# تأثیر پوشش کیتوزان حاوی عصاره سپستان بر خصوصیات شیمیایی، پایداری اکسیداتیو، میکروبی و حسی همبرگر

**مریم میرخاقانی حقیقی[1]، سید سعید سخاوتی‌زاده[2]**

۱. **نویسنده مسئول:** دانش‌آموخته کارشناس ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، مؤسسه آموزش عالی خرد، بوشهر، ایران.

mirkhaghani.m@gmail.com

۲. دانشیار، گروه صنایع غذایی ، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران. s.sekhavati@areeo.ac.ir

## چکیده

گوشت و فرآورده‌های گوشتی یکی از غذاهای فاسد شدنی است که برای حفظ کیفیت آن می‌توان از پوشش خوراکی حاوی عامل ضدمیکروبی به عنوان مانعی برای مقابله با آلودگی میکروبی استفاده کرد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر استفاده از پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره میوه سپستان جهت افزایش ماندگاری همبرگر است. در ابتدا استخراج عصاره از میوه سپستان با استفاده از حلال اتانول و با کمک امواج فراصوت انجام گرفت. سپس نمونه همبرگر با سه تیمارتولید شد. این نمونه ها شامل نمونه تیمار شده با پوشش کیتوزان، حاوی ۵٪ عصاره میوه سپستان و یک نمونه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. نمونه‌های همبرگر از نظر شیمیایی (pH، بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N))، اکسیداسیون (عدد پراکسید (PV)، شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBARS))، میکروبی (شمارش کلی و شمارش کپک و مخمر) و ارزیابی حسی طی دوره نگهداری ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفتند. طی ۲۱ روز نگهداری شمارش کل باکتری ها در نمونه های تیمار شده با پوشش حاوی عصاره از همه کمتر بود و در روز آخر نگهدای به ۳ log cfu/gr رسید. همچنین شمارش کلی کپکها و قارچها نیز برای این تیمار لگاریتم ۲/۸ log cfu/gr بود. نمونه همبرگر تیمار شده با پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره در تمام طول دوره نگهداری دارای پائین‌ترین میزان(۵/۸۳) pH، (۱/۷۵ mg/kg) PV، (۰/۴۹mgMD/ kg) TBARS، (۱۴/۲ mg/100g) TVB-N. می تواندبررسی مولفه های حسی نشان داد که در طی زمان نگهداری تمام نمونه ها از کاهش امتیاز ارزیابان برخوردار بودند. در بین نمونه ها نمونه شاهد دارای کمترین امتیاز ارزیابی حسی بود. با توجه به نتایج تحقیق حاضر، همبرگر با پوشش خوراکی حاوی عصاره از مقبولیت حسی

،میکروبی ، شاخص های اکسیداسیون چربی مناسبی در طی دوره نگهداری برخوردار بود.بنابراین کاربرد پوشش خوراکی حاوی عصاره سپستان می تواند به عنوان راه حلی موثر در جهت حفظ کیفیت همبرگر باشد.

**کلمات کلیدی:** پایداری اکسیداسیون چربی، شمارش میکروبی،شمارش کپک و مخمر،TBA، پروکسید، خصوصیات حسی

**۱.مقدمه**

گوشت یک ماده غذایی با ارزش غذایی بالا و یکی از پرمصرف‌ترین منابع پروتئینی در جهان است و به همین دلیل از نظر نگهداری و مصرف آن شایسته توجه ویژه است (۱۷). با این‌حال، گوشت به‌دلیل ویژگی‌های خاص خود در معرض تغییرات شیمیایی، فیزیکی و میکروبیولوژیکی است. پروتئولیز و پراکسیداسیون لیپیدی می تواند توسط عوامل طبیعی مانند اکسیژن، آنزیم-های هیدرولیتیک موجود در گوشت و سایر موادی که در اثر عمل میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند، ایجاد شود (۵). بنابراین، گوشت و فرآورده‌های گوشتی به یک محیط عالی چه به‌دلیل عوامل ذاتی مطلوب مانند ترکیب شیمیایی، فعالیت آبی بالا، و کاهش pH و چه به‌دلیل عوامل بیرونی شامل رطوبت، دما و ترکیب اتمسفر، برای رشد میکروبی تبدیل می‌شود (۵۴). این عوامل با هم می‌توانند فلور طبیعی گوشت را تغییر دهند و به توسعه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و رو به زوال کمک کنند و دمای محیط مهم‌ترین عامل بیرونی است که تکثیر میکروبی را تعیین می‌کند (۲۵).

عامل مهم دیگری که باید در نظر گرفته شود، تبدیل گوشت به فرآورده‌های گوشتی، مانند انواع برگر گوشت است که دارای ویژگی‌های حسی مانند رنگ، طعم و عطر مشخصی را دارد (۵۰). از جنبه نگهداری این محصولات، سیستم‌های بسته‌بندی مواد غذایی یکی از وظایف اصلی را دارا است، زیرا مواد غذایی را از محیط اطراف جدا می‌کند، تعامل با عوامل فساد (مانند میکروارگانیسم‌ها، بخار آب، اکسیژن و طعم‌های نامطبوع) را کاهش می‌دهد و از افت کیفیت مواد غذایی از جمله ترکیبات مطلوب (به‌عنوان مثال طعم‌دهنده‌های فرار) جلوگیری می‌کند، در نتیجه عمر مفید غذاها را افزایش می‌دهد (۳۱). علاوه بر این، برگرهای گوشت به‌دلیل چرخ شدن و قرار گرفتن در معرض اکسیژن بیشتر در معرض آلودگی میکروبی هستند (۲۵, ۵۰).

استفاده از فن‌آوری‌های جدید برای بهبود کیفیت مواد غذایی و ماندگاری طولانی‌تر، با توجه به پتانسیل بالای ارائه شده توسط تکنیک‌های جایگزین، که اغلب با روش‌های سنتی از نظر نگهداری ترکیب می‌شوند، به‌طرز چشمگیری افزایش یافته است. استفاده از فن‌آوری‌های جدید برای افزایش عمر مفید و بهبود کیفیت حسی مواد غذایی به‌طور قابل توجهی در حال افزایش است.

در صنعت گوشت، تکنیک‌های جایگزین که اغلب با روش‌های سنتی نگهداری ترکیب می‌شوند، می‌توانند اثرات نامطلوب بیوشیمیایی، مانند کاهش فرآیندهای اکسیداتیو و آلودگی میکروارگانیسم‌ها را کاهش دهند (۴۵).

در اقتصاد جهانی جدید، پلیمرهای مشتق شده از نفت که در کاربردهای بسته‌بندی استفاده می‌شوند به یک موضوع اصلی تبدیل شده‌اند زیرا زنجیره ارزش آنها در حال حاضر دارای اشکالات اساسی است. اگرچه بیشتر این مواد دارای ویژگی‌های جذابی هستند (مانند هزینه کم، خواص مکانیکی مناسب و قابلیت پردازش)، اما دفع مداوم و گسترده آنها نگرانی‌های قابل توجهی را در مورد اثرات مضر آنها بر محیط زیست ایجاد کرده است (۳۹, ۱۳). بنابراین، امروزه بسته‌بندی‌های سازگار با محیط زیست و خوراکی (زیست تخریب‌پذیر) مانند پوشش خوراکی به شدت توسعه یافته است. پوشش خوراکی را می‌توان به‌عنوان یک لایه نازک از مواد خوراکی تعریف کرد، پوشش‌های پلی‌ساکارید، پروتئین و چربی به‌عنوان مانعی در برابر انتقال رطوبت، گازها و مواد محلول عمل می‌کنند و بنابراین می‌توانند ماندگاری محصولات گوشتی را افزایش دهند. معمولاً به‌صورت مایع با ویسکوزیته متفاوت بر روی سطح محصولات غذایی با اسپری کردن، غوطه‌وری، برس زدن یا روش‌های دیگر استفاده می‌شود (۲۴). از کیتوزان می‌توان به‌عنوان یک پلیمر اصلی در پوشش‌های خوراکی با قابلیت نگهداری استفاده کرد. کیتوزان ($C_6H_{11}NO_4$) یک پلی‌ساکارید طبیعی است که در اسکلت بیرونی سخت‌پوستان، دیواره سلولی قارچ و سایر مواد بیولوژیکی یافت شده است (۱۵)؛ که در آب نامحلول است و در محلول اسید آلی ضعیف حل می‌شود. به‌دلیل فعالیت‌های بیولوژیکی آن به‌عنوان یک عامل ضد میکروبی، علاقه قابل توجهی در بسته‌بندی خوراکی مواد غذایی به خود جلب کرده است. این ماده دارای خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی است که برای نگهداری مواد غذایی مناسب است و با ایجاد یک سد نیمه‌تراوا در برابر بخار آب، اکسیژن و دی‌اکسید کربن، کیفیت و پایداری ویژگی‌های فیزیکی غذا و ماندگاری محصول را افزایش می دهد و ماندگاری محصول را افزایش می-دهد (۱۰). کیتوزان می تواند از آلودگی میکروارگانیسم‌ها جلوگیری کرده و رشد باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت را مهار می-کند (۴۰).

فساد اکسیداتیو باعث بوی نامطبوع، تغییر طعم نامطلوب و در نهایت تغییر در ساختار مواد مغذی و کاهش ارزش غذایی محصول می‌شود، در حالی‌که فساد و آلودگی میکروبی خطرات جدی را برای سلامت مصرف‌کننده به‌دنبال دارد. بنابراین استفاده از مواد مناسب با فعالیت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی برای بهبود کیفیت و افزایش ماندگاری گوشت و جلوگیری از ضرر اقتصادی مفید و ضروری است. آنتی‌اکسیدان‌ها سال‌هاست که به‌عنوان افزودنی در غذا استفاده می‌شوند. در واقع آنتی‌اکسیدان‌ها با کاهش سرعت اکسیداسیون چربی، ماندگاری مواد غذایی را افزایش داده و پایداری لیپیدها و غذاهای لیپیدی را بهبود می‌بخشند و در

نتیجه از کاهش ویژگی‌های حسی و ارزش غذایی آنها جلوگیری می‌کنند (۲۶). یکی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، سپستان (*Cordia myxa* L.) یک گیاه گل‌دار از خانواده گاوزبانیان (*Boraginaceae*) است. این گیاه بومی هندوستان است و در جنوب ایران از سیستان و بلوچستان تا خوزستان به خوبی رشد و نمو می‌کند. این گیاه در ایران از ۷ متر تجاوز نمی‌کند ولی در شرایط آب و هوایی هندوستان و استرالیا بیش از این حد رشد می‌کند (۴). بر اساس مطالعات اخیر، میوه‌های سپستان سرشار از مواد معدنی حیاتی، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای چرب ضروری، ویتامین‌ها و پروتئین هستند. ترکیبات فیتوشیمیایی مشتق شده از جنس میوه سپستان به‌دلیل خواص ضد ویروسی و ضد التهابی، مهارکننده‌های رشد سلول‌های تومور، و عوامل مهار کننده رادیکال‌های آزاد مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۳۶، ۳۴، ۷). در پژوهش‌های متعددی خواص ضدباکتریایی عصاره به‌دست آمده از میوه سپستان بر علیه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت گزارش شده‌است (۳۲, ۸).

از آنجا که تکنیک‌های استخراج سنتی عصاره گیاهان از جمله خیساندن، رفلاکس حرارتی و سوکسله دارای محدودیت‌های گزارش‌شده بسیاری از جمله پرزحمت، زمان‌بر بودن و با مصرف انرژی بالا همراه هستند، استفاده از فناوری‌های جدید به‌دلیل ملاحظات انرژی، اقتصادی و زیست محیطی و به حداکثر رساندن کارایی فرآیند ضروری است. استخراج به کمک فراصوت به‌عنوان یکی از تکنیک‌های استخراج مدرن می تواند استخراج در زمان‌های کمتر، بازدهی بالاتر استخراج و کاهش مصرف انرژی ارائه دهد (۳۰)؛ همچنین بهبود کیفیت عصاره نیز امکان‌پذیر است زیرا از تخریب حرارتی ترکیبات زیست فعال به‌دلیل دمای پایین استخراج در فراصوت جلوگیری می‌شود (۴۲). از این‌رو در مطالعه حاضر استخراج عصاره از میوه سپستان با استفاده از امواج فراصوت جهت عدم تخریب ترکیبات زیست فعال صورت پذیرفته است و در ادامه غلظت‌های مختلف عصاره استخراج شده در پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان جهت کنترل اکسیداسیون لیپیدی و کاهش رشد میکروبی که در نهایت منجر به حفظ ویژگی‌های حسی همبرگر طی دوره نگهداری در یخچال می‌گردد، مورد استفاده قرار می‌گیرد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱-مواد مورد استفاده

ترکیبات مورد استفاده در فرمولاسیون برگر گوشتی شامل گوشت قرمز (شرکت دمس، شیراز)، روغن سویای هیدروژنه (شرکت روغن طلائی نیشابور، مشهد) روغن جامد (لادن، تهران)، فیبر سویا (شرکت بازرگانی میلان فرآیند آترین، ساخت کشور آلمان)، گلوتن، ادویه، پیاز، فلفل دلمه، تخم‌مرغ، آرد سوخاری، آرد سفید، نشاسته و نمک از بازار محلی تهیه شدند. مواد شیمیایی مورد

استفاده شامل کیتوزان، استیک اسید، توئین ۸۰، گلیسرول، تیوسولفات سدیم، n-هگزان، معرف تیوباربیتوریک اسید، اسید پرکلریک، اتانول، سایر مواد و محیط‌های کشت، تولیدی شرکت‌های مرک آلمان و سیگما آلدریچ بودند.

### ۲-۲-استخراج عصاره اتانولی میوه سپستان باکمک امواج فراصوت

ابتدا میوه سپستان از گلخانه مرکز تحقیقات آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس جمع آوری شد. پس از شستشو با آب مقطر و حذف هسته، به چهار قسمت برش داده شد و در شرایط مناسب و به دور از آفتاب در اتاق خشک شد، سپس توسط آسیاب برقی (ZIEMENS، مدل MC23200GB، آلمان) به پودر تبدیل گردید. سپس جهت استخراج عصاره از میوه سپستان، میزان ۵۰ گرم نمونه پودر آماده‌سازی شده توزین و با ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ درون یک ارلن مخلوط گردید. در ادامه ارلن حاوی مخلوط نمونه و حلال به حمام فراصوت (Bandelin، مدل SONOPULS HD-4200، آلمان) (فرکانس ۲۵ کیلوهرتز و توان ۵۰۰ وات) با شدت صوت ۹۴/۴۶ درصد در دمای ۴۲/۲۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۹/۸۷ دقیقه قرار داده‌شد تا فرآیند عصاره‌گیری طی شود. سپس به‌منظور حذف ناخالصی‌ها و ذرات معلق پس از عمل صاف کردن با دور g × ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (JTLIANGYOU، مدل TD4C، چین) گردید که در نهایت عصاره خام میوه سپستان حاصل گردید. سپس، عصاره خام با استفاده از روتاری اوپوراتور تغلیظ شد تا عصاره غلیظی بدست آید(۳۲).

### ۳-۲-تهیه پوشش خوراکی فعال ضدمیکروبی مبتنی بر کیتوزان

برای تهیه محلول پوشش خوراکی کیتوزان، از پودر کیتوزان با وزن مولکولی متوسط به میزان ۱۰ گرم استفاده شد و در ۵۰۰ میلی-لیتر محلول اسید استیک ۱٪ حل گردید. محلول به مدت یک شب در دمای اتاق توسط همزن مغناطیسی (Ezdo، مدل MS-11C، تایوان) با دور g۱۰۰۰ همزده و سپس با کاغذ صافی (شماره ۳) صاف شد. در ادامه ۰/۵ میلی‌لیتر گلیسرول به ازای هر گرم کیتوزان به‌عنوان پلاستی‌سایزر (نرم‌کننده) و توئین ۸۰ به مقدار ۰/۲۵ درصد به‌عنوان امولسیفایر جهت توزیع یکنواخت ترکیبات اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق روی استیرر مخلوط گردید. سپس pH محلول با استفاده از سود در حدود ۵/۸ تنظیم شد (۴۳ و۱۱). نمونه پوشش خوراکی حاوی عصاره، میزان ٪۵ حجمی/حجمی از عصاره اتانولی میوه سپستان به محلول پوشش خوراکی تهیه شده افزوده گردید (۹ و ۴۳).

### ٤-۲-تهیه همبرگر و اعمال تیمارها توسط پوشش خوراکی

تولید همبرگر در پایلوت واقع در مرکز آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس انجام پذیرفت. به‌منظور تولید همبرگر، ابتدا گوشت گوساله را در دستگاه چرخ گوشت (شرکت BOSCH، مدل MFW68640، آلمان) با دستگاه چرخ گوشت دارای سوراخ هایی با قطر ۵ میلی متر چرخ گردید و سپس برای مرحله تولید مورد استفاده قرار گرفت. طی مرحله تولید برای تهیه تیمار همبرگر، ابتدا گوشت چرخ شده وارد میکسر شد و در ادامه پیاز و فلفل دلمه چرخ شده، روغن جامد و روغن سویای هیدروژنه و سپس مواد پودری شامل ادویه، نمک و آرد سوخاری با نسبت‌های معین (جدول ۱)، اضافه گردیدند. در پایان برای حصول خمیر یکنواخت به ترکیب، آب و یخ اضافه شد بطوری‌که با افزودن آب، وزن خمیر به ۱۰۰ واحد رسید و به مدت ۱۰ دقیقه تا ایجاد خمیر یکنواختی، هم‌زدن ادامه یافت. بعد از مراحل تولید خمیرها، برگرهای گوشتی با استفاده از ماشین برگرساز با قالب‌های ۱۰۰ گرمی قالب‌زنی شدند. سپس همبرگرهای تولید شده در محلول پوشش خوراکی کیتوزان به مدت ۱ دقیقه غوطه‌ور شدند، بعد از خروج از محلول روی یک سطح در دمای محیط قرار گرفتند تا محلول بطور کامل خشک شود و پس از خشک شدن در کیسه-های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی شده و در یخچال ۱±۴ درجه سلسیوس به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. نمونه‌های همبرگر در سه تیمار شامل ۱) نمونه شاهد (بدون پوشش خوراکی)، ۲) نمونه همبرگر پوشش داده‌شده با محلول کیتوزان (بدون عصاره) و ۳) نمونه همبرگر پوشش داده‌شده با پوشش خوراکی کیتوزان حاوی ۵٪ عصاره اتانولی میوه سپستان بر اساس پیش آزمون حسی می‌باشد. نمونه‌ها در روزهای اول، ۷، ۱۴ و ۲۱ از نظر ویژگی‌های شیمیایی، اکسیداسیون، میکروبی و حسی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

**جدول ۱: فرمولاسیون تولید همبرگر**

| ترکیبات | میزان (درصد) |
|---|---|
| گوشت قرمز | ۵۵ |
| روغن جامد | ۲/۵ |
| روغن سویای هیدروژنه | ۴ |
| آرد سوخاری | ۴ |
| نشاسته گندم | ۱/۵ |
| گلوتن | ۴ |
| فیبر سویا | ۲ |
| پیاز | ۶ |
| فلفل دلمه | ۲ |
| نمک | ۱ |
| ادویه | ۱ |
| یخ و آب | ۱۷ |
| مجموع | ۱۰۰ |

## ٤-٢-بررسی تأثیر پوشش خوراکی بر خصوصیات شیمیایی و اکسیداسیون نمونه‌های همبرگر طی زمان نگهداری

### ٤-٢-١-تعیین میزان pH

pH نمونه‌های برگر تولید شده توسط دستگاه pHمتر (شرکت Metrohm، مدل 827، سوئیس) از روش ذکر شده در استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۲۸ تعیین شد (۱).

### ٤-٢-٢-میزان کل بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

در بالن تقطیر کلدال ۱۰ گرم از نمونه همبرگر، ۲گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب و چند قطعه سنگ جوش اضافه شد. در یک ارلن مایر به ظرفیت ۵۰۰ تا ۷۰۰ سانتی‌متر مکعب که به‌عنوان ظرف گیرنده زیر قسمت سرد کننده دستگاه تقطیر قرار گرفت، ۲۵ سانتی‌متر مکعب از محلول ۳ درصد اسید بوریک و چند قطره معرف متیل رد اضافه شد. دستگاه تقطیر وصل و محتوی بالن تقطیر حرارت داده شد. بطوری‌که در مدت ۱۰ دقیقه بجوش آید و با همین مقدار حرارت به مدت ۲۵ دقیقه عمل تقطیر ادامه یافت. پس از آن حرارت قطع و داخل سرد کننده را با آب مقطر شسته و محلول تقطیر شده بوسیله اسید سولفوریک ۰/۵ نرمال تیتر گردید. برای محاسبه، مقدار مصرف اسید سولفوریک در ۱۴ ضرب شد، تا مقدار ازت فرار برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم همبرگر محاسبه شود (۴۹).

### ٤-٢-٣-اندیس پراکسید

ابتدا از روش سرد با استفاده از مخلوط آب، متانول و کلروفرم (۳۰:۵۰:۱۰۰) برای استخراج چربی نمونه‌های همبرگر استفاده شد. سپس یک گرم چربی استخراج شده با ۱ میلی‌لیتر محلول اشباع یدید پتاسیم مخلوط شده و به مدت ۱۰ دقیقه در محل تاریک قرار داده شد. آب مقطر (۳۰ میلی‌لیتر) به مخلوط به‌دست آمده اضافه شد و سپس با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ مولار در حضور محلول نشاسته تیتر شد. در نهایت مقدار پراکسید با توجه به رابطه (۱) اندازه‌گیری شد:

رابطه ۱)

$$PV\ (meq/kg) = \frac{S \times N \times 100}{M}$$

که در آن S، حجم تیتراسیون، N نرمالیته تیوسولفات سدیم (۰/۰۱ نرمال)، و M میزان چربی استخراج شده (گرم) است (۲۲).

### ٤-٤-٢-شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBARS)

جهت تعیین شاخص تیوباربیتوریک اسید (TBARS)، ابتدا ۵ گرم از هر نمونه همبرگر با ۱۵ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید (۲۰٪) مخلوط و به مدت ۱ دقیقه همگن شده و با استفاده از کاغذ صافی واتمن (شماره ۱) فیلتر شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از مخلوط به لوله آزمایش انتقال داده شد و با ۲ میلی‌لیتر اسید تیوباربیتوریک آبی ۰/۰۲ مولار مخلوط شد. سپس مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا واکنش نشان دهد. پس از سرد شدن، جذب نمونه در طول موج ۵۳۲ نانومتر ثبت شد. در نهایت، TBARS بر حسب میلی‌گرم مالون دی‌آلدئید (MDA[1]) / کیلوگرم نمونه اندازه‌گیری شد (۲۲).

### ۲-٤-۵-خصوصیات میکروبی

خصوصیات میکروبی نمونه‌های همبرگر، مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۲-۵۲۷۲ پلیت‌های کشت شده برای شمارش کلی میکروبی در ۳۰°C به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور یخچال‌دار (شرکت MEMMERT، مدل ICP260، آلمان) مورد بررسی قرار گرفتند (۳). همچنین نمونه‌های همبرگر از نظر شمارش کپک و مخمر بررسی شدند(۲).

### ٦-٤-٢-ارزیابی حسی

جهت انجام آزمون حسی نمونه همبرگر شاهد و دو نمونه همبرگر تیمار شده با پوشش کیتوزان با استفاده از روغن گیاهی مخصوص سرخ کردنی در دمای ۱۷۰ درجه سیلسیوس و به مدت ۵ دقیقه پخت گردیدند. بررسی ویژگی‌های حسی توسط ۹ نفر داور آموزش دیده در مرکز آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس بر روی نمونه‌های تولیدی در ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از نگهداری انجام شد. ویژگی‌های مورد آزمون شامل طعم، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی در مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای بودند؛ به این ترتیب که به عبارات بسیار نامطلوب تا بسیار مطلوب، به‌ترتیب امتیاز ۱ تا ۵ داده شد. شرایط سنجش برای داوران حسی یکسان بوده و به‌منظور افزایش دقت چشایی در بین دو نمونه مورد آزمون از آب استفاده شد.

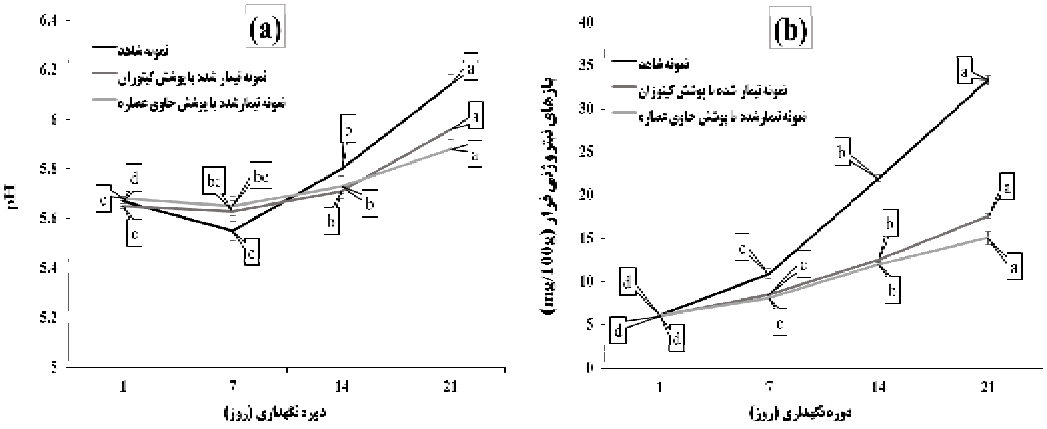
### ۳-۲-تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه، آزمون‌های صورت گرفته برروی نمونه‌های همبرگر در سه تکرار انجام شد. نتایج با استفاده از آزمون آنالیز آماری واریانس یک‌طرفه مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ (Chicago, USA) استفاده گردید. جهت تعیین اختلاف معنی‌دار میان تیمارها از آزمون دانکن استفاده شد ($p<۰/۰۵$).

## ۳-نتایج و بحث

### ۱-۳-بررسی خصوصیات شیمیایی نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری

نتایج بررسی تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان و پوشش خوراکی حاوی عصاره اتانولی میوه سپستان بر ویژگی‌های شیمیایی شامل pH و TVB-N طی دوره ۲۱ روز نگهداری در نمونه‌های همبرگر در شکل (۱) ارائه شده است. بر اساس نتایج مشاهده شد (شکل ۱a) که میزان pH در نمونه همبرگر طی دوره نگهداری افزایش معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$)، همچنین در نتایج مشاهده گردید که میزان pH در همبرگر شاهد در روزهای ۱۴ و ۲۱ام نگهداری نسبت به دو نمونه همبرگر تیمارشده با پوشش خوراکی بالاتر بود. از طرفی با توجه به نتایج ارائه شده در شکل (۱b)، میزان TVB-N در طول زمان نگهداری افزایش معنی‌داری در نمونه-های همبرگر نشان داد ($p<۰/۰۵$) که این افزایش در نمونه‌های همبرگر تیمار شده با پوشش خوراکی بطور چشمگیری پایین‌تر از نمونه همبرگر شاهد بود و این اختلاف در تمام دوران نگهداری بین نمونه‌ها مشاهده گردید.




**شکل ۱: اثرات پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره اتانولی میوه سپستان بر روی خصوصیات شیمیایی نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری، (a): میزان pH؛ و (b): بازهای نیتروژنی فرار.**

حروف کوچک (a-d) غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنادار ($P< ۰/۰۵$) بر اساس آزمون دانکن بین داده‌ها طی دوره نگهداری است.

پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها در مواد غذایی از طریق تعامل الکترواستاتیک (جاذبه و دافعه) بین گروه‌های قطبی و غیرقطبی باعث تغییرات pH می‌شوند (۲۷). در مطالعه حاضر میزان pH در نمونه‌های همبرگر طی مدت نگهداری روند افزایشی داشت ($p<۰/۰۵$). تغییرات pH در بین نمونه‌های نشان‌داده‌شده در این مطالعه ممکن است به‌دلیل تخریب پروتئین‌ها توسط میکروارگانیسم‌ها طی زمان نگهداری باشد، به‌طور کلی گزارش شده است که انواع مختلف روش‌های فرآوری بر کیفیت گوشت و محصولات آن تأثیر می-

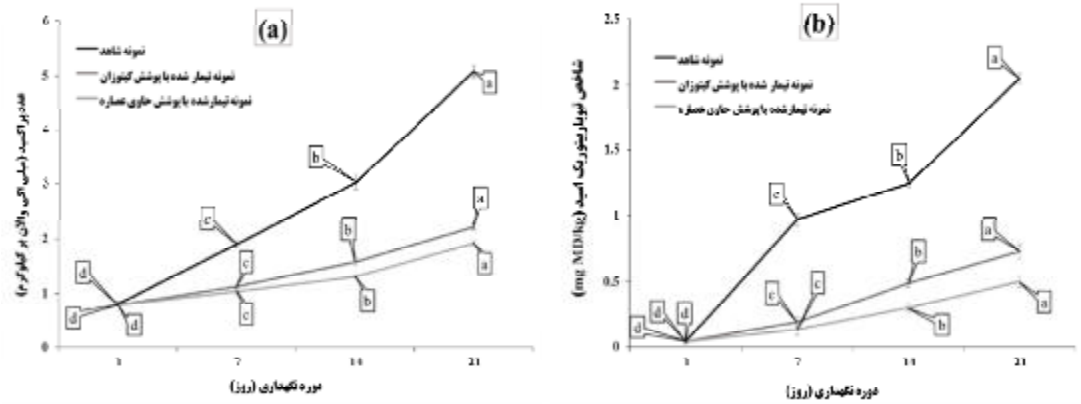
گذارد (۳۷). در طی دوره نگهداری به‌دلیل گسیخته شدن گرانول‌های پروتئینی و همچنین تجزیه پروتئین‌ها از طریق متابولیسم‌های انجام شده با فعالیت باکتری‌ها و تولید آمینواسیدهای آزاد میزان pH روند افزایشی را طی زمان نگهداری نشان می‌دهد (۱۰). با توجه به شکل (1a) مقادیر pH در همبرگرهای پوشش داده شده در مقایسه با شاهد کمتر بود؛ علت آن احتمالاً به‌دلیل جلوگیری از تخریب پروتئین و نوکلئوتید و متعاقب آن آزادسازی محصول جانبی قلیایی در طی روزهای نگهداری توسط پوشش خوراکی و جلوگیری از افزایش pH می‌باشد (۳۸). همراستا با مطالعه حاضر گزارشاتی مبنی بر تأثیر اعمال فیلم و پوشش خوراکی بر کنترل تغییرات میزان pH در نمونه‌های برگر طی دوره نگهداری مشاهده شد که از جمله می‌توان به تأثیر فیلم خوراکی پیاز (تهیه شده از آب پالپ پیاز خشک شده) در نمونه برگر گوشت گاو بر حفظ میزان pH در مقایسه با نمونه شاهد اشاره نمود. pH نمونه حاوی فیلم خوراکی پیاز(۴/۴۰) به صورت معناداری کمتر از نمونه شاهد(۵/۲۰) بود. که این عامل احتمالا یکی از عوامل کاهش آلودگی میکروبی در این محصول می باشد (۴۷). در مقابل در تحقیق دیگری بر روی پوشش خوراکی کیتوزان حاوی اسانس رزماری در غلظت های ۱و ۲ درصد به دو روش آزاد و نانولیپوزمی استفاده شد. و در مرحله بعد به نمونه‌های برگر مرغ اضافه شد. نتایج نشان داد که نمونه پوشش حاوی ۲ درصد اسانس رزماری اسانس رزماری لیپوزومی دارای کمترین pH نسبت به نمونه شاهد بود . یکی از دلایل عدم تطابق نتایج تحقیق با نتایج تحقیق جاری می تواند نوع عصاره وروش نانولیپوزومی باشد (۱۶).

آنزیم‌های پروتئولیتیک میکروارگانیسم‌ها بر ترکیبات پروتئینی و نیتروژنی غیرپروتئینی گوشت تأثیر می‌گذارند و ترکیبات نیتروژنی فرار تولید می‌کنند (۴۱). در مطالعه حاضر اعمال پوشش خوراکی حاوی دو ترکیب ضدمیکروبی شامل کیتوزان (۵۳) و عصاره اتانولی میوه سپستان (۳۳) به‌دلیل مهار فعالیت میکروبی، میزان TVB-N در دو نمونه همبرگر تیمار شده با پوشش خوراکی کیتوزان و کیتوزان حاوی عصاره پایین‌تر از نمونه همبرگر شاهد بود. به‌طوری‌که در روز ۲۱ نگهداری، میزان TVB-N در نمونه همبرگر شاهد به ۰/۵۴ mg/100g ۳۳/۳۳ رسید که بالاتر از حد استاندارد (۲۵ mg/100g) بود، در حالی‌که در همان روز میزان TVB-N در دو نمونه همبرگر تیمار شده با پوشش خوراکی کیتوزان و کیتوزان حاوی عصاره به‌ترتیب، ۰/۲۹ mg/100g ۱۷/۵۶ و ۰/۷۵ mg/100g ۱۵/۰۶ بود (شکل 1b). مشابه با مطالعه حاضر، گزارشی مشاهده شد که پوشش ۲ درصد کیتوزان با ۱ درصد اسانس رزماری به دو فرم آزاد و نانولیپوزوم تأثیر بسزایی در کنترل میزان TVB-N در نمونه‌های برگر مرغ در مقایسه با نمونه شاهد داشت به‌طوری‌که در تمام گروه‌های تیمار شده با کیتوزان و ترکیب اسانس رزماری، محتوای TVB-N در طول ۲۰ روز نگهداری از حد مجاز فراتر نرفت که محققان آن علت این امر را به‌دلیل مهار فعالیت میکروبی توسط عوامل ضدمیکروبی کیتوزان و اسانس رزماری بیان کردند (۱۶). نمونه سوسیس تهیه‌شده با پودر پوست انار (۳ درصد) کمترین محتوای TVB-N را از ابتدای سردخانه

۸/۰۸ mg/100g و در پایان دوره ذخیره‌سازی سرد پس از ۱۲ روز (۲۱/۸۲ mg/100g) داشت؛ که دلیل آن را اثر مثبت افزودن پودر پوست انار بیان کردند که به‌دلیل مهار میکروارگانیسم و جلوگیری از تجزیه پروتئین و در نتیجه ایجاد ترکیبات نیتروژن فرار بود که این نتایج به‌ویژه با غلظت زیاد پودر پوست انار اظهار شد (۶). مقادیر کمتر TVB-N در نمونه‌های تحت تیمار ممکن است به‌دلیل فعالیت‌های ضدباکتری عوامل نگهدارنده مورد بررسی در تأخیر رشد باکتری‌ها و به‌دنبال آن کاهش مقدار ترکیبات غیرپروتئینی ازت مانند آمونیاک، آمین‌های نوع اول، دوم و سوم باشد (۴۳).

## ۲-۳-بررسی اکسیداسیون لیپیدی نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری

نتایج بررسی تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان و کیتوزان حاوی عصاره اتانولی میوه سپستان بر اکسیداسیون لیپیدی شامل PV و TBARS طی دوره ۲۱ روز نگهداری در نمونه‌های همبرگر در شکل (۲) ارائه شده است. بر اساس نتایج مشاهده شد (شکل ۲a) و (شکل ۲b) که میزان PV و TBARS در نمونه همبرگر طی دوره نگهداری افزایش معنی‌داری وجود داشت ($p<۰/۰۵$)، همچنین در نتایج مشاهده گردید که میزان این دو پارامتر در همبرگر شاهد نسبت به دو نمونه همبرگر تیمارشده با پوشش خوراکی بالاتر بود و این اختلاف در تمام دوران نگهداری بین نمونه‌ها مشاهده گردید.




**شکل ۲: اثرات پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره اتانولی میوه سپستان بر روی اکسیداسیون نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری، (a): عدد پراکسید؛ و (b): شاخص تیوباربیتوریک اسید.**

حروف کوچک (a-d) غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنادار ($P< ۰/۰۵$) بر اساس آزمون دانکن بین داده‌ها طی دوره نگهداری است.

محصولات اولیه اکسیداسیون، هیدروپراکسیدهای لیپیدی هستند. اندازه‌گیری تولید هیدروپراکسیدها که به آن عدد پراکسید نیز می‌گویند (۴۸) ، از دیرباز به‌عنوان شاخص اصلی تولید ترکیبات اکسیداسیون اولیه در گوشت و فرآورده‌های گوشتی مورد استفاده قرار گرفته است (۱۲). از این‌رو در مطالعه حاضر این پارامتر جهت تأثیر پوشش خوراکی برروی نمونه‌های همبرگر طی

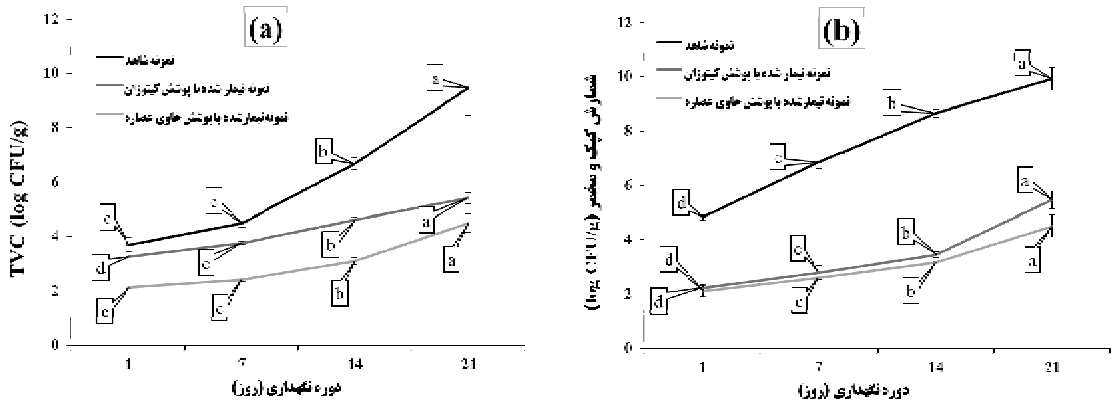
دوره نگهداری مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان‌دهنده افزایش معنی‌داری این شاخص طی دوره نگهداری در نمونه‌های همبرگر بود ($p<۰/۰۵$)، اما اعمال پوشش خوراکی کیتوزان به تنهایی و همچنین حاوی عصاره میوه سپستان منجر به کنترل تغییرات PV در نمونه‌های همبرگر در مقایسه با نمونه شاهد بود. در مطالعه‌ای کاهش سطح PV را در برگر مرغ پوشش داده شده با کیتوزان حاوی اسانس رزماری گزارش شده به‌طوری‌که محققان آن تآخیر در افزایش اکسیداسیون لیپید را در برگر مرغ پوشش داده شده نشان دادند (۱۶) که نتایج آنها با مطالعه حاضر مبنی بر تأثیر بسزای پوشش خوراکی حاوی ترکیبات فعال بر تأخیر در افزایش سطح PV در فرآورده‌های گوشتی همسو بود.

دومین عامل فساد شناخته‌شده گوشت تازه و فرآورده‌های گوشتی تازه، اکسیداسیون لیپید یا تندشدگی اکسیداتیو است. اکسیداسیون لیپیدهای فرآورده‌های گوشتی تازه منجر به کاهش کیفیت آن در حین نگهداری می‌شود. تیوباربیتوریک اسید (TBARS) بطور گسترده به‌عنوان شاخص نشان‌دهنده میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد و ناشی از وجود مواد واکنش‌دهنده با TBA حاصل از مرحله دوم اتواکسیداسیون است که طی آن، پراکسیدها به موادی مثل آلدئیدها و کتون اکسید می‌شوند. این ترکیب باعث فساد مواد غذایی در نتیجه تندشدگی اکسیداتیو و ایجاد بدطعمی و طعم نامطبوع و آسیب به بافت‌های انسانی می‌شود تا جایی‌که ممکن است علت سرطان، بیماری التهابی، جهش‌زایی و تصلب شرائین باشد (۶). مقادیر TBARS نمونه‌های همبرگر بررسی‌شده طی ۲۱ روز نگهداری در دمای ۴-۱ درجه سلسیوس از نمونه‌های مختلف اندازه‌گیری شد، داده‌های بدست آمده نشان داد که پوشش خوراکی کیتوزان به‌خصوص پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره میوه سپستان اثر مثبتی بر میزان TBARS داشته‌است بطوری‌که نمونه همبرگر تیمار شده با پوشش کیتوزان میزان TBARS برابر با mg MDA/kg ۰/۷۳±۰/۰۵ و نمونه همبرگر تیمار شده با پوشش کیتوزان حاوی عصاره میوه سپستان میزان TBARS برابر با mg MDA/kg ۰/۵۰±۰/۰۴ بود. همراستا با مطالعه حاضر، گزارشی مبنی بر افراش میزان TBARS نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری مشاهده شد که در آن مطالعه اعمال پوشش خوراکی آلژینات حاوی ۱ درصد اسانس دارچین تأثیر بسزایی در کنترل مقادیر TBARS را نشان داد که به فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای دارچین نسبت دادند (۲۸). در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شد که در پایان ذخیره‌سازی (۲۰ روز)، میزان TBARS در نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر نمونه‌های برگر مرغ تیمار شده با پوشش خوراکی بود ($p<۰/۰۵$) چنان‌که نتایج نشان داد که پوشش با کیتوزان و اسانس رزماری (آزاد / نانولیپوزوم) توانسته است اکسیداسیون را در برگر مرغ کاهش دهد (۱۶). محتوای فنلی اسانس‌ها و سایر مواد فعال که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند، از اکسیداسیون مولکول‌های قابل اکسید شدن مانند لیپیدها و پروتئین‌ها در محصولات گوشتی جلوگیری می‌کند (۲۱). همچنین

کیتوزان سدی ایجاد می‌کند که سطح برگر را می‌پوشاند و در نتیجه اکسیژن را از آن خارج می‌کند و اکسیداسیون لیپیدها را در برگرهای تیمار شده کاهش می‌دهد (۱۴).

### ۳-۳-خصوصیات میکروبی

بررسی خصوصیات میکروبی نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری از نظر شمارش کلی میکروبی و شمارش کپک و مخمر انجام پذیرفت و نتایج ارزیابی در شکل (۳) گزارش شده است. مطابق با شکل (۳a) مشاهده گردید که نمونه‌ها از نظر شمارش کلی طی دوره نگهداری افزایش معنی‌داری داشتند ($p<۰/۰۵$) که این افزایش در نمونه همبرگر شاهد بسیار بالاتر از دو نمونه همبرگر تیمار شده با پوشش خوراکی بود. همین روند تغییرات در شمارش کپک و مخمر نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری مشاهده گردید (شکل ۳b).




**شکل ۳: تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره اتانولی میوه سپستان بر تغییرات میکروبی نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری**

حروف کوچک (a-d) غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنادار ($P< ۰/۰۵$) بر اساس آزمون دانکن بین داده‌ها طی دوره نگهداری است.

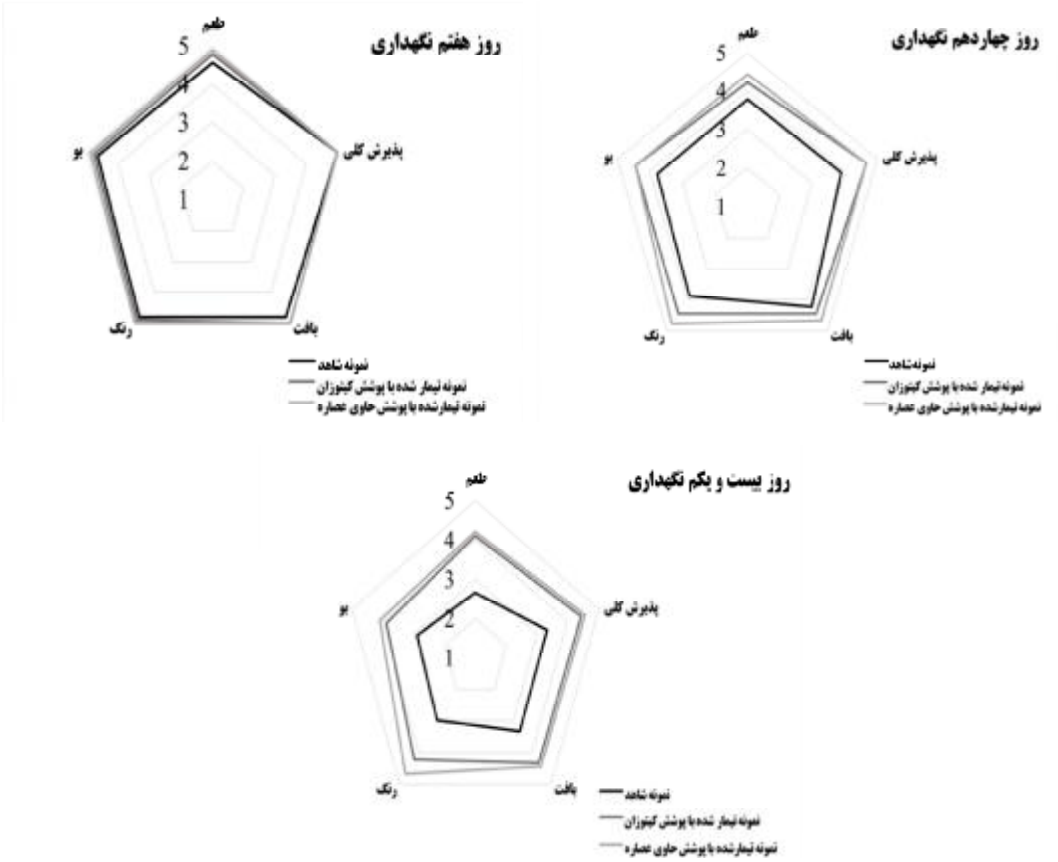
فرآورده‌های گوشتی از طریق فرآوری گوشت در معرض آلودگی‌های مختلفی قرار دارند. بنابراین، باید یک تلاش هماهنگ برای حفظ شرایط بهداشتی در پردازش، آماده‌سازی و تولید انجام شود. از طرفی قارچ‌ها به‌عنوان عوامل مهم فساد مواد غذایی مطرح هستند که به‌دلیل ترشح آنزیم‌های متفاوت قادرند اغلب ترکیبات موجود در مواد غذایی را تجزیه نموده و در نتیجه باعث تغییر رنگ، طعم و مزه غذا گردند. قارچ‌ها در مواد غذایی نسبتاً خشک، مواد غذایی اسیدی، نمکی و مواد غذایی که در سرما نگهداری می‌شوند، بخوبی رشد می‌کنند و موجب بروز اختلالات در ماده غذایی و مصرف‌کننده می‌شود. رشد قارچ در بسیاری از انواع مواد غذایی تحت شرایط خاص محیطی منجر به فساد گسترده این غذاها به دلیل تولید بدطعمی، تغییر رنگ و طعم نامطلوب

می‌شود (۶). از این‌رو در مطالعه حاضر خصوصیات مختلف میکروبی (شمارش کلی باکتری و شمارش کپک و مخمر) در نمونه-های همبرگر طی ۲۱ روز نگهداری مورد بررسی قرار گرفت، که نتایج (شکل ۲) نشان داد شمارش کلی میکروبی و شمارش کپک و مخمر طی دوره نگهداری در نمونه‌های همبرگر افزایش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$) اما مطابق با نتایج شکل (۲) دو نمونه همبرگر تیمار شده با پوشش خوراکی کیتوزان علی‌الخصوص پوشش خوراکی حاوی عصاره میوه سپستان از میزان رشد میکروبی پائین‌تری در مقایسه با نمونه شاهد برخوردار بودند. با توجه به بررسی‌های میکروبی صورت گرفته، می‌توان جهت کنترل شمارش بار میکروبی در فرآورده‌های گوشتی از پوشش خوراکی به همراه عوامل ضدمیکروبی طبیعی از جمله عصاره و اسانس‌های گیاهی جهت ایجاد اطمینان از یک محصول با ویژگی بهداشتی و سالم استفاده نمود. همانطور که در برخی مطالعات از پوشش و یا فیلم خوراکی حاوی عوامل نگهدارنده طبیعی در فرآورده‌های گوشتی جهت کنترل عوامل میکروبی و افزایش ماندگاری محصولات استفاده شده است؛ از جمله نمونه‌های برگر گوشت گاو تیمار شده با فیلم خوراکی پیاز (۴۷)، اثرات مفید فیلم خوراکی کیتوزان حاوی غلظت‌های مختلف اسانس رازیانه بر کنترل رشد میکروبی نمونه‌های برگر مرغ (۲۶)، و همچنین تأثیر بسزای پوشش خوراکی کیتوزان حاوی اسانس رزماری بر کنترل عوامل مختلف میکروبی (باکتری‌های مزوفیل، سرمادوست، *سودوموناس*، *استافیلوکوکوس‌اورئوس*، کلیفرم و کپک و مخمر) در نمونه‌های برگر مرغ (۱۶) اشاره نمود که همراستا با نتایج مطالعه حاضر می-باشند. خواص ضد باکتری و ضد قارچی توسط عصاره‌ها و اسانس‌های مختلف گیاهی نشان داده شده است (۶). به‌دلیل محتوای بالای ترکیبات فنلی میوه‌ها، سبزیجات و سایر مواد گیاهی جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی هستند و می‌توان به-عنوان منبع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی محصولات گوشتی استفاده کرد (۲۳). مکانیسم‌های ضد میکروبی ترکیبات فنلی شامل واکنش فنولیک‌ها با پروتئین‌های غشاء سلول میکروبی و/یا گروه‌های سولفیدریل پروتئین است که منجر به مرگ باکتریایی ناشی از رسوب پروتئین غشایی و مهار آنزیم‌هایی مانند گلیکوزیل ترانسفرازها می‌شود (۲۹).

### ٤-۳-ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه‌های همبرگر تولید شده طی روزهای نگهداری در پارامترهای طعم، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی انجام پذیرفت و نتایج ارزیابی در شکل (۴) ارائه شده است. نتایج نشان‌دهنده کاهش ارزیابی حسی در تمام پارامترها در نمونه‌های همبرگر به‌خصوص در نمونه شاهد با افزایش زمان نگهداری است ($p<۰/۰۵$). با توجه به شکل (۴) اعمال پوشش خوراکی کیتوزان علی‌الخصوص پوشش کیتوزان حاوی عصاره میوه سپستان باعث حفظ خصوصیات حسی در نمونه‌های همبرگر در مقایسه با نمونه

شاهد شده است به‌طوری‌که نمونه همبرگر تیمار شده با پوشش خوراکی حاوی عصاره در روز پایان نگهداری (روز ۲۱ام) از بالاترین امتیازها در تمام پارامترهای حسی برخوردار بود.




**شکل ٤: تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره اتانولی میوه سپستان بر ارزیابی حسی نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری**

ادراک حسی، فرآیند پیچیده‌ای است که تحت تأثیر عوامل متعددی مانند میزان ترکیبات طعمی، بافت و ظاهر واقع می‌شود. خواص حسی از عوامل اساسی پذیرش بسیاری از فرآورده‌ها و کسب رضایت از مصرف آنها است. با توجه به اهمیت این خواص، بررسی و شناخت عوامل مؤثر بر آنها به منظور دستیابی به خواص حسی بهینه و جلوگیری از ایجاد خواص حسی نامطلوب ضروری است (۴۶). نتایج ارزیابی حسی در مطالعه حاضر نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری بین داده‌های موجود در طعم، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی بین نمونه شاهد با دو نمونه تیمار شده با پوشش خوراکی طی دوره نگهداری وجود داشته است ($p<۰/۰۵$) به‌طوری‌که نمونه‌های همبرگر تیمار شده با پوشش خوراکی طی دوره نگهداری از مقبولیت بالاتری نسبت به نموهه شاهد برخوردار بودند. در مطالعه حاضر نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های همبرگر با نتایج حاصل از آزمایش‌های شیمیایی و میکروبی منطبق بود؛

بطوری‌که همزمان با افزایش رشد میکروبی و تولید محصولات حاصل از اکسیداسیون لیپید منجر به ایجاد بو، رنگ و بافت نامطلوب مبنی بر فساد فیله‌های ماهی طی دوره نگهداری آشکار گردید. اما با این‌حال، اعمال پوشش خوراکی حاوی کیتوزان و همچنین عصاره میوه سپستان به‌دلیل کنترل در رشد میکروارگانیسم‌ها و متعاقب آن تأخیر در افزایش اکسیداسیون لیپیدی و رشد میکروبی توانست در حفظ ویژگی‌های حسی نمونه‌های همبرگر طی دوره نگهداری نقش بسزایی ایفا کند. در نمونه همبرگر شاهد به علت اکسیداسیون بالا لیپید، رشد میکروبی بعد از روز ۱۴، بوی نامناسب آشکار و تغییر رنگ مشاهده شد. در مطالعه‌ای همراستا با مطالعه حاضر، مبنی بر تأثیر بالقوه پوشش خوراکی ژل آلوئه‌ورا حاوی نانوامولسیون اسانس زنجبیل بر حفظ بالاتر صفات حسی فیله‌های ماهی قزل‌آلا در مقایسه با نمونه شاهد طی دوره نگهداری گزارش شده است (۱۹). در نهایت می‌توان بیان نمود که کسب امتیاز حسی بالاتر در نمونه‌های همبرگر پوشش‌دهی شده توسط کیتوزان حاوی عصاره اتانولی میوه سپستان می تواند ناشی از کنترل رشد میکروبی و فساد شیمیایی در فرآورده‌های گوشتی باشد.

در پایان این مطالعه می‌توان بیان نمود که مواد ضد باکتری برای جلوگیری از گسترش باکتری‌ها در حال توسعه هستند و سه عامل مهم در این مطالعه از جمله کاربرد پوشش خوراکی، کیتوزان و همچنین استفاده از عصاره اتانولی میوه سپستان حاوی ترکیبات زیست فعال باعث کنترل رشد میکروبی و تأخیر در اکسیداسیون لیپیدی نمونه‌های همبرگر گردید. به‌طوری‌که در مطالعاتی بیان شده که از پوشش‌های خوراکی می‌توان برای بهبود کیفیت مواد غذایی تازه مانند فرآورده‌های گوشتی (تازه، منجمد، فرآوری شده) بدون تغییر مواد ضروری و روش‌های فرآوری به‌دلیل خواص مطلوبی که دارند از جمله جلوگیری از گازها و از دست دادن رطوبت، کاهش واکنش‌های اکسیداتیو، حفظ طعم، بهبود ظاهر محصول، جلوگیری از تغییر رنگ، قابلیت افزودن مواد افزودنی مختلف به شبکه آنها (آنتی‌اکسیدان‌ها، ضد میکروبی‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی، و غیره)، حفظ ارزش غذایی و بهبود خواص حسی غذا استفاده کرد (۱۸, ۵۱). مواد ضد باکتری می‌توانند به‌طور مؤثر رشد و تولید مثل باکتری‌های خطرناک و آلاینده‌های سمی را کنترل کنند. فعالیت ضد میکروبی کیتوزان تحت تأثیر تعدادی از عوامل است که به‌صورت منظم و مستقل عمل می‌کنند. شایع‌ترین فعالیت ضد باکتریایی کیتوزان با اتصال به دیواره سلولی باکتری با بار منفی است که باعث اختلال در سلول می‌شود، بنابراین نفوذپذیری غشاء را تغییر می‌دهد و به‌دنبال آن اتصال به DNA باعث مهار تکثیر DNA و متعاقباً مرگ سلولی می‌شود. مکانیسم احتمالی دیگر این است که کیتوزان به‌عنوان یک عامل شلاته‌کننده عمل می‌کند که به‌طور انتخابی به عناصر فلزی متصل می‌شود و باعث تولید سم و مهار رشد میکروبی می‌شود (۵۳). از طرفی به‌منظور بهبود فعالیت ضد میکروبی، می‌توان کمپلکس‌های کیتوزان را با مواد خاصی تهیه کرد. ترکیب اسانس‌ها و عصاره‌ها در پوشش‌های مبتنی بر کیتوزان به‌دلیل خواص باکتری‌کشی و

قارچ‌کشی مرتبط با این ترکیبات فرار، در علوم کشاورزی و غذایی مورد توجه قرار گرفته است (۵۱، ۳۵، ۵۲). فعالیت ضد میکروبی شناسایی شده در میوه سپستان به‌دلیل ترکیبات موجود در آنها از جمله فلاونوئیدهایی مانند روتین، مشتقات فنلی، ترپن‌ها، کومارین، آلکالوئیدهای پیرولیزیدین مانند ماکروفیلین، استرول و ساپونین‌ها) که خاصیت ضدمیکروبی دارند نسبت داده شود (۲۰،۳۲).

## ٤-نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که اضافه شدن عصاره اتانلی میوه سپستان به پوشش خوراکی کیتوزان می تواند باعث افزایش خواص ضداکسیداسیونی، به تعویق انداختن روند فساد اکسیداسیونی ، تعدیل pH و کاهش شمارش کلی باکتری ها و کپک و مخمر در محصول گردد. با توجه به اینکه مولفه های pH، TVBN، TBRAS،PV و شمارش باکتریایی و کپک و مخمردر طول مدت نگهداری در طول مدت نگهداری افزایش یافته بود؛ ولی نمونه های تیمار شده با کیتوزان و کیتوزان حاوی عصاره اتانلی میوه سپستان از روند افزایشی کمتری نسبت به نمونه شاهد برخوردار بودند. علاوه بر این تاثیر تیمارهای ذکر شده بر روی خصوصیات میکروبی و شیمیایی باعث ارتقا خصوصیات حسی طعم، رنگ، بو، بافت و پذیرش کلی این نمونه ها گردید.

## ٥-منابع


۱. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۶.*گوشت و فرآورده‌های آن - تعیین pH - روش آزمون مرجع*. استاندارد ملی ایران، شماره ۱۰۲۸، تجدیدنظر اول.

۲. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران،۱۳۸۷. *میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جامع برای شمارش کپک‌ها و مخمرها - قسمت اول: روش شمارش کلنی در فرآورده‌های با فعالیت آبی بیشتر از ۰/۹۵*. استاندارد ملی ایران، شماره ۱۰۸۹۹، چاپ اول.

۳. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۹۳. *میکروبیولوژی زنجیره غذایی - روش جامع برای شمارش میکروارگانیسم‌ها - قسمت ۲: شمارش کلنی در ۳۰ درجه سلسیوس با استفاده از روش کشت سطحی. استاندارد ملی ایران، شماره۵۲۷۲-۲، چاپ اول.*

۴. بساک هما، دانشور محمدحسین، صالحی سلمی محمدرضا و لطفی جلال آبادی، امین. باززایی درون شیشه ای گیاه سپستان (Cordia myxa L. )به روش اندام زایی مستقیم. پژوهش و توسعه جنگل. ۱۳۹۸؛ ۵(۴)، ۶۵۷-۶۷۲. SID. https://sid.ir/paper/263744/fa

5. Aboah J and Lees N. Consumers use of quality cues for meat purchase: Research trends and future pathways. *Meat Science*. 2020 Aug 1;166:108142.https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108142

6. Abuzaid KE, Shaltout F, Salem R and El-Diasty EM. Assessment of pomegranate peel powder on microbial contamination of sausages. *Benha Veterinary Medical Journal*. 2020 Dec 1;39(2):34-39. https://doi.org/10.21608/bvmj.2020.45919.1278

7. Al-Musawi MH, Ibrahim KM and Albukhaty S. In vitro study of antioxidant, antibacterial, and cytotoxicity properties of Cordia myxa fruit extract. *Iranian Journal of Microbiology*. 2022 Feb;14(1):97-103. https://doi.org/10.18502/ijm.v14i1.8810

8. Al-Musawi MH, Ibrahim KM and Albukhaty S. Phytochemical analysis, and anti-microbial activities of ethanol extract of Cordia myxa fruit: In vitro study. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2022;15(7):2871-2876.https://doi.org/10.52711/0974-360X.2022.00479

9. Alyamani AA, Al-Musawi MH and Albukhaty S, Sulaiman GM, Ibrahim KM, Ahmed EM, et al. Electrospun polycaprolactone/chitosan nanofibers containing cordia myxa fruit extract as potential biocompatible antibacterial wound dressings. *Molecules*. 2023 Mar 9;28(6):2501.https://doi.org/10.3390/molecules28062501

10. Arihara K, Yokoyama I and Ohata M. Bioactivities generated from meat proteins by enzymatic hydrolysis and the Maillard reaction. *Meat Science*. 2021 Oct 1;180:108561.https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108561

11. Bahmani Z and Abolfathi, P. Shelf life extension of chicken fillets by biodegradable chitosan coating containing Zataria multiflora Boiss essential oil during refrigeration. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 2022.18; (4): 383-395.

12. Domínguez R, Pateiro M, Gagaoua M, Barba FJ, Zhang W and Lorenzo JM. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*. 2019 Sep 25;8(10):429. https://doi.org/10.3390/antiox8100429

13. Dos Santos BM, Pizato S and Cortez-Vega WR. Natural edible films and coatings applied in food: a bibliographic review. *Research, Society and Development*. 2020 Aug 30;9(9):e578997613. https://doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7613

14. Duran A and Kahve HI. The effect of chitosan coating and vacuum packaging on the microbiological and chemical properties of beef. *Meat Science*. 2020 Apr 1;162:107961. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107961

15. Elsabee MZ and Abdou ES. Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials science and engineering*: C. 2013 May 1;33(4):1819-1841.https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.010

16. Farokhzad P, Dastgerdi AA and Nimavard JT. The effect of chitosan and rosemary essential oil on the quality characteristics of chicken burgers during storage. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2023 Oct;2023. https://doi.org/10.1155/2023/8381828

17. Felderhoff C, Lyford C, Malaga J, Polkinghorne R, Brooks C, Garmyn A, et al. Beef quality preferences: Factors driving consumer satisfaction. *Foods*. 2020 Mar 4; 9(3):289.https://doi.org/10.3390/foods9030289

18. Hashemi M, Hashemi M, Daneshamooz S, Raeisi M, Jannat B, Taheri S, et al. An overview on antioxidants activity of polysaccharide edible films and coatings contains essential oils and herb extracts in meat and meat products. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2020;8(2):198-207. https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2020/8.2.198.207

19. Jamali S, Pajohi-Alamoti MR, Sari A and Aghajani N. Use of Aloe Vera-based edible coating containing nanoemulsion of ginger essential oil to extend Trout fillet shelf-life. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*. 2023 Mar 10;18(1):93-108.

20. Jamkhande PG, Barde SR, Patwekar SL and Tidke PS. Plant profile, phytochemistry and pharmacology of Cordia dichotoma (Indian cherry): A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2013 Dec 1;3(12):1009-1012.https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60194-X

21. Jiang J and Xiong YL. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat Science*. 2016 Oct 1;120:107-117. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.005

22. Jouki M, Shakouri MJ and Khazaei N. Effects of deep-fat frying and active pretreatments of tomato pectin and paste on physical, textural and nutritional properties of fried frankfurter-type chicken sausage. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2021 Dec;15(6):5485-5494.https://doi.org/10.1007/s11694-021-01116-0

23. Karre L, Lopez K and Getty KJ. Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat Science*. 2013 Jun 1;94(2):220-227.https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.01.007

24. Khare AK, Abraham RJ, Rao VA and Babu RN. Utilization of carrageenan, citric acid and cinnamon oil as an edible coating of chicken fillets to prolong its shelf life under refrigeration conditions. *Veterinary World*. 2016 Feb;9(2):166.https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.166-175

25. Kumar Y, Yadav DN, Ahmad T and Narsaiah K. Recent trends in the use of natural antioxidants for meat and meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2015 Nov;14(6):796-812. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12156

26. Mahdavi V, Hosseini SE and Sharifan A. Effect of edible chitosan film enriched with anise (Pimpinella anisum L.) essential oil on shelf life and quality of the chicken burger. *Food Science & Nutrition*. 2018 Mar;6(2):269-279.https://doi.org/10.1002/fsn3.544

27. Murugesan M, Packrisamy I, Yap TN and Munisamy S. Effect of commercially manufactured kappa semi-refined carrageenan (SRC) with different phosphate salts on yield, textural and sensory properties of beef meat. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2016 Jun 1;5(6):518. https://doi.org/10.15414/jmbfs.2016.5.6.518-522

28. Nascimento KF, Pinto LA, de Oliveira Monteschio J, da Silveira R, Vital AC and Guerrero A, et al. Active alginate-based edible coating containing cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) and marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oils on quality of Wagyu hamburgers. *Research, Society and Development*. 2020 Sep 25;9(10):e2459108429.https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8429

29. Naz S, Siddiqi R, Ahmad S and Rasool SA, Sayeed SA. Antibacterial activity directed isolation of compounds from *Punica granatum*. *Journal of Food Science*. 2007 Nov;72(9):M341-345. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00533.x

30. Ojha KS, Aznar R, O'Donnell C and Tiwari BK. Ultrasound technology for the extraction of biologically active molecules from plant, animal and marine sources. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2020 Jan 1;122:115663. https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115663

31. Otoni CG, Avena□Bustillos RJ, Azeredo HM, Lorevice MV, Moura MR, Mattoso LH, et al. Recent advances on edible films based on fruits and vegetables-a review. Comprehensive *Reviews in Food Science and Food Safety*. 2017 Sep;16(5):1151-1169.https://doi.org/10.1111/1541-4337.12281

32. Pirnia M, Edalatian MR, Tabatabaee YF and Shahidi F. Efficiency of response surface methodology to optimization ethanolic extract from cordia myxa and evaluation of antimicrobial activity of extract against a number of pathogenic microorganism. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 2015; 9(4): 39-48.

33. Pirnia M, Edalatian MR, Tabatabaee YF and Shahidi F. Efficiency of response surface methodology to optimization ethanolic extract from cordia myxa and evaluation of antimicrobial activity of extract against a number of pathogenic microorganism. *Qom University of Medical Sciences Journal*. 2015; 9(4): 39-48.

34. Rahman MA and Akhtar J. Evaluation of anticancer activity of Cordia dichotoma leaves against a human prostate carcinoma cell line, PC3. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2017 Jul 1;7(3):315-321.https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.11.002

35. Ramírez-Guerra HE, Castillo-Yañez FJ, Montaño-Cota EA, Ruíz-Cruz S, Márquez-Ríos E, Canizales-Rodríguez DF, et al. Protective effect of an edible tomato plant extract/chitosan coating on the quality and shelf life of sierra fish fillets. *Journal of Chemistry*. 2018 Oct;2018:1-6.https://doi.org/10.1155/2018/2436045

36. Ranjbar M, Varzi H.N, Sabbagh A, Bolooki, A and Sazmand, A. Study on analgesic and anti-inflammatory properties of Cordia myxa fruit hydro-alcoholic extract. *Pakistan Journal of Biological Sciences*.2013; 16(24): 2066-2069.https://doi.org/10.3923/pjbs.2013.2066.2069

37. Rezaei, R. Nasrin, Z. and Aghajani, A. Pre-gelatinized starch potato and chickpea flour impact on the physical and chemical properties hamburger meat by 60 percent during the storage. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*. 2019; 11(2).143-151.

38. Rico D, Albertos I, Martinez-Alvarez O, Lopez-Caballero ME and Martin-Diana AB. Use of sea fennel as a natural ingredient of edible films for extending the shelf life of fresh fish burgers. *Molecules*. 2020 Nov 11;25(22):5260.https://doi.org/10.3390/molecules25225260

39. Ruiz-Navajas Y, Viuda-Martos M, Sendra E, Perez-Alvarez JA and Fernández-López J. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroder*i or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control*. 2013 Apr 1;30(2):386-392.https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.052

40. Sachan RS, Das S, Singh S and Khanna C. Food packaging formulation using chitosan and bacteriocin as an antimicrobial agent. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*. 2019;7(07):2020. https://doi.org/10.22214/ijraset.2019.10103

41. Sarmast E, Fallah AA, Dehkordi SH and Rafieian-Kopaei M. Impact of glazing based on chitosan-gelatin incorporated with Persian lime (Citrus latifolia) peel essential oil on quality of rainbow trout fillets stored at superchilled condition. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019 Sep 1;136:316-323. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.087

42. Savic IM and Savic Gajic IM. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from wheatgrass (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Food Science and Technology*. 2020 Aug;57:2809-2818. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04312-w

43. Shavisi N, Khanjari A, Basti AA, Misaghi A and Shahbazi Y. Effect of PLA films containing propolis ethanolic extract, cellulose nanoparticle and *Ziziphora clinopodioides* essential oil on chemical, microbial and sensory properties of minced beef. *Meat Science*. 2017 Feb 1;124:95-104. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.10.015

44. Shiekh RA, Malik M.A, Al-Thabaiti SA and shiekh, MA. Chitosan as a novel coating for fresh fruit. *Food Science and Technology Research*. 2013; 19(2):139-156.https://doi.org/10.3136/fstr.19.139

45. Silva ML, Brinques GB and Gurak PD. Development and characterization of corn starch bioplastics containing dry sprout by-product flour. *Brazilian Journal of Food Technology*. 2020 Mar 2;23:e2018326. https://doi.org/10.1590/1981-6723.32618

46. Smit G, Smit BA and Engels WJ. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews*. 2005 Aug 1;29(3):591-610. https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.04.002

47. Soares KS, Souza MP, Silva-Filho EC, Barud HS, Ribeiro CA, Santos DD, et al. Effect of edible onion (Allium cepa L.) film on quality, sensory properties and shelf life of beef burger patties. *Molecules*. 2021 Nov 27;26(23):7202.https://doi.org/10.3390/molecules26237202

48. Thrane M, Paulsen PV, Orcutt MW and Krieger TM. *Soy protein: Impacts, production, and applications. in sustainable protein source*s. 2017 Jan 1: 23-45. Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00002-0

49. Tooryan F and Amiri MR. Evaluation of chemical and microbial spoilage of chicken fillet coated with chitosan, ginger essential oil (*Zingiber officinale*) and Medlar concentrate (*Mespilus germanica* L.) during refrigerated storage. *Research and Innovation in Food Science and Technology*. 2020 Jan 21;8(4):391-404.

50. Vasconcelos L, de Souza M, de Oliveira J, Silva Filho E, Silva A, Mazzetto SE, et al. Elaboration and characterization of bioactive films obtained from the incorporation of cashew nut shell liquid into a matrix of sodium alginate. *Antioxidants*. 2021 Aug 28;10(9):1378.https://doi.org/10.3390/antiox10091378

51. Yaghoubi M, Ayaseh A, Alirezalu K, Nemati Z, Pateiro M and Lorenzo JM. Effect of chitosan coating incorporated with Artemisia fragrans essential oil on fresh chicken meat during refrigerated storage. *Polymers*. 2021 Feb 26;13(5):716.https://doi.org/10.3390/polym13050716

52. Yang C, Lu JH, Xu MT, Shi XC, Song ZW, Chen TM, et al. Evaluation of chitosan coatings enriched with turmeric and green tea extracts on postharvest preservation of strawberries. *Lwt*. 2022 Jun 15;163:113551. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113551

53. Yilmaz Atay H. Antibacterial activity of chitosan-based systems. Functional Chitosan: *Drug Delivery and Biomedical Applications*. 2019:457-89.https://doi.org/10.1007/978-981-15-0263-7_15

54. Ziomek M, Drozd Ł, Gondek M, Pyz-Łukasik R, Pedonese F, Florek M, et al. Microbiological changes in meat and minced meat from beavers (*Castor fiber* L.) during refrigerated and frozen storage. *Foods*. 2021 Jun 2;10(6):1270.https://doi.org/10.3390/foods10061270

# The effect of chitosan coating containing extract of *Cordia myxa* on chemical, oxidative, microbial and sensory properties of hamburger

**Maryam Mirkhaghani Haghighi[1] و Seyed Saeed Sekhavatizadeh[۲]**

1. **Corresponding author:** M.Sc Graduated, Department of Food Science and Technology, Kherad Institute of Higher Education, Bushehr, Iran. mirkhaghani.m@gmail.com
2. Associate Professor, Dept. of Food Science and Technology, Fars Agricultural and Natural Resources and Education Center, AREEO, Shiraz, Iran. s.sekhavati@areeo.ac.ir

**Abstract**

Meat and meat products are one of perishable foods, to maintain their quality, food coating containing an antimicrobial agent can be used as a barrier to deal with microbial contamination. Therefore, the purpose of the present study is to use edible chitosan coating containing Cordia myxa fruit extract to increase the shelf life of hamburgers. At first, extraction of the Cordia myxa fruit extract was done using ethanol solvent and with the help of ultrasound. Then, three treated samples were produced. These samples included the sample treated with chitosan coating, and chitosan coating with 5% Cordia myxa fruit extract, and one sample was considered as a control. Hamburger samples were chemically (pH, volatile nitrogen bases (TVB-N)), oxidation (peroxide number (PV), thiobarbituric acid index (TBARS)), microbial (total count, mold and yeast count), and sensory evaluation during the storage period of 21 days were assessed. During 21 days of storage, the total count of bacteria in the samples treated with the chitosan coating with extract was at least, on the last day of storage. The total viable number was 3.0 and 2.8 log cfu/gr for bacteria, molds, and yeast respectively. The hamburger sample contained edible chitosan with extract at the end of the storage period has the lowest pH (5.83), PV (1.75 mg/kg), TBARS (0.49 mgMD/kg), TVBN (2.14mg/100g). During the storage time, the sensory assessment in all the samples decreased based on the panelist score. Among the samples, the control had the lowest sensory score. According to the results, the hamburger with an edible coating with extract had good sensory, microbial, and fat oxidation parameters during the storage period. Therefore, the application of edible coating with the Cordia myxa extract could be an effective solution to maintain the quality of hamburgers.

**Keywords:** Fat oxidation stability, Microbial counting, Yeast and mold counting, TBA, Peroxide value, Sensory characteristics