

## تاثیر کیتوزان استخراج شده از میگوی سر تیز (*Metapenaeus affinis*) در ماندگاری فیله کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) بسته‌بندی شده در خلاء

بهاره موذنی جولاً<sup>۱</sup>، لاله رومیانی<sup>۲\*</sup>

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

۲. استادیار گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۹/۲۰ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۱۱/۱۶

### چکیده

در این مطالعه تاثیر کیتوزان استخراج شده از میگوی سر تیز (*Metapenaeus affinis*) در پنج تیمار ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد بر روی ماندگاری فیله کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) در بسته‌بندی خلاء به مدت ۱۵ روز در دمای یخچال مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه شاخص‌های شیمیایی فساد (pH، بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)، تیوباربیتوریک اسید (TBA)، پراکسید (PV)، اسیدهای چرب آزاد (FFA) و میزان بار میکروبی (TVC) و همچنین خصوصیات بافت که شامل فاکتورهای سختی، پیوستگی، فنریت، صمغی و جویدنی است مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان pH در طول دوره روند افزایشی داشت و در تمام تیمارها این تغییر در روز ۱۵ نسبت به روز صفر معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). میزان PV تا روز ۱۲ روند افزایشی را نشان داد. مقدار TBA در روزهای ۹، ۱۲ و ۱۵ به جز در تیمار ۲ درصد کیتوزان (در روز ۹) از حد مجاز عبور کرد. میزان TVB-N طی ۱۵ روز روند افزایشی داشت و از روز ۹ تمام تیمارها (به جز ۲ درصد کیتوزان) از حد مطلوب خارج شدند. میزان FFA با افزایش زمان نگهداری در تمام تیمارها افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ) اما در تیمارهای دارای کیتوزان این افزایش در مقایسه با سایر تیمارها کاهش داشت. میزان TVC از روز صفر تا روز ۱۵ افزایش معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ). مقدار بار میکروبی تیمار شاهد در روزهای ۱۲ و ۱۵ از حد مجاز خارج گردید و در تیمار شاهد به  $\text{Log cfu/g}$   $7.86 \pm 0.16$  و در تیمار دارای ۲ درصد کیتوزان به  $\text{Log cfu/g}$   $5.78 \pm 0.35$  رسید. همچنین نتایج نشان داد که کیتوزان تغییرات معنی‌داری بر ویژگی‌های بافتی نداشت. در مجموع نتایج نشان داد که فیله کپور علفخوار با تیمار ۲ درصد پوشش کیتوزان تا روز ۱۵ دارای کیفیت مطلوبی بود.

واژگان کلیدی: کیتوزان، میگوی سر تیز، فیله کپور علفخوار، بسته‌بندی خلاء.

## ۱. مقدمه

دلیل ارزش غذایی بالای آن، در ماندگاری فیله کپور علفخوار، که یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی در ایران محسوب می‌گردد، مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲. مواد و روش‌ها

## ۲.۱. روش کار

تعداد ۶۳ میگوی سفید سر تیز (*Metapenaeus affinis*) از بازار ماهی فروشان آبادان خریداری و در جعبه یونولیت حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل و سپس پوسته میگو جدا گردید و با آب معمولی شسته و در آفتاب خشک شد.

## ۲.۲. آماده‌سازی کیتوزان

ابتدا ضایعات میگوی خشک شده را آسیاب کرده و در مرحله اول با NaOH یک نرمال به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط به نسبت ۱ به ۲۰ مخلوط نموده تا مواد آلی و گوشتی از آن جدا شوند. سپس مواد با فیلتر صاف و با آب مقطر pH خنثی شدند و به مدت یک روز اجازه داده شد تا پوسته خشک شود. بعد از آن با اسید کلریدریک ۱ نرمال به نسبت ۱ به ۲۰ به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط مخلوط گردید تا مواد معدنی از کیتین جدا شد. طبق مرحله قبل، فیلتراسیون و خنثی سازی pH و نیز خشک کردن باقیمانده فیلتر انجام پذیرفت. در مرحله آخر کیتوزان با NaOH پنجاه درصد به نسبت ۱ به ۲۰ مخلوط و فیلتراسیون انجام شد (Akbari et al., 2015). کیتوزان استخراج شده با درصدهای (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲) و به صورت پوششی در فیله کپور علفخوار استفاده شد. جهت پوشش دهی، فیله‌ها به مدت ۱ دقیقه در محلول‌های تهیه شده غوطه‌ور گردیدند. سپس از محلول خارج شده و پس از اتمام آب چک، جهت خشک کردن فیله‌ها آن‌ها را از صفحات مشبک استریل آویزان نموده و تحت جریان ملایم هوا قرار گرفتند. نمونه‌ها به مدت ۱۵ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در بسته‌بندی خلا نگهداری شدند تا آنالیزهای میکروبی، شیمیایی و بافتی بر روی آنها انجام گردد.

## ۳.۲. pH

پروتئین‌های ماهی از نظر حساسیت نسبت به تجزیه پروتئولیتیکی (در اثر آنزیم‌ها) دارای ارزشی معادل یا حتی بیشتر از گوشت قرمز می‌باشند و به این ترتیب هضم آنها راحت‌تر و ماندگاری آن‌ها کاهش می‌یابد (Dutta et al., 2009). استفاده از پوشش‌های خوراکی یکی از راه‌های افزایش ماندگاری آن‌ها است و این پوشش‌ها، جایگزین خوبی برای پوشش‌های شیمیایی جهت افزایش ماندگاری مواد غذایی محسوب می‌شوند. این پوشش‌ها مستقیماً به سطح مواد غذایی اضافه شده و جزء لاینفکی از محصول نهایی محسوب می‌گردند و به‌عنوان موانعی برای بخار آب، اکسیژن و دی اکسید کربن بوده و می‌توانند حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها و مواد جلوگیری کننده از رشد میکروارگانیسم‌های مولد عفونت و مسمومیت باشند (Koozdar and Radmehr, 2016).

پوشش طبیعی کیتوزان بیوپلی‌ساکارید غیر سمی، طبیعی و قابل تجزیه بوده و پتانسیل لازم برای استفاده به‌عنوان یک ترکیب ضد میکروبی را دارد. کیتوزان پلیمر گلوکز آمین است که باعث شلاته شدن یون‌های خاصی در لایه لیپوپلی ساکارید دیواره خارجی باکتری‌ها شده و یا به‌واسطه نیروهای الکترواستاتیکی بین گروه‌های  $NH_3^+$  در کیتوزان و گروه‌های با بار منفی در سطح سلول پیوند ایجاد می‌کند. در هر دو حالت، تراوایی غشاء سلولی افزایش می‌یابد و ترکیبات مهم سلولی موجود در باکتری خارج شده و باکتری از بین می‌رود (Sharafati et al., 2015). با توجه به کارایی پوشش کیتوزان مطالعات مختلفی بر روی استفاده از این پوشش‌دهنده انجام شده است که از جمله آن‌ها می‌توان به مطالعات Sharafati Chaleshtori و همکاران (۲۰۱۵) بر روی بررسی اثر کیتوزان همراه با اسانس لیمو بر کیفیت میکروبی ماهی قزل‌آلا، Li و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی افزایش کیفیت ماهی (*Sciaenops ocellatus*) با استفاده از پوشش حاوی نگهدارنده طبیعی کیتوزان در دمای یخچال و تحقیق Ramezani و Zarei (۲۰۱۵) در مورد اثر کیتوزان در ماندگاری فیله ماهی کپور نقره‌ای اشاره کرد. در این پژوهش نیز تاثیر کیتوزان استخراج شده از میگو، به

گرم نمونه وزن و آن را با مقدار کافی کلیفرم در همزن کاملاً مخلوط و سپس آن را از روی کاغذ صافی عبور داده و محلول صاف شده از روی یک کاغذ صافی دیگر که حاوی سولفات سدیم خشک بود، عبور داده شد. حجم معمولی از روی محلول صاف شده را به یک بالن که قبلاً در اتوکلاو خشک و پس از آن سرد و در ترازو توزین گردید، منتقل و پس از تبخیر کلروفورم مقدار چربی را در آن حجم (نسبت چربی در حلال) تعیین و سپس ۲۵ میلی‌لیتر از محلول صاف شده به یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل و ۲۵ میلی‌لیتر الکل خنثی به آن اضافه گردید. سپس اسیدهای چرب آزاد به وسیله محلول سود ۰/۱ نرمال در برابر معرف فنل فتالین خنثی شدند. اسیدهای چرب آزاد بر حسب درصد اسید اولئیک محاسبه گردیدند (Pearson, 1997).

#### ۷.۲. بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

به منظور اندازه‌گیری مواد ازته فرار از دستگاه کدال اتوماتیک استفاده گردید. به این صورت که مقدار ۱۰ گرم نمونه فیله میکس شده به همراه ۱ گرم پودر اکسید منیزیم درون بالن تقطیر دستگاه کدال ریخته شده و سپس ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. یک ارلن حاوی ۱۰ قطر معرف توشیرو به‌عنوان ظرف گیرنده به قسمت سرد کننده دستگاه تقطیر وصل گردید. دستگاه به طور اتوماتیک مقدار ۴۰ میلی‌لیتر اسیدبوریک ۲ درصد را از مخزن اسیدبوریک برداشته و وارد ارلن گیرنده گردید. پس از روشن شدن دستگاه محتوی بالن تقطیر حرارت دیده و به مدت ۱۸ دقیقه عمل جوش و تقطیر صورت گرفت. محلول تقطیر شده به وسیله اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تیترو شده و مقدار اسید مصرفی یادداشت و با استفاده از فرمول زیر می‌توان مواد ازته فرار بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت را محاسبه کرد (Pearson, 1997).

بازهای نیتروژنی فرار

=

$$\frac{4/1 \times 100 \times \text{میزان تیترازول نمونه شاهد} - \text{مصرفی نمونه مصرفی (میلی لیتر)}}{\text{نمونه وزن گرم}}$$

نمونه وزن گرم

برای این منظور مقدار ۵ گرم از هر یک از نمونه‌ها پس از آماده نمودن به همراه ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری توسط همزن برقی به‌طور کامل هموزن گردید و توسط pH متر مدل ۳۵۱۰ شرکت Jenway انگلستان اندازه‌گیری شد.

#### ۴.۲. پراکسید (PV)

نمونه‌ای از روغن استخراج شده از ماهی به دقت در ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری سرسمباده ای وزن و حدود ۲۵ میلی‌لیتر از محلول اسید استیک کلروفورمی (نسبت کلروفورم به اسید استیک ۳:۲) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی‌لیتر از آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته یک درصد به مجموعه اضافه و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال تیترو شد. میزان پراکسید نیز براساس AOAC (۲۰۰۲) مورد محاسبه قرار گرفت.

#### ۵.۲. تیوباریتوریک اسید (TBA)

مقدار ۱۰ گرم از فیله جهت هضم به بالون تقطیر منتقل و روی آن ۵۰ سی‌سی آب مقطر اضافه و به مدت ۲ دقیقه هم زده شد. مجدداً ۴۷/۵ سی‌سی آب مقطر همراه با ۲/۵ سی‌سی اسید کلریدریک ۴ نرمال به روی آن اضافه شد. عمل هضم تا زمانی که ۵۰ سی‌سی محلول تقطیر شده به دست آید، ادامه یافت. سپس ۵ سی‌سی از محلول تقطیر شده به داخل لوله آزمایش با درپنج تفلونی منتقل و روی آن ۵ سی‌سی معرف تیوباریتوریک اسید اضافه شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۵ دقیقه در حمام آبی در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در آب سرد خنک شدند. بعد از آن به کمک دستگاه اسپکتوفتومتر در طول ۵۳۸ نانومتر میزان جذب قرائت شد. (Pearson, 1997).

میزان جذب در طول موج ۵۳۸  $\times 7/8 =$  میزان تیوباریتوریک اسید (میلی‌گرم مالون آلدئید در کیلوگرم بافت)

#### ۶.۲. اسیدهای چرب آزاد (FFA)

جهت سنجش اسیدهای چرب آزاد حدود ۲۰

جدول ۱- تاثیر سطوح مختلف کیتوزان استخراج شده از میگوی سرتیز (*Metapenaeus affinis*) بر pH فیله کپور علفخوار در بسته‌بندی خلاء.

تیمار	روز	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد		۵/۸۹±۰/۱۹ <sup>Aa</sup>	۶/۱۰±۰/۱۰ <sup>Aab</sup>	۶/۲۳±۰/۱۲ <sup>Aab</sup>	۶/۳۹±۰/۱۲ <sup>Ab</sup>	۶/۶۲±۰/۱۶ <sup>Abc</sup>	۶/۷۷±۰/۱۳ <sup>Ac</sup>
۰/۵ درصد		۵/۹۷±۰/۱۴ <sup>Aa</sup>	۶/۰۸±۰/۱۲ <sup>Aa</sup>	۶/۲۱±۰/۱۲ <sup>Aab</sup>	۶/۴۱±۰/۱۴ <sup>Ab</sup>	۶/۶۵±۰/۱۴ <sup>Abc</sup>	۶/۸۵±۰/۱۳ <sup>Ac</sup>
۱ درصد		۵/۹۳±۰/۱۵ <sup>Aa</sup>	۶/۱۱±۰/۱۴ <sup>Aa</sup>	۶/۲۳±۰/۱۲ <sup>Aab</sup>	۶/۳۷±۰/۱۳ <sup>Ab</sup>	۶/۴۸±۰/۱۴ <sup>Abc</sup>	۶/۷۳±۰/۱۲ <sup>Ac</sup>
۱/۵ درصد		۵/۸۶±۰/۱۷ <sup>Aa</sup>	۶/۰۵±۰/۰۸ <sup>Aa</sup>	۶/۱۷±۰/۱۱ <sup>Aab</sup>	۶/۲۹±۰/۱۱ <sup>Aab</sup>	۶/۴۱±۰/۱۸ <sup>Abc</sup>	۶/۵۴±۰/۱۹ <sup>Ac</sup>
۲ درصد		۵/۹۸±۰/۱۳ <sup>Aa</sup>	۶/۱۲±۰/۰۶ <sup>Aa</sup>	۶/۱۴±۰/۱۷ <sup>Aa</sup>	۶/۲۷±۰/۱۵ <sup>Aab</sup>	۶/۴۰±۰/۱۴ <sup>Abc</sup>	۶/۵۹±۰/۱۴ <sup>Ac</sup>

حروف بزرگ در ردیف‌ها و حروف کوچک در ستون‌ها به ترتیب نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و در زمان‌های مختلف نگهداری می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

## ۸.۲. شمارش باکتریها

میانگین صفات از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. تمام مقایسه‌ها در سطح معنی‌دار ۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. جداول به کمک نرم افزار EXCEL 2010 رسم شدند.

مقدار ۵ گرم از فیله توسط پنس و قیچی استریل جدا و در کیسه‌های پلاستیکی استریل مخصوص قرار داده و سپس ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به آن افزوده و کیسه جهت هموژنیزاسیون محتویات به دستگاه استومیکرو مدل Inter-Science 400 به مدت ۱ دقیقه منتقل گردید. نمونه هموژن شده به روش معمول رقیق‌سازی متوالی شد و بر روی پلیت-های حاوی محیط کشت آگار مغذی و به روش کشت سطحی کشت داده شد. جهت شمارش تعداد کلنی‌های باکتریایی پلیت‌های کشت داده شده به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (Institute of Standards and Industrial Research of Iran, 2007).

## ۳. نتایج

### ۱.۳. بررسی سطوح مختلف کیتوزان بر ویژگی‌های شیمیایی فیله کپور علفخوار

پارامتر pH در تیمار شاهد و تیمارهای دارای کیتوزان در طول دوره بررسی اختلاف معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ). اما روند افزایش این پارامتر با گذشت زمان نگهداری در تمام تیمارها قابل مشاهده بود ( $P < 0.05$ ) به گونه‌ای که بالاترین مقدار این پارامتر در تمام تیمارها به روز ۱۵ تعلق داشت (جدول ۱). نتایج تاثیر سطوح کیتوزان استخراج شده از میگوی سرتیز بر میزان TBA روی فیله کپور علفخوار در جدول ۲، نشان داد که با افزایش زمان نگهداری میزان این شاخص روند افزایش دارد، اما با افزایش میزان کیتوزان روند کاهشی معنی‌داری در میزان TBA مشاهده شد به شکلی که بیشترین مقدار TBA در روز ۱۵ به تیمار شاهد (۴/۵۴±۰/۱۹) میلی‌گرم مالون‌دی-آلدئید در کیلوگرم) و کمترین مقدار آن به تیمار ۲ درصد کیتوزان (۳/۳۲±۰/۱۴) میلی‌گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم) تعلق داشت ( $P < 0.05$ ).

در تمام تیمارها با گذشت زمان، TVB-N افزایش معنی‌دار را نشان داد ( $P < 0.05$ ). کمترین مقدار این پارامتر در روز صفر (در تمام تیمارها) و بالاترین مقدار این پارامتر در روز ۱۵ به تیمار شاهد (۶۳/۸۴±۳/۰۲) میلی‌گرم ازت در ۱۰۰ گرم) تعلق

### ۹.۲. آنالیز بافت

آنالیز بافت شامل سختی، پیوستگی، جویدن و صمغی بودن نمونه‌ها با استفاده از دستگاه آنالیز بافت (TA.XT Plus, StableMicro Systems, UK) با مشخصات پروب مسطح به ابعاد ۴۰×۴۰ میلی‌متر و بار ۲۵ کیلوگرم انجام شد. نیروی مورد نیاز جهت فشردگی شدن نمونه‌ها تا ۷۰ درصد ارتفاع اولیه آنها تحت سرعت ثابت ۲۰۰ میلی‌متر بر دقیقه و لودسل ۵۰ نیوتنی بود.

### ۱۰.۲. تجزیه و تحلیل داده‌ها

تمام آزمایش‌ها با سه بار تکرار انجام و آنالیز واریانس دو طرفه برای مقایسه میانگین‌ها توسط نرم افزار SPSS 20 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت تعیین معنی‌دار بودن یا نبودن اختلافات بین

جدول ۲- تاثیر سطوح مختلف کیتوزان استخراج شده از میگوی سر تیز (*Metapenaeus affinis*) بر TBA (میلی گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم) فیله کپور علفخوار در بسته بندی خلاء.

روز	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد	۰/۵۸±۰/۰۷ <sup>Aa</sup>	۱/۰۶±۰/۰۲ <sup>Ab</sup>	۲/۰۴±۰/۱۲ <sup>Ac</sup>	۲/۹۰±۰/۰۶ <sup>Ad</sup>	۳/۶۴±۰/۰۹ <sup>Ae</sup>	۴/۵۴±۰/۱۹ <sup>Af</sup>
۰/۵ درصد	۰/۵۸±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۱/۰۳±۰/۰۴ <sup>Ab</sup>	۱/۹۱±۰/۰۸ <sup>Ac</sup>	۲/۸۷±۰/۱۳ <sup>Ad</sup>	۳/۵۸±۰/۰۹ <sup>Ae</sup>	۴/۳۹±۰/۱۱ <sup>Af</sup>
۱ درصد	۰/۶۱±۰/۰۱ <sup>Aa</sup>	۱±۰/۰۱ <sup>Ab</sup>	۱/۸۹±۰/۱۴ <sup>Ac</sup>	۲/۶۰±۰/۰۱ <sup>Ad</sup>	۳/۵۲±۰/۱۵ <sup>Ae</sup>	۴/۱۰±۰/۱۲ <sup>Af</sup>
۱/۵ درصد	۰/۵۷±۰/۰۴ <sup>Aa</sup>	۰/۹۶±۰/۰۱ <sup>Ab</sup>	۱/۴۷±۰/۱۰ <sup>Bc</sup>	۲/۳۹±۰/۱۸ <sup>Bd</sup>	۳/۰۷±۰/۱۷ <sup>Be</sup>	۳/۷۹±۰/۱۲ <sup>Bf</sup>
۲ درصد	۰/۵۹±۰/۰۷ <sup>Aa</sup>	۰/۹۰±۰/۰۱ <sup>Ab</sup>	۱/۴۱±۰/۰۴ <sup>Bc</sup>	۲±۰/۱۶ <sup>Cd</sup>	۲/۶۸±۰/۰۴ <sup>Ce</sup>	۳/۳۲±۰/۱۴ <sup>Cf</sup>

حروف بزرگ در ردیفها و حروف کوچک در ستونها به ترتیب نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها و در زمانهای مختلف نگهداری می باشد ( $P < 0/05$ ).

جدول ۳- تاثیر سطوح مختلف کیتوزان استخراج شده از میگوی سر تیز (*Metapenaeus affinis*) بر TVB-N (میلی گرم ازت در ۱۰۰ گرم) فیله کپور علفخوار در بسته بندی خلاء.

روز	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد	۱۰/۳۷±۰/۳۳ <sup>Aa</sup>	۱۵/۱۰±۰/۶۴ <sup>Ab</sup>	۲۵/۰۱±۱/۶۵ <sup>Ac</sup>	۲۸/۲۲±۱/۰۴ <sup>Ad</sup>	۵۱/۴۱±۲/۶۱ <sup>Ae</sup>	۶۳/۸۴±۳/۰۲ <sup>Af</sup>
۰/۵ درصد	۱۰/۰۵±۰/۵۳ <sup>Aa</sup>	۱۴/۷۵±۰/۴۱ <sup>Ab</sup>	۲۴/۸۱±۱/۴۹ <sup>ABc</sup>	۲۷/۹۶±۱/۵۳ <sup>Ad</sup>	۴۸/۹۱±۳/۴۳ <sup>Ae</sup>	۶۳/۷۰±۳/۸۸ <sup>Af</sup>
۱ درصد	۱۰/۰۵±۰/۲۸ <sup>Aa</sup>	۱۳/۱۹±۰/۴۹ <sup>Bb</sup>	۲۱/۷۴±۱/۲۲ <sup>BCc</sup>	۲۵/۲۹±۱/۰۲ <sup>Ad</sup>	۴۶/۷۸±۲/۲۵ <sup>Ae</sup>	۵۶/۲۹±۳/۱۸ <sup>Bf</sup>
۱/۵ درصد	۱۰/۲۸±۰/۲۴ <sup>Aa</sup>	۱۲/۸۲±۰/۵۲ <sup>Bb</sup>	۱۹/۴۱±۱/۸۷ <sup>Cc</sup>	۲۲/۶۰±۱/۱۸ <sup>Bd</sup>	۴۱/۶۶±۲/۱۴ <sup>Be</sup>	۴۹/۴۸±۲/۵۵ <sup>Cf</sup>
۲ درصد	۱۰/۱۴±۰/۱۱ <sup>Aa</sup>	۱۱/۸۰±۰/۳۹ <sup>Cb</sup>	۱۹/۱۷±۱/۰۵ <sup>Cc</sup>	۲۲/۹۲±۱/۹۴ <sup>Bd</sup>	۴۰/۸۲±۲/۸۴ <sup>Be</sup>	۴۹/۴۲±۲/۱۳ <sup>Cf</sup>

حروف بزرگ در ردیفها و حروف کوچک در ستونها به ترتیب نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها و در زمانهای مختلف نگهداری می باشد ( $P < 0/05$ ).

جدول ۴- تاثیر سطوح مختلف کیتوزان استخراج شده از میگوی سر تیز (*Metapenaeus affinis*) بر PV (میلی اکی والان در کیلوگرم) فیله کپور علفخوار در بسته بندی خلاء.

روز	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
شاهد	۰/۸۵±۰/۰۴ <sup>Aa</sup>	۲/۱۹±۰/۱۰ <sup>Ab</sup>	۳/۵۹±۰/۱۷ <sup>Ac</sup>	۴/۳۹±۰/۱۳ <sup>Ad</sup>	۵/۹۲±۰/۰۴ <sup>Ae</sup>	۵/۳۰±۰/۱۹ <sup>Af</sup>
۰/۵ درصد	۰/۸۰±۰/۰۷ <sup>Aa</sup>	۲/۱۷±۰/۱۹ <sup>Ab</sup>	۳/۴۹±۰/۱۲ <sup>Ac</sup>	۴/۲۸±۰/۱۹ <sup>Ad</sup>	۵/۹۲±۰/۱۵ <sup>Ae</sup>	۵/۲۱±۰/۱۵ <sup>Af</sup>
۱ درصد	۰/۸۴±۰/۰۳ <sup>Aa</sup>	۲±۰/۲۱ <sup>Ab</sup>	۳/۲۱±۰/۱۶ <sup>Ac</sup>	۴/۰۸±۰/۲۸ <sup>Ad</sup>	۴/۷۸±۰/۱۶ <sup>Ae</sup>	۴/۷۶±۰/۱۲ <sup>Be</sup>
۱/۵ درصد	۰/۸۶±۰/۰۱ <sup>Aa</sup>	۱/۶۹±۰/۱۸ <sup>Bb</sup>	۲/۶۵±۰/۲۲ <sup>Bc</sup>	۳/۵۸±۰/۱۰ <sup>Bd</sup>	۴/۴۰±۰/۰۳ <sup>Be</sup>	۴/۲۸±۰/۲۴ <sup>Ce</sup>
۲ درصد	۰/۸۶±۰/۰۶ <sup>Aa</sup>	۱/۵۱±۰/۱۶ <sup>Ba</sup>	۲/۵۹±۰/۰۹ <sup>Bc</sup>	۳/۱۸±۰/۱۹ <sup>Bd</sup>	۴/۲۱±۰/۰۵ <sup>Be</sup>	۴/۱۱±۰/۱۵ <sup>Ce</sup>

حروف بزرگ در ردیفها و حروف کوچک در ستونها به ترتیب نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها و در زمانهای مختلف نگهداری می باشد ( $P < 0/05$ ).

داشت ( $P < 0/05$ ) (جدول ۳). در تمامی دوره بررسی، تیمار ۲ درصد پارامتر پراکسید یا PV نیز همانند TBA در تمام دوره بررسی روند افزایشی نشان داد ( $P < 0/05$ ). در تمام روزهای بررسی ۳ تیمار ۱، ۱/۵ و ۲ درصد کیتوزان در مقایسه با شاهد و تیمار ۰/۵ درصد کیتوزان مقدار PV کمتری را نشان دادند ( $P < 0/05$ ) (جدول ۴).

### ۲.۳. بررسی سطوح مختلف کیتوزان بر ویژگی میکروبی فیله کپور علفخوار

بررسی تاثیر کیتوزان بر میزان باکتری‌های هوازی فیله کپور علفخوار نشان داد (جدول ۶) که کمترین مقدار این پارامتر در روز صفر در تمام تیمارها و بالاترین مقدار این پارامتر در روز ۱۵ به تیمار شاهد (Log cfu/g  $7/86 \pm 0/16$ ) تعلق داشت ( $P < 0/05$ ).

تاثیر کیتوزان بر اسیدهای چرب آزاد فیله کپور علفخوار در جدول ۵، نشان داده شده است. در روزهای ۳ تا ۱۵ تیمارهای شاهد و ۰/۵ درصد کیتوزان، در مقایسه با تیمارهای ۱، ۱/۵ و ۲ درصد کیتوزان به شکل معنی داری مقدار FFA بیشتری را نشان دادند

جدول ۵ - تاثیر سطوح کیتوزان استخراج شده از میگوی سرتیز (*Metapenaeus affinis*) بر FFA (درصد اولئیک) فیله کپور علفخوار در بسته بندی خلاء.

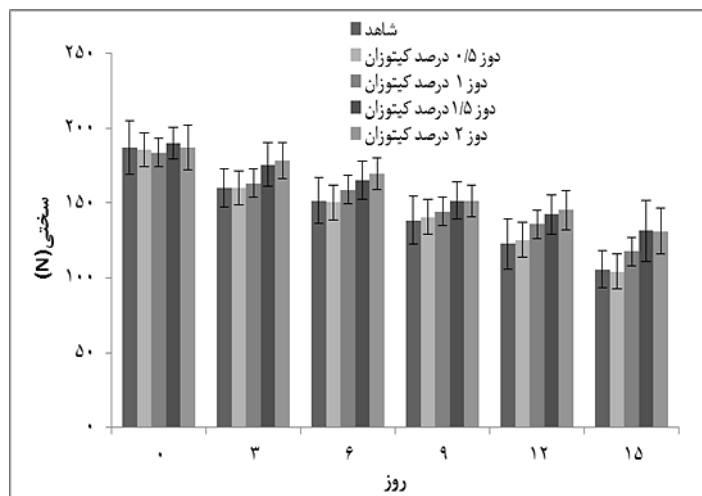
روز	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
تیمار						
شاهد	۰/۴۷±۰/۰۷ <sup>Aa</sup>	۰/۸۰±۰/۰۲ <sup>Ab</sup>	۱/۷۰±۰/۱۲ <sup>Ac</sup>	۲/۶۲±۰/۱۸ <sup>Ad</sup>	۳/۴۶±۰/۱۶ <sup>Ae</sup>	۴/۳۸±۰/۱۲ <sup>Af</sup>
۰/۵ درصد	۰/۴۲±۰/۰۶ <sup>Aa</sup>	۰/۸۲±۰/۰۳ <sup>Ab</sup>	۱/۷۶±۰/۱۲ <sup>Ac</sup>	۲/۳۳±۰/۱۹ <sup>Ad</sup>	۳/۴۱±۰/۱۹ <sup>Ae</sup>	۴/۴۰±۰/۱۴ <sup>Af</sup>
۱ درصد	۰/۵۰±۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۰/۷۲±۰/۰۷ <sup>Bcb</sup>	۱/۴۰±۰/۱۹ <sup>Bc</sup>	۲/۱۰±۰/۱۵ <sup>Bd</sup>	۲/۹۳±۰/۳۶ <sup>Be</sup>	۳/۵۶±۰/۲۱ <sup>Bf</sup>
۱/۵ درصد	۰/۴۸±۰/۰۴ <sup>Aa</sup>	۰/۶۸±۰/۰۶ <sup>Cb</sup>	۱/۳۲±۰/۱۸ <sup>Bc</sup>	۱/۶۷±۰/۲۱ <sup>Bd</sup>	۲/۴۷±۰/۱۴ <sup>Be</sup>	۳/۴۴±۰/۱۲ <sup>Bf</sup>
۲ درصد	۰/۴۷±۰/۰۴ <sup>Aa</sup>	۰/۶۱±۰/۰۸ <sup>Cb</sup>	۱/۱۸±۰/۱۳ <sup>Bc</sup>	۱/۵۸±۰/۲۰ <sup>Bd</sup>	۲/۴۶±۰/۱۶ <sup>Be</sup>	۲/۸۸±۰/۰۳ <sup>Cf</sup>

حروف بزرگ در ردیف‌ها و حروف کوچک در ستون‌ها به ترتیب نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و در زمان‌های مختلف نگهداری می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

جدول ۶ - تاثیر سطوح کیتوزان استخراج شده از میگوی سرتیز (*Metapenaeus affinis*) بر Log cfu/g TVC فیله کپور علفخوار در بسته بندی خلاء.

روز	صفر	۳	۶	۹	۱۲	۱۵
تیمار						
شاهد	۲/۳۰±۰/۲۸ <sup>Aa</sup>	۳/۷۰±۰/۱۷ <sup>Ab</sup>	۴/۹۰±۰/۶۹ <sup>Ac</sup>	۶/۴۵±۰/۳۴ <sup>Ad</sup>	۷/۶۰±۰/۴۰ <sup>Ae</sup>	۷/۸۶±۰/۱۶ <sup>Ae</sup>
۰/۵ درصد	۲/۳۵±۰/۳۵ <sup>Aa</sup>	۳/۶۰±۰/۲۸ <sup>ABb</sup>	۴/۶۰±۰/۳۹ <sup>Ac</sup>	۵/۹۰±۰/۱۰ <sup>Bd</sup>	۶/۲۷±۰/۵۵ <sup>Be</sup>	۶/۹۰±۰/۵۷ <sup>Be</sup>
۱ درصد	۲/۵۵±۰/۴۹ <sup>Aa</sup>	۳/۴۵±۰/۲۳ <sup>ABb</sup>	۴/۲۰±۰/۱۰ <sup>ABc</sup>	۴/۵۵±۰/۳۲ <sup>Cc</sup>	۵/۸۵±۰/۴۶ <sup>Cd</sup>	۶/۳۰±۰/۷۷ <sup>BCd</sup>
۱/۵ درصد	۲/۳۰±۰/۱۴ <sup>Aa</sup>	۳/۲۵±۰/۲۵ <sup>Bb</sup>	۳/۶۵±۰/۲۹ <sup>Bb</sup>	۴/۳۰±۰/۴۷ <sup>Cc</sup>	۵/۸۵±۰/۷۹ <sup>Cd</sup>	۶/۱۰±۰/۸۵ <sup>BCd</sup>
۲ درصد	۲/۷۰±۰/۱۴ <sup>Aa</sup>	۳/۱۰±۰/۳۷ <sup>Ba</sup>	۳/۵۵±۰/۴۸ <sup>Bab</sup>	۳/۹۸±۰/۲۵ <sup>Cb</sup>	۴/۵۷±۰/۲۸ <sup>Dc</sup>	۵/۷۸±۰/۳۵ <sup>Cd</sup>

حروف بزرگ در ردیف‌ها و حروف کوچک در ستون‌ها به ترتیب نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها و در زمان‌های مختلف نگهداری می‌باشد ( $P < 0.05$ ).



شکل ۱ - تاثیر سطوح مختلف کیتوزان استخراج شده از میگوی سرتیز (*Metapenaeus affinis*) بر سختی فیله کپور علفخوار در بسته بندی خلاء.

علفخوار نشان داده شده است. در تمام روزهای مورد بررسی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). بالاترین مقدار این پارامتر در روز صفر در تمام تیمارها و کمترین مقدار این پارامتر در روز ۱۵ در تمام تیمارها اندازه‌گیری شد ( $P < 0.05$ ).

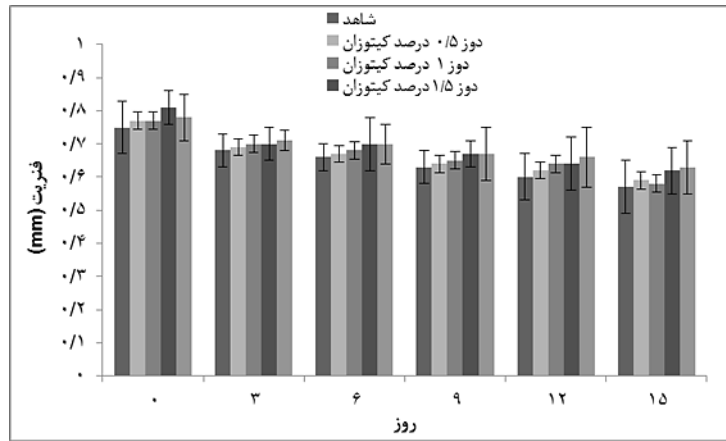
روند کاهش معنی‌داری در ویژگی جویدن بین روزهای مختلف نگهداری فیله کپور علفخوار در شکل ۳، قابل مشاهده است ( $P < 0.05$ ). هر چند وجود

### ۳.۳. بررسی سطوح مختلف کیتوزان بر ویژگی

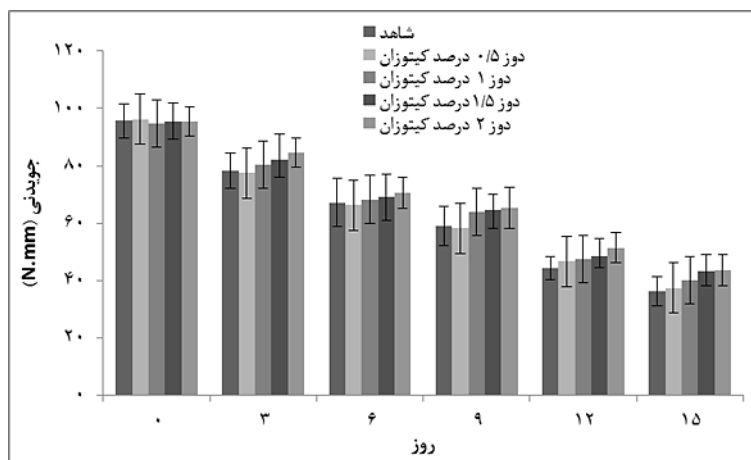
#### های بافتی فیله کپور علفخوار

در شکل ۱، روند کاهش میزان سختی فیله کپور علفخوار با افزایش زمان نگهداری قابل مشاهده بود ( $P < 0.05$ ). هر چند در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

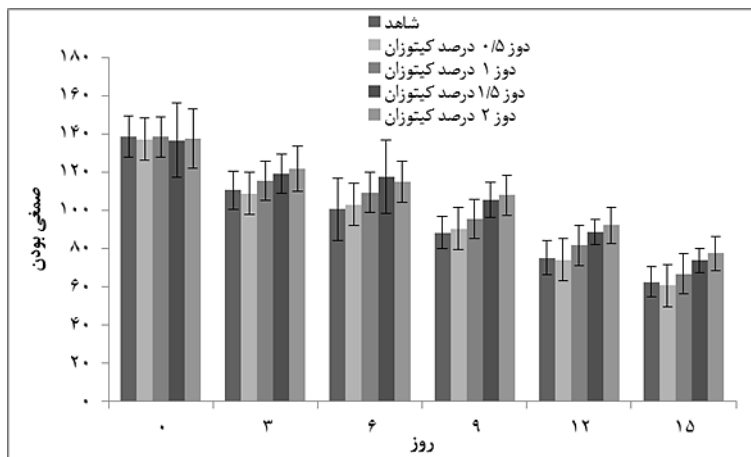
در شکل ۲، تاثیر کیتوزان بر فنریت فیله کپور



شکل ۲- تاثیر سطوح مختلف کیتوزان استخراج شده از میگوی سرتیز (*Metapenaeus affinis*) بر فنریت فیله کپور علفخوار در بسته بندی خلاء.



شکل ۳- تاثیر سطوح مختلف کیتوزان استخراج شده از میگوی سرتیز (*Metapenaeus affinis*) بر ویژگی جویندی فیله کپور علفخوار در بسته بندی خلاء.



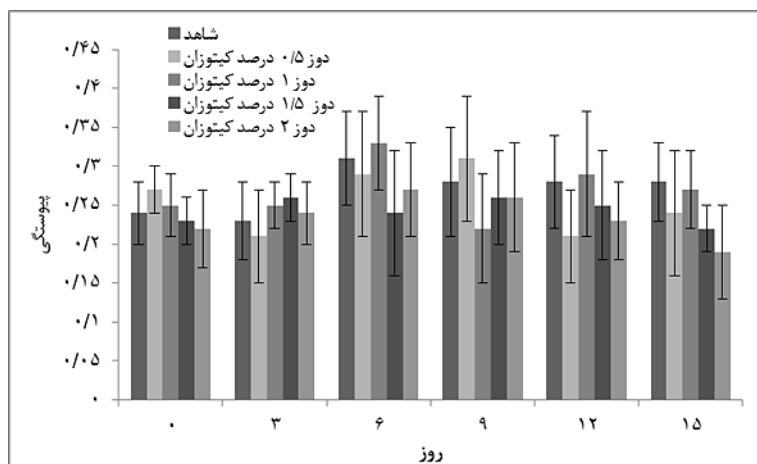
شکل ۴- تاثیر سطوح مختلف کیتوزان استخراج شده از میگوی سرتیز (*Metapenaeus affinis*) بر صمغی بودن در فیله کپور علفخوار در بسته بندی خلاء.

در روز صفر در تمام تیمارها و کمترین مقدار این پارامتر در روز ۱۵ در تمام تیمارها اندازه گیری شد ( $P < 0.05$ ) (شکل ۴).

در شکل ۵، تاثیر کیتوزان بر پیوستگی فیله کپور

سطوح مختلف کیتوزان سبب ایجاد تفاوت معنی دار در میزان ویژگی جویندی بین تیمار شاهد و سایر تیمارها نشد ( $P < 0.05$ ).

بالاترین مقدار صمغی بودن فیله کپور علفخوار



شکل ۵- سطوح مختلف کیتوزان استخراج شده از میگوی سر تیز (*Metapenaeus affinis*) بر پیوستگی در فیله کپور علفخوار در بسته‌بندی در خلاء.

کیتوزان با جلوگیری از نفوذ اکسیژن به گوشت قزل-آلای رنگین کمان و در نهایت اکسیداسیون آن منجر به کاهش تولید آمین‌ها شده که این عمل عدم نوسان در میزان pH را به همراه دارد که با توجه به عدم اختلاف تیمارهای دارای کیتوزان با شاهد می‌توان گفت با یافته‌های تحقیق حاضر مغایرت دارد.

ماهیان به دلیل غنی بودن از اسیدهای چرب تک غیراشباع و اسیدهای چرب غیراشباع در مقابل اکسیداسیون چربی بسیار حساس هستند و این امر باعث کاهش ماندگاری آنها می‌شود (Kotakowska et al., 2006) زیرا اکسیداسیون به واسطه اتصال اکسیژن به باند دوگانه این نوع اسیدهای چرب و در نتیجه تشکیل پراکسیدها اتفاق می‌افتد (Li et al., 2013). کیتوزان بر روی میزان پراکسید فیله کپور علفخوار در سطوح پایین (۰/۵ و ۱ درصد) تاثیری نداشت، اما با افزایش کیتوزان مصرفی (۱/۵ و ۲ درصد) روند کاهشی معنی‌دار بود و پائین‌ترین سطح آن در تیمار ۲ درصد کیتوزان اندازه‌گیری شد. در تحقیق دیگر بالاترین میزان اندیس پراکسید در نمونه‌های کنترل مشاهده شد و بین این تیمار با تیمارهای دارای پوشش کیتوزان اختلاف معنی‌داری مشاهده شد که با یافته تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (Molaei et al., 2015). همچنین روند افزایشی در طول دوره در تمام تیمارها به شکل معنی‌داری تا روز ۱۲ قابل مشاهده بود، اما در روز ۱۵ کاهش سطح این پارامتر اتفاق افتاد، که علت این کاهش، ممکن است به دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تولید آلدئیدها، کربونیل‌ها و ترکیبات فرار باشد. در تحقیق

علفخوار نشان داده شده است. در تمام روزهای مورد بررسی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

#### ۴. بحث و نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که pH فیله در تیمارهای دارای کیتوزان اختلاف معنی‌داری با این پارامتر در تیمار شاهد ندارد ( $P > 0.05$ ). اما تغییرات در طول دوره در تمام تیمارها همانند شاهد، روند افزایشی را نشان داد و این تغییر در روز ۱۵ نسبت به روز صفر معنی‌دار بود. Fan و همکاران (۲۰۰۹) در تحقیقی که بر روی تاثیر پوشش کیتوزان بر کیفیت فیله کپور نقره‌ای انجام دادند نشان دادند که pH در طی نگهداری در یخچال به دلیل تولید ترکیبات فرار نظیر آمونیاک و تری متیل آمین که ناشی از رشد و فعالیت باکتری‌های عامل فساد هستند، افزایش می‌یابد که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. در بررسی اجاق و همکاران (۱۳۹۱)، بر روی تاثیر پوشش کیتوزان در افزایش ماندگاری فیله قزل‌آلای رنگین کمان نیز افزایش pH را با گذشت زمان گزارش کردند که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. همچنین مطالعات دیگر این افزایش را ناشی از تجزیه گلیکوژن (Song et al., 2011) و یا انحلال دی‌اکسید کربن در آب عضلات مرتبط دانستند (Fan et al., 2008). pH بالاتر از ۷ نشانه فساد است (Ozogul et al., 2013) که در هیچ یک از تیمارها این پارامتر از محدوده مجاز عبور نکرد. Volpe و همکاران (۲۰۱۵) عنوان کردند که پوشش خوراکی



میکرواسفر پایدار تشکیل می‌دهد. همچنین 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 معرفی می‌کند (Mohan *et al.*, 2012). در مطالعات Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) و ساکی و همکاران (۱۳۹۶) بر روی تاثیر پوشش و فیلم خوراکی کیتوزان-ژلاتین بر روی ویژگی‌های ماهی شوریده هماهنگی دارد. در یافته‌های آن‌ها نیز کیتوزان سبب کاهش سطح TBA در فیله شد. معمولاً میزان ۱-۲ میلی‌گرم مالون آلدئید در کیلوگرم حد قابل قبول این پارامتر در نظر گرفته می‌شود (Connell, 1990) که در مطالعه حاضر در تمام تیمارها در روزهای ۹ (به جز تیمار ۲ درصد کیتوزان)، ۱۲ و ۱۵ از حد مجاز گفته شده عبور کرد.

اسیدهای چرب آزاد به‌واسطه اکسایش و آبکافت آنزیمی لیپاز و فسفولیپاز از استر اسیدهای چرب گلیسرول تولید می‌شود که این واکنش در مراحل انتهایی دوره نگهداری گسترش بیشتری پیدا کرده و توجیه‌کننده افزایش سطح این پارامتر با افزایش دوره نگهداری است (Hassanzadeh *et al.*, 2011). میزان FFA یا میزان اسیدهای چرب آزاد با گذشت زمان نگهداری، در تمام تیمارها افزایش معنی‌داری نشان دادند اما مقدار این پارامتر تحت تاثیر کیتوزان کاهش نشان داد. Lopez-Caballero و همکاران (۲۰۰۵) در تحقیقی که بر روی پوشش ترکیبی کیتوزان-ژلاتین در فیله ماهی انجام دادند، توانستند میزان FFA را در فیله کاهش داده و سبب کاهش فساد در ماهی شوند. این نتیجه در تحقیق حاضر نیز مشاهده شد و این کاهش به‌خصوص در تیمارهایی با سطح بالاتر کیتوزان در مقایسه با شاهد بیشتر بود، به گونه‌ای که از مقدار ابتدایی (بین ۰/۵۰-۰/۴۲ درصد اولیثک) به ۴/۲۸ درصد اولیثک در شاهد، ۴/۴۰ درصد اولیثک در تیمار ۰/۵ درصد، ۳/۵۶ درصد اولیثک در تیمار ۱ درصد، ۳/۴۴ درصد اولیثک در تیمار ۱/۵ و ۲/۸۸ درصد اولیثک در تیمار ۲ درصد کیتوزان رسید. همچنین ساکی و همکاران (۱۳۹۶) عنوان کردند که حضور کیتوزان عاملی برای کاهش میزان اسیدهای چرب آزاد در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان است که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. آن‌ها این

Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) بر روی تاثیر پوشش کیتوزان همراه با اسانس دارچین در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان منجمد شده نشان دادند که میزان پراکسید در تمامی تیمارها در طول زمان روند افزایشی داشت و این اختلاف بین زمان‌های مختلف معنی‌دار بود که با روند مشاهده شده در مورد فیله کپور علفخوار هم‌خوانی دارد. در واقع پوشش کیتوزان به‌عنوان سد بین ماده غذایی و محیط اطراف آن عمل کرده و نفوذ اکسیژن به سطح ماده غذایی را به تعویق می‌اندازد (Jeon *et al.*, 2002) که این امر کاهش سطح اکسیداسیون را تایید می‌کند. حد مجاز پراکسید ۲۰-۱۰ میلی‌اکی‌والان گرم اکسید بر کیلوگرم چربی تعیین شده است (Huss, 1995) که با توجه به اعداد نشان داده شده فیله‌های مورد نظر در محدوده مجاز برای مصرف قرار داشتند.

با توجه به کاهش مشاهده شده در میزان TBA در روز ۱۵ نسبت به روز ۱۲ به منظور ارزیابی دقیق میزان تندی و پیشرفت اکسیداسیون چربی ماهی (Silva and Ammerman, 1993) موجب نامطلوب شدن طعم و مزه بافت ماهی می‌شود، از عدد و شاخص TBA که در واقع از روی میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون و به خصوص آلدئید تعیین می‌شود، استفاده می‌گردد. در مورد TBA همان‌طور که انتظار می‌رفت، روند مشابه PV بود و در انتهای دوره کمترین مقدار TBA در دو تیمار ۱/۵ و ۲ درصد کیتوزان اندازه‌گیری شد. مشاهده روند افزایشی در TBA احتمالاً به دلیل افزایش آهن آزاد و سایر پراکسیدان‌ها در ماهیچه و همچنین تولید آلدئید از محصولات ثانویه حاصل از شکست هیدروپراکسیدها است (Amiri *et al.*, 2014). چنین روند افزایشی در مطالعه Amiri و همکاران (۲۰۱۴) بر روی نگهداری ماهی کپور نقره‌ای منجمد نیز دیده شد و TBA با گذشت زمان روند افزایش معنی‌داری را نشان داد. همان‌گونه که بیان شد پوشش کیتوزان نقش یک سد را بازی کرده و سبب به تعویق انداختن اکسیداسیون لپید از طریق کاهش نفوذ اکسیژن به ماده غذایی می‌شود (Sathivel, 2005). همچنین کیتوزان به دلیل داشتن گروه‌های آمینی اولیه دارای خاصیت آنتی-اکسیدانی است. این عوامل فعال با گروه‌های آلدئیدی فرار حاصل از شکستن چربی‌ها طی اکسیداسیون یک

افزایش بار میکروبی کل در گوشت ماهی حین نگهداری ثابت شده است (Lyon and Raddmann, 2000; Fan *et al.*, 2008) که در مطالعه Ojagh و همکاران (۲۰۱۲) در مورد مطالعه تاثیر پوشش کیتوزانی همراه با دارچین نیز چنین افزایشی در بار میکروبی نیز دیده شد. حد مجاز توصیه شده بار میکروبی برای ماهی خام  $7 \log \text{CFU/g}$  است که نتایج نشان داد فقط تیمار شاهد و در روزها ۱۲ و ۱۵ نگهداری مقدار بار میکروبی فیله کپور علفخوار از حد توصیه شده عبور کرده است، که با توجه به این نکته و این مورد که با افزایش سطح کیتوزان میزان بار میکروبی فیله کاهش یافت می‌توان گفت که کیتوزان در کاهش بار میکروبی فیله در طول دوره ماندگاری ۱۵ روزه موثر بوده است. در پژوهش Ojagh و همکاران (۲۰۱۲) پوشش کیتوزان توانست تا روز ۱۶ از رشد باکتریها ممانعت کند.

Sharafati Chaleshtori و همکاران (۲۰۱۵) اثر کیتوزان همراه با اسانس لیمو را بر کیفیت میکروبی ماهی قزل آلا مورد بررسی قرار دادند و نتایج کاهش شمارش کلی باکتری‌های سرمادوست و انتروباکتریاسه‌ها را نشان دادند که با نتایج تحقیق حاضر تطابق داشت. Perricone و همکاران (۲۰۱۵) عنوان کردند که خاصیت ضدباکتریایی کیتوزان مربوط به وجود بار مثبت مولکول‌های آن و واکنش با ملکول‌های بار منفی غشای سلول باکتری دانستند. در واقع اثرات ضدباکتریایی پوشش کیتوزانی به دلیل بار مثبت گروه‌های آمینی آن‌ها و واکنش با گروه‌های آنیونی سطح سلولی باکتری است (Perricone *et al.*, 2015) که در نهایت منجر به گسیختگی غشای سلول باکتری و خروج مواد ضروری سلول و در نهایت مرگ آن می‌شود و یا به دلیل عملکرد نفوذناپذیر آن با اکسیژن مرتبط است (Jeon *et al.*, 2002). همچنین Moradi و همکاران (۲۰۱۱) در پژوهشی تاثیر فیلم کیتوزان به حالت منفرد و در ترکیب با عصاره‌های آویشن شیرازی و عصاره هسته انگور در کالباس را مورد بررسی قرار داده و عنوان کردند که این فیلم دارای خاصیت ضد میکروبی است که با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. Spiratrawan و Harte (۲۰۱۰) در بررسی که بر روی ویژگی‌های فیزیکی و آنتی‌اکسیدانی فیلم کیتوزان انجام دادند عنوان کردند

تاثیر کیتوزان را به خاصیت شلاته‌کنندگی کیتوزان نسبت دادند. کیتوزان به‌عنوان یک شلاته‌کننده با پاره‌ای از فلزات پیوند یافته و بنابراین از رشد میکروب‌ها جلوگیری کرده و فعالیت‌های آنزیمی را نیز کاهش می‌دهد (اجاق، ۱۳۸۹).

TVN در اثر فساد تولید شده و شامل تری متیل آمین و آمونیاک و شاخصی برای ارزیابی کیفی و ماندگاری محسوب می‌شود (Kilinc *et al.*, 2009). در مورد TVN همانند سایر پارامترهای اندازه‌گیری شده، بیشترین تاثیر با اختلاف معنی‌دار در تیمارهای ۱/۵ و ۲ درصد کیتوزان به‌دست آمد و این تیمارها کمترین مقدار TVN را نشان دادند. همچنین روند افزایش با افزایش زمان نگهداری نیز مشهود بود. بالاترین سطح قابل قبول بازهای از ته فرار در گوشت ماهی ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن به ازای ۱۰۰ گرم پیشنهاد شده است (Gimenez *et al.*, 2002). در مطالعه حاضر از روز ۶ سه تیمار شاهد، ۰/۵ و ۱ درصد و از روز ۹ تمام تیمارها از نظر این پارامتر از حد مطلوب خارج شدند. در مطالعه Ojagh و همکاران (۲۰۱۲) درباره تاثیر پوشش کیتوزانی-اسانس دارچین میزان بازهای از ته در نمونه‌های پوشش در کل دوره نگهداری همواره از مقدار تعیین شده کمتر بود و فقط از روز ۱۲ در تیمار شاهد عبور از این محدوده مشاهده شد. همان‌طور که ذکر شد، بازهای از ته فرار عمدتاً در نتیجه فساد باکتریایی گوشت ماهی ایجاد می‌شوند و روند افزایشی بار میکروبی با مقادیر بالای بار میکروبی مرتبط است (Ojagh *et al.*, 2012). Jeon و همکاران (۲۰۰۲) در بررسی که بر روی ماهی کاد و هرینگ انجام دادند کاهش ۳۰-۵۰ و ۲۶-۵۱ درصدی در بازهای از ته در ماهیان دارای پوشش کیتوزانی را گزارش کردند که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. Lopez-Caballero و همکاران (۲۰۰۵) عنوان کردند که پوشش کیتوزان-ژلاتین در کاهش میزان بازهای از ته موثر است.

بار میکروبی فیله کپور علفخوار روندی مشابه با پارامترهای دیگر داشت به گونه‌ایی که بار میکروبی در روز صفر در مقایسه با روز ۱۵ در تیمارها افزایش معنی‌دار داشته ولی این افزایش در تیمارهای دارای کیتوزان به‌خصوص در سطوح ۱/۵ و ۲ درصد در مقایسه با سطوح پایین‌تر کیتوزان و شاهد کمتر بود.

## ۱.۰۴. بررسی تاثیر کیتوزان بر ویژگی‌های بافتی

### فیله کپور علفخوار

بررسی نتایج نشان داد که ویژگی‌های بافتی شامل سختی، فنریت، جویدنی، صمغی بودن و پیوستگی فیله کپور علفخوار با گذشت زمان کاهش نشان دادند اما این کاهش در تیمارهای دارای کیتوزان نسبت به شاهد کمتر بود، از این رو می‌توان گفت احتمالاً سطوح بالاتر کیتوزان می‌تواند تاثیر معنی‌داری بر روی این ویژگی‌ها داشته باشد.

Benjakul (۲۰۰۳) در بررسی تاثیر زمان نگهداری بر روی ویژگی‌های بافتی ماهی اعلام کرد که این پارامترها به عملکرد پروتئین عضله بستگی دارد و تغییر ماهیت و کیفیت پروتئین در کاهش توانایی آنها برای انجام وظایف سهم مهمی دارد و عواملی نظیر سرد کردن و انجماد به طور مستقیم بر روی ترکیب مولکول‌های پروتئین موثر بوده و باعث کاهش خواص آنها می‌شود که به‌وسیله کاهش در توانایی تشکیل ژل قابل مشاهده می‌باشد (MacDonald *et al.*, 1992). با توجه به نتایج تحقیق حاضر، استفاده از کیتوزان در افزایش ماندگاری فیله کپور علفخوار از نظر ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی در تیمار ۲ درصد کیتوزان تا روز ۱۵ مشاهده شد.

که فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم کیتوزان در اثر واکنش گروه‌های آمینی آزاد کیتوزان با رادیکال‌های آزاد جهت تشکیل رادیکال‌های ماکرومولکولار پایدار و در نتیجه گروه‌های آمونیوم شکل یافته توسط جذب یون هیدروژن از محلول است. Wu و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی اثرات ژلاتین همراه با کیتوزان و اسانس پونه علیه اشرفیا کلی نشان دادند که با گذشت زمان بر تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی بر روی ماهی افزوده شده ولی در نمونه‌های ژلاتین همراه با کیتوزان این افزایش کمتر بود که کاملاً با یافته‌های تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. دمای یخچالی برای نگهداری بسیاری از مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد ولی در مورد ماهی و فرآورده‌های آن به دلیل رشد میکروب‌های سرمدوست به همراه تجزیه آنزیمی و بیوشیمیایی فساد ایجاد خواهد شد (Sharafati *et al.*, 2013). Chaleshtori). با توجه به دیدگاه نامطلوب مصرف-کنندگان در خصوص افزودنی‌های شیمیایی و نتایج کاهش دهنده بار میکروبی که در تحقیق حاضر نیز به‌دست آمد، می‌توان کیتوزان را به‌عنوان یک افزودنی جهت کاهش بار میکروبی در افزایش ماندگاری فیله استفاده کرد.

## References

- Akbari, S., Dehghani, M.H., Salari, M. 2015. Investigating the removal of fluoride from aqueous solution by using chitosan isolated from shrimp shells native Persian Gulf. *Journal of research in Environmental Health*, 1, 245-250.
- Amiri, F.H., Sha'banpour, B., Rahmani Farah, K., 2014. Effect of frozen silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) on the quality properties of produced Surimi powder. *Fisheries Science and Technology*, 4, 34-19
- AOAC, 2002. Official Methods of Analysis of AOAC International (17th ed.). MD, Gaithersburg, USA Association of Official Analytical Chemistry.
- Bazargani-Gilani, B., Aliakbarlu, J., Tajik, H., 2015. Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with Zataria multiflora Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 29, 280-87.
- Benjakul, S., Visessanguan, W., Thongkaew, C., Tanaka, M., 2003. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage. *Food Research International*, 36, 787-795
- Connell, J.J., 1990. Methods of assessing and selecting for quality. In control of fish quality (3rd ed.). Berlin: Springer. (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food Chemistry*, 114, 505-510.
- Dutta, P.K., Tripathi, S., Mehrotra, G.K., Dutta, J., 2009. Prespective for chitosan based antimicrobial film in food applications. *Journal Food Chemistry*, 114, 1173-1182.
- Fan, W., Chi Y., Zhang, S., 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Food Chemistry*, 108, 148-153.
- Gimenez, B., Roncales, P., Beltran, J.A., 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of Science Food Agriculture*, 84, 1154-1159.

- Bono, G., Badalucco, C., 2012. Combining ozone and modified atmosphere packaging (MAP) to maximize shelf-life and quality of striped red mullet (*Mullus surmuletus*). *LWT-Food Science and Technology*, 47(2), 500-504.
- Hassanzadeh, P., Tajik, H., Razavi Rouhani, M., 2011. Application of chitosan edible coating containing grape seed extract on the quality and shelf life of chicken meat at refrigerated temperature. *Journal of Food Industry Research*, 3, 467-482.
- Huss, H.H., 1995. Quality and quality changes in fresh sh. FAO Fisheries Technical. 348 p.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran, 2007. Microbiology of food and animal feed - Comprehensive method for total counting of microorganisms - by colony counting method at 30 degrees Celsius. National Standard.
- Jafar Pour, A., Haji Don, H., Rezaei, M., 2012. Improvement of quality properties of Surimi made from common carp (*Cyprinus carpio*) using soy protein isolate. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 1, 108-93.
- Jeon, Y.I., Kamil, J.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*, 20, 5167-5178.
- Kilinc, B., Cakil, S., Csdun, A., Sen, B., 2009. Effect of phosphate dip treatments on chemical, microbiological, color, extural, and sensory changes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during refrigerated storage. *Journal of Food Product Technology*, 18, 108-119.
- Koohdar, V., Radmehr, B., 2016. Effect of chitosan coating on some microbial and chemical properties of fresh chicken meat. *Journal of Food Hygiene*, 21, 55-101.
- Kotakowska, A., Domiszewski, Z., Kozlowski, D., Gajowniczek, M., 2006. Effects of rainbow trout freshness on n-3 polyunsaturated fatty acids in fish offal Eur. *Journal of Lipid Science Technology*, 108, 723-729.
- L'opez-Caballero, M.E., Gomez-Guillen, M.C., P'erez-Mateos, M., Montero, P., 2005. A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydrocolloids*, 19, 303-11.
- Li, T., Li, j., Hu, W., Li, X., 2013. Quality enhancement in refrigerated red drum (*Sciaenops ocellatus*) fillets using chitosan coatings containing natural preservatives. *Food Chemistry*, 13, 821-826.
- Lyon, W.J., Reddmann, C. S., 2000. Bacteria associated with processed crawfish and potential toxin production by *Clostridium botulinum* type E in vacuum packaged and aerobically packaged crawfish tails, *Journal of Food Protection*, 63(12), 1687-1696.
- MacDonald G.A., Lelievre J., Wilson N.D.C., 1992. Effect of frozen storage on the gelforming properties of hoki (*Macruronus novaezelandiae*). *Journal of Food Science*, 57, 69-71.
- Molaee Aghaee, E., Kamkar, A., Akhondzadeh Basti, A., Khanjari, A., Kontominas, M.G., 2015. Effect of packaging with Chitosan biodegradable films formulated with Garlic essential oil (*Allium sativum* L.) on chemical properties of chicken fillet. *Iranian Journal of Health and Environmental*, 3, 379-390(Persian).
- Moradi, M., Tajik, H., Razavi Rohani, S.M., Oromiehie, A., 2011. Effectiveness of *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract impregnated chitosan film on ready-to-eat mortadella-type sausages during refrigerated storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 2850-2857.
- Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., Hosseini, S. M.H., 2012. Effect of antimicrobial coating on shelf-life extension of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Food Science and Technology of Iran*, 9: 13-23. (In Persian)
- Ojagh, S.M., Rezari, M., Razavi, S.H., Hosseini, S., 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry* 12: 193-198.
- Ojagh, M., 2001 The Effect of Cinnamon-Enriched Chitosan Protein Cover on the Quality and Sustainability of the Ph.D., Natural Resources and Natural Resources College (*Oncorhynchus mykiss*). Rainbow Trout Cold Fillet Filled Marine Science Tarbiat Modares University.
- Ozogul, Y., Uçar, Y., 2013. The effects of natural extracts on the quality changes of frozen chub mackerel (*Scomber japonicus*) burgers. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 1550-1560.
- Pearson, D., 1997. Laboratory technic in food analysis, Butter Worth. London, UK, pp: 256-270.
- Perricone, M., Arace, E., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., Bevilacqua, A., 2015. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Frontiers in Microbiology*, 6, 76-82.
- Ramezani, Z., Zarei, M., Raminnejad, N., 2015. The Comparing effectiveness of chitosan and nano chitosan and nano chitosan coating on the quality of refrigerated silver carp. *Food Control*, 51, 43-48.
- Saki, J., Khadanazari, A., Hosseini, M. 2017. The Effect of Coating and Film of Chitosan-Zelatin Oral Mixture on Physicochemical, Microbial, and Sensory Characteristics of Blangerhard Fish Preserved in a Refrigerator. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 6(1), 86-71.
- Sathivel, S., 2005. Chitosan and Protein Coatings Affect Yield, Moisture Loss, and Lipid Oxidation of Pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) Fillets during Frozen Storage. *Journal of Food Science*, 70(8), 455-459.
- Shakespeare, Sh., Azizi Shirazi, A., Abbas Valley, M., 2014. The effect of packaging on some

- microbial, chemical and physical properties of rainbow trout kept in the refrigerator. *Quarterly Journal of Fisheries Science and Technology*, 3, 42-31.
- Sharafati Chaleshtori, R., Rokni, N., Razavilar, V., Rafieian Kopaei, M., 2013. The Evaluation of the Antibacterial and Antioxidant Activity of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) Essential Oil and Its Chemical Composition. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6(9), 77-78.
- Sharafati Chaleshtori, R., Taghizadeh, M., Khanalizadeh, A., Hesami, S., Heidaryan, Z., Sahebajami, P., Khatam, M., 2015. The Effects of Chitosan Incorporated with Eucalyptus and Cuminum Essential Oils on Storage Time of *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Mazandaran University of Medical Science*, 26(133), 150-161 (In Persian)
- Silva, J.L., Ammerman, G.R., 1993. Composition, lipid change and sensory evaluation of two sizes of channel cat fish during frozen storage. *Journal of Applied Aquaculture*, 2(2), 39-49.
- Siripatrawan, U., Harte, B.R., 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloid* 24, 770-775.
- Song, Y., Liu, L., Shen, H., You, J., Luo, Y., 2011. Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control*, 22, 608-615.
- Volpe, M.G., Siano, F., Paolucci, M., Sacco, A., Sorrentino, A., Malinconico, M., Varricchio, E., 2015. Active edible coating effectiveness in shelf-life enhancement of trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *LWT - Food Science and Technology*, 60, 615-622
- Wu, J., Ge, S., Liu, H., Wang, S., Chen, S., Wang, J., 2014. Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin-chitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation. *Food Packaging and Shelf Life*, 2(1), 7-16.