

تأثیر نایسین بر خصوصیات میکروبی، شیمیایی و حسی کالباس‌های امولسیون‌بسته‌بندی شده تحت خلاء

الهه خواجه‌علی^۱، سیدشهرام شکر فروش^۲، عبدالله حسین‌خان‌ناظر^۳ و حسین نجف‌زاده‌ورزی^۴

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۱۳

خلاصه

استفاده از نایسین به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی طبیعی به همراه روش‌های نوین بسته‌بندی از راه‌های مؤثر در حفاظت محصولات گوشتی و افزایش ماندگاری آنها است. در تحقیق انجام شده اثر نایسین (30ppm) بر روی خصوصیات میکروبی، شیمیایی و حسی کالباس‌های امولسیون‌بسته‌بندی شده تحت خلاء بررسی شد. پس از تولید محصول از آن نمونه‌برداری شد و نمونه‌ها به مدت ۴۲ روز در دمای ۳±۱ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و هر هفت روز یک بار مورد ارزیابی قرار گرفتند. در طول دوره نگهداری شمارش میکروبی، اندازه‌گیری pH، اکسیداسیون لیپیدها، تولید نیتروزومیوگلوبین، رنگ محصول و ارزیابی حسی فرآورده مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد که نایسین قادر است رشد باکتری‌های مزوفیل و سایکروتروف هوازی و باکتری‌های اسید لاکتیک را کاهش دهد، اما بر میزان pH، اکسیداسیون لیپیدها، تولید نیتروزومیوگلوبین و رنگ محصول تأثیری نداشت. بنابراین افزودن نایسین به کالباس‌های امولسیون‌بسته‌بندی می‌تواند به افزایش ماندگاری محصول کمک کند و به کارگیری نایسین با روش بسته‌بندی تحت خلاء قابل توصیه می‌باشد.

کلمات کلیدی: بسته‌بندی تحت خلاء، نایسین، کالباس امولسیون

مقدمه

در صنعت گوشت، بسته‌بندی تحت خلاء است. در این روش هوای داخل بسته بدون اینکه گاز دیگری جایگزین گردد خارج شده، که این امر منجر به محافظت محصول و مهار رشد باکتری‌های فسادزا و مهار بعضی تغییرات شیمیایی از جمله اکسیداسیون می‌گردد. از طرفی میکروارگانیسم‌ها به دلیل رشد و فعالیت در حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد گاز دی‌اکسیدکربن تولید می‌کنند که این گاز نیز می‌تواند از رشد بعضی از باکتری‌ها جلوگیری کند (۳۱). با این حال همچنان نگرانی‌هایی در مورد رشد برخی از باکتری‌های بیماری‌زا و فسادزای مواد غذایی وجود دارد، که این امر استفاده از روش‌های دیگر توأم با این روش را ضروری می‌سازد. از جمله این راه‌های حفاظتی استفاده

از جمله فرآورده‌های گوشتی که به دلیل تنوع، راحتی در مصرف و اقتصادی بودن رایج گشته سوسیس و کالباس‌های امولسیون‌بسته‌بندی می‌باشند، که منبع مهم پروتئینی هستند و ارزش بیولوژیک بالایی دارند (۳). از آنجا که سوسیس‌ها و سایر محصولات گوشتی به علت چاشنی، ادویه و موادی که در فرمولاسیون آنها اضافه می‌شود دارای منابع آلوده کننده بیشتری نسبت به گوشت خام می‌باشند، تلاش‌های زیادی در استفاده از راه‌های نوین حفاظت غذا به همراه روش‌های نگهداری و بسته‌بندی متعارف در جهت کنترل آلودگی و رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و فسادزا در گوشت خام و پروسه شده صورت گرفته است (۲ و ۲۱). یکی از راه‌های کاربردی

^۱ دانش‌آموخته بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

^۲ استاد گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

^۳ استاد گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

^۴ دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

از باکتریوسین‌ها است. امروزه تنها باکتریوسینی که مؤسسه غذا و داروی ایالات متحده آمریکا استفاده از آن را به شکل خالص در مواد غذایی مجاز دانسته است نایسین می‌باشد (۱۴). نایسین توسط سویه‌های متعددی از جنس لاکتوکوکوس لاکتیس تولید می‌شود که متعلق به گروه ۱ باکتریوسین‌ها (لانتی‌بیوتیک‌ها) است و به عنوان نگهدارنده مواد غذایی به کار می‌رود (۷). نایسین روی باکتری‌های گرم مثبت بیماری‌زا و فسادزای غذایی به خصوص باکتری‌های اسید لاکتیک که از مهمترین عوامل فساد در محصولات گوشتی پخته، وکیوم شده و یا MAP¹ هستند (۱۹ و ۳۰) اثر مهاری دارد ولی بر رشد باکتری‌های گرم منفی، کپک‌ها و مخمرها تأثیری ندارد (۹ و ۳۲). بنابراین از آن جا که باکتری‌های گرم منفی برخلاف باکتری‌های گرم مثبت معمولاً در برابر باکتریوسین‌ها حساس نیستند ولی به گاز دی‌اکسیدکربن تولید شده در بسته‌بندی تحت خلاء حساس می‌باشند، استفاده از نایسین به همراه این روش می‌تواند به عنوان مانع تکمیلی در جلوگیری از فساد مواد غذایی سودبخش باشد. هدف از این تحقیق بررسی اثر نایسین بر روی خصوصیات میکروبی، شیمیایی و حسی کالباس‌های امولسیون‌بسته‌بندی شده تحت خلاء می‌باشد.

مواد و روش کار

تهیه محلول نایسین

نایسین (لاکتوکوکوس لاکتیس تحت گونه لاکتیس) از کمپانی سیگما (N5764) تهیه گردید. محلول ذخیره به غلظت ۳۰ میکروگرم در میلی‌لیتر با حل کردن نایسین در آب مقطر پیش از استفاده آماده گردید (۱۷ و ۳۰).

تهیه و بسته‌بندی کالباس

کالباس امولسیون‌بسته بر طبق فرمولاسیون و پروسه تولیدی شرکت صنایع گوشت شام‌شام شیراز تهیه شد.

1- Modified Atmosphere Packaging (MAP)

فرمول به کار رفته در تهیه محصول شامل: ۶۰٪ گوشت چرخ شده گاو، ۱/۵٪ نمک طعام، ۱۵٪ روغن نباتی، ۱۷٪ آب و یخ، ۵٪ آرد و گلوتن، ۱۵۶ ppm نیتریت سدیم، ۱/۵٪ تری‌سدیم فسفات، مونوسدیم گلوتامات، سدیم آسکوربات، شکر و ادویه بود. همگی این مواد در دستگاه چاپ‌ریز و مخلوط گردیدند. در نهایت فارش به دست آمده به دو بخش مساوی تقسیم شد. مقدار ppm ۳۰ نایسین به یک قسمت (گروه تیمار) و به همین میزان آب به قسمت دیگر (گروه کنترل) اضافه شده و به خوبی مخلوط شد. خمیر تولیدی در پوشش‌های سلولزی با ضخامت ۷۰ میلی‌متر توسط دستگاه فیلر اتوماتیک پر گردید و به مدت ۹۰ دقیقه در اتاق پخت در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد کردن محصول با آب سرد، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد و سپس پوشش آن برداشته شد و برش‌هایی با ضخامت ۱/۷ میلی‌متر توسط دستگاه برش دهنده اتوماتیک تهیه شد. از محصول به دست آمده نمونه‌هایی در مقادیر ۱۵۰ گرم برداشته و تحت شرایط خلاء بسته‌بندی شدند. برای این کار، نمونه‌ها در پلاستیک‌هایی از جنس پلی‌اتیلن - پلی‌آمید (P.P) قرار گرفته و توسط دستگاه ایجادکننده خلاء مدل PNC 30 بسته‌بندی شدند.

نمونه‌ها به مدت ۴۲ روز در دمای ۳±۱ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای انجام آزمایش‌های میکروبی و شیمیایی، نمونه‌برداری به صورت تصادفی هر هفت روز یک بار انجام شد. به منظور اطمینان از درستی کار و کاهش خطا، کل ارزیابی‌ها در دو تکرار انجام گرفت و کل مطالعه در سه مرحله تکرار شد.

آزمایش‌ها

آزمایش‌های میکروبی

برای انجام آزمایش‌های میکروبی بسته‌ها تحت شرایط استریل باز شده و محتوی آنها با دستگاه مخلوط کن به خوبی چرخ شدند، سپس ۱۰ گرم از نمونه چرخ شده به

دقت وزن و ۹۰ میلی لیتر آب پپتونه ۰/۱ درصد به آن اضافه گردید. نمونه در استوماکر به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق هموزن گشته و سپس رقیق سازی متوالی با آب پپتونه انجام گرفت. برای کشت سطحی و کشت مخلوط به ترتیب ۰/۱ و ۱ میلی لیتر از نمونه در رقت مناسب استفاده شد. برای هر رقت دو پلیت کشت داده شد. برای جداسازی و شمارش باکتری های سایکروتروف و مزوفیل هوازی از محیط پلیت کانت آگار^۱ و روش کشت مخلوط استفاده شد. کلونی ها پس از ۴۸ ساعت انکوبه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد (برای باکتری های مزوفیل) و ۱۰ روز انکوبه گذاری در دمای ۷ درجه سانتی گراد (برای باکتری های سایکروتروف) شمارش شدند. برای ارزیابی لاکتیک اسید باکتری ها از روش کشت مخلوط و شرایط بی هوازی بر روی محیط من روگوزا شارپ مدیوم^۲ استفاده شد و پلیت ها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۹۶ ساعت انکوبه گذاری و کلونی ها شمارش شدند. برای شمارش کپک ها و مخمرها از محیط سابورود دکستروز آگار^۳ حاوی ۱۵۰ میلی گرم در لیتر تتراسایکلین با دمای انکوبه گذاری ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ روز استفاده شد. محیط ویولت رد بایل گلوکز آگار^۴ برای شمارش انتروباکتریاسه ها استفاده شد، که در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند.

دقت وزن و ۹۰ میلی لیتر آب پپتونه ۰/۱ درصد به آن اضافه گردید. نمونه در استوماکر به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق هموزن گشته و سپس رقیق سازی متوالی با آب پپتونه انجام گرفت. برای کشت سطحی و کشت مخلوط به ترتیب ۰/۱ و ۱ میلی لیتر از نمونه در رقت مناسب استفاده شد. برای هر رقت دو پلیت کشت داده شد. برای جداسازی و شمارش باکتری های سایکروتروف و مزوفیل هوازی از محیط پلیت کانت آگار^۱ و روش کشت مخلوط استفاده شد. کلونی ها پس از ۴۸ ساعت انکوبه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد (برای باکتری های مزوفیل) و ۱۰ روز انکوبه گذاری در دمای ۷ درجه سانتی گراد (برای باکتری های سایکروتروف) شمارش شدند. برای ارزیابی لاکتیک اسید باکتری ها از روش کشت مخلوط و شرایط بی هوازی بر روی محیط من روگوزا شارپ مدیوم^۲ استفاده شد و پلیت ها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۹۶ ساعت انکوبه گذاری و کلونی ها شمارش شدند. برای شمارش کپک ها و مخمرها از محیط سابورود دکستروز آگار^۳ حاوی ۱۵۰ میلی گرم در لیتر تتراسایکلین با دمای انکوبه گذاری ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ روز استفاده شد. محیط ویولت رد بایل گلوکز آگار^۴ برای شمارش انتروباکتریاسه ها استفاده شد، که در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد برای ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شدند.

تعیین pH

برای تعیین pH مطابق روش Martinez و همکاران (۲۰۰۵) میزان ۳ گرم از نمونه هموزنیزه شده با ۲۷ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت ۱۰ ثانیه در دور ۱۳۰۰ (RPM) سانتریفیوژ شدند (۲۳). سپس pH آنها با استفاده از pH متر اندازه گیری شد. هر اندازه گیری دو بار تکرار شد و میانگین آنها گزارش شد.

آنالیز اکسیداسیون لیپیدها

اکسیداسیون لیپیدها با استفاده از روش 2- thiobarbituric acid (TBA) که توسط Botsoglou و همکاران (۱۹۹۴) توضیح داده شده است، انجام شد (۴). میزان thiobarbituric acid-reactive (TBARs) substances نشان دهنده ماکروگرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم نمونه است.

اندازه گیری نیتروزومیوگلوبین

برای اندازه گیری میزان نیتروزومیوگلوبین در نمونه ها از روش اسپکتوفتومتری استفاده شد (۵). به ۱۰ گرم از کالباس چرخ شده ۴۰ میلی لیتر استون و ۳ میلی لیتر آب مقطر افزوده و به خوبی مخلوط شدند. نمونه ها به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۷۹۰g سانتریفیوژ شدند. در نهایت جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر توسط

برای شمارش سودوموناس ها، پس از تهیه و استریل کردن محیط پایه کینگ مطابق دستورالعمل شرکت سازنده، در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به آن مکمل CN که شامل ستریماید^۵ (۲۰۰ mg/L) و سدیم نالیدکسیک^۶ (۱۵ mg/L) بود، افزوده شد و برای شمارش بروکوتریکس ترموسفاکتا به محیط فوق الذکر سولفات استرپتومایسین^۷

- 1- Plate Count Agar
- 2- Man Rogosa Sharpe Medium (MRS)
- 3- Sabouraud dextrose agar
- 4- Violet red bile glucose (VRBG) agar
- 5- Cetrimide

- 6- Sodium nalidixate
- 7- Streptomycin Sulfate
- 8- Thallous Acetate
- 9- Cycloheximide
- 10- Actinidine

دستگاه اسپکتوفتومتر در حضور شاهد (استون و آب) خوانده شد.

غیرپارامتریک با آزمون Kruskal-wallis آنالیز شدند. سطح معنی‌دار در حد ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

ارزیابی رنگ محصول

۳۰ دقیقه پس از باز کردن بسته و پایدار شدن رنگ محصول در مواجهه با هوا، سه فاکتور روشن بودن L^* ، قرمز بودن a^* و زرد بودن b^* با استفاده از یک دوربین دیجیتال ارزیابی شد. نمونه‌ها در یک جعبه مقوایی به ابعاد $۶۰ \times ۵۰ \times ۵۰$ با فاصله ۳۰ سانتی‌متری از دوربین و عمود بر آن، روی یک صفحه سفید قرار گرفت. یک لامپ نوری ۲۰ وات نیز به عنوان منبع نور با زاویه ۴۵ درجه نسبت به نمونه‌ها در جعبه قرار گرفت. در نهایت تصویر دیجیتال گرفته شده توسط نرم‌افزار فتوشاپ آنالیز گردید و میانگین ۶ عدد به دست آمده در هر تکرار، گزارش شد (۳۳).

ارزیابی حسی فرآورده

مطابق روش بکار رفته توسط Djenane و همکاران (۲۰۰۱) تعداد ۶ نفر از افراد آموزش دیده (کارشناسان کارخانه تولید کننده سوسیس) برای ارزیابی حسی محصول از لحاظ رنگ، بو، طعم، قوام و ظاهر آن انتخاب شدند. امتیازدهی فرآورده بر اساس سیستم ۵ تایی به صورت زیر انجام گرفت: ۵=عالی، ۴=خوب، ۳=قابل قبول، ۲=ضعیف و ۱=غیر قابل قبول. در نهایت میانگین امتیاز داده شده توسط افراد در هر تکرار محاسبه و برای فرآورده گزارش گردید (۱۱).

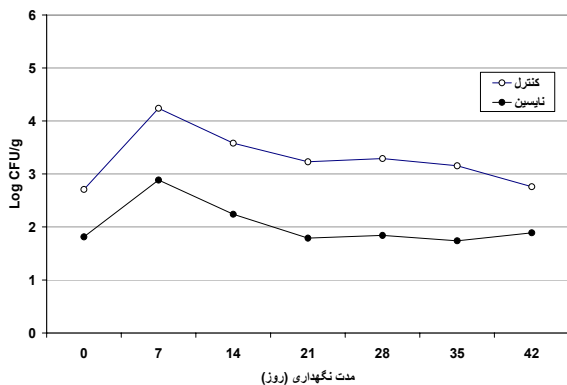
روش‌های آنالیز آماری

با استفاده از نرم‌افزار SPSS، داده‌های پارامتریک با آزمون آماری One way ANOVA و آزمون تعقیبی Duncan's برای مقایسه بین گروه‌ها و Repeated measures ANOVA برای مقایسه زمان‌های مختلف هر گروه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و داده‌های

نتایج

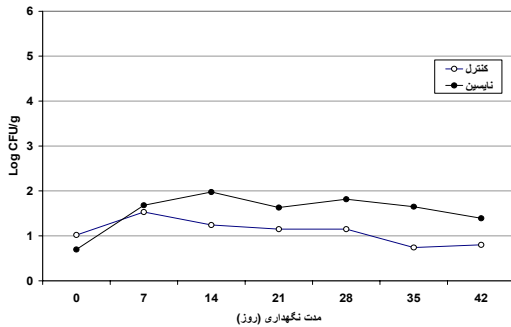
آنالیز میکروبی

نتایج شمارش باکتری‌های مزوفیل و سایکروتروف هوازی در مدت زمان نگهداری در نمودار ۱ و ۲ نشان داده شده است. بر اساس نتایج حاصله مشخص شد که رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی در گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0/05$ ، نمودار ۱). به طوری که در گروه کنترل باکتری از $2/71 \log \text{cfu g}^{-1}$ در مدت ۳۵ روز به $3/16 \log \text{cfu g}^{-1}$ افزایش یافت و در گروه تیمار تعداد باکتری از $1/74 \log \text{cfu g}^{-1}$ در مدت ۳۵ روز به $1/81 \log \text{cfu g}^{-1}$ رسید. همچنین رشد باکتری‌های سایکروتروف هوازی نیز در گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0/05$ ، نمودار ۲).



نمودار ۱: اثر متقابل نایسین (30ppm) و بسته‌بندی تحت خلاء بر رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی در کالباس امولسیون‌ی در طی ۴۲ روز نگهداری در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد

آماري تفاوت معنی داری نداشت. تعداد آنها در دو گروه کنترل و تیمار در مدت ۴۲ روز از ۰/۷۰ و ۱/۰۲ به ترتیب به $1/39$ و $0/80 \log \text{cfu g}^{-1}$ افزایش یافت ($P > 0/05$)، نمودار ۴).



نمودار ۴: اثر متقابل نایسین (30ppm) و بسته‌بندی تحت خلاء بر رشد کپک‌ها و مخمرها در کالباس امولسیوني در طی ۴۲ روز نگهداری در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد

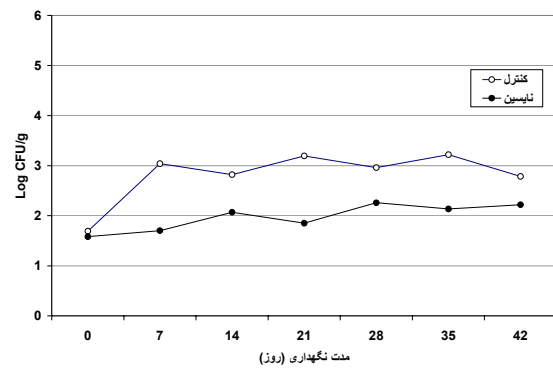
باکتری‌های سودوموناس، بروکوتریکس و انتروباکتریاسه‌ها در طول مدت آزمایش در هر دو گروه کنترل و تیمار رشد قابل تشخیصی نداشتند و قابل شمارش نبودند.

اندازه‌گیری pH

میزان pH در گروه تیمار و کنترل در طول مدت نگهداری ثابت باقی ماند و افزودن نایسین بر میزان pH تأثیری نداشت. میزان آن در نمونه‌ها در زمان شروع آزمایش در دامنه ۶/۴۸-۶/۴۹ و در زمان پایان دوره در حدود ۶/۵۱-۶/۵۴ بود.

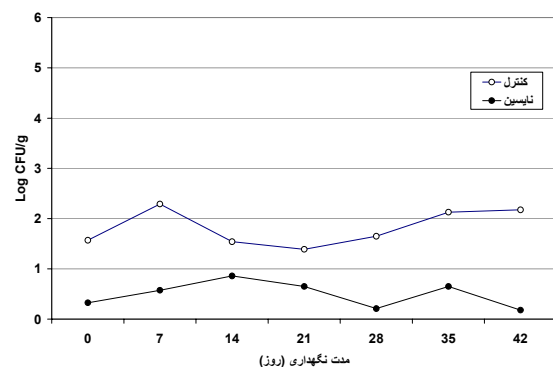
اکسیداسیون لیپیدها

میزان TBARs که بیان‌کننده میزان $(\mu\text{g kg}^{-1})$ مالون دی‌آلدئید است در طول مدت نگهداری به طور معنی‌داری در هر دو گروه کاهش یافت ($P < 0/05$). میزان آن از حدود $64 \mu\text{g kg}^{-1}$ در ابتدای دوره به حدود $33 \mu\text{g kg}^{-1}$ در انتهای دوره نگهداری رسید. اما بین گروه کنترل و تیمار تفاوت معنی‌داری دیده نشد ($P < 0/05$).



نمودار ۲: اثر متقابل نایسین (30ppm) و بسته‌بندی تحت خلاء بر روی رشد باکتری‌های سایکروتروف هوازی در کالباس امولسیوني در طی ۴۲ روز نگهداری در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد

نتایج به دست آمده نشان داد که رشد باکتری‌های اسید لاکتیک در گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل در مدت ۴۲ روز به طور معنی‌داری مهار شد. در حالی که تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در گروه کنترل از $1/57$ به $2/18 \log \text{cfu g}^{-1}$ در طول مدت نگهداری افزایش یافت اما در گروه تیمار ($P < 0/05$) تا پایان دوره رشدی مشاهده نشد (نمودار ۳).



نمودار ۳: اثر متقابل نایسین (30ppm) و بسته‌بندی تحت خلاء بر روی رشد لاکتیک اسید باکتری‌ها در کالباس امولسیوني در طی ۴۲ روز نگهداری در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد

نتایج نشان داد که رشد کپک و مخمر در گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل در طول مدت نگهداری از نظر

اندازه‌گیری نیتروزومیوگلوبین

میزان نیتروزومیوگلوبین در طول مدت نگهداری به طور معنی‌داری در هر دو گروه کاهش یافت ($P < 0/05$) و از $0/60$ و $0/51$ در گروه کنترل و تیمار در زمان شروع آزمایش به $0/30$ و $0/28$ (به ترتیب) در انتهای دوره آزمایش رسید، اما در بین گروه‌های مورد آزمایش تفاوت معنی‌داری دیده نشد ($P < 0/05$).

ارزیابی رنگ

تغییر در سه فاکتور L^* ، a^* و b^* در طول مدت نگهداری در دو گروه کنترل و تیمار از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0/05$). فاکتور a^* با میزان قرمزی محصول در تمام نمونه‌ها در طول هفته اول کاهش یافت، اما پس از آن در طی دوره نگهداری ثابت مانده و تغییر چندانی نداشت. فاکتور زردی (b^*) و فاکتور روشنایی (L^*) نیز در طول دوره آزمایش ثابت ماند.

ارزیابی حسی

نتایج به دست آمده نشان داد خصوصیات حسی (رنگ، بو، طعم و بافت) در طول دوره نگهداری به طور معنی‌داری در تمامی گروه‌ها کاهش یافته است ($P < 0/05$). طعم فرآورده در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل پایین‌تر گزارش شد که به دلیل تلخی ناشی از اضافه کردن نایسین بود.

بحث

از گذشته تا به امروز تحقیقات وسیعی در مورد اثر بسته‌بندی بر روی ماندگاری محصول‌های غذایی و همچنین اثر مهاری نایسین بر ارگانیزم‌های مختلف انجام گرفته است. مطالعه حاضر نشان داد که در کالباس‌های بسته‌بندی شده تحت خلاء در گروه کنترل (بدون نایسین) رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی در مقایسه با گروه تیمار بالاتر بود و تفاوت معنی‌داری وجود داشت. این امر

می‌تواند به دلیل رشد باکتری‌های اسید لاکتیک به دلیل عدم حساسیت نسبی به نیتريت باشد که فلور غالب در این نمونه‌ها را تشکیل می‌دهد. با توجه به اثر مهاری نایسین روی این دسته از باکتری‌ها، تعداد کلی باکتری‌ها در گروه تیمار کمتر از گروه کنترل بود. Economou و همکاران در سال (۲۰۰۹) مشاهده کردند که رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی در نمونه‌های گوشت مرغ بسته‌بندی شده در اتمسفر تغییر یافته با ترکیب گازی ($CO_2/N_2/O_2$; 65%/30%/5%) در غیاب نایسین در مدت ۴۲ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بالاتر از میزان رشد این باکتری‌ها در نمونه‌های حاوی نایسین است و این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$) (۱۲). Ercolini و همکاران در سال (۲۰۱۰) در بررسی‌های خود نشان دادند که رشد باکتری‌های قابل شمارش در گوشت گاو نگهداری شده در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۲ روز در بسته‌بندی با پوشش‌های ضد میکروبی فعال شده با نایسین در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری کمتر می‌باشد (۱۳). افزایش در رشد باکتری‌های سایکروتروف هوازی در گروه کنترل نسبت به گروه تیمار نیز می‌تواند به دلیل تغییر در فلور میکروبی به سمت باکتری‌های اسید لاکتیک بوده باشد، که به خوبی توسط نایسین مهار می‌شوند. نتایج حاضر نشان داد که رشد باکتری‌های اسید لاکتیک در گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل به طور مشخصی مهار شد، که بیانگر این مطلب است که رشد باکتری‌های گرم مثبت از جمله باکتری‌های اسید لاکتیک توسط نایسین مهار می‌شود و منجر به افزایش ماندگاری محصول می‌گردد. در یک بررسی صورت گرفته توسط Davies و همکاران (۱۹۹۹) اثر ضد میکروبی نایسین را روی باکتری‌های اسید لاکتیک در سوسیس بلونیا^۱ و کیوم^۱ مشاهده کردند و بیان کردند که میزان چربی بر روی فعالیت نایسین اثری ندارد، اما نوع فسفات استفاده شده به عنوان امولسیفایر می‌تواند در

غلظت کربوهیدرات در این نمونه‌ها بوده باشد. در بررسی‌های Geomaras و همکاران (۲۰۰۴) بر روی نمونه‌های سوسیس بلونیا، فرانکفورتر و گوشت خوک مشخص گردید که نایسین بر میزان pH این نمونه‌ها تأثیری ندارد (۱۶). Hampikyan و Ugar (۲۰۰۷) اثر نایسین را بر باکتری لیستریا مونوسیژنز در سوسیس‌های تخمیری مطالعه کردند و بر اساس نتایج به دست آمده نشان دادند که میزان کاهش pH در بین گروه‌ها با افزودن غلظت‌های مختلف نایسین تفاوتی ندارد (۱۷). بر اساس مطالعات Ercolini و همکاران (۲۰۱۰) و Economou و همکاران (۲۰۰۹) تغییری در میزان pH در گوشت گاو بسته‌بندی شده با پوشش ضد میکروبی فعال شده با نایسین و گوشت مرغ تیمار شده با نایسین در مقایسه با نمونه‌های بدون نایسین مشاهده نکردند (۱۲ و ۱۳).

وجود برخی از آنتی‌اکسیدان‌ها در روغن گیاهی و افزودن نیتريت به فرآورده می‌تواند از افزایش اکسیداسیون لیپیدها در نمونه‌ها جلوگیری کند و کاهش میزان TBARS در طول مدت نگهداری می‌تواند مربوط به واکنش مالون-دی‌آلدهید با اسیدآمینه، فندها و نیتريت موجود در فرمولاسیون ترکیب باشد (۲۰). نوع گوشت مورد استفاده در تهیه محصول نیز به خاطر مقدار متفاوت آهن موجود در آن، فاکتور مهمی در اکسیداسیون لیپیدها به شمار می‌رود (۱۵). آهن یک پروموتور در واکنش اکسیداسیون لیپیدها است و تمامی فرم‌های آن قادرند که ROOH و H₂O₂ را به رادیکال‌های آزاد تجزیه کنند (۶). Rubio و همکاران (۲۰۰۸) در نتایج خود بیان داشتند که در سوسیس تخمیری و خشک بسته‌بندی شده به صورت (وکيوم و ترکیب گازی حاوی 20% CO₂/80% N₂) مدت زمان نگهداری محصول بر میزان TBA به طور مشخصی اثر گذاشته و سبب کاهش میزان آن در انتهای دوره نگهداری می‌شود (۲۹). Ansorena و Astiasaran (۲۰۰۴) بر روی سوسیس‌های تخمیری و خشک شده دارای روغن زیتون و آنتی‌اکسیدان و Nassu و همکاران (۲۰۰۳) بر روی سوسیس‌های تخمیری تهیه شده از

عملکرد نایسین در مهار این باکتری‌ها مؤثر باشد (۱۰). Collins-Thompson و همکاران (۱۹۸۵) نیز نشان دادند که رشد باکتری‌های اسید لاکتیک محصولات تخمیری عمل‌آوری شده، با افزودن نایسین مهار می‌شود (۸). Rozbeh و همکاران (۱۹۹۳) نیز نتایج مشابهی درباره اثر نایسین روی گوشت گاو و کيوم شده گزارش کرده‌اند (۲۸). Pexara و همکاران (۲۰۰۲) اثر بسته‌بندی در اتمسفر تغییر یافته و بسته‌بندی و کيوم را در دو دمای ۴ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد بر ماندگاری فیله بوقلمون پخته و عمل‌آوری شده و سوسیس پخته شده مورد بررسی قرار دادند و تفاوت مشخصی بین MAP و بسته‌بندی در حلاء بر رشد باکتری‌های اسید لاکتیک در نمونه‌ها در هر دو دما مشاهده نکردند و گزارش نمودند که MAP بر روی ماندگاری محصول بی‌تأثیر بوده است (۲۷). نتایج حاصله از این مطالعه نشان داد که نایسین بر رشد کپک‌ها و مخمرها تأثیری ندارد، زیرا این ارگانیزم‌ها به دلیل ساختار غشای خارجی‌شان به مولکول‌هایی مانند نایسین اجازه نمی‌دهد که به محل عمل خود که غشای سیتوپلاسمی است، برسند و این ماده بر روی رشد آنها تأثیری ندارد، اما محیط‌های بی‌هوایی می‌تواند بر رشد این میکروارگانیزم مؤثر باشد. در مورد عدم رشد باکتری‌های بروکوتریکس ترموسفاکتا و انتروباکتریاسه نیز دلیل امر، تولید بهداشتی محصول و همچنین وجود نیتريت در نمونه‌ها است که باعث مهار رشد آنها شده و در نتیجه باکتری‌های اسید لاکتیک به دلیل عدم حساسیت به نیتريت فلور غالب را تشکیل دادند.

در این مطالعه میزان pH در طول دوره نگهداری ثابت بود. معمولاً تا زمانی که جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک در سطح محصول به ۱۰^۷ cfu/g نرسیده باشد، غلظت اسید لاکتیک شروع به افزایش نمی‌کند، در نتیجه نمی‌تواند تغییر چندانی در میزان pH ایجاد کند (۲۲). از طرفی کاهش pH در محصولات گوشتی به میزان کربوهیدرات‌های قابل تخمیر وابسته است و ثابت ماندن pH در مطالعه انجام شده می‌تواند به دلیل پایین بودن

نتیجه‌گیری

امروزه، فواید استفاده از روش‌های مختلف بسته‌بندی در حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری محصولات غذایی و به ویژه در گوشت و فرآورده‌های گوشتی بخوبی شناخته شده است. همچنین با توجه به گسترش تقاضا برای به حداقل رساندن پروسه‌های مواد غذایی با حداقل مواد نگهدارنده و افزایش سلامت و نیمه عمر مواد غذایی تولیدی استفاده از روش‌های جدید نگهداری مانند بکارگیری باکتریوسین‌ها را افزایش می‌دهد. شواهد زیادی مبنی بر مؤثر بودن نایسین در نگهداری فرآورده‌های گوشتی به خصوص زمانی که میکرواگانیزم‌های اصلی فسادزا باکتری‌های اسید لاکتیک باشد، وجود دارد. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان بیان داشت که نایسین از رشد باکتری‌های مزوفیل و سایکروتروف هوازی و باکتری‌های اسید لاکتیک جلوگیری می‌کند اما بر رشد کپک‌ها و مخمرها تأثیری ندارد. همچنین عدم وجود اکسیژن در گروه وکیوم سبب پایداری رنگ و عدم تشکیل نیتروزومیوگلوبین در نمونه‌ها گردید. همچنین بسته‌بندی و غلظت نایسین به کار رفته در این آزمایش بر رنگ، میزان PH و TBARS محصول تأثیری نداشت. در آزمون حسی خصوصیات ارگانولپتیکی در طول دوره نگهداری کاهش یافتند و با توجه به طعم تلخی در نایسین افزوده شده، نمونه‌های تیمار شده با این ماده امتیاز کمتری از نظر طعم داشتند. لازم به توضیح است که در این تحقیق به منظور افزایش دقت کار از نایسین آزمایشگاهی با خلوص بالا استفاده شد و این امر موجب کمی طعم تلخی در نمونه‌ها شد اما نایسین قابل مصرف در مواد غذایی هرچند که خلوص کمتری دارند اما فاقد طعم تلخ می‌باشد و از این نظر اثر سوئی روی طعم محصول ندارند. این تحقیق نشان داد که افزودن نایسین به کالباس‌های آمولسیون می‌تواند به افزایش کیفیت و ماندگاری محصول کمک کند. در نهایت با توجه به نتایج بدست آمده بکارگیری نایسین با روش وکیوم قابل توصیه می‌باشد.

گوشت بز نتایج مشابهی را برای میزان TBA گزارش کردند (۱ و ۲۵).

حضور اکسیژن در طول دوره نگهداری برای تشکیل رنگدانه اکسی‌میوگلوبین، که رنگ قرمز روشن مطلوبی در گوشت ایجاد می‌کند، بسیار مهم است، اما غلظت بالای آن در بسته‌بندی برای نگهداری طولانی مدت مطلوب نیست زیرا منجر به اکسیداسیون میوگلوبین می‌شود (۲۴). کاهش میزان رنگ قرمز محصول با افزایش غلظت اکسیژن بیشتر می‌شود و غلظت بالای اکسیژن برای حفظ ثبات رنگ زیان‌آور است. بر خلاف کاهش میزان نیتروزومیوگلوبین علت پایدار بودن رنگ در نمونه‌های وکیوم شده، می‌تواند به خاطر میزان بسیار کم اکسیژن باقیمانده باشد. عدم وجود اکسیژن می‌تواند بخوبی میوگلوبین را از اکسید شدن محافظت کند و از تشکیل مت‌میوگلوبین جلوگیری کند.

Martinez و همکاران (۲۰۰۶) مشاهده کردند که در نمونه‌های سوسیس تازه گوشت خوک بدون اکسیژن (وکیوم شده یا حاوی جاذب اکسیژن) فاکتور a^* در تمام طول دوره نگهداری ثابت می‌ماند (۲۴). پارامتر زردی (b^*) که مربوط به شدت واکنش اکسیداسیون است و میزان روشنایی (L^*) در طی دوره آزمایش ثابت ماند، که در مورد b^* value می‌تواند به خاطر وجود نیتريت در نمونه‌ها باشد که با میوگلوبین واکنش داده و تولید نیتروزومیوگلوبین می‌کند که در این فرم نمی‌تواند به عنوان کاتالیزور در واکنش اکسیداسیون لیپیدها عمل کند. Harms و همکاران (۲۰۰۳) و Rubio و همکاران (۲۰۰۸) نیز نتایج مشابهی را در سوسیس عمل‌آوری شده و سوسیس تخمیری و خشک شده به دست آوردند (۱۸ و ۲۹). در نتایج بررسی Parra و همکاران (۲۰۰۹) میزان روشنایی با نوع ترکیب گاز و مدت زمان نگهداری تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد و در تمام طول دوره آزمایش ثابت باقی می‌ماند. Sanchez-Rodriguez و همکاران بیان داشتند که میزان آب و رطوبت محصول فاکتور مهمی در ارزیابی L^* value است (۲۶).

- 1- Ansorena D. and Astiasaran I. (2004). Effect of storage and packaging on fatty acid composition and oxidation in dry fermented sausages made with added olive oil and antioxidants. *Meat Science*, 67: 237–244.
- 2- Aymerich T., Picouet P.A. and Monfort J.M. (2008). Decontamination technologies for meat products. *Meat Science*, 78: 114–129.
- 3- Beriain M.J., Chasco J. and Lizaso G. (2000). Relationship between biochemical and sensory quality characteristics of different commercial brands of salchichon. *Food Control*, 11, 231–237.
- 4- Botsoglou N.A., Fletouris D.J., Papageorgiou G.E., Vassiliopoulos V.N., Mantis A.J. and Trakatellis A.G. (1994). Rapid, Sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42: 1931–37.
- 5- Bozkurt H. and Erkmén O. (2004). Effect of nitrate/nitrite on the quality of sausage (Sucuk) during ripening and storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84: 279–286.
- 6- Carlsen C.U., Moller J.K.S. and Skibsted L.H. (2005). Heme iron in lipid oxidation. *Coordination Chemistry Reviews*, 249: 485–498.
- 7- Cheigh C.I. and Pyun Y.R. (2005). Nisin biosynthesis and its properties: A Review. *Journal of Biotechnology Letters*, 27: 1641–48.
- 8- Collins-Thompson D.L., Calderon C. and Osborne W.R. (1985). Nisin Sensitivity of lactic acid bacteria isolated from cured and fermented meat products. *Journal of Food Protection*, 48: 668–670.
- 9- Coma V. (2008). Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products: A Review. *Meat Science*, 78: 90–103.
- 10- Davies E.A., Milne C.F., Bevis H.E., Potter R.W., Harris J.M., Williams G.C. and et al. (1999). Effective use of nisin to control lactic acid bacterial spoilage in vacuum packed bologna-type sausage. *Journal of Food Protection*, 62:1004–10.
- 11- Djenane D., Sanchez-Escalante A., Beltran J.A. and Roncales P. (2001). Extension of the retail display life of fresh beef packaged in modified atmosphere by varying lighting conditions. *Journal of Food Science*, 66: 181–186.
- 12- Economou T., Pournis N., Ntzimani A. and Savvaidis I.N. (2009). Nisin–Edta treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life. *Food Chemistry*, 114: 1470–76.
- 13- Ercolini D., Ferrocino I., La Stora A., Mauriello G., Gigli S., Masi P. and et al. (2010). Development of spoilage microbiota in beef stored in nisin activated packaging. *Food Microbiology*, 27: 137–143.
- 14- Federal Register (1988). Federal Register, Nisin Preparation: affirmation of gras status as a direct human food ingredient. *Federal Register*, 54: 11247–11251.
- 15- Fiore A.G., De Pilli T. and Severini C. (2007). Effect of the reduction or total replacement of pork back fat with extra-virgin olive oil on quality of turkey “salami”. *Proceedings of the International Symposium of Meat Safety, From Abattoir to Consumer, Valencia, Spain*, 259–264.
- 16- Geornaras I., Belk K.E., Scanga J.A., Kendall P.A., Smith G.C. and Sofos J.N. (2004). Control of *L. monocytogenes*, on inoculated commercial ham and bologna slices by dipping in antimicrobial solutions. *Departmental Research Reports, Department Of Food Science And Human Nutrition, Colorado State University, Abd.* pp: 254–255.
- 17- Hampikyan H. and Ugar M. (2007). The effect of nisin on *L. monocytogenes* in Turkish fermented sausages (sucuks). *Meat Science*, 76: 327–332.
- 18- Harms C., Fuhrmann H., Nowak B., Wenzel S. and Sallmann H.P. (2003). Effect of dietary vitamin e supplementation on the shelf life of cured pork sausage. *Meat Science*, 63: 101–105.
- 19- Holley R.A. (1997). Asymmetric distribution and growth of bacteria in sliced vacuum-packaged ham and bologna. *Journal of Food Protection*, 60: 510–519.
- 20- Janero D.R. (1990). Malonaldehyde and thiobarbituric acid reactivity as diagnostics indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radicals Biology & Medicine*, 9: 515–540.
- 21- Jay J.M. (2000). *Modern Food Microbiology*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland. 6th ed. USA. pp: 87–96.
- 22- Korkeala H., Alanko T., Makela P. and Lindroth S. (1990). Lactic acid and pH as quick indicators of spoilage in vacuum-packed cooked ring sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 10: 245–254.
- 23- Martinez L., Djenane D., Cilla I., Beltran J.A. and Roncales P. (2005). Effect of different concentrations of carbon dioxide and low concentration of carbon monoxide on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Meat Science*, 71: 563–570.

- 24- Martinez L., Djenane D., Cilla I., Beltran J.A. and Roncales P. (2006). Effect of varying oxygen concentrations on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Food Chemistry*, 94: 219-225.
- 25- Nassu R.T., Guaraldo-Goncalves L.A., Azebedo Pereira Da Silva M.A. and Becerra F.J. (2003). Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science*, 63: 43-49.
- 26- Parra V., Viguera J., Sanchez J., Peinado J., Esparrago F., Gutierrez J.I. and Andrés A.I. (2010). Modified atmosphere packaging and vacuum packaging for long period chilled storage of dry-cured iberian ham. *Meat Science*, 84: 760-768.
- 27- Pexara E.S., Metaxopoulos J. and Drosinos E.H. (2002). evaluation of shelf life of cured, cooked, sliced turkey fillets and cooked pork sausages "piroski" stored under vacuum and modified atmospheres at +4 and +10°C. *Meat Science*, 62: 33-43.
- 28- Rozbeh M., Kalchayanand N., Field R.A. Johnson M.C. and Ray B. (1993). The influence of biopreservatives on the bacterial level of refrigerated vacuum packaged Beef. *Journal of Food Safety*, 13: 99-111.
- 29- Rubio B., Martinez B., Garcia-Cachan M.D., Rovira J. and Jaime I. (2008). Effect of the packaging method and the storage time on lipid oxidation and colour stability on dry fermented sausage salchichon manufactured with raw material with a high level of mono and polyunsaturated fatty acids. *Meat Science*, 80: 1182-87.
- 30- Samelis J., Kakouri A. and Rementzis J. (2000). The Spoilage Microflora Of Cured, Cooked Turkey Breasts Prepared Commercially With Or Without Smoking. *International Journal of Food Microbiology*, 56: 133-143.
- 31- Soccol M.C.H. and Oetterer M. (2003). Use of modified atmosphere in seafood preservation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46 (4): 569-580.
- 32- Thomas L.V., Clarkson M.R. and Delves-Broughton J. Nisin. In: Naidu A.S (2000). *Natural food antimicrobial systems*. CRC Press, Boca-Raton, FL, pp: 463-524.
- 33- Yam K.L. and Papadakis S.E. (2004). A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*, 61: 137-142.