

تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان حاوی اسانس دارچین بر زمان ماندگاری فیش فینگر کپور نقره‌ای طی نگهداری در یخچال

مریم پیل مال^۱، ابراهیم علیزاده دوغیکلایی^{۲*}، مصطفی یوسف الهی^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۲. دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۳. دانشیار گروه علوم دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۱۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۹/۳۰

چکیده

هدف این مطالعه بررسی تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان حاوی اسانس دارچین بر خصوصیات شیمیایی و میکروبی فیش فینگر کپور نقره‌ای طی نگهداری در یخچال می‌باشد. فیش فینگرها به‌طور جداگانه در محلول‌های پوششی کیتوزان (۲ درصد)، اسانس دارچین (۱/۵ درصد) و پوشش کیتوزان (۲ درصد) + اسانس دارچین (۱/۵ درصد) به مدت یک دقیقه غوطه‌ور، سپس بسته‌بندی و در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. فراسنجه‌های شیمیایی (pH، پراکسید (PV)، تیوباربیتوریک اسید (TBA) و مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)) و میکروبی (شمارش باکتری‌های کل (TVC) و باکتری‌های سرماگرا (PTC)) در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که با افزایش زمان نگهداری میزان pH، PV، TBA و TVB-N به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/05$). میزان بار باکتریایی کل (TVC) و سرماگرا (PTC) فیش فینگرها هنگام نگهداری در یخچال به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/05$). شاخص‌های شیمیایی و میکروبی تیمار دارای پوشش کیتوزان (۲ درصد) + اسانس دارچین (۱/۵ درصد) در مقایسه با سایر تیمارها تغییرات کمتری را هنگام نگهداری نشان دادند، به طوری که طی نگهداری تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشتند ($P < 0/05$). براساس نتایج این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری نمود که فیش فینگرهای پوشش داده شده با کیتوزان (۲ درصد) + اسانس دارچین (۱/۵ درصد) نسبت به سایر تیمارها مؤثرتر بوده و سه روز بر زمان ماندگاری فیش فینگرها افزودند.

واژگان کلیدی: کیتوزان، اسانس دارچین، کپور نقره‌ای، پوشش خوراکی.

۱. مقدمه

دارچین (*Cinnamomum verum*) گیاه بومی سریلانکا بوده و اسانس آن توسط محققین زیادی به عنوان منبع مناسب از ترکیبات ضد قارچی و باکتریایی شناخته شده است (Ranasinghe *et al.*, 2002; Oussalah *et al.*, 2006). Ouattara و همکاران (۱۹۹۷) گزارش نمودند که دارچین حاوی سینامالدهید به عنوان ترکیب اصلی می باشد که ۶۵-۷۵ درصد اسانس را تشکیل می دهد و این ترکیب مسئول اثر آنتی باکتریایی می باشد. اسانس ها نقش بسیار مناسبی در کنترل باکتری های عامل فساد و بیماری زا و افزایش زمان نگهداری مواد غذایی دارند. همچنین، اثر ضد میکروبی قوی اسانس دارچین بر طیف وسیعی از باکتری ها به اثبات رسیده است (Wendakoon and Sakaguchi, 1995). ترکیبات فنولی موجود در اسانس های گیاهی مسئول خواص ضد میکروبی اسانس ها هستند (Burt, 2004). همچنین، یکی از بهترین منابع آنتی اکسیدان های طبیعی هستند (Dorman and Deans, 2000). به دلیل اثرات نامطلوب افزودن مستقیم اسانس بر ویژگی های حسی ماده غذایی، افزودن آن به پوشش های خوراکی می تواند راه حل مناسبی برای نگهداری مواد غذایی باشد (Rodrigues and Han, 2000).

افزودن عصاره و اسانس به فرمولاسیون پوشش هایی نظیر کیتوزان در جهت بهبود ویژگی های ضد میکروبی آن ها می باشد (Gómez-Guillén *et al.*, 2009). مطالعات انجام شده نشان می دهد که استفاده از پوشش آلژینات سدیم همراه با اسانس دارچین سبب افزایش خواص ضد میکروبی و ضد اکسیداسیونی شده، به طوری که روند فساد میکروبی و اکسیداسیونی فیله کیور نقره ای پوشش دار را طی نگهداری در یخچال (۴ درجه سانتی گراد) به طور معنی داری به تعویق می اندازد (آل طیب و همکاران، ۱۳۹۵). همچنین تاثیر ضد میکروبی فیلم خوراکی پروتئین آب پنیر غنی شده با اسانس دارچین بر فیله های فیل ماهی طی نگهداری در یخچال (۴ درجه سانتی گراد) نشان داد که این پوشش می تواند از رشد باکتری های کل و سرماگرا جلوگیری کند (بهرام و همکاران، ۱۳۹۲). با توجه به موارد فوق، این تحقیق به بررسی تاثیر پوشش خوراکی کیتوزان، اسانس دارچین و کیتوزان-اسانس دارچین بر کیفیت فیش فینگر کیور نقره ای طی نگهداری در

فیش فینگر از فرآورده های نیمه آماده تولید شده از آبزیان می باشد که دارای ارزش غذایی و بازار پسندی مطلوبی است. فیش فینگر تهیه شده از گوشت چرخ شده ماهی به عنوان محصولی لعاب زده و سوخاری شده است که به صورت منجمد نگهداری و به بازار عرضه می گردد (Tokur *et al.*, 2006). پوشش های خوراکی عبارتند از افزودن یک لایه نازک از مواد خوراکی (ماده-ای که در صورت ورود به بدن بدون عوارض جانبی هضم و جذب می شود) روی مواد غذایی که از طریق پیچیدن، فرو بردن، برس زدن و اسپری کردن تشکیل می شود و به عنوان بخشی از محصول بوده و موقع استفاده روی محصول باقی می ماند (McHugh and Senesi, 2000). به این ترتیب یک سد انتخابی در برابر انتقال گازها، بخارها و مواد حل شده ایجاد می گردد و منجر به حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری مواد غذایی می شوند (Krochta and Mulder, 1997). همچنین، پوشش های خوراکی می تواند با ترکیباتی مثل نرم کننده ها، امولسی فایرها، آنتی اکسیدان ها و مواد ضد میکروبی ترکیب شود تا تاثیرات مورد نظر را فراهم کند (Guilbert *et al.*, 1996).

کیتوزان پلی ساکاریدی خطی و دارای بار الکتریکی مثبت بوده که می تواند از کیتین سخت پوستان به دست آید. همچنین دومین پلیمر فراوان طبیعت پس از سلولز است که به صورت یک زیست پلیمر خطی از واحدهای بتا - (۴و۱) - ان - استیل - دی - گلوکز آمین تشکیل شده است (Pereda *et al.*, 2011). این ماده توانایی ایجاد شبکه ژلی خوبی دارد. همچنین، اثرات ضد سرطانی و کاهندگی کلسترول کیتوزان به اثبات رسیده است (Sagoo *et al.*, 2002; No *et al.*, 2007). استفاده از کیتوزان در مواد غذایی به ویژه به علت زیست سازگاری بالا و غیر سمی بودن، تجزیه زیستی و بی طعم بودن و غیره رو به افزایش می باشد (No *et al.*, 2007; Jeon *et al.*, 2002). کیتوزان به عنوان فیلم و پوشش خوراکی به دلیل مؤثر بودن در مهار رشد باکتری های گرم مثبت، گرم منفی، مخمرها و کپک ها استفاده می شود (Siripatrawan and Harte, 2010).

یخچال می‌پردازد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. تهیه ماهی و تیمارها

تعداد ۲۰ قطعه ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) با وزن متوسط 100 ± 2 سانتی‌متر از بازار ماهی فروشان زابل خریداری گردید و در جعبه‌های یونولیت به همراه پودر یخ به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه زابل انتقال داده شدند. ماهی‌ها پس از شستشو با آب فیله و سپس با چرخ گوشت (منافذ ۳ میلی‌متر) چرخ گردیدند. فیش فینگر از مخلوط شدن گوشت چرخ شده (۹۳/۵ درصد) با افزودنی‌ها (آرد گندم (۳ درصد)، پودر پیاز (۰/۲۴۳ درصد)، آویشن (۰/۲ درصد)، پودر سیر (۰/۲۴۳ درصد)، فلفل (۰/۲۴۳ درصد)، زیره سبز (۰/۲۴۳ درصد)، شکر (۱ درصد) و نمک (۱/۵ درصد)) تهیه گردید. فیش فینگرهای تهیه شده (قالب مستطیل شکل به ابعاد 7×2 و به ارتفاع ۱ سانتی‌متر) در محلول‌های پوششی کیتوزان (۲ درصد)، اسانس دارچین (۱/۵ درصد) و پوشش کیتوزان (۲ درصد) + اسانس دارچین (۱/۵ درصد) به مدت یک دقیقه غوطه‌ور (Ojagh *et al.*, 2010)، سپس در بسته‌های پلاستیکی بسته‌بندی و در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. فراسنجه‌های شیمیایی و میکروبی در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸ اندازه‌گیری شدند. تمامی آزمایش‌ها با سه تکرار انجام گرفت.

۲.۲. تهیه اسانس

۴۰ گرم پوست دارچین (*Cinnamomum verum*) تهیه شده از شهرستان زابل پس از توزین، با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب اسانس گیری شد. اسانس‌ها تا زمان استفاده در شیشه‌های استریل و تیره رنگ در یخچال نگهداری شدند (Burt, 2004).

۳.۲. تهیه محلول پوششی کیتوزان

به منظور تهیه محلول پوششی کیتوزان (۲ درصد)، ابتدا ۲۰ گرم پودر کیتوزان را در بالون ژوژه حاوی آب مقطر ریخته و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق هم زده تا کیتوزان کاملاً حل گردد. سپس ۱۰ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال را به مخلوط افزوده و با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده و هم زدن به مدت یک ساعت ادامه می‌یابد (Kanatt *et al.*, 2013).

۴.۲. اندازه گیری pH

۵ گرم نمونه به ۴۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه هموزن گردید. سپس pH نمونه‌ها با pH متر دیجیتالی استاندارد شده در pH ۴ و ۷ اندازه گیری شد (Sallam *et al.*, 2007).

۵.۲. اندازه گیری پراکسید (PV)

۴۰ گرم نمونه با ۱۰۰ میلی لیتر کلروفرم مخلوط و سپس با کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف گردید. ۲۵ میلی لیتر از محلول صاف شده را برای استخراج چربی درون بشر ریخته و درون آن قرار داده تا کلروفرم آن تبخیر (اختلاف وزن بشر پس از تبخیر کلروفرم بیانگر وزن روغن خواهد بود) و ۲۵ میلی لیتر دیگر را درون ارلن ریخته و پس از افزودن ۳۷ میلی لیتر اسید استیک، یک میلی لیتر یدور پتاسیم اشباع به محلول اضافه گردید. پس از یک دقیقه ۳۰ میلی لیتر آب مقطر و یک میلی لیتر محلول نشاسته به محلول اضافه و با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تا آنجا تیتیر گردید که رنگ زرد محلول از بین رفته و به رنگ سفید شیری تغییر یافت. میزان پراکسید از رابطه زیر محاسبه گردید (AOAC, 2002).

$$\text{PV} = 0.1 \times 100 \times \text{مقدار تیوسولفات مصرفی}$$

۶.۲. اندازه گیری تیوباریتوریک اسید (TBA)

اندازه‌گیری TBA به روش رنگ‌سنجی انجام گرفت. ۲۰۰ میلی گرم نمونه به یک بالون ۲۵ میلی لیتر انتقال یافت و سپس با ۱- بوتانول به حجم رسانده شد. ۵ میلی لیتر از مخلوط فوق را به لوله‌های خشک درب‌دار ریخته و به آن ۵ میلی لیتر از معرف TBA اضافه گردید (معرف TBA به وسیله حل شدن ۲۰۰ میلی گرم از TBA در ۱۰۰ میلی لیتر حلال پس از فیلتر

۳۵ درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های مربوط به باکتری‌های سرماگرا (PTC) بعد از ۱۰ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد شمارش شدند (Arashisar *et al.*, 2004).

۹.۲. تجزیه و تحلیل آماری

پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، برای بررسی تأثیر تیمارها و زمان نگهداری از طرح کاملاً تصادفی و تجزیه واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) استفاده گردید. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از آزمون LSD در سطح معنی‌دار پنج درصد استفاده شد. تجزیه داده‌های حاصله با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام گرفت.

۳. نتایج

۱.۳. فراسنجه‌های شیمیایی

در مطالعه حاضر مقادیر pH نمونه‌های شاهد، فیش‌فینگرهای تیمار شده با پوشش کیتوزان (۲ درصد)، اسانس دارچین (۱/۵ درصد) و پوشش کیتوزان (۲ درصد) + اسانس دارچین (۱/۵ درصد)، در روز صفر به ترتیب $6/54 \pm 0/04$ و $6/30 \pm 0/04$ و $6/37 \pm 0/02$ و $6/24 \pm 0/03$ بوده است (جدول ۱). مقدار pH نمونه شاهد نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. تفاوت معنی‌داری بین همه تیمارها مشاهده گردید ($P < 0/05$). نتایج نشان داد که مقدار pH همه تیمارها هنگام نگهداری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/05$).

مقدار PV نمونه‌ها پس از تیمار کردن نسبت به شاهد کاهش یافت. به‌طوری‌که کمترین مقدار در تیمار پوشش کیتوزان ۲ درصد + اسانس دارچین ۱/۵ درصد در روز صفر مشاهده گردید (جدول ۲). با گذشت زمان مقدار PV همه تیمارها افزایش یافت اما پس از کاهش در روز ۱۵ دوباره افزایش یافت. در طی دوره نگهداری بیشترین و کمترین مقدار PV به‌ترتیب در تیمار شاهد و تیمار کیتوزان + اسانس دارچین مشاهده گردید.

مقدار TBA نمونه‌ها در روز صفر به‌ترتیب از بیشترین به کمترین تیمار شاهد، اسانس دارچین، کیتوزان و کیتوزان + اسانس دارچین می‌باشد (جدول ۳). و این روند تا انتهای دوره نگهداری مشاهده گردید. تفاوت معنی‌داری بین همه تیمارها طی زمان نگهداری

شدن به‌دست می‌آید). لوله‌های درب دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت دو ساعت قرار گرفته و پس از آن در دمای محیط سرد شدند. سپس مقدار جذب (As) در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد. مقدار TBA (میلی‌گرم مالون دی‌آلدهید در کیلوگرم گوشت ماهی) بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (Namulema *et al.*, 1999).

$$TBA = (As - Ab) \times 50/200$$

۷.۲. اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

۱۰ گرم نمونه را همراه با ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل بالن کلدال ریخته، سپس چند عدد پرل شیشه‌ای به همراه اکتان نرمال (ضدکف) به آن اضافه گردید. سپس بالن را به دستگاه وصل کرده و از زیر به آن حرارت داده شد. در انتهای دستگاه یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری که حاوی ۲۵ میلی‌لیتر اسید بوریک ۲٪ (۲ گرم اسید بوریک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به همراه چند قطره معرف متیل رد (۱/۱ گرم متیل رد در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول) قرار داده شد. عمل تقطیر تا گذشت ۳۰ دقیقه از زمان جوشش مواد درون بالن، یا جمع شدن حدود ۱۲۵ میلی‌لیتر مایع درون ارلن ادامه یافت. عمل تیتراسیون محلول با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا جایی ادامه می‌یابد که اسید بوریک دوباره قرمز شود. مقدار TVB-N (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی) بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (AOAC, 2005).

$$TVB-N = 14 \times \text{میزان اسید سولفوریک مصرفی}$$

۸.۲. فراسنجه‌های میکروبی

۱۰ گرم نمونه با ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی مخلوط و هموژن گردید. ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های تهیه شده بر روی محیط کشت تریپتیک سوی آگار به طور سطحی پخش گردید. در صورت بالا بودن تعداد باکتری‌ها در یک پلیت رقیق‌سازی نمونه‌ها تا رقت نهایی ۶ در محلول سرم فیزیولوژی انجام گردید. پلیت‌های کشت داده شده برای شمارش باکتری‌های کل (TVC) بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای

جدول ۱ - تأثیر پوشش کیتوزان - اسانس دارچین بر pH تیمارهای مختلف فیش فینگر کپور نقره‌ای طی نگهداری در یخچال.

تیمارها				زمان (روز)
کیتوزان + اسانس دارچین	اسانس دارچین	کیتوزان	شاهد	
۶/۲۴ ± ۰/۰۳ Df	۶/۳۷ ± ۰/۰۲ Bf	۶/۳۰ ± ۰/۰۴ Cf	۶/۵۴ ± ۰/۰۴ Af	۰
۶/۱۱ ± ۰/۰۳ Dg	۶/۲۸ ± ۰/۰۱ Bg	۶/۱۷ ± ۰/۰۲ Cg	۶/۴۵ ± ۰/۰۲ Ag	۳
۶/۲۶ ± ۰/۰۳ De	۶/۴۱ ± ۰/۰۲ Be	۶/۳۴ ± ۰/۰۲ Ce	۶/۶۱ ± ۰/۰۱ Ae	۶
۶/۳۳ ± ۰/۰۲ Dd	۶/۶۲ ± ۰/۰۲ Bd	۶/۵۱ ± ۰/۰۲ Cd	۶/۷۳ ± ۰/۰۲ Ad	۹
۶/۴۳ ± ۰/۰۱ DC	۶/۷۳ ± ۰/۰۳ Bc	۶/۶۷ ± ۰/۰۲ Cc	۶/۹۱ ± ۰/۰۱ Ac	۱۲
۶/۶۱ ± ۰/۰۱ Db	۶/۸۳ ± ۰/۰۳ Bb	۶/۷۷ ± ۰/۰۲ Cb	۷/۰۴ ± ۰/۰۳ Ab	۱۵
۶/۷۳ ± ۰/۰۳ Da	۶/۹۴ ± ۰/۰۴ Ba	۶/۸۴ ± ۰/۰۴ Ca	۷/۱۳ ± ۰/۰۳ Aa	۱۸

داده‌ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار سه تکرار می‌باشد.

حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارهای مختلف می‌باشد.

حروف کوچک متفاوت (a, b, c, d, e, f, g) در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) در زمان‌های مختلف می‌باشد.

جدول ۲ - تأثیر پوشش کیتوزان - اسانس دارچین بر PV (میلی‌اکی‌والان O₂ در کیلوگرم چربی) تیمارهای مختلف فیش فینگر کپور نقره‌ای طی نگهداری در یخچال.

تیمارها				زمان (روز)
کیتوزان + اسانس دارچین	اسانس دارچین	کیتوزان	شاهد	
۰/۳۰ ± ۰/۰۰ Dg	۰/۳۸ ± ۰/۰۱ Bg	۰/۳۴ ± ۰/۰۲ Cg	۰/۴۳ ± ۰/۰۳ Ag	۰
۰/۶۳ ± ۰/۰۳ Df	۰/۹۲ ± ۰/۰۱ Bf	۰/۷۲ ± ۰/۰۲ Cf	۱/۱۲ ± ۰/۰۲ Af	۳
۱/۰۷ ± ۰/۰۱ De	۱/۷۵ ± ۰/۰۲ Be	۱/۲۵ ± ۰/۰۲ Ce	۲/۱۴ ± ۰/۰۴ Ae	۶
۲/۲۲ ± ۰/۰۲ Dd	۲/۹۱ ± ۰/۰۱ Bd	۲/۵۵ ± ۰/۰۲ Cd	۴/۲۳ ± ۰/۰۲ Ad	۹
۲/۶۸ ± ۰/۰۰ Db	۳/۸۵ ± ۰/۰۲ Bb	۳/۶۳ ± ۰/۰۳ Cb	۵/۹۲ ± ۰/۰۲ Ab	۱۲
۲/۱۴ ± ۰/۰۲ Dc	۳/۳۶ ± ۰/۰۲ Bc	۳/۱۶ ± ۰/۰۲ Cc	۵/۴۵ ± ۰/۰۲ Ac	۱۵
۳/۶۷ ± ۰/۰۲ Da	۴/۱۶ ± ۰/۰۲ Ba	۳/۸۶ ± ۰/۰۲ Ca	۶/۵۲ ± ۰/۰۲ Aa	۱۸

داده‌ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار سه تکرار می‌باشد.

حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارهای مختلف می‌باشد.

حروف کوچک متفاوت (a, b, c, d, e, f, g) در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) در زمان‌های مختلف می‌باشد.

جدول ۳ - تأثیر پوشش کیتوزان - اسانس دارچین بر TBA (میلی گرم مالون دی آلدئید در کیلوگرم گوشت) تیمارهای مختلف فیش فینگر کپور نقره‌ای طی نگهداری در یخچال.

تیمارها				زمان (روز)
کیتوزان + اسانس دارچین	اسانس دارچین	کیتوزان	شاهد	
۰/۳۱ ± ۰/۰۱ Dg	۰/۳۵ ± ۰/۰۰ Bg	۰/۳۳ ± ۰/۰۱ Cg	۰/۳۸ ± ۰/۰۰ Ag	۰
۰/۳۰ ± ۰/۰۰ Df	۰/۳۸ ± ۰/۰۰ Bf	۰/۳۵ ± ۰/۰۱ Cf	۰/۵۴ ± ۰/۰۲ Af	۳
۰/۴۱ ± ۰/۰۱ De	۰/۵۱ ± ۰/۰۲ Be	۰/۴۷ ± ۰/۰۱ Ce	۰/۶۴ ± ۰/۰۱ Ae	۶
۰/۴۷ ± ۰/۰۱ Dd	۰/۶۲ ± ۰/۰۲ Bd	۰/۵۶ ± ۰/۰۲ Cd	۰/۸۷ ± ۰/۰۱ Ad	۹
۰/۵۳ ± ۰/۰۲ Dc	۰/۶۷ ± ۰/۰۲ Bc	۰/۷۴ ± ۰/۰۱ Cc	۰/۹۶ ± ۰/۰۲ Ac	۱۲
۰/۶۶ ± ۰/۰۲ Db	۰/۸۴ ± ۰/۰۰ Bb	۰/۸۴ ± ۰/۰۱ Cb	۱/۱۴ ± ۰/۰۳ Ab	۱۵
۰/۷۲ ± ۰/۰۲ Da	۰/۸۷ ± ۰/۰۱ Ba	۰/۸۶ ± ۰/۰۲ Ca	۱/۴۵ ± ۰/۰۳ Aa	۱۸

داده‌ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار سه تکرار می‌باشد.

حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارهای مختلف می‌باشد.

حروف کوچک متفاوت (a, b, c, d, e, f, g) در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) در زمان‌های مختلف می‌باشد.

نسبت به شاهد کمتر بود و تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده گردید ($P < 0.05$). با گذشت زمان مقدار TVB-N همه تیمارها افزایش یافت اما این افزایش در تیمار شاهد بیشتر از سایر تیمارها بود

مشاهده گردید ($P < 0.05$). مقدار TBA نمونه‌ها با گذشت زمان افزایش یافت. اما این افزایش در تیمارهای پوشش داده شده کمتر از تیمار شاهد بود. مقدار TVB-N نمونه‌های پوشش داده شده

جدول ۴ - تأثیر پوشش کیتوزان - اسانس دارچین بر TVB-N (میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت) تیمارهای مختلف فیش فینگر کپور نقره‌ای طی نگهداری در یخچال.

تیمارها				زمان (روز)
کیتوزان + اسانس دارچین	اسانس دارچین	کیتوزان	شاهد	
۵/۴۷ ± ۰/۰۱ Dg	۵/۸۳ ± ۰/۰۳ Bg	۵/۶۵ ± ۰/۰۲ Cg	۶/۶۲ ± ۰/۰۲ Ag	۰
۷/۲۱ ± ۰/۰۲ Df	۸/۸۴ ± ۰/۰۳ Bf	۸/۱۵ ± ۰/۰۳ Cf	۹/۲۲ ± ۰/۰۲ Af	۳
۹/۸۴ ± ۰/۰۲ De	۱۰/۵۱ ± ۰/۰۲ Be	۱۱/۴۳ ± ۰/۰۴ Ce	۱۴/۰۵ ± ۰/۰۲ Ae	۶
۹/۲۸ ± ۰/۰۳۶ Dd	۱۲/۹۷ ± ۰/۰۱ Bd	۱۲/۱۲ ± ۰/۰۲ Cd	۱۹/۳۴ ± ۰/۰۴ Ad	۹
۱۳/۲۴ ± ۰/۰۴ Dc	۱۲/۴۵ ± ۰/۰۲ Bc	۱۵/۱۷ ± ۰/۰۲ Cc	۲۳/۴۶ ± ۰/۰۲ Ac	۱۲
۱۵/۹۳ ± ۰/۰۱ Db	۱۸/۳۴ ± ۰/۰۴ Bb	۱۷/۵۶ ± ۰/۰۲ Cb	۲۶/۲۴ ± ۰/۰۴ Ab	۱۵
۱۹/۱۴ ± ۰/۰۳ Da	۲۲/۳۶ ± ۰/۰۳۱ Ba	۲۰/۸۶ ± ۰/۰۲ Ca	۳۱/۱۵ ± ۰/۰۲ Aa	۱۸

داده‌ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار سه تکرار می‌باشد.

حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارهای مختلف می‌باشد.

حروف کوچک متفاوت (a, b, c, d, e, f, g) در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) در زمان‌های مختلف می‌باشد.

جدول ۵ - تأثیر پوشش کیتوزان-اسانس دارچین بر TVC (Log CFU/g) تیمارهای مختلف فیش فینگر کپور نقره‌ای طی نگهداری در یخچال.

تیمارها				زمان (روز)
کیتوزان + اسانس دارچین	اسانس دارچین	کیتوزان	شاهد	
۲/۵۱ ± ۰/۰۱ Dg	۳/۱۴ ± ۰/۰۲ Bg	۲/۷۶ ± ۰/۰۱ Cg	۳/۲۲ ± ۰/۰۲ Ag	۰
۳/۰۶ ± ۰/۰۱ Df	۴/۱۳ ± ۰/۰۱ Bf	۳/۱۷ ± ۰/۰۲ Cf	۴/۳۵ ± ۰/۰۱ Af	۳
۳/۳۵ ± ۰/۰۲ De	۴/۵۵ ± ۰/۰۱ Be	۳/۶۲ ± ۰/۰۲ Ce	۴/۷۳ ± ۰/۰۲ Ae	۶
۴/۱۶ ± ۰/۰۲ Dd	۵/۱۳ ± ۰/۰۱ Bd	۴/۳۷ ± ۰/۰۲ Cd	۵/۳۲ ± ۰/۰۲ Ad	۹
۴/۳۳ ± ۰/۰۲ Dc	۶/۰۸ ± ۰/۰۱ Bc	۴/۸۵ ± ۰/۰۲ Cc	۶/۵۶ ± ۰/۰۱ Ac	۱۲
۵/۲۳ ± ۰/۰۳ Db	۶/۶۷ ± ۰/۰۲ Bb	۵/۵۴ ± ۰/۰۳ Cb	۷/۲۶ ± ۰/۰۲ Ab	۱۵
۶/۱۵ ± ۰/۰۲ Da	۷/۱۳ ± ۰/۰۲ Ba	۶/۴۵ ± ۰/۰۳ Ca	۷/۸۱ ± ۰/۰۲ Aa	۱۸

داده‌ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار سه تکرار می‌باشد.

حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارهای مختلف می‌باشد.

حروف کوچک متفاوت (a, b, c, d, e, f, g) در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) در زمان‌های مختلف می‌باشد.

(جدول ۴). تمامی تیمارها هنگام نگهداری افزایش یافت (جدول ۴). (۶)

۲.۳. فراسنجه‌های میکروبی

نتایج نشان می‌دهد که تیمار نمودن فیله‌ها با پوشش کیتوزان ۲ درصد، اسانس دارچین ۱/۵ درصد و پوشش کیتوزان ۲ درصد+اسانس دارچین ۱/۵درصد، باعث کند شدن روند افزایش TVC نسبت به نمونه‌های شاهد به‌طور معنی‌داری گردید ($P < 0.05$). با افزایش زمان نگهداری بار باکتریایی کل به‌طور معنی‌داری در همه تیمارها افزایش یافت (جدول ۵).

مقدار PTC نمونه شاهد نسبت به نمونه‌های پوشش داده شده در کل دوره بیشتر بود و تفاوت معنی‌داری بین تمامی تیمارها مشاهده گردید ($P < 0.05$). کمترین مقدار PTC مربوط به تیمار کیتوزان+اسانس دارچین می‌باشد. مقدار PTC در

۴. بحث و نتیجه‌گیری

طی زمان نگهداری میزان pH در تمامی تیمارها در روز سوم کاهش یافت. کاهش اولیه می‌تواند به علت گلیکولیز بی‌هوازی پس از مرگ با تجمع اسید لاکتیک بین سلول باشد (Gatica et al., 2008). بعد از کاهش اولیه pH در روز سوم، در بقیه روزها روندی افزایشی در تمامی تیمارها به‌صورت معنی‌داری مشاهده گردید. افزایش pH ممکن است ناشی از تولید ترکیبات پایه ای فرار از قبیل آمونیاک، تری متیل آمین (TMA) حاصل از فعالیت باکتری‌های فاسد کننده باشد (Ojagh et al., 2010). بدین ترتیب که با افزایش زمان نگهداری و تولید بازهای از ته فرار و محصولات

جدول ۶ - تأثیر پوشش کیتوزان - اسانس دارچین بر PTC (Log CFU/g) تیمارهای مختلف فیش فینگر کپور نقره‌ای طی نگهداری در یخچال.

تیمارها		زمان (روز)		
کیتوزان + اسانس دارچین	اسانس دارچین	کیتوزان	شاهد	
۲/۵۷ ± ۰/۰۱ Dg	۳/۲۲ ± ۰/۰۲ Bg	۲/۹۴ ± ۰/۰۳ Cg	۳/۴۳ ± ۰/۰۳ Ag	۰
۳/۱۷ ± ۰/۰۲ Df	۴/۲۲ ± ۰/۰۲ Bf	۳/۲۷ ± ۰/۰۲ Cf	۴/۴۶ ± ۰/۰۲ Af	۳
۳/۴۵ ± ۰/۰۱ De	۴/۷۷ ± ۰/۰۲ Be	۳/۷۷ ± ۰/۰۲ Ce	۴/۹۶ ± ۰/۰۱ Ae	۶
۴/۲۴ ± ۰/۰۲ Dd	۵/۲۳ ± ۰/۰۲ Bd	۴/۴۶ ± ۰/۰۲ Cd	۵/۵۵ ± ۰/۰۲ Ad	۹
۴/۴۳ ± ۰/۰۳ Dc	۶/۲۲ ± ۰/۰۲ Bc	۴/۹۶ ± ۰/۰۱ Cc	۶/۴۵ ± ۰/۰۲ Ac	۱۲
۵/۳۴ ± ۰/۰۴ Db	۶/۸۴ ± ۰/۰۲ Bb	۵/۶۳ ± ۰/۰۴ Cb	۷/۴۱ ± ۰/۰۲ Ab	۱۵
۶/۲۴ ± ۰/۰۲ Da	۷/۱۵ ± ۰/۰۴ Ba	۶/۵۵ ± ۰/۰۱ Ca	۷/۸۴ ± ۰/۰۵ Aa	۱۸

داده‌ها نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار سه تکرار می‌باشد.

حروف بزرگ متفاوت (A, B, C, D) در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارهای مختلف می‌باشد.

حروف کوچک متفاوت (a, b, c, d, e, f, g) در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($P < 0.05$) در زمان‌های مختلف می‌باشد.

(al., 1999). اسانس دارچین دارای اثر بازدارندگی می‌باشد، که به دلیل وجود ترکیبات فنولی آروماتیک مانند اوجنول و سینامیک آلدئید می‌باشد این ترکیبات غشای دولایه فسفولیپیدی سلول را حساس نموده و موجب افزایش نفوذپذیری و نشت اجزای ضروری داخل سلولی (مانند آهن، ATP، اسیدهای نوکلئیک و اسیدهای آمینه) می‌شود (Kim et al., 1995; Burt, 2004). دارچین به واسطه داشتن ترکیبات فنولیک خاصیت آنتی رادیکالی نشان می‌دهد. به این طریق که، این ترکیبات قادر به مهار و کاهش غلظت رادیکال‌های آزاد می‌باشند و مانع از انتشار آن‌ها از طریق چلاته شدن ترکیبات فنولیک خود با آهن می‌شوند (Jeon, Rababah et al., 2004) و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که پوشش کیتوزان به‌طور مؤثری تولید محصولات اولیه اکسیداسیون ماهی هرینگ را در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در طول ۱۶ روز نگهداری به تعویق می‌اندازد. نتایج این مطالعه که افزایش پراکسید در ابتدای دوره و کاهش آن و سپس افزایش آن در طی نگهداری ۱۸ روز مشاهده گردید، با مطالعه Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) تأثیر کیتوزان و اسانس دارچین روی ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلا، Siripatrawan و Harte (۲۰۱۰) بررسی میزان اکسیداسیون چربی در سوسیس‌های لفاف شده با فیلم کیتوزان حاوی عصاره چای سبز و سوسیس‌های لفاف شده با فیلم کیتوزان به‌طور معنی‌داری پایین تر از گروه شاهد بود مطابقت دارد. از روز پانزدهم تا روز هجدهم نگهداری مقادیر پراکسید به‌علت مکانیزم یک مولکولی و کاهش تشکیل تولیدات ثانویه افزایش می‌یابد (Ben-gigirey et al.,

ثانویه اکسیداسیون با خواص قلیایی باعث بالا رفتن این شاخص می‌شود (Riebroy et al., 2007). میزان pH پس از استفاده از پوشش کیتوزان کاهش پیدا کرد که دلیل آن ماهیت اسیدی پوشش کیتوزان بود. کیتوزان در حالت اسیدی بیشترین حلالیت را دارد و در نتیجه گروه‌های کارکردی فعال آن از جمله آمین‌ها آزادانه تر عمل کرده و بهتر می‌توانند با گروه‌های منفی در سطح سلول‌های باکتری واکنش دهند و بار باکتریایی را کاهش دهند (Aider, 2010).

تفاوت معنی‌داری بین مقدار PV تیمارها در زمان نگهداری مشاهده گردید، به‌طوری که تا روز ۱۲ نگهداری روند افزایشی داشت و پس از آن در روز ۱۵ کاهش یافت و سپس از روز ۱۸ به بعد افزایش یافت. دلیل احتمالی کاهش PV پس از افزایش ممکن است ناشی از تبدیل پراکسید به محصولات ثانویه مثل آلدئیدها و یا واکنش آن‌ها با پروتئین‌ها باشد (Fernández-Saiz et al., 2013). در مطالعه حاضر، اثر تیمار پوشش کیتوزان ۲ درصد + اسانس دارچین ۱/۵ درصد کمترین میزان PV را داشت که نشان دهنده اثر سینرژیک و هم افزایی می‌باشد. اسید استیک عملکردی معکوس در اکسیداسیون چربی دارد و از طرفی به‌عنوان حلال کیتوزان در محلول آبی به کار می‌رود. اثر معکوس آن توسط اثر بازدارندگی یون‌های آهن پروتئین گوشت می‌باشد (Kim et al., 2006). قابلیت آنتی اکسیدانی کیتوزان به ظرفیت اتصال آن با چندین منبع آهن مانند میوگلوبین، هموگلوبین و ترانسفرهای بافت ماهی بستگی دارد (Shahidi et

(1999).

را با خواص ممانعتی گازی و آنتی اکسیدانی کیتوزان ناشی از قدرت چلاته کنندگی یو های فلزی و یا ترکیب کیتوزان با چربی بیان نمودند. عملکرد اجزای فنولیک اسانس و قدرت مهار کنندگی رادیکال های آزاد را تحت تاثیر از دست دادن هیدروژن، غیر فعال سازی آنزیم لیپاز و چلاته کنندگی فلزات دانستند (Nirmal and Benjakul, 2011). بنابراین براساس نتایج این تحقیق تاثیر سینرژیک اسانس دارچین و پوشش کیتوزان به دلیل خواص آنتی اکسیدانی موجب کاهش سرعت تشکیل پراکسید شدند اما در تیمار شاهد به دلیل بالا رفتن بیشتر میزان پراکسید، واکنش های دو مولکولی با سرعت بیشتری انجام شدند.

نتایج این تحقیق نشان داد که نمونه های پوشش داده شده با کیتوزان و کیتوزان+اسانس دارچین باعث کاهش معنی دار میزان TVB-N نمونه ها شدند که می تواند مربوط به اثر محافظتی پوشش کیتوزان و همچنین اثر آنتی میکروبی و آنتی اکسیدانی دارچین به دلیل حضور سینامالدهید و اوجنول باشد که از رشد باکتری ها جلوگیری می کند و فساد را کاهش می دهد. مقادیر بیشتر بار باکتریایی نمونه های شاهد منجر به میزان بالای فعالیت باکتری ها و اتولیز بیشتر ترکیباتی نظیر تری متیل آمین اکسیدها، پپتیدها و آمینواسیدها و افزایش بیشتر میزان TVB-N می گردد (López-Caballero et al., 2005). کمترین میزان TVB-N در تیمار پوشش کیتوزان ۲ درصد+اسانس دارچین ۱/۵ درصد مشاهده گردید که می تواند مربوط به اثر محافظتی پوشش کیتوزان باشد. کیتوزان و اسانس از طریق فعالیت آنتی میکروبی خود منجر به کاهش این شاخص در پی کاهش جمعیت باکتریایی می شود (Günlü and Koyun, 2013). Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که میزان TVB-N نمونه های شاهد و پوشش داده شده به طور معنی داری هنگام نگهداری افزایش یافت. اما در پایان زمان نگهداری میزان TVB-N نمونه های پوششی با کیتوزان+اسانس دارچین به طور معنی داری کمتر از سایر تیمارها بود. Özyurt و همکاران (۲۰۰۹) میزان TVB-N ۲۵-۳۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گوشت را بالاترین سطح مورد قبول بیان نمودند. در مطالعه حاضر میزان TVB-N نمونه شاهد در روز ۱۵ به ۲۶/۲۴ میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی رسید که بیشتر از میزان قابل

پایین بودن TBA در نمونه های حاوی اسانس دارچین به دلیل ترکیبات فنولی موجود در اسانس به عنوان یکی از بهترین منابع آنتی میکروبی و منابع آنتی اکسیدان های طبیعی است که باعث کاهش اکسیداسیون چربی می شود (Burt, 2004). Kostaki و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که کم بودن TBA در تیمارهای حاوی اسانس آویشن شیرازی و ویتامین C به دلیل اثر آنتی اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی و ویتامین C می باشد. Shi و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که عصاره هسته انگور و میخک از اکسیداسیون پروتئین و چربی فیله کپور نقره ای جلوگیری کرده و این امر را مرتبط با کاهش غلظت یون آهن مؤثر در اکسیداسیون، از طریق چلیت کردن آن با ترکیبات فنولیک بیان نموده اند. Fan و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که میزان TBA نمونه های تیمار شده با کیتوزان مقادیر کمتری را نسبت به نمونه های شاهد نشان داد به طوری که نمونه های شاهد پس از ۱۵ روز به ۲/۳۲ میلی گرم مالون دی آلدئید بر کیلوگرم گوشت در دمای ۳- درجه سانتی گراد رسیدند. Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که میزان TBA در نمونه های شاهد و روکش دار شده با کیتوزان فیله قزل آلی رنگین کمان روند افزایشی داشت که در نمونه های پوشش داده شده میزان TBA کمتر بود. پایین بودن میزان TBA در نمونه های حاوی پوشش و اسانس می تواند به دلیل اثر آنتی اکسیدانی آن ها در کاهش پراکسید باشد. با گذشت زمان و افزایش غلظت هیدروپراکسیدها براساس مکانیزم دومولکولی این ترکیبات سریعاً شکسته می شود و به دنبال چنین مکانیزمی مقادیر هیدروپراکسیدها کاهش می یابد. باید توجه داشت که در این حالت سرعت تجزیه آن ها سریع تر از سرعت تشکیل است (Ben-gigirey et al., 1999). میزان TBA ۱-۲ میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم گوشت ماهی به عنوان حد قابل قبول در نظر گرفته شده است (Connell, 1990). این میزان در تیمار شاهد در روز پانزدهم مشاهده شد. در این تحقیق تیمار فیلم کیتوزان در ترکیب با اسانس دارچین کمترین میزان TBA را در پایان دوره بین تیمارها نشان داد. علت، همان نتیجه ای است که در شاخص PV مشاهده شد و سایر محققین نیز این امر

می‌تواند به‌علت واکنش گروه‌های آمین با بار مثبت کیتوزان با درشت مولکول‌های با بار منفی در سطح سلول میکروبی باشد، به‌علت طبیعت پلی کاتیونیک کیتوزان، یک لایه نفوذ ناپذیر اطراف سلول تشکیل می‌شود که از انتقال مواد ضروری جلوگیری می‌کند (Helander *et al.*, 2001). مطالعات نشان داده‌اند که کیتوزان در حالت محلول پوششی مؤثرتر است. بدین صورت که وقتی کیتوزان از اجزای یک محلول پوششی باشد برای فعالیت به‌عنوان یک نگهدارنده می‌تواند آزادانه‌تر عمل کند (Pereda *et al.*, 2011). چون در این حالت گروه‌های آمین کیتوزان با بارهای مثبت که با گروه‌های منفی باکتری‌ها واکنش می‌دهند، فعال هستند. میزان باکتری‌های سرماگرا در نمونه شاهد و اسانس دارچین به ترتیب با مقادیر $7/41 \text{ Log CFU/g}$ (۱۵ روز) و $7/15 \text{ Log CFU/g}$ (۱۸ روز) بیشتر از حد مجاز (7 Log CFU/g) گردید. در حالی که نمونه‌های پوشش داده با کیتوزان و کیتوزان+اسانس دارچین تا پایان دوره به این حد نرسیدند. نتیجه‌گیری کلی این تحقیق نشان داد که استفاده از پوشش خوراکی کیتوزان حاوی اسانس دارچین می‌تواند زمان ماندگاری فیش فینگر کپور نقره‌ای طی نگهداری در یخچال را افزایش داده، بنابراین برای استفاده در سایر فرآورده‌های شیلاتی برای تولید صنعتی توصیه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه زابل (Grant code: UOZ-GR-9517-26) و همکاری کارشناسان محترم گروه شیلات و محیط زیست برای انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌گردد.

References

- Aider, M., 2010. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT- Food Science and Technology* 43(6), 837-842.
- Aletayeb, E., Roomiani, L., Ghaeni, M., 2016. Effect of sodium alginate and cinnamon essential oil on shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets in refrigerated storage. *Journal of Food Microbiology* 3(2), 45-59. (In Persian)
- AOAC., 2002. Official Methods of Analysis of AOAC International (17th ed). MD, Gaithersburg, USA Association of Official Analytical Chemistry.
- AOAC., 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International (18th edn.). MD, Gaithersburg, USA Association of Official Analytical Chemistry.
- Arashisar, S., Hisar, O., Kaya, M., Yanik, T., 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *International Journal of Food Microbiology* 97(2), 209-214.
- Bahram, S., Rezaei, M., Soltani, M., Kamali, A., Ojagh, S.M., 2013. Antimicrobial activity of edible film of whey protein enriched with cinnamon essential oil on the *Huso huso*

قبول بود ولی سایر تیمارها تا روز آخر نگهداری در حد قابل قبول بودند.

مقدار TVC نمونه‌ها پس از تیمار با کیتوزان و اسانس دارچین کاهش یافت. Frangos و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که اسانس پونه کوهی اثر بازدارندگی روی فلور میکروبی فیله قزل‌آلای رنگین کمان داشته و موجب افزایش زمان ماندگاری فیله به علت خاصیت ضد میکروبی ترکیبات فنولی (تیمول و کارواکرول) اسانس پونه کوهی گردید. Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که پوشش خوراکی کیتوزان-اسانس دارچین تأثیر بازدارندگی بر رشد باکتریایی دارد. به طوری که رشد باکتری‌های کل در فیله‌های پوشش داده شده با کیتوزان-اسانس دارچین کمتر از نمونه‌های شاهد بود. همچنین اثرات آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی پوشش کیتوزانی، ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلا را همراه با حفظ کیفیت آن افزایش داد. همچنین، Chamanara و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای پوشش داده شده با کیتوزان و عصاره آویشن شیرازی افزایش یافت. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان بار باکتریایی کل نمونه شاهد و اسانس دارچین به ترتیب در روز ۱۵ ($7/26 \text{ Log CFU/g}$) و ۱۸ ($7/13 \text{ Log CFU/g}$) بیشتر از حد مجاز (7 CFU/g) گردید. در حالی که نمونه‌های پوشش داده با کیتوزان و کیتوزان+اسانس دارچین تا پایان دوره به این حد نرسیدند. که نشان دهنده تأثیر گذاری بیشتر کیتوزان نسبت به اسانس دارچین و همچنین هم‌افزایی کیتوزان+اسانس دارچین در کاهش بار میکروبی می‌باشد.

کاهش مقادیر PTC در تیمارهای حاوی کیتوزان

- fillets during storage in the refrigerator. *Fisheries Journal* 7(1), 97-106. (In Persian)
- Ben-gigirey, B., Vieites Baptista De Sousa, J.M., Villa, T.G., Barros-velazquez, J., 1999. Chemical changes and visual appearance of *albacore tuna* as related to frozen Storage. *Journal of Food Science* 64(1), 20-24.
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology* 94(3), 223-253.
- Chamanara, V., Shabanpour, B., Khomeiri, M., Gorgin, S., 2013. Shelf-life extension of fish samples by using enriched chitosan coating with thyme essential oil. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 22(1), 3-10.
- Connell, J.J., 1990. Methods of assessing and selecting for quality. In control of fish quality (3rd ed.). Berlin, Springer. p 240.
- Dorman, H.J., Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* 88(2), 308-316.
- 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.
- Fernández-Saiz, P., Sánchez, G., Soler, C., Lagaron, J.M., Ocio, M.J., 2013. Chitosan films for the microbiological preservation of refrigerated sole and hake fillets. *Food Control* 34(1), 61-68.
- Frangos, L., Pyrgotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A., Savvaidis, I.N., 2010. Combined effects of salting, Oregano oil and vacuum-packaging on the Shelf Life of refrigerated trout fillets. *Food Microbiology* 27(1), 115-121.
- Gatica, M.C., Monti, G., Gallo, C., Knowles, T.G., Warris, P.D., 2008. Effects of well-boat transportation on the muscle pH and onset of rigor mortis in Atlantic salmon. *Veterinary Record* 163(4), 111-116.
- Gómez-Guillén, M.C., Pérez-Mateos, M., Gómez-Estaca, J., López-Caballero, E., Giménez, B., Montero, P., 2009. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in Food Science and Technology* 20(1), 3-16.
- Guilbert, S., Gontard, N., Gorris, L.G.M., 1996. Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *LWT- Food Science and Technology* 29(1-2), 10-17.
- Günlü, A., Koyun, E., 2013. Effects of vacuum packaging and wrapping with chitosan – based edible film on the extension on the shelf life of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) Fillets in Cold Storage (4 °C). *Food and Bioprocess Technology* 6(7), 1713-1719.
- Helander, I.M., Nurmiaho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., Roller, S. 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 71(2-3), 235-244.
- Jeon, Y.J., 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* 50(18), 5167-5178.
- Kanatt, S.R., Rao, M.S., Chawla, S.P., Sharma, A., 2013. Effects of chitosan coating on shelf-life of ready-to-cook meat products during chilled storage. *LWT-Food Science and Technology* 53(1), 321-326.
- Kim, J., Marshall, M.R., Wei, C., 1995. Antimicrobial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43(11), 2839-2845.
- Kim, S.Y., Jeoung, S.M., Park, W.P., Nam, K.C., Ahn, D.U., Lee, S.C., 2006. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. *Food Chemistry* 97(3), 472-479.
- Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G., 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food Microbiology* 26(5), 475-482.
- Krochta, J.M., Mulder-Johnson, C.D., 1997. Edible and Biodegradable Polymer Films: Challenges and Opportunities. *Food Technology* 51(2), 61-74.
- López-Caballero, M.E., Gómez-Guillén, M.C., Pérez-Mateos, M., Montero, P., 2005. A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydrocolloids*, 19(2), 303-311.
- McHugh, T.H., Senesi, E., 2000. Apple wraps: A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. *Journal of Food Science* 65(3), 480-485.
- Namulema, A., Muyonga, J.H., Kaaya, A.N., 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at -13 and -27°C. *Food Research International* 32(2), 151-156.
- Nirmal, N.P., Benjakul, S., 2011. Retardation of quality changes of pacific white shrimp by Green tea extract treatment and modified atmosphere packaging during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology* 149(3), 247-253.
- No, H.K., Meyers, S.P., Prinyawiwatkul, W., Xu, Z., 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review. *Journal of Food Science* 72 (5), R87-100.
- 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.
- Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M., 2006. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat Science* 73(2), 236-344.
- Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P., Bégin A., 1997. Inhibitory effect of organic acids upon meat spoilage bacteria.

- Journal of Food Protection* 60(3), 246-253.
- Özyurt, G., Kuley, E., Özkütük, S., Özogul, F. 2009. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food Chemistry* 114(2), 505-510.
- Pereda, M., Ponce, A.G., Marcovich, N.E., Rusekaite, R.A., Martucci, J.F., 2011. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids* 25(5), 1372-1381.
- Rababah, T.M., Hettiarachchy N.S., Horax, R., 2004. Total phenolics and antioxidant activities of fenugreek, green tea, black tea, grape seed, ginger, rosemary, *Gotu kole*, and ginkgo extracts, vitamin E, and tert-butylhydroquinone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(16), 5183-5186.
- Ranasinghe L., Jayawardena B., Abeywickrama K., 2002. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merret L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. *Letters in Applied Microbiology* 35(3), 208-211.
- Riebroy, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., Tanaka, M., 2007. Effect of iced storage of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) on the chemical composition, properties and acceptability of Som-fug, a fermented Thai fish mince. *Food Chemistry* 102(1), 270-280.
- Rodrigues, E.T., Han, J.H., 2000. Antimicrobial whey protein films against spoilage and pathogenic bacteria. Proceedings of the IFT annual meeting, Dallas, Tex, June 10-14, Institute of Food Technologists, Chicago. p 191.
- Sallam, Kh.I., Ahmed, A.M., Elgazzar, M.M., Eldaly, E.A., 2007. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4°C. *Food Chemistry* 102(4), 1061-1070.
- Sagoo, S., Board, R., Roller, S., 2002. Chitosan inhibits growth of spoilage micro-organisms in chilled pork products. *Food Microbiology* 19 (2-3), 175-182.
- Shi, C., Cui, J., Yin, X., Luo, Y., Zhou, Z., 2014. Grape seed and clove bud extracts as natural antioxidants in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during chilled storage: Effect on lipid and protein oxidation. *Food Control* 40, 134-139.
- Siripatrawan, U., Harte, B.R., 2010. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 24(8), 770-775.
- Shahidi, F., Arachchi, J.K.V., Jeon, Y.J., 1999. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science and Technology* 10(2), 37-51.
- Tokur, B., Ozkütük, S., Atici, E., Ozyurt, G., Ozyurt, C.E., 2006. Chemical and sensory quality changes of fish fingers, made from mirror carp (*Cyprinus carpio* L., 1758), during frozen storage (-18 °C). *Food Chemistry* 99(2), 335-341.
- Wendakoon, C.N., Sakaguchi, M., 1995. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components of spices. *Journal of Food Protection* 58(3), 280-283.