(مقاله پژوهشی)

تاثیر پوشش‌دهی ماهی قزل‌آلا با عصاره‌های‌چای، کیتوزان وچای دارچین-کیتوزان بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی‌آن

مریم حقیقی[1]، صدیقه یزدان پناه[1*]

۱-گروه علوم و صنایع غذایی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۲۷ تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۰۵/۱۶

چکیده

با توجه به فساد سریع ماهی، استفاده از روش‌های نوین بسته‌بندی مثل پوشش‌دهی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ضروری است. کیتوزان به عنوان یک نگه‌دارنده طبیعی به دلیل خاصیت تجدیدپذیری و ساختار مشابه آن با سلولز، مورد استقبال زیادی قرار گرفته است. همچنین ترکیبات فنلی در چای و دارچین و خاصیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن در بسته‌بندی مواد پروتئینی که مستعد فسادپذیری بالایی هستند، مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش عصاره‌های چای ۰/۰۵٪، چای دارچین ۰/۰۵٪، محلول چای دارچین- کیتوزان ۲٪ تهیه شد. شاخص‌های اکسیداسیون، تغییرات شیمیایی، آنالیز میکروبی و طیف سنجی FTIR بر فیله ماهی قزل‌آلا پوشش داده شده با عصاره‌ها در روزهای۰،۵ ، ۱۵،۲۰ در طی نگهداری در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) بررسی شد. نتایج نشان داد که پوشش‌های حاوی عصاره‌ها و کیتوزان اثرات معنی‌داری در سطح ۵٪ در کاهش بار میکروبی، بازهای ازته فرار و تیوباربیوتوریک اسید داشت. براساس یافته های FTIR نمونه شاهد بالاترین میزان اکسیداسیون و نمونه تیمار شده با عصاره کیتوزان، چای و چای دارچین کم‌ترین میزان اکسیداسیون را نشان دادند. پوشش‌دهی فیله ماهی قزل‌آلا با عصاره چای و چای دارچین، موجب افزایش خواص ضدمیکروبی شد، اما ترکیب آن با یک آنتی‌اکسیدان قوی مثل کیتوزان اثر بخشی بالاتری داشت. بنابراین پوشش دهی با چای دارچین-کیتوزان برای بهبود کیفیت فیله ماهی و افزایش زمان ماندگاری آن می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، چای، کیتوزان، ماهی.

۱-مقدمه

غذاهای آماده مصرف، اغلب در معرض آلودگی سطحی هستند،که موجب کاهش ماندگاری آن‌ها می‌شود (۶). ماهی یکی از منابع مهم و با ارزش پروتئین، چربی و انرژی است (۵). فرآورده‌های حاصل از ماهیان جزء غذاهایی با فسادپذیری بالا هستند و نسبت به سایر غذاهای گوشتی سریع‌تر فاسد می‌شوند (۸). لیپوکسیدازهای موجود در بعضی از میکروارگانیسم‌ها واکنش بین اسیدچرب و اکسیژن را فعال می‌سازد که طعم خاص برگشت طعم چربی‌ها به دلیل وجود آلدهیدها و کتون‌های ناشی از این واکنش‌ها می‌باشد (۸). علاوه بر این فساد در محصولات دریایی تحت تأثیر فاکتورهای داخلی و خارجی مثل غلظت ترکیبات حساس به اکسیداسیون، ترکیبات آهن‌دار درونی، میوگلوبین، آنزیم‌ها، pH، درجه حرارت، قدرت یونی و حضور اکسیژن می‌باشد (۵). امروزه به دلیل افزایش آگاهی جهت جلوگیری و یا به تعویق انداختن فساد ماهی و افزایش ماندگاری آن استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی که حاوی ترکیبات فنولی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند مورد توجه قرار گرفته است (۷). به‌منظور افزایش کیفیت ماندگاری موادغذایی روش‌های مختلفی در صنایع غذایی به کار می رود. ماهی قزل‌آلا، از نوع ماهی‌های سردآبی است و در زیرگروه ماهی‌های آزاد جای می‌گیرد. قزل‌آلا یکی از مطلوب‌ترین‌آبزیان پرورشی می‌باشد. این ماهی به طور طبیعی دارای میزان قابل توجهی اسیدهای‌چرب چند غیر اشباع زنجیره بلند می‌باشد. عمده‌ترین عوامل فساد ماهی قزل‌آلا اکسیداسیون چربی‌ها و فساد هیدرولیتیک، رشد میکروارگانیسم‌ها و تجزیه پروتئین‌ها می‌باشد (۱۵). چای حاوی پلی‌فنل‌ها (کاتچین‌ها و فلاوونوئیدها) و آلکالوئیدها (کافئین، تئوروبین، تئوفیلین و غیره) است (۹). پلی‌فنل‌ها از فلاوونوئیدهای موجود در چای بوده و مسئول خصوصیات سلامت‌بخشی آن هستند. ترکیبات فنولی یک گروه از متابولیت‌های ثانویهٔ آروماتیک گیاهی‌اند که به طور گسترده در سراسر گیاه پخش شده‌اند و تأثیرات بیولوژیکی متعددی چون فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی دارند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولیک در گیاهان عمدتا به علت ویژگی‌های اکسایش-کاهش و ساختار شیمیایی آنها است که نقش مهمی در خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد، احاطه‌کردن فلزات انتقالی و فرونشاندن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه از طریق تغییر مکان یا تجزیهٔ پراکسیدها را دارند. فلاونوئیدها به شکل آزاد و گلیکوزیدی یافت می‌شوند و بزرگترین گروه فنول‌های موجود در طبیعت را تشکیل می‌دهند (۱۴). کیتوزان یک کوپلیمر از گلوکز آمین و N- استیل- D- گلوکزآمین است که به‌وسیله N- دی استیلاسیون کیتین از ضایعات خرچنگ و میگو تهیه می-شود.کیتوزان، یک بیوپلیمر طبیعی با خواص فیزیکی و شیمیایی کاملاً متفاوت از کیتین است. کیتوزان خاصیت انحلال پذیری درمحلول‌های رقیق اسیدی و حلال‌های آلی دارد. معمولی ترین حلال کیتوزان اسید استیک ۱ تا ۲ درصد است که تشکیل کمپلکس همگن می‌دهد. ازسوی دیگر کیتوزان از استیل‌زدایی کیتین، که یکی از فراوان‌ترین پلیمرهای طبیعی است به دست می‌آید. این ماده به عنوان یک منبع مهم تجدیدپذیر و دومین پلیمر زیستی طبیعی فراوان پس از سلولز است که امکان تشکیل ترکیبات پیچیده با یون‌های فلزی و هیدروکربورهای آروماتیکی را دارد (۲۱). ترکیب عوامل نگهدارنده طبیعی موجب می‌شود، این عوامل به آرامی به سطح غذا آزاد شده و اثر آن‌ها برای مدت طولانی‌تری باقی بماند (۳). با توجه به حساسیت گوشت‌ماهی در برابر فساد می‌توان از ترکیبات طبیعی استفاده کرد و محصولی با کیفیت‌تر به‌دست مصرف کننده رساند. همچنین امروزه استفاده از پوشش‌های خوراکی طبیعی مختلف به‌تنهایی و یا به عنوان حامل مواد فعال (مانند مواد ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدان‌ها، مواد مغذی، طعم دهنده‌ها، آنزیم‌ها و رنگ‌ها) در محصولات غذایی مختلف به عنوان موادی با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی مورد توجه قرار گرفته است (۲۴). در این زمینه لوپز و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی مخلوط کیتوزان- ژلاتین به عنوان پوشش بر روی نمونه‌های ماهی به این نتیجه دست یافتند که پوشش ژلاتین باعث کاهش اسیدهای چرب آزاد، کاهش رشد میکروبی و اکسیداسیون چربی در ماهی شده است (۱۶). اجاق و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه‌ای تاثیر

پوشش کیتوزان غنی شده با اسانس دارچین بر شاخص‌های میکروبی، شیمیایی و حسی ماهی قزل‌آلا طی نگهداری در سردخانه را بررسی کرد و نتایج حاصل نشان داد که پوشش کیتوزان و اسانس خواص مطلوبی را همراه با افزایش زمان ماندگاری ماهی در یخچال نشان داده است (۱۹). جعفر پور و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی ویژگی‌های بافتی و رنگ فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان با استفاده از پوشش خوراکی کیتوزان حاوی اسانس مرزنجوش در طول دوره نگهداری در یخچال پرداختند و به این نتیجه دست یافت که پوشش دهی فیله قزل‌آلای رنگین کمان با اسانس مرزنجوش موجب افزایش خواص ضدمیکروبی و ضداکسیداسیونی آن می‌شود و به طور معنی‌داری کیفیت شاخص‌های رنگ و بافت فیله این ماهی را در طول نگهداری در یخچال حفظ می‌کند (۱۲). با توجه به تقاضای مصرف‌کنندگان جهت استفاده از مواد خوراکی با کیفیت بالا و نگرانی آنها به دلیل مشکالت ناشی از مصرف نگهدارنده‌های مصنوعی، ایده استفاده از پوشش‌های زیست‌کافت با خواص‌آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی به‌عنوان جایگزینی مناسب در نظر گرفته شده است. لذا در این تحقیق به منظور افزایش زمان ماندگاری ماهی از پوشش‌های خوراکی طبیعی استفاده شده است. هدف از این پژوهش استخراج و آماده‌سازی عصاره‌های چای، چای دارچین و محلول چای دارچین- کیتوزان است و سپس شاخص اکسیداسیون (اسید تیوباربیوتوریک)، تغییرات پروتئین، بازهای ازت فرار، آنالیز میکروبی ، طیف سنجی FTIR[1] و همپوشانی نتایج سایر آزمون‌ها با نتایج طیف سنجی FTIR بر فیله ماهی قزل‌آلای پوشش داده شده با چای ، چای دارچین و محلول چای دارچین- کیتوزان در روزهای ۰، ۵، ۱۵ و ۲۰ در طی نگهداری در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) مورد مطالعه قرار گرفته است.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱-مواد اولیه

پودر چای سیاه خشک عربی حاصل از گیاه *کاملیا سپسیس* دارای تیانین، تانین، کاتچین (۴درصد)، ویتامین‌های گروهB، C، E، فلوراید و فلووانوئید، کارتنوئیدها، منیزیم، پتاسیم و سدیم از شرکت المنیس (Al-Mounis) عربستان خریداری شد. پودر دارچین (۴ گرم پروتئین، ۱/۲ گرم چربی، ۲/۲ گرم قند، ۲۴۷ کالری انرژی، ۱ گرم کلسیم، Chinese Senae، *Cinnamon Aromaticum*) نیز از شرکت زرین چاشنی دنا، شیراز، ایران تهیه شد. پودر کیتوزان با درجه استیلاسیون۸۶ درصد، فرمول شیمیایی $(C_6H_{11}NO_5)_n$، وزن مولکولی پایین ۳۰ تا ۳۲ کیلودالتون و وزن‌مولکولی متوسط ۷۵کیلودالتون از شرکت سیگما (Sigma) آمریکا خریداری شد. دیگر مواد شیمیایی لازم مشتمل بر اسید سولفوریک، اکسید منیزیم، اسید بوریک ۲ ٪ ، محیط کشت نوترینت آگار، ائوزین متیل بلوآگار از مرک (Merck) آلمان استفاده شد .

۲-۲-آماده‌سازی محلول‌های پوشش‌دهی

۱۳گرم پودر چای‌سیاه خشک عربی و۱۰ گرم پودر دارچین وزن شد. ۳۰۰ سی‌سی آب مقطر با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مخلوط اضافه شد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه از کاغذ صافی واتمن شماره ۲۴ عبور داده شد، به میزان ۲۵۰ سی‌سی از محلول بدست‌آمده به بالن ژوژه تقطیر منتقل و با استفاده ازدستگاه روتاری (IKAGermany ،RV10V-C)، با دمای۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۵ دور در دقیقه به مدت یک ساعت تغلیظ شد. مایع تغلیظ شده به آون معمولی (DENA، Iran) با دمای۱۰۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. رطوبت عصاره گرفته شد و پودر خشک (تا رطوبت ۲٪) از آن حاصل شد. پس از تهیه محلول ۱ ٪ حجمی- حجمی اسیداستیک، ۲گرم از کیتوزان با وزن مولکولی پایین (۳۰ تا ۳۲کیلودالتون) به ۱۰۰ سی‌سی محلول اسیداستیک ۱ ٪ اضافه و سپس به آهستگی ۲گرم کیتوزان با وزن مولکولی متوسط (۷۵کیلودالتون)، به محلول اسیداستیک در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد افزوده و از یک همزن شیشه‌ای برای انحلال کیتوزان استفاده شد. کیتوزان پس از ۳ ساعت در اسیداستیک حل و محلولی به رنگ قهوه ای کمرنگ تشکیل شد. در این مرحله گلیسرول به میزان ۷۵٪ میلی‌لیتر برگرم کیتوزان به محلول اضافه شد، از

1- Fourier-transform Infrared Spectroscopy

گلیسرول به عنوان ماده بهبوددهنده برای شکل‌گیری و جلوگیری از شکنندگی پوشش استفاده شد. پس از ۳۰ دقیقه محلول مورد نظر به دلیل وجود ناخالصی باکاغذ صافی واتمن شماره ۳ تحت شرایط خلاء با استفاده از دستگاه تحت خلاء (D-79312، Permatechnic، Iran) صاف شد. پیش از افزودن عصاره چای دارچین، توئین ۸۰ به عنوان امولسی‌فایر به میزان ۰/۰۲٪ حجمی- حجمی به محلول کیتوزان اضافه شد. در نهایت پس از۳۰ دقیقه همزدن امولسی‌فایر درون محلول پخش شد. مقدار ۰/۵٪ حجمی- حجمی عصاره چای دارچین، به محلول پایه کیتوزان اضافه و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به آرامی با استفاده از یک مخلوط‌کن درون محلول توزیع شد و محلول کیتوزان- چای دارچین به عنوان پوشش دهنده به کار رفت (۱۹).

۲-۳-آماده‌سازی ماهی

ماهی قزل‌آلارنگین‌کمان با نام علمی(*Oncorhynchus mykiss*) با وزن حدود ۴۰۰-۵۰۰ گرم بعد از خریداری از مزرعه پرورش قزل‌آلا، در حاشیه شهر کازرون با جعبه فیبر محتوای یخ به آزمایشگاه منتقل شد و پس از سر و دم زنی و جداسازی پوست و استخوان در دمای اتاق (۲۵درجه سانتی‌گراد) از هر ماهی فیله‌هایی به وزن بیست گرم تهیه شد. فیله‌ها ابتدا با محلول سدیم کلراید (۸۵٪) سپس با آب مقطر شتشو داده شدند. بخشی از فیله‌ها بدون پوشش (شاهد) و بخشی با محلول چای ۰/۵ درصد، چای دارچین ۰/۵ درصد، کیتوزان-چای دارچین ۲٪ به روش غوطه‌وری در محلول قرار داده شدند و از محلول خارج شده و به مدت ۳۰ دقیقه در مجاورت هوا قرار گرفته شد. تا پوشش نگهدارنده روی فیله تشکیل شود. پس از شکل‌گیری پوشش، نمونه‌ها در یخچال (دمای ۴درجه سانتی‌گراد) داخل ظرف‌های پلاستیکی قرار داده شدند. آزمایش‌ها در فواصل زمانی روزهای ۰، ۵، ۱۵و ۲۰ روی ماهی‌های پوشش داده شده و شاهد انجام گرفت (۱۳).

جدول۱- تیمارهای آماده‌سازی شده

تیمارها
شاهد(فیله های بدون پوشش)
فیله‌های پوشش داده شده با محلول چای ۰/۵ درصد
فیله‌های پوشش داده شده با چای دارچین ۰/۵ درصد
فیله‌های پوشش داده شده با کیتوزان -چای دارچین ۲٪

۲-٤-آنالیز میکروبی

۱۰ گرم ازگوشت ماهی با۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی سدیم کلراید ۰/۸۵ درصد به مدت ۶۰ ثانیه به خوبی مخلوط شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های تهیه شده با میکروسمپلر (با حجم ۱۰۰ میکرولیتر) برروی محیط کشت‌های نوترینت آگار وآگارائوزین متیلن بلو به طور سطحی پخش شد. شمارش کلونی‌ها بر مبنای cfu/g بیان شد (۱۹).

۲-۵-پروتئین

اندازه‌گیری پروتئین به روش کلدال در دو مرحله هضم و تقطیرانجام شد و با اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تیتراسیون انجام شد. از ضریب تبدیل ۶/۲۵ استفاده شد و با استفاده از رابطه ۱و ۲ مقدار پروتئین محاسبه شد (۱۳).

((گرم)وزن نمونه)/(نرمالیته اسید×میزان اسید مصرفی برای تیتراسیون×۰/۰۱۴×۱۰۰)=درصد ازت(نیتروژن) (۲)

درصد ازت×۶/۲۵=درصد پروتئین

۲-٦-بازهای نیتروژنی ازت فرار (TVB-N)[۲]

در این روش ۱۰گرم از نمونه گوشت ماهی، ۲گرم اکسید منیزیم (کاتالیزور)، ۲قطره ضدکف و۳۰۰ سی‌سی آب مقطر به بالن‌کلدال اضافه شد. درون ارلن ۲۵ سی‌سی اسید بوریک ۲ ٪ و ۲ قطره متیل رد اضافه شد و زمانی که حجم بالن به

2-Total Volatile Basic Nitrogen

۱۰۰ سی‌سی رسید با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیتر شد و از رابطه ۳ مقدار بازهای ازت فرار محاسبه شد (۱۳).

(۳)

حجم سود مصرفی ×۱۴ =TVB-N

۲-۷-تیو باربیوتیک اسید[3] (TBA)

در ارلن با افزودن ۱۰گرم نمونه ماهی هموژن شده با ۹۷/۵ میلی‌لیترآب مقطر و ۲/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۴ نرمال به‌همراه چند قطره ضدکف و سنگ جوش، دستگاه تقطیر راه‌اندازی شد. ۵ میلی‌لیتر از مایع حاصل از تقطیر این مخلوط به ۴ میلی‌لیتر معرف تیوباربیتوریک اسید افزوده شد و در حمام بن‌ماری (Momert, Germany) ۳۵ دقیقه قرارگرفت. سپس میزان جذب با دستگاه اسپکتوفتومتری (Australia, UV-Vis GBS) در طول موج ۵۳۲ نانومتر در برابر شاهد (آب‌مقطر) اندازه‌گیری شد. میزان تیوباربیتوریک اسید با واحد میلی‌گرم مالون آلدهید اکی‌والان بر کیلوگرم نمونه گزارش شد. از رابطه ۴ میزان تیوباربیتوریک اسید تعیین گردید (۲۳).

(۴)

۵۰/۲۰۰ ×(مقدار جذب شاهد-مقدار جذب نمونه) =TBA

۲-۸-طیف سنجی FTIR

برای اندازه‌گیری گروهای عاملی نمونه‌های فیله‌های پوشش داده شده ابتدا خشک و سپس پودر شد. سپس پودر به دست آمده را درون یک قالب مخصوص که به اندازه یک قرص دایره‌ای کوچک است ریخته و درون دستگاه پرس هیدرولیک (SDP-D16 ,Iran) با فشار معادل ۵ تن قرار داده شد تا یک قرص شفاف از پودر نمونه و KBr تهیه شود سپس این قرص با یک گیره مخصوص به دستگاه FTIR (BRUKER,TENSOR,Germany) منتقل شد. نتایج این آزمایش به صورت نمودارهایی با پیک رو به پائین روی نمایشگر دستگاه از طول موج ۴۰۰۰-۴۰۰ بر سانتی‌متر گزارش شد . گروه‌های عاملی نمونه‌ها در دستگاه FTIR، بر حسب میزان جذب گروه عاملی هر ترکیب در طول موج مشخصی اندازه‌گیری شد(۱).

۲-۹-آنالیز آماری

تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه AVONA بررسی شد و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد. اختلاف بین نمونه‌ها، زمان‌ها و نیز اثر متقابل آن‌ها با آزمون دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار آنالیزآماری SPSS نسخه ۲۵ مورد مقایسه قرار گرفت.

۳-نتایج و بحث

۳-۱-بررسی آنالیز میکروبی

تغییرات بارمیکروبی نمونه‌های مختلف در طی دوره نگهداری در یخچال در جدول ۲ مشاهده می‌شود.

3 -Thiobarbituric Acid

جدول۲- نتایج بار میکروبی (cfu/g) در تیمارهای متفاوت فیله قزل‌آلا در زمان نگهداری در یخچال

روز	تیمار	*سالمونلا*	*اشرشیا کلی*	*انترباکتر ائروژنز*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	مخمر
۰	چای	--	--	۲^{a}	۲^{a}	--
	چای دارچین	--	--	۱^{a}	۱۲۸^{L}	--
	کیتوزان-چای دارچین	--	--	۳^{a}	۱۲۰^{L}	--
	شاهد	--	--	--	--	--
۵	چای	--	٤٤^{e}	۳^{a}	۱۰۰^{k}	۵۲^{f}
	چای دارچین	--	۱۷^{b}	۳^{a}	۹٦^{j}	۸۰^{i}
	کیتوزان-چای دارچین	--	۱۳^{b}	۳^{a}	۹۰^{j}	٦^{a}
	شاهد	--	٤۰^{e}	۵^{a}	۲۱٦^{p}	۷٦^{h}
۱۵	چای	--	--	۵^{a}	۱۲۸^{L}	۱۲۸^{L}
	چای دارچین	--	۱^{a}	۳^{a}	۱۷۲^{n}	- -
	کیتوزان-چای دارچین	--	۳^{a}	۱۰^{b}	۸٤^{i}	- -
	شاهد	--	--	٦^{a}	۲٤۵^{q}	۳۰^{d}
۲۰	چای	--	۱٦^{b}	۵^{a}	٦۰^{g}	- -
	چای دارچین	--	۱۵^{b}	٦^{a}	۱۲۸^{L}	- -
	کیتوزان-چای دارچین	--	۱۵^{b}	۱۱^{b}	۱۰٤^{k}	- -
	شاهد	--	۱٦^{b}	۲۰^{c}	۱٦۸^{m}	۳۱^{d}

*حروف متفاوت کوچک نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است

تمام نمونه‌ها در طول دوره نگهداری با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند. بیشترین بار باکتریایی مربوط به میکروب استافلوکوکوس است که در نمونه شاهد از روز نخست تا روز پانزده افزایش و از روز پانزده تا روز بیست کاهش داشته است. در نمونه‌های پوشش داده شده بیشترین میزان در نمونه چای دارچین (۱۷۲ log CFU/g) در روز پانزده و کمترین میزان مربوط به نمونه کیتوزان-چای دارچین (۸۴ CFU/g log) تعیین‌گردید. در شمارش میکروبی مخمر بین همه نمونه‌ها با شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. در روز صفر مقدار مخمر صفر گزارش شد، اما در روز پنج افزایش و در سایر روزها کاهش داشته است . بیشترین میزان مخمر مربوط به نمونه چای (log CFU/g ۱۲۸) در روز پانزده، کمترین میزان در نمونه کیتوزان- چای دارچین (۶ log CFU/g) در روز پنج و از روز پنج تا روز پایانی میزان مخمر صفر گزارش شد. شمارش میکروبی *انترباکتر آئروژنز* در طول مدت زمان نگهداری در اکثر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و شاهد نشان نداد. میزان *انترباکتر آئروژنز* از روز نخست تا روز پایانی افزایش داشته است که بیشترین میزان مربوط به نمونه شاهد بود. در نمونه‌های پوشش داده شده نسبت به شاهد کم‌ترین میزان

مشاهده شد. بار میکروبی *سالمونلا* و *اشرشیا کلی* در طول دوره با هم اختلاف معنی‌داری نداشته است. در روز صفر، صفر گزارش شد اما از روز پنج مشاهده شده که بیشترین میزان مربوط به نمونه شاهد (۴۰ log CFU/g) و کم ترین میزان مربوط به گروه کیتوزان- چای دارچین (log ۳CFU/g) در روز پانزده بود. میکروارگانیسم‌ها از دلایل اصلی فساد مواد غذایی از جمله محصولات شیلاتی به‌شمار می‌روند. که بالاترین میزان در نمونه شاهد نسبت به نمونه‌های پوشش داده شده مشاهده شد که علت آن ممکن است خاصیت آنتی‌باکتریایی پوشش و ممانعت از رسیدن مواد غذایی نظیر مواد آمینی به غشای سلولی باکتری و اتصال ترکیبات فنلی عصاره‌های گیاهی با دیواره پروتئینی در دیواره سلول‌ها که منجر به لیز شدن دیواره سلول می‌گردد، باشد. نیرمال و بنجاکول (۲۰۱۱) در بررسی مقایسه نمونه‌های حاوی کیتوزان و عصاره چای سبز نشان دادند که در نمونه‌های حاوی پوشش بار میکروبی نسبت به نمونه شاهد کاهش داشته است و در نمونه‌های حاوی کیتوزان میزان باکتری کمترین مقدار را داشته است. علت آن را می‌توان به فعالیت آنتی‌باکتریایی گسترده نانوکیتوزان در برابر باکتری‌ها و قارچ‌ها نسبت داد. نتیجه مشابهی در پژوهش حاضر گزارش شده است (۱۷).

۳-۲-بررسی پروتئین و بازهای نیتروژنی ازته فرار (TVB-N)

نتایج تغییرات پروتئین و بازهای ازت فرار نمونه‌های مختلف در طی دوره نگهداری در یخچال در جدول۳ مشاهده می‌شود.

جدول۳- نتایج تغییرات پروتئین(٪)و بازهای نیتروژنی ازت فرار (mg N/100g fish) در تیمارهای متفاوت فیله قزل‌آلا در زمان نگهداری در یخچال

روز	تیمار	بازهای نیتروژنی ازت فرار	پروتئین
۰	چای	۱۱/۰۹± ۰/۰۶^{Ca}	۲۰/۱۰± ۰/۰۷^{Ba}
	چای دارچین	۱۱/۰۹± ۰/۰۶^{Ba}	۱۸/۶۷± ۰/۰۹^{Aa}
	کیتوزان–چای دارچین	۱۱/۰۹± ۰/۰۶^{Ba}	۲۰/۴۹± ۰/۰۶^{Da}
	شاهد	۱۱/۰۹± ۰/۰۶^{Aa}	۲۰/۱۰± ۰/۰۷^{Ca}
۵	چای	۱۱/۱۰± ۰/۰۶^{Ca}	۱۹/۶۹± ۰/۰۵^{Bb}
	چای دارچین	۱۱/۲۰± ۰/۱۲^{Ba}	۲۰/۱۰± ۰/۱۲^{Ab}
	کیتوزان–چای دارچین	۱۱/۱۰± ۰/۰۶^{Ba}	۲۰/۸۳± ۰/۱۲^{Db}
	شاهد	۱۱/۱۱± ۰/۱۰^{Aa}	۲۱/۱۸± ۰/۰۴^{Cb}
۱۵	چای	۱۳/۳۹± ۰/۲۰^{Cb}	۱۹/۶۷± ۰/۰۷^{Bb}
	چای دارچین	۱۲/۶۲± ۰/۳۱^{Bb}	۱۹/۱۴± ۰/۰۳^{Ab}
	کیتوزان–چای دارچین	۱۲/۴۲± ۰/۲۳^{Bb}	۲۱/۹۶± ۰/۰۲^{Db}
	شاهد	۱۱/۴۴± ۰/۱۲^{Ab}	۲۱/۰۲± ۰/۰۴^{Cb}
۲۰	چای	۱۵/۲۹± ۰/۰۵^{Cb}	۲۱/۱۶± ۰/۰۹^{Ba}
	چای دارچین	۱۳/۸۷± ۰/۰۳^{Bb}	۱۹/۱۵± ۰/۰۸^{Aa}
	کیتوزان–چای دارچین	۱۳/۵۰± ۰/۰۶^{Bb}	۲۰/۷۷± ۰/۰۹^{Da}
	شاهد	۱۳/۰۱± ۰/۰۵^{Ab}	۲۰/۴۸± ۰/۱۰^{Ca}

*__داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است__. حروف متفاوت کوچک نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است. حروف بزرگ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در گروه و حروف کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در روز است.

در نتایج تغییرات پروتئین در نمونه‌های پوشش داده شده با یکدیگر و با شاهد اختلاف معنی‌دار است. تغییرات در هر دوره زمانی در نمونه‌ها معنی‌دار نبوده است. با گذشت زمان از روز صفر به روزهای پنج و پانزده تغییرات پروتئین معنی‌دار بوده است ولی با رسیدن به روز بیست معنی‌دار نبوده است. تغییرات پروتئین در روزهای پنج و پانزده مشابه است ولی نسبت به روز بیست اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. بیشترین میزان پروتئین، مربوط به نمونه کیتوزان- چای دارچین (۰/۰۲٪ ± ۲۱/۹۶) در روز پانزده و کمترین میزان در نمونه چای دارچین (۰/۰۳٪ ± ۱۹/۱۴) در روز پانزده گزارش شد. اما تغییرات پروتئین نمونه شاهد از روز صفر تا پایان دوره کاهش یافت (جدول۲). در بافت ماهی در نمونه شاهد در پایان دوره به دلیل فعالیت‌های میکروبی حالت نرمی مشاهده شد. بنابراین در برآورد کیفیت یک نمونه علاوه بر شاخص‌های بافتی، توجه به شاخص‌های دیگر نیز اهمیت ویژه‌ای دارد. در فیله‌های پوشش‌دهی شده با کیتوزان- چای دارچین و عصارهای چای و چای دارچین کیفیت بافت ماهی بهتر حفظ شده است. که بیشترین تاثیر پوشش مربوط به کیتوزان-چای دارچین تا روز پانزده بوده است. افزایش میزان پروتئین را با افزایش بازهای نیتروژنی ازت فرار می‌توان توجیه نمود که نشان‌دهنده افزایش فساد نمونه‌ها ناشی از آزاد شدن ترکیبات نیتروژنی فرار هنگام نگهداری در یخچال می باشد. زارعی و همکاران (۲۰۱۵) و رمضانی و همکاران (۲۰۱۵) نتایج مشابه‌ای را نشان دادند که می‌توان به خصوصیات میکروبی و فیزیکوشیمیایی بالای ذرات نانوکیتوزان نسبت داد که باعث حفظ کیفیت و ماندگاری بیشتر نمونه ماهی می‌شود (۲۶ و ۲۲). براساس نتایج حاصل از این تحقیق، استفاده از کیتوزان تاثیر مثبتی را نشان داد و سبب جلوگیری از عوامل تاثیرگذار در فساد شیمیایی آن می‌شود و پژوهش حاضر با پژوهش زارعی و رمضانی مطابقت دارد. در تغییرات بازهای ازت فرار بین نمونه‌ها و نمونه‌ها با شاهد تفاوت معنی‌داری وجود دارد ولی بین نمونه‌های چای‌دارچین و کیتوزان -چای دارچین تفاوت معنی‌دار نیست (جدول ۳). با گذشت زمان از روز صفر به روز بیست تغییرات معنی‌دار بود ولی بین روز های صفر با پنج و پانزده با بیست تغییرات معنی داری در بازهای ازت فرار مشاهده نشد. تغییرات در هر دوره زمانی در نمونه‌ها معنی‌دار نبوده است. نتایج نشان داد که بازهای ازت فرار در نمونه شاهد در روز صفر (۰/۰۶mg N/100g fish ±۱۱/۰۹) تا روز بیست (۰/۰۵mg N/100g fish ±۱۳/۰۱) افزایش یافت و این میزان در نمونه‌های حاوی پوشش از روز صفر تا بیست نسبت به نمونه شاهد بیشتر بوده است که بیشترین میزان در ماهی‌های تیمار شده حاوی پوشش مربوط به نمونه چای در روز بیست (۰/۰۵mg N/100g fish ±۱۵/۲۹) و کم‌ترین میزان مربوط به نمونه چای در روز صفر (۰/۰۶mg N/100gfish ±۱۱/۰۹) تعیین گردید. بازهای نیتروژنی ازت فرار شامل ترکیبات مختلف از جمله آمونیاک، متیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین و همچنین تری‌متیل‌آمین است که محصولات به دست‌آمده حاصل از فعالیت باکتری‌های عامل فساد وآنزیم‌های درونی آن‌ها است و اغلب به عنوان یک شاخص برای نشان دادن فساد ماهی استفاده می‌شود (۲۴). هارپاز و همکاران در سال (۲۰۰۳) گزارش کردندکه میزان ۲۶ میلی‌لیتر از بازهای نیتروژن به ازای ۱۰۰ گرم نمونه گوشت بالاترین سطح مورد قبول برای بازهای نیتروژنی ازت فرار است. مقادیر بیشتر بار باکتریایی نمونه‌ها منجر به فعالیت زیاد باکتری‌ها، اتولیز بیشتر و تولید ترکیباتی نظیر تری‌متیل‌آمین اکسیداز، پپتیدها و آمینواسیدها و افزایش بیشتر میزان بازهای نیتروژنی ازت فرار می‌گردد (۱۱). بنسید و همکاران ۲۰۱۴ در بررسی اثر عصارهای آویشن، مرزنجوش و میخک بر روی ماهی کولی مورد مطالعه قرار داده و گزارش کردند که مقدار بازهای نیتروژنی ازت فرار برای ماهی‌های کولی با عصاره آویشن مرزنجوش و میخک پس از دوازده روز قابل قبول بود و اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان دادند (۳). در پژوهش حاضر با افزایش دوره نگهداری میزان بازهای نیتروژنی ازت فرار نمونه‌های پوشش‌دار به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت که این میزان از سطح قابل قبول بالاتر نبود، و با پژوهش بنسید و همکاران مطابقت داشت.

۳-۳-بررسی تیو باربیوتیک اسید (TBA)

نتایج تغییرات تیوباربیوتیک اسید نمونه‌های مختلف در طی دوره نگهداری در یخچال در جدول ۴ مشاهده می‌شود.

جدول٤- نتایج تغییرات تیوباربیوتیک اسید (mgMDA/kg) در تیمارهای متفاوت فیله قزل‌آلا در زمان نگهداری در یخچال

روز	تیمار	تیوباربیوتیک اسید
۰	چای	۰/۲۵± ۰/۰۰۰۰۱^{Ca}
	چای دارچین	۰/۲٦± ۰/۰۰۰۰۱^{Ba}
	کیتوزان–چای دارچین	۰/۲٤± ۰/۰۰۰۰۱^{Aa}
	شاهد	۰/۳۳± ۰/۰۰۰۰۱^{Da}
۵	چای	۰/۳۹± ۰/۰۰۰۰٦^{Cb}
	چای دارچین	۰/۳۵± ۰/۰۰۰۰٦^{Bb}
	کیتوزان–چای دارچین	۰/۳۲± ۰/۰۰۰۰۱^{Ab}
	شاهد	۰/٤۵± ۰/۰۰۰۰۱^{Db}
۱۵	چای	۲/۲۰± ۰/۰۰۰۰۹^{Cc}
	چای دارچین	۲/۰۷± ۰/۰۰۰۰٦^{Bc}
	کیتوزان–چای دارچین	۱/۸۹± ۰/۰۰۰۰۵^{Ac}
	شاهد	۲/۸۲± ۰/۰۰۰۰٦^{Dc}
۲۰	چای	۲/۵٤± ۰/۰۰۰۰٤^{Cd}
	چای دارچین	۲/۲۲± ۰/۰۰۰۰٤^{Bd}
	کیتوزان–چای دارچین	۲/۰۳± ۰/۰۰۰۰٤^{Ad}
	شاهد	۳/۷۱± ۰/۰۰۰۰٤^{Dd}

*__داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است__. حروف متفاوت کوچک نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ است. حروف بزرگ نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در گروه و حروف کوچک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در روز است.

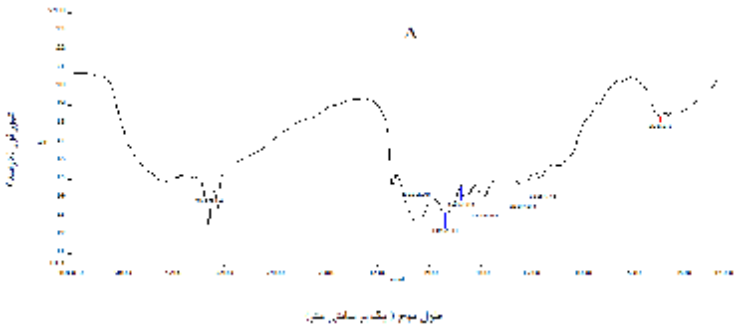
میزان تیوباربیوتیک اسید با اندازه‌گیری محتوای مالون‌دی-آلدئید به‌طورگسترده به عنوان شاخص اکسیداسیون استفاده می‌شود(۲۵).میزان تیوباربیوتیک اسید تا انتهای دوره نگهداری روند افزایشی داشت. بین نمونه‌ها با یکدیگر و با شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. با گذشت زمان از روز صفر به روز بیست تغییرات معنی‌دار بوده است. تغییرات در هر دوره نگهداری در نمونه‌ها معنی‌دار نبوده است. میزان تیوباربیوتیک اسید تیمار شاهد از روز صفر (mgMDA/kg ۰/۰۰۰۰۱ ±۰/۳۳) تا پایان دوره روز بیست (mgMDA/kg ۰/۰۰۰۰۴±۳/۷۱) افزایش پیدا کرد و بیشترین میزان در گروه نمونه‌های پوشش داده شده مربوط به چای (۰/۰۰۰۰۴mgMDA/kg ±۲/۵۴) در روز بیست و کم‌ترین میزان مربوط به گروه کیتوزان–چای دارچین تعیین گردید که از دیگر نمونه‌های پوشش داده شده کمتر بود که از روز صفر ۰/۰۰۰۰۱mgMDA/kg±۰/۲۴ تا روز بیست به ۰/۰۰۰۰۴mgMDA/kg ±۲/۰۳ افزایش یافت. انتظار بر این است که پوشش‌ها به عنوان محافظ اکسیژن عمل‌کند و میزان اکسیداسیون را کاهش دهد. زراعی و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیقی اثرات پوششی عصاره پوست انار و پرتقال به همراه نانوکیتوزان بر کیفیت فیله ماهی کپور نقره‌ای نگهداری شده در شرایط یخچال بررسی کردند. نتایج نشان داد که میزان مواد واکنش دهنده با تیوباربیوتیک اسید و اکسیداسیون چربی‌ها کاهش داشته‌است (۲۶). نوذری و همکاران سال ۲۰۱۳ در بررسی پوشش کیتوزان-

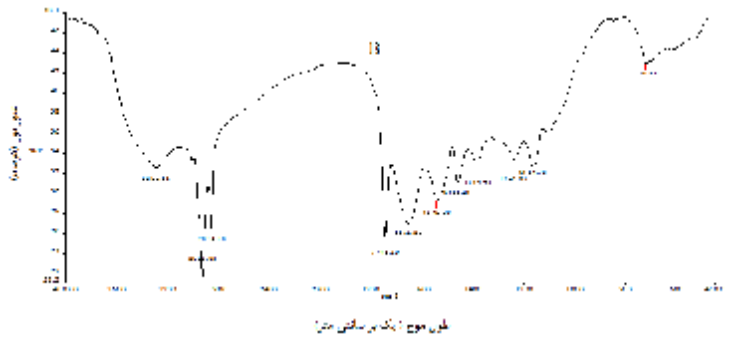
ژلاتین بر روی فیله ماهی، بیان کرد فیله‌های دارای پوشش کیتوزان-ژلاتین منجر به کاهش سرعت تشکیل تیوباربیوتیک اسید در فیله‌های قزل‌آلای نگهداری شده در یخچال گردیده است (۱۸). در این پژوهش نیز نشان داد شده که میزان تیوباربیوتیک اسید در ماهی‌های پوشش داده شده نسبت به شاهدکاهش داشته است. نتیجه مشابهی در پژوهش حاضر با نتایج پژوهش نوذری و زارعی گزارش شده است.

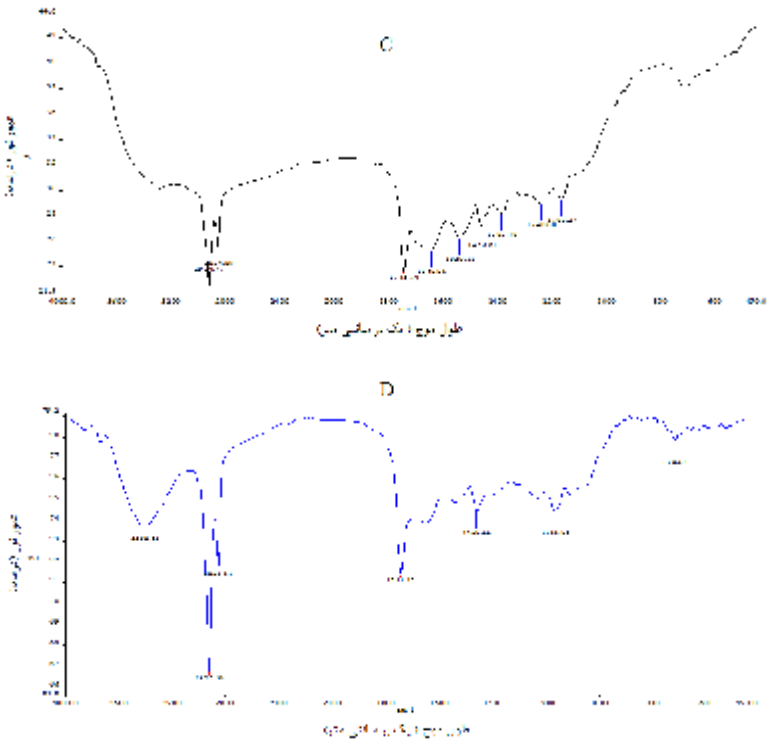
۳-٤-بررسی طیف سنجی FTIR

در نمونه حاوی چای در روز پنج پیکی در ناحیه ۳۲۹۴/۲۹ بر سانتی‌متر مربوط به ترکیبات فنلی، الکلی، گروه های عاملی O- H-Bonded و Hstretch مشاهده شد ولی در روزهای صفر، پانزده و بیست این پیک کوچک شده است. پیک ناحیه۲۹۲۵/۱۰ بر سانتی‌متر (ترکیبات آلکان، کربوکسیلیک اسید و گروه های عاملی C-H stretch(asym.) و O-H stretch) و پیک ناحیه ۲۸۵۴/۳۹ بر سانتی‌متر (ترکیبات آلکان و گروه‌های عاملی C-H stretch(sym.)) با گذشت زمان طی نگهداری از روز صفر تا روز بیست کوچک شده است. پیک ناحیه (۱۶۵۵/۷۴ تا ۱۶۵۸/۴۱ بر سانتی‌متر) ترکیبات فلاونوئیدی، پلی‌فنول‌ها، کاتچین‌ها، گروه عاملی (C= O stretch carbonyls)، ترکیبات آروماتیک و گروه عاملی stretch C=C درروزهای پنج و پانزده نسبت به روز صفر بزرگ تر بوده است ولی در روز بیست بسیار کوچک شده است. پیک‌هایی که در طول موج‌های ۱۴۵۰ تا ۱۴۶۵ بر سانتی‌متر (ترکیبات آروماتیک و گروه عاملی C-C stretch(in ring) قرارگرفته بودند از روز صفر تا روز بیست به‌تدریج کم شده‌اند. در روزهای پنج و پانزده ناحیه مربوط به ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنلی بیشتر باقی مانده است در حالی که در روز بیست کاهش زیادی داشته است. در نمونه‌های حاوی چای دارچین با گذشت زمان از روز صفر تا روز بیست ناحیه ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنلی کاهش داشته است. در نمونه‌های حاوی کیتوزان-چای دارچین با گذشت زمان در روزهای صفر، پنج و بیست ناحیه ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنلی به خوبی حفظ شده‌اند ولی در روز پانزده کاهش داشته است. پیک‌های در محدودهٔ ۳۲۰۰-۳۴۰۰ بر سانتی‌متر، ترکیبی از پیک‌های مربوط به گروه‌های کششی H-O و پیوندهای درون ملکولی هیدروژنی هستند. پیک ۱۶۵۴ بر سانتی‌متر در کیتوزان مربوط به گروه‌های R-CO-NH2 است. در روز صفر گروه‌های کربنیلی (۱۷۴۵ بر سانتی‌متر) در نمونه‌های حاوی دارچین وکیتوزان-چای دارچین مشاهده نشد و پیک‌های گروه‌های هیدروکسیلی (۳۲۰۰-۳۴۰۰ بر سانتی‌متر) پهن شده‌اند. محیط حاوی کیتوزان-چای دارچین کمی اسیدی‌تر شده است. به این علت که عوامل آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی که حاوی گروه‌های آروماتیکی (۱۶۴۳-۱۴۵۶ بر سانتی‌متر) و گروه‌های هیدروکسیلی موجود در نمونه چای، چای دارچین و کیتوزان مشاهده شد، شروع به فعالیت داشته‌اند و محیط را برای ماهی اسیدی کرده و باعث کاهش فساد فیله-ها شده‌اند. در روز پنج‌گروه کربنیل (۱۷۴۵ بر سانتی‌متر) حذف نشده است. در نمونه کیتوزان-چای دارچین از طول موج ۲۴۰۰ بر سانتی‌متر به بعد سیستم قلیایی‌تر شده است ولی در نواحی با طول موج کمتر از۲۴۰۰ بر سانتی‌متر سیستم حالت اسیدی‌تر گرفته است. لذا نمونه کیتوزان -چای دارچین برهم کنش سینرژیستی با عامل هیدروکسیلی داشته است و یون هیدوژن آن را پایدارتر کرده است. در نمونه چای دارچین کاهش گروه هیدروکسیل مشاهده شد. در روز پانزده گروه‌های هیدروکسیلی (۳۲۰۰-۳۴۰۰ بر سانتی‌متر) در نمونه چای دارچین افزایش داشته است. شیفت عامل اسیدی ناحیه آروماتیکی (۱۶۴۳-۱۴۵۶ بر سانتی‌متر) در کیتوزان- چای دارچین (پیک‌های رو به پایین) نسبت به نمونه‌های چای و چای دارچین دیده شد. در روز بیست پیک کربنیل (۱۷۴۵ بر سانتی‌متر) در نمونه‌های کیتوزان -چای دارچین، چای دارچین، چای و نمونه شاهد از بین رفته است. گروه‌های هیدروکسیل در نمونه‌های شاهد و چای دارچین حذف شده است. ناحیه اسیدی در طول موج کمتر از ۱۰۰۰ بر سانتی‌متر برای چای دارچین ایجاد شده است. ویژگی آروماتیکی (۱۶۴۳-۱۴۵۶ بر سانتی‌متر)

در کیتوزان- چای دارچین کاهش داشته است. چای حاوی مقادیری پلی‌فنول می‌باشد که از حلقه‌های آروماتیک و حلقه‌های هیدروکسیل تشکیل شده که شامل گروه‌های آنتی‌اکسیدانی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشد (۱۹). که اکثرا در طیف‌های در محدوده ۱۶۴۳-۱۴۵۶ بر سانتی‌متر و ۳۲۰۰-۳۴۰۰ بر سانتی‌متر مشخص می‌باشد. همچنین دارچین منبع خوبی از ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدان می‌باشد که شرایط را برای رادیکال‌های آزادی که موجب آسیب سلولی در از بین بردن میکروارگانیسم‌ها می‌شود، را مساعد می‌کند. کیتوزان از واحدهای N- استیل D- گلوکز آمین وD- گلوگز آمین تشکیل شده است، که از طریق گروه‌های آمین خود در واکنش‌های شیمیایی مختلف شرکت می‌کند (۲). طبق نتایج در طیف‌های به دست آمده (شکل۱) گروه‌های عاملی گروه‌های هیدروکسیل و آروماتیکی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی که در عصاره‌های چای، چای دارچین و کیتوزان وجود دارد باعث شده‌اند که میزان فساد ماهی را در طول دوره نسبت به شاهد کاهش دهند. حدودا تا روز پانزده گروهای آروماتیکی و هیدروکسیلی در نمونه کیتوزان- چای دارچین و چای دارچین حضور داشته‌اند که باعث شرایط اسیدی در محیط بوده‌اند، ولی در روز بیست کاهش یافته است. در روز پانزده در نمونه‌های کیتوزان-چای دارچین و سپس چای دارچین شاخص‌های شیمیایی، بارمیکروبی و فساد ماهی‌کمتر مشاهده شد. گروه‌های NO_2 که در محدوده پیک ۱۳۸۲ بر سانتی‌مترکه یکی از عوامل فساد ماهی می‌باشد. در نمونه شاهد از روز پنج تا پایان دوره مشاهده شد، اما در نمونه‌های پوشش داده شده فقط در روزهای پانزده و بیست مشاهده شد. طبق جدول۲ (آنالیزمیکروبی)، در نمونه‌های چای دارچین با حضور گروه‌های آروماتیکی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی، بارمیکروبی پایین‌تری نسبت به نمونه‌های کیتوزان- چای دارچین تعیین گردید. نمونه‌های شاهد در پایان دوره به کل تجزیه شده‌اند اما نمونه‌های پوشش داده شده تا حد امکان از تجزیه ماهی و فساد آن جلوگیری کرده است .







شکل۱- طیف سنجی FTIR در تیمار کیتوزان-چای دارچین فیله قزل‌آلا از طول موج ٤٠٠ تا ٤٠٠٠ بر سانتی متر (A: روز صفر، B: روز پنج، C: روز پانزده، D: روز بیست).

٤-نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، پوشش‌دهی فیله قزل‌آلا با کیتوزان بهمراه عصاره چای و چای دارچین به عنوان تقویت‌کننده خواص عملکردی، خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی است و می‌تواند ضمن کاهش سرعت تشکیل فرآورده‌های اکسیداسیون، سبب جلوگیری از عوامل تاثیرگذار در فساد شیمیایی شود. به طوری‌که مقایسه ویژگی‌های تیمار شاهد با تیمارهای پوشش داده شده نشان داد که پوشش‌ها به صورت معنی‌داری باعث کاهش جمعیت میکروبی، تغییرات پروتئین، بازهای ازته فرار و تیوباربیوتوریک اسید در تیمارهای مورد مطالعه شده‌اند. طبق نتایج FTIR پوشش‌ها در دمای یخچال تا روز ۱۵ توانسته‌اند ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنلی خود را به خوبی حفظ کرده و باعث افزایش زمان ماندگاری فیله‌های ماهی قزل‌آلا شوند. تیمار پوشش‌دهی شده با کیتوزان-چای دارچین، به‌عنوان برترین تیمار انتخاب شد. بنابراین استفاده از کیتوزان گامی مؤثر در بهبود ویژگی‌های میکروبی بدلیل فعالیت آنتی‌باکتریایی گسترده در برابر باکتری‌ها و قارچ‌ها است و باعث حفظ کیفیت ارگانولپتیکی و افزایش مدت ماندگاری است و زمینه‌ی استفاده‌ی کاربردی از این ترکیبات را در مقایسه با ترکیبات مصنوعی فراهم می‌نماید.

٥-منابع

1.Ackman, J. 2012. The Microbe: The Basics of Structure, Morphology, and Physiology as They Relate to Microbial Characterization and Attribution in Chemical and Physical Signatures for Microbial Forensics pp 13-34.

2.Anderson, R. A. and Broadhurst, C. L. 2004. Isolation and characterization of polyphenol type-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity. *Journal of Agricuitural and Food chemistry*, 52(1): 65-70.

3.Benavides, S., Villalobos Carvajal, R. and Reyes, J. E. 2012. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *Journal of Food Engineering*, 110(2): 232- 239.

4. Bensid, A., Ucar, Y. Bendeddouche, B. and Ozogul, F. 2014. Effect of the icing with thyme, oregano and clove extracts on quality parameters of gutted and beheaded anchovy (Engraulisencrasicholus) during chilled storage. *Food chemistry*, 145: 681- 686.

5. Berkel, B., M. Boogaard, B. V. and Heijnen, C. 2004. *Preservation of Fish and Meat*. Digigrafi, Wageningen, the Netherlands.

6. Cagri, A., Ustunol, Z. and Ryser, E. T. 2004. Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection*, 67(4): 833- 848.

7. Embuscado, M. E. and Huber. K. C. 2009. *Edible films and coatings for meat and poultry*. in: *Edible films and coatings for food applications* (Editors: M. E, Embuscado and K. C, Huber).
Springer Science and Business Media, pp. 245- 68.

8.Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. and Chi, Y. 2009. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*, 115(1): 66- 70.

9. Fernandez, P. L., Martin, M. J., Gonzalez, A. G. and Pablo, F. 2000. HPLC determination of catechins and caffeine in tea differentiation of green, black and instant teas. *Analyst*, 125(3): 421- 425.

10. Guijt, J. and Kat-Reynen, C., translators. Goffaun-Markusse, M, editor. Wageningen: Agromisa Foundation pp 8-16.

11. Harpaz, S., Glatman, L., Drabkin, V. and Gelman, A. 2003. Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater-reared Asian sea bass fish (Latescalcarifer). *Journal of Food Protection*, 66(3): 410- 417.

12. Jafarpour. A., Jeddi, S., Yeganeh, S. and Naseri, M. 2018. Evaluation of Color and Tissue of Rainbow Trout Fillet by Chitosan Edible Coating Incorporated with Marjoram Essential Oil during Refrigerated Storage, *Journal of Fisheries Science and Technology*, 7(1): 33- 39.

13. Jeon, Y. J., Kamil, J. Y .V .A. and Shahidi, F. 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18): 5167- 5178.

14. Koc, W. Z. and Kalbarczyk, J. 2007. Influence of storage on the quality of natural antioxidants in fruit beverages. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(2): 223- 225.

15. Li, T., Hu, W., Li, J., Zhang, X., Zhu, J. and Li, X. 2012. Coating effects of tea polyphenol and rosemary extract combined with chitosan on the storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena Crocea*). *Food Control*, 25(1): 101- 106.

16. Lopez-Caballero, M. E., Gomez-Guillen, M. C., Perez-Mateos, M. and Montero, P. 2005. A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydrocolloids*, 19(2): 303- 311.

17. Nirmal, N. P. and Benjakul, S. 2011. Retardation of quality changes of Pacific White shrimp by green tea extract treatment and modified atmosphere packaging during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*, 149(3): 247- 253.

18. Nowzari, F., Shabanpour, B. and Ojagh, S. M. 2013. Comparison of chitosan gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 141(3): 1667- 1672.

19. Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H. and Hosseini, S. M. H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120(1): 193- 198.

20. Pan. X., Niu, G. and Liu. H. 2003. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves. *Chemical Engineering and Processing*, 42(2): 129- 133.

21. Peniche, C., ArguellesMonal, W. and Goycoolea, F. M. 2008. *Chitin and chitosan: Major sources, properties and application. in: Monomers, polymers and composites from ren ewable resources*. (Editors: M. N. Belgacem and A. Gandini). Netherland, Elsevier, pp. 517- 542.

22. Ramezani, Z., Zarei, M. and Raminnejad, N. 2015. Comparing the effectiveness of chitosan and nanochitosan coating on the quality of refrigerated silver carp fillets. *Food Control*, 51: 43- 48.

23. Tarladgis. B. G., Watts. B. M. and Younathan, M. T. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *The Journal of the American Oil Chemists Society*, 37: 44- 48.

24. Vásconez, M. B., Flores, S. K., Campos, C. A., Alvarado, J. and Gerschenson, N. 2009. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan–tapioca starch based edible films

and coatings. *Food Research International*, 42(7): 762- 769.

25. Weber, J., Bochi, V.C., Ribeiro, C.P., Victorio, A. M. and Emanuelli, T. 2008. Effects of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of Silver catfish (Rhamdia quelen) fillets. *Food Chemistry*, 106: 140- 146.

26. Zarei, M., Ramezani, Z., Ein-Tavasoly. S. and Chadorbaf, M. 2015. Coating effects of orange and pomegranate peel extracts combined with chitosan nanoparticles onthe quality of refrigerated silver carp fillets. *Journal of Food Processing and Preservation* , 39(6): 2180- 2187.

(Original Research Paper)

The Effect of Rainbow Trout Coating with Tea Extracts, Chitosan, and Chitosan Tea on its Physicochemical and Microbial Characteristics

Maryam Haghighi[1] , Seddigheh Yazdanpanah[1*]

1-Department of Food Science and Technology, Kazeroon Branch, Islamic Azad University, Kazeroon, Iran.

Received:16/05/2020 Accepted:06/08/2020

Abstract

Due to the rapid spoilage of fish, it is necessary to use new methods of packaging such as coating with natural antioxidants. Chitosan has been well received as a natural preservative due to its renewable properties and similar structure to cellulose. Also, phenolic compounds in tea and cinnamon and its antimicrobial and antioxidant properties have been considered in the packaging of protein substances that are prone to high corruption. In this study extracts of 0.05% tea, 0.5% cinnamon tea, and solution of 2% chitosan-cinnamon tea were prepared. Characteristics of oxidation, chemical changes, microbial analysis and FTIR spectroscopy were examined on trout fillets covered with extracts on 0, 5, 15, 20 days during storage in the refrigerator (4°C). The results showed that coatings containing extracts and chitosan had significant effects at the level of 5% in reduction of microbial load, volatile nitrogen bases and thiobarbiotic acid. Based on FTIR findings, the control sample showed the highest oxidation rate and the sample treated with chitosan extract, tea and cinnamon tea showed the lowest oxidation rate. Covering trout fillets with cinnamon tea and tea extract increased antimicrobial properties, but combining it with a powerful antioxidant such as chitosan has higher effectiveness. Chitosan-cinnamon tea cover can be used to improve the quality of fish fillets and increase its shelf life.

Keywords: Antioxidant, Chitosan, Fish, Tea

* Corresponding Author: yazdanpanah2004@gmail.com