

# ارزیابی تأثیرات پوشش‌های خوراکی آلزینات سدیم و پروتئین آب پنیر حاوی باکتری‌های لاکتیکی *Pediococcus acidilactici* و *Lactobacillus plantarum* روی شاخص‌های فیزیکی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

سحرناز علیزاده<sup>۱\*</sup>، سید علی جعفر پور<sup>۲</sup>، سکینه یگانه<sup>۲</sup>، رضا صفری<sup>۳</sup>

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، فراوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲. دانشیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳. عضو هیئت علمی، پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، مازندران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۵/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۲۱)

## چکیده

این تحقیق برای مطالعه اثر استفاده از پوشش‌های خوراکی آلزینات سدیم و پروتئین آب پنیر حاوی باکتری‌های لاکتیکی *Pediococcus acidilactici* و *Lactobacillus plantarum* برای افزایش نگهداری فیله‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در دمای یخچال و ارزیابی خصوصیات فیزیکی فیله انجام شد. بدین ترتیب، شاخص‌های فیزیکی مانند رنگ و بافت فیله‌ها در فاصله زمانی صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس نتایج به دست آمده شاخص رنگ ( $a^*$ ،  $b^*$ ) و شاخص بافت (نیروی نفوذ، عمق نفوذ و استحکام بافت) در فیله‌های تیمار شده نسبت به تیمار شاهد از شرایط بهتری برخوردار بوده است. به عبارت دیگر، استفاده از پوشش حاوی باکتری‌های لاکتیکی باعث گردید در روز ۲۱ شاخص قرمزی فیله افزایش یافته و شاخص زردی کاهش یابد. در خصوص شاخص‌های بافت مانند نیرو، عمق نفوذ و استحکام نیز استفاده از پوشش حاوی باکتری‌های لاکتیکی در درصدهای بالاتر آلزینات سدیم و پروتئین آب پنیر منجر به حفظ بهتر کیفیت بافت فیله نسبت به سایر تیمارها گردید.

**کلید واژگان:** شاخص فیزیکی، باکتری‌های لاکتیکی، فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان، رنگ، بافت

\* نویسنده مسئول: alizadehsahar17@gmail.com

## ۱- مقدمه

ماهی به عنوان منبعی غنی از پروتئین‌های با قابلیت هضم آسان و ارزش زیستی بالا که قادر است ویتامین‌ها، مواد معدنی و اسیدهای چرب ضروری را در دسترس قرار دهد، از جایگاه خاصی برخوردار است. ماهی در طی نگهداری در یخچال به علت رشد سریع میکروارگانیسم‌هایی که به صورت طبیعی یا در اثر آلودگی در آن به وجود می‌آید، خیلی زود فاسد می‌شود که می‌تواند گاهی اوقات منجر به مشکلات اقتصادی یا بهداشتی شود [۱]. در این میان بعضی از میکروارگانیسم‌های عامل فساد مانند *Shewanella putrefaciens* و *Photobacterium phosphoreum* در ماهی باعث تولید ترکیبات نامطلوب مانند تری متیل آمین از تری متیل آمین اکسید می‌شوند [۲]. به همین دلیل برخی از استراتژی‌های اخیر با هدف مهار میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری‌زا توسعه یافته‌اند که یکی از این استراتژی‌ها استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی فعال است [۱]. اصولاً فیلم یا پوشش خوراکی به عنوان لایه‌ای یکپارچه و نازک از مواد خوراکی بر روی مواد غذایی یا میان مواد غذایی قرار داده می‌شود. عملکرد آن‌ها، ایجاد یک سد در مقابل انتقال مواد (آب، گاز و چربی‌ها)، حفظ و انتقال اجزاء مواد غذایی و افزودنی‌ها (رنگ‌ها، طعم‌دهنده‌ها و نظایر آن)، جلوگیری از رشد ریزسازواره‌ها در سطح مواد غذایی و نیز حفاظت مکانیکی آن‌ها می‌باشد. شرایط فرآوری غذا نظیر حرارت، استرس‌های مکانیکی و آسمزی می‌تواند منجر به کاهش قابل توجه زنده‌مانی زیست‌یارها در مواد غذایی شود. اخیراً، افزودن سویه‌های پروبیوتیکی یا زیست‌یارها به فیلم‌های خوراکی به عنوان یک فناوری نوظهور برای حمل سلول‌های زیست‌یار مطرح شده‌اند [۳]. باکتری‌های اسیدلاکتیک گروه هتروژنی از باکتری‌های گرم مثبت هستند که در تولید ترکیبات طعم دار و توسعه طعم نقش اساسی دارند و با تولید مواد ضد میکروبی، باعث افزایش زمان ماندگاری و به تأخیر انداختن فساد می‌شوند [۴]. به‌طور کلی، فاکتورهای مؤثر در بازدارندگی میکروبی توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک، pH پائین، اسیدهای آلی، باکتریوسین‌ها، هیدروژن پراکسید، اتانول، دی‌استیل هستند، که مهم‌ترین این فاکتورها تولید اسیدلاکتیک و اسیداستیک و کاهش pH حاصل از تولید آن‌ها است.

تولید فراورده‌های پروبیوتیک بدون شک یکی از مهم‌ترین کاربردهای LAB<sup>۱</sup> است. باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک شامل گونه‌های لاکتوباسیلوس<sup>۲</sup> و بیفیدوباکتریا<sup>۳</sup> است [۵]. باکتری‌های پروبیوتیک از طریق رشد و فعالیت خود مانع رشد و تکثیر باکتری‌های مضر می‌شوند و علاوه بر آن با سترز برخی مواد ضروری برای بدن مانند ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه و ... نقش مهمی در حفظ سلامتی فرد ایفا می‌کنند. پوشش‌های خوراکی لایه‌های نازکی از مواد هستند که سدی در مقابل انتقال رطوبت، رطوبت و مواد حل شده در غذا ایجاد می‌کنند و می‌توانند توسط مصرف‌کننده خورده شوند. زیست‌بسپارهای تشکیل‌دهنده فیلم شامل پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها (کربوهیدرات و صمغ) و لیپیدها می‌باشند [۶].

آلزینات سدیم پلی ساکاریدی است که از دیواره سلولی نوعی جلبک‌های قهوه‌ای به نام *Phaeophyceae* به دست می‌آید. آلزینات سدیم نمک اسید آلزینیک است که در آب سرد و گرم قابل حل بوده و در واکنش با نمک‌های کلسیم یا اسیدها، ژل‌های غیر قابل برگشت تشکیل می‌دهد. علاوه بر این پوشش‌های آلزیناتی می‌توانند ترکیبات غذایی را از فسادهای اکسیداتیو و تند شدن محافظت کنند [۷]. پروتئین آب پنیر از شیر به دست می‌آید و حلالیت در آب، حفظ عطر، طعم، مزه، رنگ و جلوگیری از فعالیت آنزیم‌ها از جمله خواص کاربردی آن محسوب می‌شود. فیلم و پوشش پروتئین‌های آب پنیر به عنوان کاهش‌دهنده چسبندگی سطحی، حامل آنتی‌اکسیدان‌ها، مانع خوب برای اکسیژن و عامل جلوگیری کننده از اکسایش لیپیدها به کار برده شده‌اند [۸]. امروزه با توجه به آگاهی و تمایل روزافزون مصرف‌کنندگان به خرید محصولات سالم‌تر و مفیدتر، توسعه فرآورده‌های پروبیوتیکی در صنعت از اهمیت زیادی برخوردار است. با مطالعات بیشتر در خصوص شناسایی سویه‌های بومی پروبیوتیک‌ها، پتانسیل‌های آن‌ها و ایجاد بستری مناسب در زمینه‌ی تولید فرآورده‌های مختلف تخمیری و غیر تخمیری، می‌توان از آن‌ها به عنوان یک عامل مؤثر در حل

1. Lactic Acid Bacteria  
2. Lactobacillus  
3. Bifidobacteria

۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه بیوفتومتر اندازه گیری شد [۹]. جذب نوری ۰/۰۸ تا ۰/۱ نانومتر تقریباً معادل  $10^8$  باکتری در هر میلی لیتر در نظر گرفته می شود [۱۰]. پس از تهیه سوسپانسیون و احتساب مقدار ماهی مورد استفاده، مقدار مورد نظر تلقیح که  $10^5$  log CFU/g بود، تعیین گردید.

## ۲-۳- تهیهی محلول پوششی

برای تهیهی محلول پوششی از آلژینات سدیم تجاری (Sigma A 2033) و پودر آب پنیر محصول شرکت DMV هلند استفاده شد. برای تیمار یک و دو، ۱ گرم آلژینات و ۴ گرم پودر آب پنیر و برای تیمار سه و چهار، ۲ گرم آلژینات و ۴ گرم پودر آب پنیر به طور دقیق بر روی ترازوی دیجیتالی وزن گردیدند و هرکدام جداگانه در ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شدند و به منظور انحلال کامل به مدت ۵ دقیقه بر روی هیتز با دمای  $50^\circ\text{C}$  قرار گرفتند. بعد از خنک شدن محلول آلژینات و آب پنیر (تقریباً  $35^\circ\text{C}$  درجه دما کاهش یافت)، محلول باکتری به آرامی به آن ها اضافه شد و به منظور اختلاط کامل کمی هم زده شدند [۱۱].

## ۲-۴- پوشش دهی فیلها

به منظور ایجاد پوشش، فیلها به مدت یک دقیقه در محلول های تهیه شده غوطه ور گردیدند. سپس آن ها را از محلول خارج کرده و پس از اتمام آب چک، جهت خشک کردن پوشش بر روی سطح فیلها از سشوار با درجه حرارت مناسب ( $30^\circ\text{C}$  درجه سانتی گراد) و با رعایت فاصله از سطح فیلها، استفاده شد، این کار تا سه بار انجام شد. در ادامه نمونه ها در زیپ پک نایلونی (Plastic zipper bag)، بسته بندی شدند و در یخچال در دمای  $4 \pm 1^\circ\text{C}$  به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند و در روزهای صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ مورد آنالیز قرار گرفتند. لازم به ذکر است که تیمار بدون پوشش نیز به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد [۱۲].

## ۳- تیمارهای مورد استفاده

تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش در جدول ۱ آورده شده است.

چالش های پیش روی صنعت غذا با چشم انداز امنیت غذایی استفاده نمود و گام های بلندتری را در جهت تولید محصولات فراسودمند جدیدتر برداشت. هدف از انجام این مطالعه ترکیب پوشش با باکتری های پروبیوتیکی و بررسی اثر آن ها بر فیل های ماهی قزل آلائی رنگین کمان به عنوان یک منبع غذایی مفید و بهبود ایمنی غذا، تحقیقی در راستای همین امر یعنی تولید محصولات فراسودمند جدیدتر می باشد.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- تهیه و آماده سازی فیل ماهی

ماهی قزل آلائی رنگین کمان با میانگین وزنی  $350$  گرم به صورت کاملاً تازه از مزرعه پرورشی در شهرستان آمل خریداری شد و با استفاده از جعبه های حاوی یخ در حداقل زمان ممکن به پایلوت فراوری گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل گردید. پس از شستشوی اولیه و سر و دم زنی و تخلیه امعاء و احشاء مجدداً با آب سرد شست و شو داده شدند و ماهیان به فیل های  $50 \pm 5$  گرم و ابعاد  $10 \times 5$  سانتی متر تبدیل گردیدند.

### ۲-۲- تهیهی محلول باکتری

باکتری های *Pediococcus acidilactici* و *Lactobacillus plantarum* به صورت پودر لیوفیلیزه از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران (کلکسیون باکتری و قارچ) تهیه شدند و مقداری از پودر در شرایط استریل به محیط کشت مایع ( $\text{BHI-Broth}^1$ ) اضافه شد و در انکوباتور قرار گرفت تا در طی ۲۴ ساعت در دمای  $35^\circ\text{C}$  درجه سانتی گراد به رشد لگاریتمی برسند. سپس نمونه ها در دور  $5000\text{g}$  در  $4^\circ\text{C}$  و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سپس با محلول رینگر مورد شستشو قرار گرفتند و مجدداً سانتریفیوژ شدند و سه مرتبه این کار تکرار شد. سپس به مدت ۲ تا ۳ دقیقه نمونه ها در ورتکس قرار گرفتند. تعداد اولیه باکتری ها با استفاده از روش کدورت سنجی میزان جذب نور ( $\text{OD}^2$ ) در طول موج

1. Brain Heart Infusion Broth

2. Optical Density

Table 1 Treatment used in this experiment

| Treatments | Sodium alginate percentage | Whey percentage | Type of bacteria                |
|------------|----------------------------|-----------------|---------------------------------|
| Control    | -                          | -               | -                               |
| 1          | 0/5                        | 2               | <i>Pediococcus acidilactici</i> |
| 2          | 0/5                        | 2               | <i>Lactobacillus plantarum</i>  |
| 3          | 1                          | 2               | <i>Pediococcus acidilactici</i> |
| 4          | 1                          | 2               | <i>Lactobacillus plantarum</i>  |

## ۴- آنالیزهای فیزیکی

### ۴-۱- سنجش رنگ

رنگ نمونه‌ها به عنوان مقادیر  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  با استفاده از دستگاه رنگ سنج IMG Pardazesh CAM-System XI اندازه‌گیری شد. پارامترهای رنگ از قبیل  $L^*$  (روشنایی)،  $a^*$  (قرمزی-سبزی) و  $b^*$  (زرد-آبی) برای هر نمونه ۵ بار به صورت تصادفی تکرار گردید و توسط دستگاه قرائت شد [۱۳].

### ۴-۲- سنجش بافت (تست فشردگی)

بافت مواد غذایی به عنوان یکی از مهم‌ترین خصوصیات کیفی محصول، نقش مهمی در پذیرش کلی توسط مصرف کنندگان دارد. در این آزمایش، آنالیز بافت با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری بافت<sup>۱</sup> مجهز به یک پروب استوانه‌ای TA10 (12.7mm D. 35mm L) انجام شد. فیله ماهی با ضخامت  $2/5 \pm 0/5$  سانتی‌متر در زیر پروب قرار گرفت و سپس تا ۳۰٪ ارتفاع اولیه فشرده شد. پارامترهای میزان نیروی وارده به بافت و عمق نفوذ آن به داخل بافت برای سنجش کیفیت و انسجام بافت، با استفاده از نرم‌افزار Texture Pro CT V1.6 Build محاسبه شد.

## ۵- آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS ۲۴ انجام شد. طرح

آماري مورد استفاده کاملاً تصادفی در قالب آزمایش فاکتوریل با سه فاکتور نوع باکتری، نوع پوشش و زمان نگهداری در سطوح مختلف بود. در ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون اسمیرنوف-کولموگراف بررسی شده و در ادامه آزمون آماری Two-Way ANOVA برای بررسی تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها و آزمون دانکن در سطح ۵ درصد به منظور وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها مورد استفاده قرار گرفت. تمام آنالیزها با سه تکرار انجام شد.

## ۶- نتایج

### ۶-۱- ارزیابی رنگ

#### ۶-۱-۱- میزان روشنایی

با توجه به جدول ۲، در طول دوره‌ی نگهداری، میزان روشنایی در تیمار شاهد و تیمار ۱ به طور معناداری افزایش یافت ( $P < 0.05$ )، و در سایر تیمارها کاهش یافت، اما این کاهش معنادار نبود ( $P > 0.05$ ). در ابتدای دوره نگهداری، بین تیمارهای شاهد، ۱ و ۳ و همچنین بین تیمارهای ۲، ۳ و ۴ اختلاف معناداری وجود نداشت ( $P > 0.05$ )، اما بین تیمارهای ۱ و شاهد با تیمارهای ۲ و ۴ اختلاف معنادار وجود داشت ( $P < 0.05$ ). در روز ۲۱، تیمار ۴ با سایر تیمارها دارای اختلاف معنادار بود ( $P < 0.05$ )، اما بین تیمارهای دیگر اختلاف معناداری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

1. Texture Analyzer

**Table 2** Effect of time and different treatments on brightness (L \* value) of rainbow trout fillet containing probiotic coating during refrigerator storage ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ )

| Storage time (days) | Treatments                    |                              |                               |                                |                               |
|---------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
|                     | Control                       | Treatment 1                  | Treatment 2                   | Treatment 3                    | Treatment 4                   |
| 0                   | $55.69 \pm 3.16^{\text{Bb}*}$ | $60.66 \pm 1.06^{\text{Bb}}$ | $61.98 \pm 2.27^{\text{Aa}}$  | $59.07 \pm 2.08^{\text{ABa}}$  | $59.84 \pm 3.63^{\text{Aa}}$  |
| 7                   | $59.10 \pm 6.04^{\text{Ab}}$  | $54.16 \pm 2.24^{\text{Bc}}$ | $53.31 \pm 2.13^{\text{Bc}}$  | $57.14 \pm 85.67^{\text{Bab}}$ | $61.03 \pm 6.04^{\text{ABa}}$ |
| 14                  | $56.09 \pm 1.54^{\text{Ab}}$  | $55.31 \pm 3.75^{\text{Ac}}$ | $57.64 \pm 1.02^{\text{Ab}}$  | $55.15 \pm 2.49^{\text{Ab}}$   | $56.86 \pm 5.64^{\text{Aa}}$  |
| 21                  | $64.96 \pm 3.02^{\text{Ca}}$  | $64.89 \pm 3.76^{\text{Ca}}$ | $58.79 \pm 3.94^{\text{Cab}}$ | $59.78 \pm 2.41^{\text{Ca}}$   | $56.52 \pm 2.25^{\text{Aa}}$  |

\*Values are mean  $\pm$  standard deviation of three determinations (n=3).Capital letters in the same line indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) of treatments.Small letters in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) of storage.دادند ( $P < 0.05$ )، همچنین بین تیمارهای ۲ و ۴ اختلاف

معناداری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). داده‌ها نشان می‌دهد که میزان قرمزی فیله‌های تیمار شده (دارای پوشش) اگرچه در طول روزهای نگهداری نوساناتی را نشان داد، اما پس از ۲۱ روز نگهداری در یخچال، به‌طور معناداری نسبت به روز صفر افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). در تیمار شاهد پس از ۲۱ روز نسبت به روز صفر تفاوت معناداری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

**۶-۱-۲- میزان قرمزی/سبزی**

با توجه به جدول ۳، در ابتدای آزمایش تیمار ۱ نسبت به تیمارهای شاهد، ۲ و ۴ قرمزی کمتری داشت ( $P < 0.05$ ) و بین تیمارهای شاهد، ۲ و ۴ تفاوت معناداری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ )، همچنین بین تیمارهای ۱ و ۳ نیز تفاوت معنادار نبود ( $P > 0.05$ ). در انتهای دوره‌ی نگهداری، تیمار ۳ با سایر تیمارها اختلاف معنادار داشت ( $P < 0.05$ ). تیمار شاهد و تیمار ۱ به‌طور معناداری از سایر تیمارها قرمزی کمتری را نشان

**Table 3** Effect of time and different treatments on redness / greenness (a \* value) of rainbow trout fillet containing probiotic coating during refrigerator storage ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ )

| Storage time (days) | Treatments                   |                              |                              |                              |                              |
|---------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                     | Control                      | Treatment 1                  | Treatment 2                  | Treatment 3                  | Treatment 4                  |
| 0                   | $13.81 \pm 2.33^{\text{Aa}}$ | $9.38 \pm 1.12^{\text{Bc}}$  | $14.40 \pm 1.83^{\text{Ab}}$ | $12.52 \pm 2.09^{\text{Bb}}$ | $14 \pm 2.99^{\text{Abc}}$   |
| 7                   | $11.71 \pm 3.84^{\text{Ba}}$ | $19.79 \pm 1.78^{\text{Ba}}$ | $24.61 \pm 2.77^{\text{Aa}}$ | $10.34 \pm 2.24^{\text{Bb}}$ | $12.21 \pm 2.78^{\text{Bc}}$ |
| 14                  | $15.22 \pm 1.52^{\text{Ba}}$ | $21.12 \pm 3.75^{\text{Aa}}$ | $17.36 \pm 1.51^{\text{Bb}}$ | $21.44 \pm 2.63^{\text{Aa}}$ | $17.17 \pm 4.77^{\text{Bb}}$ |
| 21                  | $12.49 \pm 2.70^{\text{Ba}}$ | $11.95 \pm 1.99^{\text{Bb}}$ | $20.49 \pm 2.56^{\text{Aa}}$ | $20.49 \pm 2.56^{\text{Ca}}$ | $22.34 \pm 2.49^{\text{Aa}}$ |

\*Values are mean  $\pm$  standard deviation of three determinations (n=3).Capital letters in the same line indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) of treatments.Small letters in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) of storage.تیمارهای ۳ و ۴ در روز ۷ معنادار نبود ( $P > 0.05$ ). در روز ۱۴،

بین مابقی تیمارها اختلاف معناداری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). در روز بیست و یکم، تیمار ۱ با تیمارهای ۳ و ۴ اختلاف معنادار داشت ( $P < 0.05$ )، اما با تیمار ۲ اختلاف معناداری نداشت ( $P > 0.05$ ). بین تیمار ۲ و تیمار ۳ و همچنین بین تیمار ۳ و ۴ نیز اختلاف معناداری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). در طول ۲۱ روز نگهداری در یخچال میزان زردی نسبت به روز صفر، در تمام تیمارها کاهش نشان داد ( $P < 0.05$ ).

**۶-۱-۳- میزان زردی/آبی**

در ابتدای آزمایش کمترین میزان زردی مربوط به تیمار شاهد بوده است و تیمار ۲ بیشترین مقدار زردی را نشان داد ( $P < 0.05$ ) که با تیمار ۳ و ۴ تفاوت معناداری نداشت ( $P > 0.05$ )، بین تیمارهای شاهد، ۱ و ۲ نیز اختلاف معنادار وجود داشت ( $P < 0.05$ ) (جدول ۴). در روز ۷، ۱۴ و ۲۱، بین تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنادار وجود داشت ( $P < 0.05$ )، اما اختلاف بین تیمارهای ۱ و ۲ و همچنین بین

**Table 4** Effect of time and different treatments on yellowness / blueness (b \* value) of rainbow trout fillet containing probiotic coating during refrigerator storage ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ )

| Storage time (days) | Treatments                     |                                |                                 |                                 |                                 |
|---------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
|                     | Control                        | Treatment 1                    | Treatment 2                     | Treatment 3                     | Treatment 4                     |
| 0                   | 21.7 $\pm$ 4.58 <sup>Ca*</sup> | 47.34 $\pm$ 2.11 <sup>Ba</sup> | 52.53 $\pm$ 1.04 <sup>Aa</sup>  | 50.4 $\pm$ 1.95 <sup>ABa</sup>  | 50.55 $\pm$ 2.07 <sup>ABa</sup> |
| 7                   | 21.77 $\pm$ 2.54 <sup>Cb</sup> | 47.82 $\pm$ 4.84 <sup>Aa</sup> | 49.05 $\pm$ 2.13 <sup>Aa</sup>  | 33.68 $\pm$ 2.82 <sup>Bb</sup>  | 34.25 $\pm$ 2.26 <sup>Bb</sup>  |
| 14                  | 19.98 $\pm$ 3.42 <sup>Bb</sup> | 37.17 $\pm$ 4.28 <sup>Ab</sup> | 34.18 $\pm$ 1.87 <sup>Ab</sup>  | 33.59 $\pm$ 3.07 <sup>Ab</sup>  | 33.92 $\pm$ 5.65 <sup>Ab</sup>  |
| 21                  | 19.35 $\pm$ 1.79 <sup>Db</sup> | 31.09 $\pm$ 1.42 <sup>Cc</sup> | 32.77 $\pm$ 4.45 <sup>BCb</sup> | 36.05 $\pm$ 1.36 <sup>ABb</sup> | 38.72 $\pm$ 2.88 <sup>Ab</sup>  |

\*Values are mean  $\pm$  standard deviation of three determinations (n=3).Capital letters in the same line indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) of treatments.Small letters in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) of storage.۴ با سایر تیمارها اختلاف معنادار داشت ( $P < 0.05$ ). بین تیمار**۶-۲- ارزیابی بافت**۱ و ۲ اختلاف معناداری وجود نداشت ( $P > 0.05$ ), اما نسبت**۶-۲-۱- نیروی نفوذ**

به تیمار شاهد و تیمار ۳ دارای اختلاف معنادار بودند

( $P < 0.05$ ). بین تیمار شاهد و تیمار ۳ نیز اختلاف معناداری

در روز صفر، تیمار ۳ با سایر تیمارها اختلاف معنادار داشت

( $P < 0.05$ ), اما بین تیمارهای دیگر اختلاف معناداری وجودنداشت ( $P > 0.05$ ) (جدول ۵). در انتهای زمان نگهداری، تیمارمشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).**Table 5** Effect of time and different treatments on hardness cycle (g) of rainbow trout fillet containing probiotic coating during refrigerator storage ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ )

| Storage time (days) | Treatments                      |                                |                               |                                |                               |
|---------------------|---------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
|                     | Control                         | Treatment 1                    | Treatment 2                   | Treatment 3                    | Treatment 4                   |
| 0                   | 420 $\pm$ 0.07 <sup>Bb*</sup>   | 225 $\pm$ 4.5 <sup>Bc</sup>    | 304 $\pm$ 10.61 <sup>Bb</sup> | 835 $\pm$ 125 <sup>Aa</sup>    | 416 $\pm$ 57.79 <sup>Ba</sup> |
| 7                   | 1090 $\pm$ 366.18 <sup>Aa</sup> | 864 $\pm$ 210 <sup>Aa</sup>    | 504 $\pm$ 38.89 <sup>Ba</sup> | 586 $\pm$ 89 <sup>Bab</sup>    | 346 $\pm$ 10.38 <sup>Ba</sup> |
| 14                  | 792 $\pm$ 60.81 <sup>Aa</sup>   | 636 $\pm$ 190.12 <sup>Bb</sup> | 409 $\pm$ 1.41 <sup>CDa</sup> | 310 $\pm$ 65 <sup>Db</sup>     | 462 $\pm$ 8.48 <sup>Ca</sup>  |
| 21                  | 1034 $\pm$ 139.1 <sup>Aa</sup>  | 102 $\pm$ 5.65 <sup>Cc</sup>   | 106 $\pm$ 0.7 <sup>Cc</sup>   | 838 $\pm$ 161.22 <sup>Aa</sup> | 432 $\pm$ 67.29 <sup>Ba</sup> |

\*Values are mean  $\pm$  standard deviation of three determinations (n=3).Capital letters in the same line indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) of treatments.Small letters in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) of storage.( $P < 0.05$ ), در حالی که بین تیمارهای دیگر اختلاف معناداری**۶-۲-۲- عمق نفوذ**وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). در روز ۷، ۱۴ و ۲۱، بین تیمار شاهدو تیمارهای ۳ و ۴ اختلاف معناداری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ),اما با تیمارهای ۱ و ۲ دارای اختلاف معنادار بودند ( $P < 0.05$ ),

به جزء در روز ۲۱ که بین تیمار ۴ و تیمار ۱ اختلاف معناداری

وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). همچنین بین تیمار ۱ و ۲ نیز در اینروزها، اختلاف معنادار وجود داشت ( $P < 0.05$ ).

در طول دوره نگهداری، عمق نفوذ در تیمارهای شاهد، ۱ و

۴ کاهش یافت، این کاهش در تیمار ۱ و ۴ معنادار بود

( $P < 0.05$ ), اما در تیمار شاهد تفاوت معناداری را نشان نداد( $P > 0.05$ ). عمق نفوذ در تیمارهای ۲ و ۳ افزایش یافت، امااین افزایش معنادار نبود ( $P > 0.05$ ) (جدول ۶). در روز صفر،

اختلاف معناداری بین تیمار ۲ و سایر تیمارها مشاهده شد

**Table 6** Effect of time and different treatments on deformation at hardness (mm) of rainbow trout fillet containing probiotic coating during refrigerator storage ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ )

| Storage time (days) | Treatments                     |                               |                               |                               |                                |
|---------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
|                     | Control                        | Treatment 1                   | Treatment 2                   | Treatment 3                   | Treatment 4                    |
| 0                   | 5.99 $\pm$ 0.07 <sup>Aa*</sup> | 5.99 $\pm$ 0.07 <sup>Ac</sup> | 5.81 $\pm$ 0.26 <sup>Bb</sup> | 5.99 $\pm$ 0.07 <sup>Aa</sup> | 5.99 $\pm$ 0.0 <sup>Aa</sup>   |
| 7                   | 5.93 $\pm$ 0.07 <sup>Cc</sup>  | 8.95 $\pm$ 0.07 <sup>Ab</sup> | 8.12 $\pm$ 1.21 <sup>Ba</sup> | 6 $\pm$ 0.0 <sup>Ca</sup>     | 6 $\pm$ 0.0 <sup>Ca</sup>      |
| 14                  | 5.93 $\pm$ 0.07 <sup>Cc</sup>  | 8.97 $\pm$ 0.01 <sup>Ad</sup> | 8.62 $\pm$ 0.5 <sup>Ba</sup>  | 5.99 $\pm$ 0.07 <sup>Ca</sup> | 5.99 $\pm$ 0.07 <sup>Ca</sup>  |
| 21                  | 5.98 $\pm$ 0.07 <sup>Aa</sup>  | 5.94 $\pm$ 0.0 <sup>Ba</sup>  | 5.9 $\pm$ 0.05 <sup>Cb</sup>  | 6 $\pm$ 0.0 <sup>Aa</sup>     | 5.96 $\pm$ 0.03 <sup>ABb</sup> |

\*Values are mean  $\pm$  standard deviation of three determinations (n=3).Capital letters in the same line indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) of treatments.Small letters in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) of storage.

## ۶-۲-۳- استحکام بافت

در ابتدای دوره‌ی نگهداری (روز صفر)، تیمار ۳ با سایر تیمارها دارای اختلاف معنادار بود ( $P < 0.05$ )، در حالی که بین تیمارهای دیگر اختلاف معناداری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ )

(جدول ۷). در روز ۲۱، تیمار ۴ با سایر تیمارها دارای اختلاف معنادار بود ( $P < 0.05$ ). بین تیمار شاهد و تیمار ۳ و همچنین بین تیمارهای ۱ و ۲ در این زمان، اختلاف معناداری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

**Table 7** Effect of time and different treatments on firmness (g/mm) of rainbow trout fillet containing probiotic coating during refrigerator storage ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ )

| Storage time (days) | Treatments                      |                                 |                                 |                                   |                                 |
|---------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
|                     | Control                         | Treatment 1                     | Treatment 2                     | Treatment 3                       | Treatment 4                     |
| 0                   | 2518 $\pm$ 96.44 <sup>Bb*</sup> | 1351 $\pm$ 39.74 <sup>Bc</sup>  | 1789 $\pm$ 956.88 <sup>Bb</sup> | 5022 $\pm$ 266.23 <sup>Aa</sup>   | 2494 $\pm$ 219.08 <sup>Ba</sup> |
| 7                   | 6466 $\pm$ 276.24 <sup>Aa</sup> | 7740 $\pm$ 184.53 <sup>Aa</sup> | 4120 $\pm$ 929.37 <sup>Ba</sup> | 3519 $\pm$ 538.81 <sup>BCab</sup> | 2076 $\pm$ 644.88 <sup>Ca</sup> |
| 14                  | 4700 $\pm$ 355.31 <sup>Aa</sup> | 5780 $\pm$ 167.19 <sup>Ab</sup> | 3525 $\pm$ 220.41 <sup>Ba</sup> | 1858 $\pm$ 392.18 <sup>Cb</sup>   | 2769 $\pm$ 47.6 <sup>BCa</sup>  |
| 21                  | 6192 $\pm$ 188.05 <sup>Aa</sup> | 605 $\pm$ 33.6 <sup>Cc</sup>    | 628 $\pm$ 1.85 <sup>Cc</sup>    | 5028 $\pm$ 967.32 <sup>Aa</sup>   | 2583 $\pm$ 228.58 <sup>Ba</sup> |

\*Values are mean  $\pm$  standard deviation of three determinations ( $n=3$ ).

Capital letters in the same line indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) of treatments.

Small letters in the same column indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) of storage.

## ۷- بحث

نتایج حاصل از پژوهش نشان داده است که تیمارهای حاوی پوشش و سویه‌های پروبیوتیکی بخصوص در درصد‌های بالاتر آلزینات و آب پنیر از لحاظ شاخص‌های فیزیکی (رنگ و بافت) نسبت به تیمار شاهد شرایط بهتری داشت. عواملی مانند اکسیداسیون چربی‌ها، دناتره شدن و فساد پروتئین‌ها و نیز رشد میکروب‌ها و اثری که بر روی بافت فیله‌ی ماهی می‌گذارند، می‌توانند از جمله عوامل مؤثر بر تغییر شاخص‌های رنگ فیله‌ی ماهی در طی دوره‌ی نگهداری باشند [۱۴]. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات صورت گرفته توسط López de Lacey و همکاران (۲۰۱۴)، [۱۵] که برای افزایش ماندگاری فیله ماهی هیک از پوشش آگار حاوی عصاره چای سبز و باکتری‌های پروبیوتیکی استفاده کردند، همخوانی ندارد. در تحقیق حاضر میزان روشنایی تنها در تیمار ۳ و ۴ فاقد اختلاف معنادار بود ( $P > 0.05$ ) و تقریباً روند ثابتی داشت در حالی که در تحقیق López de Lacey و همکاران (۲۰۱۴)، تمام نمونه‌ها در طول دوره‌ی نگهداری میزان روشنایی ( $L^*$ ) ثابتی داشتند، اگرچه در برخی از موارد اختلاف معنادار مشاهده شد، اما اختلاف بیشتر از ۱۰ درصد نبود. در تحقیق انجام شده، با گذشت زمان قرمزی در تمامی تیمارها به جز تیمار شاهد نسبت به روز صفر، افزایش پیدا کرد ( $P < 0.05$ ). افزایش قرمزی در طی دوره‌ی نگهداری، جزء خصوصیات مطلوب فیله به شمار می‌رود که این امر در فیله‌های پوشش داده شده، مشاهده شد که علت آن را می‌توان به اثرات فعالیت باکتری‌های پروبیوتیکی در بافت فیله نسبت داد. نتایج این مطالعه با نتایج

مطالعات López de Lacey و همکاران (۲۰۱۴) و Vatavali و همکاران (۲۰۱۲)، [۱۶] که در آن‌ها قرمزی در پایان دوره‌ی نگهداری کاهش داشته، مطابقت ندارد. میزان زردی در تمامی نمونه‌ها در طی دوره‌ی نگهداری نسبت به روز صفر، کاهش پیدا کرد ( $P < 0.05$ ). نتایج این تحقیق با نتایج López de Lacey و همکاران (۲۰۱۴) همخوانی ندارد. در رابطه با استحکام بافت، دو پارامتر نیروی نفوذ و عمق نفوذ از اهمیت بالایی برخوردار هستند، زیرا بیانگر میزان انسجام یا به هم پیوستگی بافت می‌باشند [۱۷]. پارامترهای بیولوژیکی بنیادی، اساساً بر روی ترکیبات عضله از قبیل محتوای لیپید و کلاژن بافت ماهی تأثیر می‌گذارند. به علاوه، تجزیه پروتئین میوفیبریل در اثر فعالیت‌های اتولیتیک و میکروبی پس از مرگ، توانسته سبب کاهش کیفیت بافت ماهی شود [۱۸]. در خصوص شاخص‌های بافت مانند نیرو، عمق نفوذ و استحکام نیز استفاده از پوشش پروبیوتیکی در درصد‌های بالاتر آلزینات منجر به حفظ بهتر کیفیت بافت فیله نسبت به سایر تیمارها گردید. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات Li و همکاران (۲۰۱۲) و Martínez و همکاران (۲۰۱۷)، [۱۹] در ارتباط با شاخص‌های بافت مطابقت دارد. به طور کلی، استفاده از درصد‌های بالاتر آلزینات سدیم حاوی باکتری‌های پروبیوتیکی (تیمارهای ۳ و ۴) می‌تواند برای نگهداری بهتر فیله‌ها در طول ذخیره‌سازی در یخچال توصیه شود.

## ۸- نتیجه‌گیری

بر اساس مطالعاتی که از قبل در این زمینه بر روی شاخص‌های

- [2] López-Caballero, M. E., Álvarez Torres, M. D., Sánchez-Fernández, J. A., Moral, A. 2002. *Photobacterium phosphoreum* isolated as a luminescent colony from spoiled fish, cultured in model system under controlled atmospheres. *European Food Research and Technology*, 215(5): 390-395.
- [3] Abdollahzade E., Ojagh SM., Imani Fooladi AA., Shabanpour B., Gharraei M. 2018. Effects of Probiotic Cells on the Mechanical and Antibacterial Properties of Sodium-Caseinate Films. *Applied Food Biotechnology*, 5(3): 155-162.
- [4] Medical sciences university of shahid beheshti. 2009. Probiotic as product of bacterial and human companionship. *Assistance food and drug*.
- [5] Vejdani, R., Zali, M.R. 2003. Probiotics and the mechanism of their effect on the prevention and treatment of diseases man. *Research Journal of Faculty of Medicine. Shahid Beheshti University of Medical Sciences*, 27(4): 319-330.
- [6] Seifzadeh, M., Matlabi, A.A. 2012. Effects of using of mixing cover of whey protein and sodium alginate on Kilka fish (*Clupeonella delicatula*) quality changing in cooling storage. *Journal of Aquatic Animals and Fisheries*, 8(2): 39-88.
- [7] Kaster, J., Fennema, O. 1986. A review: Edible films and coatings. *Food technology*, 40(12): 47-59.
- [8] Mortazavian, A.M., Azizi, H., Sohrabvandi, S. 2010. A review: Applicational edible films in food. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 1, 111-131.
- [9] Alinejad A., Jafarpour SA., Yeganeh S., Safari R. 2013. Microbial and biochemical characteristics of fermented Fish sausage from common carp (*Cyprinus carpio*) mince by application of *Pediococcus pentasaceus* at different incubation temperatures. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 22(2): 35-46.
- [10] Abdollahzadeh, E., Rezaei, M., Hosseini, H., (2014). Antibacterial activity of plant essential oils and extract : the role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish. *Food Control*, 35, 177-183.
- [11] Soukoulis, C., Yonekura, L., Gan, H., Behboudi-Jobbehdar, S., Parmenter, C., and Fisk, I. 2014. Probiotic edible films as a new strategy for developing functional bakery products: The case of pan bread. *Food Hydrocolloids*, 39, 231-242.

فیزیکی انجام شد، انتظار می‌رفت که استحکام بافت در پایان دوره‌ی نگهداری، در تیمار شاهد کاهش و در تیمارهای حاوی پوشش پروبیوتیکی افزایش پیدا کند، در حالی که استحکام بافت در تیمار شاهد به همراه تیمارهای ۳ و ۴ افزایش یافت و بالاترین میزان استحکام را نسبت به تیمارهای ۱ و ۲ داشت ( $P < 0.05$ ). علت تفاوت در روند تغییرات شاخص‌های بافت در طی زمان نگهداری در تیمارهای مختلف را می‌توان علاوه بر تجزیه‌ی پروتئین‌های میوفیبریل که باعث کاهش کیفیت بافت فیله‌ی ماهی می‌شود، به ناهمگن بودن بافت فیله و همچنین حساسیت بالای دستگاه بافت سنج نسبت داد که حتی به ارتعاشات نیز حساس است (مقدار بافت پیوندی در قسمت‌های مختلف فیله متفاوت است). با این وجود سعی زیادی شده که سنجش بافت فیله با کمترین میزان خطا اندازه‌گیری شود. در ارتباط با شاخص‌های رنگ بر اساس مطالعات انجام شده، به نتایج مطلوبی رسیدیم که افزایش روشنایی و قرمزی و کاهش زردی از مزایای استفاده از پوشش حاوی سوبه‌های پروبیوتیکی است. در کل پوشش خوراکی آلژینات سدیم و آب‌پنیر حاوی باکتری‌های پروبیوتیکی می‌تواند برای بهبود و کنترل برخی از شاخص‌های فساد مفید واقع شود. با این پوشش پروبیوتیکی می‌توان ماندگاری فیله‌ی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در یخچال را به مدت حداقل یک هفته افزایش داد. امیدواریم در سال‌های آتی بتوان از پوشش‌های پروبیوتیکی به منظور بهبود افزایش سلامت غذا و دادن ارزش افزوده در زمینه‌ی تولید فرآورده‌های شیلاتی دیگر به صورت گسترده استفاده کرد.

## ۹- تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و اساتید گران‌قدری که در انجام این تحقیق یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

## ۱۰- منابع

- [1] Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., Montero, P. 2010. Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27(7): 889-896.



- sensory attributes of Red porgy (*Pagrus pagrus*) stored in ice. Food and Bioprocess Technology, 6, 3310-3521.
- [17] Badfar, N., Jafarpour, S.A. 2017. Texture and microstructure of surimi gel of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), affected by the use of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) during the washing of minced meat. Fisheries, Iranian Natural Resources Journal, 70(3): 274-283.
- [18] Li, T., Li, J., H, W., Z, X., Li, X., Z, J. 2012. Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. Food Chemistry, 135, 140-145.
- [19] Martínez, O., Salmerón, J., Epelde, L., Vicente, M.S., De-Vega, C. 2017. Quality enhancement of smoked sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets by adding resveratrol and coating with chitosan and alginate edible films. Food Control, 1-36.
- [12] Khezri Ahmadabad, M., Rezaei, M., Ojagh, S. M. 2015. The effect of whey protein edible coating on microbial quality of rainbow trout fillet during cold storage. JFST, 49(12): 11-20.
- [13] Nollet, L. M. L., Toldra, F. 2010. Sensory analysis of foods of animal origin (illustration): CRC Press.
- [14] Taghizadeh Andevvari, G., Rezaei, M. 2012. Effect of gelatin coatings on chemical, microbial and sensory properties of refrigerated rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*). JFST, 37(9): 67-76.
- [15] López- De Lacey, A.M., López-Caballero, M.E., Montero, P. 2014. Agar films containing green tea extract and probiotic bacteria for extending fish shelf-life. LWT - Food Science and Technology, 55, 559-564.
- [16] Vatavali, K., Karakosta, L., Georgantelis, D., Kontominas, M. G. 2012. Combined effect of chitosan and oregano essential oil dip on the microbiological, chemical and

## Evaluation of the effects of edible coating of Sodium alginate and Whey protein containing Lactic acid bacteria of *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus plantarum* on physical parameters of rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*)

Alizadeh, S.<sup>1\*</sup>, Jafarpour, S. A.<sup>2</sup>, Yeganeh, S.<sup>2</sup>, Safari, R.<sup>3</sup>

1. M.Sc Graduate, Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari-Iran
2. Associate Professor. Department of Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari-Iran
3. Academic staff, Caspian Sea Ecology Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Sari-Iran.

(Received: 2017/09/10 Accepted:2017/11/12)

This research carried out to study the effects of using edible coating of sodium alginate and whey protein containing lactic bacteria *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus plantarum* to increase the storage of rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*) at refrigerated temperature and to evaluate the physical parameters of the fillets. Thus, the physical parameters such as color and texture of fillets were investigated at 0, 7, 14 and 21 days. Results showed that, the color index ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) and texture index (hardness cycle, deformation at hardness, and firmness) in treated fillets were better than control. In other words, the use of the coating containing lactic bacteria caused an increase in the index of redness of the fillet and decreased the yellowness index on the 21st day. In terms of texture indices such as hardness cycle, deformation at hardness, and firmness, the use of coating containing lactic bacteria in higher percentages of alginates and whey protein resulted in better preservation of fillet tissue quality than other treatments.

**Keywords:** Physical parameter, Lactic acid bacteria, Rainbow trout fillet, Color, Texture

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: alizadehsahar17@gmail.com