مقاله کامل علمی-پژوهشی

نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد سیزدهم، شماره اول، ۱۴۰۰
۱۵-۳۰
http://ejfpp.gau.ac.ir

DOI: 10.22069/EJFPP.2020.17070.1563

مقایسه اثر پوشش‌های آلژینات سدیم، کازئینات سدیم و ژلاتین در ترکیب با اسانس آویشن بر ماندگاری میگو

سهیل ریحانی پول*، علیرضا عالیشاهی

گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۰۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۱۰

چکیده

سابقه و هدف: انجماد مهم‌ترین روش نگهداری میگو است ولی ویژگی‌های کیفی محصول در پایان دوره نگهداری بسته به نوع روش انجماد، نوسانات دمایی، سرعت انجماد و یخ‌گشایی ممکن است دستخوش تغییراتی شود. از طرفی، برخی از مصرف‌کنندگان تمایل به مصرف میگوی غیرمنجمد (دمای یخچالی) دارند. همچنین مخاطرات استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی نگرانی‌هایی در مصرف‌کنندگان ایجاد می‌کند. بنابراین بررسی پتانسیل نگهدارنده‌های طبیعی در حفظ کیفیت میگو در شرایط غیرمنجمد و بازه زمانی کوتاه مدت ضروری به نظر می‌رسد. پژوهش حاضر به‌منظور بررسی و مقایسه کارایی سه نوع پوشش کازئینات‌سدیم- آویشن، آلژینات‌سدیم- آویشن و ژلاتین- آویشن در حفظ ویژگی‌های کیفی (شیمیایی و میکروبی) فیله میگوی وانامی (*Litopenaeus vanamei*) ذخیره‌شده در دمای یخچال (۱±۴ درجه سانتی‌گراد) انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: فیله میگوهای تازه صیدشده از گمیشان (استان گلستان) در ظروف حاوی یخ پس از گذشت ۳ ساعت به آزمایشگاه منتقل و پس از سرزنی، پوست‌گیری و شستشو در شرایط مناسب ذخیره شدند. پس از تهیه محلول‌های مورد نظر (پوشش)، فیله‌های میگو به‌روش غوطه‌وری پوشش‌دهی و در قالب چهار تیمار ۱ (فیله، شاهد)، ۲ (فیله+ آلژینات‌سدیم ۴ درصد- آویشن ۱/۵ درصد)، ۳ (فیله+ کازئینات‌سدیم ۴ درصد- آویشن ۱/۵ درصد) و ۴ (فیله+ ژلاتین ۴ درصد- آویشن ۱/۵ درصد) در دمای یخچال (۱± ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. به‌منظور بررسی ویژگی‌های کیفی فیله‌های میگو و مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی فیلم‌ها، شاخص‌های PV، TBA، TVN-B، FFA، pH و باکتری‌های مزوفیل هوازی و سرماگرا برای تیمارها در روزهای صفر، ۳، ۶ و ۹ اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: با استفاده از این سه نوع پوشش ویژگی‌های کیفی فیله تا پایان دوره حفظ شد. بطورکلی و بویژه در روزهای پایانی، فیله پوشش دهی شده با فیلم آلژینات‌سدیم- آویشن به‌صورت معنی‌داری در تمامی شاخص‌های شیمیایی و میکروبی از مقادیر کمتری نسبت به سایر پوشش‌ها برخوردار بود ($P<0/05$). نتایج حاکی از آن بود که قدرت آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی پوشش کازئینات‌سدیم- آویشن نسبت به پوشش ژلاتین- آویشن به صورت معنی‌داری بیشتر است ($P<0/05$). لازم به ذکر است که اگر چه تیمار شاهد در روزهای صفر و ۳ از نظر شاخص‌های کیفی در حد استاندارد بود اما اکثر شاخص‌های شیمیایی و میکروبی این تیمار با رسیدن به روزهای پایانی نگهداری از حد مجاز عبور کرد.

نتیجه‌گیری: با استفاده از سه نوع پوشش در تحقیق حاضر تا پایان دوره نگهداری، ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی فیله نسبت به نمونه شاهد در حد استاندارد حفظ شد. ترکیب آلژینات‌سدیم و آویشن شیرازی برای حفظ کیفیت میگو در بازه زمانی کمتر از ۱۰ روز در دمای یخچال نسبت به پوشش‌های کازئینات‌سدیم- آویشن و ژلاتین- آویشن از قدرت و کارایی بیشتری برخوردار بود.

واژه‌های کلیدی: میگو، آلژینات‌سدیم، کازئینات‌سدیم، ژلاتین، آویشن شیرازی

*مسئول مکاتبه: soheylreyhani@gmail.com

مقدمه

میگو با وجود ارزش غذایی کم‌نظیر، به تغییرات میکروبی- آنزیمی حساس بوده و لذا بسیار مستعد فساد است. از مهم‌ترین راه‌های افزایش ماندگاری این محصول می‌توان به انجماد و استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی اشاره کرد. این روش‌ها تا حدی می‌توانند فرایندهای آنزیمی، میکروبی و اکسیداسیون منجر به فساد را کنترل کنند. انجماد میگو معمولاً به‌صورت لعاب‌دهی با آب و منجمدکردن در منجمدکننده جریان هوا و یا به روش انجماد سریع انفرادی با استفاده از دی‌اکسیدکربن و ازت مایع انجام می‌شود (۴). استفاده از انجماد برای افزایش دوره نگهداری میگو بسته به روش انجماد، دمای انجماد و نوسانات آن، سرعت انجماد و انجمادزدایی و حمل و نقل ممکن است منجر به افت ویژگی‌های کیفی مانند کاهش وزن، نشت مواد درون بافتی، تغییر ماهیت پروتئین، رنگ، طعم و اکسیداسیون لیپیدها شود (۳، ۴، ۱۳ و ۱۵). مضرات استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی نیز موجب نگرانی مصرف‌کننده می‌شود. بنابراین انتخاب روشی که در آن علاوه بر حفظ کیفیت میگو در شرایط غیرانجماد از نگهدارنده‌های شیمیایی استفاده نشود، ضروری و مهم به نظر می‌رسد.

در کنار روش‌های اشاره شده، رویکردهایی جهت نگهداری کوتاه مدت (در دمای یخچال) و دراز مدت میگو در شرایط انجماد وجود دارند که اساس آن‌ها استفاده از ترکیبات طبیعی جهت پوشش‌دهی میگو هستند. این ترکیبات خوراکی که قابلیت بالایی در تشکیل فیلم اطراف فیله میگو دارند، اثرات مخرب انجماد (۲۴) را کاهش می‌دهند؛ ضمن اینکه برخلاف نگهدارنده‌های شیمیایی، زیست‌تخریب‌پذیر و سازگار با محیط زیست بوده، منشأ پروتئینی، پلی‌ساکاریدی (صمغ و..) و لیپیدی داشته و تهدیدی برای سلامت مصرف‌کننده نیستند (۳۵). کیتوزان، ژلاتین، پروتئین‌های آبکافتی، کازئینات‌سدیم، آلژینات‌سدیم، پروتئین آب پنیر، پروتئین سویا و ... از جمله پوشش‌های طبیعی هستند که در ترکیب با اسانس‌های گیاهی ویژگی‌های ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها تشدید شده و می‌توانند سرعت فساد فراورده‌های شیلاتی را در تمامی شرایط نگهداری کاهش دهند. این فیلم‌های خوراکی، محلول در آب بوده و به حفظ ویژگی‌های کیفی محصول از جمله عطر، طعم، مزه، رنگ و ارزش غذایی (حفظ ویتامین‌ها و اسیدآمینه‌های ضروری بدن) کمک می‌کنند.

آلژینات پلی‌ساکارید استحصالی دیواره سلولی جلبک قهوه‌ای *phaeophyceae* است و به شکل نمک‌های آلژینات سدیم، پتاسیم و کلسیم در صنایع غذایی کاربرد دارند. آلژینات سدیم ترکیب صمغی چسبناک متشکل از واحدهای بتا-دی-مانورونیک‌اسید[1] و آلفا-ال-گلوکورونیک‌اسید[2] می‌باشد و به‌دلیل ویژگی‌های امولسیفایری، پایدارکنندگی، تغلیظ‌کنندگی، ژل‌سازی در حضور کاتیون‌های چندظرفیتی، کشسانی و تشکیل فیلم‌های خوراکی نگهدارنده در صنعت غذا کاربرد فراوان دارد (۳۰، ۳۸). قرار گرفتن فیلم آلژینات اطراف ماده غذایی موجب حفظ ظرفیت نگهداری آب و محافظت آن ماده در برابر فساد میکروبی و اکسیداسیونی می‌گردد (۶). پژوهش‌های متعدد داخلی و خارجی بر نتایج مثبت اثرات نگهداری این ماده تأکید داشته‌است (۱۶، ۳۳، ۳۸، ۴۳، ۳۴، ۸، ۲۳، ۳۷).

کازئینات‌سدیم، نمک سدیمی کازئین (پروتئین شیر گاو) و حاوی عناصر ضروری برای بدن است که به‌دلیل داشتن توانایی بالا در تشکیل پیوندهای هیدروژنی، قابلیت تشکیل فیلم‌های شفاف و انعطاف‌پذیر جهت نگهداری مواد غذایی را دارد (۵،

1. β-(1⟶4)-linked D-mannuronic acid
2. α-(1⟶4)-linked L-glucuronic acid

۴۴). کاربرد فیلم کازئینات سدیم در پوشش‌دهی آبزیان تا حد بسیار زیادی سرعت رشد باکتری‌ها و اکسیداسیون لیپیدها را کاهش می‌دهد (۴۴). نتایج تحقیقات طباطبایی و همکاران (۱۳۹۷) و برومند و همکاران (۱۳۹۲) نیز حاکی از اثر مفید پوشش کازئینات‌سدیم در مقابله با رشد میکروب‌ها است (۵، ۴۱).

ژلاتین پروتئین خوراکی است که از آبکافت کنترل‌شده کلاژن موجود در ساختار پوست، تاندون و استخوان حیواناتی مانند ماهی و گاو تولید می‌شود. این ماده ترد، جامد و شفاف، فیلم‌هایی با قابلیت کشسانی و مکانیکی مناسب و مقاوم به عبور اکسیژن و آب اطراف ماده غذایی ایجاد می‌کند. با ممانعت از ورود آب و اکسیژن به ماده غذایی، سرعت اکسیداسیون میوگلوبین و لیپید کند شده و لذا دوره ماندگاری افزایش می‌یابد (۱۲). پژوهش‌های زیادی در مورد استفاده از پوشش ژلاتین برای افزایش ماندگاری مواد غذایی در دمای یخچال انجام شده است (۳۹، ۲۰، ۱، ۱۰، ۴۰).

آویشن شیرازی یکی از گیاهان خانواده نعناع[1] و بومی ایران، افغانستان و پاکستان است. اسانس این گیاه دارای ترکیبات فنولی مانند کارواکرول[2]، اوژنول[3] و تیمول[4] می‌باشد. در تحقیقات متعدد ویژگی‌های نگهدارندگی (ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی) این اسانس ثابت شده است (۱۰، ۳۲، ۱۶، ۲، ۲۵). از این رو مدت زمان ماندگاری بسیاری از مواد غذایی را افزایش می‌دهد.

با توجه به مطالب بالا و انجام تحقیقات جداگانه در مورد ویژگی‌های ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی هر کدام از پوشش‌های مذکور در ترکیب با اسانس آویشن‌شیرازی، این تحقیق در صدد آن است که با مقایسه قدرت ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی سه نوع فیلم آلژینات‌سدیم- آویشن، کازئینات‌سدیم- آویشن و ژلاتین- آویشن، به روش و ترکیبی مناسب برای حفظ ویژگی‌های کیفی فیله میگو در شرایط غیرانجماد (دمای یخچال) و مدت محدود دست یابد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی میگو: میگوهای وانامی (*Litopenaeus vannamei*) با وزن تقریبی ۱۸ گرم از سایت گمیشان واقع در استان گلستان صید و در ظروف حاوی یخ پس از گذشت ۳ ساعت به آزمایشگاه منتقل و پس از سرزنی، پوست‌گیری و شستشو در شرایط مناسب ذخیره شدند.

آماده‌سازی محلول پوشش آلژینات‌سدیم - اسانس آویشن شیرازی: ۴ گرم پودر آلژینات سدیم (سیگما) به همراه ۰/۰۱ گرم کلرید کلسیم (سیگما) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و در دمای ۵۵ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد هم زده شد. سپس ۲ گرم گلیسرول (مرک) به‌عنوان پلاستی‌سایزر[5] به مخلوط اضافه و مجدداً این محلول در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد یکنواخت گردید. پس از سردشدن به میزان ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی (باریج اسانس، کاشان) به ترکیب حاصل اضافه و مجدداً عمل یکنواخت‌سازی به مدت ۱۵ دقیقه صورت گرفت (۲۸).

آماده‌سازی محلول پوشش کازئینات سدیم- اسانس آویشن شیرازی: به‌منظور تهیه این پوشش، مطابق روش فربا و همکاران (۲۰۰۸) عمل شد (۹). ۴ گرم پودر کازئینات سدیم (سیگما) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. این محلول پس از اضافه کردن ۲ گرم گلیسرول (مرک) ابتدا یک دقیقه با سرعت ۱۳۵۰۰ و سپس دو دقیقه با سرعت ۲۰۵۰۰ (دور در دقیقه)

1. Laminaceae
2. Carvacrol
3. Eugenol
4. Thymol
5. Plasticizer

هموژن شد. این محلول با قرارگرفتن در حمام آب به دمای ۸۵ درجه‌سانتی‌گراد رسید. بعد از سردشدن، ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی به آن اضافه و با ترکیب حاصل به مدت دو دقیقه با سرعت ۲۰۵۰۰ دور در دقیقه هموژن شد.

آماده‌سازی محلول پوشش ژلاتین- اسانس آویشن شیرازی: به‌منظور تهیه این فیلم، ۴ گرم ژلاتین حاصل از پوست ماهیان سردابی (سیگما) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر (در دمای اتاق) حل شد. سپس ۲ گرم گلیسرول به‌عنوان پلاستی سایزر به محلول حاصل اضافه و به‌منظور تورم و انحلال بهتر، یکبار به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد و سپس ۳۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. ترکیب حاصل پس از سردشدن با اضافه‌کردن ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی با همزن مغناطیسی یکنواخت شد (۱۴، ۲۰).

تیمارها: همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، در این تحقیق چهار تیمار مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. به‌منظور پوشش‌دهی فیله‌های میگو از روش غوطه‌وری استفاده شد. به این صورت که عضلات (فیله‌ها) دو بار به مدت ۳۰ ثانیه و با فاصله زمانی ۲ دقیقه در محلول‌های سازنده پوشش غوطه‌ور و سپس به یخچال (دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد) منتقل شدند. این تیمارها در فواصل زمانی صفر، ۳، ۶ و ۹ روز مورد بررسی شاخص‌های شیمیایی (pH، TBA، TVN-B، PV، FFA) و میکروبی (شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی و سرماگرا) قرار گرفتند.

جدول ۱- تیمارهای تحقیق

Table 1. Research treatments

تیمارها Treatments	شرح Description
تیمار ۱ Treatment 1	شاهد (فیله میگو) Control (shrimp fillet)
تیمار ۲ Treatment 2	فیله میگو با پوشش آلژینات سدیم (۴ درصد) حاوی ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی Shrimp fillet with sodium alginate (4%) coating containing 1.5% thyme essential oil
تیمار ۳ Treatment 3	فیله میگو با پوشش کازئینات سدیم (۴ درصد) حاوی ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی Shrimp fillet with sodium caseinate (4%) coating containing 1.5% thyme essential oil
تیمار ۴ Treatment 4	فیله میگو با پوشش ژلاتین (۴ درصد) حاوی ۱/۵ درصد اسانس آویشن شیرازی Shrimp fillet with gelatin (4%) coating containing 1.5% thyme essential oil

اندازه‌گیری شاخص‌های شیمیایی و میکروبی

عدد پراکسید[1] (PV): ۶۰ میلی‌لیتر کلروفرم و ۶۰ میلی‌لیتر متانول به دکانتور حاوی ۱۵ گرم فیله اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت با افزودن ۳۶ میلی‌لیتر آب مقطر به دکانتور اجازه داده شد تا سه فاز تشکیل شود. ۲۰ میلی‌لیتر از فاز زیرین به یک ارلن منتقل و با ۲۵ میلی‌لیتر کلروفرم و استیک‌اسید (با نسبت ۳ به ۲) ترکیب شد. در مرحله بعد ۰/۵ میلی‌لیتر یدور پتاسیم و ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ترکیب حاصل اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر معرف نشاسته ۱ درصد وارد ارلن و درب آن بسته شد. بعد از تکان‌دادن ارلن، ید آزادشده رنگ محلول را تغییر داد. در انتها محلول حاصل با تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تیتر و عدد پراکسید از رابطه ۱ بر حسب میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم چربی محاسبه شد (۷) که در آن V حجم تیوسولفات مصرفی، N نرمالیته و W وزن نمونه روغن است.

1. Proxide value

رابطه ۱. $PV=\frac{100VN}{W}$

تیوباربیتوریک‌اسید[1] (TBA): برای اندازه‌گیری این شاخص ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه به بالن ۲۵ میلی‌لیتر منتقل و سپس با ۱- بوتانول به حجم رسانده شد. ۵ میلی‌لیتر از محلول حاصل و ۵ میلی‌لیتر معرف TBA در یک فالکون ترکیب و سپس این فالکون‌ها به مدت ۲ ساعت در حمام آب ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در انتها میزان جذب این محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر (As) در مقابل شاهد آب (Ab) قرائت و با استفاده از رابطه ۲ تیوباربیتوریک‌اسید نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم مالون‌دی آلدهید در هر کیلوگرم از بافت نمونه محاسبه شد (۲۶).

رابطه ۲. $TBA=\frac{(As-Ab)\times 50}{200}$

بازهای ازته فرار[2] (TVB-N): برای اندازه‌گیری این شاخص، ۱۰ گرم نمونه، ۲ گرم اکسید منیزیم و ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به بالن دستگاه کلدال منتقل و عصاره آن به محلول اسیدبوریک ۲ درصد و ۱ قطره متیل رد اضافه شد. سپس محلول زرد رنگ حاصل تا ایجاد رنگ ارغوانی با اسیدسولفوریک تیتر و در انتها میزان بازهای ازته فرار بر حسب میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه از حاصل‌ضرب حجم اسیدسولفوریک مصرفی در عدد ۱۴ محاسبه شد (۳۱).

اسیدهای چرب آزاد[3] (FFA): جهت سنجش این شاخص، ۲ تا ۳ قطره معرف فنل‌فتالئین به یک ارلن حاوی ۲۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد اضافه شد. این محلول با افزودن ۱ تا ۲ قطره هیدروکسید سدیم خنثی شد و رنگ آن به پوست پیازی تغییر کرد. محلول حاصل به ارلن حاوی چربی که حاصل تبخیر حلال مابقی فاز پائینی دکانتور است، اضافه و روی هیتر قرار گرفت. پس از اولین جوش، محلول از هیتر جدا و ۲ تا ۳ قطره فنل‌فتالئین به آن افزوده و سپس با سود تیتر و اسیدهای چرب آزاد بر حسب درصد اولئیک‌اسید از رابطه ۳ محاسبه شد (۷). در این رابطه N، نرمالیته سود، V_2، میلی‌لیتر سود مصرفی برای هر نمونه، V_1، میلی‌لیتر سود مصرفی برای هر نمونه شاهد و W، گرم چربی است.

رابطه ۳. $FFA=\frac{N\times(V2-V1)\times 2.82}{W}$

سنجش pH : جهت سنجش pH، ۵ گرم نمونه با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت یک دقیقه مخلوط و میزان pH با دستگاه pH متر (WTW 7110) اندازه‌گیری شد(۳۶).

آنالیز میکروبی (باکتری‌های مزوفیل هوازی[4] و باکتری‌های سرماگرا[5]): به‌منظور شمارش تعداد باکتری‌های تیمارها در طول دوره نگهداری، در ابتدا ۱۰ گرم نمونه در شرایط کاملاً استریل در ۹۰ میلی‌لیتر کلرید سدیم ۰/۹ درصد هموژن شد. سپس از این محلول، رقت‌های متوالی تهیه و یک میلی‌لیتر از هر رقت برای کشت باکتری‌ها به روش پورپلیت[6] در محیط پلیت کانت آگار[7] (PCA) قرار گرفت. جهت شمارش باکتری‌های مزوفیل، این نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. این دما و زمان برای شمارش باکتری‌های سرماگرا به‌ترتیب ۱۰ درجه سانتی‌گراد و ۷ روز بود. بعد از اتمام انکوباسیون تعداد کلنی‌ها شمارش و به صورت Log_{10} CFU /g گزارش شدند (۳۶).

تجزیه و تحلیل آماری: این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا و به منظور آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS استفاده گردید. داده‌ها از طریق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه بررسی شده و معنی‌داری تفاوت بین

1. Thiobarbituric acid
2. Total volatile basic-nitrogen
3. Free Fatty Acids
4. Mesophilic bacteria counts
5. Psychrophilic bacteria counts
6. Pour plate
7. Plate Count Agar

میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

عدد پراکسید: عدد پراکسید شاخصی جهت سنجش اکسیداسیون لیپیدها و در واقع نشان‌دهنده غلظت محصولات اولیه اکسیداسیون چربی‌های چندغیراشباعی[1] (هیدروپراکسیدها) است. اگرچه پراکسیدها بدون عطر و طعم بوده و توسط مصرف‌کننده قابل تشخیص نیستند اما از آنجا که این ترکیبات سبب تولید محصولات ثانویه (آلدهیدها و کتون‌ها) و تندشدن اکسایشی می‌شوند، تعیین مقدار آن‌ها در مواد غذایی حائز اهمیت می‌باشد. نتایج شاخص پراکسید تیمارها (جدول ۲) نشان می‌دهد، در روز صفر اختلاف معنی‌داری بین تیمارها از نظر عدد پراکسید وجود ندارد (P>۰/۰۵). در روزهای سوم و ششم کمترین مقدار این شاخص در تیمار ۲ شامل استفاده از پوشش آلژینات سدیم- آویشن ثبت شد (P<۰/۰۵)، اما اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای ۳ و ۴ مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در روز آخر بین هر چهار تیمار از نظر میزان عدد پراکسید اختلاف معنی‌داری وجود داشت و کمترین این مقدار در تیمار ۲ تعیین شد (P<۰/۰۵). با توجه به نتایج شاخص مذکور می‌توان نتیجه گرفت که پوشش آلژینات‌سدیم-آویشن نسبت به دو پوشش دیگر قدرت بیشتری در ممانعت از اکسیداسیون اولیه فیله میگو دارد. در این تحقیق با افزایش روزهای نگهداری تیمارها در یخچال، شاخص پراکسید در تمامی تیمارها روند افزایشی داشت. بیشترین شیب سرعت این روند افزایشی هم مربوط به تیمار شاهد و کمترین آن مربوط به فیله پوششی با فیلم آلژینات‌سدیم- آویشن بود. ترکیب آلژینات‌سدیم- آویشن سد مناسبی برای برخورد با تولید هیدروپراکسیدها بود زیرا تا فاصله سه روز بعد از نگهداری فیله در دمای یخچال، افزیش این شاخص معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). یکی از علل افزایش عدد پراکسید با افزایش دوره نگهداری در یخچال، به فعالیت سودوموناس‌ها مرتبط است. این باکتری‌ها با تولید آنزیم‌های لیپاز و فسفولیپاز منجر به افزایش تولید اسیدهای چرب آزاد و رادیکال‌های آن می‌شوند و ترکیب این رادیکال‌ها با اکسیژن، هیدروپراکسید تولید می‌کند (۲۷). در مطالعه حمزه و رضایی (۱۳۹۴)، پوشش آلژینات‌سدیم غنی‌شده با آویشن شیرازی تا حد زیادی توانست عدد پراکسید را در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان کنترل کند؛ ضمن اینکه مشابه تحقیق حاضر روند افزایشی این شاخص در تیمارها (در طول زمان ذخیره) مشاهده شد (۱۶). در پژوهشی که از آلژینات‌سدیم برای نگهداری گوشت ماهی استفاده شد، میزان پراکسید نمونه تا حد زیادی کمتر از شاهد بود. اما بر خلاف تحقیق حاضر روند افزایشی مستمر در عدد پراکسید تیمار آلژینات‌سدیم ثبت نشد (۳۳). در پژوهش زرگر و همکاران (۱۳۹۱) عدد پراکسید فیله ماهی قزل‌آلا حاوی کازئینات‌سدیم نسبت به نمونه شاهد بسیار کمتر بود و با افزایش روزهای نگهداری روند افزایشی داشت (۴۴). با توجه به اینکه حد مجاز برای شاخص پراکسید، ۱۰ میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم لیپید است (۱۷)، می‌توان بیان نمود که در روز ۹ تیمار شاهد دیگر قابل استفاده نیست. اما در تیمارهای دارای پوشش چنین مشکلی وجود نداشت و تا آخرین روز مورد بررسی این شاخص از ۱۰ میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم لیپید عبور نکرد.

1. PUFA

جدول ۲- عدد پراکسید تیمارها (بر حسب میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم لیپید)

Table 2. Peroxide value of treatments (meq O_2/kg lipid)

تیمارها شامل نمونه شاهد (فیله میگو) و تیمارهای ۲ تا ۴ (فیله+ پوشش های مختلف) Treatments containing control (shrimp fillet, treatment 1) and different coatings (treatments 2-4)				روز Day
تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4	
1.34 ± 0.15^{Aa}	1.29 ± 0.36^{Aa}	1.35 ± 0.51^{Aa}	1.43 ± 0.1^{Aa}	0
4.97 ± 1.22^{Bc}	1.45 ± 0.88^{Aa}	2.76 ± 0.05^{Bb}	2.82 ± 0.19^{Bb}	3
7.98 ± 0.17^{Cc}	2.75 ± 0.21^{Ba}	5.11 ± 0.15^{Cb}	5.14 ± 0.66^{Cb}	6
12.25 ± 1.15^{Dd}	4.37 ± 0.14^{Ca}	6.32 ± 1.19^{Db}	8.66 ± 0.42^{Dc}	9

● حروف کوچک متفاوت در هر ردیف، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ردیف است (P<۰/۰۵).

• Values in the rows followed by different lowercase letters are significantly different (P<0.05).

● حروف بزرگ متفاوت در هر ستون، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ستون است (P<۰/۰۵).

• Values in the columns followed by different uppercase letters are significantly different (P<0.05).

تیوباربیتوریک‌اسید: عدد تیوباربیتوریک‌اسید نیز مانند عدد پراکسید شاخصی جهت سنجش اکسیداسیون لیپیدها است با این تفاوت که نشان‌دهنده محصولات ثانویه اکسیداسیون چربی‌ها می‌باشد. جدول ۳ میزان تیوباربیتوریک‌اسید تیمارها را نشان می‌دهد. مطابق جدول، در روز صفر اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نمی‌شود (P>۰/۰۵). در روز سوم، بین تیمار شاهد و تیمارهای ۲، ۳ و ۴ (P>۰/۰۵) از نظر شاخص تیوباربیتوریک‌اسید اختلاف معنی‌داری رویت شد (P<۰/۰۵) که این موضوع نشان از کارایی پوشش‌ها دارد. در روزهای ۶ و ۹ کمترین میزان شاخص مذکور در تیمار ۲ اندازه‌گیری شد (P<۰/۰۵). در روز ۶ بین تیمارهای ۳ و ۴ از نظر شاخص TBA اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (P>۰/۰۵) اما در روز ۹ این اختلاف قابل ملاحظه بود (P<۰/۰۵). همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، روند شاخص تیوباربیتوریک‌اسید در تمامی تیمارها افزایشی اما شیب آن متفاوت است. کمترین شیب افزایشی مربوط به تیمار آلژینات‌سدیم- آویشن بود؛ به‌گونه‌ای که در این تیمار بین روزهای صفر، ۳ و همچنین روزهای ۶ و ۹ افزایش شاخص مذکور معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). به‌طور کلی بررسی تغییرات تیوباربیتوریک‌اسید تیمارها نشان داد که پوشش آلژینات‌سدیم- آویشن نسبت به دو پوشش دیگر قدرت بیشتری در جلوگیری از فرایند اکسیداسیون چربی‌های فیله میگو دارد. همچنین پوشش کازئینات- آویشن نیز در رتبه دوم قرار گرفت و نسبت به پوشش ژلاتین- آویشن کارایی بالاتری به‌لحاظ شاخص مذکور داشت. در پژوهشی که از آلژینات‌سدیم حاوی آویشن برای نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده شد، کارایی بالای این پوشش در کنترل تیوباربیتوریک‌اسید فیله و همچنین روند افزایشی این شاخص با افزایش دوره نگهداری ثبت شد (۱۶). در مطالعه‌ای، شاخص تیوباربیتوریک‌اسید در فیله شترمرغ پوشیده‌شده با فیلم ژلاتین- آویشن نسبت به شاهد در طول دوره نگهداری کمتر و مانند تحقیق حاضر روند افزایشی شاخص مذکور (با افزایش زمان نگهداری) در تیمارها مشهود بود (۱۰). ضعیف‌تر بودن پوشش ژلاتین- آویشن نسبت به دو پوشش دیگر احتمالاً به‌دلیل کمتربودن ویژگی آنتی‌اکسیدانی ژلاتین نسبت به کازئینات‌سدیم و آلژینات‌سدیم است. در برخی از مطالعات نیز به فقدان یا مقادیر اندک ویژگی آنتی‌اکسیدانی در پوشش ژلاتین خالص اشاره شده است. لوپزکابالرو و همکاران (۲۰۰۵) کیک‌های حاوی گوشت ماهی کاد را به مدت ۱۵ روز در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد در پوشش ژلاتین نگهداری کردند

امـا کاهشـی در اکسیداسـیون مشـاهده نشـد (۲۰). همچنـین آنتونیوسـکی و همکـاران (۲۰۰۷) گـزارش کردند که پوشش ژلاتینی در کاهش اکسیداسیون لیپید در گوشت گاو، مرغ و ماهی سالمون کـه بـا سیسـتم اتمسفر اصلاح‌شـده بسـته‌بنـدی و در دمـای یخچـال ذخیره شده بودند، تـأثیر قابـل ملاحظـه و معنـی‌داری ندارد (۱). البته در برخی تحقیقات نیز وجود ویژگـی آنتی‌اکسیدانی در پوشش ژلاتین ثابت شد (۴۲).

جدول ۳- مقادیر تیوباربیتوریک‌اسید تیمارها (برحسب میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید در کیلوگرم فیله)

Table 3. Thiobarbituric acid values of treatments (mg MDA/kg fillet)

روز Day	تیمارها شامل نمونه شاهد (فیله میگو) و تیمارهای ۲ تا ۴ (فیله+ پوشش های مختلف) Treatments containing control (shrimp fillet, treatment 1) and different coatings (treatments 2-4)			
	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4
0	0.24 ± 0.04^{Aa}	0.22 ± 0.05^{Aa}	0.22 ± 0.08^{Aa}	0.24 ± 0.06^{Aa}
3	0.83 ± 0.06^{Bb}	0.31 ± 0.09^{Aa}	0.32 ± 0.17^{Aa}	0.36 ± 0.12^{Aa}
6	1.52 ± 0.01^{Cc}	0.62 ± 0.01^{Ba}	0.93 ± 0.19^{Bb}	0.95 ± 0.07^{Bb}
9	2.77 ± 0.21^{Dd}	0.71 ± 0.14^{Ba}	1.25 ± 0.09^{Cb}	1.86 ± 0.05^{Cc}

● حروف کوچک متفاوت در هر ردیف، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ردیف است (P<۰/۰۵).

• Values in the rows followed by different lowercase letters are significantly different (P<0.05).

● حروف بزرگ متفاوت در هر ستون، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ستون است (P<۰/۰۵).

• Values in the columns followed by different uppercase letters are significantly different (P<0.05).

اسـیدهای چـرب آزاد: اسـیدهای چـرب آزاد از هیـدرولیز گلیسـریدها، گلیکولیپیـدها و فسـفولیپیدها توسـط عوامـل میکروبـی و آنزیمـی (لیپازهـا و فسفولیپازها) ایجاد می‌شوند. این اسیدها ذاتاً از ارزش غذایی نمی‌کاهند اما به‌علت اثر پراکسیدانی آن‌هـا بـر لیپیدها و همچنین بـالابودن سـرعت اکسیداسـیون در مقایسه با مولکول‌های بزرگتر (تری‌آسیل گلیسـرول و فسفولیپید) به‌عنوان شاخص فساد مطرح هستند و لـذا بررسی آن‌ها ضروری می‌باشد (۲۱، ۲۲). در جدول ۴، میزان شاخص اسیدهای چرب تیمارها در طول مدت نگهـداری ارائـه شـده اسـت. همـانطور کـه مشـاهده می‌شود، در روز صفر بین تیمارها از نظر این شاخص اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (P>۰/۰۵). در روز ۳، تیمارهای دارای پوشش نسبت به شاهد مقادیر کمتری از شـاخص اسـیدهای چـرب آزاد نشـان دادنـد (P<۰/۰۵). در روزهای ۶ و ۹ بـین مقـادیر شـاخص مذکور در هر چهار تیمـار اخـتلاف قابـل ملاحظـه‌ای ثبت شد (P<۰/۰۵) و کمترین این مقادیر مربـوط بـه فیله پوشش‌دهی شده با فیلم آلژینات‌سـدیم- آویشـن (تیمار ۲) بود. نتیجه بررسی این شاخص نشان داد که قدرت پوشش آلژینات‌سدیم- آویشـن در ممانعـت از فعالیت‌هـای میکروبـی، آنزیمـی و اکسیداسـیون فیلـه میگو بیشتر از دو نوع پوشش دیگر است. ضمن اینکه ترکیب کازئینات‌سدیم- آویشن در این مـورد بهتـر از پوشـش ژلاتـین- آویشـن عمـل کـرد. در پـژوهش پاک‌ترمنی و همکاران (۱۳۹۵)، پوشش گوشت مـاهی با آلژینات‌سدیم منجر به کنترل و جلوگیری از افزایش اسیدهای چرب آزاد نسبت به شاهد شد (۳۳). ضـمن اینکه روند این شاخص مانند تحقیق حاضر در طـول دوره نگهـداری، افزایشـی بـود. در تحقیـق حمـزه و رضـایی (۱۳۹۴) میـزان اسـیدهای چـرب آزاد در فیله‌های دارای فیلم آلژینات‌سدیم- آویشن به‌صـورت معنی‌داری در طول دوره نسبت به شاهد کمتر و روند این شاخص نیز در تمامی تیمارها افزایشی بود (۱۶).

جدول ٤- مقادیر اسیدهای چرب آزاد در تیمارها (بر حسب درصد اولئیک‌اسید)

Table 4. Free fatty acids contents of treatments (% Oleic acid)

روز Day	تیمارها شامل نمونه شاهد (فیله میگو) و تیمارهای ۲ تا ۴ (فیله+ پوشش های مختلف) Treatments containing control (shrimp fillet, treatment 1) and different coatings (treatments 2-4)			
	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4
0	0.25 ± 0.12^{Aa}	0.22 ± 0.11^{Aa}	0.26 ± 0.15^{Aa}	0.28 ± 0.18^{Aa}
3	0.94 ± 0.22^{Bb}	0.26 ± 0.05^{Aa}	0.3 ± 0.04^{Aa}	0.32 ± 0.1^{Aa}
6	1.95 ± 0.53^{Cd}	0.61 ± 0.1^{Ba}	0.98 ± 0.06^{Bb}	1.44 ± 0.09^{Bc}
9	2.68 ± 0.42^{Dd}	0.65 ± 0.13^{Ba}	1.32 ± 0.11^{Cb}	1.93 ± 0.16^{Cc}

● حروف کوچک متفاوت در هر ردیف، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ردیف است (P<۰/۰۵).

• Values in the rows followed by different lowercase letters are significantly different (P<0.05).

● حروف بزرگ متفاوت در هر ستون، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ستون است (P<۰/۰۵).

• Values in the columns followed by different uppercase letters are significantly different (P<0.05).

بازهای ازته فرار: بازهای ازته فرار، میلی‌گرم ترکیبات فرار (آمونیاک، متیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین، تری‌متیل‌آمین و ...) در ۱۰۰ گرم فیله میگو هستند که به‌واسطه فعالیت‌های آنزیمی- میکروبی از شکستن ترکیباتی مانند تری‌متیل‌اکساید، پپتیدها و آمینواسیدها تولید و ویژگی‌های کیفی فراورده را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲۰). میزان بازهای ازته فرار در تیمارها (جدول ۵) نشان می‌دهد در روز صفر اختلاف معنی‌داری بین تیمارها ثبت نشده است (P>۰/۰۵). در روز سوم، تیمارهای ۲، ۳ و ۴ (P>۰/۰۵) مقادیر کمتری از شاخص بازهای ازته فرار را نسبت به شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵). در روزهای ۶ و ۹ بین هر چهار تیمار از نظر شاخص مذکور اختلاف قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد و کمترین این مقادیر مربوط به تیمار ۲ (آلژینات سدیم+ آویشن) بود. تیمارهای ۳، ۴ و شاهد به ترتیب در مراتب بعدی قرار گرفتند. مطابق جدول ۵ با افزایش زمان نگهداری، در تیمار کنترل بازهای ازته فرار به صورت معنی‌داری افزایش یافتند (P>۰/۰۵). در سه تیمار دیگر نیز روند این شاخص با افزایش دوره نگهداری، افزایشی بود اما در هر کدام از این تیمارها اختلاف معنی‌داری بین روزهای صفر و ۳ از نظر شاخص مذکور ثبت نشد (P>۰/۰۵) که این مورد به ویژگی‌های نگهدارندگی پوشش‌ها مرتبط است. در بین چهار تیمار، کمترین شیب افزایش بازهای ازته فرار نیز مربوط به تیمار ۲ بود. در تیمار شاهد میزان این شاخص در روز ۹ از حد مجاز (۲۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه) گذشت (۱۹، ۱۱) و دیگر قابل مصرف نبود. اما پوشش‌های استفاده‌شده مانع از افزایش بسیار زیاد این شاخص حتی در روز پایانی و عبور از حد مجاز شدند. با توجه به نتایج میزان بازهای ازته فرار می‌توان بیان کرد که ترکیب آلژینات‌سدیم و آویشن برای مهار تولید بازهای ازته فرار در بافت میگو نسبت به دو پوشش دیگر موثرتر است. ضمن اینکه قدرت پوشش کازئینات‌سدیم- آویشن نیز در این زمینه نسبت به پوشش ژلاتین- آویشن بیشتر می‌باشد. ضعیف‌بودن پوشش ژلاتین- آویشن نسبت به دو پوشش دیگر در مهار بازهای ازته فرار را می‌توان به ضعف پوشش ژلاتین در این ویژگی نسبت داد. ایو و همکاران (۲۰۰۲) طی مطالعه‌ای گزارش کردند که پوشش ژلاتینی تأثیری در کنترل بازهای ازته فرار ماهی تیلاپیا ندارد (۲۹).

جدول ۵- مقادیر بازهای ازته فرار در تیمارها (میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم فیله)

Table 5. Total volatile basic-nitrogen of treatments (mg N/100g fillet)

روز Day	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4
	تیمارها شامل نمونه شاهد (فیله میگو) و تیمارهای ۲ تا ۴ (فیله+ پوشش های مختلف) Treatments containing control (shrimp fillet, treatment 1) and different coatings (treatments 2-4)			
0	8.48 ± 0.71^{Aa}	8.77 ± 1.82^{Aa}	9.11 ± 0.96^{Aa}	9.26 ± 1.56^{Aa}
3	14.35 ± 1.02^{Bb}	9.47 ± 0.59^{Aa}	10.38 ± 1.05^{Aa}	10.14 ± 1.63^{Aa}
6	25.12 ± 1.37^{Cd}	12.64 ± 0.1^{Ba}	16.94 ± 1.19^{Bb}	19.39 ± 0.21^{Bc}
9	36.29 ± 1.93^{Dd}	16.56 ± 0.54^{Ca}	20.45 ± 0.89^{Cb}	25.45 ± 1.18^{Cc}

• حروف کوچک متفاوت در هر ردیف، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ردیف است (P<۰/۰۵).

• Values in the rows followed by different lowercase letters are significantly different (P<0.05).

• حروف بزرگ متفاوت در هر ستون، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ستون است (P<۰/۰۵).

• Values in the columns followed by different uppercase letters are significantly different (P<0.05).

pH: همانطور که در جدول ۶ مشاهده می‌شود، در روزهای صفر و ۳ بین مقادیر pH نمونه‌ها هیچ اختلاف قابل ملاحظه‌ای رویت نشد (P>۰/۰۵). در روز ۶ مقادیر pH تیمارهای ۲، ۳ و ۴ مشابه (P>۰/۰۵) و کمتر از شاهد بود (P<۰/۰۵). در آخرین روز مورد بررسی کمترین مقدار pH در تیمار ۲ ثبت شد (P<۰/۰۵)؛ در حالیکه بین تیمارهای ۳ و ۴ اختلاف قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد (P>۰/۰۵). همانطور که در این جدول مشاهده می‌شود با وجود روند افزایشی pH در هر ۴ تیمار بین برخی از روزها این روند افزایشی معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). روند افزایشی pH فیله میگو با افزایش زمان نگهداری نتیجه افزایش فعالیت باکتری‌های اتولیتیک و پروتئولیتیک و فساد میکروبی- آنزیمی توسط آن‌ها است که منجر به تولید ترکیبات افزایش‌دهنده pH مانند آمونیوم، آمونیاک و تری‌متیل‌آمین می‌شوند (۱۹). در تیمار شاهد میزان pH در روز پایانی به سمت مقادیر بازی میل کرده است که این موضوع می‌تواند ویژگی‌های حسی میگو را تحت تأثیر قرار دهد. اما پوشش‌های استفاده‌شده در این تحقیق و در رأس آن‌ها پوشش آلژینات‌سدیم- آویشن، توانستند تا حد زیادی pH را کنترل و در محدوده مناسب حفظ نمایند. این مورد بیشتر به ویژگی‌های ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی پوشش‌ها مربوط می‌شود. ویژگی‌های مذکور در پوشش آلژینات‌سدیم- آویشن به حدی بالا بود که در طول دوره نگهداری، pH فیله‌ها تقریباً ثابت (P>۰/۰۵) ماند.

جدول ٦- تغییرات pH در تیمارهای پوششی فیله میگو

Table 6. pH changes in different coating treatments of shrimp fillet

روز Day	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4
	تیمارها شامل نمونه شاهد (فیله میگو) و تیمارهای ۲ تا ۴ (فیله+ پوشش های مختلف) Treatments containing control (shrimp fillet, treatment 1) and different coatings (treatments 2-4)			
0	6.22 ± 0.04^{Aa}	6.24 ± 0.08^{Aa}	6.26 ± 0.13^{Aa}	6.24 ± 0.11^{Aa}
3	6.25 ± 0.05^{Aa}	6.25 ± 0.19^{Aa}	6.29 ± 0.16^{Aa}	6.24 ± 0.02^{Aa}
6	7.26 ± 0.07^{Bb}	6.35 ± 0.01^{Aa}	6.37 ± 0.02^{Aa}	6.33 ± 0.06^{Aa}
9	7.97 ± 0.12^{Cc}	6.41 ± 0.03^{Aa}	7.23 ± 0.09^{Bb}	7.3 ± 0.18^{Bb}

• حروف کوچک متفاوت در هر ردیف، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ردیف است (P<۰/۰۵).

• Values in the rows followed by different lowercase letters are significantly different (P<0.05).

• حروف بزرگ متفاوت در هر ستون، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ستون است (P<۰/۰۵).

• Values in the columns followed by different uppercase letters are significantly different (P<0.05).

باکتری‌های سرمادوست: جدول ۷ تعداد باکتری‌های سرماگرا را در تیمارها نشان می‌دهد. مطابق این جدول در روز صفر بین تعداد باکتری‌های سرماگرای تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). در روز ۳ تیمارهای دارای پوشش (P>۰/۰۵) نسبت به شاهد به صورت معنی‌داری دارای مقادیر کمتری از باکتری‌های مذکور بودند (P<۰/۰۵) که این موضوع نشان از کارایی سه نوع پوشش در مقابله با رشد و تکثیر باکتری‌ها دارد. در روزهای ۶ و ۹ کمترین تعداد باکتری‌ها مربوط به تیمار ۲ (پوشش آلژینات‌سدیم – آویشن) بود (P<۰/۰۵). این امر نشان می‌دهد که قدرت پوشش مذکور برای مقابله با رشد باکتریایی فیله میگو به صورت معنی‌داری از سایر پوشش‌های مورد بررسی در این مطالعه بیشتر است. همانطور که در جدول ۶ مشاهده می‌شود در روزهای ۶ و ۹ تعداد باکتری‌ها در تیمار ۳ به صورت معنی‌داری از تیمار ۴ کمتر است (P<۰/۰۵) که این امر نشان‌دهنده قدرت بیشتر پوشش کازئینات‌سدیم- آویشن نسبت به پوشش ژلاتین- آویشن برای ممانعت از رشد باکتری‌های سرماگرا در فیله میگو می‌باشد. مطابق جدول ۷، بار باکتری‌های سرماگرا با افزایش زمان نگهداری در یخچال در همه تیمارها یک روند افزایشی داشته است اما میزان شیب افزایش آن‌ها در تیمارها متفاوت است. کمترین شیب رشد در تیمار ۲ و بیشترین شیب تکثیر در تیمار شاهد رویت شد. نتایج مطالعه تقی‌زاده و رضایی (۱۳۹۱) پیرامون پوشش فیله قزل‌آلا با فیلم ژلاتینی نشان داد که پوشش ژلاتینی به تنهایی فاقد ویژگی ضدمیکروبی است و تأثیری در حفظ ویژگی‌های حسی فیله ماهی در دمای یخچال ندارد؛ اما تأثیر ژلاتین در ممانعت از اکسیداسیون فیله محسوس است (۴۰). همچنین تحقیق گومزاستاکا و همکاران (۲۰۱۰) نیز نشان داد که پوشش ژلاتین خالص ضدباکتریایی نیست (۱۴). با توجه به نتایج دو مطالعه مذکور و ضعیف‌بودن ویژگی ضدباکتریایی پوشش ژلاتین- آویشن در تحقیق حاضر نسبت به دو پوشش دیگر می‌توان ادعا کرد که اثر پایین نگهدارندگی پوشش ژلاتین خالص صرفاً مربوط به ایجاد سدی در برابر عبور آب، اکسیژن و میکروب است.

جدول ۷- شمارش باکتری‌های سرماگرا در تیمارها (Log_{10} CFU /g)

Table 7. The average counts of psychrophilic bacteria in different treatments (Log_{10} CFU /g)

روز Day	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4
	تیمارها شامل نمونه شاهد (فیله میگو) و تیمارهای ۲ تا ۴ (فیله+ پوشش های مختلف) Treatments containing control (shrimp fillet, treatment 1) and different coatings (treatments 2-4)			
0	2.34 ± 0.02^{Aa}	2.28 ± 0.03^{Aa}	2.32 ± 0.08^{Aa}	2.36 ± 0.1^{Aa}
3	4.36 ± 0.12^{Bb}	2.89 ± 0.01^{Ba}	2.91 ± 0.07^{Ba}	2.92 ± 0.04^{Ba}
6	5.53 ± 0.26^{Cd}	3.25 ± 0.04^{Ca}	4.1 ± 0.1^{Cb}	4.75 ± 0.05^{Cc}
9	6.33 ± 0.11^{Dd}	3.98 ± 0.05^{Da}	4.88 ± 0.16^{Db}	5.41 ± 0.12^{Dc}

• حروف کوچک متفاوت در هر ردیف، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ردیف است (P<۰/۰۵).

• Values in the rows followed by different lowercase letters are significantly different (P<0.05).

• حروف بزرگ متفاوت در هر ستون، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ستون است (P<۰/۰۵).

• Values in the columns followed by different uppercase letters are significantly different (P<0.05).

باکتری‌های مزوفیل هوازی: جدول ۸ شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی را در تیمارها نشان می‌دهد. بنابر اطلاعات این جدول، در روزهای صفر و ۳ تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی در تیمارهای ۲، ۳

و ۴ (P>۰/۰۵) با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). در روزهای ۶ و ۹ کمترین میزان شمارش باکتری‌ها برای تیمار ۲ ثبت شد (P<۰/۰۵). ضمن اینکه در این دو روز نتایج شمارش باکتری‌ها در تیمارهای ۳ و ۴ اختلاف قابل ملاحظه‌ای ارائه کرد و این تعداد در تیمار ۳ کمتر از تیمار ۴ بود (P<۰/۰۵). نتایج شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی (مانند شمارش باکتری‌های سرمادوست) نشان داد که از بین سه پوشش، کارایی پوشش آلژینات‌سدیم- آویشن در کندکردن سرعت رشد و تکثیر باکتری‌های مزوفیل هوازی فیله میگو بیشتر از پوشش‌های کازئینات‌سدیم- آویشن و ژلاتین- آویشن است. در ادامه می‌توان بیان کرد که این قدرت در پوشش کازئینات‌سدیم- آویشن نسبت به پوشش ژلاتین- آویشن نیز بیشتر می‌باشد. در مورد باکتری‌های مزوفیل هوازی نیز مانند باکتری‌های سرماگرا با افزایش زمان نگهداری، روند رشد و تکثیر در همه تیمارها افزایشی بود. میزان بار باکتری‌های مزوفیل هوازی در تیمار شاهد در روز آخر از حد مجاز (۷ Log_{10} CFU /g) عبور کرده (۱۸) و برای مصرف انسانی توصیه نمی‌شود. اما ویژگی‌های ضدباکتریایی پوشش‌های خوراکی مانع از بروز این مورد در کل دوره نگهداری شد.

جدول ۸- شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی در تیمارها (Log_{10} CFU /g)

Table 8. The average count of mesophilic bacteria in different treatments (Log_{10} CFU /g)

روز Day	تیمار ۱ Treatment 1	تیمار ۲ Treatment 2	تیمار ۳ Treatment 3	تیمار ۴ Treatment 4
	تیمارها شامل نمونه شاهد (فیله میگو) و تیمارهای ۲ تا ۴ (فیله+ پوشش های مختلف) Treatments containing control (shrimp fillet, treatment 1) and different coatings (treatments 2-4)			
0	2.76 ± 0.01^{Ab}	2.1 ± 0.02^{Aa}	2.14 ± 0.05^{Aa}	2.16 ± 0.01^{Aa}
3	4.11 ± 0.05^{Bb}	2.84 ± 0.09^{Ba}	2.88 ± 0.06^{Ba}	2.89 ± 0.11^{Ba}
6	6.98 ± 0.18^{Cd}	3.32 ± 0.01^{Ca}	4.81 ± 0.08^{Cb}	5.42 ± 0.03^{Cc}
9	7.67 ± 0.01^{Dd}	4.25 ± 0.04^{Da}	6.11 ± 0.15^{Db}	6.87 ± 0.07^{Dc}

- حروف کوچک متفاوت در هر ردیف، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ردیف است (P<۰/۰۵).
- Values in the rows followed by different lowercase letters are significantly different (P<0.05).
- حروف بزرگ متفاوت در هر ستون، نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌های آن ستون است (P<۰/۰۵).
- Values in the columns followed by different uppercase letters are significantly different (P<0.05).

نتیجه‌گیری

در مورد فیله میگو که در دمای یخچال بسیار مستعد فساد است، استفاده از سه نوع پوشش خوراکی آلژینات‌سدیم ۴ درصد- آویشن ۱/۵ درصد، کازئینات‌سدیم ۴ درصد- آویشن ۱/۵ درصد و ژلاتین ۴ درصد- آویشن ۱/۵ درصد در بازه زمانی کوتاه (کمتر از ۱۰ روز) تا حد بسیار زیادی می‌تواند ویژگی‌های کیفی محصول را حفظ و به ماندگاری آن کمک موثری نماید. در این تحقیق ثابت شد قدرت پوشش آلژینات‌سدیم ۴ درصد- آویشن ۱/۵ درصد نسبت به دو پوشش دیگر برای ممانعت از اکسیداسیون و رشد باکتری‌های فیله میگو بیشتر است. همچنین این توانایی در پوشش کازئینات‌سدیم ۴ درصد- آویشن ۱/۵ درصد نسبت به پوشش ژلاتین ۴ درصد- آویشن ۱/۵ درصد در سطح بالاتری قرار دارد.

منابع

1. Antoniewski, M.N., Barringer, S.A., Knipe, C.L., and Zerby, H.N. 2007. Effect of a gelatin coating on the shelf life of fresh meat. J. of Food Science. 72: 6. 382-387.
2. Abdollahzadeh, E., Rezaei, M., Hosseini, H., and Safari, R. 2012. Effects of nisin and thyme essential oil, individually and in combination, on inoculated populations of *Listeria monocytogenes* in minced silver carp. Iranian J. of Nutrition Sciences & Food Technology. 6: 4.1-17
3. Bhobe, A.M., and Pai, J.S. 1986. Study of the properties of frozen shrimps. J. of Food Science and Technology. 23: 3. 143-147.
4. Boonsumrej, S., Chaiwanichsiri, S., Tantratian, S., Suzuki, T., & Takai, R. 2007. Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing. J. of Food Engineering. 80: 1. 292-299.
5. Boroumand, A., Hamedi, M., Emamjome, Z., and Razavi, S. 2013. Investigation on the antimicrobial effect of caseinate edible film containing the essential oil of *Zataria multiflora*. J. of Food Science and Technology. 41: 10. 13-21
6. Cho, S.S. (Ed.). 2001. Handbook of dietary fiber (Vol. 113). CRC Press.
7. Egan, H., & Sawyer, R.1997. Pearson's chemical Analysis of food. 9th. Edition, Edinburgh, Scotland, Churchill. Livingstone, UK. 609-634.
8. Fujiki, K., Matsuyama, H., and Yano, T. 1994. Protective effect of sodium alginates against bacterial infection in common carp, *Cyprinus carpio* L. J. of Fish diseases, 17: 4. 349-355.
9. Fabra, M.J., Talens, P., and Chiralt, A. 2008. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid–beeswax mixtures. J. of Food Engineering. 85: 3. 393-400.
10. Fazlara, A., Pourmahdi, M., and Molaei, F. 2017. The effect of gelatin-Avishan Shirazi (*Zataria multiflora Bioss*) coating on microbial, chemical and sensorial characteristics of ostrich fillets in refrigerated condition. J. of Food Science and Technology. 67: 14. 141-155. (in Persian)
11. Gimenez, B., Roncales, P., and Beltran, J.A. 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. J. of the Science of Food and Agriculture. 82: 10. 1154-1159.
12. 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: 2. 511-520.
13. Gonçalves, A.A., and Ribeiro, J.L.D. 2008. Optimization of the freezing process of red shrimp (*Pleoticus muelleri*) previously treated with phosphates. International J. of refrigeration. 31: 7.1134-1144.
14. Gómez-Estaca, J., De Lacey, A.L., López-Caballero, M.E., Gómez-Guillén, M.C., and Montero, P. 2010. Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. Food microbiology. 27: 7. 889-896.
15. Hui, Y.H., Legarretta, I.G., Lim, M.H., Murrell, K.D., and Nip, W.K. (Eds.). 2004. Handbook of frozen foods (Vol. 133). CRC Press.
16. Hamzeh, A., and Rezaei, M. 2016. Sodium alginate with added thyme essential oil as a new method coating for rainbow trout fillet. Iranian J. of Nutrition sciences & Food Technology. 46: 12. 229-241. (in Persian)
17. Jeon, Y.J., Kamil, J.Y., and Shahidi, F. 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. J. of Agricultural and Food Chemistry. 50: 18. 5167-5178.
18. Koutsoumanis, K., Lampropoulou, K., and Nychas, G.J.E. 1999. Biogenic amines and sensory changes associated with the microbial flora of Mediterranean gilt-head sea bream (*Sparus aurata*) stored aerobically at 0,

8, and 15 C. J. of Food Protection. 62: 4. 398-402.
19. 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: 4. 868-873.
20. Lopez-Caballero, M.E., Gomez-Guillen, M.C., Pérez-Mateos, M., and Montero, P. 2005. A chitosan–gelatin blend as a coating for fish patties. Food Hydrocolloids. 19: 2. 303-311.
21. Losada, V., Barros-Velázquez, J., and Aubourg, S. P. 2007. Rancidity development in frozen pelagic fish: Influence of slurry ice as preliminary chilling treatment. LWT-Food Science and Technology. 40: 6. 991-999.
22. Lugasi, A., Losada, V., Hóvári, J., Lebovics, V., Jakoczi, I., and Aubourg, S. 2007. Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. LWT-Food Science and Technology. 40: 5. 930-936.
23. Motomura, H., and Nozaki, Y. 2001. Effect of sodium alginate on change in the state of water and protein denaturation accompanied with dehydration of fish myofibrils. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries (Japan).
24. Musavi nasab, S., Musavi nasab, M., Mesbahi, Gh., Jamalian, J., and Maghsoudlou, Y. 2013. Ice-glazing of frozen shrimp using chitosan hydrocolloid for improving its qualitative properties. J. of Food Processing and Preservation. 5: 2. 1-17. (in Persian)
25. Mohammadpour, G. H., Majd, A., Najhadsatari, T., Mehrabian, S., and Hossinzadehkalagar, A. 2011. Antibacterial and antifungal effects of three genus of thyme plants and two ecotype of *ziziphora* and *Satureja bachtiarica* essential oils.
26. Namulema, A., Muyonga, J.H., and Kaaya, A.N. 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at− 13 and− 27°C. Food Research International. 32: 2. 151-156.
27. Nirmal, N.P., and Benjakul, S. 2011. Retardation of quality changes of Pacific white shrimp by green tea extract treatment and modified atmosphere packaging during refrigerated storage. International J. of Food Microbiology. 149: 3. 247-253.
28. Norajit, K., and Ryu, G.H. 2011. Preparation and properties of antibacterial alginate films incorporating extruded white ginseng extract. J. of Food Processing and Preservation. 35: 4. 387-393.
29. Ou, C.Y., Tsay, S.F., Lai, C.H., and Weng, Y.M. 2002. Using gelatin-based antimicrobial edible coating to prolong shelf-life of tilapia fillets. J. of Food Quality. 25: 3. 213-222.
30. Oussalah, M., Caillet, S., Salmieri, S., Saucier, L., and Lacroix, M. 2006. Antimicrobial effects of alginate-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. J. of Food Protection. 69: 10. 2364-2369.
31. Parvaneh, V. 1998. Quality control and the chemical analysis of food. Tehran University Press, 325P.
32. Petrou, S., Tsiraki, M., Giatrakou, V., and Savvaidis, I.N. 2012. Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat. International J. of Food Microbiology. 156: 3. 264-271.
33. Paktarmani, M., Ehsani, A., and Qajarbeygi, P. 2017. Investigating - increase the shelf life of fish with edible alginate sodium-based film containing α-tocopherol. J. of Food Science and Technology. 61: 13. 17-24. (in Persian)
34. Rockower, R.K., Deng, J.C., Otwell, W.S., and Cornell, J.A. 1983. Effect of soy flour, soy protein concentrate and sodium alginate on the textural attributes of minced fish patties. J. of Food Science. 48: 4. 1048-1052.
35. Ryu, S.Y., Rhim, J.W., Roh, H.J., and Kim, S.S. 2002. Preparation and physical properties of zein-coated high-amylose corn starch film. LWT-Food Science and Technology. 35: 8. 680-686.

36. Sallam, K.I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. Food Control. 18: 5. 566-575.
37. Song, Y., Liu, L., Shen, H., You, J., and Luo, Y. 2011. Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). Food Control. 22: 3-4. 608-615.
38. Seifzadeh, M., and Motallebi, A. 2012. Effect of sodium alginate edible coat on bacterial, chemical and sensory quality of freezing Kilka coated. J. of Food Science and Technology. 35: 9. 1-15. (in Persian)
39. Saki, J., Khodanazari, A., and Hosseini, M. 2017. The effect of chitosan gelatin composition and bi-layer coating and film on physicochemical, microbial and sensory properties of *Johnius belangerii* stored refrigerator. J. of Research and Innovation in Food Science and Technology. 6: 1. 71-86. (in Persian)
40. Taghizadeh Andevari, G., and Rezaei, M. 2012. Effect of gelatin coatings onchemical, microbial and sensory properties of refrigerated rainbow trout fillet (*Oncorhynchus* mykiss). J. of Food Science and Technology. 37: 9. 67-76. (In Persian)
41. Tabatabai, H., Mostaqim, T., and Rahman, M. 2018. Increasing shelf life of Rainbow trout fillet coated with sodium caseinate film with tea seed extract. J. of Innovation in Food Science and Technology. 11: 2.16-28. (in Persian)
42. Villegas, R., O'connor, T. P., Kerry, J.P., and Buckley, D.J. 1999. Effect of gelatin dip on the oxidative and colour stability of cooked ham and bacon pieces during frozen storage. International J. of Food Science & Technology. 34: 4. 385-389.
43. Zeng, Q.Z., and Qingling, X. 1997. Study on preservation techniques of fish, Scallop of edible coating. J. Dalian Fish. 2: 2. 37-42.
44. Zargar, M., Yeganeh, S., Razavi, S., and Ojagh, M. 2014. Effects of sodium caseinate edible coating on quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during storage in refrigerator temperature. J. of Food Science and Technology. 44: 11. 71-81. (In Persian)

EJFPP, Vol. 13 (1): 15-30
http://ejfpp.gau.ac.ir

Comparison of the effect of sodium alginate, sodium caseinate and gelatin coatings in combination with thyme essential oil on shrimp shelf life

S. Reyhani Poul*, A. Alishahi
Department of Processing of Fishery Products, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
Received: 2019/08/28; Accepted: 2019/12/01

Abstract

Background and objectives: The most important way to keep shrimp is freezing. However, this technique may change the quality of the product at the end of the period, depending on the method of freezing, temperature fluctuations, freezing rate and defrost. On the other hand, some consumers tend to consume non-frozen shrimp (refrigerator temperature). In addition, the use of chemical preservatives raises concerns for consumers. Therefore, it is necessary to study the use of preservatives that are both natural and able to maintain shrimp quality in a short period under non-freezing conditions. The present study was carried out to evaluate and compare the performance of three coating of sodium caseinate- thyme, sodium alginate- thyme and gelatin-thyme in preserving the qualitative properties (chemical and microbial) of shrimp fillets (*Litopenaeus vannamei*) stored at refrigerator temperature (4±1ºC).

Materials and methods: Fresh shrimp fillets from Gomishan (Golestan Province) were transferred to the laboratory after 3 hours of harvest in ice containers and stored under appropriate conditions after cutting, peeling, and washing. After the preparation of the coating solutions, shrimp fillets were coated with immersion method and stored at refrigerator temperature in the form of four treatments of 1 (fillet, control), 2 (fillet + sodium alginate 4% - thyme 1.5%), 3 (fillet + sodium caseinate 4% - thyme 1.5%) and 4 (fillet + gelatin 4% -thyme 1.5%). In order to study the qualitative properties of shrimp fillets and to compare the antioxidant and antibacterial power of coatings, PV, TBA, TVN-B, FFA, pH, aerobic mesophilic and psychrophilic bacteria were measured at 0, 3, 6 and 9 days.

Results: The use of these three types of coatings can maintain the quality of the fish fillets until the end of preservation at the refrigeration temperature. However, in general and especially in the final days, the fillet coated with sodium alginate-thyme showed significantly lower values in all the chemical and microbial indices than the other coatings ($P<0.05$). In addition, the results indicated that the antioxidant and antibacterial power of sodium caseinate- thyme coating was significantly higher than gelatin- thyme coating, especially in the final days ($P<0.05$). It should be noted that although the control sample was at standard level in terms of qualitative indices in days 0 and 3, but most of chemical and microbial indices of this treatment exceeded the allowed limit at the end of storage time.

Conclusion: According to the results, all three types of coatings used in the study were able to maintain the chemical and microbial properties of the fillets at the standard level until the end of the storage time. However, the combination of sodium alginate and thyme is more effective than caseinate-thyme and gelatin-thyme coatings (less than 10 days at refrigerator temperature) in maintaining the quality of shrimp fillets

Keywords: Shrimp, Sodium alginate, Sodium caseinate, Gelatin, Shirazi thyme

*Corresponding author: soheylreyhani@gmail.com