

تأثیر پوشش کیتوزان حاوی اسانس پونه کوهی بر ماندگاری گوشت فیله مرغ در دوره نگهداری در دمای یخچال

هدی حکیم^۱، علی فضل آرا^{۱*}، مهرنوش تدینی^۱

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۷)

چکیده

گوشت مرغ با وجود فساد سریع یکی از منابع پروتئینی اصلی در رژیم غذایی اکثر نقاط دنیا است. یکی از روش‌های افزایش ماندگاری گوشت مرغ، استفاده از پوشش‌های خوراکی و اسانس‌های گیاهی است. در این تحقیق از پوشش خوراکی کیتوزان و اسانس پونه کوهی به منظور افزایش ماندگاری فیله مرغ در شرایط یخچال استفاده شده است. نمونه‌ها به ۳ گروه بدون پوشش (کنترل)، تیمار شده با اسید استیک ۱٪ و غوطه‌ور شده در محلول کیتوزان ۲٪ حاوی اسانس پونه کوهی ۱٪ تقسیم و سپس نمونه‌ها در دمای یخچال ($\pm 4^\circ\text{C}$) درجه سانتی گراد) به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند و در فواصل معین زمانی (روزهای ۱، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵) جهت آزمایش‌های میکروبی (شمارش باکتری‌های مزووفیل و سایکروفیل) و شیمیابی (pH ، تیوباریتوریک اسید^۱ و نیتروژن فرار کل^۲) مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد در تمام نمونه‌ها با کذشت زمان شمارش کلی باکتری‌های مزووفیل و سایکروفیل به شکل معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش یافت ولی این افزایش در نمونه حاوی کیتوزان و اسانس پونه کوهی به شکل معنی‌داری ($P < 0.05$) کمتر از دو گروه دیگر و نمونه حاوی اسید استیک نیز کمتر از نونه کنترل بود. بعلاوه مشخص شد پوشش‌دهی اثر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر کاهش تعداد باکتری‌های مزووفیل و سایکروفیل در مدت نگهداری داشته است. همچنین نمونه حاوی کیتوزان و اسانس پونه کوهی میزان کمتری از TVN، TBA و pH را نسبت به دو نمونه دیگر در طول نگهداری نشان داد. نتایج این تحقیق حاکی از آن است که پوشش دهی باکیتوزان می‌تواند مدت زمان نگهداری فیله مرغ در دمای یخچال را افزایش دهد.

کلید واژگان: اسانس پونه کوهی، فیله مرغ، کیتوزان، پوشش دهی

* مسئول مکاتبات: Fazlara2000@yahoo.com

1. Thiobarbituric acid (TBA)
2. Total volatile nitrogen (TVN)

۱- مقدمه

از سلولز می باشد و کیتوزان تنها پلی ساکارید کاتیونی است که در اثر استیل زدایی از کیتین حاصل از پوسته سخت پوستانی مانند انواع خرچنگ ها و میگو با روش های شیمیایی، آنزیمی و میکروبیولوژیکی تهیه می گردد. این پلی ساکارید دارای ویژگی های عملکردی مانند خصوصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی است. کیتوزان همچنین به عنوان فیلم خوراکی می تواند حامل بسیار خوبی برای ترکیب شدن با عوامل ضد اکسیدان و عوامل ضد میکروبی طبیعی مانند اسانس های روغنی گیاهان محسوب شود [۳]. مطالعات مختلف نیز اثرات مطلوبی از پوشش ها و لفاف کیتوزانی را گزارش نموده اند [۴-۸].

یکی از روش های موجود جهت طراحی بسته بندی های فعال غذایی، افزودن ترکیبات فعال از جمله عوامل ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی به ترکیبات بسته بندی است. از سویی، نگرانی راجع به احتمال خطر بالقوه افزودنی های سنتیک منجر به تحقیقاتی در زمینه توسعه بسته بندی های فعال غذایی برپایه ترکیبات طبیعی شده است. ترکیبات طبیعی متعددی نظیر اسانس های گیاهی وجود دارند که به فیلم های خوراکی اضافه می شوند و اثرات آنتی اکسیدانی یا ضد میکروبی برجا می گذارند [۹].

گیاه پونه کوهی با نام علمی *Mentha longifolia* L. در خانواده نعنایان قرار دارد. اساساً بصورت وحشی در مکان های مرطوب مانند حاشیه رودخانه ها روییده و در سراسر مناطق معتدل ه نواحی مرکزی و جنوب اروپا، جنوب غربی آسیا و استرالیا رشد می کند. برگ، گل و ساقه گونه های پونه در چای های گیاهی یا به عنوان افزودنی در مخلوط ادویه های تجاری برای طعم دادن به غذاها استفاده می شود. این گیاه در طب سنتی برای درمان تهوع، برونشیت، نفخ و بی اشتہایی به کار گرفته می شود. اصلی ترین ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گیاه پونه کوهی مونوترپنها به ویژه نوع اکسیئن آنها مانند پولگون، متون، آیزومترون، متول، ۱، ۸-سینثولو پیپریتون اکساید می باشند [۱۰].

مطالعات متعددی به منظور ارزیابی فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی اسانس این گیاه صورت گرفته است و نتایج مثبتی از به کار گیری آن در بالا بردن مدت زمان نگهداری مواد غذایی گزارش شده است [۱۰-۱۵].

در تحقیق حاضر با توجه به نکات فوق، بهره گیری از تکیک پوشش دار کردن (غوطه وری) توسط کیتوزان حاوی اسانس

گوشت طیور یکی از منابع مهم پروتئینی در تغذیه انسان است. در کشور ما گوشت مرغ نسبت به گوشت های دیگر طیور بیشترین مصرف را دارد و به دلیل خصوصیاتی از قبیل قیمت پایین تولید ، چربی کمتر، طبخ آسان و سریع، کامپذیری، سهل الهضم بودن و امکان تولید بیشتر و آسان تر نسبت به سایر گوشت ها ارجحیت یافته است. گوشت یک محیط ایده ال برای بسیاری از میکرووار گانیسم هاست، به این دلیل که رطوبت بالایی دارد، غنی از مواد نیتروژنی است و مواد معدنی و فاکتور های کمکی رشد به فراوانی در آن وجود دارند. همچنین مقداری کربوهیدرات قابل تخمیر (گلیکوژن) دارد و pH آن برای رشد اکثر میکرووار گانیسم ها مطلوب است [۲].

از آنجه که فساد گوشت ماقیان تازه باعث به خطر انداختن سلامت مصرف کنندگان و یک تحمیل اقتصادی برای تولید کنندگان این محصول بوده و نیز حفظ کیفیت و افزایش مدت زمان ماندگاری انواع گوشت از جمله گوشت طیور از اهداف تولید کنندگان و محققین صنایع غذایی می باشد. با توجه به نگرانی مصرف کنندگان از مصرف مواد غذایی با افزودنی های شیمیایی و تمايل به مصرف مواد غذایی سالم تر با افزودنی های طبیعی و با کیفیت بالا و ماندگاری طولانی، در سالهای اخیر استفاده از روش های جدید بسته بندی و افزودنی های طبیعی در مواد غذایی رو به گسترش است [۳].

امروزه استفاده از پوشش های خوراکی طبیعی مانند استفاده از بیوپلیمر هایی از قبیل نشاسته، صمغ ها، مشتقات سلولز، کیتین و کیتوزان در مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته است. استفاده از پوشش های خوراکی به عنوان تکنولوژی مدرن علاوه بر داشتن فوایدی مانند قابلیت خوردن، ساختمن ظاهری زیبا، سازگاری با محیط، غیر سمی و ارزان بودن، مواد غذایی را از آسیب های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی حفظ می کند و مانند سدی در برابر تبادل گازها، رطوبت و میکرووار گانیسم ها عمل نموده و کیفیت و ماندگاری ماده غذایی را در فاصله تولید تا رسیدن به دست مصرف کننده حفظ می نماید [۴].

کیتین بیوپلیمری است که کاربردهای فراوانی در صنایع غذایی دارد و از نظر فراوانی دومین پلیمر طبیعی در طبیعت پس

لیتری ریخته و سپس توسط محلول اسید استیک ۱ درصد حاوی اسانس پونه کوهی به حجم ۲ لیتر رسانیده شد.

پس از بیرون آوردن فیله ها از محلول مورد استفاده جهت پوشش دهی، کلیه فیله ها مدتی در زیر هود قرار گرفته تا خشک شوند و پوشش خوارکی مورد نظر بر روی آنها تشکیل گردد. سپس فیله ها در ظروف پلاستیکی قرار داده شده و در یخچال با دمای $^{\circ}\text{C}$ ۰ به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند. نمونه گیری در زمان های مشخص $^{\circ}\text{C}$ ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ روز انجام و آزمون های میکروبی و شیمیابی زیر بر روی نمونه ها صورت گرفت. کلیه آزمایش ها در سه تکرار انجام پذیرفت.

۲-۲ شمارش باکتریهای مزووفیل هوایی و سایکروفیل

تحت شرایط استریل و در زیر هود آزمایشگاهی، ظروف حاوی نمونه را باز کرده و مقدار ۱۰ گرم از فیله توسط پنس و قیچی استریل جدا شده و در کیسه های پلاستیکی استریل مخصوص قرار داده و سپس ۹۰ میلی لیتر رینگر استریل به آن افزوده و سپس کیسه جهت هموژنیزاسیون محتویات به دستگاه استومیکر و به مدت ۳ دقیقه منتقل گردید. سپس با اضافه کردن ۱ میلی لیتر به لوله حاوی ۹ میلی لیتر رینگر، رقت های بعدی آماده و به این ترتیب رقیق سازی متوالی شده و بر روی پلیت های حاوی محیط کشت آگار مغذی (نوترینت آگار- مرک آلمان) و به روش کشت سطحی کشت داده شد. جهت شمارش باکتریهای مزووفیل هوایی پلیت های کشت داده شده به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور $^{\circ}\text{C}$ ۳۷ و جهت شمارش باکتریهای سرماگرا پلیت ها به مدت ۷ تا ۱۰ روز در دمای $^{\circ}\text{C}$ ۷ قرار داده شدند [۱۶، ۱۷].

۳-۲ اندازه گیری مواد واکنش دهنده با تیوباریتوريک اسید (TBRS)

مقدار ۵ گرم از فیله به همراه ۱۰۰ میلی لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (Scharlau - اسپانیا) در یک بشر ۲۵۰ میلی لیتری توسط همزن بر قی بطور کامل هموژن گردید و سپس محلول هموژن شده را از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده و محلول صاف شده دوباره به کمک محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانیده

پونه کوهی بر روی فیله های تازه گوشت مرغ به منظور بالا بردن مدت زمان نگهداری^۱ آنها مد نظر واقع می گردد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه فیله مرغ و تیمارها

به تعداد کافی لاشه های مرغ تازه به تاریخ کشتار روز از بازار اهواز تهیه و گوشت سینه آنها به صورت دستی فیله شد. فیله ها با وزن ۱۰۰-۱۲۰ گرم و اندازه ۱۰*۳*۲۰۵ جهت انجام تیمارها آماده سازی شدند. به این صورت که پس از شست و شو با آب فراوان، فیله ها را جهت آب کشی بر روی آب کش های پلاستیکی استریل شده با اشعه UV قرار داده تا آب اضافی خارج شود. سپس فیله ها در ۳ گروه تقسیم و تیمارهای مورد نظر به شرح ذیل بر روی آنها انجام پذیرفت.

تیمار اول (بدون پوشش یا گروه کترل): فیله سینه مرغ غوطه ور شده در آب مقطر استریل به مدت ۲۰ دقیقه تیمار دوم: فیله سینه مرغ غوطه ور شده در محلول یک درصد اسید استیک (مرک - آلمان) به مدت ۲۰ دقیقه. برای این منظور، مقدار ۹۹۰ میلی لیتر آب مقطر استریل در یک استوانه ۱۰۰۰ میلی لیتری استریل ریخته شده و سپس مقدار ۱۰ میلی لیتر اسید استیک به آن افزوده شده و سپس محلول اسید استیک ۱ درصد تهیه شده به داخل بشرهای ۱۰۰۰ میلی لیتری استریل حاوی نمونه ها انتقال یافت.

تیمار سوم: فیله سینه مرغ غوطه ور شده در محلول یک درصد اسید استیک حاوی ۲٪ کیتوزان (سیگما آلدريچ - آمریکا) و ۱٪ اسانس پونه کوهی (باریج اسانس - ایران) به مدت ۲۰ دقیقه. به این منظور، ۲۰ میلی لیتر اسانس پونه کوهی به همراه ۱۰ میلی لیتر محلول پلی سوربات (۱۵ میلی لیتری ازای ۱ لیتر به منظور کاهش کشش سطحی مایع) و گلیسرول (۰/۵ میلی لیتری ازای ۱ گرم کیتوزان به منظور ایجاد حالت پلاستیکی) با غلظت نهایی ۱ درصد به محلول اسید استیک ۱ درصد اضافه گردید و سپس مقدار ۴۰ گرم پودر کیتوزان را در یک استوانه مدرج استریل ۲

1. Shelf life

۲-۵- اندازه گیری pH

به این منظور مقدار ۵ گرم از گوشت مرغ به همراه ۴۵ میلی لیتر آب مقطر در یک بشر ۲۵۰ میلی لیتری و توسط همزن برقی بطور کامل هموژن گردید و سپس توسط pH متر دیجیتالی مدل (PB-11 - سارتوریوس- امریکا) میزان pH نمونه اندازه گیری شد [۱۹، ۲۰].

۶- آنالیز آماری

داده های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ به طور توصیفی و تحلیلی بررسی شد. تحلیل داده های حاصل از آزمونها به طور تصادفی و به طور کمی بعد از بررسی وجود پیش فرض های لازم به روش Two-way analysis of variance (ANOVA) و آزمون های تکمیلی LSD انجام گرفت و $\alpha = 0.05$ مبنای قضاوت آماری لحاظ گردید. ترسیم نمودارها با نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۰۷ انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

۱-۳- بررسی نتایج حاصل از شاخص های میکروبی

با توجه به نمودار ۱ و ۲ ، میانگین شمارش باکتریهای مزو فیل در کل دوره، روندی افزایشی داشته است و بیشترین میزان شمارش باکتریهای مزو فیل بعد از ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال، $9/73 \pm 0.97 \log \text{cfu/g}$ کمترین میزان آن $5/92 \pm 0.50 \log \text{cfu/g}$ و مربوط به گروه کنترل می باشد و همچنین میانگین شمارش کیتوزان و اسانس پونه کوهی می باشد و همچنین میانگین شمارش باکتریهای سایکروفیل هم در کل دوره، روندی افزایشی داشته است که بیشترین میزان آن بعد از ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال $10/18 \pm 0.25 \log \text{cfu/g}$ و مربوط به گروه کنترل می باشد و کمترین میزان آن $6/14 \pm 0.96 \log \text{cfu/g}$ و مربوط به تیمار کیتوزان حاوی اسانس پونه کوهی بوده است.

شد. ۳ میلی لیتر از محلول صاف شده را به همراه ۳ میلی لیتر محلول تیوباریتوريک اسید ۰/۰۲ مولار (مرک - آلمان) در یک لوله آزمایش دریچه دار با هم مخلوط کرده و به مدت ۴۵ دقیقه در آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از این مدت و خنک شدن نمونه ها، میزان جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (ورتکس ۷۰ - بروکر - آلمان) اندازه گیری گردید [۱۸].

$$TBRS(\text{mgMDA/kgsoftissue}) = \frac{50 \times (As - Ab)}{200}$$

(میزان جذب نوری نمونه ها = As ، میزان جذب نوری محلول استاندارد تیوباریتوريک اسید = Ab) به منظور تهیه محلول استاندارد تیوباریتوريک اسید، میزان ۲۰۰ میلی گرم از پودر تیوباریتوريک اسید را در ۱۰۰ میلی لیتر محلول در درصد تری کلرواستیک اسید حل نموده و جذب نوری محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید.

۲-۴- اندازه گیری مواد ازته فرار (TVN)

به منظور اندازه گیری مواد ازته فرار از دستگاه کلدلال اتوماتیک مدل (۷۴۰ - بخشی - ایران) استفاده گردید. به این صورت که مقدار ۱۰ گرم نمونه فیله سینه مرغ میکس شده به همراه ۱ گرم پودر اکسید منیزیم درون بالن تقطیر دستگاه کلدلال ریخته شد و سپس ۶۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. یک ارلن حاوی ۱۰ قطره معرف توشریو به عنوان ظرف گیرنده به قسمت سردکننده دستگاه تقطیر وصل گردید. دستگاه به طور اتوماتیک مقدار ۴۰ میلی لیتر اسیدبوریک ۲ درصد را از مخزن اسیدبوریک (مرک - آلمان) برداشته و وارد ارلن گیرنده نمود. پس از روش شدن دستگاه، محتوی بالن تقطیر حرارت دیده و به مدت ۱۸ دقیقه عمل جوش و تقطیر صورت گرفت. محلول تقطیر شده به وسیله اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال (مرک - آلمان) تیتر شده و مقدار اسید مصروفی یادداشت شد. با استفاده از فرمول زیر میزان مواد ازته فرار بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم گوشت مرغ محاسبه گردید. [۱۸]

$$TVN \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \left[\frac{1 \times 1/4 \times 100}{\text{تیتر اسید} \times \text{نمودار اسید} \times \text{نمودار تقطیر} \times \text{نمودار جوش}} \right]$$

۷ بوده است. یافته‌های موجود نشان‌دهنده اثرات ضد میکروبی کیتوزان و اسانس پونه‌کوهی می‌باشد. محققین دیگر نیز یافته‌هایی مشابه را بیان کرده‌اند برای مثال در تحقیقی که توسط Latou و همکاران در سال ۲۰۱۴ انجام گرفته گزارش شده است که در استفاده هم‌زمان از کیتوزان و بسته‌بندی اتمسفری تغییر یافته (MAP, 70%CO₂, 30%N₂) در گوشت مرغ، میانگین لگاریتم تعداد باکتری‌ها در طی ۱۴ روز نگهداری در دمای یخچال هم‌چنان کم‌تر از ۷ log cfu/g باقی مانده است و این در حالی است که در گروه کنترل بعد از ۴ روز به ۷ log cfu/g رسیده است [۲۲].

Petrou و همکاران در سال ۲۰۱۲، اثر غوطه‌ور سازی گوشت سینه مرغ را در کیتوزان و اسانس آویشن در بسته‌بندی اتمسفری تغییر یافته به طور جداگانه و ترکیبی از این دو بررسی نموده و چنین نتیجه گرفته‌اند که میانگین لگاریتم باکتری‌ها در تیمار کیتوزان به‌نهایی و همراه با اسانس آویشن در طی ۲۱ روز هم‌چنان کم‌تر از ۷ log cfu/g باقی مانده است [۲۳].

حسن زاده و همکاران در سال ۱۳۹۰، کاربرد پوشش خوارکی کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور بر روی کیفیت و ماندگاری گوشت مرغ در دمای یخچال را بررسی کرده و این چنین گزارش کرده‌اند که به طور کلی در طول مدت نگهداری نمونه‌ها در دمای یخچال، فلور میکروبی به طور معناداری در کل نمونه‌ها افزایش می‌یابد که سرعت این افزایش در گروه کنترل بیشتر بوده است. لگاریتم تعداد باکتری‌های مزووفیل هوایی در روز صفر در نمونه کیتوزان ۳/۲۴ log cfu/g و در مورد کیتوزان و عصاره انگور ۲/۷۲ log cfu/g به‌دست آمده است. بعد از گذشت ۹ روز تعداد باکتری‌ها در نمونه کنترل به بیش از ۷ log cfu/g رسیده، این در حالی است که در نمونه کیتوزان و کیتوزان و عصاره انگور بعد از ۲۱ روز به این میزان رسیده است. به همین ترتیب در مورد باکتری‌های سایکروفیل، بعد از ۱۴ روز تعداد باکتری‌ها تقریباً به ۷ log cfu/g رسیده، در حالی که در گروه کنترل بعد از ۹ روز به ۷/۶ log cfu/g بالغ گشته است [۲۴].

تأثیراستفاده توانم از پوشش کیتوزان حاوی عصاره‌های گیاهی نعناع و آویشن در ماهی ساردين و گوشت بره و خوک در شرایط نگهداری در سرما به ترتیب توسط Estaca و همکاران در سال ۲۰۰۷ و Kanatt و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش شده است

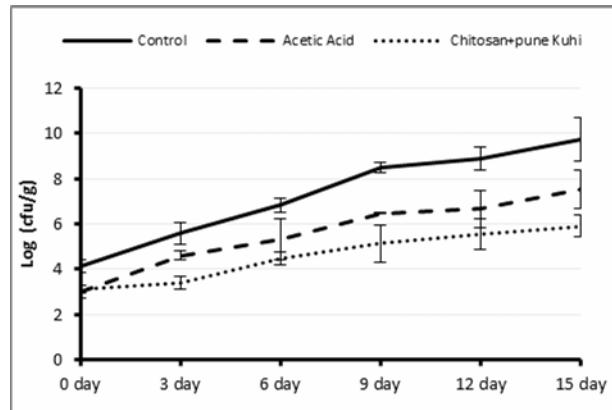


Fig 1 Mean changes of logarithm of mesophilic bacteria of chicken fillet during 15days of storage in refrigerator temperature.

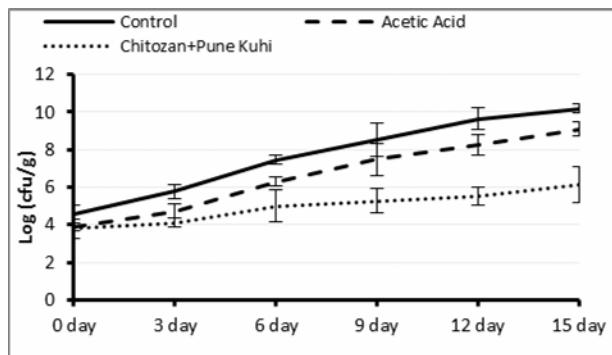


Fig 2 Mean changes of logarithm of psychrophilic bacteria of chicken fillet during 15days of storage in refrigerator temperature.

سطوح لاشه تازه کشتار شده بطری معمول حاوی ۱۰^۰ تا ۱۰^۳ باکتری در هر سانتی‌متر مربع لاشه یا یک گرم گوشت می‌باشد که در اثر شرایط بد نگهداری و مساعد برای رشد میکرووارکانیسم‌ها به سرعت تعداد آن‌ها افزایش یافته و وقتی تعداد آن‌ها به بیش از ۱۰^۷ در هر سانتی‌متر مربع از گوشتش برسد فساد شروع خواهد شد که در این صورت سطح گوشت کدر و لزج شده و بوی نامطبوع می‌دهد. [۲۱]

در تحقیق حاضر نیز میانگین لگاریتم تعداد سایکروفیل‌ها، در گروه کنترل تا ۳ روز، در تیمار استیک اسید تا ۶ روز و در تیمار کیتوزان حاوی اسانس پونه‌کوهی در تمام ۱۵ روز نگهداری در یخچال کم‌تر از ۷ log cfu/g باقی ماند. اما در مورد مزووفیل‌ها، گروه کنترل تا ۶ روز، تیمار استیک اسید تا ۱۲ روز و تیمار کیتوزان حاوی اسانس پونه‌کوهی در تمام ۱۵ روز کم‌تر از log

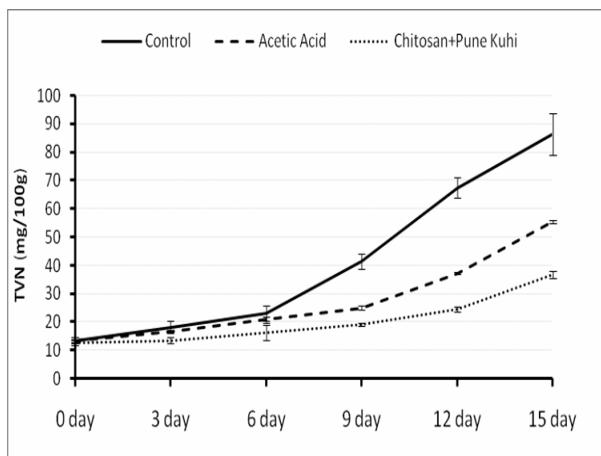


Fig 3 Mean changes of TVN in chicken fillet during 15days of storage in refrigerator temperature.

آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که گروه، زمان و اثر متقابل زمان و گروه تأثیر معنی داری ($p < 0.05$) بر TVN دارد. به طوریکه گروه کنترل با دو گروه دیگر و بین گروه دوم و سوم هم اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) وجود دارد. طبق نتایج به دست آمده از آزمون LSD در روز صفر بین گروه ها اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) وجود ندارد. در روز سوم و ششم، گروه کیتوزان حاوی اسانس پونه کوهی با دو گروه دیگر اختلاف دارد، اما بین دو گروه دیگر اختلاف وجود ندارد. پس از آن تا روز ۱۵ نگهداری بین هر سه گروه اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) وجود داشت. از میزان نیتروژن فرار موجود در گوشت می توان به عنوان شاخص ارزیابی کیفیت گوشت استفاده کرد. به این صورت که افزایش میزان نیتروژن فرار بستگی به فعالیت باکتری های مولد فساد و آنزیم های داخل بافتی دارد [۲۸].

براساس دستورالعمل دفتر نظارت بر بهداشت عمومی سازمان دامپزشکی کشور، در صورتی که میزان TVN در گوشت مرغ بیش از ۲۷ میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم گوشت باشد، گوشت غیرقابل مصرف خواهد بود. این میزان اگر حداقل ۲۰-۲۱ و ۲۴-۲۵ میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم باشد، مصرف گوشت به ترتیب مطلوب، قابل مصرف و مصرف سریع خواهد بود. [۲۹] میزان TVN در نمونه های گروه کنترل در روز ششم $\pm 26/68$ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گوشت بود، به عبارتی در محلوده قابل مصرف قرار داشت و در روز نهم این میزان به $\pm 27/74$ میلی گرم در ۱۰۰ گرم رسید که نشان دهنده غیرقابل

که مشابه نتایج این تحقیق می باشد و نشان می دهد نمونه های پوشش دار حاوی عصاره، شمارش میکروبی کمتری نسبت به سایر نمونه ها در طول مدت نگهداری دارند [۲۵، ۲۶].

در مورد مکانیسم فعالیت ضد میکروبی کیتوزان فرضیه های متعددی وجود دارد که محتمل ترین آنها، تغییر در نفوذ پذیری غشای سلولی به واسطه واکنش بین بار مشت مولکول های کیتوزان و بار منفی غشای سلول های میکروبی است. این واکنش منجر به نشت محتويات پروتئینی و سایر محتويات داخل سلولی می شود و همچنین سایر مکانیسم های ضد میکروبی کیتوزان مانند واکنش کیتوزان با محصولات منتشر حاصل از هیدرولیز داخل سلول میکروبی و واکنش با DNA میکروبی است که باعث ممانعت از سنتز پروتئین و mRNA و شلاته کردن فلزات، عناصر و مواد مغذی ضروری سلول و در نهایت مرگ سلولی می شود [۷].

اما در مورد مکانیسم ضد میکروبی اسانس پونه کوهی نیز، Burt در سال ۲۰۰۴ مکانیسم ضد میکروبی اسانس ها را ایجاد اختلال در غشای سیتوپلاسمی و به هم زدن نیروی حرکتی و جریان پروتون ها، الکترون ها و اختلال در انتقال فعل سلولی و انعقاد محتويات داخل سلولی و در نهایت مرگ سلولی بیان کرده است. معمولاً اسانس ها از جمله اسانس پونه کوهی حاوی گروه های فنولی موثر علیه میکروارگانیسم ها می باشند [۲۷].

۲-۳- بررسی میزان تغییرات نیتروژن فرار کل (TVN) در طی نگهداری

با توجه به نمودار ۳، تغییرات میانگین میزان مواد ازته فرار فیله مرغ در طی یک دوره ۱۵ روزه نگهداری در دمای یخچال نشان گر یک روند افزایشی در تمام گروه ها بوده است به طوریکه در روز ۱۵ نگهداری، بالاترین میزان آن $\pm 7/43$ mg/100g و مربوط به گروه کنترل و کمترین میزان آن $\pm 86/35$ mg/100g و مربوط به گروه کنترل و کمترین میزان آن $\pm 26/57$ mg/100g پونه کوهی می باشد.

پونه‌کوهی اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) نداشت. در روز دوازدهم و پانزدهم بین گروه اسید استیک و گروه کیتوزان حاوی اسانس پونه‌کوهی اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) وجود داشت. در مطالعه حاضر میزان pH در مورد گروه کنترل در روز سوم نگهداری به 7.26 ± 0.1 رسیده است. این میزان در گروه اسید استیک در روز دوازدهم نگهداری به 7.17 ± 0.05 رسیده است. ولی در گروه کیتوزان حاوی اسانس پونه‌کوهی تا پایان طول مدت نگهداری همچنان پائین‌تر از ۶ باقی مانده است که این موضوع مربوط به خاصیت اسیدی محلول کیتوزان ($\text{pH} = 4$) و همچنین خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی قوی کیتوزان و پونه‌کوهی می‌باشد.

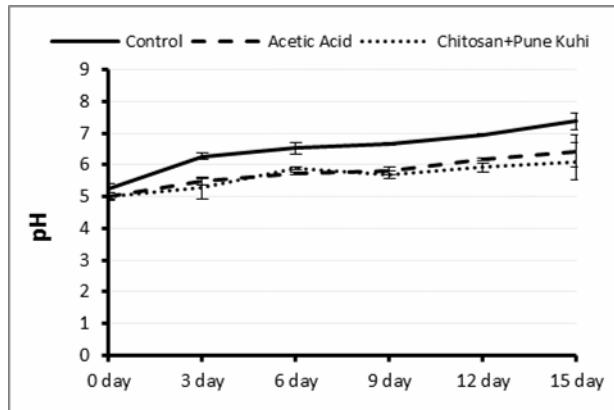


Fig 4 Mean changes of pH in chicken fillet during 15days of storage in refrigerator temperature.

در مطالعه مولاibi آقایی و همکاران در سال ۱۳۹۴ اثر پوشش با فیلم کیتوزان حاوی اسانس سیر بر تغییرات شیمیابی فیله مرغ طی نگهداری در دمای یخچال مورد نظر قرار گرفت. نتایج نشان داد نمونه‌های پوشش‌داده شده با فیلم کیتوزان حاوی اسانس سیر نسبت به نمونه‌های کنترل مقادیر پایین‌تری از pH را نشان داد. در پایان مطالعه بیشترین افزایش میزان pH به ترتیب در نمونه‌های کنترل (7.25) نمونه‌های با فیلم فاقد اسانس (7.37) و سپس نمونه‌های با $0/5$ درصد اسانس (7.23) مشاهده گردید [۹]. فیلم کیتوزان حاوی پلی فنول چای در پتی‌های گوشت خوک در تحقیق Qin و همکاران در سال 2013 باعث کاهش pH نهایی در زمان نگهداری نسبت به گروه کنترل شد. همچنین با تاخیر در

صرف بودن گوشت مرغ در این روز می‌باشد؛ در حالیکه در گروه تیمار کیتوزان حاوی اسانس پونه‌کوهی در روز پانزدهم 26.57 ± 1.25 میلی‌گرم در 100 گرم بود که از نظر مصرف قابل مصرف ارزیابی می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط کوهدار در سال 1395 بر روی تأثیر پوشش کیتوزان بر برخی از ویژگی‌های میکروبی و شیمیابی گوشت مرغ تازه انجام شد، میزان TVN در گوشت مرغ نگهداری شده به مدت 12 روز در دمای یخچال $34.72 \pm 1.92 \text{ mg}/100\text{g}$ به دست آمد که به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کمتر از نمونه کنترل بود. [۳۰] در مطالعه‌ای که توسط Kang و Amiza در سال 2013 در مورد تأثیر کیتوزان روی اکسیداسیون چربی و بار میکروبی در ژل سوریمه‌ی تهیه شده از ماهی (*Clarias gariepinus*) انجام شده است، بعد از طی 20 روز نگهداری در دمای یخچال میزان TVB به دست آمده را $37.63 - 37.80 \text{ mg}/100\text{g}$ گزارش کردند در حالی که این میزان در گروه کنترل $43.87 \text{ mg}/100\text{g}$ بوده است و این کاهش را ناشی از تأثیر کیتوزان در کاهش رشد میکروبی و در نهایت کاهش TVB بیان نموده‌اند [۳۱].

۳-۳- بررسی میزان تغییرات pH در طی نگهداری

با توجه به نمودار 4 ، در طی یک دوره 15 روزه نگهداری در دمای یخچال نشان‌گر یک روند افزایشی در تمام گروه‌ها بوده است به طوریکه در روز 15 نگهداری بالاترین میزان pH $0.59 \pm 0.26 \pm 7.38$ و مربوط به گروه کنترل و کمترین میزان آن 0.10 ± 6.10 و مربوط به تیمار کیتوزان حاوی اسانس پونه‌کوهی می‌باشد.

آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که گروه، زمان و اثر متقابل این دو برهم تأثیر معنی‌داری ($p < 0.05$) بر pH داشت بطوریکه آزمون LSD نشان داد که بین گروه کنترل با دو گروه دیگر و همچنین بین گروه دوم و سوم اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) وجود دارد.

طبق نتایج به دست آمده از آزمون LSD، از روز صفر تا پایان دوره نگهداری میزان pH در گروه کنترل با دو گروه دیگر اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) داشت. از روز صفر تا روز دوازدهم گروه اسید استیک با گروه کیتوزان حاوی اسانس

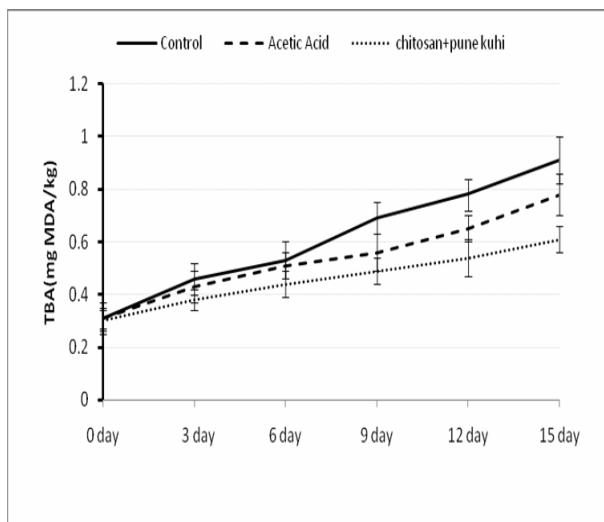


Fig 5 Mean changes of TBA in chicken fillet during 15days of storage in refrigerator temperature.

Petrou و همکاران در سال ۲۰۱۲، مکانیسم عمل کیتوزان برای کاهش اکسیداسیون چربی در غذاهای گوشتی را نقش آن به عنوان یک عامل شلاته کننده یون‌های فلزی مثل یون‌های آهن که مسئول شروع پروکسیداسیون لیپیدها و آغاز واکنش‌های زنجیره‌ای هستند و منجر به بدشدن طعم و چشایی مواد غذایی می‌شوند، بیان کردند.^[۲۳]

Buyn و همکاران در سال ۲۰۰۳، میزان ۲ میلی‌گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم گوشت را شروع اکسیداسیون چربی و آغاز تغییر در طعم گوشت مرغ بیان کردند در حالی که Teets و همکاران در سال ۲۰۰۸، میزان ۳ میلی‌گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم را همراه با فساد اکسیداتیو در گوشت گزارش نموده‌اند.^[۳۴] در هر صورت میزان به دست آمده در تحقیق حاضر در هر سه گروه بسیار کمتر از این مقادیر گفته شده می‌باشد که علت آن احتمالاً میزان کم چربی گوشت سینه مرغ می‌باشد.

اما نتایج میزان تغییرات تیوباریتوريک اسید حاضر با مطالعه حسن‌زاده و همکاران در سال ۱۳۹۰ که بر روی کاربرد پوشش خوارکی کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور بر روی کیفیت و ماندگاری گوشت مرغ در دمای یخچال انجام شده است بیشترین هم خوانی را دارد به‌طوریکه این محققین گزارش کردند که با افزایش مدت زمان نگهداری، میزان تیوباریتوريک اسید در نمونه‌های مختلف افزایش می‌یابد اما این میزان در تیمار دارای

افزایش TBA منجر به پایداری لیپیدها شده و رشد میکروبی نیز کاهش نشان داد و ماندگاری محصول تا ۶ روز افزایش یافت.^[۳۲]

۴-۳- بررسی میزان تغییرات تیوباریتوريک اسید(TBRS) در طی نگهداری

طبق داده‌های نمودار ۵ و با توجه به نتایج آماری به دست آمده میزان تیوباریتوريک اسید در تمام طول مدت نگهداری، در هر سه گروه روندی افزایشی را نشان داده است و در روز صفر بین گروه‌ها اختلاف معنی‌داری ($P<0.05$) وجود ندارد. این میزان در روز صفر به ترتیب در گروه کنترل، تیمار اسید استیک و تیمار کیتوزان‌حاوی اسانس پونه کوهی 0.31 ± 0.06 ، 0.31 ± 0.04 و 0.31 ± 0.03 میلی‌گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم گوشت می‌باشد.

در روز سوم میزان تیوباریتوريک اسید تنها در گروه کنترل نسبت به تیمار کیتوزان حاوی اسانس پونه کوهی به طور معنی‌داری ($P<0.05$) بالاتر می‌باشد اما با تیمار اسید استیک اختلاف معنی‌داری ($P<0.05$) ندارد و بین تیمار اسید استیک و تیمار کیتوزان حاوی اسانس پونه کوهی هم اختلاف معنی‌داری ($P<0.05$) وجود دارد. این میزان در گروه کنترل 0.06 ± 0.04 در تیمار اسید استیک 0.43 ± 0.04 و در تیمار کیتوزان حاوی اسانس پونه کوهی 0.38 ± 0.04 به دست آمده است. در روز ششم، نهم، دوازدهم و نیزه‌داری بین هر سه گروه با هم اختلاف معنی‌داری ($P<0.05$) وجود دارد و بین این سه گروه، تیمار کیتوزان حاوی اسانس پونه کوهی نسبت به دو گروه دیگر میزان تیوباریتوريک اسید کمتری را نشان داده است. در روز پانزدهم بین تیمار کنترل و دو گروه دیگر اختلاف معنی‌داری ($P<0.05$) وجود دارد و بین تیمار اسید استیک و تیمار کیتوزان حاوی اسانس پونه کوهی اختلاف معنی‌داری ($P<0.05$) وجود ندارد.

لازم را برای استفاده کاربردی از این ترکیبات در انواع گوشت‌ها و فرآورده‌های آن‌ها در مقایسه با ترکیبات سنتیک فراهم نمود.

۵- منابع

- [1] Farajzadeh D. Food hygiene. Tehran: Light press. 2nd ed. 1382. p. 19-36 [in persian].
- [2] Fraizer V, Vesthof D. Food microbiology, translated by Mortazavi A, et al. 5th ed. Mashhad: University of Ferdowsi press. 1389. p. 29-40 [in persian].
- [3] Danesh M, Hosseiniiparva SH, Notamedzadegan A. Application of Chitosan in protection against microbial agents, the second national seminar on food security, 1391, Savadkuh, Islamic Azad University Savadkuh, Iran. [in Persian]
- [4] Vasconez MB, Flores SK, Campson CA, Alvarado J, Gerschenzon LN. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International* 2009; 42: 762-769.
- [5] Yin H, Du Y, Dong Z. Chitin Oligosaccharide and Chitosan Oligosaccharide: Two Similar but Different Plant Elicitors. *DongFront Plant Sci* 2016; 7: 522-530.
- [6] Vasilikid V, Hany M, Savvadis N. Effect of citron and chitsan survival of *Escherichia coli* 0157:H7 and *salmonella enterica* in vacuum-packaged truky meat. *Food microbiology* 2016; 58: 128-134.
- [7] No HK, Meyers SP, Prinyawiwatkul W, Xu Z. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review. *Journal of Food Science* 2007; 72: 87-100.
- [8] Shahidi F, Abuzaytoun R. Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, production, application, and health effects. *Advances In Food and Nutrition Research* 2005; 49: 93-135.
- [9] Molaei Aghaei I, Kamkar A, Akhondzadeh Basti A, Khanjari A, Kontominas M. Evaluation of the effect of chitosan and biodegradable packaging films formulated with essential oils of garlic, *Allium sativum L* on chemical properties of Chicken fillet, health and environment magazine, *Quarterly Journal of Environmental Health Association* 1394; 3: 379-390.

پوشش کیتوزان حاوی عصاره انگور نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کمتر بوده است و حداقل و حداقل میزان تیوباریتوريک اسید به ترتیب، 0.085 و مربوط به روز صفر کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور و 0.90 مربوط به روز ۲۱ گروه کنترل بوده است [۲۴].

مطالعات فراوانی در مورد کاهش اکسیداسیون چربی توسط کیتوزان گزارش شده است که از میان آن‌ها می‌توان به مطالعه Georgantelis و همکاران در سال ۲۰۰۷ روی کاربرد کیتوزان در سوپسیس و برگر گوشت گوساله و Kanatt و همکاران در سال ۲۰۰۸ روی کاربرد کیتوزان و اسانس نعنا در گوشت خوک اشاره نمود (۳۵، ۳۶). همچنین Petrou و همکاران در سال ۲۰۱۲ با بررسی تأثیر توأم کیتوزان و اسانس آویشن در گوشت سینه مرغ بسته بندی شده با اتمسفر اصلاح شده عدم فساد اکسیداتیو گوشت را در طی ۱۶ روز نگهداری در یخچال گزارش نمودند [۳۲].

در مطالعاتی که تأثیر استفاده توأم از پوشش کیتوزان و عصاره‌های گیاهی را به ترتیب در ماهی ساردين، گوشت گاو، بره و خوک در شرایط نگهداری در سرما بررسی کرده‌اند گزارش شده است که نمونه‌های حاوی کیتوزان و عصاره‌های گیاهی نسبت به نمونه‌های فاقد پوشش میزان تیوباریتوريک اسید کمتری را در طول مدت نگهداری نشان دادند [۲۶، ۲۵، ۷].

۴- نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این تحقیق استفاده از پوشش کیتوزان حاوی اسانس پونه‌کوهی سبب جلوگیری از افزایش عوامل تأثیرگذار در فساد شیمیایی و میکروبی فیله مرغ شده و می‌تواند به عنوان نگهدارنده طبیعی، طول دوره نگهداری گوشت فیله مرغ را تا حدود ۱۵ روز افزایش دهد.

بنابراین با اجرای این مطالعه و مطالعات مشابه در مورد کاربرد پوشش‌های طبیعی به تنهایی و یا حاوی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی دارای خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی، می‌توان ضمن کاهش فرآورده‌های حاصل از اکسیداسیون، گامی موثر در جهت بهبود سلامت میکروبی، حفظ کیفیت ارگانولپتیکی گوشت در حد مطلوب و افزایش مدت ماندگاری آن برداشت و زمینه

- [20] Benjakul S, Seymour TS, Morrissey MT, An H. Physicochemical changes in pacific whiting muscle proteins during iced storage. *Journal of Food Science* 1977; 62:729-733.
- [21] Rokni N. Meat Science and Technology, 4th ed. Tehran: University of Tehran press. 1385, p. 225-243.[in Persian]
- [22] Latou E, Mexis SF, Badeka AV, Kontakos S, Kontominas MG. Combined effect of chitosan and modified atmosphere packaging for shelf life extension of chicken breast fillets. *LWT-Food Science and Technology* 2014; 55: 263-268.
- [23] Petrou S, Tsiraki M, Giatrakou V, Savvaidis IN. Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat, *Int J Food Microbiol* 2012; 156: 264-271.
- [24] Hasanzadeh P, Tajik H, Razavi Rohani SM. The use of chitosan edible coating containing grape seed extract on the quality and shelf life of refrigerated chicken meat. *Journal of Food Research*, 1390; 21: 467-482. [in Persian]
- [25] Estaca JG, Montero P, Gimenez B, Guillen MCG. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry* 2007; 105: 511-520.
- [26] Kanatt SR, Chander R, Sharma A. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *Food Chemistry* 2008; 107: 845-852.
- [27] Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in Foods: a review. *International Journal of Food Microbiology* 2004; 94: 223-253.
- [28] Ruiz-Capillas C, Moral A. Sensory and biochemical aspects of quality of whole bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. *Food Chemistry* 2005; 89: 347-354.
- [29] Iran Veterinary Organization, the Office of Public Health guidelines, the properties of poultry meat, 1384.
30. Kohdar V. The effect of chitosan coating on some of the biological and chemical properties of fresh chicken meat, *health food magazine* 1395; 6: 11-17.
- [31] Amiza MA, Kang WC. Effect of chitosan on gelling properties, lipid oxidation, and microbial load of surimi gel made from
- [10] Behnoosh B, Aliakbarloo J. The antioxidant effect of the essential oils of thyme and oregano on chicken meat stored at 4C°. *Food Research Journal* 1392; 32: 1-8.
- [11] Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia L.* ssp. *longifolia*. *Food Chem* 2007;103:1449-56.
- [12] Pajoohi M, Tajik H, Akhondzadeh Basti A, Gandomi H, Ehsani A, Shokohi Sabet F. Evaluate the chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of oregano and cumin seed alone or combined with nisin. *Urmia Medical Journal* 1389; 4: 331-324.
- [13] Mahmoodi R, Tajik R, Farshid A, Ehsani A, Zareh P, Moradi M. To determine the chemical composition and antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* oregano. *Journal of medical science (Armaghan danesh)* 1390; 5: 400-412. [in Persian]
- [14] Azizkhani M, Ataei M. Antimicrobial and antioxidant activity of methanol extract and essential oils of mint, *Journal of Food Science* 1391; 22: 1-9.
- [15] Akhbari M, aghajani Z, Karimi E, Mazochi A. The essential oils composition and antioxidant activity of anti-microbial and plant *Mentha longifolia*. *Journal of Cellular and Molecular Biology Biotechnology News* 1394; 21: 7-14.
- [16] Iranian national standard. 1386. *Microbiology of food and animal-Reference method for counting the total count of microorganisms in 30 degrees Celsius*, No. 5272, the first revision.
- [17] Iranian national standard. 1382. Counting the microorganisms cold-oriented and procedure, No. 2629, first edition, first revision.
- [18] Ojagh S, Rezaei M, Razavi S, Hosseini S. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry* 2010; 122: 161-166.
- [19] 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.

- [34] Teets AS, Were LM. Inhibition of lipid oxidation in refrigerated and frozen salted raw minced chicken breasts with electron beam irradiated almond skin powder. *Meat Science* 2008; 80(4): 1326–1332.
- [35] Georgantelis D, Ambrosiadis I, Katikou P, Blekas G, Georgakis, SA. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science* 2007; 76: 172-181.
- African catfish (*Clarias gariepinus*). *International Food Research Journal* 2013; 20(4): 1585-1594.
- [32] Qin C, Huirong L, Xiao Q, Liu Y, Zhu J, Du Y. Carbohydrate Polymers. *International Journal of Food Microbiology* 2006; 63: 367–374.
- [33] Buyn JS, Min JS, Kim IS, Kim JW, Chung MS, Lee M. Comparison of indicators of microbial quality of meat during aerobic cold storage. *Journal of Food Protection* 2003; 66: 3839-3843.

Effect of chitosan coating containing oregano essential oil on shelf life of chicken fillets during refrigerated storage

Hakim, H. ¹, Fazlara, A. ^{1*}, Tadayoni, M. ¹

1. Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

(Received: 2017/01/04 Accepted: 2017/02/05)

Regarding to very perishable property of chicken meat, it is still one of the main protein sources in the diet of most parts of the world. One way to increase the shelf life of meat is using of edible coatings and herbal essences. In this study, chitosan edible coating and oregano essential oils were used to enhance the shelf life of chicken fillets during refrigerating conditions. three Group including uncoated samples (control) T₁, treated with acetic acid 1% (T₂) and immersed in a solution containing 2% chitosan and 1% oregano essential oil (T₃) were considered. All samples were stored at refrigerator temperature ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) for 15 days and microbial (bacterial count of mesophilic and psychrophilic) and chemical (pH, thiobarbituric acid and total volatile nitrogen) tests were evaluated at regular intervals storage time (days 0, 3, 6, 9, 12 and 15). The results showed that in all cases the total count of mesophilic and psychrophilic significantly ($p < 0.05$) increased with time, and this increase in sample T₃ was significantly ($p < 0.05$) less than T₂ and T₁. In addition, it was found a significant effect of coating ($p < 0.05$) in reduction of number of mesophilic and psychrophilic during storage. The T₃ sample showed less amount of TVN, TBA and pH than the other two samples during storage. The results of this study indicate that chitosan can be a good alternative to chemical preservatives.

Keywords: Essential oil of oregano, Chicken fillets, Chitosan, Coating

* Corresponding Author E-Mail Address: Fazlara2000@yahoo.com