی آنیزول بوتیله ۲۰۰ ppm به محلول پایه افزوده شد (۲۹).

۲-۳- پوشش دهی فیله‌ها و تیمارهای آزمایشی

فیله‌های مرغ به وزن تقریبی ۱۰۰ گرم در آزمایشگاه بر اساس تیمارهای آزمایشی به ۵ گروه مساوی تقسیم شدند. جهت پوشش‌دهی به روش غوطه‌وری با استفاده از شیوه پیشنهادی حکیم و همکاران (۱۳۹۷) فیله‌ها به

طیوره نگهداری مشهود است. کمترین (2.0 cfu/g log) و بیشترین ($6.10 \pm 0.21 \text{ log cfu/g}$) باکتری‌های سرمادوست در آخرین روز نگهداری در دمای یخچال، به ترتیب مربوط به فیله‌های پوشش‌دهی شده با کازئینات سدیم غنی‌شده با ۱ درصد عصاره گل همیشه بهار و فیله‌های گروه شاهد بود ($p < 0.05$). استفاده از پوشش خوراکی از روز ۶ تا پایان دوره نگهداری به طور معنی‌داری موجب کاهش بار میکروبی فیله‌ها شد ($p < 0.05$). طی روزهای ۳ تا ۹ دوره نگهداری، شمار باکتری سرمادوست فیله‌های حاوی پوشش فعال کازئینات سدیم غنی‌شده با ضد اکسیدان سنتتیک BHA و ۰/۵ درصد عصاره گل همیشه بهار تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. باکتری‌های سرمادوست گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیسم‌های مسئول فساد گوشت تازه نگهداری شده به صورت سرد هستند. بار باکتریایی مجاز برای این دسته از باکتری‌ها log cfu/g ۷ گزارش شده است (۲۰). براین اساس، بار میکروبی فیله‌های فاقد پوشش فقط در روز ۹ دوره نگهداری بیش از محدوده مجاز بوده، درحالی که فیله‌های پوشش‌داده شده همچنان در محدوده مجاز بار میکروبی قرار داشت. غنی‌سازی پوشش فعال با ۱ درصد عصاره گل همیشه بهار موجب افزایش زمان نگهداری فیله‌ها شد، به نحوی که تیمارهای حاوی این پوشش تا انتهای دوره نگهداری در محدوده مجاز قرار داشتند. مطابق با تحقیق طباطبایی و همکاران (۱۳۹۸)، فعالیت ضد باکتریایی عصاره در پایان دوره نگهداری تحت تأثیر سطح (غلظت) عصاره مورد استفاده قرار گرفت که احتمالاً با سطح ترکیبات فعال و مؤثره موجود در ارتباط است (۴).

توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO، چین) در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد. نتایج بر اساس میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم (mg MDA/Kg) بافت فیله مرغ گزارش شد (۲۶). جهت اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب، ۱۰ گرم فیله از هر تیمار نمونه‌گیری و به مدت ۱ دقیقه ورتکس (IKA، آلمان) شد. سپس در دستگاه سانتریفیوژ (Hettich، آلمان) به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ قرار گرفت. قابلیت نگهداری آب بر مبنای اختلاف وزن نمونه‌ها قبل و بعد از سانتریفیوژ شدن نسبت به وزن اولیه نمونه برحسب درصد مشخص گردید (۳۱). همچنین برای اندازه‌گیری pH فیله‌ها، ۵ گرم نمونه هموزن شده به آن ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد محلول در بشر ریخته شده و با استفاده از PH سنچ دیجیتال (HANNA-instrument، رومانی) اندازه‌گیری شد (۱۸).

۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. به منظور بررسی اثر تیمارهای اعمال شده از روش تجزیه واریانس یک طرفه استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌های ۳ تکرار از هر تیمار، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی تغییرات شاخص میکروبی

با توجه به داده‌های جدول ۱، روند تغییرات افزایشی شمار باکتری‌های سرمادوست در تیمارهای مختلف

جدول ۱- تغییرات میانگین باکتری‌های سرمادوست (PTC) فیله مرغ در تیمارهای مختلف طی دوره نگهداری (log cfu/g)

دوره نگهداری در دمای ۴±۱ درجه سلسیوس (روز)					
تیمارها	صفر	۳	۶	۹	۱۲
شاهد (بدون پوشش)	۱/۵۲ ± ۰/۰۵	۳/۶۵ ± ۰/۰۹ ^a	۵/۱۵ ± ۰/۱۵ ^a	۷/۰۵ ± ۰/۲۲ ^a	۸/۳۵ ± ۰/۲۱ ^a
کازئینات سدیم	۱/۵۰ ± ۰/۰۴	۳/۴۰ ± ۰/۰۹ ^a	۴/۶۵ ± ۰/۱۰ ^b	۶/۸۵ ± ۰/۱۷ ^b	۷/۲۵ ± ۰/۲۰ ^b
کازئینات سدیم/BHA	۱/۵۲ ± ۰/۰۴	۳/۳۳ ± ۰/۰۸ ^{ab}	۴/۱۰ ± ۰/۰۹ ^c	۶/۱۵ ± ۰/۱۵ ^c	۷/۰۵ ± ۰/۱۸ ^b
کازئینات/عصاره ۰/۵ درصد	۱/۵۱ ± ۰/۰۴	۲/۹۰ ± ۰/۰۷ ^{bc}	۳/۹۰ ± ۰/۱۱ ^c	۶/۰۰ ± ۰/۱۲ ^{dc}	۶/۷۰ ± ۰/۱۸ ^c
کازئینات/عصاره ۱ درصد	۱/۵۰ ± ۰/۰۵	۲/۸۰ ± ۰/۰۶ ^c	۳/۶۰ ± ۰/۱۲ ^d	۵/۷۲ ± ۰/۱۵ ^d	۶/۱۰ ± ۰/۲۰ ^d

* در هر ستون حروف متفاوت a-d بیانگر تفاوت آماری معنی دار است (p < ۰/۰۵)

۳-۲- مجموع ترکیبات ازته فرار

یکی از مهم‌ترین شاخص‌های تعیین کیفیت گوشت اندازه‌گیری محتوای مجموع ترکیبات ازته فرار (TVN)^۵ است. این شاخص یکی از نشانگرهای اصلی تخریب و تجزیه گوشت محسوب می‌شود و عموماً با فساد میکروبی در ارتباط است. در واقع بازهای فرار با جدا شدن آمین‌ها از اسیدهای آمینه توسط آنزیم‌های میکروبی تولید می‌شوند. ترکیبات ازته فرار شامل متیل آمین (ناشی از فساد باکتریایی)، دی‌متیل آمین (حاصل فعالیت آنزیم‌های اتولایتیک طی نگهداری در شرایط سرد)، آمونیاک (حاصل آمین‌زدایی اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدهای کاتابولیزه) همچنین سایر ترکیبات ازته فرار می‌باشد (۲۴). نتایج بررسی تأثیر پوشش خوراکی فعال بر مجموع ترکیبات ازته فرار فیله مرغ در شکل ۱ آمده است. نتایج نشان داد؛ در تمامی گروه‌ها با گذشت زمان نگهداری، مقدار عددی مجموع ترکیبات ازته فرار روند افزایشی داشت. این روند در فیله‌های تیمار شده نسبت به گروه شاهد کندتر بود. به‌طور کلی استفاده از پوشش کازئینات سدیم به‌طور معنی‌داری موجب کاهش این شاخص شد (p < ۰/۰۵). در عین حال افزودن BHA و عصاره گل همیشه بهار به پوشش کازئینی موجب بهبود کارایی پوشش در کاهش این شاخص شد (p < ۰/۰۵). از سویی کارایی پوشش خوراکی فعال وابسته به غلظت عصاره بکار رفته بود. کمتر بودن میزان بازهای ازته فرار در تیمار حاوی غلظت بالاتر عصاره

سطح پایین‌تر بار میکروبی در فیله‌های تیمار شده بیانگر این است که پوشش کازئینی تا حدی توانسته است به عنوان مانعی در برابر آلودگی میکروبی عمل کند. از طرفی ترکیب و ساختار گروه‌های عاملی موجود در عصاره‌ها و اسانس‌ها نقش مهمی در فعالیت ضد میکروبی آن‌ها ایفا می‌کنند. در این بین ترکیبات دارای گروه‌های فنولی مؤثرترند (۱۳). گروه اصلی ترکیبات فلاونوئیدی گل همیشه بهار آگلیکون‌ها (کوئرستین، ایزو کوئرستین، رتینوزید، نارسینین)^۱، گلایکوزیدها (کالندوفلاوزید)^۲ هستند. نتایج تحقیقات افستراتیو^۳ و همکاران (۲۰۱۲) و اسزوپا^۴ و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که عصاره‌های مختلف گل همیشه بهار با دارا بودن این ترکیبات دارای اثرات ضد باکتریایی بر روی سویه‌های باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی هستند (۲۸، ۱۷). گرچه ویژگی‌های ضد میکروبی ترکیبات استحصال‌ی گیاهی به اثبات رسیده است، ولی سازو کار دقیق آن‌ها تاکنون به‌طور دقیق تعیین نشده است. لذا با توجه به تعدد و تنوع گروه‌های مختلف مواد شیمیایی، این احتمال وجود دارد که فعالیت ضد میکروبی بر اساس صرفاً یک سازو کار خاص نبوده و هدف‌های متعددی در سلول باکتری وجود داشته باشد که نیازمند تحقیقات تخصصی و گسترده‌تری در آینده است.

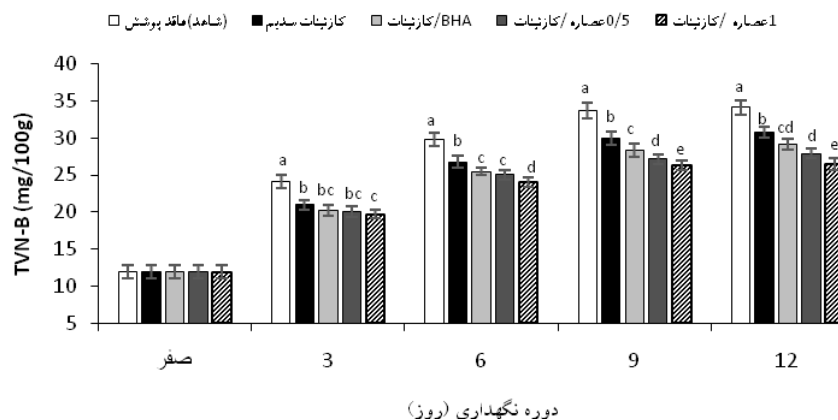
1- Quercetin, Isoquercetin, Retinoid, Narcissin
2-Calendoflavoside
3- Efstratiou
4-Szopa

5-Total Volatile Nitrogen (TVN)

تیماری که حاوی غلظت بالاتر (۱ درصد) عصاره بوده، میزان بازهای نیتروژنی کمتر بود (۲۷/۹۰ در مقابل ۲۶/۵۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم). نتیجه تحقیق حاضر، مطابق با نتیجه تحقیق رنجبریان و همکاران (۱۳۹۶) در رابطه با تأثیر مثبت استفاده از پوشش کازینات سدیم حاوی اسانس دارچین بر کاهش بازهای نیتروژنی گوشت سینه مرغ بود (۲).

نسبت به سایر تیمارها را می توان به دلیل کاهش جمعیت باکتری تیمارهای مذکور (جدول ۱) و یا کاهش توانایی اکسایشی باکتری ها در جدا کردن آمین ها از ترکیب های نیتروژنی غیر فرار و یا هر دو عامل در نتیجه اثر عصاره بر باکتری های موجود در فیله نسبت داد. با افزایش غلظت عصاره به دلیل افزایش ترکیب های فنولی اثر ضد باکتریایی آن نیز افزایش یافت (۱۳). به همین دلیل در

مجموع ترکیبات ازته فرار (mg/100g)



شکل ۱- تغییرات میانگین مجموع ترکیبات ازته فرار (TVN) فیله مرغ در تیمارهای مختلف طی دوره نگهداری (mg/100g)

تغییرات بار میکروبی که در جدول ۱ آمده است نیز در تطابق است.

۳-۳- اندیس اسید تیوباربتوریک

مطابق با نمودارهای شکل ۲، روند تغییرات میانگین اندیس اسید تیوباربتوریک (TBARS)^۱ در تمامی تیمارها تا پایان دوره نگهداری با شدت مختلف افزایشی بود. به کارگیری آنتی اکسیدان BHA و عصاره گل همیشه بهار به دلیل دارا بودن ترکیبات پلی فنولی، موجب افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی پوشش های خوراکی فعال شد به نحوی که همسو با نتایج تحقیق یگانه

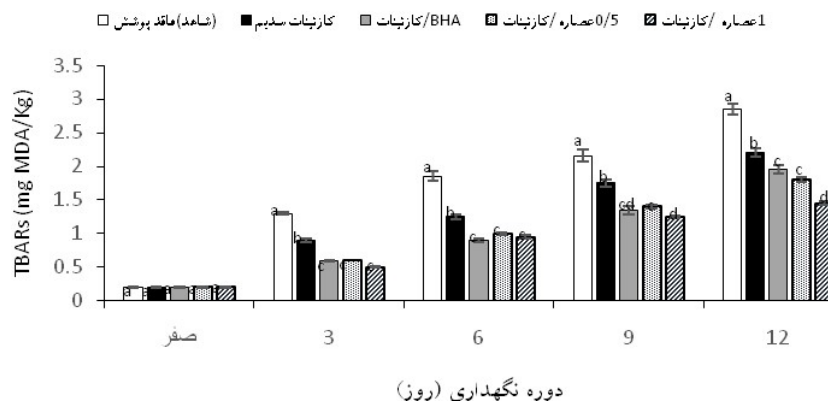
براساس دستورالعمل دفتر نظارت بر بهداشت عمومی سازمان دامپزشکی کشور، چنان چه میزان مجموع ترکیبات ازته فرار از ۲۷ میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم گوشت فراتر رود، گوشت غیر قابل مصرف خواهد بود. بر این اساس با توجه به شکل ۱ مشاهده شد که در پایان دوره نگهداری، صرفاً فیله های پوشش دار حاوی غلظت ۱ درصد عصاره همچنان در محدوده مجاز قرار داشته (۲۶/۵۰ ± ۰/۸۰ mg/100g) و سایر فیله ها از نظر این شاخص غیر قابل مصرف بود. مقدار ترکیبات ازته فرار در فیله های فاقد پوشش پس از ۶ روز نگهداری خارج از محدوده مجاز قرار گرفت (۲۹/۸۰ ± ۰/۸۵ mg/100g) و در پایان دوره به طور معنی داری بیشتر از فیله های تیمار شده بود (۳۴/۱۰ ± ۱/۰۰ mg/100g). این نتایج با نتایج

1- Thiobarbituric Acid Reaction Substances (TBARS)

نگهداری بهبود بخشید. با توجه به شکل ۲، کارایی آنتی‌اکسیدانی BHA و سطح ۰/۵ درصد عصاره در پوشش فعال کازئینی، تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (p < ۰/۰۵). در عین حال بکارگیری عصاره در سطح ۱ درصد، موجب بهبود معنی‌دار کارایی پوشش فعال در کاهش روند افزایش TBARS نیز شد (p < ۰/۰۵). قدرت بالای احیاکنندگی به دلیل ترکیبات فنولی موجود در عصاره گیاهی بوده که با کمک به الکترون‌دهی موجب قطع واکنش‌های زنجیره‌ای اکسندگی گردید (۸). در بررسی استفاده از پوشش فعال کازئینات سدیم، لشکری و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند با افزودن عصاره آویشن در غلظت ۱/۵ درصد به پوشش خوراکی، ماندگاری گوشت گوساله ۱۰ روز پس از نگهداری در یخچال حفظ شد (۲۵).

وزرگر (۱۴۰۰) در پایان دوره نگهداری، کمترین مقدار عددی این شاخص (۱/۴۵ ± ۰/۰۳۱ mg MDA/Kg) در فیله‌های حاوی پوشش کازئینات سدیم با سطح بالاتر عصاره (۱ درصد) دیده شد (p < ۰/۰۵) (۹). هیدرو-پراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون هستند که به ترکیبات ثانویه همچون آلدئیدها و کتون‌ها تجزیه شده و با شاخص اسید تیوباریتوریک مورد سنجش قرار می‌گیرد. پوشش کازئینات سدیم با توجه به خاصیت سدکنندگی خوب پوشش‌های پروتئینی در برابر نفوذ اکسیژن، توانست به‌طور مؤثری موجب کاهش این شاخص طی دوره نگهداری گردد (p < ۰/۰۵) (۱۱). افزودن آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA و نیز سطوح مختلف عصاره گل همیشه بهار، کارایی پوشش فعال کازئینات سدیم را در کاهش این شاخص طی دوره

اندیس اسید تیوباریتوریک (mg MDA/Kg)



شکل ۲- تغییرات میانگین اسید تیوباریتوریک (TBARS) فیله مرغ در تیمارهای مختلف طی دوره نگهداری (mg MDA/Kg)

مجاز بود که علت آن احتمالاً میزان چربی کم در فیله‌های مرغ بود. نکته قابل توجه اینکه اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گل همیشه بهار با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA (۲۰۰ ppm) قابل مقایسه بود و سطح ۱ درصد عصاره کارایی بیشتر و بهتری از خود نشان داد.

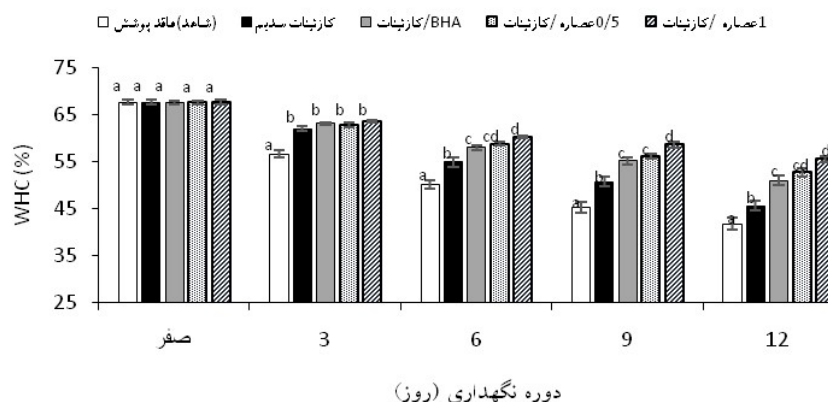
با توجه به اینکه از سوی محققان میزان ۳-۲ میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید در هر کیلوگرم گوشت مرغ، شروع اکسیداسیون گسترده چربی و تغییر در طعم گوشت تعیین شد، عدد اسید تیوباریتوریک در فیله‌های مرغ دارای پوشش فعال در پایان دوره نگهداری در محدوده

۳-۴- ظرفیت نگهداری آب

توانایی گوشت تازه در حفظ رطوبت یکی از مهم ترین ویژگی های کیفی محصولات خام است که بر عملکرد محصول تأثیر داشته و به نوبه خود پیامدهای اقتصادی دارد. در عین حال از نظر کیفیت خوراکی نیز مهم است. رویدادهای اولیه پس از مرگ از جمله سرعت و میزان کاهش pH، پروتولیز و حتی اکسیداسیون پروتئین بر توانایی گوشت در حفظ رطوبت آن تأثیر مهمی دارند (۲۱). با توجه به شکل ۳ ظرفیت نگهداری آب فیله ها با گذشت زمان کاهش یافت. این شاخص در بازه های زمانی مورد مطالعه، تحت تأثیر معنی دار تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. در حالی که ظرفیت نگهداری آب در فیله های فاقد پوشش پس از ۱۲ روز نگهداری با حدود ۳۸ درصد کاهش نسبت به شروع آزمایش به ۴۱/۷۵ درصد رسید. این مقدار در فیله های پوشش دار کازینات سدیم حاوی عصاره ۱ درصد عصاره ۵۵/۵۰ درصد بود که نسبت به شروع آزمایش تنها حدود ۱۸ درصد کاهش یافته بود ($p < 0/05$). طی دوره نگهداری به طور کلی پوشش دهی موجب جلوگیری از افت زیاد ظرفیت نگهداری آب فیله ها شد. تفاوت آماری معنی داری در ظرفیت نگهداری آب فیله های پوشش دار

حاوی BHA یا عصاره ۰/۵ درصد عصاره دیده نشد، اما تأثیر عصاره وابسته به غلظت بود و در طول دوره، فیله های پوشش دار حاوی غلظت بالاتر عصاره (۱ درصد) ظرفیت نگهداری آب بالاتری داشتند ($p < 0/05$). نشان داده شد استفاده از سطوح بالاتر عصاره گیاهی حاوی ترکیبات فنولی در قالب پوشش فعال موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب فیله مرغ شد (۷). عصاره های گیاهی حاوی ترکیبات پلی فنول سبب حفظ و یا در مواردی افزایش ظرفیت نگهداری آب می گردند. ترکیبات پلی فنولی موجود در عصاره گل همیشه بهار به دلیل کنترل واکنش های اکسندگی در فیله سبب حفظ فضای ذخیره ی آب بین میوفیبریل ها و افزایش ظرفیت نگهداری آب می شوند، زیرا اکسندگی چربی ها و پروتئین ها و تمام عواملی که وضعیت پروتئین های میوفیبریلی را تغییر می دهد، در میزان از دست رفتن رطوبت گوشت مؤثر است (۳۰). این موضوع با نتایج مرتبط با اندیس اسید تیوباریتوریک که در شکل ۲ آمده است مطابقت دارد. بدین ترتیب که فیله های پوشش دار حاوی عصاره ۱ درصد که به طور معنی داری TBARS کمتری داشته و بیانگر اکسیداسیون کمتر بود، ظرفیت نگهداری آب بالاتری داشتند.

ظرفیت نگهداری آب (درصد)



شکل ۳- تغییرات میانگین ظرفیت نگهداری آب (WHC) فیله مرغ در تیمارهای مختلف طی دوره نگهداری (درصد)

۳-۵-pH

گوشت مرغ نیز گزارش کردند؛ pH گوشت مرغ تحت تأثیر غلظت قرار گرفت (۵، ۶). کاهش مقدار pH در روزهای ابتدایی به دلیل مصرف گلوکز توسط باکتری‌ها و تبدیل آن به اسید بود، اما افزایش مقدار pH پس از آن ناشی از اتمام گلوکز ذخیره شده و بنابراین تجزیه پروتئین‌ها توسط باکتری‌ها و تجمع و تولید آمونیاک بود (۱۹). با این حال تغییرات pH در تیمارهای حاوی BHA و عصاره گل همیشه بهار به دلیل تأثیر بر کاهش بار میکروبی (جدول ۱) از شدت کمتری برخوردار بود. افزایش pH در فیله فاقد پوشش به دلیل تعداد و فعالیت بیشتر میکروارگانیسم‌ها و تأثیر آنها بر تجزیه پروتئین‌ها و آزاد شدن ترکیبات آمینی حاصل از تجزیه آن‌ها بود (۶). این نتایج با افزایش مقدار مجموع ترکیبات از ته فرار در تیمارها مذکور (شکل ۱) آمده تطابق داشت.

در جدول ۲ تغییرات میانگین pH فیله مرغ در تیمارهای مختلف طی دوره نگهداری آمده است. در حالی که مقدار pH در فیله‌های بدون پوشش از ۵/۶۵ در شروع آزمایش به ۶/۵۵ در پایان دوره افزایش یافت، فیله‌های دارای پوشش‌های فعال تغییر چندانی نشان نداد. تفاوت آماری معنی‌داری در pH فیله‌های حاوی پوشش کازئینات سدیم حاوی BHA یا عصاره ۰/۵ درصد دیده نشد. اما در پایان دوره، فیله‌های دارای پوشش فعال حاوی ۱ درصد عصاره کم‌ترین pH را نشان داد ($p < 0/05$). به عبارتی، تغییرات pH وابسته به غلظت عصاره بود. همچنان که کریم‌نژاد و همکاران (۱۳۹۸) در بررسی استفاده از اسانس زنیان و محمدی و خانی (۱۳۹۸) در بررسی اسانس گلپر بر برخی خصوصیات

جدول ۲- تغییرات میانگین pH فیله مرغ در تیمارهای مختلف طی دوره نگهداری

دوره نگهداری در دمای 4 ± 1 درجه سلسیوس (روز)					
تیمارها	صفر	۳	۶	۹	۱۲
شاهد (بدون پوشش)	۵/۶۵ \pm ۰/۰۴	۵/۹۰ \pm ۰/۰۸ ^a	۶/۱۵ \pm ۰/۱۰ ^a	۶/۳۵ \pm ۰/۱۰ ^a	۶/۵۵ \pm ۰/۰۶ ^a
کازئینات سدیم	۵/۶۵ \pm ۰/۰۵	۵/۷۰ \pm ۰/۰۶ ^b	۵/۸۲ \pm ۰/۰۹ ^b	۵/۹۰ \pm ۰/۰۵ ^b	۶/۲۱ \pm ۰/۱۰ ^b
کازئینات سدیم / BHA	۵/۶۵ \pm ۰/۰۷	۵/۵۰ \pm ۰/۱۰ ^c	۵/۷۱ \pm ۰/۰۵ ^c	۵/۷۵ \pm ۰/۰۱ ^c	۵/۸۴ \pm ۰/۰۲ ^c
کازئینات / عصاره ۰/۵ درصد	۵/۶۵ \pm ۰/۰۵	۵/۵۲ \pm ۰/۰۳ ^c	۵/۷۰ \pm ۰/۰۹ ^c	۵/۷۳ \pm ۰/۰۹ ^c	۵/۸۰ \pm ۰/۰۸ ^c
کازئینات / عصاره ۱ درصد	۵/۶۵ \pm ۰/۰۴	۵/۴۸ \pm ۰/۰۵ ^c	۵/۶۵ \pm ۰/۰۳ ^c	۵/۶۰ \pm ۰/۰۳ ^d	۵/۶۶ \pm ۰/۰۵ ^d

^{a-d} در هر ستون حروف متفاوت a-d بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار است ($p < 0/05$)

۴- نتیجه گیری

می‌تواند جایگزین آن در تهیه پوشش‌های فعال خوراکی شود. لذا استفاده از پوشش فعال کازئینات سدیم حاوی عصاره ۱ درصد گل همیشه بهار به عنوان یک بسته‌بندی زیست تخریب‌پذیر و ایمن جهت افزایش ماندگاری فیله مرغ در دمای یخچال توصیه می‌شود.

با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره گل همیشه بهار بسته به غلظت مورد استفاده متفاوت بود و بکارگیری آن در پوشش بر پایه کازئینات سدیم موجب بهبود کارایی پوشش فعال در کاهش شاخص‌های فساد اکسیداتیو و فساد باکتریایی شد. ضمن اینکه کارایی آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی ۰/۵ و ۱ درصد عصاره گل همیشه بهار، به ترتیب مشابه و بهتر از BHA (۲۰۰ ppm) بود و

۵- منابع

۱. حکیم ه، فضل‌آراع، تدینی م. تأثیر پوشش کیتوزان حاوی اسانس پونه کوهی بر

- چندسازه‌ای بر خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی و میکروبی فیله مرغ طی دوره نگهداری در شرایط سرد. *مجله علوم و صنایع غذایی ایران*. ۱۳۹۹؛ ۱۰۶(۱۷): ۲۱-۱۳.
۸. نبوی س. م، نبوی س. ف، ابراهیم‌زاده م.ع، اسلامی ب. بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی چهار گونه گیاهی زولنگ، چوچاخ، تلکا وخرمندی در مدل برونتن. *مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان*. ۱۳۸۸؛ ۸(۲): ۱۵۰-۱۳۹.
۹. یگانه س، زرگر م. بررسی اثر ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی پوشش خوراکی کازئینات سدیم حاوی اسانس *Rosmarinus officinalis* بر کیفیت و ماندگاری قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در مدت نگهداری در یخچال. *مجله علوم و صنایع غذایی ایران*. ۱۴۰۰؛ ۱۲۰(۱۸): ۵۰-۳۹.
10. Azzaz N.A, Hassan E.A, Emarey, F.A. Physiological, anatomical, and biochemical studies on pot marigold (*Calendula officinalis* L.) plants. *African Crop Science*. 2009; 8: 1727-1738.
11. Bonilla J, Atares L, Vargas M, Chiralt A. Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: Possibilities and limitations. *Journal of Food Engineering*. 2012; 110: 208-213.
12. Bonilla J, Sobral P. J. Antioxidant and physicochemical properties of blended films based on gelatin-sodium caseinate activated with natural extracts. *Journal of Applied Polymer Sciences*. 2017; 134 (7): 44467.
13. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*. 2004; 94(3): 223-253.
- ماندگاری گوشت فیله مرغ در دوره نگهداری در دمای یخچال. *مجله علوم و صنایع غذایی ایران*. ۱۳۹۷؛ ۷۵(۱۵): ۴۶-۳۵.
۲. رنجبریان س، رضا زادباری م، الماسی ه، امیری، ص. تأثیر فیلم و پوشش نانوکامپوزیت فعال کازئینات سدیم حاوی اسانس دارچین در افزایش ماندگاری فیله سینه مرغ. *مجله علوم و صنایع غذایی ایران*. ۱۳۹۶؛ ۱۴(۷۱): ۱۸۴-۱۷۱.
۳. زرگر م، یگانه س، رضوی س.ه، اجاق س.م. تأثیر پوشش خوراکی کازئینات سدیم بر کیفیت ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در دمای یخچال. *مجله علوم و صنایع غذایی ایران*. ۱۳۹۳؛ ۱۱(۴۴): ۸۱-۷۱.
۴. طباطبایی ح، مستقیم ت، رحمن ع. ر. افزایش عمر ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای پوشش داده شده با فیلم کازئینات سدیم همراه با عصاره بذر چای. *نشریه نوآوری در علوم و فن آوری غذایی*. ۱۳۹۸؛ ۱۱(۲): ۱۵-۲۸.
۵. کریم‌نژاد ف، رضویلر و، انوار س. ا. ع، اسکندری س. اثرات فیلم خوراکی کیتوزان حاوی اسانس زنیان بر برخی از ویژگیهای شیمیایی گوشت مرغ. *علوم غذایی و تغذیه*. ۱۳۹۸؛ ۱۰۱-۹۱.
۶. محمدی ف، خانی م.ر. اثر اسانس گلپر بر زمان ماندگاری و ویژگیهای حسی سینه مرغ جوجه کبابی طی نگهداری در یخچال. *علوم غذایی و تغذیه*. ۱۳۹۸؛ ۱۶(۲): ۸۹-۱۰۴.
۷. مردانی کیاسری م، خادمی شورمستی د. تأثیر عصاره علف لیمو (*Cymbopogon citratus*) و نانورس در پوشش نانو

23. Khwaldia K, Banon S, Perez C, Desobry S. Properties of sodium caseinate film forming dispersions and films. *Dairy Science*. 2004; 87: 2011-1016.
24. Kykkidou S, Giatrakou V, Papavergou A, Kontominas M. G, Savvaidis I. N. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4°C. *Food Chemistry*. 2009; 115: 169–175.
25. Lashkari H, Halabinejad M, Rafati A, Namdar A. Shelf life extension of veal meat by edible coating incorporated with Zataria multiflora essential oil. *Journal of Food Quality*. 2020: (Article ID: 8871857): 8p.
26. Ojagh S. M, Rezaei M, Razavi S. H, Hosseini S. M. H. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*. 2010; 120:193-8.
27. Oussalah M. Caillet S, Saucier L, Lacroix, M. Antimicrobial effects of alginate- based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *Journal of Food Protection*. 2006; 69(10): 2364-2369.
28. Szopa A, Klimek-Szczykutowicz M, Jafernik K, Koc K, Ekiert H. Pot marigold (*Calendula officinalis* L.) – a position in classical phytotherapy and newly documented activities. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*. 2020; 19(3): 47-61.
29. Valentino M, Volpe S, Angelo Di Giuseppe F, Cavella S, Torrieri E. Active biopolymer coating based on sodium caseinate: physical characterization and antioxidant activity. *Coating*. 2020; 10: 706. doi:10.3390/coatings10080706.
30. Wood J.D, Enser M. Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *British Journal of Nutrition*. 1977; 78:S49-S60.
14. Caprioli I, O’Sullivan M, Monahan, F.J. Interference of sodium caseinate in the TBARS assay. *Food Chemistry*. 2011; 124: 1284-1287.
15. Chen H, Wang J, Cheng Y, Wang C, Liu H, Bian H, Pan Y, Sun J, Han W. Application of protein-based films and coatings for food packaging: A review. *Polymers*. 2019; 11: 2039.
16. Cutter, C. N., Sumner S. S. 2002. *Application of edible coatings on muscle foods. in: Protein-based films and coatings*. (Editors: A. Gennadios). CRC Press, pp. 467-484.
17. Efstratiou E, Hussain A. I, Nigam P.S, Moore J. E, Ayub M. A, Rao J. R. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens. *Complementary Therapies in Clinical Practice*. 2012; 18:173-176.
18. Fan W, Sun J, Chen Y, Qiu J, Zhang Y, Chi Y. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*. 2009; 115: 66-70.
19. Gill C.O. Meat spoilage and evaluation of the potential storage life of fresh meat. *Journal of Food Protection*. 1983; 46: 444-452.
20. Gimenez B, Roncales P, Beltran J. A. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2002; 84: 1154-1159.
21. Huff-Lonergan E, Lonergan S. M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*. 2005; 71: 194-204.
22. Khan M. R, Volpe S, Valentino M, Miele N. A, Cavella S, Torrieri E. Active casein coatings and films for perishable foods: Structural properties and shelf-life extension. *Coatings*. 2021; 11: 899. doi:10.3390/coatings11080899.

31. Zhuang H, Savage E. M, Smith D. P, Berrang M. E. Effect of dry-air chilling on warner-bratzler shear force and water-holding capacity of broiler breast meat deboned four hours postmortem. *Journal of Food Poultry Science*. 2008; 7(8):743-748.