

بررسی اثر پوشش خوراکی کیتوزان و اسانس زیره سبز بر ماندگاری گوشت گاو در بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده

آرزو فتاحیان¹، علی فضل آرا^{2*}، سیاوش مکتبی²، مهدی پورمهدی²، ندا باورصاد^{۴،۳}

1- دانشجوی PhD بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

2- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

3- مرکز تحقیقات نانو فناوری، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

4- گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

(تاریخ دریافت: 98/10/16 تاریخ پذیرش: 99/02/20)

چکیده

گوشت با توجه به ترکیب و نحوه تولید آن مستعد آلودگی و فساد سریع می‌باشد. بنابراین به منظور افزایش مدت زمان ماندگاری آن استفاده از ترکیبات دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی همواره به‌عنوان راهکار مدنظر محققین بوده است. مطالعه حاضر جهت ارزیابی اثر پوشش خوراکی کیتوزان (2 درصد) با اسانس زیره سبز *Cuminum cyminum* (1 درصد) بر روی ماندگاری گوشت گاو در بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده در دمای یخچال انجام گرفت. نمونه‌های گوشت گاو به 3 گروه بدون پوشش (کنترل)، تیمار شده با پوشش کیتوزان بدون اسانس زیره سبز و غوطه‌ور شده در پوشش کیتوزان با اسانس زیره سبز تقسیم شدند. نمونه‌ها سپس در شرایط MAP (80% O₂ و 20% CO₂) بسته‌بندی و در دمای 4°C نگهداری شدند و در روزهای معین (0، 3، 6، 9، 12، 15، 18 و 21) جهت انجام آزمایش‌های میکروبی‌شناسی (شمارش کلی میکروبی، اسیدلاکتیک باکتری‌ها، انتروباکتریاسه‌ها و سودمونس‌ها) و شیمیایی (pH، TBA و TVN) مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج بررسی باکتریایی دلالت بر این داشت که پوشش دهی اثر معنی‌داری (P<0/001) بر کاهش روند افزایشی تعداد شمارش کلی میکروبی، اسیدلاکتیک باکتری‌ها، انتروباکتریاسه‌ها و سودمونس‌ها داشت. از نظر شیمیایی نیز گروه‌های حاوی پوشش کیتوزان، میزان pH، TBA و TVN کمتری از گروه‌های بدون پوشش نشان دادند. با توجه به نتایج حاصل، پوشش کیتوزان به‌طور معنی‌داری (P<0/001) کیفیت نمونه‌ها را افزایش می‌دهد. همچنین این مطالعه نشان داد که بر اساس نتایج حاصل از بررسی‌های میکروبیولوژی و شیمیایی، پوشش کیتوزان همراه با اسانس زیره سبز موجب حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری نمونه‌ها در طول مدت نگهداری در شرایط سرما می‌گردد.

کلید واژگان: پوشش کیتوزان، اتمسفر اصلاح شده، زمان ماندگاری، اسانس زیره سبز، گوشت گاو

* مسئول مکاتبات: a.fazlara@scu.ac.ir

1- مقدمه

گوشت مجموعه‌ای از بافت‌های عضلانی-اسکلتی لاشه‌ی دام‌های کشتاری است که با بافت‌های چربی و پیوندی مربوطه همراه می‌باشد و از جمله مهمترین منابع پروتئینی به شمار می‌رود و غنی از اسیدهای آمینه ضروری برای بدن، مواد معدنی مانند آهن و روی، انواع ویتامین‌ها و همچنین انرژی کافی است که سبب می‌شود تا در زمره‌ی بهترین و کامل‌ترین مواد غذایی طبقه بندی شود [1].

اما مهم‌ترین چالش گوشت، فسادپذیری زیاد آن می‌باشد که از جنبه سلامت و کیفیت آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. طی سال‌ها، به منظور افزایش مدت زمان نگهداری در دمای پایین، افزودنی‌های سنتزی زیادی استفاده شده است [2]. افزودنی‌های سنتزی دارای خواص سرطان‌زایی و سمیت هستند؛ بنابراین با افزایش نگرانی مصرف‌کنندگان از مصرف چنین افزودنی‌هایی، تقاضا برای گوشت و محصولات گوشتی سالم‌تر و افزودنی‌های غذایی طبیعی افزایش یافته است [1]. در سال‌های اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی توجه زیادی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی با منشأ گیاهی به جای نگهدارنده‌های شیمیایی در محصولات خود نموده‌اند. بیشتر اسانس‌های گیاهی به دلیل داشتن ترکیبات فیتوشیمیایی از قبیل ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی نشان می‌دهند. پلی فنول‌ها انواعی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که در جلوگیری از بسیاری بیماری‌ها از جمله سرطان نقش دارند، این ترکیبات بسیار متنوع هستند و اثرات متفاوتی دارند. در این میان، اسانس‌های گیاهی¹ (EOs) توجه بسیاری از محققین را برای این منظور به خود جلب کرده‌اند. گرچه فعالیت ضد میکروبی برای بسیاری از اسانس‌ها مشاهده شده است، اما محدودیت‌هایی نیز در کاربرد آن‌ها در گوشت و محصولات گوشتی وجود دارد. اسانس زیره سبز (*Cuminum cyminum*) یک افزودنی ضد میکروبی طبیعی است. در برخی گزارش‌ها نشان داده شده است که اسانس زیره سبز در غلظت‌های بسیار کم در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد تأثیری برابر دارد. تاکنون مهار رشد چندین باکتری بیماری‌زا توسط اسانس زیره سبز در مقالات مختلف گزارش شده است. اسانس زیره سبز دارای ترکیبات پینین²، آلفا ترپینول³، آپی ژنین⁴ و غیره بوده که علاوه بر آرومای خاص دارای خاصیت ضد میکروبی نیز می‌باشد [3].

1. Essential Oil
2. Pinene
3. Alpha-Terpineol
4. Apigenin

در مطالعه تأثیر ضد باکتریایی اسانس زیره سبز بر باکتری لیستریا مونوسیتوزنز در پنیر سفید ایرانی توسط Fazlara و همکاران (2012) نشان داده شد که غلظت باکتری در پنیر حاوی غلظت 0/02 درصد اسانس زیره سبز، پس از 30 روز، باکتری 1 Log کاهش یافت و از این روز به بعد باکتری جدا نشد. همچنین در پنیر حاوی غلظت 0/04 درصد اسانس پس از 15 روز، باکتری 1 Log کاهش یافت و از این روز به بعد از نمونه، باکتری جدا نشد [4]. همچنین Hojjati و همکاران (2019) در مطالعه‌ای به بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس زیره سبز و فعالیت ضدباکتریایی آن پرداخته‌اند. نتایج این تحقیق نشان داد، به ترتیب کومین آلدئید، پاراسیمن، گاماترپینین و آلفاترپینین -7 آل عمده ترکیبات فرار موجود در اسانس زیره سبز بودند. همچنین بیان کردند اسانس زیره سبز می‌تواند مانع از رشد نسبی باکتری‌های پاتوژن گردد. [5].

کیتوزان، پلی مر بتا (4 و 1) ان - استیل دی گلوکز آمین است که از استیل زدایی کیتین استخراج شده از سخت پوستان، حشرات و قارچ‌ها تولید می‌شود. کیتوزان به دلیل دارا بودن خواص نیمه تراوایی، در بسته‌بندی مواد غذایی که در آن‌ها به اصلاح اتمسفر درونی نیاز است، به کار می‌رود. فیلم‌های کیتوزان، نفوذپذیری نسبی به بخار آب دارند و مانع خوبی برای گاز اکسیژن به شمار می‌آیند [7,6]. از سویی به تازگی، کاربرد MAP⁵ تا حد زیادی افزایش یافته است. ترکیب گازهای اکسیژن، دی‌اکسید کربن و نیتروژن برای بسته‌بندی فرآورده‌های گوشتی تأثیرات مختلفی روی ماندگاری محصول دارند. بسته‌بندی فعال با ایجاد تغییرات شیمیایی یا بیولوژیک در محتویات یا فضای داخل بسته‌بندی، ایمنی و مدت زمان نگهداری ماده غذایی را افزایش می‌دهد [8]. به منظور تولید بسته‌بندی‌های فعال بر پایه فیلم زیست تخریب پذیر می‌توان از پلی ساکاریدهایی نظیر کیتوزان به عنوان پایه فیلم بسته‌بندی و ترکیبات ضد میکروبی از جمله اسانس‌ها استفاده نمود [9]. در اکثر موارد این روش بسته‌بندی از رشد میکروبی جلوگیری می‌نماید، همچنین عدم حضور اکسیژن از رشد کپک‌ها و باکتری‌های عامل فساد هوازی جلوگیری می‌نماید. استفاده از MAP امروزه در ترکیب با هوای سرد باعث افزایش زمان ماندگاری غذاهای فاسد شدنی می‌شود [10,11,12]. Molaee و همکاران (2015) با مطالعه تأثیر بسته بندی با فیلم کیتوزان حاوی اسانس زیره سیاه بر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی فیله مرغ نشان دادند که بسته‌بندی مرغ با فیلم کیتوزان به‌ویژه با

5. Modified Atmosphere Packaging

نمونه‌ها به‌طور تصادفی در 3 گروه تقسیم شدند و تیمارهای مورد نظر شامل:

تیمار اول (بدون پوشش یا گروه کنترل): فیله گوشت غوطه‌ور شده در آب مقطر استریل به مدت 1/5 دقیقه
تیمار دوم (فیله‌های گوشت غوطه‌ور شده در پوشش کیتوزان 2%).

به این صورت که مقدار 2 گرم پودر کیتوزان با وزن مولکولی متوسط (سیگما آلدریج، آلمان)، به 100 میلی‌لیتر اسید استیک (Merck، آلمان) 1 درصد (حجمی/حجمی) اضافه گردید و پس از حل شدن کامل کیتوزان، گلیسرول به‌عنوان نرم کننده (به میزان 30 درصد وزن کیتوزان) به محلول اضافه شد. در مرحله بعد، pH محلول را با سود 1 نرمال به 5 رسانده و در نهایت 0/2 درصد (حجمی/حجمی) پلی سوربات (شارلو، اسپانیا) به محلول ساخته شده اضافه گردید [15]. بعد از تهیه محلول کیتوزان، نمونه‌ها 1/5 دقیقه در محلول آماده شده غوطه‌ور می شدند.

تیمار سوم (فیله‌های گوشت غوطه‌ور شده در اسانس زیره سبز 1% و پوشش کیتوزان 2%).

بدین نحو که به ترتیب نمونه‌ها ابتدا 1/5 دقیقه در محلول اسانس زیره سبز 1% (برای حل شدن کامل اسانس از پلی سوربات به میزان 30 درصد وزنی اسانس استفاده شد)، غوطه‌ور شده و سپس بعد از خارج کردن از بشر حاوی اسانس به محلول کیتوزان 2% وارد می شدند و 1/5 دقیقه زمان داده می شد. پس از بیرون آوردن نمونه‌ها از محلول‌های مورد استفاده جهت پوشش دهی، کلیه نمونه‌ها مدتی در زیر هود قرار گرفته تا خشک شدند و پوشش خوراکی مورد نظر روی آن‌ها تشکیل گردید. سپس هر قطعه گوشت به‌طور جداگانه در یک کیسه پلی اتیلنی استریل شده به وسیله اشعه UV قرار داده شده نسبت به بسته‌بندی تحت شرایط MAP (80% O₂ و 20% CO₂) (کیان صنعت اصفهان، ایران) اقدام شد و بسته‌ها در یخچال با دمای 1±4 درجه سانتی‌گراد به مدت 21 روز نگهداری شدند. نمونه برداری برای تعیین شاخص‌های میکروبی و شیمیایی در روزهای 0، 3، 6، 9، 12، 15، 18 و 21 با 3 تکرار انجام گردید.

2-2- آنالیزهای میکروبیولوژی

برای آنالیز میکروبی، مقدار 10 گرم نمونه به همراه 90 میلی لیتر آب پیتونهی 1 درصد (Merck، آلمان) را داخل کیسه‌ی مخصوص استومیکس (Interscience Bag Mixer، فرانسه)

سطوح مختلف اسانس زیره سیاه می‌تواند بر فساد شیمیایی و میکروبی فیله مرغ نقش بازدارندگی داشته باشد [13]. در تحقیق Bazargani و همکاران (2015) با استفاده از ترکیب عصاره انار و پوشش کیتوزان غنی شده با اسانس آویشن، در ماندگاری سینه مرغ، اندیس پراکسید، TBRAs¹ و اکسیداسیون پروتئین‌ها در نمونه‌های تیمار به‌طور قابل توجهی پایین‌تر از گروه کنترل بود [14]. Tajik و همکاران (2011) در مطالعه کاربرد پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور بر روی کیفیت و ماندگاری گوشت مرغ در دمای یخچال بر اساس نتایج حاصل از بررسی‌های میکروبیولوژیکی، شیمیایی و حسی، نشان دادند اثر پوشش کیتوزان و پوشش حاوی عصاره دانه انگور بر روی نمونه‌ها موجب حفظ کیفیت مناسب و افزایش ماندگاری آن‌ها در طول مدت نگهداری در شرایط سرما می‌گردد [15]. با توجه به اینکه کاربرد پوشش‌های خوراکی و اسانس‌های گیاهی موجب کاهش جمعیت پاتوژن‌ها می‌شود و در خصوص مصرف محصولات گوشتی نکته مهم برای مصرف کنندگان، سلامت و حفظ کیفیت محصول می‌باشد، لذا هدف اصلی از کاربرد تلفیقی پوشش‌های خوراکی با اسانس‌ها، افزایش ماندگاری گوشت با روشی است که موجب جلوگیری از رشد عوامل فساد و نیز کنترل تغییرات شیمیایی در طول نگهداری باشد. با تکیه بر مطالب مذکور، در این مطالعه که به‌صورت مداخله‌ای تجربی انجام شد، استفاده از پوشش کیتوزان با اسانس زیره سبز بر ماندگاری گوشت قرمز بسته‌بندی شده در اتمسفر اصلاح شده (MAP 80% O₂ و 20% CO₂) در دمای یخچال مورد ارزیابی قرار گرفت.

2- مواد و روش

2-1- آماده‌سازی نمونه‌های گوشت و تیمارها

گوشت گاو تازه به تاریخ تولید روز از بازار تهیه شد و سپس جهت تقسیم‌بندی در گروه‌های مختلف با استفاده از وسایل استریل به قطعات 70 تا 100 گرمی قطعه‌بندی گردید. به این صورت که پس از شستشو با آب فراوان، نمونه‌ها را جهت آبکشی روی آبکش‌های پلاستیکی استریل قرار داده تا آب اضافی خارج شد [10]. اسانس زیره سبز که با روش کلونجر تهیه شده بود از شرکت باریج اسانس (کاشان، ایران) خریداری گردید.

1. Thiobarbituric acid

بالن تقطیر حرارت دیده و به مدت 18 دقیقه عمل جوش و تقطیر صورت گرفت. محلول تقطیر شده به وسیله اسیدسولفوریک (Merck، آلمان) 0/1 نرمال تیترا شده و مقدار اسید مصرفی یادداشت شد. با استفاده از فرمول زیر میزان مواد از ته فرار بر حسب میلی گرم در 100 گرم گوشت گاو محاسبه گردید [23،22].

$$TVN (mg/100g) =$$

$$100 \times \frac{1}{4} \times \frac{\text{میزان تیتر اول نمونه استاندارد} - \text{تیتر اول نمونه مصرفی به میلی لیتر}}{\text{وزن نمونه به گرم}}$$

تیوباریتوریک اسید (TBARS) (Merck، آلمان) بر حسب میزان مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم از گوشت اندازه گیری شد. برای این منظور مقدار 5 گرم از نمونه به همراه 100 میلی متر محلول تری کلرواستیک اسید 10 درصد (Merck، آلمان) در یک بشر 250 میلی متری توسط هموژنایزر به طور کامل هموژن گردید و سپس محلول هموژن شده را از کاغذ صافی واتمن شماره 42 عبور داده و محلول صاف شده دوباره به کمک محلول تری کلرواستیک اسید 10 درصد به حجم 100 میلی متر رسانیده شد. 3 میلی متر از محلول صاف شده را به همراه 3 میلی متر محلول تیوباریتوریک اسید 0/02 مولار در یک لوله آزمایش در پیچ دار با هم مخلوط کرده و به مدت 45 دقیقه در آون (Memmert، آلمان) با دمای 95 درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از این مدت و خنک شدن نمونه ها، میزان جذب نوری نمونه ها در طول موج 532 نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (Cecil، انگلیس) اندازه گیری گردید [24،22،15]. جهت تهیه نمونه شاهد، مقدار 3 میلی متر از محلول تری کلرواستیک اسید 10 درصد با 3 میلی متر از محلول 0/02 مولار تیوباریتوریک اسید مخلوط گردید و سپس با استفاده از فرمول زیر میزان میلی گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم از گوشت اندازه گیری گردید [22،13].

(میزان جذب نوری نمونه ها = As، میزان جذب نوری محلول استاندارد تیوباریتوریک اسید = Ab)

$$TBA (mgMDA/kg \text{ of tissue}) = \frac{50 \times (As - Ab)}{200}$$

2-4- تجزیه تحلیل آماری

داده های به دست آمده با کمک نرم افزار SPSS نسخه 16 به صورت توصیفی و تحلیلی مورد بررسی قرار گرفت. تحلیل داده ها با آنالیز واریانس با اندازه گیری تکراری (Repeated measures two way analysis of variance) آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تکمیلی LSD انجام شد. $\alpha = 0/05$

مخلوط کرده و مدت 3 دقیقه هموژن شد سپس سریال رقت ها در لوله های حاوی آب پپتونهی 1 درصد تهیه گردید. کشت و شمارش کلی میکروبی به روش کشت سطحی در پلیت های محتوی محیط کشت PCA¹ (Merck، آلمان) انجام گردید. پلیت ها به مدت 24 ساعت در دمای 30 درجه سانتی گراد نگهداری گردیدند [16]. برای کشت و شمارش باکتری های اسیدلاکتیک از محیط کشت MRS² (Q LAB، کانادا) استفاده شد و پلیت ها به مدت 72 ساعت در دمای 30 درجه سانتی گراد در اتمسفر هوازی گرمخانه گذاری شدند [18،17]. کشت و شمارش باکتری های سودوموناس به روش کشت سطحی بر روی محیط کشت CFC³ (Merck، آلمان) گرمخانه گذاری به مدت 48 ساعت در دمای 25 درجه سانتی - گراد صورت گرفت [19]. کشت و شمارش باکتری های خانواده انتروباکتریاسه بر روی محیط کشت VRBGA⁴ (Himedia، هندوستان) انجام شد و در دمای 37 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت نگهداری گردید. سپس اقدام به شمارش تعداد کلنی ها گردید و نتایج حاصل بر اساس لگاریتم واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم گزارش گردید [19].

2-3- آنالیزهای شیمیایی

برای تعیین pH به این منظور مقدار 5 گرم از نمونه به همراه 45 میلی لیتر آب مقطر در یک بشر 250 میلی لیتری و توسط همزن به طور کامل هموژن گردید و سپس توسط pH متر دیجیتالی (Sartorius، آلمان) میزان pH نمونه اندازه گیری شد [21،20].

به منظور اندازه گیری مواد از ته فرار (TVN⁵) با استفاده از دستگاه کلدال اتوماتیک (مدل 740 بخشی، ایران) بر طبق روش Ojagh و همکاران (2010) انجام گرفت. به این صورت که مقدار 10 گرم نمونه گوشت گاو میکس شده به همراه 1 گرم پودر اکسید منیزیم (Merck، آلمان) درون بالن تقطیر دستگاه کلدال ریخته شد و سپس 60 میلی متر آب مقطر به آن اضافه گردید. یک ارلن حاوی 10 قطره معرف توشیرو (معرف رنگی متشکل از بروموکرزول گرین و متیل رد) به عنوان ظرف گیرنده به قسمت سردکننده دستگاه تقطیر وصل گردید. دستگاه به طور اتوماتیک مقدار 40 میلی لیتر اسید بوریک 2 درصد (Merck، آلمان) را از مخزن اسید بوریک برداشته و وارد ارلن گیرنده نمود. پس از روشن شدن دستگاه، محتوی

1. Plate Count Agar
2. De Man Rogosa Sharp Agar
3. Cetrinide Fusidin Cephaloridine
4. Violet Red Bile Glucose Agar
5. Total Volatile Basic Nitrogen

مبنای قضاوت آماری لحاظ گردید.

3- نتایج و بحث

3-1- نتایج آنالیزهای میکروبی

نتایج مربوط به تغییرات جمعیت‌های میکروبی شامل شمارش کلی میکروبی، اسیدلاکتیک، انتروباکتریاسه و سودوموناس در شرایط بسته‌بندی MAP در نمودار 1 تا 4 نمایش داده شده است. در همه موارد مشخص گردید که میزان باکتری‌ها در دو گروه کیتوزان با اسانس و کیتوزان بدون اسانس در قیاس با گروه کنترل کاهش یافته است. برطبق نمودار 1 میزان شمارش کلی میکروبی در نمونه‌های گوشت در تمامی روزها روند افزایشی داشت و بین هر سه گروه تفاوت معنی‌دار بود ($P < 0/001$). تغییرات لگاریتم باکتری در گروه کنترل از دو گروه دیگر به‌طور چشمگیری بیشتر بود. میزان اولیه شمارش کلی میکروبی به ترتیب مربوط به گروه پوشش کیتوزان با اسانس ($3/16 \text{ Log CFU/g}$)، گروه پوشش کیتوزان بدون اسانس ($3/18 \text{ Log CFU/g}$) و در گروه کنترل ($3/22 \text{ CFU/g}$) بود. نهایتاً در پایان نگهداری شمارش کلی میکروبی به سطح ($5/20 \text{ Log CFU/g}$) در گروه کیتوزان با اسانس، ($6/90 \text{ Log CFU/g}$) در گروه کیتوزان بدون اسانس و ($8/44 \text{ Log CFU/g}$) در گروه کنترل رسیدند. در این مطالعه شمارش کلی میکروبی در گروه کنترل از روز نهم نگهداری از حد استاندارد (7 Log CFU/g) فراتر رفت. Sedaghat و همکاران (2015) مشابه گزارش حاضر نشان دادند زمان نگهداری گوشت در یخچال در شمارش کلی میکروبی گوشت تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0/001$) [25]. در

تحقیق Molaee و همکاران (2017) که اثر فیلم کیتوزان حاوی اسانس زیره سیاه بر فیله مرغ بررسی شد نیز نشان داده شد، نمونه‌های مرغ بسته بندی شده با فیلم حاوی اسانس نسبت به نمونه‌های کنترل مقادیر پایین‌تری از تراکم یا بار میکروبی را نشان دادند ($P < 0/05$) و به‌طور کلی روند مثبتی در اثر افزودن اسانس به فیلم کیتوزان در کاهش شمارش کلی میکروبی مشاهده شد [26]. در تحقیق Latou و همکاران (2014) اثر کیتوزان و بسته بندی MAP نشان داد که پس از 14 روز نگهداری همچنان بار باکتریایی کمتر از $\text{Log } 7\text{CFU/g}$ بود [27]. مطالعه Prashanth و Tharanathan (2007) بیان داشت که اثر ضد میکروبی کیتوزان از طریق تغییر نفوذپذیری غشا سیتوپلاسمی، منجر به نشت الکترولیت‌ها و مواد پروتئینی از سیتوپلاسم به خارج سلول شده و در نهایت باعث مرگ سلول می‌شود [28]. Kassem و همکاران (2011) دریافتند که افزودن اسانس آویشن شیرازی به گوشت باعث کاهش میزان آلودگی باکتریایی و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری آن می‌گردد [29]. Mitsumoto و همکاران (2005) به این نتیجه رسیدند که زمان نگهداری گوشت خام در شرایط یخچالی حدود 7 روز می‌باشد [30]. همچنین Zakrys و همکاران (2011) با مطالعه بر روی استیک‌های بسته‌بندی گوشت گوساله مشخص کردند که زمان نگهداری نمونه‌ها با استفاده از 80 درصد اکسیژن در بسته‌بندی MAP حداقل 14 روز می‌باشد [31]. که در مطالعه حاضر نمونه‌ها با پوشش کیتوزان با اسانس زیره سبز در بسته‌بندی MAP تا پایان روز آزمایش از حد استاندارد فراتر نرفت.

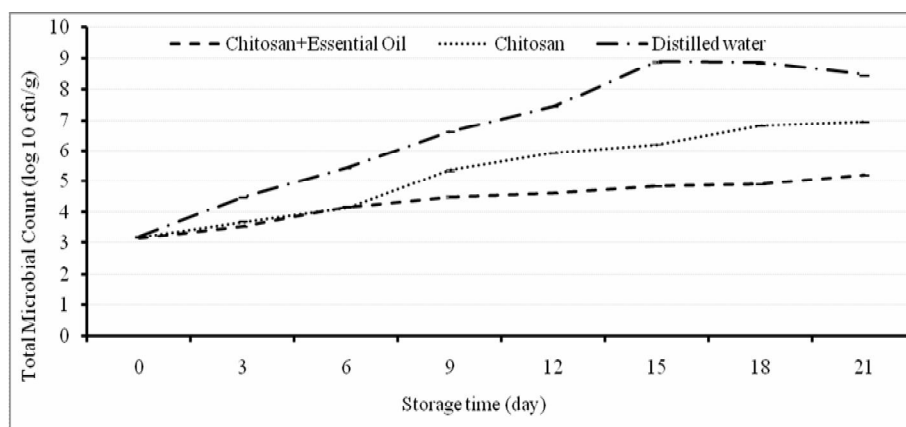


Fig 1 Mean changes of logarithm of Total Microbial Count of meat fillet during 21 days of storage in refrigerator temperature

هستند و به‌عنوان بخشی از فلور میکروبی گوشت شناخته

باکتری های اسیدلاکتیک، باکتری های بی‌هوازی اختیاری

لگاریتمی از جمعیت باکتریایی رخ داد [33]. نتایج Fratianni و همکاران (2010) نیز نشان داد که اسانس موجب کاهش رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک در گوشت سینه مرغ می‌شود [34]. که Arrieta و همکاران (2013) مکانیسم فعالیت ضد-میکروبی اسانس‌های روغنی را این چنین بیان کردند، که اسانس‌ها علاوه بر حمله به فسفولیپیدهای موجود در دیواره سلولی و متعاقباً افزایش نفوذپذیری و نشت سیتوپلاسم و خروج ATP به عوامل دیگری نیز وابسته است. ترکیبات فنلی موجود در اسانس موجب تغییر در عملکرد انواع اسانس‌ها می‌شود. به علاوه همین ترکیبات فنلی در ترکیب با سایر نگهدارنده‌ها از جمله پوشش‌های خوراکی می‌تواند باعث مهار رشد باکتری‌ها گردد [35]. در مطالعه Tajik و همکاران (2015) که به بررسی اثرات عصاره انگور و اسانس آویشن شیرازی بر گوشت قرمز پرداختند روند افزایشی شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک را از همان ابتدا مشاهده کردند به-طوری که در روز نهم نگهداری این میزان از (Log CFU/g) 5 فراتر رفت [36].

می‌شوند. بعضی از گونه‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک می‌توانند به‌عنوان عوامل فساد گوشت مطرح باشند [32]. برای شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک با توجه به بسته‌بندی MAP و گروه‌ها نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که گروه کیتوزان با اسانس توانست از دو گروه کیتوزان بدون اسانس و گروه کنترل موثرتر عمل کند و روند کاهشی بیشتری در تعداد باکتری‌ها در روز آخر نگهداری نسبت به گروه کنترل داشت، به‌طوری که در روز بیست‌ویکم میزان شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک در گروه کیتوزان با اسانس (3/94 Log CFU/g) بود درحالی که در گروه کنترل این میزان بیشتر از Log CFU/g 1 افزایش یافت. طبق نمودار 2 در گروه کیتوزان با اسانس تا روز ششم نگهداری همچنان شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک صفر بود اما در گروه کیتوزان بدون اسانس و کنترل این میزان به‌ترتیب (2/49 Log CFU/g) و (3/16 Log CFU/g) بود. Giatrakou و Savvaidis (2012) در مطالعه بررسی اثر پوشش کیتوزان و اسانس رزماری نشان دادند که در شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک کاهش 2 سیکل

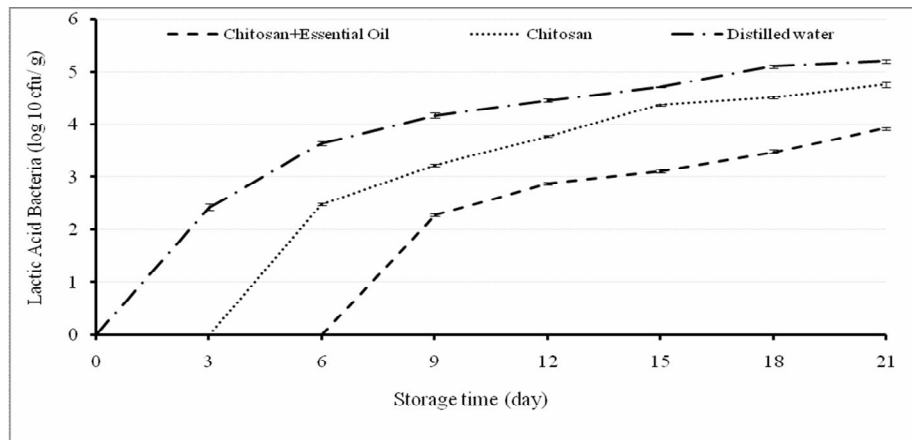


Fig 2 Mean changes of logarithm of LAB counts of meat fillet during 21 days of storage in refrigerator temperature

Soldatou و همکاران (2009) نیز چنین نتیجه‌ای را گزارش نمودند [38]. در مطالعه حاضر با توجه به میانگین و خطای معیار کلی شمارش باکتری‌های انتروباکتریاسه تفاوت معنی‌داری بین هر سه گروه وجود دارد. که این تفاوت از روز صفر تا روز بیست‌ویکم نگهداری بوده و تغییرات در طول زمان معنی‌دار می‌باشد. در مورد دو گروه کیتوزان با اسانس و کیتوزان بدون اسانس می‌توان اشاره داشت که تا روز ششم رشد باکتریایی تقریباً مشابه یکدیگر بوده اما از روز نهم شمارش باکتری‌های انتروباکتریاسه در گروه کیتوزان با اسانس روند افزایشی کمتری داشته که نشان از اثر اسانس با خاصیت

به‌طور کلی، باکتری‌های انتروباکتریاسه به عنوان گروهی از باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری قسمتی از میکروفلور گوشت را تشکیل می‌دهند. Dahham و همکاران (2010) اثر سینرژیستی اسانس و پوشش را بر مهار رشد باکتری‌های انتروباکتریاسه بیان کردند [37]. Tajik و همکاران (2015) و Kassem و همکاران (2011) مطابق با نتایج حاضر به اثرات قابل توجه اسانس‌های روغنی بر مهار رشد باکتری‌های انتروباکتریاسه در گوشت اشاره نمودند. نتایج مطالعه حاضر اثر سینرژیستی پوشش کیتوزان با اسانس زیره سبز را بر مهار رشد این باکتری‌های انتروباکتریاسه مشخص می‌کند [36,29].

گروه کیتوزان بدون اسانس و در آخر گروه کیتوزان با اسانس بود. (4/38 Log CFU/g)

ضدمیکروبی اش دارد. در پایان نگهداری نمونه‌ها، بیشترین میزان شمارش باکتری‌های انتروباکتریاسه مربوط به گروه کنترل در (5/09 Log CFU/g) سپس (5/75 Log CFU/g)

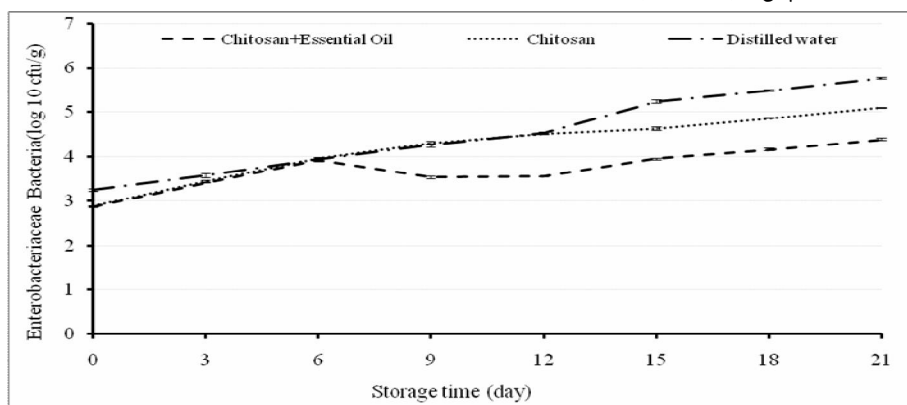


Fig 3 Mean changes of logarithm of Enterobacteriaceae counts of meat fillet during 21 days of storage in refrigerator temperature

رقیب در مقابل میکروارگانسیم‌های پاتوژن و عوامل فساد به حساب می‌آیند که می‌توانند باعث کاهش رشد این میکروارگانسیم‌ها در مواد غذایی شوند [14]. مطالعه Mielnik و همکاران (2006) بر خلاف مطالعه حاضر و همچنین مطالعه Tajik و همکاران (2015) نشان داد که میزان بالای اکسیژن در بسته‌بندی باعث افزایش رشد باکتری‌های سودوموناس می‌گردد، که دلیل این امر می‌تواند به اثر سایر ترکیبات گازی استفاده شده مربوط گردد [39,36]. Sedaghat و همکاران (2015) نیز اظهار داشتند که وجود فیلم کربوکسی متیل سلولز باعث کاهش شمارش باکتری‌های سودوموناس در گوشت گوسفند می‌گردد [25]. زیرا این پوشش‌ها جاذب الرطوبه‌اند و با کاهش فعالیت آبی به‌طور معنی‌دار می‌توانند امکان رشد را از باکتری‌های سودوموناس بگیرند. سایر مطالعات مطابق نتایج تحقیق حاضر نشان دادند که استفاده از MAP باعث محدودیت رشد باکتری‌های سودوموناس می‌شود [36].

با توجه به اینکه شرایط بسته‌بندی برای رشد باکتری‌های سودوموناس مناسب می‌باشد اما اثر مناسب ترکیب پوشش کیتوزان با اسانس را روی کنترل و مهار رشد باکتری‌های سودوموناس در مقایسه با دو گروه دیگر با توجه به میانگین و خطای معیار کلی حاصل از آنالیز آماری مشهود می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که تغییرات بین هر سه گروه از روز صفر تا بیست و یکم نگهداری معنی‌دار بوده است ($P < 0/001$). همچنین مطابق نمودار 4 می‌توان بیان کرد که اثر بهتر اسانس در روز نهم مطالعه مشاهده شد که نسبت به روز ششم کاهش سیکل لگاریتمی مشاهده شد. در گروه کنترل شمارش باکتری‌های سودوموناس نسبت به دو گروه دیگر روند افزایشی قابل ملاحظه‌ای را در طول دوره نگهداری نشان می‌دهد که در مورد دو گروه کیتوزان با اسانس و کیتوزان بدون اسانس می‌توان گفت که ترکیبات ضدمیکروبی از پوشش‌ها به محیط انتشار یافته و از رشد میکروبی جلوگیری می‌کند. باکتری‌های سودوموناس با مصرف سیدروفورها به‌عنوان عوامل

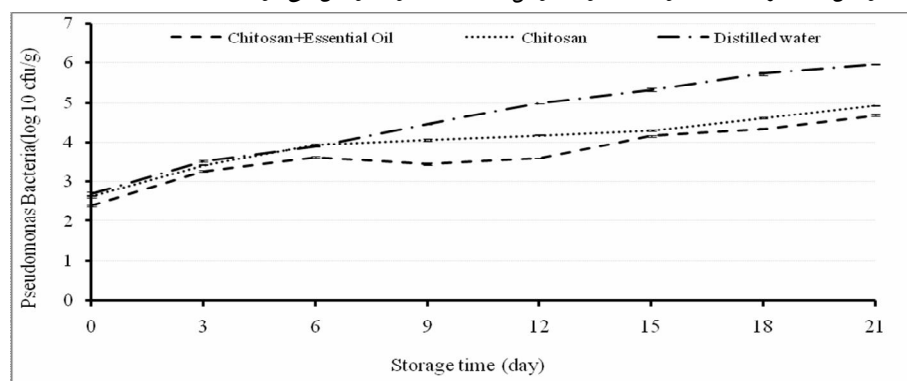


Fig 4 Mean changes of logarithm of Pseudomonas counts of meat fillet during 21 days of storage in refrigerator temperature

2-3- نتایج آنالیزهای شیمیایی

در این مطالعه فاکتور مورد بررسی pH به طور قابل ملاحظه‌ای اثر توأم کیتوزان با اسانس را نسبت به دو گروه دیگر نشان می‌دهد. به طوری که میانگین و خطای معیار کلی گروه کیتوزان با اسانس نسبت به دو گروه دیگر نیز کمتر می‌باشد. در روز بیست و یکم نگهداری کمترین میزان pH در گروه کیتوزان با اسانس معادل 5/97 مشاهده شد و سپس به ترتیب pH در گروه کیتوزان بدون اسانس 6/32 و گروه کنترل 6/66 بود. در طول نگهداری ترکیب کیتوزان با اسانس توانست همچنان میزان pH را کمتر از 6 نگهدارد و حتی در فاصله روز ششم تا نهم نگهداری طبق نمودار 5 مشابه با نتایج میکروبی کاهش

pH ملاحظه شد که دلیل این امر را می‌توان به بیشترین اثر اسانس در این فاصله زمانی دانست. نتایج مطالعات سایر محققین با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد چرا که همه نشان دادند استفاده از پوشش کیتوزان در نمونه‌های گوشت باعث کاهش pH نسبت به گروه کنترل می‌گردد. همچنین افزودن اسانس نیز می‌تواند اثر سینرژیستی بر کنترل pH داشته باشد. Sedaghat و همکاران (2015) نیز نشان دادند استفاده از فیلم کربوکسی متیل سلولز باعث کاهش pH در گوشت می‌شود. در تحقیق پیش رو می‌توان افزایش pH را در طول دوره نگهداری به تولید ترکیبات فرار مانند آمونیاک و تری متیل آمین حاصل از باکتری‌های عامل فساد نسبت داد [25].

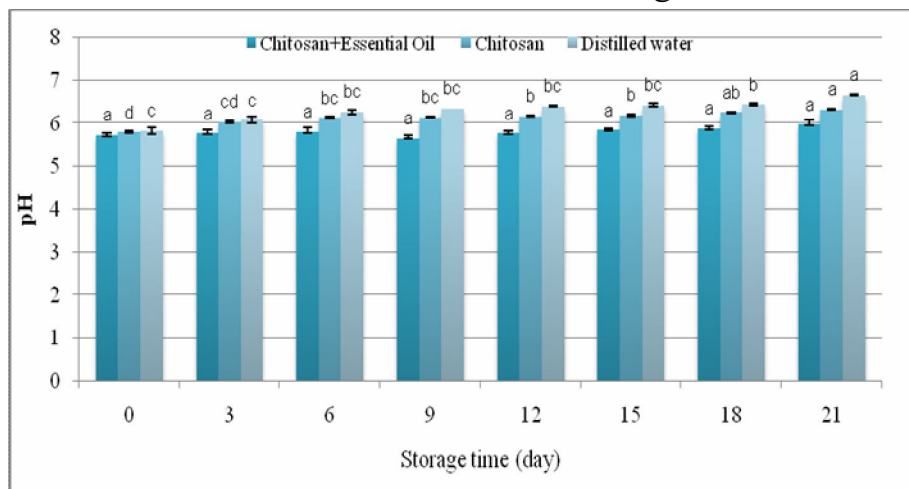


Fig 5 Mean changes of pH in meat fillet during 21 days of storage in refrigerator temperature

فوق مطابقت داشته که در روز آخر میزان شمارش کلی باکتری‌ها از (7 Log CFU/g) فراتر رفته است. تا روز هجدهم نگهداری روند افزایشی مشابهی در هر سه گروه مشاهده شد. اما از روز هجدهم تا بیست و یکم افزایش سریع TVN در مورد گروه کنترل می‌توان مشاهده کرد. Gomez و همکاران (2002) علت اصلی افزایش TVN در گوشت را تخریب پروتئین‌ها توسط باکتری‌ها و افزایش آن را هم‌سو با افزایش شمارش باکتری‌ها بیان کردند [40]. Vasilatos و Savvaidis (2013) مطابق نتایج مطالعه حاضر با بررسی اثر کیتوزان و رزماری بر ماندگاری گوشت بوقلمون بهبود خواص شیمیایی را گزارش کردند [41].

شاخص TVN در مجموع شامل تری متیل آمین (حاصل فساد باکتریایی) و دی متیل آمین (حاصل خود هضمی آنزیمی)، آمونیاک و سایر ترکیبات فرار آمینی در ارتباط با فساد فرآورده های گوشتی است. در مطالعه حاضر میزان TVN پایین‌تر در گروه کیتوزان با اسانس را می‌توان به علت ویژگی های آنتی-باکتریایی اسانس و به خصوص ماهیت هیدروفوبیک ترکیبات فنلی موجود در آن دانست. در گروه کیتوزان با اسانس میزان نهایی TVN در روز بیست و یکم نگهداری 21/42 بود که در مقایسه با گروه کنترل 28/77 روند افزایشی کمتری داشته است. تغییرات TVN در گروه کنترل از روز سوم نگهداری قابل ملاحظه بوده به طوری که گوشت در روز آخر نگهداری غیر قابل مصرف می‌باشد. این نتایج همچنین با نتایج میکروبی

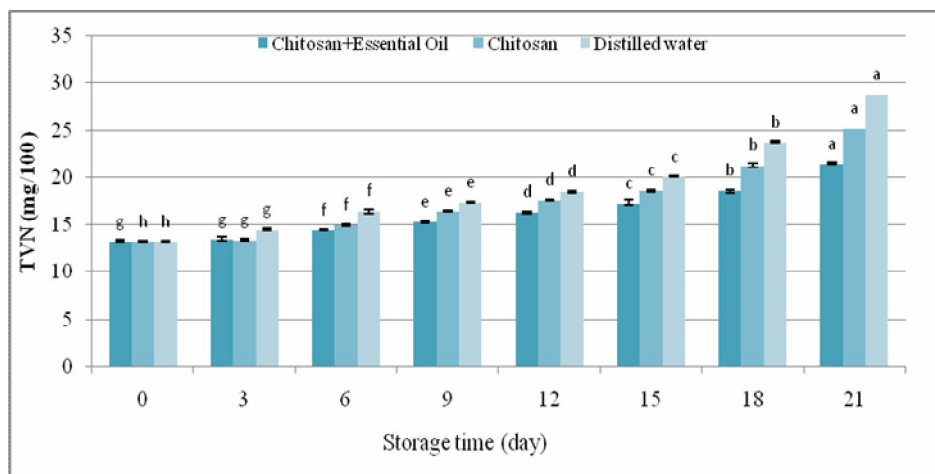


Fig 6 Mean changes of TVN in meat fillet during 21 days of storage in refrigerator temperature

میله گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم گوشت همراه با فساد اکسیداتیو در گوشت می باشد [44]. همانطور که در نمودار 7 نشان داده شده است نتایج تحقیق فوق در گروه کنترل با مطالعه حاضر مطابقت دارد. در ارتباط با اثر پوشش کیتوزان به تنهایی یا همراه اسانس در کنترل و کاهش اکسیداسیون چربی گوشت، نکته قابل توجه در این تحقیق، وجود اختلاف معنی دار در میزان TBA در هر سه گروه از روز ششم تا روز بیست و یکم نگهداری را می توان مشاهده کرد ($P < 0/05$). Yingyuad و همکاران (2006) نشان دادند که استفاده از پوشش کیتوزان در گوشت خوک باعث کاهش قابل توجه اکسیداسیون چربی و افزایش کیفیت و مدت ماندگاری گوشت می گردد [45]. Estaca و همکاران (2007)، No و همکاران (2007) و Kanatt و همکاران (2008) نیز در استفاده توأم پوشش کیتوزان و عصاره های گیاهی مطابق با نتایج مطالعه حاضر گزارش کردند که گروه های کیتوزان حاوی عصاره های گیاهی نسبت به گروه های بدون پوشش میزان TBA کمتری را در طول مدت نگهداری نشان دادند [48,47,46].

حساسیت گوشت نسبت به اکسیداسیون چربی و افزایش TBA بستگی به فاکتورهای مختلفی از قبیل گونه حیوان، موقعیت تشریحی عضلات بدن، مدت زمان نگهداری، روش های بسته بندی و اضافه کردن آنتی اکسیدان ها دارد. اگرچه رادیکال های آزاد به عنوان عامل تشدید کننده اکسیداسیون چربی در گوشت شناخته شده اند اما میزان چربی و ترکیب اسید چرب نیز اهمیت زیادی در اکسیداسیون چربی گوشت در طول مدت نگهداری دارد. مکانیسم کاهش TBA در استفاده از کیتوزان، شلاته کردن یون های آهن پروتئین های گوشت می باشد [43,42]. میزان TBA بر حسب میله گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم گوشت در گروه های کیتوزان با اسانس، کیتوزان بدون اسانس و کنترل در نمودار 7 نشان داده شده است. با افزایش مدت زمان نگهداری میزان TBA در هر سه گروه افزایش یافته است. حداقل و حداکثر میزان TBA به ترتیب 0/22 میله گرم مالون دی آلدئید در گروه کیتوزان با اسانس در روز صفر و 2/9 میله گرم مالون دی آلدئید در گروه کنترل در روز بیست و یکم در هر کیلوگرم گوشت می باشد. Teets و همکاران (2008) گزارش کردند TBA با میزان 3

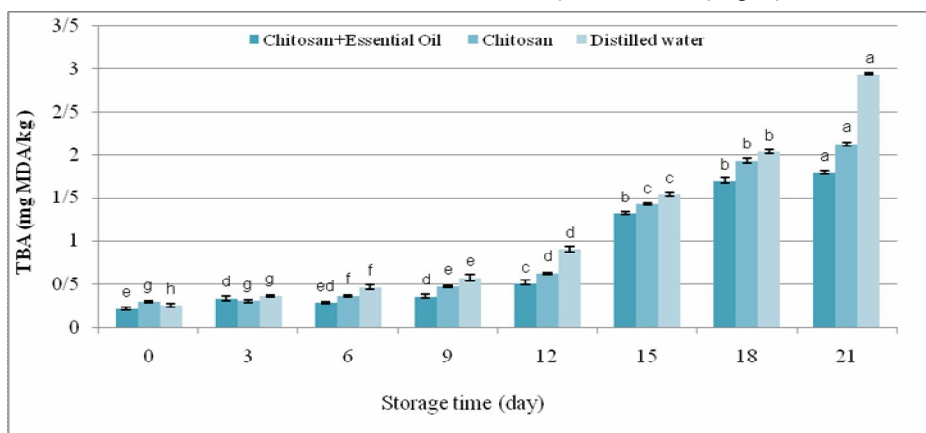


Fig 7 Mean changes of TBA in meat fillet during 21 days of storage in refrigerator temperature

- Science and Technology. 35(9): 35-44.
- [5] Hojjati, M., & Ghodsi, M. (2019). Investigation of chemical compounds of cumin essential oil and its antibacterial activity. Iran's First National Conference on Agricultural and Environmental Sciences. PP: 1-7.
- [7] Mohammadi, M.Y.D., Khanjari, A., Akhondzadeh, A.B., Bokaie, S., & Cheraghi, N. (2015). Evaluation of the antimicrobial effect of chitosan and whey proteins isolate films containing free and nanoliposomal garlic essential oils against *Listeria monocytogenes*, *E.coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus*. Iranian Journal of Medical Microbiology. 13: 78-90.
- [6] Laskin, A., Gadd, I., & Sariaslani, S. (2008). Advances in applied microbiology. 63: 153-161.
- [8] Salmieri, S., Islam, F., Khan, R.A., Hossain, F.M., Ibrahim, H.M., Miao, C., Hamad, W.Y. & Lacroix, M. (2014). Antimicrobial nanocomposite films made of poly (lactic acid)- cellulose nanocrystals (PLA CNC) in food applications—part B: effect of oregano essential oil release on the inactivation of *Listeria monocytogenes* in mixed vegetables. Cellulose; Journal of Technology & Engineering. 21(6): 271-275.
- [9] Mehdizadeh, T., Tajik, H., RazaviRohani, S.M., & Oromiehie, A.R. (2012). Antibacterial, antioxidant and optical properties of edible starch-chitosan composite film containing *Thymus kotschyanus* essential oil. Journal of Veterinary Research Forum. 3(3): 167-173.
- [10] Langroodi, A.M., & Tajik, H. (2017). Antimicrobial effects of hydroalcohol sumac extract with chitosan containing *Zataria multiflora* Boiss essential oil on beef meat in normal and modified atmosphere packaging. The Journal of Urmia University of Medical Sciences. 28(3): 192-205.
- [11] Giovanna, F., Khanh, D.V., Francesco, D., & Stéphane, S. (2014). Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nanoemulsion of essential oils, modified atmosphere packaging and gamma irradiation against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* on green beans. Renato Severino, Journal of Food Control. 14: 2-8.
- [12] Karabagias, I., Badeka, A., & Kontominas, M.G. (2011). Shelf life extension of lamb meat using thyme or

4- نتیجه گیری

در تحقیق حاضر اثر ممانعت رشد میکروبی در گروه کیتوزان با اسانس در مقایسه با گروه کیتوزان بدون اسانس بیشتر بود. به طوری که با افزودن اسانس میزان بازدارندگی میکروبی افزایش یافت. همین‌طور اختلاف معنی‌داری میان تأثیر ممانعت‌کنندگی در رشد و تکثیر میکروبی گروه‌های کیتوزان با اسانس و گروه کیتوزان بدون اسانس با گروه کنترل مشاهده شد ($P < 0/05$). کاربرد پوشش خوراکی می‌تواند با کاهش بار میکروبی روند تخریب گوشت را کندتر کند. با اجرای این مطالعه و مطالعات مشابه در مورد کاربرد پوشش‌های طبیعی به تنهایی و یا حاوی اسانس‌های گیاهی دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی، می‌توان ضمن کاهش فرآورده‌های عامل اکسیداسیون، گامی موثر در جهت بهبود سلامت میکروبی و افزایش ماندگاری گوشت برداشت و زمینه لازم را برای کاربردی از این ترکیبات در انواع گوشت‌ها و فرآورده‌های آن فراهم نمود.

5- سپاسگزاری

هزینه‌های انجام مطالعه حاضر از طریق پژوهانه سال 1397 دانشگاه شهید چمران اهواز تأمین شده‌است که بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه سپاسگزاری می‌نماید.

6- منابع

- [1] Mariutti, L.R.B., Nogueira, G.C., & Bragagnolo, N. (2011). Lipid and cholesterol oxidation in chicken meat are inhibited by sage but not by garlic. Journal of Food Science and Technology. 76: 909-915.
- [2] Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R.L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. Journal of Frontiers in Microbiology. 3: 1-24.
- [3] Iranian Herbal Pharmacopoeia Development Committee. (2002). Iranian Plant Pharmacopoeia, Ministry of Health and Medical Education (Food and Drug Administration). 1: 51-56.
- [4] Fazlara, A., Sadeghi, E. & Rostami Soleimani, P. (2012). Study on the antibacterial effects of *Cuminum cyminum* essential oil on *Listeria monocytogenes* in Iranian white cheese. Journal of Food

- [22] Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., & Hosseini, S.M.H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Journal of Food Chemistry*. 120(1): 193-198.
- [23] Molan, A.L., De, S., & Meagher, L. (2008). Antioxidant activity and polyphenol content of green tea flavan-3-ols and oligomeric pro anthocyanidins. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 60: 497-506.
- [24] Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., & Shoemaker, C.F. (2005). *Handbook of Food Analytical Chemistry*, John Wiley and Sons, USA. PP: 547-565.
- [25] Sedaght, N., Mohammad-Hosseini, M., Khoshnoudi-nia, S., Habibi, M.B., & Koocheki A. (2015). Antimicrobial Properties of CMC-based Edible Films Incorporated with Coriander and Citrus Lemon Essential oils on the Shelf-life of Fresh Lamb-meat at Refrigerator Temperature. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 9: 53-62.
- [26] Molaee, A.E., Kamkar, A., Khanjari, A., & Oladi, M. (2017). Effect of Packaging with Chitosan Film Containing Bunium Persicum L. Essential Oil on Chemical and Microbial Properties of Chicken Fillet. *Journal of Fasa University of Medical Sciences*. 7:104-115.
- [27] Latou, E., Mexis, S.F., Badeka, A.V., Kontakos, S. & Kontominas, M.G. (2014). Combined effect of chitosan and modified atmosphere packaging for shelf life extension of chicken breast fillets. *LWT - Journal of Food Science and Technology*. 55: 263- 268.
- [28] Prashanth, H.K.V., & Tharanathan, R.N. (2007). Chitin/Chitosan: modifications and their unlimited application potential-an overview. *Trends in Food Science and Technology*. 18: 117-131.
- [29] Kassem, G.M., Atta-Alla, O.A., Ali, F.H.M. (2011). Improving the quality of beef burger by adding thyme essential oil and jojoba oil. *Arch Zootec*. 60: 78-95.
- [30] Mitsumoto, M., O'grady, M.N., Kerry, J.P., Buckley, D.J. (2005). Addition of tea catechins and vitamin C on sensory evaluation, colour and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chicken patties. *Journal of Meat Science*. 69: oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Journal of Meat Science*. 88: 109-116.
- [13] Molaee, A.E., Kamkar, A., Akhondzadeh B.A., Khanjari, A., & Kontominas, M.G. (2015). Effect of packaging with Chitosan biodegradable films formulated with Garlic essential oil (*Allium sativum* L.) on chemical properties of chicken fillet. *Iranian Journal of Health and Environment*. 8(3): 379-390.
- [14] Bazargani, B., Aliakbarlu, J., & Tajik, H. (2015). 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. *Innovative Journal of Food Science and Emerging Technologies*. 29: 280-287.
- [15] Tajik, H., Hassanzadeh, P., & Razavi, R.M. (2011). Application of chitosan edible coating containing grape seed extract on the quality and shelf life of refrigerated chicken meat. *Journal of Food Science and Technology Research*. 12: 87-100.
- [16] Spinelli, S., Conte, A., Lecce, L., Incoronato, A.L., & Del Nobile, M.A. (2015). Microencapsulated propolis to enhance the antioxidant properties of fresh fish burgers. *Journal of Food Process Engineering*. 38: 527-535.
- [17] Doulgeraki, A.I., Paramithiotis, S., Kagkli, D.M., & Nychas, G.J.E. (2010). Lactic acid bacteria population dynamics during minced beef storage under aerobic or modified atmosphere packaging conditions. *Journal of Food microbiology*. 27: 1028-1034.
- [18] Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Munoz, T., Sendra, E., Navarro, C., & Pérez-Alvarez, J.A. (2008). Effect of packaging conditions on shelf-life of ostrich steaks. *Journal of Meat Science*. 70: 143-152.
- [19] APHA. (2015). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 5nd ed. American Public Health Association, Washington D.C.
- [20] Benjakul, S., Seymour, T.A., Morrissey, M.T. & An, H. (1997). Physicochemical changes in pacific whiting muscle proteins during iced storage. *Journal of Food Science*. 62: 729-733.
- [21] Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., & Chi, Y. (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Journal of Food Chemistry*. 115: 66-70.

- stored turkey meat. *Journal of LWT-Food Science and Technology*. 39: 191–198.
- [40] Gomez-E., J., Montero, P., Gomez-G, B. & Guillen, M.C. (2007). Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Journal of Food Chemistry*. 105: 511-520.
- [41] Vasilatos, G.C., & Savvaidis, I.N. (2013). Chitosan or rosemary oil treatments, singly or combined to increase turkey meat shelf-life. *International Journal of Food Microbiology*. 166: 54-58.
- [42] Shahidi, F., & Abuzaytoun, R. (2005). Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, production, application, and health effects. *Advances in Food and Nutrition Research*. 49: 93-135.
- [43] Kim, S.Y., Jeong, S.M., Park, W.P., Nam, K.C., Ahn, D.U., & Lee, S.C. (2006). Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. *Journal of Food Chemistry*. 97: 472-479.
- [44] Teets, A.S., Sundararaman, M., & Were, L.M. (2008). Electron beam irradiated almond skin powder inhibition of lipid oxidation in cooked salted ground chicken breast. *Journal of Food Chemistry*. 111: 934–941.
- [45] Yingyuad, S., Ruamsin, S., Reekprkhon, D., Douglas, S., Pongamphai, S., & Siripatrawan, U. (2006). Effect of chitosan coating and vacuum packaging on the quality of refrigerated grilled pork. *Journal of Packaging Technology and Science*. 19: 149–157.
- [46] Estaca, J.G., Montero, P., Gimenez, B., & Guillen, M.C.G. (2007). Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Journal of Food Chemistry*. 105: 511–520.
- [47] No, H.K., Meyers, S.P., Prinyawiwatkul, W., & Xu, Z. (2007). Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review. *Journal of Food Science*. 72: 87-100.
- [48] Kanatt, S.R., Chander, R., & Sharma, A. (2008). Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *Journal of Food Chemistry*. 107: 845–852.
- 773–799.
- [31] Zakrys-Waliwander, P.I., O'Sullivan, M.G., Walsh, H., Allen, P., & Kerry, J.P. (2011). Sensory comparison of commercial low and high oxygen modified atmosphere packed sirloin beef steaks. *Journal of Meat Science*. 88: 198–202.
- [32] Jay, J.M., Loessner, M.J., & Golden, D.A. (2005). *Modern Food Microbiology*. New York: NY. Springer. PP: 63–91.
- [33] Giatrakou, V. & Savvaidis, I.N. (2012). Bioactive packaging technologies with chitosan as a natural preservative agent for extended shelf-life food products. In: Arvanitoyannis I. *Modified Atmosphere and Active Packaging Technologies*. Ed. Boca Raton: Taylor & Francis. PP: 685–730.
- [34] Fratianni, F., De Martino, L., Melone, A., De Feo, V., Coppola, R., & Nazzaro, F. (2010). Preservation of chicken breast meat treated with thyme and balm essential oils. *Journal of Food Science*. 75(8): 28-35.
- [35] Arrieta, M.P., Peltzer, M.A., Garrigós, M.C., & Jiménez, A. (2013). Structure and mechanical properties of sodium and calcium caseinate edible active films with carvacrol. *Journal of Food Engineering*. 114: 486–494.
- [36] Tajik, H., Aminzare, M., Mounesi, T., Hashemi, M., Hassanzad, H., Raeisi, M., & Naghili, H. (2015). Effect of zataria multiflora boiss essential oil and grape seed extract on the shelf life of raw buffalo patty and fate of inoculated listeria monocytogenes. *Journal of Food Processing and Preservation*. 6: 5-13.
- [37] Dahham, S.S., Ali, M.N., Tabassum, H., & Khan, M. (2010). Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum L.*). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*. 9: 273-281.
- [38] Soldatou, N., Nerantzaki, A., Kontominas, M.G., & Savvaidis, I.N. (2009). Physicochemical and microbiological changes of “Souvlaki”—A Greek delicacy lamb meat product: Evaluation of shelflife using microbial, color and lipid oxidation parameters. *Journal Food Chemistry*. 113: 36–42.
- [39] Mielnik, M.B., Olsen, E., Vogt, G., Adeline, D., & Skrede, G. (2006). Grape seed extract as antioxidant in cooked, cold

The effects of edible chitosan coating containing *Cuminum cyminum* essential oil on the shelf-life of meat in modified atmosphere packaging

Fattahian, A.¹, Fazlara, A.^{2*}, Maktabi, S.², PourMahdi, M.², Bavarsad, N.^{3,4}

1. Ph.D. Student of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3. Nanotechnology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
4. Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

(Received: 2020/01/06 Accepted: 2020/02/15)

Meat is prone to contamination and spoilage due to its composition and production. Therefore, in order to extend its shelf life, the use of antioxidant and antimicrobial compounds has always been the focus of researchers' attention. The present study was conducted to evaluate effects of edible chitosan (2%) coating containing *Cuminum cyminum* essential oil (1%) on the shelf-life of meat in modified atmosphere packaging at refrigerated storage. The meat samples were separated into three groups uncoated (control), treated with chitosan coated without *Cuminum cyminum* essential oil and immersed in chitosan coated with *Cuminum cyminum* essential oil.

Then Samples were packed in MAP (80% O₂ and 20% CO₂) conditions and stored at 4°C up to 21 days and evaluated periodically (on days 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 and 21) for microbiological (Total microbial counts, lactic acid bacteria, Enterobacteriaceae and *Pseudomonas* spp.) and chemical (pH, TBA and TVN) characteristics. Microbial analysis indicated that coating had significant influence ($p < 0.001$) on reduction of increasing trends of Total microbial counts, lactic acid bacteria, Enterobacteriaceae and *Pseudomonas* spp. bacteria. From the aspects of chemical factors, the containing chitosan coating groups showed lower pH, TBA and TVN than those without coating. According to the results, chitosan coating significantly improved ($P < 0.05$) quality of samples. This study also indicated that the effect of chitosan containing *Cuminum cyminum* essential oil on samples was to retain their good quality characteristics and extend the shelf life during refrigerated storage, which was supported by the results of microbiological, chemical, and sensorial properties.

Keywords: Chitosan coating, Modified atmosphere, Shelf life, *Cuminum cyminum* essential oil, Beef

*Corresponding Author E-Mail Address: a.fazlara@scu.ac.ir.