JRIFST
مقالهٔ کامل پژوهشی

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۹، جلد ۹، شماره ۲، صفحات ۲۳۶-۲۲۱
DOI:10.22101/jrifst.2020.195438.1108

مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی

بررسی اثرات نایسین و نانوذرات نایسین به‌عنوان جایگزین نیتریت بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی، حسی و زمان ماندگاری سوسیس فرانکفورتر

کاظم علیرضالو[1*]، جواد حصاری[2]، مقصود بشارتی[3]، میلاد یعقوبی[4]، ذبیح‌اله نعمتی[5]، حیدر ملایری[6]

۱- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
* نویسندهٔ مسئول (kazem.alirezalu@tabrizu.ac.ir)
۲- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۵- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۶- دانش‌آموختهٔ دکتری، مدیر کنترل کیفیت صنایع گوشت و لبنیات، اداره استاندارد ایران، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۱۷

واژه‌های کلیدی
زمان ماندگاری
سوسیس فرانکفورتر
عصارهٔ گیاهی
نانوذرات نایسین
نایسین

چکیده

در این پژوهش، تأثیر استفاده از ترکیب ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌های گیاهی مخلوط (چای‌سبز، گزنه و برگ‌زیتون) به‌همراه نایسین (۲۰۰ پی‌پی‌ام) و نانوذرات نایسین (۲۰۰ پی‌پی‌ام) به‌منظور تولید سوسیس فرانکفورتر بدون نیتریت موردبررسی قرار گرفت. نمونه‌های سوسیس فرانکفورتر بدون نیتریت در ۳ تیمار حاوی ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصارهٔ گیاهی+۲۰۰ پی‌پی‌ام نایسین، تیمارها به‌همراه نمونهٔ کنترل (۱۲۰ پی‌پی‌ام نیتریت سدیم) تولیدشدند و پس از بسته‌بندی تحت‌خلأ در بسته‌های پلی‌اتیلنی آزمایش‌های فیزیکوشیمیایی، کیفی، میکروبی و حسی در مدت زمان ۴۵ روز موردارزیابی قرارگرفتند. نتایج نشان داد که استفاده از نایسین و نانوذرات نایسین تأثیر معنی‌داری ($P>0/05$) روی میزان رطوبت، چربی، پروتئین و خاکستر نداشتند. نانوذرات نایسین به‌دلیل وجود کیتوزان در ساختار کپسول توانستند از اکسیداسیون چربی‌ها ممانعت کنند و در انتهای زمان نگهداری سوسیس‌های حاوی این ترکیبات دارای پایین‌ترین میزان اندیس تیوباربیتوریک اسید بودند. شمارش باکتری‌های کل، کپک‌ها و مخمرها به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) طی مدت زمان نگهداری افزایش پیدا کرد و در انتهای ۴۵ روز به‌ترتیب سوسیس‌های حاوی نیتریت سدیم و نانوذرات نایسین دارای کمترین شمارش باکتری‌های کل مزوفیل، کپک‌ها و مخمرها بودند. شمارش باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (۲/۵ لگاریتم واحد تشکیل کُلنی در گرم) و *اشریشیاکلی* (۲ لگاریتم واحد تشکیل کُلنی در گرم) طی زمان نگهداری به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) کاهش پیداکرد. مشخص‌شد که سوسیس حاوی نانوذرات نایسین دارای امتیازهای حسی بیشتری در مقایسه با سایر تیمارها بود. نتایج حاصل نشان‌داد که استفاده از ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نایسین در ترکیب با ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌های ترکیبی می‌تواند گامی جدید در تولید سوسیس فرانکفورتر بدون نیتریت و با ویژگی‌های کیفی مطلوب و زمان ماندگاری بالا باشد.

مقدمه

گوشت یکی از منابع مهم ریزمغذی‌ها ازجمله روی، ویتامین B_{12}، فسفر و پروتئین بشمار می‌رود، به‌همین‌جهت محصولات گوشتی نقش عمده‌ای در تغذیه و تنوع غذایی مردم دارند (De Smet & Vossen, 2016). طبق آخرین آمار ارائه‌شده توسط سازمان

خواربارو‌کشاورزی، مصرف سرانهٔ گوشت قرمز و سفید ۴۱ کیلوگرم اعلام‌شده است. مقدار مصرف گوشت در کشورهای توسعه‌یافته چیزی در حدود ۹۰ کیلوگرم در سال بوده که این مقدار برای کشورهایی ازجمله چین، برزیل، کویت، امارات و عربستان به‌ترتیب ۳۲، ۲۸، ۶۲، ۵۶ و ۴۵ کیلوگرم است (FAO, 2013). اما باتوجه‌به افزایش قیمت گوشت در کشور ایران و کاهش قدرت خرید مصرف‌کنندگان، مصرف سرانهٔ گوشت در سال به حدود ۱۳ کیلوگرم یعنی در حدود یک‌سوم مصرف سرانهٔ جهانی کاهش‌یافته است (Azham, 2011). سوسیس محصول غذایی مطلوبی بوده و ترکیبات تغذیه‌ای آن کامل‌تر از گوشت خالص می‌باشد. اما افزایش استقبال مصرف‌کنندگان از انواع سوسیس و کالباس، در شرایطی مشاهده می‌شود که بسیاری از متخصصان تغذیه، به جهت استفاده از نیترات و نیتریت سدیم در این محصولات به مضرات مصرف این نوع مواد غذایی اشاره می‌کنند (Morgen, 2011). نیترات و نیتریت سدیم به‌عنوان نگهدارنده و برای افزایش زمان ماندگاری به فرمولاسیون سوسیس اضافه می‌شوند تا مانع رشد باکتری‌های خطرناکی مانند *کلستریدیوم بوتولینوم*[1] گردند (Adams & Moss, 2000; Sebranek & Bacus, 2007). به‌علاوه این ترکیبات نیتراتی باعث حفظ عطروطعم ادویه‌های آن می‌شوند و شروع فساد را در گوشت به‌تاخیر می‌اندازند. مطابق گزارش‌ها مقدار مصرف نیترات سدیم در حدود ۰/۰۶۲ درصد کل وزن سوسیس یا در حدود ۱۲۰ پی‌پی‌ام می‌باشد (Sebranek, 2009). اما نیترات و نیتریت مواد سرطان‌زایی هستند که وجود آنها در مواد غذایی تهدیدکنندهٔ سلامت انسان‌هاست. مشتق‌های مختلفی از این ترکیبات در مادهٔ غذایی و یا در طی هضم و جذب در دستگاه گوارش انسان، ایجاد می‌شود. این مشتق‌ها شامل ترکیبات سرطان‌زای مختلف N-نیتروز آمین‌ها می‌باشند که به آسانی طی واکنش نیترات و نیتریت با آمینواسیدهای نوع دوم شکل می‌گیرند (Ozel, Gogus, Yagci, Hamilton, & Lewis, 2010). گزارش‌های مختلفی اثرات نامطلوب این ترکیبات مانند کمبود اکسیژن‌رسانی به خون و سایر ارگان‌های داخلی بدن به‌علت بلوکه‌شدن گلبول‌های قرمز با نیتریت (Pierson, Smoot, & Robach, 1983)، انسداد مزمن ریوی (Colmenero, 2000) و سرطان‌زایی (Pegg & Shahidi, 2008) را به اثبات رسانیده‌اند. بنابراین بسیاری از محققان امروزه به‌دنبال افزودنی‌های مناسب جهت حذف یا کاهش مصرف این ترکیبات در فراورده‌های گوشتی می‌باشند.

باتوجه‌به کاربردهای مختلف نیتریت سدیم در فرمولاسیون سوسیس درصورت حذف این ترکیب باید راهبردهای متنوعی در بهبود فرمولاسیون ارائه کرد، به‌طوری‌که ویژگی‌های میکروبی و کیفی در سطح بالایی حفظ شود. استفاده از ترکیات ضدمیکروبی طبیعی مانند نایسین، کیتوزان، اپسیلون پلی-ال-لیزین[2] و نانوکپسوله‌شدهٔ آنها و همچنین عصاره‌های گیاهی در فرمولاسیون تولید و بسته‌بندی فعال سوسیس در جهت جایگزینی نیتریت سدیم گامی جدید در تولید محصولات گوشتی فراسودمند و بدون نیتریت می‌باشد (Sebranek, 2009). نایسین نوعی باکتریوسین پلی‌پپتیدی آمفی‌پاتیک دارای ۳۴ آمینواسید است که توسط سوش‌های خاص *لاکتوکوکوس لاکتیس*[3] زیرگونهٔ لاکتیس تولید می‌شود و مدت‌هاست که باتوجه‌به خصوصیات ضدمیکروبی آن و سمیت پایین برای انسان به‌عنوان یک مادهٔ ایمن (GRAS[4]) و نگهدارندهٔ مواد غذایی در بسیاری از کشورها استفاده می‌شود (Kuwano *et al.*, 2005). نایسین دارای اثرات ضدمیکروبی روی برخی باکتری‌های گرم مثبت بیماری‌زا مانند *لیستریا مونوسیتوژنز*[5] و *کلستریدیوم بوتولینوم* و همچنین باکتری‌های گرم منفی بیماری‌زا مانند *اشریشیاکلی*[6] و *سالمونلا*[7] می‌باشد (Bernela, Kaur, Chopra, & Thakur, 2014). از محصولاتی که امروزه به‌صورت تجارتی در فراوری آنها از نایسین استفاده می‌شود به فراورده‌های گوشتی نظیر گوشت خام، محصولات پختهٔ گوشت، سوسیس، کالباس، محصولات غذایی دریایی نظیر انواع ماهی و صدف و محصولات لبنی نظیر پنیرهای پاستوریزهٔ فرایندشدهٔ پنیر طبیعی، شیر پاستوریزه و انواع دسرهای لبنی پاستوریزه، انواع محصولات خامه، شیر استریلیزه، تخم‌مرغ مایع پاستوریزه، انواع نوشیدنی مثل آب‌میوه‌ها و دیگر محصولات همچون سس‌های سالاد، فراورده‌های سیب‌زمینی، سویا و پیتزا اشاره نمود (Davidson, MacGregor, Stuhr, & Gidron, 1999).

کیتوزان به‌دلیل ویژگی‌های تکنولوژیکی و فیزیولوژیکی منحصربه‌فرد ازجمله خاصیت ضدمیکروبی در برابر دامنهٔ

[1] *Clostridium botulinum*

[2] Epsilon poly-l-lysine
[3] *Lactococcus lactis*
[4] Generally Recognized As Safe
[5] *Listeria monocytogenes*
[6] *Escherichia coli*
[7] *Salmonella*

گسترده‌ای از باکتری‌ها، کپک‌ها و مخمرها[1] (Dutta, Tripathi, Mehrotra, & Dutta, 2009)، توانایی بالا در تشکیل فیلم، قدرت آنتی‌اکسیدانی بالا (Kamil, Jeon, & Shahidi, 2002)، هضم‌پذیری و غیرسمی‌بودن به‌طور گسترده در صنعت غذا به‌عنوان افزودنی‌های ضدمیکروبی در فیلم‌ها و پوشش‌ها مورداستفاده قرار می‌گیرد.

چای‌سبز به‌دلیل داشتن ویژگی‌هایی ازجمله خواص ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطان‌زایی موردتوجه محققان واقع شده است (Cooper, Morré, & Morré, 2005). همچنین عصارهٔ چای‌سبز توانایی بالایی در کاهش رشد پاتوژن‌ها و باکتری‌های عامل فساد در مادهٔ غذایی ازجمله *استافیلوکوکوس اورئوس*[2]، *کمپیلوباکتر ججونی*[3]، *سالمونلا تیفی*[4]، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *کلستریدیوم پرفریجنس*[5] می‌باشد (Mbata, Debiao, & Saikia, 2008). عصارهٔ برگ‌زیتون شامل مقادیر بالایی از ترکیبات فنولیک است که باعث ایجاد خواصی ازجمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی در آن می‌شود، علاوه‌برآن عصارهٔ برگ‌زیتون دارای خواص دیگری ازجمله ضدمیکروبی، ضدالتهابی و ضدویروسی می‌باشد (Omar, 2010). برگ‌گزنه یکی دیگر از گیاهان با خاصیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشد که به‌طور سنتی در درمان برخی از بیماری‌ها مورداستفاده قرار می‌گیرد و علاوه‌برآن در صنعت دارویی نیز به واسطهٔ قدرت ضدمیکروبی بالا مورداستفاده قرار می‌گیرد. برگ‌گزنه همچنین در درمان بیماری‌هایی ازقبیل سرطان، هموروئید، اگزما و برونشیت نیز کاربرد دارد (Sezik *et al.*, 2001).

کاهش سریع فعالیت نایسین در تعدادی از مواد غذایی یکی از فاکتورهای مهم محدودکنندهٔ اثربخشی آن در نگهداری مواد غذایی است. این کاهش فعالیت اساساً نتیجهٔ برهمکنش اجزاء سازندهٔ مادهٔ غذایی مثل پروتئین‌ها و چربی‌هاست. علاوه‌برآن، به‌دنبال افزودن مستقیم نایسین در سطح فراورده‌های گوشتی خام یک کاهش سریع در فعالیت‌های بازدارندگی آن که به‌دلیل تخریب آنزیمی است، مشاهده‌شده است (Rose, Sporns, Stiles, & McMullen, 1999). بنابراین هدف تحقیق‌های فعلی بهبود پایداری و تأثیر نایسین با استفاده از الحاق آن در میکروکپسول‌هاست. ازسوی‌دیگر بسیاری از ترکیبات ضدمیکروبی و زیست‌فعال مفید ممکن است طی فرایند مواد غذایی به آرامی تخریب‌شده، فعالیت خود را ازدست‌داده، سمی‌شده و یا اکسیده شوند. همچنین ممکن است با سایر ترکیبات موجود در غذا واکنش‌داده و دسترسی‌زیستی آنها را کاهش و یا رنگ و طعم فراورده را تغییر دهند و باعث کاهش زمان ماندگاری محصولات غذایی گردند. استفاده از کپسوله‌کردن ترکیبات ضدمیکروبی در بسیاری از موارد می‌تواند راه‌حل مناسبی برای حل این مشکلات گردد (Chopra, Kaur, Bernela, & Thakur, 2014).

باتوجه‌به اینکه نایسین ساختار پلی‌پپتیدی دارد، بنابراین می‌تواند توسط میکروارگانیسم‌های پروتئولیتیک[6] به‌صورت جزئی تجزیه گردد. ازسوی‌دیگر به‌علت بافت جامد سوسیس فرانکفورتر[7] پخش این ماده در ساختار آن همیشه به‌طور کامل انجام نمی‌گیرد، بنابراین نوآوری این پژوهش تولید نانوذرات نایسین می‌باشد که در ترکیب با عصاره‌های گیاهی مخلوط (چای‌سبز، برگ‌گزنه و برگ‌زیتون) می‌توانند پیشنهادی برای جایگزین‌شدن نیتریت سدیم سرطان‌زا باشند. براساس اهمیت مطالب ذکرشده، هدف این پژوهش استفاده از ترکیب ضدمیکروبی طبیعی نایسین و نانوذرات نایسین به همراه عصارهٔ گیاهان چای‌سبز، برگ‌زیتون و برگ‌گزنه در فرمولاسیون سوسیس فرانکفورتر بدون نیتریت و بررسی تأثیر ترکیبی آنها روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی، میکروبیولوژیکی و زمان ماندگاری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

در این پژوهش اکثر مواد شیمیایی و کلیهٔ محیط‌های کشت مورداستفاده از شرکت مرک آلمان با درجهٔ خلوص تجزیه‌ای، نایسین (Nisaplin، Danisco، Copenhagen، 5000 IU/mL، ساخت دانمارک)، کیتوزان با درجهٔ استیلاسیون ۹۵ درصد (Sigma-Aldrich، ساخت آمریکا) و آلژینات سدیم (Sigma-Aldrich، ساخت آمریکا) تهیه شدند.

[1] Mold and Yeasts
[2] *Staphylococcus aureus*
[3] *Campylobacter jejuni*
[4] *Salmonella typhi*
[5] *Clostridium perfringens*
[6] Proteolytic
[7] Frankfurter sausage

تهیهٔ محلول نایسین

برای تهیهٔ محلول اولیهٔ نایسین از روش Hampikyan و Ugur (۲۰۰۷) با اندکی تغییرات استفاده شد. ۲ گرم نایسین پودری در ۲۰۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال ۰/۰۲ مولار به کمک حرارت ۷۰-۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد حل شد. سپس محلول با استفاده از فیلترهای با اندازهٔ منافذ ۰/۲۲ میکرومتر استریل شد و برای تهیهٔ سوسیس‌های فرانکفورتر با ۲۰۰ پی‌پی‌ام نایسین مورداستفاده قرار گرفت.

تهیهٔ نانوذرات نایسین

نانوذرات نایسین با استفاده از روش‌های Das، Kasoju و Bora (۲۰۱۰) و Bernela و همکاران (۲۰۱۴) با تغییرات اندکی به‌منظور افزایش کارایی انکپسولاسیون و تولید ذرات با اندازه‌های مناسب انجام شد. بدین‌ترتیب ۷۷/۵ میلی‌لیتر محلول نایسین (۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) با ۳/۷۵ میلی‌لیتر محلول کلرید کلسیم در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتر مخلوط شدند. سپس ۶/۲۵ میلی‌لیتر سورفاکتانت PF 68 (۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر)، ۵۸/۷۵ میلی‌لیتر آلژینات سدیم (۰/۶۳ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) و ۱۲/۵ میلی‌لیتر محلول کیتوزان (۰/۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) تهیه‌شده در اسید استیک ۱ درصد (وزنی/وزنی) به ارلن اضافه شد. مخلوط به‌دست‌آمده به مدت ۲۱۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد) به‌طور ملایم با کمک شیکر هم‌زده شد و درنهایت نانوذرات نایسین پس از سانتریفیوژ ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد و خشک‌کردن انجمادی تولید شدند و برای تولید سوسیس فرانکفورتر با ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نایسین (اندازه: ۸۵/۹ نانومتر) مورداستفاده قرار گرفتند.

تهیهٔ عصاره‌های گیاهی

عصاره‌های گیاهی برگ‌چای، برگ‌زیتون و برگ‌گزنه با استفاده از روش Ebrahimzadeh، Pourmorad و Hafezi (۲۰۰۸) با تغییرات جزئی تهیه شد. در این روش ابتدا برگ گیاهان طی ۴۸ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد خشک شدند و سپس توسط آسیاب (Sayona، مدل SCG-133، ساخت ایران) به پودر تبدیل شدند. ۵۰ گرم از هر گیاه در داخل ارلن با ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به مدت ۴۸ ساعت مخلوط شدند. درنهایت محلول به‌دست‌آمده توسط کاغذ واتمن شمارهٔ ۱ صاف‌شده و اتانول نیز با روتاری تحت‌خلأ از عصاره جداسازی گردید و به مقدار ۵۰۰ پی‌پی‌ام در سوسیس‌های بدون نیتریت مورداستفاده قرار گرفت.

آماده‌سازی باکتری‌های تلقیح‌شده به سوسیس فرانکفورتر

باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (شاخص باکتری‌های گرم مثبت، ATCC: 6538) و *اشریشیاکلی* (شاخص باکتری‌های گرم منفی، ATCC: 25922) از مرکز تحقیقات کاربردی دارویی تبریز تهیه شدند. برای غنی‌سازی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* از محیط کشت تریپتیک سوی‌براث[1] و شرایط ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد استفاده شد تا تعداد باکتری‌ها در محیط مایع تا غلظت 10^8 واحد تشکیل کُلنی در گرم افزایش پیدا کند. درنهایت از محیط کشت تریپتیک سوی‌آگار برای شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* استفاده شد و باکتری‌ها در غلظت 10^3 واحد تشکیل کُلنی در گرم به سوسیس فرانکفورتر تلقیح شدند (Greenwood, 2003).

تولید سوسیس فرانکفورتر

نمونه‌های سوسیس فرانکفورتر موردبررسی در این پژوهش در کارخانهٔ فراورده‌های گوشتی بشارت تبریز تولید شدند. ابتدا گوشت قرمز (۵۵ درصد) با شبکهٔ ۴ میلی‌متر چرخ شد، سپس کلیهٔ مواد اولیه که عبارتند از روغن مایع گیاهی (۱۲ درصد)، آب و یخ (۲۱ درصد)، نمک (۱/۵ درصد)، ادویه (۲ درصد)، نیتریت سدیم (۱۲۰ پی‌پی‌ام) نشاسته و سایر مواد خشک (۸/۱۵ درصد) و فسفات سدیم (۰/۳۵ درصد) آماده‌سازی و توزین گردید. از کاتریزاسیون با حجم ۵ کیلوگرمی (MADO، ساخت آلمان) استفاده شد. برای تولید نمونهٔ کنترل ابتدا گوشت قرمز به‌همراه نمک طعام، فسفات و نیتریت سدیم به‌همراه نصف یخ به کاتر انتقال داده شد. در مرحلهٔ بعد نشاسته، سایر مواد خشک، ادویه و در انتهای فرایند مابقی یخ و اسید آسکوربیک اضافه شد و خمیر سوسیس (فارش) به مدت ۲ دقیقه مخلوط شد. سپس فارش بعد از پرشدن در پوشش‌های پلی‌آمیدی (قطر ۲۸ میلی‌متر) و کلیپس‌زنی وارد مرحلهٔ پخت با بخار گردید. برای تولید نمونه‌های بدون نیتریت، عصاره‌های گیاهی به میزان ۵۰۰ پی‌پی‌ام همراه با یخ به کاتر اضافه گردید و

[1] Tryptic soy broth

ترکیبات ضدمیکروبی نایسین (۲۰۰ پی‌پی‌ام) و نانوذرات نایسین (۲۰۰ پی‌پی‌ام) در مرحلهٔ دوم به‌همراه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* در میزان 10^3 واحد تشکیل کُلنی در گرم به کاتر اضافه گردید و پس از عملیات پرکنی و کلیپس‌زنی به‌همراه نمونهٔ کنترل عملیات پخت در دمای ۸۵-۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۱/۵ ساعت انجام شد. سپس نمونه‌های پس از سردشدن زیر دوش‌های آب، وارد سردخانه با دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد شدند. تیمارهای مورداستفاده در این پژوهش شامل سوسیس فرانکفورتر کنترل (حاوی ۱۲۰ پی‌پی‌ام نیتریت سدیم)، سوسیس فرانکفورتر حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نایسین+۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌های گیاهی و سوسیس فرانکفورتر حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نایسین+۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌های گیاهی بودند.

اندازه‌گیری pH

برای این کار از pHمتر (مدل Hanna، ساخت پرتغال) که از قبل کالیبره‌شده استفاده شد. ابتدا ۲ گرم از نمونه‌های سوسیس با آب‌مقطر با نسبت ۱:۱۰ به‌طور اولیه مخلوط و سپس در مخلوط‌کن (IKA-WERK، مدل RER، آلمان) با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲ دقیقه هموژنیزه شد. درنهایت مقدار pH مورد سنجش قرار گرفت (AOAC, 2005).

ترکیب شیمیایی

آزمون‌های فعالیت آبی (a_w)، محتوای رطوبت، چربی، پروتئین و خاکستر نمونه‌های مختلف سوسیس براساس روش‌های استاندارد AOAC (۲۰۰۵) انجام شد.

محتوای اکسیداسیون چربی یا اندیس تیوباربیتوریک اسید[1] (TBARS)

میزان ۱۰ گرم نمونهٔ سوسیس با ۲۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواسید استیک ۲۰ درصد و ۲۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر در داخل بشر با استفاده از هموژنایزر اولتراتوراکس (IKA-WERK، مدل RER، ساخت آلمان) به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط شد. پس از سانتریوفیوژکردن مخلوط با ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه عمل فیلتراسیون سوپرناتانت با کاغذ واتمن شمارهٔ ۱ انجام پذیرفت. در داخل لولهٔ آزمایش ۲ میلی‌لیتر از محلول صاف‌شده با ۲ میلی‌لیتر از معرف ۲-تیوباربیتوریک اسید ۰/۰۲ مولار مخلوط و لولهٔ آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه به بن‌ماری محتوی آب جوش منتقل شد. پس از سردکردن مخلوط لولهٔ آزمایش، اندیس تیوباربیتوریک اسید براساس میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری شد و نتایج حاصل به‌صورت میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید بر کیلوگرم سوسیس گزارش شد (Ahmadian, Nemati, Karimi, & Safari, 2019; Faustman, Specht, Malkus, & Kinsman, 1992).

ویژگی‌های رنگی

برای ارزیابی رنگ نمونه‌های سوسیس از عکس‌برداری دیجیتالی شبیه‌ساز هانترلب استفاده شد. اندازه‌گیری رنگ با بررسی پیکسل‌های عکس دیجیتالی سطح مادهٔ غذایی توسط نرم‌افزار فتوشاپ (نسخهٔ CS8) و تبدیل اندیس‌های RGB به Lab صورت گرفت (Leon, Mery, Pedreschi, & Leon, 2006).

ویژگی‌های میکروبی

ابتدا قسمت خارجی بسته‌بندی سوسیس توسط اتانول ۷۰ درصد به‌خوبی ضدعفونی و سپس پوشش پلی‌آمیدی با چاقوی استریل بریده شد. رقت ۰/۱ اولیه (10^{-1}) از اختلاط ۲۵ گرم نمونهٔ سوسیس با ۲۲۵ گرم محلول رقیق‌کنندهٔ پپتون بافر ۰/۱ درصد استریل در یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتر استریل به‌دست آمد. سپس نمونه به مدت ۲ دقیقه با استفاده از هموژنایزر (IKA، ساخت آلمان) استریل مخلوط شد. درنهایت رقت‌های 10^{-2}، 10^{-3} و تا 10^{-9} نیز در پپتون واتر استریل ۰/۱ درصد تهیه شدند. کشت باکتری‌های مزوفیل کل، *کلیفرم* و *اشریشیاکلی* به‌صورت پورپلیت به‌ترتیب با شرایط گرم‌خانه‌گذاری؛ ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد (در محیط کشت PCA[2]، هوازی)، ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد (در محیط کشت VRB آگار[3]، دولایه)، براساس روش MPN در مدت زمان ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ و ۴۴ درجهٔ سانتی‌گراد (در محیط کشت‌های لوریل سولفات، EC و آب‌پپتونه)، انجام شد. همچنین شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* و کپک و مخمرها به‌صورت کشت سطحی و به‌ترتیب با

[1] Thiobarbituric acid reactive substances

[2] Plate Count Agar

[3] Violet Red Bile Agar

شرایط گرم‌خانه‌گذاری ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد (در محیط کشت BPA[1]) و ۵ روز در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد (در محیط کشت DRBC آگار[2]) انجام شد (FDA, 1976).

ویژگی‌های حسی

تأثیر استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی روی ویژگی‌های ارگانولپتیکی شامل رنگ، طعم، بوی تازگی، بافت و مقبولیت کلی نمونه‌ها با استفاده از ۱۲ نفر پانلیست (مرد: ۴ نفر، زن: ۸ نفر؛ سن: ۳۰-۲۰ سال) آشنا به سوسیس فرانکفورتر از دانشجویان کارشناسی ارشد و دکتری گروه صنایع غذایی دانشگاه تبریز در روز ۴۵ مدت زمان نگهداری به روش توصیفی ۵ نقطه‌ای (۵: خیلی قوی، ۴: قوی، ۳: متوسط، ۲: ضعیف، ۱: خیلی ضعیف) و براساس روش‌های Stone و Sidel (۲۰۰۴) و Economou، Pournis، Ntzimani و Savvaidis (۲۰۰۹) انجام گرفت.

آنالیز آماری

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار سوسیس‌های فرانکفورتر در طول زمان انجام شد. برای آنالیز داده‌ها در طول زمان از روش اندازه‌گیری‌های تکرارشده در واحد زمان[3] در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. مقایسهٔ میانگین‌ها در زمان‌های مختلف با روش حداقل میانگین مربعات[4] به کمک نرم‌افزار آماری SAS نسخهٔ ۹.۲ انجام شد. همچنین آنالیز واریانس برای ویژگی‌های فعالیت آبی، رطوبت، چربی، پروتئین، خاکستر و پارامترهای ارگانولپتیکی، به روش ANOVA و مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن[5] در سطح احتمال (P<۰/۰۵) انجام گرفت.

نتایج و بحث

براساس نتایج گزارش مشخص شد که توزیع اندازهٔ ذرات، اندیس پراکندگی چندگانه[6]، پتانسیل زتا و کارایی کپسولاسیون نانوذرات نایسین به‌ترتیب در محدودهٔ ۲۰۰-۸۵/۹ نانومتر (بیش از ۷۰ درصد نانوذرات)، ۰/۴۳، ۳۳/۶ میلی‌ولت و ۸۲/۸۵ درصد بود (علیرضالو، حصاری، اسکندری، ولی‌زاده و سیروس‌آذر، ۱۳۹۷). نتایج حاصل از آنالیز واریانس و مقایسهٔ میانگین تغییرات a_w و pH در جدول (۱) نشان داده شده است. در طی زمان نگهداری در تمامی نمونه‌های مختلف سوسیس a_w کاهش جزئی نشان داد. علت این کاهش می‌تواند مربوط به نفوذپذیری جزئی پوشش بسته‌بندی پلی‌آمید باشد که در طی نگهداری رطوبت به‌صورت سطحی تبخیرشده و میزان رطوبت و a_w به‌صورت غیرمعنی‌داری (P>۰/۰۵) کاهش پیدا می‌کند.

جدول ۱- تغییرات a_w و pH سوسیس‌های فرانکفورتر حاوی نایسین و نانوذرات نایسین در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد طی زمان نگهداری

ویژگی‌ها	نمونه‌های سوسیس	زمان نگهداری (روز)			
		۱	۱۵	۳۰	۴۵
a_w	تیمار ۱	۰/۹۷۶±۰/۰۱۳^{Aa}	۰/۹۷۵±۰/۰۱۷^{Aa}	۰/۹۷۵±۰/۰۱۶^{Aa}	۰/۹۷۴±۰/۰۱۴^{Aa}
	تیمار ۲	۰/۹۷۶±۰/۰۱۱^{Aa}	۰/۹۷۷±۰/۰۱۵^{Aa}	۰/۹۷۷±۰/۰۱۲^{Aa}	۰/۹۷۴±۰/۰۳۵^{Aa}
	تیمار ۳	۰/۹۷۸±۰/۰۲۶^{Aa}	۰/۹۷۷±۰/۰۱۲^{Aa}	۰/۹۷۷±۰/۰۱۲^{Aa}	۰/۹۷۶±۰/۰۱۴^{Aa}
pH	تیمار ۱	۶/۵۱±۰/۰۳۴^{Aa}	۶/۰۲±۰/۰۲۶^{Bb}	۵/۷۹±۰/۰۴۴^{Ac}	۵/۲۴±۰/۰۲۴^{Bd}
	تیمار ۲	۶/۴۲±۰/۰۲۲^{Ba}	۶/۰۲±۰/۰۱۶^{Bb}	۵/۶۶±۰/۰۱۵^{Bc}	۵/۶۵±۰/۰۱۲^{Ac}
	تیمار ۳	۶/۴۱±۰/۰۲۱^{Ba}	۶/۱۳±۰/۰۱۹^{Ab}	۵/۸۴±۰/۰۱۷^{Ac}	۵/۷۳±۰/۰۱۸^{Ad}

تیمار ۱: سوسیس کنترل، تیمار ۲: سوسیس حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نایسین و تیمار ۳: سوسیس حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نایسین می‌باشد.

$^{a-d}$ حروف متفاوت در سطر نشانگر اختلاف معنی‌داری میانگین‌ها در سطح احتمال (P<۰/۰۵) طی زمان نگهداری می‌باشند.

$^{A-B}$ حروف متفاوت در ستون نشانگر اختلاف معنی‌داری میانگین‌ها در سطح احتمال (P<۰/۰۵) میان تیمارهای مختلف می‌باشند.

[1] Baird Parker Agar
[2] Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar
[3] Repeated Measurement
[4] Least Square Means
[5] Duncan's multiple range test
[6] Polydispersity index

پارامتر a_w به میزان آب قابل‌استفاده برای فعالیت‌های میکروبی، شیمیایی و آنزیمی گفته می‌شود، بنابراین تغییر آن در طی زمان نگهداری می‌تواند به‌طور معنی‌داری باعث جلوگیری از فعالیت‌های میکروبی و واکنش‌های شیمیایی گردد. نمونه‌های سوسیس فرانکفورتر حاوی ترکیبات ضدمیکروبی دارای اندیس a_w بالاتری نسبت به نمونهٔ کنترل بودند. بنابراین سوسیس‌های فرانکفورتر حاوی این ترکیبات اندیس a_w بیشتری از نمونهٔ کنترل نشان دادند. بااین‌وجود مشخص شد که اختلاف در a_w سوسیس‌های فرانکفورتر معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). Wang (۲۰۰۰) و Hampikyan و Ugur (۲۰۰۷) اذعان کردند که افزودن نایسین به‌ترتیب به سوسیس سوجوک[1] و سوسیس چینی تأثیری بر مقدار a_w نمونه‌ها در طی زمان نگهداری نداشت که با نتایج پژوهش اخیر مطابقت داشت.

اندیس pH در تمامی نمونه‌های مختلف سوسیس طی زمان نگهداری ۴۵ روز به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) کاهش پیدا کرد. کاهش pH می‌تواند به‌دلیل تولید اسیدهای آلی توسط باکتری‌ها باشد (Nattress & Baker, 2003). بنابراین هرچه فعالیت ضدمیکروبی نایسین و نانوذرات نایسین بیشتر باشد از رشد باکتری‌ها جلوگیری‌شده و اُفت pH کمتر خواهد بود. در انتهای زمان نگهداری ۴۵ روز نمونهٔ سوسیس فرانکفورتر کنترل دارای کمترین (۵/۲۴) و سوسیس فرانکفورتر حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نایسین دارای بیشترین (۵/۸۶) میزان pH بود. در تحقیقی گزارش کردند که pH سوسیس‌های کم‌چرب چینی طی زمان نگهداری ۹ روز کاهش داشت (Lin & Chao, 2001). گزارش‌ها نشان می‌دهد که افزودن غلظت‌های مختلف نایسین تأثیر معنی‌داری ($P>۰/۰۵$) روی تغییرات pH سوسیس سوجوک طی زمان نگهداری ۳۰ روز نداشت (Hampikyan & Ugur, 2007). Samelis و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که pH سوسیس‌های بلوگنا[2] طی نگهداری در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌دلیل فعالیت باکتری‌ها و تبدیل کربوهیدرات‌ها به اسیدهای آلی کاهش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) پیدا می‌کند و محدودهٔ pH آنها به‌صورت ۶/۶-۵/۶ بود که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت.

[1] Sucuk sausage
[2] Bologna sausages

بااین‌وجود در نمونه‌های حاوی نایسین به‌دلیل اثرات ضدمیکروبی pH بالاتر از نمونهٔ کنترل بود.

در جدول (۲) ویژگی‌های شیمیایی سوسیس‌های فرانکفورتر حاوی نایسین و نانوذرات نایسین نشان داده شده است. نتایج نشان داد که افزودن ترکیبات ضدمیکروبی تأثیر معنی‌داری ($P>۰/۰۵$) روی ویژگی‌های شیمیایی سوسیس‌های فرانکفورتر نداشت. همچنین مشخص شد نمونه‌های مختلف سوسیس فرانکفورتر دارای رطوبت ۶۰/۸۲-۵۹/۶۷ درصد، چربی ۱۸/۹۶-۱۷/۵۳ درصد، پروتئین ۱۳/۸۲-۱۳/۷۴ درصد و خاکستر ۲/۹۷-۲/۲۳ درصد بودند. تیمار ۱ (کنترل) به‌طور غیرمعنی‌داری ($P>۰/۰۵$) دارای کمترین میزان رطوبت بود. باتوجه‌به ماهیت جذب رطوبت توسط نایسین و نانوذرات نایسین، پایین‌تربودن محتوای رطوبت تیمار کنترل قابل‌توجیه است. نمونه‌های سوسیس فرانکفورتر حاوی نایسین و نانوذرات نایسین به‌دلیل ماهیت پروتئینی این ترکیبات به‌طور غیرمعنی‌داری ($P>۰/۰۵$) دارای محتوای پروتئینی بالاتری در مقایسه با نمونهٔ کنترل بودند. Samelis و همکاران (۲۰۰۵) با بررسی تأثیر نایسین و اسیدهای آلی برای کنترل رشد *لیستریا مونوسیتوژنز* در سوسیس بلوگنای خوک بسته‌بندی‌شدهٔ تحت‌خلأ به این نتیجه رسیدند که میزان رطوبت و چربی نمونه‌های سوسیس طی زمان نگهداری تغییر نداشت و به‌ترتیب برابر با ۵۴ و ۲۳ درصد بود که با نتایج این پژوهش سازگاری داشت.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی سوسیس‌های فرانکفورتر حاوی نایسین و نانوذرات نایسین در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد

نمونه‌های سوسیس	ویژگی‌ها (درصد) *			
	رطوبت	چربی	پروتئین	خاکستر
تیمار ۱	۵۹/۶۷	۱۸/۲۸	۱۳/۷۴	۲/۵۸
تیمار ۲	۶۰/۸۵	۱۸/۹۶	۱۳/۷۵	۲/۹۷
تیمار ۳	۶۰/۸۲	۱۷/۵۳	۱۳/۸۲	۲/۲۳
خطای استاندارد	۰/۵۱	۰/۴۸	۰/۲۰	۰/۳۵

تیمار ۱: سوسیس کنترل، تیمار ۲: سوسیس حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نایسین و تیمار ۳: سوسیس حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نایسین می‌باشد.

* نشان‌دهندهٔ عدم اختلاف معنی‌دار ($P>۰/۰۵$) بین تیمارهای مختلف می‌باشد.

اکسیداسیون چربی‌ها به‌عنوان عامل رنسیدیتی یکی از عوامل مهم فساد و کاهش کیفیت گوشت و فراورده‌های گوشتی است که به‌دلیل میزان بالای چربی و زمان طولانی مدت نگهداری این محصولات غذایی اتفاق می‌افتد. این پدیده منجربه‌افزایش اکسیداسیون پروتئین‌ها، ایجاد بدطعمی، اُفت رنگ و درنهایت نقایص ارگانولپتیکی و بافتی در فراورده‌های گوشتی می‌شود (Georgantelis, Blekas, Katikou, Ambrosiadis, & Fletouris, 2007). اکسیداسیون پروتئین‌هایی مانند میوگلوبین منجربه‌تولید مت‌میوگلوبین[1] قهوه‌ای‌رنگ شده که ظاهر گوشت و فراورده‌های گوشتی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. Williams و همکاران (۱۹۹۲) گزارش دادند که بدرنگی ناشی از تولید رنگ قهوه‌ای منجربه‌کاهش فروش و تجارت گوشت قرمز به میزان ۴/۵ درصد و فراورده‌های گوشتی به میزان ۳/۷ درصد شده است. در جدول (۳) نتایج حاصل از آنالیز واریانس و مقایسهٔ میانگین‌های اکسیداسیون چربی بر مبنای اندیس تیوباربیتوریک اسید در سوسیس‌های فرانکفورتر نگهداری‌شده در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که افزودن نایسین و نانوذرات نایسین به نمونه‌های مختلف سوسیس فرانکفورتر دارای تأثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) روی اندیس TBARS بود. به‌طوری‌که نمونهٔ کنترل دارای بالاترین میزان TBARS در کل زمان نگهداری ۴۵ روز بود.

در تمامی نمونه‌های سوسیس اندیس TBARS تا انتهای زمان نگهداری به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) افزایش پیدا کرد. بیشترین و کمترین میزان افزایش اندیس TBARS مربوط به سوسیس فرانکفورتر کنترل (۲/۷۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سوسیس فرانکفورتر حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نایسین (۲/۴۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود. مشخص شد که نانوکپسولاسیون نایسین باعث کاهش غیرمعنی‌دار ($P>۰/۰۵$) میزان اکسیداسیون چربی در طی زمان نگهداری ۴۵ روز شد. باتوجه‌به اینکه در تولید نانوکپسول‌ها از کیتوزان استفاده‌شده بود بنابراین وجود کیتوزان به‌عنوان ترکیب آنتی‌اکسیدان توانست باعث کاهش اندیس TBARS در طی زمان نگهداری شود. بااین‌وجود Jo، Lee، Lee و Byun (۲۰۰۱) گزارش دادند که کیتوزان فقط در شرایط بسته‌بندی هوازی می‌تواند اثرات آنتی‌اکسیدانی خود را نشان دهد و زمانی که سوسیس خوک تحت‌شرایط خلأ بسته‌بندی گردید اختلاف معنی‌داری ($P>۰/۰۵$) میان سوسیس‌های خوک حاوی کیتوزان و تیمارنشده دیده نشد. Georgantelis و همکاران (۲۰۰۷) در برگرهای منجمد گوشت گاو و سوسیس خوک و Soultos، Tzikas، Abrahim، Georgantelis و Ambrosiadis (۲۰۰۸) در سوسیس خوک با نیتریت کاهش‌یافته با غلظت ۱ درصد کیتوزان به نتایج مشابهی در کاهش تولید مالون‌دی‌آلدئید و اکسیداسیون چربی‌ها رسیدند. Sayas-Barberá و همکاران (۲۰۱۱) بهترین پایداری بو و رنگ در برگرهای چرخ‌شدهٔ گوشت گاو را در ۳ غلظت ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد کیتوزان را مشاهده کردند.

جدول ۳- تغییرات TBARS (میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید بر کیلوگرم سوسیس) سوسیس‌های فرانکفورتر حاوی نایسین و نانوذرات نایسین در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد طی زمان نگهداری

نمونه‌های سوسیس	زمان نگهداری (روز)			
	۱	۱۵	۳۰	۴۵
تیمار ۱	۰/۳۶±۰/۰۴^{Ad}	۱/۴۱±۰/۰۳^{Ac}	۲/۱۳±۰/۰۳^{Ab}	۲/۷۴±۰/۰۶^{Aa}
تیمار ۲	۰/۳۲±۰/۰۱^{Ad}	۰/۵۵±۰/۰۲^{Bc}	۱/۷۹±۰/۰۲^{Cb}	۲/۴۱±۰/۰۳^{Ba}
تیمار ۳	۰/۳۱±۰/۰۲^{Ad}	۰/۵۸±۰/۰۳^{Bc}	۱/۸۶±۰/۰۳^{Bb}	۲/۳۸±۰/۰۱^{Ba}

تیمار ۱: سوسیس کنترل، تیمار ۲: سوسیس حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نایسین و تیمار ۳: سوسیس حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نایسین می‌باشد.

$^{a-d}$ حروف متفاوت در سطر نشانگر اختلاف معنی‌داری میانگین‌ها در سطح احتمال ($P<۰/۰۵$) طی زمان نگهداری می‌باشند.

$^{A-B}$ حروف متفاوت در ستون نشانگر اختلاف معنی‌داری میانگین‌ها در سطح احتمال ($P<۰/۰۵$) میان تیمارهای مختلف می‌باشند.

[1] Metmyoglobin

ویژگی‌های ظاهری و رنگ گوشت و فراورده‌های گوشتی از مهم‌ترین پارامترهای بازارپسندی می‌باشند. بنابراین هنگام استفاده از عوامل ضدمیکروبی توجه به مقدار مصرف که تأثیر نامطلوب روی ویژگی‌های رنگی محصول نداشته باشد، حائز اهمیت می‌باشد. در جدول (۴) داده‌های حاصل از اندیس‌های روشنایی، قرمزی و زردی نمونه‌های مختلف سوسیس فرانکفورتر در طی زمان نگهداری آورده‌شده است. مشخص شد که در تمامی نمونه‌های مختلف سوسیس فرانکفورتر طی زمان نگهداری اندیس روشنایی به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) کاهش پیدا کرد که با گزارش Suman و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت داشت. بااین‌وجود Jo و همکاران (۲۰۰۱) ذکر کردند که اندیس روشنایی در سوسیس خوک حاوی کیتوزان اولیگومر[1] در مدت زمان نگهداری ۲۱ روز تغییر چندانی پیدا نکرد که در پژوهش اخیر نیز چون در تولید نانوذرات نایسین از پوشش کیتوزان استفاده‌شده بود، بنابراین کاهش چشمگیری در اندیس روشنایی سوسیس فرانکفورتر در طی زمان نگهداری دیده نشد.

اندیس روشنایی در سوسیس‌های فرانکفورتر حاوی نانوذرات نایسین و نایسین تفاوت معنی‌داری با همدیگر نداشتند ولی به‌طور معنی‌داری در نمونه‌های تیمارشده کمتر از نمونه‌های کنترل بودند که این مورد توسط محققان دیگر نیز به اثبات رسیده است (Alirezalu *et al.*, 2019). Petrou، Tsiraki، Giatrakou و Savvaidis (۲۰۱۲) نشان دادند که گوشت سینهٔ مرغ بسته‌بندی‌شده در اتمسفر تغییریافته حاوی کیتوزان و عصارهٔ پونهٔ کوهی دارای اندیس روشنایی بالاتری نسبت به نمونهٔ کنترل (بدون نیتریت) بودند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت. نتایج حاصل از داده‌های اندیس قرمزی نشان داد که افزودن عوامل ضدمیکروبی باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) در شدت رنگ قرمز شدند. مشخص شد که در طی زمان نگهداری ۴۵ روز در تمامی نمونه‌های مختلف سوسیس فرانکفورتر اندیس قرمزی کاهش پیدا کرد. بیشترین میزان کاهش اندیس قرمزی در نمونه‌های حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نایسین بود. مشخص شد که نیتریت سدیم با تولید نیتروزیل میوگلوبین می‌تواند باعث جلوگیری از کاهش اندیس قرمزی طی نگهداری سوسیس فرانکفورتر گردد. اُفت اندیس قرمزی در گوشت و فراورده‌های گوشتی از پارامترهای محدودکنندهٔ زمان ماندگاری و بروز فساد محسوب می‌شود. در بین سوسیس‌های فرانکفورتر حاوی ترکیبات ضدمیکروبی نمونهٔ حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نایسین به‌دلیل داشتن کیتوزان دارای اندیس قرمزی بالاتری بوده و در طی زمان نگهداری اُفت کمتری را نشان داد. مطابق با نتایج اندیس TBARS و اندیس قرمزی مشخص شد که کیتوزان ممکن است اکسیداسیون چربی‌ها و تبدیل میوگلوبین به مت‌میوگلوبین را به تأخیر اندازد و باعث جلوگیری از کاهش اندیس قرمزی در طی زمان نگهداری گردد که این نتایج با گزارش Petrou و همکاران (۲۰۱۲) سازگاری داشت. نتایج حاصل از اندیس زردی در نمونه‌های مختلف سوسیس فرانکفورتر در طی زمان نگهداری ۴۵ روز نشان داد که اندیس زردی به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) کاهش پیدا کرد. همچنین باید ذکر کرد کاربرد نایسین و نانوذرات نایسین به‌دلیل ماهیت زرد باعث افزایش اندیس زردی در تیمارهای ۲ و ۳ در طی زمان نگهداری شد. Giatrakou، Ntzimani و Savvaidis (۲۰۱۰) گزارش دادند که تغییرات اندیس زردی در محصولات گوشتی الگوی خاصی نداشته و براساس نوع محصول، فرمولاسیون و نوع بسته‌بندی در طی زمان نگهداری می‌تواند، تغییر کند. برهمین‌اساس Jo و همکاران (۲۰۰۱) و Giatrakou و همکاران (۲۰۱۰) روند افزایشی اندیس زردی و Georgantelis و همکاران (۲۰۰۷) روند کاهشی اندیس زردی در طی زمان نگهداری را گزارش دادند که نتایج پژوهش حاضر با گزارش Georgantelis و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت داشت.

جدول (۵) نتایج حاصل از تغییرات شمارش میکروارگانیسم‌های سوسیس‌های کنترل و بدون نیتریت در مدت زمان نگهداری ۴۵ روز را نشان می‌دهد. در تمامی تیمارها شمارش باکتری‌های مزوفیل کل افزایش یافت. بیشترین میزان افزایش مربوط به سوسیس فرانکفورتر کنترل (تیمار ۱) بود که فقط دارای نیتریت سدیم بود. در تیمارهای ۲ و ۳ به‌دلیل اینکه از عصاره‌های چای‌سبز، گزنه و برگ‌زیتون و ترکیبات ضدمیکروبی نایسین و نانوذرات نایسین استفاده شده بود شمارش باکتری‌های مزوفیل کل پایین‌تری از تیمار ۱ داشتند، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که این ترکیبات دارای اثرات ضدمیکروبی بالایی نسبت به نیتریت سدیم بودند. Alp و Aksu (۲۰۱۰) تأثیرات عصارهٔ برگ‌گزنه در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام را روی سوسیس سوجوک موردارزیابی قرار دادند و تأثیرات معنی‌دار آن در مقابل رشد

[1] Oligomer

باکتری‌های مزوفیل کل، سرماگرا و باکتری‌های اسید لاکتیک را گزارش دادند. استفاده از عصارهٔ برگ چای‌سبز در صدف چروک به‌طور معنی‌داری می‌تواند رشد باکتری‌های مزوفیل کل را در زمان نگهداری در یخچال کاهش دهد (Xi, Liu, & Su, 2012). مشخص شد که نانوذرات نایسین به‌دلیل آزادسازی کنترل‌شده و پخش بهتر دارای اثرات ضدمیکروبی غیرمعنی‌دار بالاتری نسبت به نایسین محلول بودند. براساس استانداردهای میکروبی، افزایش شمارش باکتری‌های کل به بیش از ۷ لگاریتم واحد تشکیل کُلنی در گرم (Sofos, 1989) باعث ایجاد بدطعمی و عدم پذیرش گوشت و فراورده‌های گوشتی می‌شود. براین‌اساس در تمامی تیمارها در طی زمان نگهداری ۴۵ روز شمارش باکتری‌های مزوفیل کل در محدودهٔ استاندارد بود که نشان‌دهندهٔ افزایش زمان ماندگاری سوسیس‌های فرانکفورتر بدون نیتریت بودند.

جدول ۴- تغییرات ویژگی‌های رنگی سوسیس‌های فرانکفورتر حاوی نایسین و نانوذرات نایسین در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد طی زمان نگهداری

ویژگی‌ها	نمونه‌های سوسیس	زمان نگهداری (روز)			
		۱	۱۵	۳۰	۴۵
L^*	تیمار ۱	۵۸/۳۴±۰/۴۲^{Aa}	۵۷/۷۴±±۰/۶۳^{Aab}	۵۷/۳۵±۰/۳۷^{Ab}	۵۵/۲۲±۰/۸۶^{Ac}
	تیمار ۲	۴۴/۴۸±۰/۷۴^{Ba}	۴۴/۴۳±۰/۴۵^{Ba}	۴۵/۰۰±۰/۴۰^{Ba}	۴۳/۲۱±۰/۲۶^{Bb}
	تیمار ۳	۴۴/۷۵±۰/۳۵^{Ba}	۴۴/۵۷±۰/۷۶^{Ba}	۴۵/۰۴±۰/۴۶^{Ba}	۴۳/۶۷±۰/۳۴^{Bb}
a^*	تیمار ۱	۱۴/۳۷±۰/۱۳^{Aa}	۱۳/۲۸±۰/۲۲^{Ab}	۱۳/۲۱±۰/۱^{Ab}	۱۱/۷۹±۰/۳۶^{Ac}
	تیمار ۲	۴/۷۸±۱/۰۷^{Ba}	-۱/۵۰±۰/۳۳^{Bb}	-۱/۷۷±۰/۲۵^{Bbc}	-۲/۲۸±۰/۲۱^{Bc}
	تیمار ۳	۴/۸۵±۰/۶۴^{Ba}	-۰/۹۷±۰/۱۵^{Bb}	-۱/۲۵±۰/۵۶^{Bbc}	-۲/۱۱±۰/۳۲^{Bc}
b^*	تیمار ۱	۱۷/۳۸±۰/۲۳^{Ba}	۱۶/۶۴±۰/۳۰^{Ba}	۱۶/۹۷±۰/۴۶^{Aa}	۱۶/۳۲±۰/۶۵^{Aa}
	تیمار ۲	۱۸/۰۹±۰/۳۷^{ABa}	۱۷/۵۰±۰/۳۵^{ABab}	۱۶/۵۹±۰/۵۵^{Ab}	۱۶/۸۴±۰/۴۵^{Ab}
	تیمار ۳	۱۸/۲۳±۰/۴۳^{Aa}	۱۷/۵۲±۰/۲۴^{Aa}	۱۶/۶۵±۰/۴۶^{Ab}	۱۷/۲۰±۰/۳۶^{Ab}

تیمار ۱: سوسیس کنترل، تیمار ۲: سوسیس حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نایسین و تیمار ۳: سوسیس حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نایسین می‌باشد.

$^{a-d}$ حروف متفاوت در سطر نشانگر اختلاف معنی‌داری میانگین‌ها در سطح احتمال (P<۰/۰۵) طی زمان نگهداری می‌باشند.

$^{A-B}$ حروف متفاوت در ستون نشانگر اختلاف معنی‌داری میانگین‌ها در سطح احتمال (P<۰/۰۵) میان تیمارهای مختلف می‌باشند.

جدول ۵- تغییرات شمارش میکروارگانیسم‌های سوسیس‌های فرانکفورتر حاوی نایسین و نانوذرات نایسین در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد طی زمان نگهداری

میکروارگانیسم (لگاریتم واحد تشکیل کُلنی در گرم)	نمونه‌های سوسیس	زمان نگهداری (روز)			
		۱	۱۵	۳۰	۴۵
باکتری‌های مزوفیل کل	تیمار ۱	۳/۹۴±۰/۰۴^{Bc}	۴/۵۸±۰/۰۹^{Ab}	۵/۰۶±۰/۰۹^{Aab}	۵/۳۸±۰/۰۷^{Ba}
	تیمار ۲	۵/۵۶±۰/۰۷^{Aa}	۳/۶۲±۰/۰۳^{Bc}	۴/۶۷±۰/۰۷^{Bb}	۵/۹۲±۰/۰۳^{Aa}
	تیمار ۳	۵/۲۳±۰/۰۸^{Aa}	۳/۸۶±۰/۰۵^{Bc}	۴/۶۱±۰/۰۴^{Bb}	۵/۶۳±۰/۰۷^{Aa}
استافیلوکوکوس اورئوس	تیمار ۱	۲/۷۵±۰/۰۵^{Aa}	۲/۵۸±۰/۰۵^{Aa}	۱/۷۳±۰/۰۹^{Ab}	۰/۶۴±۰/۰۳^{Bc}
	تیمار ۲	۲/۵۸±۰/۰۶^{Aa}	۲/۸۹±۰/۰۷^{Aa}	۱/۴۵±۰/۰۳^{Ab}	۱/۹۲±۰/۰۸^{Ac}
	تیمار ۳	۲/۴۴±۰/۰۳^{Aa}	۲/۷۵±۰/۰۳^{Aa}	۱/۱۱±۰/۰۴^{Ab}	nd
اشریشیاکلی	تیمار ۱	۲/۳۵±۰/۰۵^{Ba}	۱/۶۷±۰/۰۵^{Bb}	۱/۰۳±۰/۰۹^{Bc}	۰/۲۱±۰/۰۳^{Bd}
	تیمار ۲	۲/۹۷±۰/۰۶^{Aa}	۲/۷۴±۰/۰۷^{Aab}	۲/۵۶±۰/۰۳^{Abc}	۲/۳۴±۰/۰۸^{Ac}
	تیمار ۳	۲/۸۹±۰/۰۳^{Aa}	۲/۷۵±۰/۰۳^{Aab}	۲/۴۳±۰/۰۴^{Ab}	۲/۰۳±۰/۰۴^{Ac}
کپک‌ها و مخمرها	تیمار ۱	۱/۰۳±۰/۰۵^{Ad}	۱/۳۹±۰/۰۲^{Bc}	۱/۸۷±۰/۰۴^{ABb}	۲/۳۴±۰/۰۹^{Ba}
	تیمار ۲	۰/۹۷±۰/۰۲^{Bd}	۱/۶۵±۰/۰۴^{Ac}	۲/۱۶±۰/۱۸^{Ab}	۲/۵۴±۰/۰۳^{Aa}
	تیمار ۳	۰/۹۴±۰/۰۳^{Bd}	۱/۴۸±۰/۰۷^{Bc}	۱/۷۶±۰/۰۷^{Bb}	۲/۳۱±۰/۰۴^{Ba}

تیمار ۱: سوسیس کنترل، تیمار ۲: سوسیس حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نایسین و تیمار ۳: سوسیس حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نایسین می‌باشد.

$^{a-d}$ حروف متفاوت در سطر نشانگر اختلاف معنی‌داری میانگین‌ها در سطح احتمال (P<۰/۰۵) طی زمان نگهداری می‌باشند.

$^{A-B}$ حروف متفاوت در ستون نشانگر اختلاف معنی‌داری میانگین‌ها در سطح احتمال (P<۰/۰۵) میان تیمارهای مختلف می‌باشند.

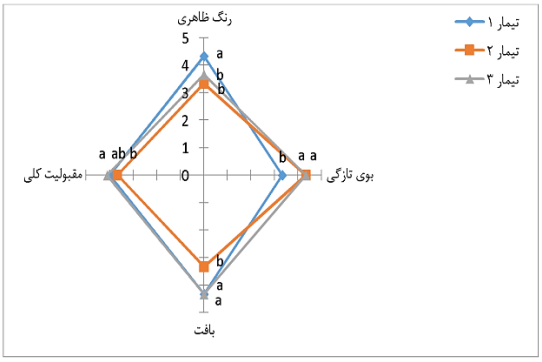
استافیلوکوکوس اورئوس باکتری بیماری‌زایی است که رشد آن در سوسیس به‌علت تولید انتروتوکسین[1] موجب به‌خطرافتادن سلامت مصرف‌کنندگان می‌شود. انتروتوکسین‌ها به حرارت مقاوم بوده و سوسیس محیط مناسبی برای رشد این باکتری می‌باشد (Morgen, 2011). بنابراین جلوگیری از رشد آن حائز اهمیت بوده و دراین‌ارتباط استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی خیلی مطلوب می‌باشد. در تمامی نمونه‌های مختلف سوسیس فرانکفورتر شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) کاهش پیدا کرد و در انتهای زمان نگهداری ۴۵ روز در تیمار ۳ غیرقابل‌شمارش بود. نتایج دیگر محققین نشان داد که با بررسی تأثیر ترکیبات ضدمیکروبی نایسین، کیتوزان و لیزوزیم[2] روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در محصول گوشتی خام[3] به این نتیجه رسیدند که نایسین دارای اثرات کشندگی بیشتری نسبت به کیتوزان و لیزوزیم است (Elmani, 2014). این محققان نشان دادند که شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* در نمونهٔ حاوی نایسین و کیتوزان به میزان ۲/۵ لگاریتم واحد تشکیل کُلنی در گرم پایین‌تر از نمونهٔ کنترل بود. Jofré، Aymerich و Garriga (۲۰۰۷) گزارش دادند که کاربرد توأم نایسین (۱۲۸۰ واحد بین‌المللی بر گرم) و فشار بالا (۶۰۰ مگاپاسکال) در همبرگر عمل‌آوری‌شدهٔ خشک باعث کاهش تعداد *استافیلوکوکوس اورئوس* از ۳/۵ به صفر لگاریتم واحد تشکیل کُلنی در گرم در مدت زمان ۷ روز شد. مشخص شد که کاربرد نانوذرات نایسین دارای فعالیت ضدمیکروبی بیشتری نسبت به خود نایسین بودند. ازسوی‌دیگر چون در انتهای زمان نگهداری شمارش این باکتری در تیمار ۱ به صفر کاهش پیدا نکرد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از نیتریت سدیم در غلظت ۱۲۰ پی‌پی‌ام نمی‌تواند شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* حاوی $۱۰^{۳}$ واحد تشکیل کُلنی در گرم در سوسیس فرانکفورتر را به صفر کاهش دهد.

نتایج آنالیز واریانس و مقایسهٔ میانگین داده‌ها نشان داد که افزودن عصارهٔ گیاهی، ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی دارای تأثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) روی شمارش باکتری *اشریشیاکلی* بود. در انتهای زمان نگهداری سوسیس‌های حاوی نایسین و نانوذرات نایسین شمارش بالایی از *اشریشیاکلی* (۲/۳۴-۲/۰۳ لگاریتم واحد تشکیل کُلنی در گرم) را داشتند و مشخص شد که نایسین و نانوذرات آن دارای اثرات بازدارندگی زیادی روی این باکتری نیستند. Elmani (۲۰۱۴) با بررسی تأثیر نایسین و کیتوزان به‌صورت پوشش‌دهی روی شمارش *اشریشیاکلی* به این نتیجه رسیدند که نایسین تأثیر معنی‌داری روی کاهش شمارش باکتری در شرایط آزمایشگاهی نداشت که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت. مشخص شد که نانوذرات نایسین دارای اثرات بازدارندگی بیشتری نسبت به نایسین محلول روی *اشریشیاکلی* بودند.

نتایج نشان داد که در طی زمان نگهداری ۴۵ روز شمارش کپک‌ها و مخمرها در تمامی نمونه‌های مختلف سوسیس فرانکفورتر افزایش پیدا کرد. مشخص شد که بیشترین میزان افزایش مربوط به سوسیس‌های حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نایسین بود. مطابق با استاندارد ملی ایران (سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI]، ۱۳۸۴) تعداد کپک‌ها و مخمرها حداکثر ۲ لگاریتم واحد تشکیل کُلنی در گرم می‌باشد و براساس جدول (۵) مشخص شد که شمارش کپک‌ها و مخمرها در تیمارهای حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نایسین و ۱۲۰ پی‌پی‌ام نیتریت سدیم تا روز ۳۰ زمان نگهداری در حد مجاز بودند ولی در روز ۴۵ از حد استاندارد افزایش پیدا کردند. Khajehali، Shekarforoush، Nazer و Hoseinzadeh (۲۰۱۲) نشان دادند که استفاده از ترکیب بسته‌بندی تغییریافته (دی‌اکسیدکربن ۳۹/۵ درصد، نیتروژن ۶۰ درصد و مونوکسیدکربن ۰/۵ درصد) و نایسین (۳۰ پی‌پی‌ام) می‌تواند شمارش کپک و مخمر را به میزان ۱ لگاریتم واحد تشکیل کُلنی در گرم در سوسیس امولسیونی کاهش دهد. بااین‌وجود Guerra، Macias، Agrasar و Castro (۲۰۰۵) اذعان کردند که نایسین بیشتر روی باکتری‌های گرم مثبت دارای فعالیت ضدمیکروبی و روی باکتری‌های گرم منفی، کپک‌ها و مخمرها تأثیر کمی دارد. بااین‌وجود نانوذرات نایسین برخلاف نایسین به‌دلیل پخش بهتر و اندازهٔ ذرات کوچک‌تر دارای اثرات ضدقارچی نیز بودند. Thomas و Delves-Broughton (۲۰۰۵) دلیل عدم تأثیر نایسین روی کپک‌ها و مخمرها را ساختار ویژهٔ غشای خارجی آنها عنوان کرد که به نایسین اجازهٔ تعامل با مکان‌های فعال را نمی‌دهد.

---
[1] Enterotoxin
[2] Lysozyme
[3] Cig kofte

مشخص شد که در بین تیمارهای موردبررسی در روز ۴۵ اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) از لحاظ ویژگی‌های ارگانولپتیکی وجود داشت (شکل ۱). نتایج حاصل از بررسی‌ها نشان داد که تیمار کنترل دارای رنگ ظاهری بیشتری نسبت به سوسیس‌های حاوی نایسین و نانوذرات نایسین بودند که علت آن مربوط به تشکیل نیتروزیل میوگلوبین پایدار صورتی‌رنگ می‌باشد. مشخص شد که تیمار نانوذرات نایسین در مقایسه با نایسین دارای امتیازهای حسی بیشتری بود که براساس نتایج حاصل از ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی نیز قابل پیش‌بینی بود. ازسوی‌دیگر سوسیس حاوی نانوذرات نایسین در مقایسه با تیمار کنترل به‌جز در رنگ ظاهری دارای ویژگی‌های حسی برتری بود.



شکل ۱- ویژگی‌های حسی سوسیس‌های فرانکفورتر حاوی نیتریت سدیم، نایسین و نانوذرات نایسین در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد

تیمار ۱: سوسیس کنترل، تیمار ۲: سوسیس حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نایسین و تیمار ۳: سوسیس حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نایسین می‌باشد.

[a-d] حروف متفاوت در هر ویژگی نشانگر اختلاف معنی‌داری میانگین‌ها در سطح احتمال (P<۰/۰۵) می‌باشند.

Bento، Stamford، Stamford، De Andrade و De Souza (۲۰۱۱) نشان دادند که افزودن کیتوزان به محصول حاصل از مغز گاو باعث افزایش رنگ صورتی آن می‌شود که با نتایج پژوهش اخیر مطابقت داشت. به‌طوری‌که چون در تهیهٔ نانوذرات از کیتوزان استفاده‌شده بود، بنابراین عامل بهبود رنگ صورتی محصول نهایی شد. همان‌طورکه قبلاً نیز اشاره شد کیتوزان دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی است، بنابراین با تأثیر در اکسیداسیون می‌تواند مانع تولید عطروطعم و بوی نامطلوب‌شده و درنهایت امتیازهای ارگانولپتیکی را افزایش می‌دهد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که در طی زمان نگهداری سوسیس‌های بدون نیتریت اندیس‌های a_w، pH، اندیس روشنایی، اندیس قرمزی، اندیس زردی، شمارش باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* کاهش و در مقابل اندیس‌های TBARS، شمارش باکتری‌های مزوفیل کل، کپک‌ها و مخمرها افزایش پیدا کرد. براساس نتایج می‌توان اظهار کرد که کاربرد تکنولوژی هردل می‌تواند به‌صورت مطلوبی در تولید سوسیس فرانکفورتر بدون نیتریت و با زمان ماندگاری بالا مورداستفاده قرار گیرد. به‌طوری‌که نانوذرات نایسین بهتر از نایسین و نیتریت سدیم فعالیت ضدمیکروبی در مقابل *استافیلوکوکوس اورئوس* را نشان داد. ازسوی‌دیگر چون در سوسیس‌های حاوی نایسین و نانوذرات نایسین از نیتریت به‌عنوان عامل مؤثر در رنگ صورتی محصول استفاده‌نشده بود، بنابراین برای بهبود رنگ و کاهش اکسیداسیون چربی‌ها استفاده از کیتوزان مطلوب می‌باشد. درنهایت باید ذکر کرد که چون نایسین و نانوذرات نایسین با عصاره‌های گیاهی دارای اثرات سینرژیستی هستند، بنابراین تولید سوسیس فرانکفورتر حاوی ترکیبی از ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌های گیاهی ترکیبی (چای‌سبز، گزنه و برگ‌زیتون) و ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوذرات نایسین از جنبه‌های مختلف مطلوب خواهد بود.

منابع

سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۴). سوسیس و کالباس-ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. (استاندارد ملی ایران به شمارهٔ ۲۳۰۳، تجدیدنظر سوم. برگرفته از http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=35104

علیرضالو، ک.، حصاری، ج.، اسکندری، م.، ولی‌زاده، ه. و.، و سیروس‌آذر، م. (۱۳۹۷). بررسی ویژگی های میکروبیولوژیکی و حسی سوسیس فرانکفورتر فراسودمند در مدت زمان نگهداری. *علوم و صنایع غذایی ایران*، *۱۵* (۸۳)، ۲۶۷-۲۸۰ .

Adams, M., & Moss, M. (2000). The microbiology of food preservation. In *Food microbiology* (pp. 65-120).

Ahmadian, H., Nemati, Z., Karimi, A., & Safari, R. (2019). Effect of different dietary selenium sources and storage temperature on enhancing the shelf life of quail eggs. *Animal Production Research, 8*(2).

Alirezalu, K., Hesari, J., Eskandari, M. H., Valizadeh, H., Sirousazar, M., & Nemati, Z. (2019). Evaluation of microbiological and sensory properties of functional frankfurter sausage during storage. *Food Science and Technology, 15*(83), 267-280. (in Persian)

Alirezalu, K., Hesari, J., Nemati, Z., Munekata, P. E., Barba, F. J., & Lorenzo, J. M. (2019). Combined effect of natural antioxidants and antimicrobial compounds during refrigerated storage of nitrite-free frankfurter-type sausage. *Food research international, 120*, 839-850. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.048

Alp, E., & Aksu, M. İ. (2010). Effects of water extract of Urtica dioica L. and modified atmosphere packaging on the shelf life of ground beef. *Meat Science, 86*(2), 468-473. doi:https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.036

AOAC. (2005). Meat and meat products. In Official Methods of Analysis, 16th Ed. In: Association of Official Analytical Chemists International, Arlington.

Azham, N. A. (2011). *Physicochemical and sensory characteristics of vegetarian sausage.* Universiti Teknologi MARA,

Bento, R. A., Stamford, T. L. M., Stamford, T. C. M., De Andrade, S. A. C., & De Souza, E. L. (2011). Sensory evaluation and inhibition of Listeria monocytogenes in bovine pâté added of chitosan from Mucor rouxii. *LWT-Food Science and Technology, 44*(2), 588-591. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.08.016

Bernela, M., Kaur, P., Chopra, M., & Thakur, R. (2014). Synthesis, characterization of nisin loaded alginate–chitosan–pluronic composite nanoparticles and evaluation against microbes. *LWT-Food Science and Technology, 59*(2), 1093-1099. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.061

Chopra, M., Kaur, P., Bernela, M., & Thakur, R. (2014). Surfactant assisted nisin loaded chitosan-carageenan nanocapsule synthesis for controlling food pathogens. *Food Control, 37*, 158-164. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.024

Colmenero, F. J. (2000). Relevant factors in strategies for fat reduction in meat products. *Trends in Food Science & Technology, 11*(2), 56-66. doi:https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)00042-X

Cooper, R., Morré, D. J., & Morré, D. M. (2005). Medicinal benefits of green tea: Part I. Review of noncancer health benefits. *Journal of Alternative & Complementary Medicine, 11*(3), 521-528. doi:https://doi.org/10.1089/acm.2005.11.521

Das, R. K., Kasoju, N., & Bora, U. (2010). Encapsulation of curcumin in alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 6*(1), 153-160. doi:https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.05.009

Davidson, K., MacGregor, M. W., Stuhr, J., & Gidron, Y. (1999). Increasing constructive anger verbal behavior decreases resting blood pressure: A secondary analysis of a randomized controlled hostility intervention. *International Journal of Behavioral Medicine, 6*(3), 268-278.

De Smet, S., & Vossen, E. (2016). Meat: The balance between nutrition and health. A review. *Meat Science, 120*, 145-156. doi:https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.008

Dutta, P., Tripathi, S., Mehrotra, G., & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food chemistry, 114*(4), 1173-1182. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.047

Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F., & Hafezi, S. (2008). Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of biology, 32*(1), 43-49.

Economou, T., Pournis, N., Ntzimani, A., & Savvaidis, I. (2009). Nisin–EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life. *Food chemistry, 114*(4), 1470-1476. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.036

Elmani, M. (2014). Effects of Different Concentration of Nisin, Lysozyme, and Chitosan on The Changes of Microorganism Profile in Produced Çiğ Köfte (Turkish Traditional Meat Product; Raw Meatball) During The Production Stage. *Manas Journal of Engineering, 2*(2), 30-45.

FAO, O. (2013). WHO, 2010. *FAO/WHO Ex*.

Faustman, C., Specht, S., Malkus, L., & Kinsman, D. (1992). Pigment oxidation in ground veal: Influence of lipid oxidation, iron and zinc. *Meat Science, 31*(3), 351-362. doi:https://doi.org/10.1016/0309-1740(92)90064-B

FDA. (1976). bacteriological analytical manual for foods. Bureau of foods division of microbiology In: Association of Official Analytical Chemists.

Georgantelis, D., Blekas, G., Katikou, P., Ambrosiadis, I., & Fletouris, D. J. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and α-tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. *Meat Science, 75*(2), 256-264. doi:https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.07.018

Giatrakou, V., Ntzimani, A., & Savvaidis, I. (2010). Effect of chitosan and thyme oil on a ready to cook chicken product. *Food microbiology, 27*(1), 132-136. doi:https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.09.005

Greenwood, M. (2003). *Practical food microbiology*: Blackwell Pub.

Guerra, N. P., Macias, C. L., Agrasar, A. T., & Castro, L. (2005). Development of a bioactive packaging cellophane using Nisaplin® as biopreservative agent. *Letters in applied microbiology, 40*(2), 106-110. doi:https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01649.x

Hampikyan, H., & Ugur, M. (2007). The effect of nisin on L. monocytogenes in Turkish fermented sausages (sucuks). *Meat Science, 76*(2), 327-332.

Iranian National Standardization Organization. (2005). Sausages-Specifications and test methods. (ISIRI No. 3th.Revisition). Retrieved from http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=35104 (in Persian)

Jo, C., Lee, J., Lee, K., & Byun, M. (2001). Quality properties of pork sausage prepared with water-soluble chitosan oligomer. *Meat Science, 59*(4), 369-375. doi:https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00089-4

Jofré, A., Aymerich, T., & Garriga, M. (2008). Assessment of the effectiveness of antimicrobial packaging combined with high pressure to control Salmonella sp. in cooked ham. *Food Control, 19*(6), 634-638. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.06.007

Kamil, J. Y., Jeon, Y.-J., & Shahidi, F. (2002). Antioxidative activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (Clupea harengus). *Food chemistry, 79*(1), 69-77. doi:https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00180-2

Khajehali, E., Shekarforoush, S. S., Nazer, A. H., & Hoseinzadeh, S. (2012). Effects of nisin and modified atmosphere packaging (map) on the quality of emulsion-type sausage. *Journal of Food Quality, 35*(2), 119-126. doi:https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2012.00438.x

Kuwano, K., Tanaka, N., Shimizu, T., Nagatoshi, K., Nou, S., & Sonomoto, K. (2005). Dual antibacterial mechanisms of nisin Z against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *International journal of antimicrobial agents, 26*(5), 396-402. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.08.010

Leon, K., Mery, D., Pedreschi, F., & Leon, J. (2006). Color measurement in L∗ a∗ b∗ units from RGB digital images. *Food research international, 39*(10), 1084-1091. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.03.006

Lin, K.-W., & Chao, J.-Y. (2001). Quality characteristics of reduced-fat Chinese-style sausage as related to chitosan's molecular weight. *Meat Science, 59*(4), 343-351. doi:https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00084-5

Mbata, T., Debiao, L., & Saikia, A. (2008). Antibacterial activity of the crude extract of Chinese green tea (Camellia sinensis) on Listeria monocytogenes. *African journal of Biotechnology, 7*(10).

Morgen, N. (2011). *Fermented sausage- Product development at lindell's Gardsslakteri.* (master's thesis), Department of Food Science, SLU, Swedish University of Agricultural Sciences

Nattress, F. M., & Baker, L. P. (2003). Effects of treatment with lysozyme and nisin on the microflora and sensory properties of commercial pork. *International journal of food microbiology, 85*(3), 259-267. doi:https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00545-7

Omar, S. H. (2010). Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Scientia pharmaceutica, 78*(2), 133-154. doi:https://doi.org/10.3797/scipharm.0912-18

Ozel, M. Z., Gogus, F., Yagci, S., Hamilton, J. F., & Lewis, A. C. (2010). Determination of volatile nitrosamines in various meat products using comprehensive gas chromatography–nitrogen chemiluminescence detection. *Food and Chemical Toxicology, 48*(11), 3268-3273. doi:https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.08.036

Pegg, R. B., & Shahidi, F. (2008). *Nitrite curing of meat: The N-nitrosamine problem and nitrite alternatives*: John Wiley & Sons.

Petrou, S., Tsiraki, M., Giatrakou, V., & Savvaidis, I. (2012). Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat. *International journal of food microbiology, 156*(3), 264-271. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.002

Pierson, M. D., Smoot, L. A., & Robach, M. C. (1983). Nitrite, nitrite alternatives, and the control of Clostridium botulinum in cured meats. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 17*(2), 141-187. doi:https://doi.org/10.1080/10408398209527346

Rose, N., Sporns, P., Stiles, M., & McMullen, L. (1999). Inactivation of nisin by glutathione in fresh meat. *Journal of Food Science, 64*(5), 759-762. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb15906.x

Samelis, J., Bedie, G., Sofos, J., Belk, K., Scanga, J., & Smith, G. (2005). Combinations of nisin with organic acids or salts to control Listeria monocytogenes on sliced pork bologna stored at 4 C in vacuum packages. *LWT-Food Science and Technology, 38*(1), 21-28. doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.04.012

Sayas-Barberá, E., Quesada, J., Sánchez-Zapata, E., Viuda-Martos, M., Fernández-López, F., Pérez-Alvarez, J., & Sendra, E. (2011). Effect of the molecular weight and concentration of chitosan in pork model burgers. *Meat Science, 88*(4), 740-749. doi:https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.03.007

Sebranek, J. G. (2009). Basic curing ingredients. In *Ingredients in meat products* (pp. 1-23): Springer.

Sebranek, J. G., & Bacus, J. N. (2007). Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Science, 77*(1), 136-147. doi:https://doi.org/10.1007/978-0-387-71327-4_1

Sezik, E., Yeşilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., & Tanaka, T. (2001). Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in central Anatolia. *Journal of ethnopharmacology, 75*(2-3), 95-115. doi:https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00399-8

Sofos, J. N. (1989). *Sorbate food preservatives*: CRC Press.

Soultos, N., Tzikas, Z., Abrahim, A., Georgantelis, D., & Ambrosiadis, I. (2008). Chitosan effects on quality properties of Greek style fresh pork sausages. *Meat Science, 80*(4), 1150-1156. doi:https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.008

Stone, H., & Sidel, J. (2004). Sensory Evaluation Practices, Elsevier Academic Press. *California, USA*.

Suman, S., Mancini, R., Joseph, P., Ramanathan, R., Konda, M., Dady, G., & Yin, S. (2011). Chitosan inhibits premature browning in ground beef. *Meat Science, 88*(3), 512-516. doi:https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.02.002

Thomas, L. V., & Delves-Broughton, J. (2005). 7 Nisin. *Antimicrobials in food*, 237.

Wang, F.-S. (2000). Effects of three preservative agents on the shelf life of vacuum packaged Chinese-style sausage stored at 20 C. *Meat Science, 56*(1), 67-71. doi:https://doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00022-X

Williams, S., Frye, T., Frigg, M., Schaefer, D., Scheller, K., & Liu, Q. (1992). *Vitamin E as an in situ post-mortem pigment and lipid stabilizer in beef.* Paper presented at the Proceedings of the Pacific Northwest animal nutrition conference.

Xi, D., Liu, C., & Su, Y.-C. (2012). Effects of green tea extract on reducing Vibrio parahaemolyticus and increasing shelf life of oyster meats. *Food Control, 25*(1), 368-373. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.11.002

The Effects of Nisin and Nisin-nanoparticles as Nitrite Replacement on Physicochemical, Microbiological, Sensory Properties and Shelf Life of Frankfurter Type Sausage

Kazem Alirezalu[1*], Javad Hesari[2], Maghsoud Besharati[3], Milad Yaghoubi [4], Zabihollah Nemati[5], Haidar Malayeri[6]

1- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran
* Corresponding author (kazem.alirezalu@tabrizu.ac.ir)
2- Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran
4- M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
5- Associate Professor, Department of Animal Science, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran
6- PhD. Graduated, Quality Control Manager of Meat and Dairy Industry, Iran Standard Ogrnization, Tabriz, Iran

Abstract

The effect of 500 ppm mixed plant extracts (green tea, stinging nettle and olive leaves extract in the same rates) in combination with nisin (200 ppm) and nisin nanoparticles (200 ppm) was studied to produce nitrite free frankfurter sausage. Nitrite free frankfurter sausages in three treatments containing 500 ppm plant extract + 200 ppm of nisin, 500 ppm plant extract + 200 ppm nisin nanoparticles with control sample (120 ppm sodium nitrite) were produced, then packaged in polyethylene bags in vacuum condition and physicochemical, quality, microbiological and sensory properties were evaluated during 45 days of storage. The results showed that the use of nisin and nisin nanoparticles had no significant effect (P>0.05) on moisture, fat, protein and ash content. Nisin nanoparticles, due to the presence of chitosan in the capsule structure, prevented the lipid oxidation and the sausages containing these compounds had the lowest TBARS at the end of the storage. Total viable count, molds and yeasts counts increased significantly (P<0.05) during storage. At the end of 45 days, sausages containing sodium nitrite and nisin nanoparticles had the lowest total viable bacterial and molds and yeasts counts, respectively. The count of *Staphylococcus aureus* (2.5 Log CFU/g) and *Escherichia coli* (2 Log CFU/g) decreased significantly during storage (P<0.05). It was found that sausage containing nisin nanoparticles had high sensory scores compared to other treatments. The results showed that the use of 200 ppm nisin nanoparticles in combination with 500 ppm of mixed extracts could be a novel step in the production of nitrite free frankfurter sausage with good quality characteristics and extended shelf life.

Keywords: Frankfurter sausage, Nisin, Nisin nanoparticles, Plant extract, Shelf life