

استفاده از نانوامولسیون اسانس هسته انگور قرمز (*Vitis vinifera*) به منظور بهبود شاخص‌های شیمیایی، باکتریایی و افزایش زمان ماندگاری فیله مرغ بسته‌بندی شده تازه در دمای یخچال

مریم قنبری^۱، عباسعلی مطلبی^{۱*}، نوردهر رکنی^۱، امیرعلی انوار^۱

۱- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
* نویسنده مسئول (motalebi@ifro.ir)

چکیده

فیله مرغ یکی از فراورده‌های غذایی پرطرفدار حاصل از گوشت مرغ است. رشد میکروبی و اکسیداسیون لیپیدها از عوامل اولیه فساد این محصول در شرایط یخچالی می‌باشد. نمونه‌های فیله مرغ در قالب یک نمونه شاهد و یک تیمار با اسانس هسته انگور و ۴ تیمار با غلظت‌های ۱، ۲ و ۵ درصد نانوامولسیون اسانس هسته انگور تهیه شده و به مدت ۱۴ روز در یخچال (۴ و ۸ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. تمامی نمونه‌ها طی این مدت در فواصل زمانی مختلف با انجام آزمون‌های میکروبی، شیمیایی و حسی مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفتند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس دوطرفه و برای مقایسه میانگین آنها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد. نتایج نشان داد که نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف نانوامولسیون اسانس هسته انگور در مقایسه با نمونه شاهد، دارای شمارش باکتریایی کمتر و نیز مقادیر نیتروژن فرار کل و عدد پراکسید کمتری در طول مدت مطالعه داشتند. نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۵ درصد نانوامولسیون اسانس هسته انگور در مقایسه با غلظت‌های ۱ و ۲ درصد در افزایش زمان ماندگاری مؤثرتر بودند همچنین پذیرش کلی نمونه دارای نانوامولسیون اسانس با غلظت ۵ درصد تا روز ۷ دارای امتیاز $3/12 \pm 0/11$ بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که نانوامولسیون اسانس هسته انگور می‌تواند با به تأخیر انداختن فساد میکروبی و شیمیایی و بهبود ویژگی‌های حسی باعث افزایش زمان ماندگاری فیله مرغ بسته‌بندی شده تازه در شرایط یخچالی شود.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۰۸
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۴/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۸
تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۱/۰۴/۲۰

واژه‌های کلیدی

هسته انگور قرمز
شرایط یخچالی
فیله مرغ
نانوامولسیون اسانس



مقدمه

در قرن حاضر، حفظ ایمنی ماده غذایی و کیفیت آن در دوره ماندگاری امری است که نه تنها توجه متخصصین صنعت غذا و مسئولین سلامت کشورها را به خود جلب کرده است، بلکه بی‌توجهی یا کم‌توجهی به آن می‌تواند صدمات جبران‌ناپذیری به جامعه وارد کند. امروزه بیماری‌های ناشی از مصرف غذاهای آلوده در تمام دنیا حتی در کشورهای پیشرفته‌ای چون آمریکا نیز یک مشکل

اساسی بشمار می‌رود. گوشت و به‌ویژه گوشت مرغ اصولاً بخش مهمی از رژیم غذایی انسان است. در حقیقت مصرف مرغ در حال افزایش است به طوری که در حال حاضر مصرف مرغ و ماکیان بیش از گوشت قرمز می‌باشد. گوشت سینه مرغ (فیله) یکی از فراورده‌های گوشتی مورد علاقه و یک منبع پروتئین محبوب در سراسر جهان می‌باشد که ۴ گرم گوشت مرغ ۹۱ درصد پروتئین توصیه شده در رژیم غذایی را تأمین می‌کند (Akbari et al., 2013). فیله مرغ به دلیل

فیلدهای مرغ را بدون تأثیر گذاشتن روی اکسیداسیون گوشت افزایش می‌دهد. Zhang و همکاران (۲۰۱۶) اثر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره ادویه‌ها را روی کیفیت گوشت خام مرغ بررسی کردند و نتیجه گرفتند عصاره ادویه‌ها اثر بالایی بر رشد ضد میکروبی و اکسیداسیون چربی دارند و می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در گوشت خام مرغ استفاده شوند.

Petrou و همکاران (۲۰۱۲) تیمارهای آغشته به کیتوزان و عصاره پونه کوهی به تنهایی یا در ترکیب با بسته‌بندی اتمسفر اصلاح‌شده در فیلدهای مرغ را بررسی کردند و نتایج این تحقیق نشان داد که زمان ماندگاری فیلدهای مرغ می‌تواند با استفاده از عصاره پونه کوهی به تنهایی یا همراه با کیتوزان افزایش یابد. Petrová و همکاران (۲۰۱۳) روی کیفیت میکروبی گوشت سینه مرغ تازه پس از استفاده از عصاره زرماری و بسته‌بندی و کیوم کار کردند و مشاهده کردند که عصاره زرماری می‌تواند رشد میکروفلورهای که باعث فساد مواد خام می‌شوند را مهار کند. مطالعه‌ها نشان می‌دهد که عصاره هسته انگور دارای پتانسیل بسیار بالایی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد و مهار استرس اکسیداتیو است. پروآنتوسیانیدین^۳ موجود در هسته انگور مؤثرترین ترکیب ضد اکسایشی است که طبق مطالعه‌های موجود، توان ضد اکسایشی آن ۲۰ برابر بیشتر از ویتامین E و ۵۰ برابر بیشتر از ویتامین C است (Shan et al., 2007). عصاره هسته انگور دارای خواص باکتریوسیدی و باکتریواستاتیک می‌باشد که تحقیق‌ها نشان می‌دهد علیه اسپوره‌های کلستریدیوم بوتولینوم^۴، شیگلا^۵، سویه ورو توکسین^۶ باکتری اشریشیاکلی^۷ و باکتری‌های گرم مثبت مؤثر است (Seif Zadeh & Khani Pour, 2015).

امروزه دوره جدیدی در زمینه ایمنی مواد غذایی و تضمین کیفیت غذا در حال ظهور است. روش‌های کنونی کنترل میکروبی برای اطمینان از ایمنی غذا و کاهش فساد میکروبی، هر کدام از جنبه‌های بخصوص، ناکارآمد هستند که می‌توان این نقایص را با بهره‌گیری از فناوری نانو بهبود بخشید. نانومولسیون اسانس‌ها از نظر خصوصیات ساختاری و فیزیکی با امولسیون آنها تفاوت دارند. استفاده از کمک

رطوبت بالا، محتوای پروتئین و pH بالا، ایده‌آل برای رشد میکروبی‌های بیماری‌زا بوده و مستعد فساد میکروبی است و همچنین حضور اسیدهای چرب با زنجیره کربنی طولانی و با چند پیوند غیراشباع به همان نسبت که باعث ارزش تغذیه‌ای این محصول می‌شود، حساسیت آن را نیز نسبت به فساد اکسایشی در هنگام پخت و نگهداری افزایش می‌دهد که به تبع این فساد ارزش غذایی و طعم آن در معرض خطر قرار خواهد گرفت (Heydarian et al., 2015). فساد اکسیداتیو باعث ایجاد بوی نامطبوع، تغییر نامطلوب در طعم، تغییر در ساختمان مواد مغذی و کاهش ارزش غذایی محصول می‌شود، بنابراین استفاده از موادی مناسب با فعالیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی به منظور بهبود کیفیت، افزایش عمر ماندگاری گوشت و در عین حال جلوگیری از ضررهای اقتصادی ضروری و مفید می‌باشد. در همین راستا یکی از روش‌های مرسوم در افزایش ماندگاری فراورده‌های گوشتی، استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان سنتزی مانند بوتیلات هیدروکسی آنیزول (BHA^۱) و بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT^۲) و نگهدارنده‌های ضد میکروبی به صورت اسپری روی سطح یا غوطه‌وری گوشت در محلول ماده ضد میکروبی می‌باشد. در بسیاری از کشورهای دنیا، درخواست فزاینده‌ای برای استفاده از نگهدارنده‌های سالم و دوست‌دار محیط‌زیست در نگهداری مواد غذایی به وجود آمده است. با توجه به افزایش موارد مقاومت دارویی در میکروارگانیسم‌ها راه‌حل مناسب در این موضوع جایگزین کردن موادی با عملکرد مناسب و متفاوت علیه میکروب‌ها می‌باشد. از جمله این مواد که می‌تواند مورد مصرف انسان قرار گیرد و دارای حداقل اثر جانبی باشند، اسانس‌های گیاهی می‌باشند. با توجه به سرطان‌زا بودن بسیاری از ترکیباتی که به‌عنوان نگهدارنده در مواد غذایی جهت افزایش زمان نگهداری مورد استفاده قرار می‌گیرند و بنابراین ایمنی مصرف‌کنندگان را تهدید می‌کنند، از این رو، اهمیت استفاده از اسانس‌های گیاهی و ارزش پژوهش‌های مرتبط با این موضوع را چندین برابر می‌نماید.

Moreno و همکاران (۲۰۱۸) از مواد بسته‌بندی ضد میکروبی نشاسته-ژلاتین برای افزایش زمان ماندگاری فیلدهای مرغ استفاده کردند و نتیجه گرفتند که استفاده از این فیلم ضد میکروبی به‌طور مؤثری زمان ماندگاری

³ Proanthocyanidin

⁴ Clostridium botulinum spores

⁵ Shigella

⁶ Verotoxin strain

⁷ E. coli

¹ Butylated hydroxyanisole

² Butylated hydroxytoluene

تشکیل، امولسیون به‌طور مداوم توسط همزن مغناطیسی با سرعت بهینه ۵۰۰ دور بر دقیقه در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) هم‌زده شد (Pezeshky *et al.*, 2016). برای تولید نانومولسیون هسته انگور، فاز آلی حاوی سورفاکتانت هیدروفلیل پلی‌اکسی‌اتیلن ۲۰ سوربیتان مونوولات^۲-توئین ۸۰ با وزن مولکولی ۱۳۱۰ گرم بر مول و اسانس هسته انگور به‌عنوان فاز روغن در نظر گرفته شد و سرعت اضافه‌شدن فاز آلی به آبی ثابت بود. نسبت سورفاکتانت به روغن (SOR^۳) ۱۶ درصد در نظر گرفته شد که با تنظیم (SOR) تغییر مقدار آب در اندازه ذرات تأثیر نداشت. جهت اندازه‌گیری پتاسیل زتا، ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تازه تهیه‌شده نانومولسیون به مدت ۳۰ ثانیه در حمام فراصوت جهت حذف هرگونه ذرات به‌هم‌چسبیده‌شده قرار گرفت. اندازه‌گیری شاخص‌های ذکر شده با دستگاه زتاسایزر (Microtrac, Nanotrac Wave) ساخته آمریکا صورت گرفت. پتانسیل زتا نشان‌دهنده ثبات دیسپرسیون‌های کلئیدی است به طوری که این مقدار برای یک سوسپانسیون با ثبات ± 30 میلی‌ولت می‌باشد.

جهت آماده‌سازی نمونه‌ها، نمونه‌های مرغ از کشتارگاه همدان خریداری شدند و پس از حمل در مجاورت یخ به شرکت مروراید سفید گلبرگ حمل گردیده و سپس ظرف مدت ۱ ساعت در شرایط استریل به فیله‌هایی با اندازه تقریبی ۶ سانتی‌متر و وزن تقریبی ۵ گرم قطعه‌بندی شد. نمونه‌های فیله مرغ به ۵ تیمار تقسیم شدند (فیله مرغ بدون عصاره، فیله مرغ حاوی اسانس هسته انگور، فیله مرغ حاوی نانومولسیون اسانس ۱ درصد هسته انگور، فیله مرغ حاوی نانومولسیون اسانس ۲ درصد هسته انگور، فیله مرغ حاوی نانومولسیون اسانس ۵ درصد هسته انگور). جهت پوشش‌دادن تیمارها، نمونه‌ها در ظرف مخصوص ریخته شد و در مرحله بعد نمونه‌ها با غوطه‌ور شدن در محلول نانومولسیون اسانس به مدت ۲ ساعت پوشش‌دار شدند و سپس در کیسه‌های پلاستیکی استریل مخصوص استوماکر^۴ قرار گرفته و بسته‌بندی و لیبل‌زنی شدند، سپس نمونه‌ها در یخچال در دمای ۴ و ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در زمان صفر (زمان تولید) و روزهای نگهداری ۳، ۵، ۷ و ۱۴ روی نمونه‌ها آزمون‌های میکروبی شامل شمارش کلی

حلال‌ها در تهیه نانوذرات اسانس‌ها منجر به تولید فرمولاسیونی با ویسکوزیته و پایداری مناسب می‌شود. علاوه بر این کوچک‌بودن اندازه ذرات نیز برای افزایش پایداری و نیمه‌عمر ماده مؤثره و سهولت رسیدن به موضع اثر بسیار مورد توجه می‌باشد (Seifi *et al.*, 2014).

Kesente و همکاران (۲۰۱۷) کپسوله‌کردن عصاره برگ درخت زیتون در نانوذرات زیست‌تخریب‌پذیر پلی‌لاکتیک اسید (PLA^۱) برای استفاده در فرمولاسیون آرایشی را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که نانوذرات پایداری بیشتری نسبت به عصاره خالص در برابر ویسکوزیته، PH، ویژگی‌های ارگانولپتیکی و فاز چربی دارد. Hu و همکاران (۲۰۱۵) اثر نانوذرات کیتوزان پر شده با عصاره دارچین روی کیفیت گوشت خوک منجمد را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که این نانوذرات می‌توانند به‌عنوان نگهدارنده طبیعی برای نگهداری کیفیت گوشت خوک مورد استفاده قرار گیرند. هدف از این پژوهش بررسی افزایش زمان ماندگاری فیله مرغ بسته‌بندی‌شده به بیش از ۳ روز با استفاده از نانومولسیون اسانس هسته انگور است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش جهت آماده‌سازی اسانس از هسته انگور، هسته‌های انگور از کارخانه تولید آب انگور (محصول فرعی کارخانه‌های تولید آب انگور) خریداری شد. سپس هسته‌های انگور پس از جداسازی در آن ۴۰ تا ۴۵ درجه (شرکت بهداد، ساخت ایران) تا خشک‌شدن کامل قرار داده شد و پس از آسیاب‌کردن، با استفاده از دستگاه کلونجر (شرکت تجهیز یار، ساخت ایران) به مدت ۵ ساعت، به روش تقطیر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد توسط سولفات سدیم کریستالی بدون آب، آب‌گیری شد و پس از عبور از میکروفیلتر ۰/۴۵ میکرومتر در ظرف درب بسته از جنس شیشه تیره دور از نور خورشید در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا آزمایش‌های بعدی نگهداری شد (Pirighmaei *et al.*, 2012). روش تولید اسانس کپسوله‌شده (نانومولسیون) به روش تولید نانومولسیون با روش کم انرژی بر پایه تولید خودبه‌خودی نانومولسیون بود که با اضافه‌کردن قطره‌قطره فاز روغنی (محلول اسانس هسته انگور به همراه سورفاکتانت هیدروفلیل غیریونی روی آب دیونیزه تولید گردید در حین

² Sorbitan monooleate

³ Surfactant-oil-ratio

⁴ Sorbitan monooleate

¹ Polylactic acid

پالادیوم نیز از دستگاه KYKY (مدل SBC-12)، ساخت چین) استفاده شد. قطر ذرات تمام نمونه‌ها در مقیاس نانومتر بود و در این بررسی قطر ذرات اندازه‌گیری شده در دامنه بین ۵۱/۴ تا ۲۲۸ نانومتر بود و متوسط قطر پارتیکل‌ها ۱۲۴ نانومتر به‌دست‌آمد، این نتایج با نتایج بررسی قطر ذرات نانوکپسول عصاره برگ زیتون که توسط Kesente و همکاران (۲۰۱۷) گزارش شده است، مشابه بود.

آنالیز حسی

نتایج نشان داد نمونه شاهد بدون پوشش و بسته‌بندی در روز ۳ (۸ درجه سانتی‌گراد) و روز ۵ (۴ درجه سانتی‌گراد) به‌ترتیب دارای امتیاز $2/0.2 \pm 0/12$ و $2/96 \pm 0/16$ بود که بعد از روز ۳ و ۵ به‌ترتیب در دمای ۸ و ۴ درجه سانتی‌گراد تیمارها دارای بوی نامطلوبی بودند ولی نمونه‌های تیمار شده با نانومولسیون اسانس ۵ درصد هسته انگور تا روز ۵ (۸ درجه سانتی‌گراد) و روز ۷ (۴ درجه سانتی‌گراد) به خوبی توانستند از گسترش بوی بد ناشی از محصولات ثانویه اکسیداسیون جلوگیری کنند. در ارزیابی رنگ، تمامی نمونه‌ها به مدت ۳ روز (۸ درجه سانتی‌گراد) و ۵ روز (۴ درجه سانتی‌گراد) و مدت امتیاز مطلوبی از ارزیاب‌ها کسب نمودند. درحالی‌که پس از گذشت ۵ روز (۸ درجه سانتی‌گراد) و ۷ روز (۴ درجه سانتی‌گراد) نمونه تیمار شده با نانومولسیون اسانس ۵ درصد امتیاز مطلوبی داشت. رنگ پریدگی در نمونه‌های فیله مرغ به دلیل واکنش اکسیداسیون و تحت تأثیر قرار گرفتن میوگلوبین است (Suman & Joseph, 2013). در ارزیابی بافت حضور پوشش نانومولسیون اسانس تا حد زیادی سبب شده است سفتی بافت حفظ شود و در نتیجه بیشتر موردپسند قرار گیرد، به‌طوری‌که تا روز ۵ (۸ درجه سانتی‌گراد) و تا روز ۷ (۴ درجه سانتی‌گراد) دارای امتیاز مناسبی بودند اما پس از گذشت ۱۴ روز بافت فیله مرغ در ارزیابی حسی چندان امتیاز مناسبی کسب نکرد. باتوجه‌به نتایج ارزیابی مزه، تیمارها تا روز ۳ (۸ درجه سانتی‌گراد) و تا روز ۵ (۴ درجه سانتی‌گراد) توانستند امتیاز مناسب را کسب کنند، اما بهترین امتیاز مربوط به نانومولسیون اسانس ۵ درصد که توانست تا روز ۵ (۸ درجه سانتی‌گراد) و تا روز ۷ (۴ درجه سانتی‌گراد) به‌ترتیب امتیاز $3/0.2$ و $3/12$ را کسب کند.

باکتری^۱، شمارش استافیلوکوکوس اورئوس^۲ و شمارش باکتری‌های سرمادوست، آزمایش‌های شیمیایی شامل اندازه‌گیری نیتروژن فرار کل (TVN^۳)، عدد پراکسید (PV^۴) و آزمایش‌های حسی^۵ با درصدهای متفاوت نانومولسیون اسانس هسته انگور (۱، ۲ و ۵ درصد) انجام گرفت (Hassanzadeh et al., 2011).

به‌منظور انجام ارزیابی حسی از آزمون هدونیک ۵ نقطه‌ای استفاده شد که ۵ شاخص بو، ظاهر، رنگ، بافت و پذیرش کلی موردبررسی قرار گرفت. ۸ ارزیاب آموزش‌دیده (۴ مرد و ۴ زن) در این آزمون ارزیابی نمودند و نظر خود را به‌صورت امتیاز روی پرسشنامه ثبت کردند. این آزمون در دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه بوعلی همدان برای تمام تیمارها در روزهای آزمون (۰، ۳، ۵، ۷ و ۱۴) انجام شد. ارزیاب‌ها ثابت بودند و شاخص‌های حسی به‌صورت جداگانه موردبررسی قرار گرفتند (Iranian National Standardization Organization, 2002b). در ارزیابی شیمیایی اندازه‌گیری مقدار عدد پراکسید و نیتروژن فرار کل براساس روش ارائه‌شده در استاندارد ملی انجام شد (Iranian National Standardization Organization, 2002a, 2018; 1985). همچنین ارزیابی کیفیت میکروبی نمونه‌ها با استفاده از شاخص‌های شمارش کلی باکتری‌های مرغ شامل استافیلوکوکوس اورئوس، باکتری سرمادوست و شمارش کلی باکتری‌ها به روش‌های ارائه‌شده در استانداردهای ملی انجام شد (Iranian National Standardization Organization, 2005; 2015a, 2015b). داده‌های به‌دست‌آمده از گروه‌های مختلف تیمار و شاهد با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و آزمون آماری دانکن چنددامنه‌ای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح معنی‌داری اختلاف ($P < 0/05$) در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

مورفولوژی نانومولسیون اسانس خشک توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (مدل KYKY-EM3200، ساخت چین) تأیید شد. ولتاژ دستگاه ۲۶ کیلوولت و با استفاده از نیروی اتمی ساختار موردبررسی قرار گرفت. برای لایه‌گذاری طلا و

¹ Total count

² *Staphylococcus aureus*

³ Total volatile nitrogen

⁴ Peroxide value

⁵ Sensory evaluation

جدول ۱- میانگین امتیازهای پذیرش کلی فیله مرغ تیمارشده در دماهای مختلف طی مدت نگهداری

تیمار	دما	زمان نگهداری (روز)			
		۱۴	۷	۵	۳
شاهد (فاقد نگهدارنده)	اسانس هسته انگور (۱ درصد)	۰/۸۷±۰/۱۱ ^c	۱/۸۷±۰/۱۱ ^b	۳/۲۶±۰/۱۳ ^{ab}	۴/۶۲±۰/۰۸ ^a
	نانومولسیون اسانس هسته انگور (۱ درصد)	۱/۵۶±۰/۱۳ ^c	۲/۰۶±۰/۰۹ ^{ab}	۳/۴۶±۰/۰۷ ^a	۴/۶۵±۰/۰۷ ^a
	نانومولسیون اسانس هسته انگور (۲ درصد)	۱/۶۳±۰/۰۵ ^c	۲/۲۵±۰/۰۹ ^{cb}	۳/۴۸±۰/۰۶ ^a	۴/۶۶±۰/۰۵ ^a
	نانومولسیون اسانس هسته انگور (۲ درصد)	۲/۱۱±۰/۰۶ ^{cb}	۲/۵۳±۰/۰۹ ^{ac}	۳/۶۲±۰/۰۸ ^{ab}	۴/۶۸±۰/۰۳ ^a
	نانومولسیون اسانس هسته انگور (۵ درصد)	۲/۵۲±۰/۰۷ ^{ac}	۳/۱۲±۰/۱۱ ^c	۳/۹۲±۰/۱ ^b	۴/۷۲±۰/۰۴ ^a
شاهد (فاقد نگهدارنده)	اسانس هسته انگور (۱ درصد)	۰/۴۶±۰/۰۹ ^c	۱/۱۶±۰/۰۹ ^{ab}	۱/۸۲±۰/۱۳ ^b	۴/۰۸±۰/۲۱ ^a
	نانومولسیون اسانس هسته انگور (۱ درصد)	۱/۰۳±۰/۰۵ ^c	۱/۸±۰/۱۳ ^c	۲/۱۵±۰/۱۴ ^{ab}	۴/۳۲±۰/۱۲ ^a
	نانومولسیون اسانس هسته انگور (۲ درصد)	۱/۱۱±۰/۱۱ ^{cb}	۱/۹۵±۰/۱۱ ^c	۲/۲۸±۰/۱۲ ^{ab}	۴/۴۱±۰/۱۱ ^a
	نانومولسیون اسانس هسته انگور (۲ درصد)	۱/۵۸±۰/۰۸ ^{cb}	۲/۰۸±۰/۰۸ ^{ab}	۲/۲۸±۰/۱۲ ^{ab}	۴/۴۷±۰/۰۴ ^a
	نانومولسیون اسانس هسته انگور (۵ درصد)	۲/۰۸±۰/۱۱ ^b	۲/۳۷±۰/۰۷ ^{ab}	۳/۰۱±۰/۲۲ ^b	۴/۵۳±۰/۰۵ ^a

اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار نمایش داده شده است.

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف در سطح آماری ۹۵ درصد است.

محصولات اولیه اکسیداسیون در نمونه شاهد از ۱۲ به ۷۷ میلی‌اکی‌والان در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و از ۱۴ به ۹۱ میلی‌اکی‌والان در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد افزایش داشته است، در حقیقت نشان می‌دهد این نمونه پس از ۷ روز دارای مقادیر زیادی ترکیبات هیدروپراکسیدی می‌باشد. ارزیابی شیمیایی نتایج با نتایج Shi و همکاران (۲۰۰۳) مشابه بود، آنها بیان کردند که پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس هسته انگور ۲۵ برابر بیشتر از ویتامین‌های E و C است. کاهش عدد پراکسید در نانواسانس هسته انگور ۵ درصد می‌تواند به اثر فرم نانومولسیون بر باکتری‌های لیپولیتیک (مانند: سودوموناس^۱) و همچنین به اثر آنتی‌اکسیدانی زیاد نانومولسیون اسانس هسته انگور مربوط شود. در تحقیق دیگری استفاده از اسانس‌های آویشن، مریم‌گلی، میخک و رزماری در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به فیلدهای ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دودی‌شده و بسته‌بندی در خلأ سبب کاهش سرعت تشکیل هیدروپراکسید نسبت به نمونه شاهد گردید و اختلاف معنی‌داری بین اسانس‌های موردبررسی از نظر کاهش اندیس پراکسید مشاهده شد (Çoban et al., 2014).

ارزیابی پذیرش کلی نشان از ترجیح مصرف‌کننده به خرید فیله مرغ با در نظر گرفتن تمام معیارها می‌باشد. همان‌طور که در جدول (۱) مشاهده می‌شود، نمونه کنترل پس از ۵ روز چندان مورد پذیرش و پسند مصرف‌کنندگان قرار نگرفت. درحالی‌که نمونه دارای نانومولسیون اسانس ۵ درصد حداقل تا روز ۵ (۸ درجه سانتی‌گراد) و تا روز ۷ (۴ درجه سانتی‌گراد) دارای پذیرش مطلوبی بودند اما تیمارها نتوانستند در روز ۱۴ دارای پذیرش مناسبی از طرف ارزیاب‌ها باشند. بدین ترتیب می‌توان گفت پذیرش کلی فیله مرغ تا روز ۳ (۸ درجه سانتی‌گراد) و تا روز ۷ (۴ درجه سانتی‌گراد) مطلوب بود.

ارزیابی شیمیایی

عدد پراکسید

نتایج نشان داد مدت زمان نگهداری، درجه دمای یخچال و درصد نانومولسیون اسانس مورد استفاده توانسته است اثر معنی‌داری ایجاد نماید ($P < 0/05$). همان‌طور که در جدول (۲) مشاهده می‌شود دمای مورد استفاده در این پژوهش شامل دمای ۴ و ۸ درجه سانتی‌گراد بود که براساس نتایج اثر دمای ۸ درجه سانتی‌گراد بر میزان عدد پراکسید بیشتر از دمای ۴ درجه سانتی‌گراد است. یکی دیگر از مواردی که روی عدد پراکسید تأثیرگذار است، تیمار مورد استفاده می‌باشد که در این پژوهش به ۴ دسته تقسیم شده است (استفاده از اسانس هسته انگور و نانومولسیون اسانس‌های هسته انگور با سه غلظت متفاوت). همان‌طور که در جدول (۲) مشاهده می‌شود میزان

¹ *Pseudomonas*

جدول ۲- نتایج حاصل از اندازه‌گیری عدد پراکسید در دماهای مختلف

تیمار	دما	زمان نگهداری (روز)				
		۱۴	۷	۵	۳	۰
شاهد (فاقد نگهدارنده)	۱	۷۷/۹±۰/۱۹ ^c	۳۶/۲۶±۰/۱۶ ^c	۱۷/۴۴±۰/۱۶ ^b	۱۳/۹۳±۰/۴۱ ^b	۱۲±۲/۳۵ ^a
	۲	۳۹/۵۰±۰/۳۴ ^c	۲۵/۵±۰/۱۵ ^c	۱۴/۰۳±۰/۶۷ ^b	۱۲/۸±۰/۰۴ ^b	۱۱/۹۴±۱۷/۹۴ ^b
	۳	۳۸/۲۳±۰/۵۷ ^c	۲۴/۹۳±۰/۲۵ ^{bc}	۱۴/۵۷±۰/۳۱ ^b	۱۱/۶۹±۰/۰۹ ^b	۱۰/۱۳±۲۳/۲۲ ^b
	۴	۳۱/۲۹±۰/۷۶ ^c	۲۲/۹۷±۰/۶۳ ^{bc}	۱۲/۹۵±۰/۲۸ ^c	۱۰/۳۷±۰/۰۴ ^b	۱۰/۱۰±۶/۵ ^b
	۵	۲۷/۷۴±۱/۲۷ ^c	۲۰/۲±۰/۶۲ ^c	۱۲/۲۹±۰/۰۵ ^c	۹/۹۱±۰/۲۱ ^b	۰۹/۴۳±۱/۲۶ ^b
شاهد (فاقد نگهدارنده)	۱	۹۱/۰۵±۳/۵۴ ^d	۵۴/۷۹±۱/۵۲ ^c	۲۵/۵۳±۰/۱۳ ^b	۱۵/۰۵±۰/۵۳ ^a	۱۴/۰۹±۳۰/۸ ^a
	۲	۴۹/۶۹±۰/۰۹ ^{dc}	۲۹/۶۹±۰/۰۹ ^{bc}	۲۱/۱±۰/۷۹ ^b	۱۴/۷۸±۰/۱ ^{ab}	۱۳/۱۹±۱۰/۴۹ ^a
	۳	۴۵/۱۰±۰/۶۳ ^{dc}	۲۸/۷۲±۰/۵۵ ^{bc}	۲۰/۰۱±۰/۷ ^b	۱۳/۷۴±۰/۱۲ ^{ab}	۱۲/۲±۹/۳۹ ^a
	۴	۳۶/۹۸±۰/۹۱ ^{dc}	۲۵/۹۲±۰/۲۶ ^{bc}	۱۶/۶۹±۰/۳ ^c	۱۲/۱۳±۰/۲۵ ^{ab}	۱۱/۸۴±۴/۲۴ ^a
	۵	۳۲/۵۵±۱/۲۴ ^d	۲۳/۶۵±۰/۱۵ ^{bc}	۱۵/۳۹±۰/۰۶ ^c	۱۱/۸۷±۰/۴۷ ^{ab}	۱۰/۶±۵/۸۸ ^a

اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار نمایش داده شده است.

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف در سطح آماری ۹۵ درصد است.

وکیوم، یک روش مناسب برای افزایش پایداری چربی در گوشت مرغ پخته و نگهداری شده در یخچال و فریزر است.

نیتروژن فرار کل (TVN)

طی زمان نگهداری مجموع نیتروژن فرار به‌طور معنی‌داری در تمام تیمارها افزایش یافت (جدول ۳)، اما افزایش نیتروژن فرار در نانوامولسیون اسانس ۵ درصد نسبت به سایر تیمارها بخصوص گروه شاهد، آهسته‌تر بود ($P < 0.05$). Balamatsia و همکاران (۲۰۰۶) بیان نمودند حد قابل قبول نیتروژن فرار کل (TVN) در گوشت مرغ ۳۰ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم می‌باشد که سطح نیتروژن فرار کل (TVN) پس از ۷ روز در تیمار کنترل به سطح استاندارد رسید، درحالی‌که سطح TVN در تیمار ۵ درصد نانوامولسیون اسانس هسته انگور پس از ۱۴ روز به سطح استاندارد رسید. این نتایج نشان می‌دهد که زمان ماندگاری فیله‌های مرغ در گروه کنترل از ۶ روز به ۱۴ روز در تیمار نانوامولسیون اسانس هسته انگور ۵ درصد افزایش یافت که می‌تواند به کاهش تعداد باکتری‌ها یا به توانایی اکسیداتیو آنها برای حذف آمین‌ها از ترکیبات غیرفرار نیتروژن‌دار مرتبط باشد. در مطالعه‌های مشابه دیگر Seif Zadeh و Khani Pour (۲۰۱۵) دریافتند که فاکتورهای پراکسید، تیوباربیتوریک اسید، نیتروژن فرار کل (TVN) در تیمارهای فرولیک اسید و عصاره هسته انگور در مقایسه با شاهد بدون آنتی‌اکسیدان تفاوت معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$).

همچنین این نتایج مشابه نتایج تحقیق‌های Sogut و Seydim (۲۰۱۸) می‌باشد که دریافتند پوشش کیتوزان همراه با عصاره هسته انگور می‌تواند به دلیل ویژگی‌های ضد میکروبی و ضد اکسیدانی خود باعث افزایش زمان ماندگاری فیله مرغ در دمای یخچال شود. همچنین در مطالعه مشابه Dzomba و همکاران (۲۰۱۴)، بیان نمودند که گوشت گاو شامل عصاره برگ گیاهان ایجاد پراکسیداسیون و تکثیر میکروب‌ها را کاهش می‌دهد و باعث افزایش زمان ماندگاری گوشت گاو می‌شود. در مطالعه مشابه Carpenter و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که افزودن عصاره هسته انگور و زرشک در گوشت خام خوک باعث کاهش اکسیداسیون چربی و کاهش عدد پراکسید PV در روز ۹ و ۱۲ نگهداری در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. در تحقیق دیگر Moradi و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند باکتری‌های مزوفیل و اسید لاکتیک به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین گروه باکتریایی بودند، به طوری‌که در طول نگهداری کاهش نشان دادند. نمونه‌های پوشیده‌شده با فیلم حاوی ۱ درصد عصاره و ۱ درصد اسانس، کمترین میزان اکسیداسیون لیپیدی را نشان دادند که ۲۳ درصد کمتر از نمونه‌های گروه کنترل بود. Shirahigue و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه مشابه دیگری تأثیر روی عصاره انگور بر کیفیت و ویژگی‌های حسی گوشت مرغ پخته‌شده بررسی شد و نتایج نشان داد که کارایی آنتی‌اکسیدانی عصاره بستگی به غلظت مورد استفاده دارد. علاوه بر این عصاره هسته انگور همراه با بسته‌بندی

جدول ۳- نتایج حاصل از اندازه‌گیری نیتروژن فرار کل در دماهای مختلف

تیمار	دما	زمان نگهداری (روز)			
		۱۴	۷	۵	۳
شاهد (فاقد نگهدارنده)	۱/۳۲±۰/۶۳ ^a	۴/۳۹±۰/۰۸ ^c	۲/۷۴±۰/۰۲ ^b	۱/۴۰±۰/۰۳ ^a	
	۱/۳۰±۲/۵۵ ^a	۳/۶۷±۰/۰۵ ^{ab}	۲/۴۷±۰/۰۴ ^b	۱/۳۱±۰/۰۱ ^a	
	۱/۲۰±۳/۰۹ ^a	۳/۵۴±۰/۰۲ ^{ab}	۲/۴۰±۰/۰۲ ^b	۱/۲۲±۰/۰۲ ^a	
	۱/۱۹±۱/۷ ^a	۳/۴۵±۰/۰۵ ^{ab}	۲/۳۵±۰/۰۲ ^b	۱/۲۰±۰/۰۳ ^a	
	۱/۱۵±۰/۷۳ ^a	۳/۳۳±۰/۱۳ ^{ab}	۲/۱۸±۰/۰۹ ^b	۱/۱۹±۰/۰۸ ^a	
شاهد (فاقد نگهدارنده)	۴/۰۴±۳/۵۶ ^a	۶/۷۱±۰/۳۱ ^c	۵/۷۵±۰/۱۱ ^b	۴/۹۷±۰/۱۲ ^a	
	۳/۴۷±۱/۶۳ ^a	۴/۷۹±۰/۰۱۴ ^{bc}	۳/۹۴±۰/۲۳ ^{ab}	۳/۸۰±۰/۰۲ ^a	
	۳/۳۴±۱/۱۷ ^a	۴/۵۰±۰/۰۱۴ ^{bc}	۳/۷۶±۰/۰۸ ^{ab}	۳/۶۸±۰/۰۴ ^a	
	۳/۳۰±۱/۵۲ ^a	۴/۳۸±۰/۰۳۵ ^{bc}	۳/۵۲±۰/۰۳۵ ^{ab}	۳/۴۸±۰/۰۵ ^a	
	۳/۲۹±۰/۸۳ ^a	۴/۳۱±۰/۰۲ ^{bc}	۳/۴۵±۰/۰۳۵ ^{ab}	۳/۳۹±۰/۰۴ ^a	

اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار نمایش داده شده است.

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف در سطح آماری ۹۵ درصد است.

آنالیز میکروبی

شمارش میکروارگانیسم‌های کل مزوفیل

حد مجاز تعیین شده برای کیفیت میکروبی فیله مرغ ۷ لگاریتم واحد تشکیل کلنی بر گرم است (Iranian National Standardization Organization, 2015a). در این بررسی نتایج حاصل از آزمون‌های میکروبی، نشان داد بار میکروبی فیله مرغ در دمای یخچال تا ۳ روز (۸ درجه سانتی‌گراد، ۶/۶۵ لگاریتم واحد تشکیل کلنی بر گرم) و تا ۵ روز (۴ درجه سانتی‌گراد، ۶/۲ لگاریتم واحد تشکیل کلنی بر گرم) در حد مجاز قرار دارد، به عبارت دیگر همان گونه که در مقاله‌های سایر محققین نیز عنوان شده است مدت زمان نگهداری فیله مرغ در یخچال ۳ روز (۸ درجه سانتی‌گراد) و ۵ روز (۴ درجه سانتی‌گراد) است. اگرچه در روز ۱۴ میزان میکروارگانیسم کل مزوفیل در حد غیرمجاز قرار داشت، با این حال می‌توان گفت ممکن است نانومولسیون اسانس با غلظت ۵ درصد قادر است تا ۱۴ روز جمعیت میکروبی را در حد مجاز نگهدارد. یکی دیگر از مواردی که روی جمعیت میکروبی تأثیر بسزایی دارد، دمای یخچال است قراردادن نمونه‌های پوشش داده شده با اسانس و نانومولسیون اسانس هسته انگور در یخچال، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با دمای ۸ درجه سانتی‌گراد تأثیر معنی‌داری ایجاد نمود. شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل (TVC¹) طی زمان نگهداری به طور معنی‌داری در تمام تیمارها افزایش یافت. در حالی که شمارش کلی باکتری‌ها در تیمار نانومولسیون اسانس ۵ درصد به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود.

شمارش کلی باکتری‌ها در گروه کنترل پس از ۵ روز به دامنه استاندارد (۷ واحد تشکیل کلنی بر گرم) رسید. در حالی که سایر تیمارهای نانومولسیون اسانس بخصوص نانومولسیون اسانس ۵ درصد پس از ۱۴ روز هنوز در دامنه استاندارد بود. نتایج جدول (۴) نشان داد باتوجه به پایین‌تر بودن سطح معنی‌داری از میزان خطا (P<۰/۰۵) در تمامی روزهای نمونه (۰، ۳، ۵، ۷ و ۱۴) بین میزان TVC آزمایش‌ها با درصد نانومولسیون اسانس‌های مختلف در سطح ۹۵ درصد اطمینان اختلاف معنی‌داری وجود داشت. آنالیز میکروبی تحقیق حاضر با یافته‌های Sogut و Seydim (۲۰۱۸) مطابقت دارد، آنها بیان کردند فیلم‌های خوراکی کیتوزان همراه با عصاره هسته انگور شمارش باکتری‌های هوازی مزوفیل و کلی‌فرم‌ها را در فیله‌های نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد را کاهش می‌دهد.

همچنین Alves و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که فیلم کیتوزان با عصاره هسته انگور و میکروکپسول کارواکرول^۲ در فیله ماهی سالمون نگهداری شده در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد می‌تواند پس از ۷ روز تعداد باکتری‌های مزوفیل را در مقایسه با گروه کنترل کاهش دهد. Katalinić و همکاران (۲۰۱۰) بیان نمودند که فعالیت ضد میکروبی بالای عصاره هسته انگور با ترکیبات فنولی که مسئول فعالیت ضد میکروبی هستند و روی دیواره‌های سلولی و برگشت رشد میکروبی اثر می‌گذارد، ارتباط دارد. این نتایج با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد.

² Carvacrol

¹ Total viable count

جدول ۴- نتایج حاصل از شمارش باکتری‌های مزوفیل‌هوازی در دماهای مختلف

زمان نگهداری (روز)					دما	تیمار
۱۴	۷	۵	۳	۰		
۹/۵۸±۰/۱ ^a	۸/۲۲±۰/۱۴ ^a	۶/۲±۰/۰۳ ^a	۵/۶۸±۰/۰۴ ^a	۲/۵۸±۰/۰۹ ^a	۲۰±۰/۰۵	شاهد (فاقد نگهدارنده)
۷/۴۲±۰/۰۳ ^b	۶/۶۱±۰/۱۶ ^b	۶/۰±۰/۰۹ ^b	۵/۵۸±۰/۱۹ ^b	۲/۴۸±۰/۴۵ ^b		اسانس هسته انگور (۱ درصد)
۷/۲۷±۰/۰۵ ^c	۶/۳۸±۰/۰۴ ^c	۵/۴۶±۰/۰۴ ^{bc}	۴/۴۰±۰/۳۳ ^b	۲/۳۵±۱/۶۴ ^b		نانوامولسیون اسانس هسته انگور (۱ درصد)
۶/۵±۰/۰۹ ^{۸d}	۵/۵۵±۰/۱۴ ^c	۴/۸±۰/۰۴ ^{bc}	۴/۲۸±۰/۰۴ ^c	۱/۹۲±۰/۶۹ ^b		نانوامولسیون اسانس هسته انگور (۲ درصد)
۵/۵۲±۰/۰۸ ^d	۴/۳۸±۰/۱۲ ^c	۳/۶±۰/۰۱ ^{bc}	۳/۵۰±۰/۲۲ ^c	۱/۶±۰/۷۳ ^b		نانوامولسیون اسانس هسته انگور (۵ درصد)
۱۰/۳۷±۰/۱ ^{dc}	۹/۴۸±۰/۰۵ ^{bc}	۷/۴۴±۰/۱۶ ^{ab}	۶/۶۵±۰/۱۴ ^b	۲/۸۵±۰/۸۴ ^a	۲۰±۰/۰۵	شاهد (فاقد نگهدارنده)
۸/۴۱±۰/۰۳ ^{dc}	۷/۳۷±۰/۰۹ ^c	۶/۴۷±۰/۰۶ ^{ab}	۵/۶±۰/۰۶ ^b	۲/۷۸±۱/۲۱ ^a		اسانس هسته انگور (۱ درصد)
۸/۲۷±۰/۰۴ ^{dc}	۷/۱۴±۰/۱۲ ^c	۶/۲۶±۰/۰۷ ^b	۴/۶۴±۰/۰۳ ^b	۲/۷۴±۰/۵۷ ^a		نانوامولسیون اسانس هسته انگور (۱ درصد)
۷/۴±۰/۰۴ ^d	۶/۳۵±۰/۰۳ ^c	۵/۳۸±۰/۰۴ ^{ab}	۴/۶±۰/۰۲۳ ^b	۲/۶۴±۰/۸۲ ^a		نانوامولسیون اسانس هسته انگور (۲ درصد)
۶/۶۵±۰/۱۳ ^d	۵/۱۵±۰/۱ ^c	۴/۴۸±۰/۰۴ ^b	۴/۴۴±۰/۱۶ ^b	۲/۶±۰/۵۸ ^a		نانوامولسیون اسانس هسته انگور (۵ درصد)

اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار نمایش داده شده است.

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف در سطح آماری ۹۵ درصد است.

جدول ۵- نتایج حاصل از شمارش باکتری‌های سرمادوست در دماهای مختلف

زمان نگهداری (روز)					دما	تیمار
۱۴	۷	۵	۳	۰		
۹/۸۵±۰/۰۳ ^d	۸/۵۵±۰/۰۱ ^c	۵/۹۶±۰/۱ ^b	۵/۸۸±۰/۰۶ ^b	۲/۵۵±۰/۶۸ ^a	۲۰±۰/۰۵	شاهد (فاقد نگهدارنده)
۷/۶۶±۰/۰۷ ^d	۶/۸۳±۰/۰۴ ^{bc}	۵/۷۶±۰/۰۷ ^b	۵/۵۷±۰/۰۶ ^b	۲/۴۵±۱/۴۴ ^a		اسانس هسته انگور (۱ درصد)
۷/۴۵±۰/۰۷ ^d	۶/۵±۰/۰۹ ^{bc}	۵/۵۸±۰/۰۷ ^b	۵/۳۱±۰/۰۹ ^b	۲/۳۷±۰/۸۸ ^a		نانوامولسیون اسانس هسته انگور (۱ درصد)
۶/۶۳±۰/۰۳ ^{bc}	۵/۶۷±۰/۰۵ ^b	۴/۵±۰/۰۵ ^{ab}	۴/۴۷±۰/۰۴ ^{ab}	۲/۲۷±۰/۷۰ ^a		نانوامولسیون اسانس هسته انگور (۲ درصد)
۵/۶۹±۰/۰۵ ^b	۴/۵۷±۰/۰۵ ^{ab}	۳/۵۵±۰/۰۱ ^{ab}	۳/۳۵±۰/۰۳ ^{ab}	۲/۰۷±۰/۸۴ ^a		نانوامولسیون اسانس هسته انگور (۵ درصد)
۱۰/۳۶±۰/۰۲ ^{cd}	۹/۸۱±۰/۰۲ ^d	۷/۶۵±۰/۰۹ ^c	۶/۷۸±۰/۰۲ ^b	۳/۷۶±۰/۱۶ ^a	۲۰±۰/۰۵	شاهد (فاقد نگهدارنده)
۸/۸۷±۰/۰۶ ^d	۷/۶۱±۰/۰۳ ^c	۶/۷±۰/۱۹ ^b	۶/۶۸±۰/۰۲ ^b	۳/۷۱±۰/۸۵ ^a		اسانس هسته انگور (۱ درصد)
۸/۵۷±۰/۰۵ ^d	۷/۴۲±۰/۰۳ ^c	۶/۴۷±۰/۰۴ ^b	۶/۵۹±۰/۰۲ ^b	۳/۴۷±۱/۲۴ ^a		نانوامولسیون اسانس هسته انگور (۱ درصد)
۷/۵۶±۰/۰۲ ^c	۶/۵۳±۰/۰۴ ^c	۵/۵۳±۰/۱۱ ^b	۵/۰۸±۰/۰۴ ^b	۳/۳۳±۰/۷۳ ^a		نانوامولسیون اسانس هسته انگور (۲ درصد)
۷/۲۹±۰/۰۸ ^c	۵/۳۶±۰/۰۱ ^b	۴/۶۸±۰/۰۴ ^{ab}	۴/۳۵±۰/۰۹ ^{ab}	۳/۲۹±۰/۱۶ ^a		نانوامولسیون اسانس هسته انگور (۵ درصد)

اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار نمایش داده شده است.

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف در سطح آماری ۹۵ درصد است.

شمارش باکتری‌های سرماگرا (PTC)^۱

بار میکروبی مجاز همانند باکتری‌های مزوفیل ۷ لگاریتم واحد تشکیل کلنی بر گرم در نظر گرفته شد. براساس نتایج **جدول (۵)** باتوجه به پایین‌تر بودن سطح معنی‌داری از میزان خطا ($P < 0/05$) در تمامی روزهای نمونه (۰، ۳، ۵، ۷ و ۱۴) بین میزان PTC آزمایش‌ها با درصد نانوامولسیون اسانس‌های مختلف در سطح ۹۵ درصد اطمینان اختلاف معنی‌داری وجود داشت. الگوی افزایش باکتری‌های سرماگرا (PTC) در تمام تیمارها مشابه تغییرات شمارش کلی باکتری‌هاست. در مطالعه مشابه Zhang و همکاران (۲۰۱۶) بیان نمودند که عصاره رزماری و میخک در گوشت خام مرغ

به‌طور معنی‌داری رشد میکروبی از جمله تعداد *انتروباکتریاسه*^۲ و *سودوموناس* طی نگهداری در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد را کاهش می‌دهد. Alves و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند فیلم کیتوزان با عصاره هسته انگور و میکروکپسول کارواکرول در فیلد ماهی سالمون نگهداری‌شده در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) می‌تواند پس از ۷ روز میزان رشد باکتری‌های سرمادوست و *سودوموناس* را در مقایسه با گروه کنترل کاهش دهد. Shan و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که ترکیبات فنولی گیاهان مختلف مثل عصاره هسته انگور می‌تواند اثرات پاتوژن‌های غذازاد مختلف را محدود کند.

² Enterobacteriaceae

¹ Psychrotrophi total count

جدول ۶- نتایج حاصل از شمارش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در دماهای مختلف

تیمار	دما	زمان نگهداری (روز)			
		۱۴	۷	۵	۳
شاهد (فاقد نگهدارنده)	۱/۸۴±۰/۵۷ ^a	۲/۱۹±۰/۰۸ ^a	۳/۰۰±۰/۲۱ ^b	۴/۶۰±۰/۰۹ ^c	۵/۴۱±۰/۰۳ ^d
	۱/۳۹±۰/۱۴ ^a	۱/۵۹±۰/۰۴ ^a	۲/۳۵±۰/۰۴ ^b	۳/۲۶±۰/۰۵ ^c	۴/۷۱±۰/۰۹ ^c
	۱/۲۷±۰/۸۱ ^a	۱/۵۰±۰/۰۶ ^a	۲/۲۹±۰/۰۵ ^b	۳/۱۳±۰/۰۲ ^c	۴/۲۸±۰/۰۷ ^c
	۱/۲۶±۰/۱۵ ^a	۱/۳۳±۰/۰۵ ^a	۱/۳۹±۰/۰۸ ^a	۲/۱۷±۰/۰۶ ^b	۳/۴۲±۰/۱۶ ^c
	۱/۱۰±۰/۲۳ ^a	۱/۱۵±۰/۰۵ ^a	۱/۲۶±۰/۰۶ ^a	۱/۳۱±۰/۰۵ ^a	۲/۳۹±۰/۰۸ ^b
شاهد (فاقد نگهدارنده)	۲/۳۶±۰/۱۴ ^a	۳/۰۰±۰/۰۵ ^a	۴/۱۷±۰/۰۸ ^b	۵/۴۸±۰/۰۸ ^c	۶/۱۹±۰/۰۹ ^d
	۲/۲۳±۰/۷۴ ^a	۲/۷۲±۰/۰۷ ^a	۳/۴۳±۰/۰۸ ^a	۴/۱۱±۰/۰۲ ^b	۵/۳۰±۰/۱۲ ^c
	۲/۱۸±۰/۷۸ ^a	۲/۶۶±۰/۰۹ ^a	۳/۴۰±۰/۰۴ ^a	۴/۷۴±۰/۰۵ ^b	۵/۱۰±۰/۰۴ ^c
	۲/۱۵±۰/۲۳ ^a	۲/۳۵±۰/۰۲ ^a	۲/۹۶±۰/۱۵ ^a	۳/۳۰±۰/۰۲ ^a	۴/۳۷±۰/۰۶ ^b
	۲/۱۰±۰/۱۱ ^a	۲/۲۸±۰/۰۱ ^a	۲/۵۹±۰/۰۷ ^a	۲/۶۲±۰/۲۱ ^a	۳/۲۱±۰/۰۶ ^b

اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار نمایش داده شده است.

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف در سطح آماری ۹۵ درصد است.

شمارش باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

همان‌طور که نتایج جدول (۶) مشاهده می‌شود جمعیت میکروبی استافیلوکوکوس اورئوس در روز صفر در حدود عدد ۱/۸۴ و ۲/۳۶ لگاریتم واحد تشکیل کلنی بر گرم (به ترتیب در دمای ۴ و ۸ درجه سانتی‌گراد) گزارش شد که در روز ۱۴، به ۵/۴۱ و ۶/۱۹ لگاریتم واحد تشکیل کلنی بر گرم (به ترتیب در دمای ۴ و ۸ درجه سانتی‌گراد) رسید با بررسی‌های نتایج جدول (۶) می‌توان دریافت که نانومولسیون اسانس بر رشد میکروبی اثر قابل توجهی دارد.

بر اساس نتایج جدول (۶) و با توجه به پایین‌تر بودن سطح معنی‌داری از میزان خطا ($P < 0.05$) در تمامی روزهای نمونه (۰، ۳، ۵، ۷ و ۱۴) بین میزان استافیلوکوکوس اورئوس آزمایش‌ها با درصد نانومولسیون اسانس‌های مختلف در سطح ۹۵ درصد اطمینان اختلاف معنی‌داری وجود داشته است. طبق تحقیق‌های مشابه Rahimi و همکاران (۲۰۱۳) استافیلوکوکوس اورئوس یکی از مهم‌ترین باکتری‌هایی است که موجب ایجاد بیماری‌های غذازاد در انسان می‌شود. در روز ۱۴ تعداد استافیلوکوکوس اورئوس در تیمار نانومولسیون اسانس ۵ درصد به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود. نتایج تحقیق حاضر با نتایج Azizi و Ranjbar (۲۰۱۷) مشابه بود، آنها نشان دادند تعداد استافیلوکوکوس اورئوس فیله‌های مرغ پوشش داده‌شده با فیلم ژلاتین شامل ۰/۶ و

۰/۸ درصد اسانس بنه (پسته کوهی) در مقایسه با گروه کنترل و گروه ۰/۳ درصد بنه به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که از طریق پوشش دادن فیله مرغ با نانومولسیون اسانس هسته انگور می‌توان مدت زمان نگهداری فیله مرغ را افزایش داد. به‌طوری‌که این مدت نگهداری نمونه کنترل ۵ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در نمونه تیمار شده با پوشش نانومولسیون اسانس هسته انگور ۵ درصد در روز ۱۴ دارای ویژگی مطلوبی است. برای تعیین مدت زمان نگهداری فیله مرغ ارزیابی شیمیایی، میکروبی و حسی صورت گرفت. در ارزیابی شیمیایی استفاده از نانومولسیون اسانس هسته انگور به مدت ۱۴ روز فاکتورهای شیمیایی فیله مرغ را در حد مطلوب نگه داشت، درحالی‌که نمونه کنترل پس از ۵ روز (۸ درجه سانتی‌گراد) و ۷ روز (۴ درجه سانتی‌گراد) ویژگی مناسبی برای نگهداری نداشت.

ارزیابی ویژگی‌های میکروبی و شمارش میکروارگانیزم‌ها نیز نشان از کارایی و عملکرد مناسب به‌کارگیری نانومولسیون اسانس به همراه دماست. تیمار نانومولسیون اسانس ۵ درصد، در تمام مراحل آزمون میکروبی دارای حد مجازی از میکروارگانیزم‌ها بود. بنابراین نانومولسیون اسانس به‌عنوان فاکتور اصلی تا حد

به ترتیب در دمای ۴ و ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمود. باتوجه‌به نتایج استفاده از نانوامولسیون اسانس‌های سایر گیاهان، استفاده از بسته‌بندی‌های جدید و همچنین استفاده از سایر پوشش‌ها پیشنهاد می‌شود.

مشارکت نویسندگان

مریم قنبری: ارائه ایده پژوهشی و طراحی مطالعه، جمع‌آوری داده، نوشتن پیش‌نویس مقاله، تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها، آنالیز داده‌ها؛ **عباسعلی مطلبی:** ارائه ایده پژوهشی و طراحی مطالعه، آنالیز داده‌ها، بازبینی و اصلاح مقاله، نظارت بر مطالعه، تأیید نسخه نهایی؛ **نوردهر رکنی:** بازبینی و اصلاح مقاله، نظارت بر مطالعه؛ **امیرعلی انوار:** آنالیز داده‌ها، نظارت بر مطالعه، بازبینی و اصلاح مقاله.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

زیادی باعث جلوگیری رشد میکروارگانیسم‌ها شد و به تبع آن از تولید ترکیبات آمینی نیز جلوگیری نمود. علاوه‌بر این جمعیت میکروبی اولیه میکروارگانیسم‌ها روی فیله مرغ نقش مؤثری در نگهداری داشت و نمونه تیمار شده با نانوامولسیون اسانس ۵ درصد هسته انگور توانست کیفیت میکروبی و شیمیایی مناسبی فراهم نماید.

بر اساس نتایج ارزیابی حسی، نمونه تیمار شده با نانوامولسیون اسانس ۵ درصد هسته انگور توانست تا ۳ روز (۸ درجه سانتی‌گراد) و ۷ روز (۴ درجه سانتی‌گراد) امتیاز مطلوبی کسب نماید و در روز ۱۴ این نمونه امتیاز خوبی را کسب نکرد و مطلوب ارزیابی قرار نگرفت. اگرچه شمارش میکروارگانیسم‌ها نشان داد در روز ۱۴؛ نمونه دارای پوشش نانوامولسیون اسانس هسته انگور ۵ درصد در حد مجاز قرار دارد، اما خصوصیات شیمیایی و حسی فیله مرغ مدت زمان ماندگاری حداقل ۳ روز در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد و ۷ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد را نشان داد. بنابراین با استفاده از این روش می‌توان فیله مرغ را به مدت ۳ و ۷ روز با کیفیت مطلوب در یخچال

منابع

- Akbari, S., Maghsodlo, M., & Ariay, P. (2013). Effect of Methyl Cellulose Coating (with Oregano essential oil) on the Quality and Shelf Life of Chicken Fillet in Cold Conditions. *Journal of Food Processing and Production*, 3(4), 12-17 .
- Alves, V. L. C. D., Rico, B. P. M., Cruz, R. M. S., Vicente, A. A., Khmelinskii, I., & Vieira, M. C. (2018). Preparation and characterization of a chitosan film with grape seed extract-carvacrol microcapsules and its effect on the shelf-life of refrigerated Salmon (*Salmo salar*). *Lwt*, 89, 525-534. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.013>
- Balamatsia, C. C., Rogga, K., Badeka, A., Kontominas, M. G., & Savvaidis, I. N. (2006). Effect of low-dose radiation on microbiological, chemical, and sensory characteristics of chicken meat stored aerobically at 4 degrees C. *Journal of food protection*, 69(5), 1126-1133. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-69.5.1126>
- Carpenter, R., O'grady, M., O'callaghan, Y., O'brien, N., & Kerry, J. (2007). Evaluation of the antioxidant potential of grape seed and bearberry extracts in raw and cooked pork. *Meat science*, 76(4), 604-610. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.021>
- Çoban, Ö. E., Patir, B., & Yilmaz, Ö. (2014). Protective effect of essential oils on the shelf life of smoked and vacuum packed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W. 1792) fillets. *Journal of food science and technology*, 51(10), 2741-2747. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0795-8>

- Dzomba, P., Gwizangwe, I., Pedzisai, P., & Togarepi, E. (2014). Quality, shelf-life and sensory analysis of beef meat treated with Cleome gynandra and Vigna unguiculata extracts. 2(3), 40-45. <https://doi.org/10.12691/ces-2-3-1>.
- Hassanzadeh, P., Tajik, H., & Razavi Rohani, M. (2011). Application of chitosan edible coating containing grape seed extract on the quality and shelf life of refrigerated chicken meat. *Journal of Food Industry Research*, 12(4), 467-482. (in Persian)
- Heydarian, M. T., Jebelli Javan, A., & Jokar, M. (2015). Antimicrobial and antioxidant effects of rosemary extract on quality and shelf life of raw chicken during refrigerated storage. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 4(2), 131-142. <https://doi.org/10.22101/JRIFST.2015.07.23.423> (in Persian)
- Hu, J., Wang, X., Xiao, Z., & Bi, W. (2015). Effect of chitosan nanoparticles loaded with cinnamon essential oil on the quality of chilled pork. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 519-526. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.049>
- Iranian National Standardization Organization, I. (1985). *Meat and mate product : determination of nitrogen content*. <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=10225> (in Persian)
- Iranian National Standardization Organization, I. (2002a). *Canned Stew Chicken Specifications and Test Methods*. <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=10507> (in Persian)
- Iranian National Standardization Organization, I. (2002b). *Fish and shellfish-Guideline for the sensory evaluation in laboratories*. <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=789> (in Persian)
- Iranian National Standardization Organization, I. (2005). *Microbiology of food and animal feeding stuffs-Enumeration of coagulase-Positive staphylococci (staphylococcus aureus and other species)-Test method Part 1: Technique using baird - parker agar medium* <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=11206> (in Persian)
- Iranian National Standardization Organization, I. (2015a). *Microbiology of the food chain-Horizontal method for the enumeration of microorganisms-Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique*. <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=43263> (in Persian)
- Iranian National Standardization Organization, I. (2015b). *Microbiology of the food chain-Horizontal method for the enumeration of microorganisms-Part 2: Colony count at 30 °C by the surface plating technique*. <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=42261> (in Persian)
- Iranian National Standardization Organization, I. (2018). *Animal and vegetable fats and oils-Determination of peroxide value-Iodometric (visual) endpoint determination*. <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=50001> (in Persian)
- Katalinić, V., Možina, S. S., Skroza, D., Generalić, I., Abramovič, H., Miloš, M., . . . Boban, M. (2010). Polyphenolic profile, antioxidant properties and antimicrobial activity of grape skin extracts of 14 *Vitis vinifera* varieties grown in Dalmatia (Croatia). *Food chemistry*, 119(2), 715-723. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.019>
- Kesente, M., Kavetsou, E., Roussaki, M., Bliidi, S., Loupassaki, S., Chanioti, S., . . . Detsi, A. (2017). Encapsulation of Olive Leaves Extracts in Biodegradable PLA Nanoparticles for Use in Cosmetic Formulation. *Bioengineering (Basel)*, 4(3). <https://doi.org/10.3390/bioengineering4030075>
- Moradi, M., Tajik, H., Razavi Rohani, S., Oromiehie, A., Malekinejad, H., & Ghasemmahdi, H. (2012). Development and evaluation of antioxidant chitosan film incorporated with grape seed extract. *Journal of Medicinal Plants*, 11(42), 43-52. <http://dori.net/dor/20.1001.1.2717204.2012.11.42.3.1> (in Persian)

- Moreno, O., Atarés, L., Chiralt, A., Cruz-Romero, M. C., & Kerry, J. (2018). Starch-gelatin antimicrobial packaging materials to extend the shelf life of chicken breast fillets. *Lwt*, 97, 483-490. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.005>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.002>
- Petrová, J., Pavelková, A., Hleba, L., Pochop, J., Rovná, K., & Kačániová, M. (2013). Microbiological Quality of Fresh Chicken Breast Meat after Rosemary Essential Oil Treatment and Vacuum Packaging. *Animal Science and Biotechnologies*, 46(1).
- Pezeshky, A., Ghanbarzadeh, B., Hamishehkar, H., Moghadam, M., & Fathollahi, I. (2016). Vitamin A palmitate-loaded nanoemulsions produced by spontaneous emulsification method: effect of surfactant and oil on droplet size and stability. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 4(4), 299-314. <https://doi.org/10.22101/JRIFST.2016.01.30.442> (in Persian)
- Pirigharnej, M., Zare, S., Heidary, R., Khara, J., & EmamaliSabzi, R. (2012). Determination and comparing of the essential oil components in wild and cultivated populations of *Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen. *African Journal of Plant Science*, 6(2), 89-95. <https://doi.org/10.5897/AJPS11.243>
- Rahimi, E., Shakerian, A., & Alian, F. (2013). Detection of classical enterotoxins of staphylococcus aureus in raw cow, sheep, goat and camel milk by elisa method. *Innovation in Food Science and Technology (Journal of Food Science and Technology)*, 4(4 (14)), 27-32. <https://www.sid.ir/en/Journal/ViewPaper.aspx?ID=354241> (in Persian)
- Ranjbar, M., & Azizi, M. H. (2017). Microbial, Chemical, and Sensorial Properties of Chicken Fillets Coated by Gelatin-Carboxymethyl Cellulose Film Containing Essential Oil of Bene (*Pistacia atlantica*) [Original article]. *Journal of food quality and hazards control*, 4(1), 14-19. <http://jfqhc.ssu.ac.ir/article-1-309-en.html>
- Seif Zadeh, M., & Khani Pour, A. (2015). Study and comparing of antibacterial property of catechin, ferulic acid and grape seed extract on food poisoning bacterial in cultured shrimp. *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology)*, 28(3), 353-360. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.23832614.1394.28.3.9.8> (in Persian)
- Seifi, F., Farzaneh, M., Rafati, H., & Rezadoost, H. (2014). Antifungal potency of some medicinal plants essential oils nano-emulsions to control soft rot in strawberry fruit caused by *Rhizopus stolonifer*. *Biocontrol in Plant Protection*, 2(1), 69-79. <https://dx.doi.org/10.22092/bcpp.2014.100338> (in Persian)
- Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., & Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International journal of food microbiology*, 117(1), 112-119. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.03.003>
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., & Kakuda, Y. (2003). Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. *Journal of medicinal food*, 6(4), 291-299. <https://doi.org/10.1089/109662003772519831>
- Shirahigue, L. D., Contreras-Castillo, C. J., Selani, M. M., Nadai, A. P., Mourão, G. B., & Gallo, C. R. (2011). Winery grape-residue extract: Effects on quality and sensory attributes of cooked chicken meat. *Food Science and Biotechnology*, 20(5), 1257. <https://doi.org/10.1007/s10068-011-0173-8>
- Sogut, E., & Seydim, A. C. (2018). The effects of Chitosan and grape seed extract-based edible films on the quality of vacuum packaged chicken breast fillets. *Food Packaging and Shelf Life*, 18, 13-20. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.07.006>

Suman, S. P., & Joseph, P. (2013). Myoglobin chemistry and meat color. *Annu Rev Food Sci Technol*, 4, 79-99. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030212-182623>

Zhang, H., Wu, J., & Guo, X. (2016). Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality. *Food Science and Human Wellness*, 5(1), 39-48. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2015.11.003>

Using Red Grape Seed Essential Oil Nanoemulsion (*Vitis Vinifera*) for Improvement of Chemicals and Bacteria Indices and Increasing the Shelf Life of Fresh Packaged Chicken Fillets at Refrigerated Temperature

Maryam Ghanbari¹, Abbasali Motallebi^{1*}, Noordahr Rokni¹, Amirali Anvar¹

1- Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Science and Research Branch Islamic Azad University, Tehran, Iran

* Corresponding author (motalebi@ifro.ir)

Abstract

Chicken fillet is one of the most popular food products made from chicken. Microbial growth and oxidation of lipids are the primary factors of spoilage of this product in refrigerated conditions. Chicken fillet samples were prepared in the form of a control sample and a treatment with grape seed essential oil and 4 treatments with concentrations of 1, 2 and 5% grape seed essential oil nanoemulsion and were kept in a refrigerator (4 and 8 °C) for 14 days. During this period, all the samples were evaluated and compared by performing microbial, chemical and sensory tests at different time intervals. Two-way analysis of variance was used to analyze the data, and Duncan's multiple range test was used to compare their averages. The results showed that the samples treated with different concentrations of grape seed nanoemulsion compared to the control sample had lower bacterial counts and lower total volatile nitrogen and proxid value throughout the study period. Samples treated with 5% concentration of grape seed essential oil nanoemulsion were more effective in increasing shelf life compared to concentrations of 1 and 2%. Also, the overall acceptance of the sample with 5% essential oil nanoemulsion up to day 7 had a score of 3.12 ± 0.11 . Therefore, it can be concluded that grape seed essential oil nanoemulsion can increase the shelf life of fresh packaged chicken fillet in refrigerated conditions by delaying microbial and chemical spoilage and improving sensory characteristics.

Keywords: Chicken fillet, Nanoemulsion essential oil, Red grape seed, Refrigerated conditions

