

ارزیابی مدت ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تیمار شده با پوشش‌های خوراکی مختلف

نسیم مردمردیان^۱، کاوه رحمانی‌فرح^{۲*}، سید مسعود حسینی^۳، بهارک صحت‌نیا^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
۲. استادیار گروه پاتوبیولوژی و کنترل کیفی، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه، ایران.
۳. استادیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ایران.
۴. دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
۵. دکتری شیمی تجزیه، پژوهشکده نانو تکنولوژی، دانشگاه ارومیه، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۴/۲۴ تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۸/۸

چکیده

گوشت ماهی در مقایسه با سایر گوشت‌ها بیشتر مستعد فساد بوده و در طول دوره نگهداری، کیفیت آن به سرعت کاهش پیدا می‌کند. هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر ژلاتین پای مرغ و کاراگینان در پوشش خوراکی حاوی کیتوزان و نانو سلولز بر مدت ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طی دوره نگهداری در یخچال بود. در این تحقیق پوشش خوراکی با ژلاتین استخراج شده از پای مرغ و کاراگینان در مقادیر ۵ و ۲/۵ درصد تهیه شد. پوشش خوراکی تهیه شده بر فیله‌های ماهی اسپری شد و کیفیت و ماندگاری آنها در طول ۱۶ روز نگهداری آنها در یخچال بررسی گردید. نتایج نشان داد پوشش ژلاتین ۵ درصد و کاراگینان ۵ درصد اثر ضد میکروبی اندکی داشتند. تیمار ژلاتین ۲/۵ درصد بار باکتریایی (۷/۰۴) در روز ۱۲ و تیمار شاهد (۷/۱۷) Log cfu/g در روز ۸ داشتند که فراتر از حد مجاز بود. pH تیمار شاهد روند کاهشی و افزایشی داشت ($P < 0/05$). میزان شاخص تیوباربتوریک اسید در تیمارهای آزمایشی این پژوهش روند افزایشی و سپس کاهش نشان داد ($P < 0/05$). تیمار شاهد تغییرات رطوبت و چربی بیشتری طی زمان نشان داد ($P < 0/05$). رطوبت تحت فشار تحت تاثیر میزان رطوبت فیله‌های قزل‌آلای بود ($P < 0/05$). نتایج ارزش شیبایی حسی نشان داد تیمارهای دارای پوشش خوراکی کیفیت بهتری نسبت به تیمار شاهد دارند. ژلاتین پای مرغ و کاراگینان در غلظت ۵ درصد می‌توانند به‌عنوان پوشش خوراکی ماهی به‌کار گرفته شوند، اما خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی ندارند.

واژگان کلیدی: پوشش خوراکی، کاراگینان، ژلاتین پای مرغ، قزل‌آلای رنگین کمان، ماندگاری

۱. مقدمه

گوشت ماهی در مقایسه با گوشت قرمز به واسطه برخورداری از اسیدهای چرب غیر اشباع بیشتر، مقادیر بالای اسید آمینه آزاد، مواد نیتروژن دار فرار بیشتر و pH بالاتر، بیشتر مستعد فساد هستند به طوری که در طول دوره نگهداری ماهی، کیفیت آن به سرعت کاهش پیدا می کند (Rezaee and Kermanshahi, 2015). واکنش های شیمیایی و آنزیمی از دلایل اولیه افت کیفیت هستند در حالی که فساد میکروبی گوشت در پایان دوره نگهداری رخ می دهد. بنابراین توجه به بسته بندی گوشت ماهی جهت افزایش ماندگاری آن بسیار حائز اهمیت است (Kalteh et al., 2015). ماهی قزل آلا یکی از پر تولیدترین ماهی های پرورشی در جهان می باشد که کشور ایران چندین سال پی در پی در جایگاه بزرگترین پرورش دهنده های این ماهی در جهان به شمار می رود. از آنجایی که یکی از رایج ترین روش های توزیع این ماهی به صورت فیله شده می باشد، توجه به بسته بندی گوشت این ماهی منجر به کاهش عوامل مولد فساد و افزایش مدت ماندگاری محصول می گردد. بسته بندی مواد غذایی یک حفاظت فیزیکی از محصول می باشد که با ایجاد شرایط فیزیکی و شیمیایی مناسب منجر به افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی می شود. بسته بندی تهیه شده از پلیمرهای زیستی می توانند سدی در برابر رطوبت، بخار آب، گازها و مواد محلول باشند و نیز وسیله ای مناسب برای افزودن طیف گسترده های افزودنی ها مانند ترکیبات ضد قارچی، آنتی اکسیدان ها، ضد میکروب ها، رنگ ها و سایر ترکیبات غذایی هستند (Abdollahi et al., 2011). از جمله مزایای اصلی پلیمرهای زیستی نسبت به مواد پلیمرهای مصنوعی تجزیه پذیر بودن آن ها، امکان تولید شدن از ضایعات و همچنین سازگاری با محیط زیست را می توان نام برد (Osés et al., 2009).

یکی از رایج ترین موادی که برای تهیه پوشش های زیست تخریب پذیر بر آن مطالعه شده است، کیتوزان می باشد. کیتوزان یکی از ترکیبات رایج مورد استفاده در پوشش های خوراکی می باشد. کیتوزان یک پلی ساکارید خطی و مشتق حاصل از

استیل زدایی کتین می باشد که در pH=6 و پایین تر به دلیل دارا بودن بار مثبت روی کربن شماره ۲ مونومر گلوکز آمین، دارای قابلیت انحلال و فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به کیتین است (Ruiz-Navajas et al., 2015). در پژوهش های بسیاری ویژگی های مثبت پوشش کیتوزان بر ماندگاری فیله ماهی گزارش شده است (Aranaz et al., 2016; Remya et al., 2016). هرچند بر ویژگی های آنتی باکتریایی کیتوزان همچنان اختلاف نظرهایی میان محققین وجود دارد و برخی آنرا دارای اثر آنتی باکتریایی قوی (Jovanovica et al., 2016) و برخی دیگر اثر آنتی باکتری ناچیز می دانند (Ouattara et al., 1997). مساله قابل توجه در کاربرد پوشش خوراکی هزینه استفاده از آن ها می باشد که با توجه به قیمت نسبتاً بالای کیتوزان، استفاده گسترده از آن در حال حاضر دارای صرفه اقتصادی بالایی نمی باشد. از جمله موادی که بتوان از آن ها به عنوان تشکیل دهنده پوشش استفاده کرد، می توان هیدروکلوئیدها (Sedaghat et al., 2014) و پروتئین های با ساختار مناسب را نام برد (Ojagh et al., 2014). کاراگینان یک پلی ساکارید سولفات و خطی است که واحدهای تکرار شونده گالاکتوز و ۳،۶ آن هیدروگالاکتوز (-3,6-anhydrogalactose) ساختار شیمیایی آن را تشکیل می دهند، این ترکیب بیشتر از برخی جلبک های قرمز متعلق به خانواده Rhodophyceae هستند، استخراج می شود که خاصیت ضد میکروبی آن به علت دارا بودن بار منفی روی گروه سولفات، توسط Briones و همکاران (۲۰۱۴) گزارش شده است (Briones et al., 2014). پای مرغ یکی از محصولات جنبی تولید گوشت مرغ می باشد که به جز کشورهای آسیای جنوب شرقی در سایر کشورها ارزش اقتصادی پایینی دارد. ژلاتین پای مرغ به علت دارا بودن ۸۵ درصد پروتئین (به طور عمده کلاژن) و ۲/۷ درصد چربی از ارزش غذایی مناسبی برخوردار است (Samsam et al., 2014). همچنین، مطالعات متعددی نشان دادند که فیلم خوراکی حاوی ژلاتین به عنوان یک پوشش خارجی به محافظت از مواد غذایی در برابر خشک شدن، نور و اکسیژن می پردازد (Hosseini et al., 2013). برای ژلاتین خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی گزارش شده است به طوری که یک پوشش

جدول ۱- ترکیبات مورد استفاده و مقادیر آن‌ها برای ساخت پوشش خوراکی (بر حسب میلی‌لیتر از استوک اصلی)

نام نمونه	آب (میلی لیتر)	نانوسولوز (٪)	گلیسرول (٪)	ژلاتین مرغی (٪)	کاراگینان (٪)	کیتوزان (٪)	حجم نهایی
ژلاتین ۲/۵٪	۴/۵	۱	۲	۲/۵	-	۲	۱۲
ژلاتین ۵٪	۲	۱	۲	۵	-	۲	۱۲
کاراگینان ۲/۵٪	۴/۵	۱	۲	-	۲/۵	۲	۱۲
کاراگینان ۵٪	۲	۱	۲	-	۵	۲	۱۲

۲.۲. روش ساخت فیلم خوراکی

فیلم‌های خوراکی بر اساس جدول ۱ آماده شدند. کیتوزان مورد استفاده با وزن مولکولی متوسط (Sigma Aldrich, USA) در محلول اسید استیک ۱ درصد به خوبی حل شد. سپس گلیسرول (Merck, Germany) و نانو سلولز (Asahi, Japan) اضافه شد و pH محلول به ۵ رسانده شد. ژلاتین مرغی و کاراگینان نیز بر اساس روش‌های زیر آماده شدند.

جهت تهیه ژلاتین ۱۵ عدد پای مرغ پس از شسته شدن در ۸۰۰ میلی‌لیتر آب به مدت ۲ ساعت جوشانده شد. پس از فیلتراسیون بقایای معلق جدا شده و عصاره حاصل درون یک ظرف دیگر ریخته شد و تا زمان استفاده در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Haghgoo, 2015). ۸ گرم از ژلاتین مرغی لایه زیرین در ۲۴ میلی‌لیتر آب مقطر ولرم حل گردید. همچنین ۵ گرم کاراگینان در ۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر ولرم حل گردید (Remya, 2016). سپس ترکیبات فیلم طبق جدول ۱ باهم ترکیب شده و به ظروف پلاستیکی مخصوص اسپری فیلم انتقال داده شدند و بر فیله ماهیان آماده شده اسپری شدند. تیمار شاهد در این تحقیق فیله‌هایی بودند که هیچ گونه فیلمی بر آنها اسپری نشده بود. در زمان آماده‌سازی فیله‌ها هر تیمار به ۳ دسته تقسیم شد (۳ تکرار).

پس از مدتی قرار گرفتن فیله‌ها در مجاورت هوای سرد و خشک شدن نسبی سطح آنها، فیله‌ها در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. به منظور بررسی کارآمدی پوشش‌های خوراکی فیله‌ها به گونه‌ای نگهداری شدند که اندکی در مجاورت هوا قرار داشتند. فیله‌ها جهت بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی فیله‌های ماهی انجام آزمایش‌ها در روزهای ۰، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ روز

ژلاتینی روی محصولات گوشتی اکسایش چربی گوشت را کاهش می‌دهد. البته خاصیت آنتی‌اکسیدانی ژلاتین را هنگام استفاده به‌عنوان پوشش خوراکی در گوشت قرمز تازه با ویژگی سدکنندگی برابر اکسیژن نسبت داده‌اند (Antoniewski et al., 2007). همچنین به‌واسطه زنجیره‌های جانبی گروه‌های آمینی خاصیت ضد باکتریایی برای ژلاتین بیان شده است (Pereda et al., 2011). بیشتر مطالعات صورت گرفته افزودن همزمان پوشش‌های خوراکی (شامل کیتوزان، آلژینات و غیره) و ترکیبات آنتی‌میکروبی و آنتی‌اکسیدانی را به صورت همزمان بررسی کرده‌اند (Ojagh et al., 2014; Rezavi, 2005). بر مطالعه تاثیر ژلاتین پای مرغ و کاراگینان به‌عنوان پوشش خوراکی گوشت ماهی اطلاع‌چندانی در دسترس نیست. بنابراین در این پژوهش مقادیر مختلفی از ژلاتین پای مرغ و کاراگینان به پوشش حاوی کیتوزان و نانوسولوز افزوده شد تا تاثیر پوشش‌دهی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با این مواد بر ماندگاری و کیفیت فیله‌ها بررسی شود.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. تهیه ماهی

جهت انجام این پژوهش حدود ۷۵ ماهی قزل‌آلای رنگین کمان *Oncorhynchus mykiss* با وزن متوسط 50 ± 50 گرم از بازار ماهی شهرستان ارومیه به صورت زنده خریداری و با ضربه در سر کشته شدند. ماهی‌ها بلافاصله به آزمایشگاه فرآوری پژوهش‌شکده مطالعات دریاچه ارومیه (دانشگاه ارومیه) منتقل شدند. در آزمایشگاه مراحل شستشو، تخلیه بطنی، فیله کردن و شستشو به ترتیب صورت پذیرفت. سطح فیله‌ها با دستمال کاغذی خشک شد و حدود ۱ ساعت در یخچال قرار گرفتند.

۳.۳.۲. pH

۵ گرم ماهی با ۴۵ میلی لیتر آب مخلوط شده و برای ۱ دقیقه در دور ۱۰۰۰ rpm هموژن گردید. pH محلول بدست آمده با استفاده از pH متر سنجدیده شد (Taghizadeh Andevvari and Rezaei, 2012).

۴.۳.۲. میزان تیوباریتوریک اسید

میزان تیوباریتوریک اسید بر اساس روش بوگی و آست (۱۹۷۸) بررسی شد (Buege and Aust, 1978). ۰/۵ گرم نمونه گوشت ماهی با ۵ میلی لیتر از محلول تیوباریتوریک اسید (شامل ۰/۳۷۵ پودر معرف تیوباریتوریک اسید، ۱۵ درصد تری کلرواستیک اسید و اسید کلریدریک ۰/۲۵ نرمال) آمیخته شد. محلول ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفته تا رنگ صورتی بدست آید و در ادامه در ۷۰۰۰ برای ۱۰ دقیقه سانتیفریژ گردیده و جذب محلول بوسیله اسپکتروفتومتر در ۵۳۲ نانومتر خوانده و ثبت شد. میزان تیوباریتوریک اسید با رسم منحنی استاندارد که با ۱، ۳، و ۳- تترانوکسی پروپان تعیین می شود، بدست آمد و به صورت میلی گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم نمونه بیان گردید.

۵.۳.۲. رطوبت

برای محاسبه رطوبت حدود ۵ گرم از نمونه خردشده ماهی، در داخل آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد قرار گرفته و پس از آن خارج و به داخل دسیکاتور انتقال می یابد. نمونه پس از سرد شدن مجدداً توزین گردیده و عمل خشک شدن تا زمانی ادامه یافت که تغییر وزن محسوسی در نمونه دیده نشود.

وزن اولیه نمونه / $100 \times$ (وزن ثانویه نمونه - وزن اولیه نمونه) = میزان رطوبت (درصد)

۶.۳.۲. رطوبت تحت فشار

رطوبت تحت فشار گوشت ماهی ها بر اساس روش Suvanich و همکاران (۲۰۰۰) با اندکی تغییرات اندازه گیری شد (Suvanich et al., 2000). مقدار ۵ گرم گوشت تکه شده ماهی در یک کاغذ صافی قرار داده شده و پس از قرار دادن آن در لوله سانتیفریژ برای مدت ۵ دقیقه در ۱۵۰۰ rpm

پس از مرگ ماهیان صورت گرفت. تیمارهای آزمایشی ژلاتین ۲/۵، ژلاتین ۵، کاراگینان ۲/۵، کاراگینان ۵ و تیمار شاهد بودند.

۳.۲. روش های آزمایشگاهی

۱.۳.۲. انتشار دیسک

به منظور بررسی اثر ضد باکتریایی کاراگینان و کیتوازن از روش انتشار دیسک در آگار به کمک دیسک استفاده شد (Cruikshank, 1975). دیسک های حاوی تیمارهای مورد استفاده بر روی محیط کشت قرار داده شدند. سپس این مجموعه در انکوباتور در ۳۵ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. پس از گذشت ۲۴ ساعت، قطر هاله عدم رشد توسط کولیس، بر حسب میلی متر اندازه گیری و ثبت شد (Haghgoo, 2015). آزمون حساسیت باکتریایی روی ۴ گونه باکتری بیماری زای استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*)، استافیلوکوکوس اپیدرمیس (*S. epidermis*)، اشیرشیا کلای (*Escherichia coli*) و جنس سالمونلا (*Salmonella sp.*) مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲.۳.۲. شمارش کلی باکتری ها

به منظور انجام آزمایش های میکروبی به وسیله اسکالپل کمی از گوشت ماهی با دقت برداشته و ۱ گرم از آن وزن شد. گوشت به خوبی در هاون چینی استریل کوبیده و له شده و سپس به نسبت ۱۰:۱ سرم فیزیولوژی ۰/۹ در صد اضافه و با دقت به مدت ۶۰ ثانیه هم زده و همگن شد و جهت تهیه رقت های مختلف مورد استفاده قرار گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام یک از رقت های تهیه شده به محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA) از پیش تهیه شده با دمای حدود ۴۴-۴۲ درجه سانتیگراد اضافه گردید. سپس به منظور شمارش کلی باکتری ها، در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند و در نهایت شمارش کلی باکتریایی صورت گرفت. تعداد کلنی های شمارش شده در عکس رقت اولیه ضرب شده و بر حسب لگاریتم تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم بافت (Log cfu/g) بیان گردید (Cruikshank, 1975).

جدول ۲- مقیاس کیفی مورد استفاده در ارزیابی حسی نمونه‌های ماهی

شاخص حسی	امتیاز				
	۵	۴	۳	۲	۱
بافت	سفت و محکم				خیلی نرم
بو	کاملاً مطلوب				کاملاً نامطلوب
رنگ	رنگ طبیعی				کاملاً بی‌رنگ
پذیرش کلی	کاملاً مطلوب				کاملاً نامطلوب

نتایج مربوط به انتشار دیسک در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج قدرت آنتی باکتریایی اندک پوشش‌های تهیه شده در این آزمایش را نشان داد. بیشترین اثر بخشی پوشش‌های مورد استفاده در غلظت ۵ درصد ژلاتین و کاراگینان و بر باکتری‌های استافیلوکوکوس ارئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیس بود که قطر هاله عدم رشد حدود ۹ میلی‌متر بود. غلظت ۲/۵ درصد پوشش‌های خوراکی ژلاتین و کیتوزان بر عدم رشد هاله تأثیری نداشت ($P > 0/05$) و قطر هاله‌ای اطراف دیسک‌ها صفر بود. بر اساس نتایج با افزایش غلظت کاراگینان و ژلاتین اثر آنتی باکتریایی آنها افزایش یافت ($P > 0/05$). البته اثر آنتی باکتریایی پوشش‌های خوراکی حتی در غلظت ۵ درصد نیز اندک بود. در این پژوهش از عصاره و مواد با خاصیت آنتی میکروبی استفاده نشد و فقط ویژگی‌های آنتی میکروبی پوشش خوراکی حاوی ژلاتین مرغی و کاراگینان مورد بررسی قرار گرفت. هرچند در ترکیب پوشش‌های خوراکی ترکیباتی از جمله کیتوزان و نانوسولز وجود داشت، اما به طور کلی در غلظت ۲/۵ درصد کاراگینان و ژلاتین اثر آنتی میکروبی مشاهده نشد.

۲.۳. بار باکتریایی

لگارتیم بار باکتریایی بر مبنای ۱۰، تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش (انحراف معیار \pm میانگین) در جدول ۴ ارائه شده است. در روز ۱۶ نگهداری فیله‌ها تیمارهای شاهد و ژلاتین ۲/۵ درصد بالای \log CFU/g ۷ باکتری داشتند درحالیکه شمارش کلی در سایر تیمارها کمتر بود ($P < 0/05$). در همه تیمارها با افزایش دوره ماندگاری بار باکتریایی افزایش یافت، اما روند افزایش در تیمار شاهد در مقایسه با سایر تیمارها از سرعت بالاتری برخوردار بود. درصد و نوع مواد پوشش مورد استفاده نیز بر بار باکتریایی تأثیر معنی‌دار داشت ($P < 0/05$). از سوی دیگر، بر اساس

سانتریفیوژ گردید. بلافاصله پس از سانتریفیوژ، گوشت از کاغذ صافی خارج شده و دوباره توزین شد و مقدار آب چک خارج شده (رطوبت تحت فشار) از فرمول زیر محاسبه گردید. مقدار رطوبت تحت فشار با ظرفیت نگهداری آب نسبت معکوس داشته و رطوبت تحت فشار با مقادیر اندک بیانگر ظرفیت نگهداری آب بالا می‌باشد.

$100 \times \text{[وزن اولیه گوشت / (وزن گوشت پس از سانتریفیوژ - وزن اولیه گوشت)]} = \text{مقدار رطوبت تحت فشار}$

۷.۳.۲. ارزشیابی حسی

نمونه به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۹۸ درجه سانتیگراد بخارپز شدند (Aleman et al., 2016) و پس از پخت از نظر شاخص‌های بافت، بو، رنگ و پذیرش کلی توسط ۱۰ نفر پانل آموزش دیده و با معیار ۵ امتیازی طبق جدول زیر مورد ارزیابی قرار گرفتند (Ojagh et al., 2014) نقطه بحرانی مقبولیت هر یک از ویژگی‌ها ۴ در نظر گرفته شد و پایین تر از آن به معنای رد خصوصیات حسی مورد نظر بود.

۴.۲. آنالیز آماری

آزمون آماری با استفاده از طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی در ۵ تیمار و ۳ تکرار انجام و نتایج به صورت «میانگین \pm انحراف معیار» بیان گردید. تفاوت معنی‌داری ($P < 0/05$) بوسیله آنالیز آماری واریانس یک طرفه (One way ANOVA) و تفاوت میانگین‌ها توسط آزمون دانکن ارزیابی شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۱ تجزیه و تحلیل شد.

۳. نتایج

۱.۳. انتشار دیسک

جدول ۳- میانگین قطر هاله عدم رشد پوشش‌های خوراکی مورد بررسی

میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)				
روز	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i>
ژلاتین ۲/۵٪	م. ن	م. ن	م. ن	م. ن
ژلاتین ۵٪	۸/۹۲±۰/۱۰	۹/۱۴±۰/۱۴	م. ن	م. ن
کاراگینان ۲/۵٪	م. ن	م. ن	م. ن	م. ن
کاراگینان ۵٪	۹/۲۶±۰/۲۰	۸/۹۴±۰/۶۲	م. ن	م. ن

م. ن = به معنی هاله‌ای اطراف دیسک‌ها مشاهده نشد.
اعداد میانگین ۳ تکرار با انحراف معیار می‌باشند.

جدول ۴- نتایج بار باکتریایی تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش (log 10 CFU/g) (انحراف معیار ± میانگین)

روز	صفر	چهار	هشت	دوازده	شانزده
شاهد	۳/۶۷±۰/۱۶Ab	۶/۶۰±۰/۰۵Bb	۷/۱۷±۰/۳۸Cc	۷/۱۳±۰/۱۵Cb	۷/۶۶±۰/۱۷Dc
ژلاتین ۲/۵٪	۳/۲۲±۰/۰۶Aa	۵/۱۲±۰/۷۰Ba	۶/۲۷±۰/۳۲Cab	۷/۰۴±۰/۵۵CDb	۷/۲۰±۰/۳۷Dbc
ژلاتین ۵٪	۳/۲۲±۰/۱۰Aa	۵/۲۴±۰/۱۴Ba	۶/۵۹±۰/۳۳Db	۵/۸۴±۰/۰۵Ca	۶/۵۹±۰/۱۵Da
کاراگینان ۲/۵٪	۳/۳۶±۰/۳۵Aab	۴/۳۸±۰/۴۵Ba	۵/۸۰±۰/۰۸Ca	۶/۲۲±۰/۱۹CDa	۶/۷۴±۰/۴۵Dab
کاراگینان ۵٪	۳/۲۶±۰/۲۰Aa	۵/۲۴±۰/۶۲Ba	۶/۷۵±۰/۲۸Cbc	۶/۷۴±۰/۱۴Cb	۶/۲۶±۰/۰۳Ca

حروف کوچک در هر ستون نشان دهنده‌ی اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارهای مختلف در یک روز است و حروف بزرگ در هر سطر اختلاف آماری معنی‌دار بین روزهای مختلف در یک تیمار را نشان می‌دهد.

تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش در جدول ۶ آمده است. در همه‌ی تیمارها با افزایش دوره ماندگاری میزان تیوباربتوریک اسید افزایش یافت. اما در روز ۰ و ۱۶ هیچ گونه اختلاف معنی‌دار میان تیمارهای آزمایشی مختلف مشاهده نشد ($P > 0/05$). میزان تیوباربتوریک اسید در تیمار شاهد، روند افزایشی و سپس کاهش تدریجی را طی کرد و در این تیمار، بیشترین (۰/۷۳) و کمترین (۰/۱۹) میزان تیوباربتوریک اسید طی دوره آزمایش به ترتیب در روزهای صفر و چهار مشاهده شد که این اختلاف از نظر آماری در مقایسه با دیگر روزهای آزمایش نیز معنی‌دار بود ($P < 0/05$). تغییرات رخ داده در تیمار حاوی کاراگینان ۵ درصد مشابه تغییرات آن در تیمار حاوی ژلاتین ۲/۵ درصد بود. نوع و درصد صمغ مورد استفاده در این مطالعه بر میزان تغییرات تیوباربتوریک اسید مؤثر بود چرا که در تیمار حاوی ۵ درصد ژلاتین هیچ گونه تغییرات معنی‌داری در طول دوره آزمایش مشاهده نشد.

۵.۳. رطوبت

طبق نتایج ارائه شده در جدول ۷ از لحاظ

نتایج باکتریایی از اندازه‌گیری بار میکروبی می‌توان بیان کرد که در دو تیمار حاوی ۵ درصد ژلاتین و ۵ درصد کاراگینان از لحاظ بار باکتریایی در حد قابل قبولی بودند.

۳.۳. pH

نتایج مربوط به pH تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش در جدول ۵ ارائه شده است. در روز صفر هیچ گونه اختلاف معنی‌دار بین سایر تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$). طی دوره آزمایش کمترین میزان pH تیمار شاهد در چهارمین روز آزمایش (۵/۲۴) مشاهده شد که باهمه‌ی روزها بجز روز دوازدهم این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/05$), در حالیکه بین سایر روزهای آزمایش هیچ گونه اختلاف معنی‌دار در این تیمار مشاهده نشد ($P > 0/05$). روند تغییرات pH در تیمار حاوی ۲/۵٪ ژلاتین و کاراگینان ۵٪ از نظر آماری ثابت بود، چرا که هیچ گونه اختلافی بین روزهای آزمایش مشاهده نشد ($P > 0/05$).

۴.۳. تیوباربتوریک اسید

نتایج مربوط به میزان تیوباربتوریک اسید،

جدول ۵- pH تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش (انحراف معیار ± میانگین)

تیمار	روز	صفر	چهار	هشت	دوازده	شانزده
شاهد		۶/۶۰±۰/۰۴Ba	۵/۲۴±۰/۱۵Aa	۶/۵۶±۰/۰۸Bc	۶/۵۴±۰/۰۵BAbc	۶/۴۴±۰/۰۲۶Ba
ژلاتین ۲/۵٪		۶/۶۵±۰/۰۹Aa	۶/۶۰±۰/۰۷Ab	۶/۵۲±۰/۰۹Abc	۶/۶۴±۰/۰۲Ac	۶/۶۹±۰/۰۱۵Aab
ژلاتین ۵٪		۶/۶۵±۰/۱۲Ca	۶/۳۴±۰/۰۳Ab	۶/۴۳±۰/۰۷ABabc	۶/۵۸±۰/۰۱۰BCbc	۶/۶۹±۰/۰۰۶Cab
کاراگینان ۲/۵٪		۶/۶۳±۰/۱۱BCa	۶/۴۴±۰/۰۲ABb	۶/۳۴±۰/۰۹Aa	۶/۴۸±۰/۰۰ABab	۶/۷۵±۰/۰۱۰Cb
کاراگینان ۵٪		۶/۴۸±۰/۰۹Aa	۶/۵۳±۰/۱۹Ab	۶/۳۹±۰/۰۷Aab	۶/۴۵±۰/۰۰۴Aa	۶/۵۳±۰/۰۰۵Aab

حروف کوچک در هر ستون نشان دهنده ی اختلاف آماری معنی دار بین تیمارهای مختلف در یک روز است و حروف بزرگ در هر سطر اختلاف آماری معنی دار بین روزهای مختلف در یک تیمار را نشان می دهد.

جدول ۶- تیوباربتوریک اسید تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش (بر حسب میلی گرم مالون آلدئید در کیلوگرم گوشت) (انحراف معیار ± میانگین)

تیمار	روز	صفر	چهار	هشت	دوازده	شانزده
شاهد		۰/۱۹±۰/۰۵Aa	۰/۷۳±۰/۱۷Db	۰/۴۷±۰/۰۴Cb	۰/۳۷±۰/۰۵BCb	۰/۲۲±۰/۰۰۴Aba
ژلاتین ۲/۵٪		۰/۲۱±۰/۰۰۴Aa	۰/۶۷±۰/۱۱Bb	۰/۱۲±۰/۰۰۷Aa	۰/۱۳±۰/۰۰۳Aa	۰/۰۸±۰/۰۰۶Aa
ژلاتین ۵٪		۰/۱۵±۰/۰۱Aa	۰/۲۶±۰/۰۰۶Aa	۰/۳۳±۰/۰۲۲Aab	۰/۱۳±۰/۰۰۷Aa	۰/۱۴±۰/۰۰۹Aa
کاراگینان ۲/۵٪		۰/۲۹±۰/۰۰۵Ba	۰/۳۲±۰/۰۰۹Ba	۰/۱۲±۰/۰۰۴Aa	۰/۱۲±۰/۰۰۷Aa	۰/۱۳±۰/۰۰۷Aa
کاراگینان ۵٪		۰/۱۷±۰/۰۰۱Aa	۰/۵۹±۰/۱۴Bb	۰/۱۶±۰/۰۰۴Aa	۰/۱۷±۰/۰۱۲Aa	۰/۲۳±۰/۰۱۲Aa

حروف کوچک در هر ستون نشان دهنده ی اختلاف آماری معنی دار بین تیمارهای مختلف در یک روز است و حروف بزرگ در هر سطر اختلاف آماری معنی دار بین روزهای مختلف در یک تیمار را نشان می دهد.

جدول ۷- درصد رطوبت تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش (انحراف معیار ± میانگین)

تیمار	روز	صفر	چهار	هشت	دوازده	شانزده
شاهد		۷۴/۱۶±۰/۷۶Ca	۷۱/۱۶±۰/۷۶Ba	۶۹/۶۶±۱/۵۲Ba	۶۹/۱۳±۱/۲Ba	۶۵/۱۳±۲/۴۱Ab
ژلاتین ۲/۵٪		۷۳/۱۳±۱/۰۲Ba	۷۲±۲/۶۴Aba	۷۰/۷۰±۱/۱۲Aba	۶۹/۸۰±۱/۴۷Aa	۶۹/۳۳±۱/۵۲Aa
ژلاتین ۵٪		۷۴/۶۶±۳/۰۵Ba	۷۱/۹۶±۰/۵۵Aba	۷۰/۵۰±۱/۳۲Aa	۷۰/۵۳±۱/۹۶Aa	۷۰/۰۳±۱/۷۲Ab
کاراگینان ۲/۵٪		۷۵/۴۶±۳/۰۶Ba	۷۲/۸۳±۲/۵۶Aba	۷۰/۵۳±۲/۳۳Aa	۶۹/۸۰±۱/۷۶Aa	۶۹/۳۰±۱/۳۱Ab
کاراگینان ۵٪		۷۲/۱۶±۱/۸۹Aa	۷۲/۹۶±۱/۵۰Aa	۷۱/۹۶±۲/۱۸Aa	۷۰/۲۶±۲/۹۶Aa	۶۹/۸۰±۱/۵۸Aa

حروف کوچک در هر ستون نشان دهنده ی اختلاف آماری معنی دار بین تیمارهای مختلف در یک روز است و حروف بزرگ در هر سطر اختلاف آماری معنی دار بین روزهای مختلف در یک تیمار را نشان می دهد.

کاهش قابل توجهی در میزان رطوبت مشاهده شد ($P < 0/05$). فیله های قزل آلابی که با کاراگینان ۵ درصد پوشش داده شده بودند کمترین میزان افت رطوبت طی زمان را داشتند به طوری که رطوبت آنها از ۷۲/۱۶ درصد در روز صفر به ۶۹/۸۰ درصد در روز ۱۶ رسید.

۶.۳. رطوبت تحت فشار

طبق نتایج مربوط به رطوبت تحت فشار (جدول ۸)، در روزهای ۰ و ۱۴ و ۱۶ هیچ گونه اختلاف آماری

درصد رطوبت تنها تفاوت مشاهده شده بین تیمارهای مورد آزمایش مربوط به روز پایان آزمایش می باشد. در این روز کمترین میزان رطوبت در تیمارهای ژلاتین ۲/۵ در صد و همچنین کاراگینان ۵ در صد مشاهده شد که این اختلاف در مقایسه با سایر تیمارها معنی دار بود ($P < 0/05$). همچنین در تیمار حاوی کاراگینان ۵ در صد میزان رطوبت طی دوره ماندگاری ثابت بود و بین سایر روزهای آزمایش هیچ گونه اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد ($P > 0/05$). در سایر تیمارهای آزمایشی با افزایش دوره ماندگاری

جدول ۸- درصد رطوبت تحت فشار تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش (انحراف معیار \pm میانگین)

تیمار	روز	صفر	چهار	هشت	دوازده	شانزده
شاهد		۹/۳۳±۲/۰۸ ^{Aa}	۹/۵۰±۲/۱۹ ^{Aa}	۸/۶۳±۱/۱۶ ^{Aa}	۹/۸۳±۲/۱۵ ^{Aa}	۱۲/۴۰±۱/۹۲ ^{Aa}
ژلاتین ۲/۵٪		۱۱/۳۳±۵/۸۵ ^{Aa}	۱۱±۲/۶۴ ^{Aa}	۱۰/۳۳±۱/۸۱ ^{Aab}	۱۱/۱۰±۱/۳۰ ^{Aab}	۱۵/۲۰±۳/۳۴ ^{Aa}
ژلاتین ۵٪		۸/۶۶±۲/۰۸ ^{Aa}	۱۰/۷۳±۲/۰۱ ^{Aba}	۱۱/۳۰±۰/۸۱ ^{ABab}	۱۳/۷۳±۳/۳۳ ^{BCab}	۱۵/۲۰±۰/۷۲ ^{Ca}
کاراگینان ۲/۵٪		۱۱/۳۳±۲/۵۱ ^{Aa}	۱۱/۱۳±۲/۲۰ ^{Aa}	۱۰±۱/۷۳ ^{Aab}	۱۵/۶۰±۳/۴۰ ^{Aab}	۱۴/۳۶±۴ ^{Aa}
کاراگینان ۵٪		۱۰/۳۳±۳/۰۵ ^{Aa}	۹/۴۳±۱/۶۵ ^{Aa}	۱۲/۶۶±۲/۳۰ ^{ABb}	۱۱/۵۳±۱/۲۸ ^{ABb}	۱۵/۳۳±۲/۱۹ ^{Ba}

حروف کوچک در هر ستون نشان دهنده ی اختلاف آماری معنی دار بین تیمارهای مختلف در یک روز است و حروف بزرگ در هر سطر اختلاف آماری معنی دار بین روزهای مختلف در یک تیمار را نشان می دهد.

جدول ۹- درصد چربی تیمارهای مختلف طی دوره آزمایش (انحراف معیار \pm میانگین)

تیمار	روز	صفر	چهار	هشت	دوازده	شانزده
شاهد		۴/۸۰±۰/۱ ^{Aa}	۵/۳۷±۰/۳ ^{Ba}	۶/۷۰±۰/۳ ^{Cb}	۷/۷۰±۰/۴ ^{Db}	۸/۸۰±۰/۳ ^{Eb}
ژلاتین ۲/۵٪		۵/۰۰±۰/۱ ^{Aa}	۵/۲۳±۰/۳ ^{Aa}	۵/۹۰±۰/۸ ^{ABab}	۶/۴۰±۰/۷ ^{Ba}	۶/۲۳±۰/۳ ^{Ba}
ژلاتین ۵٪		۵/۰۰±۰/۲ ^{Aa}	۵/۷۳±۰/۹ ^{ABa}	۵/۷۰±۰/۵ ^{ABab}	۶/۵۳±۰/۶ ^{BCa}	۷/۱۰±۰/۹ ^{Ca}
کاراگینان ۲/۵٪		۴/۹۰±۰/۳ ^{Aa}	۵/۲۰±۰/۴ ^{Aa}	۵/۵۷±۰/۵ ^{ABa}	۶/۴۳±۰/۶ ^{BCa}	۶/۸۳±۰/۶ ^{Ca}
کاراگینان ۵٪		۵/۲۳±۰/۵ ^{Aa}	۵/۰۰±۰/۱ ^{Aa}	۵/۶۰±۰/۵ ^{ABa}	۶/۳۰±۰/۳ ^{Ba}	۶/۱۳±۰/۳ ^{Ba}

حروف کوچک در هر ستون نشان دهنده ی اختلاف آماری معنی دار بین تیمارهای مختلف در یک روز است و حروف بزرگ در هر سطر اختلاف آماری معنی دار بین روزهای مختلف در یک تیمار را نشان می دهد.

۸.۳. ارزشیابی حسی

نتایج ارزشیابی حسی نمونه های فیله قزل آلا در جدول ۱۰ نمایش داده شده است. تیمار شاهد تا روز ۸ نگهداری و سایر تیمارهای دارای پوشش خوراکی تا روز ۱۲ پس از نگهداری قابلیت مصرف را داشتند. رنگ تیمارهای دارای پوشش خوراکی در روز ۱۶ افت کیفی معنی داری نشان داد ($P < 0/05$). از نظر رنگ میان تیمارهای ژلاتین ۵ درصد، کاراگینان ۲/۵ و کاراگینان ۵ درصد اختلاف معنی داری در روز ۱۲ آزمایش مشاهده نشد ($P > 0/05$). در روز ۱۲ آزمایش تیمار ژلاتین ۲/۵ و ۵ درصد بالاترین امتیاز بو را داشتند ($P < 0/05$). از نظر بافت فیله ها در روز ۱۲، تیمارهای پوشش داده شده با ژلاتین بافت بهتری نسبت به تیمارهای پوشش داده شده با کاراگینان داشتند ($P < 0/05$).

۴. بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر ویژگی های آنتی میکروبی پوشش خوراکی حاوی ژلاتین مرغی و کاراگینان مورد

بین سایر تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$) اما در هشتمین و دوازدهمین روز آزمایش تیمار شاهد و تیمار حاوی ۵ درصد کاراگینان به ترتیب دارای کمترین و بیشترین میزان رطوبت تحت فشار بودند که این اختلاف از نظر آماری در مقایسه با دیگر تیمارها نیز معنی دار بود ($P < 0/05$).

۷.۳. چربی

مقادیر چربی فیله های نگهداری شده قزل آلاهای مورد آزمایش در جدول ۹ نمایش داده شده است. نوع صمغ و غلظت آن بر مقدار چربی تاثیر معنی دار داشت ($P < 0/05$). در تمامی تیمارهای مورد آزمایش مقدار چربی با گذشت مدت زمان نگهداری افزایش یافت ($P < 0/05$). در روز صفر و ۴ نگهداری ماهی ها تفاوت معنی داری میان تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ($P > 0/05$). در روز ۱۶ نگهداری ماهی ها بیشترین میزان چربی در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در فیله های تیمار شده با کاراگینان ۵ درصد مشاهده شد ($P < 0/05$).

جدول ۱۰- نتایج مربوط به ارزشیابی حسی طی دوره ماندگاری (انحراف معیار ± میانگین)

ویژگی‌های حسی	تیمار	صفر	چهار	هشت	دوازده	شانزده
رنگ	شاهد	۵±.Ea	۴/۶۶±۰/۱۵Da	۴/۲±۰/۱Ca	۳/۷۳±۰/۱۵Ba	۲/۱±۰/۱Aa
	ژلاتین ۲/۵٪	۵±.Ca	۵±.Ca	۴/۷±۰/۱BCa	۴/۴۶±۰/۱۵Ba	۳/۶±۰/۳۶Aa
	ژلاتین ۵٪	۵±.Ca	۴/۹±۰/۱Ca	۴/۳۶±۰/۱۵Ba	۴/۱۶±۰/۱۵Ba	۳/۶±۰/۲Ab
	کاراگینان ۲/۵٪	۵±.Ca	۴/۹۶±۰/۱۵Ca	۴/۵۳±۰/۱۵Ba	۴/۳۶±۰/۲Ba	۳/۸±۰/۱Ab
	کاراگینان ۵٪	۵±.Ca	۴/۸±۰/۱Ca	۴/۲۶±۰/۲Ba	۴/۱±۰/۱Ba	۲/۸۳±۰/۳Ab
بو	شاهد	۵±.Ea	۴/۶۶±۰/۱۵Da	۴/۲±۰/۱Ca	۳/۷۳±۰/۱۵Ba	۲/۱±۰/۱Aa
	ژلاتین ۲/۵٪	۵±.Ca	۵±.Cb	۴/۷±۰/۱Bc	۴/۴۶±۰/۱۵Bc	۳/۶±۰/۳۶Ac
	ژلاتین ۵٪	۵±.Ca	۴/۹±۰/۱Cb	۴/۳۶±۰/۱۵Bbc	۴/۱۶±۰/۱۵Bc	۳/۶±۰/۲Ab
	کاراگینان ۲/۵٪	۵±.Ca	۴/۹۶±۰/۱۵Cb	۴/۵۳±۰/۱۵Bc	۴/۳۶±۰/۲Bd	۳/۸±۰/۱Ad
	کاراگینان ۵٪	۵±.Ca	۴/۸±۰/۱Ca	۴/۲۶±۰/۲Bb	۴/۱±۰/۱Bb	۲/۸۳±۰/۳Ad
بافت	شاهد	۵±.Ea	۴/۶۶±۰/۱۵Da	۴/۴±۰/۱Cab	۳/۸±۰/۱Ba	۲/۳۳±۰/۱۵Aa
	ژلاتین ۲/۵٪	۵±.Da	۴/۹±۰/۱Db	۴/۵۳±۰/۱۵Cb	۴/۲±۰/۱Bc	۳/۷±۰/۱Ac
	ژلاتین ۵٪	۵±.Ea	۴/۷±۰/۱Dbc	۴/۲۳±۰/۱۵Ca	۴/۰۳±۰/۱۵Bbc	۳/۵±۰/۱Ac
	کاراگینان ۲/۵٪	۵±.Ea	۴/۸±۰/۱Dbc	۴/۶±۰/۱Cb	۴/۴±۰/۱Bd	۳/۶۳±۰/۱۵Ac
	کاراگینان ۵٪	۵±.Ea	۴/۷±۰/۱Dbc	۴/۳۶±۰/۲Cab	۴±۰/۱Bb	۳/۱±۰/۱Ab
پذیرش کلی	شاهد	۵±.Ea	۴/۷±۰/۱Da	۴/۴±۰/۱Ca	۳/۴۶±۰/۱۵Ba	۲/۱۳±۰/۱۵Aa
	ژلاتین ۲/۵٪	۵±.Ca	۴/۹۶±۰/۱۵Cb	۴/۸۶±۰/۱۵Cc	۴/۲±۰/۱Bc	۳/۵±۰/۱Ad
	ژلاتین ۵٪	۵±.Da	۴/۸۳±۰/۱۱CDab	۴/۷±۰/۱Cbc	۳/۹±۰/۱Bb	۳/۲±۰/۱Abc
	کاراگینان ۲/۵٪	۵±.Da	۴/۹±۰/۱CDb	۴/۸±۰/۱Cbc	۳/۹±۰/۱Bb	۳±۰/۱Ab
	کاراگینان ۵٪	۵±.Da	۴/۸±۰/۱CDab	۴/۶±۰/۲Cab	۳/۷۳±۰/۱۵Bb	۳/۴±۰/۱Accd

حروف کوچک در هر ستون نشان دهنده ی اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارهای مختلف در یک روز است و حروف بزرگ در هر سطر اختلاف آماری معنی‌دار بین روزهای مختلف در یک تیمار را نشان می‌دهد.

غلظت‌های ۵ درصد ژلاتین مرغی هاله اندکی اطراف دیسک مشاهده شد که می‌توان با غلظت بالاتر ژلاتین در این تحقیق (۵ درصد) نسبت به تحقیق Wu و همکاران (۲۰۱۴) (۳ درصد) در ارتباط باشد (Wu et al., 2014). بنابراین این گزارش آشکار کرد که در صورت استفاده پوشش‌های خوراکی حاوی ترکیب مورد استفاده در این مطالعه و بدون مواد با فعالیت آنتی باکتریایی نباید انتظار فعالیت آنتی باکتریایی بالایی داشت.

در این پژوهش تیمارهای شاهد و تیمار ژلاتین ۲/۵ درصد با سرعت بیشتری نسبت به سایر تیمارها کیفیت خود را از دست دادند. مقدار باکتری‌های شمارش شده تیمار شاهد پس از ۸ روز نگهداری فیله-های ماهی قزل‌آلا در یخچال از ۷ بیشتر شد. فیله‌های قزل‌آلای مورد آزمایش در تیمار ژلاتین ۲/۵ درصد تا روز ۱۲ پس از نگهداری از حد مجاز باکتری عبور کردند. حداکثر میزان باکتری بر اساس log CFU/g ۷ می‌باشد (Kalteh et al., 2015).

Volpe و همکاران (۲۰۱۵) و Briones و همکاران (۲۰۱۴) خاصیت ضدباکتریایی ضعیفی برای کاراگینان متصور شده‌اند که آن خاصیت ضعیف نیز با بار منفی موجود روی گروه سولفات‌های این ترکیب معرفی

بررسی قرار گرفت. تاثیر آنتی باکتریایی مناسب پوشش‌های خوراکی حاوی کیتوزان و دارچین (Ojagh et al., 2010)، کیتوزان و گل میخک (Gomez-Estaca et al., 2010) و عصاره پونه کوهی (Wu et al., 2014) گزارش شده است. در مطالعه ویژگی‌های آنتی باکتریایی پوشش خوراکی حاوی کیتوزان و ژلاتین توسط Aleman و همکاران (۲۰۱۶) بر سوسیس ماهی قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس ۶/۸، سالمونلا ۷/۵ و ایشیریشیاکلا ۷/۳ میلی‌متر بود (Aleman et al., 2016). بر فعالیت آنتی باکتریایی پوشش کاراگینان و ژلاتین مرغی اطلاعات چندانی یافت نشد. در پژوهش Wu و همکاران (۲۰۱۴) که فعالیت آنتی باکتریایی ترکیبی از کیتوزان-ژلاتین به همراه عصاره پونه کوهی را بر باکتری‌های ایشیریشیاکلا، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلیوس سابتیلیس، سالمونلا و شیگاباسیلیوس بررسی کردند، پوشش‌هایی که فقط حاوی کیتوزان-ژلاتین بودند هاله‌ای اطراف دیسک‌ها مشاهده نشد (Wu et al., 2014). درحالی‌که در زمان حضور عصاره پونه کوهی فعالیت آنتی باکتریایی با تشکیل هاله گزارش شد و با افزایش غلظت عصاره قطر هاله نیز افزایش یافت. البته در این پژوهش در بررسی

(TMA) در اثر عمل آنزیم‌های داخلی یا آنزیم‌های میکروبی باشد (Kalteh et al., 2015). با تشکیل ترکیبات فرار، آمین‌ها و متابولیت‌های باکتریایی pH گوشت افزایش می‌یابد (Razavi Shirazi, 2005). در این راستا Volpe و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند، به احتمال زیاد پوشش خوراکی فعال حاوی کاراگینان با جلوگیری از نفوذ اکسیژن به گوشت قزل‌آلای رنگین کمان و در نهایت اکسیداسیون آن منجر به کاهش تولید آمین‌های عمومی شده که این عمل عدم نوسان در میزان pH را به همراه دارد (Volpe et al., 2015). همچنین، مطالعات نشان دادند، فیلم ژلاتین به‌عنوان یک پوشش خارجی به محافظت از مواد غذایی در برابر خشک شدن، نور و اکسیژن می‌پردازد (Hosseini et al., 2013). که به تبع آن اکسیداسیون و تغییرات pH نیز کاهش می‌یابد. افزایش بار باکتریایی در تیمار حاوی ۲/۵ درصد کاراگینان و شاهد در مطالعه‌ی حاضر نیز به نوعی نوسانات موجود در pH این تیمارها را تأیید می‌کند.

افزایش میزان مالون دی‌آلدئید به دلیل اکسیداسیون چربی می‌باشد (Rezaee and Kermanshahi, 2015). براساس نتایج این مطالعه، میزان تیوباربیتوریک اسید در انتهای دوره ماندگاری در هیچ یک از تیمارها از حد مجاز عبور نکرد ولی میزان آن در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. در تحقیق حاضر میزان تیوباربیتوریک اسید در طول دوره افزایش معنی دار داشت. کمترین و بیشترین میزان این تغییرات به ترتیب در تیمار ژلاتین ۵ درصد و تیمار شاهد مشاهده شد. علاوه بر این تیمار کنترل با سایر تیمارها نیز از لحاظ این پارامتر باهم اختلاف معنی دار داشتند. نتایج مقادیر تیوباربیتوریک اسید در این مطالعه هم‌راستا با مطالعات انجام شده توسط کلتی و همکاران (۱۳۹۴) روی فیش فینگرهای کپور نقره‌ای با استفاده از ژلاتین می‌باشد (Kalteh et al., 2015). انتظار می‌رود پوشش ژلاتین ۵ درصد به همراه کیتوزان به واسطه وجود باندهای هیدروژنی به عنوان محافظ اکسیژن عمل کند و میزان اکسیداسیون را کاهش دهد (Antoniewski et al., 2007). در مطالعه حاضر پوشش ژلاتین توانست میزان TBA را در طول دوره به طور معنی‌داری کاهش دهد که این نتیجه همسو با نتایج Nowzari و همکاران (۲۰۱۳) بود که بیان

کردند (Volpe et al., 2015; Briones et al., 2014). همچنین در مطالعات انجام شده توسط Bratskaya و همکاران (۲۰۰۷) خواص ضدباکتریایی فیلم ساخته شده با استفاده از کیتوزان-کاپا کاراگینان مورد تأیید قرار گرفت که خواص ضدباکتریایی ضعیف کاراگینان از اندکی آب دوست بودن این ترکیب نشأت می‌گیرد (به علت داشتن خاصیت آنیونی) (Bratskaya et al., 2007). خاصیت ضد باکتریایی ضعیف کاراگینان بدین ترتیب توجیه شده است که به سرعت آب را جذب کرده و متورم می‌شود و موادی که با خاصیت ضد میکروبی به فیلم افزوده شده است با کندی به گوشت مهاجرت می‌کنند. بنابراین سبب تضعیف خاصیت ضد باکتریایی پوشش خوراکی می‌شوند. اما هیچ یک از مطالعات فوق خواص ضدباکتریایی قوی کاراگینان یا ژلاتین را به تنهایی تأیید نکردند، بلکه در فیلم‌های حاوی این ترکیبات، موادی همچون ژلاتین، نانوسلولز-کیتوزان یا عصاره لیمو به‌عنوان ماده ضدباکتریایی در ترکیب پایه فیلم مورد استفاده قرار گرفت (Zulfaqari et al., 2011; Haghgoo, 2015). در این راستا Dehnad و همکاران (۲۰۱۳) اذعان داشتند به کارگیری نانوکامپوزیت کیتوزان-سلولز بر روی گوشت چرخ کرده توانست جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک محصول را تا میزان ۳ سکیل (نسبت به نمونه کنترل) کاهش دهد. اما افزودن نانوسلولز و گلیسرول فقط قابلیت انحلال در آب نانوکامپوزیت را افزایش می‌دهد و تأثیری افزایشی یا کاهش‌ی بر میزان فعالیت ضد میکروبی کیتوزان نمی‌گذارد (Dehnad et al., 2013).

تغییرات pH به عنوان شاخص فساد میکروبی محصولات دریایی بکار می‌رود. در مطالعه حاضر، با توجه به جدول ۳، pH تیمار شاهد تا روز ۴ روند کاهشی سپس افزایشی داشت. به جز تیمارهای ژلاتین ۲/۵ درصد و کاراگینان ۵ درصد که روند تغییرات معنی‌داری طی زمان نداشتند سایر تیمارها به طور کلی تا روز ۴ روند کاهشی و سپس افزایشی را نشان دادند. پس از مرگ ماهی بدلیل تجزیه بی‌هوازی گلیکوژن ماهیچه و تجمع اسید لاکتیک در آن pH کاهش می‌یابد. از سوی دیگر افزایش میزان pH ممکن است ناشی از تولید ترکیبات پایه‌ای فرار از قبیل آمونیاک (آمونیاک+آمونیوم) و تری‌متیل آمین

نگهداری آب تأثیر می‌گذارند که می‌توان به pH، املاح، میکروارگانیزم‌ها، ترکیبات گوشت و غیره اشاره کرد. بلافاصله بعد از کشتار تا آغاز جمود نعشی، گوشت دارای pH حدود ۷ بوده و دارای بالاترین ظرفیت نگهداری و جذب آب می‌باشد. در طول ماندگاری، همراه با کاهش pH، ظرفیت نگهداری آب نیز کاهش می‌یابد و پس از ۲۴-۴۸ ساعت به پایین‌ترین میزان خود خواهد رسید (۵/۴ تا ۵/۸). سپس طی گذراندن مراحل تردی و رسیدن، ظرفیت نگهداری آب عضله به مرور بالا می‌رود ولی هیچ‌گاه به میزان اولیه یعنی زمان قبل از شروع صلابت نعشی نخواهد رسید (Razavi Shirazi, 2005). بنابراین می‌توان گفت تمام عواملی که بر pH تأثیر می‌گذارند بر ظرفیت نگهداری آب نیز تأثیر گذار خواهند بود. در مطالعه‌ی حاضر تیمار حاوی ۵ درصد کاراگینان، بالاترین میزان رطوبت تحت فشار را نشان داد. بالا بودن این شاخص در این تیمار می‌تواند با محتوی رطوبت بالاتر این تیمار در ارتباط باشد. کاراگینان ۵ درصد در برابر تبخیر مقاومت مناسبی داشت. بنابراین زمانی که رطوبت گوشت بالاتر باشد با اعمال نیرو و فشار رطوبت بیشتری از نمونه خارج می‌شود.

چربی گوشت ماهی بدلیل برخورداری از اسیدهای چرب غیر اشباع یکی از مهم‌ترین ترکیبات گوشت آن بشمار می‌رود. در این پژوهش مقدار چربی تمامی فیله‌های پوشش‌دهی شده طی زمان افزایش یافت. مقدار این افزایش در تیمار شاهد بیش از تیمارهای دارای پوشش خوراکی بود. اکسایش چربی می‌تواند سبب تغییر شکل آن و کاهش میزان چربی کل در ماهی و محصولات آن بشود (Rahmanifarah et al., 2015). نتایج تغییرات چربی کل در مطالعه حاضر برعکس گزارش‌های یاد شده بود. روند افزایشی مقدار چربی را می‌توان به روند کاهشی مقدار رطوبت در این پژوهش توجیه نمود. نوع نگهداری فیله‌های ماهی به گونه‌ای بود که به مقدار اندک در مجاورت هوای یخچال قرار گرفتند و این عامل سبب تبخیر رطوبت سطحی از تمامی نمونه‌های آزمایشی شد. هرچند با توجه به اکسایش چربی می‌بایست چربی کاهش می‌یافت اما با توجه به میزان معکوس آب و چربی در گوشت ماهی (Rezaee and

کردند فیله‌های دارای پوشش کیتوزان- ژلاتین منجر به کاهش سرعت تشکیل تیوباربتوریک اسید در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نگهداری شده در یخچال می‌شوند (Nowzari et al., 2013). همچنین تقی‌زاده اندواری و رضائی (۲۰۱۲) نشان دادند که میزان TBA فیله‌های پوشش داده شده با ژلاتین در روزهای ۱۰ و ۱۵ به طور معنی‌داری کمتر از فیله بدون پوشش بود. در نهایت می‌توان اذعان داشت در مطالعه‌ی حاضر طی دوره ماندگاری استفاده از ژلاتین ۵ درصد در حفظ کیفیت گوشت ماهی از لحاظ اکسیداسیون چربی (میزان تیوباربتوریک اسید) تأثیر بهتری داشت (Taghizadeh Andevari and Rezaei, 2012)

اندازه‌گیری میزان رطوبت به عنوان یکی از فاکتورهای کیفی در مطالعات بسیاری از محققان آورده شده است. کاهش رطوبت منجر به کاهش وزن، افزایش تغییرات اکسیداسیونی، تغییر ماهیت پروتئین، تغییرات رنگ و در نتیجه افت کیفیت محصول می‌گردد (Taghizadeh Andevari and Rezaei, 2012). بر اساس مطالعه‌ی Lee و همکاران (۲۰۱۵)، خاصیت فیزیکی و نفوذپذیری پوشش تحت تأثیر نسبت مواد مورد استفاده در آن قرار دارد. در این پژوهش در میان تیمارهای آزمایشی تیمار شاهد تیماری بود که افت رطوبت محسوسی با گذشت زمان نگهداری در یخچال نشان داد (Lee et al., 2015). با توجه به عدم برخورداری از پوشش مصنوعی هنگام عدم بسته بندی و کیوم کاهش رطوبت قابل پیش‌بینی می‌باشد (Ojagh et al., 2014). طبق نتایج ارائه شده میزان رطوبت تیمار کاراگینان ۵ درصد طی دوره ماندگاری ثابت بود و بین سایر روزهای آزمایش هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار طی زمان در این تیمار مشاهده نشد ($P < 0/05$). در این راستا Volpe و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند، به احتمال زیاد، پوشش خوراکی فعال حاوی کاراگینان با کاهش نفوذپذیری گوشت قزل‌آلای رنگین کمان به آب منجر به ثبات رطوبت آن می‌شود (Volpe et al., 2015).

ژلاتین به دلیل داشتن فعالیت سطحی می‌تواند به عنوان مانع حرکت مولکول‌های آب عمل کند و میزان انتشار آن‌ها را کاهش دهد (Ruiz-Navajas et al., 2015). به طور کلی، عوامل متعددی بر ظرفیت

نسبت به سایر تیمارها ممکن است به دلیل لایه نازک تر پوشش و طبیعی تر بنظر رسیدن فیله باشد. بررسی پوشش‌های خوراکی حاوی ۲/۵ و ۵ ژلاتین پای مرغ و ۲/۵ و ۵ درصد پوشش کاراگینان جهت افزایش ماندگاری فیله قزل‌آلای رنگین کمان به مدت ۱۶ روز در یخچال نشان داد این ترکیب‌ها قابلیت کاربرد به عنوان پوشش خوراکی را دارا هستند. هرچند کاربرد این پوشش‌های خوراکی سبب کاهش سرعت افت کیفیت می‌شود اما در صورتیکه در ترکیب پوشش‌های خوراکی از مواد با خاصیت آنتی میکروبی مناسب استفاده نشود، نمی‌توان انتظار خاصیت آنتی میکروبی زیادی را از این پوشش‌ها داشت. بنابر این تحقیق پیشنهاد می‌شود در آینده بر ترکیبات و عصاره‌های گیاهی با خاصیت ضد میکروبی و استفاده آنها در ساختار ژلاتینی و کاراگینانی پژوهش‌های بیشتری به منظور تولید یک پوشش خوراکی با قیمت مناسب پژوهش‌های بیشتری صورت گیرد.

References

- Abdollahi, M., Rezaei, M., Ferzi, Gh., 2011. Preparation and Evaluation of Biodegradable nanocomposites of chitosan/nano-clays for use in food packaging. *Journal of Food Science and Technology Research* 7(1), 71-79 (In Persian).
- Aleman, A., González, F., Arancibia, M.Y., López-Caballero, M.E., Montero, P., Gómez-Guillén, M.C., 2016. Comparative study between film and coating packaging based on shrimp concentrate obtained from marine industrial waste for fish sausage preservation. *Food Control* 70, 325-332.
- Antoniewski, M.N., Barringer, S.A., Knipe, C.L., Zerby, N.H., 2007. Effect of a gelatin coating on the shelf Life of fresh meat. *Journal of Food Science* 72, 382-387.
- Arana, I., Harris, R., Navarro-García, F., Heras, A., Acosta, N., 2016. Chitosan based films as supports for dual antimicrobial release. *Carbohydrate Polymers* 146, 402-410.
- Bratskaya, S., Marinin, D., Simon, F., Synytska, A., Zschoche, S., Busscher, H.J., Jager, D., VanderMei, H.C., 2007. Adhesion and Viability of Two Enterococcal Strains on Covalently Grafted Chitosan and Chitosan/k-Carrageenan Multilayers. *Biomacromolecules* 8, 2960-2968.
- Briones, A.V., Sato, T., Bigol, U.G., 2014. Antibacterial Activity of Polyethylenimine/Carrageenan Multilayer against Pathogenic Bacteria. *Chemical Engineering and Science* 4, 233-241.
- Kermanshahi, 2015) و کاهش رطوبت، افزایش چربی با گذشت زمان را می‌توان توجیه نمود. بر اساس نتایج مربوط به آزمون ارزشیابی حسی طی دوره ماندگاری استفاده از فیلم‌های خوراکی در مقایسه با تیمار شاهد افت کیفیت فیله‌ها را از لحاظ طعم، رنگ، بو، ظاهر و پذیرش کلی به تعویق انداخت. در این پژوهش امتیاز مناسب برای مصارف انسانی امتیاز ۴ در نظر گرفته شد (Fan et al., 2008). به طور کلی می‌توان گفت در این آزمایش تیمار شاهد تا روز ۸ نگهداری و سایر تیمارهای دارای پوشش خوراکی تا روز ۱۲ پس از نگهداری قابلیت مصرف را داشتند. در روز ۱۲ آزمایش بالاترین امتیاز پذیرش کلی تیمار ژلاتین ۲/۵ درصد و کمترین امتیاز را تیمار شاهد دارا بود ($P < 0.05$). کیفیت حسی بهتر تیمارهای دارای پوشش نسبت به تیمار شاهد بدلیل وجود لایه محافظ در برابر ورود اکسیژن و مقاومت بیشتر در مقابل عوامل محیطی می‌باشد (Taghizadeh Andevvari et al., 2012). پذیرش حسی بهتر تیمار ژلاتین ۲/۵ درصد
- Buege, J.A., Aust, S.D., 1978. Microsomal Lipid Peroxidation. *Method in Enzymology* 52, 306.
- Cruikshank, R., Duguid, J.P., Marmion, B.P., Swain, R.H., 1975. *Medical Microbiology*; 2: 12th ed. Edinburgh, London and New York, pp. 403-419.
- Dehnad, D., Mirzaee, H., Emamjomeh Jafari, S.M., Dadashi, S., 2013. Evaluation thermal and antimicrobial properties of chitosan nanocomposites nanocellulose and its effect on increasing the shelf life of meats. *Nutrition and Food Sciences Iran*, 8(4), 163-173 (in Persian).
- 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.
- Gomez-Estaca, J., Lopez de Lacey, A., Lopez-Caballero, M.E., Gomez-Guillen, M.C. Montero, P., 2010. Biodegradable gelatin chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27, 889-896.
- Haghighoo, F., 2015. Construction and physical and chemical properties of biofilm membrane composed of chitosan, cellulose and silver nanoparticles. MSc Thesis. Biology Group. Faculty of Science. Shahid Beheshti University. Iran (in Persian).
- Hosseini, S.F., Rezaei, M., Zandi, M., Farahmand Ghavi, F., 2013. Preparation and functional properties of fish gelatin-chitosan blend edible films. *Food Chemistry*, 136, 1490-1495.

- Jovanovica, G.D., Klausb, A.S., Niksi, M.P., 2016. Antimicrobial activity of chitosan coatings and films against *Listeria monocytogenes* on black radish. *Revista argentina de microbiologia*, 48(2), 128-136.
- Kalteh, S., Alizadeh Doghikolahi, E., Yossefollahi, M., 2015. The effect of edible gelatin coverage Fish fingers on quality. Silver carp during cold storage. *Journal of Food Science and Technology*, 12 79-89 (in Persian).
- Lee, J.H., Lee, J., Song, K.B., 2015. Development of a chicken feet protein film containing essential oils. *Food Hydrocolloids*, 46, 208-215.
- Nowzari, F., shabanpour, B., Ojagh, S.M., 2013. Comparison of chitosan-gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 141, 1667-1672.
- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.M., Hosseini, S.M.H., 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Journal of Biotechnology*, 122(1), 161-166.
- Ojagh, S.M., Hashem Abad, Z.N., Gholipour, L., 2014. Biodegradable film production and its application in aquatic shelf life. *Fisheries Science and Technology*, 3(2): 59-72 (In Persian).
- Oses, J., Fabregat-Vázquez, M., Pedroza-Islas, R., Tomás, S.A., Cruz-Orea, A., Maté, J.I., 2009. Development and characterization of composite edible films based on whey protein isolate and mesquite gum. *Journal of Food Engineering*, 92(1), 56-62.
- Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P., Begin, A., 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 37, 155-162.
- Pereda, M., Ponce, A.G., Marcovich, N.E., Ruseckaite, R.A., Martucci, J.F., 2011. Chitosan-gelatin composites and bilayer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, 25, 1372-1381.
- Rahmanifarah, K., Shabanpour, B., Shabani, A., 2015. Effect of thermal microbial inactivation and washing on quality properties of fish sausage during cold storage (4 °C). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 24, 386-396.
- Razavi Shirazi, H., 2005. 1. Marine products processing technology science. Tehran University. Tehran. p. 400 (in Persian).
- Remya, S., Mohan, C.O., Bindu, J., Sivaraman, G.K., Venkateshwarlu, G., Ravishankar, C.N., 2016. Effect of chitosan based active packaging film on the keeping quality of chilled stored barracuda fish. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 685-693.
- Rezaee, P., Kermanshahi, K., 2015. Investigation of antimicrobial activity of chitosan nanoparticles and films on two *Gvnh* of pathogenic bacteria with a source of food. *Food Science and Nutrition*, 12(3), 5-12 (in Persian).
- Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Barber, X., Sendra, E., Perez Alvarez, J.A., Fernández-López, J., 2015. Effect of chitosan edible films added with *Thymus moroderi* and *Thymus piperella* essential oil on shelf-life of cooked cured ham. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6493-6501.
- Samsam, sh., Farkhan, N., Sadat, B., Mohammad, F., Karamat, J., 2014. Effect of kappacarrageenan gum on physiochemical characteristics and tissue of hot dog. First national conference on quality development of a comprehensive strategy on food safety, Tehran, Iran Quality Management Association (in Persian).
- Sedaghat, N., Mohammad-Hosseini, M., Khoshnoudinia, S., Habibi, M.B., Koochehi, A., 2014. Antimicrobial Properties of CMC-based Edible Films Incorporated with Coriander and Citrus Lemon Essential oils on the Shelf-life of Fresh Lamb-meat at Refrigerator Temperature. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 9(4), 53-62 (In Persian).
- Suvanich, V., Jahncke, M.L., Marshall, D.L., 2000. Changes in Selected Chemical Quality Characteristic of Channel Catfish Frame Mince During Chill and Frozen Storage. *Food Chemistry and Toxicology*, 65, 24-29.
- Taghizadeh Andevvari, Q., Rezaei, M., 2012. Effect of gelatin coatings on chemical, microbial and sensory properties of refrigerated rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Food Science and Technology*, 37, 67-76 (in Persian).
- 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, Sh., Chen, Sh., Wang, J., Li, J., Zhang, Q., 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.
- Zulfaqari, M., Shabanpour, B., Fallahzadeh, S., 2011. Change of chemical, microbiological and sensory fillet of salmon, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to determine the shelf life during storage at refrigerator temperature (4 °C). *Journal of Fisheries, (Iranian Journal of Natural Resources)* 64(2), 107-119 (in Persian).

