www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۳۹۶، جلد ۶، شماره ۱، صفحات ۸۶-۷۱
Doi: 10.22101/JRIFST.2017.05.22.616

JRIFST

تأثیر پوشش و فیلم مخلوط خوراکی کیتوزان ـ ژلاتین بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی ماهی‌شوریدهٔ بلانگر نگهداری‌شده در یخچال

جواهر ساکی[۱]، آی‌ناز خدانظری[۲*]، سیدمهدی حسینی[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات گرایش فراوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران
۲- استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران
* نویسندهٔ مسئول (khodanazary@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۰۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۲۴

واژه‌های کلیدی
پوشش
دولایه
ژلاتین
فیلم
کیتوزان

چکیده

قابلیت تشکیل فیلم و خواص حفاظتی ژلاتین و کیتوزان موجب شده که به‌عنوان پوشش‌ها و فیلم‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار بگیرند. در مطالعهٔ حاضر، اثر فیلم (مخلوط و دولایه) و پوشش (مخلوط و دولایه) تهیه‌شده از کیتوزان (۱ درصد وزنی/حجمی) و ژلاتین (۳ درصد وزنی/حجمی) در نگهداری فیلهٔ شوریدهٔ بلانگر (*Johnius belangerii*) در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد یخچال (۱±۴ درجهٔ سانتی‌گراد) به مدت ۱۶ روز مورد بررسی قرار گرفت. آزمون‌های میکروبی (بارمیکروبی کل، سرمادوست و انترباکتریاسه) بیانگر تأثیر ضدمیکروبی پوشش‌ها و فیلم‌های کیتوزان-ژلاتین بود اما بین خاصیت ضدمیکروبی فیلم و پوشش و همچنین بین انواع مخلوط و دولایه هریک تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. آزمون‌های شاخص اکسیداسیون چربی (تیوباربیتوریک اسید، اسید چرب آزاد) نیز حاکی‌از کمتر بودن میزان اکسیداسیون در نمونه‌های دارای فیلم و پوشش کیتوزان-ژلاتین نسبت به نمونهٔ شاهد (فیلهٔ فاقد پوشش و فیلم) بود. علاوه‌براین، در آزمون حسی (فیله‌های خام) مشاهده شد که فیلم‌ها و پوشش‌های به‌کاررفته ۴ روز بر ماندگاری فیله‌های نگهداری‌شده در یخچال افزود. بدین‌ترتیب اعمال کیتوزان-لاتین به‌عنوان پوشش و فیلم خوراکی (مخلوط و دولایه) منجربه‌افزایش عمر ماندگاری فیله (*Johnius belangerii*) در شرایط یخچال شد.

مقدمه

ماهی شوریدهٔ بلانگر[۱] از ماهیان دریایی پرطرفدار در جنوب کشور است (Jaafarzadeh Haghighi Fard *et al.*,2015) که منبع غنی مواد مغذی ازجمله اسیدچرب امگا-۳، پروتئین، مواد معدنی و ویتامین می‌باشد که به‌صورت تازه، منجمد و یا فیلهٔ منجمد به‌دست مصرف‌کنندگان می‌رسد. در سالهای اخیر پیشرفت‌های چشمگیری در زمینهٔ بسته‌بندی و با هدف بهبود خواص فیزیکی، شیمیایی و ارگانولپتیک محصولات غذایی صورت گرفته است (مرادی و همکاران ۱۳۸۹). امروزه در بسته‌بندی مواد غذایی، فیلم و پوشش‌های خوراکی در بسیاری موارد به‌طور کامل جایگزین فیلم‌های پلیمری سنتزی یا ترموپلاستیک[۲] شده‌اند. از آن جمله می‌توان به استفاده

[1] *Johnius belangerii*

[2] Thermoplastic

از انواع این پوشش‌ها و فیلم‌ها بر سطح فراورده‌های غذایی نظیر فراورده‌های قنادی، میوه‌ها و سبزی‌های تازه، برخی فراورده‌های گوشتی، طیور و ماهی، فراورده‌های منجمد، خشک‌شده و خشک‌شدهٔ انجمادی[1] و نظیر اینها اشاره داشت (مرتضویان و همکاران، ۱۳۸۹). یکی از راههای افزایش ماندگاری مواد غذایی طی دورهٔ نگهداری در سرما، استفاده از لایه‌های محافظتی از مواد طبیعی یا شیمیایی می‌باشد. پوشش‌های خوراکی لایه‌ای نازک از مواد قابل خوردن است که به شکل مایع بوده و با غوطه‌ورکردن محصول مورد نظر به‌صورت یک پوشش روی آن قرار می‌گیرد. فیلم‌های خوراکی یک لایهٔ نازک از مواد خوردنی است که در مرحله‌ای جداگانه به‌صورت ورقه‌های جامد ساخته شده سپس به شکل لفافی دور غذا پیچیده می‌شوند (Falguera *et al.*, 2011). مهم‌ترین مواد مورد استفاده در تهیهٔ فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی، پروتیین‌ها، پلی‌ساکاریدها و چربی‌ها می‌باشند که می‌توانند به‌صورت تک‌لایه از یک یا چند ماده و نیز به‌صورت چندلایه تهیه شوند (Rivero *et al.*, 2009). کیتوزان و ژلاتین به‌دلیل تشکیل لایه‌هایی با ویژگی مکانیکی مناسب و مقاوم در برابر نفوذ هوا مورد توجه بسیاری دراین‌زمینه قرار گرفته‌اند (Pereda *et al.*, 2011). پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی در مقایسه با انواع سنتزی از نقطه‌نظر حسی و کاری، دارای سازگاری بیشتر با غذا هستند. این فیلم‌ها باید به‌نحوی طراحی شوند که طی نگهداری و حمل‌ونقل سالم بمانند، اما طی فرایند مصرف نظیر پخت یا جویدن واپاشیده شوند (مرتضویان و همکاران، ۱۳۸۹). ژلاتین، پروتئینی است که از هیدرولیز کنترل‌شدهٔ کلاژن به‌دست می‌آید (Arvanitoyannis *et al.*, 1998). ژلاتین فیلم‌هایی با ویژگی مکانیکی مناسب و حفاظت خوب در برابر اکسیژن و بو در رطوبت نسبی کم و متوسط ایجاد می‌کند (Martucci & Ruseckaite, 2010). اما به‌دلیل آب‌دوست‌بودن، نسبت به رطوبت نفوذپذیر است. از راههای غلبه بر این محدودیت می‌توان ترکیب کردن آن با سایر پلیمرها و تهیهٔ فیلم چندلایه نام برد (Rivero *et al.*, 2009). کیتوزان، پلی‌ساکاریدی است که از استیل‌زدایی کیتین به‌دست می‌آید. اهمیت کیتوزان از جهت خاصیت ضدمیکروبی قوی، تولید فیلم خوب و اندکی خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (López- Caballero *et al.*, 2005). درهمین‌راستا تحقیق‌های قابل توجهی در توسعه و کاربرد بیوپلیمرهای استخراج‌شده از فراورده‌های طبیعی مختلف انجام گرفته است و بیوپلیمرهایی از قبیل نشاسته، مشتقات سلولز، کیتین، کیتوزان، صمغ‌ها، پروتئین‌ها (با منشاء حیوانی یا گیاهی) و چربی‌ها، جهت تهیهٔ فیلم‌ها و پوشش‌های نازک برای پوشاندن غذاهای تازه و یا پروسس‌شده مورد استفاده قرار می‌گیرند. این تکنولوژی علاوه‌بر داشتن فوایدی مانند قابلیت خوردن، ساختمان ظاهری زیبا، سازگاری با محیط، غیرسمی و ارزان بودن، مواد غذایی را از آسیب‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی حفظ می‌کند. باتوجه‌به تقاضای مصرف‌کنندگان جهت استفاده از مواد خوراکی با کیفیت بالا و نگرانی آنها به‌دلیل مشکلات ناشی از مصرف نگهدارنده‌های مصنوعی، ایدهٔ استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های زیست‌کافت با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی بالا به‌عنوان جایگزینی مناسب قوت گرفته است. لذا این مطالعه با هدف تعیین تأثیر استفاده از پوشش و فیلم مخلوط کیتوزان-ژلاتین بر کیفیت و ماندگاری فیلهٔ سرد ماهی شوریدهٔ بلانگر انجام گردید.

مواد و روش‌ها

تهیهٔ محلول کیتوزان

محلول کیتوزان با حل‌کردن ۱ درصد وزنی/حجمی کیتوزان (شرکت سیگما، وزن ملکولی متوسط، ویسکوزیته cp ۲۰۰-۸۰۰) در اسیداستیک ۱ درصد حجمی/حجمی به‌دست آمد (Ojagh *et al.*, 2010). برای حل‌شدن بهتر کیتوزان، محلول به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق با هم‌زن مغناطیسی هم‌زده شدند.

تهیهٔ محلول ژلاتین

ژلاتین پوست ماهیان سردابی (شرکت سیگما) به میزان ۳ درصد وزنی/حجمی در آب‌مقطر حل شد. به‌منظور تورم[2] و انحلال بهتر ابتدا در دمای ۷ درجهٔ

[1] Freeze-dried

[2] Swelling

سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجهٔ سانتی‌گراد حرارت داده و با همزن مغناطیسی همزده شدند (López-Caballero *et al*., 2005).

پوشش‌دهی نمونه‌ها

به‌منظور نرم‌شدن و انعطاف‌پذیرترشدن پوشش‌ها، ۰/۷۵ درصد (حجمی/حجمی) گلیسرول به‌عنوان نرم‌کننده به محلول اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه همزده می‌شود. پوشش‌دهی نمونه‌ها به دو صورت مخلوط و دولایه صورت می‌گیرد. برای ایجاد پوشش مخلوط، ابتدا محلول کیتوزان و محلول ژلاتین به نسبت ۴۰ به ۶۰ ترکیب شدند. فیله‌های ماهی مورد نظر به مدت ۱۵ دقیقه در محلول کیتوزان-ژلاتین غوطه‌ور شدند، سپس ۲ دقیقه از محلول خارج و مجدداً ۱۵ دقیقه در محلول غوطه‌ور شدند. پس از آن به مدت ۲ ساعت در دمای محیط (۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد) قرار داده شدند تا خشک‌شده و پوشش به دور فیله‌ها شکل بگیرد (Nowzari *et al*., 2013). برای پوشش دولایه در ۱۵ دقیقهٔ نخست فقط در محلول کیتوزان، ۲ دقیقه خارج و در ۱۵ دقیقهٔ دوم در محلول ژلاتین غوطه‌ور شدند و ۲ ساعت در دمای اتاق (۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد) قرار داده تا پوشش روی فیله‌ها تشکیل شود.

تهیهٔ فیلم‌های کیتوزان-ژلاتین

فیلم‌ها نیز به دو صورت مخلوط و دولایه تهیه شدند. فیلم دولایه با دو مرحله قالب‌ریزی در قالب‌های طلقی نچسب (۱۶×۲۷ سانتی‌متر) تهیه شد. بدین‌ترتیب که ابتدا ۶۰ میلی‌لیتر محلول ژلاتین در قالب ریخته و در دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد اتاق قرار داده شد هنگامی که لایهٔ ژلاتین تقریباً خشک شده ۴۰ میلی‌لیتر محلول کیتوزان بر آن ریخته و مجدداً در همان دما خشک شد (Nowzari *et al*., 2013). برای تهیهٔ فیلم مخلوط ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول کیتوزان-ژلاتین که با نسبت ۴۰ به ۶۰ مخلوط شده بودند در قالب‌های مورد نظر ریخته و در دمای ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد محیط خشک گردید. به‌منظور نرم‌شدن و انعطاف‌پذیرترشدن فیلم‌ها ۰/۷۵ درصد (حجمی/حجمی) گلیسرول نیز به محلول اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه همزده شد. (Ojagh *et al*., 2010). فیلم‌ها پس از خشک‌شدن از قالب جدا شده و به دور فیله‌ها پیچانده شدند. فیلم‌های دولایه همگی از سمت کیتوزان به دور فیله‌ها قرار گرفتند.

آماده‌سازی نمونه‌های ماهی

ماهی شوریدهٔ بلانگر به‌صورت تازه از بازارچهٔ ماهی شهرستان خرمشهر خریداری و به آزمایشگاه فراوری گروه شیلات دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انتقال داده شدند. ماهیان سر زده و استخوان‌گیری شده و از هریک دو فیله با وزن متوسط ۱۲۰-۱۰۰ گرم تهیه شدند. ۵ تیمار فیله شامل نمونهٔ شاهد، پوشش مخلوط، پوشش دولایه، فیلم مخلوط و فیلم دولایه پس از آماده‌سازی در کیسه‌های زیپ‌دار پلی‌اتیلنی بسته‌بندی شدند. فیله‌های آماده‌شده به مدت ۱۶ روز در یخچال (دمای ۱±۴ درجهٔ سانتی‌گراد) نگهداری شدند و در فواصل زمانی ۴ روز یک‌بار مورد ارزیابی میکروبی (بارمیکروبی کل[1]، بارمیکروبی سرمادوست[2] و انتروباکتریاسه)، شیمیایی (بازهای ازته فرار، تیوباربیتوریک اسید، اسیدهای چرب آزاد[3] و pH) و حسی فیلهٔ خام قرار گرفتند.

آزمون میکروبی نمونه‌ها

بارمیکروبی نمونه‌ها با هموژن‌کردن ۱۰ گرم نمونه در ۹۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۹ درصد کلریدسدیم در شرایط استریل آغاز شد. از این محلول جهت تهیهٔ رقت‌های متوالی استفاده شد. کشت میکروبی مورد نظر با ریختن میزان مشخصی از نسبت‌های به‌دست‌آمده در پلیت‌های یک‌بارمصرف استریل و ریختن محیط کشت نوترینت آگار[4] بر آن صورت گرفت. برای شمارش کلنی‌های میکروبی کل پلیت‌های تهیه‌شده به مدت ۲ روز در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد و برای باکتری‌های سرمادوست به مدت ۷ روز در ۱۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. شمارش کلنی‌ها بر مبنای $\log_{10}$ cfu/g بیان گردید (Sallam, 2007).

[1] Total bacterial count
[2] Psychrophilic bacterial count
[3] Free Fatty Acids (FFA)
[4] Nutrient Agar

اندازه‌گیری بازهای ازتهٔ فرار (TVB-N)

اندازه‌گیری بازهای ازتهٔ فرار به روش کلدال و با تیتراسیون عصارهٔ به‌دست‌آمده از آن انجام گرفت. بدین‌منظور ۱۰ گرم نمونه به همراه ۲ گرم اکسید منیزیم با افزودن ۵۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر به بالن کلدال متصل شد و عصارهٔ مورد نظر به محلول متشکل از اسیدبوریک ۲ درصد و ۲-۱ قطره متیل‌رد به‌عنوان شاخص وارد شد. محلول زرد رنگ حاصله با اسیدسولفوریک تا حاصل‌شدن رنگ ارغوانی تیتر شد و به‌صورت میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونهٔ ماهی بیان شد (Goulas & Kontomnas, 2005). میزان بازهای ازتهٔ فرار از رابطهٔ (۱) محاسبه گردید.

رابطهٔ (۱)

حجم اسیدسولفوریک مصرفی × ۱۴ =بازهای ازته فرار

اندازه‌گیری pH

بدین‌منظور ۵ گرم از نمونه به مدت ۱ دقیقه با ۴۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر همگن‌شده و میزان pH آن با دستگاه pHسنج (Metrohm) ساخت کشور سوئیس اندازه‌گیری شد (Suvanich *et al*., 2000).

اندازه‌گیری تیوباربیتوریک‌اسید (TBA)

شاخص تیوباربیتوریک‌اسید طبق روش Siripatrawan و Noipha (۲۰۰۰) اندازه‌گیری می‌شود. بدین‌صورت که دستگاه تقطیر با افزودن ۱۰ گرم نمونهٔ ماهی هموژن‌شده با ۹۷/۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر و ۲/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۴ نرمال به همراه چند قطره ضدکف و سنگ‌جوش در ارلن راه‌اندازی شد. ۵ میلی‌لیتر از مایع حاصل از تقطیر این مخلوط را به ۴ میلی‌لیتر معرف تیوباربیتوریک‌اسید (برای تهیهٔ معرف از مخلوط معرف تیوباربیتوریک‌اسید با اسیداستیک گلاسیال محلول یکنواختی ایجاد می‌کنند.) افزوده و در حمام بن‌ماری ۳۵ دقیقه قرار می‌گیرد. سپس میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۳۸ نانومتر اندازه‌گیری شد. طبق رابطهٔ (۲) میزان تیوباربیتوریک‌اسید به‌دست آمد. میزان تیوباربیتوریک اسید به‌صورت میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه بیان شد.

رابطهٔ (۲)

Abs_{538} =۷/۸ TBA_{value}

Abs_{538}=میزان جذب در طول موج 538 نانومتر

اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد (FFA)

میزان شاخص اسیدهای چرب آزاد با استفاده از روش Woyewoda و همکاران (۱۹۸۶) اندازه‌گیری شد. در این روش از ۱۰ گرم نمونهٔ ماهی هموژن‌شده با کمک کلروفرم/متانول استخراج روغن صورت گرفت. در ادامه به محلول باقی‌مانده کلروفرم، متانول و ۲-پروپانول به نسبت ۲:۱:۲ به همراه معرف متاکروزول ارغوانی (جهت تهیهٔ معرف به همراه پودر معرف متاکروزول، سود ۰/۰۵ نرمال و آب‌مقطر اضافه شد.) اضافه شد. تیتراسیون گروه‌های کربوکسیلیک آزاد موجود در آن با سود ۰/۰۵ نرمال تا تغییر رنگ از زرد به ارغوانی ادامه یافت. بدین‌ترتیب طبق رابطهٔ (۳) میزان اسیدهای چرب آزاد به‌صورت درصد اولئیک‌اسید[1] بیان شد.

رابطهٔ (۳)

$$FFA = \frac{N \times (V2 - V1) \times 2.82}{W}$$

N = میزان نرمالیتهٔ سود

$(V_2 - V_1)$ = تفاضل مقدار مصرفی سود (میلی‌لیتر)

W = وزن چربی (گرم)

ارزیابی حسی

ارزیابی نمونه‌ها توسط ۱۰ نفر گروه پانل ارزیاب آموزش‌دیده در گروه‌های سنی ۲۵ تا ۲۷ سال انجام شد. بافت، طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی نمونه‌ها با مقیاس هدونیک[2] (با اندکی تغییر) با اصطلاحات توصیفی زیر رتبه‌بندی شدند: بافت (۵، دارای انسجام ماهی تازه، ۱، خمیری)، رنگ (۵، بدون تغییر رنگ، ۱، کاملاً رنگ‌پریده)، طعم (۵، مطلوب، ۱، کاملاً نامطلوب)، بو (۵، مطبوع، ۱، کاملاً نامطبوع)، پذیرش کلی (۵، خیلی‌خوب، ۱، خیلی بد) (Ojagh *et al*., 2010).

[1] Oleic acid
[2] Hedonic

آنالیز آماری

تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با آزمون واریانس یک‌طرفه[1] بررسی شده و نتایج به‌صورت میانگین ±خطای معیار بیان شد. جهت انجام مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ با استفاده از نرم‌افزار آنالیز آماری SPSS 16 استفاده گردید.

نتایج و بحث

در جدول (۱) تغییرات بارمیکروبی کل تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود. میزان این شاخص در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. در نمونهٔ شاهد میزان آن از ۱/۳۷ log_{10} cfu/g در روز صفر به ۹/۳۳ log_{10} cfu/g در روز ۱۶ افزایش یافت. در آغاز دورهٔ نگهداری میزان بارمیکروبی کل در نمونه‌های دارای پوشش‌دار و فیلم ۱/۳۷ log_{10} cfu/g بود. در پایان دوره میزان این شاخص در نمونه‌های دارای پوشش مخلوط و دولایه ۶/۸۸ log_{10} cfu/g و ۷/۰۰ log_{10} cfu/g و نمونه‌های پیچانده‌شده در فیلم مخلوط و دولایه ۶/۸۵ log_{10} cfu/g و ۷/۰۰ log_{10} cfu/g بود. در کل دوره نمونه‌های شاهد بیشترین بارمیکروبی کل را داشتند اما بین نمونه‌های دارای پوشش و فیلم اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. در جدول (۲) تغییرات بارمیکروبی سرمادوست تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود. میزان این شاخص در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. در نمونهٔ شاهد میزان آن از ۱/۸۰ log_{10} cfu/g در روز صفر به ۱۱/۳۰ log_{10} cfu/g در روز ۱۶ افزایش یافت. میزان باکتری‌های سرمادوست تیمارهای پوشش مخلوط و دولایه در روز صفر ۱/۸۰ log_{10} cfu/g و در روز ۱۶ نگهداری در یخچال ۶/۶۷ log_{10} cfu/g و ۷/۰۲ log_{10} cfu/g بود. این میزان درمورد نمونه‌های دارای فیلم مخلوط و دولایه ۱/۸۰ log_{10} cfu/g در روز صفر و در روز آخر دورهٔ نگهداری ۷/۰۵ log_{10} cfu/g و ۶/۵۱ log_{10} cfu/g شد. در کل دوره میزان متوسط بارمیکروبی سرمادوست نمونهٔ شاهد به‌طور معنی‌دار بالاتر از نمونه‌های تیمارشده بود درصورتی‌که بین نمونه‌های دارای پوشش و نمونه‌های پیچانده‌شده در فیلم اختلاف معنی‌داری ملاحظه نگردید. در جدول (۳) تغییرات باکتری‌های انتروباکتریاسه تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود. میزان این شاخص در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. در نمونهٔ شاهد میزان آن از ۱/۱۷ log_{10} cfu/g در روز صفر به ۴/۰۹ log_{10} cfu/g در روز ۱۶ افزایش یافت. میزان باکتری‌های سرمادوست تیمارهای پوشش مخلوط و دولایه در روز صفر ۱/۱۷ log_{10} cfu/g و در روز ۱۶ نگهداری در یخچال ۲/۹۹ log_{10} cfu/g و ۲/۷۱ log_{10} cfu/g بود. این میزان درمورد نمونه‌های دارای فیلم مخلوط و دولایه ۱/۱۷ log_{10} cfu/g در روز صفر و در روز آخر دورهٔ نگهداری ۳/۷۴ log_{10} cfu/g و ۳/۶۱ log_{10} cfu/g شد. در کل دوره میزان باکتری انتروباکتریاسه نمونهٔ شاهد به‌طور معنی‌دار بالاتر از نمونه‌های تیمارشده بود درصورتی‌که بین نمونه‌های شاهد و نمونه‌های پیچانده‌شده در فیلم در روز ۱۶ اختلاف معنی‌داری ملاحظه نگردید.

باکتری‌های سرمادوست گرم منفی مثل *سودوموناس‌ها*[2]، *آلتروموناس‌ها*[3]، *شوانلاها*[4] و *فلاووباکترها*[5] بیشترین گروه میکروارگانیسم‌های عامل فساد ماهی و فراورده‌های آن در شرایط نگهداری هوازی در دماهای سرد می‌باشند (Gram & Huss, 1996; Chytiri *et al*., 2004; Sallam, 2007). در مطالعهٔ حاضر شمارش اولیهٔ این باکتری‌ها در فیلهٔ ماهی شوریدهٔ بلانگر برای نمونهٔ شاهد، فیلم مخلوط، فیلم دولایه، پوشش مخلوط و پوشش دولایه ۱/۸۰ log_{10} cfu/g بود. افزایش بارمیکروبی کل در گوشت ماهی در طول نگهداری ثابت شده است (اجاق، ۱۳۸۹ و Fan *et al*., 2009). دراین‌بررسی نیز الگوی رشد هردوگروه باکتری‌های کل و سرمادوست مورد مطالعه در کل دوره، روند افزایشی داشت اما در روز ۱۲ نگهداری بارمیکروبی کل و سرمادوست در فیله‌های شاهد به‌ترتیب به ۷/۳۰ log_{10} cfu/g و ۹/۴۴ log_{10}

[1] One- way ANOVA

[2] *Pseudomonas* spp.
[3] *Alteromonas* spp.
[4] *Shewanella* spp.
[5] *Flavobacterium* spp.

cfu/g رسید که بالاتر از حد مجاز اعلام شده برای ماهی خام (۷ log_{10} cfu/g) است (Sallam, 2007) درحالی‌که برای تمامی نمونه‌های تیمارشده تا پایان روز ۱۶ به این محدوده نرسید. قابلیت فسادپذیری باکتری‌های انتروباکتریاسه در ماهی‌ها زمانی که ماهی از آب‌های آلوده صید می‌شود یا تأخیر در سردسازی بعد از صید قابل توجه و دارای اهمیت است (Sallam, 2007). باکتری‌های انتروباکتریاسه‌ها جزء باکتری‌های گرم منفی هستند که شامل بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا مثل اشرشیاکلی[1]، گونه‌های سالمونلا[2] و استافیلاکوکوس اورئوس[3] می‌باشند. تعداد باکتری انتروباکتریاسه در مقایسه با بارمیکروبی کل و سرمادوست کمتر بود.

جدول ۱ - تغییرات بارمیکروبی کل در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی‌شده طی نگهداری در یخچال بـه مدت ۱۶ روز

	روز ۰	روز ۴	روز۸	روز ۱۲	روز ۱۶
شاهد	۱/۳۷±۰/۰۹^{dA}	۴/۳۳±۰/۳۳^{cA}	۶/۴۰±۰/۶۳^{bA}	۷/۳۰±۰/۴۳^{bA}	۹/۳۳±۰/۱۷^{aA}
پوشش مخلوط	۱/۳۷±۰/۰۹^{dA}	۳/۳۲±۰/۳۴^{cAB}	۴/۷۲±۰/۶۴^{bA}	۶/۲۹±۰/۵۲^{aA}	۶/۸۸±۰/۱۱^{aB}
پوشش دولایه	۱/۳۷±۰/۰۹^{bA}	۳/۲۸±۰/۳۷^{bAB}	۵/۶۶±۰/۵۱^{aA}	۵/۹۸±۰/۸۸^{aA}	۷/۰۰±۱/۱۸^{aB}
فیلم مخلوط	۱/۳۷±۰/۰۹^{cA}	۳/۱۸±۰/۳۲^{bcB}	۴/۷۳±۰/۵۷^{abA}	۵/۰۲±۱/۳۱^{abA}	۶/۸۵±۰/۶۸^{aB}
فیلم دولایه	۱/۳۷±۰/۰۹^{cA}	۳/۴۸±۰/۱۲^{dAB}	۵/۰۴±۰/۳۱^{cA}	۵/۸۱±۰/۰۳^{bA}	۷/۰۰±۰/۲۸^{aB}

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار طی دورهٔ نگهداری در هر تیمار می‌باشد (P<۰/۰۵).
حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۲ - تغییرات بارمیکروبی سرمادوست در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی‌شده طی نگهداری در یخچال به مدت ۱۶ روز

	روز ۰	روز ۴	روز۸	روز ۱۲	روز ۱۶
شاهد	۱/۸۰±۰/۳۸^{cA}	۴/۱۰±۰/۸۵^{dA}	۷/۷۰±۰/۵۷^{cA}	۹/۴۴±۰/۳۹^{bA}	۱۱/۳۰±۰/۳۱^{aA}
پوشش مخلوط	۱/۸۰±۰/۳۸^{dA}	۳/۱۱±۰/۲۸^{cA}	۵/۲۶±۰/۳۱^{bB}	۶/۳۲±۰/۱۷^{abBC}	۶/۶۷±۰/۶۱^{aB}
پوشش دولایه	۱/۸۰±۰/۳۸^{dA}	۴/۱۵±۰/۳۱^{cA}	۴/۵۴±۰/۱۸^{cB}	۵/۸۱±۰/۵۲^{bC}	۷/۰۲±۰/۳۸^{aB}
فیلم مخلوط	۱/۸۰±۰/۳۸^{cA}	۳/۸۵±۰/۵۷^{bA}	۴/۸۸±۰/۱۲^{bB}	۶/۵۰±۰/۳۷^{aBC}	۷/۰۵±۰/۳۵^{aB}
فیلم دولایه	۱/۸۰±۰/۳۸^{dA}	۳/۴۷±۰/۴۰^{cA}	۵/۱۰±۰/۱۳^{bB}	۷/۰۷±۰/۱۹^{aB}	۶/۵۱±۰/۱۲^{aB}

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار طی دورهٔ نگهداری در هر تیمار می‌باشد (P<۰/۰۵).
حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۳ - تغییرات باکتری‌های انتروباکتریاسه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی‌شده طی نگهداری در یخچال به مدت ۱۶ روز

	روز ۰	روز ۴	روز۸	روز ۱۲	روز ۱۶
شاهد	۱/۱۷±۰/۰۳^{cA}	۱/۷۷±۰/۲۳^{cA}	۲/۰۰±۰/۰۷^{cA}	۳/۱۱±۰/۱۷^{bA}	۴/۰۹±۰/۴۷^{aA}
پوشش مخلوط	۱/۱۷±۰/۰۳^{dA}	۱/۴۶±۰/۰۲^{dA}	۱/۹۹±۰/۰۷^{cB}	۲/۵۸±۰/۲۳^{bA}	۲/۹۹±۰/۱۲^{aBC}
پوشش دولایه	۱/۱۷±۰/۰۳^{cA}	۱/۵۸±۰/۱۸^{bcA}	۱/۹۷±۰/۰۸^{bB}	۲/۵۹±۰/۱۴^{aA}	۲/۷۱±۰/۱۶^{aC}
فیلم مخلوط	۱/۱۷±۰/۰۳^{cA}	۱/۶۳±۰/۱۲^{cA}	۲/۱۹±۰/۱۳^{bB}	۲/۷۲±۰/۰۵^{bA}	۳/۷۴±۰/۳۲^{aAB}
فیلم دولایه	۱/۱۷±۰/۰۳^{dA}	۱/۸۵±۰/۱۵^{cA}	۲/۴۳±۰/۲۴^{bcB}	۲/۹۵±۰/۱۹^{bA}	۳/۶۱±۰/۲۷^{aABC}

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار طی دورهٔ نگهداری در هر تیمار می‌باشد (P<۰/۰۵).
حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

در جدول (۴) تغییرات بازهای ازتهٔ فرار تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود.

[1] *E.coli*
[2] *Salmonella*
[3] *S.aureus*

میزان بازهای ازتهٔ فرار در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. در نمونهٔ شاهد میزان آن از ۱۳/۴۶ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه در روز صفر به ۷۰/۷۶ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه در روز ۱۶ افزایش یافت. میزان این شاخص در نمونه‌های دارای پوشش مخلوط و دولایه در ابتدای دورهٔ نگهداری به‌ترتیب ۱۵/۰۳ و ۱۵/۸۶ و در انتهای دوره ۲۴/۵۰ و ۴۱/۳۰ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه بود. در تیمارهای دارای فیلم مخلوط و دولایه در روز صفر به‌ترتیب ۱۶/۵۰ و ۱۵/۵۶ و در روز ۱۶ نگهداری در یخچال ۶۰/۲۰ و ۵۷/۱۳ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه شد. در کل دوره میزان متوسط بازهای ازتهٔ فرار در نمونهٔ شاهد به‌طور معنی‌دار بالاتر از نمونه‌های تیمارشده بود. کمترین میزان مربوط به تیمار پوشش مخلوط مشاهده شد. بازهای ازتهٔ فرار یک شاخص کیفی است که نشانگر میزان فساد، تجزیه و شکستن پروتئین‌ها بوده (El-Deen & El-Shamery, 2010) و به‌واسطهٔ فعالیت میکروبی و آنزیم‌های درونی خود ماهی افزایش می‌یابد. سوخت‌وساز میکروبی آمینواسیدها در ماهی منجربه‌تجمع آمونیوم، مونواتیل‌آمین[1]، دی‌اتیل‌آمین[2]، تری‌اتیل‌آمین[3] و سایر بازهای فرار می‌شود که همگی موجب بدطعمی ماهی می‌گردند (Goulas & Kontominas, 2007; Duan *et al*., 2010). میزان بازهای ازتهٔ فرار در طول دوره برای تمامی تیمارها روند افزایشی از خود نشان داد. میزان ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن به ازای ۱۰۰ گرم نمونه گوشت به‌عنوان حداکثر میزان قابل قبول بازهای ازتهٔ فرار در گوشت ماهی پیشنهاد شده است (Kilincceker *et al*., 2009; Ojagh *et al*., 2010). اما در تحقیق‌های دیگر میزان ۳۵-۳۰ میلی‌گرم نیتروژن به ازای ۱۰۰ گرم نمونه گوشت به‌عنوان حداکثر میزان قابل قبول بازهای ازتهٔ فرار در گوشت ماهی پیشنهاد شده است (Shakilla *et al*., 2005). در روز ۱۲ نگهداری مقدار بازهای ازتهٔ فرار نمونهٔ شاهد به‌طور معنی‌دار بالاتر از تمامی نمونه‌های پوشش‌دار و دارای فیلم شد که میزان بازهای ازتهٔ فرار تمام نمونه‌ها به جزء پوشش مخلوط اختلاف معنی‌داری نداشتند. در انتهای دوره میزان این شاخص در نمونهٔ شاهد (۷۰/۷۶ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰گرم نمونه)، فیلم مخلوط و دولایه به‌طور معنی‌دار بیشتر از پوشش مخلوط و دولایه بود. میزان بازهای ازتهٔ فرار در نمونه‌های پوشش‌دار و فیلم تا روز ۱۲ کمتر از میزان ۳۵ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه بود. کمترین میزان بازهای ازتهٔ فرار به میزان ۲۴/۵۰ میلی‌گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم نمونه در فیله‌های دارای پوشش مخلوط کیتوزان-ژلاتین مشاهده شد. می‌توان نتیجه گرفت که پوشش‌دهی در کاهش بازهای ازتهٔ فرار فیله‌های شوریدهٔ بلانگر طی نگهداری در یخچال مؤثرتر بوده است.

جدول ۴ - تغییرات میزان بازهای ازتهٔ فرار در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی‌شده طی نگهداری در یخچال به مدت ۱۶ روز

	روز ۰	روز ۴	روز۸	روز ۱۲	روز ۱۶
شاهد	۱۳/۴۶±۱/۷۰^{cA}	۱۸/۲۰±۳/۲۳^{cA}	۲۰/۱۵±۰/۳۱^{cA}	۳۶/۱۶±۲/۸۷^{bA}	۷۰/۷۶±۱/۶۹^{aA}
پوشش مخلوط	۱۵/۰۳±۰/۳۳^{aA}	۱۵/۷۶±۲/۳۶^{aA}	۱۷/۶۰±۰/۰۰^{aA}	۲۵/۷۰±۱/۰۰^{aB}	۲۴/۵۰±۹/۲۹^{aC}
پوشش دولایه	۱۵/۸۶±۱/۰۹^{cA}	۱۵/۴۰±۰/۸۰^{cA}	۲۱/۷۰±۱/۲۱^{cA}	۳۲/۲۰±۴/۸۴^{bAB}	۴۱/۳۰±۲/۰۲^{aBC}
فیلم مخلوط	۱۶/۵۰±۱/۰۹^{cA}	۱۷/۵۰±۲/۰۲^{cA}	۲۸/۵۰±۵/۰۷^{bcA}	۳۳/۵۳±۱/۴۳^{bAB}	۶۰/۲۰±۶/۴۶^{aA}
فیلم دولایه	۱۶/۵۶±۰/۱۶^{cA}	۱۶/۸۰±۴/۰۴^{cA}	۱۶/۸۰±۵/۶۵^{cA}	۳۲/۳۶±۱/۵۶^{bAB}	۵۷/۱۳±۳/۲۶^{aAB}

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار طی دورهٔ نگهداری در هر تیمار می‌باشد (P<۰/۰۵).
حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

ازآنجاکه حضور باکتری‌ها در گوشت منجربه‌اتولیز پروتئین‌ها و تجزیهٔ آنها (El-Deen & El-Shamery, 2010)، شکستن ترکیباتی ازجمله تری‌متیل‌آمین اکسیدها، پپتیدها، آمینواسیدها و غیره می‌شود

[1] Mono-Ethyle Amine
[2] D-Ethyle Amine
[3] Tri-Ethyle Amine

(Gram & Huss, 1996) مقادیر بیشتر بارمیکروبی مشاهده‌شده در نمونه‌های شاهد می‌تواند توجیهی برای افزایش میزان بازهای نیتروژنی در آنها باشد (Mohan *et al*., 2012). پوشش‌های خوراکی به‌صورت مادهٔ ضدمیکروبی عمل کرده و بر میزان بازهای ازتهٔ فرار اثر می‌گذارد.

Lopez-Caballero و همکاران (۲۰۰۵) اثر محافظتی پوشش ترکیبی کیتوزان-ژلاتین را در کم‌کردن میزان بازهای ازتهٔ فرار و متعاقباً فساد میکروبی را گزارش نمودند. Jeon و همکاران (۲۰۰۲) نیز با استفاده از انواع مختلفی از پوشش‌های کیتوزانی بر فیلهٔ ماهی کاد کاهش ۳۵-۳۳ درصد تولید بازهای ازتهٔ فرار را در دورهٔ ۱۲ روزهٔ نگهداری در یخچال مشاهده کردند.

در جدول (۵) تغییرات شاخص pH تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود. میزان pH در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. در نمونهٔ شاهد میزان آن از ۷/۴۱ در روز صفر به ۷/۸۹ در روز ۱۶ افزایش یافت. تیمارهای دارای پوشش مخلوط و دولایه در روز صفر نگهداری میزان pH برابر با ۷/۴۳ و ۷/۴۰ داشتند که در روز ۱۶ نگهداری به ۷/۸۱ و ۷/۶۰ رسید. میزان pH نمونه‌های دارای فیلم مخلوط و دولایه در ابتدای دوره به‌ترتیب ۷/۳۰ و ۷/۴۵ بود که در انتهای دوره به ۷/۷۳ و ۷/۸۳ رسید. به‌طور متوسط بالاترین میزان pH در نمونهٔ شاهد کمترین میزان pH متعلق به تیمار فیلم مخلوط و پوشش مخلوط بود که تفاوت معنی‌داری بین میزان pH نمونهٔ شاهد و تیمارشده وجود نداشت. به‌طورکلی میزان pH عضلهٔ ماهی زنده نزدیک به ۷ است. پس از مرگ براساس فصل، گونه و فاکتورهای دیگر از ۶ تا ۷ تغییر می‌کند (Arashisar *et al*., 2004). در تمام نمونه‌های ماهی مقدار این شاخص در طول دوره افزایش پیدا کرد. افزایش pH با گذشت زمان نگهداری را می‌توان به فعالیت آنزیم‌های اتولیتیک و باکتری‌های پروتئولیتیک فاسدکنندهٔ ماهی نسبت داد (Kilincceker *et al*., 2009). در بررسی حاضر با افزایش میزان بازهای ازتهٔ فرار در طول دوره چنین روندی برای pH انتظار می‌رفت. نتایج مشابهی توسط Fan و همکاران (۲۰۰۹) گزارش شد. آنها مشاهده کردند که میزان pH نمونه‌های کپورنقره‌ای دارای پوشش کیتوزان افزایش کندتری نسبت به نمونه‌های شاهد داشت و بیان کردند که وجود کیتوزان، فعالیت پروتئازهای درونی را کاهش می‌دهد که بدین‌ترتیب تولید بازهای ازتهٔ فرار مثل آمونیاک و تری‌متیل‌آمین حاصل از آنزیم‌های میکروبی یا درونی خود ماهی کاهش پیدا می‌کند. ازآنجاکه آلودگی میکروبی در نمونهٔ شاهد بیشتر از نمونه‌های پوشش‌دار و فیلم‌دار بود که متعاقباً منجربه‌تولید ترکیبات نیتروژنی می‌گردد، نمونهٔ شاهد بالاترین میزان pH را به خود اختصاص داد. کمترین میزان این شاخص در پوشش و فیلم مخلوط مشاهده شد اما بین پوشش و فیلم دولایه با نمونهٔ شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.

جدول ۵ - تغییرات میزان pH در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی‌شده طی نگهداری در یخچال به مدت ۱۶ روز

	روز ۰	روز ۴	روز۸	روز ۱۲	روز ۱۶
شاهد	۷/۴۱±۰/۰۰^{cA}	۷/۷۱±۰/۰۳^{bA}	۷/۶۴±۰/۰۰^{bAB}	۷/۵۴±۰/۰۸^{bcA}	۷/۸۹±۰/۰۸^{aA}
پوشش مخلوط	۷/۴۳±۰/۰۰^{abA}	۷/۲۱±۰/۰۵^{bC}	۷/۴۳±۰/۲۳^{abB}	۷/۵۳±۰/۰۲^{abA}	۷/۸۱±۰/۱۶^{aA}
پوشش دولایه	۷/۴۰±۰/۰۲^{aA}	۷/۴۵±۰/۰۴^{aB}	۷/۶۱±۰/۱۶^{aAB}	۷/۴۸±۰/۲۷^{aA}	۷/۶۰±۰/۰۱^{aA}
فیلم مخلوط	۷/۳۰±۰/۰۳^{bA}	۷/۵۲±۰/۰۱^{abB}	۷/۷۲±۰/۰۵^{aAB}	۷/۷۷±۰/۱۹^{aA}	۷/۷۳±۰/۱۳^{aA}
فیلم دولایه	۷/۴۵±۰/۰۱^{bA}	۷/۷۰±۰/۰۱^{abA}	۷/۹۱±۰/۰۵^{abA}	۷/۹۴±۰/۲۰^{aA}	۷/۸۳±۰/۲۲^{abA}

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار طی دورهٔ نگهداری در هر تیمار می‌باشد (P<۰/۰۵).
حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

Sathivel و همکاران (۲۰۰۷) نیز مشاهده کرد که کمترین میزان pH در فیله‌های سالمون‌صورتی دارای پوشش ۱ درصد و ۲ درصد کیتوزان (نسبت به نمونه‌های شاهد و نیز نمونه‌های دارای پوشش‌های

دیگر (آلبومین تخم‌مرغ، پروتئین سویا، پودر پروتئین سالمون‌صورتی[1] و پودر پروتئین ماهی پهن دندان‌اره‌ای[2]) وجود دارد.

در جدول (۶) تغییرات میزان تیوباربیتوریک‌اسید تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود. میزان تیوباربیتوریک‌اسید در تیمارهای مختلف تا روز ۴ افزایش و سپس از روز ۸ به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. در نمونهٔ شاهد میزان آن از ۰/۳۸ میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه در روز صفر به ۳/۰۶ میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه در روز ۴ افزایش یافت و سپس در روز ۱۶ به ۰/۴۸ میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه کاهش یافت. میزان اولیهٔ آن در نمونه‌های دارای پوشش و فیلم کیتوزان-ژلاتین از ۰/۳۲ تا ۰/۳۹ میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه متغیر بود. در کل دوره بالاترین میزان متوسط تیوباربیتوریک‌اسید مربوط به نمونهٔ شاهد و کمترین آن متعلق به نمونه‌های دارای فیلم دولایه بود. مواد اولیهٔ اکسیداسیون (هیدروپراکسیدها) ناپایدار و مستعد تجزیه می‌باشند. محصولات ثانویهٔ اکسیداسیون شامل آلدهیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، اسیدهای آلی و ترکیبات اپوکسی می‌باشد. مالون‌آلدهید یک ترکیب جزئی از اسیدهای چرب با سه پیوند دوگانه و یا بیشتر از آن است که در اثر تجزیهٔ اسیدهای چرب چندغیراشباعی طی اکسیداسیون چربی تشکیل می‌شود. این ماده معمولاً به‌عنوان شاخصی در ارزیابی روند تغییرات اکسیداسیون چربی استفاده می‌شود (Shahidi & Zong, 2005). روند افزایشی تغییرات این شاخص تا روز ۴ ادامه داشت و در روز ۸ اُفت کرد که می‌تواند به‌دلیل شکست و تجزیهٔ مالون‌آلدهید به سایر مواد (آلدهیدها و کتون‌ها) باشد (Woyewoda *et al*., 1986). مکانیسم آنتی‌اکسیدانی کیتوزان را می‌توان با فعالیت گروه‌های آمینوی اولیهٔ کیتوزان توضیح داد. این عوامل فعال با گروه‌های آلدهیدی فرار حاصل از شکستن چربی‌ها طی اکسیداسیون (مثل مالون‌آلدهید) یک میکرواسفر پایدار تشکیل می‌دهد. ظرفیت چلاته‌کنندگی یون‌های فلزی از دیگر خصوصیات کیتوزان است که آن را به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی و طبیعی برای جلوگیری از اکسیداسیون چربی در غذاها در جهت افزایش عمر ماندگاری آنها معرفی می‌کند (Mohan *et al*., 2012).

جدول ۶- تغییرات میزان تیوباربیتوریک‌اسید در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی‌شده طی نگهداری در یخچال به مدت ۱۶ روز

	روز ۰	روز ۴	روز۸	روز ۱۲	روز ۱۶
شاهد	۰/۳۸±۰/۰۴^{cA}	۳/۰۶±۰/۳۴^{aA}	۰/۲۴±۰/۰۲^{cB}	۱/۱۶±۰/۱۹^{bA}	۰/۴۸±۰/۰۹^{cB}
پوشش مخلوط	۰/۳۲±۰/۰۷^{bA}	۲/۶۳±۰/۸۴^{aAB}	۰/۳۸±۰/۰۸^{bAB}	۰/۶۶±۰/۰۵^{bA}	۰/۵۱±۰/۰۴^{bB}
پوشش دولایه	۰/۳۷±۰/۰۳^{bA}	۲/۹۲±۰/۹۰^{aA}	۰/۳۵±۰/۰۱^{bAB}	۰/۸۷±۰/۱۲^{bA}	۱/۸۸±۰/۶۸^{abA}
فیلم مخلوط	۰/۳۳±۰/۰۵^{bA}	۱/۹۴±۰/۹۸^{aAB}	۰/۹۶±۰/۲۶^{abA}	۰/۴۴±۰/۱۱^{abA}	۰/۳۸±۰/۰۷^{bB}
فیلم دولایه	۰/۳۹±۰/۰۲^{aA}	۰/۴۱±۰/۰۳^{aB}	۰/۸۴±۰/۳۲^{aAB}	۱/۷۵±۱/۲۰^{aA}	۰/۳۷±۰/۰۴^{aB}

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار طی دورهٔ نگهداری در هر تیمار می‌باشد (P<۰/۰۵).
حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

Lopez-Caballero و همکارن (۲۰۰۵) نیز قدرت چلاته‌کنندگی یون‌های فلزی و یا ترکیب کیتوزان با چربی را علت آنتی‌اکسیدان‌بودن کیتوزان می‌داند. از بین تمام تیمارها فیلم دولایه و پس از آن فیلم مخلوط دارای کمترین میزان تیوباربیتوریک‌اسید بودند. بدین‌معنی‌که فیلم کیتوزان-ژلاتین توانست بیشتر از پوشش کیتوزان-ژلاتین خاصیت آنتی‌اکسیدانی کیتوزان و ژلاتین را بروز دهد. پیشنهاد شده که حداکثر میزان قابل قبول تیوباربیتوریک‌اسید برای کیفیت مطلوب ماهی (منجمد، یخچال‌گذاری‌شده و یا نگهداری‌شده در یخ) ۵ میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه

[1] Pink salmon protein powder
[2] Arrowtooth flounder protein powder

است درحالی‌که تا ۸ میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه هم قابل مصرف است (Sallam, 2007). در بررسی حاضر میزان تیوباربیتوریک‌اسید برای پوشش مخلوط، پوشش دولایه، فیلم مخلوط، فیلم دولایه و نمونهٔ شاهد در انتهای دورهٔ نگهداری به‌ترتیب ۰/۵۱، ۱/۸۸، ۰/۳۸، ۰/۳۷و ۰/۴۸ میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه به‌دست آمد.

در جدول (۷) تغییرات اسیدهای چرب آزاد تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود. میزان این شاخص در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. در نمونهٔ شاهد میزان آن از ۱۳/۶۱ درصد اولئیک‌اسید در روز صفر به ۶۳/۱۱ درصد اولئیک‌اسید در روز ۱۶ افزایش یافت. میزان اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌های دارای پوشش مخلوط و دولایه در روز صفر نگهداری به‌ترتیب ۱۲/۱۴و ۱۴/۷۶ درصد اولئیک‌اسید و در پایان ۱۶ روز نگهداری ۲۱/۲۶ و ۲۳/۳۹ درصد اولئیک‌اسید بود. در مورد فیلم مخلوط و دولایه در آغاز دوره ۱۰/۲۰ و ۱۳/۰۶ و در انتهای آن ۲۳/۱۱ و ۳۹/۷۱ درصد اولئیک‌اسید چرب آزاد در بافت ماهی وجود داشت. میزان متوسط اسیدهای چرب آزاد نمونهٔ شاهد بالاترین میزان را داشت اما بین نمونه‌های دارای فیلم و پوشش تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. وجود اسیدچرب آزاد به واسطهٔ اکسایش و آبکافت آنزیمی چربی‌های استری بوده و یک ترکیب نامطلوب می‌باشد چون اسیدهای چرب آزاد می‌توانند به ترکیبات فرار بدبو تبدیل شوند (Rezaei & Hosseini, 2008; Ozyurt *et al*., 2009). با اینکه تولید اسیدهای چرب آزاد به‌خودی‌خود منجربه‌اُفت کیفیت تغذیه‌ای نمی‌شود اما آزمون میزان آبکافت چربی به‌نظر مهم می‌رسد چون آبکافت چربی در شرایط سرما و انجماد نیز ادامه می‌یابد که تأثیر شدیدی بر اکسیداسیون چربی و دناتوره‌شدن پروتئین دارد (Aubourg *et al*., 2005). تأثیر پرواکسیدانی اسیدهای چرب آزاد بر چربی نیز گزارش شده است بدین‌صورت‌که اسیدهای چرب آزاد بر گروه کربوکسیل اثر تحریک‌کننده[1] داشته و تشکیل هیدروپروکسیدها و متعاقباً رادیکال‌های آزاد را تسریع می‌بخشد. علاوه‌براین به‌دلیل کوچک‌بودن اندازهٔ ملکول‌های اسیدچرب آزاد نسبت به چربی‌های بزرگتر (مهم‌ترین آنها تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها و فسفولیپیدها) بیشتر در معرض اکسیداسیون توسط آنزیم‌هایی چون لیپازها و فسفولیپازها می‌باشد. این مسئله به شدت بر کیفیت حسی فراورده‌های غذایی دریایی تأثیرگذار است (Losada *et al*., 2007). به‌واسطهٔ آبکافت فسفولیپیدها و تری‌گلیسریدها توسط لیپاز و فسفولیپاز (Rostamzad *et al*., 2011) افزایش تدریجی در تولید اسیدچرب آزاد در تمام نمونه‌ها مشاهده شد اما در فیله‌های پوشش‌داده‌شده و یا پیچیده‌شده در فیلم کیتوزان-ژلاتین این افزایش در طول نگهداری کندتر شد. دلیل پایین‌تر بودن میزان اسیدهای چرب آزاد در تیمارهای دارای فیلم و پوشش را شاید بتوان به فعالیت شلاته‌کنندگی کیتوزان نسبت داد چرا که کیتوزان به‌عنوان عامل شلاته‌کننده با پاره‌ای از فلزات پیوند یافته و لذا از رشد میکروبی جلوگیری می‌کند، همچنین کیتوزان به‌عنوان بازدارندهٔ فعالیت آنزیم‌های مختلف شناسایی شده است (اجاق، ۱۳۸۹).

اجاق (۱۳۸۹) در تحقیق‌های خود مشاهده کرد که میزان اسیدهای چرب آزاد فیله‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان دارای پوشش کیتوزان-دارچین در مقایسه با انواع بدون پوشش طی زمان‌های نگهداری در یخچال به شکل معنی‌داری کمتر بود ($P<0/05$). اما Gomez-Estaca و همکاران (۲۰۱۰) هیچ تفاوت معنی‌داری بین میزان اسیدچرب آزاد نمونه‌های دلفین ماهی[2] دارای فیلم کیتوزان-ژلاتین و نمونهٔ شاهد مشاهده نکردند. در بررسی حاضر، بین نمونهٔ شاهد و انواع دارای پوشش و فیلم تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P<0/05$) اما بین نمونه‌های دارای فیلم و نمونه‌های پوشش‌دهی‌شده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

[1] Catalytic effect

[2] *Coryphaena hippurus*

جدول ۷ - تغییرات میزان اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی‌شده طی نگهداری در یخچال به مدت ۱۶ روز

	روز ۰	روز ۴	روز۸	روز ۱۲	روز ۱۶
شاهد	۱۳/۶۱±۱/۵۱^{bA}	۱۶/۲۱±۱/۹۱^{bA}	۱۹/۵۸±۴/۹۷^{bA}	۲۴/۵۹±۴/۲۵^{bA}	۶۳/۱۱±۱۵/۹۶^{aA}
پوشش مخلوط	۱۲/۱۴±۱/۸۵^{bA}	۴/۵۷±۰/۵۴^{bB}	۷/۷۸±۱/۰۶^{bC}	۹/۸۱±۱/۶۱^{bB}	۲۱/۲۶±۵/۶۲^{aB}
پوشش دولایه	۱۴/۷۶±۱/۴۸^{bA}	۱۲/۸۹±۲/۶۶^{bA}	۸/۳۰±۲/۵۳^{bC}	۱۳/۶۲±۰/۰۴^{bB}	۲۳/۳۹±۴/۲۷^{aB}
فیلم مخلوط	۱۰/۲۰±۳/۶۰^{aA}	۱۶/۵۰±۳/۲۲^{aA}	۹/۸۲±۰/۳۰^{aBC}	۱۰/۷۰±۰/۵۳^{aB}	۲۳/۱۱±۸/۶۹^{aB}
فیلم دولایه	۱۳/۰۶±۲/۷۸^{cA}	۱۷/۱۱±۰/۱۹^{bcA}	۱۶/۹۶±۰/۳۹^{bcAB}	۲۴/۶۷±۵/۴۲^{bA}	۳۹/۷۱±۳/۵۲^{aAB}

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار طی دورهٔ نگهداری در هر تیمار می‌باشد (P<۰/۰۵).
حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

در جدول (۸) نتایج ارزیابی حسی طی زمان نگهداری در یخچال نشان داده شده است. همان‌طورکه مشاهده می‌شود ویژگی بافت، بو، رنگ و پذیرش کلی تمامی تیمارها و نمونهٔ شاهد با گذشت زمان کاسته شد. در مورد تمامی ویژگی‌های حسی اندازه‌گیری‌شده، نمونه‌های دارای پوشش و فیلم کیتوزان-ژلاتین به‌طور معنی‌دار بهتر از نمونهٔ شاهد بود به‌طوری‌که نمونهٔ شاهد در روز ۸ و نمونه‌های دارای پوشش و فیلم کیتوزان-ژلاتین در روز ۱۲ به امتیاز کمتر از ۴ رسیدند. پوشش مخلوط ازنظر بافت در روز ۱۶ نگهداری به امتیاز کمتر از ۴ رسید. حد نهایی مطلوبیت برای نمونه‌های ماهی جهت مصرف انسانی تا امتیاز ۴ درنظر گرفته شد (Ojagh *et al*., 2010).

کلیهٔ شاخص‌های حسی خام و پخته در نمونهٔ شاهد از روز ۸ نگهداری در یخچال به درجهٔ عدم مقبولیت رسیدند. این نتیجه با نتایج حاصل از آزمایش‌های میکروبی منطبق بود. فیله‌های شوریدهٔ بلانگر به‌واسطهٔ اکسیداسیون چربی و فساد میکروبی دچار بدبویی، رنگ‌پریدگی و طعم نامطلوب در طول دوره می‌شود. نتیجه‌ای که از ارزیابی حسی به‌دست‌آمد نشان داد که تمامی امتیازات با گذشت زمان نگهداری به‌طور معنی‌دار کاهش پیدا کردند (P<۰/۰۵).

تأثیرات ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و حفاظت در برابر اکسیژن حاصل از پوشش و فیلم کیتوزان-ژلاتین باعث کاهش بارمیکروبی و همچنین کمترشدن اکسیداسیون در آزمایش‌های اندازه‌گیری پراکسید و تیوباربیتوریک‌اسید شد، در ارزیابی حسی نیز این تأثیر مشاهده شد چنانچه نمونه‌های دارای پوشش و فیلم از روز ۱۲ نگهداری به امتیاز رد مقبولیت رسیدند. بین نمونه‌های دارای فیلم و پوشش در هیچ‌یک از شاخص‌های حسی خام و پخته تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که بین نمونهٔ شاهد و فیله‌های قزل‌آلای پوشش‌داده‌شده با کیتوزان و کیتوزان-عصارهٔ دارچین تفاوت معنی‌داری ازنظر ارزیابی حسی به‌دست‌آمد به‌طوری‌که نمونهٔ شاهد از روز ۸ نگهداری در یخچال امتیاز عدم مقبولیت را گرفت و نمونه‌های تیمارشده تا پایان روز ۱۶ همچنان بالای این امتیاز بودند. Siripatrawan و Noipha (۲۰۱۲) بیان کردند که بدبویی، رنگ‌پریدگی، تشکیل مخاط و عدم مقبولیت کلی برای سوسیس خوک دارای پوشش کیتوزان حاوی عصارهٔ چای‌سبز کندتر از نمونهٔ شاهد بود. Fan و همکاران (۲۰۰۹) در ارزیابی حسی فیتوفاگ (*H. molitrix*) پوشش‌داده‌شده با کیتوزان و نمونهٔ شاهد حاکی‌از کاهش قابل توجه ارزیابی حسی در تیمار مورد مطالعه در طول زمان بود اما به‌طورکلی نمونه‌های پوششی در مقایسه با شاهد ارزیابی حسی بهتری نشان دادند. مشخص شده که فساد ماهی افزایش شدیدتر بوی ماهی مثل بوی فساد و تعفن را به دنبال دارد که دراین‌صورت ماهی توسط شخص ارزیابی‌کنندهٔ طعم، برای مصرف، مورد تأیید قرار نمی‌گیرد. چنانچه پوشش و فیلم کیتوزان-ژلاتین به‌عنوان یک نگهدارندهٔ طبیعی برای فیلهٔ ماهی استفاده شود نباید بر خصوصیات ارگانولپتیک فیله تأثیر نامطلوب داشته باشد.

جدول ۸ - ارزیابی حسی در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی‌شده طی نگهداری در یخچال به مدت ۱۶ روز

شاخص حسی	تیمار	۰	۴	۸	۱۲	۱۶
بافت	شاهد	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۳/۷۸±۰/۳۰ bB	۳/۵۷±۰/۲۰ bA	۲/۳۵±۰/۱۷ cB	۲/۲۱±۰/۱۴ cC
	پوشش مخلوط	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۲۸±۰/۱۸ bAB	۳/۴۲±۰/۲۰ cA	۳/۰۰±۰/۰۰ dA	۲/۷۱±۰/۱۸ dBC
	پوشش دولایه	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۵۷±۰/۲۰ aA	۳/۸۵±۰/۳۴ bA	۳/۰۰±۰/۳۰ cA	۳/۴۲±۰/۲۰ bcAB
	فیلم مخلوط	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۸۵±۰/۱۴ aA	۴/۰۰±۰/۳۰ bA	۲/۷۱±۰/۱۸ cAB	۲/۵۷±۰/۲۰ cBC
	فیلم دولایه	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۷۱±۰/۲۸ aA	۴/۰۷±۰/۲۷ bA	۳/۱۴±۰/۱۴ cA	۲/۸۵±۰/۱۴ cB
بو	شاهد	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۱۴±۰/۲۶ bA	۳/۷۱±۰/۳۵ bA	۲/۰۰±۰/۰۰ cB	۱/۵۷±۰/۲۰ cB
	پوشش مخلوط	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۵۷±۰/۲۰ aA	۳/۸۵±۰/۲۶ bA	۳/۰۷±۰/۲۳ cA	۲/۳۵±۰/۱۷ dA
	پوشش دولایه	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۲۸±۰/۲۸ bA	۳/۸۵±۰/۲۶ bA	۲/۸۵±۰/۱۴ cA	۲/۷۸±۰/۱۴ cA
	فیلم مخلوط	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۳/۸۵±۰/۲۶ bA	۳/۸۵±۰/۲۶ bA	۲/۵۷±۰/۲۰ cA	۲/۴۲±۰/۲۰ cA
	فیلم دولایه	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۲۸±۰/۲۸ bA	۳/۷۱±۰/۱۸ cA	۲/۸۵±۰/۱۴ dA	۲/۵۷±۰/۲۰ dA
رنگ	شاهد	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۳/۸۵±۰/۴۰ bA	۳/۷۱±۰/۱۸ bA	۲/۵۷±۰/۲۰ cB	۱/۷۱±۰/۱۸ dB
	پوشش مخلوط	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۱۴±۰/۳۴ bA	۴/۰۰±۰/۳۰ bA	۳/۱۴±۰/۲۶ cA	۲/۱۴±۰/۴۰ dA
	پوشش دولایه	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۷۱±۰/۱۸ aA	۴/۰۷±۰/۰۷ bA	۲/۸۵±۰/۱۴ cAB	۲/۰۰±۰/۰۰ dAB
	فیلم مخلوط	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۲۸±۰/۲۸ bA	۴/۵۷±۰/۲۹ abA	۳/۰۰±۰/۰۰ cAB	۲/۲۱±۰/۱۴ dA
	فیلم دولایه	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۳/۸۵±۰/۴۵ bA	۴/۰۰±۰/۳۷ bA	۳/۰۰±۰/۰۰ cAB	۲/۰۰±۰/۰۰ dAB
مقبولیت کلی	شاهد	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۰۰±۰/۳۷ bA	۳/۷۱±۰/۳۵ bA	۲/۲۸±۰/۱۸ cB	۱/۱۴±۰/۱۴ dB
	پوشش مخلوط	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۳۵±۰/۲۳ bA	۴/۲۸±۰/۳۵ bA	۳/۰۰±۰/۲۱ cA	۲/۰۰±۰/۰۰ dA
	پوشش دولایه	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۲۸±۰/۲۸ bA	۴/۰۰±۰/۲۱ bA	۲/۷۱±۰/۱۸ cAB	۲/۲۱±۰/۱۴ cA
	فیلم مخلوط	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۲۸±۰/۱۸ bA	۴/۲۸±۰/۱۸ bA	۲/۸۵±۰/۱۴ cAB	۲/۲۸±۰/۱۸ dA
	فیلم دولایه	۵/۰۰±۰/۰۰ aA	۴/۴۲±۰/۳۶ aA	۴/۴۲±۰/۲۰ aA	۲/۵۷±۰/۲۰ bAB	۱/۸۵±۰/۱۴ cA

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار طی دورهٔ نگهداری در هر تیمار می‌باشد ($P<0/05$).

حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه‌های میکروبی کل و سرمادوست حاکی‌از پایین‌تربودن تعداد این باکتری‌ها در تیمارهای دارای پوشش و فیلم بود. پوشش و فیلم دولایه و مخلوط کیتوزان-ژلاتین در مقایسه با نمونه‌های شاهد تأثیر آشکاری بر کاستن از بار آلودگی میکروبی فیلهٔ شوریدهٔ بلانگر داشته اما تفاوت معنی‌داری بین پوشش و فیلم در کاهش آلودگی میکروبی وجود نداشت. نتایج آزمایش اندازه‌گیری بازهای ازتهٔ فرار، پوشش‌دهی را در کاهش بازهای ازتهٔ فرار حاصل از تولیدات میکروبی مؤثرتر از فیلم نشان داد. این پوشش‌ها و فیلم‌ها خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود را با کمتربودن شاخص‌های تیوباربیتوریک‌اسید، اسیدهای چرب آزاد و pH در نمونه‌های دارای پوشش و فیلم نسبت به نمونهٔ شاهد نشان دادند. علاوه‌براین در شرایط نگهداری در یخچال (۴ درجهٔ سانتی‌گراد) تأثیر فیلم در ممانعت از اکسیداسیون چربی بیشتر از پوشش بود. آزمون‌های حسی نیز مؤثربودن فیلم و پوشش کیتوزان-ژلاتین را بر خواص حسی فیله‌های خام نشان داد.

به‌طورکلی نتایج تحقیق حاضر تکنولوژی استفاده از پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی متشکل از کیتوزان و ژلاتین را در حفظ کیفیت اولیه و افزایش ماندگاری فیلهٔ شوریدهٔ بلانگر به‌ویژه طی نگهداری در یخچال مورد تأیید قرار می‌دهد. لذا ترکیب کیتوزان و ژلاتین چه به‌عنوان پوشش و یا فیلم خوراکی و چه به‌صورت مخلوط و یا دولایه می‌تواند تقاضای مصرف‌کنندگان به فراورده‌های دریایی عاری از مواد شیمیایی را تأمین نموده و نیاز آنها به مواد غذایی با کیفیت بهتر و ایمن‌تر را تأمین نماید. ازاین‌رو پوشش و فیلم کیتوزان-ژلاتین نوعی از بسته‌بندی فعال ایجاد می‌کند که می‌تواند به‌عنوان یک نگهدارندهٔ ایمن برای ماهی در دورهٔ نگهداری در یخچال عمل کند.

منابع

۱- اجاق، س.م. ۱۳۸۹. تاثیر استفاده از پوشش نگهدارنده کیتوزان غنی شده با اسانس دارچین بر کیفیت و ماندگاری فیله سرد شده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پایان‌نامه دکتری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس.

۲- مرادی، م.، تاجیک، ح.، رضوی روحانی، س.م.، ارومیه ای، ع.، ملکی‌نژاد، ح. و ساعی دهکردی، س.س. ۱۳۸۹. ارزیابی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، رنگ و اثرات ضدباکتریایی فیلم خوراکی کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی علیه لیستریا مونوسیتوژنز. مجله ارمغان دانش، ۴: ۳۱۵-۳۰۳.

۳- مرتضویان، س.ا.م.، عزیزی، م.ح. و سهراب‌وندی، س. ۱۳۸۹. مروری بر کاربرد لفاف‌های خوراکی در مواد غذایی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی دانشگاه تربیت مدرس، ۱: ۱۳۱-۱۱۱.

4- Arashisar, X., Hisar, O., Kaya, M., & Yanik, T. 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*oncorynchus mykiss*) fillets. International Journal of Food Microbiology, 97(2):209-214.

5- Arvanitoyannis, I.S., Nakayama, A., & Aiba, S. 1998. Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties. Carbohydrate polymers, 37(4):371-382.

6- Aubourg, S.P., Rodríguez, A., & Gallardo, J. 2005. Rancidity development during frozen storage of mackerel (*scomber scombrus*): effect of catching season and commercial presentation. European Journal of Lipid Science and Technology, 107(5):316-323.

7- Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I.N., & Kontominas, M.G. 2004. Microbiological, chemical and 4- sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. Food Microbiology, 21(2):157-165.

8- Duan, J., Jiang, Y., Cherian, G., & Zhao, G. 2010. Effect of combined chitosan-krill oil coating and modified atmosphere packaging on the storability of cold-stored lingcod (*ophiodon elongates*) fillets. Food Chemistry, 122(4):1035-1042.

9- El-Deen, G., & El-Shamery, M.R. 2010. Studies on contamination and quality of fresh fish meats during storage. Academic Journal of Biological Science, 2:65-74.

10- Falguera, V., Quintero, J.P., Jimenez, A., Munoz, J.A., & Ibarz, A. 2011. Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. Trends in Food Science and Technology, 22(6):1-12.

11- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., & Chi, Y. 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. Food Chemistry, 115(1):66-70.

12- Gomez-Estaca, J., Montero, P., Fernandez-Martin, F., & Gomez-Guillen, M.C. 2009. Physico-chemical and film-forming properties of bovine-hide and tuna-skin gelatin: a comparative study. Journal of Food Engineering, 90(4):480-486.

13- Goulas, A.E., & Kontominas, M.G. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. Food Chemistry, 100(1):287-296.

14- Gram, L., & Huss, H. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. Food Microbiology, 33(1):121-137.

15- Jaafarzadeh Haghighi Fard, N., Ravanbakhsh, M., Ramezani, Z., Ahmadi, M., Ahmadi Angali, K., & Zare Javid, A. 2015. Determination of mercury and vanadium concentration in *Johinus belangerii* (C) fish in Musa estuary in persian gulf. Marine pollution bulletin, 97(1):499-505.

16- Jeon, C.O., Kamil, Y.V.A., & Shahidi, F. 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of Herring and Atlantic Cod. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(18):5167-5178.

17- Kilincceker, O., Dogan, I.S., & Kucukoner, E. 2009. Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets. LWT - Food Science and Technology, 42(4):868-873.

18- Losada, V., Barros-Velazquez, J., & Aubourg, S.P. 2007. Rancidity development in frozen pelagic fish: Influence of slurry ice as preliminary chilling treatment. LWT- Food Science and Technology, 40(6):991-999.

19- Lopez-Caballero, M.E., Gomez-Guillen, M.C., Pérez-Mateos, M., & Montero, P. 2005. A chitosan–gelatin blend as a coating for fish patties. Food Hydrocolloids, 19(2):303-311.

20- Martucci, J.F., & Ruseckaite, R.A. 2010. Biodegradable three-layer film derived from bovine gelatin. Journal of Food Engineering, 99(3):377-383.

21- Mohan, C. O., Ravishankar, C. N., Lalitha, K. V., & Srinivasa Gopal, T. K. 2012. Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. Food Hydrocolloids, 26(1):167–174.

22- Nowzari, F., Shabanpour, B., & Ojagh, S.M. 2013. Comparision of chitosan-gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry, 141(3):1667-1672.

23- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., & Hosseini, S.M.H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry, 120(1):193-198.

24- Ozyurt, G., Kuley, E., Ozkutuk, S., & Ozogul, F. 2009. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*mullus barbatus*) and gold band goatfish (*upeneus moluccensis*) during storage in ice. Food Chemistry, 114(2):505-510.

25- Pereda, M., Ponce, A.G., Marcovich, N.E., Ruseckaite, R.A., & Martucci, J.F. 2011. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. Food Hydrocolloids, 25(5):1372-1381.

26- Rezaei, M., & Hosseini, S.F. 2008. Quality assessment of farmed rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. Journal of Food Science, 73(6):H93-96.

27- Rivero, S., Garcia, M.A., & Pinotti, A. 2009. Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan. Food Engineering, 90(4):531-539.

28- Rostamzad, H., Shabanpour, B., Shabani, A., & Shahiri, H. 2011. Enhancement of the storage quality of frozen persian sturgeon fillets by using of ascorbic acid. International Food Research Journal, 18(1):109-116.

29- Sallam, K.I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control, 18(5):566-575.

30- Sathivel, S., Liu, Q., Huang, J., & Prinyawiwatkul, W. 2007. The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. Journal of Food Engineering, 83(3):366-373.

31- Shahidi, F., & Zhong, Y. 2005. Lipid oxidation: measurement methods (6th Ed.). Memorial university of Newfoundland, Canada. 357-385.

32- Shakilla, R., Jeyasekaran, G., & Vijayalakshmi, S. 2005. Effect of vacuum packaging on the qualitycharacteristics of seer fish (*scomberomorucommersonii)* chunks during refrigerated storage. Journal of Food Science and Technology, 42(5):438-443.

33- Siripatrawan, U., & Noipha, S. 2012. Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. Food Hydrocolloids, 27(1):102-108.

34- Suvanich, V., Jahncke, M.L., & Marshall, D.L. 2000. Changes selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. Food Science, 65(1):24-29.

35- Woyewoda, A.D., Shaw, S.J., Ke, P.J., & Burns, B.G. 1986. Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. Canadian technical report of fish and aquatic science, 1448. Canadian technical report of fisheries and aquatic sciences. Halifax, Canada, 143.

The Effect of Chitosan-Gelatin Composition and Bi-Layer Coating and Film on Physicochemical, Microbial and Sensory Properties of *Johnius Belangerii* Stored at Refrigerator

Javaher Saki[1], Ainaz Khodanazary[2*], Seyed Mehdi Hosseini[2]

1- M.Sc student of Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran
2- Assistant professor, Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran
* Corresponding author (khodanazary@yahoo.com)

Abstract

Chitosan and gelatin are biopolymers with preservative effects and film forming ability to form antimicrobial and antioxidant coatings and films. In the current study, the effect of chitosan (1% w/v) and gelatin (3% w/v) coating (composite and bilayer) and film (composite and bilayer) was investigated on the storage of *Johnius belangerii* fillet in refrigerator (4 °C) for 16 days. Bacterial experiments (total count, pscychrotrophic bacteria and enterobacteriaceae) showed the antibacacterial effect of chitosan-gelatin coating and film but there was no significant difference between coating and film or composite and bilayer. Lipid oxidation value experiments (thiobarbituric acid and free fatty acid values) showed lower oxidation value in coated and film wrapped fillets. Also, sensory evaluations showed that refrigerated coated and film-wrapped samples had more durability (4 days) than control. Thus, chitosan-gelatin as edible coating and film (composite and bilayer) can enhance shelf life of *Johnius belangerii* fillet during refrigerated (4 ± 1 °C) storage.

Keywords: Bi-layer, Chitosan, Coating, Film, Gelatin