

## تاثیر فیلم و پوشش کیتوزان با بسته‌بندی تحت خلاء بر کیفیت فیله‌های ماهی شعری معمولی (*Lethrinus nebulosus*) نگهداری شده در دمای 4°C

مزگان کریمی رضاآباد<sup>1</sup> - آناز خدانظری<sup>2\*</sup> - سید مهدی حسینی<sup>2</sup>

تاریخ دریافت: 1397/08/23

تاریخ پذیرش: 1398/02/09

### چکیده

در این مطالعه اثر فیلم و پوشش کیتوزان تحت شرایط بسته‌بندی در خلاء و بسته‌بندی در اتمسفر بر کیفیت فیله ماهی شعری معمولی (*Lethrinus nebulosus*) طی نگهداری در یخچال به مدت 12 روز مورد بررسی قرار گرفت. محلول کیتوزان با حل کردن 2% وزنی / حجمی کیتوزان در اسید استیک 1% حجمی / حجمی به دست آمد. فیله‌های ماهی به وسیله فیلم و پوشش کیتوزان تیمار و سپس بسته‌بندی (معمولی و تحت خلاء) شدند. آنالیزهای شیمیایی، میکروبی و حسی هر 3 روز یکبار به مدت 12 روز انجام شد. میزان بازهای ازته فرار، اسیدهای چرب آزاد، تری متیل آمین، pH و باکتری‌های کل در نمونه پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء کمتر از نمونه شاهد بود. در انتهای دوره نگهداری نمونه فیلم کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء کمترین مقدار (1/22 میلی گرم مالون آلدئید بر کیلوگرم گوشت) تیوباریتوریک اسید را دارا بود. کمترین و بیشترین مقدار باکتری‌های سرما دوست به ترتیب در نمونه‌های پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء (6/25 log<sub>10</sub> cfu/g) و شاهد (8/70 log<sub>10</sub> cfu/g) در روز 12 مشاهده شد. نتایج آنالیز حسی فیله‌های خام و پخته شده نشان داد که نمونه‌های دارای پوشش و فیلم کیتوزان همراه و بدون بسته بندی تحت خلاء بهترین امتیاز را دارا بودند. نتایج به دست آمده از آنالیز رنگ نمونه‌ها نیز بیان‌کننده همین مطلب است. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که استفاده از فیلم و پوشش کیتوزان همراه با بسته‌بندی تحت خلاء باعث حفظ ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی شعری معمولی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بسته‌بندی تحت خلاء، *Lethrinus nebulosus*، فیلم، پوشش.

### مقدمه

زیادی در این زمینه صورت گرفته شده است (اجاق و همکاران، 1389). در سال‌های اخیر پیشرفت‌های چشمگیری در زمینه بسته‌بندی و با هدف بهبود خواص فیزیکی، شیمیایی و ارگانولپتیک محصولات غذایی صورت گرفته است (Yu et al., 2018). برای جلوگیری و یا به تعویق انداختن فساد و اکسیداسیون در چربی ماهی و فرآورده‌های آن می‌توان از کنترل درجه حرارت، بسته‌بندی تحت خلاء و همچنین افزودن آنتی‌اکسیدان استفاده کرد. روش‌های بسته‌بندی فرآورده‌های شیلاتی متفاوت بوده و یکی از روش‌های متنوع، بسته‌بندی تحت خلاء می‌باشد (Kachele et al., 2017) که در دهه‌های اخیر برای ماهیان تجاری مرسوم شده است. محدود کردن میزان اکسیژن در فرآیند بسته‌بندی باعث کاهش رشد باکتری‌ها و عوامل فساد در ماهی شده و همچنین تری متیل آمین<sup>5</sup> و بوهای نامطلوب در سیستم خلاء ایجاد نشده و با بسته‌بندی در خلاء از تولید آن‌ها پیشگیری می‌شود (Preez-Alonso, 2004). در گوشت‌های بسته‌بندی شده در خلاء سطوح دی‌اکسیدکربن به سرعت به 20-10 درصد رسیده و بنابراین می‌توان گفت که

با اینکه برای حفظ خواص حسی و تغذیه‌ای ماهی از روش نگهداری در سرما استفاده زیادی می‌شود اما وجود فراوان چربی‌های غیراشباع و مقادیر بالای مولکول‌های پرواکسیدان باعث می‌شود فساد آنزیمی و غیرآنزیمی که بر ماندگاری فرآورده‌های ماهی تاثیر بسزایی دارد در نگهداری انجمادی نیز ادامه پیدا کند (Yu et al., 2018). از این رو نگهدارنده‌های مصنوعی مانند هیدروکسی آیزول بوتیل<sup>3</sup> و هیدروکسی تولوئن بوتیل<sup>4</sup> عوامل شلاته‌کننده و ترکیبات ضد میکروبی ممکن است جهت بهبود تازگی به این محصولات افزوده شوند، اما مصرف‌کنندگان تمایل بیشتری به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی به جای مصنوعی نشان می‌دهند. به همین دلیل مطالعات

1 و 2 - به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر  
(\* - نویسنده مسئول: Email: khodanazary@yahoo.com)

DOI: 10.22067/iftstrj.v15i4.76581

3 Butylated hydroxy anisole

4 Butylated hydroxy toluene

5 Trimethyl amine (TMA)

### تهیه فیلم کیتوزان

فیلم با قالب ریزی در قالب‌های طلقی نچسب (ابعاد 27×16 سانتی متر) و خشک کردن تهیه شد. بدین ترتیب که ابتدا 100 میلی لیتر محلول کیتوزان در قالب ریخته و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد (انکوباتور) قرار داده شدند. فیلم‌ها پس از خشک شدن از قالب جدا و به دور فیله‌ها پیچانده شدند (Nowzari et al., 2013).

### تهیه پوشش کیتوزان

فیله‌های پوشش داده شده مورد نظر به مدت 30 ثانیه در محلول کیتوزان، غوطه‌ور و سپس 2 دقیقه از محلول خارج و مجدداً 30 ثانیه در محلول غوطه‌ور شدند، پس از آن به مدت 2 ساعت در دمای محیط (20 درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند تا خشک شده و پوشش به دور فیله‌ها شکل بگیرد (Jeon et al., 2002)؛ اجاق و همکاران، 1389). بعد از آماده شدن فیله‌های فیلم و پوشش داده شده، تعدادی از فیله‌های ماهی با پلاستیک‌های زیپ کیپ معمولی (بسته‌بندی معمولی) و تعدادی نیز با استفاده از دستگاه بسته‌بندی تحت خلاء واقع در کارخانه مرجان با پلاستیک‌های پلی‌اتیلنی (بسته‌های 200 گرمی) بسته‌بندی و سپس تیمار بندی شدند:

تیمار 1- فیله‌های ماهی در فشار اتمسفر بسته‌بندی و به‌عنوان گروه شاهد استفاده شدند.

تیمار 2- فیله‌ها با پلاستیک‌های پلی‌اتیلنی (دستگاه بسته‌بندی تحت خلاء) بسته‌بندی شدند.

تیمار 3- فیله‌ها در فیلم کیتوزان پیچانده شده و در فشار اتمسفر بسته‌بندی شدند.

تیمار 4- فیله‌ها در فیلم کیتوزان پیچانده شده و به‌صورت تحت خلاء بسته‌بندی شدند.

تیمار 5- فیله‌ها در محلول کیتوزان غوطه‌ور (پوشش) و در فشار اتمسفر بسته‌بندی شدند.

تیمار 6- فیله‌ها در محلول کیتوزان غوطه‌ور (پوشش) و سپس به‌صورت تحت خلاء بسته‌بندی شدند.

به ازای هر تیمار سه تکرار تهیه شد، سپس فیله‌های ماهی به یخچال (دمای 4 درجه سانتی‌گراد) منتقل شده و آنالیزهای فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی هر 3 روز یکبار به مدت 12 روز انجام شد.

### آزمایش‌های فیزیکوشیمیایی

#### اندازه‌گیری تیوباریتوریک اسید (TBA)

مقدار تیوباریتوریک اسید عضله مطابق با روش Pearson (1976) سنجش شد. برای تعیین میزان تیوباریتوریک اسید در عضله مقدار 10 گرم نمونه چرخ شده وزن شده و به بالون تقطیر منتقل و

بسته‌بندی تحت خلاء شکلی از بسته‌بندی اتمسفر تغییر یافته با  $\text{CO}_2$  بالا می‌باشد (تاج الدین، 1380). در این نوع بسته‌بندی‌ها حالیت دی‌اکسیدکربن تولید شده در عضله، اثر تثبیتی روی pH دارد به طوری که از افزایش ترکیبات نیتروژنی فرار و آمونیم که از طریق متابولیسم باکتری‌ها ایجاد می‌شوند و می‌توانند روی pH گوشت اثر بگذارند، جلوگیری می‌شود (Mendes and Goncalvz, 2008). همچنین محصولات نگهداری شده در شرایط کمتر از 1% اکسیژن مانع از رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد مانند سودوموناس<sup>1</sup>، شوانلا پوترفاسینس<sup>2</sup> و انتروباکتریاسه<sup>3</sup> در مقابل بسته‌بندی معمولی می‌شوند (Arashisar et al., 2004; Stamatis and Arkoudelos, 2007; Mastromatteo et al., 2010). هدف از مطالعه حاضر، تاثیر بسته‌بندی تحت خلاء، پوشش و فیلم کیتوزان بر خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی ماهی شعری معمولی نگهداری شده در یخچال بود.

### مواد و روش‌ها

90 عدد ماهی شعری معمولی تازه با میانگین وزنی  $500 \pm 0/02$  در تیر ماه 1395 از بازار ماهی فروشان آبادان خریداری و در یونولیت پر از یخ (نسبت 1 به 3 ماهی و یخ) قرار داده شد، سپس به آزمایشگاه شیلات دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر منتقل گردیدند. ماهیان سرزنی، تخلیه امعاء و احشاء و فیله شدند و با آب سرد شستشو داده شدند. محلول و فیلم کیتوزان را که 24 ساعت قبل از بسته‌بندی آماده شده بودند به کارخانه مرجان واقع در شهرستان آبادان منتقل تا نمونه‌های ماهی تیمار بندی و بسته بندی شوند.

### تهیه محلول کیتوزان

جهت تهیه محلول کیتوزان، 2 گرم پودر کیتوزان را در 100 سی‌سی محلول اسید استیک 1 درصد (حجمی/حجمی) حل نموده و جهت انحلال کامل و یکنواخت نمودن، محلول فوق در دمای اتاق و به مدت 3 ساعت روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. سپس گلیسرول به میزان 0/75 میلی‌لیتر به ازای هر گرم کیتوزان به‌عنوان پلاستی‌سایزر<sup>4</sup> افزوده گردید و به مدت 10 دقیقه با همزن مغناطیسی مخلوط گردید. در نهایت کاغذ صافی واتمن شماره 3 برای حذف ناخالصی‌ها از محلول فوق استفاده شد (اجاق و همکاران، 1389).

- 1 *Pseudomonas spp*
- 2 *Shewanella putrefaciens*
- 3 Enterobacteriaceae
- 4 Plasticizer

تیتراسیون تا تغییر رنگ از زرد به آبی تغییر یافت. میزان اسیدهای چرب آزاد با استفاده از رابطه 3 به درصد الوئیک اسید به دست آمد.

$$FFA = [N \times (V_2 - V_1) \times 2.82] / W \quad (3)$$

که در آن N (نرمالیتته NaOH)،  $V_2$  (حجم مصرفی NaOH)،  $V_1$  (حجم مصرفی NaOH برای نمونه شاهد) و W (گرم چربی) است.

#### اندازه‌گیری pH

برای اندازه‌گیری pH مقدار 5 گرم نمونه چرخ شده از هر تیمار به 45 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به مدت 30 ثانیه در مخلوط‌کن قرار داده شد. سپس pH نمونه‌ها با pH متر دیجیتالی اندازه‌گیری شد (Salam et al., 2004).

#### اندازه‌گیری تری‌متیل آمین (TMA)

برای اندازه‌گیری تری‌متیل آمین از روش AOAC (1995) استفاده شد. جهت تهیه عصاره بافت ماهی 10 گرم از عضله ماهی را وزن کرده و با 30 میلی‌لیتر از ماده تری کلرواستیک اسید 7/5 درصد مخلوط کرده و سپس با دستگاه هموژنایزر به مدت 2 دقیقه یکنواخت گردیده تا مخلول شیری رنگ حاصل شود. در مرحله بعد بافت یکنواخت شده در سرعت 2500 دور و به مدت 10 دقیقه سانتریفوژ شده و مواد جامد ته‌نشین شده و مخلول فوقانی که شفاف می‌باشد، به‌عنوان عصاره بافت عضله ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. سپس آزمون تری‌متیل آمین بدین روش انجام شد: ابتدا یک میلی‌لیتر از عصاره بافت ماهی با پپیت برداشته و به لوله آزمایش اضافه شد و با آب مقطر به حجم 4 میلی‌لیتر رسانده شد. به عصاره فوق یک میلی‌لیتر فرمالدئید 20 درصد و در مرحله بعد 10 میلی‌لیتر تولوئن و 3 میلی‌لیتر مخلول کربنات کلسیم به محتویات لوله آزمایش اضافه شد تا حجم نهایی لوله آزمایش به 18 میلی‌لیتر رسید. در این زمان دو فاز در لوله آزمایش تشکیل شد، فاز فوقانی تولوئن و فاز زیرین سایر مواد موجود در لوله آزمایش است. سپس درب لوله آزمایش بسته و در داخل حمام آب گرم (بن ماری) با دمای 30 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه قرار داده شد. بعد از گذشت 5 دقیقه نمونه‌ها از حمام آب گرم خارج و 40 تا 60 بار تکان داده شد، به طوری که دو فاز تشکیل شده کاملاً مخلوط شدند و TMA آزاد شده جذب تولوئن شد. به همین دلیل از لوله‌های آزمایش استفاده و درب آنها محکم بسته شد تا در هنگام تکان دادن هیچ مایعی خارج نشود. در مرحله بعد لوله‌ها را به مدت 10 دقیقه در دمای محیط آزمایشگاه گذاشته تا دو فاز کاملاً از هم جدا شوند. پس از جدا شدن فازها، 9-7 میلی‌لیتر لایه تولوئن به دقت از لایه پایینی جدا شده و به لوله آزمایش دیگر منتقل شدند. جهت اطمینان از این که هیچ مولکول آبی در تولوئن نیست، به لوله آزمایش 0/1 گرم سولفات سدیم بدون آب انتقال داده شد. در مرحله

روی آن 50 cc آب مقطر اضافه و به مدت 2 دقیقه همزده شد. مجدداً 47/5 cc آب مقطر همراه با 2/5 cc اسید کلریدریک 4 نرمال به آن اضافه شد. عمل تقطیر تا زمانی که 50 cc مخلول تقطیر شده به دست آید، ادامه یافت. سپس 5 cc از مخلول تقطیر شده به داخل لوله آزمایش دربار منتقل و روی آن 5 cc معرف تیوباریتوریک اضافه شد. به‌منظور تهیه لوله شاهد، 5 cc آب مقطر همراه با 5 cc معرف تیوباریتوریک اسید به لوله آزمایش دیگری اضافه شد. لوله‌های آزمایش به مدت 35 دقیقه در حمام آبی در دمای 100 درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس به مدت 10 دقیقه در آب سرد خنک شدند. بعد از آن به کمک دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج 538 نانومتر میزان جذب نوری قرائت شد تا مقدار تیوباریتوریک اسید به دست آید (رابطه 1).

$$(1) \quad \text{میزان تیوباریتوریک اسید} = 7/8 \times \text{میزان جذب نوری در طول موج 538}$$

#### اندازه‌گیری بازهای از ته فرار (TVB-N)

ابتدا 10 گرم از گوشت چرخ شده ماهی و 2 گرم اکسید منیزیم در یک بالون کندانسور توزین شد. سپس 300 cc آب مقطر، 2 تا 3 قطره آنتی‌فوم و تعدادی سنگ جوش نیز به محتویات بالون افزوده شد. بعد از آن سیستم کندانسور نصب شده و در زیر لوله خروجی سیستم، ارلنی حاوی 25 cc اسید بوریک 2% دارای 2-3 قطره معرف متیل رد قرار گرفت به طوری که سر لوله خروجی کاملاً درون مخلول ارلن بود تا پس از برقراری جریان آب سرد و روشن کردن هیتر و جوشیدن محتویات بالون کندانسور، گازهای متصاعد شده که معرف بازهای از ته فرار هستند در مخلول درون ارلن جمع‌آوری شوند که به‌صورت تغییر رنگ مخلول از ارغوانی به سبز روشن نمودار شد. در نهایت این مخلول با اسید سولفوریک 0/1 نرمال تیترا شد تا رنگ مخلول مجدداً ارغوانی شود. با قرار دادن میزان اسید مصرفی جهت تیتراسیون در رابطه 2، بازهای از ته فرار بر حسب میلی‌گرم نیترژن در 100 گرم نمونه ماهی محاسبه شد (Goulas and Kontaminas, 2005).

$$(2) \quad \text{TVB-N} = 14 \times \text{حجم اسید سولفوریک مصرفی}$$

#### اندازه‌گیری میزان اسیدهای چرب آزاد<sup>1</sup> (FFA)

میزان اسیدهای چرب آزاد با استخراج چربی از 10 گرم گوشت با کمک کلروفرم/متانول به روش Woywoda و همکاران (1986) و تیتراسیون گروه‌های کربوکسیل آزاد موجود در آن با هیدروکسیدسدیم صورت پذیرفت. کلروفرم، متانول و 2- پروپانول به نسبت 2:1:2 به همراه معرف متاکروزول ارغوانی به عصاره استخراج شده اضافه شد و

1 Free fatty acid

لگاریتم آن‌ها گرفته شد تا لگاریتم تعداد کلنی در واحد وزن (log cfu/g) به دست آید.

#### آنالیز حسی نمونه پخته

برای ارزیابی حسی نمونه‌های پخته شده، نمونه‌های ماهی در داخل فویل آلومینیوم، به مدت 15 دقیقه در دمای 98 درجه سانتی‌گراد بخارپز شدند (1/5 درصد نمک اضافه شد). بافت، طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی نمونه‌ها با مقیاس هدونیک (با اندکی تغییر) با اصطلاحات توصیفی زیر رتبه‌بندی شدند: بافت (5، دارای انسجام ماهی تازه، 1، خمیری)، رنگ (5، بدون تغییر رنگ، 1، کاملاً رنگ پریده)، طعم (5، مطلوب، 1، کاملاً نامطلوب)، بو (5، مطبوع، 1، کاملاً نامطوب)، پذیرش کلی (5، خیلی خوب، 1، خیلی بد) (Ojagh et al., 2010).

#### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. آنالیز داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه صورت گرفت و نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار بیان شدند. جهت انجام مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال 0/05 با استفاده از نرم‌افزار آنالیز آماری SPSS 16 استفاده گردید.

#### نتایج و بحث

##### تغییرات میزان تیوباریتوریک اسید

تغییرات میزان تیوباریتوریک اسید (میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم گوشت) تیمارهای مختلف ماهی شعری معمولی طی نگهداری در یخچال (1  $\pm$  4 درجه سانتی‌گراد) به مدت 12 روز در جدول 1 مشاهده می‌شود.

بعد درب لوله را کاملاً بسته و به خوبی تکان داده شد تا تولوئن خشک شود، سپس 5 میلی‌لیتر محلول اسید پیکریک به آن اضافه کرده و با چرخش آرامی کاملاً ترکیب و با دستگاه اسپکتروفوتومتر تغییر رنگ ایجاد شده مقابل لوله شاهد که حاوی تمامی مواد نامبرده شده به جز عصاره ماهی است، در طول موج 410 نانومتر قرائت شد. به منظور تهیه محلول‌های استاندارد، به ترتیب 1، 2 و 3 میلی‌لیتر از محلول کاری استاندارد TMA با آب مقطر به حجم 4 میلی‌لیتر رسانده و سپس با تعیین میزان جذب نوری، منحنی استاندارد رسم شد. در این آزمایش یک لوله نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. جدول 1 میزان مواد و محلول‌های هر سه لوله شاهد، استاندارد و مجهول را نشان می‌دهد. با تعیین میزان جذب نوری در نمونه مجهول و با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده میزان TMA در عضله ماهی محاسبه شد.

#### آنالیز میکروبی

10 گرم از گوشت ماهی با 90 میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی (0/85%) با هموژنایزر (IKA, T25 digital, ULTARA-TURRAX, Germany) به مدت 60 ثانیه به خوبی مخلوط شدند. 0/1 cc از نمونه‌های تهیه شده روی محیط کشت به طور سطحی پخش شد. در صورت نیاز (بالا بودن تعداد باکتری‌ها در یک پلیت) رقیق‌سازی نمونه‌ها (تا رقت نهایی 6) در محلول سرم فیزیولوژی انجام شد. تمام وسایل جهت کشت میکروبی استریل بودند. پلیت‌های کشت داده شده مربوط به شمارش باکتری‌های هوازی مزوفیل بعد از 48 ساعت قرار گرفتن در انکوباتور با دمای 35 درجه سانتی‌گراد (Egan et al., 1997) و پلیت‌های مربوط به باکتری‌های سرمادوست بعد از 10 روز در یخچال با دمای 4 درجه سانتی‌گراد شمارش شدند (McMeekin, 1993). پس از اتمام زمان، کلنی‌ها پس از شمارش در عکس رقت مورد استفاده ضرب و بر وزن نمونه برداشته شده تقسیم شد. سپس

جدول 1- تغییرات مقادیر تیوباریتوریک اسید (میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم گوشت) تیمارهای مختلف ماهی شعری معمولی طی نگهداری در یخچال به مدت 12 روز.

تیمارها	دوره نگهداری (روز)				
	صفر	3	6	9	12
شاهد	0/50 $\pm$ 0/05 <sup>bA</sup>	0/59 $\pm$ 0/18 <sup>bA</sup>	1/67 $\pm$ 0/12 <sup>abAB</sup>	2/48 $\pm$ 0/37 <sup>aA</sup>	3/07 $\pm$ 0/86 <sup>aA</sup>
بسته‌بندی تحت خلاء	0/29 $\pm$ 0/01 <sup>bA</sup>	0/43 $\pm$ 0/10 <sup>bA</sup>	0/72 $\pm$ 0/06 <sup>bC</sup>	0/91 $\pm$ 0/34 <sup>bB</sup>	2/02 $\pm$ 0/48 <sup>aA</sup>
فیلم کیتوزان و بسته‌بندی معمولی	0/37 $\pm$ 0/09 <sup>aA</sup>	0/43 $\pm$ 0/06 <sup>aA</sup>	0/85 $\pm$ 0/26 <sup>aBC</sup>	1/64 $\pm$ 0/50 <sup>aAB</sup>	2/01 $\pm$ 1/12 <sup>aA</sup>
فیلم کیتوزان + تحت خلاء	0/36 $\pm$ 0/22 <sup>cA</sup>	0/60 $\pm$ 0/14 <sup>bcA</sup>	1/53 $\pm$ 0/26 <sup>aABC</sup>	0/80 $\pm$ 0/23 <sup>bcB</sup>	1/22 $\pm$ 0/16 <sup>abA</sup>
پوشش کیتوزان و بسته‌بندی معمولی	0/31 $\pm$ 0/04 <sup>cA</sup>	0/72 $\pm$ 0/12 <sup>cA</sup>	1/98 $\pm$ 0/33 <sup>bA</sup>	0/75 $\pm$ 0/19 <sup>cB</sup>	2/87 $\pm$ 0/29 <sup>aA</sup>
پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء	0/55 $\pm$ 0/13 <sup>bA</sup>	0/80 $\pm$ 0/40 <sup>abA</sup>	1/79 $\pm$ 0/40 <sup>abA</sup>	1/17 $\pm$ 0/49 <sup>abB</sup>	2/21 $\pm$ 0/53 <sup>aA</sup>

حروف غیرهم نام کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها و حروف غیرهم نام بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح  $p < 0/05$  می‌باشد.

نمونه شاهد (3/07 میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم گوشت) در روز 12 بود.

**تغییرات میزان بازهای از ته فرار**

جدول 2 تغییرات بازهای از ته فرار (میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم نمونه) تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال (1±4 درجه سانتی‌گراد) به مدت 12 روز را نشان می‌دهد.

جدول 2- تغییرات مقادیر بازهای از ته فرار (میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم نمونه) تیمارهای مختلف ماهی شعری معمولی طی نگهداری در یخچال به مدت 12 روز.

تیمارها	دوره نگهداری (روز)	صفر	3	6	9	12
شاهد	21/13±0/69 <sup>cA</sup>	38/33±3/42 <sup>bA</sup>	40/06±4/21 <sup>bA</sup>	47/66±1/55 <sup>abA</sup>	57/06±5/44 <sup>aA</sup>	
بسته بندی تحت خلاء	24/66±3/70 <sup>bA</sup>	34/33±4/63 <sup>bAB</sup>	30/06±1/21 <sup>bB</sup>	46/46±4/86 <sup>aA</sup>	47/26±1/26 <sup>aAB</sup>	
فیلم کیتوزان و بسته بندی معمولی	25±6/51 <sup>bA</sup>	26/66±2/90 <sup>abBC</sup>	32/20±3/29 <sup>abB</sup>	41/80±0/98 <sup>abABC</sup>	45/93±9/14 <sup>aAB</sup>	
فیلم کیتوزان+تحت خلاء	17/20±1/66 <sup>bA</sup>	18/60±1/24 <sup>bC</sup>	21/73±2/28 <sup>bC</sup>	44/40±1/24 <sup>aAB</sup>	40/40±7/37 <sup>aAB</sup>	
پوشش کیتوزان و بسته بندی معمولی	21/13±0/69 <sup>dA</sup>	21/93±0/46 <sup>dC</sup>	31±0/64 <sup>cB</sup>	37/73±3/29 <sup>bBC</sup>	44/66±2/09 <sup>aAB</sup>	
پوشش کیتوزان و بسته بندی تحت خلاء	18/33±1/47 <sup>cA</sup>	25/73±1/18 <sup>bBC</sup>	24/33±0/43 <sup>bBC</sup>	34/53±1/23 <sup>aC</sup>	34/40±1/13 <sup>aB</sup>	

حروف غیرهم نام کوچک در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها و حروف غیرهم نام بزرگ در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح  $p < 0/05$  می‌باشد.

نمونه شاهد (57/06 میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم نمونه) در روز 12 بود.

**تغییرات میزان اسیدهای چرب آزاد**

تغییرات میزان اسیدهای چرب آزاد (درصد اولئیک اسید) تیمارهای مختلف ماهی شعری معمولی طی نگهداری در یخچال (1±4 درجه سانتی‌گراد) به مدت 12 روز در جدول 3 مشاهده می‌شود.

جدول 3- تغییرات مقادیر اسیدهای چرب آزاد (درصد اولئیک اسید) تیمارهای مختلف ماهی شعری معمولی طی نگهداری در یخچال به مدت 12 روز.

تیمارها	دوره نگهداری (روز)	صفر	3	6	9	12
شاهد	1/56±0/39 <sup>bAB</sup>	2/23±0/36 <sup>abA</sup>	2/76±0/61 <sup>abA</sup>	3/54±1/05 <sup>abA</sup>	5/27±1/52 <sup>aA</sup>	
بسته بندی تحت خلاء	1/35±0/16 <sup>aAB</sup>	1/44±0/07 <sup>aA</sup>	1/81±0/15 <sup>aAB</sup>	2/37±0/08 <sup>aAB</sup>	1/84±0/65 <sup>aB</sup>	
فیلم کیتوزان و بسته بندی معمولی	1/77±0/08 <sup>bA</sup>	1/67±0/46 <sup>bA</sup>	1/98±0/50 <sup>bAB</sup>	2/22±0/15 <sup>abAB</sup>	3/37±0/61 <sup>aAB</sup>	
فیلم کیتوزان+تحت خلاء	0/95±0/12 <sup>cB</sup>	1/78±0/20 <sup>abA</sup>	1/45±0/02 <sup>bcB</sup>	2/20±0/05 <sup>aAB</sup>	2/08±0/36 <sup>abB</sup>	
پوشش کیتوزان و بسته بندی معمولی	1/16±0/14 <sup>cAB</sup>	1/68±0/14 <sup>bcA</sup>	1/70±0/20 <sup>bcAB</sup>	2/38±0/31 <sup>abAB</sup>	2/61±0/33 <sup>aB</sup>	
پوشش کیتوزان و بسته بندی تحت خلاء	1/31±0/04 <sup>aAB</sup>	1/44±0/23 <sup>aA</sup>	1/64±0/43 <sup>aAB</sup>	1/60±0/50 <sup>aB</sup>	1/46±0/24 <sup>aB</sup>	

حروف غیرهم نام کوچک در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها و حروف غیرهم نام بزرگ در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح  $p < 0/05$  می‌باشد.

**تغییرات میزان pH**

تغییرات میزان pH تیمارهای مختلف ماهی شعری معمولی طی نگهداری در یخچال ( $1 \pm 4$  درجه سانتی‌گراد) به مدت 12 روز در جدول 4 مشاهده می‌شود. میزان این شاخص از 6/72 تا 7/21 در روز صفر متغیر بود. براساس نتایج به‌دست آمده میزان pH در نمونه‌های شاهد و تیمار شده طی دوره نگهداری افزایش معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0/05$ ). میزان pH نمونه‌های بسته بندی شده تحت خلاء و فیلم کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء با افزایش دوره نگهداری از نظر آماری تفاوت معناداری را نشان ندادند ( $p > 0/05$ ). به‌طور کلی در روز آخر بالاترین میزان pH مربوط به نمونه شاهد (8/27) و کمترین آن متعلق به نمونه پوشش کیتوزان + بسته بندی تحت خلاء (7/05) بود.

میزان این شاخص در تیمارهای مختلف در روز صفر از 0/95 تا 1/77 درصد اولئیک اسید متغیر بود. مقدار اسیدهای چرب آزاد در همه نمونه‌ها با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. میزان این شاخص در نمونه پوشش کیتوزان + بسته‌بندی تحت خلاء در طول دوره نگهداری تفاوت معنی‌داری نشان نداد ( $P > 0/05$ ). مقایسه میزان اسیدهای چرب آزاد در تیمارهای مختلف نشان داد که بیشترین میزان اسیدهای چرب آزاد مربوط به نمونه شاهد بود و در سایر نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). به‌طور کلی کمترین و بیشترین میزان اسیدهای چرب آزاد به ترتیب مربوط به نمونه‌های غوطه‌ور شده در کیتوزان با بسته‌بندی تحت خلاء (1/46 درصد اولئیک اسید) و نمونه شاهد (5/27 درصد اولئیک اسید) بود.

**جدول 4- تغییرات مقادیر pH تیمارهای مختلف ماهی شعری معمولی طی نگهداری در یخچال به مدت 12 روز.**

تیمارها	دوره نگهداری (روز)	صفر	3	6	9	12
شاهد	7/21±0/50 <sup>bA</sup>	7/44±0/16 <sup>abA</sup>	7/51±0/02 <sup>abB</sup>	8/15±0/42 <sup>abA</sup>	8/27±0/05 <sup>aA</sup>	
بسته بندی تحت خلاء	6/99±0/41 <sup>aA</sup>	7/59±0/06 <sup>aA</sup>	7/50±0/16 <sup>abB</sup>	7/87±0/25 <sup>aA</sup>	7/68±0/39 <sup>aAB</sup>	
فیلم کیتوزان و بسته بندی معمولی	6/94±0/40 <sup>bA</sup>	7/42±0/00 <sup>abA</sup>	7/27±0/06 <sup>abB</sup>	7/72±0/07 <sup>abA</sup>	7/76±0/32 <sup>aAB</sup>	
فیلم کیتوزان + تحت خلاء	6/96±0/40 <sup>aA</sup>	7/37±0/06 <sup>aA</sup>	7/38±0/03 <sup>aB</sup>	7/37±0/05 <sup>aA</sup>	7/34±0/32 <sup>aB</sup>	
پوشش کیتوزان و بسته بندی معمولی	6/76±0/34 <sup>bA</sup>	7/47±0/07 <sup>abA</sup>	7/85±0/02 <sup>aA</sup>	7/89±0/36 <sup>aA</sup>	7/80±0/20 <sup>aAB</sup>	
پوشش کیتوزان و بسته بندی تحت خلاء	6/99±0/15 <sup>cA</sup>	7/39±0/02 <sup>abA</sup>	7/50±0/10 <sup>abB</sup>	7/48±0/17 <sup>aA</sup>	7/05±0/01 <sup>bcB</sup>	

حروف غیرهم نام کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها و حروف غیرهم نام بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح  $p < 0/05$  می‌باشد.

میزان این شاخص در تیمارهای مختلف از 6/15 تا 7/32 میلی‌گرم بر 100 گرم نمونه در روز صفر متغیر بود. نتایج به‌دست آمده نشان داد که میزان تری‌متیل آمین نمونه‌های شاهد و تیمار شده طی دوره نگهداری افزایش معنی‌داری را نشان دادند ( $p < 0/05$ ).

**تغییرات میزان تری‌متیل آمین**

در جدول 5 تغییرات میزان تری‌متیل آمین (میلی‌گرم بر 100 گرم نمونه) تیمارهای مختلف ماهی شعری معمولی طی نگهداری در یخچال ( $1 \pm 4$  درجه سانتی‌گراد) به مدت 12 روز مشاهده می‌شود.

**جدول 5- تغییرات مقادیر تری‌متیل آمین (میلی‌گرم بر 100 گرم نمونه) تیمارهای مختلف ماهی شعری معمولی طی نگهداری در یخچال به مدت 12 روز.**

تیمارها	دوره نگهداری (روز)	صفر	3	6	9	12
شاهد	7/25±0/07 <sup>dA</sup>	8/98±1/14 <sup>cAB</sup>	10/40±0/41 <sup>cA</sup>	13/38±0/07 <sup>bA</sup>	16/27±0/10 <sup>aA</sup>	
بسته بندی تحت خلاء	7/32±0/11 <sup>dA</sup>	9/40±0/73 <sup>cA</sup>	9/66±0/28 <sup>cA</sup>	11/39±0/49 <sup>bAB</sup>	14/10±0/29 <sup>aB</sup>	
فیلم کیتوزان و بسته بندی معمولی	7/04±0/53 <sup>cA</sup>	6/42±0/46 <sup>cAB</sup>	5/57±1/19 <sup>cB</sup>	9/13±0/10 <sup>bB</sup>	13/79±0/28 <sup>aB</sup>	
فیلم کیتوزان + تحت خلاء	6/51±0/69 <sup>abA</sup>	6/38±0/54 <sup>abB</sup>	5/52±0/88 <sup>bB</sup>	6/31±0/07 <sup>abC</sup>	7/84±0/29 <sup>aD</sup>	
پوشش کیتوزان و بسته بندی معمولی	6/15±1/15 <sup>aA</sup>	6/60±1/43 <sup>aAB</sup>	6/21±0/65 <sup>aB</sup>	6/51±1/77 <sup>aC</sup>	9/40±0/66 <sup>aC</sup>	
پوشش کیتوزان و بسته بندی تحت خلاء	7/03±0/42 <sup>aA</sup>	7/03±0/50 <sup>aAB</sup>	7/03±0/10 <sup>aB</sup>	6/16±0/03 <sup>aC</sup>	7/27±0/15 <sup>aD</sup>	

حروف غیرهم نام کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها و حروف غیرهم نام بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح  $p < 0/05$  می‌باشد.



نتایج مربوط به آنالیز میکروبی نمونه‌های نگهداری شده در یخچال  
**میزان بار باکتریایی کل**  
 تغییرات میزان بار باکتریایی کل تیمارهای مختلف ماهی شعری معمولی طی نگهداری در یخچال ( $1 \pm 4$  درجه سانتی‌گراد) به مدت 12 روز در جدول 6 مشاهده می‌شود.

میزان این شاخص در نمونه‌های فیله دارای پوشش ماهی شعری معمولی طی دوره نگهداری تفاوت معنی‌داری نشان ندادند ( $p > 0/05$ ). مقایسه میزان تری‌متیل آمین در تیمارهای مختلف نشان داد که کمترین مقدار مربوط به نمونه پوشش کیتوزان + بسته بندی تحت خلاء (7/27 میلی‌گرم بر 100 گرم نمونه) و بیشترین مقدار مربوط به نمونه شاهد (16/27 میلی‌گرم بر 100 گرم نمونه) در روز آخر بود.

جدول 6- تغییرات مقادیر بار باکتریایی کل ( $\log_{10}$  cfu/g) تیمارهای مختلف ماهی شعری معمولی طی نگهداری در یخچال به مدت 12 روز.

تیمارها	دوره نگهداری (روز)	صفر	3	6	9	12
شاهد		2/80±0/37 <sup>eA</sup>	4/98±0/38 <sup>dA</sup>	7/12±0/57 <sup>cA</sup>	9/48±0/62 <sup>bA</sup>	13/24±0/71 <sup>aA</sup>
بسته‌بندی تحت خلاء		2/60±0/28 <sup>dA</sup>	4/91±0/40 <sup>cAB</sup>	6/89±0/44 <sup>bcA</sup>	7/68±0/26 <sup>bB</sup>	11/15±1/27 <sup>aA</sup>
فیلم کیتوزان و بسته‌بندی معمولی		3/02±0/35 <sup>dA</sup>	4/08±0/34 <sup>dABC</sup>	5/98±0/16 <sup>cAB</sup>	7/90±0/34 <sup>bB</sup>	11/37±0/64 <sup>aA</sup>
فیلم کیتوزان + تحت خلاء		2/73±0/21 <sup>eA</sup>	3/69±0/15 <sup>dC</sup>	4/69±0/23 <sup>cC</sup>	6/22±0/48 <sup>bC</sup>	7/68±0/29 <sup>aB</sup>
پوشش کیتوزان و بسته‌بندی معمولی		2/73±0/24 <sup>eA</sup>	3/91±0/20 <sup>dC</sup>	5/57±0/27 <sup>cBC</sup>	7/16±0/11 <sup>bBC</sup>	8/72±0/30 <sup>aB</sup>
پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء		2/87±0/16 <sup>dA</sup>	4/01±0/10 <sup>cBC</sup>	4/78±0/24 <sup>cC</sup>	6/89±0/51 <sup>bBC</sup>	8/25±0/21 <sup>aB</sup>

حروف غیرهم نام کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها و حروف غیرهم نام بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح  $p < 0/05$  می‌باشد.

میزان این شاخص از  $\log_{10}$  cfu/g 3/56-3/93 در روز صفر متغیر بود. نتایج نشان داد که میزان باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های شاهد و تیمار شده طی دوره نگهداری افزایش معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0/05$ ). کمترین و بیشترین مقدار باکتری‌های سرمادوست به ترتیب در نمونه‌های پوشش کیتوزان + بسته بندی تحت خلاء ( $6/25 \log_{10}$  cfu/g) و شاهد ( $8/70 \log_{10}$  cfu/g) در روز 12 مشاهده شد.

میزان بار باکتریایی کل از  $\log_{10}$  cfu/g 2/60-3/02 در روز صفر متغیر بود. بر اساس نتایج به‌دست آمده میزان این شاخص در همه نمونه‌ها طی دوره نگهداری روند افزایشی داشت ( $p < 0/05$ ). کمترین مقدار بار باکتریایی کل در نمونه فیلم کیتوزان + بسته بندی تحت خلاء ( $7/68 \log_{10}$  cfu/g) و بیشترین مقدار در نمونه شاهد ( $\log_{10}$  13/24cfu/g) در روز 12 مشاهده شد.

#### میزان باکتری‌های سرمادوست

در جدول 7 تغییرات میزان باکتری‌های سرمادوست طی نگهداری در یخچال ( $1 \pm 4$  درجه سانتی‌گراد) به مدت 12 روز مشاهده می‌شود.

جدول 7- تغییرات مقادیر باکتری‌های سرمادوست ( $\log_{10}$  cfu/g) تیمارهای مختلف ماهی شعری معمولی طی نگهداری در یخچال به مدت 12 روز.

تیمارها	دوره نگهداری (روز)	صفر	3	6	9	12
شاهد		3/93±0/24 <sup>dA</sup>	4/24±0/17 <sup>dA</sup>	5/97±0/43 <sup>cA</sup>	7/03±0/40 <sup>bA</sup>	8/70±0/30 <sup>aA</sup>
بسته بندی تحت خلاء		3/71±0/24 <sup>dA</sup>	3/64±0/31 <sup>dA</sup>	5/66±0/43 <sup>cAB</sup>	7/01±0/04 <sup>bA</sup>	8/16±0/24 <sup>aA</sup>
فیلم کیتوزان و بسته‌بندی معمولی		3/76±0/39 <sup>cA</sup>	4/05±0/16 <sup>cA</sup>	5/03±0/15 <sup>bAB</sup>	5/57±0/17 <sup>bB</sup>	6/66±0/28 <sup>aB</sup>
فیلم کیتوزان + تحت خلاء		3/56±0/28 <sup>cA</sup>	3/69±0/26 <sup>cA</sup>	4/79±0/12 <sup>bB</sup>	5/35±0/14 <sup>bB</sup>	6/33±0/09 <sup>aB</sup>
پوشش کیتوزان و بسته‌بندی معمولی		3/84±0/16 <sup>cA</sup>	3/72±0/09 <sup>cA</sup>	4/60±0/35 <sup>cB</sup>	5/63±0/41 <sup>bB</sup>	6/67±0/29 <sup>aB</sup>
پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء		3/83±0/17 <sup>bA</sup>	3/89±0/19 <sup>bA</sup>	4/62±0/25 <sup>bB</sup>	5/59±0/41 <sup>aB</sup>	6/25±0/33 <sup>aB</sup>

حروف غیرهم نام کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها و حروف غیرهم نام بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح  $p < 0/05$  می‌باشد.

جدول 8 مشاهده می‌شود. بر اساس نتایج به دست آمده امتیاز همه شاخص‌های حسی با گذشت زمان نگهداری کاهش معنی داری را نشان دادند ( $P > 0/05$ ).

نتایج مربوط به ارزیابی حسی نمونه‌های پخته شده نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های پخته شده ماهی شعری معمولی طی نگهداری در یخچال ( $1 \pm 4$  درجه سانتی گراد) به مدت 12 روز در

جدول 8- نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های پخته شده ماهی شعری معمولی نگهداری شده در یخچال

شاخص حسی	تیمار/دوره نگهداری	صفر	3	6	9	12
بافت	شاهد	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/41±0/13 <sup>bAB</sup>	4/16±0/17 <sup>bA</sup>	3/12±0/29 <sup>cA</sup>	1/64±0/25 <sup>dA</sup>
	بسته بندی تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/64±0/14 <sup>abA</sup>	4/21±0/18 <sup>bA</sup>	3/17±0/24 <sup>cA</sup>	2/19±0/25 <sup>dA</sup>
	فیلم کیتوزان و بسته‌بندی معمولی	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/21±0/12 <sup>bB</sup>	3/32±0/21 <sup>cb</sup>	2/96±0/37 <sup>cA</sup>	2/10±0/32 <sup>dA</sup>
	فیلم کیتوزان+تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/37±0/13 <sup>bAB</sup>	4/10±0/14 <sup>bA</sup>	3/08±0/30 <sup>cA</sup>	1/98±0/26 <sup>dA</sup>
	پوشش کیتوزان و بسته‌بندی معمولی	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/50±0/11 <sup>abAB</sup>	4/14±0/22 <sup>bA</sup>	2/35±0/32 <sup>cA</sup>	2/25±0/20 <sup>dA</sup>
	پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/62±0/12 <sup>aA</sup>	4/46±0/18 <sup>aA</sup>	2/92±0/34 <sup>bA</sup>	2/14±0/26 <sup>cA</sup>
بو	شاهد	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/50±0/12 <sup>aB</sup>	3/64±0/12 <sup>bBC</sup>	3/37±0/28 <sup>bA</sup>	1/67±0/26 <sup>dA</sup>
	بسته بندی تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/42±0/16 <sup>abB</sup>	4/07±0/15 <sup>bABC</sup>	2/85±0/33 <sup>cA</sup>	2/00±0/28 <sup>dA</sup>
	فیلم کیتوزان و بسته‌بندی معمولی	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/50±0/13 <sup>aB</sup>	3/55±0/18 <sup>bC</sup>	2/94±0/29 <sup>cA</sup>	2/08±0/26 <sup>dA</sup>
	فیلم کیتوزان+تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/62±0/11 <sup>abAB</sup>	4/25±0/22 <sup>bA</sup>	2/75±0/30 <sup>cA</sup>	1/75±0/18 <sup>dA</sup>
	پوشش کیتوزان و بسته‌بندی معمولی	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/80±0/08 <sup>abAB</sup>	4/17±0/19 <sup>bAB</sup>	2/35±0/36 <sup>cA</sup>	2/03±0/25 <sup>dA</sup>
	پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/92±0/07 <sup>aA</sup>	4/32±0/18 <sup>bA</sup>	2/85±0/33 <sup>cA</sup>	2/42±0/24 <sup>cA</sup>
طعم	شاهد	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/57±0/20 <sup>abB</sup>	4/06±0/15 <sup>bAB</sup>	3/10±0/33 <sup>cA</sup>	1/67±0/24 <sup>dA</sup>
	بسته بندی تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/73±0/12 <sup>aAB</sup>	4/08±0/21 <sup>bAB</sup>	2/91±0/25 <sup>cA</sup>	2/01±0/21 <sup>dA</sup>
	فیلم کیتوزان و بسته‌بندی معمولی	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/50±0/10 <sup>aB</sup>	3/57±0/16 <sup>bB</sup>	2/85±0/32 <sup>cA</sup>	1/92±0/30 <sup>dA</sup>
	فیلم کیتوزان+تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/80±0/07 <sup>abAB</sup>	4/30±0/16 <sup>bA</sup>	3/25±0/35 <sup>cA</sup>	2/17±0/26 <sup>dA</sup>
	پوشش کیتوزان و بسته‌بندی معمولی	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/82±0/08 <sup>aAB</sup>	3/91±0/23 <sup>bAB</sup>	2/32±0/33 <sup>cA</sup>	2/25±0/27 <sup>dA</sup>
	پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/94±0/03 <sup>abA</sup>	4/32±0/18 <sup>bA</sup>	2/91±0/38 <sup>cA</sup>	2/19±0/27 <sup>dA</sup>
رنگ	شاهد	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/41±0/16 <sup>aB</sup>	4/35±0/21 <sup>aAB</sup>	3/46±0/28 <sup>bA</sup>	1/67±0/23 <sup>dA</sup>
	بسته بندی تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/37±0/17 <sup>bB</sup>	4/23±0/18 <sup>bAB</sup>	3/32±0/29 <sup>cA</sup>	2/39±0/26 <sup>dA</sup>
	فیلم کیتوزان و بسته‌بندی معمولی	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/30±0/12 <sup>bB</sup>	3/51±0/24 <sup>cC</sup>	2/96±0/31 <sup>cAB</sup>	2/03±0/28 <sup>dA</sup>
	فیلم کیتوزان+تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/46±0/16 <sup>abAB</sup>	4/26±0/18 <sup>bAB</sup>	3/23±0/31 <sup>cAB</sup>	2/12±0/25 <sup>dA</sup>
	پوشش کیتوزان و بسته‌بندی معمولی	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/85±0/06 <sup>aA</sup>	3/89±0/19 <sup>bBC</sup>	2/32±0/33 <sup>cb</sup>	2/07±0/25 <sup>cA</sup>
	پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/85±0/07 <sup>aA</sup>	4/55±0/15 <sup>aA</sup>	2/76±0/35 <sup>bAB</sup>	2/42±0/28 <sup>cA</sup>
پذیرش کلی	شاهد	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/50±0/13 <sup>abBC</sup>	4/30±0/15 <sup>bA</sup>	3/44±0/26 <sup>cA</sup>	1/71±0/24 <sup>dA</sup>
	بسته بندی تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/48±0/13 <sup>abBC</sup>	4/29±0/12 <sup>bA</sup>	3/35±0/31 <sup>cA</sup>	2/49±0/27 <sup>dA</sup>
	فیلم کیتوزان و بسته‌بندی معمولی	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/42±0/11 <sup>bC</sup>	3/83±0/13 <sup>cb</sup>	3/16±0/30 <sup>dA</sup>	2/23±0/26 <sup>eA</sup>
	فیلم کیتوزان+تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/50±0/11 <sup>abBC</sup>	4/32±0/17 <sup>bA</sup>	3/12±0/31 <sup>cA</sup>	2/01±0/27 <sup>dA</sup>
	پوشش کیتوزان و بسته‌بندی معمولی	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/78±0/06 <sup>abAB</sup>	4/14±0/15 <sup>bAB</sup>	2/42±0/36 <sup>cA</sup>	2/10±0/25 <sup>cA</sup>
	پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء	5/00±0/00 <sup>aA</sup>	4/91±0/04 <sup>aA</sup>	4/41±0/14 <sup>aA</sup>	2/89±0/37 <sup>bA</sup>	2/53±0/23 <sup>dA</sup>

حروف غیرهم نام کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها و حروف غیرهم نام بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح  $p < 0/05$  می باشد



معنی‌داری بین هیچ کدام از نمونه‌ها مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ) ولی در مجموع در بین همه تیمارها کمترین مقدار تیوباریتوریک اسید مربوط به نمونه فیلم کیتوزان + بسته‌بندی تحت خلاء بود. این امر نشان‌دهنده اثر مثبت بسته‌بندی تحت خلاء در جلوگیری و به تعویق انداختن فساد فیله ماهی می‌باشد. افزایش تیوباریتوریک اسید در بسته‌بندی معمولی به دلیل وجود اکسیژن در محیط است، بسیاری از آنزیم‌های باکتریایی با اضافه شدن اکسیژن به محیط به اکسیداسیون لیپیدها کمک می‌کنند (Huss, 1995; Hernandez et al., 2009). نتایج مشابهی توسط مطالعه Anlich و همکاران (2001) روی تاثیر بسته‌بندی‌های مختلف بر خصوصیات میکروبیولوژیکی و اسیدهای چرب فیله گربه ماهی آفریقایی (*Clarias batrachus*) گزارش شد. مطالعه Gimenez و همکاران (2002) و Arashisar و همکاران (2004) نیز گویای همین مطلب است. Erkan و همکاران (2007) گزارش کردند که فیله‌های نگهداری شده تحت خلاء کمترین مقدار تیوباریتوریک اسید را دارا بودند. هر دو ویژگی آنتی‌اکسیدانی و مانع‌کنندگی در برابر اکسیژن در کیتوزان ممکن است در کنترل اکسیداسیون چربی دخیل باشد. شلاته کردن یون‌های فلزی دلیل دیگری است که باعث می‌شود کیتوزان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی برای ثابت محتوی لیپید مواد غذایی و افزایش ماندگاری آن‌ها مد نظر باشد (Feng et al., 2004).

#### مقادیر بازهای از ته فرار

بازهای از ته فرار به مجموعه‌ای از ترکیبات مانند آمونیاک، دی‌متیل‌آمین و غیره گفته می‌شود که بر اثر فساد باکتریایی تولید می‌شوند و اغلب مقدار آن‌ها به‌عنوان شاخص شیمیایی برای ارزیابی کیفی و ماندگاری محصولات دریایی به‌کار می‌روند (et al., 2005). (Masniyom). مقدار آن‌ها بسته به گونه ماهی، نوع فرآورده تولیدی و غیره متفاوت است. همانطور که در جدول 2 مشاهده می‌کنیم مقادیر اولیه بازهای از ته فرار طی دوره نگهداری از 17/20 میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم نمونه در تیمار فیلم کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء تا 25 میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم در نمونه شاهد متغیر بود و در روز آخر به 34/40 میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم نمونه در تیمار پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء تا 57/06 میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم در نمونه شاهد رسید. افزایش این شاخص مربوط به فعالیت باکتری‌ها و آنزیم‌های درونی می‌باشد که نتیجه سوخت و ساز باکتریایی اسیدهای آمینه ماهی، تجمع آمونوم، مونو اتیل‌آمین<sup>1</sup>، دی‌متیل‌آمین<sup>2</sup>، تری‌متیل‌آمین و سایر مواد فرار دیگر است و منجر به بد طعمی می‌شوند (Goulas and Kontominas, 2007).

در همه شاخص‌ها بین هیچ کدام از تیمارها در روزهای صفر، 9 و 12 اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). کمترین و بیشترین مقدار امتیاز بافت به ترتیب مربوط به نمونه‌های شاهد (1/64) و پوشش کیتوزان و بسته‌بندی معمولی (2/25) در دوره آخر بود. همچنین شاخص بو نمونه‌های شاهد و پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء کمترین (1/67) و بیشترین (2/42) مقادیر را در روز 12 نشان داد. کمترین و بیشترین مقدار امتیاز طعم را نمونه‌های شاهد و پوشش کیتوزان و بسته‌بندی معمولی داشتند که به ترتیب دارای مقادیر 1/67 و 2/25 بودند. نمونه پوشش کیتوزان + بسته‌بندی تحت خلاء بیشترین امتیاز رنگ و پذیرش کلی را نیز نشان داد.

## نتایج و بحث

### مقادیر تیوباریتوریک اسید

مواد اولیه اکسیداسیون (هیدروپراکسیدها) ناپایدار و مستعد تجزیه می‌باشند. محصولات ثانویه اکسیداسیون شامل آلدهیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، اسیدهای آلی و ترکیبات اپوکسی می‌باشند. مالون آلدهید یک ترکیب جزئی از اسیدهای چرب با سه پیوند دوگانه و یا بیشتر از آن است که در اثر تجزیه اسیدهای چرب چند غیراشباع طی اکسیداسیون چربی تشکیل می‌شود. این ماده معمولاً به‌عنوان شاخصی در ارزیابی روند تغییرات اکسیداسیون چربی استفاده می‌شود (Shahidi and Zhong, 2005). جدول 1 تغییرات این شاخص را طی نگهداری در یخچال نشان می‌دهد. میزان تیوباریتوریک اسید در همه تیمارهای شعری معمولی طی دوره نگهداری روند افزایشی داشت. افزایش مقدار تیوباریتوریک اسید طی نگهداری در یخچال ممکن است ناشی از دهیدروژنه شدن بافت ماهی و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع باشد (Chytiri et al., 2004). پیشنهاد شده که حداکثر میزان قابل قبول تیوباریتوریک اسید برای کیفیت مطلوب ماهی (منجمد، یخچال‌گذاری شده و یا نگهداری شده در یخ) 5 میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم گوشت است در حالی که تا 8 میلی‌گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم گوشت هم قابل مصرف است (Salam, 2007). در نمونه فیلم کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء مقدار تیوباریتوریک اسید تا روز 6 افزایش و از روز 6 به بعد کاهش یافت. این افزایش و کاهش احتمالاً به این دلیل است که شاخص تیوباریتوریک اسید، میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون به‌ویژه آلدهیدها را نشان می‌دهد (Aubourg et al., 2001). مقدار تیوباریتوریک اسید در فیله‌های پوشش‌دار همراه و بدون بسته‌بندی تحت خلاء تا روز 6 افزایش، سپس از روز 6 تا 9 کاهش و در روز آخر نیز افزایش این شاخص را شاهد بودیم که با نتایج جواهری بایلی و همکاران (1390) همخوانی دارد. اگرچه از لحاظ آماری تفاوت

1 Mono Ethylamine

2 Dimethylamine

به واسطه تجزیه هیدروپراکسیدها قابل توجه می‌باشد. به علاوه اسیدهای چرب آزاد در مقایسه با مولکول‌های چربی بزرگتر (یعنی تری‌گلیسرید و فسفولیپید) دارای اندازه مولکولی کوچکتری بوده و سرعت اکسیداسیون آن بیشتر است (Losada et al., 2007). شکل‌گیری اسیدهای چرب آزاد طی نگهداری کوتاه مدت به علت کاتالیز شدن چربی‌ها توسط آنزیم‌های داخلی (عمدتا لیپاز و فسفولیپاز) صورت می‌گیرد (Losada et al., 2007)، البته رشد برخی از باکتری‌های ویژه فساد نیز به دلیل تولید آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز اغلب باعث افزایش اسیدهای چرب آزاد محصولات غذایی می‌شوند (Kykkidou et al., 2009).

در مطالعه Nowzari و همکاران (2013) مقدار اسیدهای چرب آزاد نمونه شاهد به صورت معنی‌داری بیشتر از باقی تیمارها بود ( $p < 0/05$ )، اما بین نمونه‌های فیلم و پوشش کیتوزان و بسته‌بندی معمولی و فیلم و پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ )، دلیل پایین‌تر بودن میزان اسیدهای چرب آزاد در تیمارهای دارای فیلم و پوشش کیتوزان را شاید بتوان به فعالیت شلاته‌کننده با پاره‌ای از فلزات پیوند یافته و لذا کیتوزان به‌عنوان عامل شلاته‌کننده با پاره‌ای از فلزات پیوند یافته و لذا از رشد میکروبی جلوگیری می‌کند، همچنین کیتوزان به‌عنوان بازدارنده فعالیت آنزیم‌های مختلف شناسایی شده است (اجاق، 1389). میزان این شاخص در دوره آخر به ترتیب در نمونه‌های بسته‌بندی شده تحت خلاء، فیلم کیتوزان و بسته‌بندی معمولی، فیلم کیتوزان + بسته‌بندی تحت خلاء و پوشش کیتوزان + بسته‌بندی معمولی به مقادیر 1/84، 3/37، 2/08 و 2/61 درصد اولئیک اسید رسید. در نهایت در بین همه تیمارها، پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء کمترین مقدار اسیدهای چرب آزاد را دارا بود در صورتی که تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

#### مقادیر pH

تغییرات شاخص pH در جدول 4 نمایش داده شده است. مقدار این شاخص از 6/76 در نمونه پوشش کیتوزان و بسته‌بندی معمولی تا 7/21 در نمونه شاهد متغیر بود. طی کل دوره نگهداری در همه نمونه‌ها مقدار pH روند افزایشی را طی نمود. در روز 12 کمترین مقدار pH مربوط به نمونه پوشش کیتوزان + بسته‌بندی تحت خلاء (7/05) و بیشترین مقدار مربوط به نمونه شاهد (8/27) بود. از آنجا که آلودگی باکتریایی در نمونه شاهد بیشتر بوده و متعاقباً منجر به تولید ترکیبات نیتروژنی می‌گردد، نمونه شاهد بالاترین میزان pH را به خود اختصاص داده است. مقدار pH طی دوره نگهداری بین هیچ کدام از نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ( $P > 0/05$ ) ولی به‌طور کلی در بین همه نمونه‌ها، کمترین مقدار pH مربوط به نمونه پوشش

ماهیان دریایی میزان 20-15 میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم گوشت نشان‌دهنده کیفیت مطلوب می‌باشد و میزان 50 میلی‌گرم بر 100 گرم نشان‌دهنده کیفیت پایین می‌باشد (Connell, 1980)، که در این مطالعه میزان بازهای ازته فرار نمونه شاهد در روز 12 از این حد تجاوز نمود. البته بسیاری از محققین حد مجاز بازهای نیتروژنی فرار در فرآورده‌های شیلاتی را برای مصارف انسانی 30-35 میلی‌گرم بر 100 گرم گوشت اعلام نمودند (Conell, 1980). در این مطالعه مقدار بازهای ازته فرار در دوره دوم در همه نمونه‌ها، به‌جز نمونه شاهد و در دوره آخر نمونه پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء کمتر از حد مجاز برای مصارف انسانی بود، همچنین در روز 6 نگهداری، مقدار بازهای ازته فرار نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر از تمامی نمونه‌های پوشش‌دار و دارای فیلم شد ( $p < 0/05$ ). به‌طور کلی در بین همه تیمارها پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء دارای کمترین میزان بازهای ازته فرار بود و تفاوت معنی‌داری را نمونه شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). کاهش مقدار بازهای ازته فرار در نمونه‌های بسته‌بندی شده در خلاء می‌تواند به خاطر کاهش فعالیت و جمعیت باکتری‌ها برای اکسید شدن و برداشتن آمین از ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی به دلیل اکسیژن کمتر یا هر دو باشد (Manju et al., 2007). خصوصیت ضد میکروبی پوشش کیتوزان به دلیل مهاجرت راحت‌تر عوامل ضد میکروبی بهتر از فیلم کیتوزان می‌باشد (Ojagh et al., 2010)، که در این مطالعه نیز نمونه‌های تیمار شده با پوشش کیتوزان نسبت به فیلم نتیجه بهتری را نشان دادند.

#### مقادیر اسیدهای چرب آزاد

افزایش اکسیداسیون چربی، گسترش طعم نامطلوب، تسریع در فساد و کاهش کیفیت محصول و دنا توره شدن پروتئین از نتایج افزایش اسیدهای چرب آزاد در ماهیان نگهداری شده در یخچال است. بر اساس نتایج به‌دست آمده در جدول 3 میزان اسیدهای چرب آزاد در همه تیمارها طی کل دوره نگهداری روند افزایشی داشت. در روز صفر کمترین مقدار مربوط به تیمار فیلم کیتوزان + بسته‌بندی تحت خلاء (0/95 درصد اولئیک اسید) و بیشترین مقدار مربوط به تیمار فیلم کیتوزان + بسته‌بندی معمولی (1/77 درصد اولئیک اسید) بود. افزایش میزان اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌ها سبب ایجاد طعم و بوی نامطلوب می‌شود، زیرا با پروتئین واکنش داده و سبب دنا توره شدن پروتئین و تغییرات بافتی می‌شود. همچنین رابطه بین افزایش مقدار اسیدهای چرب آزاد و کاهش تازگی ماهی گزارش شده است (Ozogul et al., 2005; Roriguez et al., 2006). تشکیل اسیدهای چرب آزاد به تنهایی باعث کاهش ارزش تغذیه‌ای نمی‌شود، با این وجود ارزیابی آن در بررسی فساد ماهی مهم می‌باشد. این امر بر اساس کاتالیزوری گروه کربوکسیل در تشکیل رادیکال‌های آزاد

### آزمون میکروبی نمونه‌های نگهداری شده در یخچال مقادیر باکتری‌های کل

نتایج جدول 6 نشان می‌دهد که به‌طور کلی میزان باکتری‌های کل در تیمارهای مختلف طی دوره نگهداری روند افزایشی داشت، شمارش کلی میکروبی در مراحل اولیه نگهداری فیله ماهی کرومید سبز (*Etroplus suratensis*)  $4/94-6/88 \log_{10} \text{ cfu/g}$  بود که طی 18 روز بسته‌بندی تحت خلاء، شمارش کلی باکتری‌ها روند افزایشی داشت (Manju et al., 2008). علاوه بر این افزایش بار باکتریایی کل در گوشت ماهی در طول نگهداری گزارش شده است (اجاق و همکاران، 1389). میزان این شاخص به مقادیر  $13/24 \log_{10} \text{ cfu/g}$  و  $7/68 \log_{10} \text{ cfu/g}$  به ترتیب در نمونه‌های فیلم کیتوزان + بسته‌بندی تحت خلاء و شاهد در روز 12 رسید. Li و همکاران (2012) در مطالعه تأثیر ترکیب پلی فنول چای و رزماری با پوشش کیتوزان روی ویژگی کیفی ماهی *Pseudosciaena croce* افزایش بار باکتریایی کل در انتهای دوره نگهداری را گزارش کردند. مقدار باکتری‌های کل در مطالعه Erkan و همکاران (2007) و Etemadi و همکاران (2013) در همه نمونه‌ها افزایش یافت. حد مجاز میزان بار باکتریایی کل برای ماهی خام  $7 \log_{10} \text{ cfu/g}$  اعلام شده است (Sallam, 2007)، که در مطالعه حاضر در اغلب نمونه‌ها در 3 دوره آخر از این حد تجاوز نمود. علاوه بر این مقدار باکتری‌های کل در روز 12 در نمونه‌های فیلم و پوششی کیتوزان اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند ( $P > 0/05$ ). نتایج تحقیق Ojagh و همکاران (2010) بیان‌کننده تأثیر ضد میکروبی کیتوزان بود. مکانیسم عمل ضد میکروبی کیتوزان به دلیل واکنش گروه‌های آمین دارای بار مثبت کیتوزان با درشت مولکول‌های دارای بار منفی در سطح سلول میکروبی می‌باشد. اگرچه از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین اغلب نمونه‌ها مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ) ولی به‌طور کلی در دوره آخر در بین همه تیمارها فیلم کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء کمترین میزان بار باکتریایی کل را داشت. در رابطه با خاصیت ضد میکروبی فیلم‌های خوراکی کیتوزان در تحقیقات مختلف نتایج متناقضی گزارش شده است. Ojagh و همکاران (2010) بیان کردند که فیلم خالص کیتوزان در محیط آگار هیچ هاله بازدارندگی نداشته است در حالی که فیلم کیتوزان غنی شده با عصاره دارچین دارای خاصیت ضد میکروبی بود Basiri و همکاران (2013) میزان باکتری‌های مزوفیل کمتری را در نمونه‌های بسته‌بندی شده تحت خلاء نسبت به شاهد گزارش کردند.

### مقادیر باکتری‌های سرما دوست

باکتری‌های سرما دوست گرم منفی مثل سودوموناس‌ها<sup>3</sup>، آلتروموناس‌ها<sup>4</sup>، شوانلاها<sup>5</sup> و فلاوو باکترها<sup>6</sup> گروه میکروارگانیزم‌های

کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء بود. کاهش pH در بسته‌بندی‌های تحت خلاء می‌تواند به دلیل تولید دی‌اکسید کربنی که از بافت صورت می‌گیرد (Ashie et al., 1996) و یا به دلیل ایجاد محیط بی‌هوازی در بسته بندی‌های تحت خلاء باشد.

### مقادیر تری متیل آمین

بر اساس نتایج به‌دست آمده از جدول 5 میزان تری متیل آمین در روز صفر نگهداری از 6/15 میلی‌گرم بر 100 گرم گوشت در نمونه پوشش کیتوزان + بسته‌بندی معمولی تا 7/32 میلی‌گرم بر 100 گرم گوشت در نمونه بسته‌بندی شده تحت خلاء متغیر بود و در روز آخر به مقادیر 7/27 میلی‌گرم بر 100 گرم گوشت و 16/27 میلی‌گرم بر 100 گرم گوشت به ترتیب در نمونه‌های پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء و شاهد رسید. مطالعه Basiri و همکاران (2013) نیز تأثیر ترکیب بسته‌بندی تحت خلاء و عصاره پوست انار بر طول عمر و ویژگی‌های کیفی میگوی پا سفید غربی (*Peneus vannamei*) افزایش مقدار تری متیل آمین را در انتهای دوره نگهداری نشان داد. افزایش مقدار تری متیل آمین طی دوره نگهداری نشان‌دهنده غلظت تری متیل آمین اکساید در عضله ماهی است. تری متیل آمین از تجزیه تری متیل آمین اکساید به‌وجود می‌آید که وابسته به فعالیت‌های آنزیمی و باکتریایی است. در روز 6 نگهداری بین نمونه‌های تیمار شده با فیلم و پوشش کیتوزان اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). نتایج این مطالعه نشان داد که نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم و پوشش کیتوزان تا روز 9 کمتر از محدوده مجاز بود. مقایسه میزان تری متیل آمین بین همه تیمارها نشان داد که نمونه پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء دارای کمترین مقدار تری متیل آمین بود (7/27 میلی‌گرم بر 100 گرم گوشت). مطالعه Mohan و همکاران (2012) نشان داد که پوشش 1% و 2% کیتوزان باعث کاهش میزان تری متیل آمین به اندازه 26/1% و 49% نسبت به نمونه شاهد شد. می‌توان نتیجه گرفت که پوشش کیتوزان با ممانعت از رشد میکروب‌ها باعث تولید کمتر تری متیل آمین می‌شود. کم شدن میزان تری متیل آمین در نمونه‌های بسته بندی شده تحت خلاء احتمالاً به دلیل کم شدن فعالیت آنزیم‌های داخلی یا باکتریایی یا هر دو می‌باشد (Kawai, 1996). کاهش در میزان تری متیل آمین نمونه‌های بسته‌بندی شده در شرایط خلاء در مطالعه Basiri و همکاران (2013) مشاهده شد، همچنین مطالعه Erkan و همکاران (2007) روی ماهی ماکرل بسته‌بندی شده در شرایط خلاء، اتمسفر تغییر یافته و اتمسفر معمولی نیز گویای همین مطلب است.

نگهداری شده در فریزر (18- درجه سانتی‌گراد) نیز حاکی از کیفیت ماندگاری بالاتر نمونه‌های دارای پوشش نسبت به نمونه شاهد در طی سه ماه نگهداری بود، که ممکن است به دلیل ویژگی‌های عملکردی کیتوزان نظیر فعالیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضد اکسیژنی باشد (Fan et al., 2009). مشابه با این نتایج گزارش شده که کیتوزان باعث افزایش طول عمر و بهبود ویژگی‌های کیفی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) و کپور شد که با نتایج میکروبی و حسی منطبق بود (Fan et al., 2009; Ojagh et al., 2010). Fan و همکاران (2009) گزارش کردند که نمونه‌های با پوشش کیتوزان امتیاز حسی بهتری نسبت به سایر نمونه‌ها نشان دادند. مقدار بالاتر امتیاز حسی در نمونه‌های تیمار شده با عصاره پوست انار و بسته‌بندی شده تحت خلاء به دلیل مقدار کمتر باکتری‌ها می‌باشد (Basiri et al., 2013). میانگین ارزیابی حسی در برگ‌های بدون پوشش ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) برای نمونه‌های شاهد و بسته‌بندی شده تحت خلاء به ترتیب به مقادیر 4/75 و 5/19 رسید (دقیق روحی و همکاران، 1391). Rajesh و همکاران (2002) نیز گزارش کردند که بهترین امتیاز حسی برای نمونه شاهد در روز 31 و برای نمونه بسته‌بندی شده در شرایط خلاء در روز 34 بود. می‌توان نتیجه گرفت که بسته‌بندی تحت خلاء نسبت به بسته‌بندی معمولی در حفظ کیفیت و خواص حسی ارجحیت دارد.

### نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر تمایل به استفاده از بیوپلیمرهای زیست تخریب‌پذیر در تولید مواد بسته‌بندی، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. از جمله این مواد زیست تخریب‌پذیر کیتوزان می‌باشد که به دلیل دارا بودن ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی بالا به صورت فیلم و پوشش‌های خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین انواع روش‌های بسته‌بندی به حفظ کیفیت ماهی و سایر فرآورده‌های دریایی کمک می‌کند. به همین جهت در مطالعه حاضر به تاثیر ترکیبی فیلم و پوشش کیتوزان همراه با بسته‌بندی تحت خلاء در نگهداری ماهی شعری معمولی (*Lethrinus nebulosus*) پرداخته شد. بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، پوشش و فیلم کیتوزان همراه و بدون بسته‌بندی تحت خلاء قادر به کنترل اسیدهای چرب آزاد، تری متیل آمین، تیوباربتوریک اسید، بازهای ازته فرار، باکتری‌های کل، سرما دوست و pH شد. ویژگی‌های حسی و شاخص رنگ نیز در نمونه‌های تیمار شده با فیلم و پوشش کیتوزان بهبود یافت. به طور کلی نتیجه تحقیق حاضر استفاده از فیلم و پوشش‌های خوراکی به ویژه فیلم و پوشش‌های تهیه شده از کیتوزان را توصیه می‌کند. تکنولوژی بسته‌بندی تحت خلاء نیز می‌تواند به عنوان یک

عامل فساد ماهی و فرآورده‌های آن در شرایط نگهداری هواری در دماهای سرد می‌باشد (Chytiri et al., 2004; Salam, 2007). بر اساس نتایج جدول 7، میزان باکتری‌های سرما دوست در کل دوره نگهداری در همه تیمارها روند افزایشی را طی نمود. در دوره اول میزان این شاخص از  $3/56 \log_{10} \text{ cfu/g}$  در نمونه فیلم کیتوزان + بسته‌بندی تحت خلاء تا  $3/93 \log_{10} \text{ cfu/g}$  در نمونه شاهد متغیر بود و در روز آخر به مقادیر  $6/25 \log_{10} \text{ cfu/g}$  و  $8/70 \log_{10} \text{ cfu/g}$  به ترتیب در نمونه‌های پوشش کیتوزان و بسته‌بندی تحت خلاء و شاهد رسید. محدوده فساد باکتری‌های سرما دوست در فرآورده‌هایی چون فیله ماهی  $10^6 - 10^7 \log_{10} \text{ cfu/g}$  است (Erkan et al., 2006) که در روز آخر در نمونه شاهد و بسته‌بندی شده تحت خلاء بالاتر از این حد مشاهده شد. میزان باکتری‌های سرما دوست در روزهای 9 و 12 در نمونه‌های تیمار شده با فیلم و پوشش کیتوزان اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند ( $P > 0/05$ ). مکانیسم عمل کیتوزان می‌تواند به صورت خراشیدن لایه لیپولی ساکاریدی غشای خارجی باکتری و یا عملکرد آن به عنوان سد در مقابل نفوذ اکسیژن باشد (Jeon et al., 2002). با وجود عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها ( $P > 0/05$ ) ولی در مجموع در بین همه نمونه‌ها، نمونه پوشش کیتوزان + بسته‌بندی تحت خلاء دارای کمترین مقدار باکتری‌های سرمادوست بود. در تحقیقات مختلفی به خواص ضدباکتریایی پوشش‌های کیتوزانی اشاره شده است (Jeon et al., 2002). Jeon و همکاران (2002) گزارش نمودند که تعداد باکتری‌های سرما دوست در ماهی کاد (*Gadus morhua*) پوشش داده شده با کیتوزان کمتر از  $6 \log_{10} \text{ cfu/g}$  در کل دوره نگهداری (12 روز) بود.

### آزمون حسی نمونه‌های پخته

همان‌طور که گفته شد حد نهایی مطلوبیت برای نمونه‌های ماهی جهت مصرف انسانی تا امتیاز 4 در نظر گرفته شد (Ojagh et al., 2010). کلیه شاخص‌های حسی نمونه‌های پخته شده با گذشت زمان نگهداری کاهش یافت و در روزهای 9 و 12 به درجه عدم مقبولیت رسید. جدول 8 تغییرات این شاخص را طی دوره نگهداری نشان می‌دهد. در شاخص‌های بافت، بو، طعم و پذیرش کلی نمونه‌های تیمار شده با فیلم و پوشش کیتوزان در روزهای 9 و 12 اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). یافته‌های اجاق و همکاران (1389) در مورد فیله‌های قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) دارای پوشش کیتوزان و عصاره دارچین

- 2 *Alteromonas*
- 3 *Shewanella*
- 4 *Flavobacter*

ماهی و سایر فرآورده های دریایی عمل کند.

روش موثر جهت کنترل شاخص‌های اکسیداسیونی و افزایش کیفیت

## منابع

- اجاق، س. م.، رضایی، م.، رضوی، س. ه و حسینی، س. م. ه. 1389. اثر پوشش های آنتی میکروبی در افزایش ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه علوم و صنایع غذایی، 34
- تاج‌الدین، ب. (1380). بسته‌بندی مواد غذایی با اتمسفر تغییر یافته (ترجمه). سازمان تحقیقات، آموزش و کشاورزی، تهران، 401 صفحه.
- جواهری بابل، م.، ولایت زاده، م.، جاگیر، م و پاشای، ا. 1394. تأثیر بسته‌بندی تحت خلاء بر کیفیت و ماندگاری فیله ماهی فیتوفاگ طی دوره نگهداری در دمای یخچال (*Hypophthalmichthys molitrix*). بهداشت مواد غذایی، 1.
- Anelich, L. E., Hoffman, L.C., and Swanpoel, M.J. 2001. The influence of packaging methodology on the microbiological and fatty acid profiles of refrigerated African catfish fillets. *Journal of Applied Microbiology*. 91: 22-28.
- AOAC. 1995. Association of Official Analytical Chemists 15th (ed). Washington DC, Chapter, 35: 7-9.
- Arashisar, S., Hisar, O., Kaya, M., and 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: 209–214.
- Ashie, I. N. A., Smith, J. P., and Simpson B. K. 1996. Spoilage and shelf life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 36: 87-121.
- Aubourg, S. 2001. Fluorescence study of the oxidant activity of free fatty acids on marine lipids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 81: 385-390.
- Basiri, S., Shekarforoush, S. S., Aminlari, M., Abhari, Kh., and Berizi, E. 2013. Influence of combined vacuum packaging and pomegranate peel extract on shelf life and overall quality of pacific white shrimp (*Peneus vannamei*) during refrigerated storage. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 15: 23-29.
- Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I. N., and Kontominas, M. G. 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology*. 21: 157-165.
- Connell, J.J. 1980. Marinades. Control of Fish Quality, Scotland: Torry Research Station Aberdeen, 102-105.
- Egan, H., Krik, R. S., and Sawyer, R. 1997. Pearson's chemical Analysis of food. 9<sup>th</sup>. pp: 609-634.
- Erkan, N., Ozden, O., and Inugur, M. 2007. The effects of modified atmosphere and vacuum packaging on quality of chub mackerel. *International Journal of Food Science and Technology*. 42: 1297-1304.
- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., and Chi, Y. 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*. 115: 66-70.
- Feng, F., Liu, Y., Tian, F., Zhao, B., and Hu, K. 2004. Advances in researches on chitosan materials in bone repair. *Materials Review*. 18: 65-68.
- Goulas, A. E., and Kontominas, M. G. 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*). Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*. 93: 511–520.
- Goulas, A.E., and Kontominas, M. G. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*) Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*. 100: 287-296.
- Hernandez, M. D., Lopez, M. B., Alvarez, A., Ferrandini, E., GarciaGarcia B., and Garrido, M. D. 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. 54: 223-227.
- Huss, H.H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish. In FAO Fisheries Technical, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 202 p.
- Jeon, Y. J., Kamil, J. Y. V. A., and Shahidi, F. 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 5167-5178.
- Kachele, R., Zhang, M., Gao, Z., and Adhikari, B. 2017. Effect of vacuum packaging on the shelf-life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets stored at 4 °C. *LWT-Food Science and Technology*. 80: 163-168.
- Kawai, T. 1996. Fish flavour. The Critical Review. *Food science and Nutrition*. 36: 257-298.
- Kykkidou, S., Giatrakou, V., Papavergou, A., Kontominas, M. G., and Savvaidis, I. N. 2009. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4°C. *Food Chemistry*. 115: 169-175.
- Li, T., Hu, W., Li, J., Zhang, X., Zhu, J., and Li, X. 2012. Coating effects of tea polyphenol and rosemary extract combined with chitosan on the storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Food Control*. 25: 101-106.
- Losada, V. Barros-Velazquez, J., and Aubourg, S.P. 2007. Rancidity development in frozen pelagic fish: Influence of slurry ice as preliminary chilling treatment. *LWT- Food Science and Technology*. 40: 991–999.



- Manju, S., Jose, L., Srinivasa Gopal, T. K., Ravishankar, C. N., and Lalitha, K.V. 2007. Effects of sodium acetate dip treatment and vacuum-packaging on chemical, microbiological, textural and sensory changes of Pearls spot (*Etroplus suratensis*) during chill storage. *Journal of Food Chemistry*. 102: 27-35.
- Masniyom, P., Soottawat, B., and Visessanguan, W. 2005. Combination effect of phosphate and modified atmosphere on quality and shelf-life extension of refrigerated seabass slices. *Journal of Food Science and Technology*. 38: 745-756.
- Mastromatteo, M., Danza, A., Conte, A., Muratore, G., and Nobile, M.A.D. 2010. Shelf-life of ready to use peeled shrimps as affected by thymol essential oil and modified atmosphere packaging. *International Journal of Food Microbiology*. 144: 250-256.
- McMeekin, T.A., Olley, J. N., Roos, T., and Ratkowsky, D.A. Predictive microbiology theory and application. Resaerch Studies Press Taunton, Specified Spoilage level, 1993: 199-200.
- Mendes, R., and Goncalvez, A., 2008. Effect of soluble CO<sub>2</sub> stabilisation and vacuum packaging in the shelf life of farmed sea bream and sea bass fillets. *Journal of Food Science and Technology*. 43: 1678-1687.
- Mohan, C. O., Ravishankar, C. N., Lalitha, K. V., and Srinivasa Gopal, T.K. 2012. Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. *Food Hydrocolloids*. 26 (1): 167-174.
- Nowzari, F., Shábanpour, B., and 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. H. and Hosseini, S. M. H., 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*. 120: 193-198.
- Ozogul, Y., Ozyurt, G., Ozogul, F., kuley, E., and Polat, A. 2005. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. *Food Chemistry*. 92: 745-751.
- Pearson, D., 1976. The chemical analysis of food (7th ed). London Churchill living stone Publishing. E. U. Essien-Udom, 1995p.
- Perez-Alonso, F., Aubourg, S. P., Rodriguez O., and Barros-Velazquez, J. 2004, Shelf life extension of Atlantic pomfret (*Brama brama*) fillets by packaging under a vacuum skin system. *Journal of Food Research Technological*. 218: 313-317.
- Rajesh, R., Ravi Shankar, C. N., Srinivasa Gopal, T. K., and Varma, P. R. G. 2002. Effect of vaccum packaging and sodium acetate on the shelf life of Seer fish during iced storage. *Journal of Packaging Technology and Science*. 15: 241-245.
- Rodríguez, O., Barros-Velaázquez, J., Pindeiro, C., Gallardo, J. M., and Aubourg, S.P. 2006. Effects of storage in slurry ice on the microbial, chemical and sensory quality and on the shelf life of farmed turbot (*Psetta maxima*). *Food Chemistry*. 95: 270–278.
- Sallam, K.I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*. 18: 566-575.
- Shahidi, F., and Zhong, Y. 2005. Lipid oxidation: measurement methods (Memorial university of New foundland, Canada, 357-385.
- Stamatis, N., and Arkoudelos, J. S. 2007. Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on microbial, chemical and sensory quality indicators of fresh, filleted *Sardina pilchardus* at 3 °C. *Journal of Food Science and Agriculture*. 87: 1164-1171.
- Woywoda, A.D, Shaw, S. J., Ke, P. J., and Burns, B.G. 1986. Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. Canadian technical report of fisheries and aquatic sciences, 1448 p.
- Yu, D., Regenstein, J.M., Zang, J., Jiang, Q., Xia, W., and Xu, Y. 2018. Inhibition of microbial spoilage of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets with a chitosan-based coating during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*. 285: 61-68.





## The effect of film and coating of chitosan with vacuum packaging on quality characteristics of Spangled emperor (*Lethrinus nebulosus*) fillets stored at 4 °C

M. Karimi Rezaabad<sup>1</sup>, A. Khodanazary<sup>1\*</sup>, S. M. Hosseini<sup>1</sup>

Received: 2018.11.14

Accepted: 2019.04.29

**Introduction:** The Spangled emperor (*Lethrinus nebulosus*) is one of the valued fish species in Persian Gulf, which due to its high nutritional quality and excellent sensory properties, is preferred by the customers in the south of Iran. Because this species is consumed domestically, it is very important to extend its shelf life, which is normally quite limited when kept refrigerated. Vacuum packaging (VP) is one of the methods of the natural preservation in order to delay the degradation and maintain the quality of the products longer. VP is widely used as a supplement to ice or refrigeration to decrease the supply of oxygen to the aerobic bacteria in the flesh to extend the shelf life of product. Chitosan have been used in seafood products to inhibit the growth of bacteria in stored fish in refrigerator and retarded the oxidation of unsaturated fatty acids in fish muscle before vacuum packaging. Chitosan, a linear polysaccharide of randomly distributed  $\beta$ -(1-4)-linked D-glucosamine and N-acetyl-D-glucosamine, is a biocompatible polysaccharide obtained from deacetylation of chitin. Edible coating is a thin layer of edible material formed as a coating on a food, while an edible film is a preformed thin layer which once formed can be placed on or between food components. In food industry, chitosan coatings have been used successfully because of some advantages such as edibility, biodegradability, aesthetic appearance and barrier properties, being nontoxic and non-polluting, as well as carrier of foods additives (i.e.: antioxidants, antimicrobials). Therefore, these coatings can retain quality of raw, frozen and processed foods including fish items by preventing bacterial growth and delaying lipid oxidation.

**Materials and methods:** *Lethrinus nebulosus* with an average weight of 500 g was caught with gill net in the Persian Gulf, Khorramshahr, Iran in July 2016. Fish samples were placed in crushed ice with a fish/ ice ratio 1:3 (w/w) and transported to the fish processing laboratory with 2-3 h after catch. They were washed with tap water and two fillets were obtained from each fish after removing the head and gutted. Chitosan solution was prepared with 1% (w/v) chitosan (Sigma Chemical Co., medium molecular weight, viscosity 200-800 cP) in 1% v/v acetic acid. To achieve complete dispersion of chitosan, the solution was stirred at room temperature to dissolve completely. Glycerol was added at 0.75 ml/g concentration as a plasticizer and stirred for 10 min. All films were obtained by casting 100 ml film forming solution on a nonstick surface (16\*27cm), dried at ambient temperature (20°C) until a firm surface but still with adhesive properties was obtained. After evaporation the films were peeled off from the plates. Fillet samples were randomly assigned into four treatment lots consisting of: one control lot (un-coated), second lots packaged with VP, third lots wrapped with films prior to VP, fourth lots immersed for 30 s in chitosan solution. Then the fish fillets were removed and allowed to drain for 2 h at ambient temperature (20°C) in order to form the edible coating. All samples were stored at 4±1°C for 12 days. Chemical, microbiological and sensorial analyses were performed at 3-day intervals to determine the overall quality of fish.

**Results and discussion:** Combination of vacuum packaging and chitosan treated samples effectively retarded the TVB-N and TMA values and inhibited the growth of total viable count and psychrophilic count bacteria during refrigerated storage. Therefore, to extend the shelf life and delay the deterioration of fresh Spangled emperor fillets during refrigerated storage, chitosan coating prior to vacuum packaging is more appropriate. These coatings and films also showed antioxidant effects, since TBA and FFA values was lower than control samples at the end of the storage. There was no significant difference between coating and film in reducing TBA of fillets and bacterial contamination. Therefore, chitosan coating and film prior to vacuum packaging provides a type of active packaging that can be utilized as a safe preservative for fish under refrigerated storage.

**Keywords:** Spangled emperor, Vacuum packaging, Chitosan, Coating, Film, Shelf life.

1. Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology.

\*(Corresponding author Email: khodanazary@yahoo.com)