اثر پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره سیر و اسانس گشنیز بر ویژگی‌های میکروبی و حسی فیله قزل‌آلا در طی نگهداری در یخچال

مریم فرومندی[1]، محمدرضا خانی[2*]

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد شهرقدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
***نویسنده مسئول:** *m.khani@qodsiau.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۱۴

چکیده

گوشت ماهی بسیار فسادپذیر بوده و در این رابطه استفاده از نگهدارنده طبیعی با خصوصیات ضدمیکروبی ضروری به نظر می‌رسد. این مطالعه با هدف بررسی اثر پوشش‌دهی فیله قزل‌آلا با استفاده از کیتوزان حاوی عصاره سیر و اسانس گشنیز بر کیفیت میکروبی و حسی ماهی در طی ۱۲ روز نگهداری در یخچال انجام شد. بدین منظور ۸ تیمار پوشش‌دهی شده با کیتوزان ۲ درصد حاوی عصاره سیر و اسانس گشنیز (در مقادیر ۰/۱ و ۰/۵ درصد) به صورت مجزا و ترکیبی و دو نمونه شاهد ۱ (بدون پوشش) و شاهد ۲ (با پوشش کیتوزان بدون عصاره و اسانس) تهیه گردید. سپس در طی روزهای ۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ آزمون‌های میکروبی شامل شمارش کلی میکروبی، باکتری‌های سرماگرا، و کلیفرم و ارزیابی حسی شامل بافت، رنگ، بو و پذیرش کلی انجام شد. نتایج نشان داد که کمترین مقادیر شمارش کلی میکروبی، باکتری‌های سرماگرا و کلیفرم‌ها در طول مدت ۱۲ روز نگهداری در تیمار پوشش‌دهی شده با کیتوزان حاوی ۰/۵ درصد عصاره سیر و ۰/۵ درصد اسانس گشنیز مشاهده شد و بیشترین شمارش‌های میکروبی در نمونه شاهد ۱ و سپس شاهد ۲ مشاهده شد ($P<0/05$). همچنین تیمار حاوی بالاترین مقادیر عصاره سیر و اسانس گشنیز تا پایان دوره نگهداری از امتیازات حسی بهتری در مقایسه با نمونه‌های شاهد برخوردار بود ($P<0/05$). لذا می‌توان استفاده از پوشش کیتوزان حاوی عصاره سیر و اسانس گشنیز را به عنوان یک ترکیب ضدمیکروبی جهت افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی توصیه نمود.

واژگان کلیدی: پوشش خوراکی کیتوزان، عصاره سیر، اسانس گشنیز، ماهی قزل‌آلا، ویژگی‌های میکروبی.

مقدمه

ماهی به عنوان یک ماده غذایی غنی از برخی اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، مواد معدنی و اسیدهای چرب چند غیر اشباع به‌ویژه اسیدهای چرب امگا ۳ می‌باشد که سبب شده برای جلوگیری از ابتلا به برخی از بیماری‌ها مورد مصرف قرار گیرد (Abowei and Tawari, 2011). اما حضور مقدار قابل توجهی از این اسیدهای چرب غیراشباع و همچنین فراهم بودن شرایط مناسب رشد میکروبی در ماهیان سبب می‌گردد تا در مقابل فساد میکروبی و اکسیداسیون بسیار حساس و آسیب‌پذیر باشند (Richards and Hultin, 2002; Vicetti et al., 2003).

در سالیان اخیر استفاده از روش های جدید بسته‌بندی و افزودنی های طبیعی در مواد غذایی به طور روز افزون گسترش یافته است. زیرا مصرف کنندگان از یک طرف خواستار مواد غذایی با افزودنی‌های سنتتیک کمتر و سالم‌تر بوده و از طرف دیگر محصولی با کیفیت‌تر و با ماندگاری طولانی‌تر را تقاضا می‌کنند (Davidson and Zivanivic, 2003). یکی از انواع بسته‌بندی که تحقیقات فراوانی روی آن انجام شده، روش پوشش‌دهی مواد غذایی با استفاده از پوشش‌دهنده‌های مختلف خوراکی است که به صورت لایه‌ای نازک سطح ماده غذایی را پوشانده و مانند سدی در برابر تبادل گازها، رطوبت و میکروارگانیسم‌ها عمل نموده و بدینوسیله علاوه بر جلوگیری از تغییرات نامطلوب حسی، ماندگاری ماده غذایی را در فاصله تولید تا مصرف حفظ می‌نماید (Krochta, 1997; Jurger, 2007). پوشش‌های خوراکی در اثر غوطه‌ور کردن مواد غذایی در محلول‌های مورد نظر یا پاشیدن (اسپری کردن) آنها

بر سطح مواد غذایی ایجاد می‌شوند (Gennadios et al., 1997). پوشش‌های خوراکی در مقایسه با فیلم‌های سنتزی از نظر حسی و کاری دارای سازگاری بیشتری با غذا هستند و باعث آلودگی محیط زیست نمی‌شوند و با نامساعد کردن شرایط رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها نظیر aw، اکسیژن و ممانعت فیزیکی از نفوذ آنها به درون محصول سبب جلوگیری از فساد و آلودگی میکروبی می‌شوند (Debeaufort et al., 1998).

بیوپلیمر کیتوزان پلی‌ساکارید خطی متشکل از پیوندهای (۱،۴)، ۲- آمینو- بتا D دئوکسی گلوکان[1]، مشتق داستیله کیتین است که پس از سلولز، دومین پلی‌ساکارید فراوان موجود در طبیعت محسوب می‌شود. منبع عمده و تجاری کیتین، پوسته سخت‌پوستان از جمله خرچنگ، میگو، لابستر و آرتمیا است. کیتوزان غیرسمی و زیست‌تخریب‌پذیر بوده و علاوه بر داشتن خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی، دارای قابلیت تشکیل پوشش و فیلم بوده و با مواد دیگر سازگار است. درمقایسه با سایر مواد بسته‌بندی زیستی، کیتوزان قادر به ترکیب مواد دیگر مانند مواد معدنی و یا ویتامین‌ها بوده و فعالیت ضد میکروبی بالایی دارد. با در نظر گرفتن این ویژگی‌ها، امروزه طیف گسترده‌ای از فیلم‌ها و پوشش‌های کیتوزان برای حفظ کیفیت انواع مواد غذایی، مورد استفاده قرار گرفته است که می‌تواند نقش مهمی برای توسعه کاربردهای جدید این پلیمر طبیعی در مواد غذایی داشته باشد (Majeti and Kumar, 2007; Shahidi and Abuzaytoun, 2005; No et al., 2007; Aider, 2010).

محدوده وسیعی از میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و کپک‌ها به کیتوزان حساس هستند (Vasconez et al., 2009). کیتوزان با ویسکوزیته و وزن مولکولی کمتر و درجه دی‌استیلاسیون بالا، خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی خوبی دارد و pH پایین آن نیز این خاصیت را افزایش می‌دهد. کیتوزان در آب نامحلول است اما در محلول‌های اسیدهای ارگانیک ضعیف محلول می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که اثرات ضد میکروبی آن به مراتب بیشتر از خواص آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد (حسن‌زاده و همکاران، ۱۳۹۰). به منظور بهبود خصوصیات ارگانولپتیک مواد غذایی پوشش‌دهی شده و افزایش اثرات مطلوب چنین پوشش‌هایی می‌توان از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی مؤثر و متناسب نیز بهره گرفت. این ترکیبات طبیعی گیاهی علاوه بر ایجاد طعم و بوی مناسب، عمدتاً دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند که می‌توان آنها را از دانه، برگ، پوسته و قسمت‌های دیگر برخی از گیاهان، میوه‌ها و ادویه‌جات استخراج و مورد استفاده قرار داد (Kim, 2006).

قرار دادن اسانس و عصاره‌های گیاهی در فرمولاسیون پوشش‌ها جهت بهبود ویژگی‌های ضد میکروبی آنها می‌باشد. تقریباً همه عصاره‌ها، ادویه‌ها و گیاهان دارویی دارای تأثیر آنتی‌اکسیدانی بوده و از رشد میکروبی و تولید توکسین جلوگیری می‌کنند (بهنام و علی‌اکبرلو، ۱۳۹۲). اسانس‌ها مایع، فرار، زلال و به ندرت رنگی می‌باشند. محلول در چربی بوده و همچنین در حلال‌های آلی با چگالی پایین‌تر از آب محلول هستند. میوه رسیده گشنیز شامل لینالول[2]، آلفاپینن[3]، گاماتریپن[4]، ژرانیل استات[5]، کامفور[6] و ژرانیول[7] می‌باشد. درصد اسانس در میوه گشنیز حداقل ۰/۰۳ و حداکثر ۲/۶ درصد است. لینالول و استر آن از ترکیبات اصلی بسیاری از اسانس‌ها هستند و بوی بسیار خوبی دارند (Diederichsen, 1996). اسانس گشنیز از استخراج روغن فرار و معطر از میوه رسیده و خشک

1- (1-4) 2 amino 2-deoxy β-D glucan

2- Linalool
3- α-pinene
4- γ-terpinene
5- Geranyl acetate
6- Camphor
7- Geraniol

شده گیاه به روش تقطیر با بخار آب بدست می‌آید. در واقع اسانس روغنی در سیتوپلاسم گیاهان تشکیل شده و به صورت طبیعی به شکل قطرات بسیار کوچکی بین سلول‌های گیاهی وجود دارند. اسانس گشنیز بی‌رنگ و یا زرد کم‌رنگ بوده و دارای عطر مشخص ترکیب ترپنی لینالول[1] و بو و طعم ملایم شیرین و گرم می‌باشد (Sahib et al., 2013). عصاره محلولی است که حاوی تمام مواد مفید گیاه از جمله تانن‌ها، موسیلاژها و غیره می‌باشد. تفاوت آن با اسانس این است که، اسانس‌ها به‌طور عمده، ترکیبات ترپنی یا مشتقات ترپنی را شامل می‌شوند. عصاره یک ماده طبیعی است که خالص است ولی اسانس یک ماده ناخالص است که از عصاره و مخلوطی از مواد دیگر درست می‌شود (Shan et al., 2007).

سیر با نام علمی *آلیوم ساتیوم*[2] از دسته سبزی‌های پیازی است که از لحاظ غذایی اهمیت زیادی دارد. یک اسیدآمینه گوگردی بنام آلیئین در سیر وجود دارد که ماده‌ای محلول در آب و بی‌بو است و تحت تأثیر یک آنزیم خاص بنام آلئیناز به آلیسین تبدیل می‌شود. آلیسین دارای خواص ضد باکتریایی در برابر رنج وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، خواص ضد انگلی و ضد قارچی می‌باشد (Rabinkov, 1994). با عنایت به مطالب فوق الذکر، در این تحقیق اثر استفاده از پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره سیر و اسانس گشنیز به صورت مجزا و ترکیبی بر ویژگی‌های میکروبی و حسی فیله ماهی قزل‌آلا در راستای بهبود مدت زمان ماندگاری این ماده غذایی در شرایط یخچالی مورد توجه قرار گفته است.

روش کار

به منظور انجام این مطالعه، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تازه صید شده از استخر پرورش ماهی واقع در شهرستان گرگان با وزن تقریبی g ۱۰۰±۱۰۰۰ تهیه گردید و بلافاصله توسط جعبه‌های یونولیتی حاوی یخ (نسبت ماهی به یخ ۳:۱) در شرایط سرد با دمای کمتر از ۴ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شد. برای فیله کردن ماهی به روش دستی اقدام شده و ابتدا سر و دم زنی، پوست کنی، تخلیه شکمی، استخوان‌گیری و شستشو انجام شد و سپس فیله‌های تهیه شده به قطعات ۱۰۰ گرمی تقسیم شده و بلافاصله پوشش‌دهی صورت پذیرفت. برای پوشش‌دهی ابتدا کیتوزان (Sigma-Aldrich, USA) با وزن مولکولی متوسط با غلظت ۲ درصد در اسید استیک یک درصد تهیه شده و پس از هموژنیزاسیون محلول (۲/۵ ساعت در دمای ۵۵ درجه) از کاغذ صافی واتمن۱ عبور داده شد. سپس به منظور نرم شدن و انعطاف‌پذیر شدن پوشش از ۰/۷۵ درصد حجمی/ حجمی گلیسرول بعنوان نرم‌کننده استفاده گردید و به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط شد (Bartolomeu et al., 2010). استخراج عصاره سیر به روش اتانولی انجام شد. برای تهیه عصاره از روش ماسیراسیون (خیساندن) استفاده گردید. بدین منظور پس از خرد کردن میوه سیر،۵۰ گرم از نمونه به مدت ۴۸ ساعت در اتانول ۸۰ درصد خیس و نگهداری شد. سپس عصاره بدست آمده با کاغذ صافی صاف و با استفاده از دستگاه تقطیر در خلا (روتاری) تغلیظ گردید (بکائیان و همکاران، ۱۳۹۴). بر اساس آنالیز ترکیب عصاره سیر با روش کروماتوگرافی گازی - طیف سنجی جرمی (GC-MS) مهمترین ماده موثره این عصاره، آلیسین با مقدار ۱۰۸ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی-لیتر بوده است. اسانس روغنی گشنیز از شرکت مگنولیا با دانسیته gr/ml ۰/۸۴۷۶ و چرخش نوری ۹+ و اسیدیته ۰/۲۲ درصد تهیه گردید که آنالیز ترکیب اسانس مورد استفاده با روش کروماتوگرافی گازی در جدول ۱ ارائه شده است. در مرحله بعد کیتوزان به ۹ قسمت تقسیم شد و با عصاره سیر در غلظت های ۰/۱ و ۰/۵ درصد و اسانس گشنیز در غلظت های ۰/۱ و ۰/۵ درصد به صورت مجزا و ترکیبی بدین صورت

1- Linalool terpene
2- *Allium sativum*

مخلوط شد: ۱) نمونه شاهد ۱ شامل گوشت ماهی بدون پوشش کیتوزان و عصاره سیر و اسانس گشنیز، ۲) نمونه شاهد ۲ شامل گوشت ماهی با پوشش کیتوزان و بدون عصاره سیر و اسانس گشنیز، ۳) تیمار ۱ شامل گوشت ماهی با پوشش کیتوزان و عصاره سیر ۰/۱ درصد، ۴) تیمار ۲ شامل گوشت ماهی با پوشش کیتوزان و عصاره سیر ۰/۵ درصد، ۵) تیمار ۳ شامل گوشت ماهی با پوشش کیتوزان و اسانس گشنیز ۰/۱ درصد، ۶) تیمار ۴ شامل گوشت ماهی با پوشش کیتوزان و اسانس گشنیز ۰/۵ درصد، ۷) تیمار ۵ شامل گوشت ماهی با پوشش کیتوزان و عصاره سیر ۰/۱ درصد و اسانس گشنیز ۰/۱ درصد، ۸) تیمار۶ شامل گوشت ماهی با پوشش کیتوزان و عصاره سیر ۰/۱ درصد و اسانس گشنیز ۰/۵ درصد، ۹) تیمار ۷ شامل گوشت ماهی با پوشش کیتوزان و عصاره سیر ۰/۵ درصد و اسانس گشنیز ۰/۱ درصد و ۱۰) تیمار ۸ شامل گوشت ماهی با پوشش کیتوزان و عصاره سیر ۰/۵ درصد و اسانس گشنیز ۰/۵ درصد.

به منظور مخلوط شدن کامل اسانس و نیز بعنوان امولسیفایر ابتدا اسانس با توئین ۸۰ به مقدار ۰/۲۵ درصد اسانس به مدت ۳۰ دقیقه در همزن مغناطیسی در دمای اتاق مخلوط شد. در مرحله بعد به منظور پوشش دادن نمونه‌ها آن ها را به مدت ۱ دقیقه در محلول آماده سازی شده غوطه ور نموده و به مدت ۳۰ دقیقه در مجاورت هوا خشک گردید (مولایی آقایی و همکاران، ۱۳۹۵). سپس کلیه نمونه‌ها در کیسه های پلی‌اتیلنی بسته بندی شده و به مدت ۱۲ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و آزمایشات میکروبی شامل شمارش‌های کلی باکتریایی، باکتری‌های سرماگرا و کلیفرم و آزمایشات حسی شامل بافت، رنگ، بو و پذیرش کلی در فواصل زمانی ۳ روز انجام شد.

تجزیه وتحلیل آماری

نتایج به صورت مقادیر میانگین ۳ تکرار و انحراف معیار استاندارد (SD) بیان شد. برای بررسی تأثیر انواع پوشش‌ها بر کیفیت ماهی و همین‌طور تأثیر زمان نگهداری از تجزیه واریانس دوطرفه و برای مقایسه میانگین‌های بدست آمده و بررسی تفاوت معنی‌دار بین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. به این منظور، داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS23 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

جدول ۱- آنالیز ترکیب اسانس گشنیز با روش کروماتوگرافی گازی

ترکیبات	درصد	ترکیبات	درصد
آلفا پینن	۵۳/۳	الفا سیترال	۰/۰۱
کامفن	۰/۸۱	دودکانال	۰/۲۴
تیوجن	۰/۶۱	دودکانئول	۰/۰۸
بتا پینن	۳/۵۴	ایزوبورنئول	۰/۰۱
آلفا میرسنس	۸/۳	اسکوا لن	۰/۰۱
بتا میرسنس	۱۲/۳۵	لینالول اکساید	۰/۰۴
لیمونن	۱/۳۶	میرفنیل اسلات	۰/۵۸
تری کارن	۰/۹۶	هیدروکسی لینالول	۰/۰۷
ترپینن	۳/۳۸	لاواندولال استال	۰/۰۴
۴-کارن	۱/۴۸	نریل استات	۰/۲۵
لینالول	۳/۰۵	جرانیول استات	۶/۱۵
بورنئول	۰/۰۱	کاریو فیلن	۰/۱۲
۸-ال-سیرمن	۰/۰۲	پنتا دکانال	۰/۰۳
آلفا ترپینئول	۰/۰۸	نونا دکانال	۰/۰۴
سیترونلول	۰/۰۹	هپتیل فوران	۰/۰۸
بتا سیترال	۰/۰۲	لیلیال	۰/۰۸
ترانس-جناریول	۱/۳۲	هیدروکسی بنزیل استون	۰/۰۴

آزمون‌های میکروبی

شمارش کلی میکروبی و شمارش سرماگراها به روش کشت مخلوط و با استفاده از محیط کشت پلیت کانت

آگار[1] (PCA) (Merck, Germany) و به ترتیب با انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۳) و در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز انجام شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۲). بدین صورت که ابتدا ۱۰ گرم نمونه در شرایط استریل در ۹۰ میلی‌لیتر محلول رینگر هموژن شد و سپس رقت‌سازی انجام پذیرفت. پس از تهیه رقت‌ها ۱ میلی‌لیتر از رقت مورد نظر داخل پلیت استریل ریخته شد و مقدار ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت پلیت کانت آگار به آن اضافه شد. پس از گذشت زمان انکوباسیون تمام کلنی‌ها به وسیله کلنی کانتر شمارش گردید و در عکس رقت مورد نظر ضرب شد تا تعداد پرگنه‌ها در گرم بدست آید. شمارش کلیفرم‌ها با استفاده از محیط کشت ویولت رد بایل لاکتوز آگار[2] (VRBLA) (Merck, Germany) و به روش کشت مخلوط و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون انجام شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶).

ارزیابی حسی

ارزیابی خصوصیات حسی بر مبنای مقیاس هدونیک پنج نقطه‌ای توسط ۱۵ نفر ارزیاب آموزش دیده انجام گردید. امتیازدهی به ویژگی‌های حسی شامل ظاهر و رنگ، بافت، عطر و بو و همچنین پذیرش کلی با انتخاب بین امتیازهای ۱ تا ۵ (امتیاز ۱ بسیار بد و امتیاز ۵ بسیار خوب) در پرسشنامه از پیش طراحی شده انجام شد (Howgate et al., 1992).

نتایج

نتایج شمارش کلی میکروبی حاکی از اثر معنی‌دار استفاده از عصاره سیر و اسانس گشنیز در تیمارها و همچنین مدت زمان نگهداری می‌باشد. همان‌طور که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود، با گذشت زمان بار کلی میکروبی در تمامی تیمارها به طور معنی‌داری افزایش یافت، به‌طوری‌که کمترین مقادیر شمارش در تمامی نمونه‌ها در روز صفر نگهداری و بیشترین مقادیر در انتهای دوره نگهداری مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). نتایج آنالیز آماری در ارتباط با نمونه‌های مختلف نشان داد که تیمارهای مختلف در روز صفر و سوم نگهداری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و دو نمونه شاهد نداشتند ($P>۰/۰۵$). با توجه به نتایج آنالیز آماری افزودن پوشش خوراکی کیتوزان به همراه عصاره سیر و اسانس گشنیز به فیله ماهی سبب کند شدن روند افزایشی بار کلی میکروبی شد، به‌طوری‌که در روز ششم نگهداری، بیشترین مقادیر به ترتیب در نمونه شاهد ۱، تیمار حاوی ۰/۱ درصد اسانس گشنیز، تیمار حاوی ۰/۱ درصد عصاره سیر و شاهد ۲ مشاهده شد و کمترین مقدار شمارش در روز ششم در تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره سیر + ۰/۵ درصد اسانس گشنیز مشاهده شد. در روز نهم نگهداری، بیشترین مقادیر شمارش به ترتیب در نمونه‌های شاهد ۱ و شاهد ۲ (کیتوزان) مشاهده شد و کمترین مقادیر شمارش به ترتیب در تیمارهای حاوی ۰/۵ درصد عصاره سیر + ۰/۵ درصد اسانس گشنیز و سپس تیمار حاوی ۰/۱ درصد عصاره سیر + ۰/۵ درصد اسانس گشنیز مشاهده شد که این دو تیمار اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند اما با سایر نمونه‌ها اختلاف آماری معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). در روز دوازدهم نگهداری نیز بیشترین مقدار شمارش در گروه شاهد ۱ (۸/۹۲ cfu/g) و کمترین مقدار شمارش در تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره سیر + ۰/۵ درصد اسانس گشنیز (۷/۱۲ cfu/g) مشاهده شد که با تمامی نمونه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری داشتند ($P<۰/۰۵$).

نتایج شمارش باکتری‌های سرماگرا حاکی از معنی‌دار بودن اثر بکارگیری از عصاره سیر و اسانس گشنیز در تیمارها، مدت زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار و زمان می‌باشد ($P<۰/۰۵$).

1- Plate Count Agar
2- Violet Red Bile Lactose Agar

جدول ۲- نتایج شمارش کلی میکروبی (log cfu/g) نمونه‌های ماهی طی ۱۲ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (میانگین ± انحراف معیار)

نمونه‌ها	زمان نگهداری (روز)				
	۰	۳	۶	۹	۱۲
شاهد۱ (بدون پوشش)	۲/۴۰±۰/۱۱ ^{Ae}	۴/۸۴±۰/۱۸ ^{Ad}	۵/۹۶±۰/۳۸ ^{Ac}	۷/۳۳±۰/۱۰ ^{Ab}	۸/۹۲±۰/۱۸ ^{Aa}
شاهد۲ (کیتوزان)	۲/۴۰±۰/۱۳ ^{Ae}	۴/۹۲±۰/۰۸ ^{Ad}	۵/۶۴±۰/۱۰ ^{ABCDc}	۷/۰۴±۰/۱۵ ^{ABb}	۸/۱۱±۰/۲۱ ^{Ba}
۰/۱ درصد عصاره سیر	۲/۳۸±۰/۱۱ ^{Ae}	۴/۷۶±۰/۲۱ ^{Ad}	۵/۸۱±۰/۳۳ ^{ABCc}	۶/۷۷±۰/۲۶ ^{BCb}	۸/۱۶±۰/۲۰ ^{Ba}
۰/۵ درصد عصاره سیر	۲/۴۰±۰/۱۸ ^{Ae}	۴/۷۶±۰/۲۲ ^{Ad}	۵/۵۲±۰/۱۷ ^{BCDEc}	۶/۶۹±۰/۲۷ ^{Cb}	۷/۸۰±۰/۰۵ ^{Ca}
۰/۱ درصد اسانس گشنیز	۲/۳۹±۰/۱۳ ^{Ae}	۴/۸۴±۰/۱۷ ^{Ad}	۵/۸۴±۰/۱۶ ^{ABc}	۶/۸۰±۰/۰۱ ^{BCb}	۷/۷۷±۰/۱۵ ^{Ca}
۰/۵ درصد اسانس گشنیز	۲/۴۲±۰/۰۸ ^{Ae}	۴/۵۸±۰/۱۹ ^{Ad}	۵/۳۵±۰/۰۴ ^{DEc}	۶/۳۲±۰/۲۷ ^{DEb}	۷/۴۴±۰/۰۸ ^{Da}
۰/۱ درصد عصاره سیر+ ۰/۱ درصد اسانس گشنیز	۲/۴۲±۰/۱۴ ^{Ae}	۴/۷۹±۰/۱۷ ^{Ad}	۵/۴۷±۰/۰۲ ^{BCDEc}	۶/۷۶±۰/۰۴ ^{BCb}	۷/۴۷±۰/۰۴ ^{Da}
۰/۱ درصد عصاره سیر+ ۰/۵ درصد اسانس گشنیز	۲/۴۲±۰/۱۰ ^{Ae}	۴/۷۰±۰/۱۶ ^{Ad}	۵/۳۳±۰/۰۸ ^{DEc}	۶/۳۱±۰/۰۳ ^{DEb}	۷/۳۷±۰/۰۶ ^{Da}
۰/۵ درصد عصاره سیر+۰/۱ درصد اسانس گشنیز	۲/۳۹±۰/۱۳ ^{Ae}	۴/۷۹±۰/۱۵ ^{Ad}	۵/۴۲±۰/۳۲ ^{CDEc}	۶/۵۸±۰/۱۰ ^{CDb}	۷/۴۶±۰/۰۵ ^{Da}
۰/۵ درصد عصاره سیر+ ۰/۵ درصد اسانس گشنیز	۲/۴۰±۰/۱۸ ^{Ae}	۴/۷۰±۰/۱۵ ^{Ad}	۵/۱۵±۰/۱۹ ^{Ec}	۶/۱۳±۰/۱۶ ^{Eb}	۷/۱۲±۰/۱۳ ^{Ea}

A-E: حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).

a-e: حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین روزهای نگهداری می‌باشد (P<۰/۰۵).

همانطور که در جدول ۳ ملاحظه می‌شود با گذشت زمان مقادیر شمارش باکتری‌های سرماگرا در تمامی نمونه‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت. نتایج نشان داد که نمونه‌های مختلف در روز صفر نگهداری اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (P>۰/۰۵). در روز سوم، نمونه‌های شاهد و تیمار های حاوی عصاره سیر به تنهایی به طور معنی‌دار دارای شمارش باکتری‌های سرماگرا بیشتری در مقایسه با سایر تیمارها بودند به طوری که بیشترین تعداد باکتری‌های سرماگرا در تیمار حاوی ۰/۱ درصد عصاره سیر و کمترین شمارش در تیمار پوشش داده شده با کیتوزان حاوی ۰/۵ درصد عصاره سیر + ۰/۵ درصد اسانس گشنیز مشاهده شد. افزودن پوشش خوراکی کیتوزان به همراه عصاره سیر و اسانس گشنیز از روز ششم نگهداری بر روی باکتری‌های سرماگرا تأثیر واضح‌تری داشت، به‌طوریکه در روزهای ۶ تا ۱۲ نگهداری، بیشترین مقادیر شمارش در شاهد ۱ مشاهده شد که با سایر نمونه‌ها اختلاف معنداری داشت (P<۰/۰۵). درحالی‌که کمترین مقادیر شمارش باکتری‌های سرماگرا در طی روزهای ۶ تا ۱۲ نگهداری در تیمارهای حاوی ترکیب مقادیر مختلف عصاره سیر و اسانس گشنیز مشاهده شد که عمدتاً با یکدیگر اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند اما با سایر تیمارها و نمونه‌های شاهد اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). البته در روز دوازدهم، کمترین مقدار شمارش (۵/۲۲ cfu/g) در تیمار پوشش کیتوزان حاوی ۰/۵ درصد عصاره سیر + ۰/۵ درصد اسانس گشنیز مشاهده شد (P<۰/۰۵).

جدول ۳- نتایج شمارش باکتری‌های سرماگرا (log cfu/g) نمونه‌های ماهی طی ۱۲ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (میانگین ± انحراف معیار)

نمونه‌ها	زمان نگهداری (روز)				
	۰	۳	۶	۹	۱۲
شاهد۱ (بدون پوشش)	۲/۰۸±۰/۰۵ ^{Ae}	۳/۱۶±۰/۰۶ ^{ABCd}	۴/۵۵±۰/۰۶ ^{Ac}	۵/۷۹±۰/۰۵ ^{Ab}	۶/۸۶±۰/۱۷ ^{Aa}
شاهد۲ (کیتوزان)	۲/۰۸±۰/۰۵ ^{Ae}	۳/۳۴±۰/۰۷ ^{Ad}	۳/۸۶±۰/۱۷ ^{Bc}	۵/۵۲±۰/۰۷ ^{Bb}	۶/۵۶±۰/۰۲ ^{Ba}
۰/۱ درصد عصاره سیر	۲/۰۸±۰/۰۱ ^{Ae}	۳/۳۵±۰/۱۰ ^{Ad}	۳/۸۱±۰/۰۳ ^{BCc}	۵/۵۰±۰/۰۷ ^{Bb}	۶/۴۰±۰/۰۷ ^{BCa}
۰/۵ درصد عصاره سیر	۲/۰۸±۰/۰۳ ^{Ae}	۳/۲۰±۰/۱۴ ^{ABd}	۳/۷۱±۰/۱۰ ^{BCDc}	۵/۴۴±۰/۰۷ ^{Bb}	۶/۳۱±۰/۰۹ ^{Ca}
۰/۱ درصد اسانس گشنیز	۲/۱۰±۰/۰۴ ^{Ae}	۳/۰۰±۰/۱۳ ^{BCDd}	۳/۸۰±۰/۱۵ ^{BCc}	۵/۳۶±۰/۲۲ ^{BCb}	۶/۳۶±۰/۱۰ ^{Ca}
۰/۵ درصد اسانس گشنیز	۲/۰۸±۰/۰۷ ^{Ae}	۲/۸۴±۰/۱۹ ^{DEd}	۳/۶۹±۰/۱۷ ^{BCDc}	۵/۱۸±۰/۲۰ ^{BCDb}	۶/۱۲±۰/۱۴ ^{Da}
۰/۱ درصد عصاره سیر+ ۰/۱ درصد اسانس گشنیز	۲/۰۶±۰/۰۴ ^{Ae}	۲/۸۵±۰/۱۸ ^{DEd}	۳/۶۰±۰/۱۰ ^{BCDEc}	۵/۳۳±۰/۰۹ ^{CDb}	۵/۸۷±۰/۱۵ ^{Ea}
۰/۱ درصد عصاره سیر+ ۰/۵ درصد اسانس گشنیز	۲/۰۸±۰/۱۱ ^{Ae}	۲/۹۵±۰/۰۸ ^{CDd}	۳/۴۵±۰/۰۶ ^{Ec}	۴/۸۱±۰/۰۵ ^{Eb}	۵/۷۵±۰/۰۱ ^{Ea}
۰/۵ درصد عصاره سیر+۰/۱ درصد اسانس گشنیز	۲/۱۰±۰/۰۷ ^{Ae}	۲/۷۸±۰/۰۴ ^{DEd}	۳/۶۲±۰/۲۱ ^{BCDc}	۵/۱۳±۰/۱۶ ^{Db}	۵/۸۹±۰/۰۲ ^{Ea}
۰/۵ درصد عصاره سیر+ ۰/۵ درصد اسانس گشنیز	۲/۰۹±۰/۰۶ ^{Ae}	۲/۶۷±۰/۰۶ ^{Ed}	۳/۵۴±۰/۲۰ ^{DEc}	۴/۷۴±۰/۰۲ ^{Eb}	۵/۲۲±۰/۰۸ ^{Fa}

A–F: حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).

a-e: حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین روزهای نگهداری می‌باشد (P<۰/۰۵).

نتایج شمارش کلیفرم‌ها حاکی از معنی‌دار بودن اثر بکارگیری از عصاره سیر و اسانس گشنیز در تیمارها، مدت زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار و زمان بود (P<۰/۰۵). همانطور که در جدول ۴ ملاحظه می‌شود، با گذشت زمان مقادیر کلیفرم‌ها در تمامی نمونه‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت. با این حال، روند افزایش تعداد کلیفرم‌ها در طی مدت نگهداری در نمونه شاهد ۱ و سپس شاهد ۲ از شیب تندی برخوردار بوده اما در تیمارهای حاوی عصاره سیر و اسانس گشنیز به‌طور جداگانه و بویژه ترکیب آنها از شیب بسیار ملایمی برخوردار بوده است. نتایج نشان داد که نمونه‌های مختلف در روز صفر نگهداری اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (P>۰/۰۵). در طی روزهای سوم و ششم نگهداری، تیمارهای حاوی عصاره سیر و اسانس گشنیز عمدتا با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند اما با هر دو نمونه شاهد اختلاف آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). همچنین در طی روزهای نهم و دوازدهم نگهداری، کمترین مقادیر شمارش کلیفرم‌ها در تیمارهای حاوی ترکیب مقادیر مختلف عصاره سیر و اسانس گشنیز مشاهده شد که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند اما با هر دو نمونه شاهد اختلاف آماری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

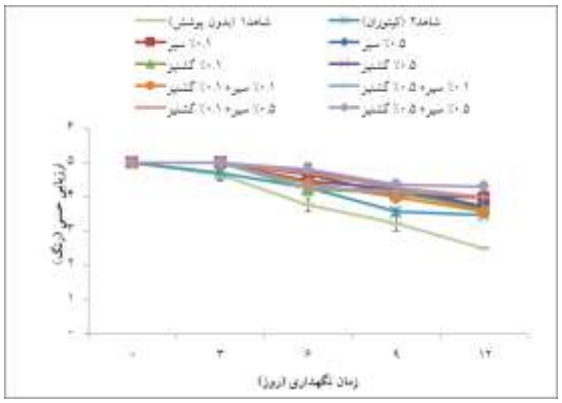
جدول ۴- نتایج شمارش کلیفرم‌ها (log cfu/g) نمونه‌های ماهی طی ۱۲ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (میانگین ± انحراف معیار)

نمونه‌ها	زمان نگهداری (روز)				
	۰	۳	۶	۹	۱۲
شاهد۱ (بدون پوشش)	۰/۲۵±۰/۰۱ ^{Ae}	۱/۱۳±۰/۱۷ ^{Ad}	۱/۶۴±۰/۱۰ ^{Ac}	۲/۱۳±۰/۱۵ ^{Ab}	۳/۴۹±۰/۱۱ ^{Aa}
شاهد۲ (کیتوزان)	۰/۲۵±۰/۰۳ ^{Ad}	۰/۵۷±۰/۰۱ ^{Bc}	۱/۱۳±۰/۰۹ ^{Bb}	۱/۱۴±۰/۱۷ ^{Bb}	۲/۱۵±۰/۰۸ ^{Ba}
۰/۱ درصد عصاره سیر	۰/۲۶±۰/۰۵ ^{Ac}	۰/۳۰±۰/۰۱ ^{Cc}	۰/۳۰±۰/۰۳ ^{Dc}	۰/۶۶±۰/۰۲ ^{Cb}	۰/۸۶±۰/۱۵ ^{Ca}
۰/۵ درصد عصاره سیر	۰/۲۶±۰/۰۶ ^{Ac}	۰/۳۱±۰/۰۴ ^{Cc}	۰/۳۲±۰/۰۱ ^{Dc}	۰/۵۹±۰/۰۵ ^{CDb}	۰/۶۶±۰/۰۱ ^{Da}
۰/۱ درصد اسانس گشنیز	۰/۲۵±۰/۰۱ ^{Ad}	۰/۳۴±۰/۰۰ ^{Cc}	۰/۴۰±۰/۰۵ ^{BCc}	۰/۶۰±۰/۰۸ ^{CDb}	۰/۶۳±۰/۰۱ ^{DEa}
۰/۵ درصد اسانس گشنیز	۰/۲۳±۰/۰۳ ^{Ac}	۰/۳۴±۰/۰۴ ^{Cbc}	۰/۴۲±۰/۰۶ ^{BCb}	۰/۵۹±۰/۰۹ ^{CDa}	۰/۶۱±۰/۰۳ ^{DEa}
۰/۱ درصد عصاره سیر+ ۰/۱ درصد اسانس گشنیز	۰/۲۲±۰/۰۱ ^{Ad}	۰/۳۶±۰/۰۱ ^{Cc}	۰/۴۶±۰/۰۵ ^{Cb}	۰/۴۵±۰/۰۴ ^{DEab}	۰/۵۲±۰/۰۳ ^{EFa}
۰/۱ درصد عصاره سیر+ ۰/۵ درصد اسانس گشنیز	۰/۲۵±۰/۰۲ ^{Ad}	۰/۳۷±۰/۰۳ ^{Cc}	۰/۳۷±۰/۰۸ ^{BCc}	۰/۴۵±۰/۰۱ ^{DEab}	۰/۵۰±۰/۰۳ ^{EFa}
۰/۵ درصد عصاره سیر+۰/۱ درصد اسانس گشنیز	۰/۲۵±۰/۰۲ ^{Ab}	۰/۴۱±۰/۰۱ ^{Ca}	۰/۴۰±۰/۰۵ ^{BCa}	۰/۴۱±۰/۰۰ ^{Ea}	۰/۳۹±۰/۰۴ ^{Fa}
۰/۵ درصد عصاره سیر+ ۰/۵ درصد اسانس گشنیز	۰/۲۵±۰/۰۱ ^{Ab}	۰/۳۲±۰/۰۲ ^{Cab}	۰/۳۵±۰/۰۱ ^{BCa}	۰/۳۸±۰/۰۹ ^{Ea}	۰/۴۰±۰/۰۴ ^{Fa}

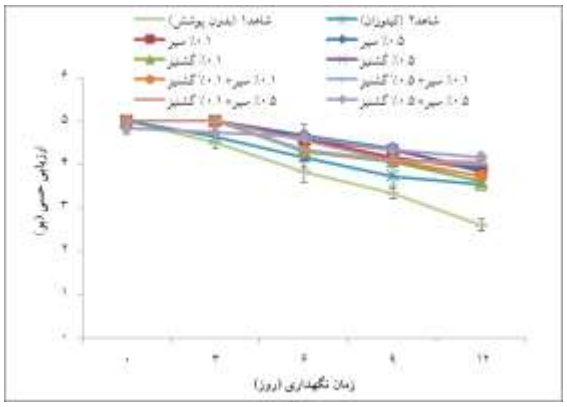
A-F: حروف بزرگ متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).

a-e: حروف کوچک متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین روزهای نگهداری می‌باشد (P<۰/۰۵).

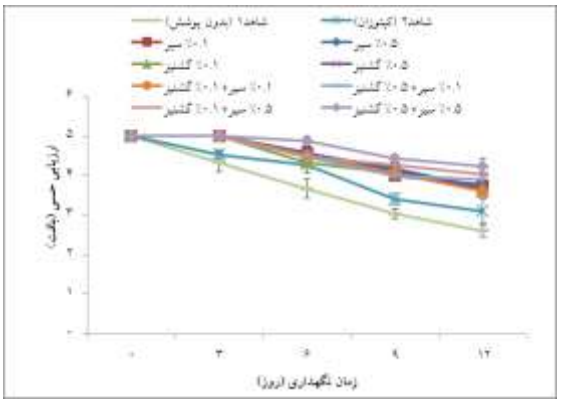
نتایج ارزیابی حسی ویژگی‌های رنگ، بو، بافت و پذیرش کلی به ترتیب در نمودارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ قابل مشاهده است. همانطور که ملاحظه می‌شود با افزایش مدت زمان نگهداری مقادیر امتیازات رنگ، بو، بافت و پذیرش کلی در تمامی نمونه‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت، به طوریکه بیشترین امتیاز حسی در روز صفر نگهداری و کمترین مقادیر در انتهای دوره نگهداری مشاهده شد (P<۰/۰۵). با این حال، روند افت ویژگی‌های حسی در نمونه شاهد ۱ و سپس شاهد ۲ در مقایسه با تیمارها از سرعت بیشتری برخوردار بوده است. نتایج نشان داد که در تمام روزهای نگهداری (به غیر از روز صفر) کمترین مقادیر امتیاز حسی در شاهد ۱ و پس از آن در شاهد ۲ مشاهده شد (P<۰/۰۵). از طرف دیگر، بیشترین امتیازات حسی در طول مدت زمان نگهداری (به غیر از روز صفر) به تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره سیر + ۰/۵ درصد اسانس گشنیز و سپس تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره سیر + ۰/۱ درصد اسانس گشنیز و تیمار حاوی ۰/۱ درصد عصاره سیر + ۰/۵ درصد اسانس گشنیز اختصاص یافت (P<۰/۰۵).



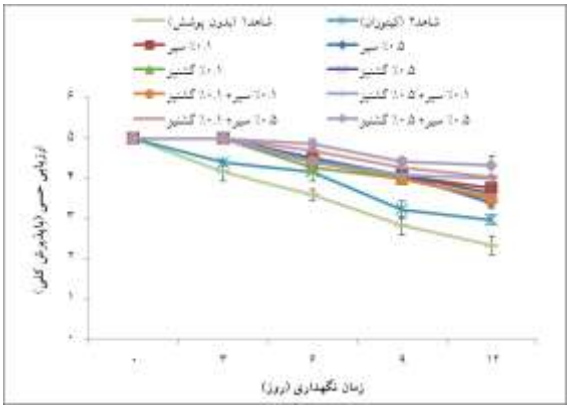
نمودار ۱- نتایج ارزیابی حسی رنگ نمونه‌های ماهی طی ۱۲ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد



نمودار ۲- نتایج ارزیابی حسی بو نمونه‌های ماهی طی ۱۲ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد



نمودار ۳- نتایج ارزیابی حسی بافت نمونه‌های ماهی طی ۱۲ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد



نمودار ۴- نتایج ارزیابی حسی پذیرش کلی نمونه‌های ماهی طی ۱۲ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

بحث

فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی می‌توانند از یکسو نوعی از مواد بسته‌بندی و از سوی دیگر جزیی از ترکیبات مواد غذایی باشند. استفاده از پوشش‌های ضدمیکروبی در مقایسه با افزودن مستقیم ماده ضد میکروبی بسیار مؤثرتر است، زیرا ترکیب ضد میکروبی به کندی از سطح بسته‌بندی به ماده غذایی آزاد می‌شود و در غلظت مورد نیاز برای جلوگیری از رشد میکروبی حفظ می‌گردد (Krochta, 1997). توانایی آنتی‌باکتریایی کیتوزان را به وجود بار مثبت مولکول‌های آن نسبت داده‌اند که در نتیجه برهم‌کنش با غشای سلول باکتریایی (که دارای بار منفی می‌باشد)، موجب خروج اجزا و ترکیبات ضروری سلول باکتری و در نهایت مرگ

آن می‌شود (Ojagh et al., 2010). همچنین کمتر بودن بار کلی میکروبی در تیمارهای حاوی اسانس و عصاره می‌تواند ناشی از ترکیبات فنولی موجود در آنها نظیر آلیسین در سیر و لینالول و آلفا پینن در گشنیز باشد (میرزا و همکاران، ۱۳۷۵، قادری و همکاران، ۱۳۹۱). ترکیبات فنولی موجود در اسانس و عصاره‌های گیاهی غشای خارجی میکروارگانیسم‌ها را تخریب کرده و سبب خروج لیپوساکاریدها و افزایش نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی به ATP می‌شود. خروج ATP منجر به تمام شدن ذخیره انرژی سلول و مرگ سلول می‌شود (Burt, 2004; Hosseini et al., 2009). از طرف دیگر، بهبود خصوصیات حسی می‌تواند به علت استفاده از پوشش که یک مانع خوب برای ورود اکسیژن می‌باشد و همچنین خواص ضداکسیداسیونی و ضد باکتریایی اسانس و عصاره باشد و همچنین تلفیق این دو که از بروز اثرات نامطلوب حسی جلوگیری می‌کند (Negi et al., 1999). مشاهدات این پژوهش با مشاهدات محققان دیگر در رابطه با اثر پوشش های خوراکی حاوی اسانس و عصاره بر افزایش زمان ماندگاری ماهی در یخچال همخوانی داشت.

مطلبی و همکاران (۲۰۱۰)، بررسی اثر پوشش پروتئین آب پنیر را بر کیفیت کیلکا معمولی منجمد در مدت نگهداری بررسی کردند و نتایج نشان داد که آلودگی کلی‌فرم، *اشرشیاکلی*[1] و *سودوموناس*[2] در نمونه پوشش داده شده در مدت نگهداری منفی بوده است. همچنین شمارش کلی باکتریایی در نمونه پوشش داده شده در مقایسه با نمونه شاهد کمتر بود. از طرف دیگر ویژگی-های طعم، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی در نمونه پوشش داده شده نسبت به نمونه شاهد از کیفیت بهتری برخوردار بود (Motalebi et al., 2010). تاینگتینگ لی و همکاران (۲۰۱۳)، اثرات عصاره هسته انگور (۰/۲ درصد) و پلی فنل های چای (۰/۲ درصد) در فیلم کیتوزان (۱/۵ درصد وزنی/حجمی) را بر تعداد کل باکتری‌های زنده و ویژگی‌های حسی ماهی سرخ طبل طی ۲۰ روز نگهداری و در فواصل ۴ روزه طی نگهداری در یخچال مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که دو تیمار مورد بررسی می‌تواند باعث حفظ کیفیت و افزایش مدت ماندگاری به میزان ۶-۸ روز نسبت به نمونه شاهد گردد. همچنین پوشش کیتوزان به همراه پلی فنل‌های چای به طور مؤثرتری نسبت به پوشش کیتوزان به همراه عصاره هسته انگور فساد میکروبی و اکسیداتیو را درفیله ماهی به تعویق انداخت (Tingting Li, 2013).

ولپ و همکاران (۲۰۱۵)، کاربرد پوشش‌های فعال خوراکی در افزایش ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه، فیله تازه قزل‌آلا به سه گروه تقسیم شدند، فیله ماهی قزل‌آلا بدون پوشش، پوشش داده شده با کاراگینان و پوشش داده شده با کاراگینان حاوی اسانس روغنی لیمو با غلظت ۱ درصد. اثر پوشش‌دهی با کاراگینان حاوی اسانس لیمو بر کیفیت فیله قزل‌آلای رنگین کمان در طول زمان نگهداری در یخچال در مدت ۱۵ روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که پوشش خوراکی حاوی اسانس لیمو با غلظت ۱ درصد در نگهداری فیله قزل‌آلای رنگین کمان، تأثیر مثبتی بر جلوگیری از اکسیداسیون چربی‌ها و رشد میکروبی دارد (Volpe et al., 2015). شرافتی چالشتری و همکاران (۱۳۹۴)، اثر پوشش کیتوزان ۲ درصد همراه با اسانس لیمو در غلظت‌های ۰/۲۵ درصد و ۰/۵ درصد را بر کیفیت میکروبی ماهی قزل‌آلا در دماهای ۱±۲ درجه سانتیگراد و ۱±۸ درجه سانتیگراد در روزهای ۰، ۳ و ۶ بررسی کردند و نتایج نشان داد که حداقل میزان غلظت مهارکنندگی باکتری‌ها و حداقل میزان باکتری کشی باکتری‌ها برای چهار باکتری *شیگلا دیزانتری*[3]، *لیستریا مونوسیتوژنز*[1]،

1- *Escherichia coli*
2- *Pseudomonas*
3- *Shigella dysenteriae*

استرپتوکوکوس پایوژنز[2] و *سالمونلا تایفی*[3] یکسان بود و به ترتیب برابر با ۱/۴۱ و ۲/۸۱ میلی گرم در میلی لیتر بود. استفاده از کیتوزان همراه با اسانس لیمو سبب کاهش شمارش کلی باکتری‌ها، سرماگراها و انتروباکتریاسه در دو دمای مذکور در ماهی قزل‌آلا شد (P<۰/۰۵). اسانس لیموی ۰/۵ درصد دردمای ۱±۸ درجه سبب کاهش رشد انتروباکتریاسه و باکتری‌های سرماگرا نسبت به اسانس لیموی ۰/۲۵ درصد شد (Sharafati-Chaleshtori et al., 2015). مولایی آقایی و همکاران (۱۳۹۵) افزایش اثر ضدمیکروبی بوسیله اسانس سیر (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد) در فیلم کیتوزان را جهت بسته‌بندی یک مدل غذایی در دمای ۴ درجه سانتیگراد در روزهای ۰، ۲، ۴، ۷، ۱۰ و ۱۴ مورد توجه قرار دادند و نتایج نشان داد که نمونه‌های کنترل در مقایسه با نمونه‌های بسته بندی شده با انواع فیلم کیتوزان در شمارش کلی، کلیفرم، *استافیلوکوکوس اورئوس*[4] و باکتری‌های سرماگرا اختلاف معنی‌داری نشان دادند. در پایان میزان شمارش کلی ماده غذایی بسته‌بندی شده با فیلم کیتوزان حاوی ۲، ۱ و ۰/۵ درصد اسانس سیر به ترتیب به میزان ۱/۵، ۱/۱ و ۱ لگاریتم نسبت به کنترل کاهش داشت (Molaee-Aghaee et al., 2016).

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که در تمامی تیمارها بار میکروبی با گذشت زمان افزایش یافت ولی در تیمارهای حاوی پوشش کیتوزان و عصاره سیر و اسانس گشنیز نسبت به نمونه‌های شاهد این افزایش کندتر صورت گرفت و بهترین نتایج در تیمار حاوی ۰/۵ درصد عصاره سیر و ۰/۵ درصد اسانس گشنیز مشاهده شد و از نظر بار میکروبی کلی تا روز ۱۲ نگهداری در محدوده مجاز استاندارد قرار داشت، در صورتی‌که نمونه شاهد بدون پوشش تا روز ۶ نگهداری در محدوده مجاز استاندارد قرار داشت. همچنین این تیمار از بالاترین امتیاز حسی نیز برخوردار بود. لذا این تیمار می‌تواند به عنوان تیمار برتر معرفی شده و به عنوان یک پوشش خوراکی نگهدارنده با کنترل بار میکروبی سبب افزایش زمان ماندگاری ماهی طی نگهداری در یخچال شود و بتواند غذایی با کیفیت بالا، ایمن و ارزان را تامین نماید.

1- *Listeria monocytogenes*
2- *Streptococcus pyogenes*
3- *Salmonella typhi*
4- *Staphylococcus aureus*

منابع

۱. بکائیان، محمد.، فرازمند، راضیه.، کی قبادی، سمانه و سعیدی، سعیده. ۱۳۹۴. بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی سیر برروی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف. مجله پژوهش‌های گیاهی، سال بیست و هشتم، شماره ۱، صفحات ۴۱-۳۴.

۲. بهنام، بهنوش و علی‌اکبرلو، جواد. ۱۳۹۲. اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس آویشن شیرازی و پونه کوهی روی گوشت مرغ نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، سال بیست وسوم، شماره ۴، صفحات ۵۴۳-۵۳۳.

۳. حسن زاده، پرویز.، تاجیک، حسین و رضوی روحانی، مهدی. ۱۳۹۰. کاربرد پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره دانه انگور بر روی کیفیت و ماندگاری گوشت مرغ در دمای یخچال. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، سال بیست و یکم، شماره ۴، صفحات ۴۸۲-۴۶۸.

۴. سازمان ملی استاندارد ایران. ۱۳۸۲. روش جامع برای شمارش میکروارگانیسم های سرماگرا. استاندارد شماره .۲۶۲۹

۵. سازمان ملی استاندارد ایران. ۱۳۹۳. روش جامع برای شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها. استاندارد شماره ۱-۵۲۷۲.

۶. سازمان ملی استاندارد ایران. ۱۳۸۶. روش جامع برای شمارش کلیفرم‌ها. استاندارد شماره .۹۲۶۳

۷. شرافتی چالشتری، رضا.، تقی‌زاده، محسن.، میری، صفورا.، اسدی، زهره.، عبدی‌پور، محدثه و شیری،

وحیده. ۱۳۹۴. بررسی اثر پوشش کیتوزان همراه با اسانس لیمو بر کیفیت میکروبی ماهی قزل‌آلا. مجله میکروب‌شناسی مواد غذایی، سال دوم، شماره ۵، صفحات ۱۹-۷.

۸. قادری، سجاد.، فلاحتی، اصغر.، سرایلو، محمد حسین و قنبری، وحید. ۱۳۹۱. بررسی ترکیبات و اثر ضدباکتریایی اسانس سه گیاه گشنیز، بومادران و شوید در شرایط آزمایشگاهی. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، سال چهاردهم، شماره ۵، صفحات ۸۲-۷۴.

۹. مولایی آقایی، ابراهیم.، کامکار، ابوالفضل.، آخوندزاده بستی، افشین.، خنجری، علی و کونتومیناس، مایکل. ۱۳۹۵. ارزیابی اثر ضدمیکروبی اسانس سیر (*Allium sativum* L) در ترکیب با فیلم‌های پوشش‌دهنده و زیست‌تخریب‌پذیر کیتوزان. فصلنامه گیاهان دارویی، سال پانزدهم، شماره ۵۸، صفحات ۱۵۰-۱۴۱.

۱۰. میرزا، مهدی.، سفیدکن، فاطمه و احمدی، لطیفه. ۱۳۷۵. اسانسهای طبیعی، استخراج، شناسایی کمی و کیفی. انتشارات موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، صفحه ۱۷۵.

10. Abowei, J. and Tawari, C. 2011. Some basic principles of fish processing in Nigeria. Asian J of Agric Sci. 6: 437-452.

11. Aider, M. 2010. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry. J Food Sci Technol. 6: 837-842.

12. Bartolomeu, W.S.S., Cerqueira, M.A., Ruiz, H.A., Martins, J.T., Casariego, A., Teixeira, J.A. and Vicente, A.A. 2010. Effect of chitosan-based containing on the shelf life of salmon. J Food Chem. 21: 11456-11462.

13. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial propertied and poenial application in food –a review. Int J Food Microbiol. 94: 223-253

14. Davidson, P.M. and Zivanivic, S. 2003. The use of natural antimicrobials. In: Zeuthen P. and Bogh-Sorensen L. (ed.), Food Preservation Techniques. Woodhead Publishing Limited and CRC Press, Washington, pp. 5-8.

15. Debeaufort, F., Quezado-Gallo, J.A. and Voilley, A. 1998. Edible films and coatings tomorrow packging: A review. J Food Sci Nutr. 38: 299-313.

16. Diederichsen, A. 1996. Coriander, Coriandrum sativum L. In: Heller, J., Engels, J. and Hammer, K. (ed.), Promoting the conservation and use of underutilzed and neglected crops Vol. 3. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, pp. 22-24.

17. Gennadios, A., Hanna, M.A. and Kurth, L.B. 1997. Application of edible coatings on meat, poultry and seafoods: A review. Food Sci Technol. 30: 337-350.

18. Hosseini, M.H., Razavi, S.H. and Mousavi, M.A. 2009. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. J Food Process and Pres. 33: 727-743.

19. Howgate, P., Johnston, A. and Whittle, K.J. 1992. Multilingual guide to EC freshness grades for fishery products. Aberdeen Marine Laboratory, Department of Agriculture, and Fisheries for Scotland.

20. Kim, S.Y., Jeong, S.M., Park, W.P., Nam, K.C., Ahn, D.U. and Lee, S.C. 2006. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. J Food Chem. 97: 472-479.

21. Krochta, J.M. 1997. Edible protein films and coatings. In: Damodaran, S. and Paraf, A. (ed.), Food Proteins and Their Application in Foods. Marcel Dekker, New York, pp. 529-549.

22. Majeti, N.V. and Kumar, R. 2000. A review of chitin and chitosan applications. React and Funct Polym. 46: 1–27.

23. Motalebi, A.A., Hasanzati-Rostami, A., Khanipour, A.A. and Soltani, M. 2010. Impact whey protein edible coating on chemical and microbial factors of gutted kilka during frozen storage.Iran J Fish Sci. 2: 255-264.

24. Negi, P.S., Jayaprakasha, G.K., Jagan, L. and Sakariah, K.K. 1999. Antimicrobial activity of tumeric oil. J Food Chem. 47: 4297-4300.
25. No, H.K., Meyers, S.P., Prinyawiwatkul, W. and Xu, Z. 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review. J Food Sci. 72: 87-100.
26. Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. and Hosseini, M.H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. J Food Chem. 120: 193-198.
27. Rabinkov, A., Zhu, X.Z., Grafi, G., Galili, G. and Mirelman, D. 1994. Alliin lyase (Alliinase) from garlic (*Allium sativum*). Biochemical characterization and cDNA cloning. Appl Biochem Biotechnol. 48: 149-171.
28. Richards, M. and Hultin, H. 2002. Contributions of blood and blood components to lipid oxidation in fish muscle. J Food Chem. 50: 555–64.
29. Sahib, N.G., Anwar, F., Gilani, A.H., Hamid, A.A., Saari, N. and Alkharfy, K.M. 2013. Components for Coriander (*Coriandrum sativum L.*): A Potential Source of High Value Components for Functional Foods and Nutraceuticals. A Review. Phytother Res. 27: 1439-1456.
30. Shan, B., Cai, Y.Z., Brooks, J.D. and Corke, H. 2007. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. J Food Chem. 14: 5484 – 5490.
31. Shahidi, F. and Abuzaytoun, R. 2005. Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, production, application, and health effects. J Food Nutr Res. 49: 93- 135.
32. Tingting, L., Jianrong, L., Wenzhong, H. and Xuepeng, L. 2013. Quality enhancement refrigerated red drum fillets using chitosan coating containing natural preservatives. J Food Chem. 138: 821-826.
33. Vásconez, M., Flores, S., Campos, C., Alvarado, J. and Gerschenson, L. 2009. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan–tapioca starch based edible films and coatings. Food Res Inter. 42: 762–769.
34. Volpe, M.G., Siano, F., Paolucci, M., Sacco, A., Sorrentino, A., Malinconico, M. and Varricchio, E. 2015. Active edible coating effectiveness in shelf-life enhancement of trout (*Oncorhynchusmykiss*) Fillets. J Food Sci Technol. 60: 615-622.
35. Vicetti, R., Ishittani, T., Salas, A. and Ayava. M. 2003. Use of alfa-tochopherol combined with synergists and compared to other antioxidants on the oxidative stability of sardine skin lipids. J Food Compos Anal. 18: 131-137.

The effect of chitosan edible coating containing garlic extract and coriander essential oil on microbial and sensory properties of rainbow trout fillet in refrigerated storage

Foromandi M[1], Khani MR[2*]

1. MSc Graduate of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

***Corresponding author:** *m.khani@qodsiau.ac.ir*

Received: 4 June 2018 Accepted: 5 September 2018

Abstract

Fish is a highly perishable food and it seems necessary to use natural preservative with antimicrobial properties. This study aimed to evaluate the effect of chitosan coating with garlic extract and coriander essential on microbial and sensory quality of rainbow trout fillet during 12 days at refrigerator storage condition. For this purpose, 8 treatments were prepared with chitosan coating containing garlic extract and coriander essential oil both separately and in combination forms (in amounts of 0.1 and 0.5%) and 2 control samples including control 1 (without coating) and control 2 (chitosan coating without extract and essential oil). Then all samples were evaluated by microbiological tests including total microbial counts, total psychotropic counts, and coliforms, and sensory properties including texture, color, odor, and overall acceptance at days of 0, 3, 6, 9, and 12 during storage. The results showed that the treatment coated with chitosan containing 0.5% garlic extract and 0.5% coriander essential oil had the lowest total microbial counts, total psychotropic counts and coliforms during 12 days of storage, and the highest amounts of microbial counts were observed in control 1 and then control 2 samples ($P<0.05$). Also the treatment with the highest amounts of garlic extract and coriander essential oil had better sensory scores by the end of storage period compared to control samples. So, it is suggested that chitosan coating with garlic extract and coriander essential oil as an antimicrobial agent, can be used for extending shelf-life of fish fillet.

Keywords: Chitosan edible coating, garlic extract, coriander essential oil, rainbow trout, microbial properties.