

اثر استفاده از پوشش بسته‌بندی زیست فعال بر پایه نگهدارنده طبیعی (کیتوزان / ناتامایسین) و ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرلاولگاریس بر ویژگی های کیفی و ماندگاری فیله گوشت گوساله

رضا شفیعی^۱، تکتم مستقیم^{۲*}

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس.

۲. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس.

*نویسنده مسئول: toktammostaghim@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۱۸

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی اثر پوشش ضد میکروبی بر پایه کیتوزان، جلبک کلرلاولگاریس، اسپیرولینا پلاتنسیس و همچنین ناتامایسین در افزایش میزان ماندگاری فیله گوشت گوساله بیشتر از میزان استاندارد (پنج روز در شرایط یخچال) بود. برای این منظور در چهار سطح صفر، یک، یک و نیم و دو درصد از ترکیبات بالا در بازه‌های زمانی صفر، هفت، ۱۴ و ۲۸ روز نگهداری در دمای چهار درجه در پوشش بسته‌بندی مورد استفاده قرار گرفت. آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی گوشت شامل ارزیابی pH، ازت باز فرار، شاخص تیوباربتوریک اسید، شاخص بافت، باری میکروبی کل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی و در سه تکرار در سطح معناداری ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab 17.2 آنالیز گردید. بررسی نتایج نشان داد که اختلاف معناداری بین شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی و حسی تیمار گوشت گوساله با تیمار شاهد وجود داشت و با افزایش میزان استفاده از کیتوزان، جلبک‌ها و همچنین ناتامایسین میزان افزایش شاخص میکروبی، ازت باز فرار، شاخص تیوباربتوریک در طی زمان نگهداری ۲۸ روز با شدت کمتری صورت می‌گیرد. اما شاخص درصد خاکستر اختلاف معناداری نشان نداد ($p > 0.05$). استفاده از جلبک‌ها در فرمولاسیون پوشش‌های بسته‌بندی با افزایش از میزان یک درصد باعث افزایش سختی، کاهش کشسانی، قابلیت جویدن و پیوستگی و همچنین صمغی بودن افزایش می‌یابد. با افزایش میزان استفاده از کیتوزان و ممانعت از فساد میکروبی و آنتی اکسیدانی و همچنین استفاده از جلبک‌ها به دلیل دارا بودن اثر آنتی اکسیدانی میزان خصوصیات رئولوژیکی بافت و همچنین ارزیابی حسی به طور معناداری با شیب کمتری از تیمار شاهد صورت می‌گیرد. نهایتاً با در نظر گرفتن خواص فیزیکی و شیمیایی با میزان یک درصد استفاده از جلبک‌های پلاتنسیس و کلرلاولگاریس، یک درصد کیتوزان و یک درصد ناتامایسین به عنوان بهترین ترکیب جهت پوشش بسته‌بندی معرفی شد.

کلید واژه‌ها: اسپیرولینا پلاتنسیس، جلبک کلرلاولگاریس، کیتوزان، گوشت گوساله، ناتامایسین، بسته‌بندی زیست فعال.

مقدمه

گوشت و فرآورده‌های گوشتی، از مواد ضد میکروبی و آنتی اکسیدان که اکثراً سنتتیک هستند استفاده می‌شود (Akgul et al., 1988). با درخواست روز افزون مصرف‌کنندگان مواد غذایی مینی بر به حداقل رساندن فرآوری، به میان آمدن محصولات غذایی آماده مصرف، جهانی بودن تجارت مواد غذایی و چالش‌های اساسی برای فراوری مواد غذایی با کیفیت و ایمنی بالا روش‌های جدیدی به منظور عوامل مهارکننده فساد در مواد غذایی به میان آمدند. یکی از این روش‌های نوین بسته

بندی و فرآورده‌ها گوشتی ممکن است به آسانی به میکروارگانیزم‌های مختلف آلوده شوند و اگر شرایط حمل و نقل آن‌ها مناسب نباشد، منجر به رشد باکتری-های مولد فساد و بیماری‌زا می‌شود و در نهایت کیفیت گوشت کاهش یافته و بهداشت عمومی در معرض خطر قرار می‌گیرد (Vernozy-Rosand et al., 2002). نگهداری در سردخانه، متداول‌ترین روش نگهداری گوشت و فرآورده‌های گوشتی محسوب می‌شود. در برخی از کشورها به منظور افزایش مدت زمان نگهداری

سلولز بوده و از استیل زدایی قلیایی جزئی کیتین به دست می آید. کیتوزان به دلیل ماهیت غیرسمی، فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی، خاصیت تشکیل فیلم، زیست سازگاری^۱ و زیست تخریب پذیری^۲ به عنوان یکی از افزودنی های غذایی طبیعی مورد توجه قرار گرفته است (مطلبی و همکاران، ۱۳۹۵). کیتوزان به خاطر خاصیت بازدارندگی رشد بسیاری از باکتری های بیماری زا و قارچها در فیلم ضد میکروبی و پوشش های خوراکی مورد استفاده قرار می گیرد و توجه زیادی را به عنوان نگهدارنده با منشاء طبیعی به خود جلب کرده است. علاوه بر تاثیرات ضد مخمری، ضد قارچی و باکتری های گرم مثبت تاثیر کیتوزان بر باکتری های گرم منفی مانند *شرشیاکلی*، *ویبریو*، *شیگلا دیسانتریه*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *سالمونلا تیفی موریوم* نیز گزارش گردیده است (مطلبی و همکاران، ۱۳۹۵). ناتامایسین یک متابولیت میکروبی است که از باکتری *استرپتومایسس ناتالینسیس* ترشح می شود. این ماده در حقیقت یک نگهدارنده بیولوژیک بوده و به طور گسترده به عنوان عامل ضد کپک و مخمر در انواع مواد استفاده قرار می گیرد. ناتامایسین در دوز پایین تر (۱۰ تا ۲۰ میلی گرم در لیتر) اثر میکروب کشی بیشتری را نشان می دهد. ناتامایسین به طور غیرقابل بازگشت به ارگوسترول غشای سلولی قارچها متصل شده و نفوذپذیری آن را از بین برده و در نهایت باعث مرگ سلولی می شود (Welscher et al., 2008). ریزجلبک *اسپیرولینا*^۳ یک سیانوباکتر سبز-آبی رشته ای و ماریجی است که امروزه به وفور در غنی سازی غذای انسان و حیوان استفاده می شود. اسپیرولینا دارای مقدار زیادی پروتئین با کیفیت بالا، شامل اسیدهای آمینه ضروری با ضریب هضم بالا، رنگدانه هایی از قبیل کارتنوئیدها و فیکوسیانین، ویتامین ها و مواد معدنی از

بندی فعال یا ضد میکروبی است. این تکنولوژی بسته بندی در افزایش طول عمر مواد غذایی و کاهش خطرات بیماری زاها نقش مهمی ایفاء می نماید. مواد فعال با محصول یا فضای فوقانی بین بسته بندی و سیستم های مواد غذایی واکنش بیولوژیکی می دهد تا برحسب نوع مواد فعال اعم از آنتی اکسیدان یا ضد میکروب نتایجی در تاخیر یا مهار اکسیداسیون یا مهار ترکیبات بیماری زا حاصل شود (Strupinsky and Breene, L, 1989; Kline, 2001).

اکسیداسیون چربی ها و آلودگی میکروبی دو فاکتور بسیار مهمی هستند که در کیفیت و طول عمر نگهداری گوشت و فرآورده های گوشتی نقش موثری دارند. از این رو به تاخیر انداختن پدیده اکسیداسیون و جلوگیری از آلودگی میکروبی از اهداف اصلی تولیدکنندگان مواد غذایی در صنعت گوشت و فرآورده های گوشتی می باشد. با وجود اینکه در حال حاضر از افزودنی ها و آنتی اکسیدان های مصنوعی در سطحی گسترده در صنعت گوشت استفاده می شود اما تمایل به سمت استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی به دلیل عدم مقبولیتی که مصرف کنندگان مواد غذایی از مصرف این مواد سنتزی نشان می دهند و همچنین مشکلاتی که این آنتی اکسیدان ها از لحاظ ایمنی و مسمومیت زایی ایجاد می کنند افزایش یافته است (Akgul et al., 1988). یکی از معایب اصلی نگهدارنده های شیمیایی خاصیت سرطان زایی بوده که در حیوانات آزمایشگاهی به اثبات رسیده است. بنابراین ضرورت استفاده از ترکیبات بیولوژیک که فاقد عوارض جانبی بوده و از طرف دیگر دارای ویژگی های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی باشد، احساس می گردد (Vernozy-Rosand et al., 2002).

کیتوزان یکی از بهترین پلیمرهای زیستی است که تاکنون برای تهیه فیلمها و پوشش های خوراکی به کار رفته است. این ماده به عنوان یک منبع مهم تجدیدپذیر و دومین پلیمر زیستی فراوان بعد از

۱. Biocompatibility

۲. Biodegradability

۳. *spirolina Platensis*

وزنی/حجمی تهیه و به مدت سه ساعت با استفاده از گرمکن الکتریکی در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد مخلوط گردید. پس از این مرحله، گلیسرول به میزان ۰/۷۵ به محلول اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه دیگر در دمای اتاق همزده شد. سوسپانسیون حاصله با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره سه صاف شده و در مرحله نهایی نیز ناتامایسین، پودر ریزجلبک *اسپیروولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* با غلظت‌های مطابق جدول یک کدبندی تیمارهای تحقیق دو تا سه میلی گرم در لیتر از یک درصد کیتوزان، به محلول اولیه اضافه شد و در ۷۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه با استفاده از دستگاه هموژن کننده با دور بالا^۲ هموژن گردید (Ojagh et al., 2010).

پوشش‌دهی بر روی فیله گوشت گوساله گوشت فیله گوساله به میزان ۱۰ کیلوگرم پس از تهیه از کشتارگاه تهران به قطعات ۳۰۰ گرمی مساوی تقسیم شده و به مدت یک دقیقه در سوسپانسیون تهیه شده از کیتوزان، ناتامایسین و ریزجلبک های *اسپیروولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* مطابق با جدول کدبندی تیمارهای تحقیق شناور شده تا مواد مذکور بخوبی جذب فیله گوشت گوساله شدند. در این مرحله خلاگیری با استفاده از دستگاه وکیوم انجام شدند و بسته‌بندی‌ها در دمای چهاردرجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز از نظر پارامترهای فیزیکیوشیمیایی و میکروبی مورد آزمایش قرار گرفت (Fajardo et al., 2010).

آزمایشات گوشت پس از بسته‌بندی و حین نگهداری میزان pH نمونه‌ها به مدت ۲۸ روز با وارد کردن الکترود pH متر قابل حمل در نمونه‌ها (پس از کالیبراسیون با دو بافر هفت و چهار) محاسبه شد (Botsoglou et al., 1994). همچنین شاخص اکسیداسیون چربی (تیوباریوتیک اسید) به روش تیتراسیون و مقادیر جذب محلول‌های نهایی و شاهد در

قبیل کلسیم و آهن می‌باشد. *اسپیروولینا* عمدتاً به C- فیکوسیانین، بتاکاروتن و ترکیبات فنولی نسبت داده می‌شود (زرین و همکاران، ۱۳۹۳). *اسپیروولینا* از جمله ریزجلبک‌های چند سلولی و رشته‌ای سبز-آبی است که بعد از تایید سازمان غذا دارو، به عنوان GRAS معرفی گردید. ارزش *اسپیروولینا* به علت هضم آسان ناشی از فقدان سلولز در دیواره سلولی است و میزان اسید نوکلئوتیک آن کمتر از پنج درصد است *اسپیروولینا* تمامی اسیدهای آمینه ضروری را داشته و ارزش زیستی بالایی دارد (اسلامی‌مشکنانی و همکاران، ۱۳۹۳). *کلرلاولگاریس*^۱ یکی از مشهورترین ریزجلبک‌ها، نوعی جلبک سبز رنگ ساکن در آب‌های شیرین می‌باشد. *کلرلا* یک جلبک تک سلولی است. *کلرلا* نه تنها یک غذای کامل است بلکه بعنوان مکمل غذایی می‌تواند در پیشگیری یا درمان کمبودهای تغذیه‌ای استفاده گردد. ترکیبات مغذی این جلبک در بسیاری از پارامترها نسبت به جانوران از نظر کلروفیل و پروتئین برتری دارد (Safi et al., 2014). این جلبک در بسیاری از کشورها مثل ژاپن و آمریکا به عنوان مکمل غذایی استفاده می‌شوند با توجه به خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی جلبک *اسپیروولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* در این پژوهش به بررسی اثر آن در فرمولاسیون پوشش خوراکی بر پایه کیتوزان و ناتامایسین پرداخته شد.

روش کار

کیتوزان و ناتامایسین از شرکت سیگما الدریج کشور آلمان تهیه شد. پودر ریزجلبک *اسپیروولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* نیز از شرکت ریزجلبک قشم خریداری شد.

تهیه پوشش کیتوزان/ناتامایسین حاوی ریزجلبک ابتدا محلول اسید استیک یک درصد حجمی/حجمی تهیه شد و سپس محلول کیتوزان یک درصد

۲. IKA T25 digital Ultra-Turrax, Germany

۱. *chlorella vulgaris*

تصادفی فاکتوریل و با استفاده از نرم افزار SPSS.21 استفاده تحلیل شد.

جدول ۱: کدبندی تیمارهای پژوهش

کد تیمار	جلبک			
	کلبک	اسپیروولینا	کیتوزان	ناتاماسین
T	۰	۰	۰	۰
T1	۱	۱	۱	۱
T2	۱/۵	۱	۱/۵	۱
T3	۱	۱/۵	۱	۱/۵
T4	۱	۱/۵	۱/۵	۱
T5	۲	۱	۲	۱
T6	۱	۲	۱	۲
T7	۱/۵	۲	۱/۵	۲
T8	۲	۱/۵	۲	۱/۵
T9	۱	۲	۲	۱
T10	۲	۱	۱	۲

T تیمار گوشت فاقد پوشش و نگهداری شده در شرایط مشابه (بخچال ۴ درجه سانتی گراد)

نتایج و بحث

نتایج ارزیابی شاخص pH

با توجه به شکل یک مشاهده شد که میانگین شاخص pH کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و اختلافات معناداری بین شاخص pH تیمارهای گوشت گوساله وجود ندارد ($p > 0.05$). با افزایش مدت زمان نگهداری گوشت گوساله میزان شاخص pH تیمار شاهد و سایر تیمارها گوشت گوساله به طور معنا داری کاهش یافت ($p \leq 0.05$). بالاترین میزان کاهش شاخص pH در تیمار گوشت گوساله شاهد و کمترین آن در تیمار T6 و همچنین تیمار T7 مشاهده شد ($p \leq 0.05$). بین میزان شاخص pH

۵۳۲ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر Shimadu ثبت گردید. مقادیر تیوباریوتیک از منحنی استاندارد محاسبه و به صورت میلی گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم گوشت بیان شد (Botsoglou et al., 1994). برای اندازه گیری TVB-N به روش میکروکلدال محاسبه شد (Jeon et al., 2002). همچنین آنالیز پروفایل بافت (TPA) با استفاده از دستگاه تحلیل گر مینا^۱ مجهز با پروب سیلندر پنج میلی متری انجام شد. نیروی فشردگی ۲۵ درصد برای ترسیم پارامترهای آنالیز پروفایل بافت به کار رفت. نیروی به کار رفته نیم نیوتن و سرعت آزمون نیز سه میلی متر/ثانیه بود. پارامترهای (سختی^۲، صمغی بودن^۳، قابلیت جویدن^۴، چسبندگی^۵، فنری بودن^۶، انسجام^۷ و انعطاف پذیری^۸) با نرم افزار Expression PC V.2.1 ترسیم شد. همچنین شمارش میکروبی کل در محیط کشت پلیت کانت آگار^۹ و سپس انکوباسیون در ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شده و تعداد سلولهای زنده شمارش و محاسبه شد (Gao et al., 2014). برای ارزیابی حسی نیز از روش هدونیک پنج نقطه ای و استفاده از ۱۵ پنلیست پژوهشکده غذایی سازمان ملی استاندارد ایران تعلیم دیده انجام و نمونه ها برای تردی، آبداربودن، طعم و قابلیت پذیرش امتیازدهی شدند (Smeti et al., 2013).

روش ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده ها

برای تجزیه و تحلیل داده ها از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه ANOVA در قالب طرح بلوک های کاملا

۱. Texture Analyzer (Stable Micro System)

۲. Hardness

۳. Gumminess

۴. Chewiness

۵. Adhesiveness

۶. Springiness

۷. Cohesiveness

۸. Elasticity

۹. PCA, Qingdao Hope Bio-Technology Co., Ltd

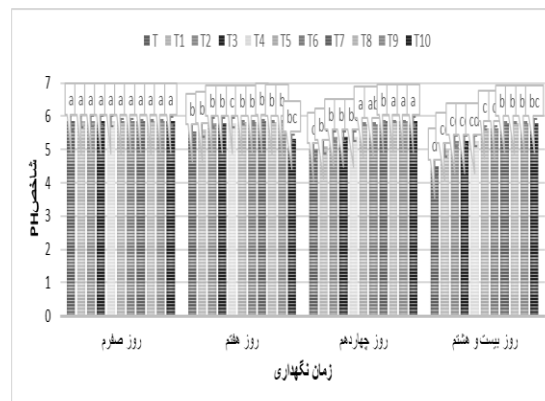
نشاسته-کیتوزان حاوی ترکیب عصاره پوست انار و اسانس روغنی کاکوتی بر ماندگاری گوشت قرمز در زمان نگهداری به نتایج مشابهی دست یافتند. آن‌ها دریافتند که استفاده از کیتوزان تاثیرات معناداری در کاهش بار میکروبی تیمارهای گوشت قرمز دارد که با نتایج تحقیقات حاضر همراستا بود. (حکیم و همکاران ۱۳۹۵) نیز در بررسی تاثیر پوشش کیتوزان حاوی اسانس پونه کوهی بر ماندگاری گوشت فیله مرغ در دوره نگهداری در دمای یخچال نیز به اثرات ضد میکروبی کیتوزان و همچنین ممانعت کیتوزان از افزایش میزان بار میکروبی تیمارهای گوشت فیله و مرغ و همچنین افزایش اسیدیته و کاهش pH در طی نگهداری گردید که با نتایج تحقیق حاضر نیز همراستا بود. وجود ناتامایسین به همراه کیتوزان اثرات ضد میکروبی آن را تشدید نموده و می‌تواند از افزایش رشد باکتری‌ها و همچنین تغییرات pH آن ممانعت نماید. (مطلبی و همکاران ۱۳۹۵) اثر پوشش کیتوزان همراه با ناتامایسین بر کیفیت تخم ماهی سفید دریای خزر را طی نگهداری در دمای یخچال بررسی نمودند. آن‌ها دریافتند که ترکیب پوشش کیتوزان و ناتامایسین ۱۹ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم تخم زمان ماندگاری تخم ماهی سفید را افزایش داد همچنین میزان تغییرات pH در طی زمان نگهداری با اثرات سینرژیستی ناتامایسین و کیتوزان در میزان حداقل بود که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت. بررسی نتایج نشان داد که استفاده از جلبک‌های کلرلاولگاریس و اسپیرولینا پلاتنسیس از تغییرات pH به طور معناداری ممانعت نمود. به نظر می‌رسد که اگرچه توده زیستی کلرلاولگاریس و اسپیرولینا پلاتنسیس قادر است تولید اسید و رشد باکتری‌های اسید لاکتیک را افزایش دهد، اما به لحاظ نقش بافری pH محیط را حفظ می‌کند (Caire et al., 2000). از این رو تغییرات معناداری در سطوح استفاده از ریزجلبک کلرلاولگاریس و اسپیرولینا پلاتنسیس مشاهده نشد. همچنین نتایج

تیمارها از نظر اختلاف در میزان جلبک کلرلاولگاریس و اسپیرولینا پلاتنسیس وجود نداشت و مقادیر مساوی از جلبک‌ها در پوشش بسته بندی گوشت گوساله اثرات معناداری با یکدیگر نداشتند ($p > 0.05$). همچنین تیمارهای گوشت گوساله با مقادیر مساوی کیتوزان و ناتامایسین نیز از میزان شاخص pH یکسانی برخوردار بودند ($p \leq 0.05$). میزان کاهش pH در تیمارهای شاهد به طور معناداری در تیمار شاهد به میزان بالاتری بیشتر از سایر تیمارهای گوشت گوساله بسته بندی شده می‌باشد ($p \leq 0.05$). در طی زمان نگهداری به دلیل غالب شدن فلور فساد و فعل و انفعالات شیمیایی ناشی از فساد نمونه‌های گوشت pH رو به کاهش می‌گذارد به دلیل تولید اسید و رشد باکتری‌های اسید لاکتیک، که این افزایش اختلاف معناداری با نمونه کنترل و بدون پوشش دارد ($p \leq 0.05$). کیتوزان دارای ویژگی‌های عملکردی مانند خصوصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی است. کیتوزان به عنوان فیلم خوراکی می‌تواند حامل بسیار خوبی برای ترکیب شدن با عوامل ضد اکسیدان و عوامل ضد میکروبی طبیعی مانند اسانس‌های روغنی گیاهان محسوب شود. در مورد مکانیسم فعالیت ضد میکروبی کیتوزان فرضیه‌های متعددی وجود دارد که محتمل‌ترین آن‌ها، تغییر در نفوذپذیری غشای سلولی به واسطه واکنش بین بار مثبت مولکول‌های کیتوزان و بار منفی غشای سلول‌های میکروبی است. این واکنش منجر به نشت محتویات پروتئینی و سایر محتویات داخل سلولی می‌شود و همچنین سایر مکانیسم‌های ضد میکروبی کیتوزان مانند واکنش کیتوزان با محصولات منتشره حاصل از هیدرولیز داخل سلول میکروبی و واکنش با DNA میکروبی است که باعث ممانعت از سنتز پروتئین و mRNA و شلاته کردن فلزات، عناصر و مواد مغذی ضروری سلول و در نهایت مرگ سلولی می‌شود (حکیم و همکاران، ۱۳۹۵). (مهدی زاده و همکاران ۱۳۹۷) نیز در بررسی اثرات فیلم کامپوزیتی خوراکی

ناتامایسین نیز از میزان شاخص تیوباربتوریک اسید یکسانی برخوردار بودند ($p \leq 0/05$). بررسی نتایج ارزیابی شاخص تیوباربتوریک اسید در طی زمان نگهداری در تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری افزایش یافت ($p \leq 0/05$). بررسی نتایج نشان داد که شاخص تیوباربتوریک اسید تیمارهای گوشت گوساله در طی زمان نگهداری افزایش می یابد که این افزایش ناشی از اکسیداسیون و تغییرات فلور میکروبی تیمارهای گوشت گوساله باشد. زیرا در pH پایین اکسیژن (متصل شده به آهن هم) به شکل های رادیکال هیدروپراکسید و سوپر پراکسید آزاد شده و در واکنش های اکسیداسیون چربی و پروتئین شرکت می کند (Shardeh et al., 2015).

همچنین افزایش در حلالیت آهن به همراه کاهش pH نیز می توانند سرعت اکسیداسیون را افزایش دهد. در سایر سیستم های غذایی همچون امولسیون های روغن در آب، توانایی آهن در افزایش سرعت اکسیداسیون چربی ها با کاهش pH نیز به اثبات رسیده است. استفاده از جلبک های اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرولگاریس نیز با ممانعت از تغییرات pH می توانند از افزایش شاخص تیوباربتوریک اسید در طی زمان نگهداری ممانعت نمایند. حضور ناتامایسین نیز با اثرات ضد میکروبی مشابه با کیتوزان از افزایش میزان اسیدیته ناشی از افزایش فلور میکروبی در تیمارهای گوشت گوساله در طی زمان نگهداری ممانعت نموده و از افزایش فساد میکروبی ممانعت می نماید که شاخص اسید تیوباربتوریک در تیمارهای گوشت گوساله با افزایش میزان درصد کیتوزان و جلبک های اسپیرولینا پلاتنسیس و ولگاریس و همچنین ناتامایسین به میزان کمتری افزایش می یابد. (علوی و همکاران ۱۳۹۴) نیز در بررسی بهبود پایداری اکسیداسیون روغن زیتون بکر با استفاده از ریز جلبک اسپیرولینا به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی پرداختند و نشان دادند که

حاصل از مطالعه توسط (Molnar 2005) و (بهشتی پور و همکاران ۲۰۱۲) نشان داد که قادر است با اجرای نقش بافری، pH را ثابت نگه دارد که با نتایج حاصل از این پژوهش هم خوان است.



نمودار ۱: مقایسه میانگین تغییرات شاخص pH تیمارهای گوشت گوساله در طی ۲۸ روز نگهداری

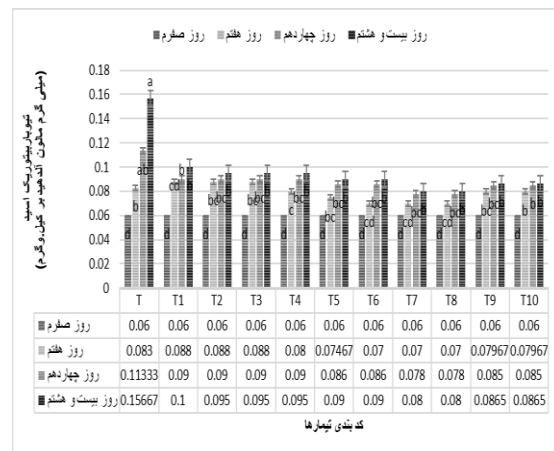
نتایج ارزیابی شاخص تیوباربتوریک اسید با توجه به شکل دو مشاهده شد که میانگین شاخص تیوباربتوریک اسید کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و اختلافات معناداری بین شاخص تیوباربتوریک اسید تیمارهای گوشت گوساله وجود ندارد ($p > 0/05$). با افزایش مدت زمان نگهداری گوشت گوساله میزان شاخص تیوباربتوریک اسید تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری افزایش یافته که این افزایش می تواند به دلیل کاهش pH در طی زمان نگهداری ناشی از اکسیداسیون و تغییرات فلور میکروبی تیمارهای گوشت گوساله باشد ($p \leq 0/05$). بالاترین میزان افزایش شاخص تیوباربتوریک اسید در تیمار گوشت گوساله شاهد و کمترین آن در تیمار T6 و همچنین تیمار T7 مشاهده شد ($p \leq 0/05$). بین میزان شاخص تیوباربتوریک اسید تیمارها از نظر اختلاف در میزان جلبک کلرولگاریس و اسپیرولینا پلاتنسیس وجود داشت و مقادیر مساوی از جلبک ها در پوشش بسته بندی گوشت گوساله اثرات معناداری با یکدیگر نداشتند ($p > 0/05$). همچنین تیمارهای گوشت گوساله با مقادیر مساوی کیتوزان و

با توجه به شکل ۲ مشاهده شد که میانگین شاخص ازت باز فرار کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و اختلافات معناداری بین شاخص ازت باز فرار تیمارهای گوشت گوساله وجود ندارد ($p > 0.05$). با افزایش مدت زمان نگهداری گوشت گوساله میزان شاخص ازت باز فرار تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری افزایش یافت ($p \leq 0.05$). بالاترین میزان افزایش شاخص ازت باز فرار در تیمار گوشت گوساله شاهد و کمترین آن در تیمار T6 و همچنین تیمار T7 مشاهده شد ($p \leq 0.05$). بین میزان شاخص ازت باز فرار تیمارها از نظر اختلاف در میزان جلبک کلرلا و لگاریس و اسپیرولینا پلاتنسیس وجود داشت و مقادیر مساوی از جلبکها در پوشش بسته بندی گوشت گوساله اثرات معناداری با یکدیگر نداشتند ($p > 0.05$). همچنین تیمارهای گوشت گوساله با مقادیر مساوی کیتوزان و ناتامایسین نیز از میزان شاخص ازت باز فرار یکسانی برخوردار بودند ($p \leq 0.05$).

نتایج ارزیابی شاخص ازت باز فرار

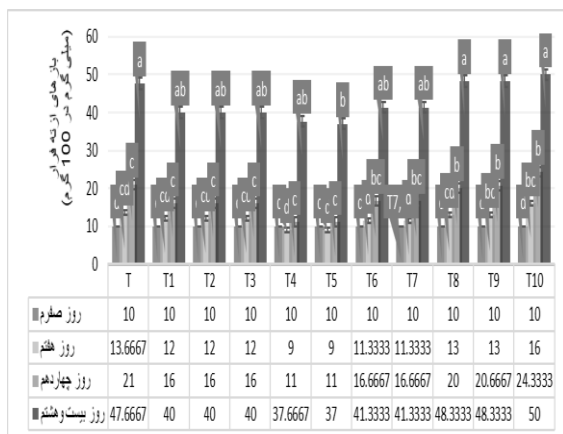
با توجه به شکل ۳ مشاهده شد که میانگین شاخص ازت باز فرار کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و اختلافات معناداری بین شاخص ازت باز فرار تیمارهای گوشت گوساله وجود ندارد ($p > 0.05$). با افزایش مدت زمان نگهداری گوشت گوساله میزان شاخص ازت باز فرار تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری افزایش یافت ($p \leq 0.05$). بالاترین میزان افزایش شاخص ازت باز فرار در تیمار گوشت گوساله شاهد و کمترین آن در تیمار T6 و همچنین تیمار T7 مشاهده شد ($p \leq 0.05$). بین میزان شاخص ازت باز فرار تیمارها از نظر اختلاف در میزان جلبک کلرلا و لگاریس و اسپیرولینا پلاتنسیس وجود داشت و مقادیر مساوی از جلبکها در پوشش بسته بندی گوشت گوساله اثرات معناداری با یکدیگر نداشتند ($p > 0.05$). همچنین تیمارهای گوشت گوساله با مقادیر مساوی کیتوزان و ناتامایسین نیز از میزان

استفاده از جلبک اسپیرولینا می تواند از افزایش میزان شاخص تیوباربتوریک اسید در حین نگهداری روغن زیتون ممانعت نمایند که با یافته های تحقیق حاضر نیز در توافق بود. کاهش رادیکال های آزاد موجب کاهش فرم مت میوگلوبین در نمونه گوشت می شود. در گوشت تازه میوگلوبین به سه شکل وجود دارد: دنوکسی میوگلوبین، اکسی میوگلوبین و مت میوگلوبین. ترکیبات فنولی موجود در جلبک های کلرلا و لگاریس و اسپیرولینا پلاتنسیس می توانند رادیکال های آزاد موجود در گوشت را خنثی کنند. تیوباربتوریک اسید به طور گسترده به عنوان شاخص نشان دهنده میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می گیرد و ناشی از وجود مواد واکنش دهنده حاصل از مرحله دوم اتواکسیداسیون است که طی آن، پراکسیدها به موادی مثل آلدئیدها و کتون ها اکسید می شوند که این مواد با TBA واکنش می دهند (بهنام و اکبرلو، ۱۳۹۲). پژوهش هایی در زمینه اثر آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره گیاهان انجام گرفته (استفضل آرا و همکاران ۱۳۹۶) در بررسی اثرات اثر پوشش خوراکی رزماری-کیتوزان بر کیفیت و ماندگاری فیله تازه ماکیان در دمای یخچال نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. آن ها به اثرات ممانعت کنندگی کیتوزان در کاهش میزان شاخص تیوباربتوریک اسید در فیله ماهی اشاره داشتند که با نتایج تحقیق حاضر نیز در توافق بود.



نمودار ۲: مقایسه میانگین تغییرات شاخص تیوباربتوریک اسید تیمارهای گوشت گوساله در طی ۲۸ روز نگهداری

رضایی (۱۳۹۲) در بررسی اثر پلی فنل های چای سبز بر تغییرات میکروبی و شیمیایی ماهی قزل آلائی رنگین کمان به هنگام نگهداری در یخ به نتایج مشابهی دست یافتند. آن ها دریافتند که حضور ترکیبات آنتی اکسیدانی در طی نگهداری گوشت به طور معناداری میزان تولید ازت باز فرار را کاهش می دهد که با نتایج تحقیق حاضر هم راستا است.



نمودار ۳: مقایسه میانگین تغییرات شاخص بازهای ازته فرار تیمارهای گوشت گوساله در طی ۲۸ روز نگهداری

نتایج ارزیابی شاخص بافت

بررسی نتایج ارزیابی شاخص سختی نشان داد که اختلافات معناداری بین میزان شاخص سختی تیمارهای گوشت گوساله وجود داشت ($p \leq 0.05$). میزان افزایش شاخص گوشت سختی بافت عبارت از اوج نیرو پس از اولین سختی فشردگی نمونه توسط پیستونک می باشد. میزان سختی به عنوان شاخصی از کیفیت بافت محسوب می گردد که می تواند به همراه شاخص های دیگر حاصل بررسی نتایج نشان داد که استفاده از جلبک های اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرولولگاریس از آزمون آنالیز پروفیل بافت با نتایج به دست آمده از ارزیابی حسی همبستگی مناسبی داشته و بیانگر کیفیت فرآورده از دیدگاه بیوفیزیکی باشد. میزان سختی در مقادیر بالای یک درصد استفاده به دلیل افزایش درصد جذب آب از سطح گوشت گوساله باعث افزایش شاخص سختی در تیمارهای گوشت گوساله در طی مدت زمان نگهداری

شاخص ازت باز فرار یکسانی برخوردار بودند ($p \leq 0.05$). بررسی نتایج ارزیابی ازت باز فرار نشان داد که استفاده از کیتوزان، ناتامایسین و همچنین جلبک ها در فرمولاسیون پوشش بسته بندی گوشت گوساله به طور معناداری از افزایش میزان ازت باز فرار در طی زمان نگهداری ممانعت می کند. اما در تیمار شاهد میزان افزایش ازت باز فرار به میزان حداکثر می باشد.

N-TVB عمدتاً با تجزیه باکتریایی و آنزیمی پروتئین ها و ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی گوشت تولید می شود. اگرچه N-TVB، یک شاخص ضعیف برای ارزیابی تازگی می باشد ولی به میزان گسترده برای ارزیابی کیفی استفاده می شود زیرا مقدار آن یکسان نبوده و به گونه و حد پیشرفت و تغییرات پس از مرگ بستگی دارد و از آن معمولاً جهت ارزیابی فساد گوشت استفاده می شود. در مطالعه حاضر با افزایش زمان مقادیر بازهای نیتروژنی در همه تیمارها افزایش یافت. افزایش میزان N-TVB ممکن است به دلیل فرآیندهای آنزیمی مختلف نظیر آمین زدایی اسیدهای آمینه آزاد، تجزیه نوکلئوتیدها و اکسیداسیون آمین ها باشد (جتون و همکاران، ۲۰۰۲). دامنه وسیعی از ترکیبات پایه ای فرار از جمله آمونیاک، متیل آمین، دی متیل آمین، تری متیل آمین و دیگر ترکیبات مشابه که در اثر فعالیت های میکروبی تولید می شوند، تحت عنوان N-TVB جهت نشان دادن فساد گوشت مورد استفاده قرار می گیرد و معمولاً سطحی معادل ۳۵-۴۰ میلی گرم آن در ۱۰۰ گرم گوشت معیار فساد گوشت است. همان طور که نتایج تحقیق حاضر نشان داد مقادیر N-TVB همراه با افزایش مدت زمان نگهداری در تمامی تیمارها افزایش یافته است. از آنجایی که N-TBV تولید شده احتمالاً به علت تجزیه باکتریایی در گوشت گوساله می باشد، مقادیر بالای بار باکتریایی (شمار کل باکتری-ها) نمونه های تیمار شاهد نسبت به تیمارها طی مدت نگهداری در تحقیق حاضر می تواند دلیلی برای مقادیر زیاد N-TVB تیمار شاهد باشد. (محمدزاده و

یافت ($p \leq 0/05$). استفاده از ناتامایسین اثرات معناداری بر روی قابلیت جویدن تیمارهای گوشت گوساله نشان نداد ($p > 0/05$). همچنین با افزایش میزان استفاده از کیتوزان از سطح یک درصد به بالا در فرمولاسیون پوشش بسته بندی میزان شاخص قابلیت جویدن تیمارهای گوشت گوساله را به طور معناداری کاهش یافت ($p \leq 0/05$). در طی زمان نگهداری شاخص سختی تیمارهای گوشت گوساله افزایش یافت که به نوبه خود میزان شاخص قابلیت جویدن را نیز کاهش داد اما میزان شاخص سختی در تیمارهای با مقدار ۱ درصد کیتوزان به طور معناداری کمتر از سایر تیمارها بود ($p \leq 0/05$). اما در تیمارهای دارای مقادیر بالاتر از یک درصد جلبک‌های اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرولانگاریس میزان شاخص سختی افزایش و میزان قابلیت جویدن نیز کاهش یافت ($p \leq 0/05$). شرافتی چالشتی و همکاران (۱۳۹۴) در بررسی اثرات پوشش کیتوزان همراه با اسانس لیمو بر کیفیت میکروبی ماهی قزل‌آلا نیز دریافتند که استفاده از پوشش کیتوزان در طی زمان نگهداری با حفظ رطوبت ماهی می‌تواند از کاهش قابلیت جویدن در طی زمان نگهداری نیز ممانعت کند که با نتایج تحقیق حاضر نیز همراستا بود. همچنین با توجه به نمودار ۴ میزان میانگین شاخص فنری بودن تیمارهای گوشت گوساله در تیمار شاهد در طی مدت زمان نگهداری ۲۸ روز به طور معناداری کاهش می‌یابد ($p \leq 0/05$). میزان کاهش در تیمارهای گوشت گوساله با یک درصد جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرولانگاریس کمتر از تیمار شاهد می‌باشد اما با افزایش میزان استفاده از جلبک‌ها به مقادیر ۲/۵ درصد کاهش معناداری نیز در شاخص فنری بودن تیمارهای گوشت گوساله در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد ($p \leq 0/05$). میزان شاخص فنری بودن تیمارهای گوشت گوساله در تیمارهای با مقادیر یک درصد جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و همچنین یک درصد جلبک کلرولانگاریس تغییرات معناداری را نشان

گردید ($p \leq 0/05$). شاخص سختی بافت در روز ۲۸ نگهداری با کاهش معناداری مواجه بود ($p \leq 0/05$). نرخ این کاهش به عواملی مثل میزان تغییر ماهیت پروتئین‌های میوفیبریل و وسعت از هم گسیختگی این پروتئین‌ها بستگی دارد. از طرف دیگر Eymard (et al., 2009) بیان کرده‌اند که ترکیبات حاصل از اکسیداسیون لیپید می‌تواند پروتئین‌ها را با پیوندهای عرضی ایجاد شده تغییر دهد، که در نتیجه آن منجر به کاهش در عملکرد پروتئین به واسطه دناتوراسیون پروتئین می‌شود. استفاده از جلبک‌ها با استفاده از خواص آنتی‌اکسیدانی از تولید ترکیبات حاصل از اکسیداسیون لیپیدها ممانعت نموده و میزان سختی با شیب کمتری کاهش می‌یابد. همچنین کیتوزان و ناتامایسین با ممانعت از فعالیت باکتری‌های پروتئولیتیکی عامل فساد گوشت در طی نگهداری از کاهش شاخص سختی تیمارهای گوشت گوساله نیز ممانعت نموده و افزایش میزان استفاده از این ترکیبات در تقابل و اثرات سینرژستی می‌تواند از کاهش شاخص سختی و بهم خوردن بافت گوشت گوساله ناشی از تجزیه پروتئولیتیکی ممانعت نماید (حسن زاده و همکاران ۱۳۹۰).

کاربرد پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور بر روی کیفیت و ماندگاری گوشت مرغ در دمای یخچال را بررسی نمودند و دریافتند که استفاده از کیتوزان به دلیل دارا بودن اثرات ضد میکروبی از کاهش سختی بافت گوشت گوساله ممانعت می‌نماید که با نتایج تحقیق حاضر در توافق بود. همچنین میانگین شاخص قابلیت جویدن کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و اختلافات معناداری بین شاخص قابلیت جویدن تیمارهای گوشت گوساله وجود ندارد ($p > 0/05$). با افزایش میزان استفاده از جلبک از سطح یک درصد به بالا در فرمولاسیون پوشش بسته‌بندی میزان شاخص قابلیت جویدن تیمارهای گوشت گوساله را به طور معناداری کاهش

معناداری کاهش یافت. در تیمارهای دارای جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرولانگاریس به میزان یک و یک و نیم درصد خاصیت کشسانی به دلیل تعدیل تغییرات فیزیکیوشیمیایی، میکروبی در طی نگهداری حفظ شد اما دز مقادیر بالاتر استفاده از جلبک در فرمولاسیون پوشش بسته بندی، به دلیل افزایش میزان سختی در تیمارهای گوشت گوساله میزان شاخص کشسانی نیز کاهش می یابد. کیتوزان نیز علیرغم دارا بودن خصوصیات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی دارای قابلیت جذب آب و تشکیل ژل بوده و می تواند با افزایش مدت زمان نگهداری در مقادیر بالای استفاده به دلیل افزایش درصد رطوبت سطحی محصول باعث تغییرات ساختار پروتئینی و همچنین افزایش فعالیت آبی و کاهش خصوصیات کشسانی محصول شود. (شرافتی چالشتی و همکاران ۱۳۹۴) در بررسی اثرات کیتوزان حاوی اسانس های اکالیپتوس و زیره بر مدت زمان نگهداری ماهی قزل آلا نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. آن ها دریافتند که افزایش میزان استفاده از کیتوزان در فرمولاسیون پوشش بسته بندی باعث کاهش قابلیت کشسانی بافت ماهی می شود اما در مقادیر یک درصد استفاده می تواند با دارا بودن خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی به حفظ خصوصیات کشسانی بافت کمک نماید که با نتایج تحقیق حاضر نیز همراستا بود. استفاده از کیتوزان در مقادیر یک و نیم و دو درصد در فرمولاسیون پوشش بسته بندی باعث کاهش میزان شاخص به هم پیوستگی تیمارهای گوشت گوساله در طی ۲۸ روز نگهداری شد اما میزان این کاهش روز ۱۴ و ۲۸ بیشتر از روز هفتم گزارش شد ($p \leq 0.05$).

استفاده از جلبک کلرلا و لگاریس و همچنین اسپیرولینا پلاتنسیس اثرات معناداری از نظر نوع جلبک مورد استفاده بر روی میزان شاخص انسجام تیمارهای گوشت گوساله نشان نداد ($p > 0.05$) اما استفاده از آن در مقادیر بالای یک درصد در فرمولاسیون پوشش بسته

نداد ($p > 0.05$). همچنین نوع جلبک مورد استفاده نیز تاثیرات معناداری بر روی خصوصیات فیزیکی بودن تیمارهای گوشت گوساله نشان نداد ($p > 0.05$). در طی زمان نگهداری نیز از میزان شاخص فیزیکی بودن در کلیه تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری کاسته شد و میزان این کاهش در انتهای روز ۲۸ نسبت به سایر روزهای نگهداری با شیب بیشتری مواجه بود ($p \leq 0.05$). همچنین میزان کاهش شاخص فیزیکی در تیمار گوشت گوساله شاهد به میزان بالاتری در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد ($p \leq 0.05$). همچنین در تیمارهای گوشت گوساله با مقادیر بالاتر از یک درصد استفاده از جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرولانگاریس میزان شاخص فیزیکی نیز کاهش معناداری داشت ($p \leq 0.05$). استفاده از کیتوزان و همچنین ناتامایسین در مقادیر بین ۱ تا ۲/۵ درصد نیز میزان شاخص فیزیکی بودن را در تیمارهای گوشت گوساله کاهش داد ($p \leq 0.05$). کشسانی عبارت است از میزان برگشت پذیری کشسانی نمونه به شکل اولیه پس از تغییر شکل توسط اولین فشردگی. متداولترین روش برای محاسبه میزان برگشت طول نمونه به حالت اولیه پس از دومین فشردگی، تقسیم بر طول اولیه نمونه پیش از اولین فشردگی است. این شاخص تنها برای نمونه های قابلیت جویدن جامد، به صورت خاصیت صمغی \times کشسانی محاسبه می شود. این شاخص به صفات پلاستیکوالاستیک بودن جسم مربوط می شود. این شاخص عمدتاً به صورت درصد بیان شده و نشانگر قدرت باندهای پروتئین-پروتئین و پروتئین-آب موجود در شبکه سه بعدی ژل است. بنابراین هر چه میزان عددی شاخص کشسانی بیشتر باشد، ژل تولید شده از انسجام بیشتری برخوردار است. در طی زمان نگهداری به دلیل افزایش میزان پروتئولیز گوشت گوساله در نتیجه فساد اکسیداتیو و میکروبی میزان فساد و پروتئولیز، خاصیت کشسانی تیمارهای گوشت گوساله به طور

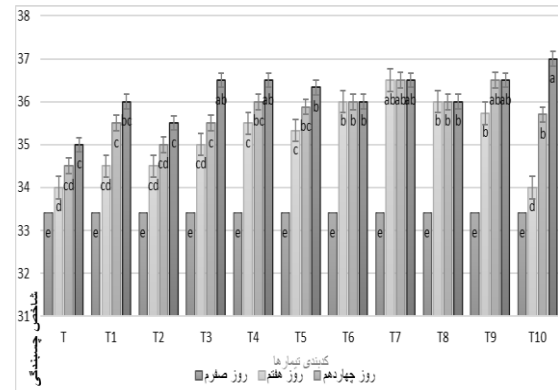
منجر به یک کاهش در عملکرد پروتئین به واسطه دنا تورا سیون پروتئین می‌شود. بنابراین می‌توان روند کاهش شاخص به هم پیوستگی در گوشت گوساله را در طول زمان نگهداری توجیه کرد. از سوی دیگر میزان این شاخص برای تیمار گوشت گوساله در طی روز هفت و ۱۴ نگهداری کاهش یافته که با توجه به پروتئولیز شیمیایی و میکروبی پروتئین‌های میوفیبریلی و کاهش میزان چربی بافت در نتیجه افزایش اکسیداسیون چربی آن می‌توان چنین روندی را انتظار داشت. با توجه به نمودار ۸ مشاهده شد که اختلافات معناداری بین میزان شاخص الاستیسیته تیمارهای گوشت گوساله در روز صفرم وجود نداشت ($p \leq 0/05$). در طی بازه زمانی نگهداری ۳۰ روزه میزان شاخص الاستیسیته تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری کاهش یافت ($p \leq 0/05$). کمترین میزان شاخص الاستیسیته تیمارهای گوشت گوساله در طی مدت زمان نگهداری ۲۸ روزه به تیمار گوشت گوساله شاهد فاقد پوشش بسته بندی تعلق داشت ($p \leq 0/05$). تیمارهای گوشت گوساله بسته بندی شده با پوشش بسته بندی دارای یک درصد جلبک کلرولولگاریس و اسپیرولینا پلاتنسیس و همچنین تیمارهای گوشت گوساله دارای کیتوزان به میزان یک و نیم و دو درصد نیز از میزان الاستیسیته کمتری از تیمارهای گوشت گوساله پوشش دهی شده با مقادیر یک درصد کیتوزان برخوردار بودند ($p \leq 0/05$). میزان کاهش شاخص الاستیسیته در تیمارهای گوشت گوساله در طی زمان نگهداری ۲۸ روز کمتر از کلیه تیمارها بوده است ($p \leq 0/05$). در انتهای روز ۲۸ نگهداری میزان شاخص الاستیسیته در تیمار دارای یک درصد جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و جلبک کلرولولگاریس و کیتوزان یک درصد و همچنین ناتامایسین دو درصد از کلیه تیمارها بالاتر بود ($p \leq 0/05$). با توجه به نمودار ۹ مشاهده شد که میانگین شاخص صمغی بودن کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و

بندی میزان شاخص انسجام تیمارهای گوشت گوساله را به طور معناداری کاهش داد ($p \leq 0/05$). در تیمارهای گوشت گوساله پوشش دهی شده با استفاده از ناتامایسین نیز در طی زمان نگهداری میزان کاهش شاخص انسجام به طور معناداری پایین تر از تیمار شاهد گزارش گردید و استفاده از آن در مقادیر بالاتر اثرات معناداری بر روی تیمارهای گوشت گوساله نداشت ($p > 0/05$). اما در طی زمان نگهداری میزان کاهش شاخص انسجام در تیمارهای با مقادیر دو درصد ناتامایسین از تیمارهای دارای ۱/۵ درصد ناتامایسین به طور معناداری کمتر بود ($p \leq 0/05$). در طی زمان نگهداری ۲۸ روز میزان شاخص انسجام در کلیه تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری کاهش یافت و میزان شاخص انسجام در تیمار شاهد کمتر از کلیه تیمارهای گوشت گوساله بود ($p \leq 0/05$). در انتهای روز ۲۸ نگهداری میزان شاخص انسجام در تیمار دارای یک درصد جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و جلبک کلرولولگاریس و کیتوزان یک درصد و همچنین ناتامایسین دو درصد از کلیه تیمارها بالاتر بود ($p \leq 0/05$). شاخص به هم پیوستگی، آزمایش نحوه پایداری یک فرآورده در برابر تغییر شکل پس از دومین فشردگی، نسبت به رفتار آن در طول تغییر شکل اول توسط اولین فشردگی است. با گذشت هفت روز ذخیره سازی شاخص به هم پیوستگی تا حدودی ثابت ماند، اما در روز ۱۴ از ذخیره سازی، پیوستگی در تیمار گوشت چرخ کرده به طور معناداری کاهش می‌یابد. دلایلی مانند نگهداری طولانی مدت در حالت انجماد، تغییر ماهیت پروتئین‌های میوفیبریلی و همچنین توسعه فعالیت‌های پروتئولیتیکی، باعث کاهش کلی در خاصیت به هم پیوستگی می‌شود. از طرف دیگر ایمازد و همکاران (۲۰۰۹) اظهار داشتند که ترکیبات حاصل از اکسیداسیون لیپید می‌تواند پروتئین‌ها را با پیوندهای عرضی ایجاد شده دستخوش تغییر کند که در نتیجه

های اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرولولگاریس میزان شاخص سختی افزایش و میزان قابلیت جویدن نیز کاهش یافت ($p \leq 0/05$). شرافتی چالستری و همکاران (۱۳۹۴) در بررسی اثرات پوشش کیتوزان همراه با اسانس لیمو بر کیفیت میکروبی ماهی قزل آلا نیز دریافتند که استفاده از پوشش کیتوزان در طی زمان نگهداری با حفظ رطوبت ماهی می تواند از کاهش قابلیت جویدن در طی زمان نگهداری نیز ممانعت کند که با نتایج تحقیق حاضر نیز همراستا بود. با افزایش میزان استفاده از کیتوزان و جلبک های اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرولولگاریس به مقادیر یک و نیم و دو درصد در فرمولاسیون پوشش بسته بندی میزان شاخص چسبندگی تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری طی هفت روز نگهداری با افزایش معناداری مواجه بود ($p > 0/05$). اما در طی روز ۱۴ و ۲۸ میزان شاخص چسبندگی اختلافات معناداری با میزان شاخص چسبندگی در روز هفت نگهداری نداشتند ($p > 0/05$). میزان شاخص چسبندگی در تیمارهای گوشت گوساله بسته بندی شده با پوشش دارای یک درصد کیتوزان و همچنین یک درصد جلبک های اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرولولگاریس به میزان یک درصد دارای کمترین میزان افزایش شاخص چسبندگی در طی دوره ۲۸ روز نگهداری بود ($p \leq 0/05$). همچنین با افزایش میزان استفاده از ناتامایسین در طی دوره نگهداری میزان شاخص چسبندگی تیمارهای گوشت گوساله با کاهش معناداری مواجه بود ($p \leq 0/05$). استفاده از کیتوزان با افزایش میزان درصد جذب رطوبت به دلیل ایجاد حالت ژله ای در محصول در مقادیر یک و نیم و دو درصد باعث افزایش چسبندگی تیمارهای گوشت گوساله می شود اما در مقادیر یک درصد کیتوزان دو درصد ناتامایسین با ممانعت از فساد میکروبی و تولید متابولیت های قندی ناشی از تخمیر پروتئین ها می تواند از افزایش شاخص چسبندگی تیمارهای گوشت گوساله در طی زمان نگهداری ممانعت نماید.

اختلافات معناداری بین شاخص صمغی بودن تیمارهای گوشت گوساله در روز صفرم نگهداری وجود نداشت ($p > 0/05$). با افزایش میزان استفاده از کیتوزان و جلبک های اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرولولگاریس به مقادیر یک و نیم و دو درصد در فرمولاسیون پوشش بسته بندی میزان شاخص صمغی بودن تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری طی هفت روز اول با افزایش معناداری مواجه بود ($p > 0/05$). اما در طی روز ۱۴ و ۲۸ نگهداری میزان شاخص صمغی شدن اختلافات معناداری با میزان شاخص صمغی شدن در هفت روز اول نگهداری نداشتند ($p > 0/05$). میزان شاخص صمغی شدن در تیمارهای گوشت گوساله بسته بندی شده با پوشش دارای یک درصد کیتوزان و همچنین یک درصد جلبک های اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرولولگاریس به میزان یک درصد دارای کمترین میزان افزایش شاخص صمغی شدن در طی دوره ۲۸ روز نگهداری بود ($p \leq 0/05$). همچنین با افزایش میزان استفاده از ناتامایسین در طی دوره نگهداری میزان شاخص صمغی شدن تیمارهای گوشت گوساله با کاهش معناداری مواجه بود ($p \leq 0/05$). خاصیت صمغی حاصل ضرب سختی در پیوستگی بوده و به صفت حسی صمغی و خمیری بودن مربوط می شود. در حقیقت نیروی لازم برای هضم دهانی مواد غذایی نیمه جامد و آماده کردن آن برای بلع است (قنبرزاده، ۱۳۸۸). قابلیت جویدن در تیمار شاهد با کاهش شاخص pH و همچنین افزایش میزان اکسیداسیون چربی و تغییرات بافتی آن و کاهش قابلیت کشانی تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری کاهش یافت ($p \leq 0/05$). در طی زمان نگهداری شاخص سختی تیمارهای گوشت گوساله افزایش یافت که به نوبه خود میزان شاخص قابلیت جویدن را نیز کاهش داد اما میزان شاخص سختی در تیمارهای با مقدار یک درصد کیتوزان به طور معناداری کمتر از سایر تیمارها بود ($p \leq 0/05$). اما در تیمارهای دارای مقادیر بالاتر از یک درصد جلبک-

تیمارها در طی ۲۸ روز زمان نگهداری بود ($p \leq 0.05$). اما در تیمارهای با پوشش بسته بندی با افزایش میزان استفاده از جلبک‌های اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرلاولنگاریس میزان شاخص جمعیت میکروبی کل به طور معناداری کاهش یافت ($p \leq 0.05$). همچنین با افزایش میزان استفاده از ناتامایسین و همچنین کیتوزان نیز میزان شاخص میکروبی به طور معناداری با کاهش مواجه بود ($p \leq 0.05$). خاصیت ضد میکروبی کیتوزان به علت واکنش یونی بین گروه‌های کاتیونی مولکول‌های کیتوزان و گروه‌های آنیونی غشاء سلولی میکروب است و با افزایش میزان کیتوزان در فرمولاسیون پوشش بسته بندی بر میزان این واکنش‌ها با دیواره غشاهای سلولی افزوده شده و در نتیجه بر میزان خاصیت ضد میکروبی آن نیز افزوده شد. اسپیرولینا غنی از پروتئین، رنگدانه (شامل کلروفیل، میکسوزانتوفیل، بتاکاروتن، زی زانتین و زانتوفیل (کربوهیدرات، مقدار نسبتا بالایی از سیانوکوبالامین (ویتامین B12، مواد معدنی و سوپراکسید دیسموتاز است. سوپراکسید دیسموتاز مهارکننده رادیکال آزاد است. برای C- فایکوسیانین موجود در اسپیرولینا خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی، اثرات آنتی اکسیدانی در شرایط آزمایشگاهی و در شرایط *in vivo*، اثرات ضد التهابی، حفاظت عصبی و محافظت کبدی گزارش شده است (علوی و همکاران، ۱۳۹۴). خواص آنتی اکسیدانی فایکوسیانین به فعالیت مهارکنندگی رادیکال و کلاته کردن فلز نسبت داده شد. فلاوونوئید، بتا کاروتن، ویتامین A و آلفا توکوفرول موجود در اسپیرولینا تا حد زیادی در فعالیت بالای آنتی اکسیدانی حاصل از این ریزجلبک شرکت می‌کنند. گزارش شده است عصاره اسپیرولینا (استخراج شده با سیال فوق بحرانی) به عنوان آنتی اکسیدانی قابل دسترس و ایمن، می‌تواند جایگزینی برای آنتی اکسیدان‌ها و ضد میکروب‌های سنتزی باشد. از این رو با فعالیت آنتی اکسیدانی جلبک‌ها میزان



مقدار ۴: مقایسه میانگین تغییرات بافت تیمارهای گوشت گوساله در طی بیست و هشت روز نگهداری

نتایج ارزیابی میزان جمعیت میکروبی کل با توجه به شکل ۵ مشاهده شد که میانگین جمعیت میکروبی کل کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و اختلافات معناداری بین جمعیت میکروبی کل تیمارهای گوشت گوساله در روز صفرم نگهداری وجود نداشت ($p > 0.05$). با توجه به نتایج ارزیابی جمعیت میکروبی کل مشاهده شد که در روز صفرم (روز تولید) میزان جمعیت میکروبی کل در کلیه تیمارهای گوشت گوساله یکسان بود ($p \leq 0.05$). اما در طی مدت زمان نگهداری میزان جمعیت میکروبی کل به طور معناداری با افزایش مواجه بود ($p \leq 0.05$). در تیمار شاهد میزان افزایش جمعیت میکروبی کل در طی ۲۸ روز زمان نگهداری به بالاترین میزان خود رسید ($p \leq 0.05$). در تیمارهای گوشت گوساله نیز با افزایش میزان استفاده از کیتوزان و جلبک‌های اسپیرولینا پلاتنسیس و کلرلاولنگاریس شاخص جمعیت میکروبی کل به میزان کمتری افزایش می‌یابد ($p \leq 0.05$). میزان افزایش جمعیت میکروبی کل در تیمارهای گوشت گوساله بسته بندی شده با مقادیر ناتامایسین دو درصد نیز کمتر از تیمار شاهد و کمتر از تیمارهای گوشت گوساله با میزان یک درصد جمعیت میکروبی کل می‌باشد ($p \leq 0.05$). بررسی نتایج ارزیابی جمعیت میکروبی کل در تیمارهای گوشت گوساله حاکی از افزایش کلی جمعیت میکروبی در کلیه

این روش را افزایش داد به طور کلی بررسی نتایج تحقیق حاضر نشان داد با در نظر گرفتن خواص فیزیکوشیمیایی، حسی پوشش بسته بندی با میزان یک درصد استفاده از جلبک های پلاتنسیس، کلرولولگاریس، یک درصد کیتوزان و یک درصد ناتامایسین به عنوان بهترین ترکیب جهت پوشش بسته بندی معرفی شد.

منابع

۱. اسلامی مشکنانی، ع.، فدایی نوغانی، و، خسروی دارائی، ب. و مزینانی، ص.، ۱۳۹۳، بررسی اثر افزودن پودر ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بر برخی از ویژگی های فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ پروبیوتیک حاوی پودر نعنای، فصلنامه فناوری های نوین غذایی، سال دوم، شماره ۶، صص ۷۰-۵۹.

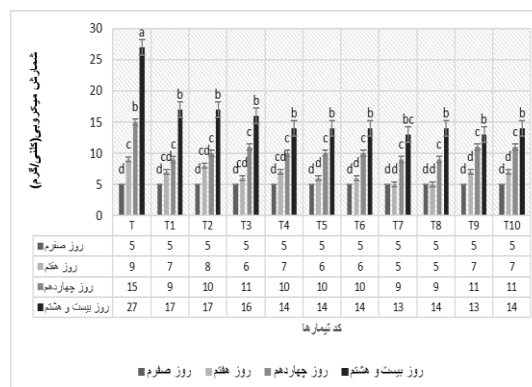
۲. بلقیسی، س.، عزیزی، م. ح.، ظهوریان، گ. و هادیان، ز.، ۱۳۸۷، ارزیابی خواص فیزیکی فیلم خوراکی پروتئین آب پنیر-منوگلیسیرید و اثر پوشش دهی آن بر افت رطوبت و ویژگی های حسی گوشت تازه گوسفند، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال سوم، شماره ۳، صص ۹۳-۸۳.

۳. خزایی پول، ا.، شهیدی، ف.، مرتضوی، س. ع. و محبی، م.، ۱۳۹۴، بررسی اثر سطوح مختلف ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و هیدروکلوئیدهای آگار و گوار روی فعالیت آب، بافت، پارامترهای رنگی و پذیرش کلی میوه ای بر پایه پوره کیوی، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، شماره ۴۸، دوره ۱۲، صص ۵۹-۴۷.

۴. زرین، ر.، قاسم پور، ز.، رضازادباری، م.، علیزاده، م. و مقدسی کیا، ا.، ۱۳۹۳، بررسی اثرات ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس و صمغ زرد در ماست پروبیوتیک، نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، جلد ۳، شماره ۳، صص ۲۱۰-۱۹۷.

۵. صالحی فر، م.، شهبازی زاده، س.، خسروی دارائی، ک.، بهمدی، ه. و فردوسی، ر. ا.، ۱۳۹۱، بررسی امکان

کپک در طی نگهداری کاهش می یابد در مقادیر بالای جلبک به دلیل عدم پیوستگی بافت نان باگت و افزایش دسترسی اکسیژن و همچنین به جهت بالا بودن غلظت مواد مغذی و خصوصا درصد چربی بالای جلبک زمینه برای اتواکسیداسیون لیپیدی نیز فراهم می گردد که به نوبه خود به گسترش فلور در کپک در گوشت گوساله کم می کند.



نمودار ۵: مقایسه میانگین تغییرات شاخص درصد ترکیبات میکروبی کل تیمارهای گوشت گوساله در طی ۲۸ روز نگهداری

نتیجه گیری کلی

یکی از روش های نگهداری مواد غذایی استفاده از افزودن نگهدارنده های شیمیایی و طبیعی در غلظت های مختلف به انواعی از مواد غذایی است که با توجه به رویکرد مصرف کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی در مواد غذایی و احتمال سرطان زایی ترکیبات نگهدارنده سنتزی، استفاده از مواد طبیعی با خاصیت ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی مانند اسانس های گیاهی رو به افزایش است. با این حال به دلیل آزاد شدن اسانس ها به صورت کنترل نشده در ماده غذایی و ایجاد بوها و طعم های تند و یا غیرفعال شدن قسمتی از این ترکیبات فعال به دلیل واکنش با مواد غذایی، عملکرد آن ها کاهش می یابد. بنابراین می توان از پوشش های خوراکی حاوی ترکیبات ضد میکروبی که به صورت کندتر سبب آزادسازی این ترکیبات به داخل گوشت می شوند و سبب حفظ غلظت های بالاتر ترکیبات ضد میکروبی در سطح گوشت می شود، کارایی

- Spiroline Platensis against Aquatic Bacterial Isolates, *J. microbiol., biotechnol. Food sci.*, 6 (5), 1203.
14. Fajardo, P., Martins, T., Ficioos, C., PAstrana, L. & Teixeira, J. A., 2010, Evaluation of a chitosan-based edible film as carrier of kanamycin to improve the storability of Saloio cheese. *J Food Eng.*, 101, 349-356.
15. Gao, M., Feng, L., Jiang, T., Zhu, j., Linglin, F., Dongxiang, Y., & Jianrong, L., 2014, The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano (*Trachinotus ovatus*) fillet during chilled storage, *Food Control*, 37, 1-8.
16. Hetta, M., Mahmoud, R., El-Senousy, W., Ibrahim, M., El-Taweel, G., & Ali, G., 2014, Antiviral and antimicrobial activities of *Spiroline Platensis*, *World J. PHarm. PHarm. Sci.*, 3 (6), 31-39.
17. Mallikarjun, G. K. G., Kavitha, M. D., & Sarada, R., 2015, Antihyperglycemic, antioxidant and antimicrobial activities of the butanol extract from *Spiroline Platensis*, *J. Food Biochem.*, 39 (5), 594-602.
18. Nattress, F. M., Yost, C. K., & Baker, L. P., 2001, Evaluation of the ability of lysozyme and nisin to control meat spoilage bacteria, *Int. J. Food Microbiol.*, 70, 111-119.
19. Smeti, S., Atti, N., Manouachi, M., & Munoz, F., 2013, Use of dietary rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils to increase the shelf life of Barbarize light lamb meat, *Small Ruminant Research*, 113, 340-345.
20. Welscher, Y. M., Nape, H., Balague, T., & Masia, M., 2008, Kanamycin Blocks Fungal growth by Binding Specifically to Ergo sterol without Permeabilizing the Membrane, *The J. Biol. Chem.*, 283 (10), 6393-6401.
- استفاده از پودر ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در تولید کلوچه صنعتی، *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*، سال ۷، شماره ۴، ص ۶۳-۷۲.
۶. کاظمی‌اسلامیان، م. ر.، ۱۳۸۱، فرهنگ علوم و صنایع غذایی، انتشارات شیرین عسل، تبریز، ایران.
۷. مطلبی، ی.، اجاق، س. م.، مطلبی، ع. و سفری، ر.، ۱۳۹۵، اثر پوشش کیتوزان همراه با ناتامایسین بر کیفیت تخم ماهی سفید دریای خزر طی نگهداری در دمای یخچال، *مجله علمی شیلات ایران*، سال ۲۵، ص ۱۰۹-۱۲۰.
۸. مولانژاد، م.، هدایتی‌فرد، م. و گلستان، ل.، ۱۳۹۵، افزایش ماندگاری کالباس گوشت حرارت دیده با نگهدارنده طبیعی کیتوزان به عنوان جایگزین نیتريت سدیم، *نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی*، جلد ۲۶، شماره ۱، صص ۱۱۲-۱۰۹.
9. Ahsan, S., Arefin, M. S., Munshi, J. L., Begum, M. N., Maliha, M., Rahman, S., & Kabir, M. S., 2016, In vitro antibacterial activity of *Spiroline Platensis* extracts against clinical isolates of *Salmonella enteric* servers TyPHi and Paratyphoid (SUBP03), *S. J. of Microbiol.*, 5 (1), 22-25.
10. Anchang, K.Y., Lewis, D., & Nji, C., 2016, Toxicological, Phytochemical and Antibacterial assessment of *Chlorella vulgaris* and *Spiroline Platensis* power in albino rats, A preliminary study, *J. Integr. Med.*, 1 (3).
11. Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., Papageorgiou, G. E., Vassilopoulos, V. N., Mantis, A. J., Trakatellis, A. G., 1994, Rapid sensitive and specific thiobarbituric acid methods for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feedstuff samples. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1931-1937.
12. Camo, J., Beltrán, J. A., & Roncalés, P., 2008, Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. *Meat Sci.*, 80, 1086-1091.
13. Elshouny, W. A. E. F., El-Sheekh, M. M., Sabae, S. Z., Khalil, M. A., & Badr, H. M., 2017, Antimicrobial Activity of

The Effect of Application of Bioactive Packing Cover on the basis of Natural Preservative (*Chitosan / Natamycin*) and Microalgae, *Spirolina Platensis* and *Chlorella Vulgaris* on Quality Characteristics and Beef Shelf Life

Shafiei R¹, Mostaghim T^{2*}

1. MSc of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding author: toktammostaghim@yahoo.com

Received: 9 August 2019

Accepted: 9 November 2019

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of antimicrobial coating based on *Chitosan*, and *Natamycin*, *Chlorella Vulgaris*, *Spirolina Platensis* for increasing the survival rate of beef. For this purpose, the values of zero, 1, 1.5 and 2 percent of the compounds were used during the days of zero, 7, 14 and 28 days storage in the packaging.

Physicochemical meat tests including pH, ash percentage, protein, volatile nitrogen, index of thiobarbituric acid, texture index (Hardness, elasticity, cohesively, consistency, chewiness), total microbial population, sensory evaluation (crispiness, taste, wateriness, overall acceptance) in a completely randomized design with three repetitions at a significant level of 95% confidence has been checked. The results of the experiments were analyzed by using Minitab 17.2 software.

The results showed that there were significant differences between the calf meat treatment Physicochemical and sensory with the testator treatment and increasing the use of chitosan, algae and also kanamycin, increase of microbial index rate, volatile nitrogen index (TVBN), thiobarbituric index (TB) during storage time for 28 days will be happened by less intensity. But the percentage of ash index did not show significant differences ($p < 0.05$). The use of algae in packaging formulations increases by up to 1%, increased hardness, decreased elasticity, chewiness and cohesiveness, as well as gumminess. With the increasing in the use of chitosan and the prevention of microbial and antioxidant damage as well as the use of algae due to its antioxidant properties, the rheological properties of the tissue as well as sensory evaluation were significantly less than the control treatment. Finally, taking into account the Physicochemical properties, the sensory packaging coverage by using 1% platinaceous algae, *Chlorella Vulgaris* 1%, *Spirolina Platensis*, 1% *Chitosan* and 1% *Natamycin* was used as the best composition in order to cover packaging.

Keywords: *Beef Meat, Chlorella Vulgaris, Chitosan, Natamycin, Spirolina Platensis, Bioactive Packaging.*