



## تأثیر پوشش کیتوزان به همراه عصاره سبوس برنج بر زمان ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*) طی دوره نگهداری در یخچال

سارا جرجانی<sup>۱\*</sup>، افشین قلیچ<sup>۱</sup> و مسعود هدایتی فرد<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۱۶

<sup>۱</sup> به ترتیب استادیار و دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر

<sup>۲</sup> دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر

\*مسئول مکاتبات: Email: sarahjorjani@yahoo.com

### چکیده

مطالعه حاضر جهت بررسی اثر آنتی‌میکروبی و آنتی‌اکسیدانی پوشش کیتوزان به همراه عصاره سبوس برنج بر افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد. استخراج عصاره سبوس برنج با متانول ۸۰ درصد انجام شد. فیله‌ها به سه گروه بدون پوشش و بدون عصاره سبوس برنج (شاهد)، با پوشش کیتوزان و بدون عصاره سبوس برنج و پوشش کیتوزان حاوی ۲ درصد عصاره سبوس برنج تقسیم شدند. سپس فیله‌ها در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ روز نگهداری شدند. مقدار چربی کل، فاکتورهای شیمیایی (شاخص پراکسید، تیوباربیتوریک‌اسید، مقدار اسیدهای چرب آزاد و pH)، ویژگی‌های میکروبی (شمارش کلی باکتری‌ها و شمارش باکتری‌های سرمادوست) و خواص ارگانولپتیک (بو، بافت، رنگ و مقبولیت کلی) نمونه‌ها در زمان‌های صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پوشش کیتوزان و نیز پوشش کیتوزان-عصاره سبوس برنج تأثیر معنی‌دار بر کاهش شاخص پراکسید، تیوباربیتوریک‌اسید، مقدار اسیدهای چرب آزاد و pH داشت. آنالیز میکروبی نیز نشان داد که پوشش حاوی عصاره سبوس برنج میزان کلی باکتری‌ها و همچنین میزان باکتری‌های سرمادوست را نسبت به نمونه‌های شاهد به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. مطالعه حاضر نشان داد که پوشش کیتوزان حاوی عصاره سبوس برنج اثر قابل‌ملاحظه‌ای در کاهش شاخص‌های شیمیایی فساد و ویژگی‌های میکروبی و افزایش ماندگاری فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دارد.

واژگان کلیدی: سبوس برنج، قزل‌آلای رنگین‌کمان، کیتوزان، کیفیت شیمیایی، زمان ماندگاری

### مقدمه

محصولات غذایی کمک می‌کند (بورلیا و همکاران ۲۰۰۸). کیتوزان (N- استیل گلوکز آمین)، بیوپلی- ساکاریدی غیرسمی، طبیعی، بی‌طعم، زیست سازگار، زیست تجزیه‌پذیر و یکی از مشتقات بسیار ارزشمند کیتین می‌باشد (ساتیول و همکاران ۲۰۰۷). کیتوزان به دلیل خواص تشکیل فیلم و خواص کاربردی نظیر خاصیت میکروبی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و غیرقابل

فیلم‌های خوراکی یا پوشش‌های خوراکی در بسته- بندی مواد غذایی، به عنوان یک شبکه پیوسته هستند که می‌توانند از پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و لیپیدها تهیه شوند. استفاده از فیلم‌های خوراکی مانند کیتوزان به حفظ کیفیت محصول، افزودن خصوصیات حسی، بهبود ایمنی محصول و افزایش عمر ماندگاری انواع

زیادی در حیطه گیاهان دارویی و جستجوی انواع عصاره‌ها و اسانس‌های طبیعی به عنوان آنتی‌اکسیدان شده است. در سال‌های اخیر، استفاده از محصولات گیاهی مانند عصاره دانه، برگ و پوسته برخی از گیاهان، میوه‌ها و ادویه‌جات مانند عصاره دانه انگور، پودر پوست مغز بادام، پوست بادام‌زمینی، پوست سیب‌زمینی، برگ چای سبز، عصاره آلو، سبوس برنج، جنسینگ، سیر، پیاز، عصاره برگ زیتون، توت‌فرنگی، زنجبیل، آویشن، رزماری، میخک، گشنیز، ریحان، خردل، فلفل و غیره در گوشت و فراورده‌های آن به عنوان موادی با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی مورد توجه قرار گرفته است (برانان ۲۰۰۹ و حسن‌زاده و همکاران ۱۳۹۰).

سبوس برنج از فرآورده‌های جنبی کارخانجات برنج کوبی است که حدود ۱۰ درصد وزنی هر دانه شلتوک را شامل می‌شود (عرب و همکاران ۲۰۱۱). مهمترین استفاده‌ای که از سبوس برنج در مناطق شمال کشور می‌شود، بهره‌گیری از آن به عنوان خوراک دام و طیور و تقویت باغات و مزارع است. این در حالی است که این فرآورده جنبی غنی از روغن و سایر ترکیبات دارویی و آنتی‌اکسیدانی است (کامیاب و همکاران ۱۳۹۰). سبوس برنج غنی از پروتئین‌های مرغوب، چربی و فیبر مغذی است، همچنین غنی از آنتی‌اکسیدان‌هایی همچون گاما‌آریزانول، توکوفرول و توکوتری‌انول‌ها و استرول‌ها می‌باشد (گوفو و ترینداد ۲۰۱۴). توکوفرول‌ها و توکوتری‌انول‌ها به عنوان جمع‌کننده رادیکال‌ها و با غیرفعال کردن رادیکال‌های پروکسیل به مرحله پیشرفت اکسیداسیون خاتمه می‌دهند (لائوکولدیلک و همکاران ۲۰۱۱).

نگهداری گوشت و ماهی به علت ترکیبات بیولوژیکی آن، حتی در شرایط یخچالی محدود می‌باشد و سریعاً دچار فساد میکروبی و شیمیایی می‌گردد که می‌تواند علاوه بر خطرات بهداشتی باعث ایجاد تغییرات نامطلوب در خصوصیات کیفی آن از قبیل طعم و بو، رنگ، بافت و کاهش ارزش غذایی و نهایتاً کاهش ماندگاری آن گردد. استفاده از پوشش‌های خوراکی حاوی عصاره‌های

نفوذ بودن در برابر اکسیژن قابلیت استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی به عنوان پوشش و فیلم خوراکی را دارا می‌باشد (فان و همکاران ۲۰۰۹). این ماده در ترکیب با دیگر مواد بسته‌بندی به منظور افزایش زمان ماندگاری غذاها استفاده می‌گردد (بورلیا و همکاران ۲۰۰۸).

کیتوزان و مشتقاتش اثرات ضد میکروبی قابل توجهی نشان داده‌اند. همچنین مشخص شده است که فعالیت ضد میکروبی این ذرات در مقابل باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. اثر ضد میکروبی کیتوزان به شدت بستگی به وزن مولکولی، درجه پلیمریزاسیون پلیمر، pH، نوع ارگانسیم و وجود لیپیدها و پروتئین‌ها بر سطح میکروب دارد. یکی از مکانیسم‌های ضد میکروبی کیتوزان، اتصال به سطح باکتری می‌باشد که منجر به آگلوتیناسیون، افزایش نفوذپذیری دیواره میکروب و سرانجام تراوش ترکیبات داخل سلول به بیرون می‌شود. همچنین کیتوزان منجر به شلاته شدن فلزات با مقادیر کم می‌شود و بنابراین فعالیت آنزیم‌ها و رشد میکروب‌ها را مهار می‌کند (هرناندز-مونز و همکاران ۲۰۰۸). با این وجود شواهد نشان‌دهنده، خاصیت آنتی‌اکسیدانی ضعیف این پلیمر است (اجاق و همکاران ۲۰۱۰ و کانات و همکاران ۲۰۰۸). استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها در ترکیب پوشش کیتوزان می‌تواند خاصیت آنتی‌اکسیدانی پوشش را بهبود نماید و زمان ماندگاری محصولات غذایی را افزایش دهد. در سال‌های اخیر تلاش برای یافتن منابع جدید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به دلیل مشکلات و اثرات سوء ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی گسترش یافته است. آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک زیادی وجود دارند که معمولاً در صنایع گوشت برای محافظت از چربی‌ها در محصول خام و پخته مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما علاوه بر گران بودن، در مقادیر بالا، خاصیت سرطان‌زایی داشته و دید منفی از نظر مصرف‌کننده نسبت به استفاده از آنها در فراورده‌های گوشتی وجود دارد (حسن‌زاده و همکاران ۱۳۹۰)، لذا مطالعات

<sup>1</sup> Chelate

پانصد میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به ۲۵ گرم پودر آسیاب شده سبوس برنج افزوده شد و سپس در دمای ۶۰ درجه سلسیوس عمل استخراج به مدت ۳ ساعت تحت رفلکس انجام گرفت. عصاره حاصل پس از صاف شدن با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ جدا شد. سپس حلال با یک تبخیرکننده چرخان با دمای ۴۰ درجه سلسیوس از محلول عصاره جدا شد. عصاره حاصل در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد (گلستان و جوانمرد ۱۳۹۰).

#### اندازه‌گیری ترکیبات فنلی عصاره

پانصد میکرولیتر از عصاره درون لوله آزمایش درب‌دار ریخته شد و پس از افزودن ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو ۰/۲ نرمال در بن‌ماری با دمای ۲۲ سلسیوس به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد. سپس به این ترکیب ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم ۶ درصد اضافه شد و سپس به مدت ۲ ساعت در بن‌ماری با دمای ۲۳ درجه سلسیوس قرار داده شد و در طول موج ۷۶۰ نانومتر و در مقابل بلانک آب اندازه‌گیری شد. بلانک همانند نمونه تهیه شد و تنها به جای عصاره، ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر درون لوله آزمایش ریخته شد (عرب‌شاهی دلویی و عروج ۲۰۰۷). اسید گالیک به عنوان استاندارد رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت و میزان آن بر اساس میلی‌گرم گالیک‌اسید در گرم عصاره بیان شد.

#### تهیه پوشش از کیتوزان

کیتوزان با درجه دی‌استیلاسیون ۷۵ تا ۸۰ درصد و وزن مولکولی ۵۰۰۰۰۰ دالتون از شرکت سیگما آلدْرِیچ (Sigma-Aldrich, USA) تهیه شد. محلول کیتوزان با انحلال ۲ گرم کیتوزان در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید استیک ۱ درصد (حجمی/حجمی) تهیه گردید. جهت انحلال کامل، محلول فوق به مدت ۲ ساعت روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. سپس به عنوان منعطف‌کننده<sup>۱</sup> میزان ۰/۷۵ میلی‌لیتر گلیسرول به ازای هر گرم کیتوزان به محلول افزوده شد. محلول فوق برای اختلاط کامل به مدت ۱۰ دقیقه با هم‌زن مغناطیسی مخلوط شد (اجاق و

گیاهی با خواص ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی در انواع گوشت‌های تازه، منجمد و عمل‌آوری شده، ضمن کنترل عوامل بیماری‌زا و جلوگیری از فساد میکروبی و شیمیایی باعث بهبود خصوصیات ارگانولپتیک و افزایش ماندگاری محصول می‌گردد و این امکان را به تولیدکنندگان می‌دهد تا غذاهای سالم‌تر و با مقبولیت بالا تولید کنند. لذا هدف از اجرای این پژوهش کاربرد پوشش کیتوزان حاوی عصاره سبوس برنج با هر دو خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی در فیله ماهی قزل-آلای رنگین‌کمان پرورشی در دمای ۴ درجه سلسیوس به منظور افزایش زمان ماندگاری و کاهش فعالیت اکسایشی، کاهش رشد باکتری‌ها و بهبود خصوصیات حسی آن می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

##### تهیه ماهی

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط ۴۰۰-۵۰۰ گرم به صورت زنده از یکی از استخرهای پرورش ماهی اطراف شهر علی‌آباد، استان گلستان تهیه شد و بلافاصله به آزمایشگاه صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر منتقل و شستشو داده شد. سپس نمونه‌ها سر و دم‌زنی و امعاء و احشاء تخلیه و استخوان پشت از هر ماهی جداسازی شد. در مرحله بعد بدون جدا کردن پوست، دو فیله با اندازه ۴×۱۰ سانتی‌متر مربع تهیه و دوباره با آب شستشو داده شد.

##### آماده‌سازی سبوس برنج

سبوس برنج رقم فجر از کارخانه شالیکوبی استان گلستان خریداری شد. سپس با استفاده از الک با سایز ۰/۵ میلی‌متر غربال شدند و در آون ۱۲۰ درجه سلسیوس تا رسیدن به وزن ثابت قرار گرفت. سپس به منظور افزایش ماندگاری و کاهش تغییرات شیمیایی تا شروع آزمایش در دسیکاتور و در دمای ۴ درجه نگهداری شد (گلستان و جوانمرد ۱۳۹۰).

##### استخراج و خالص‌سازی عصاره فنولی سبوس برنج

به روش سوکسله

<sup>1</sup> Plasticizer

آن رقت‌های  $10^{-1}$ ،  $10^{-2}$  و  $10^{-3}$  تهیه گردید. یک میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت مورد استفاده قرار گرفت. شمارش کلی باکتری‌ها و باکتری‌های سرمادوست در محیط پلیت کانت آگار به ترتیب در دماهای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت و ۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز با شمارش کلنی‌های موجود بر روی پلیت انجام شد (هرناندز و همکاران ۲۰۰۹).

#### ارزیابی حسی

برای ارزیابی حسی از شش نفر ارزیاب آموزش دیده که دانشجویان صنایع غذایی با میانگین سنی ۱۹-۲۲ سال بودند، استفاده گردید. نمونه‌های مربوط به هر تیمار پس از باز شدن بسته توسط اعضای پانل، از نظر بو (کاملاً نامطلوب=۱ تا کاملاً مطلوب=۵)، بافت (خیلی نرم=۱ تا سفت و محکم=۵)، رنگ (کاملاً بی‌رنگ=۱ تا رنگ طبیعی=۵) و پذیرش کلی (کاملاً نامطلوب=۱ تا کاملاً مطلوب=۵) مورد بررسی قرار گرفت. جهت ارزیابی، سیستم پنج نمره‌ای هدونیک (۵: خیلی مطلوب، ۴: مطلوب، ۳: متوسط، ۲: بد، ۱: خیلی بد) مورد استفاده قرار گرفت. نقطه بحرانی مقبولیت هریک از ویژگی‌ها ۴ در نظر گرفته شد و پایین‌تر از آن به معنای رد خصوصیات حسی مورد نظر بود.

#### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. ابتدا بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف و سپس همگنی واریانس‌ها با استفاده از آزمون لون صورت پذیرفت که نتایج این آزمون‌ها جهت آنالیز آماری داده‌های مربوط به تیمارهای آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. جهت تعیین اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار شناخته شد از آزمون دانکن استفاده شد. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل خطای مجاز برای رد  $H_0$ ، ۵ درصد در نظر گرفته شد. همچنین به منظور بررسی

همکاران (۲۰۱۰). سپس ۲ درصد عصاره سبوس برنج به محلول کیتوزان تهیه شده اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه با همزن مغناطیسی مخلوط شد (اجاق و همکاران ۱۳۹۱).

#### پوشش‌دهی ماهی

فیله‌ها به منظور پوشش‌دهی به مدت ۳۰ ثانیه در محلول کیتوزان بدون عصاره سبوس و کیتوزان به همراه عصاره سبوس غوطه‌ور شدند. سپس از محلول خارج شدند و پس از گذشت ۲ دقیقه، مجدداً ۳۰ ثانیه در محلول کیتوزان و کیتوزان به همراه عصاره سبوس برنج قرار گرفتند. سپس فیله‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای ۱۰ درجه سلسیوس تا تشکیل پوشش از صفحات مشبک استریل آویزان شدند (اجاق و همکاران ۱۳۹۱). نمونه‌های کنترل بدون پوشش و در کیسه‌های زیپ‌دار باقی ماندند. سپس فیله‌های بدون پوشش (کنترل)، فیله‌های با پوشش کیتوزان و فیله‌های حاوی عصاره سبوس برنج در ترکیب کیتوزان در دمای ۴ درجه سلسیوس و در کیسه‌های زیپ‌دار نگهداری شدند و به صورت دوره‌ای در فواصل زمانی معین (در روزهای صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰) مورد ارزیابی شیمیایی، حسی و میکروبی قرار گرفتند.

#### فراسنجه‌های شیمیایی

برای اندازه‌گیری میزان چربی فیله‌ها، از روش سوکسله استفاده شد. به این منظور مقدار ۵ گرم از فیله‌ها توزین و استخراج چربی با استفاده از حلال پترولیوم اتر به مدت ۶ ساعت انجام گردید (ای‌ای سی ۲۰۰۵). اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV) با روش اگان و همکاران (۱۹۹۷)، اندازه‌گیری تیوباربتوریک اسید (TBA) با دستگاه اسپکتروفتومتر به روش ناتسبا و همکاران (۲۰۰۵)، اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد (FFA) با روش ناتسبا (۲۰۰۵) و pH به روش هرناندز و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد.

#### آنالیز میکروبی نمونه‌ها

برای شمارش باکتریایی نمونه‌ها، ۱۰ گرم از نمونه گوشت فیله در شرایط استریل با ۹۰ میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم ۰/۸۵ مخلوط و هم‌وزن شد و متعاقب

بر اساس جدول ۱، تغییرات میزان چربی کل، فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال را نشان می‌دهد. در ابتدای دوره میزان چربی تیمارهای مختلف با هم تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ( $P > 0.05$ ). میزان چربی در تمامی تیمارها با افزایش زمان روندی کاهشی داشت، به طوری‌که در روز صفر در بیشترین میزان خود بود و در روز بیستم کمترین میزان را داشت. بین زمان‌های مختلف آزمایش در همه تیمارها از نظر آماری به جز روز صفر اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). کاهش میزان چربی کل در تیمارهای پوشش‌دار کیتوزان و نیز پوشش کیتوزان-عصاره سبوس برنج نسبت به نمونه شاهد روند کندتری داشت ( $P < 0.05$ ).

اثر تیمارها بر خصوصیات حسی نمونه‌ها از آزمون کوروسکال‌والیس و آزمون من‌ویتنی یو برای پیدا نمودن اختلاف معنی‌دار در بین نتایج حاصل از آزمون‌های حسی تیمارهای مورد آزمایش استفاده گردید.

### نتایج و بحث

#### اندازه‌گیری ترکیبات فنلی عصاره

نتایج آزمایش سنجش ترکیبات فنلی در این تحقیق، میزان کل ترکیبات فنلی عصاره استخراج شده را ۲۱۵ میلی گرم گالیک‌اسید در گرم عصاره نشان داد. در تمامی گیاهان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد.

#### چربی کل

جدول ۱ - تغییرات میزان چربی کل ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال

تیمار	روز					
	صفر	۴	۸	۱۲	۱۶	۲۰
شاهد	$\pm 54/4 \cdot 0/117^{aA}$	$\pm 50/4 \cdot 0/14^{aA}$	$\pm 48/4 \cdot 0/34^{aA}$	$\pm 40/4 \cdot 0/21^{bA}$	$\pm 35/4 \cdot 0/19^{cA}$	$\pm 15/4 \cdot 0/22^{dA}$
کیتوزان	$\pm 54/4 \cdot 0/117^{aA}$	$\pm 58/4 \cdot 0/11^{aB}$	$4/58 \pm 0/17^{aB}$	$\pm 59/4 \cdot 0/11^{aC}$	$\pm 52/4 \cdot 0/10^{aB}$	$\pm 51/4 \cdot 0/21^{bB}$
کیتوزان-عصاره سبوس برنج	$\pm 54/4 \cdot 0/117^{aA}$	$\pm 56/4 \cdot 0/09^{aB}$	$4/57 \pm 0/14^{aB}$	$\pm 52/4 \cdot 0/10^{aB}$	$\pm 54/4 \cdot 0/12^{aB}$	$\pm 51/4 \cdot 0/12^{bB}$

حروف کوچک متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) یک تیمار در روزهای مختلف می‌باشد.  
حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) بین تیمارهای مختلف در یک روز می‌باشد.

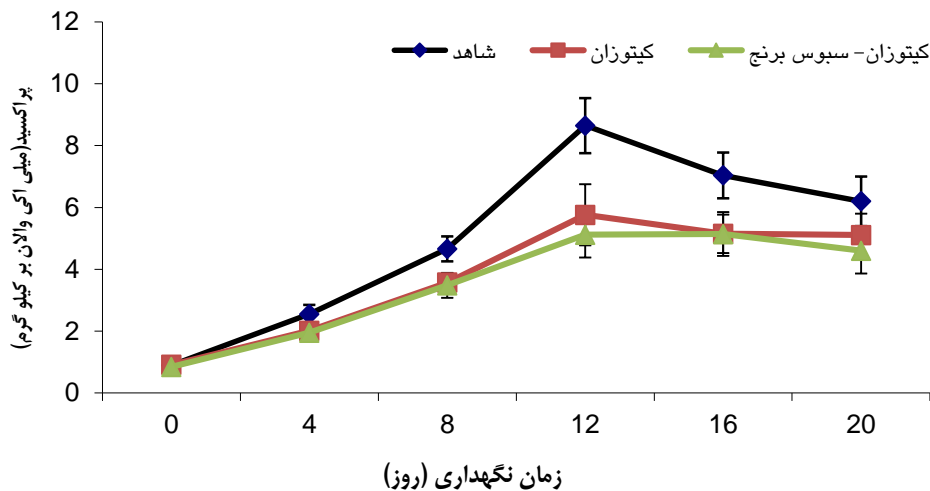
### تغییرات پراکسید

مطابق شکل ۱، میزان عدد پراکسید در تمامی تیمارهای این آزمایش با افزایش زمان روندی افزایشی داشت، به طوری‌که در روز ۱۲ در بیشترین میزان خود بود. این افزایش در فیله‌های دارای پوشش کیتوزان و پوشش کیتوزان-عصاره سبوس برنج روند کندتری نسبت به تیمار شاهد داشت. میزان عدد پراکسید در روزهای ۱۶ و ۲۰ در تمامی نمونه‌ها کاهش داشت ( $P < 0.05$ ). به طور کلی با افزایش مدت نگهداری در سردخانه فرآیند اکسیداسیون لیپید انجام شده و مقدار پراکسید افزایش یافت. زمانی‌که مقدار هیدروپراکسید فیله ماهی کم شود،

سرعت تشکیل این ترکیبات سریع‌تر از شکستگی آنها است. در چنین زمانی بر اساس مکانیزم یک‌مولکولی میزان پراکسید در عضلات ماهی شروع به بالا رفتن می‌کند. با گذشت زمان و افزایش غلظت هیدروپراکسیدها، بر اساس مکانیسم دومولکولی، این ترکیبات به سرعت شکسته می‌شوند. شایان ذکر است که در این مرحله سرعت تجزیه آنها سریع‌تر از سرعت تشکیل می‌باشد. به دنبال چنین مکانیسمی مقادیر هیدروپراکسید کاهش می‌یابد (جئون و همکاران ۲۰۰۲). در انتهای دوره نگهداری فیله‌های دارای پوشش کیتوزان و پوشش کیتوزان-عصاره سبوس برنج به

سبوس برنج را در کاهش اکسیداسیون چربی نشان می‌دهد.

طور معنی‌داری دارای عدد پراکسید کمتری بودند که نقش مثبت پوشش کیتوزان و پوشش کیتوزان-عصاره



شکل ۱ - تغییرات پراکسید (میلی‌اکی‌والان پراکسید در کیلوگرم چربی) فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال

کردن یون‌های فلزی (عوامل پرو-اکسیدان) (مهدوی و همکاران ۱۹۹۵)، یا فرونشاندن اکسیژن یگانه (بلوس ۱۹۹۵) یا حذف پراکسید، اثر مثبت خود را در جلوگیری از فساد اعمال نمایند (دیپلاک ۱۹۹۴).

طلوعی و همکاران (۱۳۹۱) تأثیر پوشش کیتوزان غنی شده با آلفا توکوفرول بر فساد اکسایشی ماهی قزل‌آلای پرورشی را طی دوره نگهداری در یخچال بررسی کردند، مقادیر عدد پراکسید نمونه‌ها، وابسته به غلظت آلفاتوکوفرول افزوده شده متغیر بود. با افزایش غلظت آلفاتوکوفرول، اثر آنتی‌اکسیدانی پوشش افزایش و در نتیجه میانگین عدد پراکسید کاهش یافت. آنها علت را، سرعت بسیار بالاتر واکنش رادیکال‌های پروکسی با آلفاتوکوفرول در مقایسه با گروه آسیل لیپیدها دانستند. همچنین مشخص شده است که توکوفرول با فرونشاندن اکسیژن یگانه، اثر مثبت خود را در جلوگیری از فساد اعمال می‌کند.

استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی مختلف نظیر دارچین، رزماری، پلی‌فنول چای و غیره منجر به کند شدن روند اکسیداسیون لیپیدها می‌گردد (اجاق و همکاران ۲۰۱۰).

کاهش ترکیبات اولیه حاصل از اکسایش در نتایج مشابهی برای فیله قزل‌آلای پوشش داده شده با کیتوزان توسط اجاق و همکاران (۲۰۱۰) و جنون و همکاران (۲۰۰۲) برای فیله ماهی هرینگ نگهداری شده دردمای ۴ درجه سلسیوس گزارش شده است که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. تحقیقات دیگری نیز نشان داده‌اند که اکسیداسیون چربی در ماهی و محصولات آن با استفاده از کیتوزان کم شده است (جنون و همکاران ۲۰۰۲، لویز-کابالرو و همکاران ۲۰۰۵ و ساتیول و همکاران ۲۰۰۷).

سبوس برنج، منبع غنی و حاوی انواع توکوفرول‌ها (آلفا، بتا، سیگما و گاما) و ویتامین E و توکوتری‌انول (آلفا، بتا و سیگما) است. بیشترین ترکیبات موجود در عصاره سبوس برنج مربوط به آلفاتوکوفرول است (گوفو و ترینداد ۲۰۱۴). آلفاتوکوفرول آنتی‌اکسیدانی با منشأ طبیعی است که علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارای ارزش غذایی نیز هست (هان و همکاران ۲۰۰۴).

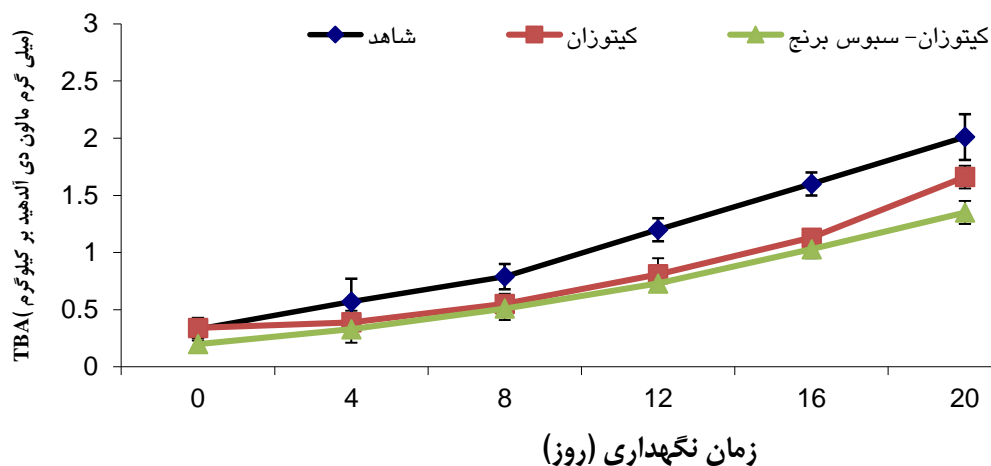
آنتی‌اکسیدان‌ها با دادن هیدروژن با لیپیدهای اکسید نشده رقابت می‌کند (لین و لیانگ ۲۰۰۲). بنابراین با دادن یک اتم هیدروژنی الکترون آزاد باعث تشکیل ترکیبات پایدار می‌شوند، یا ممکن است از طریق شلاته

۲). افزایش TBA در فیله‌های دارای پوشش کیتوزان و پوشش کیتوزان- عصاره سبوس برنج روند کندتری نسبت به تیمار شاهد داشت. فیله‌های بدون پوشش به غیر از روز اول تا انتهای دوره دارای اختلاف معنی-داری از نظر مقدار TBA با دو تیمار پوشش کیتوزان و پوشش کیتوزان- عصاره سبوس برنج داشت ( $P < 0.05$ ). میزان TBA در روزهای ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ نمونه‌برداری در فیله‌های دارای پوشش کیتوزان و پوشش کیتوزان- عصاره سبوس برنج اختلاف معنی‌دار نشان نداد ( $P > 0.05$ ) و تنها در روز ۲۰ بین دو تیمار دارای اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ).

اجاق و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که عدد پراکساید در همه تیمارهای قزل‌آلای رنگین‌کمان (تیمار شاهد، تیمار کیتوزان فاقد اسانس دارچین و تیمار ترکیب کیتوزان و اسانس دارچین) در مدت نگهداری افزایش یافت، اما میزان افزایش این اندیس در تیمارهای کیتوزان و ترکیب کیتوزان و اسانس دارچین مقادیر کمتری نسبت به فیله‌های شاهد قزل‌آلای رنگین‌کمان در مدت نگهداری در یخچال داشته است.

### تغییرات تیوباربیوتیک اسید

میزان تیوباربیوتیک اسید در تمامی تیمارهای این آزمایش با افزایش زمان روندی افزایشی داشت (شکل



شکل ۲- تغییرات تیوباربیوتیک اسید (میلی گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم بافت) فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال

( $P < 0.05$ ). مکانیسم کاهش TBA در زمان استفاده از کیتوزان به عنوان پوشش گوشت مرغ و فیله ماهی را به توانایی کیتوزان در چلاته کردن یون‌های آهن پروتئین-های گوشت نسبت داده‌اند (ساتیول ۲۰۰۵ و حسن‌زاده و همکاران ۱۳۹۰).

تیمار کیتوزان- عصاره سبوس برنج، بیشترین اثر محافظت‌کنندگی در مقابل اکسایش چربی‌ها در فیله قزل‌آلا داشت. عصاره سبوس برنج به جهت داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی توانست رادیکال‌های آزاد را سرکوب کرده یا سرعت تشکیل آنها را کاهش دهد. لذا با پایدار شدن رادیکال‌های آزاد تشکیل شده، آنتی-

اندازه‌گیری تیوباربیوتیک اسید، شاخص مناسبی برای تعیین پیشرفت اکسیداسیون چربی و تولید کربونیل و آلدئیدها است. روند افزایشی این شاخص در طول مدت نگهداری ممکن است به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان‌ها در ماهیچه باشد. همچنین، آلدئیدها به عنوان محصول ثانویه اکسیداسیون از تجزیه هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شوند (اجاق و همکاران ۲۰۱۰).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزایش TBA در فیله‌های دارای پوشش کیتوزان و پوشش کیتوزان- عصاره سبوس برنج روند کندتری نسبت به تیمار شاهد داشت



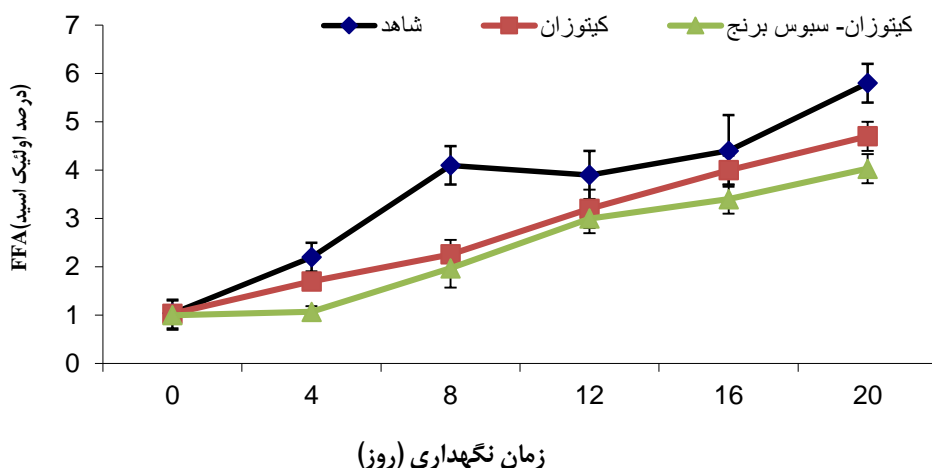
کنترل به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد.

#### میزان اسید چرب آزاد

میزان اسید چرب آزاد در تمامی تیمارهای این آزمایش با افزایش زمان روندی افزایشی داشت. افزایش میزان اسید چرب آزاد در فیله‌های دارای پوشش کیتوزان و پوشش کیتوزان- عصاره سبوس برنج روند کندتری نسبت به تیمار شاهد داشت (شکل ۳). فیله‌های بدون پوشش به غیر از روز اول تا انتهای دوره دارای اختلاف معنی‌داری از نظر مقدار میزان اسید چرب آزاد با دو تیمار پوشش کیتوزان و پوشش کیتوزان- عصاره سبوس برنج بود ( $P < 0.05$ ).

اکسیدان‌ها می‌توانند زنجیره اکسیداسیون را متوقف کرده و به این صورت باعث کاهش مقدار نهایی TBA در طی مدت نگهداری در یخچال شود. روغن سبوس برنج ترکیب بی‌نظیری از انواع آنتی‌اکسیدان‌ها است و حاوی اکثر ویتامین‌های E نظیر توکوفرول (آلفا، بتا، سیگما) است. اوریزانول نیز یکی دیگر از انواع ترکیبات آنتی‌اکسیداسیونی موجود در روغن سبوس برنج است (رئیس‌ی و همکاران ۱۳۹۱). حضور این آنتی‌اکسیدان‌ها به طور معنی‌داری اکسیداسیون چربی را در مطالعه حاضر کم نموده است.

پریرا د‌آبرئو و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که افزودن عصاره سبوس جو در فیلم‌های پلی‌اتیلنی با دانسیته پایین، میزان TBA را در گوشت کوسه آبی (*Prionace glauca*) منجمد در مقایسه با نمونه‌های



شکل ۳- تغییرات اسید چرب آزاد (درصد اسیداولئیک) فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طی نگهداری در یخچال

محصول می‌شود (رضایی ۱۳۸۲). اختلاف معنی‌داری از نظر اسیدهای چرب آزاد در روزهای مختلف نگهداری بین تیمارهای مختلف فیله‌های ماهی قزل‌آلا مشاهده شد ( $P < 0.05$ ) که احتمالاً به دلیل وجود اثرات حفاظتی پوشش کیتوزان و کیتوزان به همراه عصاره سبوس برنج در تولید میزان اسید چرب آزاد و فعالیت کمتر آنزیمی می‌باشد.

در تحقیق حاضر، افزایش میزان اسید چرب آزاد در فیله‌های دارای پوشش کیتوزان و پوشش کیتوزان- سبوس برنج روند کندتری نسبت به تیمار شاهد داشت

آنزیم‌های هیدرولیزکننده چربی با تأثیر بر چربی، تغییرات عمده‌ای را پس از مرگ ماهیان رقم زده و میزان اسیدهای چرب آزاد را در آنها افزایش می‌دهند. بنابراین اندازه‌گیری اسید چرب آزاد شاخص خوبی برای بیان تأثیر آنزیم‌های لیپولیتیک بر چربی ماهی و فرآورده‌های گوشتی دیگر است (آوبورگ و همکاران ۲۰۰۲ و دراگوئف و همکاران ۱۹۹۸). افزایش مقادیر میزان اسید چرب آزاد باعث افزایش اکسیداسیون چربی، پیشرفت طعم نامطلوب، ایجاد تغییرات بافتی بر اثر دنا توره شدن پروتئین و در نهایت کاهش کیفیت

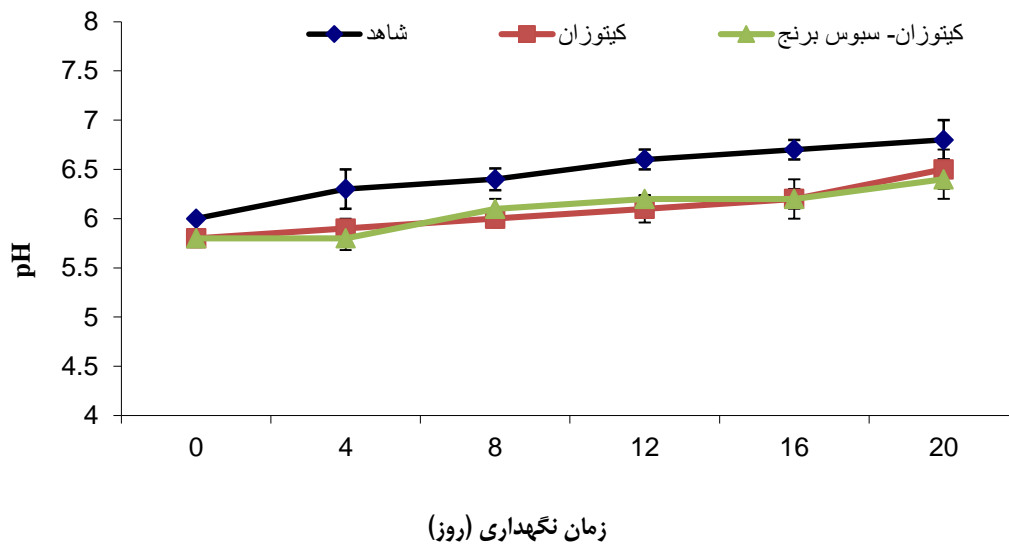


مدت نگهداری افزایش مختصر داشت. براساس نتایج آنالیز آماری، تفاوت معنی‌داری بین pH نمونه‌های شاهد با فیله‌های دارای پوشش کیتوزان و فیله‌های دارای پوشش کیتوزان- عصاره سبوس برنج در تمام روزهای آزمایش به غیر از روز صفر مشاهده گردید ( $P < 0.05$ ). اما اختلاف معنی‌داری بین pH تیمارهای پوشش کیتوزان و پوشش کیتوزان-عصاره سبوس برنج در روزهای مختلف نمونه‌برداری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

( $P < 0.05$ ). پیرا و همکاران در سال ۲۰۱۰، گزارش کردند که افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدان استخراج شده از پوسته جو در فیلم‌های پلی‌اتیلنی با دانسیته پایین، اسیدهای چرب آزاد در ماهی سالمون منجمد را کاهش می‌دهد که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد.

### pH

تغییرات pH تیمارهای مختلف فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال در شکل ۴، نشان داده شده است. میزان pH در نمونه‌های فیله در طول



شکل ۴- تغییرات pH فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال

ثابت ماندن آن در طول مدت نگهداری نسبت به نمونه‌های بدون پوشش می‌گردد که احتمالاً به علت پوشش اسیدی کیتوزان ( $pH = 4.63 - 4.58$ ) در سطح گوشت و خصوصیت مهار رشد میکروبی آن می‌باشد. براساس نتایج آنالیز آماری، اختلاف معنی‌داری بین pH تیمارهای پوشش کیتوزان و پوشش کیتوزان-سبوس برنج در روزهای مختلف نمونه‌برداری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). در ارتباط با تأثیر عصاره سبوس برنج در میزان pH، گزارش‌های مبنی بر کاهش pH در طول مدت نگهداری وجود ندارد.

افزایش pH را با گذشت زمان نگهداری می‌توان به تولید ترکیبات فرار مانند آمونیاک و تری‌متیل‌آمین حاصل از فعالیت باکتری‌های فاسدکننده ماهی نسبت داد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد پوشش کیتوزان به طور قابل توجهی، pH فیله‌ها را نسبت به نمونه شاهد کاهش داده است ( $P < 0.05$ ). نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج به‌دست آمده از مطالعات سایر محققین مانند دوان و همکاران (۲۰۱۰)، فان و همکاران (۲۰۰۹)، اینگواد و همکاران (۲۰۰۶) و حسن زاده و همکاران (۱۳۹۰) که کیتوزان را به عنوان پوشش در گوشت ماهی و مرغ استفاده کردند، مطابقت دارد. استفاده از پوشش کیتوزان در نمونه‌های گوشت باعث کاهش میزان pH و

در یخچال در جدول ۲، آورده شده است.

ارزیابی حسی نتایج حاصل از ارزیابی حسی تیمارهای مختلف فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری

جدول ۲- نتایج ارزیابی حسی فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال

شاخص حسی		زمان نگهداری (روز)					
		۲۰	۱۶	۱۲	۸	۴	صفر
بافت	شاهد	۱/۰۰ ± ۰/۲۳ <sup>cB</sup>	۱/۰۳ ± ۰/۴۳ <sup>cC</sup>	۱/۸۵ ± ۰/۳۳ <sup>B</sup>	۳/۸۳۰ ± ۰/۴۱ <sup>bB</sup>	۴/۷۸ ± ۰/۱۱ <sup>aA</sup>	۴/۹۴ ± ۰/۴۸ <sup>aA</sup>
	کیتوزان	۳/۳۵ ± ۰/۷۱ <sup>cA</sup>	۳/۸۷ ± ۰/۲۳ <sup>cB</sup>	۴/۱۱ ± ۰/۷۱ <sup>A</sup>	۴/۵۵ ± ۰/۳۱ <sup>aA</sup>	۴/۷۸ ± ۰/۷۱ <sup>aA</sup>	۴/۹۸ ± ۰/۲۷ <sup>aA</sup>
	کیتوزان - سبوس	۳/۴۵ ± ۰/۶۱ <sup>cA</sup>	۴/۱۳ ± ۰/۳۳ <sup>bA</sup>	۴/۲۳ ± ۰/۵۱ <sup>A</sup>	۴/۵۵ ± ۰/۶۰ <sup>aA</sup>	۴/۷۱ ± ۰/۶۱ <sup>aA</sup>	۵/۰۰ ± ۰/۱۷ <sup>aA</sup>
بو	شاهد	۰/۹۰ ± ۰/۳۳ <sup>cB</sup>	۱/۰۳ ± ۰/۲۳ <sup>cC</sup>	۱/۴۳ ± ۰/۴۳ <sup>B</sup>	۳/۴۵۰ ± ۰/۰۹ <sup>bB</sup>	۴/۶۸ ± ۰/۱۳ <sup>aA</sup>	۴/۹۵ ± ۰/۵۸ <sup>aA</sup>
	کیتوزان	۳/۲۸ ± ۰/۱۱ <sup>cA</sup>	۳/۶۸ ± ۰/۷۳ <sup>cB</sup>	۴/۱۱ ± ۰/۷۱ <sup>A</sup>	۴/۲۳ ± ۰/۴۱ <sup>bA</sup>	۴/۶۸ ± ۰/۲۱ <sup>aA</sup>	۵/۰۰ ± ۰/۳۱ <sup>aA</sup>
	کیتوزان - سبوس	۳/۳۵ ± ۰/۶۱ <sup>cA</sup>	۴/۱۱ ± ۰/۵۱ <sup>bA</sup>	۴/۲۳ ± ۰/۷۱ <sup>A</sup>	۴/۵۹ ± ۰/۵۱ <sup>aA</sup>	۴/۷۱ ± ۰/۲۳ <sup>aA</sup>	۵/۰۰ ± ۰/۴۱ <sup>aA</sup>
رنگ	شاهد	۱/۲۲ ± ۰/۷۱ <sup>cC</sup>	۱/۵۳ ± ۰/۲۳ <sup>cC</sup>	۱/۷۵ ± ۰/۱۴ <sup>cB</sup>	۳/۷۳ ± ۰/۳۱ <sup>bB</sup>	۴/۲۳ ± ۰/۵۱ <sup>aB</sup>	۴/۸ ± ۰/۲۴ <sup>aA</sup>
	کیتوزان	۳/۲۳ ± ۰/۱۱ <sup>cB</sup>	۳/۴۶ ± ۰/۷۳ <sup>cB</sup>	۴/۲۱ ± ۰/۹۱ <sup>bA</sup>	۴/۳۱ ± ۰/۳۱ <sup>bA</sup>	۴/۷۸ ± ۰/۶۱ <sup>aAB</sup>	۵/۰۰ ± ۰/۴۱ <sup>aA</sup>
	کیتوزان - سبوس	۳/۱۷ ± ۰/۴۱ <sup>dA</sup>	۴/۰۱ ± ۰/۵۱ <sup>bC</sup>	۴/۴۳ ± ۰/۷۱ <sup>bA</sup>	۴/۵۸ ± ۰/۹۱ <sup>aA</sup>	۴/۸۱ ± ۰/۷۳ <sup>aA</sup>	۴/۹۱ ± ۰/۶۱ <sup>aA</sup>
پذیرش کلی	شاهد	۱/۰۰ ± ۰/۲۳ <sup>cB</sup>	۱/۰۳ ± ۰/۳۳ <sup>cC</sup>	۲/۹۱ ± ۰/۳۱ <sup>cB</sup>	۳/۷۳ ± ۰/۳۷ <sup>bB</sup>	۴/۷۱ ± ۰/۵۶ <sup>aA</sup>	۴/۹۴ ± ۰/۱۸ <sup>aA</sup>
	کیتوزان	۳/۰۳ ± ۰/۶۱ <sup>cA</sup>	۳/۵۴ ± ۰/۷۳ <sup>cB</sup>	۴/۱۹ ± ۰/۹۱ <sup>bA</sup>	۴/۸۱ ± ۰/۲۱ <sup>bA</sup>	۴/۹۸ ± ۰/۶۱ <sup>aA</sup>	۵/۰۰ ± ۰/۷۱ <sup>aA</sup>
	کیتوزان - سبوس	۳/۱۸ ± ۰/۷۱ <sup>bA</sup>	۴/۱۱ ± ۰/۵۱ <sup>abA</sup>	۴/۳۱ ± ۰/۶۶ <sup>aA</sup>	۴/۶۷ ± ۰/۷۱ <sup>aA</sup>	۴/۸۹ ± ۰/۷۳ <sup>aA</sup>	۴/۸۹ ± ۰/۴۱ <sup>aA</sup>

میانگین ± انحراف معیار (تعداد تکرار=۶)

اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ ارزیابی گردید.

حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) یک تیمار در روزهای مختلف می‌باشد.

حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) بین تیمارهای مختلف در یک روز می‌باشد.

(۱۳۹۱) نیز گزارش کردند که افزودن اسانس دارچین به پوشش کیتوزانی فیله‌های ماهی قزل‌آلا نیز باعث امتیاز بالاتر خصوصیت رنگ و پذیرش کلی در انتهای دوره نگهداری (روز شانزدهم) در مقایسه با فیله‌های پوشش-دار کیتوزان فاقد اسانس دارچین شد.

اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی پوشش کیتوزان، ماندگاری فیله‌های ماهی قزل‌آلا را همراه با حفظ کیفیت آن افزایش داد. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج اجاق و همکاران (۱۳۹۱) مطابقت دارد.

#### آنالیز میکروبی

نتایج حاصل از شمارش کلی باکتری‌ها و شمارش باکتری‌های سرمادوست تیمارهای مختلف فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال در جدول ۳، آورده شده است. بار باکتریایی کل در نمونه شاهد  $\log_{10}$  CFU/gr ۳/۸۷ و در نمونه‌های پوشش داده شده با کیتوزان - عصاره سبوس برنج  $\log_{10}$  CFU/gr ۳/۸۱ متغییر بود.

نمونه‌های ماهی تا زمانی برای مصارف انسانی مناسب هستند که امتیاز حسی از ۴ کمتر نشده باشد. امتیاز رنگ، بو، بافت و مقبولیت کلی نمونه شاهد، در روز ۸ نگهداری به کمتر از ۴ رسید. در نمونه‌های دارای پوشش کیتوزان فاقد عصاره کلیه شاخص‌های حسی مورد بررسی در روز ۱۶ به حد عدم مقبولیت رسید.

امتیاز رنگ، بو، بافت و مقبولیت کلی نمونه کیتوزان - سبوس برنج در روز ۲۰ نگهداری به کمتر از ۴ (عدم مقبولیت) رسید. نتایج ارزیابی حسی نمونه‌ها با نتایج حاصل از آزمایشات میکروبی منطبق بود.

اکسیداسیون بالای چربی و رشد میکروب‌ها، فیله ماهی در نمونه شاهد نشانه‌های فساد را به صورت بوی بد، لزج شدن بافت و تغییر رنگ پس از ۸ روز نگهداری نشان داد.

همچنین افزودن عصاره سبوس برنج به پوشش کیتوزانی باعث پایدار ماندن ویژگی‌های حسی و مقبولیت کلی فیله‌ها تا روز ۱۶ ام شد. اجاق و همکاران

بار باکتریایی کل در گوشت ماهی حین نگهداری ثابت شده است (لایون و همکاران ۲۰۰۰ و فان و همکاران ۲۰۰۸).

در مطالعه حاضر الگوی افزایش تعداد باکتری‌های سرمادوست مشابه با الگوی تغییرات شمارش کلی باکتری‌ها بوده است. میزان ابتدایی مقادیر باکتری‌های سرمادوست در فیله‌های ماهی قزل‌آلا در تمامی تیمارها تقریباً یکسان بود و تفاوت معناداری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). در مطالعه حاضر شمارش اولیه این باکتری‌ها در فیله‌های شاهد  $\log_{10}$  CFU/gr ۳/۴۵ و در نمونه‌های پوشش داده شده با کیتوزان و کیتوزان-سبوس برنج به ترتیب ۳/۳۱ و  $\log_{10}$  CFU/gr ۳/۳۲ بود.

در مطالعه حاضر شمارش باکتریایی با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت، اما تا روز ۸ نگهداری شمارش کلی، برای همه تیمارها کمتر از  $\log_{10}$  CFU/gr ۷ بود و در روز ۱۲ نگهداری شمارش باکتریایی در نمونه شاهد به  $\log_{10}$  CFU/gr ۷/۷۸ رسید که بالاتر از حد مجاز توصیه شده برای ماهی خام ( $\log_{10}$  CFU/gr ۷) بود. لذا ماندگاری فیله‌های بدون پوشش را می‌توان یک دوره ۱۰ روزه در نظر گرفت. در مورد نمونه‌های پوشش‌دار شده با کیتوزان، شمارش میکروبی، در روز ۲۰ نگهداری به  $\log_{10}$  CFU/gr ۷/۹۲ رسید، لذا زمان ماندگاری آن را می‌توان در حدود ۱۶ روز اعلام کرد. در نمونه‌های کیتوزان-سبوس برنج، بار باکتریایی کل تا روز ۲۰ از حد مجاز خود فراتر نرفت. با گذشت زمان بار باکتریایی کل گوشت ماهیان افزایش یافت.

جدول ۳- شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش باکتری‌های سرمادوست ( $\log_{10}$  cfu/gr) فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی نگهداری در یخچال

شاخص میکروبی	زمان نگهداری (روز)					
	۰	۴	۸	۱۲	۱۶	۲۰
شمارش کلی باکتری‌ها	شاهد	کیتوزان	کیتوزان-سبوس	کیتوزان	کیتوزان-سبوس	کیتوزان-سبوس
شمارش باکتری‌های سرمادوست	شاهد	کیتوزان	کیتوزان-سبوس	کیتوزان	کیتوزان-سبوس	کیتوزان-سبوس
	۳/۸۷ ± ۰/۴۸ <sup>aA</sup>	۳/۹۸ ± ۰/۲۷ <sup>aA</sup>	۳/۸۱ ± ۰/۱۷ <sup>aA</sup>	۳/۸۱ ± ۰/۱۷ <sup>aA</sup>	۳/۸۱ ± ۰/۱۷ <sup>aA</sup>	۳/۸۱ ± ۰/۱۷ <sup>aA</sup>
	۴/۴۵ ± ۰/۱۱ <sup>aA</sup>	۴/۰۳ ± ۰/۷۱ <sup>aA</sup>	۴/۱۲ ± ۰/۰۶ <sup>aA</sup>	۴/۱۲ ± ۰/۰۶ <sup>aA</sup>	۴/۱۲ ± ۰/۰۶ <sup>aA</sup>	۴/۱۲ ± ۰/۰۶ <sup>aA</sup>
	۵/۵۷ ± ۰/۴۱ <sup>bB</sup>	۴/۷۹ ± ۰/۳۱ <sup>aA</sup>	۴/۵۹ ± ۰/۴۱ <sup>bA</sup>	۴/۵۹ ± ۰/۴۱ <sup>bA</sup>	۴/۵۹ ± ۰/۴۱ <sup>bA</sup>	۴/۵۹ ± ۰/۴۱ <sup>bA</sup>
	۷/۷۸ ± ۰/۳۲ <sup>bB</sup>	۵/۸۱ ± ۰/۷۱ <sup>bA</sup>	۵/۸۹ ± ۰/۴۱ <sup>cA</sup>	۵/۸۹ ± ۰/۴۱ <sup>cA</sup>	۵/۸۹ ± ۰/۴۱ <sup>cA</sup>	۵/۸۹ ± ۰/۴۱ <sup>cA</sup>
	۸/۵۶ ± ۰/۴۳ <sup>cC</sup>	۶/۸۷ ± ۰/۲۳ <sup>cB</sup>	۶/۹۸ ± ۰/۷۳ <sup>dB</sup>	۶/۹۸ ± ۰/۷۳ <sup>dB</sup>	۶/۹۸ ± ۰/۷۳ <sup>dB</sup>	۶/۹۸ ± ۰/۷۳ <sup>dB</sup>
	۹/۶۹ ± ۰/۲۳ <sup>cB</sup>	۷/۹۲ ± ۰/۷۱ <sup>cA</sup>	۸/۱۰ ± ۰/۳۳ <sup>fC</sup>	۸/۱۰ ± ۰/۳۳ <sup>fC</sup>	۸/۱۰ ± ۰/۳۳ <sup>fC</sup>	۸/۱۰ ± ۰/۳۳ <sup>fC</sup>

میانگین ± انحراف معیار. اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ ارزیابی گردید. حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) یک تیمار در روزهای مختلف می‌باشد. حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) بین تیمارهای مختلف در یک روز می‌باشد.

نمونه‌برداری مقدار این باکتری‌ها به غیر از روز صفر در نمونه شاهد با نمونه‌های کیتوزان و کیتوزان-سبوس برنج دارای اختلاف معنی‌داری بود ( $P < 0.05$ ). مقدار باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های کیتوزان و کیتوزان-سبوس برنج تنها در روزهای ۱۶ و ۲۰ دارای اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). فیله‌های کیتوزان-

باکتری‌های سرمادوست گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیزم‌های عامل فساد ماهی هستند (گرم و هاس ۱۹۹۶). الگوی رشد این باکتری‌ها تا حدودی مشابه با الگوی رشد باکتری‌های کل بود، به طوری که کمترین مقدار آن در روز صفر و بیشترین مقدار آن در انتهای دوره نگهداری مشاهده شد. در تمامی روزهای

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، کاربرد پوشش کیتوزان به تنهایی و یا همراه با عصاره سبوس برنج در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، دارای خاصیت ضد-میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بوده و ضمن کاهش فرآورده‌های عامل اکسیداسیون، بار میکروبی محصول را بهبود بخشیده و باعث حفظ کیفیت ارگانولپتیکی فیله‌ها می‌شود. همچنین این پوشش مدت ماندگاری فیله‌ها را در طی یخچال‌گذاری افزایش داده و زمینه لازم برای استفاده از این ترکیبات طبیعی در انواع گوشت و فرآورده‌های آنها را فراهم می‌کند.

#### سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر انجام شده است. به این وسیله از حوزه معاونت پژوهش واحد که زمینه انجام تحقیق را فراهم نمودند، کمال تشکر را داریم.

سبوس برنج کمترین مقدار باکتری سرمادوست را در روز بیست نگهداری داشت و فیله‌های شاهد بیشترین مقدار باکتری سرمادوست را در انتهای دوره نگهداری داشت. طبق نتایج حاصله، شمارش باکتری‌های کل در تمامی تیمارها روندی افزایشی داشت، ولی این روند افزایشی در تیمارهای پوشش‌دار شده با کیتوزان کندتر از تیمار شاهد بوده است ( $P < 0/05$ ). اجاق و همکاران (۱۳۹۱) اثر پوشش کیتوزان به همراه اسانس دارچین بر عمر ماندگاری ماهی قزل‌آلا را بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که مقدار باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های پوشش کیتوزان و همچنین کیتوزان به همراه اسانس دارچین در روز انتهای نگهداری (روز شانزدهم) نسبت به نمونه شاهد کمتر بوده و کمتر از ۷ سیکل لگاریتمی بوده است.

#### نتیجه‌گیری کلی

#### منابع مورد استفاده

- اجاق س، رضایی م، رضوی ه و حسینی س، ۱۳۹۱. اثر پوشش‌های آنتی‌میکروبی در افزایش ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۳۴، ۲۳-۱۳.
- حسن‌زاده پ، تاجیک ح، رضوی‌روحانی س، احسانی ع، اکبرلو ج و مرادی م، ۱۳۹۰. اثرات اشعه گاما و پوشش خوراکی کیتوزان بر روی ویژگی‌های باکتریایی، شیمیایی و حسی گوشت مرغ، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۳، ۳۶۹-۳۵۵.
- حسن‌زاده پ، تاجیک ح و رضوی‌روحانی س، ۱۳۹۰. کاربرد پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور بر روی کیفیت و ماندگاری گوشت مرغ در دمای یخچال، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۴، ۴۸۲-۴۶۷.
- رضائی م، ۱۳۸۲. اثرات دما و مدت زمان نگهداری به حال انجماد در تغییرات چربی ماهی کیلکای آنچوی، رساله دکتری، دانشگاه تربیت مدرس، ۹۳ صفحه.
- رئیزی ف، رضوی س، ه، حجت‌الاسلامی م و کرامت ج، ۱۳۹۱. تولید نوشیدنی پرتقال فراسودمند با استفاده از عصاره برنج سبوس. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۴، ۵۳-۴۵.
- طلوعی ه، مهدی‌نیا ج، عارف‌حسینی ر و اصغری‌جعفرآبادی م، ۱۳۹۱. تأثیر پوشش کیتوزان غنی شده با آلفاتوکوفرول بر فساد اکسایشی چربی موجود در ماهی قزل‌آلای پرورشی طی دوره یخچال‌گذاری، نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، ۳، ۱۶۴-۱۵۳.
- کامیاب س، قوامی م، قراچورلو م و لاریجانی ک، ۱۳۹۰. بررسی راه‌های جداسازی گاما اوریزانول از روغن ارقام سبوس‌برنج ایرانی، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۳۱، ۱۰۵-۹۵.
- گلستان ل و جوانمرد م، ۱۳۹۰. بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی سبوس برنج بر روغن ماهی، مجله نوآوری و تولید مواد غذایی، ۱، ۶۶-۵۹.
- AOAC, 2002. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 17th edition. Washington, DC.
- Arab F, Alemzadeh I and Maghsoudi V, 2011. Determination of antioxidant component and activity of rice bran extract. Scientica Iranica 18(6): 1402-1406.

- Arabshahi-Delouee S and Urooj A, 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry 102(4): 1233-1240.
- Aubourg SP, Lehmann I and Gallardo MJ, 2002. Effect of previous chilled storage on rancidity development in frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*). Journal of the Science of Food and Agriculture 82: 1764-1771.
- Bellus D, 1995. Physical quenchers of molecular oxygen. Advances in Photochemistry 11:105-205.
- Beverly RL, Janes ME, Prinyawiwatkula W and No HK, 2008. Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. Food Microbiology 25: 534-537.
- Brannan RG, 2009. Effect of grape seed extract on descriptive sensory analysis of ground chicken during refrigerated storage. Meat Science 81: 589-595.
- Diplock AT, 1994. Antioxidants and free radical scavengers. In: Free radical damage and its control. Rice C. A., Burdon R. H. eds. Elsevier Science B.V, 392p.
- Dragoev SG, Kiosev DD, Danchev SA, Ionchev NI and Genv NS, 1998. Study on oxidative processes in frozen fish Bulgarian. Journal of Agricultural Science 4: 55-65.
- Duan J, Cherian G, and Zhao Y, 2010. Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings. Food Chemistry 119:524-532.
- Egan H, Kirk RS and Sawyer R, 1997. Pearson's chemical analysis of food. 9th ed. Harlow, P. 609-634. In Longman Scientific and Technical Inc.
- Fan W, Chi Y and Zhang S, 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. Food Chemistry 108: 148-153.
- 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.
- Goufo P and Trindade H, 2014. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols,  $\gamma$ -oryzanol, and phytic acid. Food Science and Nutrition 2(2): 75-104.
- Gram L, Huss HH, 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. International Journal of Food Microbiology 33: 121-137.
- Han C, Zhao Y, Leonard SW and Traber MG, 2004. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria ananassa*) and raspberries (*Rubus idaeus*). Postharvest Biology and Technology 33(1): 67-78.
- Hernández MD, López MB, Álvarez A, Ferrandini E, García García B and Garrido MD, 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage, Food Chemistry 114: 237-245.
- Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Valle, V.D., Del velez, V., Gavara, R., 2008. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria ananassa*) quality during refrigerated storage. Food Chemistry, 110: 428-435.
- Jeon YI, Kamil JYVA and Shahidi F, 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod, Journal of Agricultural and Food Chemistry 20: 5167-5178.
- Kanatt SR, Chander R and Sharma A, 2008. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. Food Chemistry 107(2): 845-852.
- Laokuldilok T, Shoemaker CF, Jongkaewwattana S and Tulyathan V, 2011. Antioxidants and antioxidant activity of several pigmented rice brans. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59(1): 193-199.
- Lin CC and Liang JH, 2002. Effect of antioxidants on the oxidative stability of chicken breast meat in a dispersion system. Journal of Food Science 67: 530- 533.
- Lopez-Caballero ME, Gomez-Guillen MC, Perez-Mateos M and Montero P, 2005. A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. Food Hydrocolloids 19: 303-311.
- Lyon WJ and Reddmann CS, 2000. Bacteria associated with processed crawfish and potential toxin production by *Clostridium botulinum* type E in vacuum packaged and aerobically packaged crawfish tails. Journal of Food Protection 63(12), 1687-1696.
- Mahdavi DL, Deshpande SS and Salunkhe DK, 1995. Food Antioxidant. 1st edition. New York Marcel Dekker. Inc, USA, 378p.
- Natseba A, Lwalinda I, Kakura E, Muyanja CK and Muyonga JH, 2005. Effect of pre-freezing icing duration on quality changes in frozen Nile perch (*Lates niloticus*). Food Research International 38: 469-474.

- Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH and Hosseini SMH, 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry* 120(1): 193-198.
- Pereira de Abreu DA, Losada PP, Maroto J and Cruz JM, 2010. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar* L). *Food Research International* 43(5): 1277-1282.
- Pereira de Abreu DA, Paseiro Losada P, Maroto J and Cruz JM, 2011. Natural antioxidant active packaging film and its effect on lipid damage in frozen blue shark (*Prionace glauca*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 12: 50-55.
- Sathivel S, 2005. Chitosan and Protein Coatings Affect Yield, Moisture Loss, and Lipid Oxidation of Pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) Fillets During Frozen Storage. *Journal of Food Science* 70: 455-490.
- Sathivel S, Liu Q, Huang J and 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: 366-373.
- Yingyuad S, Ruamsin S, Reekprkhon D, Douglas S, Pongamphai S and Siripatrawan U, 2006. Effect of chitosan coating and vacuum packaging on the quality of refrigerated grilled pork. *Packaging Technology and Science* 19: 149-157.

## Effect of chitosan coating enriched with rice-bran extract on the shelf-life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during cold storage

S Jorjani<sup>1\*</sup>, A Ghelichi<sup>1</sup> and M Hedayatifard<sup>2</sup>

Received: November 19, 2016

Accepted: November 7, 2017

<sup>1</sup>Assistant Professor and Associate Professor, respectively, Department of Fisheries, Faculty of Agricultural Science and Natural Resources, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

<sup>2</sup>Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Agricultural Science and Natural Resources, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

\*Corresponding author: E mail: sarahjorjani@yahoo.com

### Abstract

The present study was conducted to evaluate the effect of antimicrobial and antioxidant chitosan coating enriched with rice-bran extract on the shelf-life extension of trout fillet. Rice-bran extract was extracted with 80% methanol. Samples were separated into three groups; uncoated and without rice-bran extract (Control), coated with chitosan and coated with chitosan containing 2% rice-bran extract. Fish fillets were stored at refrigerated condition ( $4\pm 1^\circ\text{C}$ ) for 20 days. Lipid contents, chemical characteristics (peroxide value, thiobarbituric acid, free fatty acids, pH) and microbial (total bacteria and psychrophilic counts) and organoleptic properties (odor, color, texture, and general acceptability) were compared in fillets at various days of cold storage (0, 4, 8, 12, 16 and 20 days). Chitosan coating and chitosan coating containing rice-bran extract had positive effect in reducing the peroxide value, thiobarbituric acid, free fatty acids and pH. Microbial analysis indicated that coating enriched with rice-bran extract had a significant effect in the reducing the total bacteria and psychrophilic counts. Results showed that chitosan coating and using rice-bran extract in coating had significant effects in reducing the chemical indices of spoilage and microbial properties and extension the shelf-life of trout fillets.

**Keywords:** Rice-bran, Rainbow trout, Chitosan, Chemical quality, Shelf life