



## بررسی اثرات پوشش کیتوزان و نانو کیتوزان بر افزایش ماندگاری همبرگر تازه در دمای یخچال

رامین ستارزاده<sup>۱</sup>، عباسعلی مطلبی مغانجوقی\*<sup>۱</sup>، سید هدایت حسینی<sup>۲</sup>، حامد اهری<sup>۳</sup>

۱- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۳- گروه مهندسی علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۲۸

### چکیده

همبرگر یکی از مهمترین و پر مصرف ترین محصولات تولید شده از گوشت قرمز است که به دلیل طعم لذیذ آن خصوصا در بین جوانان در همه کشورهای جهان طرفداران بسیاری دارد. با توجه به این که این محصول تا زمان مصرف فرآورده ای خام است، ممکن است در اثر افزایش بار میکروبی و یا تغییرات شیمیایی دچار فساد شود. در این مطالعه اثرات پوشش کیتوزان و نانو کیتوزان در افزایش زمان ماندگاری همبرگر تازه، طی نگهداری در یخچال (دمای  $4 \pm 1$ ) در مدت زمان ۲۴ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای این منظور همبرگر در پنج تیمار شامل محلول های کیتوزان با غلظت ۱٪، کیتوزان ۲٪، نانو کیتوزان ۱٪، نانو کیتوزان ۲٪ و محلول آب مقطر به عنوان نمونه کنترل در روز های صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱ و ۲۴ مورد ارزیابی و مطالعه قرار گرفتند. تاثیر ضد میکروبی پوشش ها با شمارش بار میکروبی کل (TVC)، باکتری های سرمادوست، باکتری های اسید لاکتیک، کپک و مخمرها و همچنین خصوصیات شیمیایی با اندازه گیری میزان pH، تیوباربتوریک اسید (TBA)، پراکسید (PV)، ترکیبات نیتروژنی فرار (TVB-N) بررسی شد. ارزیابی حسی نیز که شامل ارزیابی طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی بود توسط پنج نفر ارزیاب آموزش دیده انجام گرفت. نتایج تحقیق نشان داد که هر دو پوشش کیتوزان و نانو کیتوزان بر روی نمونه های همبرگر نگهداری شده در دمای یخچال موثر بودند اما نمونه های دارای پوشش نانو کیتوزان به طور معنی داری نسبت به نمونه های حاوی پوشش کیتوزان اثرات ضد میکروبی بیشتری داشتند و قادر به کنترل بهتر اکسیداسیون نمونه ها طی دوره نگهداری بودند که این نتایج کارایی بیشتر کیتوزان در ابعاد نانو را نسبت به کیتوزان با اندازه های بزرگ تر نشان می دهد. در این تحقیق تیمار محلول نانو کیتوزان با غلظت ۲٪ بهترین نتایج نگهداری را نشان داد.

**کلمات کلیدی** افزایش ماندگاری، دمای یخچال، نانو کیتوزان، همبرگر

\* abbasalimotallebi@gmail.com

## مقدمه

کیتوزان خاصیت ضد میکروبی بسیار مناسبی در برابر میکروارگانیسم های بیماری زا و عامل فساد، مانند باکتری های گرم مثبت و گرم منفی و قارچ ها دارد. حداقل غلظت مهاری کیتوزان بر روی میکروارگانیسم ها ۰.۰۵ درصد می باشد. کیتوزان با غلظت یک درصد خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی مناسبی در گوشت دارد (3). استفاده از کیتوزان به دلیل زیست سازگاری و زیست تخریب پذیری، بی طعم و غیر سمی بودن و غیره در مواد غذایی رو به افزایش است. در مطالعه اجاق و همکاران (۲۰۱۰) پوشش کیتوزان توانست به شکل معنی داری اکسیداسیون چربی، فساد شیمیایی و تکثیر میکروب ها را کاهش دهد (4).

نانو تکنولوژی در سال های اخیر، جهت بهبود عملکرد مواد پوششی مورد تحقیق و مطالعات فراوانی قرار گرفته است. از ویژگی های مهم و برجسته کاربرد نانو تکنولوژی، اصلاح و ارتقاء عملکرد مواد و قابلیت کاهش مقدار مواد شیمیایی مورد استفاده در ترکیب می باشد. در یک وزن برابر از مواد، ترکیبات نانو به دلیل کوچک بودن ذرات سطح بیشتری را نسبت به فرم معمولی همان مواد پوشش می دهند. یا به عبارت دیگر مقدار کمتری از ذرات نانو (ENPS) عملکردی مشابه یا بیشتر از فرم فله همان مواد با حجمی بیشتر را خواهد داشت. (5).

در مطالعه رضانی و همکاران (۲۰۱۵) اثر بخشی پوشش کیتوزان و نانو کیتوزان را بر کیفیت فیله کپور نقره ای در شرایط نگهداری در یخچال مقایسه نمودند (6). نتایج نشان دهنده این بود که هر دو پوشش کیتوزان و نانو کیتوزان بر روی فیله های کپور نقره ای نگهداری شده در دمای یخچال موثر بودند اما پوشش نانو کیتوزان نسبت به کیتوزان فعالیت ضد میکروبی بالاتری را ارایه می کرد علاوه بر این نانو کیتوزان نسبت به کیتوزان قابلیت بیشتری در مهار TVB-N نشان داد. نتایج تحقیق بیانگر این بود که برای افزایش مدت ماندگاری و تاخیر در افت کیفیت فیله کپور نقره ای پوشش نانو کیتوزان موثرتر از کیتوزان می باشد.

یکی از نیازهای اساسی بدن انسان پروتئین می باشد. گوشت قرمز از غنی ترین منابع تامین کننده پروتئین برای بدن به شمار می آید که علاوه بر داشتن اسیدهای آمینه ضروری و غیر ضروری حاوی اسیدهای چرب، مواد معدنی مانند آهن و انواع ویتامین ها می باشد. همبرگر به عنوان یکی از پر مصرف ترین فرآورده های گوشتی به دلیل aw بالا و pH و مواد مغذی تشکیل دهنده خود محیط مناسبی برای تکثیر انواع باکتری های بیماریزا و مولد فساد می باشد.

مواد غذایی فساد پذیر در طول مراحل آماده سازی، نگهداری و توزیع نیاز به حفاظت دارند تا فاسد نشوند. حفظ زنجیره سرمایی از مراحل تولید و پس از آن تا محل فروش می تواند در این زمینه موثر باشد اما به تنهایی نمی تواند از فساد مواد غذایی جلوگیری کند. با توجه به توقع و علاقه مصرف کنندگان جهت استفاده از محصولات غذایی طبیعی، تازه و ایمن و همچنین به جهت برتری رقابتی تولید کنندگان را مجاب نموده که به دنبال روش های نوین در تولید، بسته بندی و استفاده از افزودنی های جدید طبیعی و ایمن باشند.

یکی از بهترین نگهدارنده های طبیعی کیتوزان است. FDA این ماده طبیعی را به عنوان افزودنی غذایی ایمن در لیست GRAS<sup>1</sup> قرار داده است (1). کیتوزان یک بیوپلیمر پلی ساکاریدی کاتیونی طبیعی اصلاح شده و مشتق شده از استیل زدایی کیتین می باشد. کیتین بیوپلیمری با ساختار پلی ساکاریدی است که در پوشش خارجی سخت پوستان (مانند خرچنگ و میگو)، قارچ ها و در ساختار درونی بی مهرگان یافت می شود. کیتوزان و مشتقات آن فعالیت های بیولوژیکی متنوعی از جمله آنتی اکسیدانی، ضد میکروب، ضد سرطان، ضد فشار خون، ضد انعقاد، ضد چربی، ضد آلرژی، ضد التهاب، ضد دیابت، پایین آورنده کلسترول بد خون و محافظت کننده عصبی را نشان داده اند (2). مهم ترین ویژگی کیتوزان خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن است.

<sup>1</sup> Generally Recognized as Safe

## مواد و روش ها

### تهیه محلول کیتوزان و نانو کیتوزان

برای تهیه محلول کیتوزان، از پودر کیتوزان برند سیگما آلدریچ کشور آلمان با وزن مولکولی متوسط و درجه استیل زدایی ۷۵ درصد استفاده شد ابتدا محلول اسید استیک یک درصد حجمی / حجمی تهیه و سپس محلول کیتوزان ۱ و ۲ درصد وزنی / حجمی در اسید مذکور تهیه گردید. برای انحلال کامل کیتوزان به مدت ۳ ساعت روی هیتز مغناطیسی با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد، هم زده شد سپس جهت منعطف سازی ۰/۷۵ میلی لیتر گلیسرول به ازای هر گرم کیتوزان به محلول اضافه گردید و مدت ۱۰ دقیقه با همزن مغناطیسی در دمای اتاق مخلوط گردید. سوسپانسیون به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۳ برای حذف ناخالصی ها صاف گردید (4).

برای تهیه محلول پوششی نانو کیتوزان بر اساس ژلاسیون یونوتروپیک، با استفاده از محلول تری پلی فسفات سدیم انجام شد. سدیم تری پلی فسفات برای ایجاد غلظت ۱ و ۲ درصد در آب حل گردید. در دمای اتاق زیر هم زن مغناطیسی ۴ میلی لیتر از محلول تری پلی فسفات سدیم به ۱۰۰ میلی لیتر محلول کیتوزان اضافه گردید مخلوط برای مدت ۴۰ دقیقه هم زده شد و سپس برای همگن سازی محلول، مدت ۳۰ دقیقه در معرض امواج فراصوتی با دستگاه سونیکیشن با قدرت ۱/۵ کیلووات قرار گرفت (7).

### آماده سازی نمونه های همبرگر و پوشش دهی همبرگر

برای تهیه هر نمونه ۱۰۰ گرمی همبرگر، گوشت سردست تازه گوساله (۴۸ ساعت پس از کشتار) پس از استخوان گیری، به قطعات کوچک بریده و با دستگاه چرخ گوشت با پنجره سایز ۳۲ میلی متر چرخ گردید و پس از افزودن پیاز، نمک و فلفل سیاه در میکسر قرار داده شد و در آخر با دستگاه مولتی فرمر، قالب بندی گردید.

همبرگرها در محلول های پوششی که شامل محلول کیتوزان ۱٪، محلول کیتوزان ۲٪، محلول نانو کیتوزان ۱٪، محلول نانو کیتوزان

۲٪ و نمونه شاهد (بدون پوشش) به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند و سپس به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق (۲۰ درجه سانتیگراد) قرار گرفتند تا پوشش روی همبرگرها شکل گیرد و در نهایت در کیسه های پلی اتیلنی زیپ دار به صورت مجزا بسته بندی و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد برای بررسی های میکروبی، شیمیایی و ارزیابی حسی در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۱ و ۲۴ نگهداری شدند.

### ارزیابی میکروبی

از نمونه های همبرگر در شرایط استریل ۱۰ گرم جدا نموده و با ۹۰ میلی لیتر آب پیتونه استریل داخل دستگاه استومیکر به مدت ۲ دقیقه قرار داده شد تا محیط هموژن شده و رقت اولیه ایجاد گردید. سپس رقت های سریالی ۱۰ تایی متوالی در لوله های شیشه ای محتوی ۹ میلی لیتر محلول استریل آب پیتونه تهیه گردید. پس از کشت و گرمخانه گذاری باکتری های مورد آزمایش شمارش شدند. برای شمارش کل باکتری های مزوفیل (TMC) و باکتری های سرمادوست (TPC) از محیط پلیت کانت آگار (PCA) استفاده شد که پلیت های TMC بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد شمارش شدند و پلیت های باکتری های (یخچال) شمارش شدند (8). همچنین برای شمارش باکتری های لاکتیک اسید از محیط (MRS) به صورت کشت سطحی و گرمخانه گذاری در شرایط بی هوازی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انجام شد (9). و برای شمارش کپک و مخمر از محیط (YGC) استفاده شد. پلیت های YGC بعد از ۵ روز انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد شمارش شدند (9).

### ارزیابی شیمیایی

#### اندازه گیری pH

برای اندازه گیری pH از دستگاه pH متر دیجیتال مدل (pH/Ion meter 781 metrohm) استفاده شد. ۱۰ گرم از نمونه با ۴۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و به صورت هموژن در آمده، بعد از یک دقیقه توسط دستگاه pH متر دیجیتال اندازه گیری گردید (10).

## اندازه گیری میزان TVB-N

قابل قبول) و عدد ۵ بهترین (خیلی خوب) بود و عدد ۳ هم حد قابل قبول در نظر گرفته شد (13).

## تجزیه و تحلیل و آنالیز داده ها

در این پژوهش تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام شد. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش داده شد و با استفاده از نرم افزار Spss (نسخه ۱۶.۰) با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. بررسی نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنوف و همگی واریانس داده ها با آزمون لون انجام شد. به منظور ارزیابی پارامترهای مختلف شیمیایی، میکروبی و حسی در زمان های مختلف از آزمون Anova و جهت مقایسه واریانس ها و ارزیابی معنی دار بودن داده ها از آزمون Duncan استفاده گردید و P-value کمتر از ۰.۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel انجام گرفت.

## نتایج

## بررسی خصوصیات محلول نانوکیتوزان

اندازه ذرات و پتانسیل زتا پارامترهای اساسی در ارزیابی ویژگیهای نانوذرات هستند (14). با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، میانگین اندازه ذرات در کیتوزان نانوکپسوله ۱٪ برابر ۱۹/۸۷ نانومتر و برای کیتوزان نانوکپسوله ۲٪ برابر ۴۸ نانومتر به دست آمد. پتانسیل زتا که نشان دهنده بار سطحی ذرات می باشد در کیتوزان نانوکپسوله ۱٪ برابر ۴۲/۲+ الکترون ولت (ev) و در کیتوزان نانوکپسوله ۲٪ پتانسیل زتا ۴۸/۴ الکترون ولت بود. اگر پتانسیل زتا زیر 30 mv باشد یعنی نزدیک به صفر باشد نانوذره تشکیل نشده است و رسوب می دهد و هر چه این عدد بیشتر از 30 mv باشد پایدارتر است در واقع هر چه این عدد بالاتر باشد انرژی سطحی پایین را نشان داده و کروی بودن ذره و دوام آن را تایید می نماید که در این تحقیق، این مقادیر پتانسیل پایداری نانوذرات تولید شده را نشان می دهند زیرا پتانسیل زتا بیش از 30 (mv) داشتند.

در یک بالن ته گرد ۴ عدد پرل روی اکسید نشده انداخته و ۲ گرم اکسید منیزیم به آن اضافه گردید. ۱۰ گرم از همبرگر جدا نموده همراه با ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر درون بالن ته گرد ریخته و سپس روی هیتر قرار داده شد. در مزور ۱۰۰ به مقدار ۶۰ میلی لیتر اسید بوریک ریخته و داخل بشر ۵۰۰ میلی لیتری انتقال داده و به آن ۵ قطره معرف متیل رد اضافه گردید رنگ محلول به صورت قرمز آجری کم رنگ در آمد. دستگاه تقطیر روی بالن ته گرد سوار نموده و انتهای آن به داخل بشر هدایت گردید در اثر جوش آمدن بالن ته گرد و عمل تقطیر، رنگ قرمز آجری به سبز متمایل به آبی تغییر نمود و این عمل تا رسیدن حجم بشر به ۲۰۰ میلی لیتر ادامه داده شد. سپس دستگاه تقطیر را خاموش نموده و تیره کردن محلول داخل بشر، تا زایل شدن رنگ و تبدیل مجدد آن به رنگ قرمز آجری با اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال ادامه دادیم. حجم اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال مصرفی را اندازه گیری نموده و محاسبه میزان TVB-N انجام پذیرفت (11).

## اندازه گیری عدد پراکسید PV

به عنوان محصولات اولیه اکسیداسیون لیپیدها مقدار pv بر اساس روش Pearson اندازه گیری شد و نتایج به صورت meq peroxide/kg گزارش گردید.

## اندازه گیری میزان تیوباربتوریک اسید TBARS

برای سنجش تیوباربتوریک اسید اکسیداسیون لیپید را بر اساس روش Sallam و همکاران اندازه گیری نموده و نتایج بر اساس میلی گرم مالون دی آلدئید در یک کیلوگرم گوشت بیان گردید (12).

## ارزیابی حسی

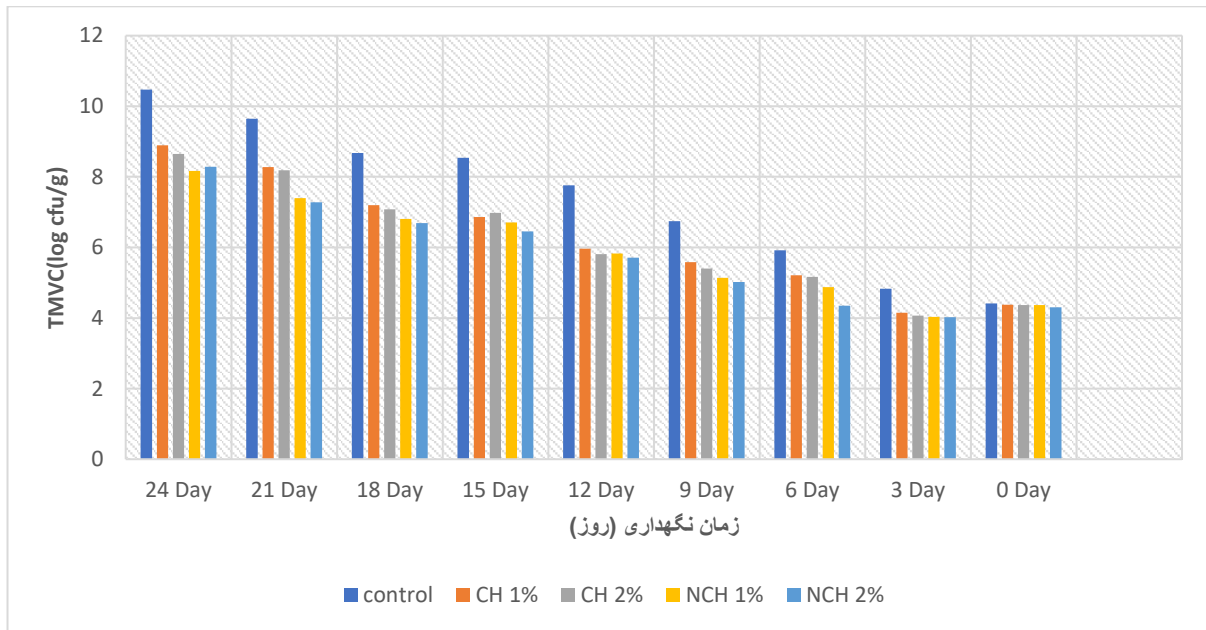
برای ارزیابی حسی، همبرگرها در یک ماهی تابه به مدت حدود ۱۰ دقیقه حرارت داده شدند. همبرگرهای خام و پخته توسط ۸ نفر ارزیاب آموزش دیده به روش ۵ نقطه ای مورد ارزیابی حسی قرار گرفت که شامل رنگ، بو، طعم و مقبولیت کلی بود. ارزیاب ها با استفاده از توصیفی ۵ امتیازی صفات حسی را ارزیابی کردند که در آن عدد ۱ بدترین (غیر

## نتایج آزمون های میکروبی

### نتایج تغییرات باکتری های مزوفیل کل (TMC)

مزوفیل تمام تیمارها با افزایش زمان به طور قابل توجهی افزایش یافت. که در این میان نمونه شاهد بیشترین و نمونه حاوی نانوذرات کیتوزان ۲٪ کمترین میزان جمعیت باکتری را داشتند همچنین در تمام روزهای نگهداری نمونه حاوی نانو کیتوزان ۱٪ و ۲٪ در مقایسه با نمونه حاوی کیتوزان ۱٪ و کیتوزان ۲٪ از جمعیت باکتری مزوفیل کمتری برخوردار بودند. بین نمونه های حاوی نانو کیتوزان ۱٪ و ۲٪ تفاوت معنی داری وجود نداشت ( $p > 0.05$ ).

باکتری های مزوفیل زمان ماندگاری محصول را تعیین و کیفیت محصول غذایی را نشان می دهند (15). شکل ۱ باکتری های مزوفیل نمونه های همبرگر را طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد نشان می دهد. از نظر بار میکروبی کل بین زمان ها اختلاف معنی داری وجود داشته و همچنین با افزایش زمان، میانگین بار میکروبی کل نیز افزایش پیدا کرده است. جمعیت باکتری های

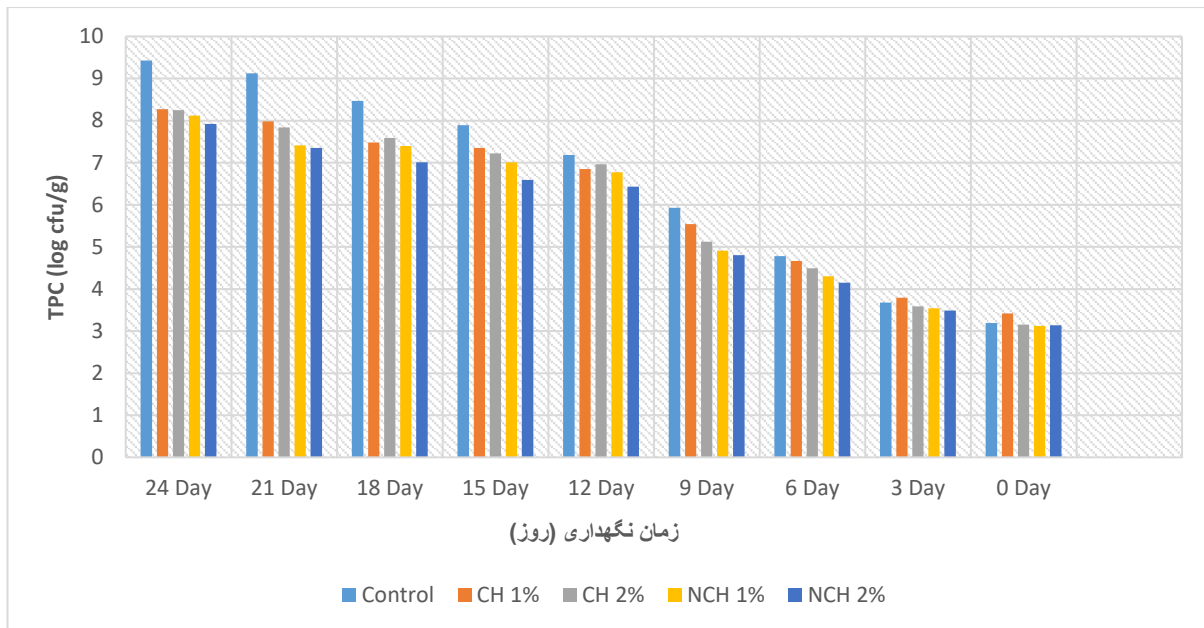


شکل ۱- شمارش باکتری های مزوفیل نمونه های همبرگر طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد

### نتایج تغییرات بار میکروبی سرمادوست

کمتری بودند. که این امر حاکی از توانایی بهتر ذرات کیتوزان در مقیاس نانو است. همچنین افزایش غلظت نانوکیتوزان اثر ضدباکتری بیشتری را در پی داشت به طوری که پس از ۱۲ روز نگهداری نمونه های حاوی نانوکیتوزان ۲٪ نسبت به نمونه های حاوی نانوکیتوزان ۱٪ حاوی جمعیت باکتری سرمادوست کمتری بودند ( $p < 0.05$ ).

همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است جمعیت باکتری های سرمادوست در تمامی تیمارها با افزایش زمان به طور قابل توجهی افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). در تمامی روزهای نگهداری، نمونه های حاوی پوشش نانوکیتوزان نسبت به نمونه های حاوی کیتوزان دارای فلور میکروبی

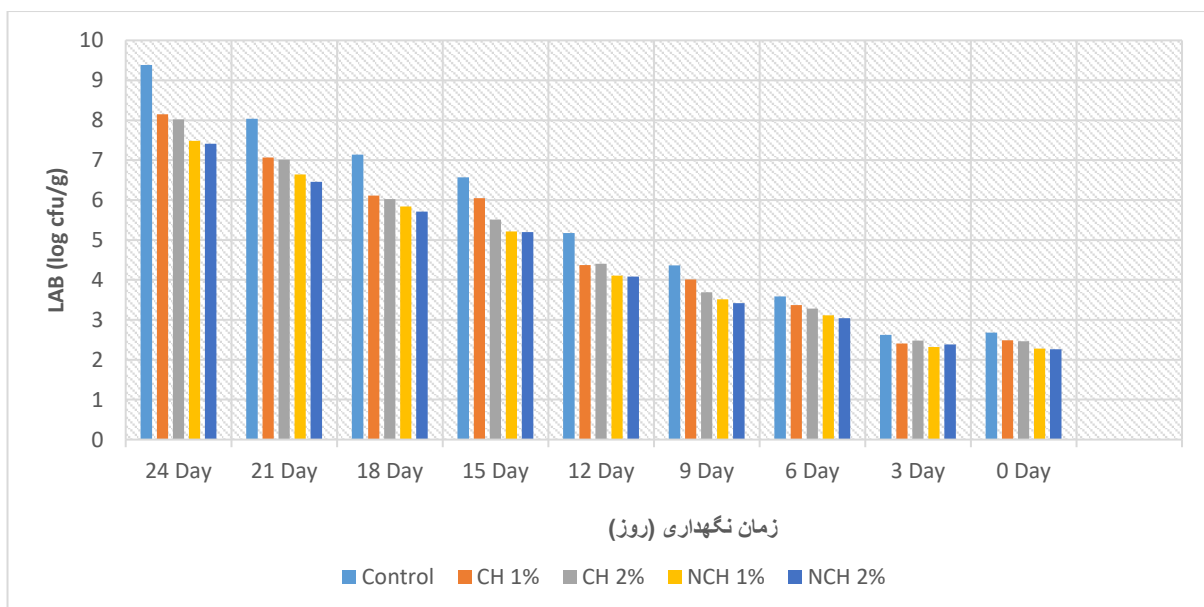


شکل ۲- شمارش باکتری های سرمادوست نمونه های همبرگر طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد

۲.۲۶-cfu/g بود و پس از ۲۴ روز نگهداری به ۹.۳۸ log cfu/g در نمونه شاهد و ۷.۴۱ log cfu/g در نمونه حاوی نانو کیتوزان ۲٪ رسید. از طرف دیگر، نانو کیتوزان در هر دو غلظت ۱٪ و ۲٪ نسبت به کیتوزان در هر دو غلظت ۱٪ و ۲٪ اثر بهتری داشت.

### نتایج تغییرات بار میکروبی لاکتیک اسید باکتری ها

همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است جمعیت باکتری های اسیدلاکتیک در تمامی نمونه ها روندی افزایشی داشت به طوری که تعداد اولیه باکتری های اسید لاکتیک در محدوده ۲.۶۸ log



شکل ۳- شمارش باکتری های لاکتیک اسید نمونه های همبرگر طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد

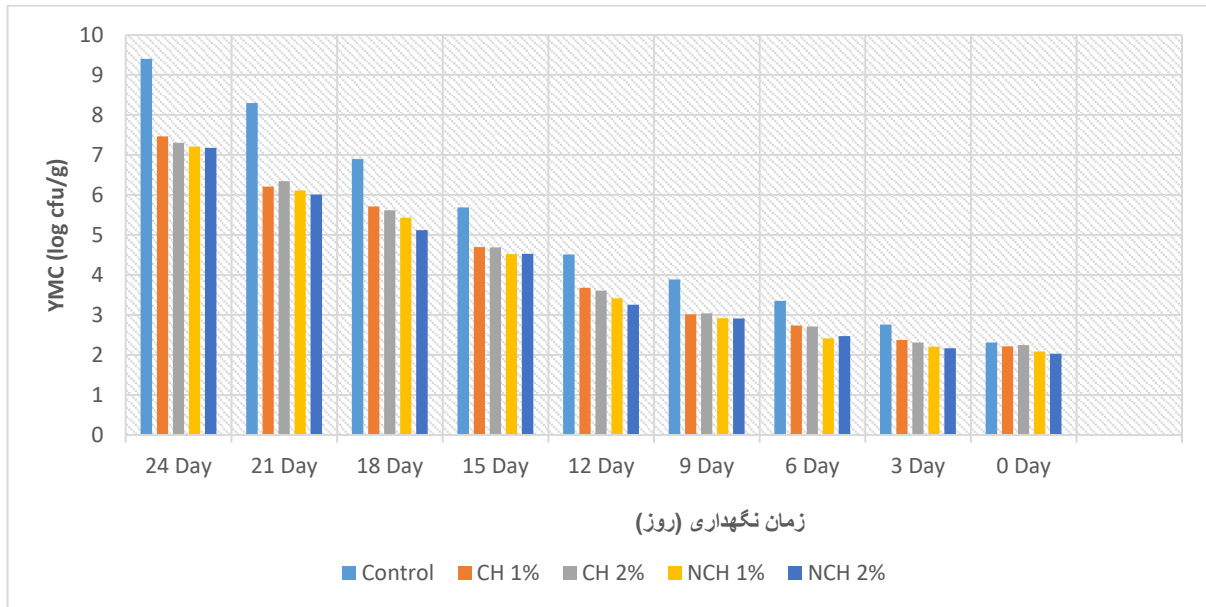
بیشترین میزان ۹.۴ log cfu/g متعلق به نمونه های شاهد بود. بر اساس مطالعات مختلف، نانو کیتوزان به دلیل سطح بزرگتر و میل ترکیبی بالاتر با سلول های میکروارگانیسم، فعالیت بازدارندگی قوی تری نسبت به کیتوزان نشان می دهد (۱۶).

### نتایج تغییرات بار کپک و مخمر

جمعیت کپک و مخمر تمامی نمونه های همبرگر در طول زمان نگهداری افزایش یافت و پس از ۲۴ روز نگهداری،

دیگر نشان داده است که حساسیت قارچ‌ها به کیتوزان بیشتر از باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت است، بنابراین کیتوزان سریعتر و بهتر در برابر قارچ‌ها از خود اثر بازدارندگی نشان می‌دهد (17).

در این تحقیق نیز همانطور که در شکل ۴ نشان داده شده، در مقایسه بین تاثیر نانو کیتوزان و کیتوزان از روز ۱۵ نگهداری به بعد نمونه‌های حاوی غلظت‌های ۱٪ و ۲٪ نانو کیتوزان دارای جمعیت کپک و مخمر کمتری نسبت به نمونه‌های حاوی کیتوزان در غلظت‌های ۱٪ و ۲٪ بودند. مطالعات



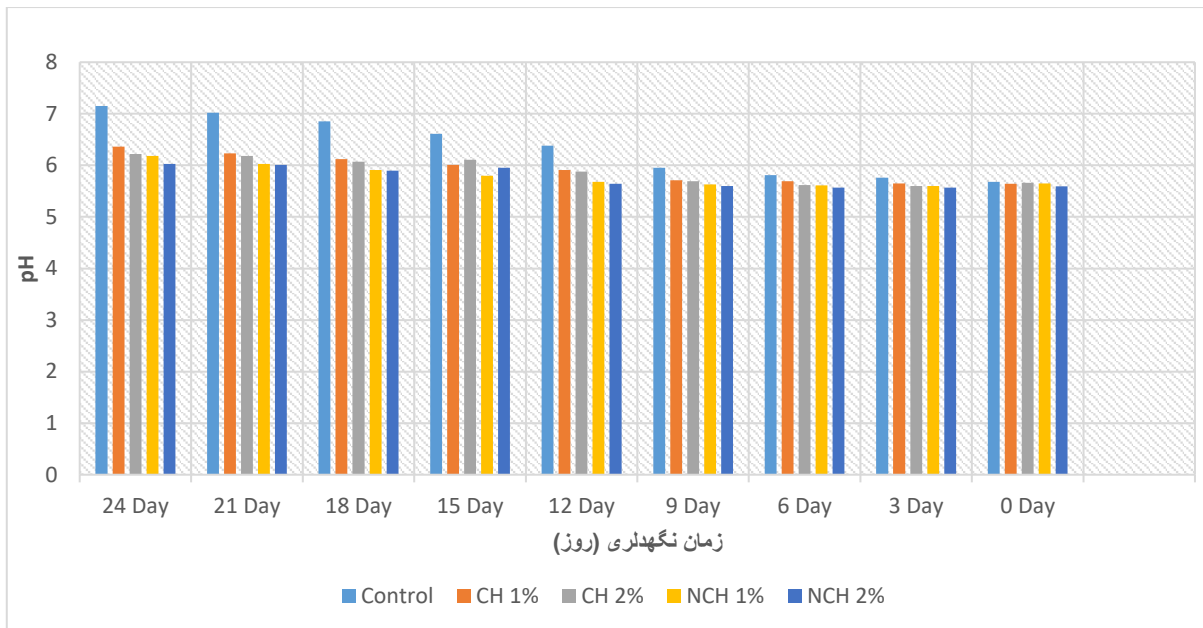
شکل ۴- شمارش کپک و مخمر نمونه‌های همبرگر طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد

داشت. در انتهای دوره نگهداری بیشترین میزان pH (7.15) مربوط به نمونه شاهد و کمترین میزان (6.03) به نمونه حاوی نانو کیتوزان ۲٪ متعلق بود. در مقایسه تاثیر نانو کیتوزان و کیتوزان، در روز ۲۴ ام نگهداری نمونه‌های حاوی کیتوزان ۱٪ و ۲٪ دارای pH بیشتری نسبت به نمونه‌های حاوی نانو کیتوزان ۱٪ و ۲٪ بودند اما این تفاوت معنی دار نبود ( $p > 0.05$ ).

## نتایج آزمون‌های شیمیایی

### نتایج تغییرات pH

در بررسی نتایج تغییرات در مقادیر pH نمونه‌های همبرگر، تا روز ششم نگهداری مقادیر pH نمونه‌ها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت ( $p > 0.05$ ) و در محدوده‌ی 5.57-5.81 بود؛ پس از آن مقدار pH تمامی تیمارها تا روز ۲۴ ام نگهداری روند افزایشی

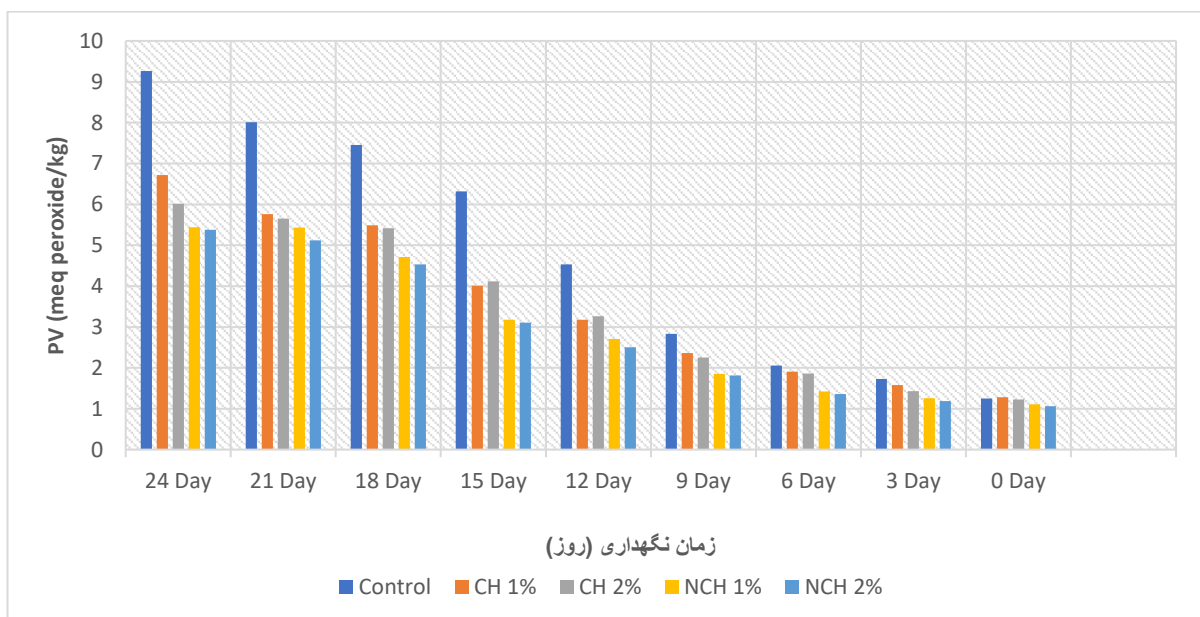


شکل ۵- بررسی تغییرات pH نمونه های همبرگر طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد

### نتایج تغییرات اندیس پراکسید

میزان  $5.38 \text{ meq/kg}$  مربوط به نمونه حاوی نانوکیتوزان ۲٪ بود. نمونه های حاوی نانوکیتوزان ۱٪ و ۲٪ به طور معنی داری دارای میزان اندیس پراکسید کمتری نسبت به نمونه حاوی کیتوزان ۱٪ و ۲٪ بودند.

اندیس پراکسید شاخص مناسبی برای میزان اکسیداسیون چربی- های مواد غذایی شناخته می شود. طبق استانداردهای مواد غذایی میزان عدد پراکسید مجاز در محصولات غذایی  $30 \text{ meq/kg}$  است (18). با توجه به شکل ۶ در این پژوهش مقدار پراکسید تمام نمونه ها در طول زمان نگهداری به طور قابل توجهی افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). در پایان زمان نگهداری (روز ۲۴ م)، بیشترین میزان اندیس پراکسید  $9.26 \text{ meq/kg}$  مربوط به نمونه شاهد و کمترین

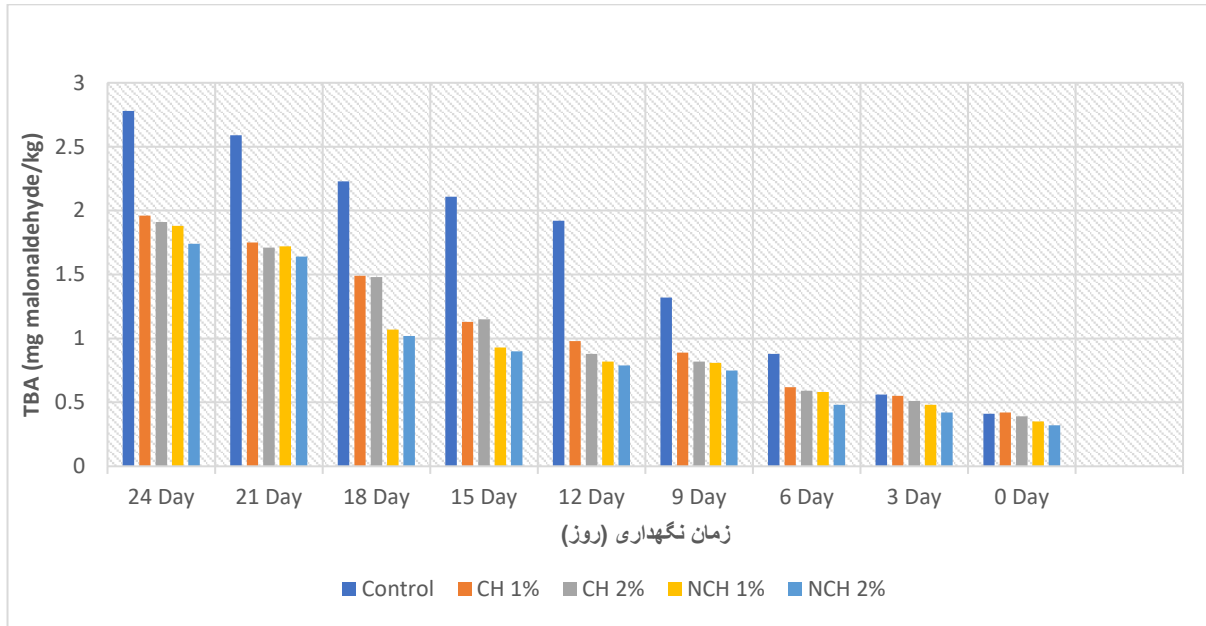


شکل ۶- بررسی تغییرات اندیس پراکسید نمونه های همبرگر طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد

مقدار TBA همه نمونه‌ها در طی ۲۴ روز نگهداری به طور قابل توجهی افزایش یافت. در پایان دوره نگهداری، حداقل (1.74) و حداکثر (2.78) شاخص TBA به ترتیب مربوط به نمونه حاوی نانو کیتوزان ۲٪ و نمونه شاهد بود و همچنین میزان شاخص TBA در نمونه‌های حاوی نانو کیتوزان نسبت به کیتوزان در غلظت مساوی کمتر بود.

### نتایج تغییرات تیوباربتوریک اسید TBARS

در مرحله دوم اکسیداسیون لیپیدی پراکسیدها به کتون و آلدهیدها اکسید می‌شوند. با توجه به شکل ۷، در طی ۹ روز اول نگهداری، مقدار TBA همه نمونه‌ها به جز نمونه شاهد زیر (mg

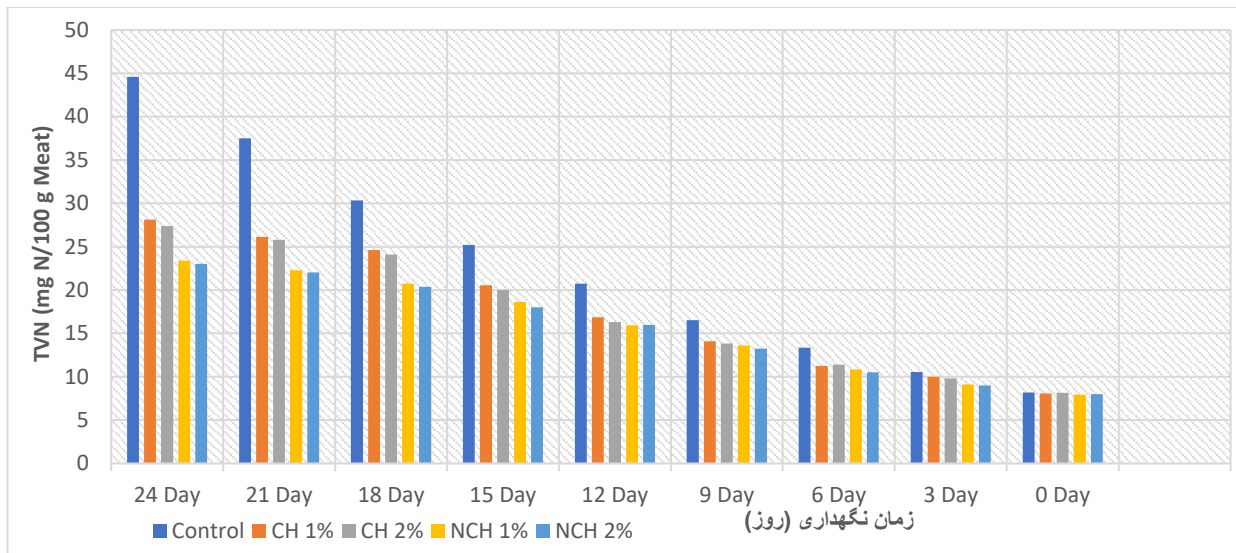


شکل ۷- بررسی تغییرات تیوباربتوریک اسید نمونه‌های همبرگر طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد

نمونه‌های حاوی نانو کیتوزان ۱٪ و ۲٪ نسبت به نمونه حاوی کیتوزان ۱٪ و ۲٪ حاوی بازهای نیتروژنی فرار کمتری بودند. این یافته حاکی از تاثیر ضدباکتریایی بهتر ذرات در مقیاس نانو نسبت به ذرات با ابعاد بزرگتر است. پس از ۲۴ روز نگهداری، نمونه‌ی شاهد دارای بیشترین میزان (44.61 mg N/100g) بازهای نیتروژنی فرار بود و کمترین مقدار مربوط به نمونه‌های نانو کیتوزان ۱٪ و ۲٪ به ترتیب مقدار (23.4 - 23.04 mg N/100g) بود.

### نتایج تغییرات بازهای نیتروژنی فرار TVB-N

بازهای نیتروژنی فرار به عنوان شاخصی برای فساد انواع گوشت و محصولات گوشتی شناخته می‌شوند. همانطور که در شکل ۸ نشان داده شده است. مقدار بازهای نیتروژنی فرار نمونه‌های همبرگر در محدوده (15.61-19.44 mg N/100g) بود. مقدار بازهای نیتروژنی فرار در تمامی نمونه‌ها در طول زمان نگهداری به طور قابل توجهی افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). پس از ۱۵ روز نگهداری

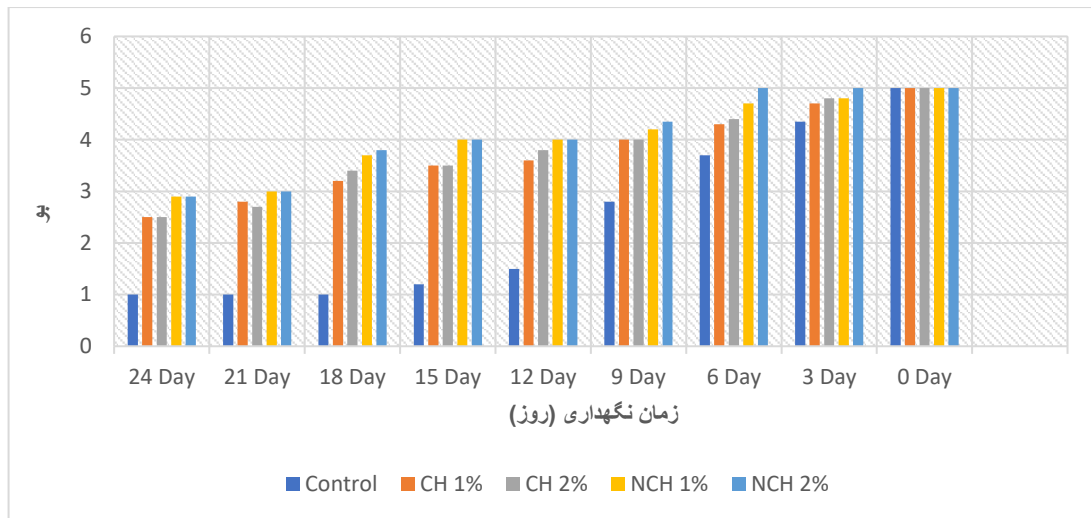


شکل ۸- بررسی تغییرات بازهای نیتروژنی فرار نمونه های همبرگر طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد

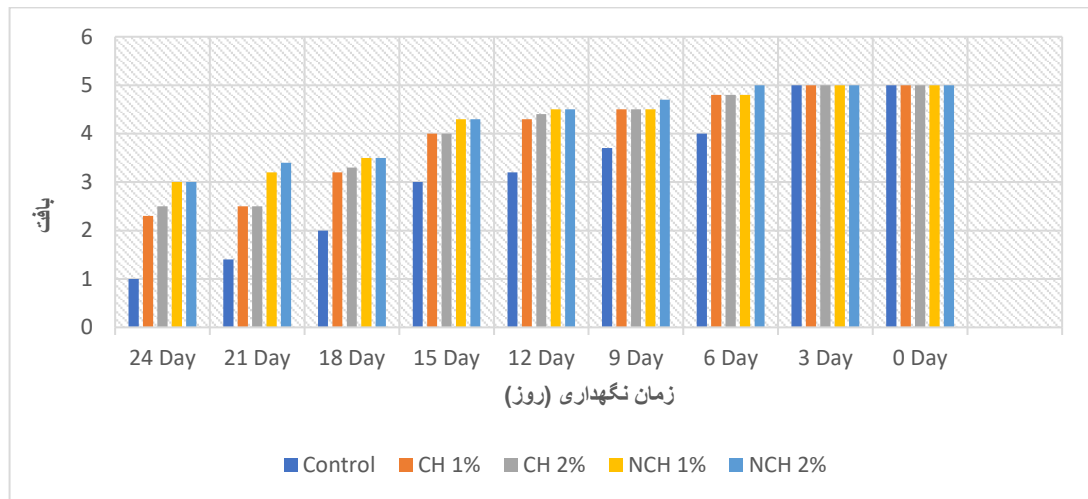
### نتایج مربوط به ارزیابی حسی

ایجاد بوی بد ناشی از اکسیداسیون دارند. . از نظر بافت نیز نمونه کنترل در انتهای دوره نگهداری دارای کمترین امتیاز (۱) و نمونه های نانوکیتوزان ۱٪ و نانوکیتوزان ۲٪ دارای بیشترین امتیاز (۳) بودند (شکل ۱۰). با توجه به شکل ۱۱، امتیاز طعم تمامی نمونه ها طی دوره نگهداری به طور معنی داری کاهش یافت ( $p < 0.05$ ) که در این میان در انتهای دوره نگهداری (روز ۲۴ ام) نمونه های نانوکیتوزان ۱٪ و نانوکیتوزان ۲٪ از طعم مطلوب تری از دیدگاه مصرف کنندگان برخوردار بودند و امتیاز ۲/۶ را دریافت کردند. مقایسه نمونه های حاوی کیتوزان و نانوکیتوزان در غلظت های مختلف نشان داد که نمونه های حاوی نانوکیتوزان در غلظت های ۱٪ و ۲٪ از نظر طعم، بو و بافت نسبت به نمونه های حاوی کیتوزان ۱٪ و ۲٪ از نظر مصرف کنندگان به میزان قابل توجهی برتری داشتند.

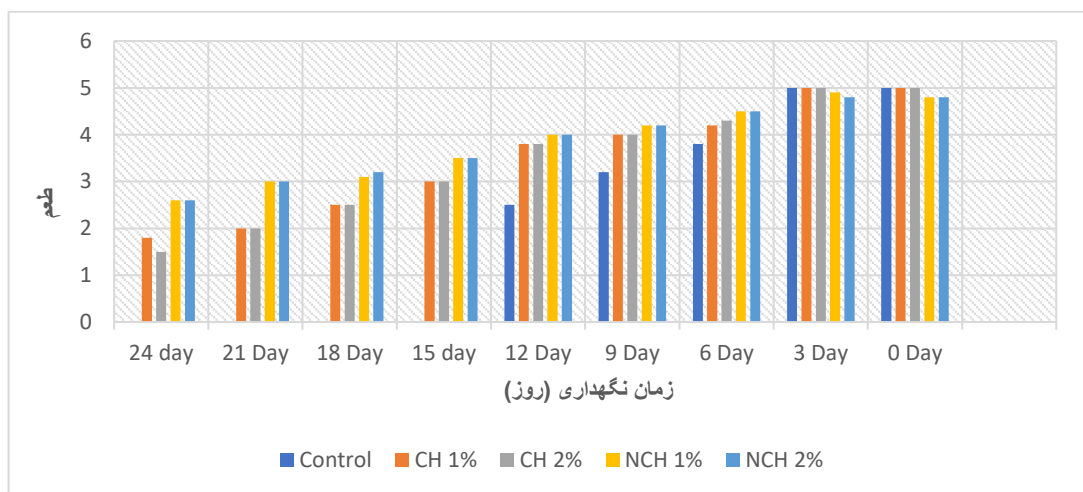
مهمترین جنبه ی تولید محصولات غذایی جدید پذیرش از نظر مصرف کنندگان است. به طور کلی می توان گفت که بررسی ارزیابی حسی گوشت و فرآورده های گوشتی یکی از مهمترین مراحل در بررسی کیفیت و پذیرش محصول توسط مشتری می باشد (19). تأثیر تیمارهای مختلف بر ویژگی های حسی (بو، بافت، طعم و پذیرش کلی) نمونه های همبرگر در شکل ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ نشان داده شده است. امتیاز بو تمامی نمونه ها طی ۲۴ روز نگهداری روند کاهشی داشت که در این میان نمونه کنترل کمترین امتیاز (۱) و نمونه های نانوکیتوزان ۱٪ و نانوکیتوزان ۲٪ بیشترین امتیاز (۲/۹) را داشتند (شکل ۹). مطالعات نشان داده است که بوی بد محصولات گوشتی می تواند ناشی از فساد میکروبی و یا بروز اکسیداسیون در محصول باشد. همچنین مشخص شده است که محصولات ثانویه اکسیداسیون مانند مالون آلدهید نقش مهمی در



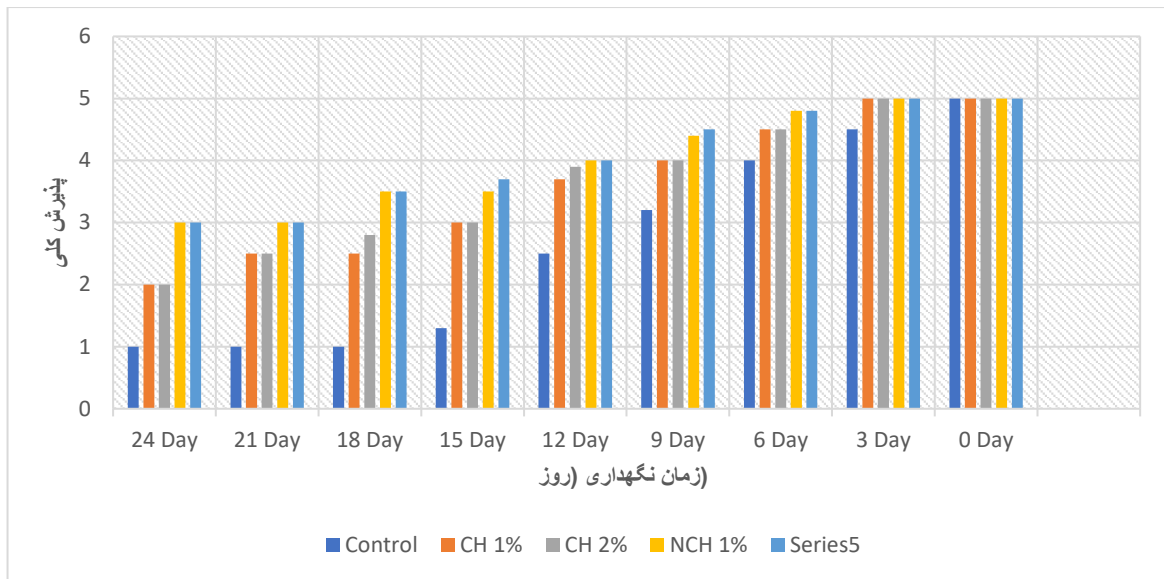
شکل ۹- ارزیابی حسی (بو) نمونه های همبرگر طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد



شکل ۱۰- ارزیابی حسی (بافت) نمونه های همبرگر طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد



شکل ۱۱- ارزیابی حسی (طعم) نمونه های همبرگر طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد



شکل ۱۲- ارزیابی حسی (پذیرش کلی) نمونه های همبرگر طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد

برای پی بردن به کیفیت بهداشتی یک محصول است و قابل مصرف یا غیر قابل مصرف بودن محصول را بیان می کند. طبق نظر موسسه بین المللی تعیین ویژگی های میکروبیولوژی مواد غذایی (ICMSF) بیشترین بار میکروبی قابل قبول میکروبیولوژیکی و به عبارت دیگر کیفیت مجاز گوشت تعداد  $7 \log \text{CFU/g}$  اعلام گردیده است که در این تحقیق، در نمونه شاهد در روز نهم به مرز بار میکروبی غیر قابل قبول رسیدند، در نمونه های با پوشش کیتوزان ۱ و ۲ درصد در روز پانزدهم و در نمونه های با پوشش نانو کیتوزان ۱ و ۲ درصد در روز هجدهم به نزدیکی مرز بار میکروبی قابل قبول رسیدند. اثر مثبت نانو کیتوزان توسط Ghorabi و Khodanazary در سال ۲۰۲۰ گزارش شده است که از نانو کیتوزان به عنوان پوشش فیلدهای ماهی کفشک زبان آبی طی نگهداری در دمای فرا سرما (۳- درجه سانتیگراد) استفاده کردند (20). Abdollahzadeh و همکاران نیز در سال ۲۰۲۳ تاثیر پوشش نانو کیتوزان حاوی عصاره گلپر را بر تغییرات بار میکروبی در فیلدهای رنگین کمان گزارش کردند که پوشش نانو کیتوزان همراه با عصاره به طور معنی داری باعث کاهش رشد باکتری های مزوفیل کل نسبت به سایر نمونه ها شد (21). همچنین در تحقیق Danilovic و همکاران در سال ۲۰۲۲ گزارش کردند که پوشش کیتوزان غنی شده با مرزه کوهی نانو کپسوله منجر به کاهش TVC به مقدار  $2.5 \log \text{CFU/g}$  در انتهای دوره نگهداری در گوشت گاو،

از نظر پذیرش کلی (شکل ۱۲) نیز امتیاز نمونه ها به ترتیب عبارت بود از: نانو کیتوزان ۲٪  $\sim$  نانو کیتوزان ۱٪  $<$  کیتوزان ۲٪  $\sim$  کیتوزان ۱٪  $<$  شاهد. این نتایج نشان می دهد که تمام تیمارها به جز نمونه شاهد تا ۱۵ روز نگهداری برای مصرف قابل قبول هستند. به طور کلی، ویژگی های حسی به ویژگی های میکروبی و شیمیایی نمونه ها بستگی دارد. نتایج مشابهی توسط Ramezani و همکاران در سال ۲۰۱۵، Li و همکاران در سال ۲۰۱۲ به ترتیب در ارزیابی حسی فیلدهای ماهی کپور نقره ای، کروکر زرد بزرگ گزارش شده است (6,11).

## بحث نتایج

### ارزیابی میکروبی

کاهش عمر نگهداری فرآورده های گوشتی همچون همبرگر به دلیل وقوع اکسیداسیون و فساد میکروبی از مهمترین چالش های صنعت مواد غذایی گوشتی می باشد. در این راستا پوشش دهی این محصولات راهکار مناسبی است که در دهه های اخیر بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است. طبق نتایج به دست آمده در این تحقیق تاثیر پوشش نانو کیتوزان بیشتر از پوشش کیتوزان در جلوگیری از فساد میکروبی مشاهده گردید. در ارزیابی تغییرات باکتری های مزوفیل کل بین زمان ها، اختلاف معنی داری وجود داشته و همچنین با افزایش زمان، میانگین بار میکروبی کل نیز افزایش پیدا کرده است. شمارش کلی میکروارگانیسم ها معیاری

سال ۲۰۰۶ و Masniyom و همکاران در سال ۲۰۰۵ نیز گزارش کردند که نانوکیتوزان تاثیر بازدارندگی قابل توجهی علیه باکتری‌های سرمادوست در ماهی سیمو ماهی سی باس دارد (26). در بررسی نتایج میکروب های اسید لاکتیک نیز نانو کیتوزان در هر دو غلظت ۱٪ و ۲٪ نسبت به کیتوزان در هر دو غلظت ۱٪ و ۲٪ اثر بهتری داشت که این یافته را می توان به اندازه نانو کیتوزان مرتبط دانست که گزارش شده است نانو ذرات کیتوزان به دلیل سطح بیشتر در واحد حجم و همچنین چگالی بار بیشتر تعامل بیشتری با سلول های باکتری برقرار می کنند که در نتیجه اثر ضد باکتری قوی تری از خود نشان می دهند (20). Fazlara و همکاران در سال ۲۰۲۲ گزارش دادند که در انتهای دوره نگهداری گوشت گاو پوشش داده شده با اسانس زیره سبز حاوی کیتوزان نانو کپسوله اثر معنی داری بر کاهش روند افزایشی لاکتیک اسید باکتری ها داشت (27). Shariatifar و همکاران نیز در سال ۲۰۱۸ تاثیر پوشش کیتوزان با اسانس گیاه مرزه نانو کپسوله را بر جلوگیری از روند افزایشی باکتری های اسید لاکتیک در مقایسه با نمونه شاهد گزارش دادند.

### ارزیابی شیمیایی

pH گوشت از پارامترهای کیفی مهم در انواع گوشت و محصولات گوشتی به شمار می رود چرا که ثبات رنگ گوشت، بو، طعم، تردی، کیفیت خوراکی، میزان فسادپذیری با آنزیم های میکروبی و نیز رشد میکروارگانیسم ها را تحت تاثیر قرار می دهد. pH گوشت تازه بعد از ذبح حیوان با توجه به مقدار اسید لاکتیک حاصل از گلیکولیز بی هوازی گلیکوژن تعیین می شود. pH نهائی در گوشت تازه حدود ۵.۵ است. افزایش میزان pH طی دوره نگهداری را می توان به تولید ترکیبات اساسی توسط آنزیم های میکروبی و درون زا نسبت داد (۲۷). در طول زمان نگهداری، استفاده از ذخیره ی گلوکز موجود در گوشت توسط میکروارگانیسم ها می تواند منجر به تجزیه پروتئین و تولید برخی از ترکیبات مانند تری متیل آمین و آمونیاک شود که می تواند مقدار pH را افزایش دهد (۸). همانطور که ذکر شد در بین تمامی نمونه ها، نمونه حاوی نانوکیتوزان ۲٪ کمترین مقدار pH را داشت که نشان دهنده این است که کیتوزان به صورت نانو می تواند به طور موثرتری از رشد میکروارگانیسم ها جلوگیری کند.

نسبت به نمونه شاهد گردید (22). مطالعات نشان داده است که فعالیت ضد باکتریایی کیتوزان مربوط به بار مثبت آن است که با بار منفی سطح سلول باکتری متصل می شود که در نتیجه باعث اختلال در غشاء و نشت اجزای سلولی به بیرون می شود. همچنین، کیتوزان می تواند از انتقال مواد مغذی به سلول های باکتریایی جلوگیری کند (23) از سوی دیگر شلاته کردن یون های فلزی و محدودیت دسترسی باکتری ها به این یون ها و در نهایت جلوگیری از تولید توکسین توسط باکتری و همچنین باند شدن با مولکول های DNA و ایجاد تداخل در سنتز mRNA و سایر پروتئین های مورد نیاز باکتری نیز از دیگر مکانیسم های ضد باکتریایی کیتوزان شناخته شده است (24).

شمارش باکتری های سرمادوست فاکتوری مهم در تعیین کیفیت غذای مصرفی است. باکتری های سرمادوست به عنوان مهمترین باکتری های موثر در ایجاد و پیشرفت فساد میکروبی در انواع محصولات گوشتی به دلیل نگهداری در دمای سرد شناخته شده اند. در این گروه از باکتری ها، به علت غالب بودن باکتری های گرم منفی، تاثیر ترکیبات با خاصیت ضد میکروبی بر روی آنها به مراتب کمتر و ضعیف تر است (15). در تمامی روزهای نگهداری، نمونه های حاوی پوشش نانو کیتوزان نسبت به نمونه های حاوی کیتوزان دارای فلور میکروبی کمتری بودند. که این امر حاکی از توانایی بهتر ذرات کیتوزان در مقیاس نانو است که می تواند عملکرد بهتری در بازدارندگی میکروارگانیسم ها نسبت به ذرات کیتوزان با ابعاد بزرگتر داشته باشند (20). همچنین افزایش غلظت نانو کیتوزان اثر ضد باکتری بیشتری را در پی داشت به طوریکه پس از ۱۲ روز نگهداری نمونه های حاوی نانو کیتوزان ۲٪ نسبت به نمونه های حاوی نانو کیتوزان ۱٪ حاوی جمعیت باکتری سرمادوست کمتری بودند ( $p < 0.05$ ). مشابه با این نتایج Ramezani و همکاران در سال ۲۰۱۵ و Lopez-Caballero و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثر ضد باکتریایی نانو کیتوزان را به ترتیب بر جمعیت باکتری های سرمادوست در فیله های ماهی کپور نقره ای و کیک ماهی گزارش کردند (6,25). همچنین Danilovic و همکاران در سال ۲۰۲۲ گزارش نمودند کیتوزان غنی شده با مرزه کوهی نانو کپسوله تاثیر بازدارندگی بر جمعیت باکتری های سرمادوست در گوشت گاو دارد (22). kacholi و همکاران در

دارد که قادر هستند اکسیداسیون لیپیدها را با تولید لیپاز و فسفو لیپاز در طول نگهداری گوشت و محصولات گوشتی افزایش دهند (28). در این راستا همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، حداقل میزان باکتری های سرمادوست متعلق به نمونه های نانوکیتوزان ۲٪ است که دارای کمترین مقدار پراکسید است.

در مرحله دوم اکسیداسیون لیپیدی پراکسیدها به کتون و آلدئیدها اکسید می شوند، تعیین شاخص TBA یکی از رایج ترین روشهای ارزیابی میزان اکسایش در محصولات غذایی است. TBA به عنوان شاخصی است که ویژگی های حسی محصول غذایی را به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار می دهد. به طوری که آستانه ی درک تندی ناشی از اکسیداسیون لیپیدی توسط مصرف کنندگان ۰.۵ میلی گرم مالون دی آلدئید به ازای هر کیلوگرم محصول گوشتی مشخص شده است. در تحقیق حاضر طی ۹ روز اول نگهداری، مقدار TBA همه نمونه ها به جز نمونه شاهد زیر (mg malondealdehyde/kg) ۱ بود که نشان می دهد هیدروپراکسیدها طی روزهای اول نگهداری به میزان زیادی به آلدئیدها اکسید نشده اند، اما پس از آن، مقدار TBA همه نمونه ها در طی ۲۴ روز نگهداری به طور قابل توجهی افزایش یافت. افزایش شاخص TBA نمونه ها در طول زمان نگهداری می تواند به خروج نسبی رطوبت از نمونه های همبرگر و برهمکنش اکسیژن هوا و لیپیدها مربوط باشد (31). تأثیر کیتوزان در جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها و تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون می تواند به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی آن و به دام اندازی اکسیژن باشد که از اکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می کند (4). همچنین مطالعات نشان داده است که کیتوزان می تواند از اکسیداسیون لیپیدها با شلاته کردن یون های فلزی جلوگیری کند (25). از سوی دیگر گزارش شده است که فعالیت آنتی اکسیدانی کیتوزان می تواند به وجود گروه های آمین در ساختار کیتوزان مرتبط باشد که می تواند منجر به تشکیل فلوروسفر پایدار از آلدئیدهای فرار تولیدی از تجزیه لیپیدها شوند (32). پژوهش های مختلفی اثر آنتی اکسیدانی کیتوزان را اثبات کرده اند Georgantelis و همکاران در سال ۲۰۰۷، Jeon و همکاران در سال ۲۰۰۲ و Sathivel و همکاران در سال ۲۰۰۷ که به ترتیب به بررسی تأثیر کیتوزان در جلوگیری از اکسیداسیون

مشاهدات مشابهی درباره تأثیر کیتوزان بر pH فیله کپور نقره ای طی دوره نگهداری توسط Du و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش شد (7). مشابه نتایج این تحقیق، Ramezani و همکاران نیز در سال ۲۰۱۵ گزارش دادند که پس از ۱۲ روز نگهداری فیله کپور نقره ای در دمای یخچال میزان pH نمونه های حاوی نانوکیتوزان نسبت به نمونه های حاوی کیتوزان به طور معنی داری کمتر بود (6). Kamani و همکاران در سال ۲۰۲۰ نیز بیان نمودند که نمونه های تیمار شده با نانوکیتوزان دارای مقادیر pH پایین تری نسبت به نمونه حاوی کیتوزان در فیله قزل آلا ی رنگین کمان بودند.

اکسیداسیون لیپیدها عامل اصلی کاهش ماندگاری مواد غذایی چرب است. هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسیداسیون لیپیدها هستند. اندازه گیری مقدار پراکسید رایج ترین معیار برای اکسیداسیون لیپید است (12). مهمترین مزیت ارزیابی اندیس پراکسید این است که هیدروپراکسیدها را به طور مستقیم ارزیابی می کند که شاخص مهمی از محصولات اولیه اکسیداسیون لیپیدها می باشد. طبق استانداردهای مواد غذایی میزان عدد پراکسید مجاز در محصولات غذایی ۳۰ meq/kg است (18). با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش مقدار پراکسید تمام نمونه ها در طول زمان نگهداری به طور قابل توجهی افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). در پایان زمان نگهداری (روز ۲۴ ام)، کمترین میزان 5.38 meq/kg مربوط به نمونه حاوی نانوکیتوزان ۲٪ بود. اثر قابل توجه کیتوزان بر اندیس پراکسید همبرگر گوشت گاو توسط Georgantelis و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش شده است. آنها بیان کردند که کاربرد کیتوزان به طور قابل توجهی باعث کاهش میزان اکسیداسیون لیپیدی در نمونه های همبرگر شد به طوری که پس از ۱۸۰ روز نگهداری در فریزر، میزان اندیس پراکسید در نمونه شاهد 2.69 meq/kg و در نمونه حاوی کیتوزان 1.07 meq/kg بود (29). همچنین تأثیر پوشش کیتوزان نانوکپسوله غنی شده با صمغ دانه شاهی بر اکسیداسیون چربی در گوشت گاو توسط Esmaili و همکاران در سال ۲۰۲۱ گزارش شد که پوشش تأثیر قابل توجهی بر کاهش روند افزایشی عدد پراکسید داشت (30). پژوهش های مختلف نشان داده است که اندیس پراکسید ارتباط مستقیمی با رشد باکتری های سرمادوست

Caballero و همکاران در سال ۲۰۰۵ و Fazlara و همکاران در سال ۲۰۲۲ نیز گزارش شده است؛ آنها بیان کردند که پوشش کیتوزان می تواند به طور موثری میزان بازهای نیتروژنی فرار را در گوشت گاو و فیله ماهی کپور نقره ای، شاه ماهی و ماهی کاد را کاهش دهد (6,25,27).

با توجه به مطالعات امتیاز حسی، تمام تیمارها به جز نمونه شاهد تا ۱۵ روز نگهداری برای مصرف قابل قبول هستند. به طور کلی، ویژگی های حسی به ویژگی های میکروبی و شیمیایی نمونه ها بستگی دارد. بنابراین امتیاز حسی بالاتر نمونه های نانو کیتوزان ۱٪ و ۲٪ می تواند به دلیل اثر نگهدارندگی این ترکیبات بر نمونه ها از نظر جلوگیری از رشد میکروارگانیسم ها و اکسیداسیون لیپیدها باشد. نتایج مشابهی توسط Ramezani و همکاران در سال ۲۰۱۵، Li و همکاران در سال ۲۰۱۲ به ترتیب در ارزیابی حسی فیله ماهی کپور نقره ای، کروکر زرد بزرگ گزارش شده است (6,11). رضایی و همکاران (۱۳۹۱) نیز گزارش کردند که امتیاز بو و پذیرش کلی در ماهی قزل آلا رنگین کمان در نمونه شاهد بعد از ۸ روز نگهداری به کمتر از ۴ کاهش یافت اما نمونه های حاوی پوشش باعث افزایش مقبولیت نمونه ها شدند. به طور کلی این نتایج می تواند به دلیل تفاوت در نوع و غلظت ترکیبات به کار برده شده در فرمولاسیون، برهمکنش آنها با سایر ترکیبات موجود در غذا و شرایط نگهداری باشد.

### نتیجه گیری

نتایج حاصل از تاثیر پوشش ها در این تحقیق بر کیفیت و افزایش ماندگاری نمونه های همبرگر نشان داد که هر دو پوشش کیتوزان و نانوکیتوزان خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی مناسبی دارند. پوشش دهی با نانوکیتوزان به طور معنی داری منجر به کنترل فساد میکروبی نمونه ها از نظر رشد باکتری های کل مزوفیل، سرمادوست ها، اسیدلاکتیک ها و کپک و مخمر شد. همچنین اکسیداسیون لیپیدها نیز به طور قابل توجهی به تاخیر افتاد. و از سوی دیگر نیز نتایج ارزیابی حسی نشان داد که پوشش دهی با نانوکیتوزان اثر منفی بر ویژگی های حسی محصول و در نتیجه پذیرش مصرف کنندگان نداشت و نمونه ی پوشش دهی شده با نانوکیتوزان در طی دوره نگهداری از امتیاز بالاتری

لیپیدی در همبرگر گوشت گاو، ماهی کاد و ماهی سالمون صورتی پرداختند.

بازهای نیتروژنی فرار ترکیباتی هستند که در گوشت تازه به میزان کمی وجود دارند اما با گذشت زمان به دلیل وقوع اتولیز بافتی، رشد و نمو میکروارگانیسم ها، تغییر در میزان آدنوزین تری فسفات و تجزیه پروتئین ها بر میزان آنها افزوده می شود. مشخص شده است که میزان بازهای نیتروژنی فرار می تواند به دلیل وقوع واکنش های آمین زدایی و تجزیه در طول دوره نگهداری افزایش پیدا کند. ترکیبات عامل بوی بد در گوشت فاسد شده همچون آمونیاک، مونو اتیل آمین، دی اتیل آمین و تری متیل آمین تعیین کننده ی میزان این شاخص هستند (۲۴). مقدار بازهای نیتروژنی فرار در تمامی نمونه ها در طول زمان نگهداری به طور قابل توجهی افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). نمونه های حاوی نانو کیتوزان ۱٪ و ۲٪ نسبت به نمونه حاوی کیتوزان ۱٪ و ۲٪ حاوی بازهای نیتروژنی فرار کمتری بودند. این یافته حاکی از تاثیر ضدباکتریایی بهتر ذرات در مقیاس نانو نسبت به ذرات با ابعاد بزرگتر است. گزارش شده است که نانوذرات کیتوزان به دلیل دارا بودن سطح بیشتر در واحد حجم تعامل بیشتری با سلول های باکتری برقرار می کنند که در نتیجه اثر ضد باکتری قوی تری از خود نشان می دهند (20). بازهای نیتروژنی فرار عمدتاً از آمونیاک و آمین های اول، دوم و سوم تشکیل شده است و یک اندیس رایج از فساد گوشت است. به طور کلی افزایش میزان بازهای نیتروژنی فرار به فعالیت باکتری های عامل فساد و آنزیم های درون زابستگی دارد (7). بنابراین کمتر بودن میزان بازهای نیتروژنی فرار در نمونه حاوی نانو کیتوزان ۱٪ و ۲٪ در مقایسه با نمونه های دیگر نشان دهنده فعالیت ضدباکتریایی بالاتر و اثربیشتر نانو کیتوزان نسبت به پوشش کیتوزان است. مطابق با نتایج این پژوهش، Bonila و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش دادند که میزان بازهای نیتروژنی فرار فیله گربه ماهی در طول ۲۰ روز نگهداری روند افزایشی داشت اما کیتوزان قادر بود محتوای بازهای نیتروژنی فرار را به طور موثری کاهش دهد. علاوه بر این، تاثیر مثبت پوشش کیتوزان بر کاهش بازهای نیتروژنی فرار توسط Duran و همکاران در سال ۲۰۲۰، Ramezani و همکاران در سال ۲۰۱۵، Jeon و همکاران در سال ۲۰۰۲، López-

مدت زمان ماندگاری تا روز ۱۸ افزایش پیدا کرد. به طور کلی می توان نتیجه گرفت که می توان در صنعت مواد غذایی از پوشش حاوی نانو کیتوزان ۲ درصد به طور موثری جهت افزایش پایداری اکسایشی و میکروبی فرآورده های گوشتی همچون همبرگر بهره برد.

برخوردار بودند که این یافته می تواند به دلیل پایداری بیشتر آنها از نظر اکسایشی و میکروبی باشد. در مقایسه با نمونه شاهد که تا شش روز در یخچال می توان نگهداری کرد استفاده از پوشش نانو کیتوزان ۲٪ به طور قابل توجهی باعث تاخیر در فرایند فساد میکروبی و اکسیداسیون لیپیدی در نمونه های همبرگر شده و

1. Allwin SJ, Jeyasanta KI, Patterson J. Extraction of chitosan from white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) processing waste and examination of its bioactive potentials. *Advances in Biological Research*. 2015;9(6):389-96.
2. Nile SH, Baskar V, Selvaraj D, Nile A, Xiao J, Kai G. Nanotechnologies in food science: applications, recent trends, and future perspectives. *Nano-micro letters*. 2020;12:1-34.
3. Kanatt SR, Chander R, Sharma A. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *Food chemistry*. 2008;107(2):845-52.
4. Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chemistry*. 2010;120(1):193-8.
5. Nile SH, Baskar V, Selvaraj D, Nile A, Xiao J, Kai G. Nanotechnologies in food science: applications, recent trends, and future perspectives. *Nano-micro letters*. 2020;12:1-34.
6. Ramezani Z, Zarei M, Raminnejad N. Comparing the effectiveness of chitosan and nanochitosan coatings on the quality of refrigerated silver carp fillets. *Food Control*. 2015;51:43-8.
7. Du W-L, Niu S-S, Xu Y-L, Xu Z-R, Fan C-L. Antibacterial activity of chitosan tripolyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions. *Carbohydrate polymers*. 2009;75(3):385-9.
8. Shahbazi Y, Shavisi N. Chitosan coatings containing *Mentha spicata* essential oil and zinc oxide nanoparticle for shelf life extension of rainbow trout fillets. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 2018;27(9):986-97.
9. Ghaderi-Ghahfarokhi M, Barzegar M, Sahari MA, Azizi MH. Nanoencapsulation approach to improve antimicrobial and antioxidant activity of thyme essential oil in beef burgers during refrigerated storage. *Food and Bioprocess Technology*. 2016;9:1187-201.
10. Muhlisin M, Kang S-M, Choi W-H, Lee K-T, Cheong S-H, Lee S-K. Combined effects of modified atmosphere packaging and organic acid salts (sodium acetate and calcium lactate) on the quality and shelf-life of Hanwoo ground beef patties. *Food Science of Animal Resources*. 2010;30(4):685-94.
11. Li Y, Tang X, Shen Z, Dong J. Prediction of total volatile basic nitrogen (TVB-N) content of chilled beef for freshness evaluation by using viscoelasticity based on airflow and laser technique. *Food Chemistry*. 2019;287:126-32.
12. Sallam KI. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control*. 2007;18(5):566-75.
13. Qin Y-Y, Yang J-Y, Lu H-B, Wang S-S, Yang J, Yang X-C, et al. Effect of chitosan film incorporated with tea polyphenol on quality and shelf life of pork meat patties. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2013;61:312-6.
14. Müller RH, Jacobs C, Kayser O. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy: rationale for development and what we can expect for the future. *Advanced drug delivery reviews*. 2001;47(1):3-19.
15. YAĞIN C, Büyükyörük S. The effects of chitosan, sodium lactate and sodium diacetate on the shelf life of hot smoked and vacuum packed rainbow trout fillets. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2017;64(1):1-6.
16. Qi L, Xu Z, Jiang X, Hu C, Zou X. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydrate research*. 2004;339(16):2693-700.
17. Erdawati, editor Development of chitosan-nanoparticle film based materials for controlled quality of minced beef during refrigerated storage. *AIP Conference Proceedings*; 2010: American Institute of Physics.
18. Gotoh N, Wada S. The importance of peroxide value in assessing food quality and food safety. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2006;83(5):473.
19. Yang Y, Ye Y, Wang Y, Sun Y, Pan D, Cao J. Effect of high pressure treatment on metabolite profile of marinated meat in soy sauce. *Food chemistry*. 2018;240:662-9.
20. Ghorabi RS, Khodanazary A. Effects of chitosan and nano-chitosan as coating materials on the quality properties of large scale tongue sole *Cynoglossus arel* during super-chilling storage. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 2020;19(5):2242-57.
21. Abdollahzadeh M, Elhamirad AH, Shariatifar N, Saeidiasl M, Armin M. Effects of nano-chitosan coatings incorporating with free/nano-encapsulated essential oil of Golpar (*Heracleum persicum* L.) on quality characteristics and safety of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food Microbiology*. 2023;385:109996.
22. Đorđević N, Karabegović I, Cvetković D, Šojić B, Savić D, Danilović B. Assessment of chitosan coating enriched with free and nanoencapsulated *Satureja montana* L. essential oil as a novel tool for beef preservation. *Foods*. 2022;11(18):2733.
23. Xue Z-X, Yang G-P, Zhang Z-P, He B-L. Application of chitosan microspheres as carriers of LH-RH analogue TX46. *Reactive and Functional Polymers*. 2006;66(9):893-901.

24. Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *International journal of food microbiology*. 2010;144(1):51-63.
25. López-Caballero M, Gómez-Guillén M, Pérez-Mateos M, Montero P. A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. *Food hydrocolloids*. 2005;19(2):303-11.
26. Masniyom P, Benjakul S, Visessanguan W. Combination effect of phosphate and modified atmosphere on quality and shelf-life extension of refrigerated seabass slices. *LWT-Food Science and Technology*. 2005;38(7):745-56.
27. Fattahian A, Fazlara A, Maktabi S, Pourmahdi M, Bavarsad N. The effects of chitosan containing nano-capsulated Cuminum cyminum essential oil on the shelf-life of veal in modified atmosphere packaging. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2022;16(1):920-33.
28. Nirmal NP, Benjakul S. Retardation of quality changes of Pacific white shrimp by green tea extract treatment and modified atmosphere packaging during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*. 2011;149(3):247-53.
29. Georgantelis D, Blekas G, Katikou P, Ambrosiadis I, Fletouris DJ. Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on lipid oxidation and color stability during frozen storage of beef burgers. *Meat science*. 2007;75(2):256-64.
30. Esmaeili M, Ariaii P, Nasiraie LR, Pour MY. Comparison of coating and nano-coating of chitosan-Lepidium sativum seed gum composites on quality and shelf life of beef. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2021;15(1):341-52.
31. Kilincceker O, Dogan İS, Kucukoner E. Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets. *LWT-Food science and Technology*. 2009;42(4):868-73.
32. Weist JL, Karel M. Development of a fluorescence sensor to monitor lipid oxidation. 1. Fluorescence spectra of chitosan powder and polyamide powder after exposure to volatile lipid oxidation products. *Journal of agricultural and food chemistry*. 1992;40(7):1158-62.

## The effects of chitosan and Nano-chitosan coating on fresh hamburger shelf life during storage at 4 °C

Ramin Satarzadeh <sup>1</sup> ; Abbasali Motallebi<sup>1\*</sup> ; Hedayat Hosseini <sup>2</sup> ; Hamed Ahari <sup>3</sup>

- 1) Department of Food Hygiene, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
- 2) Department of Food Science and Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 3) Department of Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

### Abstract

Hamburger is one of the most important and widely consumed products made from meat, which due to its delicious taste has many fans, especially among young people in all countries of the world. Considering that this product is raw until consumption it may spoil due to an increase in microbial load or chemical changes. In this study, the effects of Nano chitosan and chitosan coating on extending the shelf life of beef hamburgers during storage in a refrigerator (at a temperature  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) over a period of 24 days were evaluated. For this purpose, hamburgers were assessed in five treatments, including chitosan solutions with concentrations of 1%, 2%, Nano-chitosan 1%, Nano-chitosan 2% and distilled water solution as a control sample on days 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 and 24. The antimicrobial effect of the coating was evaluated by counting the total viable count (TVC), psychrotrophic bacteria, lactic acid bacteria, molds and yeasts. Additionally, chemical properties were assessed by measuring pH, peroxide value (PV), Thiobarbituric acid (TBA), and total volatile basic nitrogen (TVB-N). Sensory evaluation, which included the assessment of taste, odor, color, and overall acceptance was conducted by five trained evaluators. The results of the study showed that both chitosan and Nano-chitosan coating were effective on hamburger samples stored at refrigerator temperature. However, samples with Nano-chitosan coating had significantly greater antimicrobial effects compared to those with chitosan coating and were better able to control oxidation during the storage period. These results indicate the greater efficiency of chitosan at the nanoscale compared to larger-sized chitosan. In this study, the treatment with 2% Nano-chitosan solution showed the best preservation results.

**Keywords:** Increase in shelf life, Refrigerator temperature, Nano-chitosan, Hamburger

---

\* abbasalimotallebi@gmail.com