

## افزایش عمر ماندگاری کالباس گوشت حرارت دیده با نگهدارنده طبیعی کیتوزان بعنوان جایگزین نیتريت سدیم

مهدی مولانژاد<sup>۱</sup>، مسعود هدایتی فرد<sup>۲\*</sup> و لیلا گلستان<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۸ تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۲۴

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد تکنولوژی علوم و صنایع غذایی، آزمایشگاه کنترل مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری

<sup>۲</sup> دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، واحد قائم شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم شهر، ایران

<sup>۳</sup> استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیه اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

\*مسئول مکاتبه: Email: Hedayati.m@qaemiau.ac.ir

### چکیده

به دلیل اهمیت مصرف گوشت و فرآورده‌های آن بخصوص سوسیس و کالباس و عوارض سوء ناشی از مصرف نگهدارنده‌های مصنوعی مورد استفاده در آنها، این تحقیق با هدف بررسی اثر نگهدارنده طبیعی کیتوزان بر ماندگاری کالباس گوشت حرارت دیده و مقایسه آن با نگهدارنده مصنوعی نیتريت سدیم انجام شد. در این تحقیق کالباس گوشت حرارت دیده در دو تیمار کیتوزان ۱٪ و نیتريت سدیم ۰/۰۱٪ به همراه نمونه شاهد فاقد نگهدارنده، طی شصت روز نگهداری در دمای ۴°C مورد ارزیابی‌های کیفی قرار گرفت. به طوری که نمونه‌ها از نظر تغییرات بار میکروبی، اکسیداسیون چربی، تغییرات pH و خصوصیات حسی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد افزودن کیتوزان توانست اختلاف معنی‌داری را از نظر کنترل اکسیداسیون چربی نسبت به نمونه شاهد ایجاد کند ( $P < 0/05$ )، در حالی که نیتريت سدیم نتوانست از این نظر تفاوتی با نمونه شاهد به وجود آورد ( $P > 0/05$ ). در شمارش جمعیت میکروبی، تیمار حاوی کیتوزان نتوانست تقریباً مشابه با نمونه‌های حاوی نیتريت سدیم اختلاف معنی‌داری در شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل و سرمادوست و همچنین کپک و مخمر نسبت به نمونه شاهد ایجاد نماید ( $P < 0/05$ ). نتایج همچنین نشان داد افزودن کیتوزان همانند افزودن نیتريت سدیم موجب کنترل تغییرات pH گردید. ضمن اینکه نمونه‌های حاوی کیتوزان رنگ مطلوب تری نسبت به نمونه شاهد و تیمار حاوی نیتريت سدیم داشتند؛ لذا می‌توان نتیجه گرفت کیتوزان در غلظت ۱٪ علاوه بر داشتن اثر مناسب ضد اکسیداسیونی بر روی چربی‌ها، دارای اثری مشابه با نیتريت سدیم در کنترل بار میکروبی کالباس گوشت حرارت دیده می‌باشد. کیتوزان همچنین در این غلظت می‌تواند باعث کنترل تغییرات pH و بهبود رنگ در نمونه‌های محصول گردد.

واژگان کلیدی: فرآورده گوشتی، کیتوزان، ماندگاری، نگهدارنده طبیعی

## مقدمه

منظور بهبود کیفیت، افزایش ماندگاری و در عین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی مفید بلکه ضروری باشد (جورجانتلیس و همکاران، ۲۰۰۷ الف؛ بین و همکاران، ۲۰۰۳).

در سال‌های اخیر تولیدکنندگان از افزودنی‌های مصنوعی مختلف مانند نمک‌های نیترات و نیتريت به منظور کنترل بار میکروبی و فساد شیمیایی و آنتی اکسیدان‌هایی همچون BHA بوتیل هیدروکسی آنیزول، BHT بوتیل هیدروکسی تولوئن<sup>۳</sup> و PG یا پروپیل گالات<sup>۴</sup> برای به تاخیر انداختن اکسیداسیون و تندی محصولات غذایی استفاده می‌کنند (جورجانتلیس و همکاران، ۲۰۰۷ الف؛ سالاما و همکاران، ۲۰۰۴). نیترات و نیتريت عمدتاً به منظور تثبیت رنگ بافت‌های گوشت بدون چربی، شرکت در ویژگی طعم گوشت عمل آمده، جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد و مسمومیت غذایی و به تاخیر انداختن طعم تندی یا تیزی استفاده می‌شوند (کامکار و همکاران، ۱۳۸۳). یکی از مهم‌ترین مسائل مربوط به افزودنی‌ها، بخصوص نیتريت و نیترات خطر سرطان‌زایی آنها می‌باشد، بطوری که واکنش اسید نیترو (که به وسیله شکستن نیتريت تولید می‌شود) با آمین‌های نوع دوم تولید نیتروز آمین می‌کند که در شیمی آلی ماده‌ای کاملاً شناخته شده است (کامکار و همکاران، ۱۳۸۳).

افزایش سطح توجه و آگاهی مصرف‌کنندگان نسبت به مسائل پزشکی و سلامت (جورجانتلیس و همکاران، ۲۰۰۷ الف)، تغییر تقاضای مردم و افزایش رقابت جهانی موجب گردید که تولیدکنندگان محصولات گوشتی، بدنبال روش‌های نوین تولید و افزودنی‌های جدید باشند، بطوری‌که توسعه فرآیندهای تولید در صنایع گوشتی را موجب گردید (وایز و همکاران، ۲۰۱۰). امروزه استفاده از ترکیبات با منشاء گیاهی و حیوانی به دلیل توانایی

امروزه همراه با افزایش آگاهی عمومی، بسیاری از مصرف‌کنندگان، مواد غذایی را به عنوان وسیله‌ای به منظور مدیریت سلامت خود استفاده می‌کنند (جوآ و همکاران، ۲۰۰۱). گوشت و محصولات گوشتی مواد مغذی متراکمی هستند که منبع طیف وسیعی از مواد مغذی مانند پروتئین‌ها، چربی‌ها و ویتامین‌ها می‌باشند (وربکوهکاران، ۲۰۱۰). یکی از انواع محصولات گوشتی کالباس<sup>۱</sup> است که در نواحی مختلف جهان بسیار پر طرفدار می‌باشد (لیو و همکاران، ۲۰۰۹). این محصول عبارت است از مخلوط یکنواخت و پایدار حاصل از قطعات گوشت تازه دام‌های کشتاری، چربی و آب که همراه با افزودن مواد دیگر در داخل پوشش‌های طبیعی و یا مصنوعی در شرایط مناسب پر شده و پس از طی فرآیندهای لازم تا زمان مصرف در یخچال یا شرایط سردخانه‌ای نگهداری می‌شود (استاندارد ۲۳۰۳ ایران، ۱۳۸۴ و لیو و همکاران، ۲۰۰۹).

فرآورده‌های نیمه آماده گوشتی که در شرایط یخچال نگهداری می‌شوند عمر ماندگاری<sup>۲</sup> محدودی دارند (ملنیک و همکاران، ۲۰۰۳) و معمولاً در اثر یکی از دو عامل تغییرات شیمیایی و یا افزایش بار میکروبی دچار فساد می‌شوند (سبرانک و همکاران، ۲۰۰۵). تندی اکسیداتیو یا اکسیداسیون چربی‌ها مهم‌ترین نوع فساد شیمیایی در محصولات گوشتی است (سبرانک و همکاران، ۲۰۰۵). این نوع از فساد در اثر بوجود آمدن رادیکال‌های آزاد از اسیدهای چرب و در نهایت تولید ترکیبات آلدئیدی حاصل می‌شود (عبدالحمید و همکاران، ۲۰۰۹). علی‌رغم اهمیت اکسیداسیون چربی‌ها در کاهش کیفیت فرآورده‌های گوشتی، فساد به دلیل آلودگی میکروبی می‌تواند منجر به ایجاد خطرات جدی‌تر در سلامت مصرف‌کننده گردد. بر همین اساس بنظر می‌رسد استفاده از موادی مناسب با فعالیت ضد باکتریایی و ضد اکسیدانی به

<sup>۳</sup> Butylated Hydroxy Anisole.  
<sup>۴</sup> Butylated Hydroxy Toluene.  
<sup>۵</sup> Propyl Gallate.

<sup>۱</sup> Ham or Kielbasa.  
<sup>۲</sup> Shelf Life.

امولسیون کنندگی آن اشاره کرد (کوما و همکاران، ۲۰۰۲). اخیراً به استفاده از کیتوزان در غذاهای تجاری توجه زیادی شده و خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی کیتوزان در فرآورده‌های تهیه شده از گوشت بسیار مورد مطالعه و تحقیق قرار گرفته است. محققان زیادی همچون کمیل و همکاران در سال ۲۰۰۲، بین و همکاران در سال ۲۰۰۳، کانات و همکاران در سال ۲۰۰۸ و برخی دیگر، کیتوزان را دارای خصوصیات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی دانسته و تحقیقات وسیعی در این رابطه بر روی مواد غذایی مختلف انجام داده‌اند.

بنابر منابع موجود تاکنون هیچ تحقیقی در رابطه با تاثیر ضد اکسیداسیونی کیتوزان به عنوان نگهدارنده طبیعی بروی کالباس گوشت حرارت دیده و مقایسه آن با نگهدارنده مصنوعی نیتريت سدیم در شرایط نگهداری در سردخانه صورت نگرفته است. به همین منظور این پژوهش با هدف بررسی اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی کیتوزان در کالباس گوشت حرارت دیده و در نهایت مقایسه عمل کرد آن با نیتريت سدیم انجام گردید.

#### مواد و روش‌ها

**مواد مصرفی:** کیتوزان مورد استفاده در این پژوهش از شرکت سیگما آلدریچ (Sigma Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA) (وزن مولکولی متوسط، ویسکوزیته CP ۲۰۰-۸۰۰، درجه داستیلاسیون ۷۵-۸۵٪ و به صورت پودر سفید رنگ) تهیه گردید. مواد اولیه مورد استفاده در فرمول شامل گوشت تازه بدون استخوان گوساله به میزان ۴۰ درصد کل فرمول (تمامی گوشت از قسمت ران و از بازارهای محلی تهیه گردید)، سویای خشک ۲٪، آب یخ ۲۲٪، آرد گندم ۱۰٪، نشاسته و گلوتن ۶٪، اسید آسکوربیک و ادویه ۶٪ بود.

بالقوه آنها به عنوان افزودنی‌های سالم بسیار مورد توجه قرار گرفته است (مرادی و همکاران، ۱۳۸۹). از ترکیبات طبیعی که دارای خواص ضد میکروبی و ضد اکسیداسیونی می‌باشند می‌توان به رزماری<sup>۱</sup>، مریم‌گلی<sup>۲</sup>، آویشن<sup>۳</sup>، (راماراتمان و همکاران، ۱۹۹۵؛ ریزنار و همکاران، ۲۰۰۶)، میخک<sup>۴</sup>، نعناع<sup>۵</sup>، زیره<sup>۶</sup>، توکوفرول<sup>۷</sup> و کیتوزان<sup>۸</sup> اشاره کرد (جوو همکاران، ۲۰۰۱؛ بین و همکاران، ۲۰۰۳؛ کوما و همکاران، ۲۰۰۲؛ جورجانتلیس و همکاران، ۲۰۰۷؛ کانات و همکاران، ۲۰۰۸؛ لوپز و همکاران، ۲۰۰۵؛ نو و همکاران، ۲۰۰۷؛ شان و همکاران، ۲۰۰۵؛ ویانشلیوا و همکاران، ۲۰۰۶).

کیتوزان نوعی پلی ساکراید است که از واحدهای گلوکز آمین و ان-استیل گلوکز آمین تشکیل شده است. کیتوزان از استیل زدایی کیتین B(1-4)-acetyl D-} glucosamine که یکی از فراوان‌ترین پلیمرهای طبیعی است بدست می‌آید و به عنوان یک بیوپلیمر همه کاره کاربردهای گسترده‌ای در صنایع غذایی دارد (کوما و همکاران، ۲۰۰۲؛ کمیل و همکاران، ۲۰۰۲). منبع عمده و تجاری کیتین پوست سخت پوستانی همانند میگو، شاه میگو و خرچنگ است و به طور وسیعی از طریق فرآوری ضایعات و محصولات فرعی سخت پوستان قابل دسترسی است (کوما و همکاران، ۲۰۰۲). ثابت شده است که کیتوزان یک ماده غیر سمی، تجزیه پذیر و سازگار با محیط زیست است (مرادی و همکاران، ۱۳۸۹؛ کوما و همکاران، ۲۰۰۲). از ویژگی‌های عمل‌کردی کیتوزان می‌توان به خصوصیات ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی، تشکیل فیلم (مرادی و همکاران، ۱۳۸۹)، اتصال چربی، افزایش جذب، اتصال و استحکام آب و خاصیت

<sup>۱</sup> *Rosmarinus officinalis*.

<sup>۲</sup> *Salvia officinalis*.

<sup>۳</sup> *Thymus vulgaris*.

<sup>۴</sup> Clove.

<sup>۵</sup> mint.

<sup>۶</sup> Cumin.

<sup>۷</sup> Tocopherol.

<sup>۸</sup> Chitosan.

روش تهیه فرمولاسیون: برای دست یابی به فرمول بهتر و یکنواخت تر ابتدا گوشت‌ها منجمد شده و سپس در کاتراکاملا خرد و یکنواخت گردیدند. پس از یکنواخت شدن، نمونه‌ها توسط دستگاه فیلر در لفاف‌های مخصوص سوسیس و کالباس بسته بندی شدند و پس از آن جهت انجام پخت، سه فرآیند حرارتی در دماهای ۷۰، ۷۵ و ۸۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب در زمان های ۵، ۵ و ۱۲۰ دقیقه در فشار یک اتمسفر بروی نمونه‌ها اعمال گردید. در تهیه نمونه شاهد هیچگونه افزودنی دیگر اعم از کیتوزان یا نیتريت سدیم، به فارش اضافه نگردید، با توجه به سوابق تحقیقات مختلف، برای تیمار ۲ (نیتريت) میزان ۱۰۰ ppm نیتريت سدیم (معادل ۰/۰۱ درصد کل) و برای تهیه تیمار ۳ (کیتوزان) میزان ۱۰۰۰۰ ppm کیتوزان (معادل ۱ درصد کل)، به فارش اضافه گردید (جو و همکاران، ۲۰۰۱؛ دارماجی و آیزومیموتو، ۱۹۹۶؛ سولتوس و همکاران، ۲۰۰۸؛ سومان و همکاران، ۲۰۱۰ و یون و همکاران، ۱۹۹۹). جدول ۱ شماره نمونه‌ها و میزان مواد نگهدارنده افزوده شده در هر یک را نشان می‌دهد. کلیه مراحل تهیه و تولید نمونه‌ها در یکی از کارخانه های محلی استان مازندران (شهرک صنعتی محمود آباد، فرآورده‌های گوشتی نوژ) انجام شد.

**بررسی شیمیایی:** در بررسی شیمیایی پارامترهایی همچون pH (لیو و همکاران، ۲۰۰۹؛ سولتوس و همکاران، ۲۰۰۸)، پروتئین، چربی و رطوبت (AOAC، ۲۰۰۵) و نیز تیوباربیٹیوریک اسید TBA (ایگان و همکاران، ۱۹۹۷) مورد ارزیابی قرار گرفته و شناسایی کمی و کیفی پروفایل اسیدهای چرب از روش ISO:5509 (ایزو، ۲۰۰۰) و با دستگاه گاز کروماتوگرافی صورت پذیرفت. **ارزیابی حسی:** جهت ارزیابی حسی از پنج فاکتور بو، مزه، رنگ، بافت و آبدار بودن استفاده شد (محمدی و همکاران، ۱۳۸۶). به گونه‌ای که نمونه‌ها پس از ده روز گذشتن از تاریخ تولید مورد ارزیابی حسی قرار گرفتند و نتایج توسط چهارده نفر از ارزیاب‌ها آموزش دیده در فرم‌های مخصوص ثبت گردید.

جدول ۱- معرفی نمونه‌ها و مواد افزوده شده به فرمولاسیون کالباس گوشت حرارت دیده

شماره نمونه	نوع تیمار	نیتريت سدیم	کیتوزان
		۱۰۰ ppm	۱ درصد
۱	Control	-	-
۲	Nitrite	*	-
۳	Chitosan	-	*

\* ماده سر ستون در فرمول افزوده شده است

- ماده سر ستون در فرمول اضافه نشده است

شمارش جمعیت میکروبی: در بررسی میکروبی پس از رقیق سازی (استاندارد ۲-۸۹۲۳ ایران، ۱۳۸۵)، توسط محیط پپتون نمکی (Sodiumchloride peptone broth, ) (QE lab)، شمارش کلی میکروارگانیسم‌های مزوفیل با استفاده از روش ISO 4833:2003 (ایزو، ۲۰۰۳) و محیط کشت پلیت کانت آگار (Plate Count Agar, Merck, ) (Germany)، شمارش کلی میکروارگانیسم‌های سرماگرا به روش استاندارد ۲۶۲۹ ایران، (۱۳۸۲) و محیط کشت پلیت کانت آگار، شمارش کپک و مخمر به روش ISO 7954:1987 (ایزو، ۱۹۸۷) و محیط پایه سابورود دکستروز آگار (Sabouraud Dextrose Agar, Merck, )

کیتوزان و نیتريت سدیم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $P > 0.05$ ) و به نظر می‌رسد کیتوزان در غلظت ۱٪ می‌تواند اثری مشابه با نیتريت سدیم با غلظت ppm ۱۰۰ بروی شمارش کلی کپک‌ها و مخمرها داشته باشد. در بیست روز سوم نگهداری برای نمونه کنترل کاهش اندکی در میزان کپک و مخمر مشاهده شد که به نظر می‌رسد این اتفاق در اثر افت شرایط مطلوب محیطی برای رشد و ادامه حیات کپک و مخمرها بود.

شمارش کلی میکروارگانیسم‌های مزوفیل نیز در تمامی نمونه‌ها طی شصت روز نگهداری دارای روند افزایشی بود. با توجه به آنالیزهای آماری، بین نمونه‌های نیتريت و کیتوزان با نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.05$ ) که این نشان‌دهنده اثر مثبت آنها بر کاهش میکروارگانیسم‌های مزوفیل در کالباس گوشت حرارت دیده بود. از طرفی بین کیتوزان و نیتريت سدیم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $P > 0.05$ ) که حاکی از اثر مشابه کیتوزان و نیتريت سدیم در غلظت بکار رفته بروی میکروارگانیسم‌های مزوفیل بود.

**تجزیه و تحلیل آماری:** جهت تجزیه و تحلیل آماری سه تکرار برای هر آزمون در نظر گرفته شد. کلیه اطلاعات با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۷ در دو بخش توصیفی و استنباطی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بطوریکه با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دو راهه و آزمون تعقیبی توکی به بررسی فرضیه‌های پژوهش پرداخته شد. نمودارها برحسب میانگین متغیرها با استفاده از نرم افزار Excel ویرایش ۲۰۰۷ ترسیم گردید.

### نتایج و بحث

**بررسی میکروبی:** برای بررسی اثر ضد میکروبی و روند تغییرات بار میکروبی در طول ۶۰ روز نگهداری کالباس گوشت حرارت دیده در شرایط  $4^{\circ}\text{C}$  از شش فاکتور شامل شمارش کپک و مخمر، شمارش کلی میکروب‌های مزوفیل، شمارش کلی میکروب‌های سرمادوست، شمارش انتروباکتریاسه، شمارش سودوموناسه، جستجو و شمارش کلستریدیوم پرفرانژانس<sup>۱</sup> استفاده گردید که نتایج آن برحسب لگاریتم واحد کلنی در گرم نمونه ( $\log \text{cfu/g}$ ) در جدول ۲ آمده است.

با توجه به نتایج بدست آمده مشخص گردید که تعداد کلی کپک‌ها و مخمرها در طول شصت روز برای تمام نمونه‌ها افزایش یافت. در بیست روز اول تیمار حاوی کیتوزان کمترین میزان رشد کپک و مخمر را از خود نشان داد و پس از آن تیمار حاوی نیتريت سدیم توانست در این زمینه موثر باشد. در پایان، طی شصت روز نگهداری در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  بین تیمارهای کیتوزان و نیتريت با نمونه کنترل اختلاف معنی‌دار وجود داشت ( $P < 0.05$ ) که این نشان‌دهنده اثر مثبت آنها بر کاهش رشد کپک و مخمر در کالباس گوشت حرارت دیده بود. از طرفی بین

۱. Enterobacteriaceae

۲. Pseudomonadaceae

۳. Clostridiumperfringens

جدول ۲- تغییرات بار میکروبی در طول ۶۰ روز نگهداری کالباس گوشت در شرایط ۴ °C (log cfu/g)

نوع آزمون	نمونه	روز اول	روز بیستم	روز چهارم	روز شصتم
	کنترل	۲/۸۷ ± ۰/۰۰ <sup>1a</sup>	۵/۰۲ ± ۰/۰۴ <sup>2a</sup>	۶/۱۴ ± ۰/۴۹ <sup>2b</sup>	۶/۰۶ ± ۰/۳۳ <sup>2a</sup>
کپک و مخمر	نیتريت	۲/۹۵ ± ۰/۰۰ <sup>1a</sup>	۴/۰۹ ± ۰/۰۲ <sup>12ab</sup>	۳/۶۳ ± ۰/۰۶ <sup>12a</sup>	۵/۱۶ ± ۰/۱۶ <sup>2a</sup>
	کیتوزان	۲/۸۵ ± ۰/۰۰ <sup>1a</sup>	۳/۵۵ ± ۰/۰۷ <sup>12a</sup>	۳/۹۹ ± ۰/۰۹ <sup>12a</sup>	۵/۵۵ ± ۰/۳۸ <sup>2a</sup>
	کنترل	۳/۶۵ ± ۰/۰۲ <sup>1a</sup>	۴/۵۶ ± ۰/۰۷ <sup>12a</sup>	۶/۰۹ ± ۰/۰۷ <sup>2b</sup>	۵/۸۱ ± ۰/۴۳ <sup>2a</sup>
باکتری های مزوفیل	نیتريت	۳/۷۵ ± ۰/۱۵ <sup>1a</sup>	۴/۲۶ ± ۰/۴۱ <sup>1a</sup>	۴/۳۰ ± ۰/۳۴ <sup>1a</sup>	۵/۲۲ ± ۰/۰۰ <sup>1a</sup>
	کیتوزان	۳/۹۰ ± ۰/۰۰ <sup>1a</sup>	۴/۱۹ ± ۰/۰۷ <sup>1a</sup>	۴/۵۸ ± ۰/۴۹ <sup>1a</sup>	۵/۳۱ ± ۰/۰۰ <sup>1a</sup>
	کنترل	۱/۱۵ ± ۰/۲۱ <sup>1a</sup>	۳/۵۳ ± ۰/۰۱ <sup>2bc</sup>	۵/۷۱ ± ۰/۰۴ <sup>3b</sup>	۵/۹۹ ± ۰/۰۲ <sup>3a</sup>
باکتری های سرمادوست	نیتريت	۱/۰۰ ± ۰/۰۰ <sup>1a</sup>	۱/۳۲ ± ۰/۴۶ <sup>1a</sup>	۳/۲۶ ± ۱ <sup>2a</sup>	۵/۱۱ ± ۰/۰۰ <sup>3a</sup>
	کیتوزان	۱/۰۰ ± ۰/۰۰ <sup>1a</sup>	۲/۹۸ ± ۰/۰۳ <sup>2b</sup>	۴/۳۳ ± ۰/۶۷ <sup>3ab</sup>	۵/۳۳ ± ۰/۰۰ <sup>4a</sup>
انتروباکتریاسه و سودوموناسه	تمامی تیمارها	≤ ۱۰	≤ ۱۰	≤ ۱۰	≤ ۱۰
کلستریدیوم پرفرانژانس	تمامی تیمارها	NG*	NG	NG	NG

اعداد جدول به صورت (انحراف معیار ± میانگین داده ها) می باشد. حروف (a-c) در هر ستون (روز های یکسان) نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ( $P < 0.05$ ) می باشد. اعداد (۱-۴) در هر ردیف (تیمارهای یکسان) نشان دهند اختلاف معنی دار در سطح ( $P < 0.05$ ) می باشد. \* NG: در پلیت رشد نکرد.

گرم مثبت دارند (دارماچی و آیزومیموتو، ۱۹۹۶ و ساگو و همکاران، ۲۰۰۲) و این خود باعث عدم رشد باکتری-های موجود احتمالی پس از فرآیند پخت می گردد. تا کنون سابقه‌ای که در آن اثر نگهدارنده طبیعی کیتوزان بروی تغییرات بار میکروبی کالباس گوشت حرارت دیده را مورد بررسی قرار دهد در دست نیست، اما در بسیاری از مقالات که بر روی سایر فرآورده‌های گوشتی به خصوص انواع فرآورده‌های خام و تخمیری گوشت انجام شده این اثر مورد تأیید قرار گرفته است. دارماچی و آیزومیموتو (۱۹۹۶) طی انجام تحقیقاتی بر روی تاثیر کیتوزان بر نگهداری گوشت خام اعلام داشتند که محیط‌های حاوی ۰/۰۱٪ کیتوزان از رشد برخی از باکتری‌های عامل فساد و بیماری‌زا همانند باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی، سودوموناس فراچی<sup>۲</sup> و

در شمارش کلی میکروبی‌های سرمادوست نیز بین نمونه‌های حاوی نیتريت و کیتوزان و این دو تیمار با نمونه شاهد اختلاف معنی دار وجود داشت ( $P < 0.05$ )؛ به این معنی که کیتوزان در غلظت ۱٪ علی رغم داشتن اثر بازدارندگی بر میکروارگانیزم‌های سرمادوست و داشتن اختلاف معنی دار با نمونه کنترل نتوانست اثری مشابه با نیتريت سدیم در غلظت ۱۰۰ ppm داشته باشد ( $P < 0.05$ ). در بررسی اثر ضد میکروبی نگهدارنده‌ها بر سایر باکتری‌ها نیز با توجه به آزمایشات به عمل آمده در طول شصت روز هیچ یک از باکتری‌های کلستریدیوم پرفرانژانس، انتروباکتریاسه و سودوموناس رشد نکردند. اعمال فرآیند پخت کافی، کیفیت خوب مواد اولیه، نگهداری در شرایط محیطی مناسب، رعایت کردن زنجیره سرد در طول دوران حمل و نقل، انبار و سایر موارد مانع از رشد این دسته از باکتری‌ها گردید. علاوه بر این با توجه به نتایج تحقیقات مختلف، کیتوزان توانایی بالایی در جلوگیری از رشد باکتری‌ها بخصوص نوع

۱. *Bacillus subtilis*.  
 ۲. *Escherichia coli*.  
 ۳. *Pseudomonas fragi*.

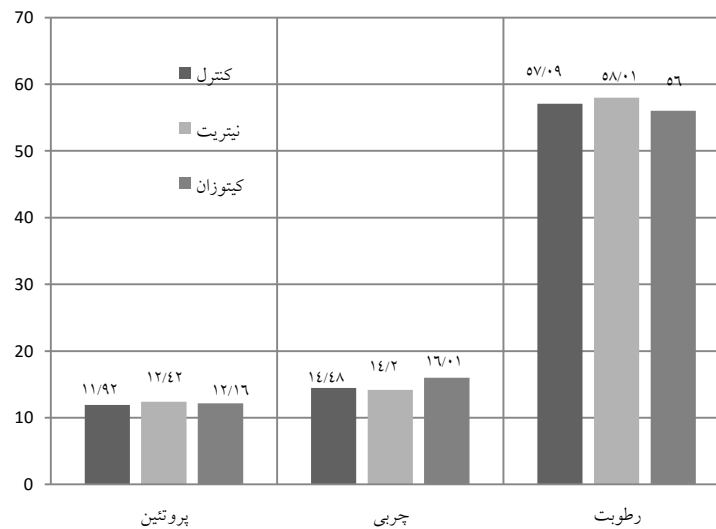
کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها، کپک و مخمر و باکتری‌های اسید لاکتیک تا بیش از ۳ سیکل لگاریتمی به ازای هر گرم از نمونه می‌شود. سولتوس و همکارانش (۲۰۰۸) در رابطه با تاثیر کیتوزان بر روی خصوصیات کیفی سوسیس تازه نگهداری شده در دمای ۴°C طی ۲۸ روز تحقیقاتی را انجام دادند، نتیجه اینکه کیتوزان به صورت مشخص بر روی رشد میکروب‌ها موثر بود در حالی که نیتريت اثر قابل ملاحظه‌ای بر روی کاهش رشد میکروب‌ها نداشت. نتایج این محققین اگرچه تا حدود زیادی قابل مقایسه با نتایج این پژوهش است ولی کیتوزان در غلظت ۱٪ نتوانست اختلاف معنی داری با نیتريت سدیم در غلظت ۱۰۰ppm ایجاد کند که ممکن است این تفاوت به دلیل تفاوت در نوع فرمولاسیون و همچنین آب در دسترس میکروارگانیسم‌ها و حتی اثر فرآیند حرارتی بر فلور میکروبی و خود کیتوزان باشد. در منابع مختلف بیشترین اثر ضد میکروبی کیتوزان را ناشی از گروه‌های آمینی با بار مثبت دانسته‌اند، این گروه‌ها با غشاء سلولی میکروارگانیسم‌ها که دارای بار منفی هستند واکنش می‌دهند که این واکنش منجر به نشت اجزای پروتئینی و سایر اجزا درون سلولی میکروارگانیسم‌ها به خارج از سلول می‌شود (شهیدی و همکاران، ۱۹۹۹). از طرفی دارماچی و آیزومیموتو (۱۹۹۶) توضیح دادند که کیتوزان علاوه بر افزایش نفوذ و نشت مواد سلولی غشا، می‌تواند با توجه به ظرفیت جذب یا اتصال بالای آب و مهار آنزیم‌های مختلف مورد نیاز میکروارگانیسم‌ها موجب کاهش رشد آنها شود. از طرفی توضیح داده شد که قدرت مهار کنندگی کیتوزان می‌تواند وابسته به pH محیط، درجه پلی‌مریزاسیون کیتوزان و حضور یا عدم حضور مواد ممانعت کننده مانند چربی‌ها و پروتئین‌ها باشد (سولتوس و همکاران، ۲۰۰۸). بنابراین شرایط مختلف فرآیند و نوع فرمولاسیون از نظر میزان رطوبت، چربی، pH و حتی درجه پلی‌مریزاسیون کیتوزان عامل تعیین کننده برای عملکرد ضد میکروبی کیتوزان در کالباس گوشت

استافیلوکوکوس اورئوس<sup>۱</sup> جلوگیری می‌کند و در غلظت ۰/۱٪ نیز اثر ممانعت کنندگی بر روی فلور طبیعی گوشت دارد. همچنین اثر کیتوزان بر روی گوشت خام که در دمای ۳۰°C به مدت ۴۸ ساعت و در دمای ۴°C به مدت ۱۰ روز نگهداری شده بود به گونه‌ای بود که مانع رشد باکتری‌های عامل فساد گردید. یون و همکارانش (۱۹۹۹) گزارش کردند که کیتوزان با وزن مولکولی (MW)  $3 \times 10^4$  و  $12 \times 10^4$  می‌تواند با داشتن خاصیت ضد میکروبی موجب افزایش ماندگاری سوسیس گوشت خام شود. سوسیس حاوی کیتوزان با وزن مولکولی (MW)  $12 \times 10^4$  نسبت به نمونه‌های حاوی  $\text{NaNO}_3$  به طور کامل موجب کاهش بار میکروبی سوسیس می‌شد، ولی به دلیل افزایش ویسکوزیته موجب بروز اشکال در فرآیند تولید می‌گردد، بنابر این آنها پیشنهاد دادند که بهتر است از کیتوزان با وزن مولکولی متوسط یا پائین‌تر استفاده شود. همچنین یون و همکاران (۲۰۰۴) نیز طی انجام تحقیقی بر روی ماندگاری گوشت ادویه زده که به آن ۱٪ کیتوزان حل شده در اسید لاکتیک ۳٪ اضافه شده بود اعلام داشتند که در طول ۱۰ روز نگهداری در دمای ۴°C میزان شمارش کلی باکتری‌ها به طور مشخصی کاهش یافت. با توجه به جدول ۵ مشاهده شد کیتوزان توانست تا روز چهارم باعث کاهش جمعیت کپک و مخمر تا حدود ۳ سیکل لگاریتمی نسبت به نمونه شاهد شود و این میزان برای میکروب‌های مزوفیل و سرما دوست چیزی حدود ۱/۵ سیکل لگاریتمی بود. ساگو و همکاران (۲۰۰۲) ضمن تأیید اثر مهار کنندگی کیتوزان بر رشد میکروبی فرآورده‌های سرد شده گوشت خوک اعلام داشتند با افزایش غلظت کیتوزان اثر آن نیز بیشتر خواهد شد، همچنین افزودن ۰/۳٪ و ۰/۶٪ کیتوزان گلوتامات به قطعات بدون ادویه گوشت خوک نسبت به نمونه‌های کنترل یا شاهد که در شرایط ۴°C و به مدت ۱۸ روز ذخیره شده بودند موجب

<sup>۱</sup> *Staphylococcus aureus*

غذایی مختلف انجام داده‌اند (کمیل و همکاران، ۲۰۰۲؛ بین و همکاران، ۲۰۰۳ و کانات و همکاران، ۲۰۰۸).

حرارت دیده است. علاوه بر موارد ذکر شده محققان زیادی کیتوزان را دارای خصوصیات ضد میکروبی قوی دانسته و تحقیقات وسیعی در این رابطه بر روی مواد



شکل ۱- ترکیب شیمیایی کالباس گوشت حرارت دیده با نگهدارنده های مختلف (بر حسب درصد)

جدول ۳- پروفایل اسیدهای چرب کالباس گوشت حرارت دیده

g/100g	سری اسید چرب
۳۴/۲۰	اولئیک اسید / (C18 : 1) Oleic acid
۴۴/۷۶	پالمیتیک اسید / (C16 : 0) Palmitic acid
۴۸/۱۵	مجموع اشباع
۳۴/۲۷	مجموع تک غیراشباع
۱۷/۵۳	مجموع چند غیراشباع
۰/۳۶	نسبت چند غیراشباع به اشباع PUFA/SFA
۵۱/۸	مجموع غیراشباع MUFA+PUFA
۱/۰۷	نسبت غیراشباع به اشباع MUFA+PUFA/SFA
≈ ۱۰۰/۰۰	مجموع اسیدهای چرب شناخته شده

اسیدهای چرب اشباع تشکیل داده که در این میان اسید پالمیتیک با ۴۴/۷۶٪ از اسید چرب کل بیشترین سهم را دارا بود. از طرفی حدود ۵۲٪ از اسیدهای چرب موجود در نمونه‌ها از نوع غیراشباع می‌باشند که اسید اولئیک با ۳۴/۲۰٪ بالاترین میزان را به خود اختصاص داد. با

بررسی شیمیایی: نتایج بررسی خصوصیات شیمیایی و پروفایل اسیدهای چرب کالباس گوشت حرارت دیده در شکل ۱ و جدول ۳ آمده است. با توجه به شکل ۱ و جدول ۳ به صورت میانگین ۱۴/۸٪ از وزن نمونه‌ها را چربی و حدود ۴۸٪ از کل اسیدهای چرب آنها را



توجه به اینکه اسیدهای چرب غیر اشباع حساسیت بالاتری نسبت به اکسیداسیون دارند (فاطمی، ۱۳۸۴) و با وجود تشکیل دادن بیش از نیمی از کل اسیدهای چرب می‌توانند عامل مهمی برای تعیین ماندگاری کالباس گوشت حرارت دیده از منظر کیفیت شیمیایی باشند.

جدول ۴- میزان تیوباربیتوریک اسید (TBA) نمونه‌ها در طول ۶۰ روز نگهداری کالباس گوشت حرارت دیده در شرایط ۴°C (برحسب میلی‌گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم)

نمونه	روز اول	روز بیستم	روز چهارم	روز شصتم
کنترل	۰/۰۷۵ ± ۰/۰۱۱ <sup>1a</sup>	۰/۰۸۳ ± ۰/۰۲ <sup>1a</sup>	۰/۱۰۹ ± ۰/۰۴ <sup>12c</sup>	۰/۱۴۷ ± ۰/۰۴ <sup>2b</sup>
نیتريت	۰/۰۶۸ ± ۰/۰۰۱ <sup>1a</sup>	۰/۰۷۷ ± ۰/۰۴ <sup>12a</sup>	۰/۱۰۵ ± ۰/۰۳ <sup>12bc</sup>	۰/۱۱۰ ± ۰/۰۲ <sup>2ab</sup>
کیتوزان	۰/۰۷۰ ± ۰/۰۱ <sup>1a</sup>	۰/۰۷۲ ± ۰/۰۴ <sup>1a</sup>	۰/۰۷۶ ± ۰/۰۲ <sup>1ab</sup>	۰/۰۹۳ ± ۰/۰۳ <sup>1ab</sup>

اعداد جدول به صورت (انحراف معیار ± میانگین داده‌ها) می‌باشد. حروف (a-c) در هر ستون (روز‌های یکسان) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ( $P < 0.05$ ) می‌باشد. اعداد (۱-۴) در هر ردیف (تیمارهای یکسان) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ( $P < 0.05$ ) می‌باشد.

کنترل در فرآیند اکسیداسیون ثانویه چربی از خود نشان داد. با این وجود نتوانست تفاوت معنی‌داری را در طول شصت روز نگهداری نسبت به نمونه شاهد ایجاد کند. این در حالی بود که میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون در تیمار حاوی کیتوزان تا پایان روز چهارم و شصتم به ترتیب ۳۰٪ و ۳۶٪ کمتر از نمونه شاهد در شرایط دمای ۴°C ( $P < 0.05$ ) بود. در تحقیقات مختلفی چگونگی مکانیسم عمل آنتی اکسیدانی کیتوزان را اینگونه توضیح دادند که این ماده از طریق چلات کردن آهن هموگلوبین و میوگلوبین که در طول عمل‌آوری با حرارت یا ذخیره سازی گوشت آزاد می‌شوند می‌تواند فعالیت کاتالیتیکی یونهای آزاد آهن را مهار کند و موجب به تاخیر افتادن اکسیداسیون چربی‌ها شود (جورگاتلیس و همکاران، ۲۰۰۷ الف، کمیل و همکاران، ۲۰۰۲ و سومان و همکاران؛ ۲۰۱۰).

نتایج تحقیقات مشابه روی فرآورده‌های گوشتی دیگر اثر بازدارندگی کیتوزان را مشخصاً تأیید می‌نماید. دارماچی و آیزومیموتو در سال ۱۹۹۴ مشاهده کردند که افزودن

جدول ۴ میزان تغییرات TBA نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم در طول شصت روز نگهداری را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده شد در طول شصت روز نگهداری هر دو تیمار به همراه نمونه شاهد افزایش شاخص اکسیداسیون ثانویه چربی را از خود نشان دادند. با این وجود آزمون‌های مختلف آماری نشان داد که نگهدارنده‌ی طبیعی کیتوزان با غلظت ۱٪ (۱۰۰۰۰ ppm) نسبت به نمونه شاهد توانست به صورت معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) باعث کاهش اکسیداسیون ثانویه چربی در کالباس گوشت حرارت دیده شود. این درحالی بود که نمونه حاوی نگهدارنده مصنوعی نیتريت سدیم در غلظت ۰/۰۱٪ (که به صورت متداول نیز در این غلظت در کالباس گوشت حرارت دیده استفاده می‌شود) نتوانست هیچ تفاوت معنی‌داری با نمونه کنترل از خود نشان دهد ( $P > 0.05$ ). تا پایان روز چهارم نحوه تغییرات اکسیداسیون چربی بین نمونه شاهد و نمونه حاوی نیتريت سدیم کاملاً مشابه بود، اما پس از آن تیمار حاوی نیتريت سدیم کاهش محسوسی نسبت به نمونه

جدول ۵ آمده است. در پانزده روز اول pH تمام نمونه‌ها کاهش یافت و بیشترین کاهش مربوط به نمونه شاهد بود. در پانزده روز دوم کیتوزان و نمونه شاهد دارای روند افزایشی در میزان pH بودند، اما تیمار نیتريت با شیب بسیار کمی کاهش pH داشت. در پانزده روز پایانی نیز نمونه های کنترل و حاوی کیتوزان روند افزایش pH خود را ادامه دادند، اما در تیمار حاوی نیتريت کاهش میزان pH دیده شد.

پس از شصت روز بالاترین میزان pH مربوط به نمونه شاهد و کمترین میزان pH مربوط به تیمار حاوی نیتريت بوده است. تغییرات pH به دلایل متعددی ممکن است در نمونه ایجاد شود، یکی از مهم‌ترین آنها نوع فرمولاسیون نمونه‌ها و تغییرات بار میکروبی و افزایش آن در طول زمان نگهداری می‌باشد. جورجانتلیس و همکاران (۲۰۰۷ الف) دلیل افزایش pH را افزایش بار میکروبی نمونه‌ها بخصوص کپک و مخمر بیان نمود و دلیل اصلی آنرا تخریب اسیدهای آمینه و تشکیل آمونیاک دانست. با بررسی میزان تغییرات pH نمونه‌ها می‌توان گفت تیمار نیتريت و کیتوزان توانستند با کنترل بار میکروبی شاهد تغییرات کمتری در میزان pH خود باشند.

۱٪ کیتوزان به گوشت، TBA (منظور میلی گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم نمونه) آن را تا ۷۰٪ نسبت به نمونه شاهد در شرایط ۳ روز نگهداری در دمای ۴ °C کاهش می‌دهد، پس از ۱۰ روز نگهداری مقدار TBA در نمونه حاوی ۰/۵ تا ۱ درصد کیتوزان در حد همان روز اول باقی ماند، ولی TBA نمونه شاهد به شدت افزایش یافته بود. همچنین کمیل و همکاران (۲۰۰۲) گزارش دادند که کیتوزان در غلظت ۲۰۰ ppm توانست تا ۶۱٪ میزان اکسیداسیون چربی‌ها را در نمونه شاه ماهی نسبت به نمونه شاهد آن کاهش دهد. سولتوس و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که با افزودن کیتوزان به سوسیس تازه گوشت خوک که در شرایط ۴ °C نگهداری می‌گردد، میزان تولید TBA به صورت معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) نسبت به نمونه شاهد کاهش می‌یابد. همچنین اعلام داشتند کاهش تولید TBA وابسته به غلظت کیتوزان مصرفی می‌باشد. به طوری‌که تیمارهای ۰/۵٪ و ۱٪ کیتوزان به ترتیب باعث کاهش ۷۰٪ و ۸۰٪ TBA پس از ۱۴ روز نگهداری در دمای ۴ °C گردید. سومان و همکارانش در سال (۲۰۱۰) تاثیر کیتوزان با غلظت ۱٪ بروی رنگ و اکسیداسیون گوشت چرخ کرده گاو که در شرایط مختلف اتمسفر اصلاح شده<sup>۲</sup> تحت خلاء و معمولی بسته بندی شده بود بررسی کردند، آنها گزارش دادند در تمام نمونه‌های که حاوی کیتوزان بودند میزان اکسیداسیون کمتر از نمونه شاهد بود، لذا با مقایسه نتایج تحقیقات ذکر شده می‌توان صحت اثر مثبت نگهدارنده‌ی طبیعی کیتوزان بر کاهش اکسیداسیون ثانویه چربی در کالباس گوشت حرارت دیده را تأیید نمود.

**بررسی تغییرات pH:** بررسی میزان تغییرات pH به تفکیک نمونه و زمان در طول شصت روز نگهداری در

۱. mgMDA/kg

۲. *Clupea harengus*

۳. Modified Atmosphere Packaging (MPA)

جدول ۵- بررسی تغییرات pH به تفکیک نمونه و زمان در طول شصت روز نگهداری در دمای ۴°C

نمونه	روز اول	روز ۱۵	روز ۳۰	روز ۴۵	روز ۶۰
کنترل	۶/۳۶ ± ۰/۰۰ <sup>23a</sup>	۶/۲۴ ± ۰/۰۱ <sup>1a</sup>	۶/۳۲ ± ۰/۰۲ <sup>2ab</sup>	۶/۴۱ ± ۰/۰۴ <sup>34a</sup>	۶/۴۴ ± ۰/۰۰ <sup>4a</sup>
نیتريت	۶/۳۵۵ ± ۰/۰۰ <sup>2a</sup>	۶/۲۷ ± ۰/۰۰ <sup>1a</sup>	۶/۲۶ ± ۰/۰۰ <sup>1a</sup>	۶/۴۱ ± ۰/۰۳ <sup>3a</sup>	۶/۴۰ ± ۰/۰۲ <sup>3a</sup>
کیتوزان	۶/۳۶ ± ۰/۰۰ <sup>1a</sup>	۶/۳۵ ± ۰/۰۱ <sup>1b</sup>	۶/۴۴ ± ۰/۰۰ <sup>2c</sup>	۶/۴۸ ± ۰/۰۳ <sup>3a</sup>	۶/۵۲ ± ۰/۰۰ <sup>3b</sup>

اعداد جدول به صورت (انحراف معیار ± میانگین داده ها) می باشد. حروف (a-c) در هر ستون (روز های یکسان) نشان دهند اختلاف معنی دار در سطح ( $P < 0/05$ ) می باشد. سطح ( $P < 0/05$ ) می باشد. اعداد (۱-۴) در هر ردیف (تیمارهای یکسان) نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ( $P < 0/05$ ) می باشد.

رنگ را به خود اختصاص داده بود. پیش از این اثر مثبت کیتوزان بر رنگ فرآورده های گوشتی توسط بسیاری از محققین مورد بررسی قرار گرفته است، از جمله دارماجیویز و میموتو در سال های ۱۹۹۴ و ۱۹۹۶، جوآ و همکارانش در سال ۲۰۰۱، لی و همکاران در سال ۲۰۰۳، سولتوس و همکاران در سال ۲۰۰۸ و سومان و همکاران در سال ۲۰۱۰ که همگی آنها اثر مثبت کیتوزان بر بهبود رنگ فرآورده های گوشتی را تأیید کردند.

ارزیابی حسی: نتیجه امتیازات حاصل از ارزیابی حسی انواع کالباس گوشت حرارت دیده نگهداری شده در ۴°C در جدول ۶ آمده است. به صورت کلی نمونه ها دارای رنگ، بافت، مزه و بوی مناسب بودند. ظاهر آنها سالم و فاقد هر نوع چروکیدگی و بادکردگی بود. از لحاظ رطوبت نمونه ها بافتی آبدار و دارای خواص دهانی مطلوب بودند. نکته مهم تاثیر مثبت کیتوزان بر رنگ مطلوب کالباس گوشت بود که بالاترین میانگین پذیرش

جدول ۶- میانگین امتیازات ارزیابی حسی انواع کالباس گوشت حرارت دیده

* نمونه	رنگ	بافت	بو	مزه	آبداربودن
کنترل	۲/۷۸ <sup>a</sup>	۴/۹۳ <sup>a</sup>	۵/۸۵ <sup>a</sup>	۶ <sup>a</sup>	۴/۹۳ <sup>a</sup>
نیتريت	۵/۰۷ <sup>b</sup>	۵/۱۴ <sup>a</sup>	۵/۷۱ <sup>a</sup>	۵/۸۵ <sup>a</sup>	۵/۱۴ <sup>a</sup>
کیتوزان	۵/۸۵ <sup>b</sup>	۵/۴۳ <sup>a</sup>	۵/۹۳ <sup>a</sup>	۵/۹۳ <sup>a</sup>	۵/۲۱ <sup>a</sup>

\*  $n = 14$ ، حروف غیر یکسان (a-c) در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار آماری ( $P < 0/05$ ) می باشد.

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج تحقیق حاضر می توان گفت که کیتوزان در غلظت ۱٪ توانست به صورت موثر موجب کنترل اکسیداسیون چربی در نمونه های تیمار شده گردد و در طول شصت روز اختلاف معنی داری در سطح ( $P < 0/05$ ) نسبت به نمونه شاهد ایجاد نماید. در حالی که تیمار نیتريت سدیم نتوانست هیچ اختلاف معنی داری در این زمینه با نمونه شاهد ایجاد کند. کیتوزان علاوه بر داشتن اثر مناسب ضد اکسیداسیونی بروی چربی ها، دارای اثری مشابه با نیتريت سدیم در کنترل بار میکروبی

کالباس گوشت حرارت دیده نیز بود. همچنین کیتوزان در این غلظت موجب کنترل تغییرات pH و بهبود رنگ نمونه های تیمار شده گردید. ضمن اینکه این ماده جزء مواد طبیعی بوده و مصرف آن برای انسان بی ضرر می باشد. لذا می توان با تغییر غلظت آن در فرمول، محصولات با عمر ماندگاری بالاتر تولید کرد و از این طریق بهره اقتصادی را به ازاء هر واحد محصول تولیدی بالا برد.

**منابع مورد استفاده**

- سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ملی ایران، ۱۳۷۸، استاندارد ۴۷۹۱، روش‌های آزمون میکروبی گوشت و فرآورده‌های آن شمارش سودوموناس‌ها.
- سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ملی ایران، ۱۳۸۲، استاندارد ۲۶۲۹، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام-شمارش میکروارگانیزم‌های سرمدوست - روش آزمون.
- سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ملی ایران، ۱۳۸۴، استاندارد شماره ۲۳۰۳، سوسیسی و کالباس - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون، تجدید نظر سوم.
- سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ملی ایران، ۱۳۸۵، استاندارد ۲-۸۹۲۳، مقررات ویژه برای آماده سازی گوشت و فرآورده‌های آن).
- فاطمی ح، ۱۳۸۴، شیمی مواد غذایی. شرکت سهامی انتشار، چاپ پنجم، تهران. صفحه ۴۸۰.
- کامکار ا، رکنی ن، چراغ‌علی ع، حسینی ه، رضایی مجاز م، بکایی س، نوروزیان ا، عبدالله‌زاده ع ح، ۱۳۸۳، اندازه‌گیری میزان نیتريت در انواع فرآورده‌های گوشتی عرضه شده در ایران به وسیله روش اسپکتروفتومتریک. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۹، شماره ۲، ۱۸۲-۱۷۹.
- محمدی م، عقابی ف، سید احمدیان ف، ۱۳۸۶، ارزیابی ویژگی‌های حسی کالباس، فصل نامه علوم و صنایع غذایی ایران. دوره ۴. شماره ۴. ۱۷-۹.
- مرادی م، تاجیک ح، رضوی روحانی س، ارومیه‌ای ع ر، ملکی‌نژاد ح، ساعی دهکردی س، ۱۳۸۹، ارزیابی خصوصیات آنتی اکسیدانی، رنگ و اثرات ضد باکتریایی فیلم خوراکی کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی علیه لیستریا مونوسیتروژنز، مجله ارمنان دانش، دوره ۱۵، شماره ۴، ۳۱۵-۳۰۳.
- Abd El Hamied AA, Nassar AG, El Badry N. 2009. Investigations on Antioxidant and Antibacterial Activities of Some Natural Extracts. *World Journal of Dairy & Food sciences*. 4 (1): 1-7.
- AOAC, 2005. Official methods of analysis (18<sup>th</sup> Ed, 2nd Revision). Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Coma V, Martial-Gros A, Garreau S, Copinet A, Salin F, Deschamps A. 2002. Edible Antimicrobial Films Based on Chitosan Matrix. *Journal of Food Science*. 67 (3) 1162-1169.
- Darmadji P, Izumimoto M. 1994. Effect of chitosan in meat preservation. *Meat Science*. 38:243-54.
- Darmadji P, and Izumimoto, M. 1996. Effect of chitosan on meat preservation. *Indonesian food and nutrition progress*. 3 (2): 51-56.
- Egan H, Krik RS, Sawyer R., 1997. *Pearsons Chemical Analysis of Foods*. 1997; 9th edn. London: Fishing news book.
- Georgantelis D, Ambrosiadis I, Katikou P, Blekas G, Georgakis SA. 2007a. Effect of rosemary extract, chitosan and a-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*. 76: 172-181.
- Georgantelis D, Blekas G, Katikou P, Ambrosiadis I, Fletouris DJ. 2007b. Effect of rosemary extract, chitosan and a-tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science*. 75: 256-264.
- ISO, 2000, Animal and vegetable fats and oil, method: 5508-preparatin of methyl ester, method: 5509-compsition of fatty acid.
- ISO, 2003. ISO 4833:2003(E). Microbiology of food and animal feeding stuffs Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony-count technique at 30 °C. Switzerland: International Organisation for Standardisation.
- ISO, 1987. ISO 7954:1987(E). Microbiology – General guidance for enumeration of yeasts and moulds – Colony count technique at 25°C. Switzerland: International Organisation for Standardisation.
- ISO, 2004a. ISO 21528-2:2004(E). Microbiology of food and animal feeding stuffs –Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae – Part 2: Colony-count method. Switzerland: International Organisation for Standardisation.

- ISO, 2004b. ISO 7937: 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs— Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* – Colony count technique.
- Joa, AC, Leea JW, Leeb KH, Byuna MW, 2001. Quality properties of pork sausage prepared with water-soluble chitosan oligomer. *Meat Science*. 59: 369–375.
- Kamil JYVA, Jeon Janak YVA, Shahidi, F. 2002. Antioxidative activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (*Clupea harengus*). *Food Chemistry*. 79: 69–77.
- Kanatt SR, Chander R, Sharma A. 2008. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *Food Chemistry*. 107: 845-852.
- Lee HY, Park SM, Ahn DH. 2003. Effect of storage properties of pork dipped in chitosan solution. *Journal Korean Society Food Science Nutrition*. 32(4): 519-525.
- Liu DC, Tsau RT, Lin YC, Jan SS, Tan FJ. 2009. Effect of various levels of rosemary or Chinese mahogany on the quality of fresh chicken sausage during refrigerated storage. *Food Chemistry*. 117: 106-113.
- Lo'pez JF, Zhi N, Carbonell LA, Alvarez JAP, Kuri V. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*. 69: 371-380.
- Mielnik, M. B., Aaby, K., and Skrede, G. 2003. Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat. *Meat Science*. 65: 1147-1155.
- No, HK, Meyers, SP, Prinyawiwatkul W, Xu, Z. 2007. Applications of Chitosan for Improvement of Quality and Shelf Life of Foods: A Review. *Journal of Food Science*. 72 (5): 87-100.
- Ramarathnam N, Osawa T, Ochi H, Kawakishi S. 1995. The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trends in Food Science & Technology*. 6: 75-82.
- Riznar K, Celan S, Knez Z, Skerget M, Bauman D, Glaser, R. 2006. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Rosemary Extract in Chicken Frankfurters. *Journal of Food Science*. 71(7): 425-429.
- Sagoo S, Board R, Roller S. 2002. Chitosan inhibits growth of spoilage micro-organisms in chilled pork products. *Food Microbiology*. 19:175-82.
- Sallama KhI, Ishioroshib M, Samejimab K. 2004. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *Lebenson Wiss Technology*. 37(8): 849-855.
- Sebranek JG, Sewalt VJH, Robbins KL, Houser TA. 2005. Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*. 69: 289-296.
- Shahidi F, Arachchi JKV, Jeon YJ. 1999. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology*. 10: 37-51.
- Shan B, Cai YZ, Sun M, Corke H, 2005. Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 53 (20): 7749-7759.
- Soultos N, Tzikas Z, Abraham A, Georgantelis D, Ambrosiadis I. 2008. Chitosan effects on quality properties of Greek style fresh pork sausages. *Meat Science*. 80: 1150-1156.
- Suman SP, Mancini RA, Joseph P, Ramanathan R, Konda MKR, Dady G, Yin S. 2010. Packaging-specific influence of chitosan on color stability and lipid oxidation in refrigerated ground beef. *Meat Science*. 86: 994-998.
- Verbeke W, Pérez-Cueto FJA, De Barcellos MD, Krystallis A, Grunert KG. 2010. European citizen and consumer attitudes and preferences regarding beef and pork. *Meat Science*. 84: 284-292.
- Yanishlievaa NV, Marinovaa E, Pokorny J. 2006. Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 108:776-793.
- Yin M, Cheng W., 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. *Meat Science*. 63: 23-28.
- Youn SK, Park SM, Kim YJ, Ahn DH. 1999. Effect on storage property and quality in meat sausage by added chitosan. *Journal of chitin and chitosan*. 4(4): 189–195.
- Youn SK, Her JH, Kim YJ, Choi JS, Park SM, Ahn DH. 2004. Studies on the improvement of shelf-life in spicy beef meat using chitosan. *Journal Korean society food science nutrition*. 33(1):207–218.
- Weiss J, Gibis M, Schuh V, Salminen H. 2010. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*. 86: 196-213.

## Increasing of shelf-life of heated ham using natural preservative chitosan as replacing of sodium nitrite

M Molanezhad<sup>1</sup>, M Hedayatifard<sup>\*2</sup> and L Golestan<sup>3</sup>

Received: October 30, 2014 Accepted: August 15, 2015

<sup>1</sup>MSc in Food Science and Technology, Food Control Laboratory, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Fisheries, College of Natural Sciences, Qaemshahr branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

<sup>3</sup>Assistant Professor, Department of Food Sciences and Technology, College of Agriculture, Ayatollah Amoli branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

\*Corresponding author: E mail: Hedayati.m@qaemiau.ac.ir

### Abstract

Because of the importance of meat and meat products, especially sausage and Ham, and the adverse effects of artificial preservatives used in them, in this study has been investigated the effects of natural preservatives chitosan on the shelf life of heated meat Ham and also has been compared with synthetic preservative sodium nitrite. In this study, heated meat Ham in tow treatments, chitosan 1% and Sodium Nitrite 0.01% in conjunction with the control sample, was quality investigated at the temperature of 4°C during sixty days storage. All samples were analyzed in microbiological determinations, lipid oxidation, pH changes and sensory test. Treatments of Chitosan have significant differences ( $P < 0.05$ ) in the preventing of fat oxidation in comparison with the control sample, While the treatment with sodium nitrite could not establish any significant difference ( $P > 0.05$ ) with the control sample. In microbial study, chitosan treatment could make a significant difference ( $P < 0.05$ ) as the same nitrite in the total count of Mesophilic and psychrophilic microorganisms, mold and yeast than the control sample. Chitosan was cause to control pH changes similar to sodium nitrite. The chitosan treatment had the highest acceptability of color. According to the results of this study, chitosan at Concentration of 1% in addition to having anti-oxidative effects on fat, have the same effect on the controlling of microorganisms in heated meat Ham like sodium nitrite. Also chitosan in this concentration can control the pH change and improve the color of the treated samples.

**Key Word:** Chitosan, Meat products, Natural preservatives, Shelf life