



## تأثیر پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان حاوی عصاره جلبک *Dunaliella* بر خصوصیات کیفی و میکروبی فیله‌ی ماهی (*Huso huso*) طی دوره نگهداری

یونس پیروززین<sup>۱</sup>، زینب عبدالهی چله‌بری<sup>۲</sup>، سمانه خاکی آرانی<sup>۳</sup>، سید حمیدرضا هاشمی کوچکسرای<sup>۴</sup>، سینا مؤلایی<sup>۵</sup>، مهدیس جمشیدی طهرانیان<sup>۶</sup>، **زهرا لطیفی\***

<sup>۱</sup>گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

<sup>۲</sup>گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

<sup>۳</sup>گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی (ابن سینا)، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

<sup>۴</sup>گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.

<sup>۵</sup>گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه زابل، ایران.

<sup>۶</sup>گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، مازندران، نور، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۰۶

### چکیده

با توجه به سرعت فسادپذیری و اکسیداسیون در ماهی و تغییر رنگ بافت ماهی، دوره ماندگاری آن محدود می‌باشد. بنابراین، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای به تأخیر انداختن، کنترل و یا مهار این واکنش‌های نامطلوب و ممانعت از کاهش کیفیت مواد غذایی ضروری می‌باشد. مطالعه حاضر برای بررسی تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره‌ی جلبک *Dunaliella* بر حفظ کیفیت فیله تازه ماهی *Huso huso* در زمان نگهداری در یخچال انجام شد. آزمایشات میکروبی و شیمیایی شامل شمارش باکتری مزوفیل هوازی و باکتری‌های سرمادوست، pH، TBA و همچنین ارزیابی حسی به صورت دوره‌ای برای همه نمونه‌ها انجام شد و برای عصاره‌ی جلبک فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH اندازه‌گیری شد. میزان بار باکتریایی کل، در روز ده نگهداری برای نمونه‌های دارای پوشش حاوی عصاره‌ی جلبک برابر با  $\log \text{CFU/g}$   $6/17 \pm 0/22$  بود که در دامنه قابل قبول برای مصارف انسانی قرار داشت، اما در نمونه‌های شاهد  $\log \text{CFU/g}$   $9/41 \pm 0/20$  در روز دهم بود که فراتر از حد مجاز می‌باشد. مقادیر باکتری‌های سرمادوست برای تیمار شاهد نسبت به تیمار دارای پوشش کیتوزان حاوی عصاره به صورت معنی‌داری افزایش بیشتری داشت ( $p < 0.05$ ). مقادیر pH و TBA در نمونه شاهد در مقایسه با نمونه تیمار شده در روز ۱۵ام و ۱۰ام نگهداری به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ( $p < 0.05$ ). این بررسی نشان داد که استفاده از پوشش کیتوزان حاوی عصاره جلبک می‌تواند، به ممانعت از رشد باکتری‌ها در فیله‌های تازه ماهی، حفظ قابل توجه ویژگی‌های حسی شامل بافت، بو، رنگ و پذیرش کلی و افزایش دوره نگهداری ماهی در یخچال منجر شود.

**واژگان کلیدی:** پوشش خوراکی، جلبک *Dunaliella*، فیل ماهی (*Huso huso*)، کیتوزان.

\* yasamin.latifi131@yahoo.com

## مقدمه

ماهیان خاویاری یکی از قدیمی‌ترین گروه ماهیان غضروفی-استخوانی هستند. در حدود ۹۰٪ جمعیت ماهیان خاویاری در دریای خزر زیست می‌کند. فیل ماهی (*Huso huso*) از گونه‌های ماهیان خاویاری است که زیستگاه اصلی آن دریای خزر، دریای سیاه، دریای آزوف و حوضه‌های اطراف آنها می‌باشد (۱). فیل ماهی بزرگترین ماهی خاویاری دریای خزر است که بیشتر در منطقه گرگان یعنی جنوب شرقی دریای خزر صید می‌شود. این گونه یکی از بهترین ماهی‌های تجاری در جهان محسوب می‌شود و در ایران با نام‌های بلوگا، سگ ماهی و ماهی خاویاری شناخته می‌شود، نام لاتین *Huso* از کلمه یونانی *Hus* به معنای حریص و پرخور گرفته شده است. فیل ماهی دارای رشد سریع و به کیفیت پایین آب مقاوم بوده و برای نگهداری در سیستم‌های پرورشی مناسب است (۲).

مصرف ماهی و فراورده‌های آن دارای قابلیت خوب هضم و محتوی بالای اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشند (۳). حدود ۱۵ الی ۲۰٪ گوشت ماهی را پروتئین تشکیل می‌دهد. در گوشت ماهی، دو اسید آمینه لیزین و متیونین به مقدار زیادی وجود دارند. همچنین، مقدار اسیدهای آمینه لازم یک پروتئین خوراکی از مهم‌ترین شاخص‌های ارزش تغذیه‌ای آن پروتئین محسوب می‌شود. در این رابطه، پروتئین‌های ماهی برخلاف نبود یک یا چند اسید آمینه لازم در پروتئین‌های گیاهی دارای تمامی اسیدهای آمینه لازم، به مقدار و نسبت مورد نیاز بوده و در نتیجه یکی از باارزش‌ترین پروتئین‌های حیوانی هستند (۴).

وجود چربی‌های چند غیر اشباع در بدن ماهی از نظر رژیم غذایی انسان مطلوب است ولی در عوض این چربی‌ها را در مقابل اکسیداسیون و هیدرولیز بسیار آسیب‌پذیر کرده است (۵). با این حال سرعت فسادپذیری بالا در ماهی و استعداد ذاتی اکسیداسیون و تغییر رنگ بافت ماهی سبب می‌شود تا دوره ماندگاری آن محدود باشد. اکسیداسیون لیپید منجر به ایجاد طعم و رایحه‌ی نامطلوب، از دست دادن اسیدهای چرب غیر اشباع، رنگدانه‌ها و

ویتامین‌های محلول در چربی و کاهش قابلیت پذیرش توسط مشتری می‌شود (۶). ظاهر نامطلوب و نیز ایجاد رایحه و بوی نامناسب، از ویژگی‌هایی است که مانع از پذیرش محصولات گوشتی توسط مصرف‌کنندگان می‌شود. تخریب آرومایی اغلب به واسطه‌ی بازهای فرار تند حاصل از اکسیداسیون لیپید به وجود می‌آید و نیز تغییر رنگ گوشت تازه زمانی رخ می‌دهد که اکسی‌میوگلوبین قرمز به مت‌میوگلوبین قهوه‌ای رنگ تبدیل می‌شود (۷).

هیدرولیز و اکسیداسیون در ماهی، هر دو منجر به ایجاد فساد، طعم و بوی بد و تغییر در رنگ گوشت می‌شوند. هیدرولیز به وسیله‌ی لیپازها و فسفولیپازها با آزاد کردن اسیدهای چرب القا می‌شود که تحت اکسیداسیون ترکیباتی با وزن مولکولی کم تولید می‌کنند (۸). اکسیداسیون چربی یک مشکل اصلی در غذاهای دریایی به ویژه غذاهای با چربی بالا است که به ایجاد بو و طعم نامطلوب منجر می‌شود (۹). اکسیداسیون چربی‌ها علت اولیه فساد ماهی است و بستگی به فاکتورهای مختلفی از جمله گونه، میزان چربی‌ها و صابونی شدن آنها در ماهی را می‌توان با افزایش پراکسید و تیوباربتوریک اسید دریافت. اکسیداسیون چربی‌ها بدطعمی، کاهش کیفیت تغذیه‌ای و تشکیل ترکیبات سمی را به دنبال داشته و یک عامل خطر جدی برای مصرف‌کننده محسوب می‌شود (۷). بنابراین، جلوگیری از بروز واکنش‌های اکسیداتیو برای حفظ کیفیت چربی، ویژگی‌های عملکردی پروتئین و ارزش غذایی ماهی و محصولات دریایی ضروری است. آنتی‌اکسیدان‌ها سبب تأخیر، کنترل و یا مهار اکسیداسیون چربی و جلوگیری از کاهش کیفیت مواد غذایی می‌شوند (۱۰). برای جلوگیری از اکسیداسیون چربی و تشکیل رادیکال‌های آزاد در محصولات غذایی، دارویی، بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۱). به دلیل اثرات احتمالی سمیت و سرطان‌زایی آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی، طی سال‌های اخیر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه سیاست‌گذاران، تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان قرار گرفته است (۱۰).

(امولسیفایر، پلاستی‌سایزر یا عوامل اتصالات عرضی) بستگی دارد. اخیراً، عملکرد پوشش‌های خوراکی با ترکیب ترکیبات مختلف فعال زیستی، عمدتاً عوامل ضد میکروبی که نه تنها باعث افزایش خاصیت ضد میکروبی می‌شوند، بلکه باعث کاهش تخریب بیوشیمیایی ناشی از فرآوری می‌شوند مانند تجزیه بافت، قهوه‌ای شدن آنزیمی و توسعه بدون طعم‌دهنده‌ها، بهبود یافته است (۱۵).

کیتوزان یکی از پلی‌ساکاریدهای مشتق شده از پوسته سخت‌پوستان، دیواره سلولی قارچ‌ها، بی‌مهرگان، حشرات و غیره است. قابل توجه است که کیتوزان (پلی-بتا- (۱،۴)-دی-گلوکز آمین<sup>۵</sup>) یک محصول استیل‌شده کیتین (پلی-بتا- (۱،۴)-N-استیل-گلوکز آمین<sup>۶</sup>) یکی از فراوان‌ترین پلی‌ساکاریدهای طبیعی است و به فراوانی در صدف‌های سخت‌پوستان یافت می‌شود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کیتوزان به دلیل اثر مهار بر رادیکال‌های آزاد است. این توانایی به درجه استیل‌شدن بستگی دارد و با افزایش مقدار گروه‌های آمینه جایگزین شده افزایش می‌یابد. کیتوزان با وزن مولکولی بالا اثر آنتی‌اکسیدانی کمتری نشان می‌دهد، زیرا ساختار آن به دلیل تشکیل پیوندهای هیدروژنی درون مولکولی فشرده‌تر است (۱۶). فعالیت ضد میکروبی و ضد قارچی کیتوزان ناشی از خواص کاتیونی ظاهر شده در یک محیط اسیدی است. به دلیل وجود گروه‌های عملکردی فعال، از کیتوزان می‌توان به عنوان بخشی از مواد کامپوزیتی که فقط شامل ترکیبات پلیمری مصنوعی نیست بلکه طبیعی است، استفاده کرد (۱۷). در پژوهشی اعمال کیتوزان به عنوان پوشش خوراکی منجر به افزایش عمر ماندگاری فیله ماهی شعری معمولی در شرایط یخچال شد و میزان شاخص‌های تیوباریتوریک اسید و اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌های پوشش‌دهی شده و نمونه‌های دارای لفاف در انتهای دوره ۱۲ روزه نگهداری به طور معنی‌داری کمتر از نمونه‌های شاهد شد. TBA، TVB-N و pH نیز در این دوره اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌های تیمار شده با نمونه شاهد مشاهده شد ( $p \leq 0.05$ )

تاکنون مکمل‌های طبیعی و مصنوعی زیادی جهت حذف رادیکال‌های آزاد مورد استفاده قرار گرفته‌اند. به واسطه اثرات جانبی منفی آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی، بیش‌تر از مکمل‌های طبیعی استفاده می‌شود. ریزجلبک‌ها منبع میکروزیستی تک سلولی هستند که قادر به تولید طیف گسترده‌ای از ترکیبات با ارزش (کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، لیپیدها، کاروتنوئیدها، فیکوبیلی‌پروتئین‌ها، فنولیک، اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه و آنتی‌اکسیدان‌ها) هستند که در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی و صنایع تبدیلی استفاده می‌شوند. زیست توده ریزجلبکی را می‌توان مستقیماً به عنوان یک تقویت‌کننده مواد مغذی در خوراک دام، به عنوان تقویت‌کننده برای بهبود کیفیت غذا و به عنوان تثبیت‌کننده برای حفظ رنگ و طعم محصولات غذایی اضافه کرد (۱۲). جلبک *Donaliella* حاوی مقادیری ویتامین‌های C و E نیز می‌باشد. جلبک *دونالیلا*<sup>۲</sup>، جلبکی تک سلولی است که در رده کلروفیه<sup>۳</sup> و راسته ولووکال‌ها<sup>۴</sup> طبقه‌بندی می‌شود این جلبک معمولاً گلابی شکل می‌باشد. از نظر تجاری، *Dunaliella* در چندین کشور مانند استرالیا، چین، اسرائیل و هند، با پروژه‌های آزمایشی در شیلی، اسپانیا، ایران و پرغال کشت می‌شود و یکی از بهترین منابع بتا-کاروتن در نظر گرفته می‌شود. *Dunaliella* همچنین، به عنوان یک منبع پایدار برای پردازش زیستی صنعتی برای تولید پروتئین، عامل رنگ‌دهنده و آنتی‌اکسیدان‌ها پیشنهاد شده است (۱۳).

پوشش‌های خوراکی لایه‌های نازکی هستند که از پلیمرهای طبیعی ساخته شده‌اند و با روش‌های مکانیکی مختلفی از قبیل پاششی، برس‌زنی و غوطه‌وری یا با رسوب الکترواستاتیک، بر روی سطوح مواد غذایی اعمال می‌شود (۱۴). به طور کلی، ویژگی‌های عملکردی پوشش‌های خوراکی به عوامل مختلفی از جمله ویژگی‌های پوشش (ترکیب، ساختار شیمیایی، ویسکوزیته محلول‌های پوشش، ضخامت پوشش، درجه اتصالات عرضی)، شرایط فرآوری پوشش (دما، pH، نوع حلال) و نوع و غلظت مواد افزودنی

<sup>5</sup> poly-β-(1,4)-d-glucosamine

<sup>6</sup> poly-β-(1,4)-N-acetyl-d-glucosamine

<sup>2</sup> *Donaliella*

<sup>3</sup> *Chlorophyceae*

<sup>4</sup> *Volvocales*

(۱۸). نتایج Fan و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که پوشش کیتوزان توانست کیفیت ماهی فیتوفاگک منجمد شده را در دمای  $3^{\circ}\text{C}$  - برای مدت ۳۰ روز به طور مناسبی حفظ کند و طول عمر آن را افزایش دهد (۱۹). مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان حاوی عصاره جلبک *دونالیلا* بر روی خصوصیات میکروبی، بافتی و حسی فیله فیل ماهی طی دوره نگهداری انجام شده است.

## مواد و روش‌ها

### تهیه عصاره آبی جلبک *دونالیلا*

عصاره گیری جلبک *Donaliella* به روش غوطه‌وری با استفاده از حلال آب مقطر انجام شد. مقدار ۵۰ gr پودر جلبک به ظروف شیشه‌ای دردار منتقل شد. سپس، ۵۰۰ ml آب مقطر به آن اضافه شد. شیشه چند بار به خوبی تکان داده شد و به مدت ۷۲ h در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. عصاره‌های حاصل پس از عبور از کاغذ صافی واتمن شماره ۸ با همدیگر مخلوط شده، در دستگاه آون تحت خلاء در دمای  $54^{\circ}\text{C}$  تغلیظ و خشک شد (۲۰).

### تهیه پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان و پوشش‌دهی فیله‌های فیل ماهی

برای تهیه پوشش کیتوزان (CH)، پودر کیتوزان در آب مقطر دو بار تقطیر شده ( $2\text{ w/v}$ ) که حاوی ۰/۷٪ اسید استیک است، حل شد و محلول در دمای  $30^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲ h هم‌زده شد. برای نرم شدن و انعطاف پذیر شدن پوشش‌ها، ۰/۷۵٪ گلیسرول به عنوان نرم‌کننده (پلاستی‌سایزر) به محلول اضافه و به مدت ۱۰ min مخلوط شد. در ادامه جهت غنی‌سازی پوشش‌های خوراکی با ترکیبات زیست فعال به محلول تهیه شده ۱٪ عصاره آبی جلبک *Donaliella* اضافه شد و محلول‌ها در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  تا حلالیت کامل مخلوط شدند (۱۴).

نمونه ماهی از بازار احمدآباد تهران تهیه شد و بعد از سرزنی و دم‌گیری و تخلیه امعاء و احشاء و استخوان‌گیری، به قطعات  $6 \times 15 \text{ cm}$  و ضخامت ۲/۵ cm با وزن تقریبی ۵۰ gr بریده شدند. مجموع این عملیات با رعایت کامل پروتکل بهداشتی به وسیله دست صورت گرفت. فیله نگهداری شده

به مدت ۱۰ روز با فاصله زمانی ۵ روز یک بار مورد ارزیابی قرار گرفت و هر ۵ روز یکبار آزمون‌های شیمیایی و میکروبی روی آن صورت گرفت و گروه‌های آزمایشی به صورت: ۱- شاهد (بدون پوشش و عصاره) (C) و ۲- فیله‌ی فیل ماهی با پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان حاوی ۱٪ عصاره‌ی جلبک *Donaliella* (T) تقسیم‌بندی شد. در ادامه، فیله‌های ماهی به مدت ۱ min در محلول پوشش غوطه‌ور شدند و اجازه داده شد تا محلول اضافی به مدت ۵ min چکه شود و سپس مجدداً به مدت ۳۰ s در محلول پوشش غوطه‌ور شدند. سپس فیله‌های تیمار شده در شرایط استریل روی توری فلزی در دمای  $10^{\circ}\text{C}$  قرار داده شدند تا محلول پوشش‌دهی کاملاً خشک شود و سپس کل نمونه‌ها در دمای  $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$  برای ارزیابی کیفیت بعدی در یخچال نگهداری شدند. ارزیابی‌های میکروبیولوژیکی، شیمیایی و حسی نمونه‌ها در طول دوره نگهداری (۱۰ روز) در فواصل زمانی ۵ روزه برای ارزیابی کیفیت کلی ماهی انجام شد (۲۳).

### تعیین خواص آنتی‌اکسیدانی با روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در عصاره جلبک *Donaliella*

جهت انجام آزمون به میزان ۰/۱ ml از نمونه‌ی رقیق شده را با ۳/۹ ml محلول DPPH متانول مخلوط کرده و در تاریکی به مدت ۱ h نگهداری کرده و سپس جذب محلول‌ها را در طول موج ۵۱۷ nm در اسپکتوفتومتر (JENWAY، مدل 6850، انگلستان) اندازه‌گیری شد و بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (۲۴).

$$\text{RSA}(\%) = \frac{\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}}}{\text{Abs}_{\text{control}}} \times 100$$

RSA = درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد.

$\text{Abs}_{\text{control}}$  = جذب نمونه شاهد.

$\text{Abs}_{\text{sample}}$  = جذب نمونه مورد آزمون.

### آنالیز شیمیایی مربوط به فیله‌های ماهی اندازه‌گیری pH

مقدار ۵ gr گرم از نمونه‌ی ماهی هموژن شده و با ۲۵ ml آب مقطر مخلوط شد و در نهایت pH نمونه با دستگاه

بالا بودن تعداد باکتری‌ها در یک پلیت (رقیق‌سازی نمونه‌ها)  $10^{-6}$  در محلول سرم فیزیولوژی انجام شده و پلیت‌های کشت داده شده مربوط به کل باکتری‌ها بعد از ۲۴ h انکوباسیون در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  شمارش شده است. کل شمارش میکروبیولوژیکی در سه تکرار انجام شد و میانگین آنها به صورت  $\log_{10}$  CFU/g ثبت شد (۲۳).

#### تعیین باکتری‌های سرماگرا (PTC)

برای شمارش PTC از نمونه‌های تهیه شده، از محیط تریپتیک سوی آگار (TSA) استفاده شد. مقدار  $1/10$  ml از نمونه‌های تهیه شده، بر روی محیط کشت به‌طور سطحی پخش شده و پلیت‌های مربوط به باکتری‌های سرماگرا بعد از ۷ روز انکوباسیون در دمای  $10^{\circ}\text{C}$  شمارش شد (۲۳).

#### ارزیابی حسی

ارزیابی نمونه‌ها توسط ۵ فرد نیمه آموزش دیده و به روش ۵ امتیازی انجام شد. امتیازدهی هر یک از ویژگی‌ها به صورت زیر انجام شد: بافت (بافت سفت: ۵، بافت تا حدودی سفت: ۴، تا حدودی له‌شدگی و نرم‌شدگی: ۳، له‌شدگی شدید: ۲، بافت خیلی نرم حالت خمیری: ۱)؛ رنگ (سفید و شفاف: ۵، سفید و اندکی مات: ۴، تقریباً خاکستری با ظاهر غیر شفاف: ۳، خاکستری مایل به زرد: ۲، خاکستری تیره و کدر: ۱)؛ بو (کاملاً مطبوع و ملایم: ۵، بوی مشابه ماهی تازه: ۴، بوی ماهی با اندکی بوی ترشیدگی: ۳، بوی ترشیدگی کاملاً محسوس و نامطبوع: ۲، بوی تعفن و ترشیدگی شدید: ۱)؛ مقبولیت کلی (کاملاً قابل قبول: ۵، قابل قبول: ۴، نامناسب برای مصرف: ۳، نامقبول: ۲، کاملاً نامقبول: ۱) (۲۳).

#### تجزیه و تحلیل

تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام شده است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. در ابتدا وضعیت توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون تک نمونه‌ای Kolmogorov-Smirnov در سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  بررسی شد. در صورت نرمال بودن پراکنش داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (one way ANOVA) استفاده شد. برای تعیین دقیق احتمال وجود

pH متر (Metrohm، مدل 827، سوئیس) استاندارد شده در pH های ۴ و ۷، اندازه‌گیری شد (۲۵).

#### اندازه‌گیری تیوباریوتوریک اسید (TBA)

برای اندازه‌گیری تیوباریوتوریک اسید  $200\text{ gr}$  از نمونه چربی استخراج شده، به بالن  $25\text{ ml}$  انتقال داده، با  $1-$  بوتانول به حجم رسانده و  $5\text{ ml}$  از این محلول را به لوله فالکون خشک دردار انتقال داده سپس  $5\text{ ml}$  معرف TBA (که از انحلال  $200\text{ mg}$  پودر TBA در  $100\text{ ml}$  حلال  $1-$  بوتانول و صاف کردن به وسیله‌ی کاغذ صافی به وجود آمده) به آن افزوده شد. لوله‌ها را در حمام بن ماری در دمای  $95^{\circ}\text{C}$ ، به مدت  $2\text{ h}$  قرار گرفتند. بعد در دمای محیط سرد شدند. سپس، در دستگاه اسپکتروفتومتری میزان جذب آنها (AS) در  $530\text{ nm}$  در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد. با استفاده از رابطه زیر، میزان TBA به دست می‌آید (۲۳).

$$TBA = \frac{(As - Ab) \times 50}{200}$$

#### آنالیز سفتی بافت

سفتی بافت فیله ماهی با استفاده از دستگاه بافت‌سنج مدل (LFRA 4500, Brookfield, USA) به دست آمد. برای این کار، از پروب استوانه‌ای TA11/1000 با قطر  $20\text{ mm}$ ، سرعت  $0.8\text{ mm/s}$ ، مقدار فشردگی برابر با  $25\%$  و تعداد سیکل برابر با ۲ بر روی نمونه‌ای از بافت بدون استخوان ماهی با ابعاد  $1\text{ cm}$  مکعب استفاده شد.

#### آزمون‌های میکروبی

##### شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی

آماده‌سازی نمونه برای آنالیز میکروبیولوژیکی با رقت‌سازی  $10\text{ gr}$  از هر نمونه در  $90\text{ ml}$  محلول نمکی استریل شده ( $0.85\%$  NaCl) و همگن کردن آنها در استومیکر انجام شد که به‌عنوان رقت  $10^{-1}$  در نظر گرفته شد و از آن رقت‌های بعدی  $10^{-2}$  و  $10^{-3}$  و ... تهیه شد. برای شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی از نمونه‌های تهیه شده، محیط پلیت کانت آگار (PCA) استفاده شد. بعد از تهیه محیط کشت، با میکرو سمپلر،  $1/10\text{ ml}$  از نمونه‌های تهیه شده، به روش کشت آمیخته بر روی محیط کشت ذکر شده انتقال داده شد. در صورت نیاز

خوبی بوده و می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی در دسترس، در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد.

### آزمون‌های شیمیایی

#### مقادیر pH

برای مقایسه‌ی داده‌های حاصل از اندازه‌گیری pH در گروه‌های مورد آزمایش، ابتدا وضعیت پراکنش داده‌ها با استفاده از آزمون one sample Kolmogorov-Smirnov (k\_S) بررسی شد و مشخص شد که پراکنش داده‌ها در سطح  $p=0.355$  تابع نمودار نرمال است. بنابراین، برای مقایسه‌ی داده‌ها از آزمون یک طرفه‌ی ANOVA در سطح معنی‌داری  $p<0.05$  استفاده شد و مطابق با شکل ۱ مشخص شد که تغییرات pH در بین گروه‌های مورد بررسی در سطح  $p=0.000$  به جز روز اول دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد. با توجه به آزمون LSD مشخص شد میزان pH به‌طور کلی در روز دهم، هم در نمونه کنترل و هم در نمونه تیمار بالا بود و در طول زمان، روند صعودی داشته. در روز اول، pH نمونه کنترل به‌طور معنی‌داری در مقایسه با نمونه تیمار شده بیشتر بود. بیشترین pH برای نمونه کنترل در روز ۱۰ (۷/۰۵) بود.

#### بررسی شاخص TBA

مقایسه میانگین داده‌های حاصل از اندازه‌گیری TBA در گروه‌های مورد آزمایش در شکل ۲ ارائه شده است. با توجه به شکل ۲ مشخص شد که میزان TBA در نمونه کنترل مورد بررسی در مقایسه با گروه تیمار شده به‌طور معنی‌داری بیشتر است ( $p<0.05$ ). بیشترین میزان TBA برای نمونه کنترل در روز ۱۰ نگهداری و کمترین برای هر دو نمونه کنترل و نمونه تیمار شده در روز اول می‌باشد.

اختلافات معنی‌داری بین میانگین به‌دست آمده از اندازه‌گیری متغیرها از آزمون تعقیبی LSD در سطح اطمینان ۰/۰۵ استفاده شد.

### نتایج

#### تعیین خواص آنتی‌اکسیدانی با روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

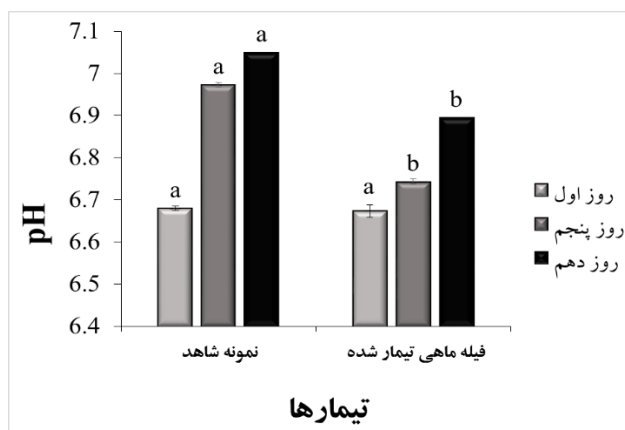
برای مقایسه داده‌های حاصل از اندازه‌گیری DPPH در *Donaliella*، در غلظت‌های مورد آزمایش، ابتدا وضعیت پراکنش داده‌ها با استفاده از آزمون one sample Kolmogorov-Smirnov (k\_S) بررسی شد و مشخص شد که پراکنش داده‌ها در سطح  $p(S)=0.604$  تابع نمودار نرمال است. بنابراین، برای مقایسه داده‌ها از آزمون یک طرفه ANOVA در سطح معنی‌داری  $p<0.05$  استفاده شد و مشخص شد که تغییرات DPPH در غلظت‌های مختلف مورد بررسی در سطح  $P=0.000$  دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد با افزایش غلظت، افزایش یافت. بین غلظت و فعالیت ضد رادیکالی رابطه مستقیم وجود دارد. بین تیمارهای مختلف روز اول تفاوت معنی‌داری دیده نشد. با توجه به آزمون تعقیبی LSD مشخص شد که بیشترین میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در تمام غلظت‌های مورد بررسی مربوط به غلظت ۱۰۰ mg/ml در جلبک *Donaliella* و کمترین میزان مربوط به غلظت ۱۰۰ g/ml  $\mu$  بود و اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف جلبک *Donaliella* وجود داشت (جدول ۱). با توجه به نتایج این تحقیق ریزجلبک آبی دارای پتانسیل آنتی‌اکسیدانی نسبتاً

جدول ۱. مقایسه میانگین قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH (%) توسط غلظت‌های مختلف جلبک *Donaliella*\*

غلظت‌ها	مهارکنندگی (%)
۱۰۰ (μg/ml)	$14.48 \pm 0.11^{D**}$
۱ (mg/ml)	$18.58 \pm 0.16^C$
۱۰ (mg/ml)	$23.96 \pm 0.09^B$
۱۰۰ (mg/ml)	$28.67 \pm 0.08^A$

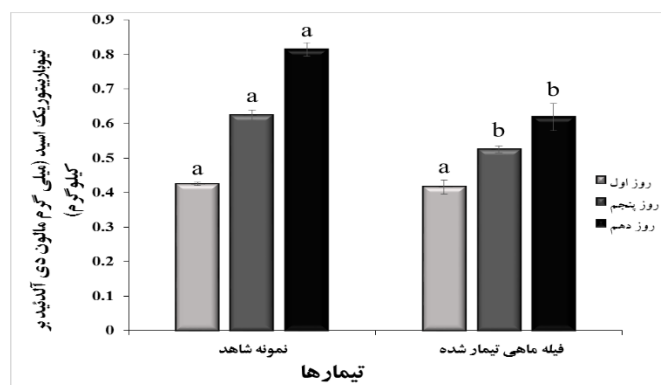
\* داده‌ها بر حسب میانگین  $\pm$  انحراف معیار با سه بار تکرار گزارش شده است.

\*\* حروف بزرگ غیر مشابه ( ) در ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $p<0.05$ ) بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن است.



شکل ۱. تغییرات میزان pH فیله‌های فیل ماهی تیمار شده با پوشش مبتنی بر کیتوزان حاوی عصاره جلبک *دونالیلا* طی دوره نگهداری

حروف غیرمشابه (a-b) بر روی ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن است.



شکل ۲. تغییرات میزان TBA فیله‌های فیل ماهی تیمار شده با پوشش مبتنی بر کیتوزان حاوی عصاره جلبک *دونالیلا* طی دوره نگهداری

حروف غیرمشابه (a-b) بر روی ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن است.

داده‌ها از آزمون یک طرفه ANOVA در سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  استفاده شد و مشخص شد که اختلاف معنی‌دار است. با توجه به جدول ۲ مشخص شد که سفتی بافت گروه تیمار شده و کنترل در روز اول اختلاف معنی‌داری نداشتند. همچنین مشخص شد کمترین میزان سفتی بافت مربوط به نمونه کنترل در روی ۱۰ نگهداری (۱/۰۸ نیوتن) و بیشترین میزان مربوط به نمونه تیمار شده در روز اول (۲/۶۳ نیوتن) است. هردو نمونه شاهد و تیمار شده طی دوره نگهداری کاهش معنی‌داری در میزان سفتی بافت داشتند که در نمونه شاهد کاهش بیشتری مشاهده شد.

میزان TBA در نمونه‌های شاهد با توجه به زمان در طول دوره نگهداری افزایش یافته است. در روز پنجم و دهم میزان TBA در نمونه‌ی کنترل نسبت به نمونه تیمار شده بیشتر بود که این اختلاف معنی‌دار بوده ( $p < 0.05$ ) و نشان‌دهنده‌ی مؤثر بودن جلبک *Donaliella* بوده است.

### سفتی بافت

برای مقایسه‌ی داده‌های حاصل از اندازه‌گیری بافت در گروه‌های مورد آزمایش، ابتدا وضعیت پراکنش داده‌ها با استفاده از آزمون  $k$ -one sample kolmogorov-smirnov (S) بررسی شد و مشخص شد که پراکنش داده‌ها در سطح  $p = 0.086$  تابع نمودار نرمال است. بنابراین، برای مقایسه

جدول ۲. مقایسه میانگین سفتی بافت (نیوتن) در فیله‌های فیل ماهی تیمار شده با پوشش مبتنی بر کیتوزان حاوی عصاره جلبک *دونالیلا طی* دوره نگهداری\*

تیمارها	روز اول	روز پنجم	روز دهم
نمونه شاهد	۲/۵۷ ± ۰/۳۹ <sup>Aa**</sup>	۱/۴۵ ± ۰/۳۲ <sup>Bb</sup>	۱/۰۸ ± ۰/۲۴ <sup>Cb</sup>
فیله ماهی تیمار شده	۲/۶۳ ± ۰/۰۳ <sup>Aa</sup>	۱/۷۰ ± ۰/۰۲ <sup>Ba</sup>	۱/۵۷ ± ۰/۰۷ <sup>Ba</sup>

\* داده‌ها بر حسب میانگین ± انحراف معیار با سه بار تکرار گزارش شده است.

\*\* حروف بزرگ غیرمشابه (A-C) در هر ردیف و حروف کوچک (a-b) در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن است.

### آزمون‌های میکروبی

#### بررسی باکتری‌های مزوفیل هوازی

برای مقایسه‌ی داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی در گروه‌های مورد آزمایش، ابتدا وضعیت پراکنش داده‌ها با استفاده از آزمون one sample kolmogoorv-sminov (k-S) بررسی شد و مشخص شد که پراکنش داده‌ها در سطح  $p=0.540$  تابع نمودار نرمال است. بنابراین، برای مقایسه داده‌ها از آزمون یک طرفه ANOVA در سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  استفاده شد و مشخص شد که در سطح  $P=0.00$  دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند. با توجه به جدول ۳ مشخص شد که بین باکتری‌های مزوفیل هوازی نمونه شاهد در روز اول در مقایسه باکتری‌های مزوفیل هوازی نمونه تیمار، اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. باکتری‌های مزوفیل هوازی در بین گروه‌ها در تمامی روزها با افزایش زمان ماندگاری بار باکتریایی  $p=0.000$  به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. به‌طور کلی در روز دهم باکتری‌های مزوفیل هوازی نمونه‌ی شاهد و تیمار بیشتر از سایر روزها بود یعنی با گذشت زمان، بار باکتریایی کل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین میزان باکتری‌های مزوفیل هوازی مربوط به نمونه شاهد در روز ۱۰ نگهداری ( $9/41 \log \text{CFU/g}$ ) و کمترین میزان برای هر دو نمونه در روز

اول بود. در روز پنجم و دهم نگهداری بیشترین میزان برای نمونه شاهد بود که اختلاف معنی‌داری با نمونه تیمار شده داشت که کمتر بودن میزان بار باکتری در تیمار دارای پوشش، نشان می‌دهد که پوشش کیتوزان حاوی عصاره‌ی جلبک *دونالیلا* در کاهش بار کل باکتری نقش مؤثری دارد.

#### بررسی باکتری‌های سرماگرا (PTC)

برای مقایسه‌ی داده‌های حاصل از اندازه‌گیری PTC در گروه‌های مورد آزمایش ابتدا وضعیت پراکنش داده‌ها با استفاده از آزمون one sample kolmogoorv-sminov (k-S) بررسی شد و مشخص شد که پراکنش داده‌ها در سطح  $p=0.921$  تابع نمودار نرمال است. بنابراین، برای مقایسه داده‌ها از آزمون یک طرفه ANOVA در سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  استفاده شد و مشخص شد که در سطح  $P=0.00$  دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند. با توجه به جدول ۴ مشخص شد که میزان PTC نمونه کنترل در تمام روزهای مورد بررسی در مقایسه با PTC نمونه تیمار شده بیشتر است که اختلاف‌ها معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). در روز دهم، نمونه تیمار شده کمترین بار میکروبی را نسبت به نمونه کنترل داشته و نشان‌دهنده تأثیر پوشش خوراکی و عصاره جلبک *دونالیلا* بر روی فیله ماهی می‌باشد.

جدول ۳. مقایسه میانگین باکتری‌های مزوفیل هوازی ( $\log \text{CFU/g}$ ) در فیله‌های فیل ماهی تیمار شده با پوشش مبتنی بر کیتوزان حاوی عصاره جلبک *دونالیلا طی* دوره نگهداری\*

تیمارها	روز اول	روز پنجم	روز دهم
نمونه شاهد	۵/۰۱ ± ۰/۲۴ <sup>Ca**</sup>	۷/۵۱ ± ۰/۳۱ <sup>Ba</sup>	۹/۴۱ ± ۰/۲۰ <sup>Aa</sup>
فیله ماهی تیمار شده	۴/۸۲ ± ۰/۳۵ <sup>Ca</sup>	۵/۴۳ ± ۰/۱۵ <sup>Bb</sup>	۶/۱۷ ± ۰/۲۲ <sup>Ab</sup>

\* داده‌ها بر حسب میانگین ± انحراف معیار با سه بار تکرار گزارش شده است.

\*\* حروف بزرگ غیرمشابه (A-C) در هر ردیف و حروف کوچک غیرمشابه (a-b) در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن است.

جدول ۴. مقایسه میانگین باکتری‌های سرماگرا (log CFU/g) در فیله‌های فیل ماهی تیمار شده با پوشش مبتنی بر کیتوزان حاوی عصاره جلبک *دونالیلا* طی دوره نگهداری \*

تیمارها	روز اول	روز پنجم	روز دهم
نمونه شاهد	۴/۱۳ ± ۰/۳۴ <sup>Ca*</sup>	۷/۴۱ ± ۰/۳۸ <sup>Ba</sup>	۸/۷۳ ± ۰/۳۷ <sup>Aa</sup>
فیل ماهی تیمار شده	۴/۱۱ ± ۰/۴۶ <sup>Ca</sup>	۵/۲۶ ± ۰/۱۵ <sup>Bb</sup>	۶/۳۸ ± ۰/۷۳ <sup>Ab</sup>

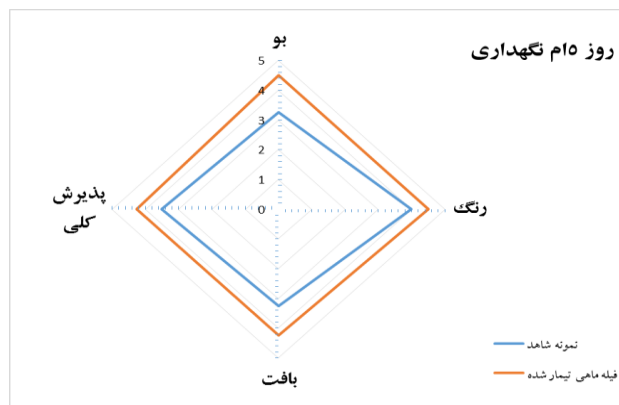
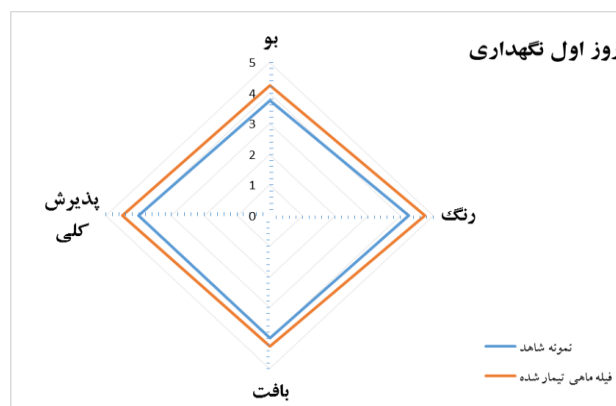
\* داده‌ها بر حسب میانگین ± انحراف معیار با سه‌بار تکرار گزارش شده است.

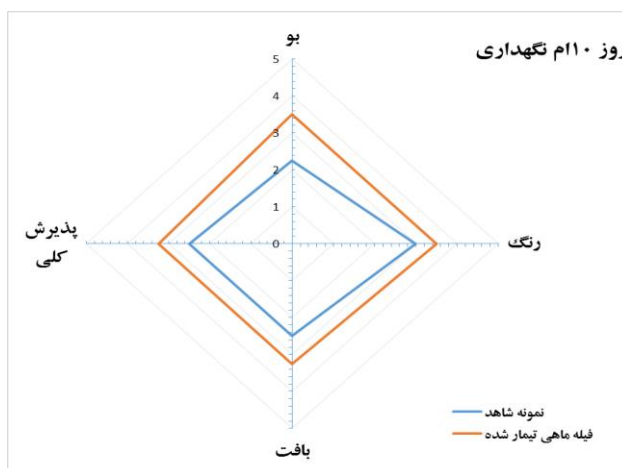
\*\* حروف بزرگ غیرمشابه (A-C) در هر ردیف و حروف کوچک غیرمشابه (a-b) در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن است.

### ارزیابی حسی

نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه‌ها که به صورت داده‌های تقریبی توسط گروه ارزیاب تخصیص یافته بود، در صفحات گسترده اکسل ثبت شد نتایج در شکل ۳ ارائه شده است. با توجه به شکل ۳ ویژگی‌های بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی بین ۲ گروه نمونه مورد بررسی طی روزهای ۰، ۵ و ۱۰ نگهداری نشان داد که فیله‌های ماهی تیمار شده با پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان حاوی عصاره جلبک

*دونالیلا* در تمام مدت ذخیره‌سازی از امتیاز حسی بالاتری در مقایسه با نمونه شاهد برخوردار بود. از طرفی تدثیر زمان نگهداری بر روی هردو تیمار اثر منفی بر ارزیابی حسی فیله‌های ماهی داشته به طوری که طی مدت ذخیره‌سازی، فیله‌های ماهی کاهش چشمگیری در صفات حسی را نشان دادند. اما با این حال، نتایج ارزیابی حسی در تمام پارامترها بیانگر تفاوت معنی‌داری فیله‌های ماهی تیمار شده با پوشش خوراکی حاوی عصاره با فیله‌های شاهد بود.





شکل ۳. ارزیابی حسی فیله‌های ماهی تیمار شده با پوشش کیتوزان حاوی عصاره جلبک *دونالیلا* طی دوره نگهداری

### بحث

ریزجلبک‌ها ارگانسیم‌های فوتوتوتروف هستند که در معرض اکسیژن بالا و استرس‌های رادیکالی قرار دارند و در نتیجه چندین سیستم حفاظتی کارآمد در برابر گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد ایجاد کرده‌اند. ریزجلبک‌ها به دلیل تنوع زیستی بسیار بالا، منبع تقریباً دست نخورده‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند (۲۴). رایج‌ترین مواد نگهدارنده مواد غذایی با منشأ مصنوعی، BHT و BHA، به دلیل نگرانی‌های جدی در مورد پتانسیل سرطان‌زایی آنها محدود شده‌اند، آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای پیشگیری از بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو گزارش شده است؛ چنانچه این آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی توانایی مقابله با اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد در بافت‌ها را دارند و بنابراین اعتقاد بر این است که در برابر سرطان، تصلب شرایین، بیماری‌های قلبی و به‌طور کلی پیری محافظت می‌کنند (۲۶). در مطالعه‌ای گزارش شده که عصاره‌های جلبک *دونالیلا* فعالیت مهارکنندگی رادیکال بالاتری (۱۴٪) نسبت به ترکیب مصنوعی BHT (۵٪) نشان داده است (۲۷). همچنین، در مطالعه‌ای دیگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی زیست توده *دونالیلا* با استفاده از روش DPPH مورد آزمایش قرار گرفت که نتایج فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد با افزایش محتوای ریزجلبک‌ها از ۰/۰۰۱ mg/ml تا ۰/۰۱ اثر آنتی‌اکسیدانی فزاینده‌ای را نشان داد (۲۸). جلبک *دونالیلا* می‌تواند چندین ترکیب از جمله رنگدانه‌هایی مانند  $\alpha$ -کاروتن، لوتین و زآگزانتین؛ پلی‌فنل‌ها مانند اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها،

ایزوفلاونوئیدها، استیلین‌ها، لیگنان‌ها و پلیمرهای فنلی؛ یا فیتواسترول‌ها با خواص آنتی‌اکسیدانی قابل توجه تولید کند، بنابراین ریزجلبک‌هایی مانند *دونالیلا* به دلیل تولید مواد فعال زیستی ارزشمند، فرصت‌های امیدوارکننده‌ای را در زمینه غذاهای عملگرا و به‌عنوان افزودنی‌های غذایی ایمن شناخته شده‌اند (۲۹). بنابراین، با توجه نتایج مطالعه حاضر و مطالعات ذکر شده در فوق می‌توان اظهار کرد که جلبک *دونالیلا* می‌تواند به‌عنوان منبع مفیدی از مواد برای سلامت انسان و مواد نگهدارنده مواد غذایی در نظر گرفته شود.

تغییرات pH به‌عنوان شاخص فساد میکروبی محصولات دریایی به کار می‌رود. میزان pH عضله ماهی زنده نزدیک ۷ است. در هر حال pH ماهی پس از مرگ، بر اساس فصل، گونه و فاکتورهای دیگر از ۶-۷ تغییر می‌کند (۳۰). افزایش pH در طی نگهداری ماهی در یخچال ممکن است به تشکیل ترکیبات نیتروژنی مانند آمونیاک، تری‌متیل‌آمین، هیستامین و غیره نسبت داده شود که عمدتاً از اتولیز توسط آنزیم‌های درون‌زا و فعالیت‌های آنزیمی میکروبی ناشی می‌شوند (۳۲). نتایج مطالعه‌ای نشان داد که عصاره اتانولی جلبک قرمز *گراسیلاریا کورتیکاتا* (*Gracilaria corticata*) به دلیل فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قوی آن می‌تواند اثرات نگهدارندگی روی فیله ماهی قباد را طی دوره نگهداری ۱۲ روزه در دمای یخچال بهبود بخشد و استفاده از جلبک *گراسیلاریا* موجب افزایش کمتری در میزان pH در مقایسه با نمونه شاهد طی دوره نگهداری شد

مطالعه حاضر، در پژوهشی گزارش شده است که استفاده از عصاره اتانولی جلبک قرمز *گراسیلاریا کورتیکاتا* (*Gracilaria corticata*) در هر دو غلظت ۳۰۰ و ۶۰۰ ppm سبب کند شدن روند افزایش شاخص TBA در فیله ماهی قباد طی نگهداری در یخچال شده است که استفاده از غلظت ۳۰۰ ppm تأثیر بیشتری داشته است (۳۳). در چندین مطالعه پوشش کیتوزان برای فیله‌های ماهی جهت کاهش محتوای TBA، در طول مدت نگهداری، نسبت به نمونه‌های بدون پوشش توصیه شده است (۲۳، ۳۱).

بافت ماهی به‌عنوان یک صفت کیفی مهم برای مطلوبیت ماهی و محصولات پیشنهاد شده است. بنابراین اندازه‌گیری‌های بافت ماهی می‌تواند یک ابزار معتبر برای ارزیابی اثر روش‌های نگهداری بر کیفیت گوشت می‌تواند استفاده شود (۴۰). پارامترهای بافت می‌توانند به وسیله واکنش‌های آنزیمی و شیمیایی تغییر کنند و منجر به کاهش سفتی و نرم شدن بافت ماهی شوند. بافت ضعیف نشان داد که ماندگاری ماهی به‌وسیله فعالیت‌های میکروبی و واکنش‌های شیمیایی محدود می‌شود (۴۱). مطالعه‌ی صورت گرفته توسط Jeddi و همکاران (۲۰۱۸) بر روی استفاده از پوشش خوراکی کیتوزان حاوی اساس مرزنجوش در گسترش ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) به مدت ۲۱ روز در دمای ۴±۱ نشان داد که سفتی بافت فیله‌های ماهی در مدت زمان نگهداری به تدریج کاهش یافت. اما به‌کارگیری پوشش خوراکی حاوی اساس مرزنجوش به‌عنوان یک محافظ به‌طور مؤثری نرم شدگی گوشت ماهی را به تعویق انداخت (۳۴). در مطالعه‌ای که بر روی استفاده از پوشش کیتوزان-ژلاتین بر روی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان صورت گرفت نتایج نشان داده این پوشش سبب افزایش خاصیت ارتجاعی شد و سبب افزایش پارامترهای آنالیز پروفایل بافت (TPA) از قبیل سختی، خاصیت ارتجاعی، چسبندگی، قابلیت جویدن، صمغیت و پیوستگی نسبت به نمونه‌های شاهد شد (۴۲).

شمارش کلی باکتری‌ها معیاری برای پی بردن به کیفیت بهداشتی یک محصول است که غیر قابل مصرف

(۳۳). همچنین در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شد که کاربرد پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان-ژلاتین حاوی اسید گالیک و روغن میخک باعث کنترل تغییرات pH فیله‌های ماهی سالمون طی ۱۵ روز نگهداری در دمای یخچال در مقایسه با نمونه شاهد شده است که همراستا با مطالعه حاضر می‌باشد (۳۲). نتایج متعددی در بسیاری از سیستم‌های پوششی مبتنی بر کیتوزان برای نگهداری فیله‌های ماهی گزارش شده است (۳۴، ۳۵) و این ممکن است به دلیل خواص ضد میکروبی ذاتی خود کیتوزان باشد که از فعالیت آنزیمی میکروبی جلوگیری می‌کند (۳۶). علاوه بر این، ترکیب عصاره جلبک *دونالیلا* در پوشش خوراکی کیتوزان افزایش میزان pH را سرکوب کرده، این امر احتمالاً به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی جلبک *دونالیلا* می‌باشد (۲۴).

سنجش ماده واکنش‌دهنده اسید تیوباربتوریک (TBARS) به‌طور گسترده‌ای برای ارزیابی اکسیداسیون لیپیدی محصولات ماهی استفاده می‌شود، حداکثر حد مجاز مالون آلدئید (MAD) برای کیفیت خوب محصولات ماهی در طول ذخیره‌سازی ۱-۲ mg MDA/kg گوشت ماهی است (۳۲). شاخص TBA مربوط به اندازه‌گیری میزان مالون آلدئید می‌باشد که محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب چند غیر اشباع است (۳۷). کاهش میزان TBA در بعضی روزهای نگهداری ممکن است به دلیل کاهش هیدروپراکسیدها و واکنش بین مالون آلدئید با پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و گلیکوژن باشد که باعث کاهش مقادیر مالون آلدئید می‌شود. روند افزایش این شاخص در طول مدت نگهداری ممکن است مربوط به دهیدراتاسیون جزئی ماهی و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع باشد. همچنین آلدئیدها که محصول ثانویه اکسیداسیون هستند از شکست هیدروپراکسیدها ایجاد می‌شوند افزایش میزان هیدروپراکسیدها نیز می‌تواند دلیلی بر این امر باشد (۳۸). Hazavehi ha و همکاران (۲۰۱۹) نیز اثر بخشی پوشش خوراکی ژلاتینی حاوی اسانس جلبک *دونالیلا سالینا* بر برگر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*C. morhua*) را در کاهش تیوباربتوریک اسید گزارش کردند (۳۹). مشابه با نتایج

برای ماهی خام بود و در فیله پوششی کیتوزان  $\log \text{CFU/g}$   $6/22$  افزایش یافت. اما در نمونه پوشش کیتوزان و اسانس مرزنجوش این میزان به حدود  $\log \text{CFU/g}$   $5/74$  افزایش پیدا کرد (۳۴)، که همراستا با مطالعه حاضر بود. در مطالعه‌ای دیگر مطابق با مطالعه حاضر گزارش شده است که استفاده از پوشش خوراکی کیتوزان حاوی عصاره پوست انار موجب کند شدن رشد باکتری‌های سرمادوست در فیله ماهی تیلپیا (*Oreochromis niloticus*) شده است (۲۳). Hamza و Rezai (۲۰۱۱) بیان کردند که با گذشت زمان در همه تیمارها مقادیر باکتری‌های سرماگرا افزایش یافت البته این افزایش در تیمار شاهد شدیدتر بود و تغییرات معنی‌دار برای تیمار شاهد و تیمار حاوی پوشش آلژینات سدیم از روز ۵ شروع شد (۹). با توجه به کنترل رشد باکتری‌های مزوفیل هوازی و سرمادوست طی دوره نگهداری در فیله فیل ماهی در این مطالعه می‌توان به خواص ضد میکروبی کیتوزان و جلبک *دونالیلا* استفاده شده در پوشش خوراکی اشاره کرد؛ که مطابق با مطالعات خواص ضد میکروبی کیتوزان به عوامل مختلفی از جمله نوع کیتوزان، درجه پلیمریزاسیون، وزن مولکولی و pH بستگی دارد (۴۷) و همچنین اثر ضد میکروبی عصاره جلبک *دونالیلا* تحت تأثیر ترکیبات فنولی مانند اسید فرولیک و اسید گالیک که در مطالعاتی گزارشاتی مبنی بر فعالیت ضد میکروبی این ترکیبات بر علیه *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شده است (۴۸، ۴۹). Herrero و همکاران (۲۰۰۶) فعالیت ضد میکروبی عصاره جلبک *دونالیلا* را با استفاده از حلال‌های مختلف (هگزان، نفت اتر، هگزان و آب) در برابر میکروارگانسیم‌های نامطلوب صنایع غذایی مانند *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کاندیدا آلبیکنس* ثابت کردند، آنها همچنین ۱۵ ترکیب فرار و اسیدهای چرب را شناسایی کردند که می‌توانستند مسئول فعالیت ضد میکروبی باشند (۵۰).

ارزیابی حسی متداول‌ترین روش بررسی تازگی ماهی است که روشی ساده بوده و در مدت زمان کم می‌توان اطلاعات در مورد کیفیت محصول به‌دست آورد. خصوصیات حسی ماهی به وضوح برای مصرف‌کنندگان

بودن محصول را بیان می‌کند (۴۳). براساس نظر کمیسیون بین‌المللی استانداردهای میکروبی مواد غذایی (ICMSF) حداکثر میزان مجاز بار میکروبی در ماهیان تازه و منجمد  $\log \text{CFU/g}$   $10^7$  یا  $\log \text{CFU/g}$   $7$  است (۴۴). Ojagh و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که بار باکتریایی کل تیمارها با گذشت زمان نگهداری به شکل معنی‌داری افزایش نشان داد به طوری که تیمار شاهد و پوشش‌دهی شده با ژلاتین خالص و اسانس پونه کوهی به بالاتر از میزان مجاز تعیین شده برای ماهی قزل‌آلا در روز ۸ رسیدند (۴۵). Xiong و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که با گذشت زمان نگهداری میزان بار باکتریایی کل فیله‌های ماهی سالمون افزایش یافت به طوری که تیمارهای شاهد در روز ۱۵ نگهداری از مقدار مجاز تعیین شده برای ماهی  $\log \text{cfu/g}$   $7$  گذشتند در حالی که تیمارهای با پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان-ژلاتین حاوی اسید گالیک و روغن میخک به صورت جداگانه و ترکیبی تا پایان دوره نگهداری در دامنه قابل قبول باقی ماندند و در طول مدت نگهداری میزان بار باکتریایی کل کمتری در مقایسه با نمونه شاهد داشتند (۳۲). Hamza و Rezai (۲۰۱۱) با بررسی اثرات ضد اکسیداسیونی و ضد باکتریایی پوشش آلژینات سدیم به همراه اسانس آویشن بر فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان نگهداری شده در یخچال نشان دادند که میزان بار باکتریایی کل با گذشت زمان در همه تیمارها افزایش یافت. البته این افزایش در تیمار شاهد شدیدتر بود و در انتهای دوره بیشترین بار باکتریایی را داشت؛ که مطابق با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد (۹).

باکتری‌های سرمادوست گروه اصلی میکروارگانسیم‌های مسئول و مسبب فساد هوازی در غذاهای دریایی تازه نگهداری شده در یخچال می‌باشند. بیش‌ترین حد پیشنهاد شده برای PTC در ماهی  $\log \text{CFU/g}$   $7$  است (۴۶). Jeddi و همکاران (۲۰۱۸)، کاربرد پوشش خوراکی کیتوزان حاوی ۱ و ۲٪ اسانس مرزنجوش بر روی کیفیت و ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دمای یخچال را بررسی کرده و گزارش کرده‌اند که میزان PTC در فیله شاهد  $\log \text{CFU/g}$   $7/40$  که بالاتر از حد مجاز توصیه شده

جمله کاربرد پوشش خوراکی، کیتوزان و همچنین استفاده از عصاره جلبک *دونالیلا* حاوی ترکیبات زیست فعال باعث کنترل رشد میکروبی و تأخیر در اکسیداسیون لیپیدی فیله ماهی شد. به طوری که در مطالعاتی بیان شده که از پوشش‌های خوراکی می‌توان برای بهبود کیفیت مواد غذایی تازه مانند فراورده‌های گوشتی (تازه، منجمد، فرآوری شده) بدون تغییر مواد ضروری و روش‌های فرآوری به دلیل خواص مطلوبی که دارند از جمله جلوگیری از گازها و از دست دادن رطوبت، کاهش واکنش‌های اکسیداتیو، حفظ طعم، بهبود ظاهر محصول، جلوگیری از تغییر رنگ، قابلیت افزودن مواد افزودنی مختلف به ماتریکس آنها (آنتی‌اکسیدان‌ها، ضد میکروبی‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی، و غیره)، حفظ ارزش غذایی و بهبود خواص حسی غذا استفاده کرد (۵۱، ۵۲). مواد ضد باکتری می‌توانند به طور مؤثر رشد و تولید مثل باکتری‌های خطرناک و همچنین آلاینده‌های سمی را کنترل کنند. فعالیت ضد میکروبی کیتوزان تحت تأثیر تعدادی از عوامل است که به صورت منظم و مستقل عمل می‌کنند. شایع‌ترین فعالیت ضد باکتریایی کیتوزان با اتصال به دیواره سلولی باکتری با بار منفی است که باعث اختلال در سلول می‌شود، بنابراین نفوذپذیری غشاء را تغییر می‌دهد و به دنبال آن اتصال به DNA باعث مهار تکثیر DNA و متعاقباً مرگ سلولی می‌شود. مکانیسم احتمالی دیگر این است که کیتوزان به عنوان یک عامل شلاته‌کننده عمل می‌کند که به طور انتخابی به عناصر فلزی متصل می‌شود و باعث تولید سم و مهار رشد میکروبی می‌شود (۲۲). از طرفی برای بهبود فعالیت ضد میکروبی، می‌توان کمپلکس‌های کیتوزان را با مواد خاصی تهیه کرد. ترکیب اسانس‌ها و عصاره‌ها در پوشش‌های مبتنی بر کیتوزان به دلیل خواص باکتری‌کشی و قارچ‌کشی مرتبط با این ترکیبات فرار، در علوم کشاورزی و غذایی مورد توجه قرار گرفته است (۵۲-۵۴). فعالیت ضد میکروبی شناسایی شده در چندین عصاره جلبک‌های گونه *دونالیلا* به دلیل ترکیبات موجود در آنها از جمله یونون، سیکلوسیترال، نئوفیتادین و فیتول نیز توضیح داده شود. اجزای فعال بیولوژیکی مشتق شده از جلبک‌های دریایی ممکن

قابل مشاهده بوده و برای جلب رضایت مشتری ضروری است (۴۶). در تیمار شاهد به علت اکسیداسیون بالا چربی، رشد میکروبی بعد از روز ۱۰، بوی نامناسب آشکار و تغییر رنگ مشاهده شد. براساس نتایج به دست آمده در فیله‌های خام تمامی شاخص‌های رنگ، بو، بافت، طعم و پذیرش کلی در طول دوره نگهداری کاهش یافت که البته این کاهش در تیمار شاهد با سرعت بیش‌تری انجام شد. در ابتدای دوره همه تیمارها دارای بافت محکم و سفت بوده و اما در انتهای دوره وضعیت بافت در تیمارها نرم بود. علت از دست دادن ویژگی‌های رنگ، بو و مزه با پیشرفت زمان نگهداری می‌تواند ترکیبات حاصل از اکسیداسیون اسیدهای چرب باشد. هیدروکسیدهای تشکیل شده می‌توانند به آلدئیدها و کتون‌ها شکسته شوند. در مطالعه حاضر نتایج ارزیابی حسی با نتایج حاصل از آزمایش‌های شیمیایی، بافت و میکروبی منطبق بود؛ به طوری که همزمان با افزایش رشد میکروبی و تولید محصولات حاصل از اکسیداسیون چربی منجر به ایجاد بو، رنگ و بافت نامطلوب مبنی بر فساد فیله‌های ماهی طی دوره نگهداری آشکار شد. Fan و همکاران (۲۰۰۹) در ارزیابی حسی فیتوفاگک (*H. molitrix*) پوشش داده شده با کیتوزان و نمونه شاهد حاکی از کاهش قابلیت وجه ارزیابی حسی در تیمار مورد مطالعه در طول زمان بود اما به طور کلی نمونه‌های پوششی در مقایسه با شاهد ارزیابی حسی بهتری نشان دادند (۱۹). همچنین، در مطالعه‌ای دیگر همراستا با مطالعه حاضر، مبنی بر تأثیر بالقوه پوشش خوراکی ژل آلون‌ه‌ورا حاوی نانوامولسیون اسانس زنجبیل بر حفظ بالاتر صفات حسی فیله‌های ماهی قزل‌آلا در مقایسه با نمونه شاهد طی دوره نگهداری گزارش شده است (۳۱). در نهایت می‌توان بیان کرد که کسب امتیاز حسی بالاتر در نمونه‌های فیل ماهی پوشش‌دهی شده توسط کیتوزان حاوی عصاره جلبک *دونالیلا* می‌تواند ناشی از کنترل رشد میکروبی و فساد شیمیایی در فیله‌های ماهی باشد.

در پایان این مطالعه می‌توان بیان کرد که مواد ضد باکتری برای جلوگیری از گسترش باکتری‌ها و ویروس‌های مضر در حال توسعه هستند و سه عامل مهم در این مطالعه از

6. Jayathilakan K, Sultana K. Irradiation preservation of meat and meat products and its effect-A review. *Journal of Meat Science*. 2018;13(1):1-17.
7. Chaijan M, Panpipat W, Nisoa M. Chemical deterioration and discoloration of semi-dried tilapia processed by sun drying and microwave drying. *Drying Technology*. 2017;35(5):642-9.
8. Shah AA, Tokunaga C, Kurihara H, Takahashi K. Changes in lipids and their contribution to the taste of migaki-nishin (dried herring fillet) during drying. *Food Chemistry*. 2009;115(3):1011-8.
9. Hamza A, Rezai M. Antioxidant effects of sodium bicarbonate coating with sodium alginate and essential oil of rainbow trout, preserved in a refrigerator. *Journal of Nutrition Sciences and Technology*. 2011;6(10):20-11.
10. Nikoo M, Benjakul S, Xu X. Antioxidant and cryoprotective effects of Amur sturgeon skin gelatin hydrolysate in unwashed fish mince. *Food Chemistry*. 2015;181:295-303.
11. Shahidi F, Zhong Y. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical society reviews*. 2010;39(11):4067-79.
12. Camacho F, Macedo A, Malcata F. Potential industrial applications and commercialization of microalgae in the functional food and feed industries: A short review. *Marine drugs*. 2019;17(6): p.312.
13. Roy UK, Nielsen BV, Milledge JJ. Antioxidant production in *Dunaliella*. *Applied Sciences*. 2021;11(9):3959.
14. Poverenov E, Zaitsev Y, Arnon H, Granit R, Alkalai-Tuvia S, Perzelan Y, et al. Effects of a composite chitosan-gelatin edible coating on postharvest quality and storability of red bell peppers. *Postharvest Biology and Technology*. 2014;96:106-9.
15. Valdés A, Burgos N, Jiménez A, Garrigós MC. Natural pectin polysaccharides as edible coatings. *Coatings*. 2015;5(4):865-86.
16. Gutiérrez TJ. Chitosan applications for the food industry. *Chitosan: Derivatives, composites and applications*. 2017:183-232.
17. Wang H, Qian J, Ding F. Emerging chitosan-based films for food packaging applications. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2018;66(2):395-413.
18. Rezaabad MK, Khodanazary A, Hosseini SM. Effect of chitosan treatments and vacuum packaging on the shelf life of spangled emperor lethrinus nebulosus fillets stored in refrigerator. *Journal of Packaging Technology and Research*. 2017;157:1-64.
19. Fan W, Sun J, Chen Y, Qiu J, Zhang Y, Chi Y. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food chemistry*. 2009;115(1):66-70.

است با آسیب رساندن به غشای سلولی که منجر به نشت مواد سلولی و در نهایت منجر به مرگ سلولی می‌شود، نحوه عملکرد خود را ایجاد کنند (۵۵).

## نتیجه گیری

تجزیه و تحلیل داده‌های این تحقیق نشان داد که اضافه شدن عصاره‌ی جلبک *Donaliella* به پوشش کیتوزان باعث ایجاد خواص ضد اکسیداسیونی پوشش شده است به طوری که روند فساد اکسیداسیونی در فیله‌های دارای پوشش را به طور چشمگیری به تعویق انداخته است. با اجرای این مطالعه و مطالعات مشابه در مورد کاربرد پوشش‌های طبیعی به تنهایی و یا حاوی عصاره‌های گیاهی دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی، می‌توان ضمن کاهش فرآورده‌های عامل اکسیداسیون، گامی مؤثر در جهت بهبود سلامت میکروبی، حفظ کیفیت ارگانولپتیکی گوشت در حد مطلوب و افزایش مدت ماندگاری آن برداشت و زمینه لازم را برای استفاده کاربردی از این ترکیبات در انواع گوشت‌ها و فرآورده‌های آنها فراهم کرد.

## منابع

1. Sudagar M, Mir VS, Keivanloo S. Effects of Goldfish (*Carassius auratus*) and Roach (*Rutilus rutilus*) extracts on the growth indexes and survival rate of Beluga (*Huso huso* Linnaeus 1758) fingerlings. *Scientific Journal of Animal Science*. 2013;2(8):234-41.
2. Falahatkar B. The metabolic effects of feeding and fasting in beluga *Huso huso*. *Marine environmental research*. 2012;82:69-75.
3. Gómez-Estaca J, De Lacey AL, López-Caballero M, Gómez-Guillén M, Montero P. Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food microbiology*. 2010;27(7):889-96.
4. Day L, Cakebread JA, Loveday SM. Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*. 2022;119:428-42.
5. Saini RK, Prasad P, Sreedhar RV, Akhilender Naidu K, Shang X, Keum Y-S. Omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs): Emerging plant and microbial sources, oxidative stability, bioavailability, and health benefits—A review. *Antioxidants*. 2021;10(10):1627.

31. Jamali S, Pajohi-Alamoti M, Sari A, Aghajani N. Use of Aloe Vera-based Edible Coating Containing Nanoemulsion of Ginger Essential Oil to Extend Trout Fillet Shelf-life. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 2023;18(1):93-108.
32. Xiong Y, Kamboj M, Ajlouni S, Fang Z. Incorporation of salmon bone gelatine with chitosan, gallic acid and clove oil as edible coating for the cold storage of fresh salmon fillet. *Food Control*. 2021;125:107994.
33. Oujifard A, Bagheri D, Zamani L. Antioxidant effects of red alga (*Gracilaria corticata*) ethanol extract on the Shelf-life of *Scomberomorus guttatus* fish fillet stored at 4 °C. *Journal of Fisheries*. 2021;74(2):281-94.
34. Jeddi S, Jafarpour S, Yeganeh S, Naseri M. Evaluation of color and tissue of rainbow trout fillet by chitosan edible coating incorporated with marjoram essential oil during refrigerated storage. *Fisheries Science and Technology*. 2018;7(1):33-9.
35. Sadeghi M, Arshadi A, Mirdar Harijani JMH, Haddadi F. Antioxidant activity of chitosan edible coating enriched with aqueous extract of *Withania coagulans* fruit on chemical changes and sensory properties of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) stored in refrigerator. *Journal of Fisheries*. 2020;72(4):363-74.
36. No H, Meyers SP, Prinyawiwatkul W, Xu Z. Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review. *Journal of food science*. 2007;72(5):R87-R100.
37. Bremner HA. Safety and quality issues in fish processing; Elsevier; 2002.
38. Gómez-Estaca J, Montero P, Giménez B, Gómez-Guillén MC. Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Food chemistry*. 2007;105(2):511-520.
39. Hazavehei ha Y, Mahasti Shotorbani P, Khoshkhoo Zh. Effect of edible gelatin coating based on *Dunaliella salina* alge essential oil on physicochemical and microbial characteristics of rainbow trout fish burger during refrigerated storage. *Journal of food science and technology (Iran)*. 2019;16(89):125-37.
40. Aider M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry. *LWT-food science and technology*. 2010;43(6):837-42.
41. Wrolstad RE, Acree TE, Decker EA, Penner MH, Reid DS, Schwartz SJ, et al. Handbook of food analytical chemistry, volume 1: Water, proteins, enzymes, lipids, and carbohydrates: John Wiley & Sons; 2005.
42. Nowzari F, Shábanpour B, Ojagh SM. Comparison of chitosan-gelatin composite and
20. Singh AK, Tiwari R, Kumar V, Singh P, Khadim SR, Tiwari A, et al. Photo-induced biosynthesis of silver nanoparticles from aqueous extract of *Dunaliella salina* and their anticancer potential. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2017;166:202-11.
21. Aranda-Martinez A, Lopez-Moya F, Lopez-Llorca LV. Cell wall composition plays a key role on sensitivity of filamentous fungi to chitosan. *Journal of Basic Microbiology*. 2016;56(10):1059-70.
22. Yilmaz Atay H. Antibacterial activity of chitosan-based systems. *Functional chitosan: drug delivery and biomedical applications*. 2019:457-89.
23. Alsaggaf MS, Moussa SH, Tayel AA. Application of fungal chitosan incorporated with pomegranate peel extract as edible coating for microbiological, chemical and sensorial quality enhancement of Nile tilapia fillets. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;99:499-505.
24. Hemalatha A, Girija K, Parthiban C, Saranya C, Anantharaman P. Antioxidant properties and total phenolic content of a marine diatom, *Navicula clavata* and green microalgae, *Chlorella marina* and *Dunaliella salina*. *Adv Appl Sci Res*. 2013;4(5):151-7.
25. Asgharzade Kany A, Shabanpour. B., Hoseiny H, Ghafary B. Comparison of some chemical properties of Surimi and minced meat of *Hypophthalmichthys molitrix* as a raw material of fishery products. *Research and Development in Livestock and Aquaculture*. 2008;21(2):191-7.
26. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 2010;15(10):7313-52.
27. López A, Rico M, Santana-Casiano JM, González AG, González-Dávila M. Phenolic profile of *Dunaliella tertiolecta* growing under high levels of copper and iron. *Environmental Science and Pollution Research*. 2015;22:14820-8.
28. Hyrslova I, Krausova G, Mrvikova I, Stankova B, Branyik T, Malinska H, et al. Functional Properties of *Dunaliella salina* and Its Positive Effect on Probiotics. *Marine Drugs*. 2022;20(12):781.
29. Ferreira JP, Grácio M, Sousa I, Pagarete A, Nunes MC, Raymundo A. Tuning the Bioactive Properties of *Dunaliella salina* Water Extracts by Ultrasound-Assisted Extraction. *Marine Drugs*. 2023;21(9):472.
30. Özogul Y, Özogul F, Kuley E, Özkutuk AS, Gökbulut C, Köse S. Biochemical, sensory and microbiological attributes of wild turbot (*Scophthalmus maximus*), from the Black Sea, during chilled storage. *Food chemistry*. 2006;99(4):752-8.

- ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microbial drug resistance*. 2013;19(4):256-65.
50. Herrero M, Ibáñez E, Cifuentes A, Reglero G, Santoyo S. Dunaliella salina microalga pressurized liquid extracts as potential antimicrobials. *Journal of food protection*. 2006;69(10):2471-7.
  51. Hashemi M, Hashemi M, Daneshamooz S, Raeisi M, Jannat B, Taheri S, et al. An overview on antioxidants activity of polysaccharide edible films and coatings contains essential oils and herb extracts in meat and meat products. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2020;8(2):198-207.
  52. Yaghoubi M, Ayaseh A, Alirezalu K, Nemati Z, Pateiro M, Lorenzo JM. Effect of chitosan coating incorporated with *Artemisia fragrans* essential oil on fresh chicken meat during refrigerated storage. *Polymers*. 2021;13(5):716.
  53. Ramírez-Guerra H, Castillo-Yañez F, Montañó-Cota E, Ruíz-Cruz S, Márquez-Ríos E, Canizales-Rodríguez D, et al. Protective effect of an edible tomato plant extract/chitosan coating on the quality and shelf life of sierra fish fillets. *Journal of Chemistry*. 2018;2018.
  54. Yang C, Lu J-H, Xu M-T, Shi X-C, Song Z-W, Chen T-M, et al. Evaluation of chitosan coatings enriched with turmeric and green tea extracts on postharvest preservation of strawberries. *Lwt*. 2022;163:113551.
  55. Bajpai VK. Antimicrobial bioactive compounds from marine algae: A mini review. *Journal of Geo-Marine Sciences*. 2016;45(9):1076-1085.
  - bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food chemistry*. 2013;141(3):1667-72.
  43. Saeedi Asl M, Safari R. *Introduction to General Microbiology and Lab Food*. Bayah Publisher; 2009.
  44. Farsanipour A, Khodanazary A, Hosseini SM. Effect of chitosan-whey protein isolated coatings incorporated with tarragon *Artemisia dracunculoides* essential oil on the quality of *Scomberoides commersonnianus* fillets at refrigerated condition. *International journal of biological macromolecules*. 2020;155:766-71.
  45. Ojagh S. The effect of using Chitosan preservative enriched with Cinnamon essential oil on the quality and shelf life of Rainbow trout fillet (*Oncorhynchus mykiss*): Ph. D thesis. Faculty of Natural Resources and Marine Sciences Department of ...; 2010.
  46. Sallam KI. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control*. 2007;18(5):566-75.
  47. Maghami M, Motalebi AA, Anvar SAA. Influence of chitosan nanoparticles and fennel essential oils (*Foeniculum vulgare*) on the shelf life of *Huso huso* fish fillets during the storage. *Food science & nutrition*. 2019;7(9):3030-41.
  48. Safafar H, Van Wagenen J, Møller P, Jacobsen C. Carotenoids, phenolic compounds and tocopherols contribute to the antioxidative properties of some microalgae species grown on industrial wastewater. *Marine drugs*. 2015;13(12):7339-56.
  49. Borges A, Ferreira C, Saavedra MJ, Simões M. Antibacterial activity and mode of action of

## The effect of chitosan-based edible coating containing *Dunaliella* algae extract on the qualitative and microbial characteristics of Beluga Sturgeon (*Huso huso*) fillet during the storage period

Younes Pirouz Zarrin<sup>1</sup>, Zeinab Abdolahi Cheleh bary<sup>2</sup>, Samaneh Khaki Arani<sup>3</sup>, Seyed Hamidreza Hashemi Kochaksaraei<sup>4</sup>, Sina Moulaei<sup>5</sup>, Mahdis Jamshidi Tehraniyan<sup>6</sup>, Zahra Latifi<sup>6\*</sup>

1. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Department of Food Science and Technology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Department of Food Science and Technology, School of Food Technology (Ibn Sina), Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4. Department of Food Science and Industry, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.
5. Master's student, Department of Food Science and Industry, Zabol University, Iran.
6. Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Noor Branch, Noor, Mazandaran, Iran.

### Abstract

The rate of spoilage and oxidation in fish and the change in color of fish tissue, its shelf life is limited; therefore, it is necessary to use natural antioxidants to delay, control or inhibit these adverse reactions and prevent the reduction of food quality. The current study was conducted to determine the effect of chitosan-based edible coating containing *Dunaliella* alga extract on preservation the quality of fresh *Huso huso* fillet during storage in refrigerator. Microbial and chemical tests including total bacterial load and saline bacteria, pH, TBA as well as sensory evaluation were performed periodically for all samples and for algae extract, antioxidant activity was measured by DPPH method. The total bacterial count on the 10th day of storage for samples coated with algae extract was  $6.17 \pm 0.22$  log CFU/g, which was in the acceptable range for human consumption, but in control samples was  $9.41 \pm 0.20$  log CFU/g on the 10th day, which is beyond the permissible limit. The amount of psychotropic bacteria for the control treatment significantly ( $p < 0.05$ ) increased compared to the chitosan-coated treatment containing the extract. The values of pH and TBA in the control sample were significantly higher compared to the treated sample on the 5th and 10th days of storage ( $p < 0.05$ ). This study showed that the growth of bacteria in fresh fish fillets can be prevented by using chitosan coating containing algae extract, and its sensory characteristics, including texture, smell, color, and general acceptability, have been preserved to a great extent and increased the period of keeping fish in the refrigerator.

**Keywords:** Edible coating, *Dunaliella* algae, Beluga (*Huso huso*), Chitosan.

\* yasamin.latifi131@yahoo.com