

## بهینه سازی پوشش‌های خوراکی کیتوسان و یا ژلاتین برای افزایش کیفیت میگو در دمای یخچال

فاطمه فرج زاده<sup>۱</sup>، علی معتمدزادگان<sup>۲\*</sup>، سید احمد شهیدی<sup>۳</sup> و شبنم حمزه<sup>۴</sup>

- ۱- کارشناسی ارشد مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت الله آملی، گروه علوم و صنایع غذایی، آمل، ایران  
 ۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی منابع طبیعی ساری  
 ۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت الله آملی، آمل  
 ۴- مربی، گروه علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی تجن، قائمشهر  
 (تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۷)

### چکیده

به منظور بهبود کیفیت میگو در دمای یخچال ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ )، نمونه‌های میگو در ۱۵ گروه تیماری با محلول‌های کیتوسان (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ درصد)، ژلاتین (۰، ۲ و ۳ درصد) و محلول‌های ترکیبی آنها پوشش داده شدند. تاثیر این پوشش‌ها روی تغییرات کیفی میگوها در روز هشتم از زمان نگهداری مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد کارایی پوشش برپایه ۱ درصد کیتوسان و ۳ درصد ژلاتین در جلوگیری از فساد، مهار اکسیداسیون و بهبود ویژگی‌های فیزیکی برتر از سایر تیمارها بود. یک کاهش معنی دار در شمارش میکروب‌های کل و سرماگرا، pH، مقدار کل ازت فرار، افت وزن و سختی (۷۱/، ۸۴/، ۱۰۰/، ۸۳/، ۷۲/ و ۶۴/ به ترتیب) برای نمونه‌های تیمار شده با این پوشش در روز هشتم از زمان نگهداری مشاهده گردید. این پوشش بهینه به طور معنی داری اکسیداسیون چربی‌ها را با انعکاس در اندیس پراکسید و عدد تیوباریتوریک اسید کاهش داد و توانست رنگ نمونه‌های تیمار شده را با تغییرات معنی-دار در پارامترهای  $a^*$ ،  $b^*$  و  $L^*$  بهبود دهد. این پوشش در افزایش عمر ماندگاری میگوی نگهداری شده در یخچال بسیار موفق عمل نمود.

کلید واژگان: پوشش خوراکی، کیتوسان، ژلاتین، میگو

\* مسئول مکاتبات: Amotgan@Gmail.com

## ۱- مقدمه

میگو یک منبع عالی از پروتئین با کیفیت بالا، اسیدهای چرب ضروری، مواد معدنی و سایر ترکیبات مفید است که به عنوان یک غذای سلامت بخش توجه زیادی را به خود جلب کرده است [۱]. با این حال، میگو یک محصول بسیار فاسد شنی است که فساد آن نتیجه سه مکانیزم اساسی اتولیز آنزیمی، رشد میکروبی و اکسیداسیون چربی است [۲]. متداول ترین روش های نگهداری در صنایع، استفاده از دمای پایین، بسته بندی و روش های شیمیایی هستند که همیشه در مهار فساد موفق عمل نمی کنند [۳ و ۴].

از سوی دیگر به دلیل نگرانی های مربوط به ایمنی نگهدارنده های مصنوعی و مسائل زیست محیطی، تحقیقات جدید بر روی جایگزین های طبیعی ضد میکروبی و پوشش دادن محصول با فیلم ها و پوشش های خوراکی تهیه شده با پلیمرهای طبیعی از منابع مختلف تمرکز یافته است. فیلم ها و پوشش های خوراکی به دلیل توانایی در محافظت در مقابل خشک شدن، اکسیژن، نور میتوانند کیفیت نگهداری غذاها را بهبود دهند [۴ و ۵].

کیتوزان، پلی ساکارید خطی و مشتق داستیله از کیتین است که به دلیل زیست سازگاری<sup>۱</sup>، زیست تخریب پذیری<sup>۲</sup> و عدم سمیت و خواص عملکردی مانند فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی، توانایی برای تشکیل فیلم های محافظ، بافت دهندگی و خواص ممانعتی مناسب در میان سایر پلیمرهای طبیعی برای استفاده در فیلم ها و پوشش های خوراکی ممتاز شده است [۳ و ۶]. کارایی ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی کیتوزان در افزایش کیفیت نگهداری محصولات غذایی دریایی در مطالعات بسیار ملاحظه شده است [۳، ۷، ۸]. اما کیتوزان به دلیل ماهیت هیدروفیل، کارایی کمی در ممانعت از انتقال آب دارد، لذا یکی از روش های موثر برای بهبود خواص ممانعتی فیلم های کیتوزان مخلوط کردن آنها با یک پروتئین یا پلی ساکارید دیگر است. کاربرد فیلم های ترکیبی کیتوزان-ژلاتین به دلیل سازگاری خوب و خواص ممانعتی مناسب آنها در بسیاری تحقیقات ملاحظه شده است [۹ و ۱۰]. مطالعات مختلف کارایی پوشش های خوراکی بر پایه کیتوزان-ژلاتین را در تاخیر فساد و توسعه عمر مفید در بسیاری

از محصولات دریایی گزارش نموده اند [۶؛ ۱۱ و ۱۲]، اما اثر پوشش کیتوزان-ژلاتین بر تغییرات کیفی میگو تاکنون مورد توجه قرار نگرفته است. این مطالعه با هدف بهینه سازی فرمولاسیون پوشش های کیتوزان و یا ژلاتین و بررسی اثر نگهدارندگی آنها بر تغییرات کیفی میگو در یخچال انجام شده است.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- آماده سازی نمونه های میگو

میگوهای (*Litopenaeus vannamei*) تازه صید شده و عاری از نگهدارنده شیمیایی، در دوره زمانی مهر ۱۳۹۲، از سایت گمیشان، ایران، با متوسط وزنی  $17 \pm 2$  گرم و طول  $70 \pm 2$  سانتیمتر با روش نمونه گیری تصادفی به تعداد ۶۰۰ نمونه برداشته شد و در ظروف عایق با محتوای یخ حداکثر ۴ ساعت به آزمایشگاه مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران، منتقل گردید. به محض رسیدن، نمونه های سالم انتخاب، شسته، سرزنی و پوستگیری شد و به ۱۵ گروه شامل ۱۴ گروه تیمار و یک گروه شاهد تقسیم شدند.

### ۲-۲- آماده سازی محلول های پوشش و تیمار

#### نمونه های میگو

برای تهیه محلول های پوشش از کیتوزان پودری تجاری (درجه داستیلاسیون ۷۵ درصد؛ وزن مولکولی ۷۵ کیلو دالتون؛ شرکت سیناسون؛ ایران) و ژلاتین جامد تجاری (با قدرت تشکیل ژل بالا بالا؛ شرکت مرک؛ آلمان) استفاده گردید. محلول های کیتوزان با غلظت ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد کیتوزان (w/v) در اسید استیک ۱/۵ درصد (v/v) آماده سازی شدند. برای توزیع کامل کیتوزان، محلول های کیتوزان برای ۱ ساعت در دمای  $40^{\circ}\text{C}$  مخلوط و سپس برای ۱۶ ساعت در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند. pH محلول تا ۵/۵ با افزودن هیدروکسید سدیم تنظیم گردید. محلول های ژلاتین با غلظت ۲ و ۳ درصد (w/v) از ژلاتین جامد در آب مقطر تهیه، به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط و در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۵ دقیقه هیدراته، سپس در دمای  $55^{\circ}\text{C}$  برای ۳۰ دقیقه مخلوط و حرارت داده شدند. محلول کیتوزان-ژلاتین بوسیله

1. Biocompatibility
2. Biodegradability

عدد تیوباریتوریک اسید بر پایه روش تارلادگیس و همکاران انجام شد [۱۸] و به عنوان معادل میلی گرم مالون آلدئید در کیلوگرم (mg MAD/kg) بیان گردید.

#### ۲-۳-۴- ارزیابی کیفیت فیزیکی میگو

۲-۳-۴-۱- افت وزن با محاسبه تغییر وزنی نمونه‌های میگو بین روز اول و هشتم تعیین و برحسب درصد بیان گردید.

۲-۳-۴-۲- آنالیز بافت با استفاده از دستگاه آنالایزر بافت<sup>۳</sup> تجهیز شده با یک سلول بارگذاری ۱۰۰ نیوتن و اتصال یک پروب تیغه‌ای لبه چاقویی (TA7) با ضخامت ۳ میلیمتر اجرا گردید. آزمون با اندازه‌گیری تغییر شکل نمونه‌ها پایه‌گذاری شد. نمونه‌های با اندازه مشابه در خط برش به صورت افقی بر روی پایه ثابت (TA-JTPB) قرار گرفتند و نیروی فشاری بین بخش سوم و چهارم میگو یک تغییر شکل ۲۵٪ عمود با سطح نمونه در سرعت ۱ میلیمتر بر ثانیه اعمال نمود. حداکثر مقاومت نمونه‌ها به تغییر شکل به عنوان سختی برحسب نیوتن اندازه‌گیری شد [۱۹].

۲-۳-۴-۳- رنگ نمونه‌ها با استفاده از رنگ سنچ هانتر لیب<sup>۴</sup> ارزیابی گردید. هر میگو در مرکز سلول شیشه‌ای استوانه‌ای قرار گرفت و درون شکاف دستگاه که برای اندازه‌گیری رنگ ایجاد شده بود، مستقر گردید و نمونه با یک پوشش فنجان‌مانند پوشانده شد. اندیس  $L^*$  مولفه روشنایی، نمایانگر دامنه سفید تا سیاه با دامنه تغییر از ۰ تا ۱۰۰ می‌باشد. اندیس  $a^*$  معرف دامنه قرمزی تا سبزی و  $b^*$  معرف دامنه زردی تا آبی، با دامنه تغییر ۱۲۰ تا ۱۲۰- می‌باشند [۲۰].

#### ۲-۴- آنالیز آماری

آزمون‌ها با استفاده از طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی در ۱۵ تیمار و سه تکرار انجام و نتایج به صورت «میانگین  $\pm$  انحراف معیار» محاسبه گردید. تفاوت معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) بوسیله آنالیز واریانس (ANOVA) و تفاوت میانگین‌ها توسط آزمون دانکن ارزیابی شد. ارزیابی‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۲۱ اجرا و نمودارها در نرم افزار اکسل ۲۰۱۳ رسم شد.

مخلوط و یکواخت کردن محلول‌های ژلاتین و کیتوزان به نسبت ۳۰:۷۰ و در دمای  $45^{\circ}\text{C}$  برای ۳۰ دقیقه آماده‌سازی شدند. برای تیمارهای با پوشش‌های کیتوزان، نمونه‌های میگو در محلول کیتوزان  $4^{\circ}\text{C}$  برای ۳۰ ثانیه غوطه‌ور، سپس خارج و بعد از ۲ دقیقه توقف برای ایجاد اتصال عرضی و تثبیت، مجدداً به مدت ۳۰ ثانیه در این محلول غوطه‌ور گردیدند. برای تیمارهای با پوشش‌های کیتوزان-ژلاتین، به دنبال این مرحله نمونه‌ها در محلول کیتوزان-ژلاتین  $4^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۰ ثانیه غوطه‌ور شدند. برای تیمارهای با پوشش ژلاتین منفرد نمونه‌های میگو در محلول‌های ژلاتین  $4^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۰ ثانیه غوطه‌ور شدند. برای تشکیل فیلم روی سطح میگو، نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در یخچال قرار گرفتند و سپس در ظروف پلی‌پروپیلن بسته‌بندی و در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند و در روز هشتم مورد ارزیابی کیفی قرار گرفتند.

#### ۲-۳- ارزیابی کیفی میگو

##### ۲-۳-۱- ارزیابی ترکیبات شیمیایی میگو

محتوای رطوبت، خاکستر و پروتئین از نمونه‌های میگو با استفاده از روش‌های استاندارد AOAC و چربی طبق روش بلج و درایر تعیین گردید [۱۳ و ۱۴].

##### ۲-۳-۲- ارزیابی کیفیت میکروبی میگو

شمارش باکتری‌های کل و سرماگرا طبق روش اجاق و همکاران (۲۰۱۰) انجام گردید [۱۵] و نتایج به صورت لگاریتم تعداد میکروب‌ها در یک گرم (log CFU/g) بیان شد.

##### ۲-۳-۳- ارزیابی کیفیت بیوشیمیایی میگو

**pH** نمونه‌ها بوسیله مخلوط و یکواخت کردن ۵ گرم میگو در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر با استفاده از pH متر اندازه‌گیری شد.

**کل نیتروژن بازی فرار** نمونه‌ها طبق روش میکرودیفیوژیون کونوی انجام شد [۱۶] و نتایج بر حسب میلی‌گرم در صد گرم نمونه (mg/۱۰۰g) بیان گردید.

**اندیس پراکسید** به روش تیتراسیون یدومتری بر اساس روش AOCS انجام شد [۱۷] و نتایج برحسب میلی‌اکی‌والان اکسیژن فعال در یک کیلوگرم چربی نمونه (meq/kg) محاسبه گردید.

3. Texture Pro CT VI.2, Brookfield, USA

4. Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA, USA

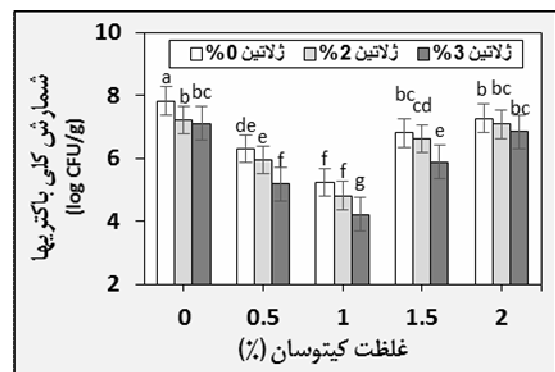
## ۳- نتایج و بحث

## ۳-۱- ارزیابی ترکیبات شیمیایی میگو

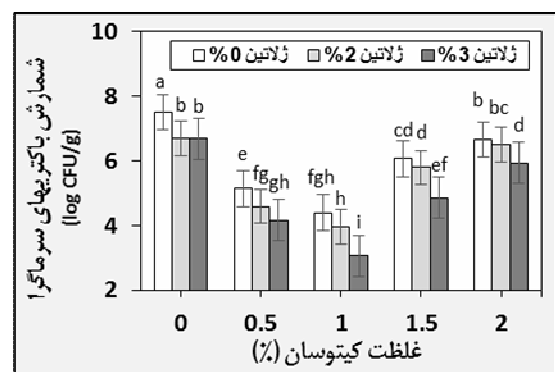
محتوای رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر از نمونه های میگو وانامی به ترتیب  $0.7 \pm 0.02$ ،  $19.92 \pm 0.36$ ،  $0.96 \pm 0.10$ ،  $1.37 \pm 0.12$  اندازه گیری گردید. ترکیب شیمیایی عضله میگو به فاکتورهای مختلف مانند گونه، اندازه، جنس، مرحله رشد و تغذیه حیوان و فصل بستگی دارد و تغییر در آن باعث ایجاد تفاوت در کیفیت حسی و عمر ماندگاری میگو می گردد [۱].

## ۳-۲- تغییرات کیفیت میکروبی

شکل ۱ و ۲ نتایج شمارش باکتری های کل و سرماگرا از نمونه های میگو تیمار شده در روز هشتم از زمان نگهداری را نشان می دهد.



شکل ۱ شمارش کلی باکتریها برای نمونه های میگو تیمار شده در روز هشت از زمان نگهداری در یخچال



شکل ۲ شمارش باکتریهای سرماگرا برای نمونه های میگو تیمار شده در روز هشت از زمان نگهداری در یخچال

شمارش باکتری های کل در روز اول  $2.76 \log \text{CFU/g}$  بود که کیفیت خوب میگوی استفاده شده در این مطالعه را نشان می دهد. این مقادیر در هشتمین روز از زمان نگهداری در گروه شاهد از سطح قابل پذیرش  $7 \log \text{CFU/g}$  اعلام شده توسط ICMSF [۱] عبور نمود، درحالیکه در نمونه های تیمار شده تفاوت معنی دار ( $P < 0.05$ ) با گروه شاهد داشت. پوشش های ژلاتینی تاثیر زیادی در مهار رشد میکروبی ارائه ندادند. اما پوشش های با محتوای کیتوزان بخصوص در غلظت های پایتتر اثر ضد میکروبی خوبی بویژه برای مهار میکروب های سرماگرا نشان دادند. بهترین پاسخ مربوط به تیمار با پوشش ترکیبی بر پایه ۱/۱ کیتوزان-۳/۳ ژلاتین بود که در شمارش باکتری های کل و سرماگرا به ترتیب  $3/5$  و  $4/5$  سیکل لگاریتمی تفاوت با گروه شاهد در روز هشتم نشان داد و بعد از چهارده روز نگهداری در یخچال از سطح قابل پذیرش عبور نمود. تعداد باکتری های سرماگرا در همه گروه ها کمتر از تعداد باکتری های کل بود زیرا تعداد کمی از باکتری ها میتوانند در دمای سرد نجات پیدا کنند.

کاهش فساد در نمونه های میگو تیمار شده میتواند با مهاجرت عوامل ضد میکروبی از پوشش به ماهیچه میگو در ارتباط باشد. این نتایج میتواند به طور عمده به خواص ضد میکروبی کیتوزان در این پوشش نسبت داده شود. مکانیسم فعالیت ضد میکروبی کیتوزان احتمالاً در ارتباط با گروه های آمین با بار مثبت در کیتوزان میباشد که با گروه های آنیونی روی سطح سلول میکروب واکنش داده و منجر به تشکیل لایه پلیمری غیر قابل نفوذ روی غشاء باکتری و ممانعت از انتقال مواد مغذی به داخل سلول میگردد. بویژه در باکتری های گرم منفی کیتوزان با لایه لیپوپلی ساکاریدی بیرونی غشاء واکنش داده و آن را تخریب نموده و باعث نشت ترکیبات درون سلولی میکروارگانیسم و در نتیجه مرگ آن میشود [۲۲].

بعلاوه کیتوزان به عنوان یک عامل کمپلکس دهنده عمل نموده و به طور انتخابی با فلزات کمیاب متصل شده و تولید سم و رشد میکروب را مهار میکند و به عنوان یک عامل اتصال دهنده آب، فرآیندهای دفاع مختلف در بافت میزبان را فعال و با مسدود کردن مراکز فعال آنها آنزیم های مختلف را مهار میکند. پوشش کیتوزان دارای خاصیت ممانعتی در برابر نفوذ اکسیژن میباشد [۳] که مهار باکتری های هوازی میگوهای پوشش داده شده با کیتوزان

باشد [۲۵] که با ممانعت از نفوذ اکسیژن به درون ماهیچه میگو از فعالیت باکتری‌های هوازی جلوگیری میکند.

با افزایش غلظت ژلاتین در محلول پوشش خاصیت ضد میکروبی افزایش یافت که احتمالاً به دلیل افزایش ضخامت فیلم تشکیل شده روی سطح میگو و اثر ممانعتی قویتر آن به نفوذ اکسیژن میباشد. کیتوزان و ژلاتین در ترکیب با یکدیگر اثرات سینرژیستی خوبی در مهار میکروارگانیسم‌ها نشان دادند. این پدیده احتمالاً ناشی از ایجاد اتصالات بین زنجیره‌های الیگوپپتید از هیدرولیز ژلاتین و گروه‌های آمین زنجیره‌های کناری کیتوزان می‌باشد [۱۰].

اثر بخشی فیلم و پوشش کیتوزان-ژلاتین در مهار رشد باکتری‌ها و افزایش عمر نگهداری در همبرگر ماهی [۶] و فیله قزل آلا [۱۲] گزارش شده است. بعلاوه پردا و همکاران (۲۰۱۱) کارآیی فیلم کیتوزان-ژلاتین در مهار *شرشیاکولی* و فیلم ژلاتین در مهار *لیستریا مونوسیتوژنز* را گزارش نمودند اما آنها هیچ اثر ضد میکروبی برای فیلم کیتوزان مشاهده نمودند [۱۰]. به طور مشابه گومز-استکا و همکاران (۲۰۱۰) اثر ضد میکروبی قابل ملاحظه از فیلم کیتوزان-ژلاتین در نگهداری ماهی ملاحظه نمودند [۵].

تفاوت در توانایی ضد میکروبی کیتوزان در پوشش‌ها و فیلم‌های بر پایه کیتوزان را میتوان ناشی از تفاوت در روش‌های تجربی، شرایط تهیه و فرمولاسیون دانست. توانایی ضد میکروبی کیتوزان در پوشش با آزادسازی گروه‌های فعال در پوشش وابسته است و این آزادسازی به حلالیت ترکیبات ضد میکروبی در فیلم پوشاننده شده بر سطح محصول بستگی دارد [۵].

### ۳-۳- تغییرات کیفیت بیوشیمیایی

جدول ۱ نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی نمونه‌های میگو تیمار شده در روز هشتم از زمان نگهداری را نشان میدهد.

۳-۳-۱- pH: pH را میتوان به عنوان شاخص برای شناسایی فساد شیمیایی میگو در نظر گرفت که اغلب با زوال کیفیت محصول در ارتباط است [۳]. pH روز نخست از نمونه‌های میگو شاهد ۶/۳۲ بود که پس از ۸ روز نگهداری از مرز ۷ عبور نمود. افزایش pH به تخریب و تجمع ترکیبات نیتروژنی حاصل از فعالیت آنزیمی و میکروبی در طول فرآیند فساد نسبت داده شده است و تغییرات آن به توانایی بافری گوشت بستگی دارد [۲۶]. pH نمونه‌های تیمار شده با پوشش‌های ژلاتینی نسبت به شاهد کمتر بود اما در روز هشتم از مرز ۷ عبور نمود.

را میتوان به این خاصیت نسبت داد. اثرات مشابه ضد میکروبی کیتوزان در کاهش رشد میکروبی در میگو [۷] ماهی کد و هرینگ [۳] و فیله ساردین [۸] گزارش گردیده است. فعالیت ضد میکروبی کیتوزان بوسیله عوامل ذاتی از مولکول‌های کیتوزان مانند وزن مولکولی، غلظت، مقدار بار مثبت و پارامترهای محیطی مانند pH و دمای محیط و زمان تماس بین کیتوزان و سلول‌های باکتری و فاکتورهای ذاتی میکروارگانیسم مانند سن و گونه تحت تاثیر قرار میگیرد. کیتوزان، با وزن مولکولی پایین، قادر است با نفوذ به هسته میکروارگانیسم و اتصال با DNA، در سنتز mRNA و پروتئین تداخل ایجاد کرده و در نتیجه سنتز mRNA را مهار کند [۲۳]. در این تحقیق از کیتوزان با وزن مولکولی پایین استفاده گردید که خاصیت ضد میکروبی مناسب ظاهر شده توسط آن را با این مکانیسم میتوان تشریح نمود. با افزایش غلظت کیتوزان تا سطح ۱٪ فعالیت ضد میکروبی افزایش و سپس کاهش یافت. برای بیان دلیل اظهار می‌گردد که با افزایش غلظت کیتوزان، غلظت گروه‌های آمین کیتوزان که یکی از عوامل اصلی ایجاد فعالیت ضد میکروبی می‌باشد در محیط افزایش می‌یابد، اما این نکته حائز اهمیت است که در غلظت‌های بالاتر حلالیت کیتوزان کاهش می‌یابد زیرا کیتوزان با القای بار مثبت خالص به سطح باکتری و ایجاد یک پوشش اضافی، باعث حفظ سوسپانسیون میکروبی و ممانعت از تراوش ترکیبات درون سلولی باکتری و در نتیجه کاهش فعالیت ضد میکروبی کیتوزان می‌گردد [۲۴].

اسید استیک موجود در محلول‌های پوشش کیتوزان باعث کاهش pH محیط و افزایش فعالیت ضد میکروبی پوشش می‌شود. کیتوزان یک پلی الکترولیت با pk تقریباً ۶/۳ است، لذا در pH برابر ۶/۳، بیشترین حلالیت و بیشترین فعالیت ضد میکروبی را دارد. میگوهای تیمار شده با پوشش ترکیبی ۱٪ کیتوزان-۳٪ ژلاتین در این محدوده از pH قرار دارند، لذا بالاترین فعالیت ضد میکروبی برای این تیمار می‌باشد [۲۴]. گروه‌های آمینه موجود در کیتوزان در pH کمتر از ۶/۵ میتوانند با دیپلاریزاسیون غشاء سلول و تخریب تمامیت دیواره سلول بوسیله اتصالات مولکولی منجر به مرگ باکتری شوند [۵].

با ورود ژلاتین در محلول پوشش فعالیت ضد میکروبی پوشش افزایش یافت. این پدیده میتواند با اتصالات هیدروژنی در ژلاتین و خواص ممانعتی به اکسیژن فیلم‌های ژلاتینی در ارتباط

جدول ۱ ارزیابی pH، نیتروژن بازی فرار، اندیس پراکسید و عدد تیوباریتیوریک اسید برای نمونه های میگو در روز هشتم از زمان نگهداری

در یخچال					
غلظت کیتوسان (%)	غلظت ژلاتین (%)	pH	نیتروژن بازی فرار (mg/۱۰۰g)	اندیس پراکسید (meq/kg)	عدد تیوباریتیوریک (mg MAD/kg)
۰	۰	۷/۶۲±۰/۱۹ <sup>a</sup>	۳۳/۵۸±۰/۹۴ <sup>a</sup>	۲/۰۹±۰/۱۹ <sup>a</sup>	۰/۴۲±۰/۱۲ <sup>a</sup>
۲	۲	۷/۰۷±۰/۰۹ <sup>b</sup>	۳۱/۱۴±۱/۱۷ <sup>b</sup>	۱/۶۹±۰/۱۲ <sup>b</sup>	۰/۴۱±۰/۰۶ <sup>ab</sup>
۳	۳	۷/۰۳±۰/۰۸ <sup>b</sup>	۳۰/۵۸±۱/۰۵ <sup>b</sup>	۱/۶۵±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۳۹±۰/۰۹ <sup>abc</sup>
۰/۵	۰	۶/۲۹±۰/۰۳ <sup>e</sup>	۱۸/۹۱±۰/۱۶ <sup>g</sup>	۰/۸۳±۰/۰۸ <sup>ef</sup>	۰/۳۰±۰/۰۵ <sup>abcdef</sup>
۲	۲	۶/۲۹±۰/۰۴ <sup>e</sup>	۱۸/۱۷±۰/۵۱ <sup>gh</sup>	۰/۷۲±۰/۰۵ <sup>fg</sup>	۰/۲۸±۰/۰۳ <sup>bcdef</sup>
۳	۳	۶/۳۱±۰/۰۳ <sup>e</sup>	۱۶/۶۹±۰/۴۲ <sup>hi</sup>	۰/۵۴±۰/۰۶ <sup>g</sup>	۰/۲۲±۰/۰۸ <sup>def</sup>
۱	۰	۶/۲۹±۰/۰۴ <sup>e</sup>	۱۶/۹۲±۰/۱۴ <sup>hi</sup>	۰/۶۲±۰/۰۳ <sup>g</sup>	۰/۲۳±۰/۰۹ <sup>def</sup>
۲	۲	۶/۲۸±۰/۰۳ <sup>e</sup>	۱۶/۱۳±۰/۴۶ <sup>ij</sup>	۰/۵۳±۰/۰۳ <sup>g</sup>	۰/۲۰±۰/۰۳ <sup>ef</sup>
۳	۳	۶/۳۱±۰/۰۴ <sup>e</sup>	۱۴/۳۷±۰/۵۹ <sup>j</sup>	۰/۲۸±۰/۰۸ <sup>h</sup>	۰/۱۸±۰/۰۸ <sup>f</sup>
۱/۵	۰	۶/۴۲±۰/۰۵ <sup>de</sup>	۲۴/۳۶±۰/۷۳ <sup>de</sup>	۱/۲۹±۰/۰۶ <sup>c</sup>	۰/۳۱±۰/۰۱ <sup>abcdef</sup>
۲	۲	۶/۴۰±۰/۰۷ <sup>de</sup>	۲۲/۶۸±۱/۱۶ <sup>ef</sup>	۰/۹۷±۰/۱۳ <sup>de</sup>	۰/۳±۰/۰۱ <sup>abcdef</sup>
۳	۳	۶/۳۸±۰/۰۷ <sup>de</sup>	۲۱/۷۰±۱/۳۷ <sup>f</sup>	۰/۸۸±۰/۰۹ <sup>ef</sup>	۰/۲۷±۰/۰۸ <sup>cdef</sup>
۲	۰	۶/۵۸±۰/۰۱ <sup>c</sup>	۲۶/۳۱±۲/۱۱ <sup>c</sup>	۱/۵۲±۰/۰۶ <sup>b</sup>	۰/۳۵±۰/۰۷ <sup>abcd</sup>
۲	۲	۶/۵۲±۰/۰۱ <sup>cd</sup>	۲۴/۹۱±۱/۷۷ <sup>cd</sup>	۱/۱۶±۰/۱۹ <sup>cd</sup>	۰/۳۲±۰/۰۴ <sup>abcde</sup>
۳	۳	۶/۴۹±۰/۰۱ <sup>cd</sup>	۲۳/۷۳±۱/۵۰ <sup>de</sup>	۱/۰۸±۰/۱۸ <sup>d</sup>	۰/۳±۰/۰۵ <sup>abcdef</sup>

هر عدد «میانگین ± انحراف معیار» از سه تکرار آزمایش است؛ a-j در هرستون برای هر شاخص نشانه وجود یا عدم وجود تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ میباشد.

موجود در میگو در ارتباط باشد [۲۷]. این شاخص در روز نخست ۱۰/۴۸ میلیگرم در صد گرم عضله نمونه های میگو شاهد بود که در طی زمان نگهداری در همه نمونه ها افزایش یافت. افزایش نیتروژن بازی فرار با فعالیت میکروب های مولد فساد و عمل آنزیم های درون ریز در ارتباط است [۲۸]. در روز هشتم از زمان نگهداری این شاخص در نمونه های شاهد و با پوشش ژلاتین از سطح قابل پذیرش ۳۰ میلیگرم در ۱۰۰ گرم [۲۷] عبور نمود در حالیکه در نمونه های تیمار شده با محتوای کیتوزان در محلول پوشش هنوز قابل پذیرش بود. کمترین افزایش این شاخص با تفاوت معنی دار ( $P < 0/05$ ) نسبت به سایر تیمارها مربوط به تیمار با پوشش ۱/کیتوزان - ۳/ژلاتین بود که در روز رد کیفیت میکروبی میگو در روز چهاردهم از سطح قابل پذیرش عبور نمود. این نتایج بهترین پاسخ برای تعامل معنی دار کیتوزان و ژلاتین در ممانعت از تخریب مواد نیتروژنی ناشی از اثر مهار رشد

در نمونه های تیمار شده با محتوای کیتوزان در محلول پوشش pH به طور معنی داری ( $P < 0/05$ ) پایین تر از بقیه بود که میتواند به علت وجود حلال اسید استیک در محلول کیتوزان باشد [۸]. نمونه های تیمار شده با پوشش ۱/کیتوزان - ۳/ژلاتین در محدوده pH برابر ۶/۳ قرار داشت که در این محدوده کیتوزان دارای بالاترین فعالیت ضد میکروبی میباشد که نتایج شمارش باکتریایی نیز این ارتباط را تایید میکند. این افت pH می تواند نتیجه بعدی اثر مهار کیتوزان در پوشش باشد که با مهار آنزیم های پروتئاز درون ریز منجر به کاهش pH و توسعه نگهداری نمونه های میگو شده است. افت pH مشابه در نگهداری ماهی با فیلم های کیتوزان و ژلاتین [۱۰] و با پوشش کیتوزان مشاهده گردید [۸].

۳-۲-۳- کل نیتروژن بازی فرار: نیتروژن بازی فرار معمولاً با فساد اولیه میگو همراه میشود و میتواند با فراوانی اسیدهای آمینه

به گاز بهتری نسبت به فیلم‌های کیتوزان میباشند. لذا اضافه سازی ژلاتین به کیتوزان دانسیته پلیمری شبکه را افزایش داده و بعلت واکنش مولکولی بین ژلاتین و کیتوزان حلالیت اکسیژن در شبکه را تغییر داده و منجر به تشکیل فیلم‌های مخلوط کیتوزان-ژلاتین با ساختار فشرده تر و نفوذپذیری کمتر شده است [۳۰]. با افزایش غلظت ژلاتین در محلول پوشش ضخامت فیلم تشکیل شده روی سطح میگو افزایش یافته و ممانعت بیشتری نسبت به نفوذ اکسیژن ایجاد شده است. مشابه این اثر تعاملی کیتوزان-ژلاتین در مهار اکسیداسیون در نگهداری فیله قزل آلا گزارش شده است [۱۲].

**۳-۳-۴- عدد تیوبایبیتوریک اسید:** عدد تیوبایبیتوریک اسید یکی دیگر از شاخص‌های فساد مربوط به اکسیداسیون چربیها است که نشانگر غلظت محصولات ثانویه اکسیداسیون چربیها (ترکیبات کربونیلی مالون دی آلدئید) میباشد. این شاخص در روز نخست ۰/۰۳ میلیگرم مالون آلدئید در کیلوگرم نمونه‌های میگو بود که در روز هشتم برای همه نمونه‌ها افزایش یافت ولی برای نمونه‌های پوشش داده شده با محتوای کیتوزان به طور معنی داری پایینتر از سایرین بود ( $P < 0/05$ ). کمترین مقدار مربوط به میگوهای تیمار شده با پوشش ۱/ کیتوزان-۳/ ژلاتین، با تفاوت معنی دار نسبت به سایر تیمارها بود ( $P < 0/05$ ) که نسبت به نمونه‌های شاهد ۶۲٪ کاهش نشان داد. کاهش عدد تیوبایبیتوریک اسید را میتوان به تشکیل یک لایه مقاوم به اکسیژن روی سطح میگو نسبت داد. پوشش کیتوزان-ژلاتین با تشکیل فیلم در سطح میگو به عنوان سد بین گوشت میگو و هوای اطراف آن عمل نموده و سرعت انتشار اکسیژن از محیط اطراف به میگو را کاهش داده است. کیتوزان دارای خواص آنتی-اکسیدانی شناخته شده در غذاها میباشد. مکانیسم آنتی-اکسیدانی کیتوزان با ایجاد ترکیبات پایدار حاصل از واکنش بین گروه‌های آمین اولیه کیتوزان با آلدئیدهای فرار مانند مالون دی آلدئید نسبت داده شده است [۲۲]. پتانسیل طبیعی آنتی-اکسیدانی کیتوزان با توانایی کمپلکس دادن یون‌های فلزی بوسیله کیتوزان نیز توضیح داده شده است [۸]. در مطالعه حاضر، درجه داستیلاسیون ۷۵٪ بود که توانست به خوبی اکسیداسیون لیپیدها را در میگو مهار کند.

کیتوزان‌های با ویسکوزیته بالاتر به علت وجود تعداد بیشتری از گروه‌های یونی عملکردی، واکنش‌های پلیمری قویتری ایجاد کرده و حرکت زنجیره در کیتوزان‌های با ویسکوزیته بالاتر را

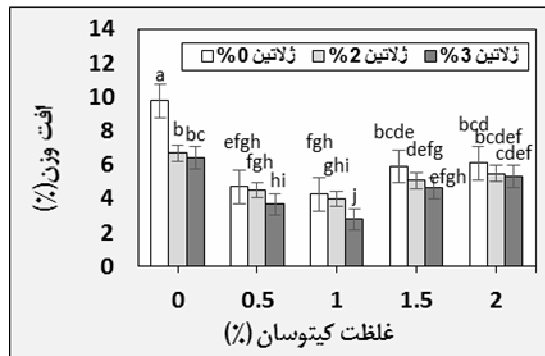
میکروبی ارائه داد که در تطابق با کاهش شمارش باکتریها در این تیمار نیز بود. بسیاری تحقیقات خواص کیتوزان در کاهش بازهای فرار را اثبات نمودند [۳؛ ۸ و ۱۵] همچنین اثر پوشش‌های کیتوزان - ژلاتین در کاهش نیتروژن فرار در محصولات دریایی گزارش شده است [۶ و ۱۲].

**۳-۳-۳- اندیس پراکسید:** اندیس پراکسید از شاخص‌های فساد اکسیداسیون لیپیدها میباشد و غلظت محصولات اولیه اکسیداسیون لیپیدها را نشان میدهد. اندیس پراکسید همه نمونه‌های میگو در طول زمان نگهداری افزایش یافت. افزایش اندیس پراکسید به دلیل اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع ماهیچه میگو ناشی از آسیب بافت در طول فراوری و ذخیره میباشد. باکتری‌های سرماگرا عمدتاً سودوموناسها با تولید لیپاز و فسفولیپاز باعث افزایش اسیدهای چرب آزاد و تشکیل رادیکالهای آزاد اسید چرب میشوند که واکنش این رادیکال‌ها با اکسیژن تولید هیدرو پراکسید یا پراکسید ناپایدار مینماید [۲۹]. اندیس پراکسید برای همه نمونه‌ها در روز هشتم بسیار پایین تر از ۱۰ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم چربی بود که معمولاً به عنوان سطح قابل پذیرش لحاظ میشود [۳] که می‌تواند بدلیل کیفیت اولیه خوب میگوها در این کار باشد. کمترین اندیس پراکسید مربوط به میگوهای تیمار شده با پوشش ۱/ کیتوزان-۳/ ژلاتین با تفاوت معنی دار نسبت به سایر تیمارها بود ( $P < 0/05$ ) که نسبت به نمونه‌های شاهد ۹۴٪ کاهش نشان داد.

کاهش اندیس پراکسید را میتوان به خاصیت آنتی اکسیدانی کیتوزان نسبت داد. اثر آنتی اکسیدانی کیتوزان وابسته به غلظت کیتوزان و ظرفیت کمپلکس دادن فلزات است [۳]. در غلظت ۱٪ کیتوزان با افزایش ظرفیت کمپلکس دادن اثر مهارتی افزایش یافته است. همچنین کیتوزان میتواند به عنوان فیلم محافظ با ایجاد مانع بین سطح میگو و محیط اطراف از نفوذ اکسیژن به درون ماهیچه میگو جلوگیری کند. مکانیسم آنتی اکسیدانی کیتوزان با تخریب هیدروپراکسیدها و واکنش با پروتئین‌های ماهیچه در ارتباط است. توانایی آنتی اکسیدانی کیتوزان به درجه داستیلاسیون، وزن مولکولی و ویسکوزیته کیتوزان بستگی دارد [۳].

البته کارایی ممانعتی فیلم‌های کیتوزان به طور معنی داری تحت تاثیر رطوبت محیط قرار دارد. فیلم‌های ژلاتینی به علت ساختار فشرده آنها، به ویژه پتانسیل بالای اتصالات درون مولکولی، موانع

شکل ۳ درصد افت وزن نمونه های میگو تیمار شده در روز هشتم از زمان نگهداری را نشان می دهد. افت وزن در تمامی نمونه ها در تطابق با شمارش میکروبی بود و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار با پوشش بر پایه ۱٪ کیتوزان-۳٪ ژلاتین بود که نسبت به نمونه های شاهد ۷۲٪ کاهش نشان داد ( $P < 0.05$ ) و کمترین شمارش میکروبی نیز مربوط به این نمونه ها بود.



شکل ۳ افت وزن نمونه های میگو تیمار شده در روز هشتم از زمان نگهداری در یخچال

این کاهش میتواند ناشی از خواص ممانعتی خوب ماتریکس پلیمری ژلاتین و کیتوزان به انتقال بخار آب باشد که توانست به خوبی انتقال آب را در ماهیچه میگو کاهش دهد. این خاصیت را میتوان به قدرت پیوستگی مناسب کیتوزان ناشی از ویسکوزیته کیتوزان در محلول های آبی نسبت داد. ویژگی های نفوذپذیری به بخار آب در کیتوزان مانند سایر پلیمرهای کربوهیدراتی به قطبیت نسبی این پلیمر طبیعی بستگی دارد و فیلم های قطبی تر به علت منافذ کمتر تمایل به قابلیت نفوذ کمتر به بخار آب دارند [۳].

بعلاوه کیتوزان ممکن است بجای ممانعت به رطوبت، به عنوان عامل ساکریفایسینگ آب عمل کند و افت رطوبت محصول را تا زمان تبخیر محتوای رطوبت پوشش به تاخیر اندازد [۸]. تاثیر کیتوزان در کاهش افت آب در فیله های کد [۳] و ساردین [۸] گزارش شده است.

از سوی دیگر ژلاتین به دلیل آمینو اسیدهای هیدروفیل موجود در آن میتواند به عنوان یک ممانعت کننده آب و تعدیل کننده فعالیت سطحی میگو ناشی از ابقاء رطوبت درون ماهیچه میگو عمل نماید. فیلم های ژلاتینی در کاهش انتقال آب و جلوگیری از تراوش در محصولات گوشتی موثر دانسته شده است [۲۵].

محدود نموده و در نتیجه به خواص ممانعتی خوب در مقابل اکسیژن و اثر مهاری بالاتر اکسیداسیون لیپیدها می انجامند [۳]. اما باید توجه نمود که در غلظت های بالاتر حلالیت کیتوزان کاهش میابد. لذا در این تحقیق پوشش های با محتوای ۱٪ کیتوزان به دلیل دارا بودن مناسبترین pH برای حلالیت کیتوزان، دارای بیشترین گروه های آمین و در نتیجه بالاترین خاصیت آنتی اکسیدانی می باشند. کاهش اکسیداسیون لیپیدها در ماهی کد و هرینگ با فیلم کیتوزان [۳] و در فیله های ماهی ساردین با پوشش کیتوزان با درجه داستیلاسیون ۸۳٪ گزارش شده است [۸].

بعلاوه ژلاتین قادر است با ایجاد اتصالات هیدروژنی و تشکیل فیلم روی سطح محصول جهت مهار اکسیداسیون ثانویه بکار رود. فیلم های ژلاتینی به عنوان یک عامل آنتی اکسیدانی با ارائه خواص ممانعتی مناسب به اکسیژن برای محصولات گوشتی کاملاً شناخته شده می باشند [۲۵]. مشابه با تحقیق حاضر، پوشش کیتوزان-ژلاتین در کاهش عدد تیوباریتوریک اسید در فیله قزل آلا بسیار موفق عمل نمود [۱۲]. با این وجود، لویز-کالبرو و همکاران (۲۰۰۵) هیچ اثر مهمی در جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها در همبرگرهای ماهی با پوشش کیتوزان ژلاتین مشاهده نمودند، از آنجا که عدد تیوباریتوریک اسید نمونه های شاهد و تیماری با روز نخست تغییر چندانی نمود، آنها این پاسخ را با پایین بودن عدد تیوباریتوریک اولیه پایین شرح دادند [۶]. همچنین دلیل این تناقض می تواند با اثر ممانعتی پلاستیسایزر استفاده شده در محلول پوشش مرتبط باشد که نفوذپذیری فیلم به اکسیژن را افزایش داده بود.

### ۳-۴- تغییرات کیفیت فیزیکی

۳-۴-۱ افت وزن: افت وزن به عنوان خواص حسی محصول مورد ملاحظه قرار می گیرد و میتواند ناشی از دنا تورا سیون میوزین ماهیچه باشد که در نتیجه منجر به کاهش توانایی هیدراتاسیون میگردد زیرا میوفیبریل های ماهیچه به عنوان کنترل کننده توزیع آب درون گوشت عمل میکنند و باعث افت کمتر آب متصل می شوند. افت آب بالا منجر به افزایش فرایندهای هیدرولیتیک و اکسیداسیون میشود که به آسانی با توسعه فعالیت میکروارگانیسم ها تشدید میگرددند و باعث کاهش عمر نگهداری محصول میشوند [۸].



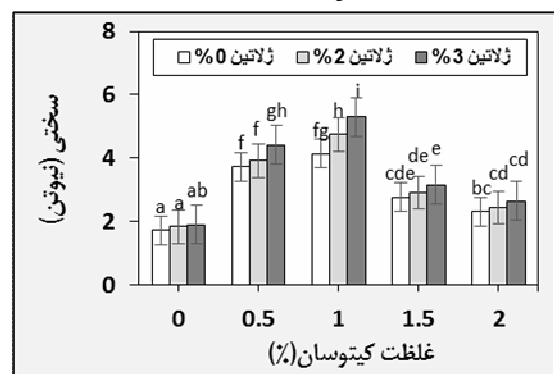
افزایش سختی ناشی از مهار آنزیم‌های اتولیتیکی و ممانعت از رشد میکروب‌های مزوفیل هوازی بوسیله این پوشش باشد که باعث محدود کردن تغییرات ساختاری در پروتئین‌های ماهیچه شده است. کمترین بار میکروبی در میگوهای تیمار شده با این پوشش این تطابق را تایید می‌کند. همچنین اثرات ممانعتی به بخار آب این پوشش با حفظ رطوبت درون ماهیچه میگو می‌تواند در حفظ سفتی ماهیچه و تاخیر در تغییرات بافتی موثر باشد.

به طور مشابه ترکیب کیتوزان و آب الکترولیز شده در بقاء سفتی گوشت ماهی پوفر [۳۱] و پوشش کیتوزان در بهبود خواص بافتی ماهی سردین ذخیره شده در یخ موثر بود [۸]. بکارگیری یک پوشش بر پایه کیتوزان - ژلاتین به همراه پلاستیسایزر تغییرات بافتی قابل توجهی در خواص رئولوژیکی همبرگرهای ماهی اعمال نمود، فقط باعث افزایش الاستیسیته نمونه‌های پوشش داده گردید. در حالیکه اضافه سازی کیتوزان پودری به مخلوط همبرگرها باعث افزایش پارامترهای بافتی شد [۶]. این تفاوت می‌تواند به علت استفاده از پلاستیسایزر و یا تفاوت در روش تهیه و فرمولاسیون محلول پوشش باشد.

**۳-۴-۳-رنگ:** رنگ یکی از پارامترهای مهم بصری برای قابلیت پذیرش محصول توسط مصرف‌کنندگان است. روشنایی ( $L^*$ ) اولیه میگو ۵۳/۵۷ بود که در روز هشتم در تمام نمونه‌ها کاهش یافت، اما این کاهش برای گروه شاهد به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بیش از سایرین بود. پارامترهای رنگ نمونه‌های میگو تیمار شده در روز هشتم از زمان نگهداری در جدول ۲ ارائه شده است. در نمونه‌های تیمار شده با محتوای کیتوزان در پوشش کمترین تغییر در روشنایی مشاهده گردید که این افزایش در اندیس  $L^*$  می‌تواند با کاهش pH ناشی از حلال اسید استیک در محلول‌های پوشش کیتوزان و در نتیجه بیرنگ کردن رنگدانه‌های ماهیچه در ارتباط باشد [۸]. بیشترین پایداری در روشنایی مربوط به پوشش ۱٪ کیتوزان-۳٪ ژلاتین بود که نسبت به شاهد ۶/۳۵ واحد افزایش نشان داد.

فیلم‌های کیتوزان خالص مانند بسیاری فیلم‌های بر پایه پلی ساکارید مقاومت خوبی در مقابل انتقال بخار آب نشان نمی‌دهند لذا اضافه سازی ژلاتین به فیلم‌های کیتوزان باعث تشدید خواص ممانعت به بخار آب این فیلم‌ها می‌شود. کیتوزان و ژلاتین فیلم‌های با سطوح هموار و یکنواخت و با تمامیت ساختاری عالی تولید می‌کنند. این فیلم‌های ترکیبی با اتصالات متقاطع درون ملکولی هیدروژنی و الکترواستاتیک، بین گروه‌های آمین از کیتوزان و گروه‌های هیدروکسیل ژلاتین، همچنین کاهش فضاهای آزاد ماتریکس پلیمری، نرخ نفوذ مولکول‌های آب را کاهش می‌دهند و در نتیجه منجر به نفوذ پذیری پایین‌تر به بخار آب این فیلم‌های ترکیبی در مقایسه با فیلم‌های بر پایه ترکیبات منفرد هر کدام از این پلیمرهای طبیعی می‌گردند [۱۰ و ۳۰].

**۳-۴-۲-بافت:** بافت یکی از نسبت‌های مهم کیفی برای قابلیت پذیرش مصرف‌کننده و ارزش تجاری محصول است. بافت میگو با دانسیته فیبرهای ماهیچه در ارتباط است. سختی در روز نخست برای نمونه‌های میگو ۷/۳۴ نیوتن بود که در روز هشتم برای همه نمونه‌ها کاهش یافت. بافت ضعیف میگو را می‌توان به زوال پروتئین‌های ماهیچه ناشی از فعالیت آنزیم‌های اتولیتیک و توسعه میکروب‌های هوازی در سطح ماهیچه نسبت داد [۲ و ۲۶]. پوشش‌های ترکیبی کیتوزان-ژلاتین در بهبود خواص بافتی موثرتر از پوشش‌های منفرد بودند و بالاترین سختی برای میگوهای تیمار شده با پوشش ۱٪ کیتوزان - ۳٪ ژلاتین با تفاوت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها بود ( $P < 0.05$ ) که نسبت به نمونه‌های شاهد ۶۴٪ افزایش نشان داد. سختی نمونه‌های میگو تیمار شده در روز هشتم از زمان نگهداری در شکل ۴ ارائه شده است.



شکل ۴ سختی نمونه‌های میگو تیمار شده در روز هشت از زمان نگهداری در یخچال

جدول ۲ ارزیابی رنگ (L\*، a\*، b\* و L) نمونه های میگو در روز هشت از زمان نگهداری در یخچال

پارامترهای رنگ			غلظت ژلاتین (%)	غلظت کیتوسان (%)
L*	b*	a*		
47/35 ± 0/79 <sup>a</sup>	5/37 ± 0/34 <sup>a</sup>	-0/23 ± 0/1 <sup>a</sup>	0	0
51/41 ± 1/32 <sup>b</sup>	4/11 ± 0/2 <sup>b</sup>	-0/43 ± 0/19 <sup>ab</sup>	2	
51/72 ± 1/16 <sup>bc</sup>	4/03 ± 0/17 <sup>b</sup>	-0/47 ± 0/22 <sup>ab</sup>	3	
52/49 ± 0/60 <sup>bcde</sup>	4/09 ± 0/25 <sup>b</sup>	-0/54 ± 0/1 <sup>abc</sup>	0	0/5
52/88 ± 0/72 <sup>cde</sup>	3/96 ± 0/18 <sup>b</sup>	-0/76 ± 0/24 <sup>bcd</sup>	2	
53/16 ± 0/72 <sup>de</sup>	3/83 ± 0/23 <sup>b</sup>	-0/79 ± 0/23 <sup>bcd</sup>	3	
53/11 ± 0/49 <sup>cde</sup>	3/80 ± 0/31 <sup>b</sup>	-0/75 ± 0/13 <sup>bc</sup>	0	1
53/34 ± 0/41 <sup>de</sup>	3/69 ± 0/27 <sup>b</sup>	-0/85 ± 0/15 <sup>cde</sup>	2	
53/70 ± 0/29 <sup>e</sup>	3/60 ± 0/28 <sup>b</sup>	-0/88 ± 0/16 <sup>cde</sup>	3	
52/09 ± 0/45 <sup>bcd</sup>	4/00 ± 0/39 <sup>b</sup>	-0/76 ± 0/05 <sup>bc</sup>	0	1/5
52/61 ± 0/32 <sup>bcde</sup>	3/91 ± 0/42 <sup>b</sup>	-0/85 ± 0/29 <sup>cde</sup>	2	
52/95 ± 0/43 <sup>cde</sup>	3/79 ± 0/36 <sup>b</sup>	-0/88 ± 0/31 <sup>cde</sup>	3	
52/15 ± 0/9 <sup>bcd</sup>	4/12 ± 0/27 <sup>b</sup>	-0/74 ± 0/03 <sup>bcd</sup>	0	2
52/77 ± 0/64 <sup>bcde</sup>	3/96 ± 0/19 <sup>b</sup>	-1/06 ± 0/21 <sup>de</sup>	2	
53/12 ± 0/71 <sup>cde</sup>	3/86 ± 0/23 <sup>b</sup>	-1/20 ± 0/22 <sup>e</sup>	3	

هر عدد «میانگین ± انحراف معیار» از سه تکرار آزمایش است؛ a-e در هر ستون برای هر شاخص نشانه وجود یا عدم وجود تفاوت معنی دار در سطح 0/05 می باشد.

از آنها را در بهبود رنگ محصولات مختلف گزارش نموده اند [۶ و ۸ و ۲۵].

#### ۴- نتیجه گیری کلی

پوشش های ترکیبی کیتوزان و ژلاتین بهتر از پوشش های منفرد در بقاء ویژگی های کیفی میگو بود و پوشش ترکیبی ۱٪ کیتوزان-۳٪ ژلاتین بیشترین کارایی در مهار رشد میکروبی و فساد شیمیایی، کنترل اکسیداسیون لیپیدها، بهبود خواص فیزیکی داشت. این پوشش میتواند به عنوان یک ماده ضد میکروبی طبیعی و جایگزین نگهدارنده های رایج جهت ماندگاری بیشتر میگو در یخچال نوید بخش باشد و در ترکیب با عصاره های گیاهی و یا سایر تکنیک ها مانند پرتو دهی و بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده موضوع مطالعات آینده باشد.

این ثبات روشنایی در نمونه های پوشش داده شده میتواند به خواص ممانعتی مناسب به بخار آب این پوشش که مانع از دست دادن رطوبت و خشکی سطح میگو میگردد، نسبت داده شود. اندیس قرمزی (a\*) و زردی (b\*) اولیه نمونه های میگو ۱/۴۰- و ۳/۶۶ بود که در روز هشتم از زمان نگهداری برای نمونه های شاهد افزایش معنی دار نشان داد (P<0/05)، اما برای نمونه های تیمار شده یک ثبات رنگ معنی دار نسبت به روز اول مشاهده گردید و بین گروه های تیماری نیز معنی دار نبود (P<0/05). تغییرات رنگ در میگو را میتوان به اکسیداسیون لیپیدها و هیدرولیز کاراتنوئیدهای حساس به اکسیژن در آنها بوسیله آزادسازی آنزیمهای پروتئاز درون ریز از ماتریکس پروتئینی عضله میگو نسبت داد [۳۲]. پایداری رنگ نمونه های تیمار شده میتواند با فعالیت آنتی اکسیدانی و اثرات ممانعتی به نفوذ اکسیژن پوشش مرتبط باشد که با مهار اکسیداسیون لیپیدها و تاخیر در رشد میکروبی روی سطح محصول از تغییر رنگ آن جلوگیری می کند. مطالعات بسیاری نقش پوشش های کیتوزان یا ژلاتین و یا ترکیبی

- [8] Mohan, C.O., Ravishankar, C.N., Lalitha, K.V., and Srinivasa Gopal, T.K. 2012. Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. *Food Hydrocolloids*, 26: 167–174.
- [9] Rivero, S., García, M.A., and Pinotti, A. 2009. Composite and bilayer films based on gelatin and chitosan. *Food Engineering*, 90: 531–539.
- [10] Pereda, M., Ponce, A.G., Marcovich, N.E., Ruseckaite, R.A., and Martucci, J.F. 2011. Chitosan-gelatin composites and bilayer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, 25: 1372–1381.
- [11] Gómez-Estaca J, Montero P, Giménez B, Gómez-Guillén MC. 2007. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry*, 105: 511-520.
- [12] Nowzari, F., Shabanpour, B., and Ojagh, S.M. 2013. Comparison of chitosan-gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 141(3): 1667–1672.
- [13] AOAC. 2000. (17th Ed.). Official methods of analysis, Vol. II Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemists International. Chapter 391-27.
- [14] Bligh, E. G., and Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry Physiology*, 37, 911–917.
- [15] Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., and Hosseini, S.M.H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120: 193–198.
- [16] Conway, E. J. 1950. Micro-diffusion analysis and volumetric error. London: Crosby, Lockwood and Son Ltd. p. 220.
- [17] AOCS (1990) Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society (4<sup>th</sup> ed.), AOCS: Champaign, IL.
- [18] Tarladgis, G. B., Watts, M. B., and Younathan, T. M. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of American Oil Chemists Society*, 37: 44-50.

## ۵- قدردانی

این نویسندگان تمایل دارند از شرکت سیناسون برای پشتیبانی این کار در تهیه مواد اولیه، همچنین از آزمایشگاه صنایع غذایی دانشگاه آزاد واحد آیت الله آملی و مرکز رشد و فن آوری طبرستان وابسته به دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی ساری، برای همکاری در این پژوهش قدردانی و تشکر نمایند.

## ۶- منابع

- [1] Sriket S., Benjakul P., Visessanguan W. and Kijroongroana K. 2007. Comparative studies on chemical composition and thermal properties of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) meats. *Food Chemistry*, 103, 1199-1207.
- [2] Ghaly, A.E. Dave, D. Budge S. and Brooks M.S. 2010. Fish Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: Review. *American Journal of Applied Sciences* 7 (7): 859-877.
- [3] Jeon, Y. I., Kamil, J. Y. V. A., and Shahidi, F. 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 20: 5167-5178.
- [4] Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., Gómez-Guillén, M. C., López-Caballero, M.E. and Montero, P. 2009. Antimicrobial Activity of Composite Edible Films Based on Fish Gelatin and Chitosan Incorporated with Clove Essential Oil. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 18:46–52.
- [5] Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., López-Caballero, M.E., Gómez-Guillén, M.C., and Montero, P. 2010. Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27(7): 889–896.
- [6] Lopez-Caballero, M. E., Gomez-Guillen, M. C., Perez-Mateos, M., and Montero, P. 2005. A chitosan- gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydrocolloids*, 19: 303-311.
- [7] Simpson, B.K., Gagné, N., Ashie I.N.A. and Noroozi, E. 1997. Utilization of chitosan for preservation of raw shrimp (*Pandalus borealis*), *Food Biotechnology*, 11:1, 25-44.

- [27] Lu S. 2009. Effects of bactericides and modified atmosphere packaging on shelf-life of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*), LWT - Food Science and Technology 42: 286–291.
- [28] Huang J, Chen Q, Qiu M, Li S, 2012. Chitosan-based Edible Coatings for Quality Preservation of Postharvest Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). J. Food Science Vol. 77, Nr. 4: 491-496.
- [29] Nirmal NP, Benjakul S. 2011. Retardation of quality changes of Pacific white shrimp by Green tea extract treatment and modified atmosphere packaging during refrigerated storage. Int. J. Food Microbiology, 149: 247-53.
- [30] Benbettaieb N, Kurek M, Bornaz S, Debeaufort F. 2014. Barrier, structural and mechanical properties of bovine gelatin–chitosan blend films related to biopolymer interactions. J. Sci. Food Agric. DOI: 1002/jsfa.6570.
- [31] Zhou R, Liu Y, Xie J, Wang X. 2011. Effects of combined treatment of electrolysed water and chitosan on the quality attributes and myofibril degradation in farmed obscure puffer fish (*Takifugu obscurus*) during refrigerated storage. Food Chemistry, 129(4): 1660-66. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.028>.
- [32] Takeungwongtrakul, S., Benjakul o., and H-kittikun A. 2012. Lipids from cephalothorax and hepatopancreas of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Compositions and deterioration as affected by iced storage. Food Chemistry 134, 2066–2074.
- [19] Bourne, M.C. 1967. Deformation Testing of Foods. I. A Precise Technique for Performing the Deformation Test. J.Food Sci. 32, 601-605.
- [20] Papadakis SE, Abdul-Malek S, Kamdem RE & Yam KL. 2000. A versatile and inexpensive technique for measuring color of foods. Food Technology, 54(12): 48-51.
- [21] ICMSF .1986. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Sampling plans for fish and shellfish. In: ICMSF, Microorganisms in foods. Sampling for microbiological analysis: Principles and scientific applications, (2<sup>nd</sup> ed., vol. 2, pp. 181–196). University of Toronto Press: Toronto, Canada.
- [22] Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., and Jeon, Y. J. 1999. Food applications of chitin and chitosan. Trends in Food Science and Technology, 10(2): 37–51.
- [23] Alishahi A & Aider M. 2012. Applications of Chitosan in the Seafood Industry and Aquaculture: A Review. Food Bioprocess Technology, 5: 817–830.
- [24] Liu, X. F., Guan, Y. L., Yang, D. Z., Li, Z., and Yao, K. D. 2001. Antibacterial action of chitosan and carboxy methylated chitosan. Journal of Applied Polymer Science, 79(7): 1324–1335.
- [25] Herring JL, Jonnalongadda SC, Narayanan VC, Coleman SM. 2010. Oxidative stability of gelatin coated pork at refrigerated storage. Meat Science, 85: 651-656.
- [26] Sriket, C. Benjakul, S. Visessanguan, W. Hara, and K. Yoshida, A. (2012). Retardation of post-mortem changes of freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) stored in ice by legume seed extracts. Food Chemistry, 135: 571–579.

## Optimization of chitosan and / or gelatin edible coatings to improve quality of refrigerated shrimp

Fateme Farajzadeh <sup>1</sup>, Ali Motamedzadegan <sup>2\*</sup>, Seyed-Ahmad Shahidi <sup>3</sup>, Shabnam Hamzeh

1. M. Sc. Student of Food industry & material engineering, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

2. Associate Prof., Dep. of Food Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Mazandaran, Iran.

3. Assistant Prof., Dep. of Food Science and Technology, College of Agriculture and Food Science, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

4. DVM, Dep. of Food Science, Tajan High Education Institute, Ghaemshahr, Iran.

(Received: 93/3/5 Accepted: 93/6/7)

In order to improve the quality of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) at refrigerated temperature ( $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), the shrimp samples were coated with solutions of chitosan (0, 0.5, 1, 1.5 and 2%), gelatin (0, 2 and 3%) and combination of them in 15 treatment group. Preservative effect of the coatings was evaluated by biochemical analyses, microbiological assays and physical measurements over 8th day of storage time. The findings indicated that 1% chitosan and 3% gelatin based coating was superior to others in preservation spoilage, inhibiting oxidation, improvement physical properties. The coating significantly ( $p\leq 0.05$ ) reduced chemical spoilage as reflected in pH and total volatile basic nitrogen, microbial growth as reflected in total and psychrotrophic bacterial count and lipid oxidation as displayed in peroxide value and thiobarbituric acid compared to other treatment. Also, coated shrimps with the optimized coating were significantly ( $p\leq 0.05$ ) indicated improvement in weight loss, color as reflected in  $a^*$ ,  $b^*$  and  $L^*$  values and texture as reflected in hardness compared to others. The optimized coating could enhance the shelf life of shrimp under refrigerated storage.

**Keywords:** Edible coating, Chitosan, Gelatin, Shrimp

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: Amotgan@Gmail.com