نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۶ شماره ۱/ سال ۱۳۹۵

اثرات ضدمیکروبی آب انار با کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی بر گوشت مرغ منجمد

بهناز بازرگانی گیلانی*[۱]، حسین تاجیک[۲]، جواد علی اکبرلو[۳] و دانشه خلقی[۴]

تاریخ دریافت: ۹٤/۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹٤/٤/۱۰

[۱] استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
[۲] استاد گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
[۳] دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
[٤] دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه
*مسئول مکاتبه: Email: behnazbazargani90@gmail.com

چکیده

امروزه بسیاری از مصرف کننده‌ها، به دلیل اثرات جانبی نگهدارنده‌های شیمیایی نظیر سرطان‌زایی و ناقص الخلقه‌زایی متقاضی استفاده از جایگزین‌های طبیعی آن‌ها می‌باشند. این مطالعه به منظورمعرفی یک محصول جدید که حاصل غوطه وری گوشت سینه‌ی مرغ در آب انار و کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی بود، انجام شد. تیمارهای بررسی حاضر شامل: کنترل، نمونه‌های حاوی آب انار، نمونه‌های حاوی کیتوزان، نمونه‌های حاوی آب انار و کیتوزان، نمونه‌های حاوی آب انار و کیتوزان غنی شده با اسانس ۱٪، نمونه‌های حاوی آب انار و کیتوزان غنی شده با اسانس ۲٪ بودند. نمونه‌ها در دمای۱C° ± ۱۸- به مدت ٦ ماه نگهداری و در ماه‌های ۰، ۲، ٤ و ٦ از لحاظ میکروبی بررسی شدند. تمامی تیمارها تا ماه دوم به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) جمعیت باکتری‌های مزوفیل هوازی، گونه‌های سودوموناس، باکتری‌های اسیدلاکتیک (LAB)، انتروباکتریاسه، باکتری‌های سایکروتروف و کپک-مخمر را در مقایسه با گروه کنترل کاهش دادند. هم چنین پوشش‌دهی توسط کیتوزان غنی شده بااسانس به‌طور معنی‌داری (P< ۰/۰۵) این اثرات را بهبود بخشید. همچنین نتایج ثابت کرد که نگهداری در شرایط انجماد، از ماه چهارم به بعد منجر به نابودی و زوال ترکیبات بیواکتیو آب انار و از دست رفتن خواص ضدمیکروبی آن گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که شرایط انجماد(۱±۱۸°C-) خواص ضدمیکروبی آب انار را از بین می‌برد.

واژگان کلیدی: آب انار، اثرات ضدمیکروبی، شرایط انجماد

مقدمه

گوشت تازه مرغ به دلیل رشد عوامل میکروبی بسیار مستعد فساد می‌باشد. مقدار بالای پروتئین و رطوبت گوشت، فساد میکروبی آن را تقویت می‌کند. کاهش رشد میکروبی در طول نگهداری در انبار می‌تواند مدت ماندگاری گوشت را افزایش دهد (وایتیاناتان و همکاران ۲۰۱۱). انجماد یکی از مهم‌ترین روش‌های نگهداری گوشت و محصولات گوشتی در مقایسه با سایر روش-ها می‌باشد که منجر به ایجاد حداقل تغییرات کیفی در طول ذخیره‌ی طولانی‌مدت در مواد غذایی می‌گردد

Archive of SID

www.SID.ir

(سبرانک ۱۹۸۲). امروزه نگهدارنده‌های شیمیایی نیز به منظور پیشگیری از رشد میکروبی در گوشت و محصولات گوشتی به کار می‌روند. اما به دلیل اثرات جانبی بی‌شمار این ترکیبات، رویکرد جدید صنایع غذایی به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی می‌باشد (جییاتراکو و ساوایدیس ۲۰۱۲). فرآیند اسیدی کردن با استفاده از اسیدهای آلی و آب میوه‌های اسیدی طبیعی نظیر آب انار و آب لیمو، روشی است که امروزه به‌طور گسترده در فرآوری غذاها به منظور افزایش مدت ماندگاری آن‌ها به کار می‌رود (ویجایاکومار و ولف-هال ۲۰۰۲؛ سنگان و کاراپینار ۲۰۰٤). انار[1] از خانواده‌ی پونیکاسه یک میوه‌ی تجاری بوده که به‌طور گسترده‌ای در آسیا، افریقای شمالی، مدیترانه و خاورمیانه کشت می‌شود، از طرفی محصولات حاصل از آب انار یکی از مشهورترین طعم دهنده‌ها در انواع محصولات غذایی نظیر مرغ، ماهی، سالادها و دسرها در ایران و ترکیه می‌باشد (کارابیکلی و کیسلا ۲۰۱۲). انار در طب سنتی برای درمان انواع عفونت‌های میکروبی به کار رفته است و در حقیقت ویژگی‌های ضد میکروبی انار، امروزه با نتایج امیدبخشی مطالعه می‌گردد. عصاره‌های انار، اثرات آنتاگونیستی علیه تمام انواع میکروارگانیسم‌های مسئول عفونت‌های سیستم ادراری نشان داده‌اند. عصاره‌ی متانولی انار فعالیت وسیع‌الطیفی علیه ۱۵۹ سوش باکتری‌های با مقاومت چند دارویی جدا شده از ادرار بیماران با سن و جنس متفاوت که عفونت ادراری داشتند از خود نشان داده است. فعالیت ضد قارچی پونیکالاژین علیه انواع کاندیداها گزارش شده است. به علاوه فعالیت ضد تریکوموناسی آب میوه‌ی انار نیز در گروهی از ۲۰ زن و نیز در شرایط آزمایشگاهی در موش‌های مقاوم به مترونیدازول مشاهده گردید. ترکیب ضد میکروب اصلی در انار را الاژیتانین به ویژه پونیکالاژین معرفی کرده‌اند (دلاگلی و همکاران ۲۰۱۰). سطح بالای ترکیبات فنولی نظیر آنتوسیانین ها (۳-گلوکوزید، ۳ و ۵ –دی گلوکوزید دلفینیدین، سیانیدین و پلار گونیدین)، الاژیک اسید، پونیکالین، پدونکولاژین و انواع فلاوانول‌ها نیز به ایجاد این اثرات بسیار کمک نموده است. آنتوسیانین‌های میوه‌ی انار ترکیبات حساس به اکسیداسیون بوده که توسط واکنش‌های تحلیل برنده و مخرب بی‌شماری که در طول مدت انبار و فرآوری آن‌ها رخ می‌دهند، کاهش می‌یابند. کیتوزان یک پلی ساکارید کاتیونی با وزن مولکولی بالا که توسط داستیله شدن کیتین تولید می‌شود، به‌طور گسترده‌ای در حفاظت از ترکیبات فنولی برخی میوه‌ها نظیر انار، لیتچی (نوعی میوه‌ی چینی)، توت فرنگی و تمشک به کار رفته است، این امر به دلیل ویژگی‌های بی‌نظیر آن در تشکیل پوشش و فیلم و نیز خصوصیات ضد میکروبی و ویژگی‌های بیوشیمیایی آن می‌باشد (لین و چاو ۲۰۰۱). اخیراً این ویژگی‌های کیتوزان توسط الحاق روغن‌های ضروری (اسانس‌ها) به درون آن بهبود یافته است. گیاه آویشن شیرازی[2] متعلق به خانواده‌ی نعناعیان، یک گیاه دارویی است که به‌طور گسترده‌ای در نواحی گرمسیری ایران، پاکستان و افغانستان رشد می-کند. روغن ضروری این گیاه حاوی مقادیر زیادی از ترکیبات فنولی است که دارای خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد اکسیداسیونی می‌باشند. به‌طور کلی استفاده از روغن‌های ضروری برای نگهداری غذاها اغلب به دلیل عطر و رایحه‌ی شدید و نیز سمیت آن‌ها محدود گشته است. یک راه‌کار برای کاهش مقادیر آن‌ها با حفظ اثرات‌شان در مواد غذایی، تلفیق این ترکیبات به درون انواع پوشش‌های خوراکی می‌باشد (پترو و همکاران ۲۰۱۲). بنابراین هدف از این تحقیق، معرفی و ارزیابی مدت ماندگاری محصولی جدید، که در نتیجه‌ی غوطه‌وری گوشت سینه‌ی مرغ در آب میوه‌ی انار و حفاظت آن توسط پوشش خوراکی کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی حاصل گشته و تحت شرایط انجماد (۱±۱۸°C-) نگهداری شده، می‌باشد.

1- *Punica granatum* L.

2- *Zataria multiflora* Boiss

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

آماده سازی آب آنار

انار تازه واریته رباب نیریز از یک باغ تجاری در نیریز شیراز واقع در استان فارس هنگام فصل برداشت، تهیه گردید و بعد از شستشو به ٤ قسمت تقسیم شد. دانه‌ها به صورت دستی جدا شدند و سپس توسط یک میکسر آب آن‌ها گرفته شد. آب انار حاصله بعد از عبور از فیلترهای ۰/۲۲ میکرونی، به صورت تازه برای انجام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت.

آماده‌سازی اسانس آویشن شیرازی

به میزان لازم بخش‌های هوایی گیاه آویشن شیرازی خشک از استان شیراز خریداری و پس از شناسایی گونه و جنس آن در انجمن گیاهان دارویی واقع در کرج، ایران (با شماره هرباریوم ۱۳-۲۱) اسانس روغنی آن به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر تهیه گردید. اسانس حاصل به رنگ متمایل به زرد با بوی منحصر به فرد گیاه، با سولفات سدیم آنهیدروز، آبگیری و از فیلترهای ۰/۲۲ میکرونی عبور داده و تا زمان استفاده، در شیشه‌های مخصوص در دار تیره رنگ، در ٤ °C نگهداری شد.

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس روغنی

جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی روغن فرار گیاه، از دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی[4] استفاده گردید. دستگاه گاز کروماتوگرافی از نوع Hewlet Packard 6890N با ستون HP-5MS بود. طیف نگار جرمی مدل Hewlet Packard 5973N مورد استفاده قرار گرفت. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در برنامه کتابخانه نرم افزاری صورت پذیرفت.

آماده کردن نمونه‌های گوشت

گوشت سینه‌ی مرغ نژاد راس به مقدار لازم و حدود دو ساعت بعد از کشتار، از یکی از کشتارگاه‌های صنعتی طیور شهرستان ارومیه خریداری گردید و پس از قطعه-بندی مناسب (قطعاتی با قطر تقریب ٤-۳ سانتی‌متر و وزن ۷۰ تا ۱۰۰ گرم) با رعایت شرایط بهداشتی (استفاده از وسایل کاملاً استریل)، نمونه‌ها به‌طور تصادفی به شش گروه تقسیم شدند و پس از بسته بندی (در پوشش Top Wrap نفوذپذیر به اکسیژن با ضخامت ۱۲ میکرون ساخت کره‌ی جنوبی)، در داخل یخچال قابل حمل و در دمای°C۱ ± ٤ به آزمایشگاه حمل شدند. لازم به ذکر است که در هر بسته به‌طور متوسط حدود ۱۸۰۰ گرم نمونه قرار داده شده بود.

تهیه‌ی محلول کیتوزان حاوی غلظت‌های مختلف اسانس

محلول ۲ درصد کیتوزان با وزن مولکولی متوسط (سیگما-آلدریچ)، درون اسید استیک ۱ درصد تهیه شد. سپس به آن به اندازه‌ی ۰/۷۵ درصد گلیسرول به عنوان پلاستی سایزر اضافه گردید. در مورد تیمارهایی که در آن‌ها اسانس به کار می‌رفت، به منظور پخش یکنواخت و کامل اسانس در محلول کیتوزان، ابتدا اسانس مورد نظر با توئین ۸۰ مخلوط شد و سپس به محلول کیتوزان علاوه گردید. پس محلول نهایی کیتوزان در مورد تیمارهای دارای اسانس، حاوی ۲ درصد کیتوزان، ۱ درصد اسید استیک، ۰/۷۵ درصد گلیسرول، ۰/۲ درصد توئین ۸۰، ۱ و ۲ درصد اسانس بود (پترو و همکاران ۲۰۱۲).

غوطه‌وری و پوشش‌دار کردن نمونه‌های گوشت

در مورد تیمار آب انار و کیتوزان، ابتدا نمونه‌های مورد نظر درون آب انار فرو داده می‌شد و بعد از خشک شدن، درون محلول کیتوزان قرار می‌گرفت. مدت زمان غوطه‌وری در مورد تمامی تیمارها ۱/۵ دقیقه در نظر گرفته شد. بعد از غوطه‌وری، نمونه‌ها درون بسته‌های پلاستیکی بسته‌بندی شده و در فریزر با دمای°C۱۸- به مدت ٦ ماه نگهداری گردید و در ماه های ۰، ۲، ٤ و ٦ از لحاظ میکروبی مورد ارزیابی قرار گرفتند (تیتس و ور ۲۰۰۸).

3- Hydrodistillation
4- Gas Chromatography-Mass Spectrometers

Archive of SID

www.SID.ir

تیمارهای مورد مطالعه، شامل: گروه اول) تیمار نمونه با آب مقطر استریل(C)، گروه دوم) تیمار نمونه با آب انار (PJ)، گروه سوم) تیمار نمونه با کیتوزان (CH)، گروه چهارم) تیمار نمونه با آب انار و کیتوزان (PJ-CH)، گروه پنجم) تیمار نمونه با آب انار، کیتوزان و اسانس ۱ درصد (PJ-CH-Z 1%)، گروه ششم) تیمار نمونه با آب انار، کیتوزان و اسانس ۲ درصد (PJ-CH-Z 2%).

آزمایش‌های میکروبی

مقدار ۲۵ گرم نمونه به همراه ۲۲۵ میلی‌لیتر آب پپتونه‌ی ۰/۱ درصد را داخل کیسه‌ی مخصوص استومکر مخلوط کرده و در استومکر با ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ٦۰ ثانیه هموژن گردید. سپس رقت‌های بعدی در لوله‌های حاوی آب پپتونه‌ی ۰/۱ درصد تهیه شد و در پلیت‌های حاوی محیط کشت، کشت داده شد. آزمایشات میکروبی انجام گرفته شامل:

۱) کشت و شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی به روش کشت سطحی استاندارد در پلیت‌های حاوی محیط پلیت کانت آگار (PCA)[5] (گرمخانه‌گذاری ٢٤ ساعت در ۳۷°C).

۲) کشت و شمارش باکتری‌های سودوموناس به روش کشت سطحی استاندارد با استفاده از محیط سودوموناس آگاربیس[6] حاوی CFC[7] (گرمخانه‌گذاری ۲ روز در ۲۰° C)

۳) کشت و شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک به روش کشت سطحی استاندارد با استفاده از محیط MRS[8] (گرمخانه‌گذاری ٤٨ ساعت در۳۵ °C)

٤) کشت و شمارش باکتری‌های خانواده‌ی انتروباکتریاسه به روش کشت سطحی استاندارد با استفاده از محیط VRBG[9] (گرمخانه‌گذاری ٢٤ ساعت در ۳۷°C).

۵- کشت و شمارش باکتری‌های سرمادوست به روش کشت سطحی استاندارد در محیط PCA (گرمخانه‌گذاری در ۷°C به مدت ۱۰ روز)

٦- کشت و شمارش کپک ـ مخمر به روش کشت سطحی استاندارد در محیط RBCA[10] (گرمخانه‌گذاری در ۲۵°C به مدت ۵-۳ روز در تاریکی) (پترو و همکاران ۲۰۱۲).

تجزیه و تحلیل آماری

برای انجام آزمایشات مختلف، سه نمونه مجزا از هر بسته به ازای هر مرحله آزمایش مورد بررسی قرار گرفت (آزمایشات در کلیه‌ی مراحل در سه تکرار انجام شد) و آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه و نرم افزار SPSS (IBM spss statistics 21) و مقایسه‌ی میانگین‌ها با آزمون توکی انجام شد و مقادیر $P < ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. ضمناً داده‌ها در جداول و اشکال به صورت میانگین ± انحراف استاندارد (SD) در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی ZEO

٤۳ ترکیب که در مجموع ۹۹/۳۷ درصد از کل اسانس را تشکیل می‌دهد، در جریان آنالیز یافت شد (جدول ۱). ترکیبات اصلی شامل کارواکرول ۵۹/۱۷ درصد، لینالول ۲۳/٦۷ درصد، ترانس ـ کاریوفیلن ۳/۰۷ درصد و کارواکرول میتل اتر ۲/٤٤ درصد بودند. نتایج آنالیز ترکیبات ZEO توسط GC-MS با نتایج دیگر محققان که نشان داده بودند کارواکرول ترکیب اصلی ZEO بوده انطباق داشت (کردسردوئی و همکاران ۲۰۱۳). هم‌چنین مقادیر این ترکیبات می‌تواند به سبب فصل برداشت، سن گیاه، نوع خاک، آب و هوا، موقعیت جغرافیایی، نحوه‌ی خشک کردن و نحوه‌ی استخراج متفاوت باشد (گولسین ۲۰۰۷).

5- Plate Count Agar
6- Pseudomonas Agar Base
7- Cetrimide Fusidin Cephaloridine
8- de Man Rogosa Sharp agar
9- Violet Red Bile Glucose agar
10- Rose Bengal Chloramphenicol Selective agar

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده‌ی اسانس آویشن شیرازی

ترکیبات	درصد(%)	شاخص بازداری
۲ای هگزانال	۰/۰۶	۸۵۸
آلفا-پینن	۰/۲۴	۹۳۳
بتا-پینن	۰/۰۴	۹۸۰
اکتن-۳-ال	۰/۰۵	۹۸۵
۳-اکتانون	۰/۲۶	۹۹۱
۳-اکتانول	۰/۱۱	۱۰۰۲
آلفا-ترپینن	۰/۱۵	۱۰۲۰
پارا-سیمن	۰/۴۸	۱۰۲۹
۱و۸-سینئول	۰/۳۲	۱۰۳۶
اسیمن	۰/۰۵	۱۰۴۹
گاما-ترپینن	۰/۴۷	۱۰۶۲
لینالول اکسید(ترنس)	۰/۴۰	۱۰۷۵
آلفا-ترپینولن	۰/۰۶	۱۰۸۹
لینالول اکسید (سیس)	۰/۳	۱۰۹۱
لینالول	۲۳/۶۷	۱۱۰۹
هوترینول	۰/۸۴	۱۱۱۱
۳-اکتانول استات	۰/۱۳	۱۱۲۲
منتاتریئن (۱و۳و۸)	۰/۱۸	۱۱۳۶
بورنئول	۰/۲۴	۱۱۸۲
ترپینن-۴-ال	۰/۵۴	۱۱۸۹
آلفا-ترپینول	۱/۱۷	۱۲۰۵
دی هیدروکاروون (سیس)	۰/۱۹	۱۲۱۱
۲و۶-دی متیل-۳و۵و۷-اکتاتری ان-۲-ال-ای-ای	۰/۱۶	۱۲۱۹
تیمول متیل اتر	۰/۳۰	۱۲۳۶
کارواکرول متیل اتر	۲/۴۴	۱۲۴۶
لینالیل استات	۰/۹۲	۱۲۵۴
ژرانیول	۰/۱۲	۱۲۶۱
تیمول	۰/۰۶	۱۲۹۳
کارواکرول	۵۹/۱۷	۱۳۰۴
المن (دلتا)	۰/۰۹	۱۳۳۵
نریل استات	۰/۰۷	۱۳۶۳
کارواکریل استات	۰/۱۶	۱۳۷۳
ژرانیل استات	۰/۱۱	۱۳۸۳
ترنس-کاریوفیلن	۳/۰۷	۱۴۲۶
آرومادندرن	۰/۴۸	۱۴۴۵
آلفا-هومولن	۰/۱۵	۱۴۶۳
آرومادندرن (آلو)	۰/۰۷	۱۴۶۷
کیورکیومن(آر)	۰/۰۶	۱۴۸۷
وریدیفلورن	۰/۴۰	۱۴۹۸
بایسیکلوجرماکرن	۰/۲۶	۱۵۰۳
بتا-سیسکویی فلاندرن	۰/۰۷	۱۵۳۰
اسپاتولنول	۰/۶۹	۱۵۸۹
کاریوفیلن اکسید	۰/۵۷	۱۵۹۴
جمع کل	۹۹/۳۷	-

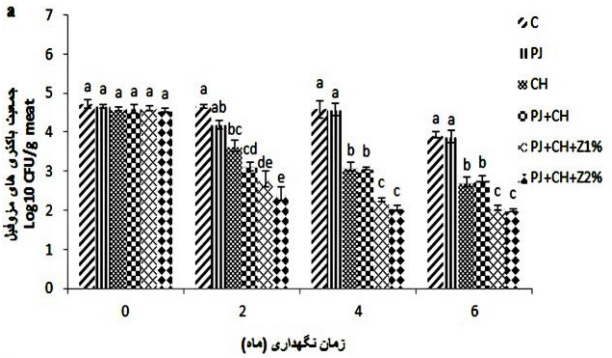
ارزیابی‌های میکروبی

تغییرات در جمعیت باکتری‌های هوازی مزوفیل، سودوموناس، باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB)، انتروباکتریاسه، سایکروترف‌ها و کپک ـ مخمر در شکل (a-f) ۱ تحت شرایط انجماد نشان داده شده است. به طور کلی سرمای ۱۸°C-، در طول ۶ ماه نگهداری منجر به کاهش تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی (a) ۱، باکتری‌های اسیدلاکتیک (c) ۱، خانواده‌ی انتروباکتریاسه (d) ۱، کپک ـ مخمر(f) ۱ و به مقدار کمتر گونه‌های سودوموناس (b) ۱ گردید. سایکروترف‌ها (e) ۱ تنها گروهی بودند که در این درجه حرارت در طول ۶ ماه افزایش یافتند. نمودار (a-f) ۱ تا ماه دوم اثر معنی‌داری ($P<0/05$) از تیمارها (PJ ، CH، PJ+CH، ۱٪ PJ + CH + Z و ۲٪ PJ + CH + Z) را بر میزان باکتری‌های هوازی مزوفیل، سودوموناس‌ها، باکتری‌های اسید لاکتیک، خانواده‌ی انتروباکتریاسه، سایکروتروف‌ها و کپک-مخمر نشان می‌دهد. الگوی خاصیت ضدباکتریایی تیمارها در تمام گروه‌های میکروبی به این‌صورت بود که بیشترین تعداد باکتری به ترتیب در گروه کنترل، PJ، CH، PJ-CH، ۱٪ PJ-CH-Z و ۲٪ PJ-CH–Z یافت شد. به عبارتی قوی‌ترین تیمار علیه این گروه‌ها ۲٪ PJ-CH–Z و ضعیف‌ترین به غیر از کنترل PJ بودند. نکته جالب توجه در مورد این تیمارها آن است که از ماه چهارم به بعد افزایش قابل توجهی در مورد جمعیت باکتری‌های تیمار PJ در تمامی گروه‌های میکروبی مشاهده گردید، به گونه‌ای که تعداد باکتری‌های این گروه با کنترل تفاوت معنی‌داری ($P<0/05$) نداشتند. هم‌چنین اثر ضد باکتریایی تیمارهای CH و CH – PJ نیز از ماه چهارم به بعد مشابه یکدیگر گردید. به گونه‌ای که در تمام گروه‌های باکتریایی، این دو تیمار تفاوت معنی‌داری ($P<0/05$) با یکدیگر نداشتند. جمعیت گروه‌های میکروبی هوازی مزوفیل، انتروباکتریاسه، باکتری‌های اسید لاکتیک، کپک- مخمر و به مقدار کمتر، گونه‌های سودوموناس در جریان

Archive of SID

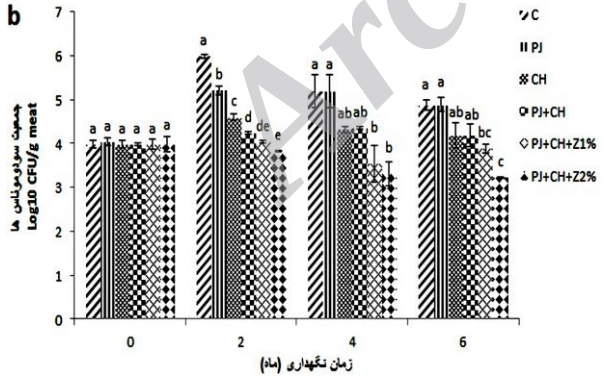
www.SID.ir

نگهداری نمونه‌های گوشت مرغ در دمای ۱۸°C- در طول ٦ ماه رو به کاهش رفت. اما سایکروتروف‌ها تنها گروهی بودند که در این بین افزایش اندکی یافتند. نتایج مطالعه‌ی ما با یافته‌های دیگر محققین مطابقت داشت (آبنالاگان و همکاران ۲۰۱٤). عملکرد ضدمیکروبی آب انار تا ماه دوم، مربوط به ترکیبات موجود در آن به ویژه تانین‌های فشرده و فنول‌های رسوب دهنده‌ی پروتئین‌ها می‌باشد. فنول‌های آب انار توسط باند شدن به پروتئین‌ها یا ممانعت آنزیمی از رشد میکروبی جلوگیری می‌کنند (داهام و همکاران ۲۰۱۰). گزارشات مشابهی در مورد استفاده از مواد فنولی موجود در عصاره‌ی دانه‌ی انگور و ساقه‌ی کاج در ممانعت از رشد مزوفیل‌های هوازی در گوشت چرخ کرده‌ی گوساله وجود دارد (آن و همکاران ۲۰۰۷). استفاده از کتیوزان، به ویژه کتیوزان غنی شده با ZEO به همراه PJ اثر ضدمیکروبی را طولانی‌تر کرد. بنابراین در مطالعه‌ی حاضر، تیمار ۲٪ PJ – CH – Z مؤثرترین تیمار علیه تمام گروه‌های میکروبی بررسی شده تا ماه دوم بود. این نتیجه می‌تواند مربوط به اثر ترکیبی مواد ضد میکروبی به کار رفته در مورد تیمارها باشد، که منجر به ممانعت از رشد میکروارگانیسم‌های فساد گرم مثبت و گرم منفی شده است. در مورد اثر ضد میکروبی کتیوزان، گفته شده که این ماده از طریق تغییر نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی منجر به نشت الکترولیت‌ها و مواد پروتئینی از سیتوپلاسم به خارج سلول شده و در نهایت باعث مرگ سلول می‌شود (پراشانت و تاراناتان ۲۰۰۷). در مورد مکانیسم ضد میکروبی روغن‌های ضروری از جمله ZEO گزارش شده که این مواد از طریق ایجاد اختلال در غشای سیتوپلاسمی، نیرو محرکه پروتونی[۱۳]، جریان الکترون‌ها، انتقال فعال و انعقاد محتویات سلول، اثر ضد میکروبی خود را اعمال می‌کنند (بارت ۲۰۰٤).



شکل ۱-a- میانگین تعداد باکتری‌های مزوفیل در تیمارهای مختلف گوشت مرغ طی زمان نگهداری در دمای ۱±۱۸ °C-

امروزه، گونه‌های سودوموناس یکی از اجزای اصلی میکروفلورای فساد گوشت مرغ معرفی شده‌اند. در مطالعه‌ی حاضر، نمونه‌های حاوی ZEO، مؤثرترین تیمار در ممانعت از رشد گونه‌های سودوموناس معرفی شدند که احتمالاً به علت عملکرد ترکیبی ضد میکروبی PJ، CH و ZEO می‌باشد. یافته‌های ما در توافق نتایج گزارش شده درباره‌ی گوشت مرغی بود که با کتیوزان حاوی اسانس پونه تیمار شده بود (جییاتراکو و ساوا یدیس ۲۰۱۲).



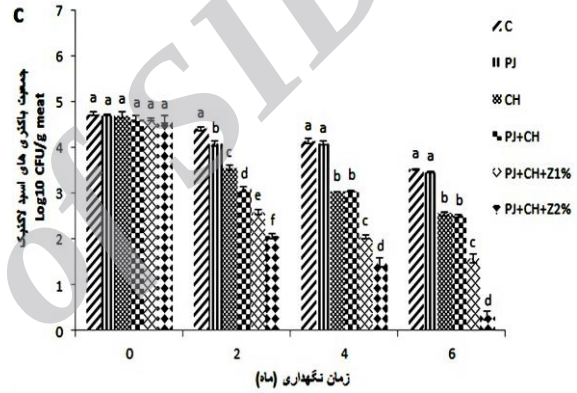
شکل ۱-b- میانگین تعداد باکتری‌های سودوموناس در تیمارهای مختلف گوشت مرغ طی زمان نگهداری در دمای ۱±۱۸ °C-

13- Proton Motive Force

Archive of SID

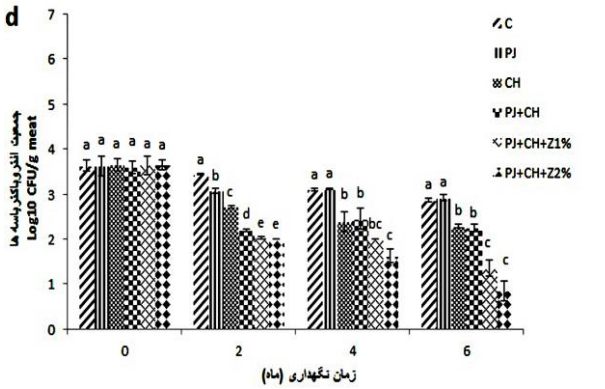
www.SID.ir

باکتری‌های اسید لاکتیک، باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری بوده و به عنوان عضوی از فلور میکروبی گوشت مرغ شناخته شده‌اند. اثر قوی‌تر تیمارهای ترکیبی در مورد این باکتری‌ها نیز صادق بود که در توافق با نتایج گزارش شده درباره‌ی استفاده‌ی ترکیبی اسانس رزماری و کیتوزان بر سوسیس‌های تازه‌ی خوک بود که منجر به کاهش ۲ سیکل لگاریتمی از جمعیت باکتری‌های LAB گردید (جیییاتراکو و ساوایدیس ۲۰۱۲).



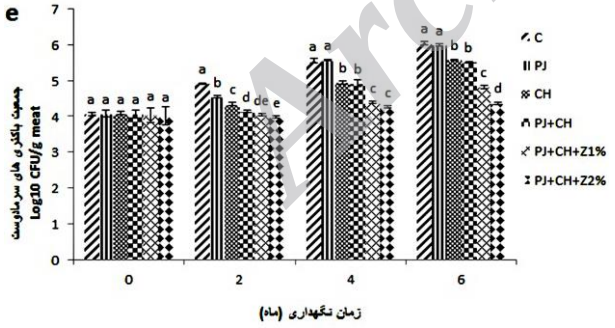
شکل ۱-c -میانگین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمارهای مختلف گوشت مرغ طی زمان نگهداری در دمای ۱±۱۸ °C-

به طور کلی، انتروباکتریاسه به عنوان گروهی از باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری قسمت عظیمی از میکرو فلورای گوشت مرغ را تشکیل می‌دهند. در توافق یافته‌های ما در مورد اثر PJ علیه انتروباکتریاسه، سلام و همکاران (۲۰۱۱)، داهام و همکاران (۲۰۱۰) اثر ضد باکتریایی PJ را علیه خانواده‌ی انتروباکتریاسه به‌ویژه اکلای گزارش کردند. هم‌چنین، آن‌ها اثر ترکیبی کیتوزان با سولفیت را بر این باکتری‌ها در سوسیس‌های تازه‌ی خوک نیز گزارش نمودند. اخیراً، گزارش شده که ZEO منجر به کاهش جمعیت باکتری‌های خانواده‌ی انتروباکتریاسه در فیله‌های سینه‌ی مرغ تحت شرایط یخچال شده است (پترو و همکاران ۲۰۱۲).



شکل ۱-d -میانگین تعداد انتروباکتریاسه‌ها در تیمارهای مختلف گوشت مرغ طی زمان نگهداری در دمای ۱±۱۸ °C-

باکتری‌های سایکروتروف گرم منفی[14] گروه اصلی میکروارگانیسم‌های عامل فساد گوشت تازه‌ای هستند که به صورت هوازی در درجه حرارت یخچال نگهداری شده است (سلام و همکاران ۲۰۱۱). مطابق یافته‌های ما، وایتیاناتان و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که فنول‌های آب انار، باکتری‌های سایکروتروف را در گوشت سینه‌ی مرغ غیرفعال نمودند.



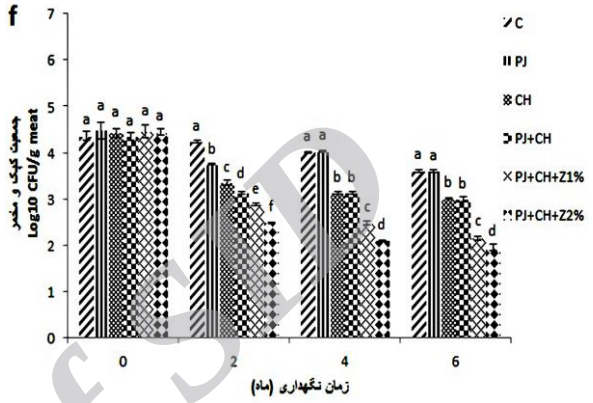
شکل ۱-e -میانگین تعداد باکتری‌های سرمادوست در تیمارهای مختلف گوشت مرغ طی زمان نگهداری در دمای ۱±۱۸ °C-

14- Gram-negative Psychrotrophic Bacteria

Archive of SID

www.SID.ir

گزارش شده که از جمله عوامل دخیل در امر فساد گوشت مرغ، کپک‌ها و مخمرها هستند، در توافق یافته‌های ما، فعالیت ضد قارچی PJ علیه انواع متفاوت کپک‌ها و مخمرها گزارش شده است (داهام و همکاران ۲۰۱۰؛ سلام و همکاران ۲۰۱۱).



شکل ۱-f- میانگین تعداد کپک و مخمر در تیمارهای مختلف گوشت مرغ طی زمان نگهداری در دمای ۱±۱۸ °C-

مشابه شدن تعداد جمعیت میکروبی گروه‌های کنترل و PJ در ماه چهارم و نیز معنی‌دار نبودن تفاوت تعداد باکتری‌های دو گروه CH و PJ – CH را می‌توان به علت غیرفعال شدن ترکیبات ضدمیکروبی PJ از ماه چهارم به بعد دانست. از آنجایی که اثرات ضد میکروبی آب انار به وجود ترکیبات فنولی به‌ویژه آنتوسیانین‌ها و تانین‌ها نسبت داده شده، بنابراین می‌توان مدعی شد که در درجه حرارت‌های انجماد این ترکیبات فعالیت خود را از دست می‌دهند (لی و کوتس ۱۹۹۹؛ کورتس و همکاران ۲۰۰۵؛ پویانا و همکاران ۲۰۱۰؛ میرسعیدقاضی و همکاران ۲۰۱۱). به همین علت در ماه چهارم، رشد میکروبی نمونه‌های تیمار PJ با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری ($P<0/05$) نکرده و ضمناً گروه‌های CH و CH-PJ نیز اثر مشابهی از خود نشان داده‌اند. چون به علت غیرفعال شدن ترکیبات آب انار در این گروه‌ها تنها کتیوزان اثرات ضد میکروبی خود را علیه گروه‌های باکتریایی مورد مطالعه القا نموده است. نتایج حاصله با نتایج میرسعیدقاضی و همکاران (۲۰۱۱) که اثر انجماد با درجه حرارت ۲۵°C- را به مدت ۲۰ روز بر آب انار بررسی کردند، مطابقت داشت. آنها گزارش کردند که محتوای آنتوسیانین تام و محتوای فنول تام آب انار بعد از ۲۰ روز نگهداری در ۲۵°C- به ترتیب تا ۱۱ و ۲۹ درصد کاهش یافت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب انار علیه رادیکال DPPH[15] نیز در این مطالعه بعد از ۲۰ روز به نصف میزان اولیه‌ی خود رسید. هم‌چنین اندازه‌گیری پنج آنتوسیانین اصلی آب انار به روش LC-MS[16] نشان داد که پلارگونیدین ۳ و ۵- دی گلوکوزید بیش ترین کاهش را نشان داده است. علاوه بر این اندازه‌گیری الاژیک اسید با روش LC-MS نیز کاهش ۱۵ درصدی بعد از ۲۰ روز نگهداری در دمای ۲۵°C- را آشکار کرد. نتایج بررسی‌های میکروبیولوژیکی در مطالعه‌ی حاضر نشان داد که آب انار می‌تواند به عنوان یک عامل ضد میکروب قوی در حفاظت از غذا مورد استفاده قرار بگیرد، هم‌چنین نتایج ما نشان داد که کتیوزان به عنوان یک پوشش خوراکی می‌تواند اثرات ضد میکروبی آب انار را در غذا بهبود ببخشد. از طرفی مشخص شد که کتیوزان غنی شده با ZEO در انجام این امر تواناتر است. هم چنین مشخص شد که نگهداری در شرایط انجماد (۱±۱۸°C-) می تواند اثرات ضدمیکروبی آب انار را به شدت کاهش دهد.

نتیجه‌گیری

از این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که اولاً آب انار دارای خواص ضد میکروبی علیه انواع عوامل فساد گوشت سینه مرغ بوده و ثانیاً شرایط انجماد (۱°C ۱۸±-) خواص ضدمیکروبی آن را بر خلاف کیتوزان و ZEO ازبین می‌برد.

15- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
16- Liquid chromatography mass spectrometry

Archive of SID

www.SID.ir

تشکر و قدردانی

انجام این تحقیق با مساعدت دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه ارومیه و دانشکده‌ی پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی‌سینا میسر گردید که بدین وسیله تشکر و قدردانی از آن به عمل می‌آید.

منابع مورد استفاده

Ahn J, Grun IU and Mustapha A, 2007. Effect of plant extracts on microbial growth, color changes and lipid oxidation in cooked beef. Food Microbiology 24: 7−14.

Anbalagan M, Ganesh Prabu P, Krishnaveni RE and Manivannan S, 2014. Effect of Low Temperature on the Bacterial Load in Chicken, Mutton and Beef Meat in Relation to Meat Spoilage. International Journal of Research in Pure and Applied Microbiology 4: 1-6.

Burt S, 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology 94: 223–253.

Cortés C, Esteve M, Frígola A and Torregrosa F, 2005. Changes in carotenoids including geometrical isomers and ascorbic acid content in orange-carrot juice during frozen storage. European Food Research Technology 221: 125–131.

Dahham SS, Ali MN, Tabassum H and Khan M, 2010. Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum* L.). American-Eurasian Journal Agriculture & Environment Science 9: 273-281.

Dell'Agli M, Galli GV, Bulgari M, Basilico N, Romeo S and Bhattacharya D, 2010. Ellagitannins of the fruit rind of pomegranate (*Punica granatum*) antagonize in vitro the host inflammatory response mechanisms involved in the onset of malaria. Malaria Journal 9: 208.

Giatrakou V and Savvaidis IN, 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 P. 685–730. Chapter 16.

Gulcin I, 2007. Comparison of in vitro antioxidant and antiradical activities of Ltyrosine and L-dopa. Amino Acids 32: 431 - 438.

Ibrahim Sallam A, Bor T, Song D and Tajkarimi M, 2011. Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* O157:H7 in pomegranate-carrot and pomegranate-apple blend juices. Food and Nutrition Sciences 2: 844-851.

Karabiyikli S and Kisla D, 2012. Inhibitory effect of sour pomegranate sauces on some green vegetables and kisir. International Journal of Food Microbiology 155: 211–216.

Kordsardouei H, Barzegar M and Sahari MA, 2013. Application of *Zataria multiflora* Boiss and *Cinnamon zeylanicum* essential oils as two natural preservatives in cake. Avicenna Journal of Phytomedicine 3: 238-247.

Lee HS and Coates GA, 1999. Vitamin C in frozen, fresh squeezed, unpasteurized, polyethylene bottled orange juice: a storage study. Food Chemistry 65:165–168.

Lin KW and Chao JY, 2001. Quality characteristics of reduced-fat Chinese-style sausage as related to chitosan's molecular weight. Meat Science 59: 343–351.

Mirsaeedghazi H, Emam-Djomeh Z and Ahmadkhaniha R, 2011. Effect of frozen storage on the anthocyanins and phenolic components of pomegranate juice. Journal Food Science Technology DOI 1 0.1007/s13197-011-0504-z.

Petrou S, Tsiraki M, Giatrakou V and Savvaidis IN, 2012. Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat. International Journal of Food Microbiology 156: 264–271.

Poiana MA, Moigradean D and Alexa E, 2010. Influence of home scale freezing and storage on antioxidant properties and color quality of different garden fruits. Bulgarian Journal Agriculture Science 16:163–171.

Prashanth HKV and Tharanathan RN, 2007. Chitin/Chitosan: modifications and their unlimited application potential-an overview. Trends in Food Science and Technology 18: 117–131.

Sebranek JG, 1982. Use of cryogenics for muscle foods. Food Technology 36: 121–127.

Archive of SID

www.SID.ir

Sengun IY and Karapinar M, 2004. Effectiveness of lemon juice, vinegar and their mixture in the elimination of Salmonella typhimurium on carrots. International Journal of Food Microbiology 96: 301–305.

Teets AS and Were LM, 2008. Inhibition of lipid oxidation in refrigerated and frozen salted raw minced chicken breasts with electron beam irradiated almond skin powder. Meat Science 80: 1326–1332.

Vaithiyanathan S, Naveena BM, Muthukumar M, Girish PS and Kondaiah N, 2011. Effect of dipping in pomegranate (Punica granatum) fruit juice phenolic solution on the shelf life of chicken meat under refrigerated storage (4°C). Meat Science 88: 409–414.

Vijayakumar C and Wolf-Hall C, 2002. Evaluation of household sanitizers for reducing levels of E.coli on iceberg lettuce. Journal of Food Protection 65: 1646–1650.

Archive of SID

www.SID.ir

Antimicrobial effects of pomegranate juice along to chitosan containing *Zataria multiflora* Boiss essential oil on the frozen chicken meat

B Bazargani-Gilani[1*], H Tajik[2], J Aliakbarlu[3] and D kholghi[4]

Received: May 09, 2015 Accepted: July 01, 2015

[1]Assistant Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Para-Veterinary Sciences, University of Bu-Ali Sina, Hamedan, Iran
[2]Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary medicine, University of Urmia, Urmia, Iran
[3]Associate Professor, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary medicine, University of Urmia, Urmia, Iran
[4]MSc Student of Food Hygiene, Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia, Iran
[*]Corresponding author: E-mail: behnazbazargani90@gmail.com

Abstract

Nowadays, consumers are applicant to usage of natural replacements causing to side effects of synthetic preservatives such as carcinogenicity and teratogenicity. This experiment was carried out to introduce a new product resulting from dipping of chicken breast meat in pomegranate fruit juice and chitosan coating enriched with *Zataria multiflora* Boiss essential oil. Treatments of the present study were the following: control, samples containing pomegranate juice, samples containing chitosan, samples containing pomegranate juice and chitosan, samples containing pomegranate juice and chitosan enriched with essence 1%, samples containing pomegranate juice and chitosan enriched with essence 2%. The samples were stored at -18±1°C for 6 months and microbial analyzed at 0, 2, 4 and 6 months. Population of mesophilic total plate counts, Pseudomonas spp., lactic acid bacteria (LAB), Enterobacteriaceae, Psychrotrophic bacteria and yeasts-molds were significantly ($P<0.05$) lower in all of treatments than control until second months of storage. Also chitosan coating enriched with essence significantly ($P<0.05$) improved all of these effects. Furthermore, the results indicated that the frozen storage deteriorated bioactive compounds of pomegranate fruit juice and therefore dis appeared its antimicrobial effects after fourth months. The results of this study showed that the freezing storage (-18±1°C) can be destroyed the antimicrobial effects of pomegranate juice.

Keywords: Pomegranate juice, Antimicrobial effects, Freeze storage

Archive of SID

www.SID.ir