اثر پوشش خوراکی ژلاتینی حاوی اسانس جلبک *دونالیلاسالینا* (*Dunaliella salina*) بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی و میکروبی برگر ماهی قزل آلای رنگین کمان در دمای یخچالی

یاسمن هزاوه یی ها[1]، پیمان مهستی شتربانی[2*]، ژاله خوشخو[3]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشیار و عضو هیات علمی،گروه کنترل کیفی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده علوم و فناوری های پزشکی، واحدعلوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- دانشیار و عضو هیات علمی، گروه صنایع غذایی، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۰۴)

چکیده

استفاده از پوشش هایی با منبع طبیعی همراه با مواد نگهدارنده طبیعی به یکی از روشهای نوین بسته بندی مواد غذایی تبدیل شده است. به این منظور استفاده از نگهدارنده های طبیعی برای به تاخیر افتادن فساد و افزایش عمر محصولات غذایی فسادپذیر از جمله فراورده های دریایی مانند برگر ماهی مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این تحقیق، مطالعه تاثیر پوشش خوراکی ژلاتینی حاوی اسانس جلبک *Dunaliellasalina* بر ویژگیهای میکروبی، فیزیکوشیمیایی و حسی برگر ماهی قزل آلای رنگین کمان در طی ۱۴ روز نگهداری در شرایط یخچالی بود. در این پژوهش، اثر پوشش ژلاتینی ۲ درصد حاوی غلظتهای مختلف اسانس جلبک *دونالیلاسالینا*(۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ درصد) و شاخص های فیزیکوشیمیایی شامل(TBA, pH, PV,TVB-N)، پارامترهای میکروبی(شمار شکلی باکتریها، شمارش باکتریهای سرماگرا) وخصوصیاتحسیدر طی زمان نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس نتایج، اثر ترکیبی پوشش ژلاتینی و اسانس جلبک در بهبود پارامترهای فیزیکوشیمیایی و میکروبی، در برگر ماهی های تیمار شده به طور معنی داری بیشتر از نمونه های شاهد بود ($p<0.05$) و این پوشش ضد میکروبی باعث کاهش روند فساد باکتریایی و افزایش زمان ماندگاری برگر ماهی قزل آلای رنگین کمان در طی نگهداری در شرایط یخچالی شده است. به طور کلی نتایج نشان داد که پوشش ژلاتینی حاوی ۰/۹ درصد اسانس جلیک توانسته زمان ماندگاری برگر ماهی قزل آلا را در مقایسه با تیمار شاهد به شکل معنی داری افزایش دهد ($p< 0.05$).

کلید واژگان: پوشش خوراکی ژلاتینی، اسانس جلبک *دونالیلاسالینا*، برگر ماهی قزل آلای رنگین کمان، زمان ماندگاری.

* مسئول مکاتبات: fh.health95@gmail.com

۱- مقدمه

امروزه تمایل به حداقل رساندن پروسه مواد غذائی، نگهداری طولانی مدت مواد غذائی و همچنین ممانعت از شیوع بیماریهای ناشی از غذا باعث گردیده است که استفاده از مواد ضدمیکروبی و نگهدارنده های طبیعی در محصولات غذائی توسعه زیادی پیدا کند[۱]. از مواد غذایی فساد پذیر میتوان به ماهی اشاره کرد و با توجه به اینکه ماهی دارای ارزش غذایی بالایی است باید تدابیری برای افزایش زمان ماندگاری آن در نظر گرفت. گوشت ماهیها غنی از اسیدهای چرب اشباع نشده ای هست که وجودشان در غذای ایده آل ضروری میباشد[۲]. چربی ماهیان به دلیل داشتن مقدار قابل توجهی اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه در مقابل اکسیداسیون بسیار حساس و آسیب پذیر میباشد. این امر سبب ایجاد بو و طعم نامطلوب، تغییررنگ، تغییر بافت، کاهش ظرفیت نگهداری آب، کاهش ارزش غذایی و تولید ترکیباتی که احتمالا سمی میباشند، میشود [۳]. برگر ماهی عبارت است از مخلوط گوشت چرخ شده ی گونه آبزی، طعم دهنده ها، سبزیجات و ادویه جات که خمیر فرآوری شده و قالبگیری شده که به صورت منجمد به بازار عرضه میگردد[٤]. از طرف دیگر اسانسهای گیاهی که به عنوان ترکیبات GRAS[1]شناخته میشوند، به طورگسترده ای در صنایع غذایی استفاده شده و دارای خاصیت ضدمیکروبی برطیف وسیعی از میکروارگانیسم ها میباشند[۵]. از جمله اسانس های گیاهی می توان از جلبک *دونالیلا سالینا* نام برد که این جلبک ابتدا در سال ۱۸۳۸ در ساحل اقیانوس اطلس فرانسه توسط (Dunal) کشف شد، پس از آن توسط تئودورسکو در سال ۱۹۰۵ شناسایی شد، و آنرا دونال نامید. *دونالیلاسالینا* درگستره وسیعی از زیستگاههای دریایی از قبیل اقیانوسها، دریاچه های آب شور، مرداب نمکی، لاگونهای نمکی و آبگیرهایی که حاوی بیشتر از ۲ مولار نمک باشند، وجود دارند[٦]. جلبک دونالیلا از جمله جلبکهای ریز دریایی است که توانایی تولید رنگدانه های طبیعی با خاصیت آنتی اکسیدانی قوی است و به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی که این رنگدانه دارد، از آن در تهیه مکمل های غذایی و مواد دارویی استفاده میشود جلبک دونالیلاسالینا در شرایط معمولی سبز رنگ است و شامل حدود ۳ درصد بتاکاروتن میباشد. بتاکاروتن حاصل از *دونالیلاسالینا*تا ۱۰ برابر بیشتر از بتاکاروتن معمولی در مقابل سرطان موثر است. این ماده میتواند مقدار رادیکالهای آزادی را که در بدن میتواند ماده ژنیتیکی سلولها (یا همان DNA) را تخریب کنند، کمک کند[۷].

امروزه در راستای حذف و یا کاهش ترکیبات شیمیایی و سنتزی در مواد غذایی، تحقیقات زیادی برای جایگزینی مواد شیمیایی با طبیعی انجام شده است. در همین زمینه تلاش های زیادی برای یافتن آنتی اکسیدانهای طبیعی از منابع گیاهی صورت گرفته است[۸]، در تحقیق اجاق و همکاران (۱۳۹٦)، به بررسی مقایسه ای اثر پوشش ژلاتین غنی شده با اسانس پونه کوهی بر کیفیت میکروبی فیله ماهی قزل آلا رنگین کمان نگهداری شده در شرایط سرد پرداختند و نتیجه گرفتند که اسانس پونه کوهی میتواند مدت ماندگاری ماهی مورد آزمایش را افزایش دهد[۹]. باباخانیلشکان(۱۳۹۲) که به بررسی عصاره جلبک قهوه ای سارگوم به منزله آنتی اکسیدانی در نگهداری گوشت چرخ شده ماهی کیلکا معمولی در یخچال پرداختند. براساس نتایج این پژوهش عصاره ی جلبک قهوه ای سارگوم دارای خواص آنتی اکسیدانی است[۱۰]. از اینرو هدف از این پژوهش این است که بتوانیم با کمک پوششی با منشا طبیعی حاوی اسانس به حفظ ویژگیهای فیزیکوشیمیایی و میکروبی محصول بپردازیم.

۲-مواد و روش کار

۲-۱-آماده سازی و اسانس گیری

پودر جلبک دونالیلاسالینا، فروردین ماه سال ۱۳۹۷ از شرکت ریز جلبک پارسیان-پارک علم و فناوری گیلان تهیه گردید. استخراج اسانس جلبک دونالیلا سالینا به روش تقطیر با آب، توسط دستگاه کلونجر انجام شد؛ عملیات اسانس گیری، ٤ ساعت به طول انجامید[۱۱]. ماهی قزل آلا رنگین کمان تازه با میانگین وزنی(۵۰±٦۰۰)، از استخر ماهی واقع در شهر تهران

1. Generally Recognized as Safe

تهیه شد. امعاء و احشا خارج گشته، فیله ی ماهی تهیه و شست و شو داده شد. بعد از آن گوشت ماهی به وسیله چرخ گوشت چرخ شده (۷۰٪) و با موادی مانند آرد نان (۱۰٪)،پودرسیر(۲/۵ ٪)،پیاز(۵٪)،سویا (۱۰٪) و سایر ادویه جات (۲/۵٪) مخلوط گردید، و به قطر ۱۰ سانتیمتر و ارتفاع ۰/۵ سانتیمتر قالب زده شد.

۲-۲-آماده سازی پوشش ژلاتینی

جهت تهیه محلول ژلاتین ۲ درصد، پودر ژلاتین تجاری (ژلاتین پوست ماهیان آب های سرد) از شرکت سیگما آلمان خریداری شد،۲گرم از ژلاتین در ۱۰۰ سی سی آب مقطراستریل حل گردید به مدت ۱۵ دقیقه همزده شد تا ژلاتین کاملاً حل شود. سپسبهمیزان ۰/۳۰ گرم گلیسرول به ازای هر گرم ژلاتین، به عنوان پلاستی سایزر به محلول افزوده شد و برای اطمینان از حل شدن کامل ژلاتین وگلیسرول، محلول با حرارت ملایم ٤٥ درجه یسلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه همزده شد. سپس اسانس جلبک دونالیلاسالینا با غلظتهای صفر، ۰/۳ ٪، ۰/٦ ٪ و ۰/۹ ٪ به محلول اضافه شد، با توجه به نا محلول بودن اسانس درآب و به منظور همگن شدن کامل با محلول ژلاتینی، اسانس ابتدا با Tween80ترکیب شد. و در نهایت محلول نهایی به مدت یک دقیقه با هموژنایزر با دور 21600rpmهموژن گردید[۱۲]. تیمارهای تولیدی در کیسه های پلی اتیلن بسته بندی و طی ١٤ روز در دمای یخچالی نگهداری شدند.

نمونه ها در دمای یخچالی ودر ۵ تیمار شامل: شاهد، تیمار دارای پوشش ژلاتینی ۲ درصد و فاقد اسانس، تیمار دارای پوشش ژلاتینی ۲ درصد حاوی ۰/۳ درصد اسانس، تیمار دارای پوشش ژلاتینی ۲ درصد حاوی ۰/٦ درصد اسانس وتیمار دارای پوشش ژلاتینی ۲ درصد حاوی ۰/۹ درصد اسانس ذخیره شدند. و در روزهای صفر، ۳، ٦، ۹ و ١٤ ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی بر روی تیمارها انجام گرفت.

۲-۳-سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی

تعیین میزان به دام اندازی رادیکال آزاد DPPH جهت تعیین میزان مهار رادیکالی اسانس حاصل از جلبک *دونالیلاسالینا*، به ۲۰ میکرولیتر از اسانس با غلظتهای مختلف، ٤ میلیلیتر محلول متانولی DPPH 40ppm که نسبت ۱:۳ با متانول رقیق شده، اضافه گردید؛ محلول شاهد نیز بدون حضور اسانس تهیه شد، سپس بعد از ۳۰ دقیقه جذب نمونه و شاهد در طول موج ۵۱۷ نانومترتوسط دستگاه اسپکتوفتومتری uv-vis قرائت و درصد مهار رادیکالی طبق رابطه زیر محاسبه گردید[۱۳]. درصد بازداری رادیکال آزاد DPPH از رابطه زیرمحاسبه می گردد:

درصد مهار رادیکالی = ۱۰۰ ×[$(A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank}$]

میزان IC_{50} که بیانگر غلظتی از نمونه است که موجب ۵۰٪ بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می شود از طریق رسم نمودار درصد مهار رادیکالی برحسب غلظت محاسبه گردید.

۲-٤-باکتریهای مورد مطالعه و تهیه سوسپانسیون

باکتریهای مورد مطالعه *استافیلوکوکوسارئوس* ATCC ۲۵۹۲۳ و *اشریشیاکلی* ATCC ۲۵۹۲۲ بودند که از آزمایشگاه رازی دانشگاه علوم و تحقیقات گرفته شد. سوسپانسیون باکتری با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر با طول موج ٦۰۰ نانومتر قرائت شد، میزان جذب نوری باکتریهای مورد بررسی برابر با غلظت^{8}۱۰×۱/۵ CFU/ mL معادل نیم مک فارلند به دست آمد[١٤].

۲-۵-آماده کردن اسانس

با توجه به عدم حلالیت اسانس در محیط کشت، به یک امولسیفایر که اسانس را بدون داشتن اثرات ضد میکروبی چشمگیر در خود حل کند، نیاز بود؛ از این رو از ماده دی متیل سولفوکساید (DMSO)[2] به عنوان حلال استفاده شد. سپس در لوله ای سترون، به طور جداگانه، ۵۰ میکرولیتر اسانس خالص جلبک ریخته شد و ۱۹۵۰ میکرولیترازحلالDMSOبه آن اضافه و توسط شیکر به همزده شد تا محلول یک دست و شفافی به دست آمد. از این استوک اولیه برای مراحل بعدی استفاده گردید[۱۵].

2. Dimethyl sulfoxide

۲-٦-تعیین میزان حداقل غلظت بازدارندگی رشد به رو ش رقت سازی در آگار(Agar dilution)

پس از پخش کردن و بستن محیط کشت مولار هینتون آگار[3]در دمای آزمایشگاه و بسته شدن آن ها به طور کامل، از سوسپانسیون های میکروبی معادل ۰/۵ مک فارلند آماده شده ۱۰ میکرولیتر یا یک لوپ برداشته و بر روی محیط کشت که حاوی رقت های مختلفی از اسانس هستند به صورت سطحی کشت داده شد. و در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲٤ ساعت قرار داده شد[١٦].

۲-۷-بررسی میزان بار باکتریایی در تیمار های برگر ماهی

۱۰ گرم از برگر ماهی قزل آلا در شرایط استریل برداشته و به ۹۰ میلیلیتر سرم فیزیولوژی استریل ۸۵/. درصد مخلوط و هموژن شده و متعاقب آن رقت های مورد نظر تهیه شد. یک میلیلیتر از رقت ها، در پلیت های حاوی محیط کشت پلیت کانت آگار PCA[4]به صورت آمیختنی کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ٤٨-٢٤ساعت گرمخانه گذاری شد، وبرای شناسایی باکتری های سرما دوست به مدت ۱۰ روز در انکوباتور ۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و پس از طی مدت انکوباسیون، کلونی ها شمارش شدند و با توجه به فاکتور رقت تعداد آنها به صورتlog CFU/ gr گزارش گردید[۱۷].

۲-۸- اندازه گیریpH

۵ گرم از نمونه ها به مدت ۱ دقیقه با ٤٥ میلیلیترآب مقطرهمگن شده سپس میزان pH آنها به وسیله دستگاه pH متر اندازه گیری شد[۱۸].

۲-۹-اندازه گیری پراکسید (PV)

ابتدا ٤٠ گرم از برگر ماهی با ۱۰۰ میلیلیتر کلروفرم مخلوط و سپس با کاغذ صافی واتمن (شماره٤٤) صاف گردید. ۲۵ میلیلیتر از محلول صاف شده را برای استخراج چربی درون بالن روتاری ریخته و به دستگاه روتاری وصل کرده تا حلال از آن جدا شود. سپس ۵-٤ گرم از چربی استخراج شده در یک ارلن ۲۵۰ میلیلیتری ریخته شد و حدود ۳۷ میلیلیتر از محلول اسید استیک کلروفرم (نسبت کلروفرم به اسید اسیتک اسید ۲:۳) به محتویات ارلن اضافه گردید. سپس ۱ میلیلیتر محلول یدور پتاسیم اشباع اضافه گردید، و بعد از یک دقیقه ۳۰ میلیلیتر آب مقطر و ۱ میلیلیتر محلول نشاسته به ارلن اضافه گردید و مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیترگردید تا رنگ زرد رنگ از بین رفته و به رنگ سفید شیری در بیاید. میزان پراکسید(PV) طبق فرمول زیر محاسبه گردید[۱۹،۱۸].

PV=

۱۰۰۰× (وزن نمونه روغن / مقدارتیوسولفات مصرفی × نرمالیته)

۲-۱۰-اندازه گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

۱۰ گرم نمونه برگر ماهی را به همراه با ۲ گرم اکسید منگنز و ۳۰۰ میلیلیتر آب مقطر داخل بالن کلدال اضافه گردید. داخل یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری نیز ۲۵ میلیلیتر از اسید بوریک ۲ ٪ به همراه چند قطره متیل رد ریخته شد. عمل تقطیر تا آن زمان ادامه یافت که حدود ۱۲۵ میلی لیتر مایع درون ارلن جمع شد. محلول اسید بوریک به محض قلیایی شدن زرد رنگ گردید. عملتیتراسیوناینمحلولتوسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا جایی ادامه یافت که اسید بوریک قرمز رنگ گردید. مقدارTVB-Nمطابق روش زیر به دست آمد[۱۸].

TVB-N= وزن نمونه / ۱۰۰ × ۱/٤ × میزان اسید سولفوریک مصرفی

۲-۱۱-اندازه گیری تیوباربیتوریک اسید (TBARS)

اندازه گیری تیوباربیتوریک اسید به وسیله رنگ سنجی صورت گرفت. مقدار ۲۰۰ میلی گرم از نمونه برگر ماهی به یک ارلن ۲۵ میلیلیتری انتقال یافت و سپس با ۱- بوتانول به حجم رسانده شد. ۵ میلیلیتر از مخلوط فوق در لوله های خشک درب دار ریخته شد و به آن ۵ میلیلیتر معرفTBA افزوده شد.

3. Mueller-Hinton agar
4 .Plate Count Agar

لوله های درب دار در حمام آب با دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت قرار گرفته و پس از آن در دمای محیط سرد شدند. سپس مقدار جذب (AS) در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد. مقدار TBA (میلی گرم مالوندی آلدئید در کیلوگرم گوشت برگر ماهی) مطابق رابطه زیر به دست آمد[۱۹].

$$TBA = AS - Ab \times 50 / 200$$

۲-۱۲-ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه ها توسط ۳۰ نفر ارزیاب نیمه آموزش دیده در بازه ی سنی ۳۰-۲۳ سال صورت پذیرفت. به روش هدونیک ۵ امتیازی در ۳ بخش طعم و مزه، بافت و پذیرش کلی انجام شد[۲۰].

۲-۱۳-آنالیز آماری داده ها

تجزیه و تحلیل داده های مستخرج از آزمایش در قالب طرح بلوک های کاملا تصادفی و با استفاده از نرم افزار SPSS.22انجام پذیرفت و تفاوت میان تیمارها با یکدیگر و با گروه کنترل (٤ تیمار و یک گروه کنترل در طی ١٤ روز)، توسط آزمون آماری دانکن در سطح ۵ درصد، آنالیز واریانس یک طرفه(one-way ANOVA) ارزیابی شد.

۳-نتایج

۳-۱-فعالیت آنتی اکسیدانی

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس جلبک *دونالیلا سالینا*نشان داد که اسانس این جلبک فعالیت مناسبی در به دام انداختن رادیکال های آزاد از خود بروز داده است (نمودار ۱ و ۲).

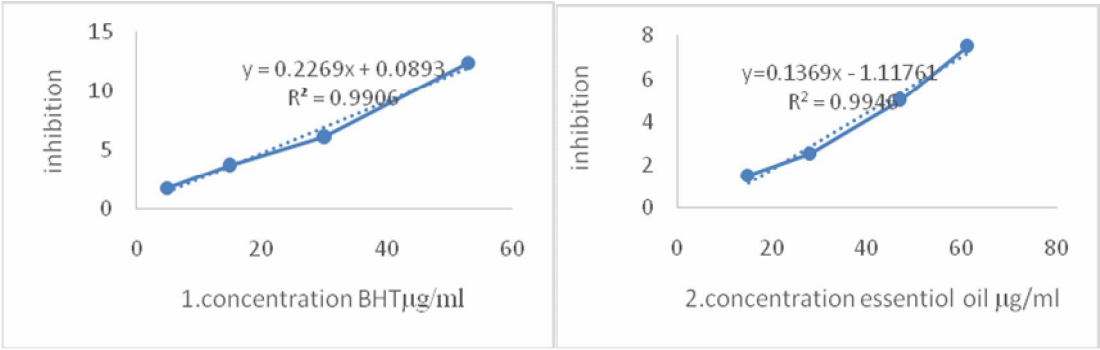

Fig 2 DPPH free radical scavenging assay for essential oil-Fig 1. DPPH free radical scavenging assay for BHT

۳-۲- محاسبه غلظت مهار ۵۰ درصد

طبق معادله خط به دست آمده IC50 برای نمونه محاسبه شد. این موضوع نشان می دهد که اسانس جلبک *دونالیلا سالینا* در مقایسه با BHT۵ فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری از خود نشان می دهد که قابل انتظار است.غلظت مهار ۵۰ درصد مربوط به اسانس جلبک *دونالیلا سالینا* ۵۷۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر و BHT ١١/٤ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد.

۳-۳-نتایج تعیین حداقل غلظت بازدارندگی به روش رقیق سازی در آگار

حداقل غلظت بازدارندگی اسانس جلبک*دونالیلا سالینا* برای باکتری گرم مثبت و گرم منفی به ترتیب برابر ۰/۳ و ۰/٦ ٪ بود. بر اساس نتایج به دست آمده از خواص آنتی باکتریال، اسانس جلبک *دونالیلا سالینا* به هر دو باکتری منتخب پژوهش حاضر واکنش قابل تامل نشان داده است. تاثیر اسانس در برابر باکتری *استافیلو کوکوس ارئوس* بیشتر از باکتری *اشریشیاکلی* بود.

۳-٤-آزمون های میکروبی

نتایج مربوط به مقادیر شمارش کلی باکتری در تیمارهای مختلف پوشش خوراکی ژلاتینی و ترکیب آن با اسانس جلبک و تغییرات آن در طی ١٤ روز نگهداری در یخچال در جدول شماره ۱ آورده شده است.

5. Butylated hydroxytoluene

Table 1 Effect of gelatin coating in cooporated with *Dunaliella salina* essential oil (DEO) on total mesophilic count (log CFU/g) in rainbow trout fish burger during refrigerated storage.

Treatment groups	Day 0	Day 3	Day 6	Day 9	Day 14
Control	3.64 ± 0.15^{a}	4.94 ± 0.25^{d}	6.06 ± 0.26^{e}	7.22 ± 0.20^{h}	7.81 ± 0.14^{li}
Gelatin	3.64 ± 0.15^{a}	5.07 ± 0.10^{d}	6.18 ± 0.07^{ef}	7.06 ± 0.08^{gh}	7.75 ± 0.20^{i}
Gelatin+0.3% DEO	3.64 ± 0.15^{a}	4.63 ± 0.13^{c}	5.25 ± 0.20^{d}	6.88 ± 0.13^{g}	7.03 ± 0.22^{gh}
Gelatin+0.6% DEO	3.64 ± 0.15^{a}	4.35 ± 0.06^{bc}	5.04 ± 0.07^{d}	6.23 ± 0.40^{ef}	6.79 ± 0.08^{g}
Gelatin+0.9% DEO	3.64 ± 0.15^{a}	4.11 ± 0.16^{b}	4.53 ± 0.18^{c}	6.03 ± 0.13^{e}	6.46 ± 0.09^{f}

*Values are expressed as mean ± standard deviation (n=3).

[a-h]Different lowercase letters within a column indicate significant differences ($p<0.05$).

شمار شکلی باکتری‌ها در تیمارهای ماهی پوشش دهی شده با ژلاتین حاوی۰/۳ درصد اسانس، در روز نهایی آزمون، به صورت معنی‌داری ($p<0.05$) کمتر از این میزان در تیمار شاهد بود. مشاهده گردید، شمار شکلی باکتری‌ها در تیمارهای ماهی پوشش دهی شده با ژلاتین حاوی ۰/٦ درصد اسانس، در روز نهایی آزمون، به صورت معنی‌داری ($p<0.05$) کمتر از این میزان در تیمار شاهد بود. در تیمردارای ۰/۹ درصد اسانس در روز نهایی ١٤ آزمون، دارای کمترین شمار شکلی باکتری‌ها (٦/٦٤Log CFU/g)، در مقایسه با سایر تیمارهای تحت مطالعه، در همان روز آزمون، بود.

نتایج مربوط به مقادیر باکتریهای سرما دوست در تیمارهای مختلف پوشش خوراکی ژلاتینی و ترکیب آن با اسانس جلبک و تغییرات آن در طی ١٤ روز نگهداری در یخچال در جدول شماره ۲ آورده شده است.

Table 2 Effect of gelatin coating in cooporated with *Dunaliellasalina* essential oil (DEO) on psychrotroph evolution (log CFU/g) in rainbow trout fish burger during refrigerated storage.

Treatment groups	Day 0	Day 3	Day 6	Day 9	Day 14
Control	3.79 ± 0.09^{a}	4.73 ± 0.10^{cd}	7.11 ± 0.10^{hi}	9.16 ± 0.19^{m}	8.79 ± 0.46^{lm}
Gelatin	3.79 ± 0.09^{a}	4.60 ± 0.1^{c}	6.49 ± 0.26^{f}	9.08 ± 0.11^{lm}	8.70 ± 0.08^{l}
Gelatin+0.3% DEO	3.79 ± 0.09^{a}	4.45 ± 0.05^{c}	5.63 ± 0.05^{e}	7.64 ± 0.92^{jk}	7.93 ± 0.13^{k}
Gelatin+0.6% DEO	3.79 ± 0.09^{a}	4.32 ± 0.14^{bc}	5.15 ± 0.19^{d}	6.68 ± 0.12^{fg}	7.46 ± 0.17^{ij}
Gelatin+0.9% DEO	3.79 ± 0.09^{a}	4.00 ± 22^{ab}	4.76 ± 0.18^{cd}	6.63 ± 0.17^{fg}	6.95 ± 0.24^{gh}

*Values are expressed as mean ± standard deviation (n=3).

[a-h]Different lowercase letters within a column indicate significant differences ($p<0.05$).

شمارش باکتریهای سرماگرا در تیمارهای ماهی پوشش دهی شده با ژلاتین حاوی ۰/۳ درصد اسانس، در روز نهایی آزمون، به‌صورت معنی‌داری ($p<0.05$) کمتر از این میزان در تیمار شاهد بود. شمارش باکتریهای سرماگرا در تیمارهای ماهی پوشش دهی شده با ژلاتین حاوی ۰/٦ درصد اسانس، در روز نهایی آزمون، به صورت معنی‌داری ($p<0.05$) کمتر از این میزان در تیمار شاهد بود. در تیمار دارای ۰/۹ درصد اسانس در روز نهایی ١٤ آزمون، دارای کمترین شمارش باکتریهای سرماگرا (٦/٩٥Log CFU/g)، در مقایسه با سایر تیمارهای تحت مطالعه، در همان روز آزمون، بود.

در طی ١٤ روز نگهداری در یخچال در جدول شماره ۳ آورده شده است. میزان pH در تیمارهای ماهی پوشش دهی شده با ژلاتین حاوی ۰/۳ درصد اسانس، در روز نهایی آزمون، تفاوت معنی‌داری ($p<0.05$) نسبت به میزان pH در تیمار شاهد نداشت، تغییرات میزانpH در تیمارهای ماهی پوشش دهی شده با ژلاتین حاوی ۰/٦ درصد اسانس، در روز نهایی آزمون، به صورت معنی‌داری ($p<0.05$) کمتر از این میزان در تیمار شاهد بود. این میزان در تیمار دارای ۰/۹ درصد اسانس در روز نهایی ١٤ آزمون، دارای کمترین تغییرات میزانpH، در مقایسه با سایر تیمارهای تحت مطالعه، در همان روز آزمون، بود.

۳-۵-آزمون های شیمیایی

نتایج مربوط به مقادیر pH در تیمارهای مختلف پوشش خوراکی ژلاتینی و ترکیب آن با اسانس جلبک و تغییرات آن

Table 3 pH value in rainbow trout fish burger coated by gelatin and *Dunaliella salina* essential oil (DEO) during 14 days storage at 4°C.

Day 14	Day 9	Day 6	Day 3	Day 0	Treatment groups
6.66 ± 0.04^{ijk}	6.78 ± 0.03^{k}	6.66 ± 0.04^{ijk}	6.54 ± 0.06^{fghi}	6.19 ± 0.07^{a}	Control
6.70 ± 0.15^{jk}	6.67 ± 0.07^{ijk}	6.60 ± 0.13^{hij}	6.51 ± 0.05^{efghi}	6.19 ± 0.07^{a}	Gelatin
6.54 ± 0.06^{fghi}	6.58 ± 0.10^{ghij}	6.46 ± 0.10^{defgh}	6.44 ± 0.08^{defg}	6.19 ± 0.07^{a}	Gelatin+0.3% DEO
6.36 ± 0.07^{bcde}	6.36 ± 0.06^{bcd}	6.42 ± 0.06^{cdef}	6.43 ± 0.07^{cdefg}	6.19 ± 0.07^{a}	Gelatin+0.6% DEO
6.25 ± 0.108^{ab}	6.28 ± 0.070^{abc}	6.31 ± 0.061^{abcd}	6.35 ± 0.065^{bcd}	6.19 ± 0.077^{a}	Gelatin+0.9% DEO

* Values are expressed as mean ± standard deviation (n=3).
[a-j]Different lowercase letters within a column indicate significant differences ($p<0.05$).

نتایج مربوط به مقادیر پر اکسید در تیمارهای مختلف پوشش خوراکی ژلاتینی و ترکیب آن با اسانس جلبک و تغییرات آن در طی ١٤ روز نگهداری در یخچال در جدول شماره ٤ آورده شده است. تغییرات میزان پراکسید در تیمارهای ماهی پوشش دهی شده با ژلاتین حاوی ٠/٦ درصد اسانس، در روز نهایی آزمون، به صورت معنی‌داری ($p<0.05$) کمتر از این میزان در تیمار شاهد بود. در تیمار دارای ٠/٩ درصد اسانس در روز نهایی ١٤ آزمون، دارای کمترین تغییرات میزان پراکسید، در مقایسه با سایرتیمارهای تحت مطالعه، در همان روز آزمون، بود.

Table 4 Peroxide value (meq/kg lipid) in rainbow trout fish burger coated by gelatin and *Dunaliella salina* essential oil (DEO) during 14 days storage at 4°C.

Day 14	Day 9	Day 6	Day 3	Day 0	Treatment group
6.48 ± 0.10^{j}	6.10 ± 0.13^{hi}	4.92 ± 0.08^{f}	3.45 ± 0.16^{c}	2.37 ± 0.23^{a}	Control
6.43 ± 0.12^{j}	6.02 ± 0.04^{h}	4.90 ± 0.08^{f}	3.34 ± 0.08^{bc}	2.37 ± 0.23^{a}	Gelatin
6.32 ± 0.13^{ij}	5.86 ± 0.10^{h}	4.72 ± 0.19^{ef}	3.27 ± 0.12^{bc}	2.37 ± 0.23^{a}	Gelatin+0.3%DEO
5.57 ± 0.13^{g}	5.40 ± 0.11^{g}	4.61 ± 0.17^{de}	3.24 ± 0.08^{bc}	2.37 ± 0.23^{a}	Gelatin+0.6%DEo
5.32 ± 0.09^{g}	5.30 ± 0.14^{g}	4.42 ± 0.17^{d}	3.15 ± 0.08^{b}	2.37 ± 0.23^{a}	Gelatin+0.9%DEO

* Values are expressed as mean ± standard deviation (n=3).
[a-j]Different lowercase letters within a column indicate significant differences ($p<0.05$).

نتایج مربوط به مقادیر بازهای نیتروژنی فرار در تیمارهای مختلف پوشش خوراکی ژلاتینی و ترکیب آن با اسانس جلبکوتغییراتآندرطی ١٤ روز نگهداری در یخچال در جدول شماره ٥ آورده شده است. میزانTVB-N در تیمارهای ماهی پوشش دهی شده با ژلاتین حاوی ٠/٣ درصد اسانس، در روز نهایی آزمون، تفاوت معنی‌داری ($p\geq0.05$) با میزانTVB-N در تیمار شاهد نداشت. تغییرات میزانTVB- N در تیمارهای ماهی پوشش دهی شده با ژلاتین حاوی ٠/٦درصد اسانس، در روز نهایی آزمون، به صورت معنی‌داری ($p<0.05$) کمترازاینمیزاندرتیمارشاهدبود. در تیمار دارای ٠/٩ درصد اسانس در روز نهایی ١٤ آزمون، دارای کمترین تغییرات میزانTVB-N، در مقایسه با سایر تیمارهای تحت مطالعه، در همان روز آزمون، بود.

Table 5. TVB-N value (mgN/100 g) in rainbow trout fish burger coated by gelatin and Dunaliella salina essential oil (DEO) during 14 days storage at 4°C.

Day 14	Day 9	Day 6	Day 3	Day 0	Treatment group
32.32 ± 2.58^{h}	28.88 ± 2.22^{gh}	23.15 ± 1.30^{bcdef}	20.58 ± 2.85^{bcd}	15.52 ± 2.29^{a}	Control
32.23 ± 2.65^{h}	29.88 ± 1.98^{gh}	24.39 ± 2.33^{def}	19.43 ± 1.93^{ab}	15.52 ± 2.29^{a}	Gelatin
28.94 ± 2.38^{gh}	27.10 ± 1.33^{fg}	22.98 ± 1.94^{bcdef}	20.57 ± 2.89^{bcd}	15.52 ± 2.29^{a}	Gelatin+0.3%DEO
26.41 ± 1.29^{efg}	24.11 ± 1.07^{cdef}	22.79 ± 1.64^{bcdef}	19.49 ± 1.81^{ab}	15.52 ± 2.29^{a}	Gelatin+0.6%DEo
24.30 ± 3.27^{def}	21.52 ± 4.18^{bcd}	22.45 ± 2.18^{bcde}	19.75 ± 1.37^{abc}	15.52 ± 2.29^{a}	Gelatin+0.9%DEO

* Values are expressed as mean ± standard deviation (n=3).
[a-h]Different lowercase letters within a column indicate significant differences ($p<0.05$).

نتایج مربوط به مقادیر تیوباربیتوریک اسید در تیمارهای مختلف پوشش خوراکی ژلاتینی و ترکیب آن با اسانس جلبک و تغییرات آن در طی ١٤ روز نگهداری در یخچال در جدول شماره ٦ آورده شده است. میزان TBARS در تیمارهای ماهی پوشش دهی شده با ژلاتین حاوی ٠/٣درصداسانس، در روز نهایی آزمون، به صورت معنی‌داری ($p<0.05$) نسبت به میزانTBARS در تیمار کاهش یافته بود. تغییرات میزان TBARSدر تیمارهای ماهی پوشش دهی شده با ژلاتین حاوی ٠/٦درصد اسانس، در روز نهایی آزمون، به‌صورت معنی‌داری ($p<0.05$) کمتر از این میزان در تیمار شاهد بود. در تیمار دارای ٠/٩ درصد اسانس در روز نهایی ١٤ آزمون، دارای کمترین تغییرات میزان TBARS، در مقایسه با سایر تیمارهای تحت مطالعه، در همان روز آزمون، بود.

Table 6 TBARS value (based on malondialdehyde (MDA); mg/kg) in rainbow trout fish burger coated by gelatin and *Dunaliella salina* essential oil (DEO) during 14 days storage at 4°C.

Day 14	Day 9	Day 6	Day 3	Day 0	Treatment group
2.10 ± 0.04^{n}	1.82 ± 0.04^{l}	1.46 ± 0.03^{gh}	1.14 ± 0.04^{cd}	0.74 ± 0.06^{a}	Control
1.99 ± 0.08^{m}	1.67 ± 0.08^{jk}	1.37 ± 0.02^{fg}	1.15 ± 0.04^{cd}	0.74 ± 0.06^{a}	Gelatin
1.88 ± 0.11^{l}	1.59 ± 0.04^{ij}	1.31 ± 0.05^{ef}	1.08 ± 0.03^{bc}	0.74 ± 0.06^{a}	Gelatin+0.3%DEO
1.79 ± 0.06^{l}	1.53 ± 0.05^{hi}	1.28 ± 0.06^{ef}	1.04 ± 0.05^{b}	0.74 ± 0.06^{a}	Gelatin+0.6%DEO
1.70 ± 0.06^{k}	1.45 ± 0.03^{gh}	1.22 ± 0.04^{de}	1.03 ± 0.05^{b}	0.74 ± 0.06^{a}	Gelatin+0.9%DEO

* Values are expressed as mean ± standard deviation (n=3).
[a-m]Different lowercase letters within a column indicate significant differences ($p<0.05$).

امتیازهای شاخصهای حسی مورد بررسی (طعم و مزه، بافت و پذیرش کلی) در این مطالعه برای تیمارهای برگر ماهی دارای اسانس با غلظتهای مختلف در تمامی فاکتورهای مورد مطالعه، تفاوت معنی داری ($p\geq0.05$) با میزان این شاخص ها در تیمار شاهد نداشت. البته مشاهده گردید با وجود عدم تفاوت معنی دار ($p\geq0.05$) در میان داده های هر کدام از فاکتورهای حسی، امتیازهای تیمارهای دارای اسانس بالاتر از تیمار شاهد بود. باعث بهبود ارزیابی حسی تیمارهای مورد مطالعه گردید.

٤-بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از آزمایشات سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس جلبک *دونالیلا سالینا* نشان داد که اسانس این جلبک دارای خاصیت آنتی اکسیدانی مناسبی می باشد. فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس با افزایش غلظت آن رابطه مستقیم دارد به طوری که هر چه غلظت اسانس بیشتر شود فعالیت آنتی اکسیدانی آن نیز افزایش می یابد. نتایج مطالعه حاضر با نتایج آزمایشات فراست و همکاران (٢٠١٥) وLin و همکاران (٢٠٠٥) در خصوص ویژگی های آنتی اکسیدانی مطابقت دارد [٢٢،٢١].

اثرات ضد باکتریای اسانس جلبک دونالیلا سالینا نشان داد که باکتری گرم مثبت از حساسیت بالاتری نسبت به باکتری منفی برخوردار بود. دلایل این امر می تواند وجود لایه های چربی متعدد و وجود ساختار لیپوپلی ساکاریدی در باکتری گرم منفی باشد که از نفوذ ترکیبات موثر موجود در اسانس جلبک به داخل سلول باکتریایی جلوگیری می کند[٢٣].

تاثیر ضدمیکروبی عصاره جلبک دونالیلاسالینا در تحقیقات دیگران به اثبات رسیده است.Herrero و همکاران(٢٠٠٦) فعالیت ضدمیکروبی عصاره جلبک دونالیلاسالینا استخراج شده بر روی چهارگونه از میکروارگانیسمهای پاتوژن *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوسارئوس*، *کاندیدا آلبکنس* و *آسپرژیلوسنایجر* که باعث بیماریهای خطرناکی در انسان میگردند بررسی و مشخص گردید که عصاره این جلبک بر روی هر چهار باکتری اثر بازدارندگی داشته است[٢٤].

در مطالعه حاضر، تعداد اولیه باکتریها در نمونه ها حدود log ٣/٤٦ CFU/g میباشد که نشان دهنده تازگی و کیفیت خوب برگر ماهی ها است. تحقیق حاضر با تقی زاده اندواری و رضایی(٢٠١٢) و ابوالقاسمی و همکاران (٢٠١٨) مطابقت دارد[١٢،١٨]. بیشترین حد پیشنهاد شده برای شمارش کلی باکتریهای کل در شیلات و فرآورده های آن، ٧log CFU/g است[٢٥]. کاهش شمارش باکتری های سرما دوست و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری در نمونه های تیمار شده با پوشش ژلاتینی حاوی اسانس جلبک نشان دهنده ی تاثیر ضد

میکروبی پوشش ژلاتینی حاوی اسانس جلبک *دونالیلا* می باشد. نتایج این تحقیق با مطالعات Erkan و همکاران (۲۰۰۱) و اجاق و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت دارد[۲۶،۹].

pH یکی از تغییرات شیمیایی اولیه در گوشت ماهی و فرآورده های آن تغییرات است.pH شاخصی است که به دلیل تاثیر بر فعالیت میکروارگانیسم ها و آنزیم بر روند فساد موثر است. pH ماهی پس از مرگ بر اساس فصل، گونه و فاکتورهای دیگر از ٦ تا ۷ تغییر میکند. در مطالعه حاضر کاهش روند تغییرات pH در تیمار دارای پوشش ژلاتینی و حاوی اسانس جلبک دیده شده است. این نتایج می تواند با اثر ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی اسانس جلبک مرتبط باشد که از فعالیت میکروارگانیسم ها و در نتیجه تولید متابولیت های بازی حاصل از آن ممانعت کند[۲۷]. نتایج مشابهی در این رابطه توسط نکویی و همکاران (۲۰۱٦) وکلته و همکاران(۲۰۱۵) گزارش شده است[۲۸،۲۹].

حد مجاز پراکسید در ماهی در طول مدت نگهداری۱۰- ۵ میلی اکی والان پراکسید بر کیلوگرم چربی گزارش شده است[۳۰]. که در مطالعه حاضر مقادیر این شاخص در همه نمونه ها از حد قابل قبول پیشنهادی در طول نگهداری کمتر بود. از آن جایی که نسبت مثبتی بین محتوای فنولی و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ها و اسانس ها گزارش شده است در تمامی روزهای مورد آزمون مقدار PV با افزایش غلظت اسانس، کاهش یافته است. اکسیداسیون چربی یک مشکل اصلی در ماهی و سایر فرآورده هایی دریایی است که منجر به ایجاد بو و طعم نامطلوب میشود. نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که مقدارPV با افزایش مدت زمان نگهداری در اغلب تیمارها افزایش یافته است، ولی این افزایش در تیمار دارای پوشش حاوی اسانس ۰/۹ درصد نسبت به بقیه تیمارها سرعت کمتری داشته است. نتایج حاضر با باباخانی لشکان(۲۰۱۳) و همچنین کلته و همکاران(۲۰۱۵) مطابقت دارد[۲۹،۱۰].

مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) به عنوان یکی از شاخص های تشخیص تازگی ماهی دامنه وسیعی از ترکیبات فرار نظیر آمونیاک، متیل آمین، دی متیل آمین، تری متیل آمین و دیگر ترکیبات مشابه را شامل می شود که در اثر فعالیت های میکروبی تولید می شوند[۳۱]. پایین تر بودن محتوی-TVB (N) در نمونه های محتوی اسانس نیز می تواند به کاهش سرعت رشد جمعیت باکتریایی و یا کاهش ظرفیت و توانایی باکتری ها برای آمین زدایی از ترکیبات نیتروژنی و غیر نیتروژنی و یا هر دو نسبت داد که این ناشی از تاثیر حضور اسانس جلبک *دونالیلا* است. نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که مقدار (TVB-N) با افزایش مدت زمان نگهداری در اغلب تیمارها افزایش یافته است، ولی این افزایش در تیمار دارای پوشش حاوی اسانس ۰/۹ درصد نسبت به بقیه تیمارها سرعت کمتری داشته است، تفاوت معنی داری با نمونه شاهد داشته است.این نتایج با باباخانی و لشکان(۲۰۱۳)، شعبانپور و همکاران (۲۰۱۲۰) وArashisar و همکاران (۲۰۰٤) در این زمینه مطابقت دارد [۱۰،۳۲،۳۳].

تیوباربیتوریک اسید از شاخص های اندازه گیری اکسیداسیون چربی ها بر اساس محتوی مالون دی آلدهید می باشد.مالون دی آلدهید به واسطه اکسید شدن هیدروپراکسیدها به موادی مانند آلدئیدها و کتونها تشکیل می شود[۳٤]. نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که مقدار TBA با افزایش مدت زمان نگهداری در اغلب تیمارها افزایش یافته است، ولی این افزایش در تیمار دارای پوشش حاوی اسانس ۰/۹ درصد نسبت به بقیه تیمارها سرعت کمتری داشته است. در تیمارهای دارای پوششی که حاوی اسانس می باشند کمتر بودن TBA را می توان به اثر ضد اکسیداسیونی اسانس نسبت داد[۳۵]. این نتایج با مطالعاتChibuz Lheaghwara (۲۰۱۳) و باباخانی لشکان(۲۰۱۳) مطابقت دارد[۱۰،۳٦].

در این پژوهش به منظور به تاخیر انداختن فساد شیمیایی و میکروبی و در نتیجه افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت برگر ماهی قزل آلا رنگین کمان از اسانس جلبک دونالیلاسالینا استفاده گردید. جلبک دونالیلا سالینا به دلیل داشتن ترکیبات ترپنی و فنولی و بتاکاروتنی در ساختارش دارای ضد اکسیدانی مناسبی می باشد. نتایج آزمونهای میکروبی و فیزیکوشیمیایی، اثرات ضد میکروبی و آنتیاکسیدانی اسانس جلبک دونالیلاسالینا را به اثبات رساند. تقریبا در همه ی نمونه های تیمار شده با غلظتهای مختلف اسانس، میزان شاخصهای میکروبیو فیزیکوشیمیایی نسبت به شاهد کاهش معنی داری در سطح ۵ درصد داشتند و این موضوع با افزایش غلظت اسانس کاهش یافت.

۵- نتیجه گیری

به طور کلی روند فساد برگر ماهی در تمامی فاکتورهای pH, (PV,TVB-N ,TBARS)، و از نظر شاخص باکتریایی (شمارش کلی باکتریها و باکتری سرما دوست) در تمامی روزهای آزمون (صفر، ۳، ٦، ۹ و ١٤) نسبت به شاهد به صورت معنی داری ($P<0.05$) کاهش یافته، در صورتی که پوشش ژلاتینی به تنهایی باعث کاهش معنی داری ($P\geq0.05$) در فاکتورهای(pH,PV,TVB-N TBARS) و شاخص باکتریایی، نسبت به تیمار شاهد نداشته است.

٦- منابع

[1] Kumar, A., Shukla, R., Singh, P., Prasad, C.S. and Dubey, N.k. 2008,Assessment of Thymus vulgaris L, essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9(4): 575-580.

[2] Abdollahzadeh, E., Rezaei, M. and Hosseini, H. 2014, Antibacterrial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. Food Control, 35(1):177-183.

[3] Paktarmani, M., Ehsani, A. and Qajarbeygi, P.2016, Investigating – Increase the shelf life of fish with Edible Alginate Sodium-Based Film containing α-tocopherol. Journal food scince and Technology,13(61):17-249

[4] Taşkaya, L., Çakli, S., Kişla, D. and Kilinç, B. 2003, Quality changes of fish burger from rainbow trout during refrigerated storage. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 20: 147-154.

[5] Burt, S. 2004,Essential oils and their antimicrobial properties and potential application in foods. International Journal of food microbiology,94, 253-233.

[6. Emadi, H., Amaninejad, P., Amtiyazjoo, M. and Houseinzadeh Sahafi, H. 2010,Effects of *Dunaliella* algae (*Dunaliella salina*) on different color skin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)*. Journal of Animal Environment ,66(2):57-66

[7] Moghadassi, Z., Emtyazjoo, M., Rabanie, M., Emtyazjoo, M., Labibie, F., Azarghashb, E. and Mosaffa, N. 2011,Study effect of anti cancer ethanol extract *Dunaliella salina* isolated from Hoz-Soltan against *Squamous cell carcinoma* in vitro. Iranian journal of Medical and Aromatic plants, 27(2):306-315.

[8] Noori, N., Rokni, N., Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A. and Dabbagh Moghaddam, A. 2012,The antimicrobial effect of *Zatariamultifolora Boiss* essential oil against *E. coli* $O_{157:}$ H_7 in minced beef during refrigerated storage as a replacement for chemical preservatives in order to maintain the consumers health. Journal Army University Medicine Sciences,10(3):192-197.

[9] Ojagh, S.M., Kazemi, M. and Mirsadeghi, S.H. 2018,Comparative evaluation of the effect of gelatin coating enriched with pure and nanoliposome Oregano essential oil on microbial quality of Rainbow trout fillet during cold storage (4 ± 2°C). Journal Food Science and Technology, 14(71):59-71.

[10] Babakhani Lashkan, A., Rezaei, M., Rezaei, K. and Seifabadi, S.J. 2013,The Application of Sargassum *(Sargassum angustifolium*) Extract as a Natural Antioxidant in Chilled Storage of Minced Kilka (*Cultiventrisclupeonella*).Journal fisheries,66(1):1-13.

[11] Kazem Alvandi, R., Sharifan, A. and Aghazadeh Meshghi, M. 2011,Study of chemical composition and antimicrobial activity of peppermint essential oil. Journal of Comparative Pathobiology, 7(4): 55-64.

[12] Taghizadeh Andevari, G and Rezaei, M. 2012,Effect to gelatin coatng sonchemical, microbial and sensory properties of refrigerated Rain bow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*). Journal Food Science and Technology,9(37):67-76

[13] Hemalaatha, A., Girija, K., Parthiban., C., Saranya, C. and Anantharaman P. 2013,Antioxidant

properties and total phenolic content of a marine diatom, Navicula clavata and green microalgae, *Chorella marina and Dunaliella salina,* Advances inApplied Science Research,4(5):151-157

[14] Bohloli khiavi, R.2017,Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review labdiagnosis, 35,43-53.

[15] Soltan Dallal, M., Bayat, M., Yazdi, M., Aghaamiri, S., Ghorbanzadeh Meshkani, M. and Abedi Mohtasab, T. 2012,Anitimicrobial effect of *Zataria multiflora* on antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from Food. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences, 17(2): 21-9.

[16] Collin, CH., Lyn,e P.M., Grange and Falkinham, J.O. 2004,Microbilogical methods. Oxford University Press, Arnold., 170-186

[17] Hernández, M.D., López, M.B., Álvarez, A., Ferrandin, E., GarcíaGarcía, B.and Garrido, M.D. 2009,Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre [*Argyrosomus regius*] fillets during ice storage. Food Chemistry,114: 237-45

[18] Abolghasemi, M., Zakipour Rahimabadi, E. and Yousefelahi, M. 2018,Effect of gelatin-*Zataria multifloraBoiss* based edible coating and quality characteristics and shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix)* fillet during refrigerator storage. Journal Food Science and Technology, 14 (72):83-95

[19] Egan, H., Kirk, R.S. and Sawyer, T.R.. 1997,Pearsos chemical Analysis of Food. 9 editions. Edingburgh, Scotland, UK, Churchill Livingtone, 609-643

[20] Mahdavian Mehr, H.Z. and Hosseini, M. 2010,Haddad Khodaparast and M.R. Edalatian Study on the antimicrobial effect of savia leriffo lia leaf extract powder on the growth of staphyloccus aureus in hamburger. Jornal of Food Saftety, 30: 941-953

[21] Froost, M., Khavare Nejad, R.A., Nabavi, S.M. B and Namjouyan, F. 2013,ntioxidant activity of methanolic extract of algae (*Caulerpa sertularioides f. farlowii)*.Marine Biology,5(20):13-20.

[22] Lin, C.C. and Lin, C.S. 2005,Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extract. Food Control ,16(2): 169-175

[23] Kandhasamy, M. and Arunachalam, KD. 2008,Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. Afr Jornal of Biotechnol, 7: 1958-61.

[24] Herrero, M., Ibanez, E., Cifuentes, A., Reglero, G. and Santoyo, S. 2006,*Dunaliella salina* Microalga pressurized liquid Extrats as Potential Antimicrobials. Food Protectin,10(69): 2471-2477

[25] ICMSF, International Commission on Microbiological Specification for Foods Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological analysis: principle sand specific application (2 nd Ed). Buffalo, NY: University of Toronto Press, 1986.

[26] Erkan, N., Tousan, S.Y., Ulusoy, S. and Uretener, G. 2011,The use of thyme and laural essential oil treatmants to extand the shelf life of bluefish (Pomatomu saltatrix) during in ice. Journal fur vebraucherschutz and Lebensmittelsicherheit, 6(1): 39-48

[27] Kazemi, S. M., and Rezaei, M. 2015. Antimicrobial Effectiveness of Gelatin Alginate Film Containing Orange Essential Oil for Fish Preservation. Journal of food safety, 35(4), 482-490.

[28] Nekuie Fard, A., Hossein Pour, S., Noori Saeidlou, S. and Javadi, M. 2016,Effect of citrus aurantium mesocarp extract on shelf life of rainbow trout. Journal of Qazvin of Medical Science,20(1) :29-21

[29] Kalteh, S., Alizadeh doughikollaee, E. and Yousef elahi, M. 2015,Effect of edible gelatin coating on the quality of fish finger of *Hypophthalmichthys molitrix* during refrigerated storage. Journal Food Science and Technology, 12(48): 79-88.

[30] Huss, H., Jorgensen, L. and Vogel, B. 2000,Control option for *Listeria monocytogenes* in seafoods. International Journal of food Microbiology, 62:267-274.

[31] Fan, w., Chi. Y. and Zhang, S. 2008,Use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmicthys molitrix*) during

storge in ice. Food chemistry, 108(1):148-153.
[32] Shabanpoor, B., Zolfaghari, M., Falah Zade, S. and Alipoor, G.H. H. 2012,Effect of extract of *Zararia multiflora* boiss on shelf life of salted vacuum packaged rain bow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*) in refrigerator conditions. Journal Food Science and Technology,33(1):1-11.
[33] Arashisar, S., Hisar, O., Kaya, M. and Yanik, T. 2004,Effect of mmodified atmosphere and vacuum packing on microbiological and chemical properties of rainbow trout fillets. Journal ofFood Microbiology, 97: 209-214.
[34] Bahar, T., Ozkuta, K., Gulsum, O. and Enver, O. 2006, Chemical and sensory quality changes of fish finger, made from mirror carp during frozen storage. Food Chemistry, 99, 335-410.
[35] Abramovic, H., Terpinc, P., Generalic, I., Skroza, D., Klancnik, A. and Mozine, S. 2012,Antioxidant and antimicrobial activity of extracts obtained from rosemary. Journal Food Science and Technology, 4(1): 1-8.
[36] ChibuzLheaghwara, M.C. 2013,Effect of Ginger Extract on srability and sensorial quality of smoked Mackerel (Scomber Scomburs) Fish. Journal of Nutrition and Food Science, 3(3):199-207.

Effect of edible gelatin coating based on*Dunaliella salina* alge essential oil on physicochemical and microbial characteristics of rainbow trout fish burger during refrigerated storage

Hazavehei ha, Y. [1], Mahasti Shotorbani, P. [2*], Khoshkhoo, Zh. [3]

1. MSc, Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Quality Control and Hygiene, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received: 2018/10/09 Accepted:2019/05/25)

Using the natural-based coating and natural preservatives has became a novel method in food packaging. Accordingly, the use of natural preservatives for prevention of spoilage and extend the shelf life of perishable foods like as fish burger has gained more attention.The aim of this paper was studying the effect of ediblegelatin coating containing *Dunaliella salina* alga essential oil on physiochemical, microbial and sensory characteristics of rainbow trout fish burger during14 refrigerated storage.In this study, the effect of 2% gelatin coating containing different concentration of alga essential oil (0.3, 0.6, 0.9) on physiochemical (TBA, pH PV, TVB-N), microbial (PTC, TVC) and sensory properties were analyzed periodically during storage.According to the results, the combination effect of gelatin and alga essential oil on improvement the physiochemical and microbial values of treated samples were significantly higher than untreated samples ($p<0.05$), and this antimicrobial coating has significant effect to decrease the microbial spoilage and to extened the shelf life of rainbow trout fish burger during refrigerated storage.. resulted in significant shelf life gelatin coating Dunaliealla salina alge essential oil 0.9% as compared to control sample ($p<0.05$).

Keywords: Edible gelatin coating, *Dunaliella salina* alga essential oil, Rainbow trout fish burger, Shelf life

*Corresponding Auther E-Mail Address:fh.health95@gmail.com