



## بررسی اثر پوشش خوراکی ژلاتین پای مرغ-عصاره پوست سبز گردو بر کیفیت و زمان نگهداری فیله

### ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دمای یخچال

نسرین افشار<sup>۱</sup>، ناصر صداقت<sup>۲\*</sup>، محمد محسن‌زاده<sup>۳</sup>

۱-کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۲-استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۳-استاد گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۳	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۶	
کلمات کلیدی:	
پوشش‌های خوراکی،	
ژلاتین پای مرغ،	
عصاره پوست سبز گردو،	
ماندگاری،	
فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان.	
DOI: 10.22034/FSCT.19.128.37	
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.9.4	
*مسئول مکاتبات:	
sedaghat@um.ac.ir	

اثر پوشش‌های ژلاتین پای مرغ و عصاره پوست سبز گردو بر ویژگی‌های شیمیایی، فیزیکی، میکروبی و حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طی ۱۲ روزنگهداری در دمای یخچال مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌های شیمیایی (اندازه‌گیری pH، نیتروژن کل فرار و عدد اسید تیوباریتوریک)، آزمایش میکروبی (شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل) و آزمون حسی به صورت دوره‌ای هر چهار روز انجام گردید. نتایج نشان داد که با افزایش مقدار غلظت عصاره پوست سبز گردو کارایی پوشش افزایش و تقویت پیدا کرد به صورتی که پوشش‌های حاوی ۲/۵ و ۵ درصد ژلاتین همراه با ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره کیفیت و ماندگاری فیله ماهی را نسبت به دیگر پوشش‌ها بهتر حفظ نمود. مقادیر pH، نیتروژن کل فرار و عدد اسید تیوباریتوریک در نمونه‌های پوششی در مقایسه با نمونه کنترل به صورت معنی‌داری پایین‌تر بودند ( $p < 0.05$ ). تیمار پوششی حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره همچنین بار میکروبی کمتری را نسبت به دیگر تیمارها نشان داد ( $p < 0.05$ ). از نظر بهبود ویژگی‌های حسی تیمارهای پوششی دارای ژلاتین پای مرغ و عصاره پوست سبز گردو در پایان دوره نگهداری بیشترین امتیاز را در مقایسه با نمونه کنترل دریافت کردند ( $p < 0.05$ ). همچنین در بین تیمارهای پوششی بیشترین امتیاز مربوط به تیمار پوششی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پوست سبز گردو بود که در نتیجه باعث افزایش زمان ماندگاری و کیفیت فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در مقایسه با نمونه کنترل در دمای یخچال گردید.

## ۱- مقدمه

ماهی یکی از پر فروش ترین محصولات غذایی در میان آبزیان می باشد که سازمان جهانی بهداشت و درمان (WHO) و سازمان غذا و کشاورزی (FAO) و سازمان ملل، مصرف ۱ یا ۲ وعده ماهی را به دلیل منبع عالی از پروتئین، اسیدهای چرب غیر اشباع بالا یا امگا<sup>۳</sup> یعنی EPA<sup>۲</sup> و DHA<sup>۳</sup>، ریز مغذی ها از جمله: ویتامین های A و D، ویتامین های گروه B، آهن، روی، سلنیوم، کلسیم، فسفر و ید توصیه می کند که در نتیجه، مصرف منظم ماهی و غذاهای دریایی باعث کاهش در بیماری های قلبی و عروقی، سکنه مغزی، برخی از سرطان ها، آلزایمر، افسردگی، مرگ و ... می شود [۱ و ۲]. ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) متعلق به خانواده ماهی سالمونید<sup>۴</sup> است. قزل آلائی رنگین کمان بعد از ماهی کپور عمده ترین و قدیمی ترین ماهی پرورشی محسوب می شود. این گونه در سال ۱۸۸۰ میلادی به اروپا آورده شده است. تقاضا برای ماهی قزل آلائی رنگین کمان به دلیل ویژگی های تغذیه ای و مزایای سلامتی آن در دهه گذشته، افزایش چشم گیری داشته است [۳ و ۴]. ماهی یکی از مواد غذایی با قابلیت بالای فساد پذیری می باشد که حضور اکسیژن محیط و رشد میکروارگانیسم ها، ماندگاری آن را با محدودیت همراه می کند [۵]. به دلیل فعالیت آبی بالا، در دسترس بودن مواد مغذی و pH خنثی که عوامل موثر در رشد میکروبی می باشند و همچنین وجود آنزیم های اتولیتیک و واکنش های شیمیایی از جمله: اکسیداسیون فساد سریع ماهی اتفاق می افتد [۱]. فساد ماهی از سه عامل اساسی ناشی می شود: اتولیز آنزیمی، اکسیداسیون و رشد میکروب ها [۶]. عمر مفید ماهی به ۵ تا ۱۰ روز (بسته به گونه، مکان صید و پس از آن و فصل) متغیر می باشد. از جمله روش های رایج در نگهداری ماهی می توان به روش های سنتی مانند: استفاده از مواد شیمیایی، نمک زدن، خشک کردن و استفاده از یخ و انجماد در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد که رایج ترین روش برای ماندگاری طولانی می باشد استفاده کرد. اما این روش به دلیل آسیب کریستال های

یخ به ساختار محصول در حین ذوب شدن و در نتیجه افت کیفی محصول را در بردارد [۳ و ۴]. بنابراین صنعت فرآوری ماهی به طور جدی به دنبال روش های نگهداری و بازاریابی جدید در جهت بهبود خصوصیات فیزیکی شیمیایی، میکروبیولوژی و حسی و مقرون به صرفه می باشد [۷، ۸ و ۹].

اخیرا، یک سری تکنیک های جدید بسته بندی توسعه پیدا کرده است که شامل: بسته بندی فعال، بسته بندی هوشمند، پوشش/فیلم های خوراکی، بسته بندی زیست تخریب پذیر و بسته بندی نانو می باشد که این فناوری ها اثرات اطمینان بخشی در حفظ کیفیت و ایمنی مواد غذایی دارند. همچنین ماندگاری طولانی تر، کاهش اثرات زیست محیطی و افزایش جذابیت محصول بسته بندی شده را در بر دارند. با این وجود، فقط تعداد محدودی از این فناوری ها مرتبط با گوشت و محصولات گوشتی می باشند [۱۰]. مواد و اجزای بسته بندی های خوراکی ممکن است از ترکیبات مواد غذایی، محصولات جانبی صنعتی و یا حتی ضایعات کشاورزی باشد [۳]. مواد ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی، به عنوان افزودنی برای افزایش ماندگاری و جلوگیری از فساد و کاهش کیفیت مواد غذایی به دلیل عوامل شیمیایی و میکروبی، به مواد غذایی اضافه می شوند [۱۱]. عصاره های گیاهی به دلیل محتوای بالای ترکیبات پلی فنولیک و متابولیت های ثانویه به عنوان ترکیبات ضد میکروبی طبیعی نیز استفاده می شوند [۱۱].

اخیرا، کاربردهای مختلفی از پوست گردو در صنایع، صنایع غذایی و پزشکی انجام شده است پوسته سبز گردو به دلیل دارا بودن ترکیبات آنتی اکسیدانی عالی، به صنعت دارو سازی مدرن نیز راه یافته است در صورتی که در طب سنتی به طور گسترده از قبل تا به امروز برای درمان بیماری های پوستی و کاهش درد کاربرد داشته است. عصاره های جدا شده دارای ترکیبات شیمیایی، آنتی اکسیدانی عالی، خاصیت ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد سرطانی می باشد [۱۲]. در صنعت فرآوری گوشت، از پوست سبز گردو می توان به عنوان یک افزودنی کاربردی استفاده کرد. در حال حاضر تاثیر افزودن پوسته سبز گردو را بر خواص سوسیس بررسی کرده اند و آزمایشات نشان داده اند که افزودن این ترکیب از کاهش وزن سوسیس در هنگام ذخیره سازی جلوگیری می کند. همچنین وقتی از پوست گردو در گوشت و

1. Poly Unsaturated Fatty Acids PUFA
2. Eicosapentaenoic
3. Dokosahexaenoic
4. Salmonidae

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تهیه شده از شهرستان کلات مشهد، پوسته سبز گردو تهیه شده از طبقه مشهد، پای مرغ تهیه شده از شرکت طیوران مشهد، متانول، معرف DPPH، محلول استیک‌اسید، هیدروکسیدسدیم، گلیسرول، کلروفرم، پودر تیوباربتوریک، تری‌کلرواستیک‌اسید، هیدروکلریک‌اسید، اکسید منیزیم، اسید بوریک، متیل رد و بروموکرزول سبز، اسید سولفوریک، سنگ جوش، سرم فیزیولوژی، محیط کشت پلیت کانت آگار از برند شرکت مرک (آلمان) از مرکز پخش تجهیزات آزمایشگاهی (بتاژن)، مشهد، ایران تهیه گردید.

### ۲-۲- استخراج عصاره پوست سبز گردو

پوسته‌های سبز گردو و پس از شست‌وشو به محیطی تاریک و استریل منتقل شده و در دمای اتاق عملیات خشک شدن صورت گرفت. سپس پوسته‌های خشک شده به درون آسیاب (مدل Polymix) منتقل شدند و عملیات پودر شدن پوسته‌ها صورت گرفت. پودر تهیه شده از پوسته‌ی سبز گردو به درون کارتوش ریخته شده و همراه با حلال متانول (به ازای هر ۳۰ گرم پودر پوسته ۴۰۰ میلی لیتر حلال متانول اضافه گردید) به دستگاه سوکسله SE-VA انتقال یافته و عملیات استخراج در طول ۴۸ ساعت با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انجام گردید. بعد از تمام شدن عملیات استخراج، عصاره‌ی به‌دست آمده برای تغلیظ به دستگاه روتاری (مدل LABOROTA4003) به مدت ۱۰ دقیقه وصل شده و در نهایت عصاره‌ی تغلیظ شده به درون پلیت‌ها ریخته شد و برای عملیات خشک شدن و حذف متانول از عصاره به دستگاه آون تحت خلا منتقل شد. تمامی این عملیات برای حفظ بیشتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در دماهای پایین صورت گرفت [۲۰].

### ۲-۳- استخراج ژلاتین پای مرغ

مرغ‌ها همگی از نژاد راس بوده و ۱۰ روز پس از کشتار بودند. قطعات کوچک پای مرغ ابتدا در محلول ۰/۲ درصد هیدروکسید سدیم خیسانده شد تا مواد غیرکلاژنی حذف شود. این مخلوط به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق بهم زده شد. سپس محلول قلیایی

محصولات گوشتی استفاده می‌شود، تغییر رنگ کمتر و خواص بافتی بهتری مشاهده می‌شود. در مجموع افزودن پوست گردو در ترکیب سوسیس باعث کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها در طول مدت نگهداری می‌شود [۱۳].

امروزه استفاده از ژلاتین، در بسته‌بندی محصولات غذایی بسیار فاسد شدنی از جمله گوشت و ماهی به دلیل در دسترس بودن، به صرفه بودن، ویژگی‌های عملکردی بالا، خواص مکانیکی و نوری، ممانعت کنندگی در برابر گازها، ساختار مقاوم در برابر نفوذ آب و میکروارگانیسم‌ها و در نهایت مقبولیت حسی در حال گسترش می‌باشد. تحقیقات زیادی در رابطه با افزایش ماندگاری ماهی و محصولات آن با فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی بر پایه ژلاتین صورت گرفته است [۱۴]. با این حال پوشش‌های ژلاتینی ویژگی‌های بیولوژیکی مانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی ضعیفی دارند. با توجه به گزارشات، روکش‌های ژلاتینی همراه با ترکیبات طبیعی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی بالا، توانایی افزایش ماندگاری و کیفیت مواد غذایی را دوچندان می‌کند [۱۵]. در برخی از کشورها مانند برزیل محصولات جانبی مرغ به عنوان زیاله‌های صنعتی دور ریخته می‌شوند. از این رو، با افزایش تولید گوشت مقدار قابل توجهی زیاله‌ی آلی تولید می‌شود که منجر به مشکلات اقتصادی و زیست محیطی می‌شود. بنابراین استخراج کلاژن و استفاده از آن در تولید ژلاتین و بیوفیلم به این ضایعات ارزش افزوده می‌بخشد و مسائل فرهنگی و اجتماعی و اقتصادی مربوطه را حل می‌کند [۱۶ و ۱۷].

پای مرغ به طور میانگین از ۸۵ درصد پروتئین که عمدتاً کلاژن است و ۲/۷ درصد چربی تشکیل شده است. کلاژن یک ماتریس خارج سلولی از بافت همبند است. کلاژن یک پروتئین نامحلول با یک ساختار مارپیچ سه‌گانه است و از طریق هیدرولیز جزئی به ژلاتین که محلول است تبدیل می‌شود. ترکیب غالب اسیدآمین‌های کلاژن موجود در پای مرغ شامل: گلیسین ۳۰ درصد، اسید گلوتامیک ۱۲/۷ درصد، آلانین ۱۰ درصد، پرولین ۱۱/۷ درصد و هیدروکسی پرولین می‌باشد [۱۸ و ۱۹].

دم و سر زنی، جداسازی پوست و استخوان و ... فیله‌ها با ابعاد مورد نظر تهیه گردیدند که مجموع این عملیات بصورت دستی انجام شد.

ابتدا پودر ژلاتین در دو سطح ۲/۵ و ۵ درصد (وزنی-وزنی) وزن گردیده و به داخل بشر منتقل شد سپس پودر عصاره گردو در سه سطح ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام به محتویات بشرها اضافه شدند و گلیسرول به عنوان پلاستی‌سایزر به ترکیبات قبلی اضافه گردید و در نهایت حجم کل با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانیده شد سپس داخل هر بشر یک مگنت قرار داده و با فویل درب بشر پوشانیده شده و با استفاده از هم‌زن مغناطیسی عمل همگن شدن محلول به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد.

تخلیه شد و مواد باقی مانده سه مرتبه با آب مقطر شسته شد. پس از تیمار قلیایی، مواد نامطلوب حذف شده و بافت باقی مانده نرم و آماده‌ی استخراج ژلاتین شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۴۰ دقیقه در محلول اسید استیک ۰/۲ درصد خیس‌انده شد و پس از حذف محلول اسیدی و شست‌وشو، pH مواد نرمال شد. مرحله نهایی استخراج ژلاتین با آب مقطر (به نسبت ۹ سهم آب و ۱ سهم پای مرغ) و به مدت ۹۰ دقیقه با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. مواد باقی مانده پس از عبور از صافی با استفاده از یک خشک‌کن انجمادی FD۱۰ خشک شد و سپس آسیاب شد تا پودر ژلاتین تهیه شود [۲۱].

ماهی قزل‌آلا با میانگین وزنی حدود ۵۰۰ تا ۶۰۰ گرم در شرایط سرد شست‌وشو شدند و در نهایت پس از عملیات تخلیه شکمی،

Table 1 Treatment

Concentrations	Treatments
Green walnut husk (100 ppm) + Chicken feet gelatin (5.0%)	T <sub>1</sub>
Green walnut husk (1000 ppm) + Chicken feet gelatin (5.0%)	T <sub>2</sub>
Green walnut husk (100 ppm) + Chicken feet gelatin (2.5%)	T <sub>3</sub>
Green walnut husk (1000 ppm) + Chicken feet gelatin (2.5%)	T <sub>4</sub>
Control sample	T <sub>5</sub>
Green walnut husk (500 ppm) + Chicken feet gelatin (5.0%)	T <sub>6</sub>
Green walnut husk (500 ppm) + Chicken feet gelatin (2.5%)	T <sub>7</sub>

گردید. اندازه‌گیری پروتئین کل به روش کج‌دال با استفاده از دستگاه کج‌دال (مدل Vap20) انجام شد. میزان نیتروژن به دست آمده پس از ضرب در عدد ۶/۲۵ به عنوان پروتئین در نظر گرفته شد. سنجش چربی به روش سوکسله با استفاده از حلال کلروفرم با استفاده از دستگاه سوکسله صورت پذیرفت. این آزمایشات فقط در روز صفر و بر روی سه نمونه ماهی و هر کدام با سه تکرار، به منظور مشخص شدن ترکیب شیمیایی تقریبی ماهی، انجام پذیرفت [۲۳].

## ۲-۵- آنالیز تقریبی ژلاتین

عملکرد ژلاتین، بر اساس وزن تر از طریق میزان ژلاتین خشک شده به وزن پای مرغ مورد استفاده در هر استخراج به دست آمد. رطوبت، خاکستر و چربی ژلاتین خشک شده با روش (AOAC, 2006) تعیین شد میزان پروتئین خام با برآورد میزان نیتروژن کل ژلاتین به روش (AOAC, 2006) تعیین و از فاکتور ۵/۴۶ برای تبدیل نیتروژن به پروتئین استفاده گردید [۲۴].

به منظور ایجاد پوشش، فیله‌ها به مدت ۱ دقیقه در محلول‌های تهیه شده غوطه‌ور گردیدند. سپس آن‌ها را از محلول خارج نموده و جهت خشک کردن، فیله‌ها تحت جریان ملایم هوا قرار داده شدند. فیله‌ها به مدت ۵ ساعت در ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دمای محیط تا تشکیل پوشش بر روی فیله‌ها باقی ماندند. پس از خشک شدن پوشش، فیله‌ها به یخچال منتقل شده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ روز نگهداری گردیده و در فواصل زمانی ۴ روز مورد ارزیابی شیمیایی، میکروبی و حسی قرار گرفتند لازم به ذکر است که یک تیمار بدون پوشش نیز به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد [۲۲].

## ۲-۴- تعیین ترکیب تقریبی فیله ماهی

جهت تعیین ترکیب تقریبی فیله ابتدا کل فیله با استفاده از دستگاه خردکن چرخ شده و کاملاً همگن گردید. برای تعیین خاکستر از خاکستر کردن در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد و به منظور تعیین رطوبت از روش خشک کردن در آون استفاده

## ۲-۶- میزان به دام اندازی رادیکال های آزاد

### DPPH

غلظت های مختلفی (۱/۰۱ میلی گرم بر میلی لیتر) از عصاره ی پوست سبز گردو و آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ در حلال متانول تهیه شده و ۰/۳ میلی لیتر از محلول های تهیه شده با ۲/۷ میلی لیتر محلول متانول حاوی معرف DPPH (غلظت ۰/۱ میلی مولار) مخلوط شد. مخلوط هم زده و به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت سپس جذب در ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری گردید [۲۵].

معادله ۱

$$= 100 \times \frac{(AC-AS)}{AC} \text{ به دام اندازی رادیکال آزاد } (\%)$$

که در این رابطه AC و AS به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می باشند.

## ۲-۷- آنالیزهای شیمیایی

### ۲-۷-۱- اندازه گیری pH

۵ گرم ماهی با ۴۵ میلی لیتر آب مخلوط شده و برای ۱ دقیقه در دور ۱۰۰۰ rpm هموزن گردید. pH محلول بدست آمده با استفاده از pH متر (مدل WTW 720) سنجیده شد [۲۶].

### ۲-۷-۲- اندازه گیری نیتروژن کل فرار (TVB-N)

۱۰ گرم نمونه چرخ شده ی گوشت ماهی در بالن حاوی ۲ گرم اکسید منیزیم و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر و سنگ جوش قرار داده شد. بخارات تقطیر شده وارد محلول ۲ درصد اسید بوریک حاوی چند قطره معرف (متیل رد و بروموکرزول سبز) شده و در پایان توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیترا شد [۲۳].

معادله ۲

$$\text{TVB-N} = \text{میزان اسید} \times \frac{100}{1/4} \times \text{سولفوریک مصرفی}$$

### ۲-۷-۳- اندازه گیری عدد اسید تیوباربتوریک

#### (TBARS)

۰/۵ گرم نمونه گوشت ماهی با ۵ میلی لیتر از محلول تیوباربتوریک اسید (شامل ۰/۳۷۵ پودر معرف تیوباربتوریک اسید، ۱۵ درصد تری کلرو استیک اسید و اسید کلریدریک ۰/۲۵ نرمال) آمیخته شده و محلول ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفته تا رنگ صورتی بدست آمد و در ادامه در ۷۰۰۰ G برای ۱۰ دقیقه

سانتریفوژ (مدل 2-16P) گردیده و جذب محلول بوسیله اسپکتروفوتومتر (BC47358) در ۵۳۲ نانومتر خوانده و ثبت شد. میزان تیوباربتوریک اسید با رسم منحنی استاندارد که با ۱ و ۱، ۳ و ۳- ترا اتوکسی پروپان تعیین می شود، بدست آمد و به صورت میلی گرم مالون آلدهید بر کیلوگرم نمونه بیان گردید [۲۷].

## ۲-۸- شمارش کلی باکتری ها

به منظور انجام آزمایش های میکروبی، به وسیله اسکالپل کمی از گوشت ماهی با دقت برداشته و ۱ گرم از آن وزن شد. گوشت به خوبی در هاون چینی استریل کوبیده و له شد و سپس به نسبت ۱:۱۰ سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد اضافه و با دقت به مدت ۶۰ ثانیه هم زده و همگن شد و جهت تهیه رقت های مختلف مورد استفاده قرار گرفت. ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام یک از رقت های تهیه شده به محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA) از پیش تهیه شده با دمای حدود ۴۲\_۴۴ درجه سانتی گراد اضافه گردید. سپس به منظور شمارش کلی باکتری ها، در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار داده شده و در نهایت شمارش کلی باکتریایی صورت گرفت. تعداد کلنی های شمارش شده در عکس رقت اولیه ضرب شده و بر حسب لگاریتم تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم بافت (Log cfu/g) بیان گردید [۲۸].

## ۲-۹- ارزشیابی حسی

فیله های ماهی بدون پوشش و پوشش داده شده از نظر شاخص های بافت، بو، رنگ و پذیرش کلی توسط ۲۵ نفر پانل آموزش دیده و با آزمون هدونیک ۹ نقطه ای مورد ارزیابی قرار گرفت. نقطه بحرانی مقبولیت هر یک از ویژگی ها ۵ در نظر گرفته شده و پایین تر از آن به معنای رد خصوصیات حسی مورد نظر بود [۲۹ و ۳۰].

## ۲-۱۰- طرح آماری

آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی با تیمارهای T<sub>1</sub> (۱۰۰ پی پی ام عصاره پوست سبز گردو + ۵ درصد ژلاتین پای مرغ)، T<sub>2</sub> (۱۰۰۰ پی پی ام عصاره پوست سبز گردو + ۵ درصد ژلاتین پای مرغ)، T<sub>3</sub> (۱۰۰ پی پی ام عصاره پوست سبز گردو + ۲/۵ درصد ژلاتین پای مرغ)، T<sub>4</sub> (۱۰۰۰ پی پی ام عصاره پوست سبز گردو + ۲/۵ درصد ژلاتین پای مرغ)، T<sub>5</sub> (نمونه شاهد)، T<sub>6</sub> (۵۰۰ پی پی ام

رنگ و مشخصات ظاهری که تعیین کننده میزان مقبولیت ماهی هستند را ایجاد می‌کند. همچنین میزان این ترکیبات می‌تواند میزان رشد میکروبی را تحت تاثیر خودش قرار دهد [۳۳].

**Table 2** Approximate analysis of rainbow trout

Percentage	Component (%)
75.38 ± 0.233	% Moisture
17.25 ± 0.381	% Protein
5.5 ± 0.353	% Fat
1.87 ± 0.141	% Ash

### ۳-۲- آنالیز اجزای تشکیل دهنده پای مرغ و ژلاتین استخراج شده

جدول ۲، ترکیب تقریبی پای مرغ و ژلاتین استخراجی حاصل از آن را نشان می‌دهد. عملکرد ژلاتین به نوع ماده اولیه و شرایط فرآیند استخراج آن بستگی دارد. با توجه به مطالعات انجام شده محققان به این نتیجه رسیده‌اند که ژلاتین پای مرغ دارای قدرت ژلی بالایی می‌باشد [۲۱ و ۳۴]. و با دیگر منابع جایگزین برابری دارد [۲۴]. با این وجود می‌توان قدرت ژل بالای ژلاتین پای مرغ را به دمای استخراج کم، پیوند هیدروژنی قوی و احتمالا میزان زیاد هیدروکسی پرولین نسبت داد.

**Table 3** Analysis of chicken feet components and gelatin extracted in this study

	Component (%)				
	Ash	Carbohydrate	Fat	Protein	Moisture
Chicken feet	0.26±0.07	18.29±0.063	2.75±0.035	18.17±0.051	60.53±0.014
Extracted Gelatin	0.15±0.032	2.97±0.028	1.44±0.049	89.52±0.021	5.92±0.064

هیدروکسیلی ترکیبات فنولی، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. در غلظت‌های خیلی بالا به دلیل پیدایش نوعی حالت اشباع شدگی، افزایش غلظت، تاثیر معنی‌داری بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد ندارد [۳۵]. عصاره پوست سبز گردو سرشار از ترکیبات فنولی است که به دلیل دارا بودن گروه‌های هیدروکسیلی، توانایی خنثی‌سازی رادیکال آزاد را دارند. ارتباط مستقیم غلظت بی‌فنول‌ها با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مطالعه‌ی الیورا و همکاران بر روی برگ فندق صورت گرفته است [۳۵].

عصاره پوست سبز گردو + ۵ درصد ژلاتین پای مرغ، T<sub>7</sub>(۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پوست سبز گردو + ۲/۵ درصد ژلاتین پای مرغ) و زمان نگهداری در چهار سطح (صفر، ۴، ۸ و ۱۲ روز) و در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس توسط نرم افزار مینی‌تب (ورژن ۱۸) و رسم نمودارها با نرم افزار اکسل (۲۰۱۶) انجام گردید. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون توکی و در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

### ۳-نتایج و بحث

#### ۳-۱- آنالیز تقریبی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

جدول ۱، ترکیب اجزای تشکیل دهنده ماهی قزل‌آلا را در این تحقیق نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده در رابطه با ترکیبات تقریبی تشکیل دهنده ماهی قزل‌آلا، با گزارشات بسیاری از مطالعات [۳۱] همخوانی دارد. در تمام پژوهش‌های انجام شده مقادیر مختلفی برای ترکیبات بدن ماهی به خصوص چربی گزارش شده است. وجود اختلاف در ترکیبات شیمیایی ماهی می‌تواند مرتبط با تغذیه، اندازه ماهی، فصل صید، تفاوت‌های جنسی، و محیط پرورش (کیفیت آب، pH و دمای آن) و دیگر شرایط محیطی باشد [۳۲]. در نتیجه تفاوت در این ترکیبات بویژه چربی، تغییراتی را در ویژگی‌های حسی مانند: طعم، بو، بافت،

#### ۳-۳- میزان به دام اندازی رادیکال‌های آزاد

##### DPPH

محتوای ترکیبات فنولی در گیاهان، ارتباط مستقیمی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها دارد. فنول‌ها به دلیل دارا بودن گروه‌های هیدروکسیل در ساختارشان دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. نتایج ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست سبز گردو توسط روش بازدارندگی رادیکال DPPH نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، درصد بازدارندگی رادیکال DPPH شدت می‌یابد زیرا در غلظت‌های بالا با افزایش تعداد گروه‌های

از مرگ بین ۶-۷ تغییر می‌کند که pH بالاتر از ۷ نشان دهنده فساد می‌باشد [۳۷]. پس از مرگ ماهی بر اثر تولید اسیدلاکتیک حاصل از گلیکولیز مقدار pH کاهش می‌یابد همچنین بعضی از محققین انحلال دی اکسید کربن حاصل از تجزیه گلیکوژن را در فاز آبی عضلات و در نتیجه تشکیل اسید کربنیک را عامل کاهش اولیه pH می‌دانند [۳۸ و ۳۹]. افزایش میزان pH در طول دوره نگهداری در دمای یخچال به دلیل تولید ترکیبات فرار مانند آمونیاک و تری متیل آمین حاصل از تبدیل TMAO به 2TMA حاصل از فعالیت باکتری‌های مولد فساد و آنزیم‌های درونی می‌باشد. در نمونه‌های مورد مطالعه علاوه بر تولید بازهای فرار و ازت تام فرار با گذشت زمان محصولات اولیه اکسیداسیون چربی مانند هیدروپراکسیدها تجزیه شده و ترکیباتی مانند آلدهیدها و غیره را تولید می‌کنند که این ترکیبات دارای خواص بازی بوده و باعث افزایش pH محصول می‌شوند [۴۰]. ارزیابی میزان pH بر طبق نمودار ۱، نشان می‌دهد که در ابتدای دوره نگهداری تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌ها وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). اما با گذشت زمان و در روز ۴ نگهداری کاهش pH در تمام نمونه‌ها مشاهده شد که با نتایج حاصل از تحقیق [۴۱ و ۴۲] مطابقت داشت.

با توجه به این بررسی میزان EC50 برای عصاره پوست سبز گردو به طور معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ بالاتر از TBHQ شده است. نتیجه گرفته می‌شود که فعالیت آنتی‌اکسیدانی TBHQ بالاتر از عصاره پوست سبز گردو می‌باشد. در مطالعه‌ی صورت گرفته توسط قادری و همکارانش نیز آنتی‌اکسیدان BHA فعالیت ضد رادیکالی بیشتری نسبت به عصاره بلوط نشان داد که با نتایج پژوهش‌های مشابه مطابقت دارد [۳۵ و ۳۶].

**Table 4** EC50 in DPPH in green walnut husk extracted

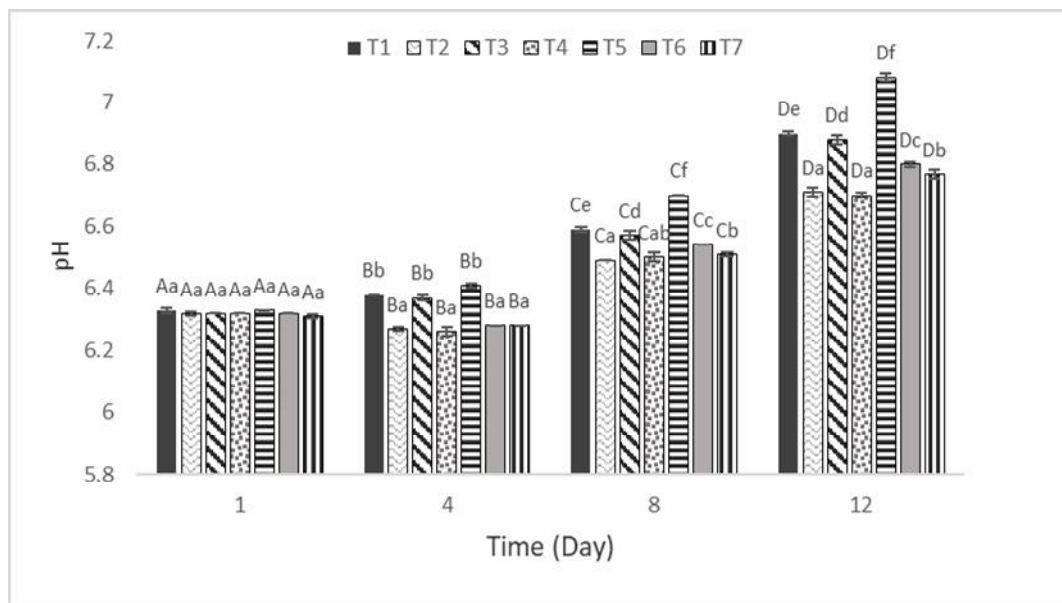
Type of antioxidant	EC <sub>50</sub>
Green walnut husk	0.18±0.007 <sup>a</sup>
TBHQ	0.11±0.014 <sup>b</sup>

The different small or capital letters indicate significant difference at the level of 5% ( $P < 0.05$ )

### ۳-۴- آنالیزهای شیمیایی

#### ۳-۴-۱- اندازه‌گیری pH

میزان pH عضله ماهی زنده نزدیک ۷ است. pH ماهی به عواملی از جمله: گونه، تغذیه ماهی، ظرفیت بافری گوشت، دما، شرایط نگهداری و فاکتورهای دیگر بستگی دارد. pH ماهی پس



**Fig 1** The effect of chicken feet gelatin and green walnut husk on the pH of rainbow trout fillets over storage time at refrigerator temperature ( $5.0 \pm 1.0$  °C)

(T1: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T2: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T3: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T4: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T5: Control sample, T6: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T7: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin)

The different small or capital letters indicate significant difference at the level of 5% ( $P < 0.05$ )

بازهای نیتروژنی فرار در نمودار ۲، یک روند افزایشی شاخص (TVB-N) در مدت زمان ۱۲ روز در تمام سطوح و کنترل در دمای یخچال مشاهده شد. به عبارتی بین گذشت زمان و افزایش TVB-N ارتباط معنی دار بود [۴۷، ۴۸ و ۴۹].

این افزایش در نمونه‌ی شاهد نسبت به نمونه‌های دیگر از شدت بیشتری برخوردار بود. به صورتی که در انتهای زمان نگهداری بیشترین مقدار TVB-N (میلی گرم در ۱۰۰ گرم بافت ماهی) برای تیمار شاهد (۴۳/۹۹) بدست آمد. در ابتدای دوره‌ی نگهداری اختلاف معنی داری بین نمونه‌ها مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). اما با گذشت زمان نمونه‌های دارای پوشش ژلاتین و عصاره نسبت به نمونه شاهد دارای میزان TVB-N کمتری بودند بطوریکه که نمونه‌های حاوی بیشترین مقدار عصاره در پایان دوره نگهداری کمترین مقدار TVB-N را نشان دادند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از عصاره‌ی پوست سبز گردو می‌تواند میزان تشکیل مجموع بازهای نیتروژنی فرار توسط میکروارگانیسم‌ها کاهش دهد که دلیل آن می‌تواند فعالیت ضد میکروبی عصاره باشد [۵۰]. تفاوت معنی داری در بین غلظت‌های مورد استفاده از ژلاتین در کاهش یا افزایش TVB-N مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). با توجه به مطالعات انجام شده پوشش ژلاتینی به تنهایی تاثیری بر مقدار TVB-N ندارد. این احتمالاً می‌تواند به این دلیل باشد که ژلاتین به تنهایی قادر به کاهش بار میکروبی نمی‌باشد ولی استفاده از آن به همراه عصاره‌های گیاهی که دارای خواص ضد میکروبی هستند باعث کنترل بار میکروبی و افزایش کیفیت ماندگاری در نمونه‌ها شود در روز دوازدهم نگهداری تمامی نمونه‌ها با یکدیگر دارای اختلاف معنی داری بودند ( $p < 0/05$ ). به جز نمونه دارای ۱۰۰ پی‌پی‌ام عصاره با ۵ درصد ژلاتین که اختلاف معنی داری با یکدیگر نشان ندادند ( $p > 0/05$ ) [۳۷ و ۴۴].

طبق استاندارد مقدار قابل قبول بازهای نیتروژنی فرار برای گوشت ماهی قزل‌آلا ۲۵ میلی‌گرم TVB-N در ۱۰۰ گرم می‌باشد [۵۱] که بر اساس داده‌های نمودار ۲، مجموع بازهای نیتروژنی فرار برای نمونه شاهد و نمونه‌های دارای ۱۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام در روز هشتم از حد قابل قبول بیشتر شد.

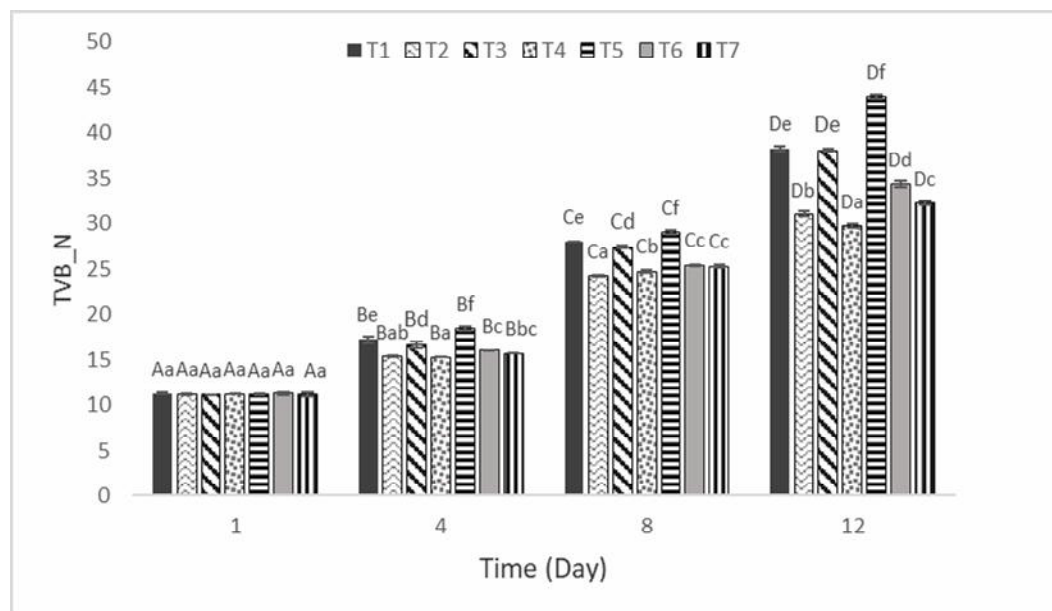
در پایان دوره نگهداری مقدار pH تیمارهای پوشش داده شده با غلظت‌های مختلف عصاره پوست سبز گردو و ژلاتین پای مرغ نسبت به نمونه شاهد اختلاف معنی داری داشتند ( $p < 0/05$ ). به طوریکه میزان pH تیمار پوشش داده شده با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پوست سبز گردو و ۲/۵ درصد ژلاتین پای مرغ و نمونه شاهد در آخرین روز نگهداری به ترتیب ۶/۷ و ۷/۰۸ اندازه‌گیری شد. اختلاف معنی داری بین غلظت عصاره‌ها در طول نگهداری دیده شد ( $p < 0/05$ ). بطوریکه در روز ۱۲ نگهداری غلظت ۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام دارای تفاوت معنی داری بودند ( $p < 0/05$ ). با توجه به اینکه ژلاتین خاصیت محافظتی در برابر خشک شدن، نور و اکسیژن دارد که به تبع آن اکسیداسیون و تغییرات pH کاهش می‌یابد [۴۳]. اما در این تحقیق اختلاف معنی داری در ژلاتین ۲/۵ و ۵ درصد با غلظت برابر عصاره پوست سبز گردو مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ).

### ۳-۴-۲- اندازه‌گیری نیتروژن کل فرار (TVB-N)

مجموع بازهای نیتروژنی فرار یک اصطلاح عمومی است که در اثر فعالیت میکروبی، ترکیباتی همچون تری متیل آمین اکساید، پپتیدها و آمینواسیدها در بافت ماهیچه‌ای به ترکیبات فراری مانند: تری متیل آمین، دی متیل آمین، آمونیاک و دیگر ترکیبات بازی نیتروژنی تبدیل می‌شوند [۴۴]. از این رو اندازه‌گیری نیتروژن کل فرار یک شاخص برای ارزیابی کیفیت غذاهای دریایی و یکی از نشانگرهای اصلی تخریب و تجزیه گوشت محسوب می‌شود. تغییرات در مقادیر TVB-N مربوط به باکتری‌های مولد فساد، آنزیم‌های اتولیتیک، دامیناسیون اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها می‌باشد که غالباً مربوط به فعالیت میکروارگانیسم‌ها و به میزان کمتر توسط آنزیم‌های اتولیتیک انجام می‌شود [۴۵].

در شکل ۲، تغییرات شاخص مجموع بازهای نیتروژنی فرار تیمارهای مختلف در طی زمان نگهداری در یخچال مشاهده می‌شود. در شروع آزمایش مقدار مجموع بازهای نیتروژنی فرار ۱۱/۲۶-۱۱/۰۹ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی بود. که این میزان با مقدار اعلام شده توسط تحقیقات دیگر که مجموع بازهای نیتروژنی فرار در گوشت تازه‌ی ماهی را بین ۵-۲۰ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم اعلام کرده‌اند، همخوانی دارد [۴۶]. با توجه به نتایج حاصل از سنجش میانگین مجموع





**Fig 2** The effect of chicken feet gelatin and green walnut husk on TVB-N content rainbow trout fillets over time at refrigerator temperature ( $5.0 \pm 1.0$  °C) (mg per 100 g of fish tissue)

(T1: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T2: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T3: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T4: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T5: Control sample, T6: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T7: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin)

The difference indifferent uppercase small or lowercase capital letters indicates a significant difference at the level of 5% ( $P < 0.05$ )

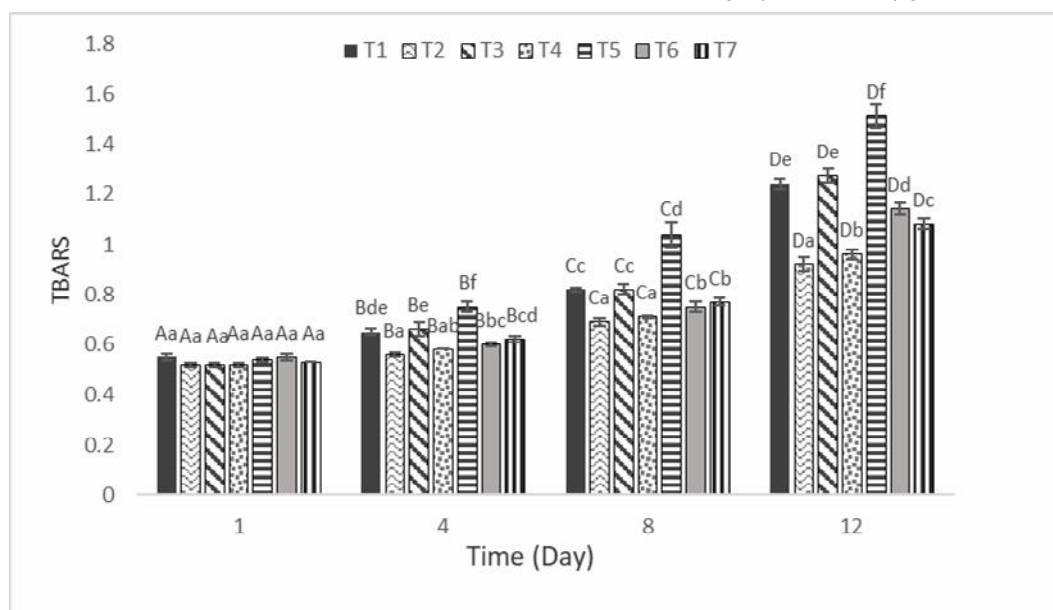
با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق طبق نمودار ۳، مقادیر TBA در تمامی تیمارها با گذشت زمان روند افزایشی داشت که این روند با نتایج مطالعات دیگر مطابقت دارد [۵۵]. میزان TBA در تیمار شاهد با شدت بیشتری صورت گرفت، بطوریکه از روز ۴ به بعد اختلاف معنی داری بین تیمار شاهد با تیمارهای پوشش داده شده مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). بطوریکه در روز ۸ میزان TBA از حد قابل قبول فراتر رفت. در پایان زمان نگهداری تمامی نمونه‌ها با یکدیگر اختلاف آماری معنی داری داشتند ( $p < 0.05$ ). اما در بین نمونه‌های حاوی ۱۰۰ پی پی ام عصاره با ۲/۵ و ۵ درصد ژلاتین، از ابتدا تا انتهای دوره نگهداری اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). بیشترین مقدار TBA مربوط به تیمار شاهد (۱/۵۲) و کمترین میزان (۰/۹۲) مربوط به تیمار پوشش داده شده با ۵ درصد ژلاتین و ۱۰۰ پی پی ام عصاره پوست گردو بود کمتر بودن مقدار TBA در این نمونه‌های پوششی به دلیل خاصیت انتی‌اکسیدانی عصاره و همچنین اثر هم‌افزایی پوشش و عصاره است. در میان غلظت‌های عصاره پوست گردو غلظت ۱۰۰ پی پی ام نسبت به

### ۳-۴-۳-اندازه‌گیری عدد اسید تیوباربتوریک (TBARS)

اکسیداسیون چربی‌ها مربوط به اکسید شدن اسیدهای چرب چند غیراشباعی در عضلات ماهی می‌باشد که باعث بوجود آمدن بو و طعم نامطلوب در ماهی و در نتیجه کوتاه شدن مدت زمان ماندگاری آن می‌شود [۵۲]. محصولات اولیه اکسیداسیون چربی‌ها هیدروپروکسیدها هستند که ترکیباتی ناپایدارند که نقشی در طعم نامطلوب ماهی ندارند. هیدروپروکسیدها پس از شکست، آلدهیدها، کتون‌ها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، استرها، فوران‌ها و لاکتون‌ها را ایجاد می‌کنند. آزمایش تیوباربتوریک اسید، مالون-دی‌آلدهیدهای تشکیل شده را اندازه‌گیری می‌کند مالون دی‌آلدهید محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع است که در نتیجه تبدیل هیدروپراکسیدها به آلدهیدها و کتون‌ها به وجود می‌آید [۵۳]. میزان محدود کننده این شاخص، با توجه به عدم روند افزایشی آن تا آخر دوره، با قطعیت بیان نشده اما میزان تا ۲ میلی‌گرم مقدار محدودکننده این شاخص بیان شده است [۵۴].

در تیمارهای پوشش داده شده بوسیله ژلاتین پای مرغ ۵ درصد نسبت به ۲/۵ درصد را می‌توان به خاصیت ممانعت کنندگی پوشش ژلاتینی از نفوذ اکسیژن نسبت داد که با کاهش سرعت انتشار اکسیژن در سطح فیله‌ها باعث به تاخیر افتادن اکسیداسیون چربی می‌شود و انتظار می‌رود باندهای هیدروژنی به عنوان یک محافظ اکسیژن عمل کنند [۵۷ و ۲۶].

۵۰۰ پی‌پی‌ام و غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام نسبت به ۱۰۰ پی‌پی‌ام بهتر توانسته‌اند که میزان TBA را کنترل کنند این یافته با تحقیقات انجام شده در این زمینه همخوانی دارد [۵۶]. بالا بودن میزان TBA در نمونه شاهد به دلیل اکسیداسیون لیپیدی و تولید ترکیبات فرار در حضور اکسیژن می‌تواند باشد و پایین بودن میزان TBA در نمونه‌های حاوی عصاره می‌تواند به دلیل اثر آنتی‌اکسیدان‌ها در کاهش پراکسید باشد. پایین بودن میزان TBA



**Fig 3** The effect of chicken feet gelatin and green walnut husk on TBARS of rainbow trout fillet over storage time at refrigerator temperature ( $5.0 \pm 1.0$  °C) (mg malondialdehyde per kg fat)

(T1: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T2: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T3: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T4: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T5: Control sample, T6: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T7: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin)

The difference indifferent uppercase small or lowercase capital letters indicates a significant difference at the level of 5% ( $P < 0.05$ )

فرآورده‌های آن بسته به فلور میکروبی، وضعیت آب، دمای محیط پرورش و شرایط نگهداری از قبیل دما و دسترسی به اکسیژن با دیگر گازهای موجود متفاوت خواهد بود. میزان اولیه بار باکتریایی به عوامل متعددی نظیر دستکاری حین تهیه فیله، آلودگی وسایل به کار رفته و بهداشت افراد بستگی دارد. مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های عامل فساد در ماهی باکتری‌های گرم منفی، گونه‌های سودوموناس می‌باشند [۵۹].

در این پژوهش میزان بار میکروبی اولیه برای فیله‌ها در اولین روز شروع نگهداری حدود  $3/83$  بود که نشان دهنده کیفیت خوب فیله‌های مورد استفاده در این تحقیق می‌باشد. در اولین روز

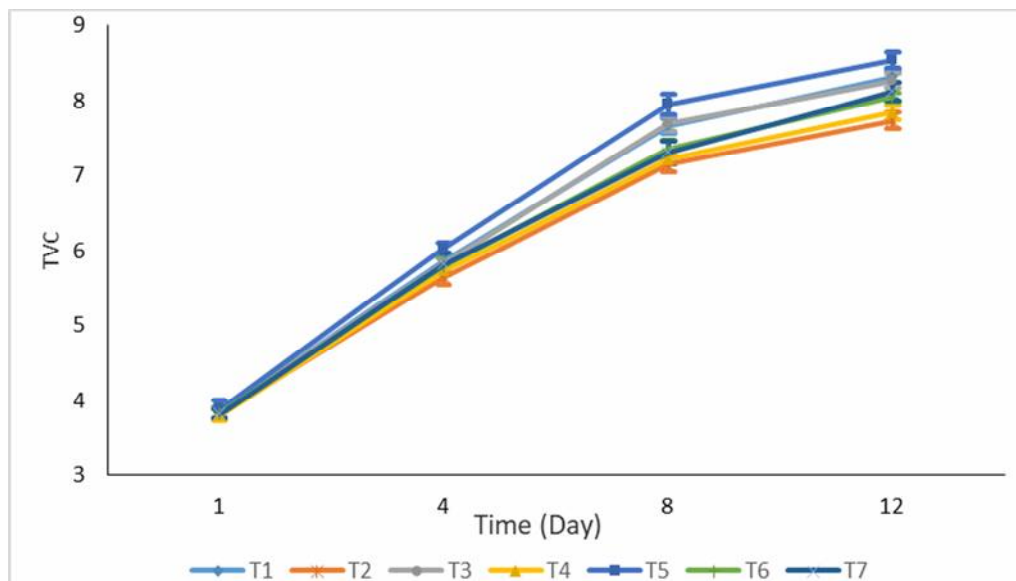
### ۳-۵- شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل

رشد میکروب‌ها عامل اصلی فساد مواد غذایی می‌باشد. گوشت ماهی حاوی ترکیبات مناسبی برای رشد باکتری‌ها است، با این وجود یکی از دلایل اصلی کاهش کیفیت فیله ماهی در طول دوره نگهداری، حضور باکتری‌ها است که خسارت‌های اقتصادی و مسمومیت‌های غذایی فراوانی را بوجود می‌آورد. حد استاندارد TVC برای گوشت ماهی برابر با  $7 \log_{10}$  CFU/g است جمعیت میکروبی گوشت ماهی به دلیل عوامل محدود کننده حاصل از رشد خودشان بیشتر از حدود  $8 \log_{10}$  CFU/g افزایش نمی‌یابد [۲۳ و ۵۸]. میزان فساد میکروبی ماهی و

دارای فعالیت ضد میکروبی نمی‌باشد، اما پوشش ژلاتینی ممکن است به عنوان مانعی در برابر میکروارگانیسم‌ها عمل کند. در مطالعات بسیاری نیز گزارش شده است که ژلاتین به تنهایی تاثیری در کاهش بار میکروبی ندارد [۴۴ و ۶۰]. در بررسی‌های دیگری که صورت گرفت نیز مشاهده شد در حضور ژلاتین با عصاره‌های حاوی آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی تاثیر این پوشش‌ها بر روی کاهش بار میکروبی دو چندان می‌شود [۴۳]. همچنین ژلاتین می‌تواند به عنوان محافظی در برابر هوا عمل کرده و به این روش از فعالیت باکتری‌های هوازی بکاهد [۵۱].

با افزایش غلظت عصاره‌ی پوست سبز گردو میزان TVC در نمونه‌ها در طول زمان نگهداری کمتر شد که این می‌تواند با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره مرتبط باشد [۳۶]. ترکیبات فنولیک موجود در پوست سبز گردو دارای اثر ضد میکروبی بوده و تاثیر آن روی میکروارگانیسم‌ها تابع محل و تعداد گروه‌های هیدروکسیل روی حلقه فنولی است. در صورت اکسید شدن فنول اثرات شدیدتری روی میکروارگانیسم‌ها قابل مشاهده خواهد بود [۵۰].

نگهداری تفاوت آماری معنی‌داری بین نمونه‌ها مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). اما با گذشت زمان، تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری با نمونه‌های پوشش داده شده داشت که این نشان‌دهنده‌ی فساد بالای میکروبی در نمونه شاهد می‌باشد ( $p < 0/05$ ). اما نمونه‌های پوشش داده شده با عصاره پوست سبز گردو و ژلاتین پای مرغ در روز چهارم نگهداری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و نمونه شاهد نشان دادند ( $p < 0/05$ ). از روز چهارم نمونه‌های حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره، نسبت به نمونه‌های دارای ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره و نمونه‌های دارای ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره، نسبت به ۱۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌ی پوست سبز گردو به ترتیب دارای کمترین میزان بار میکروبی بودند. نتیجه گرفته می‌شود که احتمالاً با افزایش مقدار عصاره روند کاهش در میزان بار میکروبی در طول دوره‌ی نگهداری رخ داده است. اما اختلاف آماری معنی‌داری در میزان ژلاتین بین نمونه‌ها مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). در میان پوشش‌های ایجاد شده تیمار حاوی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پوست سبز گردو با ژلاتین پای مرغ ۵ و ۲/۵ درصد دارای کمترین میزان بار میکروبی بودند. اگرچه ژلاتین



**Fig 4** The effect of chicken feet gelatin and green walnut husk on the growth trend of aerobic mesophilic bacteria (log CFU/g) of rainbow trout fillets over storage time at refrigerator temperature ( $5.0 \pm 1.0$  °C)

(T1: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T2: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T3: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T4: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T5: Control sample, T6: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T7: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin)

اثرات این عصاره روی میکروارگانیسم‌ها به دلیل مهار آنزیم DNA ژیراز باکتری‌ها و جلوگیری از تکثیر آن‌ها می‌باشد [۶۱].

طبق گزارشات انجام شده، کوئرستین ۳-گالاکتوزید ترکیب اصلی فنولی موجود در برگ و پوست سبز گردو می‌باشد که یکی از

کلی) تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال به ترتیب در شکل‌های ۵ تا ۸ نشان داده می‌شود. تغییرات حسی مانند: رنگ، بافت و بو تغییراتی هستند که به وسیله احساسات، دریافت و درک می‌شوند. اولین تغییرات حسی ماهی در طی نگهداری در رابطه با ظاهر و بافت اتفاق می‌افتد [۴۶]. با توجه به اینکه فساد ماهی با رشد باکتری‌های فساد همبستگی دارد، اما راه قطعی و نهایی برای تعیین زمان عدم پذیرش آنالیز حسی می‌باشد [۶۳]. با گذشت زمان ویژگی‌های حسی در نمونه شاهد به سرعت کاهش پیدا کرد به صورتی که در روز هشتم تمامی امتیازها برای نمونه‌ی شاهد به کمتر از ۵ (حداقل امتیاز قابل قبول برای مصرف کننده) رسید. به دلیل رشد میکروبی و اکسیداسیون بالای چربی در فیله ماهی در نمونه شاهد نشانه‌های فساد را به صورت بوی بد، تغییر رنگ و لزج شدن بافت در روز هشتم نگهداری نشان داد.

### ۳-۶-۱-رنگ

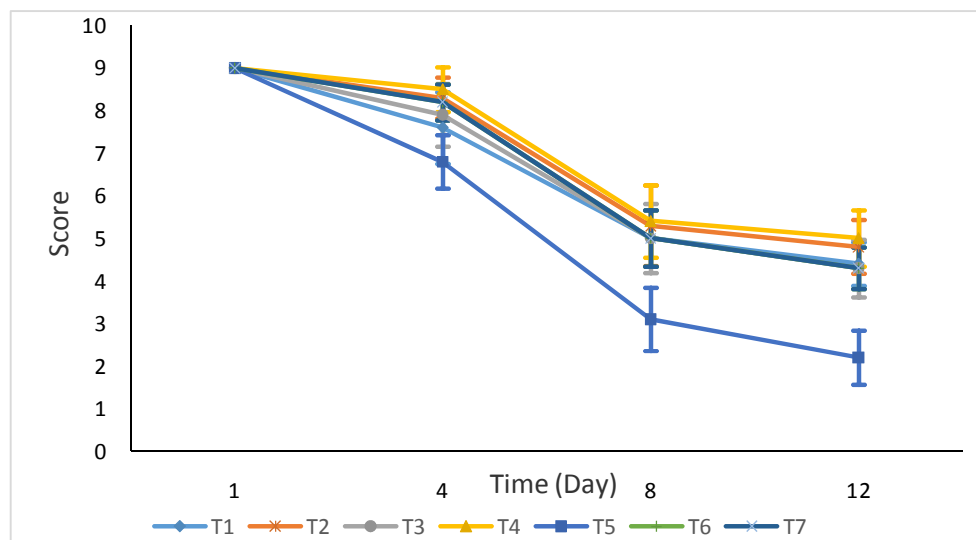
یکی از دلایل کاهش امتیاز رنگ در طول دوره‌ی نگهداری، افزایش فساد فیله‌ها می‌باشد. رنگ قرمز مایل به صورتی گوشت ماهی اغلب ناشی از رنگدانه‌های هم موجود در آن است. با افزایش فساد ماهی کمپلکس هم تخریب شده و یون آهن آزاد می‌شود. البته یون‌های فلزی خود به عنوان پرواکسیدان نقش مهمی در اکسیداسیون چربی دارند [۶۴].

همچنین به دلیل ماهیت هیدروفوب ترکیبات تشکیل دهنده عصاره‌ها و اسانس‌ها توانایی نفوذ آن‌ها به لیپیدهای غشای سلولی و میتوکندری را فراهم کرده و باعث بهم ریختگی ساختار و افزایش نفوذپذیری غشا و در نتیجه نشت یون‌ها، ATP و سایر ترکیبات سلولی می‌شوند و یا برهمکنش آن‌ها با آنزیم‌هایی که بر دیواره سلولی قرار گرفته‌اند، مکانیسم اصلی برای عملکرد ضد میکروبی آن‌ها است [۶۲]. در مطالعه‌ای که بر روی خواص آنتی‌میکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست سبز گردو در روغن سویا انجام شد نشان داد که عصاره پوست سبز گردو بر روی فعالیت برخی از میکروارگانیسم‌های گرم مثبت مانند: (لیستریا منوسیتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس) و گرم منفی (اشرشیاکلی، پرتوس و لگاریس و سالمونلا تیفی) موثر بوده است [۱۲ و ۵۶].

به طور عمده باکتری‌های گرم منفی به نسبت گرم مثبت‌ها مقاوم‌تر می‌باشند. این پدیده به علت وجود لایه خارجی لیپوپلی ساکاریدی اطراف دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی است که نفوذ ترکیبات هیدروفیل را محدود نموده و لذا کارایی اثر ضد میکروبی عصاره کاهش می‌یابد.

### ۳-۶-۲-ارزیابی حسی

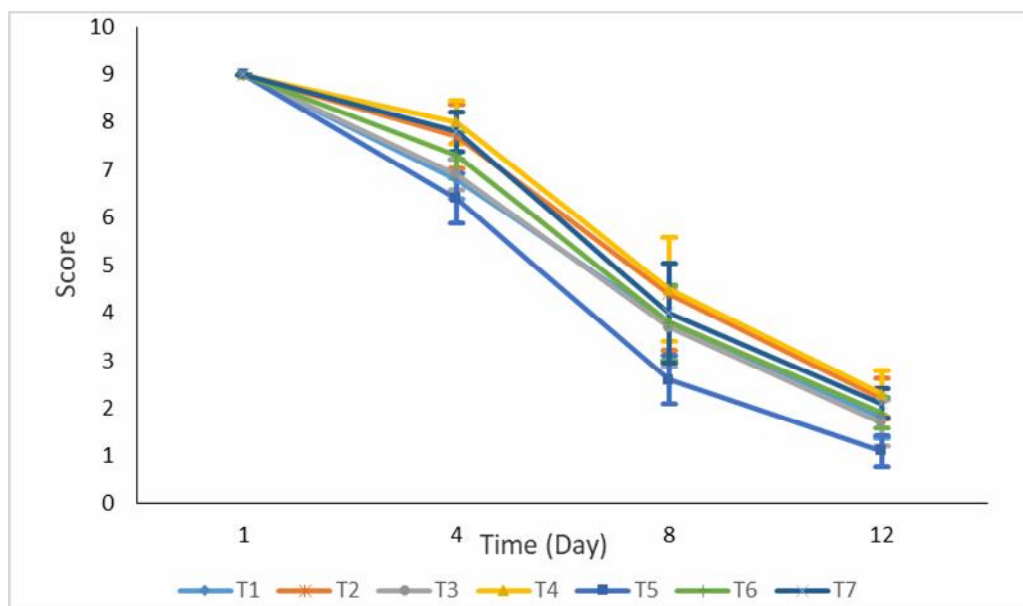
نتایج ارزیابی حسی (شاخص‌های رنگ، بو، بافت و مقبولیت



**Fig 5** Demonstration of the effect of chicken feet gelatin and green walnut husk extracted on sensory evaluation (colour) of rainbow trout fillet during storage at refrigerator temperature ( $5.0\pm 1.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ )

(T1: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T2: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T3: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T4: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T5: Control sample, T6: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T7: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin)

در ارزیابی بوی فیله با توجه به اینکه پوست گردو دارای بوی تند می‌باشد اما همانطور که اشاره شد به دلیل استفاده از عصاره گردو در غلظت‌های پایین، باعث ایجاد بوی نامطلوب در فیله‌ها نشد. طبق نمودار ۶، در روز ۸ نگهداری، تمامی نمونه‌ها امتیاز پایینی را در ارزیابی بو فیله‌ها دریافت کردند. با این حال نمونه‌های پوشش داده شده نسبت به نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری در ارزیابی بو فیله داشتند ( $p < 0.05$ ). همچنین نمونه‌های حاوی عصاره ۱۰۰۰ نسبت به ۵۰۰ پی‌پی‌ام و نمونه‌های حاوی ۵۰۰ نسبت به ۱۰۰ پی‌پی‌ام تفاوت معنی‌داری را در طول زمان نگهداری دریافت کردند ( $p < 0.05$ ). اما اختلاف معنی‌داری در میزان غلظت ژلاتین مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ) [۵۴].



**Fig 6** Demonstration of the effect of chicken feet gelatin and green walnut husk extracted on sensory evaluation (taste) of rainbow trout fillet during storage at refrigerator temperature ( $5.0 \pm 1.0$  °C)

(T1: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T2: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T3: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T4: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T5: Control sample, T6: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T7: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin)

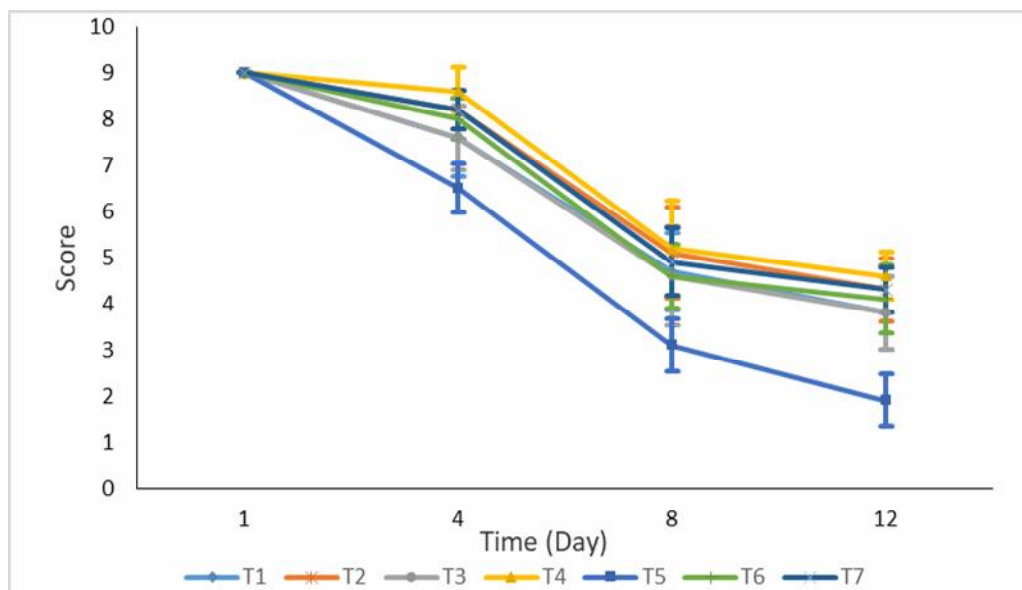
### ۳-۶-۳-بافت

وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). اما از روز هشتم تیمارهای حاوی عصاره، بافت بهتری را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند.

نتایج ارزیابی حسی مربوط به چهار ویژگی رنگ، بافت، بو و پذیرش کلی نشان داد که در ابتدا تمامی تیمارها ظاهری قابل قبول داشتند. با توجه به اینکه عصاره‌ی پوست سبز گردو دارای رنگ تیره می‌باشد اما به دلیل استفاده از آن در غلظت‌های پایین (پی‌پی‌ام) هیچ یک از ارزیاب‌ها رنگ تیره در فیله‌ها را ارزیابی نکردند. بنابراین می‌توان پیش‌بینی کرد که افزودن عصاره‌ی پوست سبز گردو در ترکیب با پوشش‌های خوراکی و زیست تخریب پذیر مانند ژلاتین پای مرغ تاثیر نامطلوبی بر خصوصیات حسی در فرآورده‌های شیلاتی نداشته باشد.

### ۳-۶-۲-بو

بررسی نتایج تغییرات بافت فیله در تیمارهای مختلف با توجه به نمودار ۷، نشان داد که تا روز ۴ اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها



**Fig 7** Demonstration of the effect of chicken feet gelatin and green walnut husk extracted on sensory evaluation (texture) of rainbow trout fillet during storage at refrigerator temperature ( $5.0 \pm 1.0$  °C)

(T1: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T2: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T3: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T4: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T5: Control sample, T6: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T7: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin)

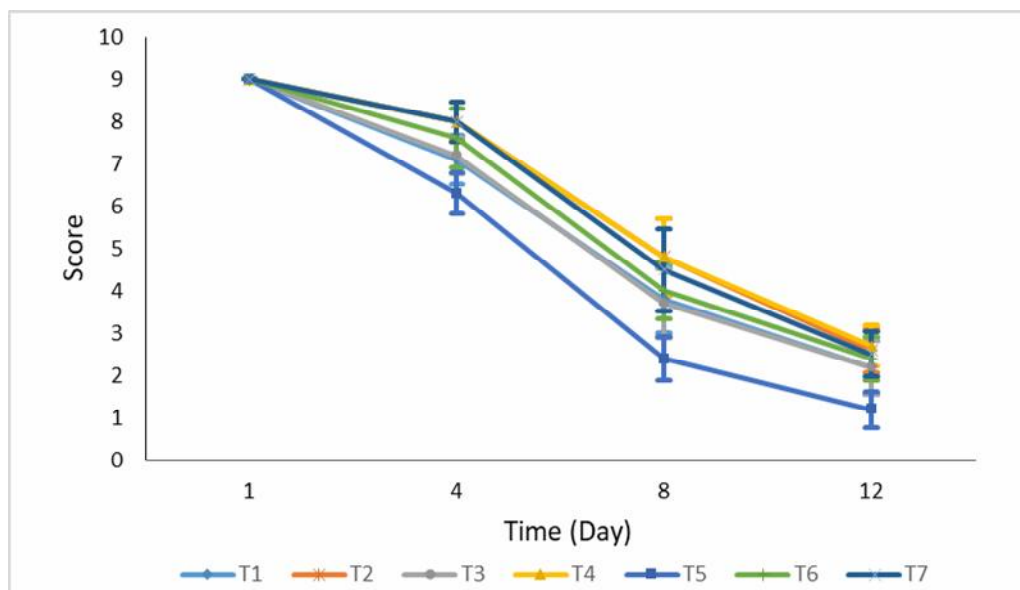
خواص نمونه‌ها شده است. زیرا که اکسیداسیون چربی منجر به تخریب و افت کیفیت و کاهش مواد مغذی از جمله کاهش اسیدهای چرب چند غیر اشباع ضروری (PUFA) و در نتیجه تولید محصولات سمی ناشی از اکسیداسیون می‌شود [۶۶]. از طرفی افزایش هیدرولیز چربی تجمع FFA را به دنبال دارد که روی ثبات پروتئین‌ها تاثیر دارد و از طریق واکنش دادن با پروتئین‌ها موجب تخریب بافت می‌شود [۶۷]. رشد میکروبی در فیله‌ها به دلیل ایجاد ترکیبات نامطبوع و فرار که اغلب در نتیجه تاثیر روی پروتئین حاصل می‌شوند فساد و بوی نامطبوع را در فیله‌ها سبب می‌شوند. عصاره‌های گیاهی وقتی به فیلم‌های خوراکی اضافه می‌شوند به آهستگی به سطح مواد غذایی رها شده و در یک مدت زمان طولانی و در یک غلظت بالا بر روی مواد غذایی باقی می‌مانند و از این طریق باعث حفظ کیفیت مواد غذایی می‌شوند.

### ۳-۶-۴- پذیرش کلی

در بین تیمارهای مورد آزمایش از نظر پذیرش کلی تیمار پوششی حاوی ۱۰۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پوست سبز گردو در روز هشتم دارای امتیاز قابل قبول بودند. این نتایج با نتایج حاصل از آزمون‌های شیمیایی، فیزیکی و میکروبی همخوانی داشت. یافته‌های مشابهی پیرامون حفظ خواص حسی نمونه‌های ماهی بوسيله پوشش‌های خوراکی توسط سایر محققان گزارش شده است [۴۵ و ۶۵].

اما در روز ۱۲ نگهداری تمامی نمونه‌ها در آزمون حسی رد شدند. این قابلیت پذیرش بالاتر نمونه‌های پوشش داده شده نسبت به نمونه‌ی شاهد را می‌توان به خصوصیت ممانعتی پوشش در برابر گازها مخصوصا اکسیژن نسبت داد و پس از آن با خواص ضد اکسیداسیونی و ضد میکروبی عصاره پوست سبز گردو مرتبط دانست که از طریق کاهش اکسیداسیون چربی‌ها و نیز ممانعت از رشد باکتری‌ها به صورت فزاینده‌ای موجب حفظ





**Fig 8** Demonstration of the effect of chicken feet gelatin and green walnut husk extracted on sensory evaluation (overall\_ acceptability) of rainbow trout fillets during storage at refrigerator temperature ( $5.0 \pm 1.0$  °C) (T1: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T2: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T3: Coating containing 100 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T4: Coating containing 1000 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin, T5: Control sample, T6: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 5% Chicken feet gelatin, T7: Coating containing 500 ppm green walnut husk and 2.5% Chicken feet gelatin)

پوشش ایجاد شده با عصاره پوست سبز گردو و ژلاتین پای مرغ به عنوان یک لایه محافظتی سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی تأثیر معنی‌داری در کاهش مقادیر TVB-N، TBA، pH و TVC در طول دوره نگهداری داشت. همچنین این پوشش‌ها در حفظ رطوبت، رنگ و بافت فیله‌ها موثر و در ارزیابی حسی در طول دوره نگهداری امتیاز قابل قبولی دریافت کردند.

طبق نتایج کلی، پوشش خوراکی ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره پوست سبز گردو همراه با ژلاتین پای مرغ ۲/۵ و ۵ درصد، مدت زمان نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در دمای یخچال را نسبت به نمونه شاهد ۷ الی ۸ روز افزایش داد. بدین صورت استفاده از ترکیب پوششی عصاره پوست سبز گردو همراه با ژلاتین پای مرغ که از محصولات جانبی محسوب می‌شوند می‌تواند در افزایش کیفیت و زمان نگهداری محصولات گوشتی از جمله ماهی موثر واقع شود.

#### ۴- نتیجه گیری

طبق نتایج حاصل از این پژوهش استفاده از عصاره پوست سبز گردو و ژلاتین پای مرغ به تنهایی به عنوان یک پوشش برای محافظت از مواد غذایی تأثیر معنی‌داری نشان نمی‌دهد. اما نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از هر دو ماده در غلظت‌های مشخص می‌تواند تأثیر معنی‌داری بر روی کیفیت و نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان داشته باشد.

طبق نتایج به دست آمده با افزایش غلظت عصاره پوست سبز گردو در پوشش ایجاد شده کیفیت و زمان نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نسبت به فیله‌های بدون پوشش بهبود معنی‌داری می‌یابد.

تغییر درصد ژلاتین استخراج شده از پای مرغ تأثیر معنی‌داری بر روی کیفیت و ماندگاری فیله‌ها نشان نداد اما در بعضی از موارد مانند مقادیر رطوبت و TBA با افزایش درصد ژلاتین از ۲/۵ به ۵ درصد با توجه به خاصیت ممانعت‌کنندگی ژلاتین در برابر اکسیژن و بخار آب تأثیر معنی‌داری مشاهده شد.

## ۵-منابع

- [9] Mei, J., Ma, X., & Xie, J. (2019). Review on natural preservatives for extending fish shelf life. *Foods*, 8(10), 490.
- [10] Fang, Z., Zhao, Y., Warner, R. D., & Johnson, S. K. (2017). Active and intelligent packaging in meat industry. *Trends in Food Science & Technology*, 61, 60-71.
- [11] Rathod, N. B., Ranveer, R. C., Benjakul, S., Kim, S. K., Pagarkar, A. U., Patange, S., & Ozogul, F. (2021). Recent developments of natural antimicrobials and antioxidants on fish and fishery food products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), 4182-4210.
- [12] Oliveria I, Souse A, Ferreira IC, Bento A, Estevinho L and Pereira JA, (2008). Total phenols antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*juglans regia l.*) green husks. *Food and Chemical Toxicology* 46(7), 2326-2331.
- [13] Salejda, A. M., Janiewicz, U., Korzeniowska, M., Kolniak-Ostek, J., & Krasnowska, G. (2016). Effect of walnut green husk addition on some quality properties of cooked sausages. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 751-757.
- [14] Ramos, M., Valdes, A., Beltran, A., & Garrigós, M. C. (2016). Gelatin-based films and coatings for food packaging applications. *Coatings*, 6(4), 41.
- [15] Nessianpour, E., Khodanazary, A., & Hosseini, S. M. (2019). Shelf life of Saurida tumbil during storage at refrigeration condition as affected by gelatin-based edible coatings incorporated with propolis extract. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1749-1759.
- [16] Santana, J. C., Almeida, P. F., Costa, N., Vasconcelos, I., Guerhardt, F., Boukouvalas, D. T., ... & Berssaneti, F. T. (2021). Combination of Computational Techniques to Obtain High-Quality Gelatin-Base Gels from Chicken Feet. *Polymers*, 13(8), 1289.
- [17] Mokrejš, P., Mrázek, P., Gál, R., & Pavlačková, J. (2019). Biotechnological preparation of gelatines from chicken feet. *Polymers*, 11(6), 1060.
- [18] Suparno, O., & Prasetyo, N. B. (2019). Isolation of collagen from chicken feet with hydro-extraction method and its physico-chemical characterisation. In *IOP Conference*
- [1] Socaciu, M. I., Semeniuc, C. A., & Vodnar, D. C. (2018). Edible films and coatings for fresh fish packaging: Focus on quality changes and shelf-life extension. *Coatings*, 8(10), 366.
- [2] Vilavert, L., Borrell, F., Nadal, M., Jacobs, S., Minnens, F., Verbeke, W., ... & Domingo, J. L. (2017). Health risk/benefit information for consumers of fish and shellfish: FishChoice, a new online tool. *Food and Chemical Toxicology*, 104, 79-84.
- [3] Korkmaz, F., Kocaman, E. M., & Gonca, A. L. A. K. (2019). Using of quinoa based film to extend the shelf life of rainbow trout fillets under cold storage (4±1 C) condition. *Marine Science and Technology Bulletin*, 8(2), 76-84.
- [4] Merlo, T. C., Contreras-Castillo, C. J., Saldana, E., Barancelli, G. V., Dargelio, M. D. B., Yoshida, C. M. P., ... & Venturini, A. C. (2019). Incorporation of pink pepper residue extract into chitosan film combined with a modified atmosphere packaging: Effects on the shelf life of salmon fillets. *Food research international*, 125, 108633.
- [5] Jafari, A., Jafarpour, A., & Safari, R. (2017). Influence of chitosan nanocomposite and rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) extract coating on quality of *Huso huso* fillet inoculated with *Listeria monocytogenes* during refrigerated storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(6), 675-685.
- [6] Lyhs, U., Lahtinen, J., & Schelvis-Smit, R. (2007). Microbiological quality of maatjes herring stored in air and under modified atmosphere at 4 and 10 C. *Food microbiology*, 24(5), 508-516.
- [7] Feng, X., Ng, V. K., Mikš-Krajnik, M., & Yang, H. (2017). Effects of fish gelatin and tea polyphenol coating on the spoilage and degradation of myofibril in fish fillet during cold storage. *Food and Bioprocess Technology*, 10(1), 89-102.
- [8] Albertos, I., Avena-Bustillos, R. J., Martín-Diana, A. B., Du, W. X., Rico, D., & McHugh, T. H. (2017). Antimicrobial Olive Leaf Gelatin films for enhancing the quality of cold-smoked Salmon. *Food Packaging and Shelf Life*, 13, 49-55.



- [28] Cruikshank. R., Duguid, J.P., Marmion, B.P., Swain, R.H., (1975). Medical Microbiology, Edinburgh, London and New York, 403-419.
- [29] Alemán, A., González, F., Arancibia, M. Y., López-Caballero, M. E., Montero, P., & Gómez-Guillén, M. C. (2016). Comparative study between film and coating packaging based on shrimp concentrate obtained from marine industrial waste for fish sausage preservation. *Food Control*, 70, 325-332.
- [30] Xu, W., Yu, G., Xue, C., Xue, Y., & Ren, Y. (2008). Biochemical changes associated with fast fermentation of squid processing by-products for low salt fish sauce. *Food Chemistry*, 107(4), 1597-1604.
- [31] Taşbozan, O., Gökçe, M. A., & Erbaş, C. (2016). The effect of different growing conditions to proximate composition and fatty acid profiles of rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of applied animal research*, 44(1), 442-445.
- [32] González-Fandos, E., Villarino-Rodríguez, A., García-Linares, M. C., García-Arias, M. T., & García-Fernández, M. C. (2005). Microbiological safety and sensory characteristics of salmon slices processed by the sous vide method. *Food Control*, 16(1), 77-85.
- [33] Ibrahim Sallam, K. (2007). Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon, *Food Control* 18, 566-575.
- [34] Rezai Zadeh, A., & Raftani Amiri, Z. (2017). Extraction and characterization of gelatin from chicken feet and its application in cantaloupe jelly. *Iranian Journal Food Science and Technology Research*, 13(2), 322-332.
- [35] Rumbaoa, R. G. O., Cornago, D. F., & Geronimo, I. M. (2009). Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine potato (*Solanum tuberosum*) tubers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(6), 546-550.
- [36] Shojaee-aliabadi, S., & Hosseini, S. M. (2016). A comparative study of antimicrobial and antioxidant properties of walnut green husk aqueous extract before and after microencapsulation. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 11(2), 113-124.
- Series: Earth and Environmental Science*, 335(1), 012018.
- [19] Lee, J. H., Lee, J., & Song, K. B. (2015). Development of a chicken feet protein film containing essential oils. *Food Hydrocolloids*, 46, 208-215.
- [20] Ahmadvand, H., Shahsavari, G., Abdolapour, F., & Bagheri, S. (2011). The inhibitory effects of Walnut (*Juglansregia* L.) huskhydroalcoholic extract on LDL oxidation in vitro. *Journal of Jahrom University of Medical Sciences*, 9(3), 1-7.
- [21] Omrani Fard, H., Abbaspour- Fard, M. H., Khojastehpour, M., Dashti, A. (2019). Extraction and characterization of gelatin from chicken feet and its application in cantaloupe jelly. *Iranian Food Science and Technology*, 15(2), 309-322.
- [22] 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.
- [23] Zolfaghari, M. (2011). Study of trend of chemical and microbial changes of rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*) to determine the its optimum shelf-Life during storage in refrigerator temperature (4 C). *Journal of Fisheries*, 64(2), 107-119.
- [24] Sarbon, N. M., Badii, F., & Howell, N. K. (2013). Preparation and characterisation of chicken skin gelatin as an alternative to mammalian gelatin. *Food hydrocolloids*, 30(1), 143-151.
- [25] Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Wang, F., & Liu, F. (2010). Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry*, 118(3), 656-662.
- [26] Taghizadeh, A. G., & Rezaei, M. (2013). Effect of gelatin coatings on chemical, microbial and sensory properties of refrigerated rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*). *JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 9(37), 67-76.
- [27] Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *In Methods in enzymology*, 52, 302-310.

- [47] Nilsuwan, K., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2016). Emulsion stability and properties of fish gelatin-based films as affected by palm oil and surfactants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 2504-2513.
- [48] Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Koocheki, A., & Khazaei, N. (2014). Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. *International journal of food microbiology*, 174, 88-97.
- [49] Feng, X., Bansal, N., & Yang, H. (2016). Fish gelatin combined with chitosan coating inhibits myofibril degradation of golden pomfret (*Trachinotus blochii*) fillet during cold storage. *Food Chemistry*, 200, 283-292.
- [50] Chaharlang, M., Daneshniya, M., Barzanooni, M., & Boghori, P. (2021). Antioxidant and antimicrobial properties of methanolic extract of green walnut skin. *Food Science and Technology*, 17(108), 125-134.
- [51] Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., Gómez-Guillén, M. C., López-Caballero, M. E., & 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(1-2), 46-52.
- [52] Bensid, A., Ucar, Y., Bendeddouche, B., & Özogul, F. (2014). Effect of the icing with thyme, oregano and clove extracts on quality parameters of gutted and beheaded anchovy (*Engraulis encrasicolus*) during chilled storage. *Food Chemistry*, 145, 681-686.
- [53] Mexis, S. F., Chouliara, E., & Kontominas, M. G. (2009). Combined effect of an oxygen absorber and oregano essential oil on shelf life extension of rainbow trout fillets stored at 4 C. *Food microbiology*, 26(6), 598-605.
- [54] Goulas, A. E., & Kontominas, M. G. (2007). Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food chemistry*, 100(1), 287-296.
- [55] Rezaei, M., Hosseini, S. F., Langrudi, H. E., Safari, R., & Hosseini, S. V. (2008). Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Food Chemistry*, 106(3), 1161-1165.
- [37] Salehi, H., & Sahari, M. (2021). The effect of gelatin protein coat with clove extract for increasing the shelf life of chilled rainbow trout fillets at 4° C. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 18(110), 11-25.
- [38] Fan, W., Chi, Y., & 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(1), 148-153.
- [39] Dekkers E., Raghavan S., Kristinsson H.G., and Marshall M.R. 2011. Oxidative stability of mahi mahi red muscle dipped in tilapia protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 124(2), 640-645.
- [40] Tuckey, N. P. L., Forster, M. E., & Gieseg, S. P. (2010). Effects of rested harvesting on muscle metabolite concentrations and K-Values in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) fillets during storage at 15 degrees C. *Journal of Food Science*, 75, 459-464.
- [41] Wang, Z., Hu, S., Gao, Y., Ye, C., & Wang, H. (2017). Effect of collagen-lysozyme coating on fresh-salmon fillets preservation. *LWT*, 75, 59-64.
- [42] Kalteh, S., Alizadeh Doghikolahi, E., Yossefolahi, M., (2015). The effect of edible gelatin coverage Fish fingers on quality. Silver carp during cold storage. *Journal of Food Science and Technology*, 12, 79-89.
- [43] Mardmoradian, N., Rahmanifarah, K., Hoseini, S. M., & Sehatnia, B. (2017). Evaluation of different edible film effect on rainbow trout fillet stability. *Journal Of Fisheries Iranian Journal Of Natural Resources*, 69(4), 417-430.
- [44] López-Caballero, M.E., Gómez-Guillén, M.C., Pérez-Mateos, M., Montero, P., (2004). A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydrocolloids* 19(2),303-11.
- [45] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chemistry*, 120(1), 193-198.
- [46] Huss, H.H. (1988). Fresh fish quality and quality changes. *FAO Fisheries series*, 29, 20-24, 43-52 and 61-67.

- [62] Hosseini, S. M., Hosseini, H., Mohammadifar, M. A., Mortazavian, A. M., Mohammadi, A., Khosravi-Darani, K., ... & Khaksar, R. (2013). Incorporation of essential oil in alginate microparticles by multiple emulsion/ionic gelation process. *International journal of biological macromolecules*, 62, 582-588.
- [63] Olafsdottir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I., ... & Nilsen, H. (1997). Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in food science & technology*, 8(8), 258-265.
- [64] Otwell, W. S., Kristinsson, H. G., & Balaban, M. O. (Eds.). (2008). *Modified atmospheric processing and packaging of fish: filtered smokes, carbon monoxide, and reduced oxygen packaging*. John Wiley & Sons.
- [65] Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., & Chi, Y. (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food chemistry*, 115(1), 66-70.
- [66] Kolakowska, A., Zienkiewicz, L., Domiszewski, Z., & Bienkiewicz, G. (2006). Lipid changes and sensory quality of whole and gutted rainbow trout during storage in ice. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 1(36).
- [67] Rodríguez, A., Carriles, N., Cruz, J. M., & Aubourg, S. P. (2008). Changes in the flesh of cooked farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice (-1.5 C). *LWT-Food Science and Technology*, 41(9), 1726-1732.
- [56] Dolatabadi, M., Raftani, Z., & Esmailzadeh, R. (2017). Assessment of anti-microbial and anti-oxidant properties of Hezarjerib originated walnut green husk extract in refined soybean oil. *Journal of Food Research*, 27(4), 23-35.
- [57] Thaker, M., Hanjabam, M. D., Gudipati, V., & Kannuchamy, N. (2017). Protective Effect of Fish Gelatin-Based Natural Antimicrobial Coatings on Quality of Indian Salmon Fillets during Refrigerated Storage. *Journal of Food Process Engineering*, 40(1), 12270.
- [58] Alves, V. L., Rico, B. P., Cruz, R. M., Vicente, A. A., Khmelinskii, I., & Vieira, M. C. (2018). Preparation and characterization of a chitosan film with grape seed extract-carvacrol microcapsules and its effect on the shelf-life of refrigerated Salmon (*Salmo salar*). *LWT*, 89, 525-534.
- [59] Guillerm-Regost, C., Haugen, T., Nortvedt, R., Carlehög, M., Lunestad, B. T., Kiessling, A., & Rørár, A. M. B. (2006). Quality characterization of farmed Atlantic halibut during ice storage. *Journal of Food Science*, 71(2), S83-S90.
- [60] Wu, C. H., Yuan, C. H., Ye, X. Q., HU, Y. Q., CHEN, S. G., & LIU, D. H. (2014). A critical review on superchilling preservation technology in aquatic product. *Journal of Integrative Agriculture*, 13(12), 2788-2806.
- [61] Rahimipannah, M., Hamed, M., & Mirzapour, M. (2011). Analysis of some factors affecting the phenolic compounds extracted from green husk of walnut (*Juglans regia* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 27(3), 419-430.



## Effect of Edible Chicken Feet Gelatin Green Walnut Husk Extracted Coating on Chemical, Physical, Sensory Properties and Storage Time of Refrigerated Temperature Rainbow Trout Fillets

Afshar, N.<sup>1</sup>, Sedaghat, N.<sup>2\*</sup>, Mohsenzadeh, M.<sup>3</sup>

1. MSc. in Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
3. Professor, Department of Food Hygiene and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

### ABSTRACT

The effect of chicken feet gelatin coatings and green walnut husk extracted on chemical, physical, microbial and sensory properties of rainbow trout fillet was investigated during storage period (12 days) at 5 °C. Chemical analyses (pH, TVB-N and TBA measurements), microbial tests (TVC) and sensory evaluation were carried out periodically every four days. The results showed that by increasing the concentration of walnut green skin extract, the efficiency of the coating increased that the coatings containing 2.5 and 5% gelatin along with 1000 ppm of the extract improved the quality and shelf life of fish fillets compared to other ones. The values of pH, TVB-N and TBA content, in coated samples were significantly lower than the control sample ( $p < 0.05$ ). The coating treatment containing 1000 ppm of the extract also showed a lower microbial load than other treatments ( $p < 0.05$ ). From a sensory point of view, the treatments containing chicken foot gelatin and walnut green skin extract had the highest score at the end of the storage period compared to the control sample ( $p < 0.05$ ). Furthermore, the highest score was obtained for the samples coated by 1000 ppm walnut green skin extract.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2021/ 12/ 14  
Accepted 2022/ 02/ 05

#### Keywords:

Edible coatings,  
Chicken feet gelatin,  
Green walnut husk extracted,  
Shelf life,  
Rainbow trout fillet.

DOI: 10.22034/FSCT.19.128.37  
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.128.9.4

\*Corresponding Author E-Mail:  
sedaghat@um.ac.ir