

علمی پژوهشی

# بهینه سازی ویژگی های فیزیکی شیمیایی و حسی فیله ماهی قزل آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از پوشش کیتوزان حاوی عصاره پوست سیب

امیرحسین ابراهیمی<sup>۱</sup>، سید ابراهیم حسینی<sup>۲\*</sup>، ژاله خوشخو<sup>۳</sup>

۱- کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۲۶)

## چکیده

استفاده از افزودنی های طبیعی به عنوان ترکیبات ضد میکروبی (نظیر عصاره های گیاهی) و به کارگیری پوشش های خوراکی راه حلی مناسب جهت کنترل میکروارگانیسم های بیماری زا و افزایش مدت ماندگاری مواد غذایی فرآوری شده می باشد که می تواند باعث کاهش خطرات بهداشتی و ضررهای اقتصادی ناشی از رشد میکروب هایی با منشاء غذایی شود. هدف از این مطالعه بررسی اثر پوشش کیتوزان همراه با عصاره پوست سیب بر کیفیت فیله ماهی قزل آلا بود به طوری که عصاره های آبی و الکلی ۳ و ۵ درصد به همراه محلول ۲٪ کیتوزان با روش غوطه وری بر سطح نمونه ها قرار گرفت و بررسی تغییرات pH، TVN، TBA و آنتی اکسیدان به روش DPPH و ارزیابی حسی به روش هدونیک طی روزهای اول، سوم و ششم نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تجزیه و تحلیل داده ها در بخش آمار توصیفی از میانگین، واریانس و انحراف استاندارد استفاده شد و همچنین در بخش آمار استنباطی از تحلیل واریانس و آزمون کروسکال والیس و آزمون فریدمن استفاده شد. همچنین در خصوص خواص pH اولیه فیله های ماهی قزل آلا رنگین کمان در این تحقیق در تمامی تیمارها تقریباً برابر ۶/۸۵ بود. روند تغییرات pH طی ۶ روز نگهداری فیله های قزل آلا به دست آمد. بالاترین میزان pH در روز سوم و در تیمار حاوی عصاره الکلی ۳ درصد می باشد و کمترین میزان pH در روز ششم می باشد. میزان TBA فیله های ماهی قزل آلا رنگین کمان در این تحقیق در تمامی تیمارها تقریباً برابر  $0/002 \pm 0/037$  بود. بهترین نتیجه در آزمایش فعالیت آنتی اکسیدان به روش DPPH برای تیمار حاوی عصاره آبی ۳٪ پوست سیب در روز سوم حاصل شد و در اندازه گیری TVN نمونه حاوی محلول کیتوزان ۲٪ در روز سوم بالاترین نتیجه به دست آمد.

کلید واژگان: ماهی قزل آلا، کیتوزان، عصاره پوست سیب قرمز

\* مسئول مکاتبات: ebhoseini@yahoo.com

## ۱- مقدمه

مواد فعال، مواد ضد میکروبی، آنتی اکسیدان ها، مواد مغذی، طعم دهنده ها، آزیم ها و رنگ ها در محصولات غذایی مختلف مورد توجه قرار گرفته است. در همین راستا تحقیقات قابل توجهی در توسعه و کاربرد بیوپلیمرهای استخراج شده از فراورده های طبیعی مختلف و یا ضایعات صنایع تولیدات غذایی انجام گرفته است و بیوپلیمرهایی از قبیل نشاسته، مشتقات سلولز، کیتین، کیتوزان، پروتئین ها (با منشاء حیوانی یا گیاهی) و چربی ها جهت تهیه فیلم ها و پوشش های نازک بر پوشاندن غذاهای تازه یا پروسس شده به منظور افزایش مدت ماندگاری آن ها مورد استفاده قرار می گیرند. استفاده از پوشش های خوراکی که به عنوان تکنولوژی مدرن علاوه برداشتن فوایدی مانند قابلیت خوردن، ساختمان ظاهری زیبا، سازگاری با محیط، غیرسمی و ارزان بودن، مواد غذایی را از آسیب های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی حفظ می کند و مانند سدی در برابر تبادل گازها، رطوبت و میکروارگانیسم ها عمل نموده و کیفیت و ماندگاری مواد غذایی را در فاصله تولید و رسیدن به دست مصرف کننده حفظ مینماید [۲].

## ۱-۱- ماهی قزل آلی رنگین کمان

ماهی قزل آلی رنگین کمانی (*Oncorhynchus mykiss*) یکی از عمده ترین گونه های ماهی پرورشی در سراسر جهان است. آزاد ماهیان عمدتاً در آب های سرد، زلال و سرشار از اکسیژن زندگی می کنند. از لحاظ ظاهری ماهی قزل آلی رنگین کمان دارای بدن کشیده ای است که دارای فلس های ریزی در سطح بدن می باشد. وجود یک بالچه چربی حد فاصل باله دمی و باله پشتی و همچنین قوس و قزح رنگین که در دو طرف بدن کشیده شده است از خصوصیات بارز این گونه می باشد. ماهی قزل آلی رنگین کمان در مقابل تغییرات درجه حرارت آب واکسیژن زیاد حساس نبوده و سازش خوبی با شرایط پرورش متراکم دارد همچنین در انتخاب غذا زیاد سختگیر نیست و از سرعت رشد مناسبی نیز برخوردار می باشد [۳].

پوشش های خوراکی از پروتئین یا پلی ساکارید ساخته می شوند و به تنهایی و یا ترکیب با مواد بیولوژیکی یا غیربیولوژیکی (پلی ساکارید PVC، ژلاتین، پروتئین ها)، به عنوان یک آلترناتیو معتبر هستند و برای افزایش ماندگاری ماهی به کار می روند [۴].

امروزه با توجه به دیدگاه نامطلوب مصرف کنندگان در خصوص افزودنیهای شیمیایی و مضرات آنها در مواد غذایی، گرایش به سمت استفاده از افزودنیهای طبیعی است با این حال به دلیل آزاد شدن این ترکیبات مانند عصاره ها به صورت کنترل نشده در ماده غذایی و ایجاد بوها و طعم های تند و یا غیرفعال شدن قسمتی از این ترکیبات فعال به دلیل واکنش با مواد غذایی، عملکرد آنها کاهش می یابد بنا بر این میتوان با استفاده از پوششهای خوراکی حاوی ترکیبات ضد میکروبی که به صورت کندتر سبب آزادسازی این ترکیبات به داخل گوشت میشوند و سبب حفظ غلظتهای بالاتر ترکیبات ضد میکروبی در سطح گوشت میشود کارایی این روش را افزایش داد فیلمهای زیست تخریبپذیر و با قابلیت خوراکی مختلف با منشا پلی ساکارید، پروتئین و چربی برای افزایش زمان ماندگاری انواع مختلفی از مواد غذایی استفاده میشوند. کیتوزان به عنوان یک بیوپلیمر غیر سمی و زیست تخریب پذیر که از کیتین موجود در پوسته خارجی سخت پوستان به دست می آید در صنایع غذایی مورد مصرف میباشد. در مطالعات گذشته اثرات ضدباکتریایی، ضدسرطانی و کاهش دهندگی کلسترول توسط کیتوزان گزارش شده است. خاصیت ضد باکتریایی کیتوزان مربوط به وجود بار مثبت مولکولهای آن و نتیجه ی واکنش با ملکولهای با بار منفی غشای سلول باکتری میدانند با این حال کاهش خاصیت آنتیبیوکتیریایی کیتوزان هنگام استفاده از آن به شکل پوشش و یا فیلم اشاره کرده اند. از آن جایی که فیلم ماهی ها محصولاتی هستند که سریع فاسد می شوند، توسعه روش های نگهداری برای گسترش ماندگاری آنها، مطلوب خواهد بود. ماهی قزل آلی رنگین کمانی نیز در برابر فساد به شدت حساس است. قزل آلی یکی از مهمترین منابع با کیفیت از نظر تغذیه ای برای انسان هاست، اما، نسبت به فساد میکروبی و شیمیایی بسیار حساس است. گوشت خصوصاً گوشت ماهی ها و آبزیان مستعد فساد شیمیایی و میکروبی است [۱]. بنابراین استفاده از نگهدارنده هایی با خصوصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی ضروری می باشد. پوشش کیتوزان نوعی از بسته بندی فعال برای حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری فیلم ماهی قزل آلی را فراهم می کند. امروزه استفاده از پوشش های طبیعی مختلف به تنهایی و یا با عنوان حامل

## ۱-۲- تعریف کیتوزان

کیتوزان، پلی ساکارید کیتین که از (۴ و ۱) دی اکسی  $D-\beta$  گلوکان تشکیل شده و ۲ آمینو دی اکسی  $D-\beta$  گلوکان تشکیل شده از جنس کیتین است که توسط اداره دارو و غذا آمریکا (USFDA) به عنوان افزودنی ایمن غذایی (GARS)، تایید شده است. علاوه بر آن کیتوزان به عنوان یک بیوپلیمر ایده آل برای تولید فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی فعال است که با توجه به ماهیت غیرسمی، سازگاری با محیط زیست، زیست تخریب پذیری و توانایی پوشش دهی انتخاب شده است [۵].

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۱-۲- آماده سازی نمونه

ماهی قزلآلای رنگینکمان تازه بین ۴۵۰ تا ۵۰۰ گرم، از بازار خریداری شد و به آزمایشگاه منتقل شد. بعد از تخلیه امعاء و احشاء و شستشو و پس از جدا کردن سر و استخوان، دو فیله از هر ماهی به دست آمد. نمونه‌های فیله به طور تصادفی در ۴ گروه تقسیم شدند و در آب مقطر (شاهد بدون پوشش) (تیمار یک) ۲ درصد محلول کیتوزان (شاهد ۲) و عصاره آبی و الکلی عصاره پوست سیب قرمز ۳ و ۵ درصد (تیمار ۲ و ۳). و عصاره آبی و الکلی عصاره پوست سیب قرمز (تیمار ۴ و ۵) و برای ۲۰ دقیقه قرار داده شدند، محلول پوشش نیز از ۰/۵٪ گلیسرول به عنوان پلاستی سایزر یا نرم کننده تشکیل شد. همه فیله‌ها در یک ظرف استریل شده قرار گرفتند تا پوشش‌های خوراکی واحد در دمای ۴ ذخیره شوند. آنالیزهای حسی و فیزیکی شیمیایی در وقفه‌های زمانی سه روزه (زمان‌های صفر، ۳، ۶) قرار گرفت و کیفیت کلی ماهی تعیین گردید. هر بار با سه تکرار و میانگین‌ها برای تخمین کیفیت کلی ماهی انجام شد.

شاهد: آب مقطر

تیمار ۱: کیتوزان ۲ درصد

تیمار ۲: عصاره آبی ۳ درصد

تیمار ۳: عصاره الکلی ۳ درصد

تیمار ۴: عصاره آبی ۵ درصد

تیمار ۵: عصاره الکلی ۵ درصد

### ۲-۲- روش‌های استفاده از پوشش‌های

### خوراکی

پوشش‌های خوراکی لایه‌های از مواد خوراکی هستند که به وسیله غوطه‌وری، اسپری کردن، برس‌زنی به طور مستقیم در سطح غذا به کار برده می‌شود [۶].

### ۲-۳- روش غوطه‌وری

یکی مرسوم ترین شیوه‌های پوشش دهی روش غوطه‌وری است محصول بین ۵ تا ۳۰ ثانیه در محلول غوطه‌ور می‌شود و سپس خارج در معرض هوا یا خشک کن حلال اضافی تبخیر و لایه نازکی از پوشش اطراف محصول را فرا می‌گیرد. روش غوطه‌وری روش مناسبی برای تولید محصولاتی یکنواخت و با کیفیت بالا می‌باشد با این حال نیاز به کنترل دقیق و محیط پاکیزه نیاز دارد [۷].

## ۳- آنالیز آماری

نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد (SD) بیان می‌شود. آنالیز آماری شامل متغیرهای مورد اندازه گیری برای گروه‌های شاهد و تیمار و مقایسه نتایج با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) در سطح معنی داری  $P < 0.05$  در صورت توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد. تفاوت‌های معنی دار آماری بین مقادیر میانگین‌ها (در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی دار باشد) با آزمون تعقیبی چند دامنه ای دانکن تعیین شد. برای تجزیه و تحلیل آماری ارزیابی حسی نیز از روش ناپارامتری کروسکال والیس برای مقایسه تیمارها در یک زمان مشخص نگهداری و از روش ناپارامتری فریدمن برای مقایسه یک تیمار در طی زمان نگهداری استفاده شد.

## ۴- روش انجام آزمایش‌ها

### ۴-۱- آزمایش فعالیت آنتی اکسیدان به روش

#### DPPH

یک میلی گرم در بالن ۱۰۰ ریخته و ۰,۲ میلی مول نمونه‌ها در اتانول قرار داده و ۵ گرم نمونه در بالن ۵۰ قرار داده شد. برای آماده سازی و خواندن اسپکتوفتومتر از هر نمونه ۰/۳ میلی لیتر برداشته در لوله ی آزمایش ریخته و به آن ۰/۲ میلی لیتر اتانول و ۲/۵ سی سی DPPH اضافه شد تا به حجم ۳ میلی لیتر برسد سپس به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده و جذب نمونه‌ها را در طول موج ۵۱۶ نانومتر خوانده شد. سپس از

۷۶ گرم پوست خشک حاصل شد. پوست خشک حاصل شده به مدت ۱۸ ساعت در داخل آون قرار گرفت.

برای به دست آوردن عصاره های آبی و الکلی در غلظت های سه درصد ۶ گرم پودر سیب را به حجم ۲۰۰ سی سی در داخل آب مقطر رساندیم و برای عصاره سه درصد الکلی ۶ گرم پودر سیب را به حجم ۲۰۰ سی سی در داخل اتانول خالص رساندیم. برای عصاره های آبی و الکلی پنج درصد، ۱۰ گرم از پودر سیب مورد نظر را به حجم ۲۰۰ سی سی در آب مقطر و اتانول خالص رساندیم. محلول به دست آمده به مدت دو هفته در حلال باقی ماند تا عصاره به طور کامل خارج شود. سیب قرمز به دلیل وجود رنگدانه هایی مانند فلاونوئید، آنتوسیانین و رنگدانه های آنتی اکسیدانی و ویتامین ها، انتخاب ما برای انجام آزمایشات مورد نظر بود.

۲ ارلن به حجم ۲۰۰ سی سی دارای عصاره های آبی ۳ و ۵ درصد و ۲ ارلن به حجم ۲۰۰ سی سی دارای عصاره های الکلی استریل به دست آمد. برای حصول نتایج دقیق از روش تندالیزاسیون برای پودر سیب مورد نظر استفاده گردید.

#### ۴-۷- تهیه محلول کیتوزان ۲ درصد

۱۰ گرم کیتوزان به وسیله ی ترازوی الکتریکی توزین شد و سپس به داخل بالن ۵۰۰ ریخته و در اسید استیک یک درصد حل شد و مقدار ۰٫۵ درصد گلیسرول به عنوان نرم کننده اضافه شد و روی هیتر قرار گرفت سپس مگنت در داخل محلول ریخته شد و کیتوزان مورد نظر به دست آمد. به مدت ۳۰ دقیقه محلول کیتوزان ثابت ماند تا محلول به دمای ثابت رسید و خنک شد [۷].

#### ۵- نتایج آزمایشات شیمیایی در طول

##### دوره نگهداری

##### pH

تغییرات pH فیله های ماهی قزل آلی رنگین کمان و تفاوت pH طی زمان در تیمارهای مختلف نگهداری در جدول زیر آورده شده است. همانطور که در داده های جدول مشاهده می شود. میزان pH فیله ماهیان در کلیه تیمارها در زمان های صفر، سه و شش تفاوت معنی داری باهم نداشته و بین سایر تیمارها تا این زمان اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P < 0/05$ ).

فرمول مورد نظر درصد جذب به دست آمد [۸].

٪جذب = جذب سمپل - جذب اتانول / جذب اتانول \* ۱۰۰

$$RSA(\%) = \frac{Abs_{control} - Abs_{sample}}{Abs_{control}} \times 100$$

#### ۴-۲- اندازه گیری pH

اندازه گیری pH های تیمارها به فاصله ی ۲ ساعت برای هر نمونه و در هر سه تکرار صورت گرفت [۸].

#### ۴-۳- اندازه گیری TVN

۱۰ گرم از نمونه مورد نظر آماده شد با دقت ۰٫۰۱ گرم توزین شد و به داخل بالن قرار داده شد به بالن مورد نظر ۲ گرم اکسید منیزیوم و حدود ۳۰۰ میلی لیتر آب و ۲٫۵ میلی لیتر اسید بوریک و چند قطره معرف (متیل) اضافه شد سپس محلول مورد نظر را در داخل یک ارلن ریخته و در انتها حرارت و تفتیر صورت گرفت و محتویات به جوش آمد. محلول در روش تیتیر با اسید سولفوریک ۱٪ نرمال تیتیر شد. نتیجه از فرمول مورد نظر حاصل شد. تمامی آزمایش ها با یک نتیجه اصلی و سه تکرار صورت گرفت [۸].

#### ۴-۴- روش اندازه گیری TBA

۲/۵ میلی گرم از نمونه در داخل بالن ۵۰ ریخته سپس تری کلرو استیک اسید ۱۰٪ به حجم رسانده شد و به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط شد سپس از صافی رد شد و مقدار ۲ CC از آن در ۲ میلی لیتر آب روی هیتر به مدت ۴۵ دقیقه حل شد سپس در لوله ی آزمایش ریخته در انتها جذب مورد نظر در طول موج ۵۳۳ نانومتر اندازه گیری شد. کلیه ی گراف های دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج بین ۴۵۰-۵۵۰ نانومتر بود [۸].

#### ۴-۵- روش ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه ها به روش هدونیک ۵ نقطه ای صورت گرفت. ارزیاب ها از گروه سنی بین ۲۰ تا ۴۰ سال از هر دو جنس به تعداد ۳۰ نفر انتخاب شدند. روش تهیه نمونه ها به روش سرخ کردن می باشد. ارزیابی حسی شامل رنگ - بافت - طعم - مزه هنگام جویدن - پذیرش کلی. در شرایط کاملا یکسان برای هر یک از ویژگی حسی، عدد ۵ برای ویژگی بسیار مطلوب و ۱ بسیار غیر قابل قبول در نظر گرفته شد [۸].

#### ۴-۶- روش عصاره گیری پوست سیب

از ۶ کیلوگرم سیب مورد نظر ۳۳ عدد سیب به دست آمده که

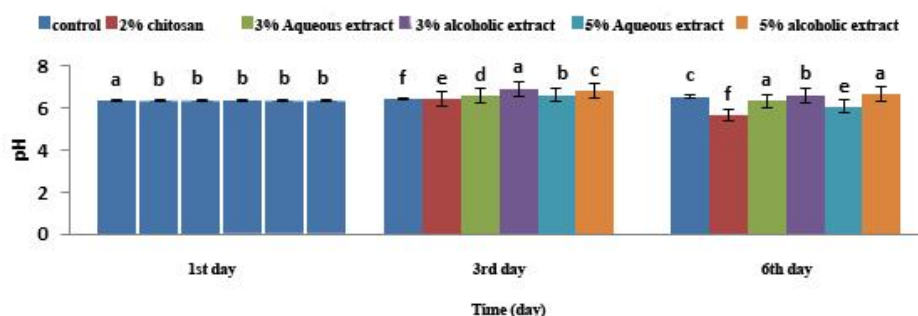
**Table 1** Different treatments pH in trout fish fillet in preservation temperature  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ 

pH	1 <sup>st</sup> day	3 <sup>rd</sup> day	6 <sup>th</sup> day
control	0/04 <sup>a</sup> ±6/39	0/01 <sup>t</sup> ±6/45	0/01 <sup>c</sup> ±6/57
2% chitosan	0/04 <sup>b</sup> ±6/39	0/00 <sup>e</sup> ± 6/46	0/05 <sup>f</sup> ± 5/65
3% Aqueous extract	0/04 <sup>b</sup> ±6/39	0/00 <sup>d</sup> ± 6/59	0/00 <sup>a</sup> ± 6/35
3 %alcoholic extract	0/04 <sup>b</sup> ±6/39	0/00 <sup>a</sup> ± 6/90	0/00 <sup>b</sup> ± 6/62
5% Aqueous extract	0/04 <sup>b</sup> ±6/39	0/00 <sup>b</sup> ± 6/88	0/00 <sup>e</sup> ± 6/07
5% alcoholic extract	0/04 <sup>b</sup> ±6/39	0/00 <sup>c</sup> ± 6/83	0/00 <sup>a</sup> ± 6/70

mean± standard deviation from average (frequency N=3)

\* different letter indicates significant difference in a column ( $p \geq 0.01$ ).

\*\*capital letters indicate significant difference in a row ( $p \geq 0.01$ ).

**Fig 1** examining trout fish samples pH

Different letters indicate significant difference ( $p \geq 0.01$ ).

TVN در فیله ماهی ها در کلیه تیمارها در زمان های صفر و

سه و شش دارای تفاوت معنی دار می باشد ( $P < 0.05$ ). چنان

چه مشاهده می شود مقادیر TVN در روز سوم و در تیمار داری

پوشش کیتوزان ۲ درصد به بیشترین میزان خود رسید.

## ۱-۵- تغییرات TVN

فیله های ماهی قزل آلاهی رنگین کمان و تفاوت TVN، طی

زمان در تیمارهای مختلف نگهداری در جدول زیر آورده شده

است. همانطور که در داده های جدول مشاهده می شود میزان

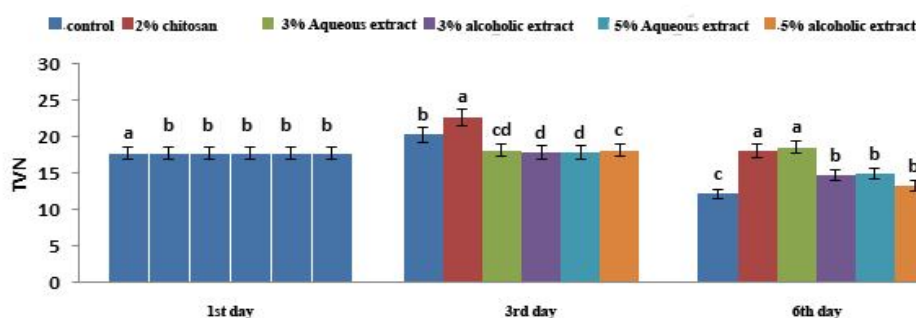
**Table 2** TVN of different treatments in trout fish fillet in preservation temperature  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ 

TVN	1 <sup>st</sup> day	3 <sup>rd</sup> day	6 <sup>th</sup> day
control	17/77±0/02 <sup>a</sup>	20/35±0/05 <sup>b</sup>	12/25±0/05 <sup>c</sup>
2% chitosan	17/77± 0/02 <sup>b</sup>	22/78±0/01 <sup>a</sup>	18/06± 0/10 <sup>a</sup>
3% Aqueous extract	17/77± 0/02 <sup>b</sup>	18/20±0/10 <sup>cd</sup>	18/64± 0/01 <sup>a</sup>
3% alcoholic extract	17/77± 0/02 <sup>b</sup>	17/92±0/01 <sup>d</sup>	14/90± 0/00 <sup>b</sup>
5% Aqueous extract	17/77± 0/02 <sup>b</sup>	17/92± 0/01 <sup>d</sup>	14/97± 0/00 <sup>b</sup>
5% alcoholic extract	17/77± 0/02 <sup>b</sup>	18/36±0/49 <sup>c</sup>	13/40± 0/00 <sup>b</sup>

mean ± standard deviation from average (frequency N=3)

\* different letter indicates significant difference in a column ( $p \geq 0.01$ ).

\*\*capital letters indicate significant difference in a row ( $p \geq 0.01$ ).

**Fig 2** examining TVN of trout fish samples

Different letters indicate significant difference ( $p \geq 0.01$ ).

## ۲-۵- تغییرات TBA

TBA فیله ی ماهی ها در کلیه تیمارها در زمان های صفر، سه و شش تفاوت معنی داری با هم داشت و بین سایر تیمارها در زمان های مختلف اختلاف معنی داری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).

فیله های ماهی قزل آلائی رنگین کمان و تفاوت TBA، طی زمان در تیمارهای مختلف نگهداری در جدول زیر آورده شده است. همانطور که در داده های جدول مشاهده می شود میزان

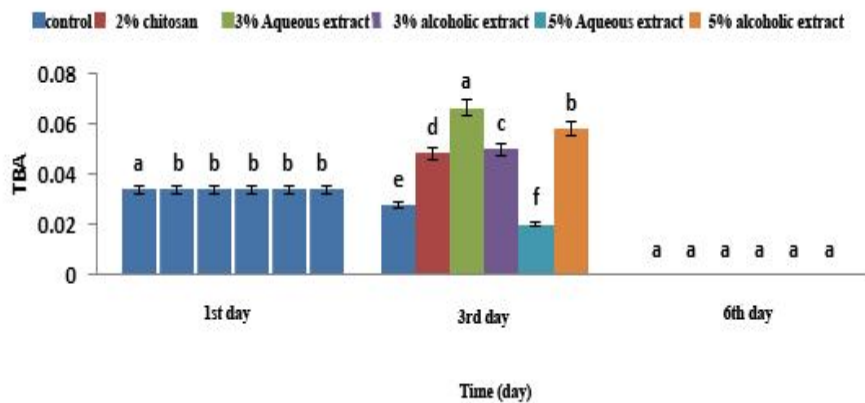
**Table 3** TBA of different treatments in trout fish fillet in preservation temperature  $4 \pm 1^\circ\text{C}$

TBA	1 <sup>st</sup> day	3 <sup>rd</sup> day	6 <sup>th</sup> day
control	0/032±0/10 <sup>a</sup>	0/028±0/00 <sup>a</sup>	0/00±0/10 <sup>a</sup>
2% chitosan	0/032±0/10 <sup>b</sup>	0/037±0/00 <sup>d</sup>	0/00±0/00 <sup>a</sup>
3% Aqueous extract	0/032±0/10 <sup>b</sup>	0/069±0/00 <sup>a</sup>	0/00±0/00 <sup>a</sup>
3% alcoholic extract	0/032±0/10 <sup>b</sup>	0/050±0/00 <sup>c</sup>	0/00±0/00 <sup>a</sup>
5% Aqueous extract	0/032±0/10 <sup>b</sup>	0/020±0/00 <sup>f</sup>	0/00±0/00 <sup>a</sup>
5% alcoholic extract	0/032±0/10 <sup>b</sup>	0/062±0/00 <sup>b</sup>	0/00±0/00 <sup>a</sup>

mean ± standard deviation from average (frequency N=3)

\* different letter indicates significant difference in a column ( $p \geq 0.01$ ).

\*\*capital letters indicate significant difference in a row ( $p \geq 0.01$ ).



**Fig 3** examining TBA of trout fish samples

Different letters indicate significant difference ( $p \geq 0.01$ ).

تغییرات آنتی اکسیدان به روش DPPH در کلیه تیمارها در زمان های صفر، سه و شش دارای تفاوت معنی دار می باشد ( $P < 0.05$ ) و بین سایر تیمارها تا این زمان اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

## ۳-۵- تغییرات DPPH

فیله های ماهی قزل آلائی رنگین کمان و تفاوت DPPH، طی زمان در تیمارهای مختلف نگهداری در جدول آورده شده است. همانطور که در داده های جدول مشاهده می شود میزان

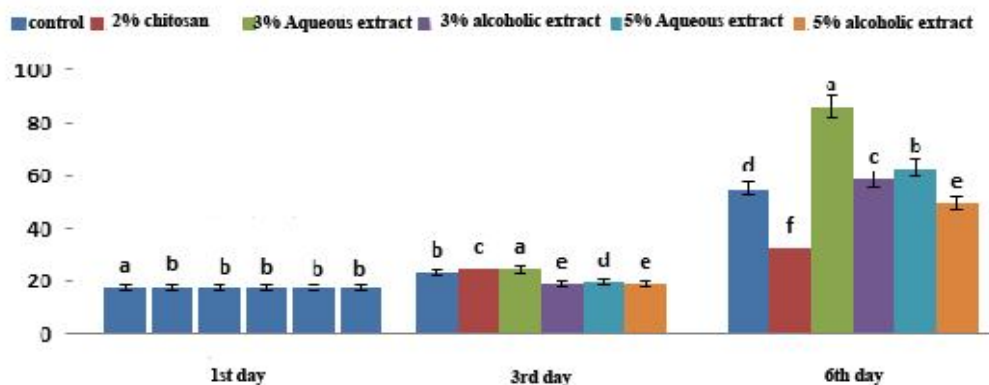
**Table 4** antioxidant measurement of different treatments in trout fish fillet in preservation temperature  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  using DPPH method

TBA	1 <sup>st</sup> day	3 <sup>rd</sup> day	6 <sup>th</sup> day
control	17.40±0.10 <sup>a</sup>	23.55±0.05 <sup>b</sup>	55/00±1.00 <sup>d</sup>
2% chitosan	17.40±0.10 <sup>b</sup>	23.25±0.05 <sup>c</sup>	32/65±0.05 <sup>f</sup>
3% Aqueous extract	17.40±0.10 <sup>b</sup>	24.60±0.00 <sup>a</sup>	86/30±0.10 <sup>a</sup>
3% alcoholic extract	17.40±0.10 <sup>b</sup>	18.65±0.05 <sup>e</sup>	58.70±0.10 <sup>c</sup>
5% Aqueous extract	17.40±0.10 <sup>b</sup>	19.25±0.00 <sup>d</sup>	62.85±0.05 <sup>b</sup>
5% alcoholic extract	17.40±0.10 <sup>b</sup>	18.60±0.00 <sup>e</sup>	49.65±0.05 <sup>c</sup>

mean ± standard deviation from average (frequency N=3)

\* different letter indicates significant difference in a column ( $p \geq 0.01$ ).

\*\*capital letters indicate significant difference in a row ( $p \geq 0.01$ ).



**Fig 4** examining trout fish samples using DPPH  
Different letters indicate significant difference ( $p \geq 0.01$ ).

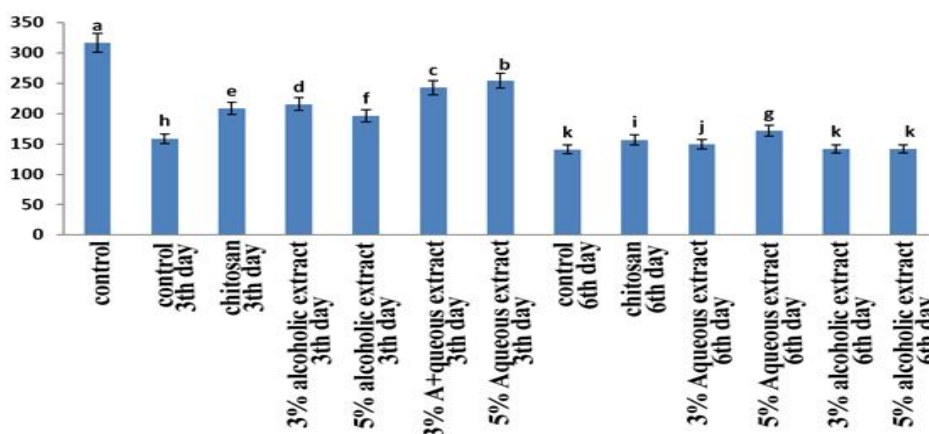
نتیجه گرفت که پوشش کیتوزان حاوی عصاره پوست سیب باعث افزایش عمر ماندگاری و ویژگیهای کیفی فیله ماهی خواهد شد.

مطابق جدول بالا مقایسه ی گروه ها و تیمارها در سه بازه زمانی در F گروه در سطح ۰/۰۱ معنادار است ( $P < 0.01$ )، به عبارت دیگر بین نمرات پس آزمون گروه آزمایش و کنترل تفاوت معنادار وجود دارد. پس می توان

## ۶- ارزیابی حسی

**Table 5** examining color points of trout fish

variable	Treatment and day	N	Mean rank	Significance level
Color points	Control 3 <sup>rd</sup> day	30	316.62 <sup>a</sup>	0.001
	Control 3 <sup>rd</sup> day	30	158.83 <sup>h</sup>	
	Chitosan 3 <sup>rd</sup> day	30	208.45 <sup>c</sup>	
	3% alcoholic 3 <sup>rd</sup> day	30	215.52 <sup>d</sup>	
	5% alcoholic 3 <sup>rd</sup> day	30	196.35 <sup>f</sup>	
	3% Aqueous 3 <sup>rd</sup> day	30	242.68 <sup>c</sup>	
	5% Aqueous 3 <sup>rd</sup> day	30	254.28 <sup>b</sup>	
	Control 6 <sup>th</sup> day	30	140.90 <sup>k</sup>	
	Chitosan 6 <sup>th</sup> day	30	156.75 <sup>i</sup>	
	3% Aqueous 6 <sup>th</sup> day	30	149.38 <sup>j</sup>	
	5% Aqueous 6 <sup>th</sup> day	30	171.88 <sup>g</sup>	
	3% alcoholic 6 <sup>th</sup> day	30	141.85 <sup>k</sup>	
5% alcoholic 6 <sup>th</sup> day	30	141.85 <sup>k</sup>		



**Fig 5** examining color points of trout fish samples  
Different letters indicate significant difference ( $p \geq 0.01$ ).

با توجه به آزمون کروسکال والیس می توان نتیجه گرفت که بین گروه ها و تیمار در هر روز تفاوت معنادار وجود دارد. و از لحاظ رنگ

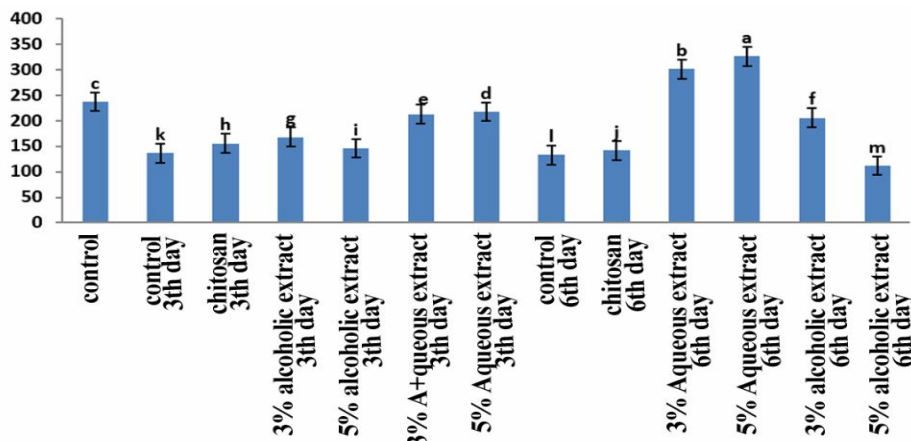
می باشد پس می توان گفت که بین گروه ها و تیمار در هر تیمار با توجه به سطح معناداری کمتر از



ماهی قزل آلا می توان گفت با گروه شاهد توانسته بهترین رنگ شد و بهترین نتیجه در رنگ بعد از نمونه شاهد در تیمار حاوی عصاره آبی ۵٪ می باشد. در پوشش کیتوزان و عصاره آبی پوست سیب سبب بهبود رنگ به خود اختصاص دهد. البته نگهداری فیله ماهی قزل آلا در پوشش کیتوزان و عصاره آبی پوست سیب سبب بهبود

**Table 6** examining total acceptability points of trout fish

variable	Treatment and day	N	Mean rank	Significance level
total acceptability points	Control 3 <sup>rd</sup> day	30	237.00 <sup>c</sup>	0.001
	Control 3 <sup>rd</sup> day	30	136.20 <sup>k</sup>	
	Chitosan 3 <sup>rd</sup> day	30	155.75 <sup>h</sup>	
	3% alcoholic 3 <sup>rd</sup> day	30	167.87 <sup>g</sup>	
	5% alcoholic 3 <sup>rd</sup> day	30	145.67 <sup>i</sup>	
	3% Aqueous 3 <sup>rd</sup> day	30	212.93 <sup>e</sup>	
	5% Aqueous 3 <sup>rd</sup> day	30	217.68 <sup>d</sup>	
	Control 6 <sup>th</sup> day	30	132.50 <sup>l</sup>	
	Chitosan 6 <sup>th</sup> day	30	141.73 <sup>j</sup>	
	3% Aqueous 6 <sup>th</sup> day	30	301.28 <sup>b</sup>	
	5% Aqueous 6 <sup>th</sup> day	30	326.43 <sup>a</sup>	
	3% alcoholic 6 <sup>th</sup> day	30	205.77 <sup>f</sup>	
	5% alcoholic 6 <sup>th</sup> day	30	111.53 <sup>m</sup>	



**Fig 6** examining total acceptability points of trout fish samples  
Different letters indicate significant difference ( $p \geq 0.01$ ).

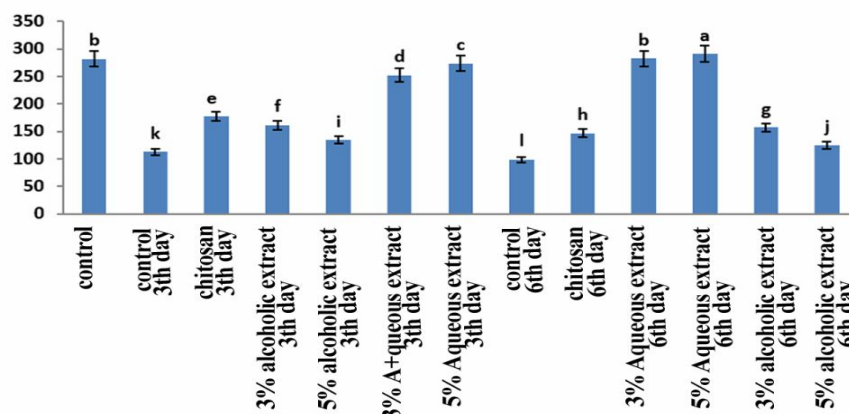
با توجه به آزمون کروسکال والیس می توان نتیجه گرفت که بین گروه ها در هر تیمار با توجه به سطح معناداری کمتر از  $p < 0.01$  می باشد پس می توان گفت که بین گروه ها و تیمار در هر روز تفاوت معنادار وجود دارد و از لحاظ پذیرش کلی با توجه به آزمون کروسکال والیس تیمار حاوی عصاره آبی ۵٪ و عصاره آبی ۳٪ در روز ششم توانسته بهترین نتایج را در منظر پذیرش کلی به دست آورد.

**۶-۱- جدول تغییر بافت**

**Table 7** examining texture of trout fish

variable	Treatment and day	N	Mean rank	Significance level
texture points	Control 3 <sup>rd</sup> day	30	281.87 <sup>b</sup>	0.001
	Chitosan 3 <sup>rd</sup> day	30	112.5 <sup>k</sup>	
	Chitosan 3 <sup>rd</sup> day	30	177.37 <sup>c</sup>	
	3% alcoholic 3 <sup>rd</sup> day	30	161.38 <sup>f</sup>	
	5% alcoholic 3 <sup>rd</sup> day	30	134.32 <sup>i</sup>	
	3% Aqueous 3 <sup>rd</sup> day	30	251.85 <sup>d</sup>	
	5% Aqueous 3 <sup>rd</sup> day	30	273.6 <sup>e</sup>	
	Control 6 <sup>th</sup> day	30	98.77 <sup>l</sup>	
	Chitosan 6 <sup>th</sup> day	30	146.75 <sup>h</sup>	
	3% Aqueous 6 <sup>th</sup> day	30	282.15 <sup>b</sup>	
	5% Aqueous 6 <sup>th</sup> day	30	290.62 <sup>a</sup>	
	3% alcoholic 6 <sup>th</sup> day	30	157.03 <sup>g</sup>	
	5% alcoholic 6 <sup>th</sup> day	30	125.15 <sup>j</sup>	





**Fig 7** examining texture points of trout fish samples  
Different letters indicate significant difference ( $p \geq 0.01$ ).

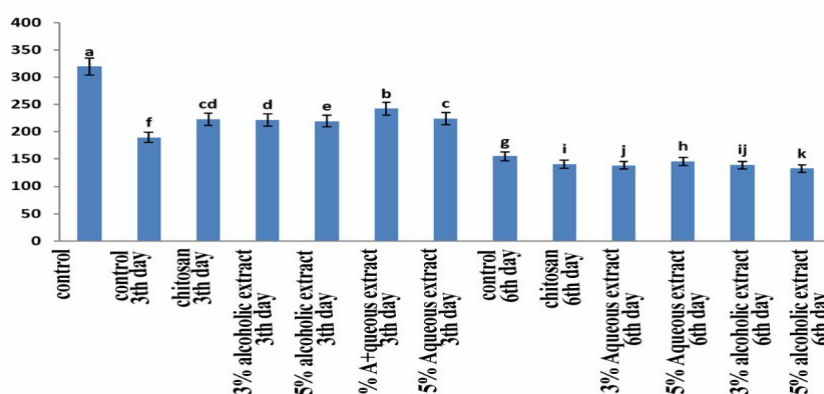
با توجه به آزمون کروسکال والیس می توان نتیجه گرفت که بین گروه ها در هر تیمار با توجه به سطح معناداری کمتر از  $p < 0.001$  می باشد پس می توان گفت که بین گروه ها و تیمار در هر روز تفاوت معنادار وجود دارد و از لحاظ بافت با

توجه به آزمون کروسکال والیس تیمارهای حاوی عصاره های آبی ۰.۵٪ و ۰.۳٪ به ترتیب در روز ششم توانست بهترین نتایج را در آنالیز بافت به دست آورد.

**۶-۲-جدول تغییرات طعم**

**Table 8** examining flavor

variable	Treatment and day	N	Mean rank	Significance level
flavor points	Control 3 <sup>rd</sup> day	30	319.35 <sup>a</sup>	0.001
	Chitosan 3 <sup>rd</sup> day	30	189.98 <sup>f</sup>	
	Chitosan 3 <sup>rd</sup> day	30	223.40 <sup>cd</sup>	
	3% alcoholic 3 <sup>rd</sup> day	30	221.991 <sup>d</sup>	
	5% alcoholic 3 <sup>rd</sup> day	30	219.68 <sup>e</sup>	
	3% Aqueous 3 <sup>rd</sup> day	30	242.23 <sup>b</sup>	
	5% Aqueous 3 <sup>rd</sup> day	30	224.40 <sup>c</sup>	
	Control 6 <sup>th</sup> day	30	155.17 <sup>g</sup>	
	Chitosan 6 <sup>th</sup> day	30	140.69 <sup>i</sup>	
	3% Aqueous 6 <sup>th</sup> day	30	138.32 <sup>j</sup>	
	5% Aqueous 6 <sup>th</sup> day	30	145.43 <sup>h</sup>	
	3% alcoholic 6 <sup>th</sup> day	30	139.25 <sup>ij</sup>	
	5% alcoholic 6 <sup>th</sup> day	30	132.60 <sup>k</sup>	



**Fig 8** examining flavor of trout fish samples  
Different letters indicate significant difference ( $p \geq 0.01$ ).

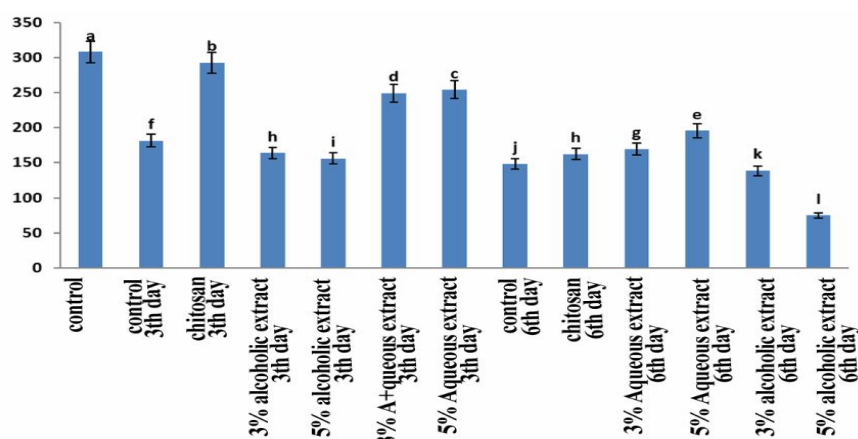
تیمار حاوی عصاره ی آبی ۳ درصد در روز سوم می باشد و به مرور زمان در روز ششم شاخص کیفیت طعم به طور قابل ملاحظه ای افت کرد.

### ۶-۳- جدول تغییرات بو

با توجه به آزمون کروسکال والیس می توان نتیجه گرفت که بین گروه ها در هر تیمار با توجه به سطح معناداری کمتر از  $p < 0.001$  می باشد پس می توان گفت که بین گروه ها و تیمار در هر روز تفاوت معنادار وجود دارد و از لحاظ طعم تیمارها تا روز ۳ توانست مطلوب باشد و بهترین نتیجه برای

**Table 9** examining trout fish odor

variable	Treatment and day	N	Mean rank	Significance level
odor points	Control 3 <sup>rd</sup> day	30	308.2 <sup>a</sup>	0.001
	Chitosan1 3 <sup>rd</sup> day	30	181.72 <sup>f</sup>	
	Chitosan 3 <sup>rd</sup> day	30	292.68 <sup>b</sup>	
	3% alcoholic 3 <sup>rd</sup> day	30	164.4 <sup>h</sup>	
	5% alcoholic 3 <sup>rd</sup> day	30	156.2 <sup>i</sup>	
	3% Aqueous 3 <sup>rd</sup> day	30	249.22 <sup>d</sup>	
	5% Aqueous 3 <sup>rd</sup> day	30	254 <sup>c</sup>	
	Control 6 <sup>th</sup> day	30	148.43 <sup>j</sup>	
	Chitosan 6 <sup>th</sup> day	30	162.65 <sup>h</sup>	
	3% Aqueous 6 <sup>th</sup> day	30	170.08 <sup>g</sup>	
	5% Aqueous 6 <sup>th</sup> day	30	195.67 <sup>e</sup>	
	3% alcoholic 6 <sup>th</sup> day	30	138.78 <sup>k</sup>	
	5% alcoholic 6 <sup>th</sup> day	30	75.07 <sup>l</sup>	



**Fig 9** examining odor of trout fish samples  
Different letters indicate significant difference ( $p \geq 0.01$ ).

نمونه شاهد دارای بالاترین رتبه در میان تیمارها است. البته تیمار حاوی کیتوزان ۲ درصد در روز سوم هم توانسته نتیجه ی خوبی به دست آورد.

### ۶-۴- آزمون فریدمن

با توجه به آزمون کروسکال والیس می توان نتیجه گرفت که بین گروه ها در هر تیمار با توجه به سطح معناداری کمتر از  $p < 0.001$  می باشد پس می توان گفت که بین گروه ها و تیمار در هر روز تفاوت معنادار وجود دارد و از لحاظ بو

**Table 10** ranking sensory evaluation based on daily treatments

sensory evaluation	mean	rank	Significance level
color	2.91	3	0.001
texture	3.20	2	0.001
flavor	2.80	5	0.001
odor	2.83	4	0.001
Total acceptability	3.25	1	0.001

## ۷- بحث و نتیجه گیری

قرل آلا به دست آمد. بالاترین میزان pH در روز سوم و در تیمار حاوی عصاره الکلی ۳ درصد میباشد و کمترین میزان pH در روز ششم میباشد.

میزان pH پس از مرگ ماهی بر اثر تولید اسید لاکتیک حاصل از گلیکولیز مقدار pH کاهش می‌یابد و با افزایش مدت نگهداری به دلیل عملکرد آنزیم‌های پروتئولیتیک میزان آمین‌های آزاد افزایش می‌یابد که سبب افزایش میزان نمونه‌ها می‌گردد در تحقیقات بر روی ماهی ازون‌برون، قره‌برون و آنچوی مشخص گردید با نگهداری فیله‌ها میزان pH کاهش می‌یابد pH در فرآورده‌های شیلاتی به عنوان شاخص فساد می‌باشد که بالاتر از ۷ در فیله ماهیان نشان‌دهنده فساد است که در این تحقیق در نمونه‌های فیله ماهیان pH بالاتر از ۷ مشاهده نشد.

میزان TBA فیله‌های ماهی قرل آلائی رنگین کمان در این تحقیق در تمامی تیمارها تقریباً برابر  $0.02 \pm 0.37$  بود که با نتایج سایر محققین بر روی میزان TBA ماهی قرل آلائی رنگین اولیه تقریباً برابر می‌باشد با تحقیقات Jasour و همکاران، ۲۰۱۱ و Chytiri و همکاران، ۲۰۰۴؛ ذوالفقاری و همکاران، ۱۳۹۰؛ Ojagh و همکاران، ۲۰۱۰ همسو میباشد. باتوجه به ارجحیت نتایج عصاره آبی ۵ درصد در این تحقیق برای پوشش ماهی قرل آلا پیشنهاد میشود از این عصاره استفاده شود.

البته استفاده از پوشش کیتوزان ۲٪ در بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی فیله ی قرل آلا موثر است.

## ۸- منابع

- [1] Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S., & Brooks, M. S. (2010). Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: review. *American Journal of Applied Sciences*, 7(7), 846-864.
- [2] Manso, S., Pezo, D., Gomez-Lus, R., & Nerin, C. (2014). Diminution of aflatoxin B1 production caused by an active packaging containing cinnamon essential oil. *Food Control*, 45, 101-108.
- [3] Arashisar, S., Hisar, O., Kaya, M., & Yanik, T. (2004). Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *International Journal of Food Microbiology*,

بر اساس نتایج به دست آمده و تجزیه و تحلیل داده های حاصل از ارزیابی حسی طی شش روز نگهداری در سردخانه ۴ درجه سلسیوس با افزایش زمان نگهداری امتیاز کیفی فاکتورهای حسی شامل رنگ، بو، طعم و مزه، بافت و پذیرش کلی در نمونه آزمایشی کاهش یافت؛ اما نسبت به نمونه شاهد (عصاره آبی ۵ درصد و ۳ درصد) از لحاظ رنگ، بو و طعم و مزه، بافت و پذیرش کلی از کیفیت بهتری برخوردار بود. نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج به دست آمده توسط ایزسی و همکاران، ۲۰۱۱ و تاسکایا و همکارانش در سال ۲۰۰۳ مطابقت دارد.

و در کل با توجه به آزمون کر و سکالوالیس میتوان نتیجه گرفت که بین گروهها در هر تیمار با توجه به سطح معناداری کمتر از  $P > 0.01$  میباشد پس میتوان گفت که بین گروهها و تیمارها در هر روز تفاوت معنادار وجود دارد. و از لحاظ رنگ ماهی قرل آلا میتوان گفت با گروه شاهد توانسته بهترین رنگ به خود اختصاص دهد و بهترین نتیجه در ارزیابی رنگ بعد از نمونه شاهد در تیمار حاوی عصاره ی آبی ۵٪ روز سوم میباشد. از لحاظ طعم تیمارها تا روز سوم توانست برای مصرف کننده مطلوب باشد و بهترین نتیجه در بین تیمارها در تیمار حاوی عصاره آبی ۳ در صد روز سوم میباشد و به مرور زمان شاخص کیفیت طعم به طور قابل ملاحظه ای افت کرد.

از لحاظ شاخص بو بین گروهها و تیمارها دارای تفاوت معنی دار بود. در بیستیمار نمونه حاوی کیتوزان در روز سوم دارای بالاترین رتبه و سپس عصاره آبی ۵٪ روز سوم بهترین تیمار بوده است. از منظر پذیرش کلی تیمار حاوی عصاره آبی ۵٪ پوست سیب و تیمار حاوی عصاره آبی ۳٪ پوست سیب در روز ششم توانسته بهترین منابع را در آنالیز پذیرش کلی به دست آورد.

در آنالیز بافت هم با توجه به آزمون کروسکالوالیس که تیمارها دارای تفاوت معنی دار بودند عصاره های آبی ۵٪ و ۳٪ به ترتیب در روز ششم بهترین نتایج را گرفتند.

همچنین در خصوص خواص pH اولیه فیله های ماهی قرل آلائی رنگین کمان در این تحقیق در تمامی تیمارها تقریباً برابر بود که با نتایج سایر محققین بر روی میزان pH ماهی قرل آلائی رنگین کمان اولیه فیله تقریباً همخوانی دارد.

در این تحقیق روند تغییرات pH طی ۶ روز نگهداری فیله‌های

- interactions in edible films and coatings. *Food/ Nahrung*, 44(3), 148–151.
- [7] Ojagh, S.M., Rezai, M., Razari, 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
- [8] Ramezani, Z., Zarei, M., & Raminnejad, N. (2015). Comparing the effectiveness of chitosan and nanochitosan coatings on the quality of refrigerated silver carp fillets. *Food control*, 51, 43-48.
- 97(2), 209-214.
- [4] Gomez-Estaca, J. (2007). Tratamiento combinado de alta presión, antioxidantes naturales y envasado activo para preservar la calidad del pescado ahumado en frío (Ph.D. thesis) (p. 419). Universidad Complutense de Madrid.
- [5] Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 114(4), 1173–1182.
- [6] McHugh, T. H. (2000). Protein-lipid

## Physicochemical, and sensory optimization of Trout fish fillet (*Oncorhynchus mykiss*) containing apple peel extract and chitosan edible coating

Ebrahimi, A. H.<sup>1</sup>, Hosseini, S. E.<sup>2\*</sup>, Khoshkhoo, ZH.<sup>3</sup>

1. M.Sc. Student of Food Science and Technology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Associate prof faculty of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Associate prof faculty of Food Science and Technology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received: 2018/12/03 Accepted: 2019/06/16)

The use of natural additives as antimicrobial agents (such as herbal extracts) and the use of oral coatings is an appropriate way to control pathogenic bacteria and increase the shelf-life of processed foods, which can reduce the health risks and economic losses caused by microbial growths of the origin food. The aim of this study was to investigate the effect of chitosan and apple extracts on trout microbial quality, so that the aqueous and alcoholic extracts of 3 and 5% with 2% chitin were subjected to dipping method on the surface of the samples. Changes in pH, TVN, TBA and DPPH and sensory were investigated during the first, third and sixth days of storage. In order to analyze the data in the descriptive statistics section, mean, standard variance and standard deviation were used. Also, inferential statistics, analysis of variance, Crocasselville analysis and Friedman's test were used. Results showed the best result in color evaluation after the control sample was in the treatment containing 5% extracts. The taste of the treatments was favorable for the consumer until the third day, and the best result was observed in treatments containing a 3% aqueous extract of the third day, and over time the taste quality index dropped significantly. There was a significant difference between groups and treatments in terms of B-index. Among the treatments, the sample containing chitosan was the highest on the third day and then the 5% extract was the best treatment. From the perspective of the overall acceptance of a 5% apple aqueous extract and an apple aqueous extract of 3%, on the 6th day, the best results were obtained in the overall acceptance analysis. In the tissue analysis, according to Kruskal Wallis test, the treatments showed a significant difference, 5% and 3% water extract was the best on the sixth day, respectively. Regarding the basic pH properties of rainbow trout fillets in this study, in all treatments, it was approximately 6.85%. The process of pH changes during 6 days of storage of trout fillets was obtained. The highest pH was observed on day 3 and in the treatment containing alcoholic extract was 3% and the lowest pH was on the sixth day. The TBA of rainbow trout fillets in this study was almost 0.03 0.02 0.02 for all treatments.

**Key words:** Trout, Chitosan, Apple skin Extract

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: ebhoseini@yahoo.com