

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ





دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گیلان

دانشکده شیلات و محیط زیست

پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد (M.Sc.) در رشته فرآوری محصولات شیلاتی

**اثر پوشش کیتوزان بر کیفیت و ماندگاری ماهی قزل آلائی رنگین کمان  
(*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) در زمان نگهداری  
در یخچال ( $5 \pm 1^\circ\text{C}$ )**

پژوهش و نگارش

وحید چمن آرا

استاد راهنما

دکتر بهاره شعبان پور

اساتید مشاور

مهندس سعید گرگین

دکتر مرتضی خمیری

۱۳۹۰



## تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت های علمی - پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می شود، بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به موارد ذیل متعهد می شوند:

۱) قبل از چاپ پایان نامه (رساله) خود، مراتب را قبلاً بطور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.

۲) در انتشار نتایج پایان نامه (رساله) در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.

۳) انتشار نتایج پایان نامه (رساله) باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب وحید چمن آرا دانشجوی رشته مهندسی شیلات مقطع کارشناسی ارشد تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می شوم



تقدیم به

پدر و مادرم

به پاس محبت‌های بی‌دریغشان





تقدیر و تشکر

## چکیده

در مطالعه حاضر، اثر پوشش کیتوزانی بر کیفیت و ماندگاری ماهی قزل آلی رنگین کمان پروانه‌ای شکل در مدت ۱۵ روز نگهداری در یخچال ( $5 \pm 1^\circ\text{C}$ ) ارزیابی گردید. بدین منظور ابتدا ترکیبات اسانس آویشن شیرازی با استفاده از دستگاه GC/MS تعیین گردید؛ نتایج این آنالیز نشان داد کارواکرول با ۲۱/۸۹ درصد، دارای بیشترین فراوانی بود. همچنین میزان ترکیبات فنلی موجود در محلول‌های پوششی تعیین گردید؛ میزان ترکیبات فنلی در محلول ۲ درصد کیتوزان و محلول ۲ درصد کیتوزان حاوی ۱ درصد اسانس آویشن به ترتیب برابر صفر و ۹۹۲/۴۲ میکروگرم اسیدگالیک در هر میلی‌لیتر محلول پوششی بود. در ادامه تحقیق اثر پوشش کیتوزانی و پوشش کیتوزان-اسانس آویشن بر کیفیت و ماندگاری نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. آنالیزهای میکروبی (تعداد باکتریهای سرمادوست)، فیزیوشیمیایی (pH، بازهای ازته فرار، تیوباربتوریک اسید، ظرفیت نگهداری آب)، ارزیابی ویژگی‌های بافتی (سختی، چسبندگی، انسجام، قابلیت جویدن، الاستیسیته) و ارزیابی طعم نمونه‌ها در فواصل زمانی هر سه روز یکبار انجام شد. به طور کلی نتایج آنالیز میکروبی، فیزیوشیمیایی، بافتی و طعم نمونه‌ها نشان داد مقادیر بار باکتریهای سرمادوست، pH، بازهای ازته فرار و تیوباربتوریک اسید در نمونه‌های پوشش داده شده با کیتوزان و به ویژه تیمار پوششی حاوی اسانس آویشن، پایتتر بود ( $P < 0.01$ ). نتایج پروفیل آنالیز بافت نشان داد بین تیمارها از نظر فاکتورهای مورد مطالعه، اختلاف آماری قابل ذکری وجود نداشت ( $P < 0.01$ ). همچنین نمونه‌های پوشش داده شده، از نظر طعم نیز پس از ۱۵ روز نگهداری در یخچال در وضعیت مطلوبتری قرار داشتند ( $P < 0.05$ ). بنابراین افزودن اسانس آویشن شیرازی به کیتوزان به عنوان یک پوشش خوراکی موجب بهبود عملکرد این پوشش برای نگهداری ماهی قزل آلی رنگین کمان در یخچال شد.

**کلمات کلیدی:** کیتوزان، پوشش دهی، آویشن شیرازی، اسانس، قزل آلی رنگین کمان، GC/MS

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

.....	۱- مقدمه و کلیات
.....	۱-۱- مقدمه
.....	۲-۱- کلیات
.....	۳-۱- جایگاه کیتوزان به عنوان یک افزودنی خوراکی
.....	۴-۱- معرفی گونه ماهی
.....	۱-۴-۱- ویژگیهای زیستی و کیفی ماهی قزل آلابی رنگین کمان
.....	۱-۴-۱-۱- خصوصیات عمومی و زیستگاه
.....	۱-۴-۱-۲- خصوصیات ریخت شناسی
.....	۵-۱- فرضیات
.....	۶-۱- اهداف
.....	۲- مروری بر مطالعات انجام شده
.....	۱-۲- تحقیقات خارج از کشور
.....	۱-۱-۲- خاصیت ضد میکروبی کیتوزان
.....	۲-۱-۲- خواص آنتی اکسیدانی کیتوزان
.....	۲-۲- تحقیقات داخل کشور
.....	۳- مواد و روش ها
.....	۱-۳- مواد و وسایل مورد نیاز
.....	۲-۳- مراحل انجام پژوهش
.....	۱-۲-۳- تهیه اسانس آویشن شیرازی و شناسایی ترکیبات شیمیایی آن
.....	۲-۲-۳- آماده سازی ماهی و تیمارهای مورد نیاز
.....	۱-۲-۲-۳- آماده سازی ماهی
.....	۲-۲-۲-۳- تهیه محلول کیتوزان
.....	۳-۲-۳- ایجاد پوشش بر روی ماهی

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

.....	۳-۳- آزمایش های شیمیایی
.....	۳-۳-۱- آنالیز ترکیب تقریبی نمونه
.....	۳-۳-۲- اندازه گیری مقدار کل ترکیبات فنلی محلول های پوششی
.....	۳-۳-۳- اندازه گیری pH
.....	۳-۳-۴- اندازه گیری بازهای از ته فرار (TVB-N)
.....	۳-۳-۵- اندازه گیری ۲- تیوباربتوریک اسید (TBARS)
.....	۳-۳-۶- شمارش کلی باکتریهای سرمادوست
.....	۳-۳-۷- اندازه گیری ظرفیت نگهداری آب
.....	۳-۳-۸- آنالیز پروفیل بافت (TPA)
.....	۳-۳-۹- ارزیابی طعم
.....	۳-۴- روش آماری و تجزیه و تحلیل داده ها
.....	۴- نتایج
.....	۴-۱- ترکیبات تشکیل دهنده اسانس آویشن
.....	۴-۲- مقادیر فنول کل
.....	۴-۳- مقادیر pH بافت ماهی
.....	۴-۴- مقادیر بازهای از ته فرار در بافت ماهی
.....	۴-۵- مقادیر تیوباربتوریک اسید
.....	۴-۶- تعداد باکتری های سرمادوست
.....	۴-۷- مقادیر ظرفیت نگهداری آب
.....	۴-۸- ویژگی های بافتی نمونه های ماهی (TPA)
.....	۴-۸-۱- سختی
.....	۴-۸-۲- چسبندگی
.....	۴-۸-۳- انسجام

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

.....	۴-۸-۴- قابلیت جویدن
.....	۵-۸-۴- الاستیسیته
.....	۹-۴- ارزیابی طعم
.....	۵- بحث
.....	۱-۵- ترکیبات اسانس آویشن
.....	۲-۵- آنالیز ترکیب تقریبی
.....	۳-۵- فنول کل
.....	۴-۵- pH بافت ماهی
.....	۵-۵- ترکیبات ازته فرار (TVB-N)
.....	۶-۵- تیوباریتوریک اسید (TBARS)
.....	۷-۵- تعداد باکتریهای سرمادوست
.....	۸-۵- ظرفیت نگهداری آب
.....	۹-۵- ویژگی های بافتی نمونه های ماهی (TPA)
.....	۱۰-۵- ارزیابی طعم
.....	۱۱-۵- نتیجه گیری کلی
.....	۱۲-۵- پیشنهادات پژوهشی
.....	۱۳-۵- پیشنهادات اجرایی
.....	منابع

## فهرست جداول

صفحه

عنوان

- جدول ۱-۴ ترکیبات تشکیل دهنده اسانس آویشن شیرازی (*Thymus vulgaris*) .....
- جدول ۲-۴ تجزیه واریانس دوطرفه فاکتوریل کاملاً تصادفی مقادیر pH در تیمارهای پوششی کیتوزانی، کیتوزان-اسانس آویشن و شاهد .....
- جدول ۳-۴ تجزیه واریانس دوطرفه فاکتوریل کاملاً تصادفی مقادیر بازهای ازته فرار در تیمارهای پوششی کیتوزانی، کیتوزان-اسانس آویشن و شاهد .....
- جدول ۴-۴ تجزیه واریانس مقادیر تیوباریتوریک اسید تیمارهای پوششی کیتوزانی، کیتوزان-اسانس آویشن و شاهد .....
- جدول ۵-۴ تجزیه واریانس بلوک کاملاً تصادفی تعداد باکتری‌های سرمادوست در تیمارهای پوششی کیتوزانی، کیتوزان-اسانس آویشن و شاهد .....
- جدول ۶-۴ تجزیه واریانس بلوک کاملاً تصادفی تعداد باکتری‌های سرمادوست در تیمارهای پوششی کیتوزانی، کیتوزان-اسانس آویشن و شاهد .....
- جدول ۷-۴ تجزیه واریانس مقادیر سختی در تیمارهای پوششی کیتوزانی، کیتوزان-اسانس آویشن و شاهد .....
- جدول ۸-۴ تجزیه واریانس مقادیر چسبندگی در تیمارهای پوششی کیتوزانی، کیتوزان-اسانس آویشن و شاهد .....
- جدول ۹-۴ تجزیه واریانس مقادیر انسجام در تیمارهای پوششی کیتوزانی، کیتوزان-اسانس آویشن و شاهد .....
- جدول ۱۰-۴ تجزیه واریانس مقادیر قابلیت جویدن در تیمارهای پوششی کیتوزانی، کیتوزان-اسانس آویشن و شاهد .....
- جدول ۱۱-۴ تجزیه واریانس مقادیر الاستیسیته در تیمارهای پوششی کیتوزانی، کیتوزان-اسانس آویشن و شاهد .....
- جدول ۱۲-۴ امتیاز ارزیابی طعم ماهی بخارپز شده در تیمارهای پوششی کیتوزانی، کیتوزان-اسانس آویشن و شاهد طی نگهداری در یخچال .....

## فهرست اشکال

صفحه

عنوان

- شکل ۱-۱ ساختار ساده شده واحدهای کیتین و کیتوران.....
- شکل ۱-۲ ماهیت کولیمیری در بیوپلیمرهای کیتین و کیتوزان.....
- شکل ۱-۳ نمودار جریانی آماده سازی کیتین و کیتوزان از پسماندها.....
- شکل ۱-۴ ساختار شیمیایی کیتوزان.....
- شکل ۱-۵ ماهی قزل‌آلای رنگین کمان.....
- شکل ۳-۱ مراحل پوشش دهی ماهی با محلول‌های پوششی.....
- شکل ۳-۲ دستگاه پی اچ متر دیجیتال با پروب شیشه‌ای.....
- شکل ۳-۴ دستگاه بافت سنج.....
- شکل ۴-۱ مقادیر pH تیمارهای مختلف طی ۱۵ روز نگهداری در یخچال.....
- شکل ۴-۲ مقادیر میانگین pH تیمارهای مختلف.....
- شکل ۴-۳ مقادیر بازهای ازته فرار تیمارهای مختلف طی ۱۵ روز نگهداری در یخچال.....
- شکل ۴-۴ مقادیر تیوباریتوریک اسید تیمارهای مختلف در طول زمان نگهداری در یخچال.....
- شکل ۴-۵ میانگین مقادیر تیوباریتوریک اسید در تیمارهای مختلف طی ۱۵ روز نگهداری در یخچال.....
- شکل ۴-۶ تعداد باکتری‌های سرمادوست تیمارهای مختلف طی زمان نگهداری در یخچال.....
- شکل ۴-۷ میانگین تعداد باکتری‌های سرمادوست در تیمارهای مختلف.....
- شکل ۴-۸ مقادیر ظرفیت نگهداری آب تیمارهای مختلف طی نگهداری در یخچال.....
- شکل ۴-۹ میزان سختی نمونه های ماهی در زمانهای مختلف.....
- شکل ۴-۱۰ میانگین مقادیر سختی در تیمارهای مختلف.....
- شکل ۴-۱۱ همبستگی پیرسون بین سختی و ظرفیت نگهداری آب.....
- شکل ۴-۱۲ مقادیر چسبندگی در تیمارهای مختلف.....
- شکل ۴-۱۳ مقادیر انسجام در تیمارهای مختلف.....
- شکل ۴-۱۴ مقادیر میانگین قابلیت جویدن در تیمارهای مختلف.....
- شکل ۴-۱۵ مقادیر میانگین قابلیت جویدن در تیمارهای مختلف.....

## فهرست اشکال

صفحه

عنوان

- شکل ۴-۱۶ امتیاز ارزیابی طعم ماهی بخارپز شده در تیمارهای مختلف طی ۱۵ روز نگهداری در یخچال.....
- شکل ۴-۱۷ الگوی ارزیابی توسط گروه پانل طی ۱۵ روز آزمایش.....
- شکل ۴-۱۸ الگوی ارزیابی تیمارهای مختلف توسط اعضای گروه پنل.....



فصل اول

مقدمه و کلیات

## ۱- مقدمه

ماهی یکی از منابع پروتئینی با ارزش است که با توجه به تنوع زیاد گونه‌ها، دارای قابلیت مناسبی در تأمین بخشی از پروتئین مورد نیاز بشر می باشد. امروزه مزایای مصرف ماهی بر کسی پوشیده نیست بطوریکه با روش‌های مختلف سعی در افزایش مصرف ماهی و سایر آبزیان داریم. محصولات شیلاتی به سرعت دچار افت کیفیت می گردند. افت کیفیت نتیجه تغییرات مختلف شیمیایی، آنزیمی و فیزیکی است که بر چهار دسته از ترکیبات مهمی که در محصولات شیلاتی وجود دارند، تاثیر می‌گذارند. این چهار دسته عبارتند از: پروتئین‌ها، چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها و رطوبت؛ همچنین ترکیبات مختلف دیگری در کیفیت پس از مرگ این محصولات نقش دارند. برخی از این ترکیبات شامل اسیدهای آمینه آزاد و بازهای نیتروژنه فرار<sup>۱</sup> همانند آمونیاک، تری میتل آمین اکسید (TMAO) و هیستامین می‌باشند. تغییرات طعم و بو به سرعت در ماهی و فراورده‌های آن ایجاد می شود. به طور کلی واکنش‌های اکسیداسیونی و آلودگی با میکروارگانیسم‌ها فاکتورهای اصلی در کاهش ماندگاری مواد غذایی می باشند و اگر بطور مؤثر کنترل نشوند سبب کاهش کیفیت فراورده می گردند. این تغییرات نامطلوب سبب نارضایتی مشتری شده و در نتیجه، از دست دادن بازار فروش و ضرر اقتصادی را به همراه خواهد داشت. در صورتی که تهیه یک محصول تازه، با کیفیت و طعم و بوی مناسب می تواند شرایط رقابت را ایجاد نماید. لذا به نظر می رسد بهبود روشهای نگهداری در صنعت فرآوری آبزیان از اهمیت خاصی برخوردار باشد. به طور کلی ماهی سریعتر از سایر فراورده‌های گوشتی فاسد می شود. نگهداری در حالت انجماد یک روش عمومی نگهداری است که برای کنترل یا کاهش تغییرات بیوشیمیایی و شیمیایی و فعالیت‌های میکروبی استفاده می شود که طی نگهداری ماهی رخ می دهند. با این حال انجماد به طور کامل از واکنش‌های شیمیایی (مانند اکسیداسیون چربی) که سبب افت کیفیت ماهی می گردد، جلوگیری نمی‌کند (ساتیول و همکاران، ۲۰۰۷). به منظور افزایش ماندگاری محصولات شیلاتی از روش‌های گوناگونی استفاده می شود که به طور کلی می‌توان به موارد زیر اشاره نمود:

---

1 - Volatile nitrogenous bases

- نگهداری در دمای پایین
- غوطه‌وری در اسیدهای آلی
- استفاده از آنتی اکسیدان‌ها
- بسته بندی (فعال، غیر فعال، هوشمند و ...)
- استفاده از فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی

گفتنی است معمولاً از مجموعه‌ای از روش‌های نگهداری برای حصول نتایج بهتر استفاده می‌شود. استفاده از بیوپلیمرهایی که قابلیت تجزیه در محیط زیست را دارند برای بسته بندی مواد غذایی، سالهاست مورد توجه قرار گرفته است. قسمت عمده‌ای از آن‌ها از محصولات گیاهی و حیوانی به دست می‌آیند. کیتوزان یکی از این بیوپلیمرها است که اخیراً در صنایع غذایی مورد توجه قرار گرفته است. همانگونه که پیشتر اشاره گردید، معمولاً برای نگهداری مواد غذایی، از یک روش نگهداری به تنهایی استفاده نمی‌شود. در خصوص پوشش‌های خوراکی نیز این قضیه صدق می‌نماید و برای بهبود خواص نگهدارندگی آنها از مواد و روشهای دیگری نیز همراه با آنها استفاده می‌گردد. برای تقویت خواص کیتوزان در نگهداری مواد غذایی از برخی مواد از قبیل مواد آنتی اکسیدان و یا مواد ضد میکروب می‌توان استفاده نمود. در این تحقیق از اسانس آویشن شیرازی<sup>۱</sup> به عنوان یک عامل ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی در پوشش کیتوزانی استفاده شد.

### ۱-۱- کلیات

فیلم‌های خوراکی به لایه نازکی از مواد خوراکی اطلاق می‌شود که ابتدا تهیه شده و سپس به عنوان لفاف بسته بندی بر روی ماده غذایی استفاده می‌شوند در حالیکه پوشش‌های خوراکی در سطح ماده غذایی تولید می‌شوند. علاوه بر این، فیلم‌های خوراکی می‌توانند حاوی آنتی اکسیدان و مواد ضد میکروبی باشند و این در حالی است که بسته بندی‌های مرسوم قادر به رقابت در این زمینه با فیلم‌های خوراکی نمی‌باشند. فیلم‌های خوراکی به واسطه جلوگیری از نفوذ رطوبت، اکسیژن، دی اکسید کربن و غیره به منظور افزایش ماندگاری مواد غذایی و حفظ کیفیت آنها مورد استفاده قرار می‌گیرند. همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی ذاتی برخی از آنها نیز در این امر مؤثر است. این فیلم‌ها می‌توانند ماده غذایی را از کاهش رطوبت، اکسیداسیون چربی و خطرات فیزیکی طی فراوری

یا توزیع حفظ کنند. همچنین با استفاده از این فیلم‌ها و پوشش‌ها می‌توان ترتیبی اتخاذ نمود تا برخی مواد مانند اسید سوربیک<sup>۱</sup> در تماس با سطح ماده غذایی قرار گیرند که این امر در کنترل رشد میکروبی مؤثر می‌باشد (تورس و همکاران، ۱۹۸۵). عملکرد این فیلم‌ها و پوشش‌ها می‌تواند با استفاده از آنتی‌اکسیدانها و مواد ضد میکروب بطور مستقیم در ساختار فیلم یا پوشش، افزایش یابد. این ویژگی مخصوصاً زمانی مفید است که سطح ماده غذایی برای اکسیداسیون و یا رشد میکروبی مستعد باشد. فیلم‌ها و پوشش‌ها از ترکیبات مختلفی از پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، چربی‌ها یا مشتقات آنها و یا مخلوطی از آنها با ترکیب و فرمولاسیون‌های متفاوت ساخته می‌شوند. این ترکیبات اغلب حاوی یک حلال مانند آب یا اسیدهای آلی هستند. تمام فیلم‌ها، هم دارای خاصیت چسبندگی و هم پیوستگی می‌باشند که سبب می‌شود اجزای تشکیل دهنده فیلم‌ها به یکدیگر و بر روی سطح ماده غذایی نگه داشته شوند. فیلم‌ها و پوشش‌های بر پایه چربی<sup>۲</sup> همچون واکس‌ها، چربی‌ها و روغن‌ها، سطح ماده غذایی را می‌پوشانند و در وهله اول به عنوان یک مانع برای تبادل رطوبت عمل می‌کنند. واکس‌ها همچون موم<sup>۳</sup> و پارافین اغلب برای جلوگیری از کاهش آب در میوه‌ها و سبزیجات استفاده می‌شوند.

یکی از ترکیباتی که اخیراً مطالعاتی در زمینه کاربرد آن به عنوان یک ماده نگهدارنده و ضد میکروب در مواد غذایی صورت گرفته، کیتوزان<sup>۴</sup> یکی از مشتقات کیتین<sup>۵</sup> می‌باشد. کیتین دومین پلیمر فراوان در طبیعت پس از سلولز بوده (شهیدی و همکاران، ۱۹۹۹) و یک بیوپلیمر با ساختار پلی‌ساکاریدی می‌باشد. بیوپلیمر واژه‌ای عمومی است و برای پلیمرهایی که به طور زیست‌شناختی در طبیعت ساخته می‌شوند استفاده می‌گردد. پلی‌ساکاریدها دسته‌ای از بیوپلیمرها هستند و دربرگیرنده مولکول‌های مونوساکارید (قند ساده) هستند که با اتصالات اتری خود، سبب ایجاد پلیمرهایی با وزن مولکولی بیشتر شده‌اند (خور، ۲۰۰۱).

کیتین ساختاری کریستالی و سخت دارد و در سیستم اسکلتی حیوانات، لنز چشم، تاندون‌ها، لایه‌ی خارجی بدن بندپایان، حشرات، عنکبوتیان و نیز سخت پوستان (خرچنگ، میگو، لابستر) و همچنین بخشهایی از بدن بعضی از جانوران مثل نرم‌تنان و سرپایان و همچنین در گیاهان و در دیواره‌ی سلولی برخی از قارچها یافت می‌شود. کیتین از لحاظ ظاهری ماده‌ای سفید رنگ مانند خرده کاغذ است. این

---

1 - Sorbic acid

2 - Lipid-based

3 - Bees wax

4 - Chitosan

5 - Chitin