اثر اسپری اسیدهای سیتریک، استیک و پروپیونیک بر برخی پارامترهای میکروبی، شیمیایی و ظاهری گوشت بسته‌بندی‌شده گاو

شهرام حنیفیان[1*]، مجید جلیل‌نیا[2]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران.
۲- دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران.
* نویسنده مسئول مکاتبات: hanifian@iaut.ac.ir
(دریافت مقاله: ۸۹/۹/۲ پذیرش مقاله: ۸۹/۱۱/۱۲)

چکیده

اثر اسپری اسیدهای سیتریک، استیک و پروپیونیک بر خصوصیات میکروبی، شیمیایی و ظاهری گوشت بسته‌بندی‌شده گاو مورد مطالعه قرار گرفت. گوشت ناحیه سردست گاو متعاقب اسپری با محلول‌های ۱ درصد استریل اسیدهای سیتریک، استیک و پروپیونیک، بسته‌بندی گردید. نمونه‌های بسته‌بندی‌شده گوشت در دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری و با فواصل ۲ روز، مورد آزمایش‌های میکروبی (شمارش مزوفیل‌های هوازی، شمارش کلی‌فرم‌ها، شمارش سرماگراها و شمارش بی‌هوازی‌ها)، شیمیایی (pH و TVN) و ظاهری (درصد خونابه، کیفیت رنگ و بو) قرار گرفت. آزمایشات در ۲۰ تکرار انجام پذیرفت. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد، تعداد مزوفیل‌های هوازی، کلی‌فرم‌ها، سرماگراها و بی‌هوازی‌ها در طی دوره نگه‌داری ۸ روزه افزایش معنی‌داری ($P < ۰/۰۱$) دارد. تفاوت تعداد میکروب‌ها بین نمونه شاهد با نمونه تیمارشده با اسید سیتریک معنی‌دار نبود، درحالی‌که این تفاوت بین نمونه شاهد و تیمارهای اسید استیک و پروپیونیک معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) بود. همچنین تفاوت پارامترهای مزبور بین اسید سیتریک با اسید استیک و پروپیونیک معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۱$) درحالی‌که این تفاوت بین اسید استیک و پروپیونیک معنی‌دار نبود. با توجه به پارامترهای میکروبی و شیمیایی، می‌توان نمونه‌های شاهد را به مدت ۴ روز، نمونه‌های تیمارشده با اسید سیتریک را تا ۵ روز و نمونه‌های تیمارشده با اسید استیک و پروپیونیک را ۷ روز نگه‌داری نمود. به‌دلیل غیرمعنی‌دار ($P > ۰/۰۱$) بودن تفاوت بین نمونه شاهد و نمونه‌های تیمارشده از لحاظ خصوصیات ظاهری، می‌توان از غلظت‌های ۱٪ این اسیدها بدون ایجاد عوارض نامطلوب ظاهری، در افزایش زمان ماندگاری گوشت گاو استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اسید استیک، اسید پروپیونیک، اسید سیتریک، بسته‌بندی، گوشت گاو

مقدمه

گوشت به‌دلیل دارا بودن عوامل داخلی مساعد برای رشد اکثر میکروارگانسیم‌ها و به‌ویژه انواع مولد فساد، محیط بسیار مناسبی برای فعالیت میکروارگانیسم‌ها می‌باشد و در صورت عدم کنترل عوامل خارجی، به‌سرعت دچار فساد می‌گردد. ماندگاری گوشت به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای متأثر از نحوه ذبح و کیفیت استحصال و عرضه گوشت می‌باشد. چرا که در طی این مراحل بار میکروبی اولیه گوشت در نتیجه آلودگی با پوست دام، محتویات روده و آب مورد استفاده در شست و شوی لاشه افزایش می‌یابد (Lawrie and Ledward 2006 and Rokni, 1998). ذبح، استحصال و عرضه گوشت در ایران عموماً به‌صورت سنتی و تا حدود زیادی متفاوت از کشورهای توسعه‌یافته، انجام می‌گیرد. در کشتارگاه‌های سنتی، دام‌ها هنگام صبح ذبح

Archive of SID
www.SID.ir

می‌شوند و در طول روز گوشت در دمای محیط به بازار عرضه و به فروش می‌رسد. در سال‌های اخیر در برخی مناطق کشور تغییراتی به لحاظ عرضه گوشت مشاهده می‌گردد. به این معنی که گوشت قطعه‌بندی‌شده در سینی‌هایی از جنس پلی‌استایرن و استرچ فیلم بسته‌بندی و در فروشگاه‌های بزرگ به‌صورت سرد عرضه می‌گردد. به‌رغم مزایای متعددی که این روش در مقایسه با روش سنتی عرضه گوشت دارد، اما به‌دلیل دستکاری گوشت به‌هنگام قطعه‌بندی و بسته‌بندی، میزان آلودگی‌های میکروبی افزایش یافته و از طرف دیگر افزایش سطح تماس گوشت با هوا که شرایط را برای فعالیت میکروارگانیسم‌های مولد فساد و به‌ویژه انواع هوازی مساعد می‌سازد، موجب تسریع روند فساد در گوشت‌های بسته‌بندی‌شده، می‌گردد (Rokni, 1998 and Aalami and Khamesian, 2002).

استفاده از بسته‌بندی در حین حمل و نقل و عرضه گوشت نقش مهمی در کنترل میزان آلودگی و ماندگاری آن دارد و می‌تواند یکی از عوامل مؤثر در بهینه‌سازی عملیات عرضه گوشت در کشورهای در حال توسعه باشد. بسته‌بندی علاوه بر محافظت سطح گوشت در برابر خشک شدن و تغییر رنگ، از آلودگی میکروبی و فیزیکی تا حدود زیادی می‌کاهد (Aalami and Khamesian, 2002). بسته‌بندی گوشت تازه می‌تواند با استفاده از یک پوشش ساده و یا با به‌کارگیری سیستم‌های پیشرفته‌ای نظیر بسته‌بندی تحت خلا و بسته‌بندی با اتمسفر تغییریافته انجام گیرد. ماندگاری قطعات گوشت بسته‌بندی‌شده به روش ساده در دمای ۴ درجه سلسیوس ۳ تا ۵ روز است. درحالی‌که با استفاده از بسته‌بندی تحت خلا و بسته‌بندی با اتمسفر تغییرشده می‌توان عمر انباری قطعات گوشت تازه یا گوشت چرخ‌شده را طولانی‌تر نمود (Aalami and Khamesian, 2002؛ Rokni, 1998 and Rokni et al., 2001).

از عوامل مهم و تعیین‌کننده نوع و تعداد میکروارگانیسم‌ها، pH مواد غذایی است. اکثر باکتری‌ها pHهای ۷/۵-۶/۵ را برای رشد ترجیح می‌دهند اما قادرند در pHهای ۹-۴ بقای خود را حفظ نمایند. اسیدی نمودن مواد غذایی از طریق افزودن اسید و یا به‌کارگیری کشت‌های آغازگر تولیدکننده اسید از راه‌های معمول نگه‌داری مواد غذایی است. اسیدی نمودن غذاها بیش از آن‌که خاصیت میکروب‌کشی داشته باشد، موجب مهار و یا کند شدن رشد میکروارگانیسم‌ها می‌گردد. یون H^+ اسید با آنزیم‌های میکروبی تداخل ایجاد نموده و همچنین تبادل مواد از طریق غشای سلولی را مختل می‌کند (Jay, 2005). خاصیت ضدمیکروبی اسیدها عمدتاً به نوع میکروب، نوع و غلظت اسید، مدت زمان در معرض قرارگیری اسید با ماده غذایی و خاصیت بافری ماده غذایی وابسته است (Davidson et al., 2005). کاربرد بسیاری از اسیدهای آلی یک روش متداول برای طولانی کردن مدت زمان ماندگاری مواد غذایی است. این اسیدها با کاهش موقت pH سطحی، بر میکروارگانیسم‌های موجود در سطح ماده غذایی تأثیر می‌گذارند. افزودن اسیدهای خوراکی به مواد غذایی علاوه بر اثرات مهاری بر میکروارگانیسم‌ها، موجب ایجاد طعم و رنگ مناسب در آنها می‌گردد (Lamea, 2000 and Fatemi, 2000؛ Razavilar, 1999). حساسیت باکتری‌ها نسبت به pH ایجادشده توسط اسیدهای مختلف، متفاوت می‌باشد. این اختلاف مربوط به Pka اسیدهای آلی است. به این معنی که هر چه میزان Pka اسید بالاتر باشد، خاصیت ضدمیکروبی بیشتری خواهد داشت

Archive of SID

www.SID.ir

Fatemi, 2000; Lamea, 2000; Codjoe, 1998, Rokni, 1999, Razavilar, 1999 و Davidson et al., 2005.

pH طبیعی گوشت پس از طی جمود نعشی ممکن است از رشد برخی باکتری‌ها جلوگیری نماید، ولی در مقابل موجب تقویت رشد گروهی دیگر از میکروارگانیسم‌ها می‌گردد (Samelis et al., 2002). اما جهت مهار میکروب‌های عامل فساد در گوشت، لازم است میزان pH تا حد ۴/۵-۴ کاهش یابد. بنابراین جهت افزایش مدت ماندگاری مواد غذایی و از آن جمله گوشت، اغلب از اسیدهای آلی نظیر اسید سیتریک، اسید بنزوئیک، اسید استیک، اسید لاکتیک، اسید پروپیونیک و سایر اسیدهای آلی که جزو اسیدهای خوراکی محسوب می‌گردند، استفاده می‌شود (Aalami; Lamea, 2000; Fatemi, 2000 and Khamesian, 2002; Eero et al., ;Davidson et al., 2005; Codjoe, 1998 Eleftherios et al, 2006 and 2003).

هدف این مطالعه، مقایسه تأثیر اسپری اسیدهای سیتریک، استیک و پروپیونیک بر برخی ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و ارگانولپتیکی گوشت بسته‌بندی‌شده گاو می‌باشد.

مواد و روش‌ها

الف - اسپری نمودن اسیدهای آلی و بسته‌بندی گوشت

گوشت ناحیه سردست گاو نر پرواری ۲-۱ ساله نر سالم، متعاقب ۲۴ ساعت نگه‌داری در سردخانه ۴-۲ درجه سلسیوس و طی نمودن تغییرات پس از کشتار، برای مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. گوشت در ابتدا به قطعات یک‌پارچه و با وزن تقریبی ۵۰۰ گرم تقسیم و پس از اسپری اسید بر روی آنها، با استفاده از ظروف پلی‌استایرن و استرچ فیلم بسته‌بندی گردید. نمونه‌های گوشت با استفاده از اسپری‌های دستی حاوی محلول‌های ۱ درصد اسیدهای سیتریک، استیک و پروپیونیک استریل (با استفاده از فیلتر با منافذی به قطر ۰/۴۵ میکرون) به‌طور کامل با اسید مربوطه آغشته گردید و بر روی سطح مشبک استریل قرار گرفت تا اضافی اسید از سطح گوشت پاک شود. سپس نمونه‌های گوشت داخل ظروف پلی‌استایرن و با استرچ فیلم بسته‌بندی گردید. در نمونه‌های شاهد (بدون تیمار اسید) از آب مقطر استریل برای اسپری استفاده گردید تا به این وسیله اثر شست و شودهندگی اسیدهای آلی در نمونه‌های تیمار، برای نمونه شاهد نیز به‌طور مشابه اعمال گردد. نمونه شاهد مشابه نمونه‌های تیمار پس از پاک شدن رطوبت موجود در سطح گوشت، در ظروف پلی‌استایرن و استرچ فیلم بسته‌بندی و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری گردید. در مجموع ۱۶ نمونه گوشت (با در نظر گرفتن یک نمونه شاهد و سه نوع تیمار و هر کدام به تعداد ۴ عدد برای روزهای ۲، ۴، ۶ و ۸) برای هر تکرار آزمایش در نظر گرفته شد.

ب - آزمایشات میکروبی، شیمیایی و ارگانولپتیکی

نمونه‌های گوشت در روزهای ۲، ۴، ۶ و ۸ (شامل یک نمونه شاهد و سه تیمار) از یخچال خارج و مورد آزمون‌های میکروبی (شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی، کلی‌فرم‌ها، بی‌هوازی‌ها و سرماگراها)، شیمیایی (pH و TVN) و حسی (کیفیت رنگ، بو و درصد خونابه) قرار گرفت. به‌منظور برآورد ویژگی‌های اولیه گوشت از نظر کیفیت میکروبی، شیمیایی و ظاهری، قبل از اِعمال تیمار بر روی نمونه‌ها (روز صفر)، آزمایش‌های مزبور بر روی نمونه‌های گوشت انجام گرفت.

برای شمارش گروه‌های مختلف باکتریایی، مقدار ۱۱ گرم از نمونه گوشت یکنواخت‌شده با ۹۹ میلی‌لیتر فسفات بافر استریل به مدت ۵ دقیقه مخلوط گردید. لوله‌های سریال

Archive of SID
www.SID.ir

رقت با استفاده از فسفات بافر استریل با حجم ۹ میلی‌لیتر و تا رقت 10^{-8} تهیه شد (McLandsborough, 2005).

برای شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی (Aerobic mesophillic count)، نمونه‌های رقیق‌شده در دو محیط کشت پلیت‌کانت آگار (Plate count agar, Merck) به‌صورت مخلوط (Pour plate) کشت و به مدت ۲۴ ساعت در گرم‌خانه ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفت. جهت شمارش کلی‌فرم‌ها از محیط کشت VRBA (Violet Red Bile Lactose Agar, Merck) و کشت به‌صورت پورپلیت و گرمخانه‌گذاری در ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸-۲۴ ساعت استفاده گردید (McLandsborough, 2005 and ISIRI, No. 356).

شمارش باکتری‌های سرماگرا به‌صورت پورپلیت در محیط BHIA (Brain Heart Infusion Agar, Merck) و در دمای ۱۰درجه سلسیوس به مدت ۷ روز انجام گرفت. همچنین برای شمارش باکتری‌های بی‌هوازی از محیط TSA+G (Trypticase Soy Agar + Glucose, Merck) در جار بی‌هوازی (با استفاده از GasPak type A) و دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۳ روز استفاده گردید (Downes and Ito, 2001).

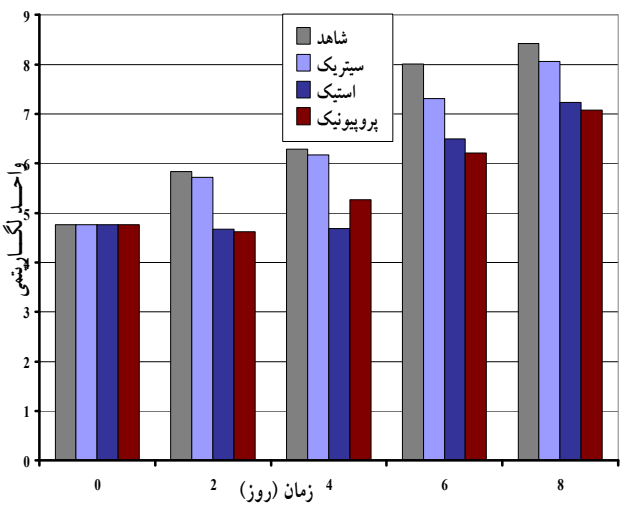
به‌منظور تعیین pH از pH متر دیجیتال (کالیبره‌شده با بافرهای ۴ و ۹) و برای تعیین TVN (Total Volatile Nitrogen) از روش کلدال استفاده شد (Anonymous, 1995 and Parvaneh, 1992). برای تعیین درصد خونابه، پس از باز نمودن هر بسته، وزن خونابه به‌دقت اندازه‌گیری و عدد حاصله بر وزن نمونه تقسیم و سپس در عدد ۱۰۰ ضرب گردید. برای ارزیابی کیفیت رنگ و بوی نمونه‌ها، بلافاصله پس از باز نمودن بسته‌های گوشت و قرار دادن آنها در زیر نور طبیعی، فاکتورهای مربوطه توسط ۵ نفر (با وضعیت بینایی و بویایی عادی)، مورد ارزیابی قرار گرفت (Rokni et and Hanifian, 2008 al., 2001).

ج- آنالیز آماری

نتایج مطالعه در ۲۰ تکرار انجام پذیرفت و پس از محاسبه میانگین داده‌های حاصل از تکرارها، با استفاده از آنالیز واریانس و آزمون LSD برای داده‌های کمی و آزمون Kruskal-Wallis برای داده‌های کیفی، معنی‌دار بودن اختلاف تیمارهای مختلف از نقطه‌نظر میکروبی، شیمیایی و ظاهری با یکدیگر مقایسه گردید.

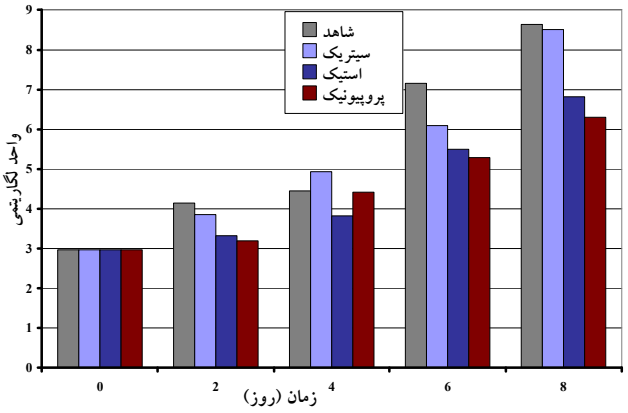
یافته‌ها

نتایج حاصله نشانگر افزایش معنی‌دار($P < ۰/۰۱$) میزان شمارش مزوفیل‌های هوازی، کلی‌فرم‌ها، باکتری‌های بی‌هوازی و سرماگرا در نمونه‌های گوشت طی ۸ روز نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس می‌باشد (نمودارهای ۱، ۲، ۳ و ۴).

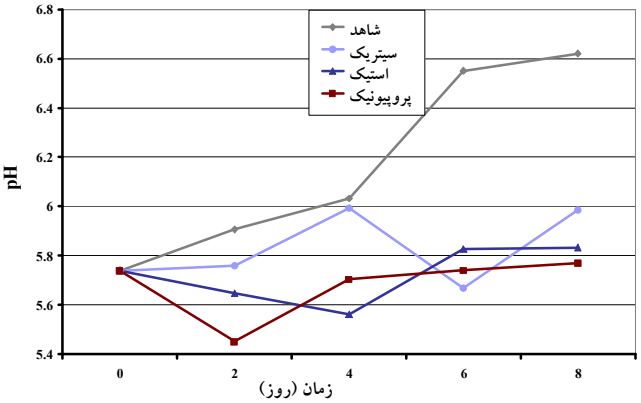


نمودار ۱: میانگین لگاریتم تعداد مزوفیل‌های هوازی در نمونه‌های گوشت بر حسب زمان ماندگاری و نوع تیمار

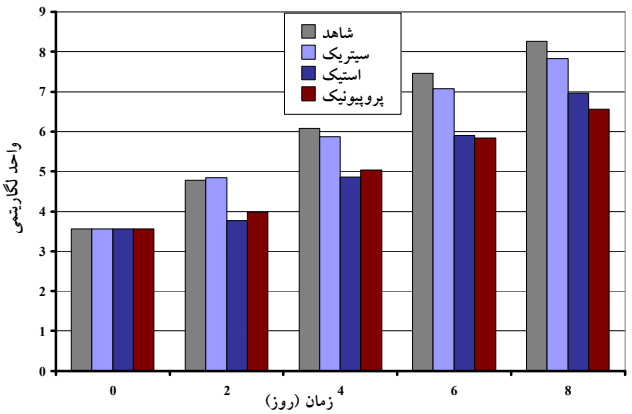
Archive of SID
www.SID.ir



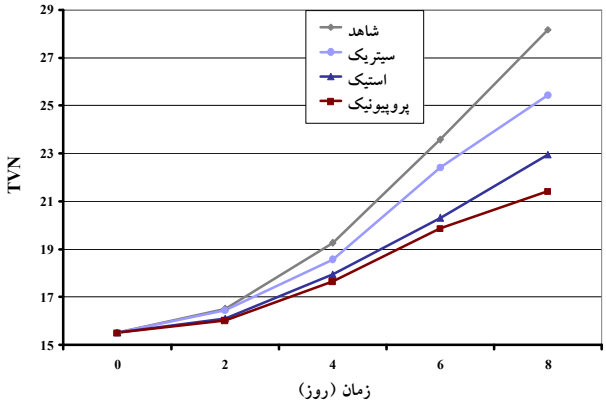
نمودار ۲: لگاریتم میانگین تعداد کلی‌فرم در نمونه‌های گوشت بر حسب زمان ماندگاری و نوع تیمار



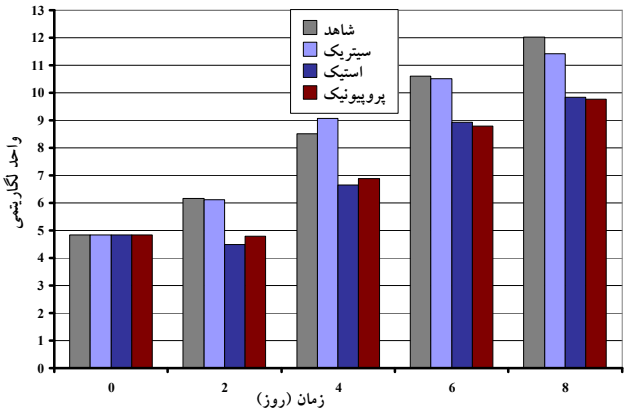
نمودار ۵: میانگین تغییرات pH در نمونه‌های گوشت بر حسب زمان ماندگاری و نوع تیمار



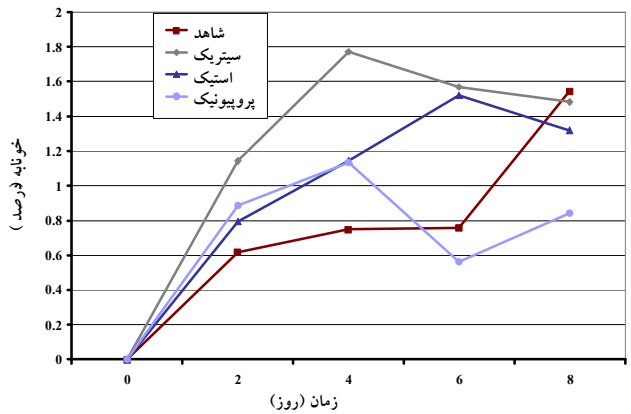
نمودار ۳: میانگین لگاریتم تعداد بی‌هوازی‌ها در نمونه‌های گوشت بر حسب زمان ماندگاری و نوع تیمار



نمودار ۶: میانگین تغییرات ازت فرار تام در نمونه‌های گوشت بر حسب زمان ماندگاری و نوع تیمار



نمودار ۴: میانگین لگاریتم تعداد سرماگراها در نمونه‌های گوشت بر حسب زمان ماندگاری و نوع تیمار



نمودار ۷: میانگین تغییرات درصد خونابه در نمونه‌های گوشت بر حسب زمان ماندگاری و نوع تیمار

www.SID.ir

جدول ۱: فراوانی نسبی (بر حسب درصد) کیفیت رنگ* در نمونه‌های گوشت بر حسب زمان ماندگاری (روز) و نوع تیمار

تیمار	زمان (روز)				
	صفر	دوم	چهارم	ششم	هشتم
شاهد	٪۱۰۰ (۱)	٪۷۵ (۲) ٪۲۵ (۱)	٪۶۰ (۳) ٪۴۰ (۲)	٪۸۵ (۴) ٪۱۵ (۳)	٪۱۰۰ (۴)
اسید سیتریک	٪۱۰۰ (۱)	٪۷۵ (۱) ٪۲۵ (۲)	٪۷۰ (۲) ٪۳۰ (۳)	٪۸۰ (۴) ٪۲۰ (۳)	٪۱۰۰ (۴)
اسید استیک	٪۱۰۰ (۱)	٪۸۵ (۱) ٪۱۵ (۲)	٪۸۰ (۲) ٪۲۰ (۳)	٪۷۵ (۳) ٪۲۵ (۴)	٪۹۰ (۴) ٪۱۰ (۳)
اسید پروپیونیک	٪۱۰۰ (۱)	٪۸۵ (۱) ٪۱۵ (۲)	٪۸۵ (۲) ٪۱۵ (۳)	٪۷۵ (۳) ٪۲۵ (۴)	٪۸۰ (۴) ٪۲۰ (۳)

* رنگ مطلوب (قرمز روشن)= (۱)، رنگ قابل قبول (قرمز ارغوانی)= (۲)، رنگ نامطلوب (قرمز تیره تا قهوه‌ای)= (۳) و رنگ بسیار نامطلوب (قهوه‌ای)= (۴)

جدول ۲: فراوانی نسبی (بر حسب درصد) انواع بو* در نمونه‌های گوشت بر حسب زمان ماندگاری (روز) و نوع تیمار

تیمار	زمان (روز)				
	صفر	دوم	چهارم	ششم	هشتم
شاهد	٪۱۰۰ (۱)	٪۱۰۰ (۱)	٪۶۵ (۳) ٪۳۵ (۲)	٪۱۰۰ (۳)	٪۱۰۰ (۳)
اسید سیتریک	٪۱۰۰ (۱)	٪۱۰۰ (۱)	٪۸۰ (۲) ٪۲۰ (۱)	٪۶۵ (۳) ٪۳۵ (۲)	٪۱۰۰ (۳)
اسید استیک	٪۱۰۰ (۱)	٪۱۰۰ (۱)	٪۸۰ (۱) ٪۲۰ (۲)	٪۹۰ (۲) ٪۱۰ (۱)	٪۷۰ (۲) ٪۳۰ (۳)
اسید پروپیونیک	٪۱۰۰ (۱)	٪۱۰۰ (۱)	٪۷۵ (۱) ٪۲۵ (۲)	٪۹۰ (۲) ٪۱۰ (۱)	٪۷۵ (۲) ٪۲۵ (۳)

* بوی گوشت تازه= (۱)، بوی قابل قبول=(۲)، بوی نامطلوب=(۳)

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه اسیدهای آلی به‌عنوان عوامل ضدباکتریایی سالم شناخته شده‌اند. اثرات ضدمیکروبی این ترکیبات در تحقیقات متعدد و بر روی باکتری‌های بیماری‌زای مختلف بررسی شده است. Samelis و همکاران (۲۰۰۲) و Castillo و همکاران (۱۹۹۸) اثر اسپری اسید لاکتیک را به ترتیب بر روی گوشت خوک و گوشت چرخ‌شده گاو مورد مطالعه قرار داده‌اند. Rokni و همکاران (۲۰۰۱) از اسید لاکتیک به‌عنوان نگه‌دارنده در بسته‌بندی با اتمسفر تغییریافته در گوشت گوسفند استفاده نمودند و نتایج مطالعه حاکی از دو برابر شدن زمان ماندگاری بسته‌بندی‌هایی است که از اسپری اسید لاکتیک در آنها استفاده شده است. اسپری اسید لاکتیک بر روی لاشه دام‌های کشتاری جهت کاهش بار میکروبی سطحی، از روش‌های معمول در بسیاری از کشورها است. علاوه بر اسید لاکتیک، از دیگر انواع اسیدهای آلی نیز جهت کاهش میزان آلودگی میکروبی در کشتارگاه‌های دام و طیور استفاده شده است (Berry and Cutter, 2000; Codjoe, 1998; Eero et al., 2003; Eleftherios et al., 2006; Lee and Kang,

Archive of SID

www.SID.ir

2009; Oliveira et al., 2010; Rafati et al., 2009; Skrivanova et al., 2011; and Stopforth et al., 2003.)

نتایج مطالعه اخیر نشان می‌دهد تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی، تعداد کلی‌فرم، باکتری‌های بی‌هوازی و سرماگراها در نمونه شاهد و نمونه‌های تیمارشده افزایش معنی‌داری ($P < ۰/۰۱$) در طی زمان نگه‌داری ۸ روزه در دمای ۴ درجه سلسیوس داشته است. استفاده از اسیدهای سیتریک، استیک و پروپیونیک در مقایسه با نمونه شاهد تأثیر معنی‌داری ($P < ۰/۰۱$) در کاهش بار میکروبی مزوفیل‌های هوازی داشته است. در این میان اسپری اسید پروپیونیک به میزان ۱/۳۵ واحد لگاریتمی و اسید استیک و اسید سیتریک به ترتیب ۱/۲ و ۰/۳۷ واحد لگاریتمی کاهش در میزان تعداد باکتری هوازی‌های مزوفیل – در مقایسه با نمونه شاهد – در طی زمان نگه‌داری ۸ روزه نشان می‌دهد (نمودار ۱). اثر مهاری اسید سیتریک با اسیدهای استیک و پروپیونیک تفاوت معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) داشت ولی این تفاوت بین اسید استیک و پروپیونیک معنی‌دار نیست. Raftari و همکاران (2009) غلظت‌های ۱، ۱/۵ و ۲ درصد اسیدهای استیک، لاکتیک، پروپیونیک و فرمیک را بر روی گوشت‌های آلوده‌شده با *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکولای* O157: H7 آزمایش نمودند. تمامی اسیدها به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر، اثر کاهنده بر تعداد باکتری‌های مزبور داشتند و بیشترین اثر مهاری به ترتیب به‌وسیله اسید فرمیک، لاکتیک، استیک و پروپیونیک ایجاد گردید که نتایج آن با نتایج حاصل از مطالعه اخیر از نظر میزان اثر مهاری اسیدهای مختلف، تفاوت دارد. این اختلاف اثر را می‌توان به‌دلیل تفاوت باکتری‌های مورد مطالعه دانست. چرا که باکتری‌های مختلف حساسیت متفاوتی نسبت به اسیدهای آلی دارند.

به‌کارگیری اسید سیتریک در بسته‌بندی نمونه‌های گوشت تأثیر معنی‌داری ($P < ۰/۰۱$) در کاهش تعداد کلی‌فرم ندارد. اما اسید استیک به‌میزان ۱/۸۳ واحد لگاریتمی و اسید پروپیونیک به‌میزان ۲/۳۶ واحد لگاریتمی در مقایسه با نمونه شاهد، موجب کاهش تعداد کلی‌فرم در پایان ۸ روز گردیده است (نمودار ۲). در بین اثر مهاری اسیدهای استیک و پروپیونیک تفاوت معنی‌داری ($P < ۰/۰۱$) مشاهده گردید. این موضوع مؤید تفاوت حساسیت گروه‌های مختلف باکتریایی نسبت به اسیدهای آلی مختلف است (Rafati et al., 2009 and Hanifian, 2008). در تحقیقی Castillo و همکاران (1998) توانستند با اسپری اسید لاکتیک تعداد کلی‌فرم‌ها را ۴/۶ تا ۴/۹ واحد لگاریتمی در سطح لاشه گاو کاهش دهند. در ضمن اسپری ترکیبی اسید لاکتیک و آب داغ ۹۵ درجه سلسیوس تعداد *سالمونلا تایفی‌موریوم* و *اشریشیاکولای* O157:H7 را تا حد غیرقابل‌ردیابی رسانده بود. تعداد باکتری‌های بی‌هوازی در تیمار اسید سیتریک در مقایسه با نمونه شاهد تفاوت معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) نشان نداد. اما این تفاوت در تیمارهای اسید استیک و پروپیونیک با نمونه شاهد و تیمار اسید سیتریک معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) بود. تفاوت اثر اسید استیک و اسید پروپیونیک در سطح ($P > ۰/۰۱$) معنی‌دار نبود. در مطالعه Schirmer and Langsrud (2010) استفاده از غلظت ۳ درصد اسید سیتریک اثر معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) در تعداد بی‌هوازی‌ها داشت. به‌ویژه زمانی که این اسید به‌صورت ترکیبی با بسته‌بندی حاوی CO_2 مورد استفاده قرار گرفت.

باکتری‌های سرماگرا بیشترین افزایش تعداد را در بین سه گروه دیگر باکتری‌ها داشته‌اند. به‌این‌معنی که در نمونه‌های شاهد تعداد باکتری‌ها در روز هشتم به حدود ۸/۵–۸ واحد لگاریتمی رسیده است و این در حالی است که تعداد سرماگراها به بیش از ۱۲ واحد لگاریتمی افزایش یافته است. به‌نظر می‌رسد این گروه بیشترین نقش را در ایجاد فساد در نمونه‌های نگه‌داری‌شده دارد. اسید سیتریک

Archive of SID
www.SID.ir

به‌میزان ۰/۴۴ واحد لگاریتمی و اسید استیک و پروپیونیک به‌ترتیب به‌میزان ۲ و ۲/۰۸ واحد لگاریتمی در مقایسه با نمونه شاهد موجب کاهش تعداد سرماگراها در پایان ۸ روز گردیده است (نمودار ۳). تفاوت اثر مهاری اسید استیک و پروپیونیک با اسید سیتریک معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) می‌باشد. این تفاوت بین اسید استیک و اسید پروپیونیک معنی‌دار ($P > ۰/۰۱$) نیست. این نتایج مشابه نتایج مطالعه Hanifian (2008) می‌باشد که طی آن تیمار اسید لاکتیک در بین گروه‌های مختلف میکروبی، کم‌ترین اثر مهاری را بر سرماگراها داشته است.

استفاده از اسیدهای آلی موجب کاهش معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) مقدار pH تیمارها در مقایسه با نمونه شاهد گردیده است. به‌ترتیب اسید پروپیونیک، استیک و سیتریک موجب کاهش pH در نمونه‌های گوشت شده‌اند (نمودار ۴). اما تفاوت pH میان اسیدهای مربوطه معنی‌دار ($P > ۰/۰۱$) نمی‌باشد. اسیدهای استفاده‌شده به‌عنوان تیمار، از طریق کاهش pH توانسته‌اند اثر مهاری خود را ایجاد نمایند. اما تفاوت ناچیز pH به‌رغم تفاوت معنی‌دار مهار رشد میکروبی در بین تیمارهای مختلف نشان‌دهنده این موضوع هستند که عاملی غیر از نزول pH موجب مهار رشد گروه‌های مختلف میکروبی شده است. در این‌جا ارتباط میزان Pka اسید و اثر ضدمیکروبی آن به‌خوبی مشخص می‌گردد. به‌این‌معنی که اسیدهای با Pka بالا نظیر اسید پروپیونیک و استیک (به‌ترتیب با Pka برابر با ۴/۸۷ و ۴/۷۵) بیشترین اثر مهاری را داشته‌اند. درحالی‌که اسید سیتریک (با Pka برابر با ۳/۱۴) از اثر مهاری کمتری برخوردار است. نتایج این مطالعه در راستای نتایج مطالعه‌ای است که Razavilar (۱۹۹۸) بر روی *لیستریا مونوسایتوجنز* در پنیر نرم انجام داده است.

میزان TVN، در نمونه‌های شاهد در پایان ۸ روز نگه‌داری تقریباً دو برابر شده است. استفاده از تیمار اسید سیتریک اثر معنی‌داری ($P > ۰/۰۱$) در مهار افزایش TVN ندارد. اما این تفاوت بین اسید استیک و اسید پروپیونیک با نمونه‌های شاهد معنی‌دار ($P < ۰/۰۱$) بود (نمودار ۵).

از معایبی که برای استفاده از اسیدهای آلی مطرح می‌گردد، کاهش ظرفیت نگه‌داری آب گوشت از طریق کاهش pH گوشت می‌باشد که به‌صورت خونابه از گوشت خارج می‌شود. به‌این‌ترتیب ضمن کاهش وزن گوشت، موجب کاهش ارزش تغذیه‌ای آن می‌گردد (Rokni, 1998). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، به‌کارگیری اسیدهای آلی تأثیر معنی‌داری ($P > ۰/۰۱$) در افزایش درصد خونابه نمونه‌های مورد آزمایش ندارد (نمودار ۶). این نتایج مشابه نتایجی است که Rokni و همکاران (2001) و Hanifian (2008) به آن دست یافته‌اند. اسیدهای آلی تأثیر منفی قابل‌ملاحظه‌ای بر رنگ و بوی گوشت ندارند و حتی موجب روشن‌تر شدن و بهبود رنگ گوشت می‌گردند. طوری‌که از نیکوتین‌آمید و اسید آسکوربیک به‌منظور بهبود رنگ گوشت قرمز استفاده می‌گردید. اما به‌کارگیری این ترکیبات با هدف بهبود رنگ در سال‌های اخیر غیرمجاز اعلام شده است (Lawrie and Ledward, 2006).

با توجه به حد مجاز TVN (۱۹/۷ یا ۲۰ میلی‌گرم درصد) در گوشت قرمز و حد مجاز تعداد مزوفیل‌های هوازی در گوشت قرمز ($۱۰^۷$ در هر گرم) می‌توان با استفاده از اسید سیتریک، گوشت قرمز را به‌مدت ۵ روز و هنگام به‌کارگیری اسید استیک و اسید پروپیونیک ۷ روز در دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری نمود (ISIRI, No. 2394).

در مجموع استفاده از اسیدهای آلی ضمن مهار رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد، اثرات جانبی (نظیر افزایش درصد خونابه، بو و رنگ نامطلوب) در گوشت ایجاد

Archive of SID

www.SID.ir

نمی‌کند. در بین اسیدهای استفاده شده، اسید پروپیونیک و سپس اسیدهای استیک و سیتریک دارای بیشترین تأثیر مهاری بر دستجات مختلف باکتریایی می‌باشد.

سپاسگزاری

بودجه این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی مصوب، از سوی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز تأمین شده است.

منابع

- Aalami, M. and Khamesian, A. (2002). The microbiology of meat and poultry. Jahad Research and Education publication, pp. 330-331 and 368-384. [In Farsi]
- Anonymous, AOAC. (1995). Official Methods of Analysis AOAC International. 16th edition, Vol: 2, chap. 39, pp. 5-6.
- Berry, E. D. and Cutter, C. N. (2000). Effect of acid adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 on efficacy of acetic acid spray washes to decontaminate. Applied and Environmental Microbiology, 66: 1493-1498.
- Castillo, A., Lucia, L. M., Goodson, K. J., Savell, J. W. and Acuff, G. R. (1998). Comparison of water wash, trimming and combined hot water and lactic acid treatments for reducing bacteria of fecal origin on beef carcasses. Journal of Food Protection, 61:823-828.
- Codjoe, K. S. (1998). The effect of lactic acid sprays on the keeping qualities of meat during storage. International Journal of Microbiology, 7:1-7.
- Davidson, P. M., Sofos, J. N. and Branen, A. L. (2005). Antimicrobials in food, 3rd edition, CRC Press, pp. 94-99 and 107-110.
- Downes, F. P. and Ito, K. (2001). Compendium of methods for the microbial examination of foods, 4th edition, American public health association, pp. 63-67, 69-76 and 159-164.
- Eero, J., Puolanne, A. and Poso, R. (2003). Lactic acid in muscle and its effects on meat quality, American Meat Science Association, pp. 55- 62.
- Eleftherios, H., Drosinos, M. M., Aikaterini, K., Dimitrios, K. and Ioannis, M. (2006). Inhibitory effect of organic acid salts on spoilage flora in culture medium and cured cooked meat products under commercial manufacturing conditions. Meat Science, 73: 75-81.
- Fatemi, H. (2001). Food chemistry. Sherkat Sahami Enteshar, pp. 420-423 and 429-431. [In Farsi]
- Hanifian, Sh. (2008). Control of chilled beef spoilage by combination of packaging and organic acid treatments. Journal of specialized veterinary medicine, Islamic Azad university of Tabriz, 1: 177-185. [In Farsi]
- Institute of standard and industrial research of Iran (1984). Acceptable microbial load in meat. No. 2394. [In Farsi]
- Institute of standard and industrial research of Iran (1990). Total bacterial count. No. 356. [In Farsi]
- Jay, J. M. (2005). Modern food microbiology. 7th edition, Springer, pp. 39-45.
- Lamea, H. (2000). Food additive user's handbook. Islamic Azad University Scientific Publication Center, pp. 283-292.
- Lawrie, R. A. and Ledward, D. A. (2006). Lawrie's meat science. 7th edition, CRC Press, pp: 277-278.
- Lee, S. Y. and Kang, D. H. (2009). Combined effects of heat, acids, and salt for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 in laboratory media. Food Control, 20:1006-1012.
- McLandsborough, L. A. (2005). Food microbiology laboratory. CRC Press, pp.7-17.
- Oliveira, C. E. V., Lucia, T., Stamford, M., Neto, N. J. G. and De Souza, E. L. (2010). Inhibition of *Staphylococcus aureus* in broth and meat broth using synergies of phenolics and organic acids. International Journal of Food Microbiology, 137: 312-316.
- Parvaneh, V. (1992). Quality control and the chemical analysis of foods. Tehran University publication, pp. 249-251. [In Farsi]
- Rafati, M., Azizi Jalilian, F., Abdulamir, A. S., Son, R., Sekawi, Z. and Fatimah, A. B. (2009). Effect of organic acids on *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* contaminated meat, The Open Microbiology Journal, 3:121-127.

Archive of SID

www.SID.ir

- Razavilar, V. (1999). Pathogenic microorganisms in foods and epidemiology of foodborne intoxications. Tehran University Publication, pp. 14-23. [In Farsi]
- Razavilar, V. (1998). Behavior of *Listeria monocytogenes* in soft fresh type cheese without lactic starter affected by serotype, temperature and storage time. J. Faculty of Veterinary, University of Tehran. Iran. 52: 49-76.
- Rokni, N. (1998). Science and Technology of Meat. Tehran University Publication, pp. 138 and 244-245. [In Farsi]
- Rokni, N, (1999). Principles of food hygiene. Tehran University Publication, pp. 137-140. [In Farsi]
- Rokni, N., Rezaie Mojaz, M. and Bokaie, S. (2001). A comparative study of normal and modified atmosphere packaging and their combination effects with lactic acid on the shelf life of fresh chilled mutton. Journal of the faculty of veterinary medicine, university of Tehran, 56:5-12. [In Farsi]
- Samelis, J., Sofos, J. N., Kendall, P. A. and Smith, G. C. (2002): Effect of acid adaptation on survival of Escherichia coli O157:H7 in meat decontamination washing fluids and potential effects of organic acid interventions on the microbial ecology of the meat plant environment. J. Food Protection. 65:33-40.
- Schirmer, B. C. and Langsrud, S. (2010). A dissolving CO_2 headspace combined with organic acids prolongs the shelf-life of fresh pork. Meat Science, 85:280-284.
- Skrivanova, E., Molatova, Z., Motenova, M., Houf, K. and Marounek, M. (2011). Inhibition effect of organic acids on arcobactersin culture and their use for control of *Archobacter butzleri* on chicken skin. International Journal of Food Microbiology, 144:367-371.
- Stopforth, J. S., Sofos, J. N., Kendal, A. P. and Smith, G. C. (2003). Influence of organic acid concentration survival of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in beef carcass wash water and on model equipment surface. Food Microbiology, 20:651-660.

Archive of SID

www.SID.ir