

اثر پوشش های آنتی میکروبی در افزایش ماندگاری ماهی قزل آلای رنگین کمان

سید مهدی اجاق^۱، مسعود رضائی^{۲*}، سید هادی رضوی^۳، سید محمد هاشم حسینی^۴

۱- دانشجوی دکتری شیلات، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

آدرس فعلی: استادیار گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی گرگان

۲- دانشیار دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۳- دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

۴- دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۱۲/۳/۸۸ تاریخ پذیرش: ۱/۶/۸۸)

چکیده

مطالعه حاضر جهت بررسی اثر پوشش های آنتی میکروبی بر ماندگاری فیله قزل آلای رنگین کمان انجام شد. این پوشش با افروzen اسانس دارچین در پوشش کیتوزانی تهیه شد. ماهی پوشش شده در یخچال ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) نگهداری شد و ارزیابی میکروبی فیله ماهی مشتمل بر شمارش باکتریایی کل، باکتری های سرما دوست، باکتری های اسید لاتکیک و ایترو باکتریها و اندازه گیری بازهای ازته فرار و pH انجام پذیرفت. همچنین ارزیابی حسی نمونه ها برای بافت، بو، رنگ و پذیرش کلی نمونه ها انجام شد. نتایج نشان داد که اسانس دارچین و پوشش کیتوزانی اثر سینزیستی قابل ملاحظه ای ($P < 0.05$) در کاهش شمارش باکتریایی کل، باکتری های سرما دوست، باکتری های اسید لاتکیک و ایترو باکترها داشتند. همچنین این دو ترکیب به طور معنی داری ($P < 0.05$) منجر به کاهش میزان بازهای ازته فرار در نمونه های پوشش دار شدند. بافت، بو، رنگ و پذیرش کلی تنها در نمونه های کنترل به شکل معنی داری ($P < 0.05$) کاهش یافت.

کلید واژگان: اسانس دارچین، پوشش کیتوزانی، فیله قزل آلای رنگین کمان، ماندگاری

۱- مقدمه

در مواد غذایی به ویژه به علل زیست سازگاری بالا و غیر سمی بودن، تجزیه زیستی و بی طعم بودن و غیره رو به افزایش می باشد [۱، ۶ و ۷]. از طرفی کیتوزان به دلیل خواص تشکیل فیلم قابلیت استفاده در بسته بندی مواد غذایی به ویژه به عنوان پوشش و فیلم خوراکی را دارد می باشد. برای فیلم ها و پوشش های کیتوزان تعدادی از خواص کاربردی شامل خواص آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، نفوذ ناپذیری

کیتوزان، به عنوان بیوپلیمری با کاربرد وسیع در صنایع غذایی شناخته شده است و فراوان ترین پلیمر طبیعی پس از سلولز است. کیتوزان از کیتین (موجود در اسکلت خارجی بندپایان مانند حشرات، خرچنگ ها، میگوها، لاسترها و دیواره سلولی نوع خاصی از جلبک ها)، تولید می شود [۱ و ۲]. اثرات ضد میکروبی، ضد سلطانی و کاهنده کلسترول کیتوزان به اثبات رسیده است [۳، ۴ و ۵]. استفاده از کیتوزان

* مسئول مکاتبات: rezai_ma@modares.ac.ir

دانشگاه تهران منتقل و اقدام به تهیه فیله گردید. پس از سر و دم زنی و تخلیه امعاء و احشاء و جدا سازی و پوست و استخوان از هر ماهی ۲ فیله در اندازه های 12×5 تهیه گردید.

۲-۱-۲ تهیه محلول پوششی از کیتوزان: در مطالعه حاضر از کیتوزان تجاری^۱ استفاده گردید. جهت تهیه محلول کیتوزان، ۲ گرم کیتوزان را در ۱۰۰ سی سی محلول اسید استیک ۱ درصد (حجمی/حجمی) حل نموده و جهت انحلال کامل و یکنواخت، محلول فوق در دمای اتاق و به مدت ۳ ساعت بر روی همزن مغناطیسی قرار داده شد. سپس گلیسروول به میزان ۷۵/۰ میلی لیتر به ازای هر گرم کیتوزان به عنوان پلاستی سایزر^۲ افزوده گردید و به مدت ۱۰ دقیقه به همزن مغناطیسی مخلوط گردید. در نهایت فیلتر کاغذی واتمن شماره ۳ برای حذف ناخالصی ها از محلول فوق استفاده گردید.

اسانس دارچین تجاری از شرکت زردبند (استخراج و فرآوری کننده مواد موثره گیاهان دارویی) تهیه گردید. اسانس با تؤین ۸۰، خریداری شده از شرکت مرک، جهت توزیع یکنواخت اسانس در محلول کیتوزان مخلوط گردید. در نهایت محلول پایانی تشکیل دهنده پوشش، شامل ۲ درصد کیتوزان، اسید استیک ۱ درصد، گلیسروول(۷۵/۰ درصد کیتوزان)، ۰/۲ درصد محلول تشکیل دهنده فیلم تؤین ۸۰ و اسانس دارچین به میزان ۱/۵ درصد به مدت ۳۰ دقیقه با همزن مغناطیسی مخلوط گردید. محلول کنترل با همین روش و بدون افزودن اسانس دارچین تهیه شد.

۲-۱-۳ ایجاد پوشش بر روی فیله ماهی: ابتدا فیله ها را به مدت ۳۰ ثانیه در محلول فرق غوطه ور نموده و سپس از محلول خارج نموده و پس از گذشت تقریباً ۲ دقیقه، مجدداً ۳۰ ثانیه دیگر در محلول تشکیل دهنده فیلم قرار گرفتند. نمونه های کنترل بدون پوشش باقی ماندند (برای هر تیمار از ۲۰ تکه فیله استفاده گردید). سپس فیله ها به مدت ۵ ساعت در 10°C در دمای محیط تا تشکیل پوشش بر روی فیلم ها باقی ماندند^[۷ و ۱۵]. سپس فیله ها به یخچال منتقل شده و در دمای $1^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$ به مدت ۱۶ روز نگهداری گردیده و در فواصل زمانی ۴ روز یکبار مورد ارزیابی میکروبی و شیمیایی قرار گرفتند.

در برابر عبور اکسیژن گزارش شده است [۱]. توانایی آنتی باکتریایی کیتوزان را به وجود بار مثبت مولکول های آن نسبت داده اند که درنتیجه برهم کنش با غشای سلول باکتری (که دارای بار منفی می باشد)، موجب خروج اجزا و ترکیبات ضروری سلول باکتری و در نهایت مرگ آن می شود^[۶]. غالب مطالعات مربوط خواص آنتی باکتریایی کیتوزان در محیط برون بدنی^۱ می باشد [۶] و تنها چند تحقیق راجع به اثر پوشش کیتوزانی بر روی ماهی و فرآورده های آن گزارش شده است [۷، ۸ و ۹] که آن هم شامل شمارش کلی باکتریایی می باشد. در ارزیابی کیفیت ماهی اندازه گیری تعداد باکتری های اسید لاکتیک، ایتروباکترها و باکتری های سرمادوست رابطه بهتری را با تازگی نسبت به شمارش باکتریایی کل نشان می دهنده^[۱۰]. اگر چه باکتریایی کیتوزان در Ouattara و همکاران، (۲۰۰۰) به کاهش خاصیت آنتی باکتریایی کیتوزان هنگام استفاده از آن به شکل پوشش و یا فیلم اشاره نمودند. اثرات آنتی باکتریایی ترکیبات گیاهی مانند اسانس ها و ادویه جات به اثبات رسیده است. به عنوان مثال مشخص شده که اسانس ریحان، زیره سیاه، میخک، دارچین، مرزنجوش، اکلیل کوهی و آویشن فعالیت ضد باکتریایی بالایی دارند^[۱۱]. به طور کلی فنول ها و ترپین ها عوامل اصلی اثرات ضد باکتریایی اسانس ها هستند. اسانس دارچین غنی از سینامالدھید و سایر ترکیبات فنولی است^[۱۲ و ۱۳]. اثرات آنتی باکتریایی سینامالدھید در مقابل انواع باکتری های گرم مثبت و منفی به اثبات رسیده است^[۱۳ و ۱۴]. همچنین ترکیبات آنتی میکروبی را می توان در ترکیب با پوشش ها و یا فیلم ها برای افزایش مدت تماس ماده نگهدارنده با محصول و افزایش ماندگاری آن استفاده نمود. لذا مطالعه حاضر ضمن ارزیابی باکتری های اسید لاکتیک، ایتروباکتریها و باکتری های سرمادوست فیله ماهی قزل آلا، اثر پوشش کیتوزانی غنی شده با اسانس دارچین و پوشش کیتوزانی را در افزایش ماندگاری فیله ماهی قزل آلا بررسی نموده است.

۲- مواد و روش کار

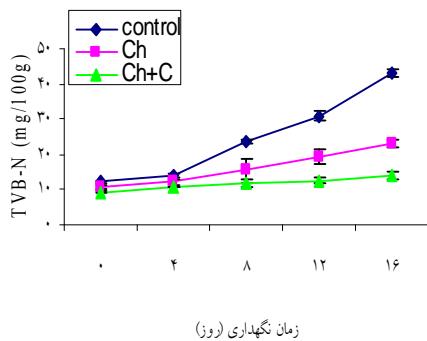
۲-۱- آماده سازی ماهی و تهیه تیمارهای مورد نیاز

۲-۱-۱- آماده سازی ماهی: ماهی قزل آلا رنگین کمان از محل فروش ماهی زنده قزل آلا با وزن متوسط ۵۰۰-۶۰۰ گرم و طول متوسط ۳۰-۳۵ سانتی متر، تهیه و بلافصله به آزمایشگاه صنایع غذایی

1. In vitro

۲-۵-اندازه گیری بازهای ازته فرار^۸

اندازه گیری بازهای ازته فرار به روش کلدال و با قرار دادن ۱۰ گرم نمونه بعلووه ۲ گرم اکسید منیزیم وافروden ۵۰۰ سی سی آب مقطر داخل بالن و در نهایت جمع آوری بازهای ازته فرار در داخل محلول شامل اسید بوریک ۲٪ و متیل رد به عنوان شاخص و تیتر محلول زرد رنگ حاصله با اسید سولفوریک تا حاصل شدن رنگ ارغوانی، انجام شد و به صورت میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه ماهی بیان شد.[۲۰].



شکل ۱ تغییر در میزان بازهای ازته فرار نمونه های ماهی در تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال.

تیمار پوشش با کیتوزان، Ch+C تیمار پوشش با کیتوزان+دارچین Ch

۶-۶-آنالیز حسی نمونه ها

ارزیابی نمونه ها توسط ۶ فرد که قبل از تست نمونه ها آموزش دیدند و با معیار ۵ امتیازی^۹ انجام پذیرفت(جدول ۵).

جدول ۵ مقیاس کیفی مورد استفاده در ارزیابی حسی نمونه های ماهی

		امتیاز				
		شاخص حسی				
		۵	۴	۳	۲	۱
soft و محکم						
کاملا مطلوب						
رنگ طبیعی						
کاملا مطلوب						
خیلی نرم						
کاملا نامطلوب						
کاملا بی رنگ						
کاملا نامطلوب						
بافت						
بو						
رنگ						
پذیرش کلی						

نقطه بحرانی مقبولیت هر یک از ویژگی ها ۴ در نظر گرفته شد و پایین تر از آن به معنای رد خصوصیات حسی مورد نظر بود [۱۵].

8. TVB-N
9. five point scale

۲-۲-آنالیز تقریبی نمونه ها

اندازه گیری رطوبت و خاکستریه ترتیب با قرار دادن نمونه ها در آون و کوره در دمای ۱۰۵ °C و ۵۵° و تا زمان ثابت شدن وزن انجام پذیرفت[۱۶]. میزان پروتئین و چربی نمونه به ترتیب با روش کلدال [۱۶] و Dyer و Bligh [۱۷] انجام شد.

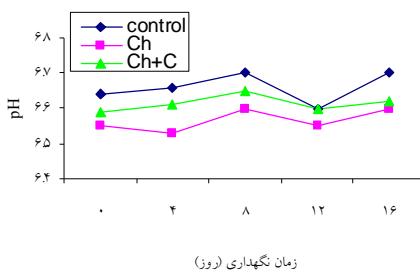
۳-۳-آنالیز میکروبی نمونه ها

برای شمارش باکتریایی نمونه ها، ابتدا ۱۰ گرم از نمونه گوشت در شرایط استریل با ۹۰ میلی لیتر محلول نمک طعام ۰/۸۵ درصد با کمک همزن هموژن شد. از این محلول جهت تهیه رقت های متالی و شمارش باکتریایی مورد نظر با قرار دادن در محیط کشت و دمای مخصوص هر باکتری استفاده گردید.

تعداد باکتری های کل^۱ و باکتری های سرما دوست^۲ در محیط پلیت کانت آگار^۳ به ترتیب در دماهای ۳۷ °C به مدت ۲ روز و ۱۰ °C به مدت ۷ روز با شمارش کلنی های موجود بر روی پلیت انجام گرفت. شمارش باکتری های اسید لاکتیک^۴ و ایترو باکتری ها^۵ در محیط بی هوازی و به ترتیب در محیط کشت های ام آر اس-آگار^۶ و وی آر بی جی-آگار^۷ در دماهای ۳۰ °C به مدت ۲ تا ۳ روز و به روش پور پلیت انجام پذیرفت. تمامی شمارش ها به صورت \log_{10} cfu/g گزارش گردید[۱۰، ۱۸ و ۱۹].

۴-۴-اندازه گیری pH

۵ گرم از نمونه ماهی هموژن شد و با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر محلول گردید و در نهایت pH نمونه با کمک دستگاه pH متر که در ۴ pH و ۷ استاندارد شده بود، اندازه گیری شد[۱۸].



شکل ۲ تغییر در میزان pH نمونه های ماهی در تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال.

تیمار پوشش با کیتوزان، Ch+C تیمار پوشش با کیتوزان+دارچین Ch

1. Total bacterial counts
2. Psychrophilic counts
3. Plate count agar
4. lactic acid bacteria
5. Enterobacteriaceae
6. MRS- agar
7. VRBG-agar

را به همراه داشته باشد [۱۰ و ۲۷]. همچنین این امر ممکن است رشد میکروبی را متاثر کند [۲۶].

۳-۲- نتایج آنالیز میکروبی

۳-۱- نتایج آنالیز میکروبی تعداد باکتری های کل در طی نگهداری در یخچال در جدول ۱ مشاهده می شود. اگرچه بار باکتریایی بسته به شرایط و دمای آب متغیر است، بر اساس مقالات مختلف، در مورد ماهیان آب شیرین (تیلاپیا، باس راه رام، قزل آلا و سوف نقره ای) بار باکتریایی ماهی تازه حدود 10^{2-10} CFU/g می باشد [۲۸ و ۲۹]. کیفیت اولیه ماهی مورد استفاده در مطالعه حاضر با توجه به بار باکتریایی اولیه پایین (کمتر از $\log_{10} \text{ CFU/g}$) قبل از تیماربندی ماهیان، مناسب بود. میزان بار باکتریایی کل ($\log_{10} \text{ CFU/g}$) از $3/51$ در نمونه های پوششی کیتوزان - اسانس دارچین تا $3/86$ در نمونه کنترل تغییر کرد (جدول ۱). افزایش بار باکتریایی کل در گوشت ماهی حین نگهداری ثابت شده است [۳۰ و ۳۱]. در مطالعه حاضر نیز بار باکتریایی با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت اما تا روز ۸ نگهداری بار باکتریایی کل، برای همه تیمارها کمتر از ۶ بود و در روز ۱۲ نگهداری این میزان در نمونه شاهد به $7/88$ و بالاتر از حد مجاز توصیه شده برای ماهی خام ($\log_{10} \text{ CFU/g}$) [۱۰] رسید، لذا یک دوره ماندگاری تقریبا $9-10$ روزه را با توجه به بار باکتریایی موجود برای ماهی مورد مطالعه می توان در نظر گرفت.

۳-۲- نتایج آنالیز میکروبی شمارش باکتری های سرما دوست در طی نگهداری در یخچال در جدول ۲ مشاهده می شود. باکتری های سرما دوست گرم منفی گروه اصلی میکرووارگانیزم های عامل فساد ماهی نگهداری شده در دماهای سرد هستند [۱۰ و ۳۲]. در مطالعه حاضر شمارش اولیه این باکتری ها (روز ۰) در فیله قزل آلا از $2/88$ تا $3/85$ به ترتیب در نمونه های پوششی کیتوزان - اسانس دارچین و شاهد تغییر کرد (جدول ۲).

۲- آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده های حاصله با نرم افزار SPSS انجام پذیرفت. به منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی به دست آمده آزمون میکروبی و آزمون شیمیایی، پس از کنترل نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون کولموگراف - اسمیرنوف از تجزیه واریانس دوطرفه در قالب طرح آماری فاکتوریل کاملا" تصادفی استفاده گردید. همچنین برای مقایسه میانگین ها در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی دار شناخته شد از آزمون دانکن استفاده گردید. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد H_0 درصد در نظر گرفته شد [۲۱].

همچنین به منظور بررسی اثر تیمارها بر خصوصیات حسی نمونه ها از آزمون "کوروسکال والیس" و آزمون من ویتنی یو "برای پیدا نمودن اختلاف معنی دار در بین نتایج حاصل از آزمون های حسی تیمارهای مورد آزمایش استفاده گردید [۲۲].

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج آنالیز تقریبی

نتایج آنالیز تقریبی ماهی مورد مطالعه برای رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر به ترتیب $69/70 \pm 2/13$ ، $23/21 \pm 0/36$ ، $2/2 \pm 0/37$ و $2/12 \pm 0/03$ مشاهده شد. آنالیز تقریبی قزل آلا در مطالعات مختلفی گزارش شده است [۲۴ و ۲۵]. به طوریکه هر یک از این محققین مقادیر متفاوتی را به ویژه در میزان چربی این ماهی گزارش نمودند. چنین اختلافاتی در ترکیبات شیمیایی گوشت ماهی می تواند به میزان زیادی با تغذیه، فصل صید (دوره زمانی تخم ریزی)، تفاوت جنسی، اندازه ماهی، محیط پرورش و شرایط محیطی مرتبط باشد [۲۶]. تفاوت در ترکیبات شیمیایی به ویژه میزان چربی، به دلایل اشاره شده در فوق می تواند تغییراتی را در ویژگی های حسی مانند طعم، بو، بافت، رنگ و مشخصات ظاهری که تعیین کننده میزان مقبولیت ماهی هستند

جدول ۱ تغییر در شمارش باکتریایی کل تیمارهای مختلف طی زمان نگهداری در یخچال.

زمان نگهداری (روز)						تیمار
۱۶	۱۲	۸	۴	۰	شاهد	
$8/61 \pm 0/05^a$	$7/88 \pm 0/15^a$	$5/68 \pm 0/61^a$	$4/48 \pm 0/25^a$	$3/86 \pm 0/15^a$		
$4/85 \pm 0/21^b$	$4/69 \pm 0/38^b$	$4/78 \pm 0/33^b$	$4/02 \pm 0/4^b$	$3/92 \pm 0/07^a$	پوشش کیتوزان	
$4/12 \pm 0/42^a$	$4/16 \pm 0/38^b$	$3/91 \pm 0/11^c$	$3/78 \pm 0/11^b$	$3/51 \pm 0/45^a$	پوشش ک-د*	

*کیتوزان-دارچین

^{a,b,c} حروف کوچک در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$

جدول ۲ تغییر در تعداد باکتریایی سرما دوست تیمارهای مختلف طی زمان نگهداری در یخچال.

زمان نگهداری (روز)						تیمار
۱۶	۱۲	۸	۴	۰		
۸/۴۳±۱/۳۲ ^a	۸/۲۹±۰/۳۸ ^a	۶/۵۷±۰/۲۵ ^a	۵/۳۷±۰/۴۶ ^a	۳/۸۵±۰/۱۳ ^a	شاهد	
۶/۷۹±۰/۶۱ ^a	۵/۵۹±۰/۳۱ ^b	۴/۵۹±۱/۳۸ ^b	۳/۵۳±۰/۴۹ ^b	۳/۲۳±۰/۲۰ ^b	پوشش کیتوزان	
۶/۶۸±۰/۳۷ ^a	۴/۴۶±۰/۴۵ ^c	۴/۲۰±۰/۱۸ ^b	۳/۲۳±۰/۴۱ ^b	۲/۸۸±۰/۱۶ ^c	پوشش ک-د*	

*کیتوزان-دارچین

^{a,b,c} حروف کوچک در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$

گزارشات که حساسیت بالای باکتری های گرم مثبت در برابر اسانس های مختلف و ترکیبات فعالشان اشاره نمودند، مورد تایید قرار می گیرد [۱۳، ۱۴، ۳۳ و ۳۴]. این محققین عدم وجود دیواره پلی ساکاریدی در باکتری های گرم مثبت را عامل این حساسیت گزارش کرده اند. وجود این دیواره در باکتری های گرم منفی از ورود ترکیبات فعال اسانس ها به داخل سلول جلوگیری می کند.

۴-۲-۳- ایترو باکتری ها نیز گروه دیگر باکتری ها بودند که در فساد فیله قزل آلا در طی نگهداری در یخچال دخالت داشتند (جدول ۴). این نتایج در توافق با نتایج گزارش شده در مورد گونه های دیگر ماهیان مانند، سالمون اطلسی [۳۵]، سی باس [۳۶]، قزل آلا رنگین کمان [۳۷]، اختاپوس [۳۸] و نیز تکه های گوشت سالمون [۱۰] است که ایترو باکتری ها به عنوان بخش مهمی از فلور میکروبی در مراحل پایانی نگهداری محصول در یخچال شناسایی شدند. رشد ایترو باکتری ها کمتر از گروه دیگر باکتری ها بود (به استثنای روز ۱۶) به طوریکه در نمونه شاهد از $۰/۰۵۳$ \log_{10} CFU/g تا $۰/۰۴۹$ \log_{10} CFU/g در پایان زمان نگهداری تغییر کرد و این میزان در نمونه های پوششی با کیتوزان و کیتوزان-دارچین به ترتیب تا $۰/۰۳۲$ و $۰/۰۱۲$ ر رسید (جدول ۴).

جدول ۳ تغییر در تعداد باکتریایی اسید لاتکتیک تیمارهای مختلف طی زمان نگهداری در یخچال.

زمان نگهداری (روز)						تیمار
۱۶	۱۲	۸	۴	۰		
۴/۱۹±۰/۲۷ ^a	۲/۱۰±۱/۸۲ ^a	۳/۸۴±۰/۱۵ ^a	۲/۱۲±۰/۱۵ ^a	۰/۹۲±۰/۲۰ ^a	شاهد	
۲/۰۳±۲/۲۰ ^a	۲/۰۳±۲/۲۵ ^a	۳/۸۹±۰/۱۱ ^a	۳/۰۰±۰/۴۱ ^a	۰/۴۴±۰/۴۲ ^a	پوشش کیتوزان	
۲/۲۶±۱/۹۶ ^b	۱/۲۳±۲/۱۳ ^b	۱/۲۰±۲/۰۷ ^b	۱/۰۱±۱/۷۵ ^b	۰/۰۳±۰/۳۵ ^b	پوشش ک-د*	

*کیتوزان-دارچین

^{a,b,c} حروف کوچک در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$

جدول ۴ تغییر در تعداد اینتروباکترها تیمارهای مختلف طی زمان نگهداری در یخچال.

تیمار	زمان نگهداری (روز)	۰	۴	۸	۱۲	۱۶
شاهد	0.053 ± 0.020^a	2.39 ± 2.07^a	2.03 ± 2.20^a	2.67 ± 2.31^a	4.69 ± 0.18^a	4.69 ± 0.18^a
پوشش کیتوزان	0.054 ± 0.027^b	1.06 ± 1.56^b	1.01 ± 1.75^b	1.23 ± 2.13^b	3.21 ± 0.61^a	3.21 ± 0.61^a
پوشش ک-د*	0.059 ± 0.11^b	0.056 ± 0.051^b	0.05 ± 0.07^b	0.05 ± 0.07^b	1.05 ± 0.92^b	1.12 ± 0.97^b

*کیتوزان-دارچین

^{a,b,c} حروف کوچک در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$

دیگری مانند لینالول¹ و اوجنول² غیره نیز شناسایی شده‌اند. در Ouattara و همکاران (۲۰۰۰)، فیلم کیتوزانی حاوی اسید مطالعه و پروپیونیک، سینامالدھید و اسید لوریک موجب افزایش ماندگاری فرآورده‌های گوشتی از طریق بازداشت فعالیت اینتروباکترها و *S. liquefaciens* گردید. سینامالدھید دارای خواص آنتی‌باکتریایی می‌باشد و احتمالاً از طریق اتصال گروه کربونیل با پروتئین‌ها عمل می‌کند و جلوی فعالیت آمینو اسید دکربوکسیلاز را می‌گیرد. مکانیزم عمل ترکیبات فنولی به این صورت است که غشای دو لایه فسفولیپیدی سلول را حساس نموده و موجب افزایش نفوذپذیری و نشت اجزای ضروری داخل سلولی (مانند آهن، ATP اسیدهای نوکلئیک و اسیدهای آمینه) می‌شوند همچنین ممکن است به سیستم آنزیمی باکتری‌ها آسیب رسانده و موجب مرگ باکتری شوند [۱۴ و ۴۰].

۳-۳- بازهای ازته فرار

شکل ۱ مقادیر بازهای ازته فرار را برای تیمارهای مختلف در طی زمان نشان می‌دهد. مقادیر اولیه بازهای ازته فرار به ترتیب از ۹/۳۳ تا ۱۲/۱۳ (میلی گرم در صد گرم گوشت) در نمونه‌های پوششی کیتوزان-دارچین تغییر کرد. مقادیر بازهای ازته فرار نمونه‌های کنترل و پوششی به شکل معنی داری ($p < 0.05$) با زمان نگهداری افزایش یافت و در پایان زمان نگهداری (روز ۱۶) نمونه‌های پوششی با کیتوزان-اسانس دارچین به شکل معنی داری ($p < 0.05$) میزان بازهای ازته فرار کمتری ۱۴/۲۳ در مقایسه با نمونه‌های پوششی با کیتوزان و شاهد به ترتیب با مقادیر ۲۲/۸۶ و ۴۲/۹۳ نشان دادند (شکل ۱). بالاترین سطح قابل قبول بازهای ازته فرار در گوشت ماهی را ۲۵ میلی گرم نیتروژن به ازای ۱۰۰ گرم پیشنهاد نموده اند [۱۱]. در مطالعه حاضر این مقدار در نمونه‌های پوشش در کل دوره نگهداری همواره کمتر از مقدار ذکر شده بود، در حالیکه محدودیت پذیرش بعد از روز ۱۲ در تیمار شاهد مشاهده شد. از آنجائیکه بازهای ازته فرار

اگر چه اینتروباکترها رشد در دمای‌های پایین را دارند، تکثیر آنها در طی نگهداری در یخچال، کند می‌شود زیرا سرعت رشدشان از دیگر باکتری‌های گرم منفی سرما دوست کمتر است [۳۶ و ۳۷]. در مقالات مختلف به خواص آنتی‌باکتریایی پوشش‌های کیتوزانی اشاره شده است [۷، ۸ و ۹]. Jeon و همکاران (۲۰۰۲) مشاهده کردند که تعداد کل باکتری‌های سرما دوست در ماهی کاد پوشش شده با کیتوزان کمتر از $6 \log_{10} \text{CFU/g}$ در کل دوره نگهداری (۱۲ روز) بود، در حالیکه در نمونه‌های بدون پوشش مطالعه حاضر این میزان در روز ۶ از این میزان تجاوز نمود. Tsai و همکاران (۲۰۰۲) نیز گزارش نمودند که در فیله‌های ماهی قزل آلای گوژپشت تیمار شده با محلول ۱ درصد کیتوزان به مدت ۳ ساعت، از میزان افزایش انواع باکتری‌ها مورد مطالعه کاسته شد. López-Caballero و همکاران (۲۰۰۵) اثر بازدارندگی پوشش‌ترکیبی کیتوزان-ژلاتین را بر فلور باکتریایی گرم منفی کلوچه ماهی کاد گزارش نمودند.

فاکتورهای متعددی بر فعالیت آنتی‌باکتریایی کیتوزان اثر گذار هستند [۴] و مکانیزم آن ظاهراً با برهم کنش بار مثبت مولکول‌های کیتوزان و بار منفی غشای سلول باکتری‌ها مرتبط است [۶] که در نهایت منجر به گسیختگی غشای سلول باکتری و خروج مواد ضروری سلول و در نهایت مرگ آن می‌شود و یا به دلیل عملکرد نفوذ ناپذیری آن در برابر اکسیژن مرتبط است [۷].

از طرفی در مطالعه حاضر مشاهده شد که به طور کلی نمونه‌های پوششی با کیتوزان-اسانس دارچین شمارش باکتریایی کمتری نسبت به نمونه‌های پوششی با کیتوزان داشتند و اثر بازدارندگی بهتری را نشان دادند (جدول ۱-۴). اثر آنتی‌باکتریایی بالاتر تیمار حاوی اسانس دارچین مورد انتظار نیز بود. چرا که مطالعه مقدماتی تحقیق حاضر اثر آنتی‌باکتریایی بالای اسانس دارچین را در برابر ۵ باکتری گرم مثبت و GC-Mass منفی تایید نمود. از طرفی داده‌های حاصل از آنالیز اسانس دارچین در مطالعه حاضر و سایر محققین نشان داد که ترانس سینامالدھید فراوان ترین ترکیب اسانس دارچین است، ترکیبی که اثر آنتی‌باکتریایی بالایی دارد [۱۳ و ۱۴]. اگر چه ترکیبات فنولی مهم

1. linalool
2. Eugenol

در نمونه های کترول، و نمونه های پوششی با کیتوزان و کیتوزان-اسانس دارچین تغییر نمود. میزان pH عضله ماهی زنده نزدیک ۷ است. در هر حال pH ماهی پس از مرگ بر اساس فصل، گونه و فاکتور های دیگر از ۶-۷ تغییر میکند [۱۹، ۴۲ و ۴۳]. همچنین افزایش pH را با گذشت زمان نگهداری می توان به تولید ترکیبات فرار (مانند آمونیاک و تری متیل آمین) حاصل از فعالیت باکتری های فاسد کننده ماهی نیز نسبت داد [۴۴ و ۴۵].

۳-۵- ارزیابی حسی نمونه ها

نتایج ارزیابی حسی نمونه ها در جدول ۶ مشاهده می شود. نمونه های ماهی تا زمانی برای مصارف انسانی مناسب هستند که امتیاز حسی از ۴ کمتر نشده باشد [۳۱]. امتیاز بافت، بو، رنگ و مقبولیت کلی نمونه کترول در روز ۸ نگهداری به کمتر از ۴ (عدم مقبولیت) رسید. نتایج ارزیابی حسی نمونه ها با نتایج حاصل از آزمایشات میکروبی منطبق بود. به دلیل اکسیداسیون بالای چربی و رشد میکروب ها، فیله ماهی در نمونه شاهد نشانه های فساد را به صورت بوی بد، لزجی شدن بافت و تغییر رنگ پس از روز ۸ نگهداری نشان داد. اثرات آنتی اکسیدانی، آنتی میکروبی پوشش کیتوزانی ماندگاری فیله ماهی قزل آلا را همراه با حفظ کیفیت آن افزایش داد. همچنین افزودن اسانس دارچین به پوشش کیتوزانی باعث پایدار ماندن ویژگی های حسی نمونه مانند رنگ و مقبولیت کلی آن ($p < 0.05$) در روز پایانی گشت.

عمدتاً در نتیجه تجزیه (فساد) باکتریایی گوشت ماهی ایجاد می شود، مقادیر بالای شمارش باکتریایی کل در نمونه های شاهد نسبت به نمونه های پوششی پس از روز ۱۲ می تواند با مقادیر بالای بازهای ازته فرار نمونه شاهد از روز ۱۲ به بعد مرتبط باشد. Jeon و همکاران (۲۰۰۲) به ترتیب کاهش ۳۰-۵۰ و ۲۶-۵۱ درصدی بازهای ازته فرار را در انتهای دوره نگهداری (۱۲ روز) در ماهی کاد و هرینگ پوششی با کیتوزان مشاهده کردند. Tsai و همکاران (۲۰۰۲) مشاهده نمودند که تیمار با محلول ۱ درصدی کیتوزان به مدت ۳ ساعت تشکیل بازهای ازته فرار فیله ماهی قزل آلا گوژ پشت را کاهش داد. L'opez-Caballero ترکیبی کیتوزان - ژلاتین را در کم کردن میزان بازهای ازته فرار و متعاقباً فساد را گزارش نمودند. در مطالعه حاضر، همچنین مشاهده شد که بازهای ازته فرار در نمونه های پوششی با کیتوزان - دارچین در مقایسه با نمونه های پوششی کیتوزان به شکل معنی داری ($p < 0.05$) کمتر است. شاید این موضوع را بتوان به کاهش جمعیت باکتری ها و یا کاهش توانایی اکسایشی آنها در جدا کردن آمین ها از ترکیبات نیتروژنی غیر فرار و یا هر دو عامل [۳۱] در نتیجه اثر اسانس دارچین بر باکتری های موجود در فیله نسبت داد.

pH-۴-۳

شکل ۲ مقادیر pH را در تیمارهای مختلف در طی زمان نشان می دهد. مقادیر pH به ترتیب از ۶/۶۴، ۶/۵۹ و ۶/۶۲ تا ۶/۷ و ۶/۶ تراویح می شوند.

جدول ۶ امتیاز ارزیابی حسی در تیمارهای مختلف فیله ماهی قزل آلا رنگین کمان در طی زمان نگهداری در یخچال.

زمان نگهداری (روز)						شاخص حسی	تیمار					
بافت	شاهد	کیتوزان	ک+د*	بو	شاهد	کیتوزان	ک+د	رنگ	پذیرش کلی	شاهد	کیتوزان	ک+د
۱۶	۱۲	۸	۴	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱±۰/۰۰ cB bA _۶	۱±۰/۰۰ cB	۳±۰/۰۰ bB	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۱۶±۰/۱۶	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۱۶±۰/۱۶	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA				
۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA
۱±۰/۰۰ cB	۱±۰/۰۰ cB	۲/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA				
۴/۱۶±۰/۱۶	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۱±۰/۰۰ cB bA _۶	۱±۰/۰۰ cB	۲/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA				
۴/۱۶±۰/۱۶	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۱±۰/۰۰ cB bA _۶	۱±۰/۰۰ cB	۲/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۱۶±۰/۱۶	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۱±۰/۰۰ cB bA _۶	۱±۰/۰۰ cB	۲/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۱۶±۰/۱۶	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۱±۰/۰۰ cB bA _۶	۱±۰/۰۰ cB	۲/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۱۶±۰/۱۶	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۱±۰/۰۰ cB bA _۶	۱±۰/۰۰ cB	۲/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۱۶±۰/۱۶	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۱±۰/۰۰ cB bA _۶	۱±۰/۰۰ cB	۲/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۱۶±۰/۱۶	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۱±۰/۰۰ cB bA _۶	۱±۰/۰۰ cB	۲/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۱۶±۰/۱۶	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۱±۰/۰۰ cB bA _۶	۱±۰/۰۰ cB	۲/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۱۶±۰/۱۶	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۱±۰/۰۰ cB bA _۶	۱±۰/۰۰ cB	۲/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۱۶±۰/۱۶	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۸±۰/۱۶ aA	۵±۰/۰۰ aA	۵±۰/۰۰ aA	۴/۳۳±۰/۲۱ aA	۴/۵±۰/۳۴ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ BB	۴/۸±۰/۱۶ aA	۴/۶۶±۰/۲۱ aA
۴/۸±۰/۱۶												

and Chitosan from Different Treatments and Applications of Fish Preservation, *Fish Sci.* 68, 170–177.

[9] L'opez-Caballero, M.E., G'omez-Guill'en, M.C., P'rez-Mateos, M., & Montero, P. (2005). A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties, *Food Hydrocolloids* 19, 303–11.

[10] 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.

[11] Zivanovic, S., Chi, S., & Draughon, A. E., (2005). Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils, *J. Food Sci.* 70(1), 45-51.

[12] Ranasinghe L., Jayawardena B., & Abeywickrama K. (2002). Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M.Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana, *Letters in Applied Microbiology*, 35, 208–211.

[13] Shan, B., Cai, Y. Brooks, J. D., & Corke, H. (2007). Antibacterial Properties and Major Bioactive Components of Cinnamon Stick (*Cinnamomum burmannii*): Activity against Foodborne Pathogenic Bacteria. *J. Agric. Food Chem.*, 55 (14), 5484-5490.

[14] Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.-P., & Be'gin, A., (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology* 37, 155–162.

[15] Yingyuad, S., Ruamsin, S., Reekprkhon, D., Douglas, S., Pongamphai S., & Siripatrawan U. (2006). Effect of chitosan coating and vacuum packaging on the quality of refrigerated grilled pork, *Packag. Technol. Sci.* 19, 149–157.

[16] AOAC (1984). *Official Methods of Analysis*, 14th edn. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

[17] Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification, *Canadian Journal of Biochemistry Physiology*, 37, 911–917.

[18] Hernández, M.D., López, M.B., Álvarez, A., Ferrandini, E., García García, B., & Garrido, M.D. (2009). Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage, *Food Chemistry* 114, 237–245.

۴- نتیجه گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، استفاده از پوشش های کیتوزانی همراه با ترکیبات آنتی باکتریایی طبیعی مانند اسانس دارچین قادر هستند از شدت فعالیت باکتری های موجود بر سطح گوشت ماهی کاسته و موجب افزایش ماندگاری ماهی گردند به طوریکه مقایسه تیمار شاهد با تیمارهای پوششی نشان داد که ماندگاری نمونه شاهد حداقل ۱۲ روز بود در حالیکه در تیمارهای دیگر ماندگاری نمونه ها تا روز ۱۶ نیز به خوبی ادامه یافت این نتایج با ارزیابی حسی نمونه ها در طی زمان نگهداری مرتبط بود.

۵- منابع

- [1] Sathivel, S., Liu, Q., Huang J., & Prinyawiwatkul, W. (2007). The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage, *Journal of Food Engineering*, 83, 366–373.
- [2] Shahidi, F., Arachchi J.K.V., & Jeon, Y.J. (1999). Food applications of chitin and chitosans, *Trends Food Sci. Technol.*, 10, 37–51.
- [3] No, H.K., Kim SH., Lee SH., Park N.Y., & Prinyawiwatkul W. (2006). Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time, *carbohydrate polymers*, 65, 174–178.
- [4] No, H.K., Lee, S.H., Park, N.Y., & Meyers, S.P. (2003) Comparison of Physicochemical, Binding, and Antibacterial Properties of Chitosans Prepared without and with Deproteinization Process. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 7659-7663.
- [5] Sagoo, S., Board, R., & Roller, S. (2002). Chitosan inhibits growth of spoilage micro-organisms in chilled pork products, *Food Microbiol.*, 19, 175–182.
- [6] No, H.K., Meyers, S.P., Prinyawiwatkul, W. & Xu, Z. (2007). Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review, *Journal of Food Science*, 72, (5), 87-100.
- [7] Jeon, Y.-I., Kamil, J. Y. V. A., & 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.
- [8] Tsai, G.J., Su, W.H., Chen, H.C., & Pan, C.L. (2002). Antimicrobial Activity of Shrimp Chitin

- [29]Savvaïdis, I.N., Skandamis, P.N., Riganakos, K.A., Panagiotakis, N., & Kontominas, M.G. (2002). Control of natural microbial flora and *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged trout at 4 and 10°C using irradiation, *J. Food Prot.* 65, 515–522.
Sci. Technol., 30,(4),817–22.
- [30]Lyon, W. J., & Redmann, C. S. (2000). Bacteria associated with processed crawfish and potential toxin production by *Clostridium botulinum* type E in vacuum packaged and aerobically packaged crawfish tails, *Journal of Food Protection*, 63(12), 1687–1696.
- [31]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, 148–153.
- [32]Gram, L., & Huss, H. H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products, *International Journal of Food Microbiology*, 33, 121–137.
- [32]Smith-Palmer, A., Stewart, J. & Fyfe, L. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens, *Letters in Applied Microbiology* 26, 118–122.
- [34]Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., & Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli O157:H7*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*, *Food Control*, 18, 414–420.
- [35]Amanatidou, A., Schluter, O., Lemkau, K., Gorris, L. G. M., Smid, E. J., & Knorr, D. (2000). Effect of combined application of high pressure treatment and modified atmospheres on the shelf life of fresh Atlantic salmon, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1, 87–98.
- [36]Papadopoulos, V., Chouliara, I., Badeka, A., Savvaïdis, I. N., & Kontominas, M. G. (2003). Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Food Microbiology*, 20, 411–420.
- [37]Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaïdis, I.N., & Kontominas, M.G. (2004). Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout, *Food Microbiology* 21, 157–165.
- [38]Vaz-Pires, P., & Barbosa, A. (2004). Sensory, microbiological, physical and nutritional properties of iced whole common octopus [19]Arashisara, S., Hisara, O., Kayab, M., & Yanik, T. (2004). Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets, *International Journal of Food Microbiology* 97, 209– 214.
- [20]Goulas, A. E., & Kontominas, M. G. (2005). Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 93, 511–520.
- [21]Zar, J. H. (1999). *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall International, Inc, 660pp.
- [22]Wheater, C. P., & Cook, P. A. (2002). *Using Statistics to Understand the Environment*. Routledge Publication, 245pp.
- [23]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, 77–85.
- [24]Chen, Y.-C. Nguyen, J., Semmens, K., Beamer, S., & Jaczynski, J (2008). Chemical changes in omega-3-enhanced farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during abusive-temperature storage, *Food Control* 19, 599–608.
- [25]Choubert, G., & Baccaunaud, M. (2006). Colour changes of fillets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) fed astaxanthin or canthaxanthin during storage under controlled or modified atmosphere, *LWT* 39, 1203–1213.
- [26]Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sánchez, M. E., & Robles-Burgueno, M. R. (2000). Post-mortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0 °C, *Journal of Food Science*, 65, 40–47.
- [27]González-Fandos, E., García-Linares, M. C., Villarino-Rodríguez, A., García-Arias, M. T., & García-Fernández, M. C. (2004). Evaluation of the microbiological safety and sensory quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) processed by the sous vide method, *Food Microbiology* 2, 193–201.
- [28]Gelman, A., Glatman, L., Drabkin, V., & Harpaz, S. (2001). Effects of storage temperature and preservative treatment on shelf life of the pond-raised freshwater fish, silver perch (*Bidyanus bidyanus*), *J. Food Prot.* 64, 1584–1591.

- [42]Simeonidou, S., Govaris, A., & Vareltzis, K. (1998). Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice. *Food Res. Int.* 30, 479–484.
- [43]Rodriguez, C.J., Besteiro, I., & Pascual, C. (1999). Biochemical changes in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *J. Sci. Food Agric.* 79, 1473–1480.
- [44]Hyytia, E., Hielm, S., Mokkila, M., Kinnunen, A., & Korkeala, H. (1999). Predicted and observed growth and toxigenesis by *Clostridium botulinum* type E in vacuum-packaged fishery products challenge tests. *International Journal of Food Microbiology*, 47, 161–169.
- [45]Ruiz-Capillas, C., & Moral, A. (2001). Residual effect of CO₂ on hake (*Merluccius merluccius* L.) stored in modified and controlled atmospheres. *European Food Research and Technology*, 212, 413–420.
- (*Octopus vulgaris*). *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie/LWT-Food Science and Technology*, 37, 105–114.
- [39]Ouattara, B., Simard, R.E., Plette, J.-P.G., Be'gin, & A., Holley, R.A.(2000). Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *Int. J. Food Microbiol.* 62, 139-148.
- [40]Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology* 94, 223– 253.
- [41]Gimenez, B., Roncales, P., & Beltran, J.A.(2002). Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *J. Sci. Food Agric.* 84, 1154–1159.

Effect of antimicrobial coating on shelf-life extension of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Ojagh, S. M. ¹, Rezaei, M. ^{2*}, Razavi, S. H. ³, Hosseini, S. M. H. ⁴

1- Ph. D. Student, Dept. of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.
Present address: Dept. of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

2- Associate prof., Dept. of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran.

3- Associate prof., Dept. of Food Science and Engineering, Collage of Agriculture, University of Tehran.

4- Ph. D. Student, Dept. of Food Science and Engineering, Collage of Agriculture, University of Tehran.

(Received: 88/3/12 Accepted: 88/6/1)

The present study was conducted to evaluate the effect of antimicrobial coating on the shelf-life of trout fillet. Antimicrobial coatings were obtained by incorporating cinnamon oil in coating formulations prepared from chitosan. Coated fish were stored at refrigerated ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) and were periodically evaluated for Total viable counts, psychrophilic counts, lactic acid bacteria and Enterobacteriaceae as well as total volatile basic-nitrogen(TVB-N) and pH. Sensory evaluations were performed for Texture, odor, color, overall acceptability. Results showed that cinnamon oil and chitosan coating had synergistic effects ($P < 0.05$) in reducing the Total viable counts, psychrophilic counts, lactic acid bacteria and Enterobacteriaceae. Chitosan coated enriched with cinnamon significantly ($P < 0.05$) reduced chemical spoilage as reflected in TVB-N .Texture, odor, color, overall acceptability significantly ($P < 0.05$) changed only for the control samples.

Keywords: chitosan coating, cinnamon oil, rainbow trout fillet, shelf life

* Corresponding Author E-Mail Address: rezai_ma@modares.ac.ir