

تأثیر پوشش کیتوزان-رززاری روی سالمونلا تایفی موریوم و اشریشیاکلی O157H7 در فیله

بو قلمون در شرایط نگهداری در یخچال

سپیده حاجیان، مهرنوش تدینی*

گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول: m.t.tadayoni@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۰۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۰۸

چکیده

با توجه به استقبال روز افزون از گوشت بو قلمون و اهمیت آن به لحاظ تغذیه‌ای بین مصرف کنندگان، محققین به دنبال یافتن راه‌های جدید برای افزایش مدت ماندگاری آن هستند. علاوه بر این، تقاضای مشتریان برای مواد غذایی سالم‌تر (فاقد نگهدارنده‌های شیمیایی متداول) در دهه‌ی اخیر افزایش پیدا کرده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر همزمان پوشش کیتوزان و اسانس رززاری روی باکتری‌های شاخص شامل سالمونلا تایفی موریوم و اشریشیاکلی O157:H7 در فیله بو قلمون در شرایط نگهداری در یخچال بود. برای این هدف فیله‌های بو قلمون با 10^6 CFU/g سالمونلا تایفی موریوم و اشریشیاکلی O157:H7 تلقیح شد. سپس همه فیله‌ها به ۳ گروه بدون پوشش (کنترل)، تیمار شده با اسید استیک یک درصد و غوطه‌ور شده در محلول کیتوزان حاوی یک درصد اسانس رززاری تقسیم شدند. نمونه‌ها در دمای یخچال به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند. شمارش باکتریایی سالمونلا تایفی موریوم و اشریشیاکلی O157:H7 در فواصل معین زمانی سه روزه (روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵) انجام شد. تست‌های شیمیایی مرتبط با فساد شیمیایی و کنترل کیفی فیله‌ها شامل pH و تیوباریتوریک اسید (TBA) در فواصل زمانی سه روزه (روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پوشش کیتوزان-رززاری اثر معناداری ($P < 0.05$) بر کاهش جمعیت باکتریایی سالمونلا تایفی موریوم و اشریشیاکلی O157:H7 داشت. همچنین نمونه‌های غوطه‌ور شده در کیتوزان حاوی اسانس رززاری میزان TBA و pH کم‌تری از دو گروه دیگر در طول نگهداری نشان دادند.

واژگان کلیدی: کیتوزان، رززاری، سالمونلا تایفی موریوم، اشریشیاکلی O157:H7، فیله بو قلمون.

مقدمه

ضروری، حضور مقادیر مناسب ویتامین‌هایی مانند نیاسین، ویتامین B₆ و B₁₂ و همچنین وجود مقادیر بالای اسیدهای چرب غیر اشباع، گوشت بو قلمون را منبع بسیار مناسبی برای افراد چاق، مسن، مبتلایان به بیماری قلبی و تهیه رژیم‌های کم چرب و سدیم ساخته است (Shalev et al., 1989; Bourre, 2005)، دانشیار و همکاران، ۱۳۸۹).

بیماری‌های ناشی از مواد غذایی، یکی از متداول‌ترین و مهم‌ترین مشکلات بهداشت عمومی در جهان امروز است. هر ساله ۱/۵ میلیارد مورد بیماری ناشی از مواد غذایی در سراسر جهان رخ می‌دهد. طبق آمار منتشر شده توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO¹) هر سال میلیون‌ها مورد ابتلا به اسهال در سراسر جهان اتفاق می‌افتد و هر سال بیش از ۱۲ میلیون کودک بر اثر

امروزه یکی از مهم‌ترین نیازهای جامعه بشری، تأمین مواد غذایی مورد نیاز به ویژه پروتئین حیوانی است. در این میان پرورش طیور مختلف گوشتی سهم بسزایی در تأمین نیازهای پروتئینی بر عهده دارد. بالا بودن سرعت رشد، پایین بودن ضریب تبدیل و بالا بودن کیفیت گوشت طیور در مقایسه با گوشت دام‌ها از عوامل اصلی توجه به این صنعت است. افزایش نیاز به منابع پروتئینی، تغییر ذائقه جوامع انسانی و کیفیت بالای گوشت بو قلمون منجر به توسعه پرورش این پرنده در جهان و به خصوص ایران شده است (دانشیار و همکاران، ۱۳۸۹). دارا بودن کلسترول پایین خصوصاً در سینه بو قلمون، حضور مقادیر مناسب مواد معدنی مانند پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن، سلنیوم، روی و سدیم در گوشت بو قلمون، دارا بودن الگوی مناسب اسیدهای آمینه و خصوصاً مقادیر مناسب اسیدهای آمینه

1- World Health Organisation

دی استیلایسون، وزن مولکولی، pH محیط (ماده غذایی)، دما و سایر ترکیبات بستگی دارد. کیتوزان با غلظت ۱ درصد بهترین خواص ضد میکروبی و آنتی-اکسیدانی را در گوشت دارد و گزارش شده است که در غلظت ۲-۲/۵ درصد بهترین پوشش را در نمونه‌ها ایجاد می‌کند و غلظت کمتر از ۲ درصد به علت پوشش نامناسب و بیشتر از ۲/۵ درصد به دلیل ویسکوزیته بالا برای پوشش‌دهی نمونه‌های گوشت مناسب نمی‌باشد (Jeon et al., 2002).

مشاهدات دوان و همکاران (۲۰۰۳) حاکی از آن است که استفاده از پوشش کیتوزان در ماهی، شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی و سرمادوست را به‌طور قابل توجهی در طول مدت نگهداری در شرایط سرما کاهش می‌دهد و میزان آن در طول ۲ هفته نگهداری زیر 10^7 cfu/g می‌ماند (Duan et al., 2003). واسکونز و همکاران (۲۰۰۹) و نو و همکاران (۲۰۰۷) نیز در استفاده از پوشش کیتوزان در فیله ماهی سالمون و گوشت گاو نگهداری شده در شرایط سرما به نتایج مشابهی دست یافتند (Vasconez et al., 2002; No et al., 2007). لاتو و همکاران (۲۰۱۴)، اثر ترکیبی بسته بندی کیتوزان و اتمسفر اصلاح شده را در ماندگاری فیله سینه مرغ در یخچال بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که باعث افزایش عمر ماندگاری آن می‌شود (Latou et al., 2014).

اسانس رزماری (*Rosmarinus officinalis*) که از گیاه رزماری به دست می‌آید دارای ترکیباتی مانند رزمانول، رزماری کوئینون، سینئول و کارنوسول می‌باشد که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی هستند و با اهداء هیدروژن باعث مهار و غیر فعال شدن رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Xiao et al., 2010). فعالیت آنتی‌اکسیدانی رزماری از ۳۰ سال پیش شناخته شده است و طی این مدت تحقیقات زیادی بر روی خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی این گیاه در ایران و

بیماری‌های مختلف جان خود را از دست می‌دهند که پنج میلیون مورد مربوط به بیماری‌های معده‌ای-روده‌ای است. همچنین در سال ۱۹۹۱ حدود ۲۳۰۰۰ مسمومیت غذایی با خسارت اقتصادی ۴۰ تا ۵۰ میلیون پوند گزارش شده است. بر اساس بررسی‌های صورت گرفته پنج دسته از غذاها شامل غذاهای دریایی، محصولات لبنی، تخم‌مرغ، گوشت (خصوصاً گوشت گاو)، مرغ، بوقلمون و محصولات مربوط به صنعت طیور، مسئول شیوع ۶۱ درصد از مسمومیت‌های غذایی بوده‌اند (CSPI, 2006).

فساد گوشت خام در طی نگهداری در یخچال در پی دو رخداد اتفاق می‌افتد: رشد میکروبی و فساد اکسیداتیو. فساد گوشت تازه، یک تحمیل اقتصادی برای تولیدکنندگان این محصول می‌باشد و از این رو توسعه روش‌های افزایش مدت ماندگاری، افزایش ایمنی و کیفیت یک مسأله مهم پیش روی صنعت تولید گوشت می‌باشد (Petrou et al., 2012). در سال‌های اخیر با توجه به گرایش مصرف کنندگان مواد غذایی برای مصرف محصولات طبیعی و بدون افزودنی‌های شیمیایی مطالعات زیادی در خصوص استفاده از پوشش‌های طبیعی انجام شده است. تحقیقات متعددی در مورد استفاده از کیتوزان برای افزایش عمر ماندگاری محصولات غذایی مختلف انجام شده است. از آن جمله می‌توان به کاربرد پوشش کیتوزان در مواد غذایی مختلفی مانند میوه‌ها و سبزیجات، تخم مرغ، پنیر و ماهی برای بهبود کیفیت و افزایش مدت ماندگاری آن‌ها اشاره نمود (Devlieghere et al., 2004; تاجیک و همکاران، ۱۳۸۹; Duan et al., 2007). کیتوزان خصوصیت ضد میکروبی بسیار خوبی علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد مانند، باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ‌ها دارد. فعالیت ضد میکروبی کیتوزان به فاکتورهایی مانند درجه

علمی و صنعتی ایران، مرکز کلکسیون میکروبی تهیه و استفاده شد.

آماده سازی کشت های لیوفیلیزه جهت تلقیح

ابتدا از کشت لیوفیلیزه در محیط TSB در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت حداقل دو بار به طور متوالی کشت داده شد، پس از کشت دوم، بر روی TSA در پلیت منتقل گردید و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. از این کشت در تحقیق استفاده گردید. این کشت (کشت ذخیره مرجع) در ۴ درجه سانتی گراد نگهداری و به صورت هفتگی تجدید کشت شد.

تعیین حداکثر رشد

جهت تعیین حداکثر رشد^۱ از روش شرح داده شده در استاندارد ملی ایران به شماره ۹۸۹۹ سال ۱۳۹۴ استفاده شد که به طور خلاصه به شرح زیر است. کشت خطی از کشت مرجع سویه باکتری مورد نظر روی محیط کشت TSA به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، سپس تلقیح ۴ یا ۵ کلنی خالص باکتری رشد کرده در محیط کشت TSB به مدت ۲۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه صورت گرفت. پس از آن، از این کشت برداشته و مجدداً در محیط TSB در همان دما و زمان کشت داده شد و رقت های متوالی ده تایی به روش کشت سطحی (از رقت های 10^{-3} تا 10^{-8}) روی محیط TSA به مدت ۲۴ ساعت و دمای ۳۷ درجه کشت شد. سپس تعداد کلنی ها شمارش شده و حداکثر مقدار باکتری در هر میلی لیتر تعیین شد (رقت سازی و شمارش با سه بار تکرار انجام شد). میانگین به دست آمده به عنوان حداکثر جمعیت میکروبی برای هر دو باکتری مورد مطالعه به ترتیب $10^8 \times 1/85$ CFU/ml برای *اشریشیاکلی* O157:H7 و $10^8 \times 1/43$ CFU/ml برای *سالمونلا تیفی موربیوم* بود و از هر کدام از باکتری های ذکر شده به میزان 10^6 CFU/g برای فیله های

جهان انجام شده است (اعتمادی و همکاران، ۱۳۸۷؛ Georgantelis et al., 2007). لذا استفاده از اسانس رزماری به دلایل طبیعی بودن، ویژگی های آنتی-اکسیدانی و ضدباکتریایی آن در نگهداری مواد غذایی مورد توجه محققین قرار گرفته است و نتایج مثبتی از به کارگیری آن در بالا بردن مدت زمان نگهداری مواد غذایی گزارش شده است (Georgantelis et al., 2007). اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری بر روی پاتوژن ها از جمله *لیستریا مونوسیتوژنز* و *اشریشیاکلی* به خوبی نشان داده شده است (Gachkar et al., 2007). علیرغم مطالعات متعدد در مورد خصوصیت آنتی-اکسیدانی و ضد میکروبی کیتوزان و اسانس رزماری، تاکنون گزارشی در خصوص اثر همزمان پوشش دهی و اسانس رزماری بر باکتری های شاخص در آلودگی بوقلمون منتشر نشده است. لذا با توجه به اهمیت باکتری های شاخص *سالمونلا تیفی موربیوم* و *اشریشیاکلی* O157:H7 در بیماریزایی و تمایل روز افزون مصرف کنندگان برای مصرف گوشت بوقلمون و محصولات تازه و بدون نگهدارنده های شیمیایی، هدف از این مطالعه بررسی اثر پوشش کیتوزان حاوی اسانس رزماری بر روی فیله های تازه بوقلمون به منظور ارزیابی اثر آن بر کنترل آلودگی *سالمونلا* و *اشریشیاکلی* O157:H7 در فیله بوقلمون نگهداری شده در شرایط یخچال است.

روش کار

مواد

اسانس گیاه رزماری به صورت آماده از شرکت باریج اسانس خریداری شد. گوشت بوقلمون تازه به صورت کشتار روز از بازار اهواز تهیه گردید و پس از شست و شو با آب فراوان، با اشعه UV استریل شده و سپس فیله ها جهت تلقیح باکتریایی آماده شدند (Fabrizio et al., 2002). کشت لیوفیلیزه باکتری *اشریشیاکلی* O157:H7 (ATCC 35150) و *سالمونلا تیفی موربیوم* (ATCC 35987) از سازمان پژوهش های

1- Maximum population

بوقلمون به‌طور دقیق توسط سمپلر به فیله‌ها تلقیح شدند (استاندارد ملی ایران شماره ۹۸۹۹، ۱۳۹۴).

دسته‌بندی فیله‌های تلقیح شده

فیله‌ها به سه گروه بدون پوشش یا کنترل (فیله بوقلمون غوطه‌ور شده در آب مقطر استریل)، غوطه‌ور شده در محلول ۱ درصد اسید استیک (مقدار ۹۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل در یک استوانه ۱۰۰۰ میلی‌لیتری استریل ریخته شده و سپس مقدار ۱۰ میلی‌لیتر اسید استیک به آن افزوده شده و سپس محلول اسید استیک ۱ درصد تهیه شده به داخل بشرهای ۱۰۰۰ میلی‌لیتری استریل حاوی نمونه‌ها انتقال یافت) و فیله‌های غوطه‌ور شده در اسید استیک حاوی ۲ درصد کیتوزان و ۱ درصد اسانس رزماری (اسانس رزماری به همراه محلول پلی‌سورباتو گلیسرول ۰/۵ درصد با غلظت نهایی ۱ درصد به محلول اسید استیک ۱ درصد اضافه گردید و سپس مقدار ۴۰ گرم پودر کیتوزان را در یک استوانه مدرج استریل ۲ لیتری ریخته و توسط محلول اسید استیک ۱ درصد حاوی اسانس رزماری به حجم ۲ لیتر رسانده شد) تقسیم شدند. تمام گروه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه تیمار شدند. پس از بیرون آوردن فیله‌ها از محلول‌های مورد استفاده، کلیه فیله‌ها مدتی در زیر هود قرار گرفته تا خشک شوند. سپس فیله‌ها در ظروف پلاستیکی استریل شده به وسیله اشعه UV قرار داده شده و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ روز نگهداری شد.

آزمون میکروبی

بدین منظور در زمان‌های مشخص ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ روز از تیمارهای فوق‌الذکر در هر روز تعداد ۳ بسته (۳ تکرار) بر داشته و از نمونه‌های فیله مربوطه توسط استومکر در سرم فیزیولوژی استریل، رقت ۰/۱ تهیه شد. نهایتاً پس از تهیه رقت‌های متوالی ده‌تایی از نمونه‌ها روی محیط‌های XLD و CT-SMAC به ترتیب برای *سالمونلا* و *اشریشیاکلی* O157:H7 کشت

سطحی داده شده و پس از گرمخانه‌گذاری به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد شمارش و محاسبه تراکم هر یک از باکتری‌های مورد مطالعه در فیله گوشت بوقلمون صورت گرفت.

اندازه‌گیری تیوباربیتریک اسید

مقدار ۵ گرم از فیله بوقلمون به همراه ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری توسط هم‌زن برقی به‌طور کامل هم‌زن گردید و سپس محلول هم‌زن شده را از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده و محلول صاف شده دوباره به کمک محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. ۳ میلی‌لیتر از محلول صاف شده را به همراه ۳ میلی‌لیتر محلول تیوباربیتریک اسید ۰/۰۲ مولار در یک لوله آزمایش در پیچ دار با هم مخلوط کرده و به مدت ۴۵ دقیقه در آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از این مدت و خنک شدن نمونه‌ها، میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری گردید (Ojagh et al., 2010; Wrolstad et al., 2005). جهت تهیه نمونه شاهد، مقدار ۳ میلی‌لیتر از محلول تری کلرواستیک-اسید ۱۰ درصد با ۳ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۲ مولار تیوباربیتریک اسید مخلوط گردید و سپس با استفاده از فرمول زیر میزان میلی‌گرم مالون‌دی آلدئید^۱ در هر کیلوگرم از گوشت اندازه‌گیری گردید (Ojagh et al., 2010).

$$TBA(mgMDA/kgoftissue) = \frac{50 \times (As - Ab)}{200}$$

(میزان جذب نوری نمونه‌ها=As، میزان جذب نوری محلول استاندارد تیوباربیتریک اسید=Ab) به منظور تهیه محلول استاندارد تیوباربیتریک اسید، میزان ۲۰۰ میلی‌گرم از پودر تیوباربیتریک اسید را در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد تری کلرواستیک‌اسید

1- Malondialdehyde (MDA)

استیک و نیز آب مقطر به ترتیب کاهشی معادل log ۲/۲ و log ۱/۵ مشاهده شد. حال آن که بیشترین مقدار کاهش /اشریشیاکلی O157:H7 در تیمار با کیتوزان-رززاری مشهود می‌باشد که در پایان دوره معادل log ۴/۸ می‌باشد. این کاهش به ترتیب برای تیمارهای اسید استیک و نیز آب مقطر معادل log ۳/۹ و log ۲/۹ بود. با توجه به نمودار ۱، نتایج نشان دادند که با افزایش مدت زمان نگهداری، در بین ۳ تیمار در جمعیت سالمونلا تایفی‌موریوم و اشریشیاکلی O157:H7 اختلاف معنی‌داری وجود دارد به گونه‌ای که بیشترین میزان کاهش برای هر دو جمعیت باکتریایی در روز ۱۵ مشاهده شد و بنابراین عملکرد تیمار سوم (کیتوزان-رززاری) در کاهش بار باکتریایی سالمونلا تایفی‌موریوم و اشریشیاکلی O157:H7 نسبت به دو تیمار دیگر اثر بخش‌تر بود ($P < 0/001$). همچنین آنالیز آماری نشان داد که نوع تیمار، زمان و اثر متقابل این دو عامل تأثیر معنا داری بر شمارش جمعیت باکتریایی هر دو گونه داشته است ($P < 0/01$). گروه کنترل با دو گروه دیگر اختلاف داشت ($P < 0/01$) این اختلاف در اشریشیاکلی O157:H7 ($P < 0/001$) نسبت به سالمونلا تایفی‌موریوم ($P < 0/01$) بیشتر بود. علاوه بر این بین گروه دوم (اسید استیک) و سوم (کیتوزان-رززاری) نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت که این اختلاف در اشریشیاکلی O157:H7 ($P < 0/001$) نسبت به سالمونلا تایفی‌موریوم ($P < 0/01$) بیش تر بود.

حل نموده و جذب نوری محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید.

اندازه‌گیری pH

مقدار ۵ گرم از فیله بوقلمون به همراه ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری و توسط هم‌زن برقی به‌طور کامل هم‌وزن شد و سپس توسط pH متر دیجیتالی میزان pH نمونه اندازه‌گیری شد (Fan et al., 2009).

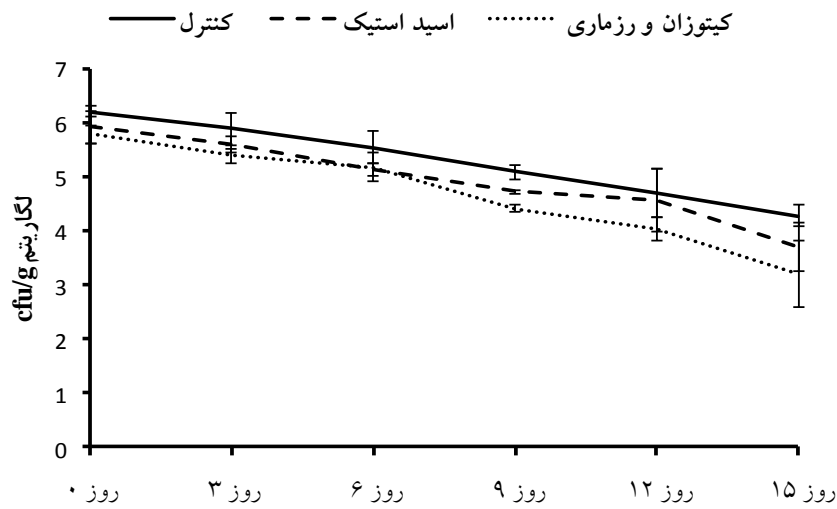
تجزیه و تحلیل آماری

آزمون‌های میکروبی و شیمیایی در سه تکرار انجام شد. داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ به‌طور توصیفی و تحلیلی بررسی شد. تحلیل داده‌های کمی بعد از بررسی وجود پیش فرض‌های لازم با روش آنالیز واریانس دو طرفه انجام شد و $\alpha = 0/05$ مبنای قضاوت آماری لحاظ گردید. همچنین برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel ۲۰۱۳ استفاده شد.

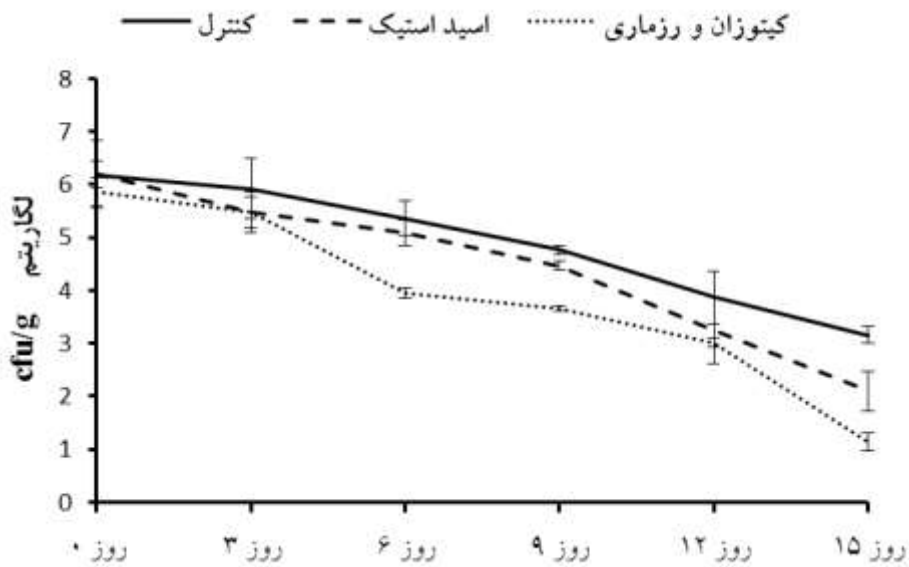
نتایج

نتایج آزمون‌های میکروبی

بر اساس نمودار (۱) جمعیت باکتریایی هر دو باکتری در تیمار پوشش کیتوزان-رززاری شیب کاهشی تندی را در مقایسه با تیمارهای کنترل یا آب مقطر و نیز اسید استیک از خود نشان دادند. همان‌گونه که در نمودار (۱) مشخص است تیمار فیله بوقلمون با کیتوزان-رززاری باعث کاهش جمعیت سالمونلا تایفی-موریوم شد، به نحوی که در پایان دوره کاهشی معادل $2/7 \text{Log}$ مشاهده شد، در حالی که در تیمار با اسید



(الف)



(ب)

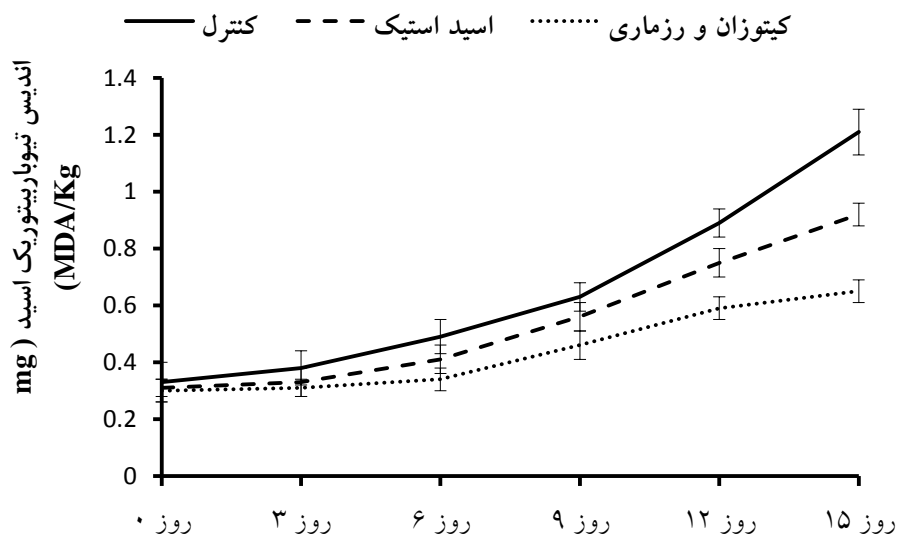
نمودار ۱- تغییرات میانگین لگاریتم باکتری‌های (الف) *سالمونلا تیپیفی موربوم* و (ب) *اشریشیاکلی O157H7* در فیله بوقلمون در طی ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال.

نتایج حاصل از اندیس تیوباربیستوریک اسید نشان داد در هر سه تیمار کنترل، اسید استیک و کیتوزان-رزماری برای هر دو باکتری مورد مطالعه روند افزایشی دارد ولی میزان افزایش اندیس تیوباربیستوریک اسید در تیمار کنترل نسبت به بقیه تیمارها بیشتر بود. بیشترین

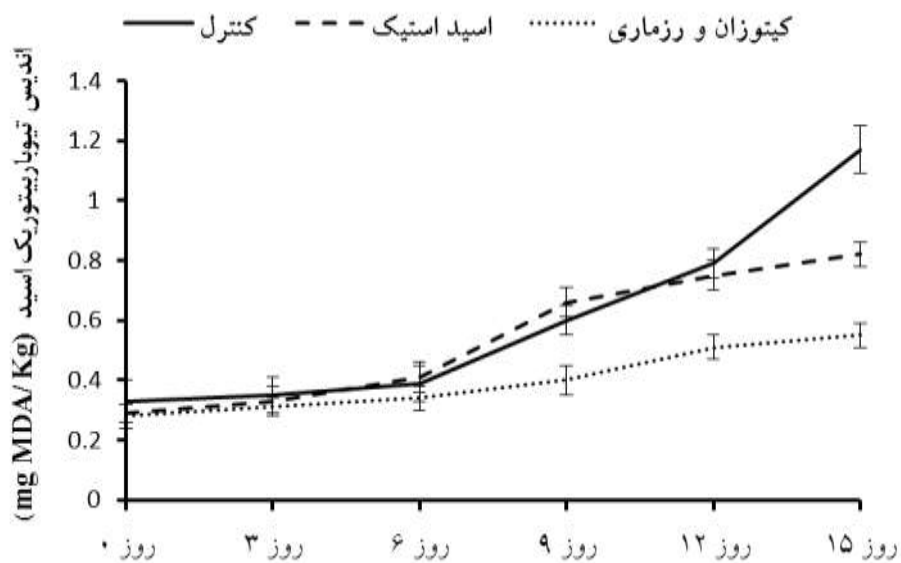
تغییرات اندیس تیوباربیستوریک اسید نتایج مربوط به تغییر اندیس تیوباربیستوریک اسید در فیله‌های تلقیح شده با باکتری *سالمونلا تیپیفی موربوم* و *اشریشیاکلی* در دوره نگهداری در یخچال به مدت ۱۵ روز در شکل ۲ الف و ب نشان داده شده است. بررسی

برای اشریشیاکلی O157:H7 بین گروه کنترل با گروه دوم از روز ۱۲ به بعد و بین گروه کنترل با گروه سوم از روز ۶ به بعد و همچنین گروه دوم و سوم از روز ۶ به بعد با هم اختلاف معناداری وجود دارد ($P < 0.01$). همچنین تغییرات میانگین میزان مواد واکنش دهنده با تیوباربتوریک اسید در طی یک دوره ۱۵ روزه نگهداری در دمای یخچال برای هر دو جمعیت باکتریایی نشانگر یک روند افزایشی در تمام گروهها بوده است به طوری که در روز ۱۵ نگهداری، بالاترین میزان آن مربوط به گروه کنترل و کمترین میزان آن مربوط به تیمار کیتوزان حاوی اسانس رزماری می باشد (نمودار ۲).

مقدار اندیس تیوباربتوریک اسید در فیله تلقیح شده با سالمونلا تایفی موریوم مربوط به نمونه های کنترل، ۱/۲۱ میلی گرم بر کیلوگرم و در نمونه کیتوزان- رزماری ۰/۶۵ میلی گرم بر کیلوگرم بود. همچنین در نمونه های تلقیح شده با اشریشیاکلی در نمونه کنترل، ۱/۱۷ میلی گرم بر کیلوگرم و در نمونه کیتوزان- رزماری، ۰/۵۵ میلی گرم بر کیلوگرم بود. آنالیز آماری داده های حاصل از این مطالعه نشان داد که گروه، زمان و اثر متقابل این دو بر هم تأثیر معناداری بر روی میزان اندیس تیوباربتوریک اسید دارند. به طوری که برای باکتری سالمونلا تایفی موریوم بین گروه کنترل با دو گروه دیگر و همچنین گروه دوم و سوم با هم از روز سوم به بعد اختلاف معناداری وجود دارد ($P < 0.001$) و



(الف)



(ب)

نمودار ۲- تغییرات میانگین اندیس تیوباربیتوریک اسید (mg MDA/ Kg) فیله بوقلمون تلقیح شده با سالمونلا تایفی موریوم (الف) و اشیریشیاکلی O157:H7 (ب) در طی ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال.

تغییرات pH در بررسی داده‌های بدست

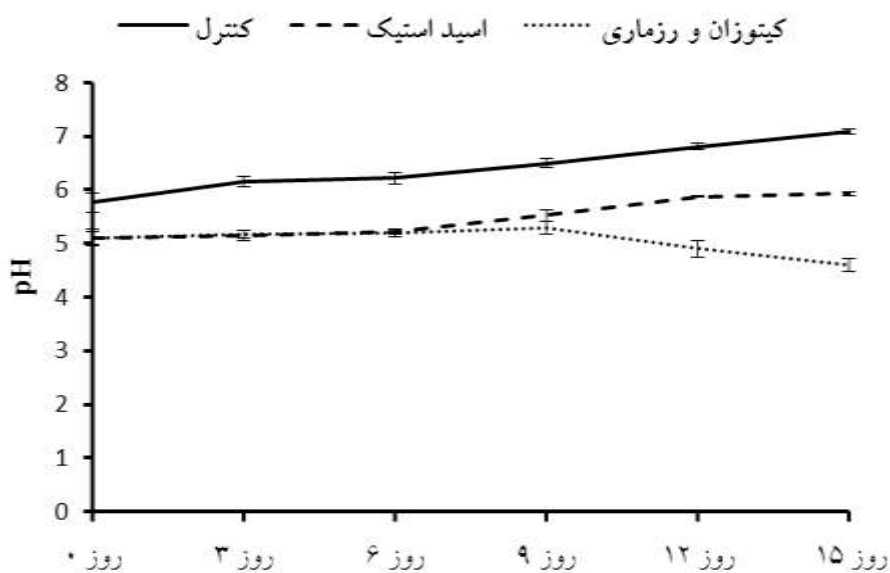
آمده از باکتری سالمونلا تایفی موریوم نشان داده شد که بین گروه کنترل با دو گروه دیگر از روز صفر و هم- چنین بین گروه دوم و سوم از روز نهم به بعد اختلاف معناداری وجود دارد ($P < 0.001$) و در روز پانزدهم نیز نتیجه آزمون LSD، نشانگر اختلاف معناداری بین هر سه گروه می‌باشد ($P < 0.001$). همچنین برای باکتری اشیریشیاکلی O157:H7 بین گروه کنترل با دو گروه دیگر از روز صفر اختلاف معناداری وجود دارد ($P < 0.01$) ولی بین گروه دوم و سوم در کل دوره اختلاف معنی داری مشهود نمی‌باشد. با توجه به نمودار (۳) روندی افزایشی در گروه کنترل و تیمار اسید استیک برای فیله‌های بوقلمون تلقیح شده با سالمونلا تایفی موریوم و اشیریشیاکلی O157:H7 در دمای یخچال در ۱۵ روز نگهداری مشاهده شد. در حالی که برای سالمونلا تایفی موریوم در تیمار کیتوزان حاوی اسانس رزماری تا روز ۹ نگهداری یک روند افزایشی ولی در روزهای ۱۲ و ۱۵ یک افت ناگهانی در میزان pH وجود دارد و روز ۱۵ نگهداری بالاترین میزان

تغییرات pH

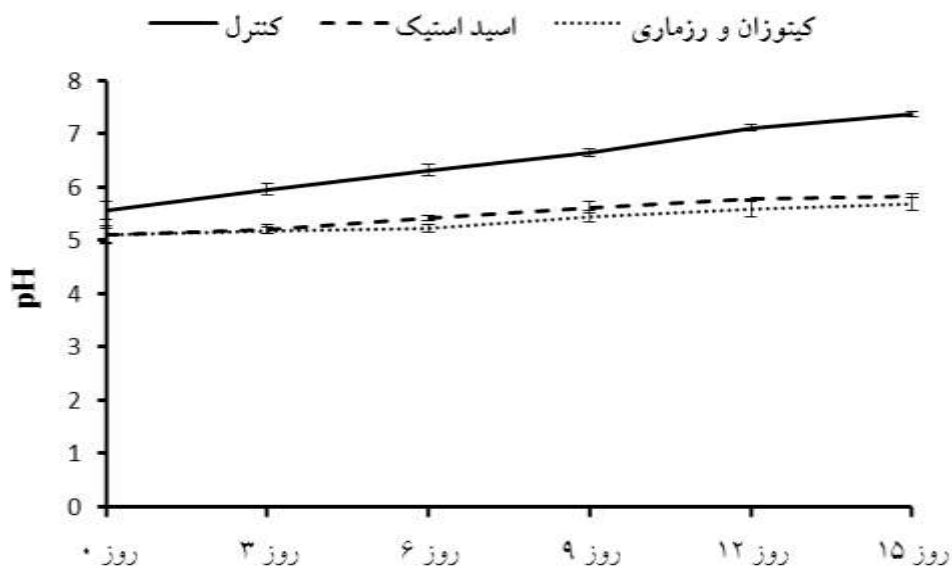
طبق داده‌های نمودار (۳) و با توجه به نتایج آماری به دست آمده، به‌طور کلی میزان pH در گروه کنترل و تیمار اسید استیک یک روند افزایشی را در طی نگهداری نشان داد در حالی که در تیمار کیتوزان حاوی اسانس رزماری سالمونلا تایفی موریوم تا روز نهم نگهداری روندی افزایشی و پس از آن از روز دوازدهم به‌طور ناگهانی تا روز ۱۵ کاهش پیدا کرده است. حال آن که در مورد تیمار کیتوزان حاوی اسانس رزماری اشیریشیاکلی O157:H7 در کل دوره ۱۵ روزه نگهداری، میزان pH یک روند افزایشی اندکی را نشان داده است. طبق نتایج آماری به‌دست آمده از روز صفر تا پایان دوره نگهداری میزان pH در گروه کنترل به‌طور معناداری بیش‌تر از دو گروه دیگر می‌باشد. همچنین میزان pH در تیمار کیتوزان حاوی اسانس رزماری کم- تر از تیمار اسید استیک می‌باشد. آنالیز آماری نشان داد که برای باکتری‌های سالمونلا تایفی موریوم و اشیریشیاکلی O157:H7 گروه، زمان و اثر متقابل این دو برهم تأثیر معناداری بر pH دارد (به ترتیب

داری نسبت به هم نشان ندادند. همچنین بر اساس نتایج حاصله بالاترین میزان pH مربوط به گروه کنترل و کمترین میزان آن مربوط به تیمار کیتوزان حاوی اسانس رزماری می‌باشد.

مربوط به گروه کنترل و کمترین میزان آن مربوط به تیمار کیتوزان حاوی اسانس رزماری می‌باشد اما اشیریشیاکلی O157:H7 تیمار کیتوزان حاوی اسانس رزماری در ۱۵ روز نگهداری روندی افزایشی داشت و تیمار اسید استیک و تیمار کیتوزان حاوی اسانس رزماری در کل دوره ۱۵ روزه نگهداری اختلاف معنی-



(الف)



(ب)

نمودار ۳- تغییرات میانگین pH فیله بوقلمون تلقیح شده با *سالمونلاتایفی* موربوم (الف) و *اشیریشیاکلی* O157:H7 (ب) در طی ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال.

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد میزان کاهش جمعیت در *اشریشیاکلی* O157:H7 در مقایسه با *سالمونلا تایفی* موریوم بسیار بیشتر بوده است. در مورد باکتری *سالمونلا تایفی* موریوم همان طور که نشان داده شده است نتایج حاکی از مقاومت بیشتر نسبت به *اشریشیاکلی* O157:H7 است به گونه ای که شیب کاهش بار باکتریایی در مورد *سالمونلا تایفی* موریوم در فیله بوقلمون در تمامی تیمارها نسبت به *اشریشیاکلی* O157:H7 کمتر است که بیانگر مقاومت بیشتر این باکتری در برابر خواص ضد میکروبی کیتوزان-رززاری و نیز اسید استیک است. وانگ و همکاران (۲۰۱۴) تأثیر خواص ضد میکروبی آب یخ الکترولیز شده اسیدی در حفظ کیفیت میگو را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه کاهش میزان زندهمانی باکتریها در مورد تیمار با آب یخ الکترولیز شده اسیدی بسیار بیشتر از آب یخ معمولی بود. آنها بیان کردند که جمعیت باکتریایی کل در مورد آب الکترولیز شده اسیدی $\log 1/5$ کاهش بعد از ۲۴ ساعت ذخیره سازی را نشان داد در حالی که در مورد آب یخ معمولی $\log 0/37$ بعد از ۴۸ ساعت در دمای ۱۸ درجه را نشان داد. این نتایج با نتایج تحقیق حاضر مبنی بر کاهش کمتر بار میکروبی در تیمارهای اسید استیک در خصوص هر دو باکتری مورد مطالعه دلالت دارد (Wang et al., 2014).

بالا بودن میزان کاهش باکتری *اشریشیاکلی* در تحقیق حاضر می تواند به علت حساسیت بیشتر *اشریشیاکلی* O157:H7 نسبت به *سالمونلا تایفی* موریوم در برابر خواص ضد میکروبی کیتوزان-رززاری باشد. رویز منصور و همکاران (۲۰۱۵) مطالعه ای با عنوان تأثیر آب الکترولیز شده اسیدی و فوماریک اسید و ترکیب آنها بر روی برخی پاتوژن های مواد غذایی از جمله *اشریشیاکلی* O157:H7، *لیستریا منوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی* - موریوم در گوشت تازه ی خوک را مورد بررسی قرار

دادند. نمونه های تلقیح شده ی گوشت خوک بعد از تلقیح به مدت ۳ دقیقه به صورت غوطه وری در تیمارهای مورد نظر با دمای ۴۰ درجه قرار داده شدند. تیمار نمونه ها با آب الکترولیز شده ی اندکی اسیدی در ترکیب با فوماریک اسید ۰/۵ درصد در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه دارای بیشترین تأثیر باکتری کشی در مقایسه با سایر تیمارها بود به گونه ای که باعث کاهش *اشریشیاکلی* O157:H7، *لیستریا منوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی* - موریوم به ترتیب ۲/۵۹، ۲/۶۹، ۲/۳۸ و ۲/۹۹ شد (RoisMansur et al., 2015).

بیالکا و همکاران (۲۰۰۴) تأثیر آب الکترولیز شده را بر روی میزان زندهمانی *سالمونلا اینتریتیدیس* و *اشریشیاکلی* در سطح تخم مرغ مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار تخم مرغ با این آب الکترولیز شده باعث کاهش $\log 1/7$ و $\log 3$ *سالمونلا* و *اشریشیاکلی* شد (Bialka et al., 2004). به همین ترتیب رحمان و همکاران (۲۰۰۹)، اثر آب الکترولیز شده در دماها، زمان ها و pH متفاوت بر روی *اشریشیاکلی* O157:H7، *لیستریا منوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تایفی* موریوم را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه *اشریشیاکلی* O157:H7 حساس ترین باکتری، سپس *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا تایفی* موریوم و نهایتاً *لیستریا منوسیتوژنز* بود (Rahman et al., 2010). نتایج این تحقیقات با نتایج تحقیق حاضر از نظر حساسیت بیشتر *اشریشیاکلی* O157:H7 نسبت به *سالمونلا تایفی* موریوم مطابقت دارد.

در مورد مکانیسم فعالیت ضد میکروبی کیتوزان فرضیه های متعددی وجود دارد که محتمل ترین آنها، تغییر در نفوذپذیری غشای سلولی به واسطه ی واکنش بین بار مثبت مولکول های کیتوزان و بار منفی غشای سلول های میکروبی است. این واکنش منجر به نشت

به این میزان رسیده است. به همین ترتیب در مورد باکتری‌های سایکروفیل، بعد از ۱۴ روز تعداد باکتری‌ها تقریباً به $7 \log \text{cfu/g}$ رسیده، در حالی که در گروه کنترل بعد از ۹ روز به $7/6 \log \text{cfu/g}$ رسید.

تغییرات اندیس تیوباربتوریک اسید میزان اندیس تیوباربتوریک اسید در تمام طول مدت نگهداری، در هر سه گروه روندی افزایشی را نشان داده است. محققین مکانیسم عمل کیتوزان برای کاهش اکسیداسیون چربی در غذاهای گوشتی را به صورت عامل شلاته‌کنندگی آن بیان کرده‌اند که سبب کاهش فعالیت یون‌های فلزی مثل یون‌های آهن که مسئول شروع پراکسیداسیون لیپیدها و آغاز واکنش‌های زنجیره‌ای هستند و منجر به بد شدن طعم در مواد غذایی می‌شوند (Petrou et al., 2012; Yen et al., 2008). همچنین کرول و راول (۲۰۰۱)، علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی رزماری در گوشت را به میزان بالای ترکیبات فنولی در آن که از تبدیل رنگدانه‌های قرمز «هم» به رنگ قهوه‌ای «مت‌هموگلوبین» جلوگیری می‌کند، بیان کردند (Kroll and Rawel, 2001). براگانولو و همکاران (۲۰۰۵)، در مورد تأثیر رزماری روی اکسیداسیون چربی‌ها در گوشت سینه مرغ چرخ شده^۱ در شرایط یخچالی و حرارت دیده چنین گزارش کردند که رزماری تأثیر بسیار قوی در جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها و نیز تخریب آلفا و گاما توکوفرول‌ها در طی ۹ روز نگهداری داشته است (Bragagnolo et al., 2005). بوین و همکاران (۲۰۰۳)، میزان ۲ میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در هر کیلوگرم گوشت را شروع اکسیداسیون چربی و آغاز تغییر در طعم گوشت مرغ بیان کرده‌اند در حالی که تیتس و همکاران (۲۰۰۸)، میزان ۳ میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در هر کیلوگرم را همراه با فساد اکسیداتیو در گوشت گزارش نموده‌اند. در هر صورت میزان به-دست آمده در تحقیق حاضر در هر سه گروه بسیار کم-

محتویات پروتئینی و سایر محتویات داخل سلولی می‌شود و همچنین سایر مکانیسم‌های ضد میکروبی کیتوزان مانند واکنش کیتوزان با محصولات حاصل از هیدرولیز داخل سلول میکروبی و واکنش با DNA میکروبی است که باعث ممانعت از سنتز پروتئین، mRNA و شلاته کردن فلزات، عناصر و مواد مغذی ضروری سلول و در نهایت مرگ سلولی می‌شود (No et al., 2007). در مورد مکانیسم ضد میکروبی اسانس رزماری نیز، بورت (۲۰۰۴) مکانیسم ضد میکروبی اسانس‌ها را ایجاد اختلال در غشای سیتوپلاسمی و به هم زدن نیروی حرکتی و جریان پروتون‌ها، الکترون‌ها و اختلال در انتقال فعال سلولی و انعقاد محتویات داخل سلولی و در نهایت مرگ سلولی بیان کرده است (Burt, 2004). جرجانتلیس و همکاران (۲۰۰۷)، با مطالعه اثر کیتوزان و اسانس رزماری و هم‌چنین α -توکوفرول بر روی پارامترهای میکروبی و اکسیداسیون چربی در سوسیس تازه، علاوه بر اثبات خواص ضد میکروبی کیتوزان و رزماری هر یک به تنهایی، به اثر سینرژیستی این دو با هم اشاره کرده است و کم‌ترین شمار باکتری‌ها در بین تمامی تیمارها مربوط به تیمار کیتوزان حاوی اسانس رزماری بوده است. این محققین کاهش میزان تعداد کلی باکتری‌ها در حد $1-2 \log \text{cfu/g}$ و افزایش ماندگاری سوسیس در دمای یخچال را نیز گزارش نموده‌اند و هم‌چنین کیتوزان در مطالعه آنان تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید را هم در حد $2 \log \text{cfu/g}$ کاهش داده است (Georgantelis et al., 2007). هم‌چنین حسن زاده و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند که به طور کلی در طول مدت نگهداری نمونه‌های گوشت مرغ در دمای یخچال، فلور میکروبی به طور معناداری در کل نمونه‌ها افزایش می‌یابد که سرعت این افزایش در گروه کنترل بیشتر بوده است و بعد از گذشت ۹ روز تعداد باکتری‌ها در نمونه کنترل به بیش از $7 \log \text{cfu/g}$ رسیده، این در حالی است که در نمونه کیتوزان و کیتوزان و عصاره انگور بعد از ۲۱ روز

^۱ . Minced

نگهداری هم‌چنان پائین‌تر از ۶ باقی مانده است را می‌توان مربوط به خاصیت اسیدی استیک و نیز محلول کیتوزان (pH=۴) و هم‌چنین خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قوی کیتوزان و رزماری نسبت داد. لاتو و همکاران (۲۰۱۴) علت اصلی افزایش pH در گوشت خام در دمای یخچال را مربوط به تولید ترکیبات قلیایی مثل آمونیاک و تری‌متیل‌آمین که ناشی از شکسته شدن پروتئین‌های گوشت و پروتئین‌های میکروبی می‌باشند گزارش نمودند (Latou et al., 2014). جرجنتالیس و همکاران (۲۰۰۷) افزایش pH را مربوط به جمعیت باکتری‌های گرم منفی مثل *انتروباکتریاسه*، *سودوموناس* و *کپک* و مخمر بیان کردند که پروتئین‌ها و آمینواسیدهای حاصل از تخریب آن‌ها سبب افزایش pH می‌شود (Georgantelis et al., 2007). در مطالعه دیگری که توسط تیسرونی و همکاران (۲۰۰۹) انجام شده است علت اصلی افزایش pH در گوشت را تجمع ترکیبات حاصل از فعالیت آنزیم‌های گوشت و فعالیت آنزیم‌های میکروبی در گوشت بیان کردند (Tsironi et al., 2009).

اکونومو و همکاران (۲۰۰۹)، محدوده‌ی طبیعی pH گوشت مرغ خام را ۶/۳-۶/۱ و به‌طور میانگین ۶/۲ گزارش کرده‌اند (Economou et al., 2009) اما در تحقیقی که توسط فلچر و همکاران (۲۰۰۰) روی ارتباط رنگ و میزان pH گوشت مرغ انجام شده، پس از گروه‌بندی گوشت مرغ بر اساس رنگ، pH‌های متفاوتی برای آن گزارش شده است به این صورت که برای گوشت با رنگ روشن حدود ۵/۷۶، رنگ طبیعی ۵/۸۴ و برای گوشت تیره ۵/۹۳ به‌دست آمده است (Feletcher et al., 2000).

در مطالعات زیادی خاصیت کیتوزان در کاهش میزان pH در دمای یخچال گزارش شده است از جمله آن‌ها، حسن زاده و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند که میزان pH در نمونه‌های حاوی پوشش کیتوزان و عصاره انگور

تر از این مقادیر گفته شده می‌باشد که علت آن احتمالاً میزان کم چربی گوشت بوقلمون می‌باشد. اگر چه رادیکال‌های آزاد به عنوان عامل تشدید کننده اکسیداسیون چربی در گوشت شناخته شده‌اند اما میزان چربی و ترکیب اسید چرب نیز اهمیت زیادی در اکسیداسیون چربی گوشت در طول مدت نگهداری دارد (Buyn et al., Teets et al., 2003; 2008).

نتایج میزان تغییرات تیوباربتوریک اسید در مطالعه حاضر با مطالعه حسن‌زاده و همکاران (۱۳۹۰) بیش‌ترین هم‌خوانی را دارد به‌طوری‌که این محققین گزارش کردند که با افزایش مدت زمان نگهداری، میزان تیوباربتوریک اسید در نمونه‌های مختلف افزایش می‌یابد اما این میزان در تیمار دارای پوشش کیتوزان حاوی عصاره انگور نسبت به سایر تیمارها به طور معناداری کمتر بوده است و حداقل و حداکثر میزان تیوباربتوریک اسید به ترتیب، ۰/۸۵ و مربوط به روز صفر کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور و ۰/۹۰ مربوط به روز ۲۱ گروه کنترل بوده است (حسن‌زاده و همکاران، ۱۳۹۰). علاوه بر این، در مطالعاتی که تأثیر استفاده توأم از پوشش کیتوزان و عصاره‌های گیاهی را به ترتیب در ماهی ساردین، گوشت گاو، بره و خوک در شرایط نگهداری در سرما بررسی کرده‌اند، گزارش شده است که نمونه‌های حاوی کیتوزان و عصاره‌های گیاهی نسبت به نمونه‌های فاقد پوشش میزان تیوباربتوریک اسید کمتری را در طول مدت نگهداری نشان دادند (Estaca et al., 2007; No et al., 2007; Kanatt et al., 2008).

در مطالعه حاضر میزان pH در تیمار کیتوزان حاوی اسانس رزماری نسبت به دو گروه دیگر به طور معناداری کم‌تر بود به نظرمی‌رسد این موضوع به دلیل خاصیت اسیدی و هم‌چنین ضد میکروبی کیتوزان و رزماری باشد. این موضوع که میزان pH در گروه کنترل در طی دوره نگهداری ۱۵ روزه به فراتر از ۶ رسیده است ولی در دو گروه دیگر تا پایان طول مدت

در حد مطلوب و افزایش مدت ماندگاری آن در دمای یخچالی برداشت و زمینه لازم را برای استفاده کاربردی از این ترکیبات در انواع گوشت‌ها و فرآورده‌های آن‌ها در مقایسه با ترکیبات افزودنی شیمیایی و یا فراوری-های پر هزینه فراهم نمود.

منابع

۱. سازمان ملی استاندارد ایران. ۱۳۹۴. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- راهنمای الزامات کلی برای آزمون. استاندارد شماره ۹۸۹۹.
۲. اعتمادی، حلیمه، رضایی، مسعود. و عابدیان کناری، عبدالمحمد. ۱۳۸۷. پتانسیل آنتی‌باکتریایی و آنتی-اکسیدانی عصاره رزماری در افزایش عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، جلد ۵، شماره ۴، صفحات ۷۳-۶۹.
۳. تاجیک، حسین. ۱۳۸۹. اثرات پوشش‌های خوراکی زئین و کیتوزان حاوی اسانس پونه کوهی بر روی ویژگی‌های کیفی تخم مرغ. مجله پژوهش‌های صنایع غذایی. جلد ۲۰/۳، شماره ۱، صفحات ۹۰-۷۳.
۴. حسن زاده، پرویز، تاجیک، حسین. و رضوی روحانی، سیدمهدی. ۱۳۹۰. کاربرد پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور بر روی کیفیت و ماندگاری گوشت مرغ در دمای یخچال. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، جلد ۲۱، شماره ۴، صفحات ۴۸۲-۴۶۷.
۵. دانشیار، محسن. و ایلخانی، فرانک. ۱۳۸۹. اصول پرورش بوقلمون. چاپ اول، جهاد دانشگاهی واحد ارومیه، صفحه: ۷.

6. Bialka, K.L., Demirci, A., Knabel, S.J., Patterson, P.H. and Puri, V.M. 2004. Efficacy of electrolyzed oxidizing water for the microbial safety and quality of eggs. *Poult Sci.* 83(12): 2071-2078.
7. Bourre, J.M. 2005. Where to find omega-3-fatty acids and how feeding animals with diet enriched in omega-3-fatty acids to increase nutritional value derived products

به‌طور قابل توجهی در طی نگهداری کاهش پیدا کرده است و میزان pH بعد از ۲۱ روز نگهداری را $0/1 \pm$ ۶/۲ گزارش کردند (حسن زاده و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین واسکونزو و همکاران (۲۰۰۹) با مطالعه خواص ضد میکروبی کیتوزان، تأثیر آن در کاهش میزان pH را گزارش کردند (Vasconez et al., 2009). ینگارد و همکاران (۲۰۰۶)، با مطالعه اثر کیتوزان و بسته‌بندی خلأ روی گوشت خوک در دمای یخچالی و فان و همکاران (۲۰۰۹) با مطالعه اثر کیتوزان روی کیفیت و افزایش ماندگاری کپور نقره‌ای در دمای فریزر نیز گزارش‌های مشابهی با نتیجه تحقیق حاضر بیان کرده‌اند (Yingyuad et al., 2006; Fan et al., 2009). آن‌ها نشان دادند که استفاده از پوشش کیتوزان در نمونه‌های گوشت باعث کاهش میزان pH و ثابت ماندن آن در طول مدت نگهداری نسبت به نمونه‌های بدون پوشش می‌گردد که این امر احتمالاً به پوشش اسیدی کیتوزان ($pH = 4/63 - 4/85$) در سطح گوشت و خصوصیت مهار رشد میکروبی توسط آن مربوط می‌شود.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد استفاده همزمان پوشش کیتوزان و اسانس رزماری توانایی خوبی برای کاهش جمعیت باکتریایی پاتوژن‌های مورد مطالعه داشت. باکتری *سالمونلا تایفی موریوم* مقاومت بیشتری نسبت به *اشریشیا کلی O157:H7* در پوشش کیتوزان-رزماری در شرایط این مطالعه نشان داد. همچنین استفاده همزمان پوشش و اسانس رزماری در خصوص جلوگیری از پیشرفت اکسیداسیون و کنترل pH مؤثر بود. با اجرای این مطالعه و مطالعات مشابه در مورد کاربرد پوشش‌های طبیعی به تنهایی و یا حاوی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی، می‌توان ضمن کاهش فرآورده‌های حاصل از اکسیداسیون، گامی مؤثر در جهت بهبود سلامت فرآورده‌های گوشتی، حفظ کیفیت ارگانولپتیکی

- (*Sardinapilchardus*). Food Chem. 105: 511–520.
17. Fabrizio, K.A., Sharma, R.R., Demirci, A. and Cutter, C.N. 2002. Comparison of electrolyzed oxidizing water with various antimicrobial interventions to reduce *Salmonella* species on poultry. Poult Sci. 81(10): 1598-1605.
 18. Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. and Chi, Y. 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. Food Chem. 115: 66–70.
 19. Fletcher, D.L., Qiao, M., and Smith, D.P. 2000. The relationship of row broiler breast meat color and pH to cooked meat color and pH. Poult Sci. 79: 784-788.
 20. Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Alipoor Astaneh, S., and Rasooli, I. 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chem. 102 (3): 898-904.
 21. Gatellier, P., Gomez, S., Gigaud, V., Berri, C., Le Bihan-Duval, E. and Santé-Lhoutellier, V. 2007. Use of a fluorescence front face technique for measurement of lipid oxidation during refrigerated storage of chicken meat. Meat Sci. 76: 543-547.
 22. Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G. and Georgakis, S.A. 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. Meat Sci. 76: 172-181.
 23. Jeon, Y.I., Kamil, J.Y.V.A. and Shahidi, F. 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. J Agri Food Chem. 50(18): 5167-5178.
 24. Kanatt, S.R., Chander, R. and Sharma, A. 2008. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. Food Chem. 107: 845–852.
 25. Kroll, J. and Rawel, H.M. 2001. Reactions of plant phenols with myoglobin: for human: what is actually useful? Health Aging. 9: 232–242.
 8. Bragagnolo, N., Danielsen, B. and Skibsted, L.H. 2005. Effect of rosemary on lipid oxidation in pressure-processed, minced chicken breast during refrigerated storage and subsequent heat treatment. Eur Food Res Technol. 221: 610–615.
 9. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in Foods: a review. Int J Food Microbiol. 94: 223–253.
 10. Buyn, J.S., Min, J.S., Kim, I.S., Kim, J.W., Chung, M.S. and Lee, M. 2003. Comparison of indicators of microbial quality of meat during aerobic cold storage. J Food Protect. 66: 3839-3843.
 11. Choi, S.P., Kang, M.Y., Koh, H.J., Nam, S.H. and Friedman, M. 2007. Antiallergic activities of pigmented rice bran extracts in cell assays. J Food Sci. 72: 719-726.
 12. Center for Science in the Public Interest (CSPI). 2006. Seafood and produce top food poisoning culprits. <http://www.cspinet.org/foodsafety/OutbreakAlert2006.pdf> Accessed 19.12.06.
 13. Devlieghere, F., Vermeulen, A. and Debevere, J. 2004. Chitosan: Antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. Food Microbiol. 21: 703–714.
 14. Duan, J., Cherian, G. and Zhao, Y. 2010. Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodelongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings. Food Chem. 119: 524-532
 15. Economou, T., Pournis, N., Ntzimani, A. and Savvaidis, I.N. 2009. Nisin-EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life. Food Chem. 114: 1470–1476.
 16. Estaca, J.G., Montero, P., Gimenez, B. and Guillen, M.C.G. 2007. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine

- oxidation in cooked salted ground chicken breast. *Food Chem.* 111: 934–941.
35. Tsironi, T., Dermesonlouoglou, E., Giannakourou, M. and Taoukis, P. 2009. Shelf life modelling of frozen shrimp at variable temperature conditions. *Food Sci Technol.* 42: 664–671.
36. Vasconez, M.B., Flores, S.K., Campson, C.A., Alvarado, J. and Gerschenson, L.N. 2009. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. *Food Res Int.* 42: 762-769.
37. Wang, J.J., Lin, T., Li, J. B., Liao, C., Pan, Y.J. and Zhao, Y. 2014. Effect of acidic electrolyzed water ice on quality of shrimp in dark condition. *Food Control.* 35(1): 207-212.
38. Wrolstad, R.E., Acree, T.E., Decker, M.H., Reid, D.S., Schwartz, S.J., Shoemaker, C.F., Smith, D. and Sporns, P. 2005. *Handbook of Food Analytical Chemistry*, John Wiley and Sons, USA.
39. Xiao, C., Zhu, L., Luo, W., Song, X. and Deng, Y. 2010. Effect of Oxygen pretreatment and chitosan coating 0.03% rosemary extracts on the quality of fresh-cut pears. *Food Chem.* 121: 1003-1009.
40. Yen, M.O., Yang, J.H. and Mau, J.L. 2008. Antioxidant properties of chitosan from crab shells. *Carbohydr Polym.* 74: 840–844.
41. Yingyuad, S., Ruamsin, S., Reekprkhon, D., Douglas, S., Pongamphai, S. and Siripatrawan, U. 2006. Effect of chitosan coating and vacuum packaging on the quality of refrigerated grilled pork. *Packag Technol Sci.* 19: 149–157.
- influence of chemical structure of the phenolic compounds. *J Food Sci.* 66: 48–58.
26. Latou, E., Mexis, S.F., Badeka, A.V., Kontakos, S. and Kontominas, M.G. 2014. Combined effect of chitosan and modified atmosphere packaging for shelf life extension of chicken breast fillets. *LWT-Food Sci Technol.* 55: 263-268.
27. No, H.K., Meyers, S.P., Prinyawiwatkul, W. and Xu, Z. 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review. *J Food Sci.* 72: 87-100.
28. Ojagh, S.M. Rezaei, M., Razavi, S.H. and Hosseini, S.M.H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chem.* 120: 193-198.
29. Oroojalian, F., Kasra-Kermanshahi, R., Azizi, M. and Bassami, M.R. 2010. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food Chem.* 120(3): 765–770.
30. Petrou, S., Tsiraki, M., Giatrakou, V. and Savvaidis, I.N. 2012. Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat. *Int J Food Microbiol.* 156: 264-271.
31. Rahman, S.M., Jin, Y.G. and Oh, D.H. 2011. Combination treatment of alkaline electrolyzed water and citric acid with mild heat to ensure microbial safety, shelf-life and sensory quality of shredded carrots. *Food Microbiol.* 28(3): 484-489.
32. Rois Mansur, A., Tango, C., Kim, G. and Oh, D. 2015. Combined effects of slightly acidic electrolyzed water and fumaric acid on the reduction of foodborne pathogens and shelf life extension of fresh pork. *Food Control.* 47: 277-284.
33. Shalev, B.A. and Pasternak, H. 1989. Meat production efficiencies of turkey, Chicken and Duck Broilers. 45(3): 109-114.
34. Teets, A.S., Sundararaman, M. and Were, L.M. 2008. Electron beam irradiated almond skin powder inhibition of lipid

Effect of chitosan-rosemary coating on *Salmonella typhimurium* and *E.coli* O157H7 in turkey fillets during refrigerated storage

Hajian S, Tadayoni M*

Department of Food science and Technology, Faculty of Agriculture, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author: m.t.tadayoni@gmail.com

Received: 30 July 2018

Accepted: 30 October 2018

Abstract

Due to increased attention and nutritional importance of turkey meat between consumers, researchers are looking for new ways in order to improve its shelf-life. Furthermore, in recent decades, consumer demands for healthier foods (without common chemical preservatives) have been increased. The aim of this study was to evaluate simultaneous effect of chitosan coating and rosemary essence on indicator bacteria including *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) and *E.coli* O157:H7 in turkey meat fillets during refrigerated storage. For this purpose turkey fillets inoculated with 10^6 CFU/g *S. typhimurium* and *Escherichia coli* O157:H7. Then, all of inoculated fillets divided into 3 groups; without coating (control), treated with 1% acetic acid and suspended in chitosan solution containing 1% rosemary essence. All samples were kept at refrigerated temperature for 15 days. Bacterial count of *S. typhimurium* and *Escherichia coli* O157:H7 was performed at 3 day intervals (0, 3, 6, 9, 12, 15 days). Chemical tests which related to chemical spoilage and quality control of turkey fillets including pH and thiobarbituric acid (TBA) were evaluated at 3 day intervals (0, 3, 6, 9, 12, 15 days). The results indicated that the chitosan-rosemary coating has the significant effect ($P < 0.05$) on decrease of bacterial load of *S. typhimurium* and *E.coli* O157:H7. Also, suspended samples in chitosan containing rosemary essence have fewer pH and TBA during storage than other groups.

Keywords: Chitosan, Rosemary, *Salmonella typhimurium*, *E.coli* O157H7, Turkey fillets.