

بررسی امکان افزایش ماندگاری خاویار تاس ماهی سیری (*Acipenser baeri*) از طریق بسته‌بندی با پوشش کیتوزان توأم با لیزوزیم، اسید استیک و نانوذرات ناتامایسین

بیگلر خرم^۱، عباسعلی مطلبی^{۱*}، ودود رضویلر^۱

*motalebi@ifro.ir

۱- گروه بهداشت مواد غذایی، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۶

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۶

چکیده

خاویار یکی از محصولات مهم صنایع شیلاتی به لحاظ تغذیه‌ای، اقتصادی و صادراتی می‌باشد. بنابراین توانایی حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری این محصول، بدلیل غیر پاستوریزه بودن و نداشتن فرایند حرارتی دارای اهمیتی مضاعف می‌باشد. در این پژوهش عملکرد کیتوزان به عنوان یک نگهدارنده طبیعی به همراه اسید استیک، لیزوزیم و ناتامایسین نانو و غیر نانو در جهت افزایش ماندگاری خاویار مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای مختلف کیتوزان و نمونه شاهد طی مدت ۱۵۰ روز نگهداری در دمای صفر تا منهای ۳ درجه سانتیگراد در بازه‌های زمانی روزهای صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۵۰ به طور مستمر به لحاظ فاکتورهای میکروبی (شمارش کلی، کپک و مخمر) شیمیایی (تیوباربیتوریک اسید، بازهای ازته فرار، عدد پراکسید و اسیدهای چرب فرار و غیره) و ارگانولپتیکی برابر استاندارد ملی ایران مورد ارزیابی قرار گرفتند. خاویار پوشش داده شده با کیتوزان و کیتوزان همراه ناتامایسین ۴۰ ppm به لحاظ شمارش کلی در روز ۹۰ و ۱۵۰ به ترتیب برابر ۴/۵۹، ۵/۰۴ و ۴/۵۰، ۴/۸۰ لوگ کلنی در هر گرم خاویار قابل مقایسه با شمارش کلی روز ۶۰ نمونه شاهد به مقدار ۵/۳ لوگ کلنی در هر گرم خاویار می‌باشد. نتایج حاصله نشان داد که خاویار پوشش داده شده با کیتوزان و کیتوزان به همراه ناتامایسین در مقایسه با نمونه شاهد به صورت معنی‌داری ($p < 0.05$) باعث افزایش ماندگاری خاویار حداقل به مدت ۶۰ روز می‌گردد و همچنین نانوذرات ناتامایسین ۲۰ ppm به لحاظ ماندگاری عملکردی شبیه ناتامایسین ۴۰ ppm غیر نانو ایفاء می‌نماید.

لغات کلیدی: تاس ماهی سیری، خاویار، کیتوزان، ماندگاری، نانوذرات

*نویسنده مسئول

مقدمه

خاویار یک ماده غذایی پرانرژی است که طعم و بویی بسیار خوشایند دارد و از دیر باز به عنوان یک غذای مغذی و گران قیمت در اکثر کشورهای توسعه یافته جایگاهی برای خود اختصاص داده است. به طور عمده پروتئین موجود در خاویار متشکل از اسیدهای آمینه آرژنین، هیستامین، ایزولوسین، لیزین و متیونین است. چربی موجود در خاویار نیز به دو دسته عمده تقسیم می‌شود که شامل ۲۵ درصد کلسترول و ۷۵ درصد لستین می‌باشد. مصرف خاویار از ابتلا به بیماری افسردگی و بیماری‌های قلبی عروقی پیشگیری می‌کند؛ چرا که در خاویار غلظت اسیدهای چرب از نوع امگا ۳ بسیار بالاست. بعلاوه خاویار غنی از ترکیبی به نام Ctacosand هست که نوعی الکل چرب با زنجیره بلند می‌باشد و در بدن به اسیدهای چرب تبدیل می‌شود. این اسیدهای چرب به دست آمده، در سنتز میلین (پوشش سلول عصبی) نقش بسزایی ایفا می‌کند. به همین دلیل مصرف خاویار در سلامت سلول‌های عصبی بسیار موثر است. خاویار از نظر عنصر آهن نیز غنی است و به همین دلیل مصرف آن در افراد مبتلا به کم خونی ناشی از فقر آهن نیز توصیه می‌شود (بهمنی، ۱۳۸۴). خاویار به لحاظ میکروبی و شیمیایی دارای فساد پذیری بسیار بالایی می‌باشد. ترکیب خاویار (پروتئین و چربی بالا)، وجود بقایای بافتی در خاویار و عدم تیمار حرارتی مناسب از عوامل عمده این فساد محسوب می‌گردند (Salmani et al., 2009). بنابراین نقش پروسه تولید و بسته بندی مناسب در کنترل کیفیت خاویار برجسته تر می‌گردد و می‌تواند به عنوان یکی از پایه‌های اساسی در جلوگیری از فساد خاویار تلقی گردد. ماهیان خاویاری از جمله گونه‌های آبی کم نظیری هستند که از قدمتی چند صد میلیون ساله برخوردارند که به دوره ابتدای کرتاسه^۱ برمی‌گردد. ماهیان خاویاری با از دست دادن بسیاری از خصوصیات تشریحی خود یعنی فلس‌های لوزی شکل، سپر و دندان به شکل امروزی در آمده‌اند. این ماهیان به ۲۵ گونه، چند زیرگونه و چهار جنس تقسیم

می‌شوند (آذری تاکامی، ۱۳۸۸). گونه تاس‌ماهی سیبری (*Acipenser baeri*) از ماهیان خاویاری بوده یکی از این مواد که دارای خواص ضد باکتری می‌باشد، کیتوزان است. کیتوزان به صورت تجاری توسط استیل زدایی قلیایی کیتین^۲ به دست می‌آید. کیتین جزء اصلی و وافر پوخته سخت پوستان و قارچ‌ها (از جمله قارچ‌های خوراکی) است. فعالیت ممانعت کننده از رشد و میکروب کشی کیتوزان به طور گسترده‌ای در مقالات علیه میکروارگانیزم‌ها گزارش شده است. چنین مطالعاتی نشان می‌دهد از کیتوزان می‌توان به عنوان یک نگهدارنده جدید در مواد غذایی استفاده کرد. این ماده علاوه برداشتن خصوصیات ضد میکروبی برای بسته‌بندی‌های مواد غذایی نیز بسیار مورد توجه بوده است. کیتوزان یک ماده غیر سمی و قابل تجزیه است. این ماده در صنایعی همانند تولید کاغذ، پارچه، محصولات عکاسی و تشکیل فیلم مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین در صنایع زیستی پزشکی و صنایع غذایی برای فرمولاسیون، عامل ژلاتینه کننده، غلیظ کننده و پایدار کننده استفاده می‌شود. کیتوزان به راحتی تبدیل به فیبر، فیلم و پوشش می‌شود. کارایی و خصوصیات کیتوزان به وزن مولکولی و ویسکوزیته آن بستگی دارد (Goy et al., 2009). نانوتکنولوژی از تکنولوژی‌های جدید مورد توجه در تمامی علوم از جمله صنایع غذایی می‌باشد و عبارتست از کنترل یا دستکاری ماده در سطوح اتمی مولکولی یا ماکرومولکولی که در آن جزئی که عملکرد ماده را تحت تاثیر قرار می‌دهد اندازه‌ای حدود صد نانومتر یا کمتر دارد. استفاده از فناوریهای نوین در صنایع غذایی رویکرد جدیدی است که بسیار مورد توجه قرار گرفته است. بی شک روی آوردن به فناوریهای نو از جمله فناوری نانو و بسته بندی های نوین می‌تواند راه گشای بسیاری از مشکلات در حیطه صنعت غذایی باشد (مرادی و همکاران، ۱۳۹۴؛ Chaudhry et al., 2010). در این پروژه تمامی نگهدارنده های مورد استفاده از جمله کیتوزان، اسید استیک، لیزوزیم و ناتامایسین طبیعی، مجاز و جزو

^۲ - Deacetylated chitosan^۱ - Cretaceous

نگهدارنده های GRAS¹ و مورد تایید کمیته مشترک سازمان کشاورزی و بهداشت جهانی (JECFA²) در خصوص مواد نگهدارنده می باشند که بترتیب سال تصویب و منابع تصویب کننده آنها در رفرنس قید گردیده است (SCGOS,³ 1977; JECFA, 1991; JECFA, 2001). اما نکته مهمتر به لحاظ بهداشت مواد غذایی و خصوصاً هدف اصلی در این پروژه، افزایش ماندگاری خاویار با حفظ مشتری مداری می باشد که یکی از مهمترین اهداف سیستم های مدرن مدیریت مواد غذایی می باشد. اهمیت حفظ کیفیت در جهت مشتری مداری تا حدی است که سازمان غذا و دارو آمریکا کیفیت را از انحصار متخصصین و صاحب نظران خارج کرده و آن را صرفاً خواسته مشتری (Consumer demand) تعریف می کند. بنابراین تولید و نگهداری مواد غذایی جدای از باید ها و نباید ها که در حیطه مسمومیت مواد غذایی می باشد کیفیت مواد غذایی مانند رنگ و بو و قوام و حتی استفاده از مواد نگهدارنده باید در جهت مشتری مداری باشد (ISO 22000, 2005). اقبال عمومی به سمت و سوی استفاده از مواد غذایی با نگهدارنده های طبیعی، غیر سمی و سازگار با بدن مثل کیتوزان وظیفه ما را در حفظ کیفیت خاویار با استفاده از نگهدارنده های طبیعی دو چندان می کند که برای افزایش ماندگاری خاویار نه تنها از نگهدارنده های طبیعی مانند کیتوزان، لیزوزیم و غیره استفاده کنیم، بلکه با استفاده از تکنولوژی های مدرن مانند نانو تکنولوژی مقدار نگهدارنده ها را به حداقل برسانیم که این امر در کشور های توسعه یافته مانند آمریکا بسیار مورد توجه می باشد چرا که بسیاری از نگهدارنده های طبیعی دارای حد مجاز مصرف می باشند (صفری و یعقوب زاده ۱۳۹۴). شایان ذکر است که استفاده از نگهدارنده های طبیعی مذکور به صورت متعدد و عمدتاً بصورت تحقیقاتی جهت افزایش ماندگاری انواع فیله گوشت و مرغ و ماهی و حتی میوه و سبزیجات مورد

استفاده واقع شده است و در اکثر قریب به اتفاق باعث افزایش ماندگاری با حفظ کیفیت گردیده است. منابع و موارد متعدد آن در رفرنس قید گردیده است (مسگران و رومیانی ۱۳۹۷) (Fan et al., Tapilatu et al., 2016) (Cao et al., 2012; 2009). با توجه به تحقیقاتی که صورت گرفته است، بیشترین افزایش زمان ماندگاری کیتوزان توسط Fan و همکاران (۲۰۰۹)، گزارش گردیده است که ماندگاری فیله ماهی کپور را در دمای منفی ۳ درجه به مدت ۳۰ روز بهبود بخشیده است. چیزی که اهمیت استفاده از این نگهدارنده ها را در خاویار دو چندان میکند، نبود هرگونه تیمار حرارتی در پروسه آماده سازی بدلیل حفظ رقم و کیفیت خاویار می باشد و تنها نگهدارنده مورد استفاده کنونی استفاده از نمک و زنجیره سرد می باشد. هدف اصلی این تحقیق افزایش ماندگاری با حفظ کیفیت توسط نگهدارنده های طبیعی در راستای بهداشت مواد غذایی، مشتری مداری و استفاده حداقل، حتی از نگهدارنده های مجاز می باشد.

مواد و روش کار

تهیه پوشش کیتوزان: پودر کیتوزان برند سیگما آلد ریچ با وزن مولکولی متوسط و درجه استیل زدایی ۷۵ درصد استفاده شد محلول اسید استیک یک درصد حجمی/حجمی تهیه و سپس محلول کیتوزان دو درصد وزنی/حجمی در اسید مذکور تهیه شد و به مدت ۳ ساعت مخلوط گردید. سپس به میزان ۰/۷۵ گرم گلیسرول به ازاء هر گرم کیتوزان به محلول اضافه شد و به مدت نیم ساعت دیگر در دمای اتاق مخلوط گردید. سوسپانسیون حاصله با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۳ صاف شده و در مرحله بعد، بسته به نوع تیمار انتخاب شده، لیزوزیم یا ناتامایسین (MERCK آلمان) به سوسپانسیون حاوی کیتوزان اضافه شده و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق مخلوط شدند. برای تهیه پوشش ریزپوشانی شده ناتامایسین، ابتدا ناتامایسین مورد نظر همراه ۲۰۰ سی سی اسید استیک یک درصد توسط همزن مغناطیسی^۴

¹ - Generally Recognized As Safe

² - Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

³ - Select Committee on GRAS Substances

⁴ - Hot plate

۱۵۰ روز نگهداری شدند. زمان آزمایشات شیمیایی و میکروبی هر ۳۰ روز انجام گرفت (جدول ۱).

جدول ۱: تیمارهای پوشش داده شده با کیتوزان و نمونه شاهد

Table 1: standard and caviar coated samples.

۱	کیتوزان + ناتامایسین ۲۰ + اسید استیک ۱٪ + لیوزیم ۱۰۰
۲	کیتوزان + ناتامایسین ۲۰ + اسید استیک ۱٪ + لیوزیم ۲۰۰
۳	کیتوزان + ناتامایسین ۴۰ + اسید استیک ۱٪ + لیوزیم ۱۰۰
۴	کیتوزان + ناتامایسین ۴۰ + اسید استیک ۱٪ + لیوزیم ۲۰۰
۵	کیتوزان + نانوناتامایسین ۲۰ + اسید استیک ۱٪ + لیوزیم ۱۰۰
۶	کیتوزان + نانوناتامایسین ۲۰ + اسید استیک ۱٪ + لیوزیم ۲۰۰
۷	کیتوزان + نانوناتامایسین ۴۰ + اسید استیک ۱٪ + لیوزیم ۱۰۰
۸	کیتوزان + نانوناتامایسین ۴۰ + اسید استیک ۱٪ + لیوزیم ۲۰۰
۹	کیتوزان
۱۰	نمونه شاهد دارای نمک خالص و فاقد کیتوزان، ناتامایسین، اسید استیک و لیوزیم

انتخاب نمونه

با توجه به تعداد تیمارهای پروژه (۱۰ تیمار با شاهد) و برای هر تیمار ۲ نمونه که در ۵ بازه زمانی (روزهای صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۵۰) مورد آزمایش قرار گرفت. در مجموع، ۱۰۰ نمونه ۵۰ گرمی خاویار انتخاب گردید (۱۰۰ = ۵ * ۲ * ۱۰). شایان ذکر است، با توجه به اینکه پروژه فوق طرح تحقیقاتی مصوب شیلات بود، پروسه استحصال و عمل آوری خاویار از تاسماهی در موسسه تحقیقات بین المللی تاسماهیان دریای خزر واقع در منطقه سنگر رشت صورت پذیرفت.

آزمایش‌های شیمیایی

اندازه‌گیری pH با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتال (P4 WTW) به روش APHA (۱۹۹۸) انجام شد. اندازه‌گیری عدد پراکسید مطابق با استاندارد ۴۱۷۹ (۱۳۸۷) و اندازه‌گیری بازهای از ته فرار تام (TVB-N) مطابق با روشهای AOAC (۲۰۰۲) و استاندارد ملی شماره ۱۸۶ (۱۳۸۴) و اندازه‌گیری اسیدهای چرب آزاد

به مدت یک ساعت مخلوط گردید. سپس محلول مورد نظر به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه در آمپلی تود ۱۰۰ (معادل فرکانس ۲۰ کیلو هرتز) توسط دستگاه اولترا سوند در معرض امواج قرار گرفت. در مرحله بعد ۴ گرم کیتوزان به همراه گلیسرین به محلول نانو ذرات (محلول اولترا سوند شده ناتامایسین) اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد میکس و پس از صاف شدن و گرفتن نا خالصی به مدت ۱۰ دقیقه مجدداً در دستگاه اولتراسوند در معرض امواج قرار گرفت (Rhim et al., 2006). عمل آوری خاویار به طور اختصار شامل مراحل زیر بود: صید و شکاف ماهی در شرایط بهداشتی؛ قرار دادن تخمدان در آب سرد یا آب نمک؛ جدا سازی پرده تخمدان و چربی‌ها و الیاف توسط غربال نخی؛ خارج کردن خونابه و مایعات در آبکش؛ شستن خاویار با آب سرد؛ چکاندن آب با غربال الیافی؛ مخلوط کردن با مواد و نگهدارنده؛ رد کردن شوراب مازاد توسط الک مویی؛ پر کردن قوطی‌ها با خاویار (قوطی زدن خاویار)؛ رد کردن شوراب مازاد قوطی توسط فشار؛ پاک کردن و لاستیک زدن قوطی؛ نگهداری در محل سرد و آماده نمودن جهت حمل (کیوان، ۱۳۵۰؛ مطلبی، ۱۳۹۰) موارد شرح داده شده فوق یک عمل آوری استاندارد و روتین در تهیه خاویار در کارگاه‌های تولید خاویار می‌باشد. این پروژه دقیقاً شبیه عمل آوری استاندارد فوق‌الذکر می‌باشد با این تفاوت که بعد از مرحله نمک زدن، تیمارهای کیتوزان و نمونه شاهد دو مسیر کاملاً متفاوت طی می‌کنند. نمونه شاهد مسیر استاندارد را طی می‌کند ولی خاویاری که قرار است پوشش داده شود بعد از مرحله شور کردن با نمک (۴ درصد وزن خاویار) حداقل به مدت ۱۲۰ دقیقه در سوسپانسیونهای تهیه شده از کیتوزان و سایر ترکیبات مورد استفاده (با توجه به نوع تیمار مورد بررسی) شناور شد تا مواد مذکور بخوبی جذب تخم شوند. پس از این مرحله نیز سوسپانسیون اضافی خارج شد و خاویار حاصله به قوطیهای ۵۰ گرمی اضافه شد. در این مرحله هواگیری انجام شده و قوطیها در دمای صفر تا منفی ۳ درجه سانتیگراد (استاندارد ملی شماره ۱۸۶، ۱۳۸۴) به مدت

منزله عالی بودن نمونه و ۱ کمترین نمره که نشان دهنده ضعیف بودن نمونه است (Meilgaard et al., 2016).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصله با نرم افزار SPSS انجام شد. بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف اسمیرنوف و همگنی واریانس داده‌ها با آزمون لون انجام شد و به منظور ارزیابی پارامترهای مختلف شیمیایی و میکروبی در زمانهای مختلف از تست‌های Anova استفاده گردید. جهت مقایسه واریانس‌ها و ارزیابی معنی‌دار بودن داده‌ها، از تست Tukey استفاده شد (احمدیان، ۱۳۸۵؛ Ayache et al., 2010).

نتایج

شمارش بار میکروبی (Total Count): با توجه به تعداد زیاد تیمارهای خاویار و همچنین با توجه به عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای پوشش داده شده با کیتوزان، تیمار ۴ (کیتوزان + نانواتامایسین ۴۰ و ۲۰ + لیزوزیم ۲۰۰) و تیمار ۹ یعنی کیتوزان خالی بترتیب کمترین و بیشترین رشد میکروبی را به خود اختصاص دادند. لذا با توجه به اینکه سرعت رشد میکروبی بقیه تیمارهای پوشش داده شده در محدوده بین دو ترکیب فوق قرار دارد و نانواتامایسین ۲۰ ppm هم عملکردی شبیه ناتامایسین ۴۰ ppm ایفا می نماید لذا در این بحث بیشتر داده‌های این دو تیمار ۴ و ۹ به نامهای (ناتامایسین ۴۰ و کیتوزان) با نمونه شاهد مقایسه می گردد (جدول ۲).

آزمون کپک و مخمر (Molds and Yeast): رشد کپک و مخمر در خاویارهای پوشش داده شده همانند شمارش کلی به مراتب کندتر از نمونه شاهد بود و همچنان تیمار ۴ کمترین رشد کپک و مخمر را به خود اختصاص داده بود (جدول ۳).

(FFA) به روش^۱ AOCS، (۱۹۹۸) و استاندارد ملی شماره ۴۱۷۸ (۱۳۹۰) و شمارش کلی میکروارگانیزم ها و جستجو و شمارش کپک و مخمر بترتیب برابر استاندارد ملی شماره ۵۲۷۲ (۱۳۹۳) و استاندارد ملی شماره ۱-۱۰۸۹۹ (۱۳۸۷) انجام پذیرفت.

تهیه عکس میکروسکوپ الکترون (TEM^۲)

به لحاظ بارگذاری ذرات نانو در داخل پوشش بسته بندی واثبات نانویی بودن آن در بسته بندی تولید شده، تست های میکروسکوپ الکترونی TEM بر روی تمام بسته بندی های تولیدی حاوی نانو ذرات انجام شد و از نظر سایز و مورفولوژی ذرات در داخل پوشش و بافت خاویار و همچنین میزان نفوذ نانوکامپوزیت در بافت خاویار تصاویر میکروسکوپ الکترونی تهیه گردید. عمل عکسبرداری الکترونی از خاویار با همکاری بخش میکروسکوپ الکترونی دانشگاه شهید بهشتی صورت پذیرفت.

آماده سازی نمونه‌های بافتی بیولوژیک برای TEM
آماده سازی نمونه‌های بیولوژیکی بافتی برابر دستورالعمل تهیه شده در دانشگاه تهران (احمدیان، ۱۳۸۵) با یک بافت زنده و آبدار شروع و به بافتی که فاقد آب بوده و درون یک ماده پلاستیکی سخت شده ختم می شود (Ayache et al., 2010).

خواص حسی

فاکتورهای مورد بررسی جهت ارزیابی حسی شامل، بو، طعم و مزه، قوام و بافت و پذیرش کلی بود. پس از آموزش های مقدماتی، تعداد ۴ نفر از کارکنان شیلات به عنوان ارزیاب انتخاب گردیدند و با استفاده از روش هدونیک (۵ نقطه ای)، نمونه‌های تهیه شده همزمان با بازه های زمانی تعیین شده برای آزمایشات میکروبی و شیمیای مورد ارزیابی قرار گرفتند. بدین ترتیب که حداکثر نمره ۵ به

^۱ -American Oil Chemists' Society

^۲ -Transmission electron microscopy

پوشش داده شده با کیتوزان کندتر از نمونه شاهد یا کنترل بود (شکل ۲).

اندازه گیری مقدار پراکسید (pv^3) پراکسید یکی از متابولیت های اولیه اکسیداسیون چربی می‌باشد و نقش اساسی را در تجزیه چربی ها به ترکیبات کربونیل و سایر ترکیبات ایفاء می‌کند (Jeyakumari *et al.*, 2016). تغییرات مقدار عدد پراکسید نمونه خاویار شاهد و تیمارهای پوشش داده شده با کیتوزان در مدت زمان نگهداری در شکل ۳ نشان داده شده است.

تغییرات اسید چرب آزاد (FFA^4): چربی مواد غذایی در زمان نگهداری علاوه بر اکسیداسیون در اثر هیدرولیز باعث بوجود آمدن FFA می‌گردد. تجمع این اسید چرب باعث تغییرات بافتی، اکسیداسیون و ایجاد طعم بد در زمان نگهداری مواد غذایی در دمای یخچالی می‌گردد (Sequeira-Munoz *et al.*, 2006). اسیدهای چرب آزاد همچنین بدلیل حساسیت به اکسیده شدن این روند را تسریع می‌کنند (Hamilton, 1983; Aubourg, 2001). FFA اولیه برای تمامی نمونه‌ها حدوداً برابر 0.33 اولئیک اسید بود که این مقدار در نمونه شاهد در روزهای ۹۰ و ۱۵۰ نگهداری بترتیب به مقدار $2/12$ و $2/86$ درصد اولئیک اسید رسید (شکل ۴).

ارزیابی حسی^۵: نمونه‌های خاویار به لحاظ حسی مانند طعم و بو، قوام و بافت و پذیرش کلی توسط سیستم پنج نقطه ای هدونیک (خیلی خوب=۵، خوب=۴، متوسط=۳، بد=۲ و خیلی بد=۱) مورد ارزیابی قرار گرفتند و بر اساس تجربیات گذشته، امتیاز ۳ و بالاتر از آن برای قابل قبول برای مصرف اعلام گردید (شکل ۵).

نتایج حاصل از عکسبرداری الکترونی TEM: نتایج حاصل از عکسبرداری الکترونی، داده‌های پژوهش را در خصوص تاثیرگذاری نانو کامپوزیت کیتوزان در افزایش ماندگاری خاویار به طور کامل مورد تایید قرار داد.

جدول ۲: تغییرات بار میکروبی تیمار های خاویار و نمونه شاهد

در زمان نگهداری

Table 2: Changes in TVC of caviar samples during storage time.

زمان ماندگاری (روز)	شاهد	کیتوزان	ناتامایسین ۴۰ ppm و کیتوزان
۳۰	۴/۲	۳/۸۷	۳/۳
۶۰	۵/۳	۴/۳۲	۴/۱
۹۰	۵/۳۸	۴/۵۹	۴/۵
۱۵۰	۵/۷۸	۵/۰۴	۴/۸

جدول ۳: تغییرات رشد کپک و مخمر تیمار های خاویار و نمونه شاهد در زمان نگهداری

Table 3: Changes in Yeast and Molds of caviar samples during storage time.

زمان ماندگاری (روز)	شاهد	کیتوزان	ناتامایسین ۴۰ ppm و کیتوزان
۳۰	۳/۳۱	۲/۶	۲/۲
۶۰	۴/۳	۲/۹	۲/۶
۹۰	۴/۷	۳/۸	۳/۴
۱۵۰	۴/۹	۴/۵	۳/۹

داده‌های شیمیایی

اندازه گیری تیوباربیتوریک اسید (TBA^1): تیوباربیتوریک اسید به عنوان شاخص اکسیداسیون چربی همانند سایر فاکتورهای کیفی دارای یک روند صعودی در زمان نگهداری بود که این روند بسته به نوع پوشش تیمار تفاوت داشت (شکل ۱)

اندازه گیری بازهای ازته فرار کل ($TVB-N^2$): $TVB-N$ اولیه در تمامی نمونه‌ها به طور میانگین حدود ۹-۱۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم نمونه خاویار بود که این مقدار با افزایش زمان ماندگاری در تمامی نمونه‌ها دارای یک روند افزایشی داشت با این تفاوت که سرعت افزایش در نمونه خاویارهای

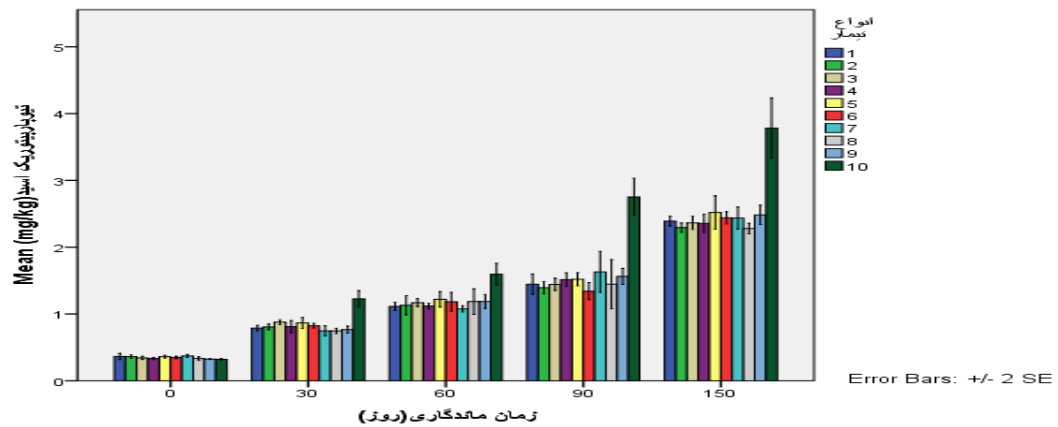
³ - Peroxide Value

⁴ - Free fatty acid

⁵ - Sensory evaluation

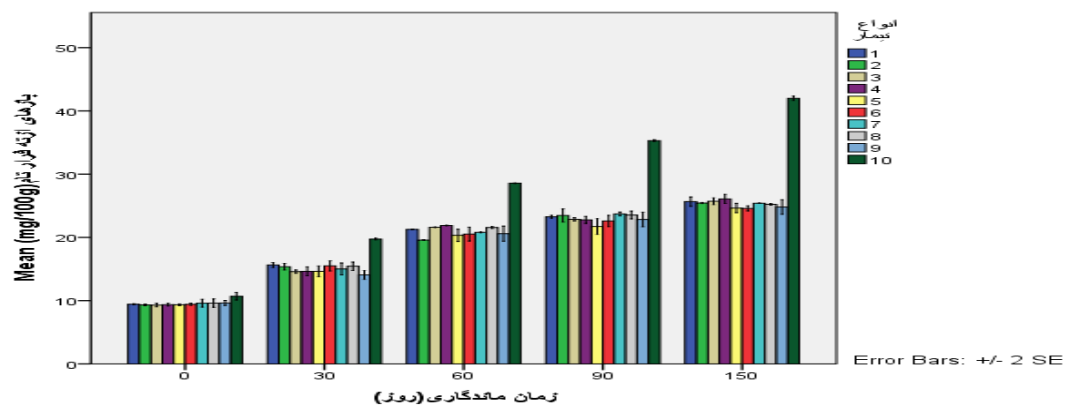
¹ - Thiobarbituric acid

² - Total volatile basic Nitrogen



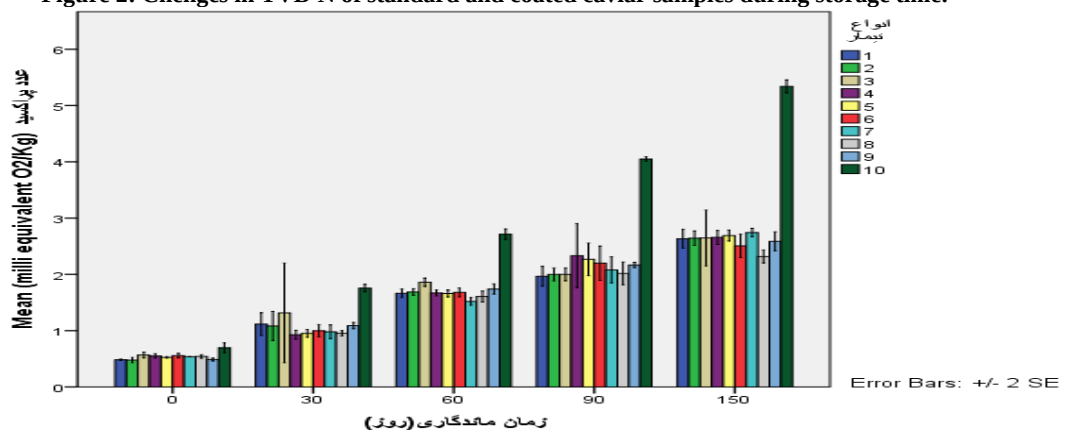
شکل ۱: تغییرات TBA تیمارهای کیتوزان ونمونه شاهد در زمان ماندگاری

Figure 1: Changes in TBA of standard and coated caviar samples during storage time.



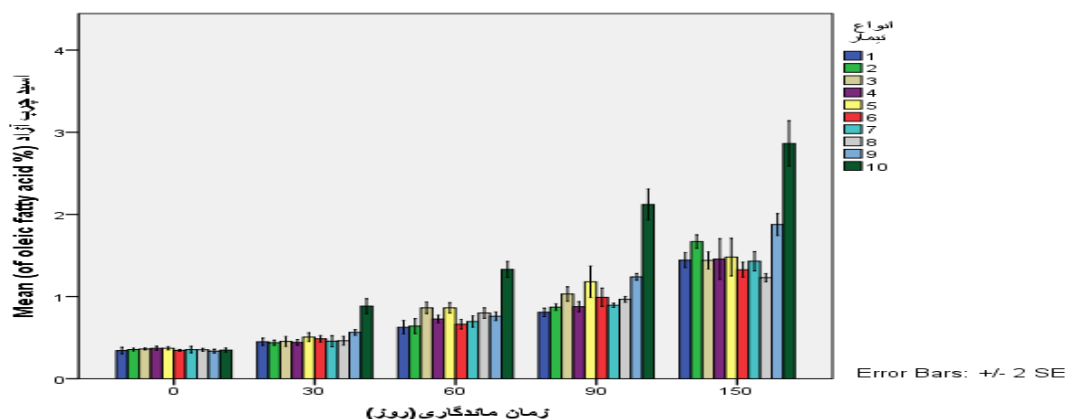
شکل ۲: تغییرات TVB-N تیمارهای کیتوزان ونمونه شاهد در زمان ماندگاری

Figure 2: Changes in TVB-N of standard and coated caviar samples during storage time.

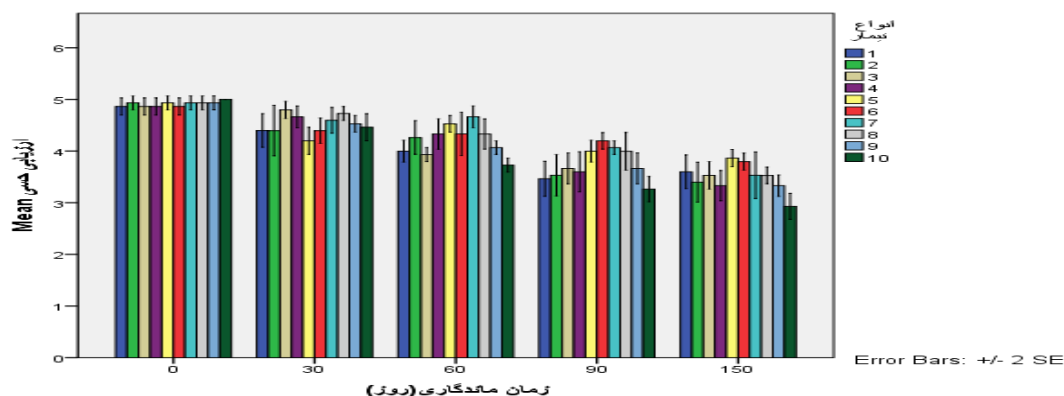


شکل ۳: تغییرات عدد پراکسید تیمارهای کیتوزان ونمونه شاهد در زمان ماندگاری

Figure 3: Changes in PV of standard and coated caviar samples during storage time.



شکل ۴: تغییرات عدد پراکسید تیمارهای کیتوزان ونمونه شاهد در زمان ماندگاری
Figure 4: Changes in PV of standard and coated caviar samples during storage time.



شکل ۵: تغییرات خواص حسی تیمارهای کیتوزان ونمونه شاهد در زمان ماندگاری
Figure 5: Changes in sensory of standard and coated caviar samples during storage time.

بحث

شمارش کلی بار میکروبی اولیه نمونه‌های خاویار بسیار پایین و در حد کمتر از هزار کلنی در گرم گزارش گردید؛ که نشانگر کیفیت خوب خاویار و GMP^1 و GHP^2 مطلوب واحد عمل آوری خاویار دارد. شمارش کلی روزهای ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۵۰ نمونه‌های تیمار ۴ بترتیب ۳/۳، ۴/۱، ۴/۵، ۴/۸ و برای تیمار ۹ معادل ۳/۸۷، ۴/۳۲، ۴/۵۹، ۵/۰۴ لوگ کلنی در هر گرم خاویار گزارش گردید. شمارش میکروبی نمونه شاهد، به مراتب بیشتر از نمونه‌های دیگر و

وجه تمایز این عکسبرداری یا در اصل پژوهش حاضر اینست که مثل دیگر تحقیقات رایج، به دنبال اثبات نانویی بودن ذرات محلول نانوکامپوزیت نیست، بلکه پا را فراتر گذاشته و تثبیت یا نفوذ ذرات نانوکامپوزیت در بافت خاویار را مورد بررسی قرار داده است. لذا با توجه به تهیه مقاطعی از خاویار و تهیه ۴۰ عکس الکترونی، مشخص گردید که ذرات نانو کامپوزیت بصورت لکه‌های کروی سیاه‌رنگ در کنار ارگانل‌ها و بیرونی‌ترین بخش خاویار به فرم‌های کروی و با اندازه‌های ۳۰ تا ۶۰ نانومتر تثبیت گردیده است.

¹ -Good Manufacturing Practice

² -Good Hygiene Practice

بترتیب ۴/۲، ۵/۳، ۵/۳۸، ۵/۷۸ گزارش گردید (جدول ۲)؛ که این مقدار در نمونه شاهد از روز ۶۰ به بعد از حد توصیه شده در استاندارد یعنی ۵ لوگ کلنی در هر گرم خاویار بالاتر می‌باشد (استاندارد ملی شماره ۱۸۶، ۱۳۸۴) در صورتیکه تیمار ۴ و ۹ به لحاظ رشد میکروبی بترتیب در روز ۱۵۰ و ۹۰ در محدوده مجاز استاندارد بودند. تحلیل واریانس داده‌ها نشان داد که سرعت رشد بار میکروبی در تمامی نمونه‌های خاویار پوشش داده شده با کیتوزان به صورت معنی‌داری ($p < 0.05$) کمتر از نمونه شاهد می‌باشد، ولی میانگین رشد بار میکروبی در بین تمامی تیمارهای پوشش داده شده با کیتوزان به رغم داشتن شدت و ضعف در رشد، دارای تفاوت معنی‌داری نمی‌باشد ($p > 0.05$).

رشد کپک و مخمر در انواع خاویارهای پوشش داده شده همانند شمارش کلی بمراتب کندتر از نمونه شاهد بود و همچنان تیمار ۴ کمترین رشد کپک و مخمر را به خود اختصاص داده بود که این می‌تواند بدلیل خاصیت ضد قارچی ناتامایسن باشد. تیمار ۴ در روز ۱۵۰ به لحاظ رشد کپک و مخمر ($3/9$ لوگ کلنی) قابل مقایسه با روز ۶۰ نمونه شاهد و حتی کمتر از آن نیز بود ($4/3$ لوگ کلنی بر گرم)؛ که این نشان دهنده برابری و حفظ کیفیت خاویار بعد از ۱۵۰ روز در خاویار پوشش داده شده با کیتوزان همراه ناتامایسن ۴۰ نسبت به نمونه شاهد در روز ۶۰ می‌باشد.

تیوباربتیوریک اسید به عنوان یکی از شاخص‌های اکسیداسیون چربی محسوب می‌گردد بر اساس گزارش باین و همکاران در سال ۲۰۰۳، برگشت طعم و رنسیدیتة مواد غذایی بخصوص آبزیان در مرز بالای 1 mg MDA قابل ارزیابی می‌باشد (Byun et al., 2003). مقدار اولیه TBA در تمامی نمونه‌های خاویار شاهد و پوشش داده شده $0/4 \text{ mg MDA/Kg}$ بود که این مقدار با گذشت زمان نگهداری در تمامی نمونه‌ها یک روند صعودی داشت و این روند در نمونه شاهد به مراتب سریعتر از نمونه‌های خاویار پوشش داده شده با کیتوزان

بود. بطوریکه مقدار TBA اندازه‌گیری شده برای تیمار ۹ (کیتوزان) در روز ۹۰ و ۱۵۰ نگهداری بترتیب برابر mg MDA/Kg ۵۶ و ۲/۴۸ و برای تیمار ۴ معادل mg MDA/Kg ۱/۵ و ۲/۳۵ و برای نمونه شاهد بترتیب mg MDA/Kg ۲/۷۵ و ۳/۷۸ بودند. بررسی داده‌های فوق نشان داد که به رغم آنکه مقدار TBA در روز ۹۰ نگهداری برای تمامی نمونه‌های خاویار پوشش داده شده با کیتوزان در مقایسه با مقدار TBA نمونه شاهد در رنج مجاز بود، ولی به لحاظ تجزیه واریانس داده‌ها تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای کیتوزان و نمونه شاهد وجود نداشت.

تجزیه و تحلیل مقایسه اختلاف میانگین ازت آزاد تیمارهای خاویار و نمونه شاهد نشان می‌دهد تیمارهای پوشش داده شده با کیتوزان به لحاظ کنترل TVB-N در زمان ماندگاری تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) درمقایسه با نمونه شاهد دارد. TVB-N موجود در نمونه شاهد در روزهای ۶۰، ۹۰، ۱۵۰ بترتیب برابر ۲۸/۵۷ و ۳۱/۳۵ و ۴۲ میلی‌گرم می‌باشد در صورتی که مقدار TVB-N تیمار ۹ و ۴ در روز ۱۵۰ نگهداری بترتیب برابر ۲۸/۹ و ۲۵/۵۷ میلی گرم در ۱۰۰ گرم خاویار بوده که کمتر از روز ۶۰ نمونه شاهد می‌باشد و این موید این هست که پوشش کیتوزان به تنهایی می‌تواند خاویار را به لحاظ کنترل TVB-N به مدت حداقل ۶۰ روز بهبود ببخشد.

عدد پراکسید همانند سایر فاکتورهای کیفی در مدت زمان نگهداری و در همه نمونه‌ها از جمله نمونه تیمار و شاهد دارای یک افزایش تدریجی می‌باشد ولی این افزایش در نمونه شاهد از سرعت بیشتری برخوردار می‌باشد. واریانس داده‌های فوق نشان می‌دهد که افزایش پراکسید تیمارهای پوشش داده شده با کیتوزان در زمان نگهداری دارای تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) در مقایسه با نمونه شاهد می‌باشد. مقدار عدد پراکسید اولیه تمامی نمونه‌ها به طور متوسط حدود $0/5$ میلی اکسی والان بر کیلوگرم گزارش گردید که این عدد در روزهای ۹۰ و ۱۵۰ نگهداری در نمونه شاهد به مقدار $4/5$ و $5/34$ میلی اکسی والان افزایش پیدا کرد. این درحالیست که مقدار عدد پراکسید در تیمار ۹ و ۴ در روزه ۱۵۰ بترتیب حداکثر $2/59$ و $2/6$ ۱۴۷

¹ -Malondialdehyde

می‌باشد. نتایج نشان دهنده این می‌باشد که علیرغم اینکه مقدار پراکسید در تمامی نمونه‌ها کمتر از حد مجاز استاندارد تعیین شده یعنی ۱۰ میلی‌اکی‌والان در روغن و چربی‌ها می‌باشد (Romeu-Nadal *et al.*, 2007)، ولی مقایسه دو نمونه تیمار و شاهد نشان می‌دهد که خاویارهای پوشش داده شده با کیتوزان در روز ۱۵۰ به لحاظ عدد پراکسید، وضعیت بهتری نسبت به نمونه شاهد در روز ۹۰ نگهداری دارند.

مقدار اسیدهای چرب آزاد در هر دو گروه شاهد و تیمار براساس زمان نگهداری و نوع پوشش به صورت معنی‌داری ($p < 0.05$) دارای یک روند افزایشی بوده است. ولی این مقدار در هر دو نمونه از حد قابل قبول ۳-۴ درصد اولئیک اسید چرب آزاد در روغن و چربی (Tolouie *et al.*, 2006) تجاوز نکرده است. نکته قابل توجه این است که روند افزایشی اسید چرب آزاد در نمونه‌های پوشش داده شده با کیتوزان بسیار کندتر از نمونه شاهد می‌باشد ($p < 0.05$) بطوریکه تیمار FFA و ۹۰ در روز ۱۵۰ بترتیب ۱/۸۸ و ۱/۳۹ درصد اولئیک اسید بوده که قابل مقایسه با FFA روز ۹۰ نمونه شاهد (۲/۱۲ درصد) بوده و کمتر از آن نیز می‌باشد ($p > 0.05$).

تغییرات خواص حسی معنی‌داری در نمونه شاهد و تیمارهای مختلف کیتوزان مشاهده نگردید ($p > 0.05$) و این نشان دهنده این می‌باشد که پوشش کیتوزان علیرغم افزایش ماندگاری فاقد هر گونه اثر سوء در خواص حسی خاویار می‌باشد.

با توجه به نتایج حاصله تمامی تیمارهای خاویار پوشش داده شده با کیتوزان، به لحاظ رشد میکروبی و فاکتورهای شیمیایی وارگانولپتیک، شرایط بهتری نسبت به نمونه شاهد (استاندارد) داشته‌اند و ماندگاری خاویار را با توجه به نوع تیمار از ۶۰-۹۰ روز بهبود بخشیده‌اند. دستاورد قابل تأمل در این پروژه اینست که نتایج نشان داد: ۱- کیتوزان به تنهایی و بدون حضور هیچکدام از نگهدارنده‌های دیگر می‌تواند مدت زمان ماندگاری خاویار را نسبت به عمل‌آوری استاندارد و روتین تا ۶۰ روز بهبود ببخشد و هیچ گونه اثر سوئی در خواص حسی خاویار به لحاظ طعم و بو و بافت ایجاد نکند، ۲- لیزوزیم به عنوان یک آنتی

باکتریال تخصصی برای باکتری‌های گرم مثبت نقش بارزی در افزایش ماندگاری خاویار ایفاء نمی‌نماید که این می‌تواند به دلیل اختصاصی و محدود بودن طیف آنتی باکتریال لیزوزیم باشد، ۳- ناتامایسین به عنوان یک ضد قارچ طبیعی نقش مهمی را در افزایش ماندگاری خاویار دارد که در این میان ناتامایسین ۴۰ ppm بهترین عملکرد را بخود اختصاص می‌دهد، ۴- کیتوزان و ناتامایسین ۴۰ در کنار هم دارای اثرهم افزایی هستند و سبب افزایش طول زمان ماندگاری خاویار تا ۹۰ روز می‌گردند و ۵- ناتامایسین ۲۰ ppm نانو در خصوص افزایش ماندگاری خاویار عملکردی شبیه ناتامایسین ۴۰ ایفاء می‌کند که این امر بدلیل کاهش استفاده از مواد نگهدارنده نقش نانو تکنولوژی را در نگهداری مواد غذایی برجسته تر می‌کند. در تحقیقات مشابه صورت گرفته در این خصوص توسط محققین دیگر بیشترین افزایش ماندگاری کیتوزان مربوط به تحقیقات Fan و همکاران (۲۰۰۹)، بوده است که ماندگاری فیله ماهی کپور را در دمای منفی ۳ درجه به مدت ۳۰ روز بهبود بخشیده است و این در حالیست که پوشش کیتوزان در این تحقیق به تنهایی و بدون هیچ نگهدارنده دیگری مدت ماندگاری خاویار را در مقایسه با نمونه استاندارد به مدت ۶۰ روز بهبود بخشیده است. مضاف بر اینکه استفاده از ذرات نانویی ناتامایسین در کنار کیتوزان، این ماندگاری را تا ۹۰ روز افزایش می‌دهد. تحقیقات فوق نشان داد که کیتوزان به عنوان یک نگهدارنده وسیع‌الطیف، طبیعی، تجدیدپذیر و مورد وثوق مصرف‌کننده و سازمان‌های ذیربط در سلامت و بهداشت مواد غذایی مانند (FAO, WHO¹, JECFA, FDA) می‌تواند به تنهایی و بدون استفاده از هر گونه تیمار حرارتی و نگهدارنده‌های شیمیایی ماندگاری خاویار را به عنوان یک کالای ارزشمند و استرژیک با حفظ خواص حسی به مدت ۶۰ روز افزایش دهد و این امر می‌تواند کمک شایانی در صنعت خاویار، علی‌الخصوص در بحث صادرات که دارای پروسه زمانبری می‌باشد، داشته باشد. از دستاورد دیگر این تحقیق کارآیی استفاده از نانو تکنولوژی در

¹ -World Health Organizatio

قسمت ۱: شمارش کلنی در ۳۰ درجه سانتیگراد با استفاده از روش کشت آمیخته، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۱-۵۲۷۲
آذری تاکامی، ق.، ۱۳۸۸. تکثیر و پرورش تاس ماهیان (ماهیان خاویاری). تهران، انتشارات دانشگاه تهران، ۴۰۶ صفحه

بهمنی، م.، ۱۳۸۴. خاویار ایران. انتشارات موج سبز و تکنولوژی آموزشی وزارت جهاد کشاورزی، ۱۰۳ صفحه
صفری، ر. و یعقوب زاده، ز. ۱۳۹۴. اثر ترکیبی نایسین و استات سدیم بر افزایش زمان ماندگاری ماهی قزل آلاي رنگین کمان (*Onchrohynchus mykiss*) شکم خالی. مجله علمی شیلات ایران، ۴: ۱۵۵-۱۵۹ DOI: 10.22092/ISFJ.2017.110214

کیوان، ا.، ۱۳۵۰. تکنولوژی خاویار در ایران. انستیتو خاویار و تغذیه ایران، چاپ دوم، شماره ۲۷، ص ۵۵
مرادی، س.، **مطلبی، ع.**، **انوار، س.**، **اهری، ح.**، **بهشتی ها شیرازی، ح.**، **رکنی، ن.**، **سهرابی حقدوست، ن.**، **مختاری، ع.**، **وحید، س.**، **رحمان نیا، ه.** و **علی محمدی، ن.**، ۱۳۹۴. افزایش زمان ماندگاری خاویار ایرانی با استفاده از لفاف های نانو نقره برپایه دی اکسید تیتانیوم و تعیین میزان باقی ماندگی ذرات به روش تیتراسیون، فصلنامه علمی-پژوهشی پاتوبیولوژی مقایسه ای دانشکده دامپزشکی دانشگاه علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد، دوره ۱۲، شماره ۱ ص ۱۵۶۰-۱۵۴۹.

مسگران، ن. و رومیانی، ل.، ۱۳۹۷. اثر نایسین، سدیم لاکتات، بسته بندی اتمسفر تغییر یافته بر ماندگاری برگر کپور نقره ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) مجله علمی شیلات ایران. سال بیست و هفتم/ شماره ۲، ص ۹۱-۱۰۴ DOI:10.22092/ISFJ.2018.116718

مطلبی، ع. و اهری، ح.، ۱۳۹۰. بهداشت و صنایع مواد غذایی دریایی. موسسه تحقیقات شیلات ایران - مدیریت اطلاعات علمی، ۱۰۴ صفحه

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۷. روغن ها و چربی های گیاهی و حیوانی اندازه گیری ۱۴۹

کاهش استفاده حداقلی از نگهدارنده هایی مانند ناتامایسین می باشد. نهایتاً اینکه کاربرد پوشش های طبیعی دارای خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی به تنهایی و یا توأم با اسید های آلی می تواند ضمن کاهش فرآورده های اکسیداسیون، گامی مؤثر در بهبود ویژگیهای میکروبی، حفظ کیفیت ارگانولپتیک و افزایش مدت ماندگاری خاویار داشته باشد و زمینه استفاده ی کاربردی از این ترکیبات را در مقایسه با ترکیبات ساختگی نه تنها در خاویار بلکه در سایر مواد غذایی مشابه نیز فراهم نماید.

منابع

احمدیان، ش.، ۱۳۸۵. جزوه آموزشی آماده سازی نمونه های بیولوژیکی برای عکس برداری TEM تهران. انتشارات دانشگاه تهران، ۶۰ صفحه

استاندارد ملی ایران، ۱۳۸۷. روغن ها و چربی های گیاهی و حیوانی اندازه گیری مقدار پراکسید به روش یدو متری-تعیین نقطه پایانی به روش چشمی، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۴۱۷۹.

استاندارد ملی ایران، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۴. خاویار-ویزگی ویزگی ها و روش آزمون. تجدید نظر دوم، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۱۸۶

استاندارد ملی ایران، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۹۰. روغن ها و چربی های گیاهی و حیوانی اندازه گیری عدد اسیدی و اسیدیته. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۴۱۷۸.

استاندارد ملی موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۷. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جامع برای شمارش کپک ها و مخمرها-قسمت اول: روش شمارش کلی در فراورده های با فعالیت آبی بیشتر از ۰.۹۵، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۱۰۸۹۹.

استاندارد ملی موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۹۳. میکروبیولوژی زنجیره مواد غذایی- روش جامع برای شمارش میکروارگانیسم ها-

- refrigerated storage. *Journal of Ocean University of China*, 11(3): 408-412. DOI: 10.1007/s11802-012-1923-9
- Chaudhry, Q., Castle, L. and Watkins, R., 2010.** Nanotechnologies in Food, Cambridge, UK. R S C Publishing. pp 86-99
- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. and Chi, Y., 2009.** Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*, 115(1): 66-70. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.11.060
- Goy, R.C., Britto, D.D. and Assis, O.B., 2009.** A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros*, 19(3): 241-247. DOI: 10.1590/S0104-14282009000300013
- Hamilton, R.J., 1983.** The chemistry of rancidity in foods. In Rancidity in Foods', (JC Allen and RJ Hamilton, Eds).
- ISO 2200, 2005.** Food Safety Management System Requirements for any organization in the food chain. <http://www.iso.org>
- JECFA, 1991.** *Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)*
- JECFA, 2001.** Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Natamycin.
- Jeyakumari, A., Ninan, G., Joshy, C.G., Parvathy, U., Zynudheen, A.A. and Lalitha, K.V., 2016.** Effect of chitosan on shelf life of restructured fish products from pangasius (*pangasianodon hypophthalmus*). *Journal of food science and technology*, مقدار پراکسید به روش یدو متری-تعیین نقطه پایانی به روش چشمی، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۴۱۷۹
- AOAC, 2002.** Official methods of analysis (17th Ed). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- AOCS, 1998.** Official methods and recommended practice of American oil chemist's society, official methods and recommended practices. Champaign, Illinois, USA; AOCS press
- APHA (American Public Health Association), 1998.** Compendium of methods for the microbiological examination of foods (3rd Ed.). Washington, DC: APHA.
- Aubourg, S.P., 2001.** Damage detection in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) during chilled storage. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(8): 857-862. DOI: 10.1007/s11746-001-0355-3
- Ayache, J., Beaunier, L., Boumendil, J., Ehret, G. and Laub, D., 2010.** Sample Preparation Handbook for Transmission Electron Microscopy. Springer Science+Business Media, p104-116 DOI: 10.1007/978-0-387-98182-6
- Byun, J.S., Min, J.S., Kim, I.S., Kim, J.W., Chung, M.S. and Lee, M., 2003.** Comparison of indicators of microbial quality of meat during aerobic cold storage. *Journal of Food Protection*, 66(9): 1733-1737.
- Cao, R., Liu, Q., Yin, B. and Wu, B., 2012.** Chitosan extends the shelf-life of filleted tilapia (*Oreochromis niloticus*) during

- 53(4): 2099-2107. DOI: 10.1007/s13197-016-2174-3
- Meilgaard, M.C., Carr, B.T. and Civille, G.V., 2016.** Sensory evaluation techniques. CRC press, pp 275-381. DOI: 10.1201/9781439832271.
- Rhim, J.W., Hong, S.I., Park, H.M. and Ng, P.K., 2006.** Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(16): 5814-5822. DOI: 10.1021/jf060658h.
- Romeu-Nadal, M., Chavez-Servin, J.L., Castellote, A.I., Rivero, M. and Lopez-Sabater, M.C., 2007.** Oxidation stability of the lipid fraction in milk powder formulas. *Food Chemistry*, 100(2): 756-763. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.10.037.
- Salmani, A., Safari, R. Soltani, M. and Tavakoli, H, R 2009.** Growth and toxigenesis behavior of *Clostridium botulinum* type E in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) Caviar prepared with various preservatives. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 3, 1:17-23. DOI: 10.22059/ijvm.2009.19611.
- Select Committee on GRAS Substances (SCGOS), 1977.** SCGOS Opinion: Acetic Acid, Sodium acetate, Sodium diacetate
- Sequeira-Munoz, A., Chevalier, D., Simpson, B.K., Le Bail, A. and Ramaswamy, H.S., 2006.** Effect of pressure-shift freezing versus air-blast freezing of carp (*Cyprinus carpio*) fillets: a storage study. *Journal of Food Biochemistry*, 29(5): 504-516. DOI: 10.1111/j.1745-4514.2005.00034.x
- Tapilatu, Y., Nugraheni, P.S., Ginzel, T., Latumahina, M., Limmon, G.V. and Budhijanto, W., 2016.** Nano-chitosan Utilization for Fresh Yellowfin Tuna Preservation. *Aquatic Procedia*, 7: 285-295. DOI: 10.1016/j.aqpro.2016.07.040.
- Tolouie, H., Mohtadi Nia, J., Shakibi, A. and Jalaliani, H., 2013.** Effect of chitosan coating farmed trout (*Oncorhynchus mykiss*) that enriched with α -tocopherol on lipid damages during refrigerated storage. *Journal of Applied and Basic Scientific Research*, 3(1), pp.174-82.

Evaluation of the effect of chitosan loaded with Natamycin nanoparticles, lysozyme and acetic acid on shelf life of Siberian Sturgeon (*Acipenser baeri*) Caviar

Khorram B.¹; Motalebi A.A.^{1*}; Razavilar V.¹

motalebi@ifro.ir

1-Department of Food Hygiene and Quality control, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Caviar is one of the most important export products of Iran's fisheries industry. Because of the unpasteurized nature of the process, it is very vulnerable to spoilage. This study was carried out to evaluate the feasibility of chitosan, a natural antimicrobial substance which combined with other preservatives such as acetic acid, lysozyme and Natamycin (traditional and nanoparticles) to improve the caviar shelf life. The effect of chitosan coating was carefully studied within 150 days storage time at zero to -3° C in a standard situation. Both the caviar wrapped by chitosan treatments and the control sample were packed in commercial glass Jars. Microbiological, Chemical and sensory analyses were done during storage time according to the Iranian national standard. Total Viable Count of chitosan and chitosan with Natamycin 40 ppm coated caviar samples was observed to be increasing more slowly than control sample and reached 5 and 4.8 log₁₀ CFU/g respectively on the 150th day of storage time, while the TVC of control sample reached about 5.3 log₁₀ CFU/g on the 60th day of the storage time. Results showed the effect of chitosan coating on caviar samples was to maintain their good quality characteristics and extend the shelf life of caviar significantly (p<0.05) about 60 days in contrast with standard sample. In addition, Nano Natamycin 20 ppm is similar to Natamycin 40 ppm in terms of shelf life extension.

Keyword: *Acipenser baeri*, Caviar, Chitosan, Shelf life, Storage time, Nanoparticles

*Corresponding author