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

رضا شفیعی[1]، تکتم مستقیم[2]*

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس.
۲. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس.
***نویسنده مسئول:** *toktammostaghim@yahoo.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۱۸

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی اثر پوشش ضدمیکروبی بر پایه کیتوزان، جلبک *کلرلاولگاریس*،*اسپیرولینا پلاتنسیس* و همچنین ناتامایسین در افزایش میزان ماندگاری فیله گوشت گوساله بیشتر از میزان استاندارد (پنج روز در شرایط یخچال) بود. برای این منظور در چهار سطح صفر، یک، یک و نیم و دو درصد از ترکیبات بالا در بازه‌های زمانی صفر، هفت، ۱۴ و ۲۸ روز نگهداری در دمای چهار درجه در پوشش بسته‌بندی مورد استفاده قرار گرفت. آزمون‌های فیزیکوشیمیایی گوشت شامل ارزیابی pH، ازت باز فرار، شاخص تیوباربیتوریک اسید، شاخص بافت، بارمیکروبی کل در قالب طرح بلوک های کاملا تصادفی و در سه تکرار در سطح معناداری ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab17.2 آنالیز گردید. بررسی نتایج نشان داد که اختلاف معناداری بین شاخص‌های فیزیکوشیمیایی و حسی تیمار گوشت گوساله با تیمار شاهد وجود داشت و با افزایش میزان استفاده از کیتوزان، جلبک‌ها و همچنین ناتامایسین میزان افزایش شاخص میکروبی، ازت باز فرار، شاخص تیوباربیتوریک در طی زمان نگهداری ۲۸ روز با شدت کمتری صورت می‌گیرد. اما شاخص درصد خاکستر اختلاف معناداری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). استفاده از جلبک‌ها در فرمولاسیون پوشش‌های بسته‌بندی با افزایش از میزان یک درصد باعث افزایش سختی، کاهش کشسانی، قابلیت جویدن و پیوستگی و همچنین صمغی بودن افزایش می‌یابد. با افزایش میزان استفاده از کیتوزان و ممانعت از فساد میکروبی و آنتی اکسیدانی و همچنین استفاده از جلبک‌ها به دلیل دارا بودن اثرآنتی اکسیدانی میزان خصوصیات رئولوژیکی بافت و همچنین ارزیابی حسی به طور معناداری با شیب کمتری از تیمار شاهد صورت می‌گیرد. نهایتا با در نظر گرفتن خواص فیزیکوشیمیایی با میزان یک درصد استفاده از جلبک‌های *پلاتنسیس و کلرلاولگاریس*، یک درصد کیتوزان و یک درصد ناتامایسین به عنوان بهترین ترکیب جهت پوشش بسته‌بندی معرفی شد.

کلید واژه ها: *اسپیرولینا پلاتنسیس*، جلبک *کلرلاولگاریس*، کیتوزان، گوشت گوساله، ناتامایسین، بسته‌بندی زیست فعال.

مقدمه

گوشت و فراورده‌ها گوشتی ممکن است به آسانی به میکروارگانیسم‌های مختلف آلوده شوند و اگر شرایط حمل و نقل آن‌ها مناسب نباشد، منجر به رشد باکتری-های مولد فساد و بیماری‌زا می‌شود و در نهایت کیفیت گوشت کاهش یافته و بهداشت عمومی در معرض خطر قرار می‌گیرد (Vernozy-Rosand et al., 2002). نگهداری در سردخانه، متداول‌ترین روش نگهداری گوشت و فرآورده‌های گوشتی محسوب می‌شود. در برخی از کشورها به منظور افزایش مدت زمان نگهداری گوشت و فرآورده‌های گوشتی، از مواد ضدمیکروبی و آنتی اکسیدان که اکثرا سنتتیک هستند استفاده می-شود (Akgul et al., 1988). با درخواست روز افزون مصرف‌کنندگان مواد غذایی مبنی بر به حداقل رساندن فرآوری، به میان آمدن محصولات غذایی آماده مصرف، جهانی بودن تجارت مواد غذایی و چالش‌های اساسی برای فراوری مواد غذایی با کیفیت و ایمنی بالا روش-های جدیدی به منظور عوامل مهارکننده فساد در مواد غذایی به میان آمدند. یکی از این روش‌های نوین بسته

بندی فعال یا ضد میکروبی است. این تکنولوژی بسته بندی درافزایش طول عمر مواد غذایی و کاهش خطرات بیماری زاها نقش مهمی ایفاء می‌نماید. مواد فعال با محصول یا فضای فوقانی بین بسته بندی و سیستم‌های مواد غذایی واکنش بیولوژیکی می‌دهد تا برحسب نوع مواد فعال اعم از آنتی اکسیدان یا ضدمیکروب نتایجی در تاخیر یا مهار اکسیداسیون یا مهار ترکیبات بیماری زا حاصل شود (Breene, L, 1989؛ Strupinsky and Kline, 2001).

اکسیداسیون چربی‌ها و آلودگی میکروبی دو فاکتور بسیار مهمی هستند که در کیفیت و طول عمر نگهداری گوشت و فرآورده‌های گوشتی نقش موثری دارند. از این رو به تاخیر انداختن پدیده اکسیداسیون و جلوگیری از آلودگی میکروبی از اهداف اصلی تولیدکنندگان مواد غذایی در صنعت گوشت و فرآورده-های گوشتی می‌باشد. با وجود اینکه در حال حاضر از افزودنی‌ها و آنتی اکسیدان‌های مصنوعی در سطحی گسترده در صنعت گوشت استفاده می‌شود اما تمایل به سمت استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی به دلیل عدم مقبولیتی که مصرف‌کنندگان مواد غذایی از مصرف این مواد سنتزی نشان می‌دهند و همچنین مشکلاتی که این آنتی اکسیدان‌ها از لحاظ ایمنی و مسمومیت زایی ایجاد می‌کنند افزایش یافته است (Akgul et al., 1988). یکی از معایب اصلی نگهدارنده‌های شیمیایی خاصیت سرطان‌زایی بوده که در حیوانات آزمایشگاهی به اثبات رسیده است. بنابراین ضرورت استفاده از ترکیبات بیولوژیک که فاقد عوارض جانبی بوده و از طرف دیگر دارای ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی باشد، احساس می‌گردد (Vernozy-Rosand et al., 2002).

کیتوزان یکی از بهترین پلیمرهای زیستی است که تاکنون برای تهیه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی به کار رفته است. این ماده به عنوان یک منبع مهم تجدیدپذیر و دومین پلیمر زیستی طبیعی فراوان بعد از سلولز بوده و از استیل زدایی قلیایی جزئی کیتین به دست می‌آید.کیتوزان به دلیل ماهیت غیرسمی، فعالیت آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی، خاصیت تشکیل فیلم، زیست سازگاری[1] و زیست تخریب پذیری[2] به عنوان یکی از افزودنی‌های غذایی طبیعی مورد توجه قرار گرفته است (مطلبی و همکاران، ۱۳۹۵). کیتوزان به خاطر خاصیت بازدارندگی رشد بسیاری از باکتری‌های بیماری زا و قارچ‌ها در فیلم ضدمیکروبی و پوشش‌های خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرد و توجه زیادی را به عنوان نگهدارنده با منشاء طبیعی به خود جلب کرده است. علاوه بر تاثیرات ضد مخمری، ضد قارچی و باکتری‌های گرم مثبت تاثیر کیتوزان بر باکتری‌های گرم منفی مانند *اشرشیاکلی، ویبریو، شیگلا دیسانتریه، سودوموناس آئروژینوزا* و *سالمونلا تیفی موریوم* نیز گزارش گردیده است (مطلبی و همکاران، ۱۳۹۵). ناتامایسین یک متابولیت میکروبی است که از باکتری *استرپتومایسس ناتالینسیس* ترشح می‌شود. این ماده در حقیقت یک نگهدارنده بیولوژیک بوده و به طور گسترده به عنوان عامل ضد کپک و مخمر در انواع مواد استفاده قرار می‌گیرد. ناتامایسین در دوز پایین‌تر (۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) اثر میکروب کشی بیشتری را نشان می‌دهد. ناتامایسین به طور غیرقابل بازگشت به ارگوسترول غشای سلولی قارچ‌ها متصل شده و نفوذپذیری آن را از بین برده و در نهایت باعث مرگ سلولی می‌شود (Welscher et al., 2008). ریزجلبک *اسپیرولینا*[3] یک سیانوباکتر سبز-آبی رشته‌ای و مارپیچی است که امروزه به وفور در غنی‌سازی غذای انسان و حیوان استفاده می‌شود. اسپیرولینا دارای مقدار زیادی پروتئین با کیفیت بالا، شامل اسیدهای آمینه ضروری با ضریب هضم بالا، رنگدانه‌هایی از قبیل کارتنوئیدها و فیکوسیانین، ویتامین‌ها و مواد معدنی از

۱. Biocompatibility

۲. Biodegradability

۳. *spirolina Platensis*

قبیل کلسیم و آهن می‌باشد. *اسپیرولینا* عمدتا به C-فیکوسیانین، بتاکاروتن و ترکیبات فنولی نسبت داده می‌شود (زرین و همکاران،۱۳۹۳). *اسپیرولینا* از جمله ریزجلبک‌های چند سلولی و رشته‌ای سبز-آبی است که بعد از تایید سازمان غذا دارو، به عنوان GRAS معرفی گردید. ارزش *اسپیرولینا* به علت هضم آسان ناشی از فقدان سلولز در دیواره سلولی است و میزان اسید نوکلئوئیک آن کمتر از پنج درصد است *اسپیرولینا* تمامی اسیدهای آمینه ضروری را داشته و ارزش زیستی بالایی دارد (اسلامی‌مشکنانی و همکاران، ۱۳۹۳). *کلرلا ولگاریس*[1] یکی از مشهورترین ریز جلبک‌ها، نوعی جلبک سبز رنگ ساکن در آب‌های شیرین می‌باشد. *کلرلا* یک جلبک تک سلولی است. *کلرلا* نه تنها یک غذای کامل است بلکه بعنوان مکمل غذایی می‌تواند در پیشگیری یا درمان کمبودهای تغذیه‌ای استفاده گردد. ترکیبات مغذی این جلبک در بسیاری از پارامترها نسبت به جانوران از نظر کلروفیل و پروتئین برتری دارد (Safi et al., 2014). این جلبک در بسیاری از کشورها مثل ژاپن و آمریکا به عنوان مکمل غذایی استفاده می‌شوند با توجه به خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلا ولگاریس* در این پژوهش به بررسی اثرآن در فرمولاسیون پوشش خوراکی بر پایه کیتوزان و ناتامایسین پرداخته شد.

روش‌کار

کیتوزان و ناتامایسین از شرکت سیگما الدریچ کشور آلمان تهیه شد. پودر ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلا ولگاریس* نیز از شرکت ریزجلبک قشم خریداری شد.

تهیه پوشش کیتوزان/ ناتامایسین حاوی ریزجلبک

ابتدا محلول اسید استیک یک درصد حجمی/حجمی تهیه شد و سپس محلول کیتوزان یک درصد وزنی/حجمی تهیه و به مدت سه ساعت با استفاده از گرمکن الکتریکی در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد مخلوط گردید. پس از این مرحله، گلیسرول به میزان ۰/۷۵ به محلول اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه دیگر در دمای اتاق همزده شد. سوسپانسیون حاصله با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره سه صاف شده و در مرحله نهایی نیز ناتامایسین، پودر ریزجلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلا ولگاریس* با غلظت‌های مطابق جدول یک کدبندی تیمارهای تحقیق دو تا سه میلی گرم در لیتر از یک درصد کیتوزان، به محلول اولیه اضافه شد و در ۷۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه با استفاده از دستگاه هموژن کننده با دور بالا[2] هوموژن گردید (Ojagh et al, 2010).

پوشش‌دهی بر روی فیله گوشت گوساله

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

آزمایشات گوشت پس از بسته‌بندی و حین نگهداری

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

۱. *chlorella vulgaris*

۲. IKA T25 digital Ultra-Turraxx, Germany

۵۳۲ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر Shimadu ثبت گردید. مقادیر تیوباربیوتیک از منحنی استاندارد محاسبه و به صورت میلی گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم گوشت بیان شد (Botsoglou et al., 1994). برای اندازه‌گیری TVB-N به روش میکروکلدال محاسبه شد (Jeon et al., 2002). همچنین آنالیز پروفایل بافت (TPA) با استفاده از دستگاه تحلیل‌گر مبنا[1] مجهز با پروب سیلندر پنج میلی‌متری انجام شد. نیروی فشردگی ۲۵درصد برای ترسیم پارامترهای آنالیز پروفایل بافت به کار رفت. نیروی به کار رفته نیم نیوتن و سرعت آزمون نیز سه میلی متر/ثانیه بود. پارامترهای (سختی[2]، صمغی بودن[3]، قابلیت جویدن[4]، چسبندگی[5]، فنری بودن[6]، انسجام[7] و انعطاف پذیری[8]) با نرم‌افزار Expression PC V.2.1 ترسیم شد. همچنین شمارش میکروبی کل در محیط کشت پلیت کانت آگار[9] و سپس انکوباسیون در ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شده و تعداد سلول‌های زنده شمارش و محاسبه شد (Gao et al., 2014). برای ارزیابی حسی نیز از روش هدونیک پنج نقطه‌ای و استفاده از ۱۵ پنلیست پژوهشکده غذایی سازمان ملی استاندارد ایران تعلیم دیده انجام و نمونه‌ها برای تردی، آبداربودن، طعم و قابلیت پذیرش امتیازدهی شدند (Smeti et al., 2013).

روش‌ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه ANOVA در قالب طرح بلوک‌های کاملا تصادفی فاکتوریل و با استفاده از نرم‌افزار SPSS.21 استفاده تحلیل شد.

جدول ۱: کدبندی تیمارهای پژوهش

کد تیمار	جلبک *کلرلاولگاریس* (وزنی /وزنی)	جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* (وزنی /وزنی)	کیتوزان (وزنی /وزنی)	ناتامایسین (وزنی /وزنی)
T	۰	۰	۰	۰
T1	۱	۱	۱	۱
T2	۱/۵	۱	۱/۵	۱
T3	۱	۱/۵	۱	۱/۵
T4	۱	۱/۵	۱/۵	۱
T5	۲	۱	۲	۱
T6	۱	۲	۱	۲
T7	۱/۵	۲	۱/۵	۲
T8	۲	۱/۵	۲	۱/۵
T9	۱	۲	۲	۱
T10	۲	۱	۱	۲
T	تیمار گوشت فاقد پوشش و نگهداری شده در شرایط مشابه (یخچال ۴ درجه سانتی گراد)			

نتایج و بحث

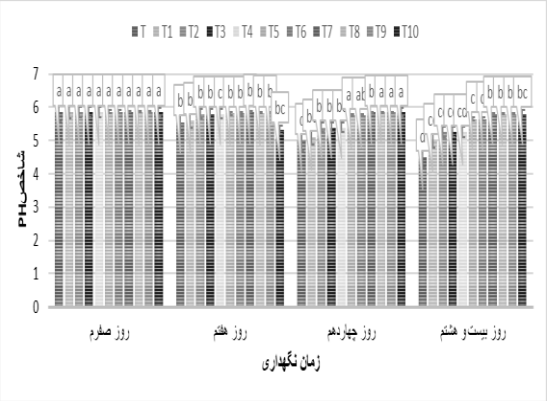
نتایج ارزیابی شاخص pH

با توجه به شکل یک مشاهده شد که میانگین شاخص pH کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و اختلافات معناداری بین شاخص pH تیمارهای گوشت گوساله وجود ندارد ($p>۰/۰۵$). با افزایش مدت زمان نگهداری گوشت گوساله میزان شاخص pH تیمارشاهد و سایر تیمارها گوشت گوساله به طور معنا داری کاهش یافت ($p\leq۰/۰۵$). بالاترین میزان کاهش شاخص pH در تیمار گوشت گوساله شاهد و کمترین آن در تیمار T6 و همچنین تیمار T7 مشاهده شد ($p\leq۰/۰۵$). بین میزان شاخص pH

۱. Texture Analyzer (Stable Micro System)
۲. Hardness
۳. Gumminess
۴. Chewiness
۵. Adhesiveness
۶. Springiness
۷. Cohesiveness
۸. Elasticity
۹. PCA, Qingdao Hope Bio-Technology Co., Ltd

تیمارها از نظر اختلاف در میزان جلبک *کلرلا ولگاریس* و *اسپیرولینا پلاتنسیس* وجود نداشت و مقادیر مساوی از جلبک‌ها در پوشش بسته بندی گوشت گوساله اثرات معناداری با یکدیگر نداشتند ($p>۰/۰۵$). همچنین تیمارهای گوشت گوساله با مقادیر مساوی کیتوزان و ناتامایسین نیز از میزان شاخص pH یکسانی برخوردار بودند ($p\leq۰/۰۵$). میزان کاهش pH در تیمارهای شاهد به طور معناداری در تیمار شاهد به میزان بالاتری بیشتر از سایر تیمارهای گوشت گوساله بسته بندی شده می‌باشد ($p\leq۰/۰۵$). در طی زمان نگهداری به دلیل غالب شـدن فلـور فساد و فعـل و انفعالات شیمیایی ناشی از فساد نمونه‌های گوشت pH رو به کاهش می‌گذارد به دلیل تولید اسید و رشد باکتری‌های اسید لاکتیک، که این افزایش اختلاف معناداری با نمونه کنترل و بـدون پوشش دارد ($p\leq۰/۰۵$). کیتوزان دارای ویژگی‌های عملکردی مانند خصوصیت ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی است. کیتوزان به عنوان فیلم خوراکی می‌تواند حامل بسیار خوبی برای ترکیب شدن با عوامل ضداکسیدان و عوامل ضدمیکروبی طبیعی مانند اسانس‌های روغنی گیاهان محسوب شود. در مورد مکانیسم فعالیت ضدمیکروبی کیتوزان فرضیه-های متعددی وجود دارد که محتمل‌ترین آن‌ها، تغییر در نفوذپذیری غشای سلولی به واسطه واکنش بین بار مثبت مولکول‌های کیتوزان و بار منفی غشای سلول-های میکروبی است. این واکنش منجر به نشت محتویات پروتئینی و سایر محتویات داخل سلولی می-شود و همچنین سایر مکانیسم‌های ضدمیکروبی کیتوزان مانند واکنش کیتوزان با محصولات منتشره حاصل از هیدرولیز داخل سلول میکروبی و واکنش با DNA میکروبی است که باعث ممانعت از سنتز پروتئین و mRNA و شلاته کردن فلزات، عناصر و مواد مغذی ضروری سلول و در نهایت مرگ سلولی می‌شود (حکیم و همکاران،۱۳۹۵). (مهدی زاده و همکاران ۱۳۹۷) نیز در بررسی اثرات فیلم کامپوزیتی خوراکی نشاسته-کیتوزان حاوی ترکیب عصاره پوست انار و اسانس روغنی کاکوتی بر ماندگاری گوشت قرمز در زمان نگهداری به نتایج مشابهی دست یافتند. آن‌ها دریافتند که استفاده از کیتوزان تاثیرات معناداری در کاهش بار میکروبی تیمارهای گوشت قرمز دارد که با نتایج تحقیقات حاضر همراستا بود. (حکیم و همکاران ۱۳۹۵) نیز در بررسی تاثیر پوشش کیتوزان حاوی اسانس پونه کوهی بر ماندگاری گوشت فیله مرغ در دوره نگهداری در دمای یخچال نیز به اثرات ضدمیکروبی کیتوزان و همچنین ممانعت کیتوزان از افزایش میزان بار میکروبی تیمارهای گوشت فیله ومرغ و همچنین افزایش اسیدیته و کاهش pH در طی نگهداری گردید که با نتایج تحقیق حاضر نیز همراستا بود. وجود ناتامایسین به همراه کیتوزان اثرات ضدمیکروبی آن را تشدید نموده و می‌تواند از افزایش رشد باکتری‌ها و همچنین تغییرات pH آن ممانعت نماید. (مطلبی و همکاران ۱۳۹۵) اثر پوشش کیتوزان همراه با ناتامایسین بر کیفیت تخم ماهی سفید دریای خزر را طی نگهداری در دمای یخچال بررسی نمودند. آن‌ها دریافتند که ترکیب پوشش کیتوزان و ناتامایسین ۱۹ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم تخم زمان ماندگاری تخم ماهی سفید را افزایش داد همچنین میزان تغییرات pH در طی زمان نگهداری با اثرات سینرژیستی ناتامایسین و کیتوزان در میزان حداقل بود که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت. بررسی نتایج نشان داد که استفاده از جلبک های *کلرلاولگاریس* و *اسپیرولینا پلاتنسیس* از تغییرات pH به طور معناداری ممانعت نمود. به نظر می رسد که اگرچه توده زیستی *کلرلاولگاریس* و *اسپیرولینا پلاتنسیس* قادر است تولید اسید و رشد باکتری‌های اسید لاکتیک را افزایش دهد، اما به لحاظ نقش بافری pH محیط را حفظ می‌کند (Caire et al., 2000). از این‌رو تغییرات معناداری در سطوح استفاده از ریزجلبک *کلرلاولگاریس* و *اسپیرولینا پلاتنسیس* مشاهده نشد. همچنین نتایج

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



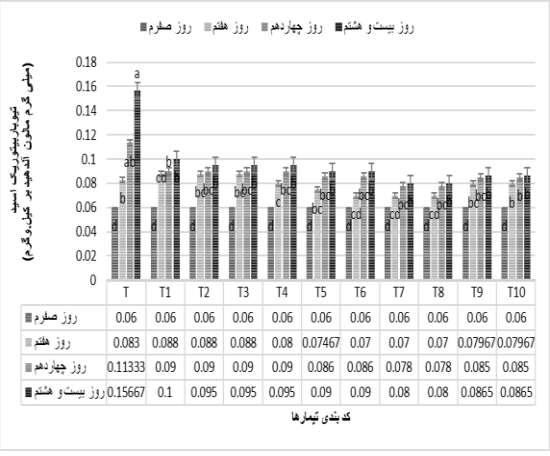
نمودار ۱: مقایسه میانگین تغییرات شاخص pH تیمارهای گوشت گوساله در طی ۲۸ روز نگهداری

نتایج ارزیابی شاخص تیوباربیتوریک اسید

با توجه به شکل دو مشاهده شد که میانگین شاخص تیوباربیتوریک اسید کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و اختلافات معناداری بین شاخص تیوباربیتوریک اسید تیمارهای گوشت گوساله وجود ندارد ($p>۰/۰۵$). با افزایش مدت زمان نگهداری گوشت گوساله میزان شاخص تیوباربیتوریک اسید تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری افزایش یافتکه این افزایش می تواند به دلیل کاهش pH در طی زمان نگهداری ناشی از اکسیداسیون و تغییرات فلور میکروبی تیمارهای گوشت گوساله باشد ($p\leq۰/۰۵$). بالاترین میزان افزایش شاخص تیوباربیتوریک اسید در تیمار گوشت گوساله شاهد و کمترین آن در تیمار T6 و همچنین تیمار T7 مشاهده شد ($p\leq۰/۰۵$). بین میزان شاخص تیوباربیتوریک اسید تیمارها از نظر اختلاف در میزان جلبک *کلرلا ولگاریس* و *اسپیرولینا پلاتنسیس* وجود داشت و مقادیر مساوی از جلبک‌ها در پوشش بسته بندی گوشت گوساله اثرات معناداری با یکدیگر نداشتند ($p>۰/۰۵$). همچنین تیمارهای گوشت گوساله با مقادیر مساوی کیتوزان و ناتامایسین نیز از میزان شاخص تیوباربیتوریک اسید یکسانی برخوردار بودند ($p\leq۰/۰۵$). بررسی نتایج ارزیابی شاخص تیوباربیتوریک اسید در طی زمان نگهداری در تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری افزایش یافت ($p\leq۰/۰۵$). بررسی نتایج نشان داد که شاخص تیوباربیتوریک اسید تیمارهای گوشت گوساله در طی زمان نگهداری افزایش می‌یابد که این افزایش می‌تواند به دلیل کاهش pH در طی زمان نگهداری ناشی از اکسیداسیون و تغییرات فلور میکروبی تیمارهای گوشت گوساله باشد. زیرا در pH پایین اکسیژن (متصل شده به آهن هم) به شکل‌های رادیکال هیدروپراکسید و سوپر پراکسید آزاد شده و در واکنش های اکسیداسیون چربی و پروتئین شرکت می‌کند (Shardeh et al., 2015).

همچنین افزایش در حلالیت آهن به همراه کاهش pH نیز می‌توانند سرعت اکسیداسیون را افزایش دهد. در سایر سیستم‌های غذایی همچون امولسیون‌های روغن در آب، توانایی آهن در افزایش سرعت اکسیداسیون چربی‌ها با کاهش pH نیز به اثبات رسیده است. استفاده از جلبک‌های *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلا ولگاریس* نیز با ممانعت از تغییرات pH می‌توانند از افزایش شاخص تیوباربیتوریک اسید در طی زمان نگهداری ممانعت نمایند. حضور ناتامایسین نیز با اثرات ضد میکروبی مشابه با کیتوزان از افزایش میزان اسیدیته ناشی از افزایش فلور میکروبی در تیمارهای گوشت گوساله در طی زمان نگهداری ممانعت نموده و از افزایش فساد میکروبی ممانعت می‌نماید که شاخص اسید تیوباربیتوریک در تیمارهای گوشت گوساله با افزایش میزان درصد کیتوزان و جلبک‌های *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *ولگاریس* و همچنین ناتامایسین به میزان کمتری افزایش می‌یابد. (علوی و همکاران ۱۳۹۴) نیز در بررسی بهبود پایداری اکسیداسیون روغن زیتون بکر با استفاده از ریز جلبک *اسپیرولینا* به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی پرداختند و نشان دادند که

استفاده از جلبک *اسپیرولینا* می‌تواند از افزایش میزان شاخص تیوباربیتوریک اسید در حین نگهداری روغن زیتون ممانعت نمایند که با یافته‌های تحقیق حاضر نیز در توافق بود.کاهش رادیکال‌های آزاد موجب کاهش فرم مت میوگلوبین در نمونه گوشت می‌شود. در گوشت تازه میوگلوبین به سه شکل وجود دارد: دئوکسی میوگلوبین، اکسی میوگلوبین و مت‌میوگلوبین. ترکیبات فنولی موجود در جلبک‌های کلرلاولگاریس و اسپیرولینا پلاتنسیس می‌توانند رادیکال‌های آزاد موجود در گوشت را خنثی کنند. تیوباربیتوریک اسید به طور گسترده به عنوان شاخص نشان دهنده میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد و ناشی از وجود مواد واکنش دهنده حاصل از مرحله دوم اتواکسیداسیون است که طی آن، پراکسیدها به موادی مثال آلدئیدها و کتون ها اکسید می‌شوند که این مواد با TBA واکنش می‌دهند (بهنام و اکبرلو، ۱۳۹۲). پژوهش‌هایی در زمینه اثر آنتی اکسیدانی اسانس و عصاره گیاهان انجام گرفته (استفضل‌آرا و همکاران۱۳۹۶) در بررسی اثرات اثر پوشش خوراکی رزماری-کیتوزان بر کیفیت و ماندگاری فیله تازه ماکیان در دمای یخچال نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. آن‌ها به اثرات ممانعت‌کنندگی کیتوزان در کاهش میزان شاخص تیوباربیتوریک اسید در فیله ماهی اشاره داشتند که با نتایج تحقیق حاضر نیز در توافق بود.



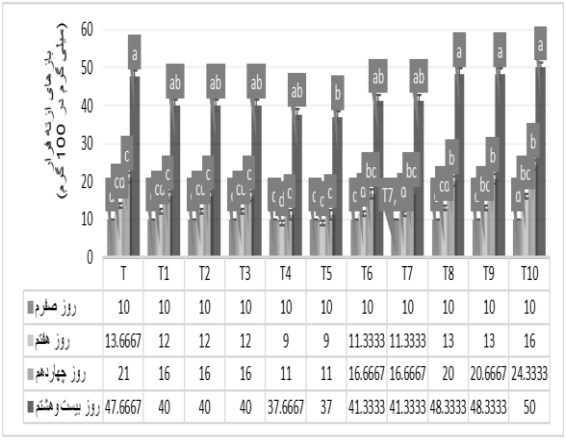
نمودار ۲: مقایسه میانگین تغییرات شاخص تیوباربیتوریک اسید تیمارهای گوشت گوساله در طی ۲۸ روز نگهداری

با توجه به شکل ۲ مشاهده شد که میانگین شاخص ازت باز فرار کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و اختلافات معناداری بین شاخص ازت باز فرار تیمارهای گوشت گوساله وجود ندارد ($p>۰/۰۵$). با افزایش مدت زمان نگهداری گوشت گوساله میزان شاخص ازت باز فرار تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری افزایش یافت ($p\leq۰/۰۵$). بالاترین میزان افزایش شاخص ازت باز فرار در تیمار گوشت گوساله شاهد و کمترین آن در تیمار T6 و همچنین تیمار T7 مشاهده شد ($p\leq۰/۰۵$). بین میزان شاخص ازت باز فرار تیمارها از نظر اختلاف در میزان جلبک *کلرلا ولگاریس* و *اسپیرولینا پلاتنسیس* وجود داشت و مقادیر مساوی از جلبک‌ها در پوشش بسته-بندی گوشت گوساله اثرات معناداری با یکدیگر نداشتند ($p>۰/۰۵$). همچنین تیمارهای گوشت گوساله با مقادیر مساوی کیتوزان و ناتامایسین نیز از میزان شاخص ازت باز فرار یکسانی برخوردار بودند ($p\leq۰/۰۵$).

نتایج ارزیابی شاخص ازت باز فرار

با توجه به شکل ۳ مشاهده شد که میانگین شاخص ازت باز فرار کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و اختلافات معناداری بین شاخص ازت باز فرار تیمارهای گوشت گوساله وجود ندارد ($p>۰/۰۵$). با افزایش مدت زمان نگهداری گوشت گوساله میزان شاخص ازت باز فرار تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری افزایش یافت ($p\leq۰/۰۵$). بالاترین میزان افزایش شاخص ازت باز فرار در تیمار گوشت گوساله شاهد و کمترین آن در تیمار T6 و همچنین تیمار T7 مشاهده شد ($p\leq۰/۰۵$). بین میزان شاخص ازت باز فرار تیمارها از نظر اختلاف در میزان جلبک *کلرلا ولگاریس* و *اسپیرولینا پلاتنسیس* وجود داشت و مقادیر مساوی از جلبک‌ها در پوشش بسته-بندی گوشت گوساله اثرات معناداری با یکدیگر نداشتند ($p>۰/۰۵$). همچنین تیمارهای گوشت گوساله با مقادیر مساوی کیتوزان و ناتامایسین نیز از میزان

شاخص ازت باز فرار یکسانی برخوردار بودند ($p\leq$۰/۰۵). بررسی نتایج ارزیابی ازت باز فرار نشان داد که استفاده از کیتوزان، ناتامایسین و همچنین جلبک‌ها در فرمولاسیون پوشش بسته‌بندی گوشت گوساله به طور معناداری از افزایش میزان ازت باز فرار در طی زمان نگهداری ممانعت می‌کند. اما در تیمار شاهد میزان افزایش ازت باز فرار به میزان حداکثر می‌باشد. N-TVBعمدتا با تجزیه باکتریایی و آنزیمی پروتئین‌ها و ترکیبات نیتروژنی غیرپروتئینی گوشت تولید می‌شود. اگرچه N-TVB، یک شاخص ضعیف برای ارزیابی تازگی می‌باشد ولی به میزان گسترده برای ارزیابی کیفی استفاده می‌شود زیرا مقدار آن یکسان نبوده و به گونه و حد پیشرفت و تغییرات پس از مرگ بستگی دارد و از آن معمولا جهت ارزیابی فساد گوشت استفاده می‌شود. در مطالعه حاضر با افزایش زمان مقادیر بازهای نیتروژنی در همه تیمارها افزایش یافت. افزایش میزان N-TVB ممکن است به دلیل فرآیندهای آنزیمی مختلف نظیر آمین زدایی اسیدهای آمینه آزاد، تجزیه نوکلئوتیدها و اکسیداسیون آمین‌ها باشد (جئون و همکاران، ۲۰۰۲). دامنه وسیعی از ترکیبات پایه‌ای فرار از جمله آمونیاک، متیل آمین، دی متیل آمین، تری متیل آمین و دیگر ترکیبات مشابه که در اثر فعالیت-های میکروبی تولید می‌شوند، تحت عنوان N-TVB جهت نشان دادن فساد گوشت مورد استفاده قرار می-گیرد و معمولا سطحی معادل ۴۰-۳۵ میلی گرم آن در ۱۰۰ گرم گوشت معیار فساد گوشت است. همان طور که نتایج تحقیق حاضر نشان داد مقادیر N-TVB همراه با افزایش مدت زمان نگهداری در تمامی تیمارها افزایش یافته است. از آنجایی که N-TBV تولید شده احتمالا به علت تجزیه باکتریایی در گوشت گوساله می‌باشد، مقادیر بالای بار باکتریایی (شمار کل باکتری-ها) نمونه‌های تیمار شاهد نسبت به تیمارها طی مدت نگهداری در تحقیق حاضر می‌تواند دلیلی برای مقادیر زیاد N-TVB تیمار شاهد باشد. (محمدزاده و رضایی۱۳۹۲) در بررسی اثر پلی فنل‌های چای سبز بر تغییرات میکروبی و شیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به هنگام نگهداری در یخ به نتایج مشابهی دست یافتند. آن‌ها دریافتند که حضور ترکیبات آنتی اکسیدانی در طی نگهداری گوشت به طور معناداری میزان تولید ازت باز فرار را کاهش می‌دهد که با نتایج تحقیق حاضر هم راستا است.



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

نتایج ارزیابی شاخص بافت

بررسی نتایج ارزیابی شاخص سختی نشان داد که اختلافات معناداری بین میزان شاخص سختی تیمارهای گوشت گوساله وجود داشت ($p\leq$۰/۰۵). میزان افزایش شاخص گوشت سختی بافت عبارت از اوج نیرو پس از اولین سختی فشردگی نمونه توسط پیستونک می‌باشد. میزان سختی به عنوان شاخصی از کیفیت بافت محسوب می‌گردد که می‌تواند به همراه شاخص‌های دیگر حاصل بررسی نتایج نشان داد که استفاده از جلبک‌های *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* از آزمون آنالیز پروفیل بافت با نتایج به دست آمده از ارزیابی حسی همبستگی مناسبی داشته و بیانگر کیفیت فرآورده از دیدگاه بیوفیزیکی باشد. میزان سختی در مقادیر بالای یک درصد استفاده به دلیل افزایش درصد جذب آب از سطح گوشت گوساله باعث افزایش شاخص سختی در تیمارهای گوشت گوساله در طی مدت زمان نگهداری

گردید ($p\leq$۰/۰۵). شاخص سختی بافت در روز ۲۸ نگهداری با کاهش معناداری مواجه بود ($p\leq$۰/۰۵). نرخ این کاهش به عواملی مثل میزان تغییر ماهیت پروتئین‌های میوفیبریل و وسعت از هم گسیختگی این پروتئین‌ها بستگی دارد. از طرف دیگر Eymard (et al.,2009) بیان کرده‌اند که ترکیبات حاصل از اکسیداسیون لیپید می‌تواند پروتئین‌ها را با پیوندهای عرضی ایجاد شده تغییر دهد، که در نتیجه آن منجر به کاهش در عملکرد پروتئین به واسطه دناتوراسیون پروتئین می‌شود. استفاده از جلبک‌ها با استفاده از خواص آنتی اکسیدانی از تولید ترکیبات حاصل از اکسیداسیون لیپیدها ممانعت نموده و میزان سختی با شیب کمتری کاهش می‌یابد. همچنین کیتوزان و ناتامایسین با ممانعت از فعالیت باکتری‌های پروتئولتیکی عامل فساد گوشت در طی نگهداری از کاهش شاخص سختی تیمارهای گوشت گوساله نیز ممانعت نموده و افزایش میزان استفاده از این ترکیبات در تقابل و اثرات سینرژیستی می‌تواند از کاهش شاخص سختی و بهم خوردن بافت گوشت گوساله ناشی از تجزیه پروتئولتیکی ممانعت نماید (حسن زاده و همکاران ۱۳۹۰).

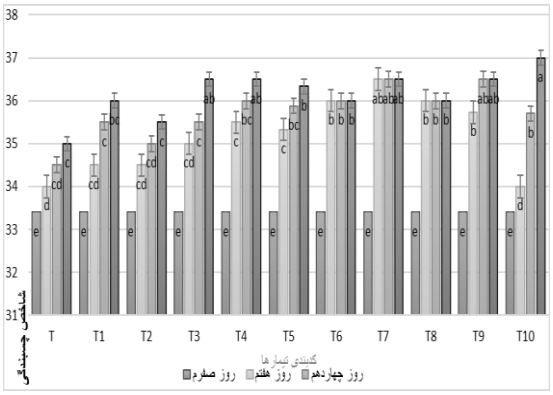
کاربرد پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور بر روی کیفیت و ماندگاری گوشت مرغ در دمای یخچال را بررسی نمودند و دریافتند که استفاده از کیتوزان به دلیل دارا بودن اثرات ضدمیکروبی از کاهش سختی بافت گوشت گوساله ممانعت می‌نماید که با نتایج تحقیق حاضر در توافق بود. همچنین میانگین شاخص قابلیت جویدن کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و اختلافات معناداری بین شاخص قابلیت جویدن تیمارهای گوشت گوساله وجود ندارد ($p>$۰/۰۵). با افزایش میزان استفاده از جلبک از سطح یک درصد به بالا در فرمولاسیون پوشش بسته‌بندی میزان شاخص قابلیت جویدن تیمارهای گوشت گوساله را به طور معناداری کاهش یافت ($p\leq$۰/۰۵). استفاده از ناتامایسین اثرات معناداری بر روی قابلیت جویدن تیمارهای گوشت گوساله نشان نداد ($p>$۰/۰۵). همچنین با افزایش میزان استفاده از کیتوزان از سطح یک درصد به بالا در فرمولاسیون پوشش بسته بندی میزان شاخص قابلیت جویدن تیمارهای گوشت گوساله را به طور معناداری کاهش یافت ($p\leq$۰/۰۵). در طی زمان نگهداری شاخص سختی تیمارهای گوشت گوساله افزایش یافت که به نوبه خود میزان شاخص قابلیت جویدن را نیز کاهش داد اما میزان شاخص سختی در تیمارهای با مقدار ۱ درصد کیتوزان به طور معناداری کمتر از سایر تیمارها بود ($p\leq$۰/۰۵). اما در تیمارهای دارای مقادیر بالاتر از یک درصد جلبک‌های *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* میزان شاخص سختی افزایش و میزان قابلیت جویدن نیز کاهش یافت ($p\leq$۰/۰۵). شرافتی چالشتری و همکاران (۱۳۹۴) در بررسی اثرات پوشش کیتوزان همراه با اسانس لیمو بر کیفیت میکروبی ماهی قزل‌آلا نیز دریافتند که استفاده از پوشش کیتوزان در طی زمان نگهداری با حفظ رطوبت ماهی می‌تواند از کاهش قابلیت جویدن در طی زمان نگهداری نیز ممانعت کند که با نتایج تحقیق حاضر نیز همراستا بود. همچنین با توجه به نمودار۴ میزان میانگین شاخص فنری بودن تیمارهای گوشت گوساله در تیمار شاهد در طی مدت زمان نگهداری ۲۸ روز به طور معناداری کاهش می‌یابد ($p\leq$۰/۰۵). میزان کاهش در تیمارهای گوشت گوساله با یک درصد جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* کمتر از تیمارشاهد می‌باشد اما با افزایش میزان استفاده از جلبک‌ها به مقادیر ۲/۵ درصد کاهش معناداری نیز در شاخص فنری بودن تیمارهای گوشت گوساله در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد ($p\leq$۰/۰۵). میزان شاخص فنری بودن تیمارهای گوشت گوساله در تیمارهای با مقادیر یک درصد جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* و همچنین یک درصد جلبک *کلرلا ولگاریس* تغییرات معناداری را نشان

نداد ($p>۰/۰۵$). همچنین نوع جلبک مورد استفاده نیز تاثیرات معناداری بر روی خصوصیات فنری بودن تیمارهای گوشت گوساله نشان نداد ($p>۰/۰۵$). در طی زمان نگهداری نیز از میزان شاخص فنری بودن در کلیه تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری کاسته شد و میزان این کاهش در انتهای روز ۲۸ نسبت به سایر روزهای نگهداری با شیب بیشتری مواجه بود ($p\leq۰/۰۵$). همچنین میزان کاهش شاخص فنری در تیمارگوشت گوساله شاهد به میزان بالاتری در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد ($p\leq۰/۰۵$). همچنین در تیمارهای گوشت گوساله با مقادیر بالاتر از یک درصد استفاده از جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* میزان شاخص فنری نیز کاهش معناداری داشت ($p\leq۰/۰۵$). استفاده از کیتوزان و همچنین ناتامایسین در مقادیر بین ۱ تا ۲/۵ درصد نیز میزان شاخص فنری بودن را در تیمارهای گوشت گوساله کاهش داد ($p\leq۰/۰۵$). کشسانی عبارت است از میـزان برگشـت پـذیری کشسانی نمونه به شکل اولیه پس از تغییـر شـکل توسـط اولـین فشردگی. متداولترین روش برای محاسبه میزان برگشت طول نمونه به حالـت اولیـه پـس از دومـین فشـردگی، تقسیم بر طول اولیه نمونه پیش از اولین فشردگی است. این شاخص تنها برای نمونه‌های قابلیت جویدن جامد، به صورت خاصیت صـمغی × کشسـانی محاسـبه می‌شود. این شاخص به صفات پلاستیکوالاستیک بودن جسم مربوط می‌شود. این شاخص عمدتا به صورت درصد بیان شـده و نشـانگر قـدرت بانـدهای پـروتئین-پروتئین و پروتئین-آب موجود در شبکه سـه بعـدی ژل است. بنابراین هر چـه میـزان عـددی شاخص کشسانی بیشتر باشد، ژل تولید شده از انسجام بیشـتری برخـوردار است. در طی زمان نگهداری به دلیل افزایش میزان پروتئولیز گوشت گوساله در نتیجه فساد اکسیداتیو و میکروبی میزان فساد و پروتئولیز، خاصیت کشسانی تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری کاهش یافت. در تیمارهای دارای جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس وکلرلاولگاریس به میزان یک و یک و نیم درصد خاصیت کشسانی به دلیل تعدیل تغییرات فیزیکوشیمیایی، میکروبی در طی نگهداری حفظ شد اما دز مقادیر بالاتر استفاده از جلبک در فرمولاسیون پوشش بسته بندی، به دلیل افزایش میزان سختی در تیمارهای گوشت گوساله میزان شاخص کشسانی نیز کاهش می‌یابد. کیتوزان نیز علیرغم دارا بودن خصوصیات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی دارای قابلتی جذب آب و تشکیل ژل بوده و می‌تواند با افزایش مدت زمان نگهداری در مقادیر بالای استفاده به دلیل افزایش درصد رطوبت سطحی محصول باعث تغییرات ساختار پروتئینی و همچنین افزایش فعالیت آبی و کاهش خصوصیات کشسانی محصول شود. (شرافتی چالشتری و همکاران۱۳۹۴) در بررسی اثرات کیتوزان حاوی اسانس‌های اکالیپتوس و زیره بر مدت زمان نگهداری ماهی قزل آلا نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. آن ها دریافتند که افزایش میزان استفاده از کیتوزان در فرمولاسیون پوشش بسته بندی باعث کاهش قابلیت کشسانی بافت ماهی می‌شود اما در مقادیر یک درصد استفاده می‌تواند با دارا بودن خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی به حفظ خصوصیات کشسانی بافت کمک نماید که با نتایج تحقیق حاضر نیز همراستا بود. استفاده از کیتوزان در مقادیر یک ونیم و دو درصد در فرمولاسیون پوشش بسته بندی باعث کاهش میزان شاخص به هم پیوستگی تیمارهای گوشت گوساله در طی ۲۸ روز نگهداری شد اما میزان این کاهش روز ۱۴ و ۲۸ بیشتر از روز هفتم گزارش شد ($p\leq۰/۰۵$).

استفاده از جلبک *کلرلا ولگاریس* و همچنین *اسپیرولینا پلاتنسیس* اثرات معناداری از نظر نوع جلبک مورد استفاده بر روی میزان شاخص انسجام تیمارهای گوشت گوساله نشان نداد ($p>۰/۰۵$) اما استفاده از آن در مقادیر بالای یک درصد در فرمولاسیون پوشش بسته

بندی میزان شاخص انسجام تیمارهای گوشت گوساله را به طور معناداری کاهش داد ($p\leq$۰/۰۵). در تیمارهای گوشت گوسال پوشش‌دهی شده با استفاده از ناتامایسین نیز در طی زمان نگهداری میزان کاهش شاخص انسجام به طور معناداری پایین‌تر از تیمار شاهد گزارش گردید و استفاده از آن در مقادیر بالاتر اثرات معناداری بر روی تیمارهای گوشت گوساله نداشت ($p>$۰/۰۵). اما در طی زمان نگهداری میزان کاهش شاخص انسجام در تیمارهای با مقادیر دو درصد ناتامایسین از تیمارهای دارای ۱/۵ درصد ناتامایسین به طور معناداری کمتر بود ($p\leq$۰/۰۵). در طی زمان نگهداری ۲۸ روز میزان شاخص انسجام در کلیه تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری کاهش یافت و میزان شاخص انسجام در تیمار شاهد کمتر از کلیه تیمارهای گوشت گوساله بود ($p\leq$۰/۰۵). در انتهای روز ۲۸ نگهداری میزان شاخص انسجام در تیمار دارای یکدرصد جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* و جلبک *کلرلا ولگاریس* و کیتوزان یک درصد و همچنین ناتامایسین دودرصد از کلیه تیمارها بالاتر بود ($p\leq$۰/۰۵). شاخص به هم پیوستگی، آزمایش نحوه پایداری یک فرآورده در برابر تغییر شکل پس از دومین فشردگی، نسبت به رفتار آن در طول تغییر شکل اول توسط اولین فشردگی است. با گذشت هفت روز ذخیره سازی شاخص به هم پیوستگی تا حدودی ثابت ماند، اما در روز ۱۴ از ذخیره‌سازی، پیوستگی در تیمار گوشت چرخ کرده به طور معناداری کاهش می‌یابد. دلایلی مانند نگهداری طولانی مدت در حالت انجماد، تغییر ماهیت پروتئین‌های میوفیبریلی و همچنین توسعه فعالیت-های پروتئولیتیکی، باعث کاهش کلی در خاصیت به هم پیوستگی می‌شود. از طرف دیگر ایمارد و همکاران (۲۰۰۹) اظهار داشتند که ترکیبات حاصل از اکسیداسیون لیپید می‌تواند پروتئین‌ها را با پیوندهای عرضی ایجاد شده دستخوش تغییر کند که در نتیجه منجر به یک کاهش در عملکرد پروتئین به واسطه دناتوراسیون پروتئین می‌شود. بنابراین می‌توان روند کاهشی شاخص به هم پیوستگی در گوشت گوساله را در طول زمان نگهداری توجیه کرد. از سوی دیگر میزان این شاخص برای تیمار گوشت گوساله در طی روز هفت و ۱۴ نگهداری کاهش یافته که با توجه به پروتئولیز شیمیایی و میکروبی پروتئین‌های میوفیبریلی و کاهش میزان چربی بافت در نتیجه افزایش اکسیداسیون چربی آن می‌توان چنین روندی را انتظار داشت. با توجه به نمودار ۸ مشاهده شد که اختلافات معناداری بین میزان شاخص الاستیسیته تیمارهای گوشت گوساله در روز صفرم وجود نداشت ($p\leq$۰/۰۵). در طی بازه زمانی نگهداری ۳۰ روزه میزان شاخص الاستیسیته تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری کاهش یافت ($p\leq$۰/۰۵). کمترین میزان شاخص الاستیسیته تیمارهای گوشت گوساله در طی مدت زمان نگهداری ۲۸ روزه به تیمار گوشت گوساله شاهد فاقد پوشش بسته بندی تعلق داشت ($p\leq$۰/۰۵). تیمارهای گوشت گوساله بسته بندی شده با پوشش بسته بندی دارای یک درصد جلبک *کلرلا ولگاریس* و *اسپیرولینا پلاتنسیس* و همچنین تیمارهای گوشت گوساله دارای کیتوزان به میزان یک ونیم و دو درصد نیز از میزان الاستیسته کمتری از تیمارهای گوشت گوساله پوشش دهی شده با مقادیر یک درصد کیتوزان برخوردار بودند ($p\leq$۰/۰۵). میزان کاهش شاخص الاستیسیته در تیمارهای گوشت گوساله در طی زمان نگهداری ۲۸ روز کمتر از کلیه تیمارها بوده است ($p\leq$۰/۰۵). در انتهای روز ۲۸ نگهداری میزان شاخص الاستیسیته در تیمار دارای یک درصد جلبک *اسپیرولینا پلاتنسیس* و جلبک *کلرلا ولگاریس* و کیتوزان یک درصد و همچنین ناتامایسین دو درصد از کلیه تیمارها بالاتر بود ($p\leq$۰/۰۵). با توجه به نمودار ۹ مشاهده شد که میانگین شاخص صمغی بودن کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و

اختلافات معناداری بین شاخص صمغی بودن تیمارهای گوشت گوساله در روز صفرم نگهداری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). با افزایش میزان استفاده از کیتوزان و جلبک های *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* به مقادیر یک ونیم و دو درصد در فرمولاسیون پوشش بسته بندی میزان شاخص صمغی بودن تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری طی هفت روز اول با افزایش معناداری مواجه بود ($p>۰/۰۵$). اما در طی روز ۱۴ و ۲۸ نگهداری میزان شاخص صمغی شدن اختلافات معناداری با میزان شاخص صمغی شدن در هفت روز اول نگهداری نداشتند ($p>۰/۰۵$). میزان شاخص صمغی شدن در تیمارهای گوشت گوساله بسته‌بندی شده با پوشش دارای یک درصد کیتوزان و همچنین یک درصد جلبک های *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* به میزان یک درصد دارای کمترین میزان افزایش شاخص صمغی شدن در طی دوره ۲۸ روز نگهداری بود ($p\leq۰/۰۵$). همچنین با افزایش میزان استفاده از ناتامایسین در طی دوره نگهداری میزان شاخص صمغی شدن تیمارهای گوشت گوساله با کاهش معناداری مواجه بود ($p\leq۰/۰۵$). خاصیت صمغی حاصل‌ضرب سختی در پیوستگی بوده و به صفت حسی صمغی و خمیری بودن مربوط مـی‌شـود. در حقیقت نیروی لازم برای هضم دهانی مواد غذایی نیمه جامد وآماده کردن آن برای بلع اسـت (قنبـرزاده، ۱۳۸۸). قابلیت جوییدن در تیمار شاهد با کاهش شاخص pH و همچنین افزایش میزان اکسیداسیون چربی و تغییرات بافتی آن و کاهش قابلیت کشانی تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری کاهش یافت ($p\leq۰/۰۵$). در طی زمان نگهداری شاخص سختی تیمارهای گوشت گوساله افزایش یافت که به نوبه خود میزان شاخص قابلیت جویدن را نیز کاهش داد اما میزان شاخص سختی در تیمارهای با مقدار یک درصد کیتوزان به طور معناداری کمتر از سایر تیمارها بود ($p\leq۰/۰۵$). اما در تیمارهای دارای مقادیر بالاتر از یک درصد جلبک-های *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* میزان شاخص سختی افزایش و میزان قابلیت جویدن نیز کاهش یافت ($p\leq۰/۰۵$). شرافتی چالشتری و همکاران (۱۳۹۴) در بررسی اثرات پوشش کیتوزان همراه با اسانس لیمو بر کیفیت میکروبی ماهی قزل‌آلا نیز دریافتند که استفاده از پوشش کیتوزان در طی زمان نگهداری با حفظ رطوبت ماهی می تواند از کاهش قابلیت جویدن در طی زمان نگهداری نیز ممانعت کند که با نتایج تحقیق حاضر نیز همراستا بود. با افزایش میزان استفاده از کیتوزان و جلبک های *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* به مقادیر یک ونیم و دو درصد در فرمولاسیون پوشش بسته‌بندی میزان شاخص چسبندگی تیمارهای گوشت گوساله به طور معناداری طی هفت روز نگهداری با افزایش معناداری مواجه بود ($p>۰/۰۵$). اما در طی روز ۱۴ و ۲۸ میزان شاخص چسبندگی اختلافات معناداری با میزان شاخص چسبندگی در روز هفت نگهداری نداشتند ($p>۰/۰۵$). میزان شاخص چسبندگی در تیمارهای گوشت گوساله بسته بندی شده با پوشش دارای یک درصد کیتوزان و همچنین یک درصد جلبک‌های *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* به میزان یک درصد دارای کمترین میزان افزایش شاخص چسبندگی در طی دوره ۲۸ روز نگهداری بود ($p\leq۰/۰۵$). همچنین با افزایش میزان استفاده از ناتامایسین در طی دوره نگهداری میزان شاخص چسبندگی تیمارهای گوشت گوساله با کاهش معناداری مواجه بود ($p\leq۰/۰۵$). استفاده از کیتوزان با افزایش میزان درصد جذب رطوبت به دلیل ایجاد حالت ژله‌ای در محصول در مقادیر یک ونیم و دو درصد باعث افزایش چسبندگی تیمارهای گوشت گوساله می‌شود اما در مقادیر یک درصد کیتوزان دو درصد ناتامایسین با ممانعت از فساد میکروبی و تولید متابولیت‌های قندی ناشی از تخمیر پروتئین‌ها می‌تواند از افزایش شاخص چسبندگی تیمارهای گوشت گوساله در طی زمان نگهداری ممانعت نماید.

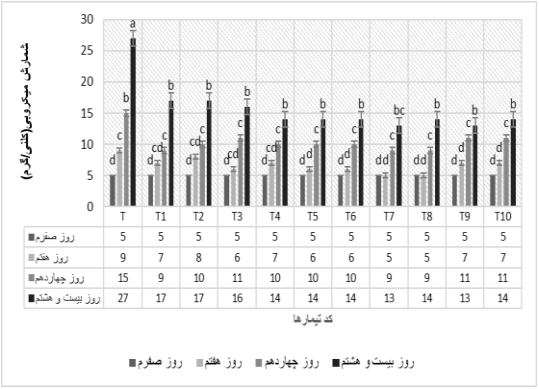


نمودار ۴: مقایسه میانگین تغییرات بافت تیمارهای گوشت گوساله در طی بیست و هشت روز نگهداری

نتایج ارزیابی میزان جمعیت میکروبی کل

با توجه به شکل ۵ مشاهده شد که میانگین جمعیت میکروبی کل کلیه تیمارهای در روز تولید (صفرم نگهداری) یکسان بوده و اختلافات معناداری بین جمعیت میکروبی کل تیمارهای گوشت گوساله در روز صفرم نگهداری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). با توجه به نتایج ارزیابی جمعیت میکروبی کل مشاهده شد که در روز صفرم (روز تولید) میزان جمعیت میکروبی کل در کلیه تیمارهای گوشت گوساله یکسان بود ($p\leq۰/۰۵$). اما در طی مدت زمان نگهداری میزان جمعیت میکروبی کل به طور معناداری با افزایش مواجه بود ($p\leq۰/۰۵$). در تیمار شاهد میزان افزایش جمعیت میکروبی کل در طی ۲۸ روز زمان نگهداری به بالاترین میزان خود رسید ($p\leq۰/۰۵$). در تیمارهای گوشت گوساله نیز با افزایش میزان استفاده از کیتوزان و جلبک‌های *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلاپلاتنسیس* شاخص جمعیت میکروبی کل به میزان کمتری افزایش می‌یابد ($p\leq۰/۰۵$). میزان افزایش جمعیت میکروبی کل در تیمارهای گوشت گوساله بسته بندی شده با مقادیر ناتامایسین دو درصد نیز کمتر از تیمار شاهد و کمتر از تیمارهای گوشت گوساله با میزان یک درصد جمعیت میکروبی کل می‌باشد ($p\leq۰/۰۵$). بررسی نتایج ارزیابی جمعیت میکروبی کل در تیمارهای گوشت گوساله حاکی از افزایش کلی جمعیت میکروبی در کلیه تیمارها در طی ۲۸ روز زمان نگهداری بود ($p\leq۰/۰۵$). اما در تیمارهای با پوشش بسته بندی با افزایش میزان استفاده از جلبک‌های *اسپیرولینا پلاتنسیس* و *کلرلاولگاریس* میزان شاخص جمعیت میکروبی کل به طور معناداری کاهش یافت ($p\leq۰/۰۵$). همچنین با افزایش میزان استفاده از ناتامایسین و همچنین کیتوزان نیز میزان شاخص میکروبی به طور معناداری با کاهش مواجه بود ($p\leq۰/۰۵$). خاصیت ضد میکروبی کیتوزان به علت واکنش یونی بین گروههای کاتیونی مولکول‌های کیتوزان و گروه‌های آنیونی غشاء سلولی میکروب است و با افزایش میزان کیتوزان در فرمولاسیون پوشش بسته بندی بر میزان این واکنش‌ها با دیواره غشاهای سلولی افزوده شده و در نتیجه بر میزان خاصیت ضدمیکروبی آن نیز افزوده شد. *اسپیرولینا* غنی از پروتئین، رنگدانه (شامل کلروفیل، میکسوزانتوفیل، بتاکاروتن، زی زانتین و زانتوفیل (کربوهیدرات، مقدار نسبتا بالایی از سیانوکوبالامین (ویتامین B12، مواد معدنی و سوپراکسید دیسموتاز است. سوپراکسید دیسموتاز مهارکننده رادیکال آزاد است. برای C- فایکوسیانین موجود در *اسپیرولینا* خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی، اثرات آنتی اکسیدانی در شرایط آزمایشگاهی و در شرایط in vivo، اثرات ضد التهابی، حفاظت عصبی و محافظت کبدی گزارش شده است (علوی و همکاران، ۱۳۹۴). خواص آنتی اکسیدانی فایکوسیانین به فعالیت مهارکنندگی رادیکال و کلاته کردن فلز نسبت داده شد. فلاوونوئید، بتا کاروتن، ویتامین A و آلفا توکوفرول موجود در اسپیرولینا تا حد زیادی در فعالیت بالای آنتی اکسیدانی حاصل از این ریزجلبک شرکت می‌کنند. گزارش شده است عصاره اسپیرولینا (استخراج شده با سیال فوق بحرانی) به عنوان آنتی اکسیدانی قابل دسترس و ایمن، می‌تواند جایگزینی برای آنتی اکسیدان‌ها و ضدمیکروب‌های سنتزی باشد. از این رو با فعالیت آنتی اکسیدانی جلبک‌ها میزان

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



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

نتیجه‌گیری کلی

یکی از روش‌های نگهداری مواد غذایی استفاده از افزودن نگهدارنده‌های شیمیایی و طبیعی در غلظت‌های مختلف به انواعی از مواد غذایی است که با توجه به رویکرد مصرف‌کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی در مواد غذایی و احتمال سرطان‌زایی ترکیبات نگهدارنده سنتزی، استفاده از مواد طبیعی با خاصیت ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی مانند اسانس‌های گیاهی رو به افزایش است. با این حال به دلیل آزاد شدن اسانس‌ها به صورت کنترل نشده در ماده غذایی و ایجاد بوها و طعم‌های تند و یا غیرفعال شدن قسمتی از این ترکیبات فعال به دلیل واکنش با مواد غذایی، عملکرد آن ها کاهش می‌یابد. بنابراین می‌توان از پوشش های خوراکی حاوی ترکیبات ضد میکروبی که به صورت کندتر سبب آزادسازی این ترکیبات به داخل گوشت می‌شوند و سبب حفظ غلظت های بالاتر ترکیبات ضدمیکروبی در سطح گوشت می‌شود، کارایی این روش را افزایش دادبه طور کلی بررسی نتایج تحقیق حاضر نشان داد با در نظر گرفتن خواص فیزیکوشیمیایی، حسی پوشش بسته‌بندی با میزان یک درصد استفاده از جلبک های *پلاتنسیس*، *کلرلاولگاریس*، یک درصد کیتوزان و یک درصد ناتامایسین به عنوان بهترین ترکیب جهت پوشش بسته بندی معرفی شد.

منابع

۱. اسلامی‌مشکنانی، ع.، فدایی‌نوغانی، و، خسروی‌دارائی، ب. و مزینانی، ص.، ۱۳۹۳، بررسی اثر افزودن پودر ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بر برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ پروبیوتیک حاوی پودر نعناع، فصلنامه فناوری‌های نوین غذایی، سال دوم، شماره ۶، صص ۷۰-۵۹.

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

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

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

۵. صالحی‌فر، م.، شهبازی‌زاده، س.، خسروی‌دارائی، ک.، بهمدی، ه. و فردوسی، ر. ا.، ۱۳۹۱، بررسی امکان

استفاده از پودر ریزجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس در تولید کلوچه صنعتی، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال ۷، شماره ۴، ص ۷۲-۶۳.

۶. کاظمی‌اسلامیان، م. ر.، ۱۳۸۱، فرهنگ علوم و صنایع غذایی، انتشارات شیرین عسل، تبریز، ایران.

۷. مطلبی، ی.، اجاق، س. م.، مطلبی، ع. و سفری، ر.، ۱۳۹۵، اثر پوشش کیتوزان همراه با ناتامایسین بر کیفیت تخم ماهی سفید دریای خزر طی نگهداری در دمای یخچال، مجله علمی شیلات ایران، سال ۲۵، ص ۱۲۰-۱۰۹.

۸. مولانژاد، م.، هدایتی‌فرد، م. و گلستان، ل.، ۱۳۹۵، افزایش ماندگاری کالباس گوشت حرارت دیده با نگهدارنده طبیعی کیتوزان به عنوان جایگزین نیتریت سدیم، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۶، شماره ۱، صص ۱۱۲-۱۰۹.

9. Ahsan, S., Arefin, M. S., Munshi, J. L., Begum, M. N., Maliha, M., Rahman, S., & Kabir, M. S., 2016, In vitro antibacterial activity of Spirolina Platensis extracts against clinical isolates of Salmonella enteric servers TyPHi and Paratyphoid (SUBP03), S. J. of Microbiol., 5 (1), 22-25.

10. Anchang, K.Y., Lewis, D., & Nji, C., 2016, Toxicological, Phytochemical and Antibacterial assessment of Chlorella vulgaris and Spirolina Platensis power in albino rats, A preliminary study, J. Integr. Med., 1 (3).

11. Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., Papageorgiou, G. E., Vassilopoulos, V. N., Mantis, A. J., Trakatellis, A. G., 1994, Rapid sensitive and specific thiobarbituric acid methods for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feedstuff samples. J. Agric. Food Chem., 42, 1931-1937.

12. Camo, J., Beltrán, J. A., & Roncalés, P., 2008, Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. Meat Sci., 80, 1086-1091.

13. Elshouny, W. A. E. F., El-Sheekh, M. M., Sabae, S. Z., Khalil, M. A., & Badr, H. M., 2017, Antimicrobial Activity of Spirolina Platensis against Aquatic Bacterial Isolates, J. microbiol., biotechnol. Food sci., 6 (5), 1203.

14. Fajardo, P., Martins, T., Ficioos, C., PAstrana, L. & Teixeira, J. A., 2010, Evaluation of a chitosan-based edible film as carrier of kanamycin to improve the storability of Saloio cheese. J Food Eng., 101, 349-356.

15. Gao, M., Feng, L., Jiang, T., Zhu, j., Linglin, F., Dongxiang, Y., & Jianrong, L., 2014, The use of rosemary extract in combination with nisin to extend the shelf life of pompano (Trachinotus ovatus) fillet during chilled storage, Food Control, 37, 1-8.

16. Hetta, M., Mahmoud, R., El-Senousy, W., Ibrahim, M., El-Taweel, G., & Ali, G., 2014, Antiviral and antimicrobial activities of Spirolina Platensis, World J. PHarm. PHarm. Sci., 3 (6), 31-39.

17. Mallikarjun, G. K. G., Kavitha, M. D., & Sarada, R., 2015, Antihyperglycemic, antioxidant and antimicrobial activities of the butanol extract from Spirolina Platensis, J. Food Biochem., 39 (5), 594-602.

18. Nattress, F. M., Yost, C. K., & Baker, L. P., 2001, Evaluation of the ability of lysozyme and nisin to control meat spoilage bacteria, Int. J. Food Microbiol., 70, 111-119.

19. Smeti, S., Atti, N., Manouachi, M., & Munoz, F., 2013, Use of dietary rosemary (Rosmarinus officinal is L.) essential oils to increase the shelf life of Barbarize light lamb meat, Small Ruminant Research, 113, 340-345.

20. Welscher, Y. M., Nape, H., Balague, T., & Masia, M., 2008, Kanamycin Blocks Fungal growth by Binding Specifically to Ergo sterol without Permeabilizing the Membrane, The J. Biol. Chem., 283 (10), 6393-6401.

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

Shafiei R[1], Mostaghim T[2*]

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

***Corresponding author:** *toktammostaghim@yahoo.com*

Received: 9 August 2019 Accepted: 9 November 2019

Abstract

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

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

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

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