تاثیر عصاره دانه آنیسون به همراه پوشش آلژینات بر کیفیت فیله گوشت تازه

غزاله السادات حسینی [۱]، مهدی شریفی سلطانی [۲*]، پیمان آریایی [۳]

[۱] گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران
[۲] گروه دامپزشکی، واحد چالوس، دانشگاه آزاد اسلامی، چالوس، ایران
[۳] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی،آمل، ایران

[*] مسئول مکاتبه:dr.sharifi_m@yahoo.com

چکیده

در مطالعه حاضر، اثر عصاره هیدروالکلی (اتانول-آب (۵۰:۵۰)) دانه آنیسون (*Pimpinella anisum*) همراه با پوشش خوراکی آلژینات بر ماندگاری فیله گوشت نگهداری شده در یخچال (۲ ± ۴ درجه‌سانتی‌گراد) به مدت ۱۶ روز مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا فعالیت ضداکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره(ppm ۲۰۰،۵۰۰،۱۰۰۰ و ۱۵۰۰) و BHA (۱۰۰ ppm) با استفاده از آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH سنجیده شد. بالاترین میزان فعالیت رادیکال آزاد DPPH در غلظت ppm ۱۵۰۰ مشاهده شد (۸۰/۶۸درصد). سپس ۵ تیمار شامل: شاهد (فیله گوشت بدون پوشش دهی)، آلژینات، آلژینات +عصاره ppm ۵۰۰، آلژینات + عصاره ppm ۱۰۰۰، آلژینات + عصاره ppm ۱۵۰۰تولید شد و نمونه‌های تیمار شده از نظر خصوصیات بیوشیمیایی (مجموع بازهای ازته فرار، میزان اسیدهای چرب آزاد، عدد پراکسید و میزان تیوباربیتوریک اسید) و میکروبی (شمارش باکتری‌های کل ، سرماگراها و شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس*) و ارزیابی حسی (رنگ، بو و پذیرش کلی) مورد بررسی قرار گرفتند. طبق نتایج، تیمارهای حاوی عصاره‌ها همراه با پوشش آلژینات مقادیر مجموع بازهای ازته فرار، میزان اسیدهای چرب آزاد، عدد پراکسید و میزان تیوباربیتوریک اسید را در مقایسه با نمونه کنترل توانستند به طور معنی‌داری کاهش دهند($P<۰/۰۵$).همچنین نتایج آزمون‌های میکروبی نشان داد، تمامی تیمارها در مقایسه با نمونه شاهد در به تأخیر انداختن رشد باکتری‌ها در دوره نگهداری مؤثرتر بودند. در ارزیابی حسی (پذیرش کلی) هم نتایج بهتری برای تیمارهای حاوی عصاره و پوشش مشاهده شد. در مجموع بهترین نتایج در تیمار آلژینات + عصاره ppm ۱۵۰۰ مشاهده شد. همچنین تنها این تیمار تا انتهای دوره نگهداری از شاخص‌های میکروبی و شیمیایی قابل قبولی برخوردار بود. با توجه به نتایج حاصل و خواص مطلوب ضداکسیدانی و ضدباکتریایی عصاره دانه آنیسون می‌توان آن را بعنوان جایگزین نگهدارنده‌های سنتزی در فرآورده‌های گوشتی نمود.

کلمات کلیدی: پوشش خوراکی ، دانه آنیسون، خواص ضد اکسیدانی، خواص ضدباکتریایی، عمر ماندگاری

۱-مقدمه

گوشت یکی از مهم‌ترین منابع پروتئینی به شمار می‌رود. غنی بودن گوشت از پروتئین‌های ارزشمند حاوی اسیدهای آمینه ضروری برای بدن ، موادمعدنی مانند آهن و روی ، انواع ویتامین ها و نیز انرژی کافی سبب می‌شود تا آن در زمره بهترین و کامل‌ترین مواد غذایی طبقه بندی شود. از عوامل موثر بر کیفیت و جذابیت گوشت تازه بسته بندی شده ، رنگ آن است. رنگ قرمزگوشت تازه در بازار فروش مهم است چرا که آن اولین ویژگی کیفی است که به نظر مصرف کننده می‌آید و آن را نشانه‌ای ازتازه‌گی و سلامت محصول می‌داند (۲۰). یکی از ویژگی‌های اصلی کیفیت گوشت تازه ظرفیت نگه‌داری آب در آن است چرا که پذیرش مصرف-کننده و وزن نهایی محصول را تحت تاثیر قرار می‌دهد. افت رطوبت یک اثر تیره کنندگی مشخص روی رنگ سطحی گوشت تازه دارد که به مهاجرت رنگدانه‌های محلول در آب به سطح نسبت داده می‌شود که پس از تبخیر رطوبت تغلیظ می‌شوند. عامل موثر دیگر بر کیفیت گوشت تازه ، بو می‌باشد. بوی گوشت ناشی از ترکیباتی نظیر اینوزین منوفسفات و هیپوگزانتین است که در اثر تجزیه آدنوزین تری فسفات تولید می‌شوند. گوشت سالم هرگز نباید بوی غیر طبیعی مانند بوی تعفن یا ترشیدگی بدهد(۴۶). نگهداری گوشت در سرما وشرایط انجماد روش مناسبی برای نگهداری است که البته به طور کامل از فساد کیفی محصولات گوشتی جلوگیری نمی‌کند. برخی واکنش‌هایی که منجر به تغییرات اکسیداسیونی و آنزیمی و فساد پروتئین و چربی می‌شوند تحت شرایط نگهداری در سرما و انجماد نیز ادامه می‌یابند (۴۲). از اینرو نگهدارنده‌های مصنوعی و طبیعی، عوامل کلاته کننده و ترکیبات ضد میکروبی ممکن است جهت بهبود تازگی مواد غذایی به آنها اضافه شوند(۱۷و ۴۴). کاربرد مستقیم مواد ضد باکتریایی بر روی مواد غذایی اثرات سودمند آن را به دلیل خنثی سازی یا انتشار سریع به داخل ماده غذایی محدود می‌سازد(۳۳). لذا روش‌هایی مبنی بر غنی سازی فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی با مواد ضد میکروبی و ضداکسیدانی به منظور حفظ غلظت‌های بالای این ترکیبات در مواد غذایی برای افزایش زمان ماندگاری این محصولات توسعه پیدا کردند. به دلیل نگرانی‌های زیست محیطی مواد قابل تجزیه زیستی مانند پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها می‌توانند برای پوشش فیله‌های گوشت جهت جلوگیری از تغییرات کیفی در طی نگهداری استفاده شوند(۲۱). با توجه به تاثیر بسته بندی روی قیمت نهایی محصول لزوم جایگزینی ترکیبات اقتصادی را بیشتر می نماید به همین منظور توسعه پوشش های خوراکی یا فیلم‌های با قابلیت تجزیه زیستی مفید می باشد. فیلم‌ها یا پوشش خوراکی به عنوان لایه ای یکپارچه و نازک از مواد خوراکی روی مواد غذایی یا میان آن قرارداده می‌شوند. ساختار اصلی آن‌ها بر پایه پلیمرهای طبیعی با خواص ویژه است. عملکرد آن ها ایجاد یک سد در مقابل انتقال مواد (آب، گازها، چربی ها)، حفظ و انتقال اجزای مواد غذایی و افزودنی‌ها (رنگ ها، طعم دهنده ها و...)، جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها در سطح مواد غذایی و نیز حفاظت مکانیکی مواد غذایی است (۱۷). آن‌ها به عنوان حامل برای مواد فعالی مثل آنتی‌اکسیدان‌ها، مواد ضد میکروبی، رنگ‌ها و در بسته بندی مواد غذایی کاربرد گسترده‌ای دارند. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی را می‌توان به چهار گروه پلی ساکاریدی، پروتئینی، لیپیدی و مرکب تقسیم کرد. از پوشش‌های پلی‌ساکاریدی می‌توان به دکسترین(Dextrin) ، کیتوزان، کفیران، کتیرا، مشتقات سلولز نظیر متیل سلولز، کربوکسی متیل سلولز، آلژینات و... اشاره نمود. بیشتر مطالعات تحقیقی به منظور بهبود خواص فیزیکی فیلم‌ها و پوشش های بیوپلیمری به وسیله کاهش آب دوستی و بهبود خواص مکانیکی متمرکز شده است. از جمله راهکارهای مناسب به منظور بهبود خواص آبگریزی فیلم‌ها و پوشش‌های پلی‌ساکاریدی استفاده از برخی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی است. پوشش‌های خوراکی می‌توانند به عنوان حامل ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی مختلفی همچون اسیدهای آلی، آنزیم ها (لیزوزیم)، ضدقارچ ها (بنومیل) و ضد میکروب‌های طبیعی نظیر بسیاری از ادویه‌ها و اسانس‌ها مورد استفاده قرار گیرند. آلژینات نوعی نمک اسید آلژینیک، پلیمر اسید دی- منورونیک و

اسید ال – گولورونیک بوده و از جلبک قهوه‌ای جدا می‌شود. آلژینات به دلیل خواص ژلاتینی و توانایی‌اش برای تشکیل ژل‌های قوی یا پلیمرهای غیر قابل حل در واکنش با کاتیون‌های فلزی چند ظرفیتی مثل کلسیم به‌عنوان یک پوشش خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرد(۳۲). قابلیت تشکیل ژل، افزایش استحکام بافت‌ها، پایدارکنندگی و قابلیت تشکیل فیلم از خواص کاربردی آلژینات است. وقتی لایه نازکی از ژل یا محلول آلژینات خشک شود، فیلم یا پوشش تشکیل می‌شود که می‌تواند باعث حفظ ظرفیت نگهداری آب، محافظت در برابر فساد میکروبی و مقاومت در برابراکسیداسیون شود.توانایی بالای آلژینات در تشکیل فیلم امکان استفاده از آن را به عنوان یک پوشش غذایی مناسب فراهم کرده است. البته حضور و همراهی ترکیبات ضدباکتریایی و ضداکسیدانی زمینه افزایش خواص نگهداری آن را ایجاد می‌کنند (۵). با این وجود کاربرد مستقیم مواد ضد باکتریایی برروی مواد غذایی اثرات سودمند آن را به دلیل خنثی سازی یا انتشار سریع به داخل ماده غذایی محدود می‌سازد. گیاهان دارای ترکیبات با ارزشی هستند که علاوه بر افزایش کیفیت و ارزش تغذیه‌ای به صورت‌های دیگر از جمله نوشیدنی ،رنگ ،مواد آرایشی وداورویی و درمانی نیز استفاده می‌گردند. با افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان در خصوص مضرّات افزودنی‌های شیمیایی و سنتتیک در غذا، امروزه محققین به دنبال غذاهایی با ترکیبات طبیعی هستند که دارای اثرات مضر کمتر و ایمنی بیشتری می‌باشند و شرایط رشد میکروارگانیزم‌ها را در ماده غذایی محدود سازند.ترکیبات ضدمیکروبی موجود در مواد غذایی می‌تواند عمر نگهداری مواد غذایی فرآوری شده یا فرآوری نشده را افزایش دهند استفاده از عصاره‌های گیاهی به جای مواد نگهدارنده شیمیایی نگرانی‌های ناشی از مصرف این گونه مواد را کاهش می‌دهد و مصرف-کنندگان تمایل بیشتری به استفاده از این نگهدارنده‌های طبیعی نشان می‌دهند، عصاره‌های گیاهی و ترکیبات آنها از زمان‌های قدیم به عنوان مواد طعم دهنده مورد استفاده قرار گرفته‌اند و هم اکنون ثابت شده است که این مواد دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های ضدمیکروبی هستند (۳۸ و ۴۴). با این وجود کاربرد مستقیم مواد آنتی‌باکتریال، مانند عصاره‌ها بر روی مواد غذایی اثرات سودمند آن را به دلیل خنثی‌شدن و یا انتشار سریع آن به داخل مادهٔ غذایی، سمیّت زیاد و بوی نامطبوع محدود می‌سازد، امروزه روش‌های جدیدی توسعه یافته که در آن ترکیبات ضدباکتریایی با همان خواص می‌تواند به داخل پوشش‌های خوراکی افزوده شوند تا غلظت‌های بالای ماده نگهدارنده را روی سطح ماده غذایی برای مدت طولانی‌تری حفظ کنند و این مواد به تدریج و در طول دوره نگهداری آزاد شده و وارد مواد خوراکی می‌شود(۱۸). دانه آنیسون با نام علمی*Pimpinella anisum* می باشد.آنیسون که آن را بادیان رومی و رازیانه ی رومی نیز می‌نامند، گیاهی است با دانه‌های بسیار معطر. آنیسون از تیره‌ی چتریان است و با دانه‌هایی سبز رنگ، گلابی شکل و کوچک که قسمت فوقانی آن نوک تیز بوده و پنج خط برجسته (ده شیار) بر روی آن کاملاً مشهود است، دیده می‌شود. مهم‌ترین مواد تشکیل دهنده‌ی گیاه، عصاره بوده که میزان آن از ۱/۵ تا ۵ درصد متغیر است. مهم‌ترین ماده‌ی موجود در عصاره، ترانس-آنتول به میزان ۸۰ تا ۹۰ درصد است. اثرات فارماکولوژیکی آنیسون بیشتر مربوط به ترانس-آنتول موجود در اسانس و عصاره آن است که از نظر فرمول شبیه به کاتکول آمین‌ها (از جمله آدرنالین، نورآدرنالین و دوپامین) است. ترانس-آنتول به عنوان طعم دهنده در صنایع غذائی و داروئی (برای تهیه انواع شیرینی، خمیر دندان و محلول‌های دهانشوی)، در فرآورده‌های بهداشتی به خصوص در صابون و خمیر دندان و به عنوان حساس کننده در بی رنگ کردن فیلم‌های عکاسی رنگی، به عنوان تثبیت کننده در مطالعات میکروسکوپی، به عنوان ضد نفخ در مصارف دارویی، در سنتز انیس آلدئید و تهیه هیدروآنتول به طریق نیمه سنتزی به کار می‌رود. همچنین در کلیه مواردی که انیس بکار می‌رود مورد استفاده قرار می‌گیرد،کومارین‌ها ترکیبات مهم دیگر رازیانه رومی هستند(۱و۷). از طرفی نتایج مطالعات حاکی از توانایی بالای عصاره آنیسون در تولید روکش‌هایی با حساسیت کم در مقابل رطوبت در مقایسه با عصاره‌هایی مانند آویشن، میخک و ... می باشد (۳۷،۳۰). سعیدی فر و همکاران، ۱۳۹۶ به بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بادیان رومی در سیستم‌های روغنی و امولسیونی پرداختند. ترکیبات ضداکسیدانی بادیان رومی در سیستم روغنی عملکرد بهتری نسبت به سیستم

امولسیونی داشتند و بر این اساس نتیجه گیری شد که این ترکیبات به طور نسبی ترکیبات قطبی و آب دوست می باشند(۷). همین امر امکان استفاده از پوشش‌های زیستی حاوی عصاره آنیسون در پوشش فرآورده‌هایی با سطح رطوبت بالا مانند گوشت را میسر می‌سازد. لذا با توجه به مطالب فوق در تحقیق حاضر اثر استفاده از پوشش آلژینات با عصاره دانه آنیسون بر کیفیت و ماندگاری گوشت بررسی شد.

۲-مواد و روش ها

۲-۱-مواد اولیه

گوشت گوسفندی (قسمت ران)، دانه آنیسون(شرکت نور دارو) ، آلژینات(شرکت مرک آلمان)، تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمایش از شرکت مرک آلمان تهیه و از درجهٔ آزمایشگاهی برخوردار می‌باشند.

۲-۲-تهیه و آماده‌سازی دانه آنیسون

دانه آنیسون پس از شستشو، دانه‌های آنیسون در آون (BEHDAD، ایران) با درجه حرارت ۳۸ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت خشک و در ادامه توسط خردکن(یورولوکس مدل FC2544YGS) کاملا پودر گردید و تا زمان انجام آزمایش در درجه حرارت ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شد.

۲-۳-استخراج عصاره دانه آنیسون به کمک اولتراسوند

ابتدا نمونه با نسبت ۱ به ۵ با حلال اتانول-آب (۵۰:۵۰) مخلوط شده، سپس در حمام اولتراسوند(Grant XB6 ، انگلستان) به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۵ درجه‌سانتی‌گراد با فرکانس ۳۴-۲۸ کیلوهرتز قرار گرفت. سپس محلول با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف و ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ(Biophotometer ، آمریکا) شد. در ادامه توسط اواپراتور (حداکثر دما ۴۰ درجه‌سانتی‌گراد) حلال تبخیر و عصاره ذکرشده به دست آمد. عصاره حاصل تا زمان انجام آزمایش در دمای ۱۸- درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شد (۱).

۲-٤-اندازه‌گیری فعالیت ضداکسیدانی عصاره

۲-٤-۱-آزمون مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

بدین منظور ۱ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره به طور جداگانه (ppm ۲۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰) (غلظت‌ها برمبنای تحقیقات دیگر محققین بر روی این گیاه و موارد مشابه در این زمینه انتخاب شد) با ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH[1] اضافه و مخلوط حاصل به‌خوبی تکان داده شد. سپس محلول به مدت ۱۵ دقیقه در اتاق تاریک قرار داده و در ادامه جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۷ nm در مقابل شاهد خوانده شد. تمامی این مراحل در مورد BHA[2] به‌عنوان آنتی‌اکسیدان استاندارد در غلظت ppm ۱۰۰ انجام شد (۱). درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بر اساس رابطه ۱ محاسبه شد.

رابطه:۱

درصد مهار رادیکال آزاد DPPH= [۱ - (میزان جذب شاهد / میزان جذب نمونه – میزان جذب شاهد)]×۱۰۰

۲-۵-تهیه پوشش آلژینات غنی شده با عصاره دانه آنیسون

برای تهیه محلول ۲درصد وزنی- حجمی پوشش آلژینات ابتدا ۲۰ گرم پودر آلژینات به یک لیتر آب مقطر اضافه گردید و عمل هم زدن با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه انجام و در ادامه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه‌سانتی‌گراد حرارت‌دهی شد (۳۹). پس از گذشت این مدت ابتدا میزان ۲ درصد گلیسرول(بعنوان پلاستی‌ساز (نرم کننده) به منظور ایجاد مخلوطی مناسب و رفع تردی به

[1] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
[2] Butylated Hydroxy Anisole

پوشش آلژینات) با سه سطح عصاره دانه آنیسون (ppm ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰) به صورت مکانیکی مخلوط گشته و بعد از یکنواخت شدن به محلول آلژینات اضافه گردید و توسط همزن مغناطیسی(ISOLAB، آلمان) به مدت دو دقیقه همزده شد تا عصاره‌ها به طور یکنواخت در ماتریس پوشش پخش شوند (۶).

۲-٦-ایجاد پوشش روی فیله گوشت

گوشت گوسفندی (قسمت ران) مورد نیاز از مرکز فروش شهرستان ساری خریداری و با رعایت شرایط صحیح انتقال به آزمایشگاه تخصصی صنایع غذایی منتقل گردید و پس از آماده سازی گوشت، فیله‌هایی با وزن ۱۰۰-۸۰ گرم تهیه شد. جهت ایجاد پوشش بر سطح فیله‌های گوشت، ابتدا فیله‌ها به مدت ۱ دقیقه در پوشش‌های تهیه شده (آلژینات (۲درصد) و همچنین پوشش (آلژینات (۲درصد) غنی شده با سه سطح عصاره دانه آنیسون با غلظت‌های (ppm ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰) غوطه‌ور گردید، سپس فیله‌ها از محلول خارج و پس از گذشت تقریبا ۲ دقیقه، مجددا ۱ دقیقه دیگر در محلول پوششی قرار داده شد. جهت خشک کردن فیله‌ها به مدت ۵ ساعت از صفحات مشبک استریل آویزان و تحت جریان ملایم هوا، تا تشکیل پوشش قرار گرفتند (۶). پس از خشک شدن پوشش، فیله‌ها در ظروف استریل یکبارمصرف با پوشش سلوفان بسته بندی شدند و به یخچال منتقل و در دمای ۲ ± ۴ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱۶ روز نگهداری و در فواصل زمانی ۰، ۴، ۸، ۱۲ و۱۶ روز مورد ارزیابی میکروبی و شیمیایی قرار گرفت. لازم به ذکر است که یک تیمار بدون پوشش نیز به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد.

در این تحقیق فیله گوشت به ۵ تیمار زیر تقسیم بندی شد:

جدول۱: تیمارهای مورد مطالعه

ردیف	تیمار	اعلائم اختصاری
۱	فیله گوشت بدون پوشش (تیمار شاهد)	control
۲	فیله گوشت حاوی پوشش آلژینات	Alg
۳	فیله گوشت حاوی پوشش آلژینات با عصاره دانه آنیسون ۵۰۰پی پی ام	Alg + E 500 ppm
٤	فیله گوشت حاوی پوشش آلژینات با عصاره دانه آنیسون ۱۰۰۰پی پی ام	Alg + E 1000 ppm
٥	فیله گوشت حاوی پوشش آلژینات با عصاره دانه آنیسون ۱۵۰۰پی پی ام	Alg + E 1500 ppm

۲- ۷-آزمایشات شیمیایی

۲-۷-۱-اندازه گیری پراکسید

نمونه‌ای از روغن استخراج شده از گوشت را به دقت در ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری سر سمباده‌ای وزن نموده و حدود ۲۵ میلی لیتر از محلول اسیداستیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک۲ :۳) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر از محلول یدید-پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی‌لیتر از آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول چسب نشاسته یک درصد به مجموعه افزوده و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات‌سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر گردید (۲۴). میزان پراکسید بر حسب میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم چربی و بر اساس رابطه ۲ محاسبه شد.

رابطه:۲

$$PV = \text{حجم مصرفی تیوسولفات} \times \text{نرمالیته} \times ۱۰۰۰/\text{وزن نمونه روغن}$$

۲-۷-۲-اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید

اندازه‌گیری TBA به وسیله روش رنگ‌سنجی صورت گرفت. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه چرخ شده گوشت به یک بالن ۲۵ میلی‌لیتری انتقال یافت و سپس با ۱- بوتانل به حجم رسانده شد. ۵ میلی لیتر از مخلوط فوق به لوله‌های خشک درب‌دار وارد شده و به آن ۵ میلی لیتر از معرف TBA افزوده گردید(معرف TBA به وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی‌گرم از TBA در ۱۰۰ میلی لیتر حلال ۱- بوتانل پس از فیلتر شدن به دست می‌آید). لوله‌های درب‌دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفته و پس از آن در دمای محیط سرد شدند. سپس مقدار جذب (As) در ۵۳۲ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد. مقدار (TBA میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم بافت گوشت) بر اساس رابطه ۳ محاسبه گردید (۳۶).

رابطه:۳

$$TBA= (As-Ab) \times 200/50$$

۲-۷-۳-اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار

این آزمون توسط روش کلدال با قرار دادن ۱۰ گرم گوشت فیله گوسفندی میکس شده در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر و ۲ گرم اکسید منیزیم به عنوان کاتالیزور، ۲ قطره اکتانول به عنوان ضد کف و نهایتا ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر به داخل بالن کلدال شروع شد. سپس سیستم کلدال نصب شده و در زیر لوله خروجی سیستم، ارلنی حاوی ۲۵ میلی لیتر اسید بوریک ۳ درصد، ۰/۰۴ میلی لیتر مخلوط متیل رد و متیلن بلو به عنوان شاخص ریخته شد به طوریکه سر لوله خروجی کاملا درون محلول ارلن باشد. عمل جوشیدن محتویات بالن کلدال و تقطیر گازهای متصاعد شده که معرف بارهای نیتروژنی فرار هستند تا رسیدن حجم بالن به ۱۲۵ میلی لیتر و تغییر رنگ محلول به رنگ سبز ادامه یافت و سپس با هیدروکلریک اسید ۰/۱ نرمال تا حاصل شدن رنگ صورتی تیتر شد. با قرار دادن میزان اسید مصرفی جهت تیتراسیون در رابطه ۴ بارهای نیتروژنی فرار بر حسب میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه فیله گوشت محاسبه شد(۲۸).

رابطه:۴

$$TVB\text{-}N = \text{میزان اسید هیدروکلریک مصرفی} \times 1/4\times \text{وزن نمونه}/100$$

۲-۷-٤-اندازه گیری اسید چرب آزاد

۲۵ سی‌سی از الکل اتیلیک خنثی شده به وسیله سود نرمال به نمونه روغن اضافه گردید. سپس در مراحل بعدی با کمک ۲ تا ۳ قطره معرف فنل فتالئین و میزان مصرفی سود نرمال مقدار اسیدیته بر حسب درصد اسید اولئیک برطبق رابطه ۵ مشخص گردید (۱۱).

رابطه:۵

$$FFA = \text{حجم سود مصرفی} \times 2/82\times \text{نرمالیته}/10/\text{وزن نمونه روغن}$$

۲-۸-آنالیز میکروبی نمونه‌ها

ابتدا از هر فیله گوشت با استفاده از تیغ اسکارپل و پنس استریل شده درحضور چراغ الکلی و بشر حاوی الکل، ۱۰ گرم نمونه برداشته شد و در ۹۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل ۰/۸۵درصد قرار داده شده و به مدت ۶۰ ثانیه در یک مخلوط کن آزمایشگاهی هموژن گردید. برای شمارش باکتریایی نمونه‌ها، ۱۰ گرم از نمونه در شرایط استریل با ۹۰ میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم ۰/۸۵ مخلوط و هموژن شد و متعاقب آن رقت‌های مورد نیاز تهیه گردید. یک میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پور پلیت[1] مورد استفاده قرار گرفت. شمارش تعداد باکتری‌های کل و باکتری‌های سرمادوست در محیط پلیت کانت آگار[2] به ترتیب در دماهای ۳۷

[1] Pour plat
[2] Plate count agar

درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۲ روز و ۷ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز با شمارش کلنی‌های موجود بر روی پلیت انجام گرفت. تمامی شمارش‌ها به صورت log CFU/g گزارش گردید (۳۷).

۹-۲-شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*

برای شمارش باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* از محیط کشت برد پارکر آگاراستفاده شد. در این روش یک میلی لیتر از رقت‌های مورد نظر را در سطح برد پارکر کشت داده شد و ۲۴ تا ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد ایجاد پرگنه های سیاه براق با لبه نازک سفید و هاله شفاف در اطراف آن مشخصه *استافیلوکوک* می‌باشد. برای هر رقت دو پلیت درنظر گرفته شد. برای آزمون‌های تاییدی از تست کوآگولاز با پلاسمای خرگوش و تخمیر هوازی و بی هوازی مانیتول در محیط مانیتول سالت آگار[1] استفاده شد (۲).

۱۰-۲-ارزیابی حسی

جهت انجام ارزیابی حسی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه سرخ کن مولینکس مدل AM30 و روغن گیاهی آفتابگردان مخصوص سرخ کردنی(با نقطه دود ۲۲۷ درجه‌سانتی‌گراد)، در دمای ۱۷۰ درجه به مدت ۵ دقیقه پخت گردید، در ادامه ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌ها توسط ۱۰ ارزیاب نیمه آموزش دیده از نظر رنگ، بو و پذیرش کلی در روز اول و آخر نگهداری توسط آزمون هدونیک پنج نقطه‌ای استفاده شد که امتیاز ۵ بیانگر بسیار خوب بودن و امتیاز ۱ بیانگر بسیار بد بودن نمونه می باشد (۴۰). هر ارزیاب یک بلوک در نظرگرفته شد و داده‌های حاصل از آزمون حسی با طرح بلوک کاملا تصادفی با نرم افزار SPSS در سطح اطمینان ۹۵درصد به صورت non parametric آنالیز گردید.

۱۱-۲-تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها، با توجه به نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس، با استفاده از روش آنالیز واریانس دو طرفه (Two-Way ANOVA) استفاده شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد و ارزیابی‌ها در ۳ تکرار صورت پذیرفت. از نرم افزار (SPSS version 18) برای آنالیز داده‌ها و Excel برای رسم نمودارها استفاده گردید.

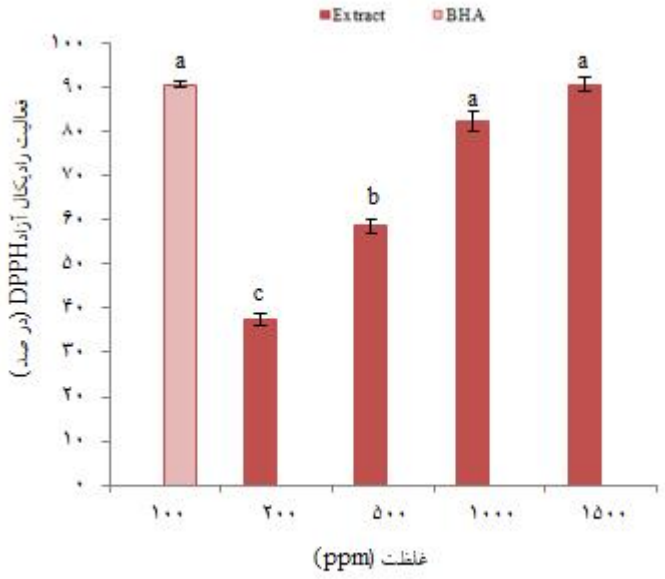
۳- نتایج و بحث

۱-۳- بررسی فعالیت رادیکال آزاد DPPH

استفاده از رادیکال پایدار DPPH[2] یکی از روش های معتبر، دقیق، آسان و مقرون به صرفه با تکرار پذیری بالا می باشد که جهت بررسی خاصیت ضداکسیدانی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می گیرد. آنتی‌اکسیدان‌ها با دادن هیدروژن و یا الکترون به رادیکال DPPH ، آنرا احیا نموده و باعث کم شدن رنگ و یا حتی بی رنگ شدن آن می شوند(۱۵). نتایج مربوط به مطالعه حاضر نشان داد (شکل ۱)، با افزایش غلظت مقادیر فعالیت رادیکال آزاد DPPH افزایش یافت. به طوریکه عصاره در غلظت ppm ۱۵۰۰ بالاترین فعالیت ضداکسیدانی را دارا بود و مقادیر فعالیت رادیکال آزاد DPPH در این غلظت اختلاف معنی‌داری با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHA نداشت. عصاره و اسانس‌های گیاهی به علت دارا بودن ترکیبات فنلی دارای فعالیت ضداکسیدانی و ظرفیت بالایی برای اهدای اتم هیدروژن یا الکترون و الکترون آزاد می‌باشد با افزایش غلظت ترکیبات فنلی یا درجه هیدروکسیلاسیون

[1] Mannitol Salt Agar
[2] (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity

ترکیبات فنلی، فعالیت مهار رادیکالی عصاره و اسانس افزایش پیدا می‌کند (۳۸،۱).ابراهیم نیاکتابی و همکاران (۱۳۹۴) نیز اعلام نمودند که عصاره دانه آنیسون دارای خاصیت ضداکسیدانی می‌باشد و می‌تواند رادیکال آزاد DPPH را مهار نماید، همچنین آنها اعلام نمودند ترکیبات فنلی نقش مهمی در مهار رادیکال آزاد DPPH دارد(۱).



شکل ۱: مقادیر فعالیت رادیکال آزاد DPPH عصاره و آنتی اکسیدان سنتزی

۳-۲- مقادیر عدد پراکسید طی دوره نگهداری

شاخص پراکسید میزان کل هیدروپراکسیدها را نشان می‌دهد و یکی از شاخص‌های ارزیابی کیفی بسیار رایج چربی‌ها و روغن‌ها طی تولید و نگهداری است. هیدروپرواکسیدها به عنوان اولین مواد حاصل از اتواکسیداسیون شناخته شده اند و مواد حاصل از تجزیه هیدروپروکسیدها مثل آلدهیدها، کتون‌ها، الکل ها، هیدروکربن ها، اسیدهای آلی فرار و اپوکسی ها به عنوان ترکیبات ثانویه اکسیداسیونی مطرح هستند (۴۳،۱۳). با افزایش زمان مقادیر عدد پراکسید در تمامی تیمارها تا روز دوازدهم نگهداری افزایش و سپس کاهش یافت. کاهش عدد پراکسید پس از حداکثر مقدار خود ممکن است به علت بی ثباتی هیدروپراکسید و تبدیل آن به ترکیبات ثانویه اکسیداسیون می باشد (۱۲). با توجه به نتایج آنالیز آماری (جدول۲) بیشترین مقادیر عدد پراکسید در تیمار شاهد مشاهده شد. کمتر بودن عدد پراکسید در تیمارهای حاوی پوشش آلژینات و عصاره به علت ترکیبات فنلی موجود در عصاره می باشد. پلی‌فنول‌ها توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد را دارند، خصوصا رادیکال‌های پروکسی که یکی از کلیدیترین واکنش دهنده‌های زنجیره‌ی میانی‌اند، درنتیجه باعث خاتمه دادن چرخه‌ی واکنش‌های فساد اکسیداسیونی می‌شوند دانه آنیسون هم ازجمله گونه‌هایی است که دارای ترکیبات زیست فعال مختلف مانند ترکیبات فنولی است بنابراین اثر تیمارهای حاوی عصاره دانه آنیسون بر کاهش میزان پراکسید نسبت به تیمار شاهد قابل توجیه است (۳۵،۲۷). در مجموع عصاره‌ها توانایی شکستن رادیکال‌های آزاد، به وسیله دادن یک اتم هیدروژن را دارا می باشد و به علت دارا بودن ترکیبات فنولی دارای خاصیت ضداکسیدانی می باشد که فساد اکسیداتیو در گوشت را به تاخیر می اندازد (۲۵). در مطالعه حاضر مقادیر عدد پراکسید در تیمارهای حاوی پوشش آلژینات و عصاره دانه آنیسون در غلظت

ppm ۱۵۰۰ کمتر از مابقی تیمارها بود. مطالعات متعددی گزارش شده است که اثر ضداکسیدانی عصاره‌های طبیعی وابسته به میزان دوزشان است (۳۸،۳۲،۳۱).

سبزعلی و همکاران (۱۳۹۷) نشان دادند که عصاره ولیک و پوشش آلژینات در به تأخیر انداختن تولید محصولات اولیه اکسیداسیون لیپیدی در فیله گوشت گوساله نگهداری شده طی دوره نگهداری در یخچال مؤثر بوده است(۶). نتایج مطالعه حاضر با نتایج رشیدایی و همکاران (۲۰۱۹) در ارتباط با افزودن عصاره رزماری بر گوشت گاو هم خوانی دارد(۳۸). آنها نیز اعلام نمودند افزایش غلظت عصاره سبب کند شدن تغییرات عدد پراکسید طی دوره نگهداری می شود. میزان مجاز پراکسید در گوشت برای مصرف انسانی ۵ میلی اکی والان/ کیلوگرم چربی است (۴۵). در روز دوازدهم دوره نگهداری میزان پراکسید در تیمار شاهد و تیمار آلژینات بیشتر از حد قابل قبول پیشنهادی بود و در سایر تیمارها تا انتهای دوره نگهداری از محدوده مجازی برخوردار بود.

جدول ۲: مقادیر عدد پراکسید در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

زمان نگهداری	تیمار				
(روز)	شاهد	آلژینات	آلژینات+ عصاره ppm ۵۰۰	آلژینات+ عصاره ppm ۱۰۰۰	آلژینات+ عصاره ppm ۱۵۰۰
۰	۰/۹۷±۰/۰۵^{Ae}	۰/۹۶±۰/۰۶^{Ae}	۰/۹۸±۰/۰۳^{Ae}	۰/۹۹±۰/۰۶^{Ae}	۰/۹۸±۰/۰۶^{Ae}
٤	۳/۹۱±۰/۳۳^{Ad}	۲/۹٤±۰/۰۵^{Bd}	۲/۱۷±۰/۰۶^{Cd}	۲/۱٦±۰/۰۸^{Cd}	۱/۹٤±۰/۰٤^{Dd}
۸	٥/۷٦±۰/۱۲^{Ac}	٤/۱۳±۰/۱۳^{Bc}	۳/۳۳±۰/۰٤^{Cc}	۳/۳۰±۰/۰٥^{Cc}	۲/۸۷±۰/۰۸^{Dc}
۱۲	۷/٤۰±۰/۱٥^{Aa}	٥/٥۳±۰/۱۷^{Ba}	٤/۷۰±۰/۳۹^{Da}	٤/۹٥±۰/۰٦^{Ca}	۳/۹٦±۰/۰۸^{Ea}
۱٦	٦/۱٤±۰/۰۹^{Ab}	٤/٦٦±۰/۲٦^{Bb}	۳/۸۱±۰/۱٤^{Db}	٤/۰۱±۰/۰٥^{Cb}	۳/۳۱±۰/۰٥^{Eb}

۱) همه اعداد بر حسب میلی اکی والان/ کیلوگرم چربی بیان شده است (میانگین ± انحراف از معیار)

۲) اعداد در یک ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند (A, B,..)

۳) اعداد در یک ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند(a, b, c,..)

۳-۳- مقادیر عدد تیوباربیوتیک اسید طی دوره نگهداری

شاخص TBA میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به ویژه آلدهیدها را نشان می‌دهد. روند افزایشی این شاخص در طول مدت نگهداری ممکن است به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در ماهیچه باشد. همچنین، آلدهیدها به عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون از تجزیه هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شوند. روند افزایشی هیدروپراکسیدها میتواند دلیلی بر این موضوع باشد (۲۳، ۴۴).با توجه به نتایج آنالیز آماری(جدول ۳) بیشترین مقادیر TBA در تیمار شاهد مشاهده شد. ترکیبات فنولیک مانند آنتی اکسیدان‌های سنتزی دارای خاصیت خنثی سازی رادیکال‌های آزاد هستند و همچنین قادر به مهار کردن یون‌های فلزی مانند Fe^{+2} می‌باشند و به این ترتیب سرعت شکل‌گیری مولکول اکسیژن فعال کاهش می‌یابد. در مطالعه حاضر نیز افزایش غلظت عصاره سبب افزایش خاصیت ضداکسیدانی عصاره شد. همچنین نتایج در ارتباط با تیمارهای حاوی پوشش آلژینات و عصاره بهتر بود به طوری که در روز ۱۶ ام نگهداری کمترین مقادیر عدد تیوباربیوتیک اسید در تیمار پوشش آلژینات و عصاره با غلظت ppm ۱۵۰۰و بیشترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد. در واقع می‌توان اینگونه بیان نمود ترکیب پوشش آلژینات و عصاره سبب افزایش خاصیت ضداکسیدانی آن و طولانی تر شدن اثر بخشی آن طی دوره نگهداری می شود. نتایج این پژوهش با نتایج صفری و همکاران (۲۰۱۸) هم خوانی داشت در مطالعه آنها اثرات آنتی اکسیدان عصاره خوشاریزه بر روی ماندگاری فیله کپور سرگنده طی دو شرایط نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی آنها نشان داد که در تغییرات اسید تیوباربیتوریک با توجه به نسبت عصاره افزایش معنی‌داری ایجاد شد که کمترین آن مربوط به۱۵۰۰ پی پی ام عصاره در دمای یخچال بود که در ماندگاری ماده فوق در یخچال نقش به سزایی ایفا کرد و

بهتر از دیگر نمونه‌ها بود(۴۰). نتایج مطالعه حاضر با نتایج اسماعیلی و همکاران (۲۰۲۰) در ارتباط با افزودن پوشش کیتوزان–صمغ دانه شاهی بر فیله گوشت(۲۵)، پورشایگان و همکاران(۱۳۹۸) ، مهدیزاده و همکاران (۱۳۹۷) و رهنمون و همکاران (۱۳۹۷) هم خوانی دارد(۳،۵،۷). آنها نیز اعلام نمودند افزایش غلظت عصاره و همچنین استفاده از پوشش خوراکی آلژینات سبب کند شدن تغییرات عدد تیوباربیوتیک اسید طی دوره نگهداری می شود. به طور کلی میزان TBA ۲ میلی گرم مالون دی آلدهید/گرم گوشت به عنوان محدودیت مصرف در نظر گرفته می شود و آن زمانی است که بوی فساد در گوشت قابل کشف خواهد بود (۱۹). در انتهای دوره نگهداری میزان TBA در همه نمونه‌ها به جز تیمار پوشش آلژینات و عصاره ppm ۱۵۰۰ بیشتر از حد قابل قبول پیشنهادی بود.

جدول۳: مقادیر عدد تیوباربیوتیک اسید در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

زمان نگهداری	تیمار				
(روز)	شاهد	آلژینات	آلژینات+ عصاره ppm ۵۰۰	آلژینات+ عصاره ppm ۱۰۰۰	آلژینات+ عصاره ppm ۱۵۰۰
۰	۰/۷۸±۰/۰۳^{Ae}	۰/۷۷±۰/۰۲^{Ae}	۰/۷۷±۰/۰٤^{Ae}	۰/۷۸±۰/۰۳^{Ae}	۰/۷۸±۰/۰۳^{Ae}
٤	۱/٦۹±۰/۰٦^{Ad}	۱/۲۸±۰/۰۳^{Bd}	۱/۰۹±۰/۰۲^{Dd}	۱/۱۳±۰/۰۳^{Cd}	۱/۰۵±۰/۰٤^{Dd}
۸	۲/۹۱±۰/۰٤^{Ac}	۱/۹۳±۰/۰۳^{Bc}	۱/٤۰±۰/۰٤^{Dc}	۱/٦۳±۰/۰٦^{Cc}	۱/٤۱±۰/۰۲^{Dc}
۱۲	۳/۸۰±۰/۰۳^{Ab}	۲/۵۹±۰/۰۵^{Bb}	۱/۹۰±۰/۰۵^{Db}	۲/۱۰±۰/۰۵^{Cb}	۱/٦۱±۰/۰۷^{Eb}
۱٦	٤/۵۹±۰/۰۷^{Aa}	۳/۱٦±۰/۰۸^{Ba}	۲/۵٦±۰/۰٤^{Da}	۲/۹۲±۰/۰۳^{Ca}	۱/۸۲±۰/۰۳^{Ea}

۱) همه اعداد بر حسب میلی گرم مالون دی آلدئید/ کیلوگرم چربی بیان شده است (میانگین ± انحراف از معیار)

۲) اعداد در یک ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند(A, B,..)

۳) اعداد در یک ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند (a, b, c,..)

۳-٤- مقادیر بازهای نیتروژنی فرار طی دوره نگهداری

مجموع بازهای نیتروژنی فرار بطور عمده متشکل از تری متیل آمین، دی متیل آمین، آمونیاک و سایر ترکیبات نیتروژنی فرار مرتبط با فساد فرآورده‌های غذایی می‌باشد که به ترتیب توسط باکتری‌های مولد فساد، آنزیم‌های اتولیتیک، دامیناسیون اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها تولید می‌گردند و یکی از نشانگرهای اصلی تخریب و تجزیه پروتئین گوشت محسوب می‌شود (۲۶،۳۳و ۴۴). با توجه به نتایج آنالیز آماری(جدول۴) در اکثر روزها بیشترین میزان بازهای نیتروژنی در تیمار شاهد، مشاهده شد. با افزایش غلظت عصاره نتایج بهتری مشاهده شد، به طوری که در روز ۱۶ ام نگهداری کمترین بازهای نیتروژنی فرار در تیمار آلژینات+ عصاره با غلظت ppm ۱۵۰۰و بیشترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد. علت این امر افزایش خاصیت ضد باکتریایی عصاره‌ها بهمراه پوشش‌های خوراکی و یا حفظ پایداری خواص ضدباکتریایی برای مدت طولانی تر بهمراه پوشش‌های خوراکی مثل آلژینات می‌باشد. صفری و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که عصاره خوشاریزه در به تأخیر انداختن مجموع بازهای ازته فرار در فیله ماهی کپور سرگنده نگهداری شده طی دوره نگهداری در یخچال مؤثر بوده است(۴۰). سبزعلی و همکاران (۱۳۹۷) به بررسی تأثیر عصاره ولیک و پوشش آلژینات بر عمر ماندگاری فیله گوشت گوساله در شرایط نگهداری در یخچال پرداختند(۶). آنها اعلام نمودند، تیمار حاوی پوشش آلژینات و عصاره ولیک ۱/۵ درصد کمترین مقادیر مجموع بازهای نیتروژنی فرار دارا بود و همچنین تنها این تیمار از مقادیر قابل قبولی تا انتهای دوره نگهداری برخوردار بود. حد مطلوب مجموع بازهای ازته فرار در گوشت و فرآورده های آن ۲۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت گزارش شده است (۱۴). در انتهای دوره نگهداری میزان بازهای ازته فرار در همه نمونه‌ها به جز تیمار آلژینات+ عصاره با غلظت ppm ۱۵۰۰بیشتر از حد قابل قبول پیشنهادی بود.

جدول ٤: مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

زمان نگهداری (روز)	تیمار				
	شاهد	آلژینات	آلژینات+ عصاره ppm ۵۰۰	آلژینات+ عصاره ppm ۱۰۰۰	آلژینات+ عصاره ppm ۱۵۰۰
۰	۱۰/۷۲±۰/۳۹^{Ae}	۱۰/۷۲±۰/۳۲^{Ae}	۱۰/٦٤±۰/۳۳^{Ae}	۱۰/٦٦±۰/۲۲^{Ad}	۱۰/٦۹±۰/۳٦^{Ae}
٤	۱٤/۰٤±۰/۵۳^{Ad}	۱۳/۱۹±۰/۵۲^{Bd}	۱۲/۱۹±۰/۱۹^{Dd}	۱۲/٦۹±۰/۳۰^{Cc}	۱۱/۸۱±۰/۲۱^{Ed}
۸	۲۱/۵۲±۱/۰٤^{Ac}	۱۷/۱۰±۰/۸۲^{Bc}	۱٤/۸۱±۰/۲۳^{Dc}	۱۵/۲۵±۰/۲۸^{Cb}	۱۳/۲۷±۰/۳۰^{Ec}
۱۲	۲۵/٤۹±۰/۸۳^{Ab}	۲۱/۲۲±۰/۷۲^{Bb}	۱۸/۲۸±۰/۳۰^{Cb}	۱٦/۹۲±۰/۵۵^{Db}	۱۵/۷۱±۰/۲۲^{Eb}
۱٦	۳۲/۱۰±۱/۷۱^{Aa}	۲٦/۱۹±۰/٦۵^{Ba}	۲۳/۳۲±۰/۳۳^{Ca}	۲۲/۲۱±۰/۳۰^{Ca}	۱۸/۳۹±۱/۲۱^{Da}

۱) همه اعداد بر حسب میلی گرم/ صد گرم بیان شده است (میانگین ± انحراف از معیار)

۲) اعداد در یک ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند(A, B,..)

۳) اعداد در یک ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند (a, b, c,..).

۳-۵- مقادیر اسید چرب آزاد طی دوره نگهداری

وجود اسید چرب آزاد به واسطه اکسایش و آبکافت آنزیمی چربی‌های استری بوده و یک ترکیب نامطلوب می‌باشد، چون اسیدهای چرب آزاد می‌توانند به ترکیبات فرار بد بو تبدیل شوند (۱۰). تأثیر پرواکسیدانی اسیدهای چرب آزاد بر چربی بدین صورت است که اسیدهای چرب آزاد بر گروه کربوکسیل اثر تحریک کننده داشته و تشکیل هیدروپروکسیدها و متعاقبا رادیکال‌های آزاد را تسریع می-بخشد (۱۶). در مطالعه حاضر(جدول۵) میزان اسیدهای چرب آزاد به طور کلی در تمام تیمارها افزایش یافت. این افزایش کلی نشان دهنده وقوع فساد هیدرولتیک در تمامی نمونه‌ها است که ناشی از فعالیت آنزیم های داخلی و باکتریایی می باشد، تجمع این ترکیبات در بافت می‌تواند یکی از عوامل اصلی در پذیرش محصول بوسیله مصرف کننده باشد زیرا این ترکیبات دارای اثرات مضر یا مخرب بر فعالیت آنزیم ATP-asc ، حلالیت پروتئین ها بوده و ایجاد طعم نامطلوب (بدلیل واکنش با پروتئین‌ها)، تغییر رنگ، تخریب بافتی مرتبط با ویسکوزیته می‌کنند. با توجه به نتایج آنالیز آماری در اکثر روزها بیشترین میزان FFA در تیمار شاهد، مشاهده شد. با افزایش غلظت عصاره نتایج بهتری مشاهده شد، به طوری که تیمار های پوششی با غلظت بالاتر عصاره، دارای مقادیر کمتری از اسید های چرب آزاد طی دوره نگهداری بودند و کمترین میزان FFA در روز ۱۶ ام نگهداری در تیمار آلژینات+ عصاره با غلظت ppm ۱۵۰۰مشاهده شد. علت این کاهش را شاید بتوان از یک طرف به اثر ضداکسیدانی شناخته شده عصاره نسبت داد که احتمالا از طریق اثر بر آنزیم‌های بافت، موجب کاهش هیدرولیز آنزیمی شده است (۴۴). از طرف دیگر، ممکن است این کاهش ناشی از اثر ضد میکروب عصاره بوده باشد که موجب کاهش بار باکتریایی و متعاقب آن تولید آنزیم های آنها و هیدرولیز کمتر چربی ها شده باشد. عبداللهی و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی اثر اسانس رزماری به همراه پوشش نانوکیتوزان-رس بر مقادیر اسید چرب آزاد فیله ماهی کپور نقره‌ای پرداختند(۹). آنها اعلام نمودند که میزان افزایش اسیدهای چرب آزاد ماهی پوشش داده شده با کیتوزان حاوی اسانس رزماری نسبت به تیمار شاهد کمتر بوده است و علت آن را فعالیت ضداکسیدانی اسانس رزماری بیان نمودند. جلالی و همکاران، (۲۰۱۵) اعلام نمودند کمترین مقادیر اسید چرب در فیله ماهی تیمار حاوی پوشش مرکب کربوکسی متیل سلولز- آلژینات غنی شده با اسانس ۱/۵ درصد میخک مشاهده شد(۳۱).

جدول ۵: مقادیر اسید چرب آزاد در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

زمان نگهداری (روز)	تیمار				
	شاهد	آلژینات	آلژینات+ عصاره ppm ۵۰۰	آلژینات+ عصاره ppm ۱۰۰۰	آلژینات+ عصاره ppm ۱۵۰۰
۰	۰/۳۷±۰/۰۳^{Ae}	۰/۳۷±۰/۰۳^{Ae}	۰/۳۵±۰/۰۳^{Ae}	۰/۳۶±۰/۰۳^{Ae}	۰/۳۶±۰/۰۳^{Ae}
٤	۱/۰۰±۰/۰٦^{Ad}	۰/۸۱±۰/۰۳^{Bd}	۰/۷٦±۰/۰۳^{Cd}	۰/۷۱±۰/۰۲^{Dd}	۰/۵۸±۰/۰۳^{Ed}
۸	۲/۰٦±۰/۰٤^{Ac}	۱/۵۱±۰/۰٤^{Bc}	۱/۲۱±۰/۰۷^{Dc}	۱/۳۰±۰/۰۵^{Cc}	۱/۰۲±۰/۰٤^{Ec}
۱۲	۳/۵۰±۰/۰۳^{Ab}	۲/۲۹±۰/۰٤^{Bb}	۱/۹۵±۰/۰۵^{Cb}	۲/۰۱±۰/۰۳^{Cb}	۱/٦۲±۰/۰۷^{Db}
۱٦	٤/۵۰±۰/۰۷^{Aa}	۳/۵۵±۰/۰٦^{Ba}	۲/۸۸±۰/۰۸^{Ca}	۲/۷۵±۰/۰۷^{Da}	۲/۰۵±۰/۰۷^{Ea}

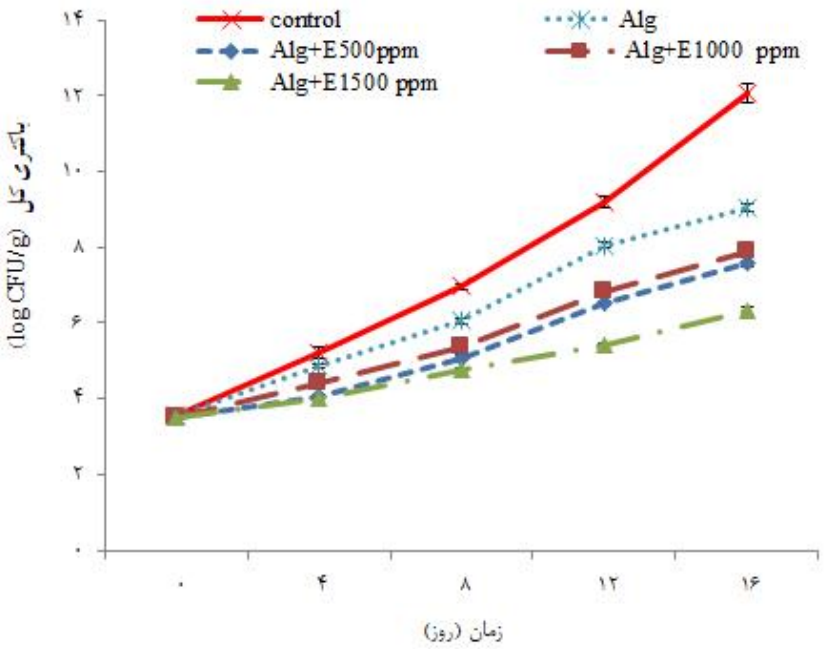
۱) همه اعداد بر حسب درصد اسید اولئیک بیان شده است (میانگین ± انحراف از معیار)

۲) اعداد در یک ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند(A, B,..)

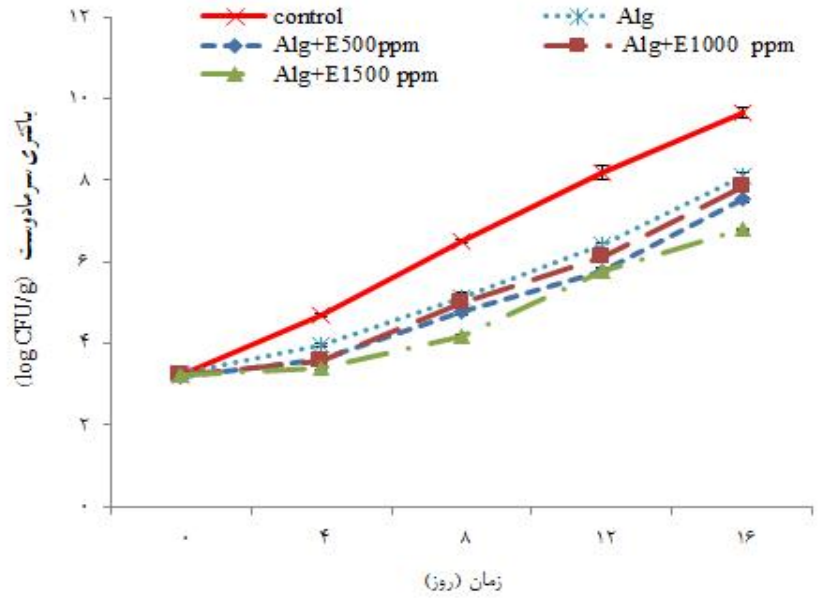
۳) اعداد در یک ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار دارند(a, b, c,..).

۳-٦- مقادیر شاخص‌های میکروبی طی دوره نگهداری

سطح گوشت معمولا با گونه های مختلفی از ارگانیزم‌های ساپروفیت مخصوصا *کوکوباسیلوس*ها یا *باسیلوس*ها و میکروکوکوس‌های گرم منفی آلوده می‌شود. گروه اصلی میکروارگانیسم‌های مسئول فساد گوشت تازه نگهداری شده به صورت سرد، باکتری‌های سرمادوست گرم منفی هستند (۳۷). این باکتری‌ها و عمدتاً گونه‌های *سودوموناس* آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز تولید می‌کنند که سبب افزایش اسیدهای چرب آزاد می‌شوند. از ویژگی‌های مهم باکتری‌های سرمادوست دارا بودن آنزیم پروتئولیتیک و لیپولیتیک قوی و سرعت تکثیر آنها در زمان کوتاه می‌باشد (۴۱،۲۹). میزان مجاز شمار کل باکتری و سرمادوست برای گوشت log cfu/g ۷ پیشنهاد شده است (۴۱، ۴۷ و ۴۸). با توجه به نتایج (شکل ۲و۳)تنها تیمار آلژینات بهمراه عصاره ppm ۱۵۰۰ تا انتهای دوره نگهداری از محدوده مجازی برخوردار بود. مهار رشد باکتریایی بوسیله پوشش آلژینات را در وحله اول می توان به اثر پوششی آن و ممانعت از نفوذ اکسیژن نسبت داد. نتایج مشابهی در مورد اثر پوشش های زیست تخریب پذیر بر بار باکتریایی گونه های مختلف گوشت طی نگهداری توسط سایر محققان (۳۷،۳۱،۹) گزارش شده است. همچنین اثر ضد میکرویی پوشش های ضد میکروبی نیز به اثبات رسیده است، که در نهایت منجر به گسیختگی غشای سلول باکتری و خروج مواد ضروری سلول و در نهایت مرگ آن می شود (۳۳). ساختار شیمیایی ترکیبات فنولی بر مکانیسم ضدمیکروبی آنها اثرگذار بوده و گروه‌های هیدروکسیل موجود در ترکیبات فنولی اثر مهمی در خاصیت ضدمیکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی دارد. وجود گروه هیدروکسی فنولیک فعال باعث شده است که این ترکیبات بتواند به آسانی با جایگاه‌های فعال آنزیم‌ها، باند هیدروژنی تشکیل دهد. این ترکیبات معمولاً موجب اختلال در غشا سیتوپلاسمی، شکستن و از هم گسیختن نیروی حرکتی پروتون، جریان الکترونی و انتقال فعال شده و سبب انعقاد و کوآگولاسیون محتویات سلولی می‌شود. در مجموع نتایج با نتایج صفری و همکاران (۲۰۱۸) در ارتباط با تاثیر عصاره خوشاریزه بر ماندگاری فیله کپور سرگنده؛ سبزعلی و همکاران ، (۱۳۹۷) در ارتباط با تاثیر پوشش آلژینات غنی شده با عصاره ولیک بر ماندگاری فیله گوشت گوساله و اسماعیلی و همکاران، (۲۰۲۰) در ارتباط با تاثیر پوشش های خوراکی فعال بر پایه کیتوزان و صمغ دانه شاهی بر ماندگاری فیله گوشت هم خوانی دارد(۴۰،۲۵،۶).



شکل ۲: مقادیر باکتری کل در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

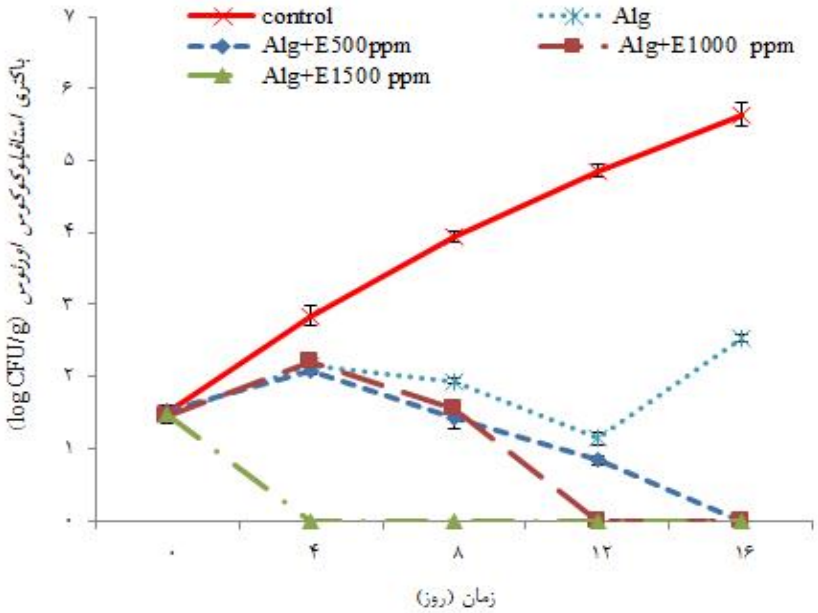


شکل ۳: مقادیر باکتری سرمادوست در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

۷-۳- بررسی تغییرات باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* طی دوره نگهداری

باکتری *استافیلوکوکوس* یک کوکوس گرم مثبت و بتاهمولیتیک است که کاتالاز و کواگولاز مثبت بوده و مانیتول را تخمیر می‌کند. این باکتری، به طور معمول عامل بسیاری از عفونت‌های انسانی است و هر انسان حداقل یکبار در طول زندگی خود به عفونت ناشی از این باکتری مبتلا می شود (۸). با افزایش زمان مقادیر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمار شاهد افزایش یافت و در اکثر تیمارها کاهش یافت. با توجه به نتایج (شکل۴) در اکثر روزها بیشترین مقادیر در تیمار شاهد، مشاهده شد. با افزایش غلظت عصاره در تیمارهای پوششی نتایج بهتری مشاهده شد و همچنین نتایج در ارتباط با تیمارهای حاوی پوشش آلژینات+عصاره دانه آنیسون با غلظت

ppm ۱۵۰۰ شده بهتر بود به طوری که از روز ۴ ام نگهداری هیچ باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در این تیمار مشاهده نشد. دارا بودن خاصیت ضد میکروبی دانه آنیسون علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در مطالعه سایر محققین نیز گزارش شده است (۲۲). مهدوی و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش نمودند استفاده از اسانس آنیسون سبب کاهش *استافیلوکوکوس اورئوس* در مرغ برگر شد(۳۴). رضایی و شهبازی (۱۳۹۷) به ارزیابی اثر ضدباکتریایی فیلم ژلاتین حاوی اسانس گیاه کاکوتی کوهی و عصاره هسته انگور علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت چرخ کرده گاو پرداختند(۴). نتایج این مطالعه نشان داد تعداد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در تمامی نمونه های گوشت چرخ کرده گاو بسته بندی شده با فیلم های ژلاتین حاوی اسانس کاکوتی کوهی و عصاره هسته انگور نسبت به گروه کنترل به صورت معنی داری کمتر می باشد.



شکل ٤:مقادیر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری

۳-۸- بررسی امتیاز حسی طی فرآیند نگهداری

تعیین فساد محصولات غذایی بر اساس ارزیابی های کیفی محصول با روش های متعدد حسی، شیمیایی و میکروبیولوژی صورت می-پذیرد. ارزیابی حسی به عنوان روشی مناسب برای ارزیابی کیفیت و تازگی گوشت طی دوره نگهداری می‌باشد و به عنوان یک روش ساده و سریع مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴۱). در مطالعه حاضر(جدول۷) حداقل امتیاز حسی ۴ به عنوان امتیاز حسی قابل قبول برای نمونه‌ها در نظر گرفته شد. با افزایش زمان نگهداری از امتیاز حسی تمامی تیمارها کاسته شد و تیمارهای آلژینات+ عصاره با غلظت ppm ۱۰۰۰و ۱۵۰۰ تا انتهای دوره نگهداری از امتیاز حسی مورد تایید ارزیاب‌ها برخوردار بودند. روند تغییر وضعیت صفات ارزیابی حسی در تیمارها طی مدت نگهداری هماهنگ و همسو با تغییرات اکسیداسیون و فساد باکتریایی در تیمارهای مورد آزمایش می باشد. که می توان گفت به این دلیل باشد که اکسیداسیون چربی منجر به تخریب و افت کیفیت حسی و کاهش مقدار مواد مغذی از جمله کاهش اسیدهای چرب چند غیر اشباع ضروری (PUFA) و تولید محصولات سمی اکسیداسیون می‌گردد. از طرفی افزایش هیدرولیز چربی و تجمع FFA منجر به کاهش برخی شاخص‌های مقبولیت محصول می‌شود، زیرا FFA مشخصا اثبات شده که روی ثبات پروتئین‌ها تاثیر دارد و موجب تخریب بافت از طریق واکنش دادن با پروتئین‌ها می‌شود که اکسید شدن پروتئین‌ها در این وضعیت به

علت افزایش دسترسی پروتئین به اکسیژن و دیگر مولکول‌های پراکسید سریعتر از چربی‌هایی که جزء چربی‌های با وزن مولکولی بالا هستند (مثل تری گلیسریدها و فسفولیپیدها) اتفاق می‌افتد. همچنین همسو بودن بین تغییرات روند فساد باکتریایی و ارزیابی حسی قبلا به اثبات رسیده است (۲۶) که ممکن است مربوط به فعالیت میکروارگانیسم های مسئول فساد مواد غذایی باشد.آریایی و همکاران (۲۰۱۴) به بررسی اثر اسانس اناریجه بر امتیاز حسی پذیرش کلی فیله ماهی کپور نقره‌ای پرداختند(۱۲). آنها اعلام نمودند تمامی تیمارها در روز اول نگهداری مورد تایید ارزیاب ها بودند و با افزایش زمان از امتیاز حسی در تمامی تیمارها کاسته شد. کمترین امتیاز در تیمار شاهد مشاهده گردید و تیمار حاوی اسانس تا انتهای دوره مورد تایید ارزیابی کنندگان قرار داشت. سبزعلی و همکاران (۱۳۹۷) به بررسی اثر عصاره ولیک به همراه پوشش آلژینات بر مقادیر ارزیابی حسی فیله گوشت گوساله طی دوره نگهداری پرداختند. آنها اعلام نمودند که امتیاز حسی در تمامی تیمارها تا انتهای دوره نگهداری کاهش یافت و همچنین گوشت گوساله پوشش داده شده با آلژینات حاوی عصاره ولیک۱/۵ درصد تا انتهای دوره نگهداری از امتیاز حسی مورد تایید ارزیاب‌ها برخوردار بود(۶).

جدول۷:ارزیابی حسی در تیمارهای مختلف طی مدت زمان نگهداری (روز)

	تیمار	روز ۰	۱۶
رنگ	شاهد	۵/۰۰±۰/۰۰^{a}	۲/۲۰±۰/۶۳^{d}
	آلژینات	۵/۰۰±۰/۰۰^{a}	۲/۹۰±۰/۵۶^{c}
	آلژینات + عصاره ۵۰۰ ppm	۴/۶۰±۰/۵۱^{b}	۴/۰۰±۰/۴۷^{a}
	آلژینات + عصاره ۱۰۰۰ ppm	۴/۵۰±۰/۵۲^{b}	۴/۴۰±۰/۵۱^{a}
	آلژینات + عصاره ۱۵۰۰ ppm	۵/۰۰±۰/۰۰^{a}	۴/۳۰±۰/۴۸^{a}
بو	شاهد	۵/۰۰±۰/۰۰^{a}	۱/۹۰±۰/۵۷^{d}
	آلژینات	۵/۰۰±۰/۰۰^{a}	۲/۷۰±۰/۴۸^{c}
	آلژینات + عصاره ۵۰۰ ppm	۴/۵۰±۰/۷۰^{c}	۳/۷۰±۰/۴۷^{b}
	آلژینات + عصاره ۱۰۰۰ ppm	۴/۷۰±۰/۶۷^{ab}	۴/۳۰±۰/۶۷^{a}
	آلژینات + عصاره ۱۵۰۰ ppm	۵/۰۰±۰/۰۰^{a}	۴/۳۰±۰/۴۸^{a}
پذیرش کلی	شاهد	۵/۰۰±۰/۰۰^{a}	۲/۱۰±۰/۵۶^{d}
	آلژینات	۵/۰۰±۰/۰۰^{a}	۳/۰۰±۰/۶۶^{c}
	آلژینات + عصاره ۵۰۰ ppm	۴/۶۰±۰/۵۱^{b}	۴/۰۰±۰/۴۷^{a}
	آلژینات + عصاره ۱۰۰۰ ppm	۴/۷۰±۰/۴۸^{b}	۴/۴۰±۰/۵۲^{a}
	آلژینات + عصاره ۱۵۰۰ ppm	۵/۰۰±۰/۰۰^{a}	۴/۲۰±۰/۴۲^{a}

٤-نتیجه گیری

با توجه به تقاضای مصرف کنندگان برای دسترسی به مواد غذایی با کیفیت بالا و نگرانی آنها به دلایل مشکلات ناشی از مصرف نگهدارنده‌های مصنوعی و نیز نگرانی‌های زیست محیطی ناشی از تجمع پلیمرهای مصنوعی، تکنولوژی استفاده از پوشش‌های زیست تخریب پذیر با خواص ضداکسیدانی و ضدباکتریایی بالا می‌تواند جایگزین مناسبی باشد. همچنین دانه آنیسون، گیاهی است که عصاره آن به منظور بهبود خصوصیات حسی و افزایش زمان ماندگاری غذاها استفاده می‌شود. اگر چه اثر آنتی‌باکتریایی و ضداکسیدانی پوشش‌های هیدروکلوئیدی به تنهایی و یا غنی شده با سایر عصاره ها مورد مطالعه قرار گرفته است ولی تا کنون اثر عصاره دانه آنیسون در پوشش آلژینات و تاثیر آن بر مدت زمان ماندگاری فیله گوشت گوساله مورد بررسی قرار نگرفته است. نتایج تجزیه و تحلیل‌های شیمیایی نشان داد که به طور کلی پوشش آلژینات به همراه عصاره سبب کند شدن روند افزایشی شاخص‌های فساد اکسیداسیونی نسبت به تیمار شاهد شد و نتایج تجزیه و تحلیل های میکروبی بیانگر این موضوع است که در تمامی تیمارها افزایش بار میکروبی همراه با

گذشت زمان وجود دارد، ولی این افزایش در تیمارهای حاوی عصاره کندتر صورت گرفت و با افزایش غلظت عصاره نتایج بهتری مشاهده شد. تیمار آلژینات+ عصاره ppm ۱۵۰۰ مشاهده شد از لحاظ شاخص شیمیایی و میکروبی و حسی در تا انتهای دوره نگهداری دارای وضعیت قابل قبولی بود. با اجرای این مطالعه و مطالعات مشابه در مورد کاربرد عصاره های گیاهی که دارای خواص ضدمیکروبی و ضداکسیدانی هستند بهمراه پوشش خوراکی (آلژینات)، می‌توان ضمن کاهش فرآورده‌های عامل اکسیداسیون، گامی مؤثر در جهت بهبود سلامت میکروبی، حفظ کیفیت ارگانولپتیکی گوشت در حد مطلوب و افزایش مدت ماندگاری آن برداشت و زمینه لازم را برای استفاده کاربردی از این ترکیبات و پوشش خوراکی در انواع گوشت‌ها و فرآورده‌های آنها بعنوان پوششی جدید در بسته بندی استفاده نمود.

۵-منابع

۱. ابراهیم نیاکتابی، ش. آریایی،پ. مقصودلو،ی. ۱۳۹۴. اثر روش‌های استخراج بر ظرفیت ضداکسیدانی عصاره دانه آنیسون در پایدار سازی روغن سویا.اولین کنفرانس ملی دستاوردهای فن آورانه علوم و صنایع غذایی ایران،بابلسر.

۲. استاندارد ملی ایران. (۱۳۸۰). روش شناسایی و شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* کواکولاز (+) در مواد غذایی. شماره ۱۱۹۴.

۳. پورشایگان،م. اسماعیل زاده کناری،ر. فرهمندفر،ر.۱۳۹۸. اثرات جدا و ترکیبی نانو پوشش های صمغ دانه ریحان و قدومه شهری حاوی عصاره پوست کیوی در جهت افزایش عمر نگهداری گوشت تازه گوسفند. *مجله علوم و صنایع غذایی*. شماره۸۸ دوره۱۶.

۴. رضایی،ف. شهبازی،ی.۱۳۹۷. ارزیابی اثر ضدباکتریایی فیلم ژلاتین حاوی اسانس گیاه کاکوتی کوهی و عصاره هسته انگور علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* در گوشت چرخ کرده گاو. اولین کنفرانس ملی و اولین کنفرانس بین المللی صنایع غذایی و محصولات ارگانیک در ایران.همدان،ایران.

۵. رهنمون،پ. سرابی جماب،م.جوانمرد داخلی،م.بستان،آ. ۱۳۹۶.بررسی تاثیر پوشش آلژینات حاوی عصاره پوست انار بر ماندگاری و ویژگی‌های بافت و رنگ گوشت سینه مرغ. *فصلنامه علمی- پژوهشی فناوری های نوین غذایی*. دوره۵.شماره۴.ص۵۹۶-۵۸۳.

۶. سبزعلی،س. متینی،س. جلیل زاده،ع.۱۳۹۷. تأثیر پوشش خوراکی صمغ آلژینات حاوی عصاره والک بر ماندگاری فیله گوشت گوساله در شرایط یخچالی. *مجله علوم و صنایع غذایی*. شماره۸۵ دوره۱۵. ۴۳۵-۴۲۵.

۷. سعیدی فر،م. حداد خداپرست،م.ح. الهامی راد،ا.ح.اخلاقی،ه.۱۳۹۶. ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بادیان رومی در سیستم‌های روغنی و امولسیونی. *نشریه نوآوری در علوم و فناوری غذایی*. دوره۹. شماره ۳. ۳۷-۴۶.

۸. مهدیزاده ،ت. تاجیک ،ح. مجدر لنگرودی،ع.۱۳۹۷. اثرات فیلم کامپوزیتی خوراکی نشاسته -کیتوزان حاوی ترکیب عصاره پوست انار و اسانس روغنی کاکوتی بر ماندگاری گوشت قرمز در زمان نگهداری. *نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران*. جلد ۱۴.شماره ۲. ۳۸۲-۳۷۱.

۹. یوسفلی، م.، آذرنیوند، ح.، حسینی، ز.، حداد خداپرست، م.ح. پزشکی، پ. ۱۳۹۰ . مطالعه اثر ضدمیکروبی پودر عصاره برگ نوروزک بر رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* در همبرگر. *فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران*. دوره۸. شماره ۳۰. ص۱۳۶-۱۲۶.

10. Abdollahi, M., Rezaei, M., and Farzi, G. 2014. Influence of chitosan/clay functional bionanocomposite activated with rosemary essential oil on the shelf life of fresh silver carp. *International Journal of Food Science & Technology*, 49: 811–818.
11. Alboo fetileh, M., Rezaei, M., Hosseini, H., & Abdollahi, M. 2014. Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogens. *Food Control*, 36:1-7.
12. AOAC. 2005. Official Method of Analgsis (17th ed). Washington, DC: Association of Official Analytical chemists.
13. Ariaii, P., Tavakolipour, H., Rezaei, M., Elhamirad, M., Bahram, S. 2014. Effect of Methylcellulose Coating Enriched with Pimpinella Affinis Oil on the Quality of Silver Carp Fillet during Refrigerator Storage Condition. *Journal of Food Processing and Preservation*, 8: 17-45.
14. Aryee, A. N. A., Simpson, B. K., Phillip, L. E., Cue, R. I. 2012. Effect of Temperature and Time on the Stability of Salmon Skin Oil During Storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(2), 287–292.
15. Ashour, M.M.S, Moawad R. K. and Bareh, G.F. 2013. Quality Enhancement and Shelf-Life Extension of Raw Beef Patties Formulated with Lactate/Thyme Essential Oil during Refrigerated Storage. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(13): 6699-6709
16. Bahrami,S., Khademi, D. 2020. Effect of the nanoencapsulated sour tea (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract with carboxymethylcellulose on quality and shelf life of chicken nugget. *Food Science & Nutrition*, 14:1–12.
17. Barzegar, H., Azizi, M. H., Barzegar, M., & Hamidi-Esfahani, Z. 2014. Effect of potassium sorbate and cinnamon oil on antimicrobial and physical properties of starch-clay nanocomposite films. *Carbohydrate polymers*, 110: 26-31.
18. Benjakl, A. A., Nassar, A. G., and El Badry, N. 2010. Investigations on Antioxidant and Antibacterial Activities of Some Natural Extracts. *World Journal of Dairy & Food sciences*, 4 (1): 1-7.
19. Burt, S. 2004. Essentialoils: their antibacterial propertied and potential application in foods-a review. *International Food Mashinicrobiology*, 94 (3): 223- 253.
20. Campo, M.M., Nute, G.R., Hughes, S.I., Enser, M., Wood, J.D. and Richardson, R.I. 2006. Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72, 303–311.
21. Cardenas FC, Giannuzzi L, Zaritzkay NE.2008. Mathematical modeling of microbial growth in ground beef from Argentina.Effect of lactic acid addition, temperature and packaging film. *Meat Sci*, 79: 509-521.
22. Carvalho, E., Karatapanis, E., Savvaidis, I., Kontominas,M. 2008.Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 °C. *Food Microbiology*, 24: 607–617.
23. Chaudhry, N.M., Tariq, P.2006. Bactericidal activity of black pepper, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates. *Pak J Pharm Sci*, 19(3): 214-8.
24. Chidanandaiah, S. M. K., Keshri, R.C. and Sanyal, M.K. 2009. Effesct of sodium alginate coating with preservatives on the quality of meat patties during refrigerated (41c) storage. *Journal Muscle foods*, 20: 275-292.
25. Egan, H., Krik, R. S. and Sawyer, R.1997. Pearsons Chemical Analysis of Foods .9(edn). 609-634.
26. Esmaeili, M., Ariaii, P., Nasiraie, L.R. and. Yousefpour, M. 2020. Comparison of coating and nano-coating of chitosan- Lepidium sativum seed gum composites on quality and shelf life of beef. *Food Measure*, 15:156-182.
27. Fan, W., Sun, Y., Chen, J., Qiu, Y., Zhang, M. And Chi., Y. 2008. Effects of chitosan coating an qulity and shelf life of silver carp during frozen storage, *Journal of Food Chemistry*, 115: 66-70.
28. Fidan. H., Stefanova, G., Kostova, L., Stankov, S., Damyanova, S., Stoyanova, A., Zheljazkov,V. 2019. Chemical Composition and Antimicrobial Activityof *Laurus nobilis* L. Essential Oils from Bulgaria. *Molecules*, 24 : 804-829.
29. Goulas, A.E. and Kontominas M.G. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food chemistry*, 100: 287-296.
30. Hayes, J., Stepanyan, V., Allen, P., O'Grady, M., Kerry, J. 2010. Effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on the quality and shelf-life stability of packaged raw minced beef patties. *Meat Science*, 84: 613–620.

31. Hosseini, M. H., Razavi, S. H. and Mousavi, M. A. 2009. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, ciove and cinnamon essential oils. *Journal Food Process*, 26: 248-263.
32. Jalali, M., Ariiai, P., fattahi, E. 2015. Effect of alginate/carboxyl methyl cellulose composite coating incorporated with clove essential oil on the quality of silver carp fillet and *Escherichia coli* O157:H7 inhibition during refrigerated storage, *J Food Sci Technol*, 53 (7): 757-765.
33. Javadian, S. R., Shahoseini, S. R. and Ariaii, P. 2017. The effects of liposomal encapsulated thyme extract on the quality of fish mince and Escherichia coli O157: H7 inhibition during refrigerated storage. J*ournal of Aquatic Food Product Technology*, 56:256-278.
34. Jeon, Y.J., Kamil, J.Y., Shahidi, F. 2002. Chitosan as an Edible Invisible Film for Quality Presevation of Herring and Atlantic Cod, *J. Agric. Food Chem*, 50: 5167-5178.
35. Mahdavi. V., Hosseini. E., Sharifian. A. 2018. Effect of edible chitosan film enriched with anise (*Pimpinella anisum* L.) essential oil on shelf life and quality of the chicken burger. *Food science and nutrition*, 6 (2): 269- 279.
36. Moraes, M., Ahmadi, M., Rezaei, S. 2009. Effects of limonene and essential oil from Citrus aurantium on gastric mucosa: role of prostaglandins and gastric mucus secretion. *Chemico Biological Interactions*, 180:499-505.
37. Natseba, A., LwaliRda, I., Kakura, E., MuyaBja, C.K. and Muyoaga, J.H. 2005. Effect of prefreezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Research International*, 38: 469-474.
38. Ojagh ,S.M., Rezaei ,M., Razavi, S.H., Hosseini, S.M.H.2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated *rainbow trout. Food Chemistry*, 115:193–198
39. Rashidaie,S.S., Peiman, A., Charmchian Langerodi, M.2019. Effects of encapsulated rosemary extract on oxidative and microbiological stability of beef meat during refrigerated storage.*food science&nutrition*, 15: 1–10.
40. Rhim, J.W. 2004. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *LWT-Food Science and Technology*, 37(3):323-330.
41. Safari, R., Shahhoseini, S.R. and Javadian, S. R. 2018. Antibacterial and Antioxidant Effects of the Echinophora Cinerea Extract on Bighead Carp (*Aristichthys nobilis*) Fillet During Two Storage Conditions. *Journal of Aquatic Caspian Sea*, 3(2): 13-24.
42. Sallam, K. I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of soudium acetate, soudium lactate andsoudium citrate in refrigerated slicedsalmon. *Journal of Food Control*, 18: 566-567.
43. Sathivel, S., Tachibana, Y., Okada, Y. 2007. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (Kakinoha-cha). *Food Chemistry*, 89(4): 569-575.
44. Shabani, M., Mokhtarian, M., Kalbasi-Ashtari, A. and Kazempoor, R. 2021. Effects of extracted propolis (*Apis mellifera*) on physicochemical and microbial properties of rainbow-trout fish burger patties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 25:17-31.
45. Shahidi, F. and Zhong, Y. 2005. Lipid oxidation: measurement methods (6th Ed.). *Memorial university of Newfoundland*,24: 357-385.
46. Su, J.F., Xia-Yan,H., Zhen, H., Xin-Yu, W., Xu-Zhen, L., Li-Dan, Z. and Sheng-Bao, W. 2012. Physicochemical properties of soy protein isolate/carboxymethyl celloluse blend films crosslinked by Maillard reaction: color, transparency and heat sealing ability. *Material Science and Engineering*, 32 (1): 40-46.
47. Yanar, Y. 2007. Quality Changes of Hot Smoked Catfish (*Clarias Gariepinus*) During Refrigerated storage. *Journal of Muscle Foods*, 18: 391-400.
48. Zinoviadou, K., Koutsoumanis, K.P., Biliaderis, C.G.2010. Physical and thermomechanical properties of whey protein isolate films containing antimicrobial, and their effect against spoilage flora of fresh beef. *Food Hydrocoll,* 24: 49-59

The Effect of Extract Anise Seed (*Pimpinella anisum*) in Alginate Coating on Quality of Fresh Meat Fillets

Ghazaleh Sadat Hoseini[1], Mahdi Sharifi Soltani [2*], Peiman Ariaii [3]

[1] Department of Veterinary, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran
[2] Department of Veterinary, Chalous branch, Islamic Azad University, Chalous, Iran
[3] Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

*Corresponding author: Email: dr.sharifi_m@yahoo.com

Abstract

In the present study, the effect of *Pimpinella anisum* extract hydroalcohol (ethanol-water (50:50)) with alginate edible coating on shelf life of refrigerated(4±2°C) Meat fillet for 16 days was investigated. Initially, the antioxidant activity of different concentrations of extract (1000, 500, 200 and 1500 ppm)and BHA (100 ppm) were measured by free radical DPPH inhibition were measured.The highest amount of DPPH free radical activity was observed at a concentration of 1500 ppm (80.68%).Then 5 treatment, including, control treatments (Meat fillet without coating), alginate, alginate + extract 500 ppm, alginate + extract 1000 ppm, alginate + extract 1500 ppm were produced, The treated samples were chemically analyzed (Peroxide value (PV), Thiobarbithic acid (TBA), free fatty acid (FFA), total volatile base nitrogen (TVB-N) and microbial (total viable counts (TVC), total psychrotrophic counts (TPC), *Staphylococcus aureus* count and also sensory (color, smell and general acceptance)evaluation were investigated. According to the results of treatments containing extracts, the amount of TVB-N, FFA, PV and TBA were significantly reduced in comparison with the control sample. Also, the results of microbial tests showed that all treatments were more effective than the control samples in delaying the growth of bacteria during storage. Sensory evaluation also showed better results was observed in the treatment with extract and coating treatments($P<0.05$).In sum, the best results were observed in alginate + extract 1500 ppm, and only the treatment until the end of the maintenance period had acceptable microbial and chemical indices. According to the results and desirable antioxidant and antibacterial properties of *Pimpinella anisum* extract, it can be used as a synthetic preservation in meat products.

Keywords: Edible coating, *Pimpinella anisum*, Antioxidant properties, Antibacterial properties, Shelf life