

تأثیر پوشش و فیلم مخلوط خوراکی کیتوزان - ژلاتین بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی ماهی شوریده بلانگر نگهداری شده در یخچال

جواهر ساکی¹، آناز خدانظری^{2*}، سیدمه‌دی حسینی²

1- دانشجوی کارشناسی ارشد شیلات گرایش فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران

2- استادیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ایران

* نویسنده مسئول (khodanazary@yahoo.com)

تاریخ دریافت: 1395/04/03

تاریخ پذیرش: 1395/10/24

چکیده

واژه‌های کلیدی

پوشش

دولایه

ژلاتین

فیلم

کیتوزان

قابلیت تشکیل فیلم و خواص حفاظتی ژلاتین و کیتوزان موجب شده که به‌عنوان پوشش‌ها و فیلم‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار بگیرند. در مطالعه حاضر، اثر فیلم (مخلوط و دولایه) و پوشش (مخلوط و دولایه) تهیه شده از کیتوزان (1 درصد وزنی/حجمی) و ژلاتین (3 درصد وزنی/حجمی) در نگهداری فیله شوریده بلانگر (*Johnius belangerii*) در دمای 4 درجه سانتی‌گراد یخچال (1±4 درجه سانتی‌گراد) به مدت 16 روز مورد بررسی قرار گرفت. آزمون‌های میکروبی (بارمیکروبی کل، سرمادوست و انتروباکتریاسه) بیانگر تأثیر ضد میکروبی پوشش‌ها و فیلم‌های کیتوزان-ژلاتین بود اما بین خاصیت ضد میکروبی فیلم و پوشش و همچنین بین انواع مخلوط و دولایه هر یک تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. آزمون‌های شاخص اکسیداسیون چربی (تیوباربی‌توریک اسید، اسید چرب آزاد) نیز حاکی از کمتر بودن میزان اکسیداسیون در نمونه‌های دارای فیلم و پوشش کیتوزان-ژلاتین نسبت به نمونه شاهد (فیله فاقد پوشش و فیلم) بود. علاوه بر این، در آزمون حسی (فیله‌های خام) مشاهده شد که فیلم‌ها و پوشش‌های به‌کاررفته 4 روز بر ماندگاری فیله‌های نگهداری شده در یخچال افزود. بدین ترتیب اعمال کیتوزان-ژلاتین به‌عنوان پوشش و فیلم خوراکی (مخلوط و دولایه) منجر به افزایش عمر ماندگاری فیله (*Johnius belangerii*) در شرایط یخچال شد.

مقدمه

پیشرفت‌های چشمگیری در زمینه بسته‌بندی و با هدف بهبود خواص فیزیکی، شیمیایی و ارگانولپتیک محصولات غذایی صورت گرفته است (مرادی و همکاران 1389). امروزه در بسته‌بندی مواد غذایی، فیلم و پوشش‌های خوراکی در بسیاری موارد به‌طور کامل جایگزین فیلم‌های پلیمری سنتزی یا ترموپلاستیک² شده‌اند. از آن جمله می‌توان به استفاده

ماهی شوریده بلانگر¹ از ماهیان دریایی پرطرفدار در جنوب کشور است (Jaafarzadeh Haghighi Fard et al., 2015) که منبع غنی مواد مغذی از جمله اسیدچرب امگا-3، پروتئین، مواد معدنی و ویتامین می‌باشد که به‌صورت تازه، منجمد و یا فیله منجمد به‌دست مصرف‌کنندگان می‌رسد. در سالهای اخیر

² Thermoplastic

¹ *Johnius belangerii*

کیتین به دست می‌آید. اهمیت کیتوزان از جهت خاصیت ضد میکروبی قوی، تولید فیلم خوب و اندکی خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (López- Caballero *et al.*, 2005). در همین راستا تحقیق‌های قابل توجهی در توسعه و کاربرد بیوپلیمرهای استخراج شده از فراورده‌های طبیعی مختلف انجام گرفته است و بیوپلیمرهایی از قبیل نشاسته، مشتقات سلولز، کیتین، کیتوزان، صمغ‌ها، پروتئین‌ها (با منشاء حیوانی یا گیاهی) و چربی‌ها، جهت تهیه فیلم‌ها و پوشش‌های نازک برای پوشاندن غذاهای تازه و یا پروسس شده مورد استفاده قرار می‌گیرند. این تکنولوژی علاوه بر داشتن فوایدی مانند قابلیت خوردن، ساختمان ظاهری زیبا، سازگاری با محیط، غیرسمی و ارزان بودن، مواد غذایی را از آسیب‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی حفظ می‌کند. با توجه به تقاضای مصرف‌کنندگان جهت استفاده از مواد خوراکی با کیفیت بالا و نگرانی آنها به دلیل مشکلات ناشی از مصرف نگهدارنده‌های مصنوعی، ایده استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های زیست‌کافت با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بالا به عنوان جایگزینی مناسب قوت گرفته است. لذا این مطالعه با هدف تعیین تأثیر استفاده از پوشش و فیلم مخلوط کیتوزان-ژلاتین بر کیفیت و ماندگاری فیله سرد ماهی شوریده بلانگر انجام گردید.

مواد و روش‌ها

تهیه محلول کیتوزان

محلول کیتوزان با حل کردن 1 درصد وزنی/حجمی کیتوزان (شرکت سیگما، وزن ملکولی متوسط، ویسکوزیته 200-800 cp) در اسیداستیک 1 درصد حجمی/حجمی به دست آمد (Ojagh *et al.*, 2010). برای حل شدن بهتر کیتوزان، محلول به مدت 3 ساعت در دمای اتاق با هم‌زن مغناطیسی هم‌زده شدند.

تهیه محلول ژلاتین

ژلاتین پوست ماهیان سردابی (شرکت سیگما) به میزان 3 درصد وزنی/حجمی در آب مقطر حل شد. به منظور تورم² و انحلال بهتر ابتدا در دمای 7 درجه

از انواع این پوشش‌ها و فیلم‌ها بر سطح فراورده‌های غذایی نظیر فراورده‌های قنادی، میوه‌ها و سبزی‌های تازه، برخی فراورده‌های گوشتی، طیور و ماهی، فراورده‌های منجمد، خشک شده و خشک شده¹ انجمادی¹ و نظیر اینها اشاره داشت (مرتضویان و همکاران، 1389). یکی از راه‌های افزایش ماندگاری مواد غذایی طی دوره نگهداری در سرما، استفاده از لایه‌های محافظتی از مواد طبیعی یا شیمیایی می‌باشد. پوشش‌های خوراکی لایه‌ای نازک از مواد قابل خوردن است که به شکل مایع بوده و با غوطه‌ور کردن محصول مورد نظر به صورت یک پوشش روی آن قرار می‌گیرد. فیلم‌های خوراکی یک لایه نازک از مواد خوردنی است که در مرحله‌ای جداگانه به صورت ورقه‌های جامد ساخته شده سپس به شکل لفافی دور غذا پیچیده می‌شوند (Falguera *et al.*, 2011). مهم‌ترین مواد مورد استفاده در تهیه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی، پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و چربی‌ها می‌باشند که می‌توانند به صورت تک‌لایه از یک یا چند ماده و نیز به صورت چندلایه تهیه شوند (Rivero *et al.*, 2009). کیتوزان و ژلاتین به دلیل تشکیل لایه‌هایی با ویژگی مکانیکی مناسب و مقاوم در برابر نفوذ هوا مورد توجه بسیاری در این زمینه قرار گرفته‌اند (Pereda *et al.*, 2011). پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی در مقایسه با انواع سنتزی از نقطه نظر حسی و کاری، دارای سازگاری بیشتر با غذا هستند. این فیلم‌ها باید به نحوی طراحی شوند که طی نگهداری و حمل و نقل سالم بمانند، اما طی فرایند مصرف نظیر پخت یا جویدن و پاشیده شوند (مرتضویان و همکاران، 1389). ژلاتین، پروتئینی است که از هیدرولیز کنترل شده کلاژن به دست می‌آید (Arvanitoyannis *et al.*, 1998). ژلاتین فیلم‌هایی با ویژگی مکانیکی مناسب و حفاظت خوب در برابر اکسیژن و بو در رطوبت نسبی کم و متوسط ایجاد می‌کند (Martucci & Ruseckaite, 2010). اما به دلیل آب دوست بودن، نسبت به رطوبت نفوذپذیر است. از راه‌های غلبه بر این محدودیت می‌توان ترکیب کردن آن با سایر پلیمرها و تهیه فیلم چندلایه نام برد (Rivero *et al.*, 2009). کیتوزان، پلی‌ساکاریدی است که از استیل‌زدایی

² Swelling

¹ Freeze-dried

(*et al.*, 2010). فیلم‌ها پس از خشک‌شدن از قالب جدا شده و به دور فیله‌ها پیچانده شدند. فیلم‌های دولایه همگی از سمت کیتوزان به دور فیله‌ها قرار گرفتند.

آماده‌سازی نمونه‌های ماهی

ماهی شوریده بلانگر به‌صورت تازه از بازارچه ماهی شهرستان خرمشهر خریداری و به آزمایشگاه فراوری گروه شیلات دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انتقال داده شدند. ماهیان سر زده و استخوان‌گیری شده و از هر یک دو فیله با وزن متوسط 100-120 گرم تهیه شدند. 5 تیمار فیله شامل نمونه شاهد، پوشش مخلوط، پوشش دولایه، فیلم مخلوط و فیلم دولایه پس از آماده‌سازی در کیسه‌های زیپ‌دار پلی‌اتیلنی بسته‌بندی شدند. فیله‌های آماده‌شده به مدت 16 روز در یخچال (دمای 4 ± 1 درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند و در فواصل زمانی 4 روز یک‌بار مورد ارزیابی میکروبی (بارمیکروبی کل¹، بارمیکروبی سرمادوست² و انتروباکتریاسه)، شیمیایی (بازهای از ته فرار، تیوباربیئوریک اسید، اسیدهای چرب آزاد³ و pH) و حسی فیله خام قرار گرفتند.

آزمون میکروبی نمونه‌ها

بارمیکروبی نمونه‌ها با هموژن کردن 10 گرم نمونه در 90 میلی‌لیتر محلول 0/9 درصد کلرید سدیم در شرایط استریل آغاز شد. از این محلول جهت تهیه رقت‌های متوالی استفاده شد. کشت میکروبی مورد نظر با ریختن میزان مشخصی از نسبت‌های به‌دست‌آمده در پلیت‌های یک‌بارمصرف استریل و ریختن محیط کشت نوترینت آگار⁴ بر آن صورت گرفت. برای شمارش کلنی‌های میکروبی کل پلیت‌های تهیه‌شده به مدت 2 روز در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و برای باکتری‌های سرمادوست به مدت 7 روز در 10 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. شمارش کلنی‌ها بر مبنای \log_{10} cfu/g بیان گردید (Sallam, 2007).

سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه قرار داده سپس به مدت 30 دقیقه در دمای 55 درجه سانتی‌گراد حرارت داده و با هم‌زن مغناطیسی هم‌زده شدند (López-Caballero *et al.*, 2005).

پوشش‌دهی نمونه‌ها

به‌منظور نرم‌شدن و انعطاف‌پذیرترشدن پوشش‌ها، 0/75 درصد (حجمی/حجمی) گلیسرول به‌عنوان نرم‌کننده به محلول اضافه و به مدت 10 دقیقه هم‌زده می‌شود. پوشش‌دهی نمونه‌ها به دو صورت مخلوط و دولایه صورت می‌گیرد. برای ایجاد پوشش مخلوط، ابتدا محلول کیتوزان و محلول ژلاتین به نسبت 40 به 60 ترکیب شدند. فیله‌های ماهی مورد نظر به مدت 15 دقیقه در محلول کیتوزان-ژلاتین غوطه‌ور شدند، سپس 2 دقیقه از محلول خارج و مجدداً 15 دقیقه در محلول غوطه‌ور شدند. پس از آن به مدت 2 ساعت در دمای محیط (20 درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند تا خشک‌شده و پوشش به دور فیله‌ها شکل بگیرد (Nowzari *et al.*, 2013). برای پوشش دولایه در 15 دقیقه نخست فقط در محلول کیتوزان، 2 دقیقه خارج و در 15 دقیقه دوم در محلول ژلاتین غوطه‌ور شدند و 2 ساعت در دمای اتاق (20 درجه سانتی‌گراد) قرار داده تا پوشش روی فیله‌ها تشکیل شود.

تهیه فیلم‌های کیتوزان-ژلاتین

فیلم‌ها نیز به دو صورت مخلوط و دولایه تهیه شدند. فیلم دولایه با دو مرحله قالب‌ریزی در قالب‌های طلقی نجسب (16×27 سانتی‌متر) تهیه شد. بدین ترتیب که ابتدا 60 میلی‌لیتر محلول ژلاتین در قالب ریخته و در دمای 20 درجه سانتی‌گراد اتاق قرار داده شد هنگامی که لایه ژلاتین تقریباً خشک شده 40 میلی‌لیتر محلول کیتوزان بر آن ریخته و مجدداً در همان دما خشک شد (Nowzari *et al.*, 2013). برای تهیه فیلم مخلوط 100 میلی‌لیتر محلول کیتوزان-ژلاتین که با نسبت 40 به 60 مخلوط شده بودند در قالب‌های مورد نظر ریخته و در دمای 20 درجه سانتی‌گراد محیط خشک گردید. به‌منظور نرم‌شدن و انعطاف‌پذیرترشدن فیلم‌ها 0/75 درصد (حجمی/حجمی) گلیسرول نیز به محلول اضافه و به مدت 10 دقیقه هم‌زده شد. (Ojagh

¹ Total bacterial count

² Psychrophilic bacterial count

³ Free Fatty Acids (FFA)

⁴ Nutrient Agar

رابطه (2)

$$Ab_{538} = 7/8 \text{ TBA}_{\text{value}}$$

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

اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد (FFA)

میزان شاخص اسیدهای چرب آزاد با استفاده از روش Woyewoda و همکاران (1986) اندازه‌گیری شد. در این روش از 10 گرم نمونه ماهی هموژن شده با کمک کلروفرم/متانول استخراج روغن صورت گرفت. در ادامه به محلول باقی‌مانده کلروفرم، متانول و 2-پروپانول به نسبت 2:1:2 به همراه معرف متاکروزول ارغوانی (جهت تهیه معرف به همراه پودر معرف متاکروزول، سود 0/05 نرمال و آبمقطر اضافه شد.) اضافه شد. تیتراسیون گروه‌های کربوکسیلیک آزاد موجود در آن با سود 0/05 نرمال تا تغییر رنگ از زرد به ارغوانی ادامه یافت. بدین ترتیب طبق رابطه (3) میزان اسیدهای چرب آزاد به صورت درصد اولئیک‌اسید¹ بیان شد.

رابطه (3)

$$FFA = \frac{N \times (V_2 - V_1) \times 2.82}{W}$$

N = میزان نرمالیت سود

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

W = وزن چربی (گرم)

ارزیابی حسی

ارزیابی نمونه‌ها توسط 10 نفر گروه پانل ارزیاب آموزش‌دیده در گروه‌های سنی 25 تا 27 سال انجام شد. بافت، طعم، بو، رنگ و پذیرش کلی نمونه‌ها با مقیاس هدونیک² (با اندکی تغییر) با اصطلاحات توصیفی زیر رتبه‌بندی شدند: بافت (5، دارای انسجام ماهی تازه، 1، خمیری)، رنگ (5، بدون تغییر رنگ، 1، کاملاً رنگ‌پریده)، طعم (5، مطلوب، 1، کاملاً نامطلوب)، بو (5، مطبوع، 1، کاملاً نامطبوع)، پذیرش کلی (5، خیلی خوب، 1، خیلی بد) (Ojagh et al., 2010).

اندازه‌گیری بازهای ازته فرار (TVB-N)

اندازه‌گیری بازهای ازته فرار به روش کلدال و با تیتراسیون عصاره به دست آمده از آن انجام گرفت. بدین منظور 10 گرم نمونه به همراه 2 گرم اکسید منیزیم با افزودن 500 میلی‌لیتر آبمقطر به بالن کلدال متصل شد و عصاره مورد نظر به محلول متشکل از اسیدبوریک 2 درصد و 1-2 قطره متیل‌رد به عنوان شاخص وارد شد. محلول زرد رنگ حاصله با اسیدسولفوریک تا حاصل شدن رنگ ارغوانی تیترا شد و به صورت میلی‌گرم نیتروژن در 100 گرم نمونه ماهی بیان شد (Goulas & Kontomnas, 2005). میزان بازهای ازته فرار از رابطه (1) محاسبه گردید.

رابطه (1)

حجم اسیدسولفوریک مصرفی $\times 14$ = بازهای ازته فرار

اندازه‌گیری pH

بدین منظور 5 گرم از نمونه به مدت 1 دقیقه با 45 میلی‌لیتر آبمقطر همگن شده و میزان pH آن با دستگاه pHسنج (Metrohm) ساخت کشور سوئیس اندازه‌گیری شد (Suvanich et al., 2000).

اندازه‌گیری تیوباربتوریک‌اسید (TBA)

شاخص تیوباربتوریک‌اسید طبق روش Siripatrawan و Noipha (2000) اندازه‌گیری می‌شود. بدین صورت که دستگاه تقطیر با افزودن 10 گرم نمونه ماهی هموژن شده با 97/5 میلی‌لیتر آبمقطر و 2/5 میلی‌لیتر اسیدکلریدریک 4 نرمال به همراه چند قطره ضدکف و سنگ‌جوش در ارلن راه‌اندازی شد. 5 میلی‌لیتر از مایع حاصل از تقطیر این مخلوط را به 4 میلی‌لیتر معرف تیوباربتوریک‌اسید (برای تهیه معرف از مخلوط معرف تیوباربتوریک‌اسید با اسیداستیک گلاسیال محلول یکنواختی ایجاد می‌کنند.) افزوده و در حمام بن‌ماری 35 دقیقه قرار می‌گیرد. سپس میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج 538 نانومتر اندازه‌گیری شد. طبق رابطه (2) میزان تیوباربتوریک‌اسید به دست آمد. میزان تیوباربتوریک‌اسید به صورت میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه بیان شد.

¹ Oleic acid

² Hedonic

آنالیز آماری

تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با آزمون واریانس یک‌طرفه¹ بررسی شده و نتایج به‌صورت میانگین \pm خطای معیار بیان شد. 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

در جدول (1) تغییرات بار میکروبی کل تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود. میزان این شاخص در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. در نمونه شاهد میزان آن از $1/37 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $9/33 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز 16 افزایش یافت. در آغاز دوره نگهداری میزان بار میکروبی کل در نمونه‌های دارای پوشش‌دار و فیلم $1/37 \log_{10} \text{cfu/g}$ بود. در پایان دوره میزان این شاخص در نمونه‌های دارای پوشش مخلوط و دولایه $6/88 \log_{10} \text{cfu/g}$ و $7/00 \log_{10} \text{cfu/g}$ و نمونه‌های پیچانده‌شده در فیلم مخلوط و دولایه $6/85 \log_{10} \text{cfu/g}$ و $7/00 \log_{10} \text{cfu/g}$ بود. در کل دوره نمونه‌های شاهد بیشترین بار میکروبی کل را داشتند اما بین نمونه‌های دارای پوشش و فیلم اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. در جدول (2) تغییرات بار میکروبی سرمادوست تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود. میزان این شاخص در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. در نمونه شاهد میزان آن از $1/80 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $11/30 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز 16 افزایش یافت. میزان باکتری‌های سرمادوست تیمارهای پوشش مخلوط و دولایه در روز صفر $1/80 \log_{10} \text{cfu/g}$ و در روز 16 نگهداری در یخچال $6/67 \log_{10} \text{cfu/g}$ و $7/02 \log_{10} \text{cfu/g}$ بود. این میزان درمورد نمونه‌های دارای فیلم مخلوط و دولایه $1/80 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر و در روز آخر دوره نگهداری $7/05 \log_{10} \text{cfu/g}$ و $6/51 \log_{10} \text{cfu/g}$ شد. در کل دوره میزان متوسط بار میکروبی سرمادوست نمونه شاهد به‌طور معنی‌دار

بالتر از نمونه‌های تیمار شده بود در صورتی که بین نمونه‌های دارای پوشش و نمونه‌های پیچانده‌شده در فیلم اختلاف معنی‌داری ملاحظه نگردید. در جدول (3) تغییرات باکتری‌های انتروباکتریاسه تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود. میزان این شاخص در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. در نمونه شاهد میزان آن از $4/09 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر به $1/17 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز 16 افزایش یافت. میزان باکتری‌های سرمادوست تیمارهای پوشش مخلوط و دولایه در روز صفر $1/17 \log_{10} \text{cfu/g}$ و در روز 16 نگهداری در یخچال $2/99 \log_{10} \text{cfu/g}$ و $2/71 \log_{10} \text{cfu/g}$ بود. این میزان درمورد نمونه‌های دارای فیلم مخلوط و دولایه $1/17 \log_{10} \text{cfu/g}$ در روز صفر و در روز آخر دوره نگهداری $3/74 \log_{10} \text{cfu/g}$ و $3/61 \log_{10} \text{cfu/g}$ شد. در کل دوره میزان باکتری انتروباکتریاسه نمونه شاهد به‌طور معنی‌دار بالاتر از نمونه‌های تیمار شده بود در صورتی که بین نمونه‌های شاهد و نمونه‌های پیچانده‌شده در فیلم در روز 16 اختلاف معنی‌داری ملاحظه نگردید.

باکتری‌های سرمادوست گرم منفی مثل سودوموناس‌ها²، آلتروموناس‌ها³، شوانلاها⁴ و فلاوو باکترها⁵ بیشترین گروه میکروارگانیسم‌های عامل فساد ماهی و فراورده‌های آن در شرایط نگهداری هوازی در دماهای سرد می‌باشند (Gram & Huss, 1996; Chytiri et al., 2004; Sallam, 2007). مطالعه حاضر شمارش اولیه این باکتری‌ها در فیله ماهی شوریده بلانگ برای نمونه شاهد، فیلم مخلوط، فیلم دولایه، پوشش مخلوط و پوشش دولایه $1/80 \log_{10} \text{cfu/g}$ بود. افزایش بار میکروبی کل در گوشت ماهی در طول نگهداری ثابت شده است (اجاق، 1389 و Fan et al., 2009). در این بررسی نیز الگوی رشد هر دو گروه باکتری‌های کل و سرمادوست مورد مطالعه در کل دوره، روند افزایشی داشت اما در روز 12 نگهداری بار میکروبی کل و سرمادوست در فیله‌های شاهد به ترتیب به $7/30 \log_{10} \text{cfu/g}$ و $9/44 \log_{10} \text{cfu/g}$

² *Pseudomonas* spp.

³ *Alteromonas* spp.

⁴ *Shewanella* spp.

⁵ *Flavobacterium* spp.

¹ One-way ANOVA

2007). باکتری‌های انتروباکتریاسه‌ها جزء باکتری‌های گرم منفی هستند که شامل بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا مثل اشرشیاکلی¹، گونه‌های سالمونلا² و استافیلوکوکوس اورئوس³ می‌باشند. تعداد باکتری انتروباکتریاسه در مقایسه با باریمیکروبی کل و سرمادوست کمتر بود.

cfu/g رسید که بالاتر از حد مجاز اعلام شده برای ماهی خام ($7 \log_{10}$ cfu/g) است (Sallam, 2007) درحالی‌که برای تمامی نمونه‌های تیمار شده تا پایان روز 16 به این محدوده نرسید. قابلیت فسادپذیری باکتری‌های انتروباکتریاسه در ماهی‌ها زمانی که ماهی از آب‌های آلوده صید می‌شود یا تأخیر در سردسازی بعد از صید قابل توجه و دارای اهمیت است (Sallam, 2007).

جدول 1 - تغییرات باریمیکروبی کل در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی شده طی نگهداری در یخچال به مدت 16 روز

روز 0	روز 4	روز 8	روز 12	روز 16	
1/37±0/09 ^{dA}	4/33±0/33 ^{cA}	6/40±0/63 ^{bA}	7/30±0/43 ^{bA}	9/33±0/17 ^{aA}	شاهد
1/37±0/09 ^{dA}	3/32±0/34 ^{cAB}	4/72±0/64 ^{bA}	6/29±0/52 ^{aA}	6/88±0/11 ^{aB}	پوشش مخلوط
1/37±0/09 ^{bA}	3/28±0/37 ^{bAB}	5/66±0/51 ^{aA}	5/98±0/88 ^{aA}	7/00±1/18 ^{aB}	پوشش دولایه
1/37±0/09 ^{cA}	3/18±0/32 ^{bcB}	4/73±0/57 ^{abA}	5/02±1/31 ^{abA}	6/85±0/68 ^{aB}	فیلم مخلوط
1/37±0/09 ^{cA}	3/48±0/12 ^{dAB}	5/04±0/31 ^{cA}	5/81±0/03 ^{bA}	7/00±0/28 ^{aB}	فیلم دولایه

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

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

جدول 2 - تغییرات باریمیکروبی سرمادوست در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی شده طی نگهداری در یخچال به مدت 16 روز

روز 0	روز 4	روز 8	روز 12	روز 16	
1/80±0/38 ^{cA}	4/10±0/85 ^{dA}	7/70±0/57 ^{cA}	9/44±0/39 ^{bA}	11/30±0/31 ^{aA}	شاهد
1/80±0/38 ^{dA}	3/11±0/28 ^{cA}	5/26±0/31 ^{bB}	6/32±0/17 ^{abBC}	6/67±0/61 ^{aB}	پوشش مخلوط
1/80±0/38 ^{dA}	4/15±0/31 ^{cA}	4/54±0/18 ^{cB}	5/81±0/52 ^{bc}	7/02±0/38 ^{aB}	پوشش دولایه
1/80±0/38 ^{cA}	3/85±0/57 ^{bA}	4/88±0/12 ^{bB}	6/50±0/37 ^{abC}	7/05±0/35 ^{aB}	فیلم مخلوط
1/80±0/38 ^{dA}	3/47±0/40 ^{cA}	5/10±0/13 ^{bB}	7/07±0/19 ^{aB}	6/51±0/12 ^{aB}	فیلم دولایه

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

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

جدول 3 - تغییرات باکتری‌های انتروباکتریاسه در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی شده طی نگهداری در یخچال به مدت 16 روز

روز 0	روز 4	روز 8	روز 12	روز 16	
1/17±0/03 ^{cA}	1/77±0/23 ^{cA}	2/00±0/07 ^{cA}	3/11±0/17 ^{bA}	4/09±0/47 ^{aA}	شاهد
1/17±0/03 ^{dA}	1/46±0/02 ^{dA}	1/99±0/07 ^{cB}	2/58±0/23 ^{bA}	2/99±0/12 ^{abC}	پوشش مخلوط
1/17±0/03 ^{cA}	1/58±0/18 ^{bcA}	1/97±0/08 ^{bB}	2/59±0/14 ^{aA}	2/71±0/16 ^{aC}	پوشش دولایه
1/17±0/03 ^{cA}	1/63±0/12 ^{cA}	2/19±0/13 ^{bB}	2/72±0/05 ^{bA}	3/74±0/32 ^{aAB}	فیلم مخلوط
1/17±0/03 ^{dA}	1/85±0/15 ^{cA}	2/43±0/24 ^{bcB}	2/95±0/19 ^{bA}	3/61±0/27 ^{aABC}	فیلم دولایه

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

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

مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود.

در جدول (4) تغییرات بازهای از ته فرار تیمارهای

¹ *E.coli*

² *Salmonella*

³ *S.aureus*

روند افزایشی از خود نشان داد. میزان 25 میلی‌گرم نیتروژن به ازای 100 گرم نمونه گوشت به‌عنوان حداکثر میزان قابل قبول بازهای ازته فرار در گوشت ماهی پیشنهاد شده است (Kilincceker *et al.*, 2009; Ojagh *et al.*, 2010). اما در تحقیق‌های دیگر میزان 30-35 میلی‌گرم نیتروژن به ازای 100 گرم نمونه گوشت به‌عنوان حداکثر میزان قابل قبول بازهای ازته فرار در گوشت ماهی پیشنهاد شده است (Shakilla *et al.*, 2005). در روز 12 نگهداری مقدار بازهای ازته فرار نمونه شاهد به‌طور معنی‌دار بالاتر از تمامی نمونه‌های پوشش‌دار و دارای فیلم شد که میزان بازهای ازته فرار تمام نمونه‌ها به جزء پوشش مخلوط اختلاف معنی‌داری نداشتند. در انتهای دوره میزان این شاخص در نمونه شاهد (70/76 میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم نمونه)، فیلم مخلوط و دولایه به‌طور معنی‌دار بیشتر از پوشش مخلوط و دولایه بود. میزان بازهای ازته فرار در نمونه‌های پوشش‌دار و فیلم تا روز 12 کمتر از میزان 35 میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم نمونه بود. کمترین میزان بازهای ازته فرار به میزان 24/50 میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم نمونه در فیله‌های دارای پوشش مخلوط کیتوزان-ژلاتین مشاهده شد. می‌توان نتیجه گرفت که پوشش‌دهی در کاهش بازهای ازته فرار فیله‌های شوریده بلانگر طی نگهداری در یخچال مؤثرتر بوده است.

میزان بازهای ازته فرار در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. در نمونه شاهد میزان آن از 13/46 میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم نمونه در روز صفر به 70/76 میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم نمونه در روز 16 افزایش یافت. میزان این شاخص در نمونه‌های دارای پوشش مخلوط و دولایه در ابتدای دوره نگهداری به ترتیب 15/03 و 15/86 و در انتهای دوره 24/50 و 41/30 میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم نمونه بود. در تیمارهای دارای فیلم مخلوط و دولایه در روز صفر به ترتیب 16/50 و 15/56 و در روز 16 نگهداری در یخچال 60/20 و 57/13 میلی‌گرم نیتروژن بر 100 گرم نمونه شد. در کل دوره میزان متوسط بازهای ازته فرار در نمونه شاهد به‌طور معنی‌دار بالاتر از نمونه‌های تیمار شده بود. کمترین میزان مربوط به تیمار پوشش مخلوط مشاهده شد. بازهای ازته فرار یک شاخص کیفی است که نشانگر میزان فساد، تجزیه و شکستن پروتئین‌ها بوده (El-Deen & El-Shamery, 2010) و به‌واسطه فعالیت میکروبی و آنزیم‌های درونی خود ماهی افزایش می‌یابد. سوخت‌وساز میکروبی آمینواسیدها در ماهی منجر به تجمع آمونیوم، مونواتیل‌آمین¹، دی‌اتیل‌آمین²، تری‌اتیل‌آمین³ و سایر بازهای فرار می‌شود که همگی موجب بدطعمی ماهی می‌گردند (Goulas & Kontominas, 2007; Duan *et al.*, 2010). میزان بازهای ازته فرار در طول دوره برای تمامی تیمارها

جدول 4 - تغییرات میزان بازهای ازته فرار در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی شده طی نگهداری در یخچال به مدت 16 روز

روز 0	روز 4	روز 8	روز 12	روز 16	شاهد
13/46±1/70 ^{cA}	18/20±3/23 ^{cA}	20/15±0/31 ^{cA}	36/16±2/87 ^{bA}	70/76±1/69 ^{aA}	شاهد
15/03±0/33 ^{aA}	15/76±2/36 ^{aA}	17/60±0/00 ^{aA}	25/70±1/00 ^{aB}	24/50±9/29 ^{aC}	پوشش مخلوط
15/86±1/09 ^{cA}	15/40±0/80 ^{cA}	21/70±1/21 ^{cA}	32/20±4/84 ^{bAB}	41/30±2/02 ^{aBC}	پوشش دولایه
16/50±1/09 ^{cA}	17/50±2/02 ^{cA}	28/50±5/07 ^{bcA}	33/53±1/43 ^{bAB}	60/20±6/46 ^{aA}	فیلم مخلوط
16/56±0/16 ^{cA}	16/80±4/04 ^{cA}	16/80±5/65 ^{cA}	32/36±1/56 ^{bAB}	57/13±3/26 ^{aAB}	فیلم دولایه

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

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

(2010)، شکستن ترکیباتی از جمله تری‌متیل‌آمین اکسیدها، پپتیدها، آمینواسیدها و غیره می‌شود

از آنجاکه حضور باکتری‌ها در گوشت منجر به اتولیز پروتئین‌ها و تجزیه آنها (El-Deen & El-Shamery,

¹ Mono-Ethyle Amine

² D-Ethyle Amine

³ Tri-Ethyle Amine

بین میزان pH نمونه شاهد و تیمار شده وجود نداشت. به طور کلی میزان pH عضله ماهی زنده نزدیک به 7 است. پس از مرگ بر اساس فصل، گونه و فاکتورهای دیگر از 6 تا 7 تغییر می‌کند (Arashisar et al., 2004). در تمام نمونه‌های ماهی مقدار این شاخص در طول دوره افزایش پیدا کرد. افزایش pH با گذشت زمان نگهداری را می‌توان به فعالیت آنزیم‌های اتولیتیک و باکتری‌های پروتئولیتیک فاسدکننده ماهی نسبت داد (Kilinceker et al., 2009). در بررسی حاضر با افزایش میزان بازهای ازته فرار در طول دوره چنین روندی برای pH انتظار می‌رفت. نتایج مشابهی توسط Fan و همکاران (2009) گزارش شد. آنها مشاهده کردند که میزان pH نمونه‌های کپورنقره‌ای دارای پوشش کیتوزان افزایش کندتری نسبت به نمونه‌های شاهد داشت و بیان کردند که وجود کیتوزان، فعالیت پروتئازهای درونی را کاهش می‌دهد که بدین ترتیب تولید بازهای ازته فرار مثل آمونیاک و تری‌متیل‌آمین حاصل از آنزیم‌های میکروبی یا درونی خود ماهی کاهش پیدا می‌کند. از آنجاکه آلودگی میکروبی در نمونه شاهد بیشتر از نمونه‌های پوشش‌دار و فیلم‌دار بود که متعاقباً منجر به تولید ترکیبات نیتروژنی می‌گردد، نمونه شاهد بالاترین میزان pH را به خود اختصاص داد. کمترین میزان این شاخص در پوشش و فیلم مخلوط مشاهده شد اما بین پوشش و فیلم دولایه با نمونه شاهد اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.

(Gram & Huss, 1996) مقادیر بیشتر بار میکروبی مشاهده شده در نمونه‌های شاهد می‌تواند توجیهی برای افزایش میزان بازهای نیتروژنی در آنها باشد (Mohan et al., 2012). پوشش‌های خوراکی به صورت ماده ضد میکروبی عمل کرده و بر میزان بازهای ازته فرار اثر می‌گذارد.

Lopez-Caballero و همکاران (2005) اثر محافظتی پوشش ترکیبی کیتوزان-ژلاتین را در کم کردن میزان بازهای ازته فرار و متعاقباً فساد میکروبی را گزارش نمودند. Jeon و همکاران (2002) نیز با استفاده از انواع مختلفی از پوشش‌های کیتوزانی بر فیله ماهی کاد کاهش 33-35 درصد تولید بازهای ازته فرار را در دوره 12 روزه نگهداری در یخچال مشاهده کردند.

در جدول (5) تغییرات شاخص pH تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود. میزان pH در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. در نمونه شاهد میزان آن از 7/41 در روز صفر به 7/89 در روز 16 افزایش یافت. تیمارهای دارای پوشش مخلوط و دولایه در روز صفر نگهداری میزان pH برابر با 7/43 و 7/40 داشتند که در روز 16 نگهداری به 7/81 و 7/60 رسید. میزان pH نمونه‌های دارای فیلم مخلوط و دولایه در ابتدای دوره به ترتیب 7/30 و 7/45 بود که در انتهای دوره به 7/73 و 7/83 رسید. به طور متوسط بالاترین میزان pH در نمونه شاهد کمترین میزان pH متعلق به تیمار فیلم مخلوط و پوشش مخلوط بود که تفاوت معنی‌داری

جدول 5 - تغییرات میزان pH در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی شده طی نگهداری در یخچال به مدت 16 روز

روز 0	روز 4	روز 8	روز 12	روز 16	
7/41±0/00 ^{cA}	7/71±0/03 ^{bA}	7/64±0/00 ^{bAB}	7/54±0/08 ^{bcA}	7/89±0/08 ^{aA}	شاهد
7/43±0/00 ^{abA}	7/21±0/05 ^{bC}	7/43±0/23 ^{abB}	7/53±0/02 ^{abA}	7/81±0/16 ^{aA}	پوشش مخلوط
7/40±0/02 ^{aA}	7/45±0/04 ^{aB}	7/61±0/16 ^{aAB}	7/48±0/27 ^{aA}	7/60±0/01 ^{aA}	پوشش دولایه
7/30±0/03 ^{bA}	7/52±0/01 ^{abB}	7/72±0/05 ^{aAB}	7/77±0/19 ^{aA}	7/73±0/13 ^{aA}	فیلم مخلوط
7/45±0/01 ^{bA}	7/70±0/01 ^{abA}	7/91±0/05 ^{abA}	7/94±0/20 ^{aA}	7/83±0/22 ^{abA}	فیلم دولایه

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار طی دوره نگهداری در هر تیمار می‌باشد ($P < 0/05$).
حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($P < 0/05$).

پوشش 1 درصد و 2 درصد کیتوزان (نسبت به نمونه‌های شاهد و نیز نمونه‌های دارای پوشش‌های

Sathivel و همکاران (2007) نیز مشاهده کرد که کمترین میزان pH در فیله‌های سالمون صورتی دارای

اسیدهای آلی و ترکیبات اپوکسی می‌باشد. مالون‌آلدهید یک ترکیب جزئی از اسیدهای چرب با سه پیوند دوگانه و یا بیشتر از آن است که در اثر تجزیه اسیدهای چرب چندغیراشباعی طی اکسیداسیون چربی تشکیل می‌شود. این ماده معمولاً به‌عنوان شاخصی در ارزیابی روند تغییرات اکسیداسیون چربی استفاده می‌شود (Shahidi & Zong, 2005). روند افزایشی تغییرات این شاخص تا روز 4 ادامه داشت و در روز 8 اُفت کرد که می‌تواند به‌دلیل شکست و تجزیه مالون‌آلدهید به سایر مواد (آلدهیدها و کتون‌ها) باشد (Woyewoda et al., 1986). مکانیسم آنتی‌اکسیدانی کیتوزان را می‌توان با فعالیت گروه‌های آمینوی اولیه کیتوزان توضیح داد. این عوامل فعال با گروه‌های آلدهیدی فرار حاصل از شکستن چربی‌ها طی اکسیداسیون (مثل مالون‌آلدهید) یک میکرواسفر پایدار تشکیل می‌دهد. ظرفیت چلاته‌کنندگی یون‌های فلزی از دیگر خصوصیات کیتوزان است که آن را به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی و طبیعی برای جلوگیری از اکسیداسیون چربی در غذاها در جهت افزایش عمر ماندگاری آنها معرفی می‌کند (Mohan et al., 2012).

دیگر (آلبومین تخم‌مرغ، پروتئین سویا، پودر پروتئین سالمون صورتی¹ و پودر پروتئین ماهی پهن دندان‌اره‌ای²) وجود دارد.

در جدول (6) تغییرات میزان تیوباربتوریک‌اسید تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود. میزان تیوباربتوریک‌اسید در تیمارهای مختلف تا روز 4 افزایش و سپس از روز 8 به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. در نمونه شاهد میزان آن از 0/38 میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه در روز صفر به 3/06 میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه در روز 4 افزایش یافت و سپس در روز 16 به 0/48 میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه کاهش یافت. میزان اولیه آن در نمونه‌های دارای پوشش و فیلم کیتوزان-ژلاتین از 0/32 تا 0/39 میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه متغیر بود. در کل دوره بالاترین میزان متوسط تیوباربتوریک‌اسید مربوط به نمونه شاهد و کمترین آن متعلق به نمونه‌های دارای فیلم دولایه بود. مواد اولیه اکسیداسیون (هیدروپراکسیدها) ناپایدار و مستعد تجزیه می‌باشند. محصولات ثانویه اکسیداسیون شامل آلدهیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها،

جدول 6- تغییرات میزان تیوباربتوریک‌اسید در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی شده طی نگهداری در یخچال به مدت 16 روز

روز 0	روز 4	روز 8	روز 12	روز 16	
0/38±0/04 ^{aA}	3/06±0/34 ^{aA}	0/24±0/02 ^{bB}	1/16±0/19 ^{bA}	0/48±0/09 ^{bB}	شاهد
0/32±0/07 ^{bA}	2/63±0/84 ^{aAB}	0/38±0/08 ^{bAB}	0/66±0/05 ^{bA}	0/51±0/04 ^{bB}	پوشش مخلوط
0/37±0/03 ^{bA}	2/92±0/90 ^{aA}	0/35±0/01 ^{bAB}	0/87±0/12 ^{bA}	1/88±0/68 ^{abA}	پوشش دولایه
0/33±0/05 ^{bA}	1/94±0/98 ^{aAB}	0/96±0/26 ^{abA}	0/44±0/11 ^{abA}	0/38±0/07 ^{bB}	فیلم مخلوط
0/39±0/02 ^{aA}	0/41±0/03 ^{ab}	0/84±0/32 ^{aAB}	1/75±1/20 ^{aA}	0/37±0/04 ^{ab}	فیلم دولایه

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار طی دوره نگهداری در هر تیمار می‌باشد ($P < 0/05$). حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($P < 0/05$).

بیشتر از پوشش کیتوزان-ژلاتین خاصیت آنتی‌اکسیدانی کیتوزان و ژلاتین را بروز دهد. پیشنهاد شده که حداکثر میزان قابل قبول تیوباربتوریک‌اسید برای کیفیت مطلوب ماهی (منجمد، یخچال‌گذاری‌شده و یا نگهداری‌شده در یخ) 5 میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه

Lopez-Caballero و همکاران (2005) نیز قدرت چلاته‌کنندگی یون‌های فلزی و یا ترکیب کیتوزان با چربی را علت آنتی‌اکسیدان بودن کیتوزان می‌دانند. از بین تمام تیمارها فیلم دولایه و پس از آن فیلم مخلوط دارای کمترین میزان تیوباربتوریک‌اسید بودند. بدین معنی که فیلم کیتوزان-ژلاتین توانست

¹ Pink salmon protein powder

² Arrowtooth flounder protein powder

اندازهٔ ملکول‌های اسیدچرب آزاد نسبت به چربی‌های بزرگتر (مهم‌ترین آنها تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها و فسفولیپیدها) بیشتر در معرض اکسیداسیون توسط آنزیم‌هایی چون لیپازها و فسفولیپازها می‌باشد. این مسئله به شدت بر کیفیت حسی فرآورده‌های غذایی دریایی تأثیرگذار است (Losada et al., 2007). به‌واسطهٔ آبکافت فسفولیپیدها و تری‌گلیسریدها توسط لیپاز و فسفولیپاز (Rostamzad et al., 2011) افزایش تدریجی در تولید اسیدچرب آزاد در تمام نمونه‌ها مشاهده شد اما در فیله‌های پوشش‌داده‌شده و یا پیچیده‌شده در فیلم کیتوزان-ژلاتین این افزایش در طول نگهداری کندتر شد. دلیل پایین‌تر بودن میزان اسیدهای چرب آزاد در تیمارهای دارای فیلم و پوشش را شاید بتوان به فعالیت شلاته‌کنندگی کیتوزان نسبت داد چرا که کیتوزان به‌عنوان عامل شلاته‌کننده با پاره‌ای از فلزات پیوند یافته و لذا از رشد میکروبی جلوگیری می‌کند، همچنین کیتوزان به‌عنوان بازدارندهٔ فعالیت آنزیم‌های مختلف شناسایی شده است (اجاق، 1389).

اجاق (1389) در تحقیق‌های خود مشاهده کرد که میزان اسیدهای چرب آزاد فیله‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان دارای پوشش کیتوزان-دارچین در مقایسه با انواع بدون پوشش طی زمان‌های نگهداری در یخچال به شکل معنی‌داری کمتر بود ($P < 0/05$). اما Gomez-Estaca و همکاران (2010) هیچ تفاوت معنی‌داری بین میزان اسیدچرب آزاد نمونه‌های دلفین ماهی² دارای فیلم کیتوزان-ژلاتین و نمونهٔ شاهد مشاهده نکردند. در بررسی حاضر، بین نمونهٔ شاهد و انواع دارای پوشش و فیلم تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($P < 0/05$) اما بین نمونه‌های دارای فیلم و نمونه‌های پوشش‌دهی‌شده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

است درحالی‌که تا 8 میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه هم قابل مصرف است (Sallam, 2007). در بررسی حاضر میزان تیوباربیتوریک‌اسید برای پوشش مخلوط، پوشش دولایه، فیلم مخلوط، فیلم دولایه و نمونهٔ شاهد در انتهای دورهٔ نگهداری به‌ترتیب 0/51، 1/88، 0/38، 0/37 و 0/48 میلی‌گرم مالون‌آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه به‌دست آمد.

در جدول (7) تغییرات اسیدهای چرب آزاد تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود. میزان این شاخص در تیمارهای مختلف با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. در نمونهٔ شاهد میزان آن از 13/61 درصد اولئیک‌اسید در روز صفر به 63/11 درصد اولئیک‌اسید در روز 16 افزایش یافت. میزان اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌های دارای پوشش مخلوط و دولایه در روز صفر نگهداری به‌ترتیب 12/14 و 14/76 درصد اولئیک‌اسید و در پایان 16 روز نگهداری 21/26 و 23/39 درصد اولئیک‌اسید بود. در مورد فیلم مخلوط و دولایه در آغاز دوره 10/20 و 13/06 و در انتهای آن 23/11 و 39/71 درصد اولئیک‌اسید چرب آزاد در بافت ماهی وجود داشت. میزان متوسط اسیدهای چرب آزاد نمونهٔ شاهد بالاترین میزان را داشت اما بین نمونه‌های دارای فیلم و پوشش تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. وجود اسیدچرب آزاد به واسطهٔ اکسایش و آبکافت آنزیمی چربی‌های استری بوده و یک ترکیب نامطلوب می‌باشد چون اسیدهای چرب آزاد می‌توانند به ترکیبات فرار بدبو تبدیل شوند (Rezaei & Hosseini, 2008; Ozyurt et al., 2009). با اینکه تولید اسیدهای چرب آزاد به‌خودی‌خود منجر به افت کیفیت تغذیه‌ای نمی‌شود اما آزمون میزان آبکافت چربی به‌نظر مهم می‌رسد چون آبکافت چربی در شرایط سرما و انجماد نیز ادامه می‌یابد که تأثیر شدیدی بر اکسیداسیون چربی و دناتوره‌شدن پروتئین دارد (Aubourg et al., 2005). تأثیر پرواکسیدانی اسیدهای چرب آزاد بر چربی نیز گزارش شده است بدین‌صورت‌که اسیدهای چرب آزاد بر گروه کربوکسیل اثر تحریک‌کننده¹ داشته و تشکیل هیدروپروکسیدها و متعاقباً رادیکال‌های آزاد را تسریع می‌بخشد. علاوه‌براین به‌دلیل کوچک‌بودن

² *Coryphaena hippurus*

¹ Catalytic effect

جدول 7 - تغییرات میزان اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی شده طی نگهداری در یخچال به مدت 16 روز

روز 0	روز 4	روز 8	روز 12	روز 16	شاهد
13/61±1/51 ^{ba}	16/21±1/91 ^{ba}	19/58±4/97 ^{ba}	24/59±4/25 ^{ba}	63/11±15/96 ^{aa}	
12/14±1/85 ^{ba}	4/57±0/54 ^{bb}	7/78±1/06 ^{bc}	9/81±1/61 ^{bb}	21/26±5/62 ^{ab}	پوشش مخلوط
14/76±1/48 ^{ba}	12/89±2/66 ^{ba}	8/30±2/53 ^{bc}	13/62±0/04 ^{bb}	23/39±4/27 ^{ab}	پوشش دولایه
10/20±3/60 ^{aa}	16/50±3/22 ^{aa}	9/82±0/30 ^{abc}	10/70±0/53 ^{ab}	23/11±8/69 ^{ab}	فیلم مخلوط
13/06±2/78 ^{ca}	17/11±0/19 ^{bcA}	16/96±0/39 ^{bcAB}	24/67±5/42 ^{ba}	39/71±3/52 ^{aAB}	فیلم دولایه

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

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

تأثیر مشاهده شد چنانچه نمونه‌های دارای پوشش و فیلم از روز 12 نگهداری به امتیاز رد مقبولیت رسیدند. بین نمونه‌های دارای فیلم و پوشش در هیچ‌یک از شاخص‌های حسی خام و پخته تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. Ojagh و همکاران (2010) گزارش کردند که بین نمونه شاهد و فیله‌های قزل‌آلای پوشش‌داده‌شده با کیتوزان و کیتوزان-عصاره دارچین تفاوت معنی‌داری از نظر ارزیابی حسی به دست‌آمد به‌طوری‌که نمونه شاهد از روز 8 نگهداری در یخچال امتیاز عدم مقبولیت را گرفت و نمونه‌های تیمار شده تا پایان روز 16 همچنان بالای این امتیاز بودند. Siripatrawan و Noipha (2012) بیان کردند که بدبویی، رنگ‌پریدگی، تشکیل مخاط و عدم مقبولیت کلی برای سوسیس خوک دارای پوشش کیتوزان حاوی عصاره چای‌سبز کندتر از نمونه شاهد بود. Fan و همکاران (2009) در ارزیابی حسی فیتوفاگ (*H. molitrix*) پوشش‌داده‌شده با کیتوزان و نمونه شاهد حاکی از کاهش قابل توجه ارزیابی حسی در تیمار مورد مطالعه در طول زمان بود اما به‌طور کلی نمونه‌های پوششی در مقایسه با شاهد ارزیابی حسی بهتری نشان دادند. مشخص شده که فساد ماهی افزایش شدیدتر بوی ماهی مثل بوی فساد و تعفن را به دنبال دارد که در این صورت ماهی توسط شخص ارزیابی‌کننده طعم، برای مصرف، مورد تأیید قرار نمی‌گیرد. چنانچه پوشش و فیلم کیتوزان-ژلاتین به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی برای فیله ماهی استفاده شود نباید بر خصوصیات ارگانولپتیک فیله تأثیر نامطلوب داشته باشد.

در جدول (8) نتایج ارزیابی حسی طی زمان نگهداری در یخچال نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود ویژگی بافت، بو، رنگ و پذیرش کلی تمامی تیمارها و نمونه شاهد با گذشت زمان کاسته شد. در مورد تمامی ویژگی‌های حسی اندازه‌گیری شده، نمونه‌های دارای پوشش و فیلم کیتوزان-ژلاتین به‌طور معنی‌دار بهتر از نمونه شاهد بود به‌طوری‌که نمونه شاهد در روز 8 و نمونه‌های دارای پوشش و فیلم کیتوزان-ژلاتین در روز 12 به امتیاز کمتر از 4 رسیدند. پوشش مخلوط از نظر بافت در روز 16 نگهداری به امتیاز کمتر از 4 رسید. حد نهایی مطلوبیت برای نمونه‌های ماهی جهت مصرف انسانی تا امتیاز 4 در نظر گرفته شد (Ojagh *et al.*, 2010).

کلیه شاخص‌های حسی خام و پخته در نمونه شاهد از روز 8 نگهداری در یخچال به درجه عدم مقبولیت رسیدند. این نتیجه با نتایج حاصل از آزمایش‌های میکروبی منطبق بود. فیله‌های شوریده بلانگر به‌واسطه اکسیداسیون چربی و فساد میکروبی دچار بدبویی، رنگ‌پریدگی و طعم نامطلوب در طول دوره می‌شود. نتیجه‌ای که از ارزیابی حسی به دست‌آمد نشان داد که تمامی امتیازات با گذشت زمان نگهداری به‌طور معنی‌دار کاهش پیدا کردند ($P<0/05$).

تأثیرات ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و حفاظت در برابر اکسیژن حاصل از پوشش و فیلم کیتوزان-ژلاتین باعث کاهش بار میکروبی و همچنین کمتر شدن اکسیداسیون در آزمایش‌های اندازه‌گیری پراکسید و تیوباربیتریک‌اسید شد، در ارزیابی حسی نیز این

جدول 8 - ارزیابی حسی در نمونه‌های شاهد و تیمارهای پوشش‌دهی و فیلم‌پیچی شده طی نگهداری در یخچال به مدت 16 روز

شاخص حسی	تیمار	0	4	8	12	16
	شاهد	5/00±0/00 ^{aA}	3/78±0/30 ^{bB}	3/57±0/20 ^{bA}	2/35±0/17 ^{cB}	2/21±0/14 ^{cC}
بافت	پوشش مخلوط	5/00±0/00 ^{aA}	4/28±0/18 ^{bAB}	3/42±0/20 ^{cA}	3/00±0/00 ^{dA}	2/71±0/18 ^{dBC}
	پوشش دولایه	5/00±0/00 ^{aA}	4/57±0/20 ^{aA}	3/85±0/34 ^{bA}	3/00±0/30 ^{cA}	3/42±0/20 ^{bcAB}
	فیلم مخلوط	5/00±0/00 ^{aA}	4/85±0/14 ^{aA}	4/00±0/30 ^{bA}	2/71±0/18 ^{cAB}	2/57±0/20 ^{cBC}
	فیلم دولایه	5/00±0/00 ^{aA}	4/71±0/28 ^{aA}	4/07±0/27 ^{bA}	3/14±0/14 ^{cA}	2/85±0/14 ^{cB}
	شاهد	5/00±0/00 ^{aA}	4/14±0/26 ^{bA}	3/71±0/35 ^{bA}	2/00±0/00 ^{cB}	1/57±0/20 ^{cB}
بو	پوشش مخلوط	5/00±0/00 ^{aA}	4/57±0/20 ^{aA}	3/85±0/26 ^{bA}	3/07±0/23 ^{cA}	2/35±0/17 ^{dA}
	پوشش دولایه	5/00±0/00 ^{aA}	4/28±0/28 ^{bA}	3/85±0/26 ^{bA}	2/85±0/14 ^{cA}	2/78±0/14 ^{cA}
	فیلم مخلوط	5/00±0/00 ^{aA}	3/85±0/26 ^{bA}	3/85±0/26 ^{bA}	2/57±0/20 ^{cA}	2/42±0/20 ^{cA}
	فیلم دولایه	5/00±0/00 ^{aA}	4/28±0/28 ^{bA}	3/71±0/18 ^{cA}	2/85±0/14 ^{dA}	2/57±0/20 ^{dA}
	شاهد	5/00±0/00 ^{aA}	3/85±0/40 ^{bA}	3/71±0/18 ^{bA}	2/57±0/20 ^{cB}	1/71±0/18 ^{dB}
رنگ	پوشش مخلوط	5/00±0/00 ^{aA}	4/14±0/34 ^{bA}	4/00±0/30 ^{bA}	3/14±0/26 ^{cA}	2/14±0/40 ^{dA}
	پوشش دولایه	5/00±0/00 ^{aA}	4/71±0/18 ^{aA}	4/07±0/07 ^{bA}	2/85±0/14 ^{cAB}	2/00±0/00 ^{dAB}
	فیلم مخلوط	5/00±0/00 ^{aA}	4/28±0/28 ^{bA}	4/57±0/29 ^{abA}	3/00±0/00 ^{cAB}	2/21±0/14 ^{dA}
	فیلم دولایه	5/00±0/00 ^{aA}	3/85±0/45 ^{bA}	4/00±0/37 ^{bA}	3/00±0/00 ^{cAB}	2/00±0/00 ^{dAB}
	شاهد	5/00±0/00 ^{aA}	4/00±0/37 ^{bA}	3/71±0/35 ^{bA}	2/28±0/18 ^{cB}	1/14±0/14 ^{dB}
مقبولیت کلی	پوشش مخلوط	5/00±0/00 ^{aA}	4/35±0/23 ^{bA}	4/28±0/35 ^{bA}	3/00±0/21 ^{cA}	2/00±0/00 ^{dA}
	پوشش دولایه	5/00±0/00 ^{aA}	4/28±0/28 ^{bA}	4/00±0/21 ^{bA}	2/71±0/18 ^{cAB}	2/21±0/14 ^{cA}
	فیلم مخلوط	5/00±0/00 ^{aA}	4/28±0/18 ^{bA}	4/28±0/18 ^{bA}	2/85±0/14 ^{cAB}	2/28±0/18 ^{dA}
	فیلم دولایه	5/00±0/00 ^{aA}	4/42±0/36 ^{aA}	4/42±0/20 ^{aA}	2/57±0/20 ^{bAB}	1/85±0/14 ^{cA}

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار طی دوره نگهداری در هر تیمار می‌باشد ($P < 0/05$).
حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری

اکسیداسیون چربی بیشتر از پوشش بود. آزمون‌های حسی نیز مؤثر بودن فیلم و پوشش کیتوزان-ژلاتین را بر خواص حسی فیله‌های خام نشان داد. به‌طور کلی نتایج تحقیق حاضر تکنولوژی استفاده از پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی متشکل از کیتوزان و ژلاتین را در حفظ کیفیت اولیه و افزایش ماندگاری فیله شوریده بلانگر به‌ویژه طی نگهداری در یخچال مورد تأیید قرار می‌دهد. لذا ترکیب کیتوزان و ژلاتین چه به‌عنوان پوشش و یا فیلم خوراکی و چه به‌صورت مخلوط و یا دولایه می‌تواند تقاضای مصرف‌کنندگان به فرآورده‌های دریایی عاری از مواد شیمیایی را تأمین نموده و نیاز آنها به مواد غذایی با کیفیت بهتر و ایمن‌تر را تأمین نماید. از این رو پوشش و فیلم کیتوزان-ژلاتین نوعی از بسته‌بندی فعال ایجاد می‌کند که می‌تواند به‌عنوان یک نگهدارنده ایمن برای ماهی در دوره نگهداری در یخچال عمل کند.

نتایج مطالعه‌های میکروبی کل و سرمادوست حاکی از پایین‌تر بودن تعداد این باکتری‌ها در تیمارهای دارای پوشش و فیلم بود. پوشش و فیلم دولایه و مخلوط کیتوزان-ژلاتین در مقایسه با نمونه‌های شاهد تأثیر آشکاری بر کاستن از بار آلودگی میکروبی فیله شوریده بلانگر داشته اما تفاوت معنی‌داری بین پوشش و فیلم در کاهش آلودگی میکروبی وجود نداشت. نتایج آزمایش اندازه‌گیری بازهای از ته فرار، پوشش‌دهی را در کاهش بازهای از ته فرار حاصل از تولیدات میکروبی مؤثرتر از فیلم نشان داد. این پوشش‌ها و فیلم‌ها خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود را با کمتر بودن شاخص‌های تیوباربیتوریک‌اسید، اسیدهای چرب آزاد و pH در نمونه‌های دارای پوشش و فیلم نسبت به نمونه شاهد نشان دادند. علاوه بر این در شرایط نگهداری در یخچال (4 درجه سانتی‌گراد) تأثیر فیلم در ممانعت از

منابع

- 1- اجاق، س.م. 1389. تاثیر استفاده از پوشش نگهدارنده کیتوزان غنی شده با اسانس دارچین بر کیفیت و ماندگاری فیله سرد شده ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) پایان‌نامه دکتری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس.
- 2- مرادی، م.، تاجیک، ح.، رضوی روحانی، س.م.، ارومیه‌ای، ع.، ملکی‌نژاد، ح. و ساعی دهکردی، س.س. 1389. ارزیابی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، رنگ و اثرات ضدباکتریایی فیلم خوراکی کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی علیه لیستریا مونوسیتوژنز. مجله ارمان دانش، 4: 303-315.
- 3- مرتضویان، س.ا.م.، عزیزی، م.ح. و سهراب‌وندی، س. 1389. مروری بر کاربرد لفافه‌های خوراکی در مواد غذایی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی دانشگاه تربیت مدرس، 1: 111-131.
- 4- Arashisar, X., Hisar, O., Kaya, M., & Yanik, T. 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) filets. International Journal of Food Microbiology, 97(2):209-214.
- 5- Arvanitoyannis, I.S., Nakayama, A., & Aiba, S. 1998. Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties. Carbohydrate polymers, 37(4):371-382.
- 6- Aubourg, S.P., Rodríguez, A., & Gallardo, J. 2005. Rancidity development during frozen storage of mackerel (*scomber scombrus*): effect of catching season and commercial presentation. European Journal of Lipid Science and Technology, 107(5):316-323.
- 7- Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I.N., & Kontominas, M.G. 2004. Microbiological, chemical and 4- sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. Food Microbiology, 21(2):157-165.
- 8- Duan, J., Jiang, Y., Cherian, G., & Zhao, G. 2010. Effect of combined chitosan-krill oil coating and modified atmosphere packaging on the storability of cold-stored lingcod (*ophiodon elongates*) filets. Food Chemistry, 122(4):1035-1042.
- 9- El-Deen, G., & El-Shamery, M.R. 2010. Studies on contamination and quality of fresh fish meats during storage. Academic Journal of Biological Science, 2:65-74.
- 10- Falguera, V., Quintero, J.P., Jimenez, A., Munoz, J.A., & Ibarz, A. 2011. Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. Trends in Food Science and Technology, 22(6):1-12.
- 11- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., & Chi, Y. 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. Food Chemistry, 115(1):66-70.
- 12- Gomez-Estaca, J., Montero, P., Fernandez-Martin, F., & Gomez-Guillen, M.C. 2009. Physico-chemical and film-forming properties of bovine-hide and tuna-skin gelatin: a comparative study. Journal of Food Engineering, 90(4):480-486.
- 13- Goulas, A.E., & Kontominas, M.G. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. Food Chemistry, 100(1):287-296.
- 14- Gram, L., & Huss, H. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. Food Microbiology, 33(1):121-137.

- 15- Jaafarzadeh Haghighi Fard, N., Ravanbakhsh, M., Ramezani, Z., Ahmadi, M., Ahmadi Angali, K., & Zare Javid, A. 2015. Determination of mercury and vanadium concentration in *Johinus belangerii* (C) fish in Musa estuary in persian gulf. Marine pollution bulletin, 97(1):499-505.
- 16- Jeon, C.O., Kamil, Y.V.A., & Shahidi, F. 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of Herring and Atlantic Cod. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(18):5167-5178.
- 17- Kilinceker, O., Dogan, I.S., & Kucukoner, E. 2009. Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets. LWT - Food Science and Technology, 42(4):868-873.
- 18- Losada, V., Barros-Velazquez, J., & Aubourg, S.P. 2007. Rancidity development in frozen pelagic fish: Influence of slurry ice as preliminary chilling treatment. LWT- Food Science and Technology, 40(6):991-999.
- 19- Lopez-Caballero, M.E., Gomez-Guillen, M.C., Pérez-Mateos, M., & Montero, P. 2005. A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. Food Hydrocolloids, 19(2):303-311.
- 20- Martucci, J.F., & Ruseckaite, R.A. 2010. Biodegradable three-layer film derived from bovine gelatin. Journal of Food Engineering, 99(3):377-383.
- 21- Mohan, C. O., Ravishankar, C. N., Lalitha, K. V., & Srinivasa Gopal, T. K. 2012. Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. Food Hydrocolloids, 26(1):167-174.
- 22- Nowzari, F., Shabanpour, B., & Ojagh, S.M. 2013. Comparison of chitosan-gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry, 141(3):1667-1672.
- 23- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., & Hosseini, S.M.H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry, 120(1):193-198.
- 24- Ozyurt, G., Kuley, E., Ozkutuk, S., & Ozogul, F. 2009. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*mullus barbatus*) and gold band goatfish (*upeneus moluccensis*) during storage in ice. Food Chemistry, 114(2):505-510.
- 25- Pereda, M., Ponce, A.G., Marcovich, N.E., Ruseckaite, R.A., & Martucci, J.F. 2011. Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. Food Hydrocolloids, 25(5):1372-1381.
- 26- Rezaei, M., & Hosseini, S.F. 2008. Quality assessment of farmed rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. Journal of Food Science, 73(6):H93-96.
- 27- Rivero, S., Garcia, M.A., & Pinotti, A. 2009. Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan. Food Engineering, 90(4):531-539.
- 28- Rostamzad, H., Shabanpour, B., Shabani, A., & Shahiri, H. 2011. Enhancement of the storage quality of frozen persian sturgeon fillets by using of ascorbic acid. International Food Research Journal, 18(1):109-116.
- 29- Sallam, K.I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control, 18(5):566-575.
- 30- Sathivel, S., Liu, Q., Huang, J., & Prinyawiwatkul, W. 2007. The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. Journal of Food Engineering, 83(3):366-373.

- 31- Shahidi, F., & Zhong, Y. 2005. Lipid oxidation: measurement methods (6th Ed.). Memorial university of Newfoundland, Canada. 357-385.
- 32- Shakilla, R., Jeyasekaran, G., & Vijayalakshmi, S. 2005. Effect of vacuum packaging on the quality characteristics of seer fish (*scomberomorucommersonii*) chunks during refrigerated storage. Journal of Food Science and Technology, 42(5):438-443.
- 33- Siripatrawan, U., & Noipha, S. 2012. Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. Food Hydrocolloids, 27(1):102-108.
- 34- Suvanich, V., Jahncke, M.L., & Marshall, D.L. 2000. Changes selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. Food Science, 65(1):24-29.
- 35- Woyewoda, A.D., Shaw, S.J., Ke, P.J., & Burns, B.G. 1986. Recommended laboratory methods for assessment of fish quality. Canadian technical report of fish and aquatic science, 1448. Canadian technical report of fisheries and aquatic sciences. Halifax, Canada, 143.

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

Javaher Saki¹, Ainaz Khodanazary^{2*}, Seyed Mehdi Hosseini²

1- M.Sc student of Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

2- Assistant professor, Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology, Khorramshahr, Iran

* Corresponding author (khodanazary@yahoo.com)

Abstract

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

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