تأثیر پوشش خوراکی ژلاتین-کیتوزان بر بسته‌بندی گوشت مرغ تازه

مژده خراسانی [1*]، حبیب اله میرزایی [2]، یحیی مقصودلو [3]

تاریخ دریافت مقاله: شهریور ماه۱۳۹۳
تاریخ پذیرش مقاله: مهر ماه ۱۳۹۳

چکیده

در مطالعه حاضر اثر پوشش ژلاتین-کیتوزان به عنوان بسته‌بندی اولیه بر روی کیفیت سینه مرغ در طی یک دوره ۹ روزه در شرایط نگه‌داری سرد(٤ درجه سانتی‌گراد) بررسی شد. در این تحقیق، از ۳ غلظت ژلاتین (۳، ٦ و ۸٪) و ۲ غلظت کیتوزان(۱و ۲٪) برای پوشش‌دهی تکّه‌های مرغ استفاده شد. کیفیت میکروبی (بار باکتریایی کل) و شیمیایی (بازهای ازته فرّار و شاخص پراکسید) نمونه‌ها در دوره ۹ روزه (هر ۳ روز) مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان این شاخص‌ها در شاهد به صورت روند معناداری بیشتر از نمونه‌های پوششی بود و رشد میکروبی، بازهای ازته فرّار و شاخص پراکسید در نمونه‌های با درصد بالاتر کیتوزان و ژلاتین کندتر بود. به دلیل رشد میکروبی بالاتر در شاهد، میزان بازهای ازته هم بیشتر بود. بین ژلاتین ۳٪ با ژلاتین ٦ و ۸٪ اختلاف معنادار بوده و تیمار با ژلاتین۳٪ روند افزایشی بیشتری در بازهای ازته فرّار و رشد میکروبی داشته است. بنابراین می‌توان گفت که پوشش‌دهی باعث حفظ کیفیت نمونه‌ها در کل دوره نگه‌داری شد.

واژه‌های کلیدی

گوشت سینه مرغ؛ بسته‌بندی، پوشش‌دهی[4]، ژلاتین[5] و کیتوزان[6].

۱- مقدمه

بسته‌بندی یک عنصر اصلی در چرخه حمل‌ونقل، فراوری، انبارداری و توزیع مواد غذایی می‌باشد. نقش اصلی بسته‌بندی، اینست که محصول را با کیفیت بهتر یا مشابه کیفیت اولیه از زمان تولید تا زمانی که به مصرف‌کننده می‌رسد، حفظ کند[۱]. نقش بسته‌بندی‌هایی که برای محصولات گوشتی استفاده می‌شود، حفظ ظاهر، رنگ و بوی قابل پذیرش، پایداری ترکیبات فرآورده و تأخیر فساد میکروبی می‌باشد. اخیراً تقاضا برای غذاهایی با کیفیت بالا، ایمن و تغییر اولویت‌های مصرف‌کنندگان منجر به پیشرفت فنّاوری جدید بسته‌بندی مواد غذایی شده است. جایگزینی که در چند سال اخیر توسعه داده شده است، استفاده از بیوپلی‌مرهای[7] زیست تخریب‌پذیر می‌باشد[۲]. استفاده از این بیوپلی‌مرها به عنوان بسته‌بندی مواد غذایی مزایایی به دنبال خواهد داشت، از جمله: ۱) بخش عمده‌ای از این بیوپلی‌مرها منشأ کشاورزی دارند، بنابراین تولید و استخراج آن‌ها باعث افزایش ارزش افزودهٔ محصولات کشاورزی می‌شود. ۲) این بیوپلی‌مرها از منابع تجدیدپذیر به دست می‌آیند، لذا تولید آن‌ها موجب حفظ

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
(* نویسنده مسئول: mkhorasani84@yahoo.com)
۲- دانشیار، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.(mirzaie@gau.ac.ir)
۳- دانشیار، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.(y.maghsoudlou@gau.ac.ir)

4- Coating
5- Gelatin
6- Chitosan
7- Bio polymer

منابع تجدیدپذیر برای نسل‌های آینده می‌شود. ۳) قابل برگشت به طبیعت هستند، لذا موجب آلودگی محیط زیست نمی‌شوند[۳]. بسته‌بندی‌های زیستی بر اساس هضم‌پذیری به دو دسته تقسیم می‌شوند: ۱) خوراکی که شامل فیلم‌ها و پوشش‌ها می‌باشد(در صورت عدم استفاده از افزودنی‌های مضر)، ۲) غیرخوراکی که شامل بسته‌بندی‌های زیستی سخت مانند سینی‌ها، بطری‌ها و غیره می‌باشد[۳ و ٤]. پوشش‌های خوراکی، یک فیلم شفاف می‌باشند که روی سطح ماده غذایی را می‌پوشانند و مانع رسیدن اکسیژن و رطوبت به سطح می‌شوند. پوشش‌های خوراکی می‌توانند یک پوشش محافظ اضافی برای محصولات تازه ایجاد کنند. پوشش‌های خوراکی هم به عنوان بسته‌بندی اولیه و هم جزء ماده غذایی محسوب می‌شوند. بدیهی است آن دسته از مواد غذایی که به این طریق تولید می‌گردند، نیاز به بسته‌بندی ثانویه از ضروریات می‌باشد. فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی برای حذف بسته‌بندی‌های غیرخوراکی استفاده نمی‌شوند بلکه به همراه بسته‌بندی‌های مرسوم به بهبود کیفیت و ماندگاری مواد غذایی کمک می‌کنند و تعداد لایه‌های بسته‌بندی را کاهش می‌دهند[٤ و ٥].

استفاده از پوشش‌های خوراکی به طور ویژه در فرآورده‌های گوشتی، فواید و مزیت‌های زیادی را به دنبال خواهد داشت از جمله: پوشش‌های خوراکی با خواص ممانعتی خوب در مقابل رطوبت می‌تواند مشکلات مربوط به افت رطوبت را کاهش دهد، همچنین می‌توانند عصاره را در خود نگه دارند، در نتیجه از چکّه کردن جلوگیری و باعث حفظ ظاهر محصول می‌شوند[٦] و نیاری به قرار دادن جاذب‌ها در بسته‌بندی نمی‌باشد، سرعت رنسیدیتی[1] که در نتیجه اکسیداسیون[2] لیپید[3] و قهوه‌ای شدن که به دنبال اکسیداسیون میوگلوبین[4] در گوشت اتّفاق می‌افتد با استفاده از پوشش‌های خوراکی نفوذپذیر به مقدار کم اکسیژن(نه این قدر کم که محیط بی‌هوازی ایجاد کند) می‌تواند کاهش یابد و بوهای فرّار و خارجی را که از فرآورده‌های گوشتی چهارپایان، طیور و آبزیان خارج می‌شود، محدود می‌کند(همانند بسته‌بندی‌های فعال) پوشش‌های خوراکی حامل آنتی‌اکسیدان[5] (مثل توکوفرول[6]) و مواد ضدمیکروبی(به طور مثال اسیدهای آلی) می‌توانند برای تیمار مستقیم سطح فرآورده‌های گوشتی استفاده شوند و در نتیجه باعث کاهش بار میکروبی، رنسیدیتی و بدرنگی در محصول می‌شوند[۳ و ٦].

ژلاتین از هیدرولیز[7] کلاژن[8] به دست می‌آید. وزن مولکولی ژلاتین، بسته به نوع ماده خام بکار گرفته شده در تولید آن و شرایط در حدود ۲۰۰۰۰۰-۳۰۰۰ دالتون[9] می‌باشد. پوشش‌های خوراکی، ژلاتین مهاجرت[10] رطوبت، اکسیژن و روغن را کاهش می‌دهند[۷]. ممانعت خوب آن‌ها به اکسیژن، سبب می‌شود که به عنوان عامل ضداکسایش لیپید و به تعویق اندازندهٔ رشد کپک‌ها مطرح باشند[۸]. این پوشش‌ها خواص ممانعتی خوبی در برابر گازها دارند؛ اما به دلیل طبیعت آب‌دوستی[11] که دارند در مقابل آب، مانع ضعیفی هستند.

فیلم ژلاتین شفاف، انعطاف‌پذیر، قوی و نفوذناپذیر به اکسیژن می‌باشد[۷]. نگه‌داری گوشت و سایر مواد غذایی با پوشش‌های ژلاتین در اواخر سال ۱۸٦۹ پیشنهاد شده است.

کیتوزان، پلی‌ساکاریدی[12] است که از د-استیلاسیون کیتین[13] به دست می‌آید[۹]. کیتوزان برای اولین بار توسط شخصی به نام روجت[14] در سال ۱۸۵۹ در طی جوشاندن کیتین در محلول پتاسیم هیدروکسید[15] غلیظ کشف شد که نتیجه د-استیلاسیون کیتین بود[۱۰]. کیتوزان یک پلی‌مر

1- Rancidity
2- Oxidation
3- Lipid
4- Myoglobin

5- Anty oxidant
6- Tocopherol
7- Hydrolysis
8- Collagen
9- Dalton
10- Migratory
11- Hydrophile
12- Polysaccharide
13- Deacetylation
14- Rouget
15- Potassium hyroxid

چند کاتیونی[1] با ساختار و ویژگی‌های مشخص می‌باشد و شامل بیش از ۵۰۰۰ واحد گلوکز آمین[2] می‌باشد. بر اساس ساختار شیمیایی، کیتوزان از مونومر[3] ۲ آمینو-۲ داکسی- دی گلوکز ساخته شده است که با پیوندهای بتا ۱-٤ گلیکوزیدی[4] به هم متصل شده‌اند، در حالی که کیتین از مونومر ان- استیل گلوکز آمین[5] تشکیل شده است[۱۱].

مهم‌ترین ویژگی فیزیکوشیمیایی کیتوزان، درجه داستیلاسیون و وزن مولکولی آن می‌باشد که این شاخص‌ها نشان‌دهنده کیفیت کیتوزان مورد استفاده می‌باشد[۱۲، ۱۳ و ١٤]. درجه د- استیلاسیون کیتوزان معمولاً بین ۹۵-۷۰ درصد می‌باشد و مقدار آن به روش تهیه کیتوزان بستگی دارد[١٤ و ١٥]. وزن مولکولی هم یکی دیگر از ویژگی‌های مهم کیتوزان می‌باشد. بر اساس مطالعات و تحقیقات موجود، فعالیت‌های فیزیولوژیکی[6] و ویژگی‌های کاربردی کیتوزان، بستگی به وزن مولکولی آن دارد[۱۱]. یکی دیگر از ویژگی‌های پلی‌مرها که شامل کیتوزان هم می‌شود، توانایی آن‌ها برای تشکیل محلول‌های ویسکوز[7] می‌باشد. بنابراین کیتوزان به عنوان غلیظ‌کننده و پایدارکننده عمل می‌کند و محلول‌های ایجاد شده ویژگی شبه پلاستیک و ویسکوالاستیک[8] از خود نشان می‌دهند[١٦] و عواملی مثل درجه د- استیلاسیون، وزن مولکولی، غلظت، نوع حلال، پی اچ(PH) و قدرت یونی همانند دما بر ویسکوزیته[9] کیتوزان مؤثر هستند[۱۲].

کیتوزان دارای خواصی بیولوژیکی[10] زیادی مانند سازگاری با محیط، زیست تجزیه‌پذیر، غیرسمّی و بی‌مزه بودن همچنین دارای سایر ویژگی‌ها مثل ضد درد و سرطان و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد[۱۲، ۱۳ و ۱۷]. کیتوزان دارای ساختمان خاص با گروه‌های آمینو واکنش‌پذیر می‌باشد. به دلیل وجود این گروه‌های فعال، کیتوزان ویژگی ضدمیکروبی از خود نشان می‌دهد[۱۱ و ١٤]. این فعالیت ضدمیکروبی کیتوزان از رشد دامنه وسیعی از میکروارگانیسم‌ها[11] مثل باکتری‌ها، قارچ و مخمر جلوگیری می‌کند[۱۷ و ۱۹].

چگونگی عملکرد ویژگی ضدمیکروبی کیتوزان به خوبی مشخص نشده است؛ اما دلایلی برای آن ارائه شده است که سه مکانیسم پیشنهادی قابل قبول‌تر عبارتند از: مکانیسم اول، این ویژگی کیتوزان را به وجود بار مثبت موجود در زنجیره پلی‌مری کیتوزان به واسطه وجود گروه آمینو نسبت می‌دهد که با بار منفی درشت مولکول‌های سطح سلول میکروبی مثل پروتئین‌ها و لیپوپلی‌ساکاریدها[12] واکنش داده و انتقال مواد غذایی به درون سلول را مختل می‌کند. در مکانیسم دوم، کیتوزان را یک عامل شلاته‌کننده[13] می‌دانند که ترکیباتی مثل فلزات و عناصر ضروری برای رشد سلول را از دسترس خارج می‌کند. سومین مکانیسم نیز بیشتر به کیتوزان‌های با وزن مولکولی کم مربوط می‌شود. کیتوزان به هسته سلول وارد شده و با[14] DNA واکنش می‌دهد.

در این صورت از سنتز[15] RNA و به دنبال آن پروتئین ممانعت کرده و منجر به مرگ سلول می‌شود[۲۳].

نگه‌داری گوشت به علت ترکیبات بیولوژیکی آن، حتّی در شرایط یخچالی محدود می‌باشد و سریعاً دچار آلودگی میکروبی و شیمیایی می‌گردد و در نهایت موجب کاهش مدّت ماندگاری آن می‌شود. استفاده از پوشش‌های خوراکی با خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی در انواع گوشت‌های تازه، منجمد و عمل‌آوری شده، ضمن کنترل عوامل پاتوژن[16] و جلوگیری از فساد میکروبی و شیمیایی،

1- Polycationic
2- Glucosamine
3- Monomer
4- Glycosidically
5- Acetyl glucosamine
6- Physiological
7- Viscos
8- Viscoelastic
9- Viscosity
10- Biological

11- Microorganisms
12- Lipopolysaccharide
13- Chelating
14- Deoxyribonucleic acid
15- Synthesis
16- Pathogenic

باعث بهبود خصوصیات ارگانولپتیک[1] و افزایش ماندگاری محصول می‌گردد[۲۱]. هدف از اجرای این پژوهش استفاده از پوشش خوراکی مخلوط ژلاتین و کیتوزان در غلظت‌های مختلف به عنوان بسته‌بندی اولیه در گوشت سینه مرغ در دمای نگه‌داری ۱±٤ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

گوشت سینه مرغ حدود دو ساعت پس از کشتار از کشتارگاه شرکت مرغ پیگیر (گرگان) تهیه شد. پودر ژلاتین و کیتوزان [شرکت سیگما آلدریچ[2]، آلمان)، کلروفرم[3](دکتر مجللی)، متانول[4](کیان کاوه آزما)، اسید استیک[5] (مجللی)، معرف نشاسته، پتاسیم یدید(مرک، آلمان)، تیوسولفات سدیم[6]، اکسید منیزیم(دکتر مجللی)، اسید بوریک[7](دکتر مجللی)، معرّف متیل رد، ضد کف، اسید سولفوریک(مرک، آلمان)، کاغذ صافی واتمن[8] ٤۲ و محیط کشت پلیت کانت آگار[9](PCA) تهیه گردیدند.

۲-۲- آماده کردن نمونه‌های گوشت و پوشش دادن

نمونه‌های گوشت سینه مرغ پس از قطعه‌بندی مناسب در شرایط استریل[10] به طور تصادفی به ۷ گروه تقسیم شدند و در بسته‌بندی‌های صنعتی و در داخل یخچال قابل حمل در دمای ۱±٤ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه حمل شدند. پوشش ژلاتین در ۳ سطح ۳، ٦ و ۸ درصد به روش لوپز- کابالرو[11] و همکاران (۲۰۰۵) تهیه شد. بدین ترتیب که ژلاتین به میزان مشخص وزنی/ حجمی در آب مقطر حل شد. به منظور تورم و انحلال بهتر، ابتدا در دمای ۷ درجه به مدّت ۱۵ دقیقه قرار داده شد و سپس به مدّت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه حرارت داده و با همزن مغناطیسی همزده شد. به منظور نرم شدن و انعطاف‌پذیرتر شدن پوشش‌ها، ۰/۷۵ درصد (حجمی/ حجمی) گلیسرول[12] به عنوان نرم‌کننده به محلول اضافه و به مدّت ۱۰ دقیقه هم زده شد[۲۲]. پوشش کیتوزان در دو سطح ۱ و ۲ درصد به صورت وزنی/ حجمی در اسید استیک ۱ درصد(حجمی/ حجمی) به دست آمد[۲۳]. برای حل شدن بهتر کیتوزان، محلول به مدّت ۳ ساعت در دمای اتاق با همزن مغناطیسی هم زده شد.

۲-۳- پوشش‌دهی نمونه‌ها

به منظور نرم شدن و انعطاف‌پذیرتر شدن پوشش‌ها، ۰/۷۵٪ (حجمی/ حجمی) گلیسرول به عنوان نرم‌کننده به محلول اضافه و به مدّت ۱۰ دقیقه هم زده شد. برای ایجاد پوشش مخلوط، ابتدا محلول کیتوزان و ژلاتین به نسبت ٤۰ به ٦۰ ترکیب شدند و نمونه‌های موردنظر به مدّت ۳۰ ثانیه در محلول ترکیب شده کیتوزان- ژلاتین غوطه‌ور شد سپس ۲ دقیقه از محلول خارج و مجدداً ۳۰ ثانیه در محلول غوطه‌ور شدند و پس از آن به مدّت ۲ ساعت در دمای محیط(۲۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند تا خشک شده و پوشش شکل بگیرد[٢٤].

هفت گروه تیمار شامل:

۱. گوشت سینه مرغ بدون پوشش و شاهد
۲. گوشت سینه مرغ حاوی ژلاتین ۳٪ و کیتوزان ۱٪
۳. گوشت سینه مرغ حاوی ژلاتین ٦٪ و کیتوزان ۱٪
٤. گوشت سینه مرغ حاوی ژلاتین ۸٪ و کیتوزان ۱٪
۵. گوشت سینه مرغ حاوی ژلاتین ۳٪ و کیتوزان ۲٪
٦. گوشت سینه مرغ حاوی ژلاتین ٦٪ و کیتوزان ۲٪
۷. گوشت سینه مرغ حاوی ژلاتین ۸٪ و کیتوزان ۲٪

بعد از بسته‌بندی، نمونه‌ها در داخل یخچال و در ٤ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند و در فواصل روزهای

1- Organoleptic
2- Sigma-aldrich
3- Chloroform
4- Methanol
5-Acetic acid
6- Sodium thiosulfate
7- Boric acid
8- Whatman filter paper
9- Plate count agar
10- Sterill
11- L´ opez-Caballero
12- Glycerol

۰، ۳، ٦ و ۹ مورد آزمون‌های شیمیایی و میکروبی قرار گرفتند.

۲-٤- آنالیز باکتریایی

برای آزمون میکروبی، ۱۰ گرم از نمونه گوشت سینه مرغ در ۹۰ میلی‌لیتر از محلول ۸۵/۰ درصد NaCl مخلوط و هموژن[1] شده و متعاقب آن، رقت‌های مورد نظر تهیه شد. ۱ میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلت[2] در محیط پلیت کانت آگار(PCA) قرار گرفت. نمونه‌های کشت داده شده در انکوباتور[3] ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدّت ٤۸ ساعت برای شناسایی بار کل باکتریایی قرار گرفتند و پس از طی مدّت انکوباسیون[4]، کلونی‌ها[5] شمارش شدند[۲۳ و ۲۵].

۲-۵- آنالیزهای شیمیایی

۲-۵-۱- بازهای ازته فرّار

اندازه‌گیری بازهای ازته فرّار به روش کلدال[6] و با تیتراسیون عصاره به دست آمده از آن انجام گرفت. بدین منظور، ۱۰ گرم نمونه به همراه ۲ گرم اکسید منیزیم با افزودن ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به بالن کلدال متصل شد و عصاره مورد نظر به محلول متشکل از اسید بوریک ۲٪ و ۲-۱ قطره متیل رد به عنوان شاخص وارد شد. محلول زرد رنگ حاصله با اسید سولفوریک[7] تا حاصل شدن رنگ ارغوانی تیتر شد و به صورت میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه بیان شد[۲٦].

۲-۵-۲- پراکسید

بدین منظور از روش یدومتری چربی استخراج شده از ۵۰ گرم نمونه گوشت با استفاده از کلروفرم[8]/ متانول[9] استفاده شد[۲۷]. یدید پتاسیم در محیط اسیدی منجر به احیای پراکسید روغن استخراج شده از نمونه می‌شود. ید آزاد شده با افزودن معرّف نشاسته تازه تهیه شده و تیتراسیون[10] به وسیله تیوسولفات سدیم[11] اندازه‌گیری شد. با استفاده از رابطه میزان پراکسید نمونه برحسب میلی‌اکیوالان[12] پراکسید بر ۱۰۰۰ گرم روغن (m.eq.peroxide/1000g oil) به دست می‌آید.

۲-٦- تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های به دست آمده به کمک آنالیز[13] واریانس[14] دو طرفه با آزمون فاکتوریل[15] در قالب طرح کاملاً تصادفی توسط آزمون چند دامنه دانکن[16] در سطح اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1.3 با یکدیگر مقایسه می‌شوند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی خصوصیات میکروبیولوژیکی

تغییرات میزان بار باکتریایی کل تیمارهای مختلف در طی نگه‌داری در یخچال در(نمودار ۱) مشاهده می‌شود. میزان بار باکتریایی کل در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگه‌داری افزایش یافت. در نمونه شاهد میزان آن از ٤/٦٦ Log cfu/g در روز صفر به ۸/۷۱ Log cfu/g در روز ۹ افزایش یافت. میزان این شاخص در نمونه‌های ۲، ۳

1- Homogen
2- Pour plate
3- Incubator
4- Incubation
5- Colonies
6- Kjeldahi
7- Sulfuric acid

8- Chloroform
9- Methanol
10- Titration
11- Sodium thiosulfate
12- M. equivalent
13- Analysis
14- Variance
15- Factorial
16- Dancan's

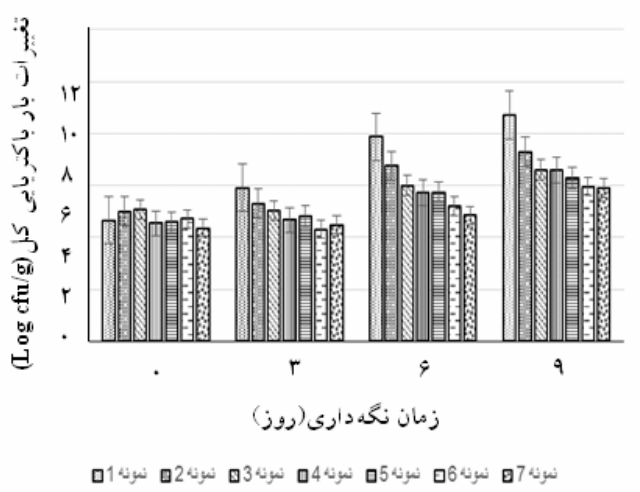
و ٤ در ابتدای دوره نگـه‌داری بـه ترتیـبLog cfu/g ٥/٠١، Log cfu/g٤/٥٤ وLog cfu/g ٥/٠٨ و در انتهـای دوره Log cfu/g ٧/٠٣، Logcfu/g٦/٥٩ و Log cfu/g ٦/٤١ بـود. در تیمارهای شماره ٥، ٦ و ٧ با درصـد کیتـوزان بـالاتر در روز صـفر بـه ترتیـبLog cfu/g ٤/٥٨، Log cfu/g ٤/٧٦ و Log cfu/g ٤/٣٢ و در روز ٩ نگـه‌داری در یخچـال Log cfu/g ٦/٥٥، Log cfu/g ٦/٥١ و Log cfu/g ٦/١٩ شـد. در کـل دوره، نمونه‌های شاهد بـار باکتریـایی بـالاتری داشـتند و بـا توجّه به مدّت نگه‌داری مـرغ تـازه کـه حـد مجـاز آن طبـق اسـتاندارد سـازمان دامپزشـکی ٣ روز مـی‌باشـد، در نمـودار مشاهده می‌شود که از روز سـوم بـه بعـد افـزایش تنـدی در لگاریتم[1] تعداد باکتری‌ها در نمونه‌های شاهد وجـود دارد کـه در نمونه‌های پوششی، رشد میکروبی کندتر و با نمونـه‌هـای شاهد اختلاف معناداری($p < ٠/٠٠٠١$) داشتند. در نمونه ٢ بـا درصد کمتری از ژلاتین و کیتوزان مشاهده می‌شود که نسبت به سایر نمونه‌های پوششی رشد میکروبی سـریع‌تـری داشـته است و در روز ٦ نگه‌داری از حد مجاز طبق استاندارد (Log cfu/g ٦) بیشتر است. بـا توجّـه بـه نمـودار و(جـدول ١) در رابطه با تأثیر غلظت‌های مختلف ژلاتین و کیتوزان می‌توان به این نتیجه رسید که بین ژلاتین ٦ و ٨ درصد اختلاف معنـادار نبوده و نمودارها تقریباً شیب یکسانی داشتند؛ اما بین کیتوزان ١ و ٢٪ اختلاف معنادار می‌باشـد. بنـابراین کیتـوزان بـا اثـر ضدمیکروبی، نقش مهمی در کاهش بـار میکروبـی دارد و بـا توجّه به نمـودار، کیتـوزان ٢ درصـد میـانگین بـار میکروبـی کمتری دارد. شاخص‌های متعدّدی بـر فعالیـت ضـدباکتریایی کیتوزان اثرگذار است. گرچـه مکانیـسم[2] دقیـق آن هنـوز بـه روشنی مشخص نشده؛ اما نظرات متفاوتی برای آن ارائه شده است. نظریه‌ای این اثر کیتوزان را به وجود گروه‌های آمینـوی با بار مثبت نسبت داده اسـت کـه بـا درشـت مولکـول‌هـای دارای بار منفی در سطح سلول میکروبی پیوند ایجاد نموده و منجر به گسیختگی غشای سلول بـاکتری، نـشت مـواد درون سلولی و در نهایت مرگ آن می‌شود [٢٨].

جدول ١- جدول آزمون دانکن مقادیر متوسط شاخص‌های اندازه‌گیری شده در غلظت‌های مختلف پوشش‌ها در طی نگه‌داری به مدّت ٩ روز

تیمار	پراکسید	بازهای ازته فرّار	بار باکتریایی کل
ژلاتین ٣ درصد	$١/٦٧٥^{A}$	$١٦/٢٤٧٥^{A}$	$٥/٧٢٧٥^{A}$
ژلاتین ٦ درصد	$١/٥٤٦^{A}$	$١٥/٣٨٢٥^{B}$	$٥/٣٧٨١^{B}$
ژلاتین ٨ درصد	$١/٢٨٥^{B}$	$١٥/٠٦٧٥^{B}$	$٥/١٢٨١^{B}$
کیتوزان ١ درصد	$١/٦٠٣٣^{A}$	$١٦/١٨٧٥^{A}$	$٥/٧٢٠٠^{A}$
کیتوزان ٢ درصد	$١/٤٠٠٨^{B}$	$١٤/٩٤٤٢^{B}$	$٥/١٠٢٥^{B}$

لوپز- کابالرو و همکاران (٢٠٠٥) گـزارش دادنـد کـه پوشش حاوی ٣٠ درصد کیتوزان و ٧٠ درصد ژلاتین تأثیر ضـدمیکروبی خـوبی بـر فلـور[3] باکتریـایی گـرم منفـی در پیراشکی ماهی کـاد[4] داشـته اسـت[٢٢].اُ یـو[5] و همکـاران دریافتند که فیله‌های تیلاپیا[6] که با ژلاتین پوشیده شده و در یخچال نگه‌داری شـدند تفـاوت معنـاداری در میـزان بـار باکتریایی با فیلـه‌هـای شـاهد از خـود نـشان ندادنـد[٢٥]. ییِنگیواد[7] و همکاران، فان[8] و همکاران در بررسـی پوشـش خوراکی کیتـوزان و نـوعی کپـور مـاهی در شـرایط سـرما دریافتنـد کـه کیتـوزان ٢ درصـد باعـث کـاهش شـمارش باکتری‌ها حدود ٢-١ سیکل لگاریتمی نسبت به نمونه‌هـای شاهد می‌شود[٢٩ و ٣٠].

1- Logarithm
2- Mechanism
3- fluor
4- *C. morhua*
5- OU
6- Oreochromis niloticus
7- Yingyuad
8- Fan



نمودار ۱- تغییرات بار باکتریایی کل در نمونه شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی شده طی نگه‌داری در یخچال به مدّت ۹ روز

موهان و همکاران هم در مطالعه‌ای مشابه، با استفاده از پوشش کیتوزان ۱ و ۲ درصد بر فیله ساردین روغنی هندی[1] و نگه‌داری آن در یخ، نتایج مطلوبی به دست آوردند. این پوشش، توانست بار میکروبی را نسبت به نمونه‌های بدون پوشش کاهش دهد[۳۱].سوییت[2] و همکاران نیز از کیتوزان ۲ درصد برای پوشش‌دهی مرغ و گوشت در شرایط نگه‌داری ۳-۰ درجه سانتی‌گراد استفاده کردند و به نتایج مشابهی دست یافتند[۳۲].

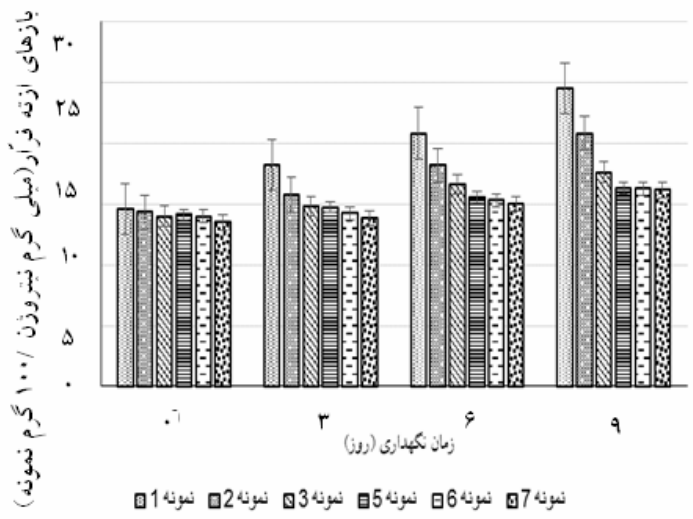
۳-۲- بررسی خصوصیات شیمیایی

۳-۲-۱- بازهای ازته فرّار

در اثر فعالیت میکروب‌ها و آنزیم‌های طبیعی گوشت و یا آنزیم‌های مترشحه از پیکر باکتری‌ها، تغییرات مختلفی در گوشت و ترکیبات آن به وجود می‌آید. اثر آنزیم‌های پروتئولیتیک[3] سبب تجزیه و شکسته شدن ساختمان پروتئینی گوشت می‌شود و نتیجه این فعل و انفعالات، تولید و آزاد شدن مقادیری مواد فرار و آمونیاک[4] آزاد در گوشت می‌باشد.

مواد ازته فرّار در اثر تجزیه مولکول‌های پروتئینی به وجود می‌آیند. هرگاه مقدار ازت فرّار از ۱۶/۵ میلی گرم و نسبت ازت فرار به قسمت بدون چربی گوشت از ۱۹/۷ میلی گرم درصد تجاوز نکند گوشت قابل قبول خواهد بود. در(نمودار ۲) تغییرات بازهای ازته فرار تیمارهای مختلف در طی نگه‌داری در یخچال مشاهده می‌شود. میزان بازهای ازته فرّار در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگه‌داری افزایش یافت. در نمونه شاهد میزان آن از ۱٤/٦۳ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه در روز صفر به ۲٤/۵ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه در روز ۹ افزایش یافت. میزان این شاخص در نمونه‌های شماره ۲، ۳ و ٤ در ابتدای دوره نگه‌داری به ترتیب ۱٤/۳۵، ۱۳/٦۵ و ۱۳/۷۹ و در انتهای دوره ۲۰/۸٦، ۱۷/٦٤، ۱۷/۵ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه بود. در تیمارهای شماره ۵، ٦ و ۷ با درصد کیتوزان بالاتر در روز صفر به ترتیب ۱٤/۱٤، ۱٤ و ۱۳/۵۱ و در روز ۹ نگه‌داری در یخچال ۱٦/۸، ۱٦/۳۱ و ۱٦/۱۷ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه شد.

1- Sardinella longiceps
2- Sweetie
3- Proteolytic
4- Ammoniac



نمودار ۲- تغییرات بازهای ازته فرّار (میلی گرم نیتروژن/۱۰۰گرم نمونه)در نمونه شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی شده طی نگه‌داری در یخچال به مدّت ۹ روز.

در کل دوره، میزان متوسط بازهای ازته فرّار در نمونه شاهد به طور معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۰۰۱) بالاتر از نمونه‌های تیمار شده بود. در بین نمونه‌های پوششی نمونه شماره ۲ همانطور که بحث شد به دلیل رشد میکروبی بالاتر، میزان بازهای ازته فرّار بیشتری در مقایسه با سایر تیمارها دارد. کم‌ترین میزان، مربوط به تیمار شماره ۷ با درصد بالاتری از کیتوزان و ژلاتین بود. میانگین این شاخص در طول دوره برای نمونه شاهد در مطالعه حاضر۱۹/۵۴ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰گرم نمونه بود. کمترین میزان بازهای ازته فرار به میزان ۱۶/۶۴ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰گرم نمونه در نمونه شماره ۷ با ۸٪ ژلاتین و ۲٪ کیتوزان مشاهده شد. با توجّه به(جدول ۱) بین غلظت ۶ و ۸ درصد ژلاتین اختلاف معنادار نمی‌باشد؛ اما بین غلظت ۱ و ۲ درصد کیتوزان اختلاف معنادار بوده و غلظت ۲ درصد توانایی بیشتری در کاهش بازهای ازته فرّار دارد. می‌توان نتیجه گرفت که پوشش‌دهی در کاهش بازهای ازته فرّار نمونه‌های گوشت طی نگه‌داری در یخچال مؤثرتر بوده است. از آنجایی که حضور باکتری‌ها در گوشت منجر به اتولیز[1] پروتئین‌ها و تجزیه آن‌ها می‌شود[۳۳].

مقادیر بیشتر بار باکتریایی مشاهده شده در نمونه‌های شاهد می‌تواند توجیهی برای افزایش میزان بازهای نیتروژنی در آن‌ها باشد[۳۱]. پوشش‌های خوراکی به صورت ماده ضدمیکروبی عمل کرده و بر میزان بازهای ازته فرّار اثر می‌گذارد. لوپز- کابالرو و همکاران اثر پوشش مخلوط کیتوزان- ژلاتین را بر روی ماهی بررسی کردند و نتایج نشان داد که اضافه کردن کیتوزان باعث کاهش بازهای ازته فرار و رشد میکروبی، در نتیجه افزایش مدّت ماندگاری محصول می‌شود[۲۲]. جون[2] و همکاران نیز با استفاده از انواع مختلفی از پوشش‌های کیتوزانی بر فیله ماهی کاد کاهش ۳۵-۳۳٪ تولید بازهای ازته فرّار را در دوره ۱۲ روزه نگه‌داری در یخچال مشاهده کردند[۲۴]. موهان و همکاران هم در مطالعه‌ای مشابه، با استفاده از پوشش کیتوزان ۱ و ۲ درصد بر فیله ساردین روغنی هندی به نتایج مشابهی در کاهش بازهای ازته فرّار دست یافتند[۳۱].

1- Autolysis

2- Jeon

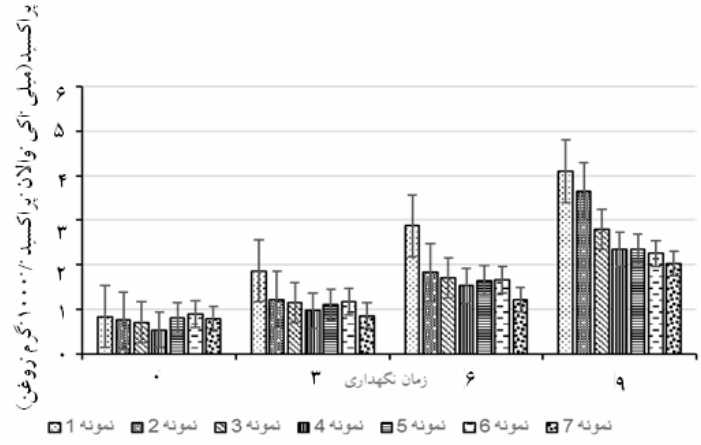
۳-۲-۲- پراکسید

تغییرات میزان پراکسید تیمارهای مختلف طی زمان نگه‌داری در یخچال (٤ درجه سانتی‌گراد) در(نمودار ۳) مشاهده می‌شود.

میزان پراکسید با گذشت زمان نگه‌داری در همه تیمارها افزایش یافت به طوری که میزان آن از ۰/۸٤ میلی‌اکی والان پراکسید بر ۱۰۰۰ گرم روغن در زمان صفر نگه‌داری تا ٤/۱ میلی‌اکی والان پراکسید بر ۱۰۰۰ گرم روغن در روز ۹ در نمونه شاهد افزایش یافت. این میزان برای نمونه‌های شماره ۲، ۳ و ٤ به ترتیب ۰/۷٦، ۰/۷۱ و ۰/٥٤ میلی‌اکی والان پراکسید بر ۱۰۰۰ گرم روغن در روز صفر و ۳/٦٥، ۲/۸ و ۲/۳٥ میلی‌اکی والان پراکسید/۱۰۰۰ گرم روغن در روز ۹ محاسبه شد. در مورد نمونه‌های شماره ٥، ٦ و ۷ به ترتیب ۰/۸۱، ۰/۹ و ۰/۷۹ در روز صفر و ۲/۳٥، ۲/۲٥ و ۲/۰۲ میلی‌اکی والان پراکسید بر ۱۰۰۰ گرم روغن در انتهای دوره نگه‌داری در یخچال به دست آمد. از روز ۳ به بعد نمونه شاهد بالاترین میزان پراکسید را نشان داد و این رویه تا آخر دوره ادامه یافت.

نمونه شاهد در کل دوره بالاترین میزان متوسط (۲/٤۱ میلی‌اکی والان پراکسید/۱۰۰۰ گرم روغن) این شاخص را نشان داد ($p<0/05$) و کم‌ترین میزان متوسط پراکسید (۱/۲۲ میلی‌اکی والان پراکسید/۱۰۰۰ گرم روغن) مربوط به تیمار با ژلاتین ۸ درصد و کیتوزان ۲درصد ($p<0/05$) بود. چربی‌ها در حضور محرک‌هایی چون نور، حرارت، آنزیم‌ها، فلزات، متالوپروتئین‌ها[1] و میکروارگانیسم‌ها[2] مستعد اکسیداسیون هستند. اکسیداسیون چربی شامل تولید مداوم هیدروپروکسیدها[3] به عنوان مواد اولیه اکسیداسیونی است که می‌توانند متعاقباً به گستره‌ای از ترکیبات ثانویه فرّار و غیرفرّار شکسته شوند. شاخص پراکسید، میزان کل هیدروپراکسیدها را نشان می‌دهد و یکی از شاخص‌های ارزیابی کیفی بسیار رایج چربی‌ها و روغن‌ها طی تولید و نگه‌داری است[۳٤].

تمامی نمونه‌های دارای پوشش، میزان پراکسید کم‌تری نسبت به شاهد داشتند($p<0/05$)، این بدان معنی‌است که پوشش‌ها توانسته‌اند اکسیداسیون چربی گوشت مرغ را کاهش دهند.



نمودار ۳- تغییرات اندیس پراکسید [میلی اکی‌والان پراکسید/۱۰۰۰گرم روغن) در نمونه شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی شده طی نگه‌داری در یخچال به مدّت ۹ روز.

1- Metaloproteins
2- Microorganisms
3- Hydroperoxide

علاوه بر این، مقایسه میانگین شاخص پراکسید تیمارهای مختلف نشان داد که تیمار شماره ۷ و به دنبال آن شماره ٤ کم‌ترین میزان پراکسید را به خود اختصاص دادند. با توجّه به(جدول ۱) می‌توان گفت که غلظت ۸ درصد ژلاتین دارای اختلاف معنادار با غلظت ۳ و ٦ درصد می‌باشد و پراکسید را به میزان بیشتری کاهش می‌دهد و بین غلظت‌های کیتوزان، اختلاف معنادار است و کیتوزان ۲ درصد اثر بیشتری از خود نشان داده است. بدین ترتیب، می‌توان گفت با درصد مساوی ژلاتین در دو تیمار، نمونه ۷ با درصد کیتوزان بالاتر روند، کندتری در افزایش پراکسید داشته است. همان‌طور که در(نمودار۳) مشاهده می‌شود نمونه شماره ٤ با درصد بالاتری از ژلاتین میانگین پراکسید کم‌تری از نمونه‌های ۲ و ۳ و حتّی نمونه‌های ۵ و ٦ با کیتوزان ۲ درصد دارد بنابراین کیتوزان و ژلاتین در کاهش میزان پراکسید اثر متقابلی داشته‌اند.) کامیل[1] و همکاران اعلام کردند که کیتوزان دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی برای نگه‌داری چربی‌های درون مواد غذایی است[۳۵]. پوشش‌های ژلاتینی نیز به دلیل وجود پیوندهای هیدروژنی در ژلاتین، به عنوان سدّی در برابر نفوذ اکسیژن عمل کرده و تأثیر ضدمیکروبی از خود به جای می‌گذارد[۳٦].

آنتونیوسکی و بارینجر[2] از پوشش ژلاتین/ کلاژن برای افزایش طول عمر نگه‌داری در گوشت استفاده کردند و دریافتند که کلاژن و ژلاتین به عنوان مانع فساد در محصولات گوشتی عمل می‌کنند و همچنین نقش آنتی‌اکسیدانی دارند[۳۷]. جوشا[3] و همکاران (۲۰۱۰) پایداری اکسایشی[4] گوشت قرمز پوشش داده شده با ژلاتین را در دمای یخچال بررسی کردند. از ژلاتین گوشت قرمز در غلظت‌های ۰٪، ۱۰٪ و ۲۰٪ استفاده کردند و به نتایج مشابهی در کاهش اکسیداسیون چربی دست یافتند[۳۸].

٤- نتیجه گیری

با توجّه به تقاضای مصرف‌کنندگان برای دسترسی به مواد غذایی با کیفیت بالا و نگرانی آن‌ها به دلایل مشکلات ناشی از مصرف نگه‌دارنده‌های مصنوعی، فنّاوری استفاده از پوشش‌های زیست-کافت با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی بالا، می‌تواند جایگزین مناسبی باشد، لذا در تحقیق حاضر، اقدام به تهیه پوشش کیتوزان-ژلاتین نموده و از آن در نگه‌داری مرغ تازه در شرایط نگه‌داری در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) استفاده شد تا محصولی با کیفیت بالاتر و ایمن‌تر به دست مصرف‌کنندگان رسانده شود. به طور کلی، نتایج تحقیق حاضر به ترتیب زیر بودند:

نتایج مطالعات میکروبی کل، حاکی از پایین‌تر بودن تعداد این باکتری‌ها در تیمارهای دارای پوشش بود. پوشش کیتوزان- ژلاتین در مقایسه با نمونه‌های شاهد، تأثیر آشکاری بر کاستن از بار آلودگی میکروبی مرغ تازه داشته و تیمار شماره ۷ (ژلاتین ۸ درصد و کیتوزان ۲ درصد) و تیمار شماره۶ (ژلاتین ۶ درصد و کیتوزان ۲ درصد) بار باکتریایی کم‌تری داشته است. نتایج آزمایش اندازه‌گیری بازهای ازته فرّار، پوشش‌دهی را در کاهش بازهای ازته فرّار حاصل از تولیدات باکتریایی مؤثرتر نشان داد و تیمارها در مقایسه با شاهد اختلاف معناداری داشتند. این پوشش‌ها، خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود را با کم‌تر بودن شاخص پراکسید در نمونه‌های دارای پوشش نسبت به نمونه شاهد نشان دادند که در نمونه شماره ۷ (ژلاتین ۸ درصد و کیتوزان ۲ درصد) مقدار این تغییرات نسبت به تیمارهای دیگر معنادار بود. به طور کلی در بین نمونه‌های پوششی، نمونه شماره ٦ و ۷ به دلیل درصد بالاتری از کیتوزان و ژلاتین، اثر بازدارندگی بیشتری در مقابل رشد میکروبی و تجزیه پروتئین‌ها داشته است و تا روز ٦ نگه‌داری ویژگی‌های محصول را بهتر حفظ می‌کند.

1- Kamil
2- Antoniewsk and Barringer
3- Joshua
4- Oxidation

۵- منابع

1. Henriette M.C. 2009 de Azeredo, Nanocomposites for food packaging applications, Food research international 42,1240–1253.
2. Han, J. 2005, Edible films and coatings: a review. CH. 15 IN innovation in food packaging. Elsevier science & technology books.
3. Guilbert, S. 1986, Technology and application of edible protective films in: M. Mathlouthi (Ed.) Food Packaging and Preservation. Elsevier. Appl. Sci. Publ., New York, NY; 371–394.
4. Kester, J. J. and Fennema, O. R. 1986, Edible films and coatings: A review. Food Technology 40(12): 47-59.
5. Krochta, J. M. and Mulder-Johnston, C. D. 1997, Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. Food Technology 51(2): 61-74.
6. Gennadios, A., Hanna, M. A., 1997, & Kurth, L. B., 1997. Application of edible coatings on meats, Poultry and seafoods: A review. Lebensm.-wiss. u.-Technol., 30, 337–350.
7. Lacroix, M., & Tien, C.L. 2005, Edible films and coatings from non-starch polysaccharides. Ch. 20 in Innovations in food packaging. Publisher: Elsevier science & technology books, 342-344.
8. Gomez-Estaca, J., Montero, P., Gimenez, B., Gomez-Guille´ n, M.C., 2007, Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (Sardina pilchardus). Food chemistry, 105(2), 511e520.
9. No, H. K., Na, Y. P., Lee, S. H., & Meyers, S. P. 2002, "Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights", Int J food microbiol. 74: 65-72.
10. Muzzarelli, R. A. A. 1977, Chitin. pergamon of Canada Ltd, Toronto, pp 139-150.
11. Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G., & Steuerbaut, W. 2003, Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. Biomacromolecules, 4: 1457-1465.
12. Kumar, M. N. V. 2000, A review of chitin and chitosan application. Reactive funct polym, 46: 1-27.
13. Tharanathan, R. N., & Kittur, F. S. 2003, Chitin-the undisputed biomolecule of great potential. Crit rev food Sci nutri, 43: 61-87.
14. Tharanathan, R. N., & Kittur, F. S. 2003, Chitin-the undisputed biomolecule of great potential. Crit Rev food sci nutri, 43: 61-87.
15. Kumar, R., Muzzarelli, R. A. A., Muzzarelli, C., Sashiwa, H., & Domb, A. J. 2004, Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. Chem Rev, 104: 6017-6084.
16. Tsai, G. J., Su, W. H., Chen, H. C., & Pan, C. L. 2002, Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. Fisheries Sci, 68: 170-177.
17. Cho, Y. W., Jang, J., Park, C. R., & Ko, S. W. Preparation and solubility in acid and water of partially deacetylated chitins. Biomacromoleculs, 1: 609-614. 2000.
18. Muzzarelli, R. A. A. 1996, Chitosan-based dietary foods. Carbohydr Polym, 29: 309-316.
19. Sudarshan, N. R., Hoover, D. G., & Knorr, D. 1992, Antimicrobial action of chitosan. Food biotechnol, 6: 257-272.
20. Sagoo, S., Board, R., & Roller, S. 2002, Chitosan inhibits growth of spoilage microorganisms in chilled pork products. Food microbiol, 19: 175-182.
21. Marinez-Camacho, A. P., Cortez-Rocha, M. O, Ezquerra-Brauer, J. M. , Graciano-Verdugo, A. Z., Rodriguez-Felix, F., Castillo-Ortega, M. M. , Yepiz-Gomez, M.S., and Plascencia-Jatomea, M. 2010, Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. Carbohydrate polymers. 82: 305–315.

22. Davidson, P.M., and Zivanivic, S. 2003 The use of natural antimicrobials. pp.5-8. In: Zeuthen P and bogh-sorensen L. Food preservation techniques. Woodhead publishing limited and CRC press, washington.
23. L´ opez-Caballero, M.E., G´ omez-Guill´ en, M.C., P´ erez-Mateos, M., Montero, P., 2005, A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. Food hydrocolloids 19(2):303–11.
24. Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. 2010 Effect of chitosan coating enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food chemistry. 120: 193-198.
25. Jeon, C. O., Kamil, Y. V. A., & Shahidi, F. 2002, "Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and atlantic cod", Journal of agricultural and food chemistry, 50: 5167-5178.
26. OU, C.Y., Tsay, S.F., Lai, C.H., Weng, Y.M., 2001, "Using gelatin-based antimicrobial edible coating to prolong shelf-life of tilapia fillets", Journal of food Quality 25(3):213–22.
27. Goulas, A. E., & Kontominas, M. G. 2007 Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. Food chemistry. 100(1): 287-296.
28. Woyewoda, A. D., Shaw, S. J., Ke, P. J., & Burns, B. G. 1986, Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. Canadian technical report of fish and aquatic science, 1448p.
29. No, H. K., Meyers, S. P., Prnyawiwatkul, W., & Xu. Z. 2007, "Application of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review", Journal of food science. 72: R87-R100.
30. 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. Packaging technology and science 19: 149–157.
31. 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 chemistry 115: 66–70.
32. Mohan, C. O., Ravishankar, C. N., Lalitha, K. V., and Srinivasa Gopal, T. K. 2012, Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (Sardinella longiceps) during chilled storage. Food hydrocolloids. 26: 167-174.
33. Sweetie, R. K., Rao, M.S., Chawla, S.P., & Sharma, A. 2013, Effects of chitosan coating on shelf-life of ready-to-cook meat products during chilled storage. Food science and technology, 1-6.
34. El-Deen, G., & El-Shamery, M.R. 2010, "Studies on contamination and quality of fresh fish meats during storage", Academic journal of biological science. 2: 65-74.
34. Shahidi, F., & Zhong, Y. 2005, Lipid oxidation: measurement method (6th Ed.).Memorial university of newfoundland, Canada. 357-385 pp.
35. Kamil, J. Y. V. A., Jeon, Y. J., & Shahidi, F. 2002, Antioxidative activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (*Clupea harengus*). Food chemistry. 79: 69-77.
36. Antoniewski, M.N., Barringer, S.A., Knipe, C.L., & Zerby, H.N. 2007, "Effect of a gelatin coating on the shelf life of fresh meat", Journal of Food Science, 72(6), E382-7.
37. Antoniewski, M. N., & Barringer, S. A. 2010, Meat shelf life extension using collagen/gelatin coating: A Review. Critical reviews in food science and nutrition, 50(7), 644-653.
38. Joshua, L. H., Sharat, C. J., Vinod, C. N., & Shannon, M. C. 2010. Oxidative stability of gelatin coated pork at refrigerated storage.Meat Science, 85, 651-656.

آدرس نویسنده

گلستان- گرگـان- میـدان بـسیج- دانـشگاه علـوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان- دانشکده صـنایع غذایی، کد پستی: ٤٩١٣٨١٥٧٣٩.