بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد ششم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۶
http://japu.gau.ac.ir

بررسی جایگزینی سدیم استات به‌وسیله کیتوزان‌های مختلف در فیله فیل‌ماهی (*Huso huso*) طی نگهداری در یخچال (۴±۱°C)

علی احمدی[۱]، *علیرضا عالیشاهی[۲]، سید مهدی اجاق[۳] و سید حجت میرصادقی[۴]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۲]دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۳]دانشیار گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۴]دانشجوی دکتری فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۳/۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۲۹

چکیده

استفاده از مواد نگهدارنده طبیعی مانند کیتوزان در صنایع غذایی موردتوجه زیادی قرارگرفته است. در این تحقیق اثر کیتوزان معمولی ۱ درصد (محلول در اسید)، کیتوزان محلول در آب ۱ درصد، کیتوزان الیگوساکارید ۱ درصد و نگهدارنده شیمیایی سدیم استات ۱ درصد روی نگهداری فیله فیل‌ماهی در دمای یخچال (٤±١°C) در روزهای صفر، ٤، ٨، ١٢ و ١٦ نگهداری بررسی شد. موارد اندازه‌گیری شده شامل عدد پراکسید PV، تیوباربیوتیک اسید (TBA)، مجموع بازهای نیتروژنی فرار TVN-B، pH و شاخص بار میکروبی کل TVC، بودند. با توجه به نتایج کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد نسبت به سایر تیمارها، کمترین میزان تغییرات را نشان داده و اختلاف معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$)، بنابراین می‌توان جهت حفظ کیفیت فیله فیل‌ماهی طی نگهداری در یخچال مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: پوشش کیتوزانی، فیله فیل‌ماهی، ماندگاری، نگهدارنده طبیعی

مقدمه

ماهیان به‌عنوان منبع پروتئین باکیفیت بالا در جیره انسان مطرح هستند. در سال‌های اخیر خواص تغذیه‌ای و درمانی چربی ماهیان نیز موردتوجه ویژه‌ای قرار گرفته است (گلادیشو و همکاران، ۲۰۰٦؛ وبر و همکاران، ۲۰۰۸). ماهی از نظر کیفیت مواد مغذی، داشتن مقادیر فراوان اسیدهای چرب چند غیراشباع[۱] امگا -۳، پروتئین و موادمعدنی ازجمله کلسیم، فسفر، سدیم، پتاسیم و منیزیم شناخته‌شده است (ال- دین و ال- شامری، ۲۰۱۰). فیل‌ماهی (*Huso huso*) از خانواده تاس ماهیان (Acipenseridae) و بزرگ‌ترین ماهی دریای خزر می‌باشد (فین دیز، ۱۹۹۷). فیل‌ماهی به دلایل متعددی ازجمله قابلیت اهلی شدن سریع و آسان، پذیرش زندگی در شرایط اسارت، سازگاری بسیار خوب به غذای مصنوعی، سرعت رشد بالاتر، مقاومت بیشتر در مقابل استرس‌های محیطی، خاویار

*مسئول مکاتبه: Alishahi@gau.ac.ir
1- Polyunsaturated Fatty Acids

گران‌بهاتر، بیش از سایر گونه‌های ماهیان خاویاری، مناسب جهت پرورش گوشتی و حتی تولید خاویار شناخته‌شده است (فلاحت‌کار و همکاران، ٢٠١١). بدن انسان توانایی ساخت اسیدهای چرب چند غیراشباع امگا-٣ و امگا-٦ را ندارد و این‌ها باید از جیره غذایی (به‌ویژه با مصرف ماهی) تأمین شوند. اسیدهای چرب امگا-٣ و به‌ویژه‌ایکوزاپنتانوئیک اسید و دو کوزاهگزانوئیک اسید در ماهیان یافت شده و در سلامتی انسان نقش بسیار مهمی دارند (دکاسترو و همکاران، ٢٠٠٧؛ آلاسالوار و همکاران، ٢٠٠٢؛ ازوگول و همکاران، ٢٠٠٥؛ ابراهیم سلام، ٢٠٠٧). در طی سالیان گذشته اقداماتی در جلوگیری و یا به تعویق انداختن فساد گزارش‌شده است که می‌توان به کنترل درجه حرارت و کاهش آن، کنترل‌های لازم در محل فرآوری، بسته‌بندی تحت خلاء، بسته‌بندی در اتمسفر اصلاح‌شده و همچنین افزودن آنتی‌اکسیدان اشاره نمود (تال و هاریس، ١٩٩٥). افزودن مواد شیمیایی به‌منظور نگهداری مواد غذایی معمولا برمبنای جلوگیری از رشد میکروبی و یا کشتن و از بین بردن گروه‌هایی از میکروارگانیسم‌های مضر می‌باشد. به همین دلیل در سال‌های اخیر مطالعات زیادی پیرامون نگه‌دارنده‌های طبیعی صورت گرفته است. تحقیقات نشان داده که استفاده از نگه‌دارنده‌های شیمیایی، در طولانی‌مدت دارای عوارض متعددی ازجمله سرطان بوده به‌طوری‌که امروزه مصرف برخی از نگه‌دارنده‌های شیمیایی منسوخ گشته و یا به مقدار بسیار پایین مورداستفاده قرار می‌گیرند. یکی از راه‌های رفع این نقیصه، استفاده از نگه‌دارنده‌های زیستی بوده که نه‌تنها دارای عوارض جانبی نیستند بلکه باعث بهبود بو، طعم و مزه ماده غذایی شده و زمان ماندگاری محصول را نیز افزایش می‌دهند (هاس و زاگور، ١٩٩٥). با این وجود مصرف‌کنندگان تمایل بیشتری برای استفاده از نگهدارنده های طبیعی به‌جای نگهدارنده‌های مصنوعی نشان می‌دهند و این امر باعث شده تا مطالعات بیشتری در این زمینه صورت پذیرد (شان و همکاران، ٢٠٠٧؛ ژانگ و همکاران، ٢٠٠٨). یکی از نگه‌دارنده‌های طبیعی کیتوزان است. کیتوزان از کیتین (موجود در اسکلت خارجی بندپایان مانند حشرات، خرچنگ‌ها، میگوها، لابسترها و دیواره سلولی نوع خاصی از جلبک‌ها)، تولید می‌شود (ساتیول و همکاران، ٢٠٠٧؛ شهیدی و همکاران، ١٩٩٩). اثرات ضدمیکروبی، ضدسرطانی و کاهندگی کلسترول کیتوزان به اثبات رسیده است (نو و همکاران، ٢٠٠٧؛ نو و همکاران، ٢٠٠٦؛ ساگو و همکاران، ٢٠٠٢). استفاده از کیتوزان در مواد غذایی به‌ویژه به علل زیست سازگاری بالا و غیر سمی بودن، تجزیه زیستی و بی‌طعم بودن و غیره روبه افزایش می‌باشد (ساتیول و همکاران، ٢٠٠٧؛ نو و همکاران، ٢٠٠٧؛ جان و همکاران، ٢٠٠٢). در مطالعه اجاق و همکاران (٢٠١٠)، پوشش کیتوزانی توانست به شکل معنی‌داری اکسیداسیون چربی، فساد شیمیایی و رشد میکروارگانیسم‌ها را کاهش داد. بنابراین هدف این تحقیق بررسی تأثیر پوشش کیتوزان‌های مختلف و سدیم استات روی شاخص‌های عدد پراکسید PV، TBA، TVN، pH و TVC، در فیله فیل‌ماهی طی نگهداری در یخچال می‌باشد.

مواد و روش

آماده‌سازی ماهی و تهیه تیمارهای موردنیاز

آماده‌سازی ماهی: فیل‌ماهی از شرکت آبزی گستران مازند در شهرستان ساری با وزن ٨/٥ کیلوگرم، تهیه و درون جعبه حاوی یخ به نسبت ١:٢ (ماهی به یخ) در مدت ٦٠ دقیقه به آزمایشگاه مرکزی ساری منتقل گردید. سپس ماهی با آب قابل شرب شستشو، تخلیه شکمی، پوست‌کنی و فیله گردید.

تهیه محلول پوششی از کیتوزان: جهت تهیه محلول‌های پوششی کیتوزان، از ۳ نوع کیتوزان شامل کیتوزان محلول در اسید (با حل کردن ۱ درصد وزنی/ حجمی کیتوزان (درصد داستیله بیش از ۷۰ درصد و وزن مولکولی ۱۲۰۰ کیلو دالتون؛ در اسیداستیک ۱ درصد حجمی/ حجمی) (عالیشاهی و همکاران، ۲۰۱۱)؛ کیتوزان محلول در آب (با حل کردن ۱ درصد وزنی/ حجمی کیتوزان (درصد داستیله بیش از ۸۰ درصد و وزن مولکولی ۲ کیلو دالتون (شرکت گرین بوتیک، چین)، کیتوزان الیگوساکارید (با حل کردن ۱ درصد وزنی حجمی کیتوزان الیگوساکارید (درصد داستیله بیش از ۸۰ درصد و وزن مولکولی ۲ کیلو دالتون (شرکت گرین بوتیک، چین) در آب)، به‌دست آمد (اجاق و همکاران، ۲۰۱۰). برای یک‌دست شدن محلول، به‌مدت ۳ ساعت در دمای اتاق با همزن مغناطیسی هم زده شد. سپس گلیسرول به میزان ۰/۷۵ میلی‌لیتر به ازای هر گرم کیتوزان به‌عنوان پلاستی سایزر افزوده گردید و به‌مدت ۱۰ دقیقه با همزن مغناطیسی مخلوط گردید. در نهایت فیلتر کاغذی واتمن شماره ۳ برای حذف ناخالصی‌ها از محلول فوق استفاده گردید.

تهیه محلول پوششی سدیم استات: جهت تهیه محلول پوششی سدیم استات ۱ گرم سدیم استات (وزن مولی ۸۲g/mol (شرکت آروین شیمی، ایران) را در ۹۹ سی‌سی آب حل نموده و جهت انحلال کامل و یکنواخت، محلول فوق در دمای اتاق و به‌مدت ۳ ساعت روی همزن مغناطیسی قرار داده شد.

ایجاد پوشش روی فیله ماهی: جهت ایجاد پوشش بر سطح فیله‌ها، ابتدا آن‌ها را به‌مدت ۳۰ ثانیه در محلول‌های فوق غوطه‌ور نموده و سپس از محلول خارج کرده و پس از گذشت ۲ دقیقه، مجددا ۳۰ ثانیه دیگر در محلول غوطه‌ور شدند. نمونه‌های شاهد نیز بدون پوشش باقی‌ماندند. سپس فیله‌ها به‌مدت ۲ ساعت در دمای اتاق (۲۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده تا پوشش روی فیله‌ها تشکیل شود (جون و همکاران، ۲۰۰۲؛ اجاق، ۲۰۱۰).

آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار TVN-B: مجموع بازهای نیتروژن فرار TVB-N طبق روش جون و همکاران (۲۰۰۲)، سنجش شد. بدین‌صورت که ۱۰ گرم از گوشت چرخ شده ماهی همراه با ۲ گرم اکسید منیزیم و ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل بالن کلدال ریخته سپس، چند عدد پرل شیشه‌ای به همراه اکتان نرمال (ضد کف) به آن اضافه گردید. بالن به دستگاه متصل و حرارت‌دهی شده، در انتهای دستگاه یک ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری نیز حاوی ۲۵cc از محلول اسید بوریک ۲ درصد به‌همراه چند قطره معرف متیل رد قرار گرفت. عمل تقطیر تا گذشت ۳۰ دقیقه از زمان پوشش مواد درون بالن، یا جمع شدن حدود ۱۲۵ سی‌سی مایع در ارلن ادامه یافت. محلول اسید بوریک به‌محض قلیایی شدن با بازهای ازته فرار تقطیرشده زردرنگ می‌شود. عمل تیتراسیون این محلول با اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تا جایی ادامه می‌یابد که اسید بوریک دوباره قرمز گردد. مقدار نیتروژن فرار طبق رابطه ۱ محاسبه گردید (جون و همکاران، ۲۰۰۲).

رابطه (۱)

مجموع بازهای نیتروژنی فرار (میلی‌گرم/ ۱۰۰ گرم نمونه) = حجم اسیدسولفوریک مصرفی ×۱٤

اندازه‌گیری پراکسید PV: ۱۵ گرم نمونه همگن‌شده گوشت ماهی با ٦۰ سی‌سی متانول به‌همراه ٦۰ سی‌سی کلروفرم اضافه شد و بعد از ۲٤ ساعت به آن

٤٨ سی‌سی آب مقطر اضافه و پس از یک ساعت روغن موردنیاز جدا گشت. ٢٥٠ میلی‌لیتر نمونه روغن استخراج‌شده ماهی به‌دقت در یک ارلن مایر وزن و میزان ٢٥ میلی‌لیتر از محلول اسیداستیک کلروفرم (نسبت کلروفرم به اسید استیک ٣:٢) به محتویات ارلن اضافه شد. سپس ٠/٥ میلی‌لیتر از محلول یدور پتاسیم اشباع، ٣٠ میلی‌لیتر از آب مقطر و ٠/٥ میلی‌لیتر محلول نشاسته ١ درصد به مجموعه اضافه گردید، مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ٠/٠١ نرمال تیتر و میزان پراکساید طبق رابطه ٢ محاسبه شد (ایگان و همکاران، ١٩٩٧).

رابطه (٢)

$$PV = \frac{\text{نرمالیته} \times \text{حجم مصرفی تیوسولفات}}{\text{وزن نمونه}} \times ١٠٠$$

اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید TBA: اندازه‌گیری TBA به‌وسیله رنگ‌سنجی صورت گرفت. مقدار ٢٠٠ میلی‌گرم از نمونه چرخ شده ماهی به یک بالن ٢٥ میلی‌لیتری انتقال یافت و با محلول ١- بوتانل به حجم رسانده شد. ٥ میلی‌لیتر از محلول فوق به لوله‌های خشک درب‌دار وارد شده و به آن ٥ میلی‌لیتر از معرف TBA افزوده گردید (معرف TBA به‌وسیله حل شدن ٢٠٠ میلی‌گرم از TBA در ١٠٠٠ میلی‌لیتر حلال ١- بوتانل پس از فیلتر شدن به‌دست می‌آید). لوله‌های درب دار در حمام آب با دمای ٩٥ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٢ ساعت قرارگرفته و پس از آن در دمای محیط سرد شدند. سپس مقدار جذب (As) در ٥٣٠ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (As) خوانده شد. مقدار TBA (میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم بافت ماهی) بر اساس رابطه ٣ محاسبه گردید (ایگان و همکاران، ١٩٩٧).

رابطه (٣)

$$\text{TBA} = \frac{٥٠ \times (\text{As} - \text{Ab})}{٢٠٠}$$

اندازه‌گیری pH: ٥ گرم از نمونه ماهی هموژن شده و با ١٠ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و در نهایت pH نمونه با کمک دستگاه pH متر که در pH ٤ و ٧ استاندارد شده بود، اندازه‌گیری شد (هرناندز و همکاران، ٢٠٠٩).

آزمون میکروبی نمونه‌ها

اندازه‌گیری بار باکتریایی کل TVC[1]: بار باکتریایی نمونه‌ها با هموژن کردن ١٠ گرم نمونه در ٩٠ میلی‌لیتر محلول ٠/٩ درصد کلرید سدیم در شرایط استریل آغاز شد. از این محلول جهت تهیه رقت‌های متوالی استفاده گردید. کشت باکتریایی موردنظر با ریختن میزان مشخصی از نسبت‌های به‌دست‌آمده در پلیت‌های یکبار مصرف استریل و ریختن محیط کشت آگار بر آن صورت گرفت. برای شمارش کلنی‌های باکتریایی کل پلیت‌های تهیه شده به‌مدت ٢ روز در دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. شمارش کلنی‌ها بر مبنای $\log_{10}$cfu/g بیان گردید (سلام و همکاران، ٢٠٠٧).

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصله از با نرم‌افزار SPSS نسخه ١٦ استفاده گردید. ابتدا بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف‌اسمیرنوف و همگنی واریانس داده‌ها با آزمون لون انجام شد و به‌منظور ارزیابی پارامترهای مختلف شیمیایی و میکروبی در زمان‌های مختلف از آزمون‌های Anova و به‌منظور مقایسه واریانس‌ها و ارزیابی معنی‌دار بودن داده‌ها، از تست Duncan استفاده شد.

1- Total viable counts

نتایج و بحث

نتایج آنالیز شیمیایی

عددپراکسید PV: هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسایش چربی‌ها و نشان‌دهنده میزان پیشرفت اکسایش هستند (لین و لین، ۲۰۰٤). در جدول ۱ تغییرات میزان پراکسید تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال (٤±۱°C) مشاهده می‌شود. با گذشت زمان مقادیر پراکسید در همه تیمارها طی مدت نگهداری افزایش یافت. در بین تیمارهای مورد مطالعه در تمامی زمان‌های نگهداری نمونه شاهد بیشترین میزان پراکسید را نشان داد (p<۰/۰۵) و در روز ۱٦ نگهداری کمترین میزان پراکسید در تیمار پوششی کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد مشاهده شد (p<۰/۰۵). در تحقیق حاضر با گذشت زمان تا روز ۱٦ میزان پراکسید به‌طور معنی‌داری در تمام تیمارها افزایش یافت که این امر به‌واسطه اکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد ولی در نمونه تیمار شاهد از روز ۱۲ نگهداری تا روز ۱٦ نگهداری کاهش یافت که دلیل آن احتمالا تجزیه هیدروپراکسیدها به محصولات ثانویه اکسیداسیون مثل آلدئیدها و یا واکنش آن‌ها با پروتئین‌های ماهیچه‌ای مرتبط می‌باشد (گومزاستاکا و همکاران، ۲۰۰۷؛ عبدالهی و همکاران، ۲۰۱۲). به عبارت دیگر در ابتدای دوره نرخ تشکیل هیدروپراکسیدها بیشتر از نرخ تجزیه آن‌ها بوده است که شاهد افزایش میزان پراکسید می‌باشیم و پس از رسیدن به مقدار بیشینه به‌دلیل کاهش میزان سوبسترا یا ماده اولیه و ناپایدار بودن مولکول‌های پراکسید منجر به پیشی گرفتن سرعت تجزیه نسبت به تشکیل می‌شود (پریرا دآبرو و همکاران، ۲۰۱۱). پوشش‌های کیتوزانی مانع اکسیژنی خوبی هستند و به‌طور مستقیم روی سطح گوشت ماهی به‌کار می‌روند ممکن است به‌صورت یک مانع مناسب بین گوشت ماهی و محیط اطراف عمل نمایند و بنابراین نفوذ اکسیژن به سطح گوشت ماهی را کم کنند. همان‌طور که مشاهده می‌شود نتایج تحقیق حاضر بیانگر تأثیر تیمارهای پوششی کیتوزان محلول در اسید در کاهش میزان پراکسید نمونه‌های تحت مطالعه می‌باشد (اجاق و همکاران، ۲۰۱۰؛ کلته و همکاران، ۲۰۱٤).

جدول ۱- تغییرات مقادیر پراکسید PV تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال (٤±۱°C).

تیمار/ زمان	۰	٤	۸	۱۲	۱٦
شاهد	۰/۷٦±۰/۰۱^{Da}	۱/٤٦ ±۰/۰۳^{Ca}	۵/۰۲ ±۰/۰٤^{Ba}	۵/۳۲ ±۰/۱۱^{Aa}	٤/۸۹ ±۰/۱۹^{Ba}
سدیم استات ۱ درصد	۰/۷٤±۰/۰۱^{Ea}	۰/۹٤ ±۰/۰۲^{Db}	۱/۵۰ ±۰/۰۲^{Cb}	۲/٦۱ ±۰/۱۰^{Bb}	۳/٦٤ ±۰/۰۵^{Ab}
*ک- م- اسید ۱ درصد	۰/۷۲ ±۰/۰۲^{Ea}	۰/۸۱ ±۰/۰۲^{Dc}	۱/۱۰ ±۰/۰۱^{Cd}	۱/٤۳ ±۰/۰٦^{Bd}	۱/٦٤ ±۰/۰۷^{Ad}
**ک- م- آب ۱ درصد	۰/۷۳ ±۰/۰۳^{Ea}	۰/۹٤ ±۰/۰٤^{Db}	۱/٤۳ ±۰/۰۳^{Cc}	۲/٤۰ ±۰/۰۲^{Bc}	۳/۳۹ ±۰/۰۱^{Ac}
***ک- الیگوساکارید ۱ درصد	۰/۷٤ ±۰/۰۳^{Ea}	۰/۹۷ ±۰/۰۳^{Db}	۱/۵۲ ±۰/۰٤^{Cb}	۲/۳۵ ±۰/۰٦^{Bc}	۳/۳۱ ±۰/۰۳^{Ac}

داده‌ها به‌صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند. * کیتوزان محلول در اسید ** کیتوزان محلول در آب*** کیتوزان الیگوساکارید. حروف کوچک متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار میان داده‌ها در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میان داده‌ها در هر ردیف می‌باشد (p<۰/۰۵).

pH: pH یکی از پارامترها برای نشان دادن کاهش کیفیت گوشت در زمان نگهداری است. افزایش pH اثر قابل‌توجهی بر کیفیت محصول طی دوره نگه‌داری دارد که می‌تواند باعث کاهش کیفیت محصول شود (سوزا و همکاران، ۲۰۱۰). در جدول ۲ تغییرات شاخص pH تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال (٤±۱°C) مشاهده می‌شود. میزان pH در تیمارهای مختلف باگذشت زمان افزایش یافت. در بین تیمارهای مورد مطالعه طی نگهداری نمونه شاهد بیشترین میزان pH را نشان داد (p<۰/۰۵) و در روز ۱٦ نگهداری کمترین میزان pH در تیمار پوششی کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد مشاهده شد

(p<۰/۰۵). افزایش pH باگذشت زمان نگهداری را می‌توان به فعالیت آنزیم‌های اتولیتیک ماهی و پروتئولیتیک باکتری‌های فاسد کننده ماهی نسبت داد (کیلینسیکر و همکاران، ۲۰۰۹). از آنجایی‌که آلودگی باکتریایی در نمونه شاهد بیشتر از نمونه‌های پوشش‌دار بود که متعاقبا ترکیبات نیتروژنی بیشتری نیز به وجود می‌آید، pH نمونه شاهد بالاترین میزان را به خود اختصاص داد (ساتیول و همکاران، ۲۰۰۷). موسوی و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که pH در نمونه تیمار شده با کیتوزان محلول در اسید نسبت به تمامی تیمارها کمتر بود، که دلیل آن ماهیت اسیدی محلول کیتوزان بود. افزایش pH در نمونه تیمار شده با پوشش کیتوزان را می‌توان دلیل افزایش تولید بازهای فرار مثل آمونیاک، تری متیل آمین و همچنین فعالیت‌های آنزیمی باکتری‌ها و آنزیم‌های درونی دانست (کوستاکی و همکاران، ۲۰۰۹؛ حسنی و همکاران، ۲۰۱۲).

جدول ۲- تغییرات مقادیر pH تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال (٤±١°C).

تیمار/ زمان	۰	٤	٨	١٢	١٦
شاهد	٦/٤٤±۰/۰٤^{Ca}	٦/٥١ ±۰/۰٣^{Ca}	٦/٩٠ ±۰/۰٥^{Ba}	٧/۰٩ ±۰/۰٧^{Aa}	٧/۰٨ ±۰/١٤^{Aa}
سدیم استات ۱ درصد	٦/٤١±۰/۰٢^{Ca}	٦/٤٥ ±۰/۰٣^{Cb}	٦/٤٥ ±۰/۰٤^{Cb}	٦/٩٣ ±۰/۰٥^{Bb}	٧/۰٧ ±۰/۰٥^{Aa}
*ک- م- اسید ۱ درصد	٦/۰٥ ±۰/۰٤^{Bb}	٦/۰٧ ±۰/۰٣^{Bc}	٦/۰٤ ±۰/۰٤^{Bc}	٦/٢٨ ±۰/۰٥^{Ad}	٦/٣٦ ±۰/۰٣^{Ab}
**ک- م- آب ۱ درصد	٦/٤٢ ±۰/۰٢^{Ca}	٦/٤٨ ±۰/۰٣^{Cb}	٦/٤٤ ±۰/۰٥^{Cb}	٦/٧۰ ±۰/۰٤^{Bc}	٧/۰٤ ±۰/۰٥^{Aa}
***ک- الیگوساکارید ۱ درصد	٦/٤٢ ±۰/۰٢^{Da}	٦/٥١ ±۰/۰١^{Ca}	٦/٤٨ ±۰/۰١^{Cb}	٦/٧١ ±۰/۰٥^{Bc}	٧/۰٦ ±۰/۰٣^{Aa}

داده‌ها به‌صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند. * کیتوزان محلول در اسید ** کیتوزان محلول در آب *** کیتوزان الیگوساکارید. حروف کوچک متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار میان داده‌ها در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میان داده‌ها در هر ردیف می‌باشد (p<۰/۰۵).

اندازه‌گیری تیوباربیوتیک اسید TBA: تیوباربیوتیک اسید از شاخص‌های اندازه‌گیری اکسیداسیون ثانویه چربی‌ها بر اساس محتوی مالون دی آلدهید می‌باشد. مالون دی آلدهید به‌واسطه اکسید شدن هیدروپرواکسیدها به مواد نظیر آلدئید و کتون، تشکیل می‌شود (کستاکی و همکاران، ۲۰۰۹). در جدول ۳ تغییرات شاخص تیوباربیوتیک اسید تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال (٤±١°C) مشاهده می‌شود. میزان تیوباربیوتیک اسید در تیمارهای مختلف باگذشت زمان افزایش یافت. در بین تیمارهای موردمطالعه طی نگهداری، نمونه شاهد بیشترین میزان تیوباربیوتیک اسید را نشان داد (p<۰/۰۵) و در روز ١٦ نگهداری کمترین میزان تیوباربیوتیک اسید در تیمار پوششی کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد مشاهده شد (p<۰/۰۵). در تحقیق حاضر میزان تیوباربیوتیک اسید، یک روند افزایشی را طی دوره نگهداری نشان داد که گویای فساد اکسیداسیون ثانویه چربی‌ها می‌باشد. همچنین افزایش تیوباربیتوریک اسید در این مدت می‌تواند در اثر آب‌زدایی نسبی ماهی و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع باشد (کیلینسیکر و همکاران، ۲۰۰۹). مشابه نتایج فوق ساتیول و همکاران (۲۰۰۷)، گزارش کردند که کیتوزان به‌دلیل ویژگی ممانعت از ورود اکسیژن همانند سدی میان سطح ماهی و محیط اطراف آن عمل نموده و موجب کاهش نرخ نفوذ اکسیژن از محیط اطراف به سطح فیله و کاهش اکسیداسیون چربی‌ها می‌شود.

جدول ۳- تغییرات مقادیر تیوباربیوتیک اسید TBA تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال (٤±١°C).

تیمار/ زمان	۰	٤	۸	۱۲	۱٦
شاهد	۰/۳۷±۰/۰۳^{Ea}	۰/۷٤ ±۰/۰۲^{Da}	۱/۸٤ ±۰/۰٥^{Ca}	۲/۹٤ ±۰/۰٥^{Ba}	۳/٦۰ ±۰/۳۰^{Aa}
سدیم استات ۱ درصد	۰/۳٦±۰/۰۳^{Ea}	۰/٥٦ ±۰/۰۳^{Db}	۰/۸۹ ±۰/۰۳^{Cb}	۱/۸٥ ±۰/۰٦^{Bb}	۲/۲۲ ±۰/۰۹^{Ab}
*ک-م- اسید ۱ درصد	۰/۳۳ ±۰/۰۲^{Ea}	۰/٤۰ ±۰/۰۱^{Dd}	۰/٦۳ ±۰/۰۲^{Cc}	۰/۷۲ ±۰/۰۲^{Bc}	۰/۹٤ ±۰/۰٥^{Ac}
**ک-م- آب ۱ درصد	۰/۳٦ ±۰/۰٦^{Da}	۰/٤٥ ±۰/۰٥^{Dc}	۰/۸٦ ±۰/۰۳^{Cb}	۱/۷۹ ±۰/۰۸^{Bb}	۲/۰۱ ±۰/۰٦^{Ab}
***ک- الیگوساکارید ۱ درصد	۰/۳۸ ±۰/۰۳^{Ea}	۰/٤۸ ±۰/۰۲^{Dc}	۰/۹ ±۰/۰۱^{Cb}	۱/۷٥ ±۰/۰٤^{Bb}	۱/۹۹ ±۰/۰٤^{Ab}

داده‌ها به‌صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند. * کیتوزان محلول در اسید ** کیتوزان محلول در آب *** کیتوزان الیگوساکارید. حروف کوچک متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار میان داده‌ها در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میان داده‌ها در هر ردیف می‌باشد ($p<۰/۰٥$).

اندازه‌گیری بازهای نیتروژنی فرار TVB-N: بازهای ازته فرار یک شاخص کیفی هستند که نشانگر میزان گندیدگی، تجزیه و شکستن پروتئین‌ها بوده و به‌واسطه فعالیت باکتریایی و آنزیم‌های درونی خود ماهی افزایش می‌یابند (ال- دین و ال- شمری، ۲۰۱۰). در جدول ٤ تغییرات شاخص بازهای ازته فرار تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال (٤±١°C) مشاهده می‌شود. میزان بازهای ازته فرار در تیمارهای مختلف باگذشت زمان افزایش یافت. در بین تیمارهای مختلف در کل دوره نگهداری تفاوت معنی‌داری از نظر میزان بازهای ازته فرار مشاهده شد ($p<۰/۰٥$) به‌طوری‌که تیمار پوششی کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد همواره کمترین میزان بازهای ازته فرار را نشان داد ($p<۰/۰٥$) و در روز ١٦ نگهداری بیشترین میزان بازهای ازته فرار در نمونه شاهد مشاهده شد ($p<۰/۰٥$). افزایش مقدار بازهای ازته در مطالعه حاضر در تمامی نمونه‌ها طی دوره نگهداری را می‌توان با فعالیت‌های باکتری‌های مولد فساد مرتبط دانست. میزان بالای فعالیت باکتری‌ها ترکیباتی نظیر تری متیل آمین اکساید، پپتیدها و آمینواسیدها را به بازهای فرار می‌شکند (لوپز کابالرو و همکاران، ۲۰۰٥). در کل دوره نگهداری در نمونه‌های پوشش داده شده همواره مقدار بازهای ازته فرار نسبت به نمونه شاهد کمتر بود. افزایش باکتری‌های عامل فساد در مدت‌زمان نگهداری، میزان افزایش بازهای ازته فرار کل را تأیید می‌کند زیرا مقدار بازهای ازته کل با افزایش فعالیت باکتری‌های عامل فساد و آنزیم‌های داخلی افزایش می‌یابد (گون لو و کویون، ۲۰۱۳). کلته و همکاران (۲۰۱٤) گزارش کردند که میزان بازهای ازته فرار در نمونه شاهد و نمونه پوشش داده‌شده با کیتوزان- ژلاتین با افزایش زمان، ماندگاری افزایش معنی‌داری داشت که این افزایش میزان بازهای ازته فرار مربوط به فعالیت باکتریایی و آنزیم‌های درونی می‌باشد. نمونه‌های پوشش داده‌شده با کیتوزان- ژلاتین باعث کاهش معنی‌دار میزان بازهای ازته فرار شدند که می‌تواند مربوط به اثر محافظتی پوشش کیتوزان باشد که از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌کند و فساد را کاهش می‌دهد.

جدول ٤- تغییرات مقادیر بازهای ازته فرار **TVN-B** تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال (٤±١°C)

تیمار/ زمان	٠	٤	٨	١٢	١٦
شاهد	٩/٥٠±٠/٠٣^{Ea}	١٠/٠١ ±٠/٠٣^{Da}	١٣/٩٦ ±٠/٠٥^{Ca}	١٥/٥٥ ±٠/٢٨^{Ba}	١٧/٤٦ ±٠/٣٨^{Aa}
سدیم استات ١ درصد	٩/٤٧±٠/٠٢^{Ea}	٩/٩٤ ±٠/٠٨^{Da}	١٢/٠٦ ±٠/٠٤^{Cb}	١٤/١٠ ±٠/١٤^{Bb}	١٥/٥٠ ±٠/٢٦^{Ab}
*ک- م- اسید ١ درصد	٩/٤٨ ±٠/٠٣^{Ea}	٩/٧٩ ±٠/٠٥^{Db}	١٠/٠٠ ±٠/٠١^{Cd}	١١/٣٤ ±٠/١٤^{Bd}	١٢/٠٥ ±٠/٠٥^{Ad}
**ک- م- آب ١ درصد	٩/٤٥ ±٠/٠٦^{Ea}	٩/٨٣ ±٠/٠٤^{Db}	١١/٥٧ ±٠/٠٤^{Cc}	١٢/٧٧ ±٠/١٦^{Bc}	١٣/٧٢ ±٠/٢١^{Ac}
***ک- الیگوساکارید ١ درصد	٩/٤٨ ±٠/٠٣^{Ea}	١٠/٠١ ±٠/٠٢^{Da}	١١/٦٢ ±٠/٠٤^{Cc}	١٢/٧٨ ±٠/١١^{Bc}	١٣/٦٨ ±٠/٢٤^{Ac}

داده‌ها به‌صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند. * کیتوزان محلول در اسید ** کیتوزان محلول در آب***کیتوزان الیگوساکارید. حروف کوچک متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار میان داده‌ها در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میان داده‌ها در هر ردیف می‌باشد ($p<٠/٠٥$).

نتایج آنالیز میکروبی

آنالیز بار باکتریایی کل: در جدول ٥ تغییرات شاخص تعداد باکتری‌های کل تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال (٤±١°C) مشاهده می‌شود. باگذشت زمان مقادیر تعداد باکتری‌های کل در همه تیمارها طی مدت نگهداری افزایش یافت. در بین تیمارهای مختلف در کل دوره نگهداری تفاوت معنی‌داری ازنظر میزان تعداد باکتری‌های کل مشاهده شد ($p<٠/٠٥$) به‌طوری‌که در روز ١٦ نگهداری نمونه شاهد همواره بیشترین تعداد باکتری را نشان داد ($p<٠/٠٥$) و کمترین میزان در تیمار پوششی کیتوزان محلول در اسید ١ درصد مشاهده شد ($p<٠/٠٥$). بار باکتریایی کل برای نمونه‌های موردبررسی در روز صفر ($\log_{10}$ cfu/g)٠/٣٥ تا ٠/٤٠ بود که نشان‌دهنده کیفیت مناسب ماهی‌ها به‌دلیل بار باکتریایی پایین (کمتر از $\log_{10}$ cfu/g٤) قبل از تیماربندی و رعایت نکات بهداشتی طی تهیه فیله‌ها می‌باشد و در هیچ‌کدام از تیمارها مقدار آن به حد مجاز مصرف نرسید. مهار رشد باکتریایی به‌وسیله پوشش کیتوزان را در مرحله اول می‌توان به اثر پوششی آن و ممانعت از نفوذ اکسیژن نسبت داد. (عبدالهی و همکاران، ٢٠١٢؛ نوذری و همکاران، ٢٠١٣). نتایج مشابهی در مورد اثر پوشش‌های زیست‌تخریب‌پذیر و بار باکتریایی گونه‌های مختلف ماهی طی نگهداری توسط سایر محققان (جون و همکاران، ٢٠٠٢؛ فان و همکاران، ٢٠٠٩؛ اجاق و همکاران، ٢٠١٠؛ دان و همکاران، ٢٠١٠؛ موهان و همکاران، ٢٠١٢؛ عبدالهی و همکاران ٢٠١٢؛ حسنی و همکاران، ٢٠١٢) گزارش شده است. همچنین میزان بار باکتریایی کل برای نمونه‌های پوشش داده‌شده با کیتوزان- ژلاتین ٢/٣٦ و $\log_{10}$ cfu/g ٢/١ بود (کلته و همکاران، ٢٠١٤). مکانیسم عمل ضد میکروبی کیتوزان ظاهرا به از بین بردن لایه‌های لیپو پلی ساکاریدی غشای بیرونی باکتری‌های گرم منفی (هلاندر و همکاران، ٢٠٠١) و ممانعت از انتقال اکسیژن (جون و همکاران، ٢٠٠٢) مربوط می‌شود. مکانیسم دیگر می‌تواند واکنش گروه‌های آمین داری بار مثبت کیتوزان با درشت مولکول‌های دارای بار منفی در سطح سلول میکروبی می‌باشد. به‌علت طبیعت پلی‌کاتیونیک کیتوزان، یک لایه نفوذناپذیر اطراف سلول تشکیل می‌شود که از خروج مواد ضروری جلوگیری می‌کند (هلاندر و همکاران، ٢٠٠١) و با نفوذ به داخل هسته سلول از ساخت پروتئین و RNA باکتری جلوگیری می‌کند (لیو و همکاران، ٢٠٠١).

جدول ۵- تغییرات مقادیر تعداد باکتری‌های کل **TVC** تیمارهای مختلف در طی نگهداری در یخچال (C°۱±٤).

تیمار/ زمان	۰	٤	۸	۱۲	۱٦
شاهد	۰/٤۰±۰/۰۱^{Ea}	۱/۰۹±۰/۰۸^{Da}	۳/۰٤ ±۰/۰۵^{Ca}	٤/٦۱ ±۰/۱۰^{Ba}	٦/٦۸ ±۰/۱۷^{Aa}
سدیم استات ۱ درصد	۰/۳۷±۰/۰۲^{Eb}	۰/۷٤ ±۰/۰۸^{Db}	۱/۱۸ ±۰/۰۲^{Cb}	۳/۷۱ ±۰/۱۰^{Bb}	۵/۰۱ ±۰/۱۱^{Ab}
*ک- م- اسید ۱ درصد	۰/۳۵ ±۰/۰۲^{Db}	۰/٤۲ ±۰/۰۲^{Dc}	۰/۸۵ ±۰/۰٤^{Cd}	۱/۲٤ ±۰/۰۵^{Bd}	۲/۷۰ ±۰/۰۹^{Ad}
**ک- م- آب ۱ درصد	۰/۳۸ ±۰/۰۱^{Eb}	۰/۷٦ ±۰/۰۳^{Db}	۱/۰۵ ±۰/۰٤^{Cc}	۲/۸۵ ±۰/۱۰^{Bc}	۳/۷۳ ±۰/۰۷^{Ac}
***ک- الیگوساکارید ۱ درصد	۰/٤۰ ±۰/۰۲^{Ea}	۰/۷۵ ±۰/۰۵^{Db}	۱/۱۲ ±۰/۰۸^{Cc}	۲/۸۲ ±۰/۱٤^{Bc}	۳/۷۵ ±۰/۰٦^{Ac}

داده‌ها به‌صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده‌اند. * کیتوزان محلول در اسید ** کیتوزان محلول در آب *** کیتوزان الیگوساکارید. حروف کوچک متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار میان داده‌ها در هر ستون و حروف بزرگ متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار میان داده‌ها در هر ردیف می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از پوشش‌های کیتوزانی محلول در اسید از شدت فعالیت باکتری‌های موجود بر سطح گوشت کاسته و موجب افزایش زمان ماندگاری فیله ماهی گردید، که در بررسی پارامترهای PV، pH، TBA، TVN و TVC کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد کمترین میزان تغییرات را طی زمان نگهداری در یخچال نشان داد بنابراین تیمار کیتوزان محلول در اسید ۱ درصد نسبت به سایر تیمارها نتایج بهتری نشان داد.

سپاسگزاری

از آقایان زانیار امیری و مسلم سعادت‌پور که در به پایان رساندن هر چه بهتر این مقاله مرا یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

منابع

1. Abdollahi, M., Rezaei, M., and Farzi, G. 2012. A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. Journal of Food Engineering. 111: 343-350.
2. Alasalvar, C., Taylor, K.D.A., Zubcov, E., Shahidi, F., and Alexis, M. 2002. Differentiation of cultured and wild sea bass: total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. Food chemistry. 79(2): 145-150.
3. De Castro, F.A.F., Pinheiro Sant'Ana, H.M., Campos, F.M., Costa, N.M.B., Silva, M.T.C., Salaro, A.L., and Franceschini, S.D.C.C. 2007. Fatty acid composition of three freshwater fishes under different storage and cooking processes. Food chemistry, 103(4): 1080-1090.
4. Duan, J., Jiang, Y., Cherian, G., and Zhao, Y. 2010. Effect of combined chitosankrill oil coating and modified atmosphere packaging on the storability of cold-stored lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets. Food Chemistry, 122: 1035–1042.
5. Egan H., Krik R.S., and Sawyer, R. 1997. Pearsons Chemical Analysis of Foods .9(edn), Pp: 609-634.
6. Egan, H., Krik, R.S., and Sawyer, R. 1997. Pearsons Chemical Analysis of Foods. 9(edn), Pp: 609-634.
7. El-Deen, G., and El-Shamery, M.R. 2010. Studies on contamination and quality of fresh fish meats during storage. Academic Journal of Biological Science. 2: 65-74.
8. Falahatkar, B., Tolouei Gilani, M.H., Falahatkar, S., and Abbasalizadeh, A. 2011. Laparoscopy, a minimally-invasive technique for sex identification in cultured great sturgeon *Huso huso* Aquaculture. 321: 273-279.

9. 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: 66-70.
10. Findeis, E.K. 1997. Osteology and phylogenetic relationships of recent sturgeons. In: Sturgeon Biodiversity and Conservation (eds V.J. Birstein, J.R. Waldman and W.E. Bemis). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Pp: 73-106.
11. Foegeding, E.A., Lanier, T.C., and Hultin, H.O. 1996. Characteristics of edible muscle tissues. Food Chemistry, 880–942.
12. Gladyshev, M.I., Sushchik, N.N., Gubanenko, G.A., Demirchieva, S.M., and Kalachova, G.S. 2006. Effect of way of cooking on content of essential polyunsaturated fatty acids in muscle tissue of humpback salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). Food Chemistry, 96(3): 446-451.
13. Gómez-Estaca, J., Montero, P., Giménez, B., and Gómez-Guillén, M.C. 2007. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus)*. Food chemistry. 105: 511–520.
14. Günlü, A., and Koyun, E. 2013. Effects of vacuum packaging and wrapping with chitosan-based edible film on the extension of the shelf life of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets in cold storage (4°C). Food and Bioprocess Technology. 6(7): 1713-1719.
15. Hasani, Sh., Alizadeh doughikollaee, E., Hayati jafar beygi, E., and Kamyab yeghaneh, M., 2012. Quality of Fish Finger Produced from Common carp (*Cyprinus carpio*) During Storage time at 4°C. Journal of Fisheries, Iranian Journal of Natural Resources. 65(2): 169-181.
16. Helander, I.M., Nurmiaho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., and Roller, S. 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria. International Journal of Food Microbiology, 71(2-3): 235-244.
17. Hernández, M.D., López, M.B., Álvarez, A., Ferrandini, E., García García, B., and Garrido, M.D. 2009. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured 10eager (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. Food Chemistry. (114): 237–245.
18. Huss, H., Zagorec, M. 1995. Biopreservation of Fish Products- A Review of Recent Approaches and Results. Journal of Aquatic Food Product Technology, 4(2): 5 -26.
19. Ibrahim Sallam, K. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control, 18: 566-575.
20. Jeon, Y.-I., 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. (20): 5167–5178.
21. Kalte, S., Alizadeh Doghikolaee, E., Yousef Elahi, M. 2014. Effect of edible chitosan-gelatin coating on the quality characteristics and shelf life of fish finger on Hypophthalmichthys molitrix during refrigerated storage. Journal Fisheries Scienece and Technology, 3(1): 45-55.
22. Kilincceker, O., Dogan, I.S., and Kucukoner, E. 2009. Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets. LWT - Food science and technology, 42: 868–873.
23. Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I.N., and Kontominas, M.G. 2009. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensoory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. Food microbiology. 26: 475-482.
24. Lin, C.C., and Lin, C.S. 2004. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillet by glazing with tea extracts. Food Chemistry, 16(2): 169-175.
25. Liu, X.F., Guan, Y.L., Yang, D.Z., Li, Z., and Yao, K.D. 2001. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. Journal of Applied Polymer Science. 79(7): 1324-1335.
26. López-Caballero, M.E., Gómez-Guillén, M.C., Pérez-Mateos, M., and Montero, P. 2005. A chitosan–gelatin blend as a coating for fish patties. Food hydrocolloids. 19: 303–311.

27. Mohan, C.O., Ravishankar, C.N., Lalitha, K.V., and Srinivasa Gopal, T.K. 2012. Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. Food Hydrocolloids, 26(1): 167-174.
28. Moosavi, S.M., Zakipour Rahimabadi, E., Aein Jamshid, Kh. 2017. The effect of sole mince washing by chitosan solution on heavy metals removal and oxidation stability during refrigerator storage, Food chemistry, 67(14): 169-178.
29. No, H.K., Lee, S.H., Park, N.Y., and Meyers, S.P. 2003. Comparison of Physicochemical, Binding, and Antibacterial Properties of Chitosans Prepared without and with Deproteinization Process. J. Agric. Food Chem. 51: 7659-7663.
30. No, H.K., Kim, SH., Lee, SH., Park, N.Y., and Prinyawiwatkul, W. 2006. Stability and antibacterial activity of chitosan solutions affected by storage temperature and time, carbohydrate polymers, 65: 174–178.
31. No, H.K., Meyers, S.P., Prnyawiwatkul, W., and Xu, Z. 2007. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: A review. Journal of food science, 72(5): 87-100.
32. Nowzari, F., Shábanpour, B., and Ojagh, SM. 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.
33. Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, Sh., and Hosseini, S.M.H. 2010. Effect of chitosan coating enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chemistry, 120: 193-198.
34. Özogul, Y., Özyurt, G., Özogul, F., Kuley, E., and Polat, A. 2005. Freshness assessment of European eel *(Anguilla anguilla)* by sensory, chemical and microbiological methods. Food Chemistry, 92(4): 745 751.
35. Pereira de Abreu, D.A., Paseiro Losada, P., Maroto, J., and Cruz, J.M. 2011. Natural antioxidant active packaging film and its effect on lipid damage in frozen blue shark (*Prionace glauca*). Innovative Food Science and amp; Emerging Technologies, 12(1): 50-55.
36. Sagoo, S., Board, R., and Roller, S. 2002. Chitosan inhibits growth of spoilage microorganisms in chilled pork products, Food Microbiol, 19: 175–182.
37. Sallam, K.H., Ahmed, A.M., Elguzzar, M.M., and Eldaly, E.A. 2007. Chimical quality and sensory attributes of marinated Pacific Saury (*Cololabis saira*) during vacuum– packaged strage at 4 C. Food Chemistry. 102: 1061-1070.
38. Sathivel, S., Liu, Q., Huang, J., and Prinyawiwatkul, W. 2007. The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. Journal of Food Engineering, 83(3): 366-373.
39. Shahidi, F., Arachchi J.K.V., and Jeon, Y.J. 1999. Food applications of chitin and chitosans, Trends Food Sci. Technol, 10: 37–51.
40. Shan, B., Cai, Y., Brooks, J.D., and Corke, H. 2007. Antibacterial Properties and Major Bioactive Components of Cinnamon Stick (*Cinnamomum burmannii*): Activity against Foodborne Pathogenic Bacteria. J. Agric. Food Chem, 55(14): 5484-5490.
41. Souza, B.W.S., Cerqueira, M.A., Ruiz, H.A., Martins, J.T., Cassareigo, A., Teixeira, J.A., et al., 2010. Effect of Chitosan-Based Coatings on the shelf life of salmon (*Salmon salar*). Journal of agricultural and food chemistry, 58(21): 11456- 11462.
42. Tall, J., and Harris, P. 1995. Rancidity in frozen fish. In: Technology Nutrition and Marketing Hamilton, R.J. Rice, R.D. eds. P.J. Barnes and Associates. Sharnbrook, UK. pp.138.
43. Weber, J., Bochi, V.C., Ribeiro, C.P., Victório, A.D.M., and Emanuelli, T. 2008. Effect of different cooking methods on the oxidation, proximate and fatty acid composition of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fillets. Food Chemistry, 106(1): 140-146.
44. Zhuang, H.S., Smith, E.M., Berrang, D.P. USDA, ARS., M.E. 2008. Effect of Dry-Air Chilling on Warner- Bratzler Shear Force and Water-Holding Capacity of Broiler Breast Meat Deboned Four Hours Postmortem. International journal of poultry science, 7: 743- 748.