Archive of SID

اثرات فیلم خوراکی کیتوزان حاوی اسانس زنیان بر برخی از ویژگی‌های شیمیایی گوشت مرغ

فاطمه کریم نژاد[a]، ودود رضویلر[b*]، سید امیرعلی انوار[c]، سهیل اسکندری[d]

[a] دانشجوی دکتری گروه بهداشت مواد غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[b] استاد گروه بهداشت مواد غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[c] استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[d] استادیار مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران
انیستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۹/۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۳/۴

چکیده

مقدمه: فیلم‌های خوراکی می‌توانند یک راه ایمن و مناسب برای بسته بندی مواد غذایی از جمله گوشت مرغ باشند. همچنین می‌توان به وسیله اضافه کردن ترکیبات طبیعی آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی چون اسانس‌های گیاهی به فیلم‌های خوراکی چون کیتوزان زمان ماندگاری گوشت مرغ را افزایش داد. تحقیق حاضر با هدف بررسی اثرات فیلم کیتوزان حاوی اسانس زنیان بر روی ویژگی‌های شیمیایی فیله مرغ نگهداری شده در دمای ۴° C انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: ترکیبات شیمیایی اسانس با روش کروماتوگرافی گازی–طیف سنج جرمی شناسایی و فیلم‌های کیتوزان حاوی اسانس در دو غلظت ۱ و ۲ درصد(حجمی/حجمی) به روش کاستینگ تهیه شد. فاکتورهای شیمیایی pH، TVN، TBA و PVدر نمونه‌های فیله مرغ مورد آزمایش در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ بر روی فیله‌های مرغ پوشش داده شده با فیلم‌های مختلف در دمای ۴° C ارزیابی شد و داده‌های حاصل به وسیله نرم افزار SPSS و آزمون واریانس یک طرفه و تست تعقیبی LSD مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد که نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم‌های حاوی اسانس در طول مطالعه نسبت به نمونه‌های کنترل و بدون اسانس مقادیر پایین‌تری ($p<0.05$) از تغییرات pH، TVN، TBARsو PV را نشان می‌دهد و فیلم حاوی ۲ درصد از اسانس بهترین اثرات را در مقایسه با سایر گروه‌ها داشت.

نتیجه‌گیری: استفاده از فیلم کیتوزان به ویژه محتوی اسانس زنیان در بسته‌بندی مرغ تاثیر بسیار مطلوبی در کنترل ویژگی‌های شیمیایی موثر در فساد گوشت مرغ دارد و ماندگاری آن را افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: *اسانس زنیان، فیلم کیتوزان، فیله مرغ، ماندگاری، ویژگی‌های شیمیایی*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: vrazavi@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

برای حفظ کیفیت و افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی، از فرایندهای فیزیکی، فیلم‌های پلیمری شیمیایی و سنتتیک مانند پلی‌پروپیلن، پلی‌اتیلن، پلی استایرن، پلی‌ونیل کلراید و غیره در صنایع غذایی استفاده می‌شود ولی اکثر آن‌ها، علاوه بر تاثیر نامطلوب در کیفیت و جذابیت محصولات غذایی، آثار مخرب زیست محیطی ناشی از عدم تجزیه شدن دارند و سوزاندن این ترکیبات در محیط، تولید ترکیبات سمی برای انسان و محیطزیست مانند دیوکسین‌ها، بی‌فنیل پلی‌کربناته (PBS) و مونومرهایی مانند استایرن و فوران‌ها می‌کند و از طرفی عدم امکان استفاده مجدد از مشکلات بهداشتی آن‌ها می‌باشد. بنابراین سعی شده است که به جای فرایندهای فیزیکی از سیستم‌های بسته‌بندی فعال و به جای فیلم‌های پلیمری شیمیایی و سنتتیک، از مواد نگهدارنده طبیعی استفاده گردد. همچنین استفاده از یک سیستم بسته‌بندی مناسب در مواد غذایی خام نظیر گوشت و مرغ که بسیار فسادپذیر بوده و هیچ فرایندی با اثر نگهدارندگی روی آنها صورت نمی‌گیرد، بسیار ضروری است. بنابراین امروزه بسته‌بندی‌های فعال نه تنها ماده غذایی را در برابر عوامل محیطی حفظ می‌کنند، بلکه با جلوگیری و تاخیر در فساد میکروبی و شیمیایی، ماندگاری محصول را افزایش می‌دهند (Ahvenainen, 2003). پوشش‌های زیست تخریب پذیر را می‌توان از انواع مواد طبیعی مانند لیپیدها، پلی ساکاریدها و پروتئین‌ها تهیه نمود. این پوشش‌ها علاوه بر اینکه می‌توانند ارزش غذایی ماده غذایی را بالا ببرند، به واسطه طبیعی بودنشان به راحتی در طبیعت تجزیه و سازگار با محیط زیست نیز می‌باشند و می‌توان آن‌ها را از منابع مختلف تجدید پذیر و نیز ضایعات کشاورزی و جانوری تهیه کرد. این فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی به صورت لایه پوششی نازک روی سطح ماده غذایی قرار گرفته و از این طریق تغییرات فیزیکی، شیمیایی و میکروبی را کنترل می‌کنند (Guilbert, 1986). اما پوشش‌های بسته‌بندی به تنهایی در نگهداری طولانی مدت قادر به کنترل تغییرات نام برده شده نیستند. بنابراین در صنعت مواد غذایی از یکسری افزودنی‌های ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی استفاده می‌شود ولی اکثر این افزودنی‌های شیمیایی اثرات سمی و سرطان‌زایی به همراه دارند. بنابراین امروزه سعی شده است افزودنی‌های طبیعی جایگزین افزودنی‌های شیمیایی شود (Shen and Kamdem, 2015). اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌توانند به عنوان یک افزودنی طبیعی محسوب شوند. اسانس‌ها موادی با ویژگی‌های ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی می‌باشند. اما استفاده مستقیم از اسانس‌های گیاهی در مواد غذایی در مقادیر ترکیبات موثره، به دلیل تغییرات ارگانولپتیکی و یا به علت کاهش فعالیت آن‌ها در محیط‌های غذایی اکثرا با محدودیت مواجه است. برای رفع این مشکل می‌توان از پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی به عنوان حامل استفاده کرد و با افزودن اسانس‌ها و یا سایر افزودنی‌های طبیعی به فیلم‌های خوراکی، به خوبی از اثرات آنتی اکسیدانی و یا ضد میکروبی آن‌ها بهره برد. بنابراین فیلم‌های خوراکی و زیست تخریب‌پذیر غنی شده با اسانس‌های گیاهی، به عنوان یکی از روش‌های بسته‌بندی فعال، جایگزین مناسب برای پوشش‌های پلاستیکی غیر تخریب‌پذیر و مواد نگهدارنده شیمیایی می‌تواند باشد(López-Rubio *et al*., 2004).

گیاه زنیان با نام علمی Trachyspermum Ammi از خانواده Apiaceae است. این گیاه یکساله، به‌صورت خودرو در زمین‌های خشک و نیمه خشک هند، ایران، عراق، افغانستان، پاکستان و مصر رشد می‌کند. اندام دارویی این گیاه میوه‌ی آن است که‌Carom copticum نامیده می‌شود. اسانس میوه‌ی این گیاه آجوان (Ajowan) نام دارد که غنی از ترکیبات فنلی همچون تیمول (Thymol)، سایمن (Cymene)، بتا- پینن (β-Pinene)، گاما- تریپن (γ-Trepinene) و سابینن (Sabinene) است (زرگری، ۱۳۷۶). در بسیاری از کتب طب سنتی به خواص ضد میکروبی و دارویی زنیان اشاره شده است. زنیان از نظر طبیعت مانند زیره‌ها گرم و خشک است و در زمان‌های بسیار دور، از زنیان برای مداوای نفخ، تهوع، دل درد، اسهال، نیروبخش، از دست دادن اشتها، مقوی قوای جنسی استفاده می‌شد. امروزه در طب سنتی آن را در ضعف دوران نقاهت، سرفه، درد معده، رماتیسم، درمان انواع عفونت‌های میکروبی و حتی به عنوان درمانگر تومورهای شکمی به کار می‌برند. همچنین از زنیان به عنوان یک عطر و طعم دهنده در غذاها استفاده می‌شود (اشرافی تمای و همکاران، ۱۳۹۲.، Boskabady *et al*, 2014). فعالیت ضد میکروبی زنیان با استفاده از روش میکرودایلوشن براث در چندین

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعه به اثبات رسیده است (Kazemi *et al*, 2011., Mahboubi and Kazempour, 2011). نگهداری گوشت به دلیل بالا بودن میزان رطوبت و پروتئین آن، حتی در شرایط یخچالی محدود می‌باشد و سریعا دچار فساد میکروبی و شیمیایی می‌گردد که می‌تواند علاوه بر خطرات بهداشتی باعث ایجاد تغییرات نامطلوب در خصوصیات کیفی آن از قبیل طعم و بو، رنگ، بافت و کاهش ارزش غذایی و نهایتا کاهش ماندگاری آن گردد. استفاده از فیلم‌های خوراکی حاوی اسانس و عصاره‌های گیاهی با خواص ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی در انواع گوشت‌های تازه، منجمد و عمل آوری شده، ضمن کنترل عوامل پاتوژن و جلوگیری از فساد میکروبی و شیمیایی باعث بهبود خصوصیات ارگانولپتیک و افزایش ماندگاری محصول می‌گردد و این امکان را به تولیدکنندگان می‌دهد تا غذاهای سالم‌تر و با مقبولیت بالا تولید کنند (Davidson and Zivanivic, 2003).

مواد و روش‌ها

- تهیه اسانس

استخراج اسانس زنیان با روش تقطیر با بخارآب و استفاده از دستگاه کلونجر از دانه گیاه زنیان انجام شد. بدین منظور 30 گرم دانه خشک کاملا پودر شده همراه با 400 میلی‌لیتر آب مقطر درون بالن دستگاه ریخته و مدت چهار ساعت حرارت داده شد. در اثر حرارت، دانه‌های حاوی اسانس شکسته شده و اسانس همراه با بخار آب وارد مبرد می‌شود. اسانس به دست آمده با سولفات سدیم بدون آب، آبگیری شد و اسانس خالص جداسازی و در دمای $4^{\circ}C$ نگهداری شد (Davazdah Emami *et al*., 2010).

- آنالیز اسانس زنیان

ترکیبات شیمیایی اسانس زنیان به روش کروماتوگرافی گازی–طیف سنج جرمی شناسایی شد. گاز کروماتوگراف مجهز به دتکتور FID و ستون BP5 استفاده شد. دمای آون ۶۰ تا ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد ، دمای تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حامل ازت بود. دتکتور از نوع طیف سنج جرمی بوده و حجم و دمای تزریق به ترتیب ۱ میکرومتر و ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد بود. برای محاسبه شاخص احتباس نسبی از آلکان‌ها به عنوان مرجع استفاده شد. ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با مقایسه زمان احتباس نسبی و طیف جرمی آن‌ها با اطلاعات موجود در استاندارد، اطلاعات در برنامه دستگاه کروماتوگرافی گازی شناسایی شدند (Adams, 2001).

- تهیه فیلم

برای این منظور، پودر کیتوزان با وزن مولکولی و درجه داستیلاسیون بالا 800,000 cps; >75% (deacetylation degree) (Sigma-Aldrich, USA) در محلول آبی (1% v/v) اسید استیک (Merck، Germany) روی یک صفحه‌ی گرم کننده‌ی مغناطیسی حل و محلول ۲ درصد (w/v) به دست آورده شد. محلول در حرارت کم (دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۳ ساعت روی همزن مغناطیسی هم زده و با کاغذ صافی شماره ۳ صاف شد. گلیسرول (Sigma-Aldrich, USA) به مقدار mL ۰/۵ به ازای هر گرم کیتوزان به عنوان پلاستی سایزر اضافه شد. توئین۸۰ (Sigma-Aldrich, USA) به مقدار ۰/۲۵ درصد در محلول تشکیل دهنده فیلم برای کمک به انحلال اسانس اضافه شد. pH محلول با استفاده از سود (Merck, Germany) در حدود ۵/۸ تنظیم شد. غلظت ۱ و ۲ درصد (w/w) از اسانس زنیان به محلول کیتوزان اضافه شد و سپس به وسیله هموژنایزر (IKA T25 basic, Staufen, Germany) با دور rpm ۸۰۰۰ به مدت ۳ دقیقه برای به دست آمدن امولسیون یکنواخت هموژنیزاسیون انجام گرفت. محلول‌ها درقالب‌های تفلون تخت قالب‌گیری شدند. پس از خشک شدن فیلم‌ها در دمای اتاق به مدت حداقل ۳۶ ساعت، آن‌ها را جدا کرده و فیلم‌های خشک شده به مدت ۴۸ ساعت قبل از آزمایش در دسیکاتور با رطوبت نسبی ۵۰٪ و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Moradi *et al*., 2011).

- آماده سازی نمونه‌ها

نمونه‌های فیله مرغ از کشتار روز تهیه و به سرعت در کنار یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند. فیله‌های مرغ در شرایط بهداشتی به قطعات مساوی تقسیم و سپس با فیلم‌های مختلف کیتوزان تهیه شده از قبل به صورت کامل بسته‌بندی شدند. تیمارهای مختلف در انکوباتور ۴ درجه نگهداری و در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ آزمون‌های

www.SID.ir

Archive of SID

شیمیایی روی آن‌ها انجام شد. تیمارهای مورد مطالعه شامل فیله‌های مرغ بسته‌بندی شده با فیلم‌های مختلف کیتوزان یعنی کیتوزان بدون اسانس به عنوان شاهد، کیتوزان با ۱و ۲ درصد از اسانس زنیان و نیز نمونه مرغ بدون پوشش فیلم به عنوان کنترل بودند. در مجموع ۴ گروه و در هر گروه به تعداد روزهای مطالعه و برای هر روز دو نمونه جهت انجام آزمایش در نظر گرفته شد.

- اندازه‌گیری pH

۱۰ گرم نمونه فیله مرغ با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل بطری‌های ۱۵۰ میلی‌لیتری ریخته و با دستگاه هموژنیزاتور در دور rpm ۱۳۵۰۰ به مدت ۳۰ ثانیه هموژن گردید و با دستگاه pH متر، pH نمونه‌ها در دمای اتاق اندازه‌گیری شد (Brannan, 2009).

- اندازه‌گیری مواد ازته فرار (TVN)

بدین منظور مقدار ۱۰ گرم از نمونه را همراه با ۲ گرم اکسید منیزیوم به عنوان کاتالیزور و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و چند عدد پرل شیشه‌ای در داخل لوله هضم دستگاه نیمه اتوماتیک تقطیر کلدال ریخته شد. در ارلن گیرنده ۵۰cc اسید بوریک ۲ درصد همراه با چند قطره معرف متیل اورانژ ۰/۱ درصد الکلی قرار داده شد. با حرارت دادن لوله هضم و انجام عمل تقطیر بازهای فرار در نمونه، تقطیر و جذب محتویات ارلن گیرنده شد. محلول تقطیر شده به وسیله اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ صورتی تیتر شد. با توجه به اینکه هر میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال معادل ۰/۰۰۱۴ و یا ۱/۴ میلی‌گرم ازت است، مقدار بازهای فرار بر حسب میلی‌گرم درصد از رابطه زیر حاسبه شد (AOAC, 1995).

$$\text{TVN} = \frac{\text{میزان اسید مصرفی} \times 1.4 \times 100}{\text{وزن نمونه}}$$

- اندازه‌گیری پارامتر TBARS (Thiobarbituric acid-reactive substances)

بدین منظور ۱ گرم از نمونه در حضور ۵ میلی‌لیتر محلول آبی ۵٪ تری‌کلرو استیک اسید (Merck, Germany) و همچنین ۵ میلی‌لیتر از محلول BHT[1] در هگزان(Merck, Germany) با غلظت ۰/۸ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر همگن گردید. سپس مخلوط حاصل در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید و پس از دور ریختن لایه بالایی ۲/۵ میلی‌لیتر از لایه پائینی با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول آبی ۲- تیوباربیتوریک اسید ,Merck (Germany) با غلظت ۰/۸ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر مخلوط گردید و ترکیب حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۳۷° C گرمخانه گذاری شد. جذب نوری مخلوط حاصل پس از سرد شدن در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد و عدد TBARS بر مبنای میکروگرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم از نمونه با استفاده از ماده استاندارد ۱و۱و۳و۳-تترا اتوکسی پروپان (Merck, Hohenbrunn, Germany) محاسبه گردید (Botsoglou *et al*., 1994).

- اندازه‌گیری اندیس پراکسید (PV-Peroxide Value)

ابتدا ۵۰ گرم از نمونه را با ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول کلروفرم- متانول (Merck, Germany) به نسبت ۲ به ۱ با استفاده از دستگاه بلندر (Waring, USA) به مدت یک دقیقه مخلوط شد و مخلوط حاصل پس از صاف کردن به ۵۰ میلی‌لیتر محلول آبی کلرید پتاسیم ۰/۸۸٪ ,Merck (Germany) اضافه گردید. بعد از آب‌گیری به وسیله کلرید پتاسیم، فاز آبی مخلوط(فاز پائینی) جمع آوری شده و دو مرتبه دیگر با ۱۰۰ میلی‌لیتر مخلوط متانول-کلرید پتاسیم ۰/۸۸٪ (v/v:1/1) استخراج چربی انجام شد. محصول نهایی حاصل با استفاده از دستگاه روتاری (IKA, RV 10) در ۳۵° C خشک گردید و باقی مانده حلال نیز برای دستیابی به روغن خالص با استفاده از فشار گاز نیتروژن تبخیر شد. روغن به دست آمده از این مرحله آماده برای تست PV گردید (Zouari *et al*., 2010).

برای انجام تست PV، به ۱ گرم چربی استخراج شده، ۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم- اسید استیک (Merck, Germany) به نسبت ۲ به ۳ اضافه گردید. بعد از مخلوط شدن به وسیله تکان دادن ۱ میلی‌لیتر محلول اشباع یدید پتاسیم به آن اضافه گردید و در تاریکی به مدت ۵ دقیقه نگهداری

[1] Butylated Hydroxy Toluene

www.SID.ir

Archive of SID

شد. با اضافه کردن ۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول ۱٪ نشاسته مخلوط حاصل تا بی‌رنگ شدن رنگ آبی ناشی از آزاد شدن ید، با محلول تیوسولفات پتاسیم ۰/۰۱ نرمال تیتر گردید. بدین ترتیب براساس میزان تیوسولفات سدیم مصرفی، میزان عدد پراکسید بر مبنای میلی اکی والان پراکسید در هر کیلوگرم از چربی استخراج شده محاسبه گردید (American Oil Chemists Society, 1990).

- **تجزیه و تحلیل آماری**

تمام آزمایش ها ۳ بار انجام شد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار (SD) گزارش شد. نتایج با استفاده از نرم افزار (SPSS Inc, Chicago, IL. v. 23.0) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح معناداری ($p<0.05$) به وسیله آنالیز واریانس (Anova) و تست تعقیبی LSD جهت مقایسه میانگین هر یک از عوامل شیمیایی انجام شده در تیمارهای مختلف در هر روز به ستون تحت عنوان سطح معناداری (Sig) مراجعه شد و چنانچه عدد مربوطه کوچکتر یا مساوی 0.05 بود نشان از وجود اختلاف معنادار و رد فرضیه H_0 داشت.

یافته‌ها

اندازه‌گیری ترکیبات و اجزای اسانس زنیان با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی–طیف سنجی جرمی مطابق در جدول ۱ آورده شده است. ۹۸/۹٪ از ترکیبات اسانس زنیان شناسایی گردید که شامل ۱۱ ترکیب بود و همانطور که مشاهده می‌شود ترکیبات اصلی اسانس شامل γ-Terpinene (۱۸٪)، p-Cymen (۲۵٪) و Thymol (۵۲٪) می‌باشد.

- **pH**

تغییرات در میزان pH نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در جدول ۲ نشان داده شده است. مقدار pH در نمونه‌های کنترل با افزایش طول مدت نگهداری از ۵/۵۴ به ۶/۳۹ افزایش یافت ($p<0.05$) در حالیکه در نمونه‌های پوشش داده شده با فیلم کیتوزان حاوی اسانس و بدون اسانس مقدار pH تا پایان مطالعه به طور کلی افزایش خاصی نشان ندادند و در حدود مقدار اولیه اندازه گیری شد ($p>0.05$). نمونه فیلم حاوی ۲ و ۱ درصد اسانس (۵/۳۸ و ۵/۴۲) از روز سوم آزمایش به طور معناداری pH پائین‌تری نسبت به نمونه کنترل (۵/۸۸) و فیلم کیتوزان بدون اسانس (۵/۵۸) داشتند ($p<0.05$). اختلاف آماری معناداری بین pH نمونه‌های با پوشش فیلم کیتوزان ۱ و ۲ درصد مشاهده نشد ($p>0.05$).

- **مواد ازته کل فرار(TVN)**

تغییرات در میزان TVN نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در جدول ۳ نشان داده شده است. در طول مطالعه مقدار TVN، در هر ۴ گروه در طول زمان روند افزایشی معناداری را نشان داد ($p<0.05$) و همواره کمترین میزان TVN مربوط به نمونه‌های با پوشش فیلم کیتوزان حاوی اسانس بود. اختلاف آماری معناداری میان نمونه‌های با پوشش فیلم حاوی اسانس با نمونه‌های کنترل و نمونه‌های با پوشش فیلم بدون اسانس مشاهده گردید ($p<0.05$). در این مطالعه در نمونه‌های حاوی اسانس ۱و ۲ در روز سوم مطالعه (۸/۱۳ و ۸/۱۲) مقدار TVN کمتر از مقدار روز صفر (۹/۴۸ و ۹/۵۳) اندازه گیری شد و در بررسی اثر افزایش غلظت اسانس و مقایسه دو به دو غلظت ۱ و ۲ درصد از اسانس، اختلاف معناداری به جز در روز ششم دیده نشد ($p>0.05$).

- **TBARs**

نتایج TBARs بر حسب میکروگرم مالون آلدئید در هر کیلوگرم از گوشت مرغ در جدول ۴ نشان داده شده است. همانطور که در جدول مشخص است با افزایش مدت زمان نگهداری، میزان TBA در هر ۴ گروه یک روند افزایشی معناداری دارد ($p<0.05$). میزان TBA در نمونه‌های پوشش داده شده با فیلم کیتوزان حاوی اسانس در مقایسه با گروه کنترل و فیلم بدون اسانس اختلاف معناداری داشت ($p<0.05$). در بررسی اثر افزایش غلظت اسانس و مقایسه دو به دو غلظت‌های ۱ و ۲ درصد از اسانس، نتایج نشان داد که اختلاف معناداری بین دو غلظت وجود دارد ($p<0.05$) و در بین گروه‌های مختلف، گروه فیلم حاوی ۲ درصد از اسانس همواره کمترین عدد TBARs (۹/۵۳ تا ۲۰/۴۱) را در تمام روزهای مطالعه نشان داد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- ترکیب شیمیایی اسانس زنیان در آنالیز GC-MS

ترکیب	شاخص بازداری	درصد
α-Pinene	۹۳۱	۰/۳
β-Pinene	۹۷۴	۱/۳
β-Myrcene	۹۹۰	۰/۵
α –Terpinene	۱۰۱۵	۰/۴
p-Cymen	۱۰۲۸	۲۵
β- Phellendrene	۱۰۳۰	۰/۵
γ –Terpinene	۱۰۶۲	۱۸
α-Terpineol	۱۲۰۳	۰/۱
L-Carvone	۱۲۶۹	۰/۳
Thymol	۱۳۰۷	۵۲
Carvacrol	۱۳۱۰	۰/۵

جدول ۲- تغییرات در میزان pH نمونه‌های مرغ طی ۱۲ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی گراد

گروه‌ها	تیمار	روز ۰	روز ۳	روز ٦	روز ۹	روز ۱۲
۱	کنترل	۵/۵۴±۰/۰۴^{Aa}	۵/۸۸±۰/۰۹^{Ab}	۶/۰۲±۰/۰۷^{Ac}	۶/۱۷±۰/۰۸^{Ad}	۶/۳۹±۰/۰۶^{Ae}
۲	فیلم کیتوزان بدون اسانس	۵/۵۳±۰/۰۷^{Aa}	۵/۵۸±۰/۱^{Ba}	۵/۶۸±۰/۰۷^{BCa}	۵/۷۱±۰/۰۵^{Da}	۶/۰۲±۰/۰۵^{Cb}
۳	فیلم کیتوزان حاوی ۱ درصد اسانس زنیان	۵/۵۷±۰/۱^{Aa}	۵/۴۲±۰/۱^{Cb}	۵/۵۸±۰/۱^{Cab}	۵/۵۹±۰/۰۶^{BCDab}	۵/۶۲±۰/۰۷^{Ba}
۴	فیلم کیتوزان حاوی ۲ درصد اسانس زنیان	۵/۵۲±۰/۰۶^{Aa}	۵/۳۸±۰/۰۳^{Cb}	۵/۵۴±۰/۰۶^{Cab}	۵/۴۸±۰/۰۸^{Cab}	۵/۵۶±۰/۰۵^{Ba}

اعداد به صورت Mean±SD نمایش داده شده است. حروف انگلیسی کوچک متفاوت در یک ردیف و حروف انگلیسی بزرگ متفاوت در یک ستون نشان دهنده معنادار بودن تفاوت میانگین‌ها در گروه‌های مورد مطالعه است

جدول ۳- تغییرات در میزان TVN نمونه‌های مرغ طی ۱۲ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی گراد

گروه‌ها	تیمار	روز ۰	روز ۳	روز ٦	روز ۹	روز ۱۲
۱	کنترل	۹/۵۴±۰/۳^{Aa}	۲۰/۵۹±۱/۱۲^{Ab}	۳۵/۷۵±۱/۵۳^{Ac}	۴۴/۵۴±۱/۲۲^{Ad}	۴۵/۸۹±۱/۹۱^{Ad}
۲	فیلم کیتوزان بدون اسانس	۹/۵۶±۰/۰۳^{Aa}	۱۵/۷۱±۱/۲۵^{Bb}	۲۲/۵۴±۰/۶۴^{Bc}	۳۱/۴۹±۱/۲۷^{Bd}	۳۵/۸۲±۱/۷۷^{Bd}
۳	فیلم کیتوزان حاوی ۱ درصد اسانس زنیان	۹/۴۸±۰/۷۲^{Aab}	۸/۱۳±۰/۶۲^{Cb}	۹/۶۲±۰/۳۳^{Ca}	۱۵/۰۵±۰/۶۱^{Cc}	۲۰/۵۹±۱/۳۱^{Cd}
۴	فیلم کیتوزان حاوی ۲ درصد اسانس زنیان	۹/۵۳±۰/۶۷^{Aa}	۸/۱۲±۰/۶^{Cb}	۱۳/۵۵±۰/۳۶^{Dc}	۱۴/۳۷±۰/۵۸^{Cd}	۲۰/۴۱±۱/۲۷^{Ce}

اعداد به صورت Mean±SD نمایش داده شده است. حروف انگلیسی کوچک متفاوت در یک ردیف و حروف انگلیسی بزرگ متفاوت در یک ستون نشان دهنده معنادار بودن تفاوت میانگین‌ها در گروه‌های مورد مطالعه است.

- اندیس پراکسید

تغییرات در میزان PV نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در جدول ۵ نشان داده شده است. در این مطالعه عدد پراکسید با افزایش مدت نگهداری، یک روند افزایشی معناداری را در هر ۴ گروه دارد ($p<0.05$). از روز سوم تا پایان مطالعه نمونه‌های پوشش داده شده با فیلم‌های حاوی اسانس۱ و ۲ درصد (۵/۸۷ و ۵/۶۴) به صورت معناداری دارای عدد پراکسید کمتری نسبت به

www.SID.ir

Archive of SID

گروه کنترل (۷/۴۵) و فیلم بدون اسانس (۶/۲۳) داشتند ($p<0.05$). در بررسی اثر افزایش غلظت اسانس و مقایسه دو به دو غلظت ۱ و ۲ درصد از اسانس، نتایج نشان داد که در تمام روزهای آزمایش اختلاف معناداری وجود دارد ($p<0.05$) و در بین گروه‌های مختلف، گروه فیلم حاوی ۲ درصد از اسانس همواره کمترین عدد پراکسید را در تمام روزهای مطالعه (۵/۰۸ تا ۱۸/۴۱) نشان داد.

بحث

امروزه اسانس‌های گیاهی به علت دارا بودن ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی مختلف به عنوان نگهدارنده-های طبیعی مورد توجه هستند. روش‌های مختلفی برای استفاده از اسانس و عصاره در مواد غذایی وجود دارد. روش معمول، اضافه نمودن و یا اسپری محلول اسانس در یک غلظت مشخص بر روی سطح ماده غذایی است. به دلیل عدم کنترل میزان تماس و رهایش ترکیبات مذکور در سطح مواد غذایی، میزان مصرف ترکیب مورد نظر در این روش بسیار بالاست. روش دیگر که در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته، اضافه نمودن ترکیبات ضدمیکروب همچون انواع اسانس‌ها و عصاره‌ها در فیلم‌های زیست تخریب پذیر و خوراکی و تولید فیلم‌هایی تحت عنوان فیلم‌های ضد میکروبی فعال است که این فیلم‌ها ممکن است تماس مستقیم و غیر مستقیم (روش انتشار در بخار) با ماده غذایی داشته باشند. مهمترین هدف استفاده از ترکیبات فعال با منشا گیاهی در فیلم‌های زیست تخریب پذیر بهبود اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی فیلم، بهبود خصوصیات نفوذپذیری فیلم‌های هیدروفیل و کاهش از دست رفتن ترکیبات فرار به خصوص در مورد اسانس در طول زمان نگهداری است، لذا در این صورت ترکیب مورد نظر در یک غلظت بالا و برای مدت طولانی در سطح فراورده باقی می‌ماند (Dutta *et al*., 2009). بررسی‌ها نشان می‌دهد بیشتر اجزای اسانس زنیان از

جدول ٤- تغییرات در میزان TBARs نمونه‌های مرغ طی۱۲ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی گراد

گروه‌ها	تیمار	روز ۰	روز ۳	روز ٦	روز ۹	روز ۱۲
۱	کنترل	۳۹۵±۲/۶۵^{Aa}	۱۲۲۵±۲/۰۰^{Ab}	۱۷۲۵±۱/۷۳^{Ac}	۲۲۱۴±۱/۷۳^{Ad}	۲۴۳۵±۱/۰۰^{Ae}
۲	فیلم کیتوزان بدون اسانس	۳۹۴±۱/۷۳^{Ba}	۱۱۵۶±۱/۰۰^{Bb}	۱۶۶۷±۲/۰۰^{Bc}	۲۰۹۴±۱/۷۳^{Bd}	۲۳۰۰±۱/۰۰^{Be}
۳	فیلم کیتوزان حاوی ۱ درصد اسانس زنیان	۳۸۹±۰/۰۰^{Ca}	۱۰۲۰±۲/۶۵^{Cb}	۱۴۱۲±۱/۰۰^{Cc}	۱۷۲۰±۲/۶۵^{Cd}	۱۹۷۰±۴/۳۶^{Ce}
۴	فیلم کیتوزان حاوی ۲ درصد اسانس زنیان	۳۹۵±۲/۶۵^{Da}	۹۸۵±۱/۰۰^{Db}	۱۴۱۲±۱/۰۰^{Dc}	۱۶۸۱±۱/۷۳^{Dd}	۱۹۲۵±۱/۰۰^{De}

اعداد به صورت Mean±SD نمایش داده شده است. حروف انگلیسی کوچک متفاوت در یک ردیف و حروف انگلیسی بزرگ متفاوت در یک ستون نشان دهنده معنادار بودن تفاوت میانگین‌ها در گروه‌های مورد مطالعه است.

جدول ٥- تغییرات در میزان PV نمونه‌های مرغ طی ۱۲ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی گراد

گروه‌ها	تیمار	روز ۰	روز ۳	روز ٦	روز ۹	روز ۱۲
۱	کنترل	۵/۱۸±۰/۱۴^{Aa}	۷/۴۵±۰/۱^{Ab}	۱۱/۲۳±۰/۲۱^{Ac}	۲۳/۴±۰/۱۷^{Ad}	۳۸/۵۱±۰/۴۶^{Ae}
۲	فیلم کیتوزان بدون اسانس	۵/۱۵±۰/۰۳^{ABDa}	۶/۲۳±۰/۰۴^{Db}	۱۰/۱۲±۰/۰۵^{Dc}	۱۸/۹۴±۰/۱۹^{Dd}	۲۷/۱۵±۰/۱۱^{De}
۳	فیلم کیتوزان حاوی ۱ درصد اسانس زنیان	۵/۱۶±۰/۰۳^{ABa}	۵/۸۷±۰/۱۱^{Bb}	۷/۳۶±۰/۰۹^{Bc}	۱۲/۹۴±۰/۱۷^{Bd}	۱۸/۹۴±۰/۱۲^{Be}
۴	فیلم کیتوزان حاوی ۲ درصد اسانس زنیان	۵/۰۸±۰/۰۳^{BCa}	۵/۶۴±۰/۰۰^{Cb}	۷/۱۳±۰/۰۳^{Cc}	۱۲/۷۱±۰/۰۳^{Cd}	۱۸/۴۱±۰/۰۳^{Ce}

اعداد به صورت Mean±SD نمایش داده شده است. حروف انگلیسی کوچک متفاوت در یک ردیف و حروف انگلیسی بزرگ متفاوت در یک ستون نشان دهنده معنادار بودن تفاوت میانگین‌ها در گروه‌های مورد مطالعه است

www.SID.ir

Archive of SID

ترکیبات فرار به گروه مونوترین‌ها از جمله مونوترین فنلی تیمول تشکیل شده است و خواص ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی آن نیز طی مطالعات مختلف به اثبات رسیده است (Goudarzi *et al*., 2011; Oroojalian *et al*., 2010). آنالیز ترکیب شیمیایی اسانس زنیان در این مطالعه نشان داد که ۵۲ درصد اسانس از تیمول، ۲۵ درصد از p-Cymen و ۱۸درصد از γ-Terpinene تشکیل شده است که با مطالعات پیشین مطابقت دارد.

با توجه به جدول ۲ pH اولیه در نمونه‌ها ۵/۵ ثبت شد که با مقدار استاندارد مرغ تازه مطابقت دارد (بی‌نام، ۱۳۸۷). افزایش pH می‌تواند به دلیل اثر آنزیم‌های داخلی و میکروبی مانند پروتئازها و لیپاز بر پروتئین‌ها و آزاد شدن ترکیبات آمینی حاصل از تجزیه آن‌ها باشد (Manat *et al*., 2005). همان‌گونه که دیده می‌شود نمونه‌های فیلم کیتوزان حاوی ۱ و ۲ درصد اسانس دارای pH کمتری نسبت به نمونه کنترل و فیلم بدون اسانس بودند که این امر می‌تواند به دلیل تاثیر ضدمیکروبی اسانس زنیان بر باکتری‌های پروتیولتیک مولد فساد می‌تواند باشد (Jebelli Javan *et al*., 2012). همچنین نمونه‌های با پوشش فیلم کیتوزان حاوی اسانس زنیان تا آخر مطالعه توانستند میزان عدد TVN را در محدوده قابل قبول تعریف شده توسط سازمان دامپزشکی کشور (۱۳۸۷) (27 mg/100g) نگه دارند درحالی که در ارتباط با نمونه کنترل از روز ششم و نمونه با پوشش فیلم کیتوزان فاقد اسانس از روز نهم آزمایش در محدوده غیر قابل مصرف بودند. علت آن می‌تواند به دلیل کاهش سریع‌تر جمعیت باکتریایی یا ظرفیت کاهش یافته باکتری‌ها برای د-آمیناسیون اکسیداتیو ترکیبات نیتروژن دار غیر پروتئینی و یا هر دو مورد باشد و این موضوع نشان می‌دهد که فیلم کیتوزان به ویژه همراه با اسانس تا حدود زیادی قادر به جلوگیری از ایجاد و توسعه ترکیبات آمینی و نیتروژن‌دار عامل فساد در فیله‌های مرغ بسته‌بندی شده است (Fan *et al*., 2008).

هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشند. با توجه به حد مجاز تعریف شده برای عدد پراکسید برای گوشت مرغ (۱۰ میلی اکی والان بر کیلوگرم) (Jebelli Javan *et al*., 2012) نمونه‌های کنترل و فیلم بدون اسانس از روز ۶ و نمونه‌های حاوی ۱ و ۲ درصد اسانس از روز ۹ دارای عدد پراکسید بالاتر از حد مجاز بودند. Giatrakou و همکاران در مطالعه‌ای تاثیر کیتوزان و اسانس آویشن را در محصولات آماده پخت مرغ بررسی کردند و نشان دادند که اکسیداسیون چربی در تیمارهای کیتوزان و اسانس به طور معناداری به تعویق افتاده و زمان ماندگاری محصولات تا ۱۴ روز افزایش پیدا کرد (Giatrakou *et al*., 2010). در مطالعه حاضر نیز اکسیداسیون چربی تا روز ۱۲ به تعویق افتاد که با نتایج مطالعه یاد شده همخوانی دارد.

Qin، Ojagh و Bazargani-Gilani نیز نتایج مشابه نتایج تحقیق حاضر در مورد فاکتورهای pH، TVN، TBARs و PV به دست آوردند و نشان دادند که این فاکتورها در گروه‌های تیمار نسبت به گروه کنترل و همچنین فیلم کیتوزان فاقد اسانس پائین‌تر بوده و نشان دادند که با استفاده از فیلم‌های حاوی اسانس می‌توان عمر نگهداری محصول را تا ۶ روز افزایش داد (Ojagh *et al*., 2010; Qin *et al*., 2013; Bazargani-Gilani *et al*., 2015) که نتایج تحقیقات یاد شده با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از تحقیق، فیلم خوراکی کیتوزان غنی شده با اسانس زنیان پتانسیل بسیار بالایی در جهت کنترل فساد شیمیایی و افزایش ایمنی گوشت مرغ دارد. در بین فیلم‌های حاوی ۱ و ۲ درصد اسانس، فیلم حاوی ۲ درصد اسانس بهترین اثرات در رابطه با ۴ فاکتور اندازه گیری شده را داشت. با توجه به گرایش روزافزون به ترکیبات طبیعی کاربرد این نوع فیلم‌ها همراه با اسانس‌های گیاهی در صنایع می‌تواند گسترش یابد.

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از پایان نامه با عنوان مطالعه ویژگی‌ها و اثرات فیلم‌های خوراکی کیتوزان حاوی اسانس مرزنجوش و زنیان بر زمان ماندگاری گوشت مرغ جهت کاربرد در صنایع بسته‌بندی فیله مرغ در مقطع دکترای تخصصی بهداشت مواد غذایی در سال ۱۳۹۶ با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، دانشکده دامپزشکی اجرا شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

اشرافی تمای، ا.، زهرایی صالحی، ت.، خسروی، ع.، شریف‌زاده، ع. و اسد بالال، ا. (۱۳۹۲). مطالعه ترکیب شیمیایی اسانس گیاه زنیان (Trachyspermum ammi) و اثر مهاری آن بر جدایه‌های دهانی کاندیدا آلبیکنس مقاوم به آزول در بیماران مبتلا به ایدز. فصلنامه گیاهان دارویی، شماره۴۶، جلد دوم، صفحه ۱۴۹-۱۳۷.

بی نام. (۱۳۸۷). سازمان دامپزشکی کشور، دفتر نظارت بر بهداشت عمومی، دستورالعمل اجرایی کنترل و نظارت بهداشتی فرآورده‌های خام دامی. www.IVO.ORG.ir

زرگری، ع. (۱۳۷۶)، گیاهان دارویی،انتشارات دانشگاه تهران، جلد دوم، چاپ ششم، صفحه۲۶۹-۲۷۵.

Adams, R. P. (2001). Identification of essential oil components by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. Allured, USA, pp. 750-764.

Ahvenainen, R. (2003). Novel food packaging techniques. Wood head Publishing Ltd. Ahvenainen, R. Cambridge, UK, pp. 81-102.

American Oil Chemists Society. (1990). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. (4th ed.) AOCS Press: Champaign, IL, Method Cd 8-53 and Cd 1890.

AOAC. (1995). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15 ed. Washington, DC, USA.

Bazargani-Gilani, 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 Food Science and Emerging Technologies, 29, 280-287.

Boskabadym, M. H., Alitaneh, S. & Alavinezhad, A. (2014). Carum copticum L.: A Herbal Medicine with Various Pharmacological Effects. Review Article, BioMed Research International, 11. http://dx.doi.org/10.1155/2014/569087.

Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., Papageorgiou, G. E., Vassilopoulos, V. N., Mantis, A. J. & Trakatellis, A. G. (1994) A rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissues, food, and feedstuff samples. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42, 1931–1937.

Brannan, R. G. (2009). Effect of grape seed extract on descriptive sensory analysis of ground chicken during refrigerated storage. Meat Science, 81, 589- 595.

Davazdah Emami, S., Sefidkon, F., Jahansooz, M. R. & Mazaheri, D. (2010): Evaluation of water salinity effects on yield and essential oil content and composition of Carum copticum. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant, 25(4), 504-512 [In Persian].

Davidson, P. M. & Zivanivic, S. (2003). The use of natural antimicrobials. Woodhead Publishing Limited and CRC Press, Washington.

Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K. & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. Food Chemistry, 114, 1173-1182.

Fan, W., Chi, Y. & Zhang, S. (2008). The use of tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (Hypophthalmicthys molitrix) during storage in ice. Food Chemistry, 108(1), 148-153.

Giatrakou, V., Ntzimani, A. & Savvaidis, I. (2010). Combined chitosan–thyme treatments with modified atmosphere packaging on a ready-to-cook poultry product. Journal of Food Protection, 73(4), 663-669.

Goudarzi, G. R., Saharkhiz, M. J., Sattari, M. & Zomorodian, K. (2011). Antibacterial activity and chemical composition of Ajowan (Carumcopticum benth & hook) essential oil. Journal of Medicinal Plants Research, 13, 203-208.

Guilbert, S. (1986). Technology and applications of edible protective films. In Food Packaging and preservation: Theory and practice. London. Elsevier Appl Sci Publish Co, 371-393.

Jebelli Javan, A., Ghazvinian, Kh., Mahdavi A., Javaheri Vayeghan, A., Steji, H. & Ghaffari Khaligh, S. (2012). The effect of dietary *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil supplementation on microbial growth and lipid peroxidation of broiler breast fillets during refrigerated storage. Journal of Food Processing and Preservation, 37 (3), 45-53.

Kazemi, O. R., Behravan, J. & Ramezani, M. (2011). Chemical composition, antimicrobial activity and antiviral activity of essential oil of Carum copticum from Iran.

www.SID.ir

Archive of SID

Avicenna Journal of Phytomedicine, 1(2), 83–90.

López-Rubio, A., Almenar, E., Hernandez-Muñoz, P., Lagarón, J.M., Catalá. R. & Gavara, R. (2004): Overview of active polymer-based packaging technologies for food applications. Food Reviews International, 20(4), 357-387.

Mahboubi, M. & Kazempour, N. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of Satureja hortensis and Trachyspermum copticum essential oil. Iranian Journal of Microbiology, 3(4), 194–200.

Manat, C., Soottawat, B., Wonnop, V. & Cameron, F. (2005). Changes of pigments and colour in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during iced storage. Food Chemistry, 93, 607-617.

Moradi, M., Tajik, H., Razavi Rohani, S. & Oromiehie, A. (2011). Effectiveness of Zataria multifora Boiss essential oil and grape seed etract impregnated chitosan film on ready-to-eat mortadella-type sausages during refrigerated storage. Journal of Science & Food Agriculture, 91, 2850-2857.

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. Food Chemistry, 120(1), 193–198.

Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M. & Bassami, M. R. (2010). Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. Food Chemistry, 120, 765-770.

Qin, Y. Y., Yang, J. Y., Lu, H. B., Wang, S. S., Yang, J. & Yang, X. C. (2013). Effect of chitosan film incorporated with tea polyphenol on quality and shelf life of pork meat patties. International Journal of Biological Macromolecules, 61, 312-316.

Shen, Z. & Kamdem D. P. (2015): Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. International Journal of Biological Macromolecules, 74, 289-296.

Zouari, N., Elgharbi, F., Fakhfakh, N., Bacha, A. B., Gargouri, Y. & Miled, N. (2010): Effect of dietary vitamin E supplementation on lipid and colour stability of chicken thigh meat. African Journal of Biotechnology, 9, 2276-2283.

www.SID.ir