DOI: 10.22092/vj.2019.126536.1589
شماره ۱۲۹ زمستان ۱۳۹۹
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی نانوکامپوزیت کیتوزان و عصاره رازیانه *(Foeniculum vulgare)* در فیله فیل ماهی *(Huso huso)* نگهداری شده در یخچال

• **محدثه مقامی‌پور صوفیانی**
گروه بهداشت و علوم پایه، دانشکده‌ی علوم تخصصی دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
• **عباسعلی مطلبی مغانجوقی (نویسنده مسئول)**
گروه بهداشت و علوم پایه، دانشکده‌ی علوم تخصصی دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
• **سید امیرعلی انوار**
گروه بهداشت و علوم پایه، دانشکده‌ی علوم تخصصی دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸-۰۳-۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸-۰۶-۱۶
Email: abbasalimottallebe@gmail.com

چکیده

از اصلی‌ترین منابع پروتئینی غذاهای دریایی است که ماهی‌ها بخش عمده‌ای از آن را تشکیل می‌دهند ولی به شدت فسادپذیر هستند. ماندگاری ماهی‌ها در اثر مسائل مختلفی از جمله فساد میکروبی، شیمیایی و فیزیکی تحت تاثیر بوده که عمدتا همراه با بوی نامطبوع و لزجی همراه است. از مواردی که به شدت از فساد میکروبی و شیمیایی جلوگیری می‌کند بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده یا تحت خلا و استفاده از پوشش‌های خوراکی است. هدف مطالعه ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی نانوکامپوزیت کیتوزان و عصاره رازیانه (Foeniculum vulgare) در فیله فیل ماهی نگهداری شده است. به منظور افزایش ماندگاری ماهی در دمای یخچال از بسته بندی MAP، VAP، پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس رازیانه استفاده شد. تیمارها برای این منظور در چهار دسته بودند که شامل نمونه کنترل، پوشیده شده با نانوکامپوزیت کیتوزان ، پوشیده شده با عصاره رازیانه و پوشیده شده با نانوکامپوزیت کیتوزان حاوی اسانس رازیانه است. نمونه در دو نوع بسته بندی MAP و VAP قرار دارند که مجموعا با یک نمونه شاهد در بسته‌بندی معمولی، شامل ۹ گروه نمونه مورد بررسی جمع‌آوری شد. ارزیابی خصوصیات پایداری نانوکامپوزیت کیتوزان بهمراه ارزیابی شاخص‌های میکروبی و موارد شیمیایی نشان داد که استفاده از پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان حاوی اسانس رازیانه در بسته بندی MAP می‌تواند فیله (Huso huso) را به مدت ۱۸ روز با کیفیت مطلوب در دمای یخچال نگهداشت در حالی‌که نمونه کنترل تنها ۶ روز ماندگاری داشت. نمونه تیمار شده با پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس رازیانه به همراه بسته‌بندی MAP توانست کیفیت میکروبی و شیمیایی مناسبی فراهم نماید. در ارزیابی حسی مشخص شد در روز ۲۷ نمونه امتیاز متوسطی را کسب و نتیجه مطلوب ارزیابی نشد. شمارش میکروارگانیسم‌ها در روز ۲۷ نمونه‌های پوشیده با نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس رازیانه در حد مجاز قرار گرفت. از نظر خصوصیات شیمیایی و حسی فیله (Huso huso) نشان داد که مدت زمان ماندگاری حداقل ۱۸ روز است.

کلمات کلیدی: عصاره رازیانه، فیل ماهی، خواص ضدمیکروبی، نانوکامپوزیت کیتوزان، آنتی اکسیدان

www.SID.ir

Archive of SID

Veterinary Researches & Biological Products No 129 pp: 161-172

Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of chitosan nanocomposite and fennel extract (Foeniculum vulgare) in Huso huso fillet kept in refrigerator

By: Maghamipour Soufyani, M., Department of Health and Basic Sciences, Faculty of Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Mottallebe Moghanjoughi, A., (Corresponding author) Department of Health and Basic Sciences, Faculty of Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. and Anvar, A. Department of Health and Basic Sciences, Faculty of Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 2019-06-16 **Accepted: 2019-09-07**

Email: Email: abbasalimottallebe@gmail.com

The main sources of protein, fat and energy are marine foods, most of which are fish, although severely affected by corruption. The shelf life of fish has been affected by a variety of issues, including microbial, chemical, and physical corruption, which is mainly accompanied by an unpleasant smell of leachate. Of the cases that strongly prevent microbial and chemical corruption, packaging is modified or vacuumed and the use of edible coatings. The aim of this study was to evaluate the antioxidant and antimicrobial properties of chitosan nanocomposite and fennel extract (Foeniculum vulgare) in elephant fillet fillets. In order to increase the shelf life of the fish at the refrigerator temperature, MAP, VAP, chitosan and fennel essential oil were used. Treatments in this study were four groups consisting of a control sample coated with chitosan, coated with fennel and chitosan containing essential oil. Samples were packed in two types of MAP and VAP packaging. In total, nine sample groups were sampled with a control sample in normal packaging. The evaluation of the nanocytosine stability properties, the evaluation of microbial indices and chemical samples showed that using chitosan coating containing fennel essential oil in MAP packaging, it is possible to keep elephant fish for optimal quality at refrigerator temperature for 18 days, while the sample the control lasted only 6 days. The treated sample with chitosan coating and fennel essential oil, along with the MAP package, provided good microbial and chemical qualities. But in the sensory evaluation it was found that on the 27th day this sample earned a modest score and was not evaluated desirable. Counts of microorganisms on day 27, samples containing chitosan and fennel essential oils are in the virtual range. But the chemical and sensory characteristics of the elephant fish showed a shelf life of at least 18 days.

Keyword: Anise extract, Anthrax fillet, Antimicrobial properties

مقدمه

ماهی و فرآورده‌های شیلاتی نقش با اهمیتی در تامین امنیت غذایی جهانی و نیازهای تغذیه‌ای انسان در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته ایفا می‌کنند (۱). مصرف ماهی و فرآورده‌های آن به علت قابلیت هضم خوب و محتوای بالای اسیدهای چرب چند گانه غیراشباع است (۲). درحال حاضر ماهی به عنوان یک ماده‌ی غذایی سالم دارای اهمیت زیادی است، زیرا بسیاری از گونه‌ها منبعی سرشار از پروتئین‌های با قابلیت هضم خوب و شامل اسیدهای آمینه‌ی ضروری هستند.از لحاظ درمان شناسی ماهی دارای اسیدهای چرب چندغیر اشباع ضروری، به علاوه کلسیم، ید، ویتامین ها و بسیاری از مواد مغذی دیگر است (۳). ماهی‌ها مستعد اکسیداسیون و هیدرولیز چربی‌ها و فساد میکروبی بوده و غالبا روش‌های نگهداری آن نسبت به نگهداری دیگر محصولات گوشتی از حساسیت بیشتری برخوردار است. جهت جلوگیری یا به تعویق انداختن فساد ماهی و فرآورده‌های آن راهکارهای متعددی ارائه شده که از آن جمله می‌توان به کنترل درجه حرارت و کاهش آن، بسته بندی تحت شرایط خلاء(VAP)، بسته بندی در اتمسفر اصلاح شده (MAP)، افزودن آنتی‌اکسیدان و استفاده از مواد مناسب با فعالیت ضد باکتریایی اشاره نمود. به عنوان یک جایگزین برای به تعویق انداختن (کندکردن) اکسیداسیون لیپید و میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی، توجه به فیلم‌های فعال زیست تجزیه‌پذیر گسترش یافته است. این فیلم‌ها آنتی اکسیدان‌های طبیعی یا ترکیبات ضد میکروبی را در ماتریکس پلیمری حمل می‌کنندکه به علت فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۴).

یکی از راه‌کارهای موثر در حفظ کیفیت محصولات دریایی، کاربرد فیلم و پوشش خوراکی در ترکیب با دیگر فاکتورهای کاهش دهنده فساد است (۵). استفاده از مواد ضدباکتریایی، پوشش‌ها و فیلم این امکان را فراهم کرده که تولید کننده ماده غذایی سالم تولید نماید و از نظر مصرف‌کننده نیز این ماده غذایی ارزش بیشتری خواهد داشت. زیرا

www.SID.ir

Archive of SID

از عوامل نگهدرانده سنتزی استفاده نشده و ایمنی بیشتری دارد (۶). نگهدارنده‌های طبیعی با منشاء حیوانی، گیاهی و میکروبی که امروزه از آن‌ها برای محدود کردن فساد محصولات گوشتی از ضد میکروب‌های گیاهی استفاده می شود در گذشته به عنوان طعم دهنده کاربرد داشت اما در حال حاضر خواص ضد میکروبی و ضد اکسیداسیونی آنها اثبات شده است (۷).

از زمان کهن نقش فرآورده‌های گیاهی در بهبود سلامتی و شیوه‌ی زندگی انسان شناخته شده است. گیاهان حاوی انواع مختلفی از متابولیت‌های ثانویه با تنوع ساختاری بالایی دارند و از مهمترین مزایای محصولات گیاهی زیست تجزیه‌پذیر بودن آن‌ها است که سبب شده در برنامه‌های حفاظتی به عنوان ترکیبات سازگار با محیط زیست مورد استفاده قرار گیرند. بنابراین محصولات گیاهی می‌توانند برای کشف ترکیبات زیست فعال مورد توجه قرار گرفته و به توسعه و کاربرد هر چه بیشتر نگهدارنده‌های غذائی با منشاء گیاهی کمک نمایند. جهت اطمینان از ایمنی اقلام غذائی، نیاز به کنترل موارد فوق با استفاده از ترکیبات ضد میکروب، بازدارنده‌های تولید سم و نیز ترکیبات ضد اکسایشی موثر و مفید وجود دارد (۸). ارزیابی عدد پراکسید که یکی از شاخص‌های پرکاربردی که نشان دهنده میزان گسترش اکسیداسیون چربی است اندیس پراکسید یا عدد پراکسید است. درواقع این شاخص به طور مستقیم از اندازه‌گیری هیدروپراکسیدهایی که جزء محصولات اولیه اکسیداسیون هستند محاسبه می‌گردد (۹). تعیین اندیس پراکسید همچنین شاخص مناسبی از کیفیت و سلامت محصول می‌باشد و طبق استانداردهای تعریف شده میزان عدد پراکسید در مواد غذایی ۳۰ میلی اکی‌والان در هر کیلوگرم می‌باشد (۱۰).

Pietro Lo Cantore و همکاران (۲۰۰۴)، به بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره دانه رازیانه و گشنیز بر باکتری ایشرشیاکلی و باسیلوس مگاتریوم پرداختند. اثر ضد میکروبی قابل توجهی برای عصاره گشنیز و اثر کمی برای رازیانه مشاهده شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که عصاره رازیانه و گشنیز می‌تواند به عنوان باکتری کش طبیعی مفید برای از بین بردن باکتری های بیماری زای گیاهان و دانه‌های آنها به خصوص در کشاورزی ارگانیک باشد (۱۱).

پوشش‌ها و فیلم‌های نانوکامپوزیت کیتوزان به طور کلی روی همه میکروارگانیسم‌ها نظیر باکتری‌های گرم مثبت و منفی، مخمرها و کپک‌ها نیز موثرند. حفظ کیفیت و ایمنی ماده غذایی از طریق کنترل انتقال ماده بین ماده غذایی، بسته بندی و اتمسفر اصلاح شود همچنین محافظ خوبی در مقابل نور و آسیب‌های مکانیکی می باشد از راهکارهای موثر و مهم مواد غذایی در برابر تغییرات نامطلوب شیمیایی و میکروبی است.در این تحقیق از بسته بندی وکیوم و اتمسفر اصلاح شده استفاده شده است بسته‌بندی به عنوان یك ابزار کارآمد سالهاست که مورد نظر کارشناسان علم بازاریابی قرار گرفته است. بسته بندی ها فقط نقش یک مانع بی‌تحرک را در برابر عوامل بیرونی بازی نمی‌کنند بلکه دارای نقش‌های بهبود دهندگی و آگاهی دهنده نیز هستند (۱۲). هدف مطالعه ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی نانوکامپوزیت کیتوزان و عصاره رازیانه (Foeniculum vulgare) در فیله ماهی Huso huso نگهداری شده است.

روش کار

تهیه عصاره رازیانه

۵۰ گرم از دانه خشک رازیانه ابتدا آسیاب شده و به همراه ۵۰۰ میلی‌لیتر الکل اتانول ۹۵٪ در دکانتور قرار داده می‌شود و به مدت ۲۴ ساعت عصاره گیری صورت می‌گیرد. سپس توسط دستگاه روتاری با ایجاد خلاء اقدام به جداسازی حلال شد. این عمل تا به دست آمدن مقدار کافی غلظت عصاره تکرار گردید (۱۳).

تهیه نانوکامپوزیت کیتوزان

محلول ۰/۱٪ سدیم تری‌پلی فسفات تهیه شد. ۱ و ۱/۵ گرم نانوکامپوزیت کیتوزان در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید استیک ۱٪ ریخته و در روی استیرر با دور بالا و دمای ۵۰ قرار گرفت. پس از انحلال نانوکامپوزیت کیتوزان، به نسبت مساوی سدیم تری‌پلی فسفات و محلول نانوکامپوزیت کیتوزان با هم مخلوط شده و بر روی استیرر به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و دور ۵۰۰ rpm قرار گرفت تا تغییر رنگ انجام شده و شیری رنگ شود. پس از تهیه نانوکامپوزیت کیتوزان ۱٪ به آن اسانس رازیانه اضافه شد (۱۴).

تهیه ماهی

فیل ماهی Huso huso از مرکز فروش ماهی در منطقه احمدآباد مستوفی پس از خریداری اقدام به خرد کردن به قطعات کوچک تبدیل شده و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال یافت. پس از شستشوی اولیه، سر و دم زنی، خارج کردن امعاء و مجددا شستشو شده و تعداد ۷۲ فیله به وزن ۵۰ تا ۱۰۰ گرم تهیه و جهت انتخاب تیمارها آماده‌سازی شد.

تیمارها شامل گروه اول

کنترل (بدون ماده نگهدارنده)-گروه دوم: تیمار با محلول نانوکامپوزیت کیتوزان ۱ درصد - گروه سوم: تیمار با عصاره رازیانه ۱/۵ درصد-گروه چهارم: محلول نانوکامپوزیت کیتوزان ۱ درصد و عصاره‌ی رازیانه ۱/۵

www.SID.ir

Archive of SID

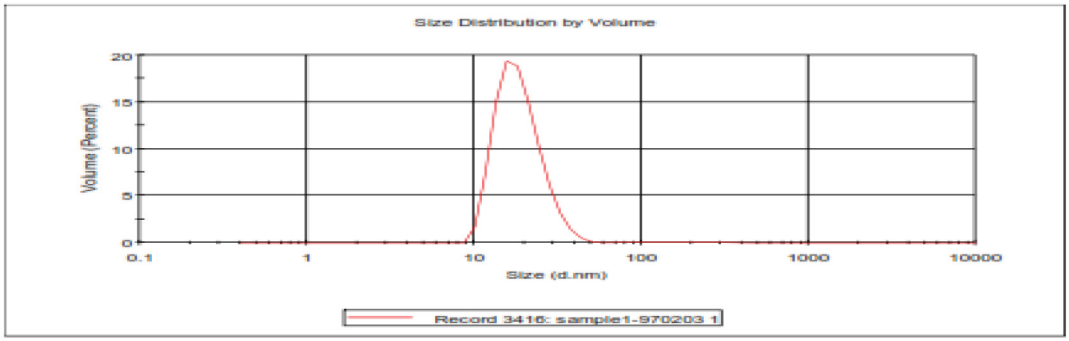
درصد است. استفاده از عصاره رازیانه ۱/۵٪ به علت آنکه حداکثر غلظتی است که طعم زننده و بوی نامطبوع ایجاد نمی‌کند. نانوکامپوزیت کیتوزان ۱٪ به نسبت سایر غلظت‌ها هم‌پوشانی بهتری بر روی ماهی دارد و پیوستگی نانوذرات و انتشار و پایداری در این غلظت بسیار مطلوب است.

نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در محلول‌های فوق غوطه‌ور شدند و سپس نمونه‌ها به طور کامل به وسیله‌ی رازیانه و نانوکامپوزیت کیتوزان به مدت ۱ تا ۲ دقیقه به هم زده آغشته شدند و همه‌ی فیله‌ها تیمار شده را به مدت ۲ دقیقه در آبکشی قرار داده (تحت شرایط محیطی) تا محلول‌ها حذف و پوشش به خوبی انجام شود سپس با وکیوم معمولی و اتمسفر اصلاح شده (۸۰٪ کربن دی اکسید، ۱۹٪ نیتروژن و ۱٪ اکسیژن) بسته‌بندی شوند (۱۵).

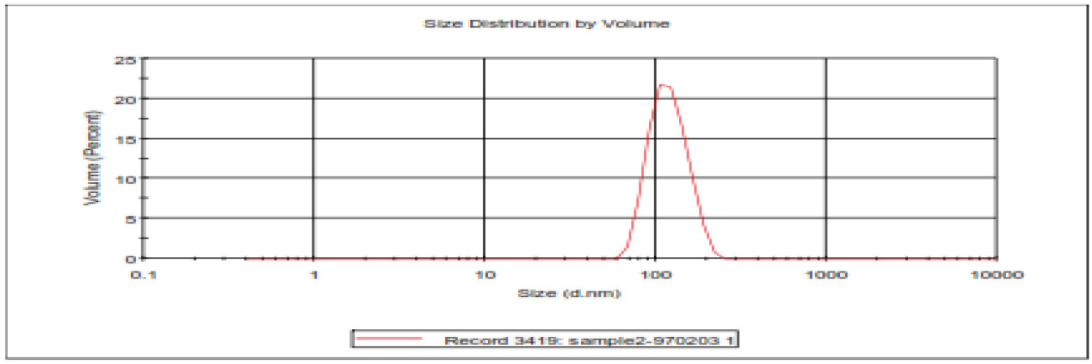
در مجموع ۹ گروه نمونه با تیمارهای مختلف وجود داشته و نمونه‌ها در دمای ۰ الی ۴ درجه سانتی‌گراد یخچال نگهداری شده که مورد بررسی قرار گرفت. با در نظر گرفتن ۶ زمان (روز ۱، ۳، ۶، ۹، ۱۸ و ۲۷) با ۳ تکرار و ۴ تیمار، در مجموع ۷۲ فیله مورد ارزیابی قرار گرفت. زمانبندی‌های ذکر شده بر اساس مقالات موجود و زمان رخ داد فرایند فساد در بافت ماهی است (۱۶).

آماده‌سازی نمونه‌ها برای آزمون‌های میکروبی

آزمون‌های میکروبی انجام گرفته روی نمونه‌های ماهی شامل شمارش کلی میکروارگانیسم‌های زنده مزوفیل، سرمادوست، Pseudomonas aeruginosa، کپک و مخمر، باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) و باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه بود. در روزهای آزمایش دو نمونه از هر تیمار در شرایط سترون باز و ۱۰ گرم نمونه ماهی در کیسه‌های سترون توزین شد. ۹۰ سی‌سی محلول سرم فیزیولوژیکی (۰/۹٪ سدیم کلراید) سترون به نمونه افزوده شد. درب کیسه‌ها بسته و در دستگاه مخلوط کن کیسه‌ای به



شکل ۱- نمودار پراکندگی و قطر نانوذرات نانوکامپوزیت کیتوزان ۱٪



شکل ۲- نمودار پراکندگی و قطر نانوکامپوزیت کیتوزان ۱/۵٪

www.SID.ir

Archive of SID

مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق همگن شدند. در روزهای مختلف رقت‌های مختلف از نمونه‌ی همگن شده با استفاده از سرم فیزیولوژیك تهیه و جهت شمارش میکروارگانیسم ثبت شده مورد استفاده قرار گرفت. پس از گرمخانه گذاری تعداد کلنی‌ها شمارش و بر حسب لگاریتم CFU در گرم نمونه گزارش شد(۱۷).

اندازه‌گیری پراکسید

از پراکسید به جهت روند اکسیداسیون چربی و درجه فساد محاسبه می‌گردد. برای تعیین مقدار پراکسید ابتدا ۱۵ گرم از گوشت بدون استخوان ماهی را که خوب میکس کرده، در دکانتور۵۰۰ میلی‌لیتر قرار داده، سپس ۳۰ میلی‌لیتر کلروفرم به آن افزوده و تکان داده مجددا" ۳۰

جدول ۱- خصوصیات مربوط به اندازه‌گیری قطر نانوذرات.

نمونه	PDI	اندازه ذرات (نانومتر)
نانوکامپوزیت کیتوزان ۱٪	۰/۵۴	۳۴
نانوکامپوزیت کیتوزان ۱/۵٪	۰/۳۲	۱۱۷

جدول ۲ - نتایج حاصل از اندازه گیری اندیس پراکسید.

تیمار	زمان نگهداری					
	۰	۳	۶	۹	۱۸	۲۷
Control	۱/۰۴ ±۰/۱۲ ^{Aa}	۳/۱۱ ±۰/۱۹ ^{Ba}	۸/۲۴ ±۰/۴۲ ^{Ca}	۱۸/۳۶ ±۰/۵۳ ^{Da}	۲۶/۶۰ ±۰/۴۸ ^{Ea}	۳۱/۴۰ ±۰/۴۱ ^{Fa}
Map cntr	۰/۹۵ ±۰/۰۲ ^{Aa}	۲/۷۸ ±۰/۱۸ ^{Ba}	۶/۰۸ ±۰/۲۸ ^{Cc}	۱۲/۵۵ ±۰/۴۴ ^{Db}	۱۷/۹۳ ±۰/۴۱ ^{Ec}	۲۵/۳۹ ±۱/۰۲ ^{Fc}
Vap cntr	۰/۹۹ ±۰/۱۷ ^{Aa}	۲/۹۱ ±۰/۳۳ ^{Aa}	۶/۹۰ ±۰/۰۹ ^{Bb}	۱۲/۵۶ ±۰/۵۷ ^{Db}	۲۱/۵۴ ±۱/۴۹ ^{Db}	۲۸/۱۴ ±۱/۴۰ ^{Eb}
Map chit	۰/۹۳ ±۰/۰۴ ^{Aa}	۲/۳۹ ±۰/۰۶ ^{Bb}	۵/۳۸ ±۰/۳۶ ^{Cc}	۸/۶۶ ±۰/۲۷ ^{Dc}	۱۶/۳۹ ±۰/۶۳ ^{Ed}	۲۴/۰۴ ±۰/۱۹ ^{Fcd}
Vap chit	۰/۹۷ ±۰/۱۲ ^{Aa}	۲/۳۸ ±۰/۱۳ ^{Bb}	۶/۰۸ ±۰/۱۵ ^{Cc}	۸/۷۲ ±۰/۳۰ ^{Dc}	۱۶/۲۷ ±۰/۲۰ ^{Ed}	۲۳/۴۲ ±۰/۳۶ ^{Fd}
Map anise	۰/۹۸ ±۰/۰۰ ^{Aa}	۲/۲۴ ±۰/۳۱ ^{Bb}	۴/۵۵ ±۰/۳۲ ^{Cd}	۸/۰۳ ±۰/۱۷ ^{Dc}	۱۶/۱۱ ±۱/۴۹ ^{Ed}	۲۲/۵۸ ±۰/۶۱ ^{Fd}
Vap anise	۰/۹۹ ±۰/۲۱ ^{Aa}	۲/۰۶ ±۰/۱۱ ^{Bb}	۴/۵۹ ±۰/۱۴ ^{Cd}	۷/۹۶ ±۰/۱۹ ^{Dc}	۱۶/۲۵ ±۰/۶۳ ^{Ed}	۲۲/۴۶ ±۰/۶۷ ^{Fd}
Map anise and chit	۰/۹۱ ±۰/۰۷ ^{Aa}	۲/۱۰ ±۰/۰۸ ^{Bb}	۴/۵۱ ±۰/۵۵ ^{Cd}	۸/۱۰ ±۰/۰۸ ^{Dc}	۱۴/۵۳ ±۰/۵۴ ^{Ee}	۱۸/۹۵ ±۰/۱۵ ^{Fe}
Vap anise and chit	۰/۹۲ ±۰/۰۵ ^{Aa}	۲/۱۵ ±۰/۲۰ ^{Bb}	۴/۴۶ ±۰/۲۴ ^{Cd}	۸/۰۲ ±۰/۱۴ ^{Dc}	۱۴/۳۸ ±۰/۳۳ ^{Ee}	۱۸/۷۸ ±۰/۵۲ ^{Fe}

Vap anise: نمونه پوشش داده شده با اسانس رازیانه و بسته بندی شده در شرایط خلاء،

Map anise and chit: نمونه پوشش داده شده با نانوکیتوزان حاوی رازیانه و بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده،

Vap anise and chit: نمونه پوشش داده شده با نانوکیتوزان حاوی رازیانه و بسته بندی شده در شرایط خلاء.

***Control**: نمونه شاهد و بسته بندی شده در بسته بندی معمولی،

Map cntr: نمونه بدون تیمار بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده،

Vap cntr: نمونه بدون تیمار بسته بندی شده تحت شرایط خلاء،

Map chit: نمونه پوشش داده شده با نانوکیتوزان و بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده،

Vap chit: نمونه پوشش داده شده با نانوکیتوزان و بسته بندی شده در شرایط خلاء،

Map anise: نمونه پوشش داده شده با اسانس رازیانه و بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده،

**حروف کوچک متفاوت در جدول نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بوده و حروف انگلیسی بزرگ در جدول نشان دهنده اثر معنی‌دار زمان بر روی تیمارها است.

www.SID.ir

Archive of SID

میلی‌لیتر کلروفرم و بعد ۶۰ میلی‌لیتر متانول به آن افزوده شد. پس از ۱۲-۲۴ ساعت، ۳۶ میلی‌لیتر آب مقطر به نمونه افزوده و به مدت ۲-۱ ساعت استراحت داده تا ۳ فاز تشکیل شود. مقدار ۲۰ میلی‌لیتر از فاز پایین، به ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتر سر سمباده‌ای انتقال داده، ۲۵ میلی‌لیتر اسید استیک کلروفرمی به آن افزوده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر محلول یدور پتاسیم اشباع و ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به محتویات ارلن اضافه شد و به مدت ۱ دقیقه در تاریکی استراحت کرده و بعد مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر معرف نشاسته ۱٪ به آن افزوده شد. ید آزاد شده، باعث تغییر رنگ محلول شده که با محلول تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال، تا بیرنگ شدن محلول یا ظهور رنگ شیری و شفاف شدن فاز بالایی روغن تیتر می‌شود (۱۸).

آنالیز آماری

جامعه آماری موجود در این تحقیق بصورت (گروه تیمار و گروه کنترل و گروه بسته بندی) بوده که در مجموع ۹ گروه را دربرداشت. داده‌های تحقیق با انجام آزمون‌های مختلف روی نمونه فیله بدست آمد. برای تجزیه و تحلیل و مقایسه گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و مقایسه‌ی میانگین‌ها نیز با روش دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۲۲ انجام شد و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel ۲۰۱۶ انجام گرفت.

نتایج

اندازه ذرات و بس پاشیدگی (Polydispersity index) نانوکامپوزیت کیتوزان: پارامتری که جهت ساخت یک نانوکامپوزیت کیتوزان مطرح است، ارزیابی DLS بود که این شاخص نیز نشان‌دهنده اندازه ذرات و توزیع پراکندگی اندازه ذرات است که به صورت یک نمودار نشان داده است (شکل ۱ و ۲). مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۱-۲۳۹۴

جدول ۳ - نتایج حاصل از شمارش باکتری‌های کل مزوفیل هوازی

تیمار	زمان نگهداری					
	۰	۳	۶	۹	۱۸	۲۷
Control	۲/۲۲ ±۰/۰۸ Aa	۴/۰۴ ±۰/۱۷ Ba	۶/۹۸ ±۰/۲۰ Ca	۸/۱۵ ±۰/۱۱ Da	۸/۳۸ ±۰/۰۹ DEa	۸/۵۵ ±۰/۰۷ Ea
Map cntr	۲/۱۹ ±۰/۱۲ Aa	۳/۲۱ ±۰/۱۴ Bcd	۴/۲۱ ±۰/۰۸ Cc	۵/۷۲ ±۰/۱۹ Db	۷/۱۷ ±۰/۱۵ Eb	۸/۲۱ ±۰/۱۰ Fb
Vap cntr	۲/۳۵ ±۰/۰۴ Aa	۳/۷۳ ±۰/۱۱ Bb	۵/۰۰ ±۰/۱۶ Cb	۶/۰۴ ±۰/۱۹ Db	۷/۴۱ ±۰/۲۸ Eb	۸/۳۰ ±۰/۱۱ Fb
Map chit	۲/۲۱ ±۰/۰۴ Aa	۳/۲۴ ±۰/۱۴ Bcd	۴/۰۳ ±۰/۰۷ Cc	۵/۲۵ ±۰/۰۴ Db	۶/۷۶ ±۰/۱۰ Ec	۸/۲۵ ±۰/۰۰ Fb
Vap chit	۲/۲۱ ±۰/۰۲ Aa	۳/۲۲ ±۰/۰۵ Bcd	۴/۲۲ ±۰/۱۵ Cc	۵/۷۱ ±۰/۲۸ Dc	۷/۲۲ ±۰/۰۵ Eb	۸/۳۰ ±۰/۱۵ Fb
Map anise	۲/۲۰ ±۰/۱۲ Aa	۳/۱۴ ±۰/۰۴ Bd	۴/۰۷ ±۰/۰۱ Cc	۵/۳۳ ±۰/۰۹ Dc	۶/۸۱ ±۰/۱۳ Ec	۸/۱۲ ±۰/۱۶ Fb
Vap anise	۲/۱۸ ±۰/۰۸ Aa	۳/۴۸ ±۰/۱۲ Bc	۴/۲۱ ±۰/۱۳ Cc	۵/۶۹ ±۰/۱۰ Db	۷/۲۴ ±۰/۱۳ Eb	۸/۰۵ ±۰/۰۱ Fb
Map anise and chit	۲/۲۰ ±۰/۱۴ Aa	۳/۰۶ ±۰/۰۳ Bd	۴/۰۳ ±۰/۱۶ Cc	۵/۲۳ ±۰/۰۴ Dc	۶/۱۷ ±۰/۱۱ Ed	۶/۹۸ ±۰/۱۰ Fd
Vap anise and chit	۲/۲۰ ±۰/۰۹ Aa	۳/۲۳ ±۰/۰۳ Bcd	۴/۰۱ ±۰/۰۶ Cc	۵/۲۴ ±۰/۰۹ Dc	۶/۵۲ ±۰/۵۳ Ec	۷/۳۰ ±۰/۰۹ Fc

Control: نمونه شاهد و بسته بندی شده در بسته بندی معمولی،

Map cntr: نمونه بدون تیمار بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده،

Vap cntr: نمونه بدون تیمار بسته بندی شده تحت شرایط خلاء،

Map chit: نمونه پوشش داده شده با نانوکیتوزان و بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده،

Vap chit: نمونه پوشش داده شده با نانوکیتوزان و بسته بندی شده در شرایط خلاء،

Map anise: نمونه پوشش داده شده با اسانس رازیانه و بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده،

Vap anise: نمونه پوشش داده شده با اسانس رازیانه و بسته بندی شده در شرایط خلاء،

Map anise and chit: نمونه پوشش داده شده با نانوکیتوزان حاوی رازیانه و بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده،

Vap anise and chit: نمونه پوشش داده شده با نانوکیتوزان حاوی رازیانه و بسته بندی شده در شرایط خلاء.

**حروف کوچک متفاوت در جدول نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بوده و حروف انگلیسی بزرگ در جدول نشان دهنده اثر معنی‌دار زمان بر روی تیمارها می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

در شمارش کل میکروارگانیسم‌های مزوفیل حد مجاز تعیین شده برای کیفیت میکروبی ماهی ۷ cfu/g است. در این بررسی نتایج حاصل از آزمون‌های میکروبی، نشان داد بار میکروبی ماهی در شرایط دمایی یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) تا ۶ روز در حد مجاز (۶/۹۸ cfu/g) قرار دارد.

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده شد شاخص PDI با افزایش میزان نانوکامپوزیت کیتوزان کاهش یافته و در حقیقت توزیع ذرات به صورت مناسب‌تری انجام شده است. نتایج این بررسی نشان داد مدت زمان نگهداری، نوع بسته‌بندی و پوشش مورد استفاده توانسته اثر معنی‌داری ایجاد نماید ($P<0/05$).

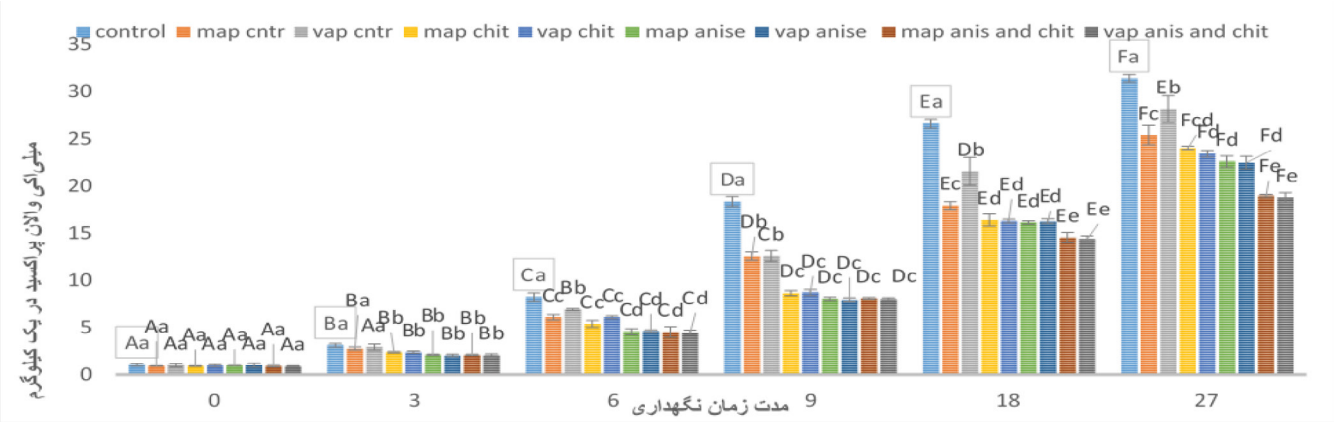
از مواردی که بر روی عدد پراکسید تاثیر گذارند تیمار مورد استفاده در این پژوهش بوده به سه دسته تقسیم شدند یعنی استفاده از نانوکامپوزیت کیتوزان، اسانس رازیانه و استفاده از نانوکامپوزیت کیتوزان + اسانس رازیانه به صورت همزمان.

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود بسته بندی مورد استفاده در این پژوهش شامل بسته‌بندی MAP و VAP بود که بر اساس نتایج اثر بسته بندی MAP بر میزان عدد پراکسید بیشتر از بسته‌بندی تحت خلاء بود. با این حال بسته‌بندی خلاء دارای تاثیر قابل ملاحظه‌ای است. در جدول ۲ و نمودار۱ مشاهده می‌شود میزان محصولات اولیه اکسیداسیون در نمونه شاهد از ۱/۰۴ به ۳۱/۴ میلی اکی‌والان افزایش داشت که در حقیقت نشان می‌دهد این نمونه پس از ۲۷ روز دارای مقادیر زیادی ترکیبات هیدروپراکسیدی می‌باشد. حضور پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس به صورت جداگانه با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی توانست به طور قابل توجهی میزان هیدروپراکسیدها را کاهش دهند که اثر هردو یکسان بود. اما استفاده از نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس به صورت همزمان توانست اثر سینرژیستی مناسبی ایجاد نماید به طوری که در روز ۲۷ عدد پراکسید برای نمونه ماهی بسته بندی شده در اتمسفر اصلاح شده و خلاء به ترتیب ۱۸/۹۵ و ۱۸/۷۴ میلی اکی‌والان بود.

البته این نکته نیز حائز اهمیت است که جمعیت میکروبی اولیه نقش بسیار موثری بر مدت زمان نگهداری ماهی دارد که اگر جمعیت میکروبی ماهی بین ۶-۲ سیکل لگاریتمی باشد نشان از سلامت و آلودگی پایین ماهی دارد.

همچنین جدول ۳ و نمودار ۲ نشان می‌دهند نمونه ماهی‌های دارای پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان حاوی اسانس رازیانه توانسته به طور قابل ملاحظه‌ای تا روز ۲۷ جمعیت میکروبی ماهی را کنترل کرده و در حد نرمال نگهدارد. در حالی که همین نمونه در شرایط بسته‌بندی خلاء دارای جمعیت میکروبی بالاتری می‌باشد و بیشتر از حد مجاز بود (۷/۳۰ cfu/g) با این حال می‌توان گفت این تیمار تا روز ۲۵ احتمالا توانسته جمعیت میکروبی را در حد مجاز نگهدارد. دلیل اصلی اثر این پوشش بار مثبتی است که با بار منفی ماکرومولکول‌های سطح سلول میکروب در تعامل است. نانوکامپوزیت کیتوزان می‌تواند روی سطح سلول به صورت غشای پلیمری گرفته و از ورود ترکیبات مغذی به داخل سلول جلوگیری کند که به عنوان سدی در مقابل اکسیژن بوده و از رشد باکتری‌های هوازی جلوگیری می‌نماید.

بین اثر بسته‌بندی VAP و MAP همان‌طور که در جدول ۴ مشخص است تفاوت چندانی وجود ندارد ولی در روز ۱۸ میزان میکروارگانیسم کل مزوفیل در حد غیرمجاز قرار گرفت با این حال می‌توان گفت بسته بندی MAP و VAP قادر است تا ۱۵ روز جمعیت میکروبی را در حد مجاز نگهدارد. در جدول ۴ و نمودار ۳ مشاهده می‌شود جمعیت میکروبی در روز اول در نمونه کنترل ۲/۷۲ cfu/g بود ولی پس از ۲۷



نمودار ۱- نتایج مربوط به آزمون عدد پراکسید. حروف انگلیسی کوچک نشان دهنده این است که اختلاف موجود معنادار است و حروف انگلیسی بزرگ در جدول نشان دهنده اثر معنی دار زمان بر روی تیمارها می باشد.

www.SID.ir

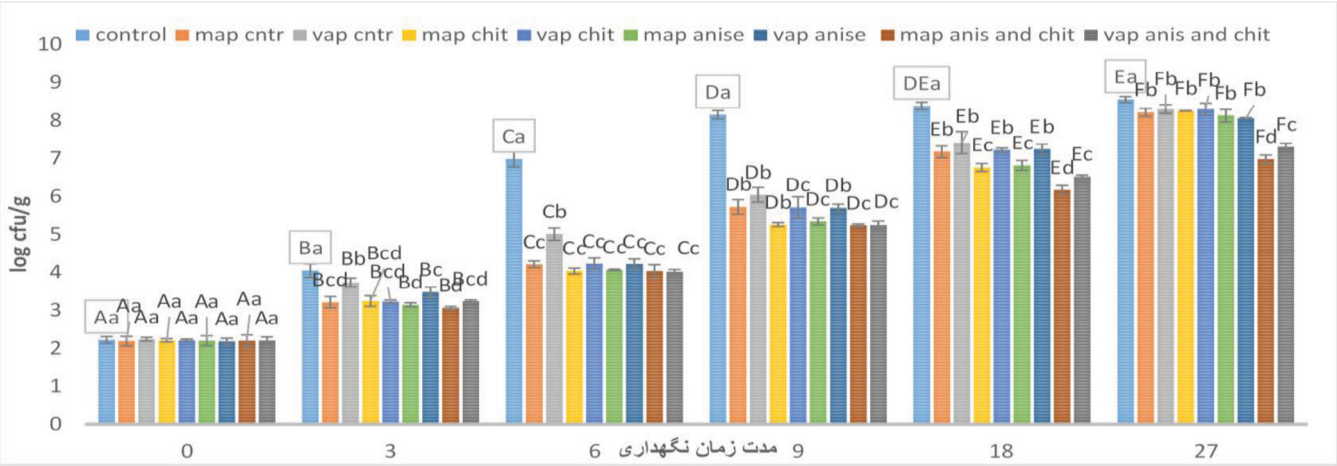
Archive of SID

روز به ۸/۵۵ cfu/g رسید. در نمونه کنترل پس از گذشت ۹ روز جمعیت میکروبی باکتری‌های سرمادوست بیش از حد مجاز ارزیابی شد (cfu/g ۸/۱۵). نتایج شمارش باکتری‌های سرمادوست نشان داد اثر بسته‌بندی MAP و VAP نسبت به یکدیگر معنی دار نبود اگرچه نسبت به نمونه کنترل تا روز ۹ جمعیت میکروبی یک سیکل لگاریتمی کمتر بود. بسته بندی MAP و VAP توانست به همراه پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس رازیانه جمعیت میکروبی را طی مدت زمان نگهداری (۲۷ روز) تا حد قابل توجهی کنترل نماید (به ترتیب cfu/g ۷/۳۰ و ۸/۵۵). در روز ۱۸ این تیمارها در حد مجاز قرار داشت بنابراین می‌توان گفت این تیمارها توانست بیش از ۱۸ روز و کمتر از ۲۷ روز تعداد باکتری‌های سرمادوست را در حد مجاز قرار دهد.

نتایج آنالیز آماری نشان داد بین تیمار پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس رازیانه تفاوت معنی‌دار وجود دارد که این نشان از برتری بسته‌بندی MAP به VAP است. می‌توان از نمودار ۳ دریافت که اثر نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس به تنهایی به همراه بسته بندی MAP و VAP معنی‌دار نیست و در واقع اثر نانوکامپوزیت کیتوزان و رازیانه به تنهایی مشابه یکدیگر است اما به همراه هم اثر سینرژیستی بر روی میکروارگانیسم‌های سرمادوست داشت(۱۸ روز < باکتریهای سرمادوست < ۲۷روز).

استفاده از نانوکامپوزیت کیتوزان به همراه اسانس به دلیل خاصیت سینرژیستی می‌تواند تا حد قابل ملاحظه‌ای از رشد باکتری-های سرمادوست جلوگیری نماید. این موضوع تا حد زیادی به دلیل گروه‌های آمین فعال در ساختار نانوکامپوزیت کیتوزان است که سبب خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی داشته باشد. اسانس رازیانه به دلیل داشتن ترکیبات فنولی و ترکیبات ضد میکروبی دیگر نیز توانسته به طور چشم‌گیری از رشد میکروارگانیسم‌های سرمادوست جلوگیری نماید. اگرچه اکثر باکتری‌های سرما دوست گرم منفی هستند معمولا اسانس چندان تاثیری روی این میکروارگانیسم‌ها ندارد اما در این پژوهش خلاف این موضوع مشخص شد. در بررسی انجام شده توسط ولی پور کوتئانی نتایج شمارش‌سرمادوست‌ها نشان داد استفاده همزمان نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس قادر است تا روز ۱۲ جمعیت میکروبی را در حد مجاز نگهدارد. بررسی حاضر نشان داد که پوشش دادن فیل ماهی Huso huso با نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس رازیانه به همراه بسته‌بندی MAP می‌توان مدت زمان نگهداری ماهی افزایش داد. این مدت نگهداری در نمونه کنترل ۶ روز بوده و در نمونه تیمار شده با پوشیده نانوکامپوزیت کیتوزان حاوی اسانس رازیانه و بسته‌بندی MAP در روز ۱۸ دارای ویژگی مطلوبی بود بنابراین می‌توان آنرا بیش از ۱۸ روز نیز نگهداری نمود. برای تعیین مدت زمان نگهداری فیل ماهی Huso huso چندین ارزیابی صورت گرفت.

ارزیابی شیمیایی مربوط به ترکیبات آمینی تولید شده و فعالیت اکسیداسیونی نشان داد که استفاده از پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان حاوی اسانس رازیانه به همراه بسته‌بندی MAP به مدت ۱۸ روز، فاکتورهای شیمیایی فیل ماهی را در حد مطلوب نگه می‌دارد. در حالی که نمونه کنترل پس از روز ۶ ویژگی مناسبی برای نگهداری نداشت. ارزیابی ویژگی‌های میکروبی و شمارش میکروارگانیسم‌ها نیز نشان از کارایی و عملکرد مناسب بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده و به کارگیری پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان حاوی اسانس به همراه آن داشت. استفاده از پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان حاوی اسانس رازیانه در تمام مراحل آزمون میکروبی (به غیر از روز ۲۷ شمار باکتری‌های سرمادوست) دارای حد مجازی از میکروارگانیسم‌ها بود. بنابراین این آزمون‌ها نشان



نمودار ۲ - نتایج مربوط به شمارش باکتری های کل مزوفیل هوازی.

www.SID.ir

Archive of SID

از عملکرد مناسب تیمار داشت. فاکتور اصلی تا حد زیادی سبب شد که از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری نماید و به دنبال آن از تولید ترکیبات آمینی نیز جلوگیری شود. حضور میزان زیاد دی اکسید کربن در بسته‌بندی MAP می‌تواند بر جمعیت میکروبی اولیه میکروارگانیسم‌های روی ماهی نقش موثری در نگهداری دارد.

بحث

کاهش سرعت واکنش‌های اکسایش چربی و تشکیل اولیه اکسایش نظیر هیدروپراکسیدها در فراورده‌های گوشتی در حضور اسانس‌های گیاهی و سایر ترکیبات نگهدارنده طبیعی نیز گزارش شده است. استفاده از اسانس‌های آویشن، مریم گلی، میخک و رزماری در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به فیله‌های ماهی قزل‌آلا رنگین کمان دودی شده و بسته‌بندی در خلاء VAP سبب کاهش سرعت تشکیل هیدروپراکسید نسبت به نمونه شاهد گردید و اختلاف معنی داری بین اسانس‌های مورد بررسی از نظر کاهش اندیس پراکسید مشاهده نشد. به طور معمول، براساس تعریفی که برای نانوذرات وجود دارد باید اندازه این ذرات کمتر از ۲۰۰ نانومتر باشد (۱۹). براساس نتایج حاصل از پژوهش میانگین قطر نانوذرات برای نانوکامپوزیت کیتوزان ۱ و ۱/۵ درصد به ترتیب ۳۴ نانومتر و ۱۱۷ نانومتر می‌باشد که نشان دهنده پایداری هردو نانوکامپوزیت کیتوزان است. بررسی حاضر نشان داد که پوشش دادن فیل ماهی Huso huso با نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس رازیانه به همراه بسته‌بندی MAP می‌توان مدت زمان نگهداری ماهی افزایش داد. این مدت نگهداری در نمونه کنترل ۶ روز بوده و در نمونه تیمار شده با پوشیده نانوکامپوزیت کیتوزان حاوی اسانس رازیانه و بسته‌بندی MAP در روز ۱۸ دارای ویژگی

جدول ۴- نتایج حاصل از شمارش باکتری‌های سرمادوست

تیمار	زمان نگهداری					
	۰	۳	۶	۹	۱۸	۲۷
Control	۲/۷۲ ±۰/۱۶ Aa	۴/۰۵ ±۰/۱۹ Ba	۶/۷۴ ±۰/۲۳ Ca	۸/۱۵ ±۰/۰۵ Da	۸/۳۸ ±۰/۰۵ Ea	۸/۵۵ ±۰/۱۶ Fa
Map cntr	۲/۷۱ ±۰/۰۷ Aa	۳/۳۱ ±۰/۰۹ Bbc	۵/۸۶ ±۰/۱۰ Cb	۵/۷۲ ±۰/۱۹ Dc	۷/۱۷ ±۰/۰۵ Ea	۸/۲۱ ±۰/۰۶ Fa
Vap cntr	۲/۷۴ ±۰/۲۳ Aa	۳/۳۵ ±۰/۰۷ Bb	۵/۸۶ ±۰/۰۷ Cb	۶/۰۴ ±۰/۰۹ Db	۷/۴۱ ±۰/۲۰ Ea	۸/۳۰ ±۰/۰۲ Ea
Map chit	۲/۷۲ ±۰/۱۲ Aa	۳/۳۱ ±۰/۰۵ Bbc	۴/۹۴ ±۰/۰۹ Cd	۵/۲۵ ±۰/۱۲ Dde	۶/۷۶ ±۰/۱۶ Eb	۸/۲۵ ±۰/۰۶ Fbc
Vap chit	۲/۷۴ ±۰/۰۶ Aa	۳/۳۱ ±۰/۰۳ Bbc	۵/۲۹ ±۰/۰۴ Cc	۵/۷۱ ±۰/۰۴ Dd	۷/۲۲ ±۰/۰۵ Eb	۸/۳۰ ±۰/۰۹ Fa
Map anise	۲/۶۸ ±۰/۰۷ Aa	۳/۱۸ ±۰/۰۵ Bbc	۵/۰۲ ±۰/۰۹ Cd	۵/۳۳ ±۰/۰۳ Dde	۶/۸۱ ±۰/۱۴ Eb	۸/۱۲ ±۰/۲۲ Fbc
Vap anise	۲/۶۸ ±۰/۰۴ Aa	۳/۱۳ ±۰/۰۳ Bc	۵/۲۹ ±۰/۰۹ Cc	۵/۶۹ ±۰/۰۸ Dde	۷/۲۴ ±۰/۱۰ Eb	۸/۰۵ ±۰/۱۴ Fb
Map anise and chit	۲/۷۲ ±۰/۱۹ Aa	۳/۱۴ ±۰/۰۲ Bbc	۴/۳۰ ±۰/۰۹ Cd	۵/۲۳ ±۰/۰۴ De	۶/۱۷ ±۰/۰۷ Ec	۶/۹۸ ±۰/۱۵ Fd
Vap anise and chit	۲/۷۴ ±۰/۰۴ Aa	۳/۱۵ ±۰/۰۸ Bbc	۴/۳۷ ±۰/۰۶ Cd	۵/۲۴ ±۰/۰۹ De	۶/۵۲ ±۰/۰۵ Eb	۷/۳۰ ±۰/۰۸ Fcd

Map anise: نمونه پوشش داده شده با اسانس رازیانه و بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده،

Vap anise: نمونه پوشش داده شده با اسانس رازیانه و بسته بندی شده در شرایط خلاء،

Map anise and chit: نمونه پوشش داده شده با نانوکیتوزان حاوی رازیانه و بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده،

Vap anise and chit: نمونه پوشش داده شده با نانوکیتوزان حاوی رازیانه و بسته بندی شده در شرایط خلاء.

***Control:** نمونه شاهد و بسته بندی شده در بسته بندی معمولی،

Map cntr: نمونه بدون تیمار بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده،

Vap cntr: نمونه بدون تیمار بسته بندی شده تحت شرایط خلاء،

Map chit: نمونه پوشش داده شده با نانوکیتوزان و بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده،

Vap chit: نمونه پوشش داده شده با نانوکیتوزان و بسته بندی شده در شرایط خلاء،

**حروف کوچک متفاوت در جدول نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بوده و حروف انگلیسی بزرگ در جدول نشان دهنده اثر معنی‌دار زمان بر روی تیمارها می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

مطلوبی بود.

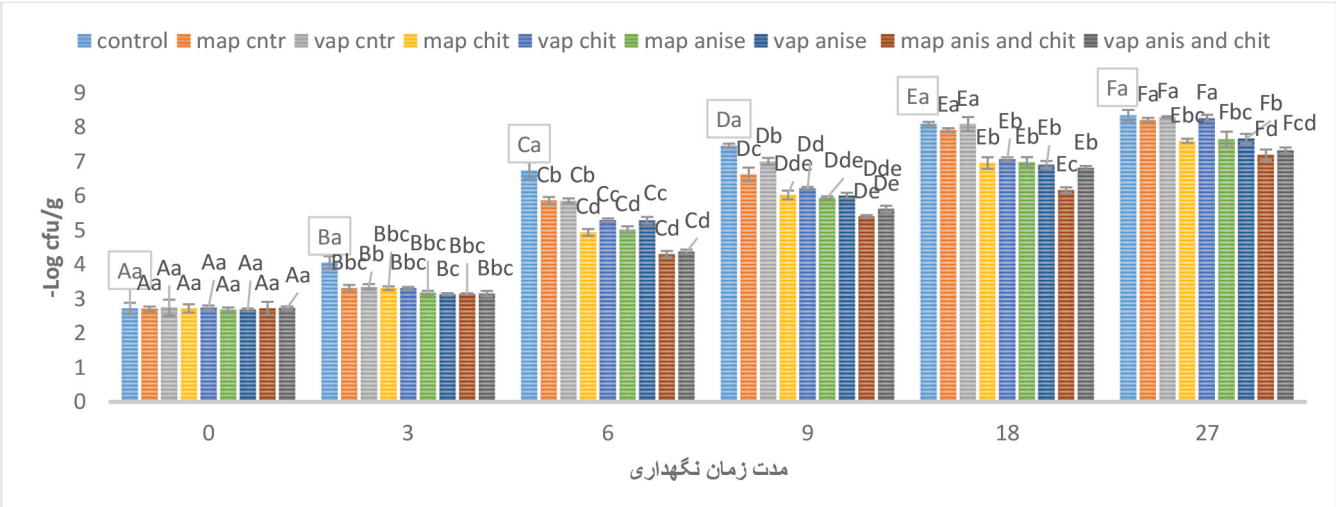
از مواردی که بر روی جمعیت میکروبی تاثیر بسزایی دارد حضور نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس رازیانه است. در هنگام بسته‌بندی تحت خلاء، حضور این دو عامل به صورت مجزا تاثیر معنی‌داری را ایجاد نکرد در حالیکه نمونه‌های پوشیده شده با نانوکامپوزیت کیتوزان و رازیانه (به صورت مجزا) در بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده به طور قابل ملاحظه‌ای جمعیت میکروبی را کاهش داده و تاثیر معنی داری را ایجاد نمود و در حقیقت به مدت ۱۸ روز از رشد غیر مجاز میکرواگانیسم‌ها جلوگیری نمود.

در برخی مطالعات نتایج مشابهی دیده و همچنین روش تولید نانوکامپوزیت کیتوزان تا حد زیادی می‌تواند بر روی این شاخص‌ها تاثیر گذار باشند (۲۰). در مطالعه قادری و همکاران (۱۳۹۵)، مشاهده شد شاخص PDI بالاتر از ۰/۲۵ قرار داشته به طوری که این شاخص برای نانوکامپوزیت کیتوزان ۱٪، ۰/۴۳ بود (۲۱). بررسی حاضر نشان داد که پوشش دادن فیل ماهی Huso huso با نانوکامپوزیت کیتوزان ۱ و ۱/۵ درصد که به ترتیب قطر ذرات ۳۴ نانومتر و ۱۱۷ نانومتر بوده و نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس رازیانه به همراه بسته‌بندی MAP می‌توان مدت زمان نگهداری ماهی افزایش داد. مدت نگهداری در نمونه کنترل ۶ روز بوده ولی نمونه تیمار شده با پوشیده نانوکامپوزیت کیتوزان حاوی اسانس رازیانه و بسته‌بندی MAP در روز ۱۸ دارای ویژگی مطلوبی بود.

در تحقیقی که توسط حسینی و همکاران (۲۰۱۳) انجام شده، قطر نانوکامپوزیت کیتوزان ۲۸۱ نانومتر گزارش شد و همچنین قادری و همکاران (۱۳۹۵)، نشان دادند قطر نانوذرات نانوکامپوزیت کیتوزان ۱٪ به طور میانگین ۲۱۵ نانومتر بود (۲۲). نتایج تحقیق فوق که پوشش دادن فیل ماهی Huso huso با نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس رازیانه به همراه بسته بندی MAP می‌توان مدت زمان نگهداری ماهی افزایش داد. این مدت نگهداری در نمونه کنترل ۶ روز بوده و در نمونه تیمار شده با پوشیده نانوکامپوزیت کیتوزان حاوی اسانس رازیانه و بسته‌بندی MAP در روز ۱۸ دارای ویژگی مطلوبی بود.

در مطالعه‌ای که توسط پیله‌رام و همکاران (۱۳۹۷) انجام شد نشان داد استفاده از اسانس فلفل سیاه و پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان توانست نسبت به نمونه شاهد ۲ سیکل لگاریتمی جمعیت میکروبی را کاهش دهد (۲۳) . علاوه بر این مشخص شد نمونه ماهی دارای پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان حاوی اسانس فلفل در بسته‌بندی MAP قادر است ۱۵ روز جمعیت میکروبی را کنترل نماید و در حد مجاز نگهدارد. در حالی که در بررسی‌های ما مشخص شد به مدت ۲۷ روز جمعیت میکروبی در حد مجاز قرار خواهد داشت که این موضوع تا حد زیادی به نوع اسانس، بار میکروبی و ترکیبات بسته‌بندی MAP وابسته است. از طرفی در رابطه با مقایسه بسته‌بندی MAP (دارای کربن دی اکسید و نیتروژن) و VAP نتایج شمارش جمعیت میکروبی نشان داد بسته‌بندی MAP نسبت به VAP ۱-۱/۵ سیکل لگاریتمی جمعیت میکروبی را کمتر می‌نماید(۱۴). اما در مقایسه‌ای توسط الک و همکاران (۲۰۱۰) بین بسته‌بندی MAP، VAP و پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان انجام شد نتایج نشان داد نانوکامپوزیت کیتوزان تاثیر موثرتری نسبت به این دو بسته‌بندی داشت و این موضوع نشان از اهمیت نانوکامپوزیت کیتوزان دارد (۲۴-۲۳).

Pietro Lo Cantore و همکاران (۲۰۰۴) ، به بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره دانه رازیانه و گشنیز بر باکتری اشرشیاکلی و باسیلوس مگاتریوم پرداخت. اثر ضدمیکروبی قابل توجهی برای عصاره گشنیز و اثر کمی برای رازیانه مشاهده شد. نتایج حاصل از بررسی حاضر نشان داد که



نمودار ۳- نتایج مربوط به شمارش باکتری های سرمادوست.

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره رازیانه و گشنیز می‌تواند به عنوان باکتری‌کش طبیعی مفید برای از بین بردن باکتری های پاتوژن باشد (۲۵).
Sathivel و همکاران در سال (۲۰۰۷) بیان کردند که اثرات کیتوزان به عنوان پوشش خوراکی بر کیفیت فیله‌های سالمون صورتی پوست زدایی شده در طی ۳ و ۸ ماه نگهداری به صورت منجمد ارزیابی شد. پوشش‌های کیتوزانی از کاهش رطوبت فیله‌ها به میزان حدود ۵۰ درصد در مقایسه با فیله‌های فاقد پوشش کیتوزان (شاهد) جلوگیری کرده و در تاخیر اکسیداسیون چربی موثر بوده است (۲۷).
طبق مطالعات Souza و همکاران (۲۰۱۰)، بررسی اثر پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان بر ماندگاری فیله ماهی سالمون (Salmo salar) ذخیره شده در ۰ درجه سانتی‌گراد برای ۱۸ روز بوده، نتایج نشان داده که TVB، TMA و TBA بعد از ۹ روز ذخیره سازی به میزان قابل توجهی در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافته است (۲۸). در این رابطه Alak و همکاران (۲۰۱۰)، به مقایسه بین بسته‌بندی MAP و VAP و پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان پرداختند که نتایج نشان دادند بسته‌بندی MAP نسبت به سایر تیمارها عملکرد بهتری داشت و توانست رشد باکتری‌های سرما دوست را کنترل نماید (۲۹).
Petrou و همکاران (۲۰۱۲)، نشان دادند حضور همزمان اسانس پونه کوهی و نانوکامپوزیت کیتوزان قادر است ۳-۴ سیکل لگاریتمی از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری نماید. در این راستا تحقیقات دیگری نیز انجام شده است که همگی نشان از اثر سینرژیستی اسانس با نانوکامپوزیت کیتوزان بر جمعیت میکروبی داشتند (۳۰).
در مطالعه‌ای LI و همکاران (۲۰۱۳)، بر روی افزایش کیفیت (بهبود کیفیت) فیله‌های Red drum (Sciaenops ocellatus) با استفاده از پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان و عصاره‌ی دانه‌ی انگور و پلی فنل‌های چای در دمای یخچال انجام شد که تیمارها به مدت ۲۰ روز در دمای یخچال (۴±۱ درجه سانتی‌گراد) ذخیره شده و مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ماندگاری فیله‌ها در روز ۸ به میزان قابل توجهی نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت (۳۱).

نتیجه‌گیری

در نتیجه نمونه تیمار شده با پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس رازیانه به همراه بسته‌بندی MAP توانست کیفیت میکروبی و شیمیایی مناسبی فراهم نماید. اما خصوصیات شیمیایی فیل ماهی نشان داد مدت زمان ماندگاری حداقل ۱۸ روز مطلوب است. بنابراین با روش بسته‌بندی MAP واستفاده از بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده می‌توان فیل ماهی را به مدت ۱۸ روز با کیفیت مطلوب در دمای یخچال نگهداری نمود. اگرچه شمارش میکروارگانیسم‌ها نشان داد در روز ۲۷ نمونه دارای پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان و اسانس رازیانه در حد مجازی قرار دارند ولی یکی از موارد اصلی کاهش کیفیت بافت و بوی بد ماهی در روز ۲۷ مشاهده شد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر مطالعه‌ای مستقل بوده که استخراج شده از رساله دکترای تخصصی است. این تحقیق بدون هرگونه وابستگی به نهاد یا سازمانی انجام شده است و بدینوسیله از آزمایشگاه میکروب شناسی و بهداشت مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و کلیه عزیزانی که در انجام این فعالیت علمی راهنمایی مفید و ارزنده داشتند قدردانی و تشکر می‌گردد.

منابع مورد استفاده

1.Tacon AG, Metian M. Feed matters: satisfying the feed demand of aquaculture. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture* 2015; 23(1):1-10.
2.Gómez-Estaca J, De Lacey AL, López-Caballero M, Gómez-Guillén M, Montero P. Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food microbiology* 2010; 27(7):889-96.
3.Venugopal V. Seafood processing: adding value through quick freezing, retortable packaging and cook-chilling: CRC press; 2005 ; 58-63.
4.Abdollahi M, Rezaei M, Farzi G. Influence of chitosan/clay functional bionanocomposite activated with rosemary essential oil on the shelf life of fresh silver carp. *International journal of food science & technology* 2014; 49(3):811-8.
5.Gómez-Estaca J, Gómez-Guillén M, Fernández-Martín F, Montero P. Effects of gelatin origin, bovine-hide and tuna-skin, on the properties of compound gelatin–chitosan films. *Food Hydrocolloids* 2011; 25(6):1461-9.
6.Dalgaard P. Spoilage of seafood. Encyclopedia of food science and nutrition: Academic Press; 2003. p. 2462-72.
7.Hosseini SV, Abedian-Kenari A, Rezaei M, Nazari RM, Feás X, Rabbani M. Influence of the in vivo addition of alpha-tocopheryl acetate with three lipid sources on the lipid oxidation and fatty acid composition of Beluga sturgeon, Huso huso, during frozen storage. *Food chemistry* 2010; 118(2):341-8.
8.Prakash B, Kedia A, Mishra PK, Dubey N. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities–potentials and challenges. *Food Control* 2015; 47:381-91.
9.Fernandez-Saiz P, Lagaron J, Ocio M. Optimization of the biocide properties of chitosan for its application in the design of active films of interest in the food area. *Food Hydrocolloids* 2009; 23(3):913-21.
10.Saad B, Masaudi A, Al Bureikan M. Antimicrobial activity of onion juice (Allium cepa), honey, and onion-honey mixture on some sensitive and multi-resistant microorganisms. *Life Science Journal* 2012; 9(2):125-9.
11. Pietro Lo Cantore, Nicola S Iacobellis, Adriana De Marco, Francesco Capasso, Felice Senatore. 2004.Antibacterial activity of

www.SID.ir

Archive of SID

Coriandrum sativum L. and Foeniculum vulgare Miller Var. vulgare (Miller) essential oils. *J Agric Food Chem* 52(26):7862-6.

12.Du W-L, Niu S-S, Xu Y-L, Xu Z-R, Fan C-L. Antibacterial activity of chitosan tripolyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions. *Carbohydrate Polymers* 2009; 75(3):385-9.

13.Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chemistry* 2010; 120(1):193-8.

14.Özyurt G, Kuley E, Özkütük S, Özogul F. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (Mullus barbatus) and goldband goatfish (Upeneus moluccensis) during storage in ice. *Food chemistry* 2009; 114(2):505-10.

15.Andevari GT, Rezaei M. Effect of gelatin coating incorporated with cinnamon oil on the quality of fresh rainbow trout in cold storage. *International Journal of Food Science & Technology* 2011; 46(11):2305-11.

16. AKSOY A, SEZER Ç. Combined Use of Laurel Essential Oil and Vacuum Packing to Extend the Shelf-Life of Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss) Fillets. DOI: 10.9775/kvfd.2019.21852

17.Gimenez B, Roncales P, Beltran JA. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2002; 82(10):1154-9.

18.Alboghbeish H, Khodanazary A. Comparative effects of chitosan and nanochitosan coatings enriched with green tea) Camellia sinensis L.(extract on quality of Costal trevally fish (Carangoides coeruleopinnatus) during refrigerated storage 2018;125-62.

19.Pal SL, Jana U, Manna PK, Mohanta GP, Manavalan R. Nanoparticle: An overview of preparation and characterization. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 2011; 1(6):228-34.

20.Gadhave AD. Nanoemulsions: formation, stability and applications. *International Journal for Research in Science and Advanced Technologies* 2014; 2(3):038-43.

21.Tsai ML, Bai SW, Chen RH. Cavitation effects versus stretch effects resulted in different size and polydispersity of ionotropic gelation chitosan–sodium tripolyphosphate nanoparticle. *Carbohydrate Polymers* 2008; 71(3):448-57.

22.Gelman A, Glatman L, Drabkin V, Harpaz S. Effects of storage temperature and preservative treatment on shelf life of the pond-raised freshwater fish, silver perch (Bidyanus bidyanus). *Journal of food protection.* 2001; 64(10):1584-91.

23.Ali A, Noh NM, Mustafa MA. Antimicrobial activity of chitosan enriched with lemongrass oil against anthracnose of bell pepper. *Food Packaging and Shelf Life* 2015;3:56-61.

24.Siripatrawan U, Harte BR. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocolloids* 2010;24(8):770-5.

25.Liu H, Du Y, Wang X, Sun L. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage. *International journal of food microbiology* 2004; 95(2):147-55.

26.Pilehram S, Roomiani L, Taddayoni M. Effect of Chitosan Coating and Piper nigrum Essential Oil on Shelf Life of Grass Carp Fillet in Modified Atmosphere Packaging. *Journal of Fisheries Science and Technology* 2018;7(3):1-8.

27.Alak G, Hisar SA, Hisar O, Genççelep H. Biogenic amines formation in Atlantic bonito (Sarda sarda) fillets packaged with modified atmosphere and vacuum, wrapped in chitosan and cling film at 4 C. *European Food Research and Technology* 2011;232(1):23-8.

28.Coban H, Aydemir Y. The relationship between allergy and asthma control, quality of life, and emotional status in patients with asthma: a cross-sectional study. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology* 2014; 10(1):67.

29.Lo Cantore P, Iacobellis NS, De Marco A, Capasso F, Senatore F. Antibacterial activity of Coriandrum sativum L. and Foeniculum vulgare Miller var. vulgare (Miller) essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry* 2004; 52(26):7862-6.

30.Barros L, Heleno SA, Carvalho AM, Ferreira IC. Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of Foeniculumvulgare Mill. from Portugal. *Food and Chemical Toxicology* 2009; 47(10):2458-64.

31.Sathivel S, Liu Q, Huang J, Prinyawiwatkul W. The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (Oncorhynchus gorbuscha) fillets during frozen storage. *Journal of Food Engineering* 2007; 83(3):366-73.

www.SID.ir