

تاثیر مخلوط پوشش کیتوزان و عصاره چای سبز بر فعالیت اکسایشی و قارچی مغز گردو

مسلم صباغی^۱، یحیی مقصودلو^۲، مرتضی خمیری^۲، امان محمد ضیائی^۳ فر

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

* نویسنده مسئول (m_sabaghi2@yahoo.co.uk)

۲. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

چکیده

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۳/۰۲

تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۸/۱۸

واژه‌های کلیدی

چای سبز

ضداکسایشی

ضدمیکربی

کیتوزان

مغز گردو

تاثیر پوشش خوراکی کیتوزان همراه با عصاره چای سبز بر روند اکسایش روغن، رشد قارچی و ویژگی‌های حسی طی ۱۸ هفته نگهداری، (هر سه هفته یکبار) روی مغز گردو مورد مطالعه قرار گرفت. اختلاط پودر کیتوزان (C) و عصاره آبی استخراج شده از چای سبز (GT)، به ترتیب با نسبت‌های مختلف (C-GT)، (۰-۵، ۵-۱۰، ۱۰-۱۰۰)، (۵-۱۰ و ۱۰-۱۰) گرم، در هر لیتر از محلول پوشش صورت گرفت. طی آزمایشات انجام شده، موثرترین بازدارندگی از افزایش اکسایش چربی و رشد قارچی از طریق پوشش C۱۰ با نسبت‌های مختلف GT حاصل شد. نسبت‌های مختلف GT تاثیر معنی‌داری بر اکسایش روغن مغز گردو نداشتند ($P < 0.05$). در C۱۰ با نسبت‌های مختلف GT رشد کپک و مخمر در طی نگهداری مشاهده نشد. پوشش کیتوزان بدون عصاره چای سبز، تاثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های حسی مغز گردوی پوشش داده شده، نداشت ($P < 0.05$), هر چند استفاده از نسبت‌های بالای عصاره چای سبز C۱۰-GT۱۰، نامطلوب ارزیابی شد. پوشش‌دهی بر بافت مغز گردو تاثیر معنی‌داری نداشت ($P < 0.05$). نتایج این پژوهش نشان داد که C۱۰-GT۵ می‌تواند زمان ماندگاری مغز گردو را طولانی‌تر نماید.

مقدمه

(Maghsoudlou *et al.*, 2012). تقاضای رو به افزایش

مصرف‌کنندگان برای کیفیت بهتر و بهبود تازگی محصولات غذایی، موجب به کاربردن فیلم‌های خوراکی برای پوشش‌دهی مواد غذایی شده است (Beverly *et al.*, 2008). پوشش‌ها، فیلم‌هایی هستند که به طور مستقیم بر روی سطح ماده غذایی به کار می‌روند؛ بنابراین پوشش‌ها به عنوان قسمتی از محصول نهایی در نظر گرفته می‌شوند (Cuq *et al.*, 1995). کیتین کopolymer از ان-استیل‌دی‌گلوکزآمین و

مغز گردو از جمله خشکباری است که به سرعت در اثر عوامل شیمیایی و میکروبی، فاسد می‌شود. علت فساد شیمیایی، وجود حدود ۶۵ تا ۶۸ درصد روغن، که شامل اسیدهای چرب اشباع نشده از جمله اولئیک، لینولئیک، لینولنیک می‌باشد (Zwarts *et al.*, 1999). نگهداری در شرایط نامطلوب و جذب رطوبت از محیط سبب رشد قارچ در آجیل‌ها می‌شود

دفاعی را فعال می‌کند (Bai *et al.*, 1998). آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی ممکن است جهت به تاخیر انداختن اکسایش، به محصولات غذایی اضافه شوند (Wanita & Lorenz, 1996). کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در محصولات غذایی به علت خطرات بالقوه برای سلامتی توسط این ترکیبات، تحت قوانین محدود کننده است (Hettiarachchy *et al.*, 1996). بنابراین جستجوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای جایگزینی با انواع سنتزی، جذابیت زیادی در میان محققان دارد (Debashis *et al.*, 1997). تاثیر ضداکسایشی کیتوزان به برهمکنش بین گروه‌های آمینی با رادیکال‌های آزاد مربوط می‌شود (Xue *et al.*, 1998). احتمالاً استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی قادر به کاهش برخی محدودیت‌های کیتوزان خواهند شد (Siripatrawan & Harte, 2010). برخی محدودیت‌های کیتوزان به عنوان یک عامل ضداکسایش و ضدقارچ، مانند محدودیت غلظت بهینه به عنوان پوشش جهت جلوگیری از اکسایش (Devlieghere *et al.*, 2004) و رشد قارچی (Maghsoudlou *et al.*, 2012)، بدون تاثیر نامطلوب بر کیفیت حسی محصول می‌تواند توسط استفاده از چای سبز به عنوان آنتی‌اکسیدان (Gramza *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2007; Rohn *et al.*, 2004; Siripatrawan & Harte, 2010) و ضد میکروب (Siripatrawan & Harte, 2010; Koech *et al.*, 2013; Rohn *et al.*, 2004;) (Siripatrawan & Noipha, 2012; Yam *et al.*, 1997) در ترکیب با پوشش کیتوزان بهبود یابد. اثر ضداکسایشی چای سبز بیشتر مربوط به ترکیبات پلی‌فنولی، که به نام کاتچین می‌باشند (Lee *et al.*, 2007). مولکول کاتچین همچنین عامل اصلی خواص ضد میکروبی عصاره چای سبز است (Koech *et al.*, 2013). مطالعات گذشته نشان داده است که کیتوزان در ترکیب با عوامل ضداکسایشی و ضد میکروبی طبیعی، قادر به افزایش زمان نگهداری مواد غذایی می‌باشد، از جمله در ترکیب با روغن ماهی به عنوان آنتی‌اکسیدان و ضد میکروب بر روی فیله ماهی کاد (Ponce *et al.*, 2008)، در ترکیب با روغن‌های اساسی *Origanum vulgare L.* بر ضد فساد قارچی انگور (Duan *et al.*, 2010) و در ترکیب با اسانس لیمو به

واحدهای دی-گلوکز آمین است که با پیوندهای گلیکوزیدی به هم متصلند که واحدهای آن-استیل دی-گلوکز آمین در زنجیره پلیمری غالب می‌باشند. کیتوزان، فرم دی‌استیله شده کیتین است. کیتین و کیتوزان در ساختارهای حمایتی ارگانیسیم‌های آبی، خاکی و قارچ‌ها یافت می‌شوند (Tokura & Tamura, 2007). استفاده از فیلم‌های خوراکی به حفظ کیفیت محصول، بهبود ایمنی محصول و افزایش عمر ماندگاری انواع محصولات غذایی آماده مصرف کمک می‌کند (Beverly *et al.*, 2008)، اما به معنی جایگزینی کامل فیلم‌های بسته بندی سنتزی نیستند و برای محدود کردن مهاجرت رطوبت، بو و چربی بین ترکیبات غذا، در جایی که بسته‌بندی‌های متداول، عملکردی ندارند مورد استفاده قرار می‌گیرند (Bourtoom & Chinnan, 2008). استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی به عنوان حامل عوامل ضداکسایش و ضد میکروب برای بسته‌بندی مواد غذایی پیشنهاد شده است (Cuq *et al.*, 1995). کیتوزان به دلیل توانایی تشکیل فیلم، بدون هر گونه افزودنی، دارای قابلیت استفاده برای بسته بندی یا پوشش دادن است (Suyatma *et al.*, 2004). کیتوزان همچنین در صنایع غذایی به دلیل خاصیت ضداکسایشی و ضد میکروبی قابل استفاده است (Biliaderis *et al.*, 2007). مقادیر زیادی از مواد غذایی به علت فعالیت‌های میکروبی غیرقابل مصرف می‌شوند. مکانیسم دقیق فعالیت ضد میکروبی کیتین و کیتوزان و دیگر مشتقات آن به طور کامل شناخته شده نیست، اما مکانیسم‌های متفاوتی پیشنهاد شده است (Rabea *et al.*, 2003). یکی از دلایل ویژگی ضد میکروبی کیتوزان، بار مثبت گروه‌های آمینه است که با بار منفی غشاء سلول‌های میکروبی واکنش می‌دهد و منجر به خروج پروتئیناز و دیگر اجزاء درون سلولی میکروارگانیسیم‌ها می‌شود (Shahidi *et al.*, 1999). به‌طور کلی شواهد نشان داده است که در مقابل فعالیت ضد میکروبی کیتوزان، باکتری‌ها، نسبت به قارچ‌ها حساسیت کمتری دارند (Kong *et al.*, 2010). به طور کلی فیلم کیتوزان در مقابله با فعالیت قارچی، عملکردی دوگانه دارد (الف) به طور مستقیم در رشد قارچی دخالت می‌کند (ب) دیگر فرایندهای

شماره ۱ صاف شد و برای اختلاط با عصاره چای سبز آماده شد.

تهیه عصاره چای سبز

چای سبز از مزارع رودسر گیلان خریداری شد. سپس به آزمایشگاه منتقل شد. برگ‌های چای پس از خرد شدن، تا زمان استفاده تحت خلا بسته‌بندی گردید. عصاره‌گیری از چای سبز توسط حلال آب با نسبت ۱ به ۵ از ماده جامد به حلال در بن‌ماری شیکردار در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد و سپس توسط کاغذ صافی شماره ۱ صاف شد، سپس در همان روز برای اختلاط با پوشش کیتوزان مورد استفاده قرار گرفت (Siripatrawan & Harte, 2010).

پوشش‌دهی مغز گردو

اختلاط پودر کیتوزان (C) و عصاره آبی استخراج شده از چای سبز (GT) با نسبت‌های کیتوزان به چای سبز (C-GT) ۵-۰، ۵-۵، ۵-۱۰، ۵-۱۰-۰، ۵-۱۰-۵ و ۱۰-۱۰-۱۰ گرم در لیتر محلول پوشش صورت گرفت. مغز گردوها درون ظروف مشبک قرار داده شدند و سپس به مدت ۱ دقیقه در محلول پوشش، قرار گرفتند. پس از انجام پوشش‌دهی به مدت حدود ۵ ساعت، جهت حذف رطوبت اضافی و آماده شدن برای بسته‌بندی در آن ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. یک تیمار نیز بدون پوشش به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سپس مغزها در درون کیسه‌های پلی‌اتیلنی در بسته‌بندی‌های حدود ۵۰ گرمی تقسیم شدند. مغز گردوها به مدت ۱۸ هفته نگهداری شدند و هر سه هفته یک‌بار نمونه‌برداری تصادفی انجام شد و آزمون‌های شیمیایی، میکروبی وحسی بر روی همه تیمارها صورت گرفت.

استخراج روغن گردو

استخراج روغن گردو توسط روش Vanhanen و همکاران (۲۰۰۶) انجام گرفت.

عنوان ضدقارچ بر روی توت فرنگی (dos Santos *et al.*, 2012) مورد استفاده قرار گرفته است. هدف از این پژوهش، مطالعه اثر کیتوزان به همراه عصاره چای سبز به عنوان یک آنتی‌اکسیدان و ضدقارچ طبیعی بر مغز گردو و تاثیر آن بر ویژگی‌های حسی در طی دوره نگهداری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

جهت انجام این پژوهش، گردو پوست کاغذی انتخاب گردید. گردوها اواسط مهرماه از یک باغ‌دار در شهرستان بافت، خریداری شد. سپس خشک کردن گردو در دمای اتاق انجام شد. پوسته سخت گردو، جداسازی شده و هر مغز کامل گردو به چهار قسمت تقسیم شد و سپس گردوها تا شروع آزمایش در نایلون‌های پلی‌اتیلنی و مشکی، در یخچال نگهداری شدند. پودر کیتوزان با وزن مولکولی پایین با منشأ پوسته خرچنگ و پودر ۲-تیوباریتوریک اسید از شرکت سیگما آلدیچ آمریکا خریداری شد. اسید استیک، کلروفرم، یدیدپتاسیم، تیترازولتیسولفات سدیم، محیط کشت YGC و نشاسته از شرکت مرک آلمان خریداری شد. حلال هگزان از شرکت دکتر مجللی خریداری شد و کیسه‌های پلی‌اتیلنی به ضخامت ۱۰۰ میکرون، از شرکت نادای پلاستیک جهت بسته‌بندی مغزهای گردو خریداری شد.

تهیه‌ی محلول کیتوزان

ابتدا محلول ۱٪ (حجمی/حجمی) اسید استیک تهیه گردید و بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت و سپس محلول‌های ۵ و ۱۰ گرم بر لیتر کیتوزان تهیه شد. اضافه کردن پودر کیتوزان به آرامی و در دمای حدود ۶۰ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت و پس از هم‌زدن به مدت ۵ الی ۶ ساعت (تا حل شدن تمامی ذرات کیتوزان و شفاف شدن محلول) به اندازه ۲۵٪ وزن پودر کیتوزان مصرفی، گلیسرول به عنوان پلاستی‌سایزر به محلول اضافه شد و هم‌زدن به مدت ۱۵ دقیقه دیگر ادامه پیدا کرد. سپس محلول از روی همزن مغناطیسی برداشته شد و توسط کاغذ صافی

عدد پراکسید (PV)

دقیقه، پلیت‌ها به صورت وارونه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اینکوبه شد. پس از ۵ روز تعداد کپک و مخمر رشد یافته به صورت لگاریتم تعداد کلنی تشکیل شده بر گرم گزارش شد (کریم، ۱۳۸۲).

عدد پراکسید به روش یدومتری تعیین گردید. در نهایت عدد پراکسید توسط فرمول زیر محاسبه شد (AOACS, 2003).

$$PV = \frac{(S-B) \times N \times 1000}{W}$$

PV: عدد پراکسید بر حسب میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم نمونه روغن، S: میزان تیترازول مصرفی در نمونه، B: میزان تیترازول مصرفی در شاهد، N: نرمالیت تیترازول مصرفی بر حسب اکی‌والان بر لیتر، W: وزن نمونه روغن بر حسب گرم.

عدد تیوباریتوریک اسید (TBA)

آزمون حسی
ویژگی‌های حسی از جمله رنگ، بافت، طعم مغز و پذیرش کلی بر اساس مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای، ارزیابی شد. برای ارزیابی کیفیت مغز گردوها، ۸ نفر ارزیاب آموزش دیده به عنوان داور انتخاب گردیدند که پس از توجیه شدن، جداول مربوطه را تکمیل نمودند. درجه‌بندی کیفی بر مبنای امتیاز یک تا پنج انجام شد (۱=بد، ۲=ضعیف، ۳=متوسط، ۴=خوب، ۵=بسیار خوب). از هر نوع تیمار ۴ عدد مغز گردو به صورت (یک چهارم) در شرایط آزمایشگاه به افراد داده شد و در فاصله هر بار مصرف تیمارها، آب نوشیده شد (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۰).

اندازه‌گیری عدد TBA به روش مستقیم انجام شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد و نتایج از طریق فرمول زیر محاسبه شد (Pokorny & Dieffenbacher, 1989).

$$TBA\text{value} = \frac{50 \times (A)}{m}$$

A: میزان جذب محلول آزمایش، B: میزان جذب شاهد واکشگر، m: وزن نمونه بر حسب میلی‌گرم. در صورتی که حجم بالن ۲۵ میلی‌لیتر و پهنای سل ۱۰ میلی‌متر باشد، عدد ۵۰ یک ضریب معتبر می‌باشد.

شمارش کلی کپک و مخمر

آنالیز آماری
آزمایشات در قالب فاکتوریل به صورت طرح کاملا تصادفی انجام شد و داده‌های حاصله، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. پس از تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها بر صفت‌های مورد نظر، بررسی و با استفاده از آزمون دانکن چند دامنه‌ای در سطح $\alpha=0/05$ توسط نرم‌افزار SPSS صورت پذیرفت. برای هر صفت، میانگین‌ها در دو حالت با یکدیگر مقایسه شدند، حالت اول روند تغییرات صفت مورد بررسی در هر یک از تیمارها به طور جداگانه، از ابتدا تا انتهای دوره نگهداری بررسی گردید و مقدار کمی آن در نمونه‌برداری‌های مختلف با هم مقایسه شدند. حالت دوم در هر بار نمونه‌برداری، مقدار کمی صفت مورد نظر مربوط به تیمارهای مختلف، با هم مقایسه شدند. در رسم نمودار، از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۳ استفاده گردید. در ضمن برای کاهش خطا، آزمایشات در ۳ تکرار انجام شد.

بدین منظور ۱۰ گرم مغز گردو در کنار شعله و زیر هود میکروبی، با هاون استریل کوبیده شد. پودر گردو به همراه ۹۰ میلی‌لیتر محلول سدیم کلراید ۰/۸۵ درصد استریل شده به کیسه استومیکر انتقال یافته و در استومیکر کاملا با هم مخلوط شدند. جهت کشت و شمارش کپک و مخمرهای نمونه گردو از محیط کشت YGC استفاده شد. پس از تهیه محیط کشت بر اساس دستور نوشته شده بر روی ظرف آن، سترون شد. پس از رسیدن به دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، زیر هود میکروبی به هر پلیت ۱۰ تا ۱۵ میلی‌لیتر اضافه گردید و مدت زمانی اجازه داده شد تا محیط کشت در پلیت‌ها کاملا ببندد. با استفاده از سمپلر مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر به محیط کشت جامد اضافه گردید و با استفاده از میله شیشه‌ای مخصوص در سطح محیط کشت کاملا پخش شد. پس از چند

نتایج و بحث**عدد پراکسید**

متداولترین نشانگر تندی اکسیداسیونی در آجیلها، عدد پراکسید می‌باشد. اثر پوشش خوراکی کیتوزان و عصاره چای سبز بر روند تغییرات عدد پراکسید مغز گردوها در طول ۱۸ هفته نگهداری، در (جدول ۱) بر اساس مقدار اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم روغن گردو نشان داده شده است. همان‌طور که مشخص است در طول دوره نگهداری، روند تغییرات عدد پراکسید تمامی تیمارها افزایشی بوده است؛ به طوری که در تمامی تیمارها، عدد پراکسید در اولین نمونه‌برداری کمترین مقدار و در آخرین نمونه‌برداری بیشترین مقدار را داشتند. عدد پراکسید اولیه مغز گردو ۰/۲ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم بود. Savage و همکاران (۲۰۰۶) عدد پراکسید گردو تازه را در وارپته‌های مختلف ۰/۱۵/۲۹ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم گزارش کردند. عدد پراکسید مغز گردوی با نسبت‌های مختلف پوشش در پایان دوره نگهداری در محدوده ۰/۹۳-۱/۶ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم بود. Mexis و همکاران (۲۰۰۹) عدد پراکسید مغز گردو را در پوشش پلی‌اتیلن‌ترفتالات-پلی‌اتیلن تحت گاز نیتروژن ۲/۸ میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم پس از ۱۲ ماه نگهداری گزارش کردند. عدد پراکسید بالاتر را می‌توان به دلیل تفاوت در زمان نگهداری، نوع وارپته، شرایط محیطی و ویژگی‌های عملکردی پوشش ارتباط داد. در هفته دوازدهم نگهداری، یک جهش در عدد پراکسید نمونه شاهد (بدون پوشش) مشاهده شد. در نمونه‌های پوشش‌دهی شده با C۵ و C۵ با نسبت‌های مختلف GT روند افزایشی در هفته هجدهم مشاهده شد، در صورتی که در نمونه‌های پوشش‌دهی شده با C۱۰ و C۱۰ با نسبت‌های مختلف GT این روند افزایشی در طی مدت نگهداری وجود نداشت. در تمامی مراحل نگهداری، همواره بیشترین مقدار عدد پراکسید مربوط به نمونه شاهد (بدون پوشش) بود. این نتایج بیانگر اثر ممانعت‌کنندگی پوشش کیتوزان از نفوذ اکسیژن به بافت مغز گردو و خاصیت ضداکسایشی آن می‌باشد. نتیجه دیگر حاصل از این پژوهش رابطه بین غلظت

کیتوزان و اثر ضداکسایشی آن بود. همان‌طور که در جدول ۱ مشخص است، نمونه‌های پوشش داده شده با غلظت‌های بالاتر کیتوزان، نسبت به نمونه‌هایی که با غلظت پایین‌تر پوشش‌دهی شده بودند، عدد پراکسید کمتری داشته‌اند. این مسأله بیانگر آن است که با افزایش غلظت کیتوزان، اثر ضداکسایشی آن افزایش پیدا می‌کند. با توجه به ساختار کیتوزان و طبق اظهارات مقصودلو و همکاران (۱۳۹۰) می‌توان گفت که با افزایش غلظت کیتوزان، مکان‌های فعال جهت واکنش با رادیکال‌های آزاد افزایش پیدا کرده و تعداد بیشتری از رادیکال‌های تشکیل شده در طی واکنش‌های اکسایشی مهار می‌گردد، همچنین با افزایش تعداد مولکول‌های کیتوزان در یک حجم مشخص از آن، تعداد گروه‌های کربوکسیل و آمین آزاد افزایش یافته و به همین دلیل تعداد بیشتری یون فلزی توسط مولکول‌های کیتوزان به دام انداخته می‌شود. همچنین به دلیل تاثیر غلظت بر ضخامت پوشش، می‌توان گفت که بخشی از این تاثیر به دلیل حفاظت مکانیکی پوشش در برابر اکسیژن است. در تمام دوره نگهداری، اختلاف معنی‌داری بین عدد پراکسید نمونه‌های پوشش داده شده با کیتوزان بدون عصاره با عدد پراکسید نمونه‌های پوشش داده شده با کیتوزان با عصاره مشاهده گردید ($P < 0.05$). عصاره چای سبز به علت داشتن ترکیبات فنولی باعث بهبود خواص آنتی‌اکسیدانی کیتوزان شد. برهمکنش بین ترکیبات پلی‌فنولی عصاره چای سبز با گروه‌های آمین و کربوکسیل کیتوزان، باعث منظم‌تر شدن ساختار شبکه پوشش و بهبود خواص مکانیکی و نفوذپذیری پوشش کیتوزان می‌شود و بدین طریق نیز باعث بهبود خواص آنتی‌اکسیدانی کیتوزان می‌شود (Siripatrawan & Harte, 2010). در طی دوره نگهداری، سطوح مختلف عصاره اثر معنی‌داری بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی کیتوزان نداشتند ($P < 0.05$) که به دلیل محدودیت افزایش اثر حفاظت‌کنندگی در برابر اکسایش، با افزایش غلظت عصاره چای سبز، در ترکیب با پوشش کیتوزان بوده است.

جدول ۱- مقایسه میانگین عدد پراکسید مغز گردوهای پوشش داده شده با فرمولاسیون‌های مختلف طی دوره نگهداری (میلی‌اکی‌والان پراکسید بر کیلوگرم روغن).

هفته						
فرمولاسیون پوشش	۳	۶	۹	۱۲	۱۵	۱۸
شاهد	۰/۳۶ ^{Aa}	۰/۵۶ ^{Ba}	۰/۹۶ ^{Ca}	۱/۴۳ ^{Da}	۱/۶۳ ^{Ea}	۱/۹۳ ^{Fa}
C۵-GT۰	۰/۳۶ ^{Aa}	۰/۴۶ ^{Aa}	۰/۷۳ ^{Bb}	۰/۹۳ ^{Cb}	۱/۱۳ ^{Db}	۱/۶ ^{Eb}
C۵-GT۵	۰/۳۶ ^{Ab}	۰/۴۳ ^{Ab}	۰/۶۳ ^{Bc}	۰/۸۳ ^{Cc}	۰/۹۳ ^{Dc}	۱/۴۳ ^{Ec}
C۵-GT۱۰	۰/۳۶ ^{Aa}	۰/۴۳ ^{Bc}	۰/۵۶ ^{Cd}	۰/۸۳ ^{Dd}	۰/۹۴ ^{Ed}	۱/۴ ^{Fd}
C۱۰-GT۰	۰/۳ ^{Aa}	۰/۳۶ ^{Ad}	۰/۵۳ ^{Be}	۰/۷۳ ^{Ce}	۰/۸۳ ^{De}	۱/۰۶ ^{Ee}
C۱۰-GT۵	۰/۳ ^{Aa}	۰/۳۳ ^{ABe}	۰/۴۳ ^{BCf}	۰/۵۳ ^{CDf}	۰/۷۳ ^{Df}	۱ ^{Ef}
C۱۰-GT۱۰	۰/۳ ^{Aa}	۰/۳۳ ^{ABe}	۰/۴۳ ^{Bg}	۰/۵۳ ^{Cg}	۰/۶۶ ^{Dg}	۰/۹۴ ^{Eg}

*حروف بزرگ در هر ردیف نشان دهنده اختلاف آماری بین هر نمونه طی هفته‌های مختلف در سطح ۵٪ است.
**حروف کوچک در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری بین نمونه‌های پوشش‌دهی شده با نمونه شاهد طی هر هفته در سطح ۵٪ است.

عدد تیوباربتوریک اسید (TBA)

میلارد بر روی نگهداری کیفیت گوشت خوک در یخچال (Chang *et al.*, 2011)، نشان داد که پوشش‌دهی باعث به تعویق افتادن افزایش عدد TBA شد. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود مقایسه بین تیمارها طی هفته‌های مختلف نشان داد که عصاره از هفته دوازدهم نگهداری به بعد تاثیر معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). در طی نگهداری مغز گردوهای پوشش‌دهی شده با سطوح مختلف عصاره تفاوت معنی‌داری نشان ندادند ($P < 0.05$)، اما غلظت‌های مختلف کیتوزان اثر معنی‌داری داشتند ($P < 0.05$) که نتایج عدد تیوباربتوریک با شاخص پراکسید مطابقت داشت.

آزمون TBA یکی از روش‌های اندازه‌گیری اکسیداسیون چربی‌ها است (Fernandez *et al.*, 1997). عدد تیوباربتوریک، مقدار مالون‌دی‌آلدهید موجود در ۱۰۰۰ گرم چربی را بیان می‌کند. عدد TBA در طی نگهداری بسیار ناچیز بود اما در طی دوره نگهداری همواره روند افزایشی نشان داد. مطالعات انجام شده در زمینه تاثیر پوشش‌های (ایزوله پروتئین سویا)، (ایزوله پروتئین سویا و کاتچین)، (ایزوله پروتئین سویا و کربوکسی‌متیل سلولز) و (ایزوله پروتئین سویا، کربوکسی‌متیل سلولز و کاتچین) بر روی مغز گردو طی ۲۱ روز نگهداری (Kong *et al.*, 2013) و تاثیر آنتی‌اکسیدانی کیتوزان و محصولات واکنش

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص مواد واکنش‌دهنده با تیوباربتوریک اسید مغز گردوهای پوشش داده شده با فرمولاسیون‌های مختلف طی دوره نگهداری

هفته						
فرمولاسیون پوشش	۳	۶	۹	۱۲	۱۵	۱۸
شاهد	۰/۰۴۵ ^{Aa}	۰/۰۴۷ ^{ABa}	۰/۰۶ ^{Ba}	۰/۰۶۴ ^{Ba}	۰/۰۶۸ ^{Ca}	۰/۰۶۹ ^{Ca}
C۵-GT۰	۰/۰۴۵ ^{Aa}	۰/۰۴۶ ^{Ba}	۰/۰۶ ^{Ca}	۰/۰۶۴ ^{Da}	۰/۰۶۵ ^{Eb}	۰/۰۶۷ ^{Ea}
C۵-GT۵	۰/۰۴۴ ^{Aa}	۰/۰۴۶ ^{Ba}	۰/۰۶ ^{Ca}	۰/۰۶۴ ^{Da}	۰/۰۶۵ ^{Ec}	۰/۰۶۶ ^{Ea}
C۵-GT۱۰	۰/۰۴۴ ^{Aa}	۰/۰۴۶ ^{Ba}	۰/۰۶ ^{Ca}	۰/۰۶۴ ^{Da}	۰/۰۶۴ ^{Dd}	۰/۰۶۶ ^{Ea}
C۱۰-GT۰	۰/۰۴۴ ^{Aa}	۰/۰۴۵ ^{Aa}	۰/۰۵۸ ^{Ba}	۰/۰۶۳ ^{Ca}	۰/۰۶۳ ^{Ce}	۰/۰۶۳ ^{Cb}
C۱۰-GT۵	۰/۰۴۴ ^{Aa}	۰/۰۴۵ ^{Aa}	۰/۰۵۷ ^{Ba}	۰/۰۶۱ ^{Ca}	۰/۰۶۲ ^{Cf}	۰/۰۶۲ ^{Cc}
C۱۰-GT۱۰	۰/۰۴۴ ^{Aa}	۰/۰۴۵ ^{Aa}	۰/۰۵۷ ^{Ba}	۰/۰۶ ^{Ca}	۰/۰۶۲ ^{Dg}	۰/۰۶۲ ^{Dd}

*حروف بزرگ در هر ردیف نشان دهنده اختلاف آماری بین هر نمونه طی هفته‌های مختلف در سطح ۵٪ است.
**حروف کوچک در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری بین نمونه‌های پوشش‌دهی شده با نمونه شاهد طی هر هفته در سطح ۵٪ است.

هفته دوازدهم ادامه یافت، از هفته دوازدهم تا پایان دوره نگهداری، اختلاف معنی‌داری در میزان رشد کپک و مخمر گردوها مشاهده نشد ($P > 0.05$). در پایان دوره نگهداری میزان کپک و مخمر به $3/6$ لگاریتم تعداد کلنی کپک و مخمر در هر گرم رسید. این مسأله بیانگر این است که در مراحل اولیه نگهداری مغز گردوها، میکروارگانیسم‌ها در فاز تاخیری به سر می‌برده و در آنها رشد اندکی مشاهده شد، اما به تدریج وارد فاز لگاریتمی شده و رشد آنها زیاد گردید (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۰). مقایسه میانگین رشد کپک و مخمر در تیمارها با غلظت‌های مختلف کیتوزان در طول دوره نگهداری اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P > 0.05$). همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود همواره تفاوت معنی‌داری میان میزان کپک و مخمر نمونه‌های دارای پوشش کیتوزان و نمونه شاهد (بدون پوشش) وجود داشته است. این موضوع نشان دهنده این است که پوشش کیتوزان سرعت رشد قارچ در مغز گردو را کاهش داده است. کیتوزان باعث ایجاد تغییرات شدید در سطح سلول شده و با ساختارهای ویسکوز خود، غشاءهای بیرونی را می‌پوشانند. بنابراین کیتوزان با باند شدن به غشاءهای بیرونی باعث از دست رفتن عملکرد غشاء سلولی می‌شوند، این ویژگی کیتوزان برای محافظت از مواد غذایی مفید است (Biliaderis et al., 2007). نتایجی که از این پژوهش حاصل شد نشان داد که غلظت‌های بالاتر کیتوزان، فعالیت ضد میکروبی بالاتری از خود نشان دادند و در نمونه‌های با غلظت بالا رشد کپک و مخمر محدودتر شد که با مطالعات گذشته بر ضد فعالیت قارچی بر روی گوجه فرنگی (Bhaskara et al., 2000; Reddy et al., 2008) و پسته (Maghsoudlou et al., 2012) مطابقت داشت. با توجه به این‌که مولکول‌های کیتوزان دارای بار مثبت ناشی از گروه‌های آمینی آزاد می‌باشند، با افزایش غلظت کیتوزان بار مثبت موجود بر مولکول‌های آن افزایش می‌یابد. این مسأله میزان واکنش‌های بین دیواره سلولی باکتری و قارچ را افزایش می‌دهد (Kong et al., 2010). اثر ضد میکروبی کیتوزان روی برخی گونه‌های قارچ‌های رشته‌ای نشان داد که برخی گونه‌ها مانند اسپریلیوس تا غلظت

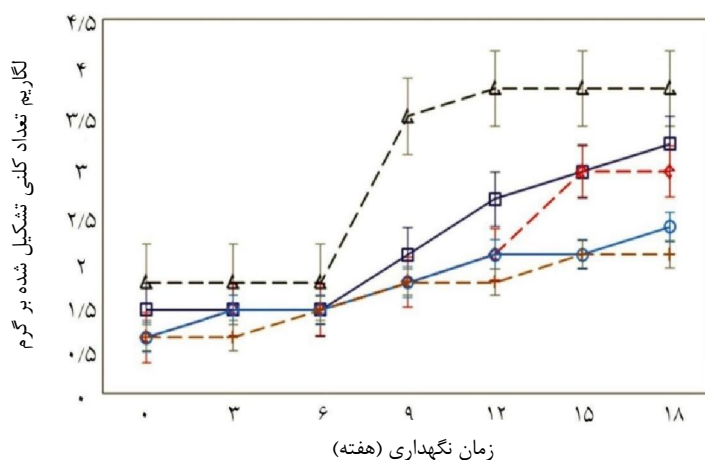
در شرایط خشک (محصول با رطوبت کم)، ساختار شبکه فیلم یا پوشش به شدت بسته بوده و نفوذ اکسیژن خیلی محدود است. این مکانیسم ممکن است تاثیر مثبتی بر حفظ کیفیت داشته باشد، زیرا اکسیژن در دسترس محصولات پوشش داده شده را کاهش می‌دهد. در بعضی موارد، افزودن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به علت تاثیر بر ویژگی‌های حمل اکسیژن پوشش، حفاظت در برابر اکسایش را بیشتر می‌کند (Ayranci et al., 2003; Ayranci et al., 2004). در این شرایط کاهش سیالیت مولکول و عدم فعالیت شیمیایی عوامل آنتی‌اکسیدانی مشاهده می‌شود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر تحت تاثیر ویژگی‌های حمل اکسیژن فیلم است (Atares et al., 2010). از طرف دیگر در شرایط مرطوب، نفوذپذیری فیلم به اکسیژن به شدت افزایش یافته به دنبال آن فعالیت مخصوص عوامل آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌شود، پس می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پوشش کیتوزان در هر دو شرایط رطوبت بالا و پایین اثر حفاظتی دارد و عصاره چای سبز نیز در شرایط رطوبت پایین سبب حفاظت فیزیکی فیلم شده و در شرایط رطوبت بالا اثر خود را از طریق ممانعت از شروع واکنش‌های زنجیری رادیکال‌های آزاد، اتصال با یون‌های انتقال‌دهنده کاتالیزورهای فلزی و واکنش با رادیکال‌های آزاد به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی اعمال می‌کند (Farhoosh et al., 2007; Perumalla & Hettiarachchy, 2011; Siripatrawan & Noipha, 2012).

شمارش کلی کپک و مخمر

همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، طی دوره نگهداری، میزان کپک و مخمر در تیمار شاهد بیشترین مقدار بود و با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت ($P > 0.05$). تغییرات نسبی رطوبت، وجود اکسیژن در هوای درون بسته‌بندی و دمای مناسب برای رشد کپک و مخمر از جمله عوامل موثر بر رشد کپک و مخمر در طول دوره نگهداری هستند (افسری نژاد و سپهر، ۱۳۸۸؛ مرتضوی و همکاران، ۱۳۸۲). افزایش ناگهانی رشد کپک و مخمر، از هفته نهم به بعد، یعنی نمونه‌برداری سوم، آغاز شد و تا

همچنین باعث کاهش نفوذپذیری پوشش کیتوزان می‌شود (Siripatrawan & Harte, 2010) و بدین طریق نیز باعث کاهش رشد قارچ در مغز گردو می‌شود. در C10 با نسبت‌های مختلف عصاره چای سبز طی مدت نگهداری رشد قارچی مشاهده نشد. این نتایج پیشنهاد می‌کند C10 در ترکیب با عصاره چای سبز می‌تواند از رشد قارچی در مغز گردو ممانعت کند.

کیتوزان ۱۰ گرم بر لیتر مقاوم هستند (Roller & Covill 1999). عصاره چای سبز در ترکیب با پوشش کیتوزان باعث کاهش رشد قارچی شد. مطالعات گذشته نشان داد که کاتچین چای سبز در ترکیب با فیلم کیتوزان باعث کاهش فعالیت میکربی در سوسیس خوک شد (Siripatrawan & Noipha 2012). بخش هیدروکسیل حلقه بتا در مولکول کاتچین عامل اصلی خواص ضد میکربی عصاره چای سبز است (Koech et al., 2013). عصاره چای سبز



شکل ۱- رشد کپک و مخمر به صورت لگاریتمی در مغز گردوها طی ۱۸ هفته نگهداری شاهد

—▲— C5-GT5، —□— C5-GT0، —◆— C5-GT5، —●— C5-GT10، و —+— C10-GT0

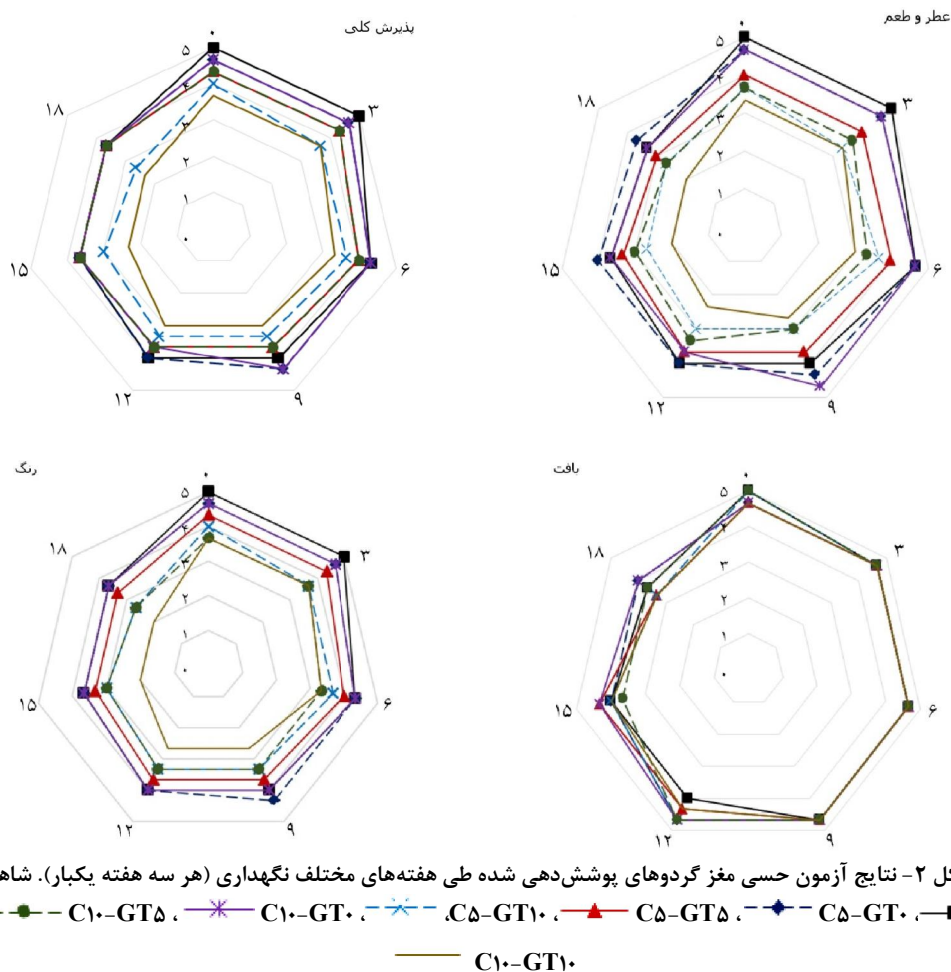
به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P > 0.05$). اکسایش غیرآنزیمی ترکیبات فنولی باعث تولید محصولات ثانویه پلی‌فنل‌ها شد (Tanaka et al., 2010)، که این نوع از محصولات سبب قهوه‌ای شدن سطح مغز گردو و کاهش امتیازات حسی شدند. نتایج آزمون عطر و طعم نشان داد که بیشترین امتیازات مربوط به نمونه C5-GT0 بود. افزایش نسبت کیتوزان به علت ایجاد اندکی مزه تلخ امتیازات حسی را کاهش داد (Devlieghere et al., 2004; Maghsoudlou et al., 2012) اما تاثیر معنی‌داری بر عطر و طعم مغز گردو نداشت ($P > 0.05$) که با مطالعات گذشته بر روی پسته (Maghsoudlou et al., 2012)، سوسیس خوک (Siripatrawan et al., 2010)، میوه لیچی پوست‌گیری شده (Dong et al., 2010) و توت فرنگی (Campaniello et al., 2008) مطابقت داشت ($P > 0.05$). نتایج مربوط به کیتوزان به همراه عصاره

آزمون حسی

میانگین امتیازات ویژگی‌های حسی مغزهای گردوی پوشش‌دهی شده شامل رنگ، عطر و طعم، بافت و پذیرش کلی در طی دوره نگهداری در شکل ۲ قابل مشاهده است. نتایج آزمون حسی نشان داد که کمترین امتیازات رنگ مربوط به نمونه C5-GT10 بود. تغییرات رنگی ایجاد شده به دلیل استفاده از نسبت بالای عصاره چای سبز بود. نسبت‌های مختلف کیتوزان اثر نامطلوبی بر رنگ مغز گردو نداشتند ($P > 0.05$) که با مطالعات گذشته بر روی پسته (Maghsoudlou et al., 2012) و توت فرنگی (Campaniello et al., 2008) مطابقت داشت، آنها اعلام کردند که کیتوزان با وزن مولکولی پایین تاثیر نامطلوبی بر رنگ محصولات نداشت. در نمونه‌های C10-GT0 پس از ۱۲ هفته نگهداری و در نمونه‌های C5-GT10 پس از ۱۵ هفته نگهداری امتیازات حسی

به مغز گردوهای پوشش‌دهی شده با کیتوزان بدون عصاره چای سبز نسبت به نمونه‌های با عصاره امتیازات بیشتری تعلق گرفت که به دلیل تقویت شبکه پوشش توسط عصاره چای سبز بود که سبب کاهش امتیازات حسی شد. نتایج آزمون حسی نشان داد که استفاده از نسبت‌های بالای کیتوزان به همراه عصاره چای سبز C10-GT10 باعث کاهش معنی‌دار در پذیرش کلی مغز گردو شد ($P > 0.05$). می‌توان چنین نتیجه گرفت که ضخامت پوشش به علت افزایش غلظت، افزایش یافت و میزان عصاره نیز به همین دلیل افزایش یافت و بدین گونه تاثیر نامطلوبی بر خواص حسی مغز گردو گذاشت. زمان نگهداری، تاثیر معنی‌داری بر پذیرش کلی مغز گردو نداشت ($P > 0.05$).

چای سبز نشان داد که سطوح بالای کیتوزان به همراه عصاره C10-GT10 نامطلوب ارزیابی شد، که به دلیل ایجاد مزه تلخ توسط کاتچین‌های موجود در عصاره چای سبز بود (Narukawa *et al.*, 2011). برهمکنش بین تلخی ناشی از نسبت بالای کیتوزان به همراه نسبت بالای عصاره چای سبز سبب ایجاد مزه تلخ در مغز گردو شد. در تمامی تیمارها زمان نگهداری تاثیر معنی‌داری بر عطر و طعم محصول نداشت. بنابراین می‌توان انتظار داشت پس از ۱۸ هفته نگهداری، پوشش، تولید محصولات ثانویه اکسایش را که باعث توسعه بد طعمی در محصول می‌شوند را به تاخیر اندازد (Mexis *et al.*, 2009). در این پژوهش منظور از بافت، تردی و شکنندگی مغز گردو هنگام جویدن بود. تیمارهای مختلف با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند و با گذشت زمان مقبولیت به طور نسبی کاهش یافت.



نتیجه‌گیری کلی

چای سبز، نامطلوب ارزیابی شد. پوشش بر روی بافت مغز گردو تاثیر معنی‌داری نداشت. با افزایش غلظت کیتوزان، اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی آن افزایش یافت. مؤثرترین بازدارندگی از افزایش اکسایش چربی و رشد میکروبی در طی نگهداری مغز گردو از طریق پوشش C10 با نسبت‌های مختلف عصاره چای سبز حاصل شد. نسبت‌های مختلف چای سبز، تاثیر معنی‌داری بر روی اکسایش روغن مغز گردو نداشت. در C10 با نسبت‌های مختلف GT رشد کپک و مخمر در طی نگهداری مشاهده نشد. نتایج این پژوهش پیشنهاد می‌کند که C10 به همراه GT5 می‌تواند ضمن حفظ ویژگی‌های حسی به‌طور مؤثری در جلوگیری از اکسایش و فعالیت قارچی در مغز گردو مؤثر باشد و قادر است در صنعت بسته‌بندی برای حفظ کیفیت مغز گردو مورد استفاده قرار گیرد.

کیتوزان می‌تواند به عنوان پوشش خوراکی با دارا بودن خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی روی مغز گردو به کار رود. عصاره چای سبز نیز به عنوان یک آنتی‌اکسیدان موثر و با دارا بودن فعالیت ضد میکروبی در ترکیب با پوشش کیتوزان، می‌تواند به عنوان یک تقویت‌کننده خواص عملکردی پوشش کیتوزان مورد توجه قرار گیرد. تاثیر پوشش خوراکی کیتوزان به همراه عصاره چای سبز، بر ویژگی‌های حسی (رنگ، طعم، بافت و پذیرش کلی)، اکسایش روغن (عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید) و رشد قارچ روی مغز گردو هر سه هفته یکبار در طی ۱۸ هفته نگهداری مغز گردو نشان داد که در طی مدت نگهداری پوشش کیتوزان بدون عصاره چای سبز، تاثیر معنی‌داری روی ویژگی‌های حسی مغز گردوی پوشش داده شده نداشت، هر چند استفاده از نسبت‌های بالای عصاره

منابع

۱. افسری‌نژاد، م. و سپهر، ش. ۱۳۸۸. میکروبیولوژی عمومی. نشر دانشگاه پیام نور.
۲. کریم، گ. ۱۳۸۲. آزمون‌های میکروبی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه تهران.
۳. مرتضوی، س. ع.، معتمدزادگان، ع.، اعلمی، م. و گوهری اردبیلی، ا. ۱۳۸۲. در ترجمه میکروبیولوژی غذایی مدرن، جی، مانرو، ج. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
۴. مقصدلو، ع. ۱۳۹۰. اثر پوشش کیتوزان در جلوگیری از اکسایش و فعالیت قارچی در مغز پسته. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
5. American Oil Chemists' Society. 2003. AOCS. Official method Cd 8-53. Peroxide value. In official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society, 5 thed. (D. Firestone. Ed.). AOCS, Champaign, III.
6. Atares, L., Bonilla, J. & Chiralt, A. 2010. Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. Journal of Food Engineering, 100: 678-687.
7. Ayranci, E. & Tunc, S. 2003. A method for the measurement of the oxygen permeability and the development of edible films to reduce the rate of oxidative reactions in fresh foods. Food Chemistry, 80: 423-431.
8. Ayranci, E. & Tunc, S. 2004. The effect of edible coatings on water and vitamin C loss of apricots (*Armeniaca vulgaris Lam.*) and green peppers (*Capsicum annuum L.*). Food Chemistry, 87: 339-342.

9. Bai, R.K., Huang, M.Y. & Jiang, Y.Y. 1988. Selective permeabilities of chitosan-acetic acid complex membrane and chitosan-polymer complex membranes for oxygen and carbon dioxide. *Polymer Bulletin*, 20: 83-88.
10. Beverly, R.L. Janes, M.E., Prinyawiwatkula, W. & No, H.K. 2008. Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 25: 534-537.
11. Bhaskara Reddy, M.V., Angers, P., Castaigne, F. & Arull, J. 2000. Chitosan effects on black mold rot and pathogenic factors produced by *Alternaria alternata* in postharvest tomatoes. *Journal of American Society and Horticulture Science*, 125: 742-747.
12. Biliaderis, G., Marta, D.S. & Izydorczyk, P. 2007. *Functional Food Carbohydrates*, CRC Press Taylor & Francis Group. pp: 215-238.
13. Bourtoom, T. & Chinnan, M.S. 2008. Preparation and properties of rice starch-chitosan lend biodegradable film. *LWT-Food Science & Technology*, 41: 1633-1641.
14. Campaniello, C. A., Bevilacqua, M. & Sinigaglia, M. R. 2008. Chitosan: Antimicrobial activity and potential applications for preserving minimally processed strawberries. *Food Microbiology*, 25: 992-1000.
15. Chang, H.L., Chen, Y.C. & Tan, F.J. 2011. Antioxidative properties of chitosan glucose maillard reaction product and its effect on pork quality during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 124: 589-59.
16. Chang, H.L., Chen, Y.C. & Tan, F.J. 2011. Antioxidative properties of chitosan glucose maillard reaction product and its effect on pork quality during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 124: 589-59.
17. Cuq, B., Gontard, N. & Guilbert, S. 1995. Edible films and coatings as active layers. In: *Active Food Packaging*. M. Rooney, Ed. 111-142.
18. Debashis, D.D., Bhattacharjee, B.M. & Banerjee, R.K. 1997. Hydroxyl radicals is the major causative factor in stress-induced gastric ulceration. *Free Radical and Biological Medicine*, 23: 8-18.
19. Devlieghere, F., Vermeulen, A. & Debevere, J. 2004. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, 21: 703-714.
20. Dong, H., Cheng, L., Tan, J., Zheng, K. & Jiang, Y. 2004. Effect of chitosan coating on quality and shelf life of peeled litchi fruit. *Journal of Food Engineering*, 64: 355-358.
21. Dos Santos, N. S. T., Aguiar, A. J. A. A., Oliveira, C. E. V., de Sales, C. V., Silva, S. M., da Silva, R. S., TC, S. & EL, D.S. 2012. Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare L.* essential oil to control *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca L.*). *Food Microbiology*, 32, 345-353.
22. Duan, J., Cherian, G., & Zhao, Y. 2010. Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings. *Food Chemistry*, 119: 524-532.
23. Farhoosh, Reza, Golmovahhed, Gholam A. & Khodaparast, Mohammad H. H. 2007. Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis L.*). *Food Chemistry*, 100: 231-236.
24. Fernandez, J., Perez-Alvarez, J.A. & Fernandez-Lopez, J.A. 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, 59: 345-353.

25. Hettiarachchy, N.S., Glenn, K.C., Gnanasambandam, R. & Johnson, M. G. 1996. Natural antioxidant extract from fenugreek (*Trigonella foenumgraecum*) for ground beef patties. *Journal of Food Science*, 61:516-519.
26. Kang, H. J., Kim, S. J., You, Y. S., Lacroix, M. & Han, j. 2013. Inhibitory effect of soy protein coating formulations on walnut (*Juglans regia L.*) kernels against lipid oxidation. *LWT-Food Science and Technology*, 51: 393-396.
27. Koech, K. R., Wachira, F. N., Ngure, R. M., Orina, I. A., Wanyoko, J. K., Bii, C. & Karori, S. M. 2013. Antifungal activity of crude tea extracts. *African Journal of Agricultural Research*, 8: 2086-2089.
28. Kong, M., Guang Chen, X., Xing, K. & Jin Park, H. 2010. Antimicrobial properties of chitosan: A state of art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144: 51-63.
29. Kong, M., Guang Chen, X., Xing, K. & Jin Park, H. 2010. Antimicrobial properties of chitosan: a state of art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144: 51-63.
30. Lee, Yu-Ling, Huang, Gi-Wei, Liang, Zeng-Chin. & Mau, Jeng-Leun. 2007. Antioxidant properties of three extracts from *Pleurotus citrinopileatus*. *LWT-Food Science and Technology*, 40: 823-833.
31. Maghsoudlou, A., Maghsoudlou, Y., Khomeiri, M. & Ghorbani, M. 2012. Evaluation of anti-fungal activity of chitosan and its effect on the moisture absorption and organoleptic characteristics of Pistachio nuts. *International Journal on Advanced Science Engineering Information Technology*, 2: 65-69.
32. Mexis, S.F., Badeka, A.V., Riganakos, K.A., Karakostas, K.X., and Monuz, A., Moret, S., & Garce, S. 2009. Assessment of chitosan for inhabitation of *Colletotrichum* sp. on tomatoes and grapes. *Crop Protection*, 28: 39-40.
33. Narukawa, M., Noga, C., Ueno, Y., Sato, T., Misaka, T., & Watanabe, T. 2011. Evaluation of the bitterness of green tea catechins by a cell-based assay with the human bitter taste receptor hTAS2R39. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 405: 620-625.
34. Perumalla, A. V. S., & Hettiarachchy, N.S. 2011. Green tea and grape seed extracts — potential applications in food safety and quality. *Food Research International*, 44: 827-839.
35. Pokorny, J., & Dieffenbacher, A. 1989. Determination of 2-thiobarbituric acid value: Direct method. Results of a collaborative study and standardized method. *Pure Applied Chemistry*, 61: 1165-1170.
36. Ponce, A. G., Roura, S. L., del Valle, C. E., & Moreira, M. R. 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. *Postharvest Biology and Technology*, 49: 294–300.
37. Rabea, E.I., Badawy, M.E.T., Stevens, C.V., Smagghe, G., & Steurbaut, W. 2003. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*, 4: 1457-1465.
38. Rohn, S., Rawel, H.M. & Kroll, J. 2004. Antioxidant activity of protein-bound quercetin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 4725-4729.
39. Roller, S., & Covill, N. 1999. The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *International Journal of Food Microbiology*, 47: 67-77.
40. Savage, G.P., McNeil, D., & Osterberg, K. 2001. Oxidative stability of walnuts during long term storage. 4th International Walnut Symposium. *Acta Horticulturae*, 544: 591-597.
41. Shahidi, F., Arachchi, J.K.V. & Jeon, Y.J. 1999. Food application of chitin and chitosans. *Trends in Food Science and Technology*, 10: 37-51.

42. Siripatrawan, U., Harte, B. 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids*, 24: 770-775.
43. Suyatma, N.E., Copinet, A., Tighzert, L. & Coma, V. 2004. Mechanical and barrier properties of biodegradable films made from chitosan and poly (lactic acid) blends. *Journal of Polymer Environment*, 12: 1-6.
44. Tanaka, T., Matsuo, Y. & Isao Kouno, I. 2010. Chemistry of secondary polyphenols produced during processing of tea and selected foods. *International Journal of molecular Sciences*, 11: 14-40
45. Tokura, S. & H. Tamura. 2007. Chitin and chitosan. In *comprehensive glycoscience*, eds. H. Kamerling, G. Boons, Y. C. Lee, A. Suzuki, N. Taniguchi. & A. G. J. Voragen: 449-475. Elsevier Ltd., Amsterdam, the Netherlands.
46. Vanhanen, L.P. & Savage, G.P. 2006. The use of peroxide value as a measure of quality for walnut flour stored at five different temperatures using three different type of packaging. *Food Chemistry*, 99: 64-69.
47. Wanita, A. & Lorenz, K. 1996. Antioxidant potential of 5-N-pentadecylresorcinol. *Journal of Food Processing and Preservation*, 20: 417-429.
48. Xue, C., Yu, G., Hirata, T., Terao, J. & Lin, H. 1998. Antioxidative activities of several marine polysaccharides evaluated in a phosphatidyl choline-liposomal suspension and organic solvents. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 62: 206-209.
49. Yam, T. S., Shah, Saroj. & Hamilton-Miller, J. M. T. 1997. Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components. *FEMS Microbiology Letters*, 152: 169-174.
50. Zwarts, L., Savage, G.P. & McNeil, D.L. 1999. Fatty acid content of New Zealand growth walnuts (*Juglans regia L.*). *International Journal of Food Sciences & Nutrition*, 50: 189-194.

The effect of coating of chitosan incorporating and green tea extract on shelf life of walnut kernel

Moslem Sabaghi^{1*}, Yahya Maghsoudlou², Morteza Khomeiri², Aman Mohammad Ziaifar³

1. MSc. Graduated Student, Department of Food Science and Technology, College of Food Technology, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
*Corresponding Author (m_sabaghi2@yahoo.co.uk)
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, College of Food Technology, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
3. Assistance Professor, Department of Food Materials and Process Design Engineering, College of Food Technology, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Abstract

The effects of coating from chitosan incorporating green tea extract on lipid oxidation, fungal growth and sensory properties of walnut kernel were studied. The green tea extract obtained from green tea (GT) and chitosan (C) powder were combined to obtain the final concentrations of C-GT: 5-0, 5-5, 5-10, 10-0, 10-5 and 10-10 gram per liter in aqueous coating solution. Effective inhibition of lipid oxidation and fungal growth during storage of walnut kernel (18 weeks) was possible through Chi10 coating combined with GT. Different proportions of GT had no significant effect ($P < 0.05$) on lipid oxidation. Regarding the C10 with different proportions of GT, fungal growth was not detected during storage period. Throughout the storage, coating without GT showed no significant ($P < 0.05$) effect on sensory properties, however Chi10-GT10, was significantly ($P < 0.05$) unacceptable by the panelists. The results suggested that Chi10-GT5 could prolong the shelf life of walnut kernel.

Keywords: Antifungal, Antioxidant, Chitosan, Green tea, Walnut kernel