ارزیابی فعالیت ضد میکروبی لفاف خوراکی جدید صمغ فارسی به همراه عصاره زعفران و نیسین برروی فیله مرغ تحت شرایط سرد

الهه سراوانی‌پاک[١]، محمدعلی نجفی*[٢]، محمود توکلی[٣]، ناصر سلطانی تهرانی[٤]

١- دانش‌آموخته مقطع کارشناسی ارشد زیست فناوری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
٢- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
٣- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
٤- کارشناس ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ١٠ تیر ١٤٠٠، بازنگری: ٢٥ مرداد ١٤٠٠، پذیرش نهایی: ٥ شهریور ١٤٠٠

چکیده

امروزه استفاده از لفاف‌های زیست تخریب پذیر به دلیل سازگاری با محیط زیست و قابلیت نگهداری ترکیبات فعال زیستی مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این پژوهش برای نخستین بار لفاف زیست تخریب‌پذیر ضد میکروبی بر پایه صمغ فارسی به همراه عصاره متانولی زعفران به تنهایی و یا در ترکیب با نیسین تهیه گردید. در ابتدا، حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و غلظت کشندگی (MBC) عصاره زعفران و نیسین به روش میکرودایلوشن و برای لفاف‌ها به روش انتشار دیسک در برابر باکتری‌های بیماری‌زای لیستریا مونوسیتوژنز، پسودوموناس آئروژنز، باسیلوس سرئوس، اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم تعیین شد. سپس عصاره زعفران در مقادیر (mg/ml ٣١/٢٥) MIC و (٦٢/٥ mg/ml) MBC و نیسین با مقدار (٠/٢٥٦ mg/ml) MIC به فرمولاسیون لفاف‌ها اضافه گردید. تأثیر لفاف‌ها بر کنترل جمعیت میکروب زنده کل، انتروباکتریاسه، باکتری‌های اسیدلاکتیک، پسودوموناس، کپک و مخمر گوشت سینه مرغ در طی ١٢ روز نگهداری در دمای ١±٤ °C، هر سه روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد نیسین در مقایسه با عصاره زعفران اثر مهارکنندگی بهتری بر کنترل جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا دارد. همچنین افزودن نیسین به فیلم صمغ فارسی حاوی عصاره زعفران، اثر هم‌افزایی (٢٥ درصد) بر مهار رشد میکروب‌ها در گوشت مرغ نشان داد. بر اساس حد مجاز تعداد میکروب کل (کمتر از log CFU/g ٧)، توانایی مهار رشد باکتری‌های هدف و مدت زمان نگهداری (تا ١٢روز)، لفاف صمغ فارسی+ نیسین + زعفران (MBC) مناسب به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: *گوشت مرغ، رشد میکروبی، عصاره متانولی*

* ست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: najafi413@yhoo.com

مقدمه

علیرغم پیشرفت‌های چشمگیر علمی در زمینه ایمنی غذایی، هنوز بحث انتقال بیماری‌های میکروبی ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده بسیار رایج است، به‌طوری که هر ساله ۴۲۰۰۰۰ مرگ و میر گزارش می‌گردد (۲۰). یک روش جدید در مهار رشد میکروب‌های بیماری‌زا و افزایش ماندگاری مواد غذایی استفاده از بسته‌بندی‌های ضد میکروبی است. فیلم‌های خوراکی زیست تخریب‌پذیر به دلیل ماهیت غیر سمی و سازگاری با محیط زیست در مقایسه با پلاستیک‌های مصنوعی (سنتزی) مورد توجه هستند (۹). این فیلم‌ها می‌توانند به‌عنوان حامل مواد مغذی، مواد ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان، طعم دهنده‌ها و رنگ دهنده‌ها عمل کنند و از این لحاظ باعث حفظ و بهبود خواص کیفی مواد غذایی گردند (۱۵). در سال‌های اخیر، فیلم‌های خوراکی معمولاً از پلی‌ساکاریدها، لیپیدها، پروتئین‌ها یا مشتقات آنها ساخته شده‌اند. در این بین ترکیبات پلی‌ساکاریدی با دارا بودن استحکام، شفافیت و پایداری مطلوب، همچنین عدم وجود رنگ، بو و طعم از اهمیت بالایی برخوردارند (۲۷). با این حال، منابع مواد اولیه موجود محدودیت‌هایی در خصوص فراوانی، ویژگی‌های عملکردی و هزینه‌های مالی دارند. بنابراین، منابع جدید به‌طور مداوم در حال بررسی هستند تا نیاز لفاف‌های خوراکی را تأمین کنند (۳۰).

صمغ فارسی شیره درخت بادام وحشی (Amygdalus scoparia Spach) است که در آسیای میانه و جنگل‌های مختلف ایران به فراوانی یافت می‌شود. در مقیاس تجاری این صمغ در رنگ‌های سفید، زرد، کهربا و قرمز با رایحه شیرین و قیمت ارزان به راحتی قابل تهیه است (۱). صمغ فارسی در زمینه‌های پزشکی، تغذیه‌ای و صنعتی کاربردهای متنوعی دارد. حدود ۷۰ درصد وزنی آن را ترکیب نامحلول و الباقی را ترکیبات محلول تشکیل می‌دهد. این صمغ یک پلی‌ساکارید آنیونی با ساختار ß-D-galp-(1→3) با توزیع تصادفی واحدهای ß-D-galactopyranosyl-(1→6) و α-L-arabinofuranosyl-(1→3) به‌عنوان زنجیره‌های جانبی می‌باشد (۲۸). در سال‌های اخیر، چندین مطالعه در مورد کاربرد صمغ فارسی در محصولات غذایی مختلف، از جمله تولید ماست پروبیوتیک (۲)، نوشیدنی مخلوط شیر و آب پرتقال (۱۳)، پوشش سطح پرتقال (۱۹) و موز (۳۱) تهیه نوشیدنی کفیر (۶) و همراه با کیتوزان و اسانس سیر در نگهداری ماهی کپور (۲۴) مورد بررسی قرار گرفته است. Saravani-Pak و همکاران در سال ۲۰۲۰، برای نخستین بار از فاز محلول صمغ فارسی لفاف خوراکی شفاف، بی‌رنگ و با خواص مکانیکی، نفوذپذیری اکسیژن و بخار آب مطلوب تهیه نمودند.

اخیراً استفاده از ادویه‌ها به‌صورت پودر، عصاره آبی و یا اسانس‌های گیاهی در فیلم‌های بسته‌بندی مواد غذایی به‌عنوان یک ماده ضد میکروبی مورد توجه قرار گرفته است (۱۲). اما مشکل اساسی کاربرد این ترکیبات ایجاد عطر و طعم ناخوشایند در برخی محصولات غذایی است (۲۳). زعفران تجاری در واقع کلاله‌های خشک شده گل گیاه زعفران (Crocus sativus L.) است که بیشتر از آن به عنوان ادویه، ماده رنگی خوراکی و معطر استفاده می‌شود. زعفران همچنین در داروهای بومی جهت درمان بیماری‌های قلبی-عروقی، دیابت، افسردگی، پارکینسون، تصلب شرائین کاربرد دارد. در زعفران حدود ۱۵۰ ترکیب شیمیایی شناسایی شده که عمدتاً شامل کاروتنوئیدها، گلیکوزیدها، مونوترپن‌ها، آلدهیدها، پیکروکروسین، آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها، ویتامین‌ها (ریبوفلاوین و تیامین)، اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، نشاسته، مواد معدنی و صمغ‌هاست (۵). گزارش شده عصاره‌های متانولی و اتری کلاله

زعفران دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی در برابر برخی باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زاست و از این رو می‌توان از آن در فرمولاسیون‌های دارویی و غذایی استفاده کرد (۵، ۱۷). خاصیت ضد میکروبی عصاره زعفران برحسب روش استخراج، گونه و محل کشت با یکدیگر متفاوت می‌باشد (۲۱).

نیسین ازجمله ترکیبات نگهدارنده مواد غذایی است که توسط برخی از باکتری‌های گرم مثبت، مانند گونه‌های لاکتوکوکوس و استرپتوکوکوس تولید می‌شود (۱۴). سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) و اتحادیه اروپا نیسین را به‌عنوان ترکیب ضد میکروب طبیعی بی‌خطر با قابلیت استفاده در غذاهایی چون لبنیات، سبزیجات و گوشت تأئید نموده‌اند (۱۸). گزارش شده نیسین بر مهار رشد باکتری‌های اشریشیاکلی، لیستریا منوسیتوژنز، سالمونلا تیفی‌موریم، استافیلوکوکوس اورئوس (۲۵) و نیز لیستریا اینوکوا (۱۸) مؤثر است. نیسین با ایجاد تغییرات ساختمانی در غشاء سلولی نفوذپذیری آن را تغییر داده و با مهار فرآیند جوانه‌زنی اسپورها، در برابر طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی عمل می‌کند. فعالیت ضد میکروبی نیسین تحت تأثیر عوامل زیادی مانند دما، pH، ترکیبات محیط کشت و گونه‌های تولید کننده قرار دارد (۱۴).

هدف از این مطالعه تهیه فیلم زیست تخریب‌پذیر ضد میکروبی بر پایه صمغ فارسی و در ترکیب با زعفران و نیسین است. در این آزمایش پس از تهیه فیلم‌های ضد میکروبی اثرات ضد میکروبی آن در محیط کشت و گوشت فیله مرغ در شرایط سرد (۴±۱ °C) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره متانولی زعفران: مقدار ۶۰ گرم کلاله زعفران خشک و ارگانیک از پژوهشگاه زعفران، دانشگاه تربت حیدریه (تربت حیدریه، ایران) در کیسه‌های پلاستیکی استریل (۵ گرمی) تهیه و در آزمایشگاه علوم و صنایع غذایی تحت دمای ۱ ± ۴ °C تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شدند. عصاره متانولی کلاله مطابق روش مظفری و همکاران (۲۰۱۶)، با برخی اصلاحات انجام شد. بدین منظور پودر کلاله‌های زعفران به نسبت (W/V) ۱:۲ با اتانول ۸۰ درصد مخلوط و برای مدت ۲۰ دقیقه در داخل حمام فراصوت (آستراسون، آلمان) با فرکانس ۳۳ KZ در دمای اتاق قرار داده شد. سپس به کمک همزن مغناطیسی (فراشرق، ایران) با سرعت RPM ۱۰۰ به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط مخلوط گردید. در مرحله بعد به کمک دستگاه سانتریفوژ با شتاب g ۱۲۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه رسوب‌گذاری و فاز بالایی توسط کاغذ واتمن شماره ۱ فیلتر گردید. ml ۴۰۰ از محلول به‌دست آمده را به دستگاه اواپراتور چرخان (تحت دمای °C ۴۶-۴۷، سرعت RPM ۱۵۰) منتقل و تا حجم ml ۵۰ تغلیظ و سپس توسط خشک‌کن انجمادی (آرمفیلد، انگلستان) خشک و تا زمان استفاده در دمای °C ۲۰- نگهداری شد.

تهیه و تکثیر سویه‌های باکتریایی: اثر ضد میکروبی عصاره و لفاف صمغ فارسی بر روی باکتری‌های بیماری‌زا شامل سه گونه گرم مثبت: لیستریا منوسیتوژنز NCTC 11994، باسیلوس سرئوس ATCC 9634 و استافیلوکوکوس اورئوس Bristol A9596 و سه گونه گرم منفی: پسودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853، اشریشیاکلی ATCC 25922 و سالمونلا تیفی‌موریوم ATCC 14028 مورد ارزیابی قرار گرفت. سویه‌های هدف از آزمایشگاه گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زابل، زابل، ایران در فرم منجمد (°C ۸۰-) تهیه شدند. جهت تکثیر سویه باسیلوس سرئوس به محیط کشت مایع تریپتوسوی

براث (TSB*: سیگما آلدریچ، آمریکا) تلقیح و در دمای ۳۰ °C برای مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. سایر سویه‌ها در شرایط مشابه تلقیح و در دمای ۳۷ °C به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه انکوباتور (پارس‌آزما، ایران) قرار داده شدند (۳۳). در مرحله بعد سویه‌های مورد نظر به محیط کشت تریپتوسوی آگار (TSA□: سیگما آلدریچ، آمریکا) منتقل و پس از گرمخانه‌گذاری در شرایط مشابه، کلنی‌های خالص جداسازی و جهت تکثیر مجدداً در شرایط ذکر شده، به محیط کشت TSA منتقل گردیدند. پس از گرمخانه‌گذاری مخلوط میکروبی به‌دست آمده در دمای ۴ °C تا زمان استفاده (حداکثر ۲۴ ساعت) نگهداری شدند. سوسپانسیون خالص میکروبی حاوی (10^8 CFU/ml) با استفاده از محلول نمکی استریل و محلول نیم مک فارلند استاندارد تهیه شد.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداکثر غلظت کشندگی (MBC) زعفران و نیسین: مقادیر MIC و MBC عصاره زعفران و نیسین (سیگما-آلدریچ، دورست، انگلستان) به روش میکرودایلوشن و با استفاده از محیط کشت مایع مولر-هینتون و پلیت ۹۶ خانه تعیین گردید (۲۹). بدین منظور محلول آبی نیسین در غلظت (µg/ml) ۱۰۲۳/۰ - ۴/۸ و عصاره زعفران در غلظت (mg/ml) ۱۰۰۰/۰ - ۷/۸ از انحلال عصاره خشک‌شده زعفران در محلول دی‌متیل سولفوکسید (۱۰ درصد) تهیه و پس از فیلتراسیون به کمک فیلتر (۰/۲ µm) آماده شد. به هر چاهک مقدار ۱۰۰ µl محیط کشت حاوی 10^8 CFU/ml سویه هدف منتقل گردید. سپس به اولین چاهک هر ردیف مقدار ۱۰۰ ml محلول ضد میکروبی اضافه و تا خانه نهم رقیق‌سازی شد. محیط کشت حاوی میکروب بدون ترکیب ضد عفونی کننده به‌عنوان کنترل مثبت و محیط کشت بدون میکروب به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شدند. پلیت‌ها در شرایط ذکر شده گرمخانه‌گذاری و به لحاظ کدورت سنجی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (سسیل، انگلستان) در طول موج ۶۲۰ نانومتر بررسی گردیدند. تائید نتایج به کمک کشت باکتریایی در محیط کشت مولر هیلتون آگار انجام گرفت.

آماده سازی لفاف‌ها: صمغ فارسی از بازار محلی شهر فسا واقع در استان فارس تهیه گردید. لفاف‌ها با استفاده از تکنیک ریخته‌گری‡ مطابق روش سراوانی پاک و همکاران (۲۰۲۰) ساخته شدند. با هدف تقویت اثر ضد میکروبی زعفران نیسین در غلظت MIC به محلول سازنده لفاف اضافه گردید. لفاف‌ها شامل: صمغ فارسی (بخش محلول فیلم صمغ فارسی)، صمغ فارسی + نیسین ، صمغ فارسی + عصاره زعفران (MIC)، صمغ فارسی + عصاره زعفران (MBC)، صمغ فارسی + نیسین + عصاره زعفران (MIC) و صمغ فارسی + نیسین + عصاره زعفران (MBC) بود. جهت تهیه محلول سازنده لفاف مقدار ۳ g پودر خشک شده فاز محلول آبی صمغ فارسی به ۱۰۰ ml آب مقطر استریل اضافه و برای مدت ۱ ساعت در دمای ۴۰ °C هم‌زده شد. سپس گلیسرول به نسبت ۳۰ درصد وزنی پودر صمغ فارسی، به عنوان نرم کننده به مخلوط اضافه و pH توسط اسید کلریدریک (۰/۱ نرمال) در محدوده ۵/۵۰ ± ۰/۰۵ تنظیم گردید. همگن‌سازی مخلوط سازنده لفاف توسط دستگاه التراتراکس (D12-آلمان) با سرعت ۱۳۵۰۰ RPM به مدت ۴ دقیقه انجام شد. فرآیند حذف میکروب‌های ناخواسته با گرم کردن مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه تا دمای °C

---

* Tryptic Soy Broth

□ Tryptic Soy Agar

‡ Casting

۸۵ و سپس کاهش تا دمای ۵ درجه سانتی‌گراد صورت پذیرفت. به‌منظور حذف هوای موجود در مخلوط برای مدت ۳۰ دقیقه تحت فشار ۱۰mbar در دمای اتاق قرار داده شد و متعاقباً، ۱۵ ml از هر محلول به صورت آسپتیک به ظروف پتری‌دیش پلاستیکی استریل (قطر ۹ cm) منتقل گردید. پلیت‌ها به کمک دستگاه آون (پارس‌آزما، ایران) در دمای ۳۵ °C، رطوبت نسبی ۵۲ درصد، برای مدت زمان ۷۲ ساعت خشک شدند. جهت تهیه لفاف‌های ضد میکروبی، ترکیبات مورد نظر در ۵ ml آب مقطر استریل حل و به فاز آبی افزوده شد.

فعالیت ضد میکروبی لفاف‌ها: فعالیت ضد باکتریایی لفاف‌ها در برابر سویه‌های هدف با استفاده از روش دیسک دیفیوژن مطابق روش ذکر شده توسط اسدی در سال ۲۰۱۶ انجام شد. بدین منظور مقدار ۰/۱ ml از سویه‌های هدف (حاوی تقریباً 10^{4}-10^{5} CFU/ml) به صورت سطحی در پلیت‌های مولر هینتون آگار تلقیح و سپس قطعات فیلم (دایره با قطر ۱۲ mm) در شرایط آسپتیک به سطح پلیت منتقل و تحت شرایط ذکر شده برای هر باکتری گرمخانه‌گذاری گردیدند. قطر کل منطقه فاقد میکروب اندازه‌گیری و از قطر لفاف کسر و به‌عنوان ناحیه مهار رشد گزارش گردید.

بکارگیری لفاف‌ها: اثر ضد باکتریایی لفاف‌ها بر روی گوشت تازه سینه مرغ بدون پوست و استخوان (۲۵۰-۲۸۰ g) بررسی گردید. گوشت‌ها از بازار محلی تهیه و حداکثر ۱ ساعت پس از کشتار و در شرایط سرد به آزمایشگاه دانشگاه زابل منتقل گردیدند. در آزمایشگاه گوشت سینه مرغ به ۱۴۰ قطعه (ابعاد تقریبی ۳ × ۵ × ۴ cm) تبدیل و در ۷ گروه دسته‌بندی شدند. تمامی قطعات تا زمان استفاده در درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و حداکثر برای مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. فیله بدون هرگونه تیمار بسته‌بندی به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد. تمام نمونه‌ها به‌صورت مجزا درون ظروف یک‌بار مصرف استریل منتقل و سپس در شرایط سرد (۴ ± ۱ °C) نگهداری شدند.

آزمون‌های میکروبی گوشت مرغ: نمونه‌های فیله در طی مدت نگهداری به لحاظ جمعیت میکروبی زنده کل (TVC)، انتروباکتریاسه، باکتری‌های اسیدلاکتیک، پسودوموناس، کپک و مخمر مورد ارزیابی قرار گرفتند. بدین منظور مقدار ۱۰g نمونه گوشت مرغ به همراه ۱۰۰ ml آب پپتونه استریل (۰/۱ درصد) تحت شرایط آسپتیک به کیسه هضم مخصوص دستگاه استومیکر (اینترساینس، فرانسه) منتقل و پس از همگن‌سازی، رقت‌های سریالی تهیه گردید. برای TVC از روش کشت سطحی و محیط کشت پلیت کانت آگار استفاده شد. پلیت‌های تلقیح شده در دمای ۳۰ °C برای مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری گردیدند. شمارش باکتری‌های جنس پسودوموناس با استفاده از محیط کشت پسودوموناس آگار (با یک مکمل انتخابی CFC) و شرایط گرمخانه‌گذاری ۲۵ °C برای ۴۸ ساعت صورت پذیرفت. تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه با تلقیح سطحی پلیت حاوی محیط کشت ویولت ردبایل گلوکوز آگار و گرمخانه‌گذاری (۲۴ ساعت، ۳۷ °C) تعیین شد. تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک پس از تلقیح سطحی محیط کشت MRS* و به دنبال آن گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰ °C به مدت ۳ روز تعیین شد. برای شمارش سلول‌های مخمر و کپک، محیط کشت انتخابی رز بنگال کلرامفنیکل آگار تلقیح سطحی شده و به دنبال آن به مدت ۵-۳ روز در دمای ۲۵ °C گرمخانه‌گذاری گردیدند. نتایج شمارش میکروبی در مقیاس log10 (CFU/g) بیان شد (۲۶). آزمون میکروبی فیله‌ها در بازه‌های زمانی ۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲

---

* de Man Rogosa Sharpe

روز نگهداری در شرایط سرد صورت پذیرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: نتایج به‌دست آمده با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و تحلیل گردید. تعیین اختلاف معنی‌دار بین میانگین داده ها و رتبه بندی آنها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با سه تکرار انجام شد.

بحث و نتیجه‌گیری

فعالیت ضد میکروبی در شرایط آزمایشگاهی: نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره زعفران و نیسین در برابر باکتری‌های لیستریا مونوسیتوژنز، پسودوموناس آئروژنز، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و سالمونلا تیفی‌موریوم در جدول ۱ آورده شده است. مقادیر MIC عصاره زعفران برای تمامی باکتری‌های بیماری‌زا (mg/ml) ۳۱/۲۵ و MBCدر محدوده (mg/ml) ۶۲/۵ - ۳۱/۲۵ بود. در بین تمامی سویه‌ها استافیلوکوکوس اورئوس با MBC برابر (mg/ml) ۳۱/۲۵ بالاترین سطح حساسیت مرگ سلولی را نشان داد. حداقل غلظت کشندگی عصاره زعفران در برابر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و پسودوموناس آئروژنوزا با نتایج گزارش شده توسط مظفری و همکاران (۲۰۱۶) متفاوت است که احتمالاً ناشی از تفاوت در سویه‌های باکتریایی، نوع و شیوه‌های قبل از برداشت زعفران بوده است (۳۲). جدول ۱ مقادیر MIC و MBC نیسین در برابر سویه‌های هدف را نشان می‌دهد. MIC نیسین در محدوده (mg/ml) ۰/۲۵۶ – ۰/۰۳۲ قرار داشت که نشان‌دهنده عملکرد بهتر آن در مهار رشد سویه‌های هدف، در مقایسه با عصاره متانولی زعفران است. بیشترین اثر مهارکنندگی نیسین در برابر باکتری‌های لیستریامنوسیتوژنز، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس با ثبت MIC معادل (mg/mL) ۰/۰۳۲ و کمترین در مقابل سالمونلا تیفی‌موریم با MIC معادل ۰/۲۵۶ دیده شد ($P<0.05$). نتایج نشان می‌دهند نیسین بر مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت (لیستریا مونوسیتوژنز، باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس) تأثیر بیشتری داشته است. مقادیر MBC نیسین نیز در محدوده (mg/ml) ۰/۵۱۲ – ۰/۰۳۲ تعیین گردید که کمترین و بیشترین آن به‌ترتیب در برابر باکتری‌های لیستریا منوسیتوژنز و سالمونلا تیفی‌موریوم به‌دست آمده است ($P<0.05$). حساسیت بالاتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی به دلیل تفاوت در ساختار غشاء سلولی آنهاست. در تحقیقی تأثیر نیسین بر مهار رشد باکتری‌های پاتوژن گزارش شده است (۳۴). نیسین در واقع یک باکتریوسین متعلق به کلاس I می‌باشد که بخش کاتیون آبگریز آن با لیپید II غشاء سلولی پیوند برقرار نموده و موجب تشکیل منافذ در غشاء و همزمان ایجاد وقفه‌هایی در چرخه تولید لایه پپتیدوگلیکان می‌گردد. این در حالی است که غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی مانع خوبی در برابر دسترسی نیسین به غشاء سلولی است (۱۴).

جدول ۱- MIC و MBC عصاره زعفران (mg/ml) و نیسین (mg/ml) در برابر سویه‌های میکروبی

سویه باکتری	عصاره زعفران (mg/ml)		نیسین (mg/ml)	
	MIC	MBC	MIC	MBC
L. monocytogenes	۳۱/۲۵ B,a	۶۲/۵۰ A,a	۰/۰۳۲ C,d	۰/۰۳۲ C,d
P. aeruginosa	۳۱/۲۵ B,a	۶۲/۵۰ A,a	۰/۰۶۴ D,c	۰/۱۲۸ C,b
B. cereus	۳۱/۲۵ B,a	۶۲/۵۰ A,a	۰/۰۳۲ D,d	۰/۰۶۴ C,c
S. aureus	۳۱/۲۵ A,a	۳۱/۲۵ A,b	۰/۰۳۲ C,d	۰/۰۶۴ B,c
E. coli	۳۱/۲۵ B,a	۶۲/۵۰ A,a	۰/۱۲۸ C,b	۰/۱۲۸ C,b
S. typhimurium	۳۱/۲۵ B,a	۶۲/۵۰ A,a	۰/۲۵۶ D,a	۰/۵۱۲ C,a

حروف بزرگ و کوچک به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ردیف و ستون در سطح ۵ درصد می‌باشند

فعالیت ضد میکروبی لفاف‌ها: نتایج فعالیت ضد باکتریایی لفاف‌ها در برابر باکتری‌های انتخابی در جدول ۲ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود لفاف‌های تهیه شده از صمغ فارسی، صمغ فارسی+ عصاره زعفران (MIC) و صمغ فارسی + عصاره زعفران (MBC) هیچ گونه فعالیت ضد میکروبی در برابر سویه‌های هدف نشان ندادند. لفاف حاوی نیسین در مقایسه با لفاف تهیه شده با عصاره زعفران، تأثیر مشخصی بر مهار رشد باکتری‌های هدف به جز سالمونلا تیفی‌موریم نشان داد. بیشترین اثر مهارکنندگی لفاف‌ها بر رشد لیستریا منوسیتوژنز (۱۳/۱ mm - ۱۱/۷) و کمترین تأثیرگذاری بر سالمونلا تیفی‌موریم (۷/۲ mm - ۰) مشاهده گردید ($P<0.05$). افزودن نیسین به همراه افزایش غلظت عصاره زعفران باعث تقویت اثرات ضد باکتریایی لفاف شد. به‌طوری که نمونه تهیه شده از صمغ فارسی+ نیسین+ عصاره زعفران (MBC) بالاترین سطح مهار رشد باکتریایی را در برابر تمامی سویه‌های هدف نشان داد ($P<0.05$). بررسی منابع علمی گذشته نشان می‌دهد تاکنون گزارشی در خصوص اثرات ضد میکروبی لفاف صمغ فارسی و یا لفاف حاوی زعفران منتشر نشده است. رئیسی و همکاران در سال ۲۰۱۶ نتایج مشابهی را در خصوص اثر هم‌افزایی نیسین بر خواص میکروبی لفاف آلژینات سدیم حاوی اسانس‌های روغنی دارچین و رزماری گزارش کردند، که با نتایج این تحقیق هماهنگ است. کاهش اثرگذاری ترکیبات ضد میکروبی پس از قرارگیری در درون لفاف احتمالاً ناشی از به دام افتادن ترکیبات ضد باکتریایی در شبکه ژلی فیلم است. برای تأثیرگذاری عوامل ضد میکروبی (به عنوان مثال نیسین، اسیدهای آلی)، ضروریست تا از طریق انتشار به محیط هدف و در غلظت مناسب مهاجرت کنند. سرعت انتشار به اندازه، ساختمان شیمیایی و مقدار مولکول‌های محبوس شده، همراه با خصوصیات شبکه سه بعدی و تعامل احتمالی بین ترکیبات فعال و پلیمر بستگی دارد (۱۰).

آزمون ضد میکروبی گوشت مرغ: عمر نگهداری گوشت مرغ در درجه نخست با شمارش کلی میکروب‌ها تعیین می‌شود. بر اساس اعلام نظر کمیسیون بین‌المللی مشخصات میکروبیولوژیکی مواد غذایی (۱۶) حد مجاز TVC در گوشت خام طیور log CFU/g ۷ است. شکل ۱-الف تغییرات TVCدر تیمارهای مختلف گوشت مرغ را در طی مدت زمان نگهداری در دمای $4\ ^{\circ}C$ نشان می‌دهد. TVC اولیه گوشت مرغ تازه در محدوده log CFU/g

۳/۳-۲/۴ قرار داشت که نشان‌دهنده کیفیت اولیه مناسب فیله‌ها بود. رئیسی و همکاران در سال ۲۰۱۶ وجود TVC اولیه ۳-۴ log CFU/g را در گوشت سینه مرغ قابل پذیرش دانستند. در تمامی تیمارها با گذشت زمان مقدار TVC افزایش یافت. به‌جز در نمونه صمغ فارسی + نیسین که در روز سوم ارزیابی کاهشی معادل ۱/۰۲ CFU/g نشان داد. بیشترین شتاب افزایش در تیمارهای کنترل و صمغ فارسی دیده شد به‌طوری که بعد از روز ششم مقدار TVC بالاتر از ۷ log CFU/g گردید. تیمارهای صمغ فارسی+ عصاره زعفران (MIC)، صمغ فارسی+ عصاره زعفران (MBC) و صمغ فارسی+ نیسین + عصاره زعفران (MBC) حداکثر برای مدت ۹ روز و صمغ فارسی+ نیسین و صمغ فارسی+ نیسین + عصاره زعفران (MBC) برای مدت ۱۲ روز مقدار TVC فیله مرغ را کمتر از حد آستانه (log CFU/g ۷) نگهداری نمودند. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد افزودن نیسین به لفاف حاوی عصاره زعفران (MBC) اثر افزایشی بر کنترل مقدار TVC در نمونه‌های گوشت مرغ دارد.

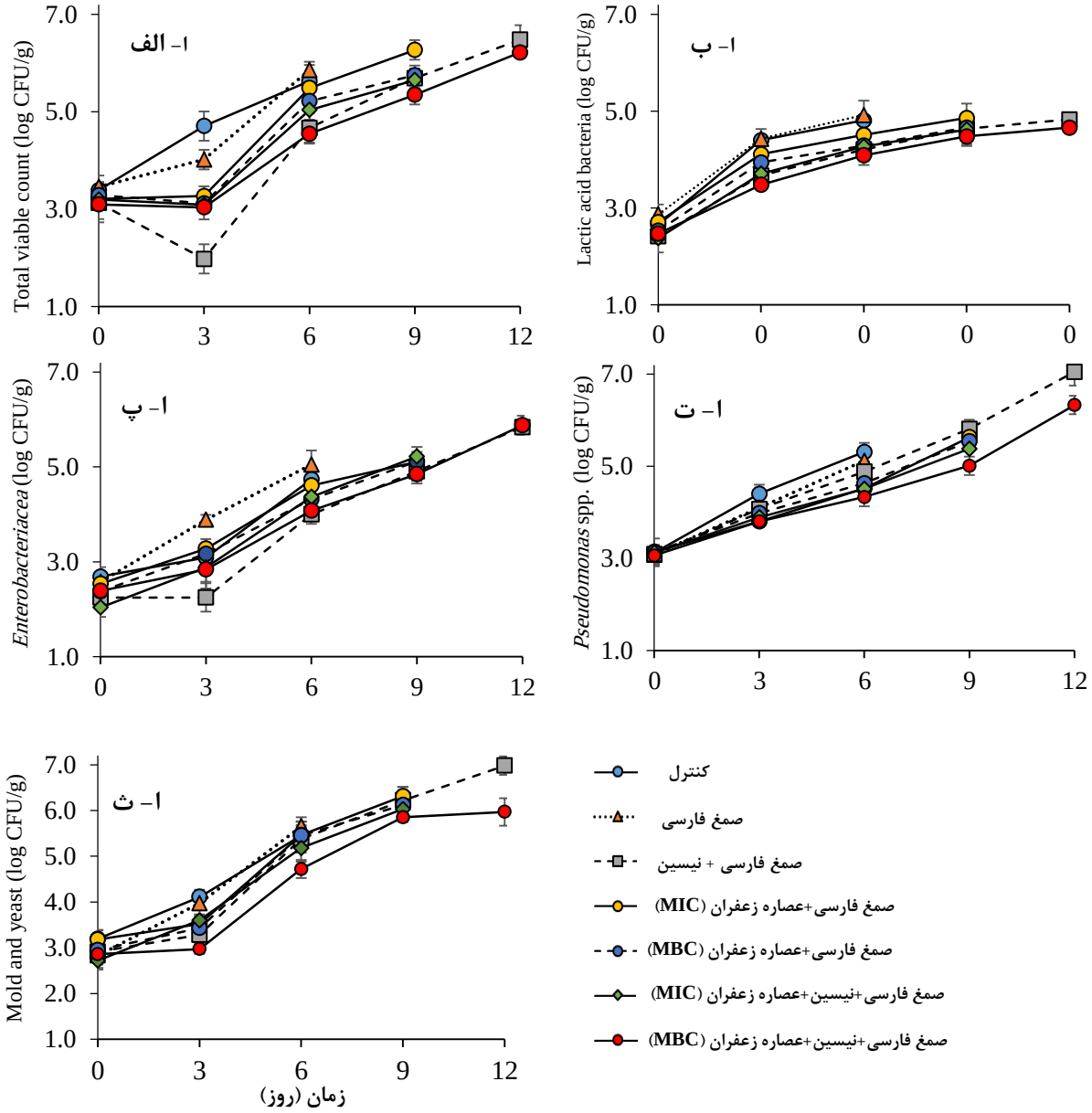
جدول ۲- اثر ضد میکروبی لفاف‌ها بر روی باکتری‌های هدف به روش انتشار دیسک

لفاف	*L. monocyto-genes*	*P. aeru-ginosa*	*B. cereus*	*S. aureus*	*E. coli*	*S. typhi-murium*
صمغ فارسی خالص	NE	NE	NE	NE	NE	NE
صمغ فارسی+نیسین (MIC)	۱۱/۷±۰/۶ ^{A,b}	۹/۱±۰/۵ ^{BC,b}	۹/۶±۰/۶ ^{BC,b}	۹/۸±۰/۶ ^{B,b}	۸/۷±۰/۳ ^{C,b}	NE
صمغ فارسی+عصاره زعفران (MIC)	NE	NE	NE	NE	NE	NE
صمغ فارسی+عصاره زعفران (MBC)	NE	NE	NE	NE	NE	NE
صمغ فارسی+نیسین+عصاره زعفران (MIC)	۱۲/۳±۰/۶ ^{A,ab}	۱۰/۳±۰/۷ ^{BC,ab}	۱۰/۵±۰/۹ ^{BC,ab}	۱۰/۹±۰/۵ ^{B,a}	۹/۱±۰/۳ ^{C,bc}	NE
صمغ فارسی+نیسین+عصاره زعفران (MBC)	۱۳/۱±۰/۴ ^{A,a}	۱۰/۵±۰/۷ ^{B,a}	۱۱/۱±۰/۲ ^{B,a}	۱۱/۴±۰/۷ ^{B,a}	۹/۵±۰/۶ ^{C,a}	۷/۲±۰/۴ ^{D,a}

دادها بیان‌کننده میانگین ± انحراف معیار است. حروف بزرگ و کوچک به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ردیف و ستون در سطح ۵ درصد می‌باشند
NE: ناحیه بازدارندگی شناسایی نشد

باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌عنوان تولیدکننده اسیدهای آلی شناخته می‌شوند که با تغییر pH مواد غذایی بر خصوصیات فیزیک و شیمیایی محصولات گوشتی اثر می‌گذارند (۲۶). شکل ۱- ب تغییرات جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک نمونه‌های فیله گوشت مرغ را در طی نگهداری در شرایط سرد نشان می‌دهد. تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در روز نخست ارزیابی ۲/۲-۴/۹ log CFU/g بود. مدت زمان نگهداری باعث افزایش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک گردید هر چند شتاب رشد جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک پس از روز سوم نگهداری اندکی کاهش نشان داد.

بررسی تغییرات جمعیتی نمونه‌های مختلف نشان می‌دهد روند تغییرات جمعیتی باکتری‌های اسیدلاکتیک تقریباً یکسان و اختلاف کمی با یکدیگر دارند. بیشترین تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در گروه کنترل و صمغ فارسی و کمترین مقدار با اختلاف اندک در دو تیمار صمغ فارسی+ نیسین و صمغ فارسی+ نیسین + عصاره زعفران (MBC) ثبت گردید.



شکل ۱- رشد جمعیت میکروبی در نمونه‌های فیله مرغ در مدت ۱۲ روز نگهداری در شرایط سرد. ا- الف: جمعیت میکروبی زنده کل، ا- ب: باکتری‌های اسیدلاکتیک، ا- پ: انتروباکتریاسه، ا- ت: پسودوموناس و ا- ث: کپک و مخمر

باکتری‌های انتروباکتریاسه به‌عنوان شاخص رشد باکتری‌های بیماری‌زا در مواد غذایی استفاده می‌شوند. بر طبق قوانین اتحادیه اروپا (۱۱) تعداد CFU/cm^2 log ۷/۰-۲/۲ باکتری انتروباکتریاسه در لاشه گاو، گوسفند، بز، اسب و خوک یک محدوده قابل قبول است. در این تحقیق تعداد اولیه انتروباکتریاسه‌ها در گوشت سینه مرغ log CFU/g ۴/۶-۲/۲ بود (شکل ۱- پ) که نشانه بهداشت مناسب فرآیند آماده‌سازی لاشه مرغ است (۲۵). همان‌طور که نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهند بیشترین شتاب رشد جمعیتی باکتری‌های انتروباکتریاسه در تیمار صمغ فارسی و کمترین مقدار تا روز سوم در تیمار صمغ فارسی + نیسین و پس از آن در دو تیمار صمغ فارسی + نیسین و صمغ فارسی + نیسین + عصاره زعفران (MBC) ثبت گردید. در تحقیقی مشابه استفاده از لفاف پکتین در بسته‌بندی میگو، باعث افزایش تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه گردید که با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق هماهنگ است (۳).

پسودوموناس‌ها باکتری‌های گرم منفی و عامل اصلی فساد گوشت مرغ در شرایط سرد می‌باشند. این گروه از باکتری‌ها دارای فعالیت پروتئولیزی بالایی بوده و زمانی که محتوای گلوکز و گلوکونات گوشت کاهش و تعداد باکتری به حدود log CFU/g ۸-۷ افزایش یابد با تجزیه بافت پروتئینی موجب فساد گوشت می‌گردند (۷). نتایج حاصل از تغییرات جمعیتی باکتری‌های پسودوموناس در فیله گوشت مرغ در شکل ۱- ت آورده شده است. روند تغییرات جمعیت میکروبی در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد تعداد اولیه میکروب‌ها در روز نخست در محدوده ۳/۰ تا ۳/۱ log CFU/g قرار داشت که پس از آن تقریباً به‌صورت خطی اما با شتاب‌های متفاوت رشد نموده است. بیشترین رشد در نمونه کنترل و کمترین در تیمار صمغ فارسی + نیسین + عصاره زعفران (MBC) مشاهده شد. تیمار صمغ فارسی + نیسین در مقایسه با سایر لفاف‌های حاوی ترکیبات ضد میکروبی اثر مهارکنندگی کمتری نشان داد. افزودن نیسین به لفاف‌های حاوی عصاره زعفران باعث تقویت اثر مهارکنندگی رشد گردید.

مخمرها و کپک‌ها جزئی از جامعه میکروبی طبیعی گوشت مرغ تازه هستند (۷). با توجه به نتایج شمارش کپک و مخمر (شکل ۱- ث)، نمونه اولیه حاوی log CFU/g ۶/۱-۲/۳ بود. بالاترین نرخ رشد کپک و مخمر با اختلاف جزئی در دو تیمار کنترل و صمغ فارسی مشاهده شد. سایر تیمارها تا روز سوم نگهداری شتاب رشد جمعیتی کمتری را در مقایسه با روزهای بعد ثبت نمودند. مقایسه میان تیمارهای مختلف نشان داد افزودن عصاره زعفران به لفاف حاوی نیسین اثر هم‌افزایی بر مهار رشد کپک و مخمر دارد و با افزایش غلظت زعفران تأثیرگذاری نیز افزایش می‌یابد. پائین‌ترین مقدار رشد جمعیتی در نمونه صمغ فارسی + نیسین + عصاره زعفران (MBC) با مقدار log CFU/g ۸/۹-۲/۵ مشاهده شد.

از جمله پارامترهای مؤثر بر خواص ضد میکروبی ترکیبات مؤثره می‌توان به پایداری، دسترسی زیستی و انتشار تدریجی انتشار نمود. مهم‌ترین خصوصیت یک لفاف ضد میکروبی، سرعت آزادسازی تدریجی ترکیب ضد میکروبی به سطح ماده غذایی است. آزادسازی ناگهانی ترکیبات ضد باکتریایی در محیط اطراف لفاف می‌تواند باعث مصرف سریع ترکیبات ضد میکروبی شده و در نتیجه پس از آن حداقل غلظت مهار رشد میکروبی حفظ نشود. از سویی دیگر، چنانچه سرعت انتشار ماده ضد میکروبی آهسته‌تر از حد ضروری باشد، فعالیت باکتری‌های مولد فساد به راحتی شروع خواهند شد. بنابراین انتشار کنترل شده ترکیبات ضد میکروبی فعال می‌تواند باعث ماندگاری مواد غذایی بسته‌بندی شده برای مدت زمان طولانی‌تر شود (۹).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثر لفاف صمغ فارسی در ترکیب با عصاره زعفران و نیسین بر کنترل رشد میکروبی گوشت سینه مرغ در مدت ۱۲ روز تحت دمای ^{o}C ۱±۴ بررسی گردید. نتایج نشان داد تمامی لفاف‌های تهیه شده بر پایه صمغ فارسی با عصاره زعفران و نیسین رشد میکروبی گوشت مرغ را در مقایسه نمونه کنترل کاهش دادند. ویژگی‌ها و نتایج به‌دست آمده حاکی از کارآیی بالای لفاف‌های تهیه شده در کنترل کیفیت میکروبی گوشت سینه مرغ و افزایش ماندگاری آن در دمای ^{o}C ۴ است. افزودن نیسین به لفاف صمغ فارسی غنی‌شده با عصاره زعفران، اثر هم‌افزایی بر مهار رشد میکروبی نشان داد. در این بین لفاف‌های صمغ فارسی + نیسین + عصاره زعفران (MBC) و صمغ فارسی+ نیسین اثرات ضد میکروبی نیرومندتری را در مقایسه با گروه کنترل و سایر لفاف‌های تهیه شده نشان دادند به‌طوری که توانستند در طی ۱۲ روز نگهداری سرد مقدار بار میکروبی فیله‌ها را کمتر از حد مجاز نگهدارند که این مدت زمان ۲ برابر تیمارهای کنترل و صمغ فارسی بود. بر اساس حد مجاز تعداد میکروب کل (کمتر از ۷ log CFU/g)، دامنه مهار باکتری‌های هدف و مدت زمان نگهداری، لفاف صمغ فارسی+ نیسین + زعفران (MBC) مناسب به نظر می‌رسد. با این وجود، استفاده تجاری از این لفاف‌ها مستلزم انجام تحقیقات بیشتر در خصوص تأثیر این لفاف‌ها بر خواص شیمیایی گوشت، محیط زیست و محاسبات اقتصادی است.

سپاسگزاری

این تحقیق با گرنت شماره IR-UOZ-GR-9955 اجرا شده است. در اینجا لازم است تا از همکاری آزمایشگاه علوم و صنایع غذایی دانشگاه زابل قدردانی گردد.

References

1- Abbasi S. Persian Gum: A Novel Natural Hydrocolloid. *Nutrition and Food Sciences Research*. 2017; l4: 1-2. [In Persian].

2- Abbasi S, Mohammadi S. Stabilization of Milk–Orange Juice Mixture Using Persian Gum: Efficiency and Mechanism. *Food Biosci*. 2013; 2: 53-60.

3- Alvarez MV, Ortega-Ramirez LA, Gutierrez-Pacheco MM, Bernal-Mercado AT, Rodriguez-Garcia I, Gonzalez-Aguilar GA, *et al*. Oregano essential oil-pectin edible films as anti-quorum sensing and food antimicrobial agents. *Front Microbial*. 2014; 5: 1-7.

4- Asadi M. Antioxidant and antimicrobial activities in the different extracts of Caspian saffron, Crocus caspius Fisch & C. A. Mey. ex Hohen. *Caspian J Environ Sci*. 2016; 14(4): 331-338. [In Persian].

5- Azghandi FA, Es-haghi A, Feizy J, Lakshmipathy R. Antioxidant capacity and chemical composition of different parts of saffron flowers. *Journal of Food and Bioprocess Engineering*. 2021: 4, 69-74.

6- Beirami SF, Hojjati M, Jooyandeh H. The effect of microbial transglutaminase enzyme and Persian gum on the characteristics of traditional kefir drink. *International Dairy Journal*. 2021; 112: 104843. [In Persian].

7- Bazargani-Gilani B, Aliakbarlu J, Tajik H. Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with Zataria multiflora Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2015; 29: 280-287. [In Persian].

8- Bukhari SI, Manzoor M, Dhar MK. A comprehensive review of the pharmacological potential of *Crocus sativus* and its bioactive apocarotenoids. *Biomed Pharmacother*. 2018; 98: 733-745.

9- Daza LD, Homez-Jara A, Solanilla JF, Váquiro HA. Effects of temperature, starch concentration, and plasticizer concentration on the physical properties of ulluco (*Ullucustuberosus Caldas*)-based edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018; 120: 1834-1845.

10- Dabestani M, Kadkhodaee R, Phillips G, Abbasi S. Persian Gum: A comprehensive review on its physicochemical and functional properties.

Food Hydrocoll. 2018; 78:92-99. [In Persian].

11- EC. Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. *Official Journal of European Union*. 2005; 338:1-26.

12- Ghani S, Barzegar H, Noshad M, Hojjati M. The preparation, characterization and in vitro application evaluation of soluble soybean polysaccharide films incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsions. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018; 112: 197-202. [In Persian].

13- Ghasempour Z, Alizadeh M, Bari MR. Optimization of probiotic yoghurt production containing Zedo gum. *Int J Dairy Technol*. 2012; 65: 118–125. [In Persian].

14- Hasheminya SM, Dehghannya J. A review of the structure, mechanism, and application of bacteriocins in foods as natural preservatives. 2020; 7(4): 19-32. [In Persian].

15- Iamareerat B, Singh M, Sadiq MB, Anal AK. Reinforced cassava starch based edible film incorporated with essential oil and sodium bentonite nanoclay as food packaging material. *J Food Sci Techno*. 2018; 55: 1953-1959.

16- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and scientific applications (2th ed.). Toronto: University of Toronto Press. 1986. PP: 28-29.

17- Karbasaki FB, Hossenzadeh H, Fazli BBS, Velayatipour H, Ghazvini K, Ajami B. Evaluation of Antimicrobial effects of Aqueous and Alcoholic Extracts of Saffron on Oral Pathogenic Microbes (Streptococcus Mutans, Lactobacillus, *Candida Albicans*). *Journal of Mashhad Dental School*. 2016; 40(3): 203-212. [In Persian].

18- Katherine CM, Cindy S, Gutierrez-Merino J, Madeleine B, Impe JFV, Velliou EG. The impact of food model system structure on the inactivation of *Listeria innocua* by cold atmospheric plasma and nisin combined treatments. *Int J Food Microbiol*. 2021; 337: 1-9.

19- Khorram F, Ramezanian A, Hashem Hosseini M. Shellac, gelatin and Persian gum as alternative coating for orange fruit. *Sci Hortic*. 2017; 225: 22-28. [In Persian].

20- Lee H, Yoon Y. Etiological agents implicated in foodborne illness worldwide. *Food Sci Anim Resour*. 2021; 41: 1-7.

21- Mohammadian A, Kordi S, Mashhadi NA. Antibacterial activity of stigma and petal of different species of saffron (*Crocus* Spp.). *Journal of Molecular and Cellular Researches*. 2016; 29(3): 265-273. [In Persian].

22- Muzaffar S, Sajad A, Zaman Khan RK, Akhter R. Nutritional composition and in-vitro antioxidant properties of two cultivars of Indian saffron. *J Food Meas Charact*. 2016; 10: 185–192. [In Persian].

23- Quirós-Sauceda AE, Ayala-Zavala JF, Olivas GI, González-Aguilar GA. Edible coatings as encapsulating matrices for bioactive compounds: a review. *J Food Sci Technol*. 2014; 51: 1674-1685.

24- Raeisi S, Ojagh SM, Bita S. Effects of Persian gum-chitosan and Persian gum-chitosan incorporated with Garlic (*Allium sativum* L.) essential oil edible coatings on quality and sensory properties of Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during frozen storage. *Food Science and Technology*. 2019; 15: 207-217.

25- Raeisi M, Tabaraei Aj, Hashemi M, Behnampour N. Effect of sodium alginate coating incorporated with nisin, Cinnamomum zeylanicum, and rosemary essential oils on microbial quality of chicken meat and fate of Listeria monocytogenes during refrigeration. *Int J Food Microbiol*. 2016; 238: 139-145. [In Persian].

26- Ramezani F, Najafi MA, Rahnama M, Haddadi T. Separate and combined effects of lactic acid, chitosan and modified atmosphere packaging on the shelf life of quail carcass under chilled conditions. *Int J Food Microbiol*. 2019; 289: 215-222. [In Persian].

27- Sadeghi-Varkani A, Emam-Djomeh Z, Askari G. Physicochemical and Microstructural Properties of a Novel Edible Film Synthesized from Balangu Seed Mucilage. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018; 108: 1110-1119. [In Persian].

28- Samari-Khalaj M, Abbasi S. Solubilisation of Persian gum: Chemical modification using acrylamide. *Int J Biol Macromol*. 2017; 101: 187-195. [In Persian].

29- Sanjurjo K, Flores S, Gerschenson L, Jagus R. Study of the performance of nisin supported in edible films. *Food Res Int*. 2006; 39: 749 -754.

30- Saravani-Pak E, Najafi-Ghaghelestani S, Najafi MA. Preparation and characterization of a new edible film based on Persian gum with glycerol plasticizer. *J Food Sci Technol*. 2020; 57: 3284-

3294. [In Persian].

31- Shahbazi Y, Shavisi N. Application of active Kurdi gum and Farsi gum-based coatings in banana fruits. *J Food Sci Technol*. 2020; 57: 4236-4246. [In Persian].

32- Shin JM, Gwak JW, Kamarajan P, Fenno JC, Rickard AH, Kapila YL. Biomedical Applications of Nisin. *J Appl Microbiol*. 2017; 120: 1449-1465.

33- Souza VGL, Pires JRA, Vieira ÉT, Coelhoso IM, Duarte MP, Fernando AL. Shelf life assessment of fresh poultry meat packaged in novel bionanocomposite of Chitosan/Montmorillonite incorporated with Ginger essential oil. *Coatings*. 2018; 8: 1-17.

34- Tippayatum P, Chonhenchob V. Antibacterial activities of Thymol, Eugenol and Nisin against some food spoilage bacteria, Kasetsart J. (Nat. Sci.). 2007; 41: 319-323.

Evaluation antimicrobial effects of new edible film from Persian gum incorporated with Saffron extract and nisin, on chicken fillets under chilled conditions

Elahe Saravani Pak[1], Mohammad Ali Najafi[2]*, Mahmmud Tavakoli[3], Naser Soltani Tehrani[4]

1- Graduate of Biotechnology (MS), Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran.
2- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran.
4- MS, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran.

Receive: July 1, 2021; Revise: August 16, 2021; Accept: August 27, 2021

Summary

Today, the use of biodegradable film is considered due to its environmental friendliness and ability to store biologically active compounds. A novel antimicrobial film was made from the soluble-phase of the Persian gum (SPG) incorporated with methanolic extracts of *Croccus sativus* L. stigmas alone or in combination with nisin. Initially, the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) value of saffron and nisin extracts was determined by micro-dilution method and films by disk diffusion method against *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aerogenesis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. Then saffron extract (MIC: 31.25 mg/ml and MBC: 62.5 mg/ml), and nisin (MIC: 0.256mg/ml) was added to the film formulation. The effect of films on the control of total viable count, Enterobacteriaceae, lactic acid bacteria, *Pseudomonas* spp., mold and yeast of chicken breast during 12 days of storage at 4±1 °C, was studied every three days. The results showed that nisin compared to saffron extract has a better inhibitory effect on controlling the population of pathogenic bacteria. Also, the addition of nisin to the Persian gum film containing saffron extract showed a synergistic effect (%25) on inhibiting the growth of microbes. Based on the acceptable limit for total viable count (<7 log CFU/g) in fresh poultry meat, growth inhibition of target bacteria and shelf life (up to 12 days), Persian gum + nisin + saffron (MBC) film seems appropriate.

Key words: *Poultry meat, Microbial growth, Methanolic extract*