

تتبع جودة وطزاجة سمك الخشني *Liza abu* L. المحفوظة بالتبريد والمعاملة بالكايتوسان باستخدام أدلة ميكروبية وكيميائية وحسية

صباح مالك حبيب الشطي¹، جلال محمد عيسى النور² وعادل يعقوب يوسف الديكل²

1 قسم علوم الأغذية والتقانات الإحيائية، كلية الزراعة، جامعة البصرة، البصرة، العراق

2 قسم الأسماك والثروة البحرية، كلية الزراعة، جامعة البصرة، البصرة، العراق

الخلاصة. تم متابعة تقييم جودة وطزاجة أسماك الخشني *Liza abu* L. المحفوظة بالتبريد بدرجة حرارة 4°م والمعاملة بمحلول الكايتوسان تركيز 1% ولمدة 12 يوم باستخدام الأدلة الكيميائية (الأس الهيدروجيني والنترجين الكلي المتطاير ورقم حامض الثايوباربيتورك والأحماض الدهنية الحرة) والحسية (اللون، الرائحة، والقوام، والمظهر العام) والفحوصات الميكروبية (عد البكتريا الهوائية الكلية وبكتريا القولون والبكتريا المحبة للبرودة والبكتريا المحللة للدهن والبكتريا المحللة للبروتين والخمائر والأعفان) والمحتوى الكيميائي (الرطوبة والبروتين والرماد، والدهن). أظهرت النتائج إمكانية حفظ سمك الخشني في التبريد بدرجة حرارة 4°م والمعاملة بمحلول الكايتوسان تركيز 1% حتى اليوم 12 من الخزن، في حين حصلت تغيرات في الصفات الحسية والكيميائية والميكروبية للأسماك غير المعاملة بالكايتوسان في اليوم الثالث وهي دلالة على بداية التدهور والنوعية والمظهر غير المرغوب، كما أشارت النتائج الى ضرورة العناية بتداول الأسماك بدأ من الصيد ولحين إيصالها للمستهلك عن طريق تبريدها والتداول السليم للأسماك المبردة.

المقدمة

الأسماك ومنتجاتها من المواد الغذائية سريعة التلف والفساد وتصبح غير صالحة للاستهلاك البشري لعدة أسباب منها تلوثها بالأحياء المجهرية سواء على سطحها الخارجي أو جهازها الهضمي أو في الغلاصم فضلاً عن رطوبتها العالية والأس الهيدروجيني القريب من التعادل وأحتوائها على المغذيات المهمة التي تحتاجها الأحياء المجهرية للنمو فضلاً عن أحتوائها على الدهن ونوعية هذا الدهن الغني بالأحماض الدهنية غير المشبعة هو الآخر من الأمور المشجعة لسرعة التزنخ والتلف (32). ويعود تلف وفساد الأسماك الى النمو الميكروبي والتغيرات الكيميائية والتحولات الداخلية بفعل الأنزيمات أو العوامل ثلاثة مجتمعة (31 ، 44) لذا يستوجب الأمر حفظ الأسماك ومنتجاتها بصورة جيدة، ويمكن استخدام التبريد كوسيلة للحفظ الا أنها لاتفي وحدها بالغرض لحفظ الأسماك لمدة طويلة إذ قد ينجح التبريد في حفظ الأسماك ومنتجاتها لفترة قليلة لذا استخدمت في الآونة الأخيرة ظاهرة تغليف الأسماك بأغلفة طبيعية تساعد هذه الأغذية على المحافظة على النوعية الجيدة للأسماك وإطالة العمر الخزني لها (2). أجريت العديد من الدراسات حول الأغلفة الطبيعية المستخلصة من الكايتوسان ودورها في تقليل تلف وفساد الأسماك (8) ، أن أغلفة الكايتوسان تؤخر حدوث عملية أكسدة الدهون (35,45)، فضلاً عن ذلك يمتلك الكايتوسان فعالية عالية ضد الأحياء المجهرية والبكتريا المسببة للتسمم الغذائي (47) وتعود فعالية الكايتوسان العالية والمضادة للبكتريا الى الوزن الجزيئي وعلى درجة إزالة مجاميع الأسيل (18,33). ويصنع الكايتوسان تجارياً من مخلفات الهيكل الخارجي للسرطان البحري والروبيان بخطوات تتضمن إزالة البروتينات وإزالة العناصر المعدنية وإزالة الصبغات وأخيراً إزالة مجاميع الأسيتيل جزيئاً أو كلياً

(48). ونظراً لأهمية الكيتوسان وأستخداماته الواسعة لذا ارتأينا القيام بهذه الدراسة لثبات مدى فعاليته في أطالة فترة الحفظ والفساد لسماك الخشني.

المواد وطرق العمل

العينات الطازجة

تم الحصول على أسماك الخشني *Liza abu* L. الطازجة من الأسواق المحلية لمدينة البصرة حيث نقلت مباشرة في صندوق فلين بعد خلطها بمجروش الثلج لحين وصولها المختبر خلال فترة لا تتجاوز 3 ساعات وكانت درجة حرارة الأسماك عند وصولها المختبر بحدود 4 ± 1 °م ، تم غسل الأسماك وتنظيفها بماء الحنفية للتخلص من المواد العالقة وأخذت منها عينة عشوائية لأجراء التحليلات عليها.

تحضير محلول الكايتوسان وغمر الأسماك

حضر محلول الكايتوسان المستخلص من مخلفات الروبيان والسرطان البحري وذلك بإذابة الكايتوسان بتركيز 1% في حامض الخليك 1%، قسمت الأسماك الى أربعة مجاميع غطست المجموعة الأولى بمحلول الكايتوسان المستخلص من قشور الروبيان ورمز لها بالرمز (A)، والمجموعة الثانية بمحلول الكايتوسان المستخلص من مخلفات السرطان البحري (B) أما العينة الثالثة فقد غطست بحامض الخليك بتركيز 1% (C) وتركبت المجموعة الرابعة من العينات للسيطرة وبدون معاملة (D)، تركت العينات في الهواء لمدة 15 دقيقة لتجف الأغلفة الرقيقة حول الأسماك وحفظت الأسماك في الثلاجة وعلى درجة حرارة 4°م ولمدة 12 يوم وتم من خلالها متابعة التغيرات والتدهور بالنوعية من خلال دراسة الصفات الحسية والأدلة الكيميائية والفحوصات الميكروبية والمحتوى الكيميائي.

التركيب الكيميائي

قدر البروتين بطريقة كدال Semi- micro Kjeldahl حيث أستخدمت طريقة في تقدير النتروجين الكلي وضربت القيمة في معامل تحويل البروتين (N x6.25) للحصول على محتوى البروتين وقد أستخدم دليل سكرين المثلث الأحمر، أما الدهن فقدر بطريقة Soxhlet وبأستخدام الأيثر البترولي في حين قدرت الرطوبة من خلال التجفيف بالفرن الحراري Oven على درجة 105 °م لليوم التالي أما الرماد فقدر من خلال الحرق بفرن الترميد Muffle Furnace بدرجة 525 °م ولغاية الحصول على الرماد الأبيض (23).

الأختبارات الكيميائية

شملت الأختبارات النوعية والكيميائية كل من القواعد النتروجينية الطيارة الكلية TVNB وقيمة حامض الثايبايبتيورك TBA وقيمة الحموضة Acid Value والتي قدرت بالأستناد إلى الطريقة المذكورة في (23). حيث تضمنت عملية تقدير القواعد النتروجينية الطيارة الكلية بتقطير مثرور اللحم مع اوكسيد المغنيسيوم الثقيل على 4 %حامض البوريك مع 0.1 ع حامض الهيدروكلوريك وتمثل النتيجة (ملغم نتروجين لكل 100 غم سمك)، بينما شملت طريقة تقدير قيمة الحموضة من خلال تقدير محتوى الاحماض الدهنية الحرة من مزج مثرور السمك مع الايثانول المتعادل ثم المعايرة

مع 0.1 ع هيدروكسيد الصوديوم. وتم حساب كمية الاحماض الدهنية الحرة على اساس حامض الاوليك %. اما قياس الاس الهيدروجيني للحم فقد تضمن اخذ 10 غم من مثروم اللحم ومزجه جيدا مع 10 مل من كلوريد الصوديوم (150 ما يكرمومول) وترك المزيج جانبا لمدة 10 دقائق قبل قياس الاس الهيدروجيني (51). اما اختبار قيمة حامض الثايوباريتيورك فتضمن مزج السائل المقطر البخاري لمثروم لحم السمك مع كاشف حامض الثايوباريتيورك وحفظ الخليط في حمام مائي بدرجة الغليان لمدة 45 دقيقة والتبريد لمدة 10 دقائق وبعدها قراءة الامتصاصات على طول موجي مقداره 538 نانومتر وتمثل القراءة قيمة حامض الثايوباريتيورك على اساس (ملغم مالون الديهايد /كغم سمك).

التقييم الحسي

أجريت الفحوصات الحسية لأسماك الخشني المبردة والمعاملة بالكلتوسان اللون والرائحة ولون الغلاصم والعيون والقوام والرائحة والتقبل العام حسب الطريقة المذكورة في (4).

الأختبارات الميكروبية

تم تقدير الأعداد الميكروبية للحم السمك خلال مدة الحفظ وذلك بأخذ 10غم من لحم السمك المفروم الذي يضاف إلى 90 مل محلول ماء الببتون المعقم 0.1% ثم يخلط جيداً لتحضير تخفيف 10^{-1} ومنه حضرت بقية التخفيف العشرية وأستخدمت طريقة الصب بالأطباق وبعدها أجريت التحليلات اللازمة بالاعتماد على الطريقة المذكورة في (11,12) والفحوصات التي أجريت مبينة في الجدول (1).

جدول 1. أنواع الفحوصات الميكروبية المستخدمة في الدراسة.

المصدر	الملاحظات	درجة حرارة الحضانة (°م)	مدة الحضانة (ساعة)	الوسط الغذائي	الفحص الميكروبي
(12)	حسبت المستعمرات النامية بين 30 - 300	32	48 - 24	Nutrient agar (oxid)	العدد الكلي البكتيري
(11)	حسبت المستعمرات النامية	4	7 - 5 يوم	Nutrient agar (oxid)	عد البكتيريا المحبة للبرودة
(27)	حسبت المستعمرات المحاطة بهالة شفافة	32	48 - 24	Nutrient agar+10% skim milk (oxid)	عد البكتيريا المحللة للبروتين
(15)	حسبت المستعمرات الصافية الشفافة	32	48 - 24	Nutrient agar+1% tween 80 (oxid)	عد البكتيريا المحللة للدهن
(12)	حسبت المستعمرات الحمراء والوردية	37	48 - 24	MacConkey agar (oxid)	عد بكتيريا القولون الكلية
(12)	عد الخمائر النامية	25	96 - 72	Malt extract agar (Himedia)	عد الفطريات

التصميم والتحليل الإحصائي

حللت النتائج أحصائياً بالبرنامج الإحصائي الجاهز (2001) Spss باستخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) Complete Randomized Design وأختبرت العوامل المدروسة باستخدام أقل فرق معنوي المعدل R.L.S.D عند مستوى احتمال (0.01).

النتائج والمناقشة

يبين الجدول (2) التركيب الكيميائي للحم أسماك الخشني حيث يتضح من هذه النتائج أن سمك الخشني غنية بالبروتين حيث كانت المعدل 18.12 % ، ومتوسطة بنسبة الدهن أي أنها أسماك لحمية وبلغت نسبة الدهن فيها 3.10 % وهذا يتفق مع (2، 6).

جدول 2. التركيب الكيميائي لأسماك الخشني.

المكونات	%*
الرطوبة	76.44
البروتين (N x 6.25)	18.12
الدهن	3.10
الرماد	2.24

* القراءة تمثل المعدل لثلاث مكررات

وبينت نتائج الدراسة حصول زيادة تدريجية في الدلائل النوعية والكيميائية للأسماك المحفوظة لمدة 12 يوم، ويظهر جدول (3) التغير في الرقم الهيدروجيني حيث لوحظ حصول زيادة تدريجية في قيمة الأس الهيدروجيني pH مع أطالة فترة الخزن المبرد اذ بلغت أعلى قيمة للأس الهيدروجيني 7.61 ، 7.97 للعينة C و D على التوالي عند زمن 12 يوم في حين كانت قيمتها 6.94 ، 6.71 للعينات المعاملة بمحلول الكايتوسان A و B وبنفس الترتيب، وقد بينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية عند مستوى معنوي ($p > 0.01$) لتغيرات الرقم الهيدروجيني خلال مدة الخزن ولجميع المعاملات يعزى هذا الارتفاع الى نشاط الأحياء المجهرية لكون لحوم الأسماك مادة بروتينية ومن الممكن أن تتحلل بفعل الأحياء المجهرية لينتج قواعد نيتروجينية طيارة مسببة ارتفاع الأس الهيدروجيني بالاتجاه القاعدي ويعد الأس الهيدروجيني (pH) مقياساً مباشر لمدى التحلل في المواد الكربوهيدراتية ولاسيما الكلايكوجين بعد موت السمكة وتحوله إلى حامض اللاكتيك (29). وأنفقت نتائج الدراسة مع دراسة جاسم وفارس (4) وجاسم والشطي (5) حيث وجدوا حصول زيادة في قيم الأس الهيدروجيني للأسماك المخزونة بالتبريد. وفي الوقت نفسه لوحظ بأن الأسماك المعاملة بالكايتوسان ارتفعت قيم الأس الهيدروجيني فيها لكن الى الحدود المقبولة للاستهلاك البشري، حيث ذكر Huss (30) أن قيم الأس الهيدروجيني للأسماك بعد الصيد تتراوح بين 6.0 – 6.5 وتعتبر الأسماك مقبولة لغاية

وصول الأس الهيدروجيني إلى 6.8 لكنها تعتبر تالفة عند وصول الأس الهيدروجيني إلى 7 ويعزى سبب بقاء القيم ضمن الحدود الطبيعية الى استخدام الكيتوسان بشكل أغلفة مما يعمل على خفض المحتوى الميكروبي والتحلات الأنزيمية. حيث بين Nejadi Hafdani and Sadeghinia (42) استعمال الكيتوسان عادة لإطالة الفترة الخزن للمواد الغذائية من خلال نشاطه العالي في الخزن.

ولنفس الأسباب يلاحظ ارتفاع قيمة النتروجين الكلي الطيار (ملغم نتروجين/100غم سمك) مع التقدم بفترة الحفظ حيث يوضح جدول (4) قيم النتروجين الكلي الطيار فكان أدنى متوسط لها 14،14،14، 16.8 ملغم نتروجين/100غم سمك لكل من العينة D,C,B,A على التوالي وبلغ أعلى متوسط لها بعد مرور 12 يوم من الخزن بالتبريد 24، 21، 97.8، 112 ملغم نتروجين/100غم سمك لكل من العينة D,C,B,A على التوالي وقد بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى معنوي ($p < 0.01$) لقيم القواعد النتروجينية الطيارة خلال مدة الخزن ولكل المعاملات. وقد يعزى سبب ارتفاع قيم القواعد النتروجينية الطيارة إلى حدوث تحلل أنزيمي للمواد البروتينية مما يزيد من أفراد مجاميع النتروجين وإنتاج المركبات النتروجينية مع زيادة مدة الحفظ (25). وهذه النتائج تتفق مع ما وجدته الدراسات السابقة (1,26,40) إذ وجدوا زيادة في قيم القواعد النتروجينية الطيارة مع زيادة مدة الخزن بالتجميد، وتعد قيمة القواعد النتروجينية الطيارة المستحصلة في العينات المغلفة بالكيتوسان في هذه الدراسة مقبولة حسب Connell (20) والذي أشار بأن الأسماك تفقد طراحتها وتصبح غير مقبولة إذا تراوحت قيمتها بين (30 – 35) ملغم نتروجين/100غم لحم سمك. ويعود السبب الى وجود الكيتوسان لذلك فإن استخدام الكيتوسان يعتبر من المكونات التي تعمل على خفض نسبة التلف الناتج بفعل التحلات الأنزيمية (43).

جدول 3. قيمة الرقم الهيدروجيني لأسماك الخشني المعاملة بالكيتوسان والمحافظة بالتبريد 4م°.

المعاملات				مدة الحفظ
D	C	B	A	(يوم)
6.5	6.5	6.5	6.5	0
6.96	6.49	6.3	6.3	1
7.07	6.66	6.55	6.62	3
7.81	6.84	6.60	6.63	5
7.89	6.98	6.60	6.70	7
7.91	7.11	6.62	6.88	10
7.97	7.61	6.71	6.94	12

(D= Control , C= Acid , B= Chitosan crab , A= Chitosan shrimp)

جدول 4. قيمة القواعد النتروجينية الطيارة الكلية (ملغم نتروجين/100 غم سمك) للحم لأسماك الخشني المعاملة بالكيوسان والمحفوظة بالتبريد 4°.

المعاملات				مدة الحفظ
D	C	B	A	(يوم)
13.8	13.8	13.8	13.8	0
16.8	14	14	14	1
53.8	42.4	15	17	3
63	56.6	17	19	5
83	78	17	21	7
109.2	92.8	19	22	10
112	97.8	21	24	12

(D= Control , C= Acid , B= Chitosan crab , A= Chitosan shrimp)

يبين جدول (5) قيمة الحموضة للحم أسماك الخشني المعاملة بالكيوسان والمحفوظة بالتبريد فقد لوحظ ارتفاع لمتوسط قيمة الحموضة للحم مع زيادة مدة الخزن، إذ بلغ أدنى متوسط لها في مدة الخزن 1 يوم 0.28، 0.26، 0.41، 0.55 للحم عينات A ، B ، C ، D على التوالي. وقد أدت عملية التبريد إلى ارتفاع قيمة الحموضة للحم السمك بزيادة مدة الخزن حتى وصلت إلى أعلى قيمة لها 3.14 ، 3.55 للعينات C و D في حين كانت الزيادة في الرقم الحامضي قليلة لعينات الأسماك المعاملة بأغلفة الكايتوسان حتى وصلت إلى 0.91 ، 0.54 لعينة A و B على التوالي بعد مرور 12 يوم من الخزن المبرد وقد بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى معنوي ($p < 0.01$) لقيم الحموضة خلال مدة الخزن ولكل المعاملات وقد يرجع سبب هذا الارتفاع إلى تحلل الدهون بفعل الإنزيمات الذاتية وبفعل نشاط البكتريا المحللة للدهن والتي ينتج عنها أحماض دهنية حرة وبالتالي زيادة قيمة الحموضة (2)، وتعد قيمة الحموضة مقياس للمدى الذي يصل إليه تحلل وهدم الكليسيريدات في الدهن بواسطة أنزيمات اللايبيزات والفسفولايبييزات والتي نتج عنها أحماض دهنية حرة وبالتالي زيادة قيمة الحموضة.

وقد يرجع السبب في تباين قيمة الحموضة وانخفاضها في العينات المعاملة بالكيوسان إلى قابلية الأغلفة من السيطرة على تحلل وهدم الكليسيريدات الثلاثية في الدهون لذلك أشار Karel (34) إلى إمكانية استخدام العديد من المواد الحافظة الطبيعية مثل الكيوسان والذي أثبتت فعالية عالية في تأخير تحلل دهون الأسماك ومنتجاتها أثناء الخزن بفعل الأحياء المجهرية والأنزيمات الذاتية (17) . إذ يمكن حفظ الأسماك المغلفة بأغلفة الكايتوسان بصورة مستقرة لمدة 21 يوم تحت الخزن المبرد (21,22) .

جدول 5. قيمة الأحماض الدهنية الحرة لأسماك الخشني المعاملة بالكيتوسان والمحفوظة بالتبريد 4م°.

المعاملات				مدة الحفظ
D	C	B	A	(يوم)
0.20	0.20	0.20	0.20	0
0.55	0.41	0.26	0.28	1
1.90	0.77	0.30	0.37	3
2.80	1.72	0.36	0.46	5
3.27	2.66	0.42	0.58	7
3.41	2.94	0.48	0.63	10
3.54	3.14	0.54	0.91	12

(D= Control , C= Acid , B= Chitosan crab , A= Chitosan shrimp)

أما رقم حامض الثايوباربيتوريك (ملغم مالونالديهيد/ كغم سمك) والذي يستخدم كدليل للأكسدة التزنخية والتي تحدث لدهون الأسماك فقد ارتفعت القيمة من 2.07 ، 1.93 ، 2.14 ، 2.24 في اليوم الأول من الحفظ لتصل الى 2.97 ، 2.85 ، 3.52 ، 3.80 في اليوم الثاني عشر من الحفظ بالتبريد للعينات A ، B ، C و D على التوالي وكما موضح في الجدول (6) وقد بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى معنوي ($p < 0.01$) لقيم حامض الثايوباربيتوريك خلال مدة الخزن ولكل المعاملات وتشير المصادر بأنه إذا كانت قيمة أكثر من 2 ملغم مالونالديهيد/ كغم سمك فمن المحتمل أن يؤدي ذلك الى ظهور رائحة وطعم تزنخي، فكلما ارتفعت قيمة حامض الثايوباربيتوريك كلما دلت على حصول تفاعلات الأكسدة التزنخية وهذا بدوره يؤثر على تدهور النوعية مع زيادة مدة الخزن. وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصلت إليه الدراسات السابقة (28,13,1) كما لاحظوا Barnett *et al.* (13) زيادة قيمة حامض الثايوباربيتوريك عند خزن سمك السالمون الوردي في الثلج لمدة 15 يوم. وتجدر الإشارة بأن قيم TBA تشير إلى درجة التزنخ وتوضح أنه هناك تدهور في النوعية إذا كانت القيمة أكبر من (3 - 4) ملغم مالونالديهيد/كغم سمك (49). وبينت النتائج عدم تجاوز قيم حامض الثايوباربيتوريك حدود التزنخ في العينات المغلفة بالكيتوسان ويعزى السبب في ذلك الى قدرة الكيتوسان على عمل حاجز مانع بين المنتج والمحيط الخارجي فيقلل من انتشار الأوكسجين الى داخل الشريحة السمكية وبهذا يعيق عملية الأكسدة الذاتية للدهون (9) وأتفقت النتائج مع دراسة Ojagh *et al.* (43) عند استعمال أغلفة الكايتوسان في الحفاظ على أسماك الترووات القزحي أدى الى تأخير حدوث التزنخ للأسماك المخزونة بالتبريد ولمدة 16 يوم بالمقارنة مع عينات السيطرة كما لاحظا Mao and Wu (41) بأن أكسدة الدهون في منتج الكامابوكو المحضر من أسماك الكارب العشبي تناقصت جداً عند أضافه الكايتوسان بتركيز 1%.

جدول 6. قيمة حامض الثايوباربيتوريك (ملغم مالونالديهيد/ كغم سمك) لأسماك الخشني المعاملة بالكيوسان والمحفوظة بالتبريد 4م°.

المعاملات				مدة الحفظ (يوم)
D	C	B	A	
1.89	1.89	1.89	1.89	0
2.24	2.14	1.93	2.07	1
2.56	2.28	2.06	2.17	3
2.87	2.67	2.12	2.22	5
3.26	3.15	2.73	2.83	7
3.64	3.49	2.81	2.90	10
3.80	3.52	2.85	2.97	12

(D= Control , C= Acid , B= Chitosan crab , A= Chitosan shrimp)

وتوضح النتائج في الجدول (7) أعداد البكتريا الكلية للحم أسماك الخشني المغلفة بالكيوسان والمحفوظة بالتبريد على درجة حرارة 4م° حيث وجد أن التغليف بالكيوسان أظهر فعالية عالية لتثبيط الأعداد الميكروبية الكلية مقارنة مع عينة السيطرة ، وقد أنضح حصول زيادة في الأعداد البكتيرية مع زيادة وقت الخزن وبينت النتائج أن الأسماك المعاملة بالكيوسان كانت أقل احتواء بأعداد الميكروبات وتتبعها الأسماك المعاملة بالحامض ومن ثم عينات السيطرة حيث بلغ لوغاريم العدد البكتيري الأولي $10^2 \times 87$ ، $10^2 \times 69$ ، $10^2 \times 282$ و $10^2 \times 520$ cfu/g وأرتفع العدد الى $10^5 \times 271$ ، $10^5 \times 73$ ، $10^7 \times 410$ و $10^8 \times 482$ cfu/ g للعينات A ، B ، C ، D على التوالي. وأن الزيادة في الأعداد الكلية البكتيري مع التقدم بالخرن تتفق مع دراسة جاسم والشطي (5) حول أسماك أبو عوينة المحفوظة بالتلج ودراسة عبد الكريم (7) عند خزن الروبيان في درجة حرارة 7م°. ودراسة (21) Duan *et al.* أذ لوحظوا أن العدد الأولي للبكتريا الكلية الهوائية لأسماك الكود الطازجة كان 3.67 لوغاريم cfu/ g ثم أرتفع بسرعة الى 6.16 و 8.36 لليوم 6 و 14 على التوالي وعند استخدام أغلفة الكيوسان أظهرت النتائج حصول انخفاض بمقدار 0.15 – 0.64 في العدد الكلي البكتيري.

أن استخدام الكيوسان أدى الى خفض المحتوى الميكروبي للعينات ويعزى السبب في ذلك فعاليته العالية ضد الأحياء المجهرية والبكتريا المسببة للتسمم الغذائي (47) حيث أقرح Kong *et al.* (7) أربعة أسباب توضح كفاءة الكيوسان ضد الميكروبات الأول تعود الى عوامل ميكروبية داخلية أو ذاتية مثل نوع الميكروب وعمر الخلية، والثاني عوامل ذاتية لجزيئية الكيوسان وهي بالتحديد كثافة الشحنة الموجبة ومستوى البروتونات في مجموعة الأمين والوزن الجزيئي للكيوسان وتركيزه والخصائص الكارهة والمحبة للماء وقدرة التصاق جزيئاته بالمعادن والمواد الأخرى، أما الثالث فهو الحالة الفيزيائية للكيوسان ذائب بالماء أو صلب، والسبب الرابع هو العوامل البيئية من ضمنها القوة الأيونية لوسط الاختبار والأس الهيدروجيني ودرجة الحرارة ووقت التلامس بين مركب الكيوسان والخلايا البكتيرية.

جدول 7. العدد الكلي البكتيري (cfu/ g) لأسماك الخشنى المعاملة بالكيٲوسان والمحفظة بالتبريد 4م°.

المعاملات				مدة الخزن (يوم)
D	C	B	A	
$10^2 \times 120$	$10^2 \times 120$	$10^2 \times 120$	$10^2 \times 120$	0
$10^2 \times 520$	$10^2 \times 282$	$10^2 \times 69$	$10^2 \times 87$	1
$10^4 \times 320$	$10^4 \times 188$	$10^3 \times 39$	$10^3 \times 45$	3
$10^5 \times 360$	$10^5 \times 100$	$10^4 \times 5$	$10^4 \times 8$	5
$10^7 \times 256$	$10^5 \times 108$	$10^4 \times 26$	$10^4 \times 49$	7
$10^7 \times 408$	$10^6 \times 370$	$10^4 \times 65$	$10^4 \times 252$	10
$10^8 \times 482$	$10^7 \times 410$	$10^5 \times 73$	$10^5 \times 271$	12

(D= Control , C= Acid , B= Chitosan crab , A= Chitosan shrimp)

كما بينت النتائج في الجدول (8) الزيادة في أعداد البكتريا المحبة للبرودة لأسماك الخشنى المعاملة بأغلفة الكيٲوسان والمخزونة بالتبريد بدرجة حرارة 4م° أذ كان لوغاريتم أعداد البكتريا المحبة للبرودة $10^2 \times 9$ ، $10^2 \times 4$ ، $10^2 \times 13$ و $10^2 \times 192$ cfu/ g في اليوم للعينات A ، B ، C ، D على التوالي وأخذت الأعداد بالزيادة التدريجية مع التقدم بفترات الزمن حتى بلغ أعلى معدل للأعداد في اليوم الأخير لعينة السيطرة $10^6 \times 6330$ cfu/ g بالمقارنة مع أعداد البكتريا في العينات المعاملة بالكيٲوسان أذ بلغت أقل معدل في اليوم الأخير لعينة B $10^3 \times 220$ cfu/ g وهذا يدل على أن الكيٲوسان أظهر فعالية تثبيطية عالية ضد البكتريا خلال 12 يوم من الخزن، ويعود السبب في ذلك الى التأثير المثبط للكيٲوسان اتجاه الفعالية البكتيرية فقد ذكر Ojagh *et al.* (43) أن استخدام الكيٲوسان كأغلفة قابلة للأكل تعتبر من المكونات التي تعمل على خفض نسبة التلف والتلوث الميكروبي، وأتفقت النتائج مع دراسة Duan *et al.* (21) حيث وجدوا حصول انخفاض معنوي في الأعداد الكلية والبكتريا المحبة للبرودة في شرائح سمك الكود المخزونة بالتبريد لمدة ثلاثة أشهر.

أما لوغاريتم أعداد البكتريا المحللة للبروتين فقد أرتفع هو الآخر من $10^2 \times 11$ ، $10^2 \times 9$ ، $10^2 \times 30$ و $10^2 \times 200$ cfu/ g في اليوم الأول لتصل الى $10^3 \times 45$ ، $10^3 \times 40$ ، $10^5 \times 60$ و $10^6 \times 495$ cfu/ g في اليوم الأخير من الحفظ بالتبريد للعينات A ، B ، C ، D وبنفس الترتيب جدول (9). وأن الزيادة في أعداد البكتريا المحللة للبروتين للأسماك ومنتجاتها خلال الخزن بالتبريد هي زيادة طبيعية لكون الأسماك مادة بروتينه مما يشجع نمو البكتريا (14)، وبينت النتائج أن معاملة الأسماك بالكيٲوسان أدى الى انخفاض عدد البكتريا المحللة للبروتين بالمقارنة مع عينة السيطرة الخالية من الكيٲوسان، أذ يمتاز مركب الكيٲوسان بقابليته العالية على خفض المحتوى الميكروبي (10). وأشار Chung *et al.* (19) الى العلاقة بين نشاط الكيٲوسان المضاد للبكتريا والخصائص السطحية لجدار الخلايا الميكروبية الموجبة والسالبة لصبغة كرام حيث لاحظوا أن الكيٲوسان يكون أكثر تأثيراً على البكتريا السالبة لصبغة كرام مسبباً تغييراً كبيراً في غشاء الخلية ونفاذيتها. وجاءت النتائج متفقة مع الدراسات السابقة (38,39) حيث

قاموا بإضافة الكيتوسان للسجق مما أدى الى انخفاض في الأعداد الكلية من بكتريا *seudomonas* و *Enterobacter* بعد 8 – 11 يوم من الخزن بالتبريد.

جدول 8. أعداد البكتريا المحبة للبرودة (cfu/ g) لأسماك الخشني المعاملة بالكيتوسان والمحفوظة بالتبريد 4م°.

المعاملات				مدة الخزن (يوم)
D	C	B	A	
$10^2 \times 110$	$10^2 \times 110$	$10^2 \times 110$	$10^2 \times 110$	0
$10^2 \times 192$	$10^2 \times 13$	$10^2 \times 4$	$10^2 \times 9$	1
$10^3 \times 800$	$10^3 \times 178$	$10^2 \times 13$	$10^2 \times 21$	3
$10^4 \times 2200$	$10^3 \times 240$	$10^2 \times 34$	$10^2 \times 69$	5
$10^4 \times 3040$	$10^3 \times 1420$	$10^2 \times 160$	$10^2 \times 400$	7
$10^6 \times 6000$	$10^4 \times 3200$	$10^3 \times 200$	$10^3 \times 520$	10
$10^6 \times 6330$	$10^5 \times 3800$	$10^3 \times 220$	$10^3 \times 600$	12

(D= Control , C= Acid , B= Chitosan crab , A= Chitosan shrimp)

جدول 9. أعداد البكتريا المحللة للبروتين (cfu/ g) لأسماك الخشني المعاملة بالكيتوسان والمحفوظة بالتبريد 4م°.

المعاملات				مدة الخزن (يوم)
D	C	B	A	
$10^2 \times 100$	$10^2 \times 100$	$10^2 \times 100$	$10^2 \times 100$	0
$10^2 \times 200$	$10^2 \times 30$	$10^2 \times 9$	$10^2 \times 11$	1
$10^3 \times 250$	$10^2 \times 31$	$10^2 \times 11$	$10^2 \times 16$	3
$10^4 \times 278$	$10^3 \times 38$	$10^2 \times 13$	$10^2 \times 20$	5
$10^5 \times 150$	$10^4 \times 40$	$10^2 \times 15$	$10^2 \times 29$	7
$10^6 \times 440$	$10^5 \times 60$	$10^3 \times 40$	$10^3 \times 45$	10
$10^6 \times 495$	$10^5 \times 76$	$10^3 \times 42$	$10^3 \times 51$	12

(D= Control , C= Acid , B= Chitosan crab , A= Chitosan shrimp)

وأظهرت النتائج في جدول (10) تأثير إضافة الكيتوسان على البكتريا لمحللة للدهن في أسماك الخشني المحفوظة بالتبريد ولمدة 12 يوم وبالمقارنة مع عينة السيطرة فقد بينت النتائج بان أعداد البكتريا المحللة للدهن قد أزدادت مع زيادة فترة الخزن حيث بلغ أعلى معدل 320×10^6 cfu/ g لعينة السيطرة D في اليوم الأخير من الخزن بعد أن كانت الأعداد في اليوم الأول 200×10^2 cfu/ g في حين بلغ أدنى معدل للبكتريا المحللة للدهن للعينة B 35×10^2 ،

160×10^4 cfu/ g لليوم الأول والأخير على التوالي. ومما تجدر إليه الإشارة أن الأسماك تتعرض أثناء الخزن الى العديد من التغيرات المسببة للتلف والفساد وتصبح غير صالحة للاستهلاك البشري بفعل نمو البكتيريا المحللة للدهن ويعزى السبب في ذلك الى احتواء الأسماك على الدهون ونوعية هذا الدهن الغني بالأحماض الدهنية غير المشبعة هو الآخر من الأمور المشجعة لنمو البكتيريا عن طريق تحليلها للدهون (32)، ألا أن معاملة الأسماك بالأغلفة الطبيعية كالكيوتوسان متبوعة بالتبريد يقلل من فعالية الأحياء المجهرية المسببة للتلف من خلال نشاطه العالي ضد الأحياء المجهرية (42).

وأتفقت النتائج مع ماوجده *Fernandez – Saiz et al.* (24) أذ لاحظوا انخفاض النشاط الميكروبي لحساء السمك بوجود الكيوتوسان المضاد للبكتيريا. ودرس *Roller and Corvill* (46) تأثير إضافة الكيوتوسان الى سلطة الروبيان المخزونة بدرجة حرارة 5°C ولمدة 4 أسابيع فقد وجد حصول تثبيط للميكروبات المسببة للتلف والفساد.

جدول 10. أعداد البكتيريا المحللة للدهن (cfu/g) لأسماك الخشني المعاملة بالكيوتوسان والمحفوظة بالتبريد 4°C .

المعاملات				مدة الخزن (يوم)
D	C	B	A	
$10^2 \times 120$	$10^2 \times 120$	$10^2 \times 120$	$10^2 \times 120$	0
$10^2 \times 200$	$10^2 \times 104$	$10^2 \times 35$	$10^2 \times 40$	1
$10^4 \times 63$	$10^3 \times 50$	$10^3 \times 11$	$10^3 \times 20$	3
$10^5 \times 280$	$10^4 \times 80$	$10^3 \times 24$	$10^3 \times 37$	5
$10^6 \times 320$	$10^5 \times 252$	$10^3 \times 33$	$10^3 \times 132$	7
$10^6 \times 930$	$10^5 \times 304$	$10^3 \times 146$	$10^4 \times 202$	10
$10^6 \times 1160$	$10^6 \times 323$	$10^4 \times 160$	$10^4 \times 231$	12

(D= Control , C= Acid , B= Chitosan crab , A= Chitosan shrimp)

تشير نتائج الجدول (11) الى أعداد بكتيريا القولون الكلية في أسماك الخشني المعاملة بالكيوتوسان وبينت النتائج أن معاملة الأسماك بالكيوتوسان أدى الى خفض عدد بكتيريا القولون الكلية بالمقارنة مع عينة السيطرة D حيث بلغ أدنى معدل للبكتيريا $10^1 \times 3$ ، $10^1 \times 1$ ، $10^1 \times 5$ ، $10^1 \times 11$ و $10^1 \times 11$ cfu/g في اليوم الأول من الخزن وأخذت هذه الأعداد بالزيادة مع التقدم بوقت الخزن حتى وصلت في اليوم الأخير الى $10^1 \times 32$ ، $10^1 \times 64$ ، $10^1 \times 100$ ، $10^3 \times 220$ و $10^3 \times 220$ cfu/g للعينات A ، B ، C ، D وبالترتيب نفسه.

وبلاحظ من النتائج أن أقل أعداد لبكتيريا القولون كانت في عينات الأسماك المغلفة بالكيوتوسان مقارنة مع السيطرة مما يدل على فعالية الكيوتوسان العالية والمثبتة للمحتوى الميكروبي فقد أشار *Kok and Park* (36) الى أن فعالية الكايتوسان العالية والمضادة للبكتيريا تعود الى الوزن الجزيئي وعلى درجة إزالة مجاميع الأسيل فقد وجد أن استخدام الكيوتوسان كأغلفة يمتلك نشاط ممتاز مضاد للبكتيريا ويساهم في إطالة مدة صلاحية المنتجات. وتتفق النتائج مع *Zheng and Zhu* (53) حول زيادة تأثير الكيوتوسان على بكتيريا القولون *E. coli* مع نقصان الوزن الجزيئي. يبين

الجدول (12) تأثير أضافه الكيتوسان على عد الفطريات في لحوم الأسماك المخزونة بالتبريد على درجة حرارة 4°م ومقارنتها مع عينة السيطرة D الخالية من الإضافة حيث بينت النتائج التأثير التثبيطي الواضح لأغلفة الكيتوسان فقد تطور عدد الفطريات مع زيادة مدة الخزن حيث بلغ أعلى عدد الفطريات لعينة السيطرة D فكانت $10^2 \times 40$ cfu/ g لليوم الأول من الخزن حتى بلغت $10^2 \times 3200$ في نهاية مدة الخزن (12 يوم)، أما عند استخدام أغلفة الكيتوسان أظهرت تثبيط في أعداد الفطريات أذ بلغ أدنى معدل في اليوم الأول من الخزن للعينة B $10^2 \times 13$ cfu/ g وأخذ بالارتفاع مع زيادة الخزن حتى وصل الى $10^2 \times 300$ cfu/g في اليوم 12 من الخزن المبرد، وعند المقارنة بعينة السيطرة وجد أن غلاف الكيتوسان أمتلك فعالية تثبيطية عالية ضد الفطريات نتيجة دخول معقد الكيتوسان الى السائل النووي للخلية الميكروبية مما يسبب حصول أختلال في جزيئات الحامض النووي وكذلك يرتبط مع الـ DNA ويمنع تكوين البروتينات النووية و mRNA (51).

وأنفقت الدراسة مع نتائج Kok and Park (36) حول زيادة مدة صلاحية الخزن لمنتوج كرات السمك باستخدام الكيتوسان والذي يحافظ على أعداد البكتريا الهوائية والخمائر أقل من 1 لوغاريم cfu/ g خلال 21 يوم من التخزين المبرد 5°م بالمقارنة مع عينة السيطرة ومدة صلاحيتها قصيرة نسبياً بين 4 – 5 أيام. وأشار Nejadi Hafdani and Sadeghinia (42) أن من أهم الخصائص التي تؤثر على النشاط الميكروبي للكيتوسان هو الوزن الجزيئي والتركيز ونوع الكائن المجهرى.

يوضح الجدول (13) الخواص والتقييم الحسي للأسماك المغلفة بالكيتوسان أذ كانت العينات المعاملة بالكيتوسان نوعاً ما أقل تأثراً من عينة السيطرة على طول فترة الخزن بالتبريد على درجة حرارة 4°م ، أذ حدث تدهور سريع للنوعية وبصورة واضحة لعينات السيطرة D بعد اليوم الخامس من الخزن وأصبحت غير صالحة للاستهلاك البشري بعد اليوم السابع من الخزن، في حين لوحظ من التقييم النوعي للأسماك المحفوظة مع الكيتوسان حدوث تغير بسيط في الصفات العامة ورغم حدوث هذا التغير بقيت الأسماك محافظة على صفاتها بحيث يمكن تقبلها من قبل المستهلك.

وتظهر النتائج أن العمر الخزني المستحصل عليه من هذه الدراسة كان طويلاً أذ بلغ بحدود 10 أيام من الخزن بالتبريد للأسماك المعاملة بالكيتوسان ويعزى السبب الى أن أغلفة الكايتوسان تؤخر حدوث عملية أكسدة الدهون نتيجة خلب أيونات الحديدوز الموجودة في الأسماك وبذلك يمنع فعالية أيون الحديدوز ويمنع تأكسدها الى أيونات الحديدك حيث تساهم مجاميع الأمين في الكايتوسان في عملية خلب أيونات المعدن، وأن فعالية الكايتوسان المضادة للأكسدة تعتمد على وزنة الجزيئي فقد وجد أن الوزن الجزيئي الأقل يكون ذو فعالية عالية مقارنة بالاوزان الجزيئية المرتفعة (35,45). فضلاً عن قابليته العالية على خفض المحتوى الميكروبي والنشاط الأنزيمي المسبب التحللات الذاتية والتي بدورها تنتج العديد من المركبات والروائح غير المرغوبة والتي تقلل من درجة تقبل المنتجات من قبل المستهلك (16).

جدول 11. أعداد بكتريا القولون الكلية (cfu/g) لأسماك الخشني المعاملة بالكيٲوسان والمحفوٲة بالتبريد 4م°.

المعاملات				مدة الخزن (يوم)
D	C	B	A	
$10^1 \times 4$	$10^1 \times 4$	$10^1 \times 4$	$10^1 \times 4$	0
$10^1 \times 11$	$10^1 \times 5$	$10^1 \times 1$	$10^1 \times 3$	1
$10^1 \times 21$	$10^1 \times 10$	$10^1 \times 4$	$10^1 \times 5$	3
$10^1 \times 26$	$10^1 \times 16$	$10^1 \times 5$	$10^1 \times 7$	5
$10^2 \times 53$	$10^1 \times 32$	$10^1 \times 16$	$10^1 \times 20$	7
$10^3 \times 68$	$10^2 \times 43$	$10^1 \times 23$	$10^1 \times 32$	10
$10^3 \times 220$	$10^3 \times 100$	$10^1 \times 64$	$10^1 \times 84$	12

(D= Control , C= Acid , B= Chitosan crab , A= Chitosan shrimp)

جدول 12. أعداد الفطريات (cfu/g) لأسماك الخشني المعاملة بالكيٲوسان والمحفوٲة بالتبريد 4م°.

المعاملات				مدة الخزن (يوم)
D	C	B	A	
$10^2 \times 38$	$10^2 \times 38$	$10^2 \times 38$	$10^2 \times 38$	0
$10^2 \times 40$	$10^2 \times 38$	$10^2 \times 13$	$10^2 \times 26$	1
$10^2 \times 57$	$10^2 \times 43$	$10^2 \times 30$	$10^2 \times 41$	3
$10^2 \times 160$	$10^2 \times 113$	$10^2 \times 75$	$10^2 \times 97$	5
$10^2 \times 280$	$10^2 \times 210$	$10^2 \times 132$	$10^2 \times 182$	7
$10^2 \times 480$	$10^2 \times 296$	$10^2 \times 160$	$10^2 \times 212$	10
$10^2 \times 3200$	$10^2 \times 680$	$10^2 \times 300$	$10^2 \times 440$	12

(D= Control , C= Acid , B= Chitosan crab , A= Chitosan shrimp)

جدول 13. التقييم الحسي لأسماك الخشني المعاملة بالكيوتوسان والمحفوطة بالتبريد 4م°.

مدة الخبز (يوم)	المعاملات			
	D	C	B	A
1	العيون براقعة وسليمة وكاملة الفتحة، الغلاصم حمراء قانية، المادة المخاطية قليلة وشفافة، الرائحة طبيعية، القوام متماسك.	العيون براقعة وسليمة وكاملة الفتحة، الغلاصم حمراء قانية، المادة المخاطية قليلة وشفافة، الرائحة طبيعية، القوام متماسك.	العيون براقعة وسليمة وكاملة الفتحة، الغلاصم حمراء قانية، المادة المخاطية قليلة وشفافة، الرائحة طبيعية، القوام متماسك.	العيون براقعة وسليمة وكاملة الفتحة، الغلاصم حمراء قانية، المادة المخاطية قليلة وشفافة، الرائحة طبيعية، القوام متماسك.
3	لم يحصل تغير ملموس.	لم يحصل تغير ملموس.	لم يحصل تغير ملموس.	لم يحصل تغير ملموس.
5	العيون غائرة، الغلاصم ذات لون بني غامق، ظهور روائح غير طبيعية، القوام، سهولة أزاله الحراشف.	العيون غائرة، الغلاصم ذات لون بني غامق، الحدة بيضاء، حصول زيادة بالمادة المخاطية، فقدان رائحة السمك الطبيعية، القوام رخو، حصول جفاف تدريجي.	العيون سليمة وبراقة، الغلاصم حمراء، رائحة السمك طبيعية، القوام متماسك، وجود لمعان على الجلد.	العيون غائرة قليلاً، القرنية داكنة قليلاً، الغلاصم ذات لون بني فاتح، القوام أقل تماسك، الرائحة طبيعية.
7	العيون غائرة جداً، القوام رخو سهولة أزاله الحراشف، ظهور رائحة غير مرغوبة، الرأس منكمش.	العيون غائرة جداً، الحدة رمادية، القوام رخو، تجعد قليل بالجلد.	تغير قليل في العيون، تغير قليل في لون الغلاصم، تغير قليل في رائحة السمك الطبيعية، القوام متماسك.	العيون غائرة نوعاً ما، الحدة بيضاء، فقدان قليل برائحة السمك الطبيعية.
10	الرأس منكمش ومغشى بمادة مخاطية صفراء، القوام رخو ومتهرئ، ظهور رائحة تشبه رائحة الحليب، حصول تجعد واضح بالجلد.	الرأس منكمش، ظهور رائحة غير اعتيادية، القوام رخو مع سهولة أزاله الحراشف، حصول جفاف حاد في الجلد.	العيون غائرة قليلاً، لون الغلاصم بني فاتح جداً، فقدان قليل برائحة السمك الطبيعية.	العيون غائرة، الحدة رمادية، فقدان رائحة السمك الطبيعية، القوام رخو، تجعد قليل بالجلد.
12	انكماش الرأس، القوام رخو غير متماسك، فقدان الرائحة الطبيعية.	تجعد واضح في الجلد، القوام رخو غير متماسك، سهولة تمزق الجلد، ظهور روائح غير مرغوبة.	العيون غائرة، تجعد قليل بالجلد، القوام رخو قليلاً.	انكماش الرأس، القوام رخو غير متماسك، فقدان الرائحة الطبيعية.

(D= Control , C= Acid , B= Chitosan crab , A= Chitosan shrimp)

المصادر

- 1- الشطي، صباح مالك حبيب (1994). دراسة التركيب الكيميائي والمحتوى البكتيري والقابلية الخزن لأسماء الصبور *Hilsa ilisha* والكارب *Cyprinus carpio* في البصرة. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة البصرة: 109 صفحة.
- 2- الطائي، منير عبود جاسم (1987). تكنولوجيا اللحوم والأسماك، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. كلية الزراعة، جامعة البصرة: 421 صفحة.
- 3- اليونس، زينة كاظم عيسى (2002). تحضير ألبومين السمك ودراسة صفاته النوعية، رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة البصرة: 71 صفحة.
- 4- جاسم، منير عبود وجمال علي فارس (1988). تقييم جودة بعض الأسماك المخزونة بالتلج. مجلة البصرة للعلوم الزراعية، 1 (2): 35 - 42 .
- 5- جاسم، منير عبود وصباح مالك حبيب الشطي (2002). تقييم جودة سمك ابو عوينة *Ilish megaloptera* المخزون بالتلج باستخدام أدلة حسية وكيميائية ومايكروبيولوجية. مجلة وادي الرافدين لعلوم البحار، 17 (1): 191-207.
- 6- شاكر، خالدة عبد الرحمن ومازن جميل هندي ورنا كاظم محمد (2005). إنتاج مستخلصات بروتينية من سمك الخشني وفحص خواصها الوظيفية، المجلة المصرية للتغذية والأعلاف 8 (1): 1021 - 1032.
- 7- عبد الكريم، فارس رحيم (1988). دراسة مايكروبيولوجية وكيميائية لروبيان الأهوار العراقية. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.
- 8-Ahn, C. B. and Lee. E. H. (1992). Utilization of chitin prepared from the shellfish crust. 2. Effect of chitosan film packing on quality of lightly-salted and dried horse mackerel. Bull. Korean Fish. Soc., 25(1):51-57.
- 9-Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: A review. LWT - Food Sci. Technol., 43(6): 837-842.
- 10-Alishahi, A. ; Mirvaghefi, A.; Rafie-Tehrani, M.; Farahmand, H.; Shojaosadati, S.A.; Dorkoosh, F.A. and Elsabee, M.Z. (2011). Shelf life and delivery enhancement of vitamin C using chitosan nanoparticles. Food Chem., 126(3):935-940.
- 11-APHA: American Public Health Association (1992). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3rd ed., Edwards Brother, Washington, DC.,USA.
- 12-Andrews ,W. (1992). Manual of food quality control. 4. Rev. 1.Microbiological analysis. FAO Food and Nutrition Paper, No.14/4 (Rev.1)., Rome, Italy ,347 p.

- 13-Barnett, H. J.; Nelson, R. W. and poysky, F. T. (1991). A comparative study using multiple indices to measure changes in quality of Pink and Coho salmon during fresh and frozen storage. NOAA Technical Memorandum NMFSF/NWC-208.
- 14-Benjakul, S.; Visessanguan, W.; Phatchrat, S. and Tanaka, M. (2003). Chitosan affects transglutaminase – induced surimi gelation. J. Food Biochem., 27(1): 53-66.
- 15-Bridson, E. Y. (1998). The Oxoid manual . 8th ed., Oxoid limited, Basingstoke, UK.
- 16-Cao, R.; Xue, C.H. and Liu, Q. (2009). Change in microbial flora of pacific oysters (*Crassostera gigas*) during refrigerated storage and its shelf life extension by chitosan. Int. J. Food Microbiol., 131 (2-3): 272-276.
- 17-Chang, Y.P.; Cheah , P.B. and Seow, C.C (2000). Plasticizing-antiplasticizing effects of water on physical properties of tapioca starch films in the glassy state. J. Food Sci. , 65(3): 445-451
- 18-Chien , P. J. and C. C. Chou. (2006). Antifungal activity of chitosan and its application to control post-harvest quality and fungal rotting of Tankan citrus fruit (*Citrus tankan Hayata*). J. Sci. Food Agric., 86 (12) :1964 – 1969.
- 19-Chung,Y. C. ; Su, Y. P.; Chen, C. C.; Jia, G. ; Wang, H.L. ; Wu, J.C .and Lin, J.G. (2004). Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. Acta Pharmacol. Sin., 25(7): 932-936 .
- 20-Connell, J. J. (1995). Control of fish quality. 4th ed. Fishing News Books, Blackwell Scientific Publication Ltd, Oxford , England. 243p.
- 21-Duan, J. ; Cherian, G. and Zhao, Y. (2010). Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings. Food Chem., 119 (2) : 524-532.
- 22-Duan, J. ; Jiang, Y. ; Cherian, G. and Zhao, Y. (2010). Effect of combined chitosan-krill oil coating and modified atmosphere packaging on the storability of cold-stored lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets. Food Chem., 122(4): 1035-1042.
- 23-Egan, H.; kirk, R. S. and sawyer, R. (1988). Pearson's chemical analysis of food. 8th ed., Longman Scientific and Technical, UK, 591p.
- 24-Fernandez-Saiz, P.; Ocio, M. J. and. Lagaron, J. M. (2010). Antibacterial chitosan-based blends with ethylene–vinyl alcohol copolymer. Carbohydr. Polym., 80(3): 874-884.
- 25-Flick, G. J.; Lovell, R. T.; Enriquez, L. G. and Arganosa, G. C. (1994). Changes in nitrogenous compounds in fresh water crayfish (*Procambarus clarkia*) tail meat stored in ice. J. Muscle Foods, 5:105-118.

- 26-Gashti, G. Z. (2002). Estimation of microbiological and chemical variations in minced fish processing of Atlantic Pollock *Pollachius vireos*. Final project, The UNU–Fisheries Training programme, 30 p.
- 27-Harrigan, W. F. and McCance, M. F. (1976). Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic press. London.
- 28-Hindi, M. J.; Sarhan, H. R. and AL–Shatty, S. M. H. (1996). Quality criteria of fresh carp and sbour, Chemical Indices. Marina Mesopotamica, 11 (2) : 263–272.
- 29-Huss, H. H. (1988). Fresh fish: quality and quality changes. A training manual prepared for the FAO/DANIDA training programme on fish technology and quality control. FAO Fisheries Series, No. 29: 134 p.
- 30-Huss, H. H. (1995). Quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper, No. 348. Rome , FAO, 195 p.
- 31-Huss, H. H.; Ababouch, L. and Gram, L. (2004). Assessment and management of seafood safety and quality. FAO Fisheries Technical Paper, No. 444. Rome, FAO. 230p.
- 32-IFST: Institute of Food Science and Technology (1993). Shelf life of foods – guidelines for its determination and prediction. London , UK.
- 33-Jeon, Y. J. ; Shahidi, F. and Kim. S. K. (2000). Preparation of chitin and chitosan oligomers and their applications in physiological functional foods. Food Rev. Int., 16(2):159-178.
- 34-Karel,M.(1986). Control of lipid oxidation in dried food. Biological Research, Massachusetts Institute of Tech., Cambridge, MA.,USA.
- 35-Kim, K. W. and Thomas, R. L. (2007). Antioxidant activity of chitosans with varying molecular weights. Food Chem., 101(1):308-313.
- 36-Kok, T.N. and Park, J.W. (2007). Extending the shelf life of set fish ball. J. Food Quality, 30(1): 1-27.
- 37-Kong, M.; Chen, X.G.; Xing, K. and Park, H.J. (2010). Antimicrobial activity of chitosan and mode of action: A state of art review. Int. J. Food Microbiol., 144(1): 51-63.
- 38-Lopez-Caballero, M.E. ; Gomez-Guillen, M.C.; Perez-Mateos, M. and Montero, P. (2005a). A chitosan-gelating blend as a coating for fish patties. Food Hydrocoll., 19(2):303-311.

- 39-Lopez-Caballero, M. E. ; Gomez-Guillen, M.C.; Perez-Mateos, M. and Montero, P. (2005b). A functional chitosan-enriched fish sausage treated by high pressure. J. Food Sci., 70(3): 166-171.
- 40-Mac, J. G. (2004). A study of seasonal changes in quality characteristics of fresh and frozen "sbour" *Tenualosa ilisha* (Hamilton) of the Shatt Al-Arab river and the Iraq territorial waters of the Arabian Gulf. Ph. D. Thesis, Dept. of Fisheries and Marine Resources. College of Agric., University of Basrah, Iraq. 98 p.
- 41-Mao, L. and Wu, T. (2007). Gelling properties and lipid oxidation of kamabako gels from grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) influenced by chitosan. J. Food Eng., 82(2): 128-134.
- 42-Nejati Hafdanim, F. and Sadeghinia, N. (2011). A review on application of chitosan as a natural antimicrobial. World Academy of Science, Engineering and Technology, 50 :252-256.
- 43-Ojagh, S.M. ; Rezaei, M.; Razavi, S.H. and Hossieni, S.M.H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. Food Chem., 120(1):193-198.
- 44-Pedrosa-Menabrito, A. and Regenstein, J. M. (1990). Shelf life extension of fresh fish—A review. Part3. Fish quality and methods of assessment J. Food Quality , 13 : 209 – 223.
- 45- Peng, C., Y. Wang and Y. Tang. (1998). Synthesis of cross linked chitosan-crown ethers and evaluation of these products as adsorbent metal ions. J. Appl. Polym. Sci., 70:501.
- 46-Roller, S. and Corvill, N. (2000). The antimicrobial properties of chitosan in mayonnaise and mayonnaise-based shrimp salads. J. Food Prot., 63(2): 202-209.
- 47-Sagoo, S. ; Board, R. and Roller, S. (2002). Chitosan inhibits growth of spoilage micro-organisms in chilled pork products. Food Microbiol., 19 (2-3):175-182.
- 48-Shahidi, F. ; Arachchi, J.K.V. ; Jeon, Y.J. (1999). Food application of chitin chitosan. Trends Food Sci. Technol. ,10(2): 37-51.
- 49-Smith, J. G. M.; Hardy, R. and Young, K. W. A. (1980). Seasonal study of the storage characteristics of mackerel stored at chill and ambient temperatures. Seasonal changes. Chapter 10. In: Connell, J.J. (Ed.). Advances in Fish Science and Technology. pp: 372 – 376.
- 50-SPSS (2001). Special program for statistical system. Version, 11, SPSS nc. Chicago, 111, USA.

- 51-Suman , S.P. ; Mancini, R.A ; Joseph, P. ; Ramanathan, R. ; Konda, M.K.R ; Dady , G. and Yin, S. (2011).Chitosan inhibits premature browning in ground beef. Meat Sci., 88(3):512–516.
- 52-Swatland,H.J.(1984).Structure and development of meat animals. Prentice-Hall, Inc., New Jersey,USA.
- 53-Zheng, L. Y. and Zhu, J. F. (2003) .Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. Carbohydr. Polym., 54(4):527-530.

Assessment the quality and freshness of Khishni *Liza abu* L. stored at refrigeration and treated with chitosan using microbiological, chemical and sensory indicators

Sabah M.H. Al-Shatty¹, Jalal M. Al-Noor² and Adel Y. Al-Dubakel²

1 Department of Fisheries and Marine Resources, College of Agriculture, University of Basrah, Basrah , Iraq

2 Department of Food Science and Biotechnology, College of Agriculture, University of Basrah, Basrah , Iraq

Abstract. A study carried out to evaluate the quality and freshness of Khishni *Liza abu* L. preserved under refrigeration at $4\pm1^{\circ}\text{C}$ and treated with 1% chitosan for 12 days. Chemical composition: (protein, lipid ,moisture and ash) Chemical indices: (pH , TVN, TBARS and FFA), sensory indicators (Color, smell, texture and general appearance), microbiological tests (Total count, coliforms, psychrophilic bacteria, lipolytic bacteria, proteolytic bacteria and fungi) were estimated. Results showed the feasibility of preserving Khishni fish under refrigeration at $4\pm1^{\circ}\text{C}$ and treatment with 1% chitosan up to 12 days of storage. Changes in sensory, chemical and microbiological properties manifested in untreated fish for 3 days. This indicated the beginning of deterioration and unacceptable appearance. Results demonstrated also the importance of good handling of fish from catching until reaching the final consumer by refrigeration.