Journal of Applied Microbiology in Food Industry (Volume 11 – Issue 3) … Pages 147 to 165

Investigating the effect of chitosan coating enriched with orange waste extract on bacterial counts and chemical properties of sturgeon fillets during storage at refrigerated temperature

Banafsheh Shojaa[1], **Abbasali Motallebi[1*]**, Behrouz Akbari-adergani[2], Nourdahr Rokni[1]

1. Department of Food Hygiene, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Food and Drug Laboratory Research Center, Food and Drug Administration, Ministry of Health, and Medical Education, Tehran, Iran

Received Date:2025.06.15 Accepted Date:2025.09.04

Abstract

Today, fish plays a significant role in human diets, particularly in developing countries. Its high digestibility and balanced amino acid profile, as well as its richness in essential nutrients such as lysine and methionine, make it a valuable food source. The recognized health benefits of essential polyunsaturated fatty acids, especially omega-3 and omega-6, have encouraged increased seafood consumption. However, fresh fish are highly susceptible to spoilage due to due to the rapid activity of endogenous enzymes and microbial growth. This study focused on developing chitosan-based biofilms with varying concentrations of orange peel extract (0.5%, 1%, and 1.5%). The objective was to evaluate the effects of these films on the counts of mesophilic aerobic bacteria and psychrotrophic bacteria, as well as the chemical properties of sturgeon fish fillets during storage at 4°C. The results of the biofilm thickness analysis, prepared with different concentrations of orange peel extract, showed that film thickness increased with extract concentration up to 1%, reaching a maximum of 52 micrometers ($p<0.05$). Examinations revealed that the maximum tensile strength of the biofilm without extract was 5.66 MPa, with a strain point of 60. The average total viable bacterial counts of the samples at time intervals of 0, 4, 8, 12, and 14 days in fillets coated with extract-containing biofilms were significantly lower than those of the control and extract-free biofilm ($p<0.05$). Over time, the total viable bacterial counts significantly increased in all treatments except for the 1.5% biofilm treatment ($p<0.05$). Additionally, over time, the total counts of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in the samples significantly increased in all treatments except for the 1% and 1.5% biofilm coatings ($p<0.05$). This study demonstrated that chitosan coatings containing orange peel extract, due to their phenolic compounds with high antioxidant activity and other bioactive components, are capable of inhibiting the growth of spoilage microorganisms and reducing lipid oxidation in sturgeon fish fillets. These findings highlight the high potential of these coatings as a natural and effective protective system for maintaining the quality and safety of aquatic products.

Keywords: Orange peel extract, sturgeon fish, chitosan

* abbasalimotallebi@gmail.com

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

EXTENDED ABSTRACT

Introduction:

Fish, particularly sturgeon species like beluga (Huso huso), is a cornerstone of human nutrition worldwide, valued for its high-quality protein, rich in essential amino acids such as lysine and methionine, and its abundance of omega-3 and omega-6 fatty acids. These nutritional attributes have driven increased seafood consumption, especially in developing countries. However, fresh fish is highly perishable due to rapid endogenous enzyme activity and microbial proliferation, posing significant challenges to its shelf life and safety. Traditional chemical preservatives, such as benzoates and sorbates, raise toxicological concerns, prompting a shift toward natural alternatives. Consumer demand for "green" products—natural, chemical-free, and environmentally friendly—further fuels this trend. Plant-derived extracts, including those from agricultural byproducts like orange peel, offer promising antimicrobial and antioxidant properties. When combined with biopolymers like chitosan, derived from crustacean shells, these extracts can enhance food preservation while minimizing environmental impact. Orange peel, a cost-effective waste product, is rich in bioactive compounds such as flavonoids and phenolic antioxidants, making it an attractive candidate for edible coatings. This study investigates the efficacy of chitosan-based coatings enriched with orange peel extract as a natural preservation system for sturgeon fillets, addressing both microbial and chemical degradation during refrigerated storage.

Objective:

The primary objective of this research was to evaluate the effects of chitosan biofilms enriched with varying concentrations of orange peel extract (0.5%, 1.0%, and 1.5%) on the microbial load (total viable bacteria, psychrotrophic bacteria, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*) and chemical properties (e.g., peroxide value, thiobarbituric acid, total volatile basic nitrogen, and pH) of beluga sturgeon fillets stored at 4°C. The study aimed to assess the potential of these coatings as a sustainable, natural method to extend shelf life and maintain the quality and safety of aquatic products.

Methods:

Beluga sturgeon (47–50 kg) were sourced from a fish farm in Sari, Mazandaran, Iran, and filleted under sterile conditions (average fillet weight: 10 g). Orange peel extract was prepared by drying peels at 60°C, grinding them, and extracting bioactive compounds with 96% ethanol. Chitosan (medium molecular weight, Sigma, Germany) was dissolved in 1% acetic acid, mixed with glycerol (0.75%) as a plasticizer, and combined with orange peel extract at concentrations of 0.0%, 0.5%, 1.0%, and 1.5%. Biofilms were formed by homogenizing the mixture, removing air bubbles under vacuum, and spraying it onto nylon polymer films, followed by drying at ambient temperature and further dehydration with magnesium nitrate. Five treatment groups were established: control (no biofilm), 0.0% extract biofilm, and biofilms with 0.5%, 1.0%, and 1.5% extract. Fillets were coated and stored at 4 ± 1°C, with physicochemical and microbial analyses conducted on days 0, 5, and 14. Chemical parameters (protein, lipid, ash, PV, TBA, TVB-N, pH) were measured using standard methods (e.g., Kjeldahl, Soxhlet, AOAC protocols). Microbial counts were determined via pour-plate techniques on plate count agar, with *S. aureus* and *E. coli* assessed per Iranian national standards. Statistical analysis employed one-way ANOVA and Duncan's multiple range test (SPSS v17, $p \leq 0.05$).

Results:

Biofilm thickness increased with orange peel extract concentration, peaking at 52 µm with 1.0% extract ($p < 0.05$). Tensile strength was highest in the 1.0% extract biofilm (14.58 MPa) compared to the extract-free biofilm (5.66 MPa), though strain points varied (51.9 vs. 60). Initial chemical analysis of uncoated fillets revealed 14.90% protein, 3.33% lipid, 11.42% ash, PV of 0.93 meq/kg, TBA of 0.91 mg MDA/kg, TVB-N of 10.12 mg N/100 g, and pH of 6.35—all within acceptable limits for fresh fish. Over 14 days, total viable bacterial counts in extract-coated fillets were significantly lower than in control and 0.0% extract groups ($p < 0.05$), with the 1.5% extract coating showing the least increase over time. Similarly, *S. aureus* and *E. coli* counts rose significantly in all groups except the 1.0% and 1.5% extract coatings ($p < 0.05$), with the latter demonstrating superior inhibition by day 14. Chemical deterioration (e.g., lipid oxidation, TVB-N accumulation) was notably reduced in extract-enriched coatings, attributed to phenolic compounds and bioactive agents in orange peel. The 1.5% extract biofilm exhibited the strongest antimicrobial and antioxidant effects, maintaining fillet quality most effectively.

Conclusion:

This study demonstrates that chitosan coatings enriched with orange peel extract significantly enhance the shelf life and quality of beluga sturgeon fillets under refrigeration. The 1.5% extract concentration proved most

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

effective, reducing microbial growth (total bacteria, *S. aureus*, *E. coli*) and lipid oxidation while preserving chemical integrity. These findings highlight the potential of this natural, biodegradable coating as a safe alternative to synthetic preservatives, aligning with consumer preferences for sustainable, chemical-free food options. By leveraging the antimicrobial and antioxidant properties of orange peel—a widely available agricultural byproduct—this approach offers an economically viable, environmentally friendly solution for the seafood industry. Future research could optimize extract concentrations and explore scalability for commercial applications, further advancing food safety and sustainability.

.

.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

بررسی تاثیر پوشش کیتوزان غنی شده با عصاره ضایعات پرتقال بر تعداد باکتری ها و خواص شیمیایی فیله ماهیان خاویاری در طی نگهداری در دمای یخچال

بنفشه شجاع [۱]، **عباسعلی مطلبی** *[۱]، بهروز اکبری آدرگانی[۲]، نوردهر رکنی [۱]

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

۲. مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۶ تاریخ پذیرش:۱۴۰/۰۶/۱۳

چکیده

امروزه ماهی واجد نقش مهمی در رژیم غذایی انسانی به ویژه در کشورهای در حال توسعه است. قابلیت هضم بالا و مشخصات اسید آمینه متعادل آن، سرشار از مواد مغذی ضروری مانند لیزین و متیونین، آن را به یک منبع غذایی با ارزش تبدیل کرده است. مزایای شناخته شده اسیدهای چرب غیراشباع ، به ویژه امگا ۳ و امگا ۶، برای سلامتی انسان، منجر به افزایش مصرف غذاهای دریایی شده است. با این حال، ماهی تازه به دلیل عملکرد سریع آنزیم های داخلی و رشد میکروبی، بسیار مستعد فساد است. این تحقیق بر روی توسعه بیوفیلم های مبتنی بر کیتوزان با غلظت های مختلف عصاره پوست پرتقال (۰.۵٪، ۱٪ و ۱.۵٪) متمرکز شد. هدف این مطالعه ارزیابی تاثیر این فیلم ها بر تعداد باکتریهای هوازی مزوفیل و باکتریهای سرما دوست و خواص شیمیایی فیله های ماهی فیل ماهی در دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد بود. نتایج بررسی ضخامت بیوفیلم های تهیه شده با غلظت های مختلف عصاره پرتقال نشان داد که با افزایش غلظت عصاره تا ۱ درصد ضخامت فیلم ها افزایش میابد و ماکزیمم آن به ۵۲ میکرومتر میرسد ($p<0.05$). بررسی ها نشان داد که استحکام کششی بیشینه در بیوفیلم بدون عصاره برابر با ۵.۶۶ mpa و نقطه کرنش برابر با ۶۰ بوده است. میانگین تعداد کل باکتری‌های زنده نمونه‌ها در بازه‌های زمانی ۰، ۴، ۸، ۱۲و ۱۴ در فیله های پوشش دهی شده با بیوفیلم‌های حاوی عصاره به صورت معنی داری کمتر از کنترل و بیوفیلم بدون عصاره بود ($p<0/05$). با گذشت زمان تعداد کل باکتریهای زنده نمونه ها به طور معنی داری در همه تیمارها به جز تیمار ۱.۵ درصد بیوفیلم افزایش یافت ($p<0/05$). با گذشت زمان تعداد کل باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیا کلی* نمونه ها به طور معنی داری در همه تیمارها به جز پوشش ۱ و ۱.۵ درصد بیوفیلم افزایش یافت ($p<0/05$). مطالعه حاضر نشان داد که پوشش‌های کیتوزانی حاوی عصاره پوست پرتقال به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا و همچنین ترکیبات زیست فعال دیگر، قادر به مهار رشد میکروارگانیسم‌های فسادزا و کاهش اکسیداسیون لیپیدها در فیله ماهیان خاویاری هستند. این یافته‌ها حاکی از پتانسیل بالای این پوشش‌ها به عنوان یک سیستم حفاظتی طبیعی و مؤثر برای حفظ کیفیت و ایمنی محصولات آبزیان است.

کلید واژه: عصاره پوست پرتقال، فیل ماهی، کیتوزان

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

مقدمه

در جهان امروز و با توجه با افزایش اطلاعات تغذیه‌ای در بین مردم، ماهی به سنگ بنای رژیم غذایی در سراسر جهان تبدیل شده است. این محصول به دلیل پروتئین با کیفیت بالای غنی از اسیدهای آمینه ضروری مانند لیزین و متیونین بسیار ارزشمند است. فراوانی اسیدهای چرب امگا ۳ و امگا ۶ ارزش غذایی آن را بیشتر نموده و باعث افزایش مصرف غذاهای دریایی گردیده است (۱).

با این حال، فسادپذیری ذاتی ماهی تازه یک چالش مهم است. عمل سریع آنزیم های داخلی و رشد میکروارگانیسم ها به سرعت کیفیت آن را کاهش می دهد. در حالی که تقاضای مصرف کنندگان برای ماهی تازه همچنان بالاست، بخش رو به رشدی از "مصرف کنندگان سبز" به دنبال گزینه های طبیعی و عاری از مواد شیمیایی با حداقل اثرات زیست محیطی هستند. مطالعات مشخص نموده اند که افزایش ماندگاری محصولات غذایی مزایای قابل توجهی را به همراه دارد، خسارات اقتصادی را کاهش می دهد و بار زیست محیطی مرتبط با ضایعات مواد غذایی را به حداقل می رساند. برای رفع این نگرانی ها، محققان در حال بررسی استفاده از ترکیبات طبیعی با خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی برای کنترل رشد میکروبی و افزایش ماندگاری مواد غذایی فاسد شدنی هستند (۲).

این تغییر جهت مطالعاتی به سمت نگهدارنده‌های طبیعی ناشی از نگرانی‌های فزاینده در مورد اثرات سم‌شناسی بالقوه مواد شیمیایی مصنوعی مانند بنزوات‌ها و سوربات‌ها است که معمولاً برای حفظ مواد غذایی استفاده می‌شوند. عصاره‌های گیاهی، از جمله عصاره‌های سبزیجات، میوه‌ها و حتی برخی غذاها، به عنوان جایگزین‌های طبیعی امیدوارکننده هستند (۳).

در حالی که این ترکیبات طبیعی جایگزین ایمن تری ارائه می دهند، برخی چالش‌ها نیز باقی می مانند. هزینه های بالا، بوهای قوی این مواد و پتانسیل انتشار کنترل نشده ترکیبات فعال در غذا می تواند کاربرد عملی آنها را محدود کند. علاوه بر این، برخی از ترکیبات ممکن است با اجزای غذا واکنش داده و مواد مغذی ارزشمند را غیرفعال کنند (۴).

برای غلبه بر این محدودیت ها، محققان در حال بررسی رویکردهای نوآورانه هستند. اخیرا در تحقیقات مشخص شده است که ترکیب عصاره های گیاهی طبیعی، به ویژه آنهایی که از ضایعات ارزان قیمت کشاورزی به دست می آیند، با پلیمرهای تخصصی مانند کیتوزان راه حل امیدوارکننده ای را ارائه می دهد. کیتوزان، یک پلیمر زیستی مشتق شده از پوسته سخت پوستان، به عنوان یک حامل برای ترکیبات فعال زیستی عمل می کند و امکان انتشار کنترل شده و به حداقل رساندن خطر فعل و انفعالات نامطلوب را فراهم می کند (۵–۷).

این فناوری از خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی طبیعی عصاره های گیاهی استفاده می کند و در عین حال معایب احتمالی آنها را به حداقل می رساند. کیتوزان خود یک بیوپلیمر با ارزش است که به دلیل زیست سازگاری و خواص تشکیل فیلم مشهور است و آن را به یک کاندید ایده آل برای ایجاد پوشش های خوراکی و فیلم برای بسته بندی مواد غذایی تبدیل می کند (۸). .

مرکبات، به ویژه پرتقال، منبع غنی آنتی اکسیدان های طبیعی و ضد میکروبی از جمله فلاونوئیدها، کومارین ها و اسانس ها هستند. پوست پرتقال، یک محصول قابل توجه ضایعات کشاورزی، منبعی در دسترس و مقرون به صرفه از این ترکیبات ارزشمند را ارائه می دهد (۹–۱۲). این مطالعه با هدف بررسی اثربخشی پوشش‌های کیتوزان غنی‌شده با عصاره پوست پرتقال

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

در افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت فیله‌های ماهیان خاویاری فیل ماهی (بلوگا) در یخچال انجام شد. این رویکرد با ترکیب خواص نگهدارنده طبیعی پوست پرتقال با قابلیت فیلم سازی کیتوزان، راه حلی پایدار و موثر برای بهبود ایمنی و کیفیت محصولات ماهی تازه ارائه می دهد.

مواد و روشها

تهیه عصاره پوست پرتقال

به منظور این تحقیق، پرتقال سالم و بدون هیچ گونه آلودگی قارچی از مرکز تحقیقات مرکبات ساری خریداری و پوست کنده شده و به مدت ۲۰ دقیقه در اتانول ۹۶ درصد قرار داده شد. سپس پوست ها در فر با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت خشک شدند. برای افزایش سطح تماس با حلال، پوست های خشک شده خرد شده و با آسیاب آزمایشگاهی الک شدند. در مرحله بعد ۵۰.۰ گرم از پوسته ها با ۳۰۰ میلی لیتر اتانول خالص در کانتر مخلوط شد و پس از ۲۴ ساعت در دمای اتاق، فاز الکلی با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ از مواد گیاهی جدا شد. پس از تبخیر حلال، نمونه ها در دمای ۴- درجه سانتیگراد تا آنالیزهای بعدی نگهداری شدند.

جمع آوری و آماده سازی نمونه های فیل ماهی

فیل ماهی با میانگین وزنی ۴۷ تا ۵۰ کیلوگرم از یک مزرعه پرورش ماهیان خاویاری در شهرستان ساری استان مازندران خریداری شد. این ماهی در جعبه های ایزوله روی یخ خرد شده قرار گرفت و در شرایط استریل به آزمایشگاه شیمی مواد غذایی گروه بهداشت مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی منتقل شد. ماهی چندین بار با آب لوله کشی شسته و سپس با دست فیله شد. میانگین وزن هر فیله ۱۰.۰ گرم بود و به مدت ۲۰ دقیقه در شرایط استریل UV قرار گرفت.

تهیه محلول پوشش دهنده

برای تهیه محلول پوششی، ۲.۰ گرم پودر کیتوزان با وزن مولکولی متوسط (سیگما، آلمان) به ۱۰۰ میلی لیتر محلول اسید استیک (۱٪ V/V) اضافه شد و سپس مخلوط شد. همزن مغناطیسی (IKA، آلمان، ۱۲۰۰ دور در دقیقه) در دمای اتاق به مدت ۳ ساعت. سپس گلیسرول (شرکت مواد شیمیایی مرک ، آلمان) به کیتوزان با غلظت ۰.۷۵ درصد به عنوان نرم کننده اضافه شد و در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شد. محلول پوشش کیتوزان از طریق کاغذ صافی واتمن شماره ۳ برای حذف ذرات حل نشده فیلتر شد.

تهیه بیوفیلم

عصاره پوست پرتقال با Tween 80 (۰.۲٪) (سیگما آلدریچ، آلمان) به عنوان امولسیفایر مخلوط شد و به آرامی در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه به هم زده شد تا توزیع صاف امولسیفایر ظاهر شود. تیمارهای جداگانه عصاره پوست پرتقال در غلظت های مختلف (۰.۰، ۰.۵، ۱.۰ و ۱.۵٪) به محلول کیتوزان اضافه شد و با هموژنایزر ultra Turrax (IKA، آلمان) در دور ۲۰۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه به خوبی همگن شد. حباب های هوا با خلاء نسبی حذف شدند. محلول فرموله شده به صورت ریز بر روی فیلم پلیمری نایلون (پاشش Ultrafine، تکنو صنعت، ایران) اسپری شد. بیوفیلم های تهیه شده به مدت ۷۲ ساعت در دمای محیط خشک شده و سپس به مدت ۶ ساعت در یک خشک کن در فضای خشک در مجاورت نیترات منیزیم قرار داده شدند تا تمامی بیوفیلم ها کاملاً خشک شوند. سپس ویژگی های فیزیکی آن تعیین گردید.

تیمار فیله ماهی

تیمارهای انتخاب شده در این پژوهش شامل آزمون کنترل (فیل ماهی پوشش داده شده با عصاره پوست پرتقال بدون بیوفیلم به عنوان نمونه خالی)، تیمار ۱ (فیل ماهی پوشش داده شده با بیوفیلم غنی شده با ۰.۰ درصد عصاره پوست پرتقال)، تیمار ۲ (فیل ماهی پوشش داده شده با بیوفیلم غنی شده با ۰.۵ درصد

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

عصاره پوست پرتقال)، تیمار ۳ (فیل ماهی پوشش داده شده با بیوفیلم غنی شده با ۱.۰٪ عصاره پوست پرتقال) و تیمار ۴ (فیل ماهی پوشش داده شده با بیوفیلم غنی شده با ۱.۵٪ عصاره پوست پرتقال). بیوفیلم های تهیه شده به پنج گروه مجزا دسته بندی و در یخچال در دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. خواص فیزیکوشیمیایی نمونه‌ها در روزهای اول، پنجم و چهاردهم در طول ماندگاری مورد بررسی قرار گرفت. برای هر تیمار، پنج دسته مختلف به طور تصادفی برای دستیابی به داده های آماری و تجزیه و تحلیل بهتر در نظر گرفته شد (۱۷).

آنالیزهای شیمیایی

ترکیب تقریبی و برخی از شاخص‌های فساد شیمیایی مانند پروتئین، چربی، خاکستر، مقدار پراکسید (PV)، اسید تیوباربیتوریک (TBA)، و نیتروژن پایه کل فرار (TVB-N) در ماهی بلوگا فرآوری نشده تعیین شد. کل پروتئین خام به روش کجلدال با ضریب ضریب ۶/۲۵ (۱۸)، از روش سوکسله برای تعیین مقدار لیپید (۱۹) و خاکستر خام از طریق کانی سازی نمونه ها در دمای ۵۵۰ درجه سانتیگراد تعیین شد (۲۰). برای تعیین مقدار PV از روش لی استفاده شد (۲۱). TBA بر اساس روش AOAC تعیین شد (۲۰). برای تعیین TVB-N از تقطیر بخار استفاده شد (۲۰). اندازه گیری pH برای هر مورد با استفاده از دستگاه دیجیتال AZ-Metrohm، pH سنج ۷۸۰ (آلمان) مجهز به الکترود ترکیبی شیشه-کالومل بر روی ۱۰ گرم نمونه هموژن در آب مقطر (۱۰/۱ v/v، نمونه/) انجام شد. آب) (۲۲).

بررسی میکروبی نمونه ها

هدف از انجام این آزمون، مشخص کردن آلودگی مواد غذایی و تاثیر پوشش بر آن بود. برای شمارش باکتریایی نمونه ها , ۱۰گرم از نمونه گوشت فیله ماهی در شرایط استریل با ۹۰ میلی لیتر محلول کلریدسدیم ۸۵٪ مخلوط و هموژن شد و متعاقب آن رقت های مورد نیاز تهیه گردید. ۱میلی لیتر از هر رقت برای کشت باکتری ها از روش پورپلیت مورد استفاده قرار گرفت. شمارش تعداد باکتری های کل و باکتری های سرمادوست در محیط پلیت کانت آگار به ترتیب در دماهای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲روز و۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ روز با شمارش کلنی های موجود بر روی پلیت انجام گرفت, تمامی شمارش ها به صورت log CFU/g گزارش گردید. شمارش کلنی در ۳۰ درجه سانتی‌گراد با استفاده از روش کشت آمیخته (به شماره استاندارد ۵۲۷۲) روشی جامع برای شمارش میکروارگانیسم‌ها، انجام شد. همچنین بررسی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با توجه به شماره استاندارد ملی۱-۶۸۰۶ ، بررسی باکتری کلی فرم بر اساس استاندارد شماره ۱۱۱۶۶ و شمارش سویه های *اشرشیا کلی* بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۹۴۶ انجام شد.

تحلیل های آماری

نتایج به دست آمده در آزمایشات برای داده های تجربی (آزمایشی) به صورت میانگین ± انحراف معیار از اندازه گیری های با سه تکرار بیان شد. واحد های تشکیل دهنده کلونی (CFUs) در تمامی آزمایشات به مقادیر لگاریتمی آنها قبل از تجزیه و تحلیل آماری تبدیل شد. داده های آزمایشات با تجزیه و تحلیل واریانس یکطرفه (One-way ANOVA) مقایسه شدند. تفاوت های معنی دار آماری بین مقادیر میانگین ها (در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی دار باشد) با استفاده از آزمون تعقیبی چند دامنه ای دانکن تعیین شد. آزمون های آماری نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ انجام شد. سطح معنی داری $p \leq ۰/۰۵$ برای تمامی مقایسه های داده ها در نظر گرفته شد.

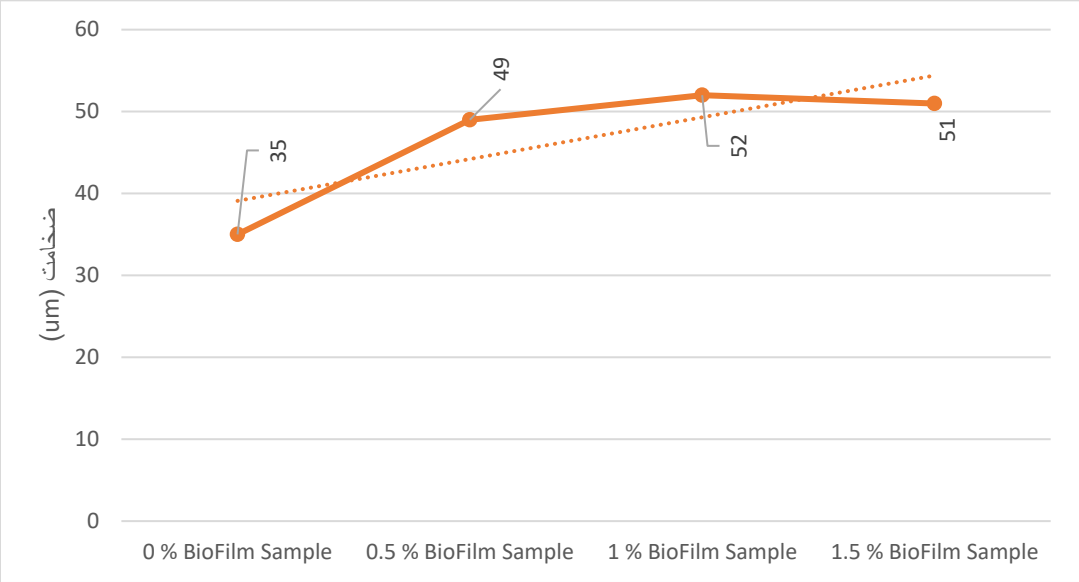
نتایج و داده ها

ضخامت بیوفیلم حاوی عصاره پرتقال

پس از تهیه بیوفیلم کیتوزان حاوی عصاره پرتقال، ویژگی های فیزیکی این بیوفیلم ها تعیین گردید. ضخامت بیوفیلم

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

های تهیه شده با غلظت های مختلف عصاره پرتقال نشان داد که با افزایش غلظت عصاره تا ۱ درصد ضخامت فیلم ها افزایش میابد و ماکزیمم آن به ۵۲ میکرومتر میرسد ($p<0.05$).

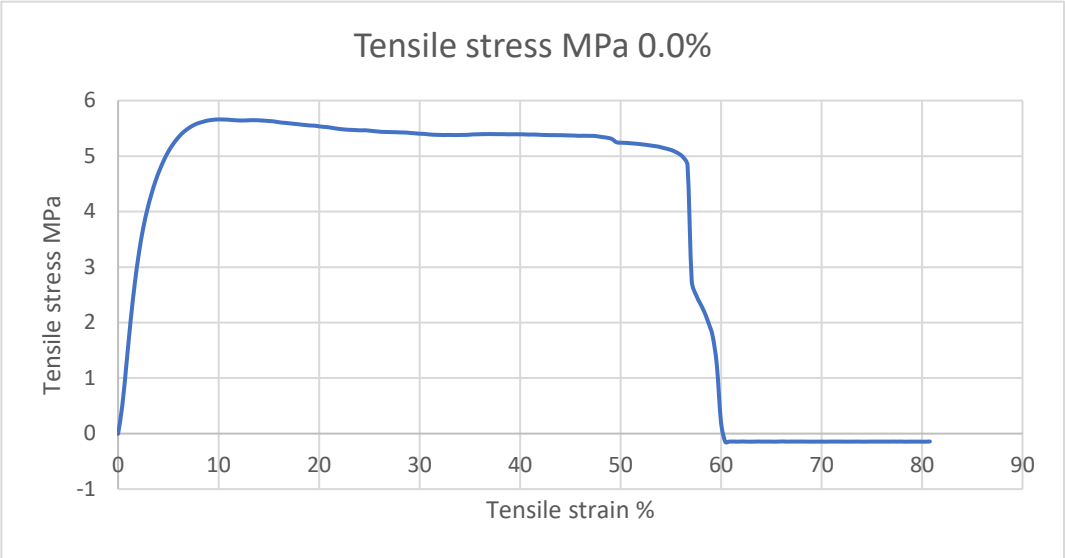


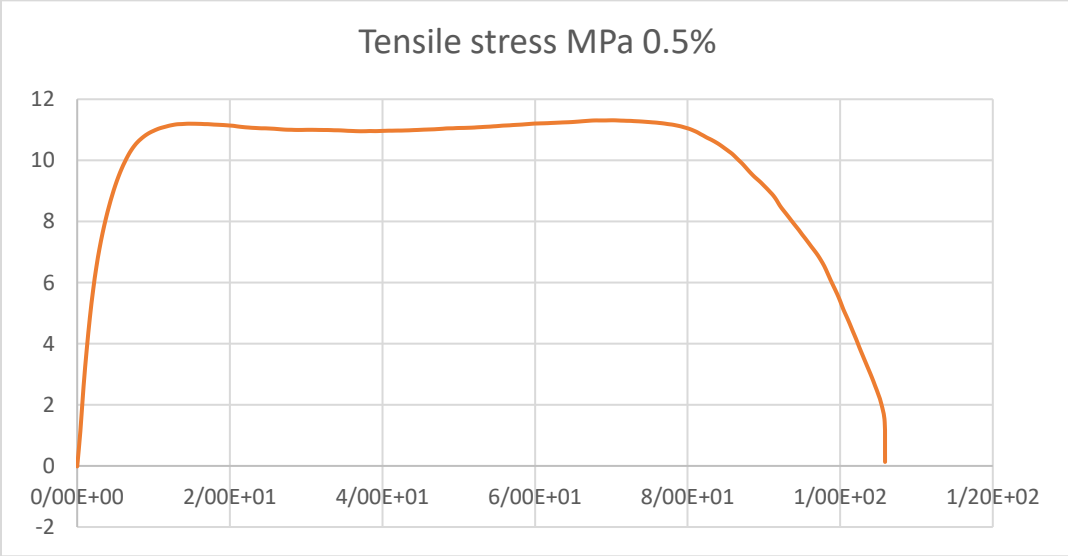
شکل ۱: نمودار مقایسه ای ضخامت فیلم‌های تهیه شده با غلظت های مختلف صفر تا ۱/۵ درصد عصاره پرتقال.

نتایج مقاومت کششی در بیوفیلم‌ها

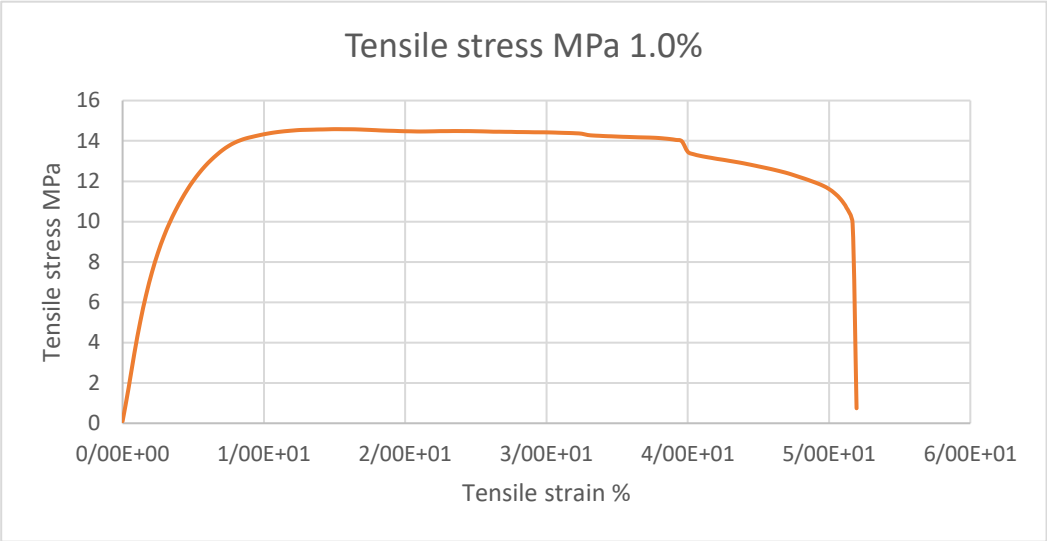
نتایج مقاومت کششی در بیوفیلم‌های تولید شده با درصد های مختلف عصاره پوست پرتقال در شکلهای ذیل آورده شده است. بررسی ها نشان داد که استحکام کششی بیشینه در بیوفیلم بدون عصاره برابر با ۵.۶۶ mpa و نقطه کرنش برابر با ۶۰ بوده است. این در حالی بود که استحکام کششی بیشینه در بیوفیلم حاوی ۰.۵ درصد عصاره برابر با ۱۱.۱۵۹ mpa و نقطه کرنش برابر با ۳۲ ثبت شده است. همچنین در بیوفیلم حاوی ۱ درصد عصاره پوست پرتقال استحکام کششی بیشینه برابر با ۱۴.۵۸ mpa و نقطه کرنش برابر با ۵۱.۹ ثبت شده است. علاوه بر اینها در بیوفیلم حاوی ۱.۵ درصد عصاره پوست پرتقال استحکام کششی بیشینه برابر با ۱۲.۵۳ mpa و نقطه کرنش برابر با ۴۷ ثبت شده است.

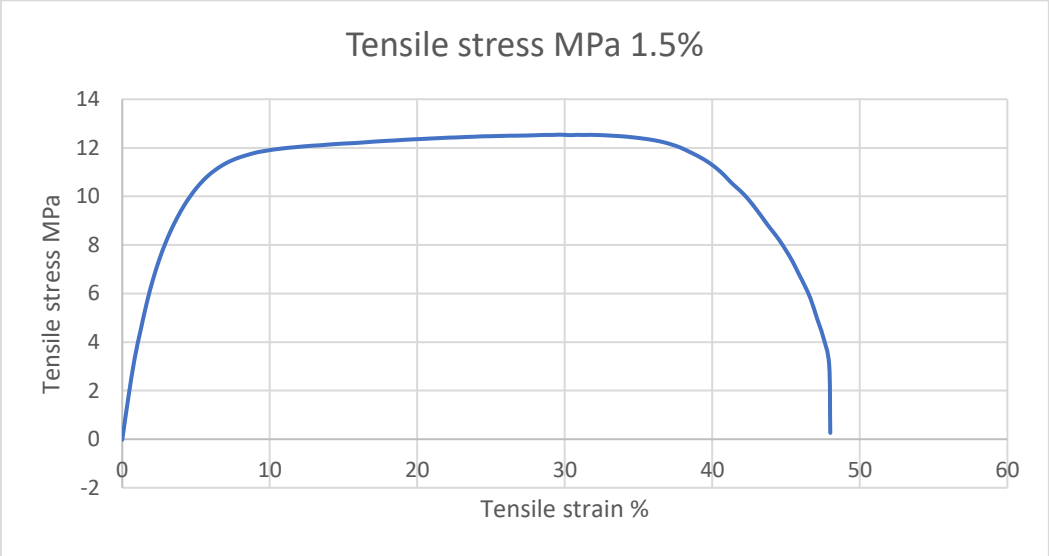
[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]





[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]





شکل ۲: نمودارهای نشان دهنده نتایج بررسی مقاومت کششی در بیوفیلم‌ها به تفکیک درصد عصاره پوست پرتقال در آنها.

بررسی خواص شیمیایی

کیفیت شیمیایی نمونه‌های ماهی جمع‌آوری شده و مناسب بودن آنها برای ذخیره‌سازی و مصرف نهایی از نظر ترکیبات نزدیک و برخی از شاخص‌های فساد شیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفت. در نتایج برای عوامل مورد بررسی در جدول ذیل نشان داده شده است.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

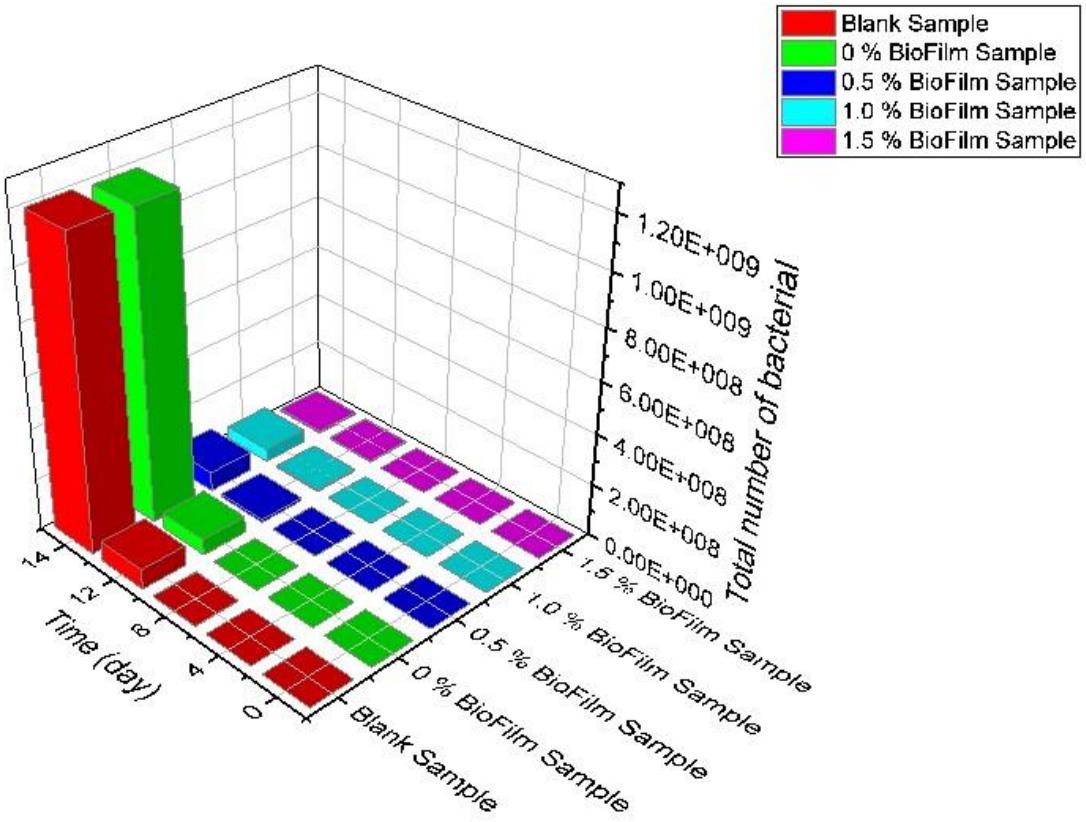
جدول ۱: ترکیب تقریبی و تجزیه و تحلیل فساد شیمیایی فیله ماهی فیل ماهی فرآوری نشده (میانگین ± SE).

پارامتر شیمیایی	مقادیر اندازه گیری شده	پارامتر شیمیایی	مقادیر اندازه گیری شده
درصد چربی کل	3.33 ± 0.41	Crude ash (%)	11.42± 0.15
درصد پروتئین کل	14.90 ± 1.04	PV (meq/Kg)	0.93± 0.02
TVB-N (mg N / 100 gr)	10.12 ± 1.15	TBA (MDA/Kg sample)	0.91± 0.01
pH	6.35 ± 0.10		

بررسی تعداد کل باکتری های زنده نمونه ها

نتایج مقایسه میانگین تعداد کل باکتری‌های زنده نمونه‌ها در بازه‌های زمانی ۰، ۴، ۸، ۱۲و ۱۴ روز در نمودار ذیل ارائه شده است. میانگین تعداد کل باکتری‌های زنده نمونه‌ها در بازه‌های زمانی ۰، ۴، ۸، ۱۲و ۱۴ در فیله های پوشش دهی شده با بیوفیلمهای حاوی عصاره به صورت معنی داری کمتر از کنترل و بیوفیلم بدون عصاره بود. با توجه به نتایج مقایسه میانگین در روزهای صفر و چهاردهم در نمونه های پوشش دهی شده با بیوفیلم ۰.۵، ۱.۰ و ۱.۵ درصد مشاهده نگردید ($p>0.05$). همچنین تعداد باکتری های شمارش شده در بیوفیلم های حاوی ۱.۰ و ۱.۵ درصد عصاره به صورت معنی داری کمتر از عصاره ۰.۵ درصد بود ($p<0.05$). با گذشت زمان تعداد کل باکتریهای زنده نمونه ها به طور معنی داری در همه تیمارها به جز تیمار ۱.۵ درصد بیوفیلم افزایش یافت (۰۵/ $p<$).

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

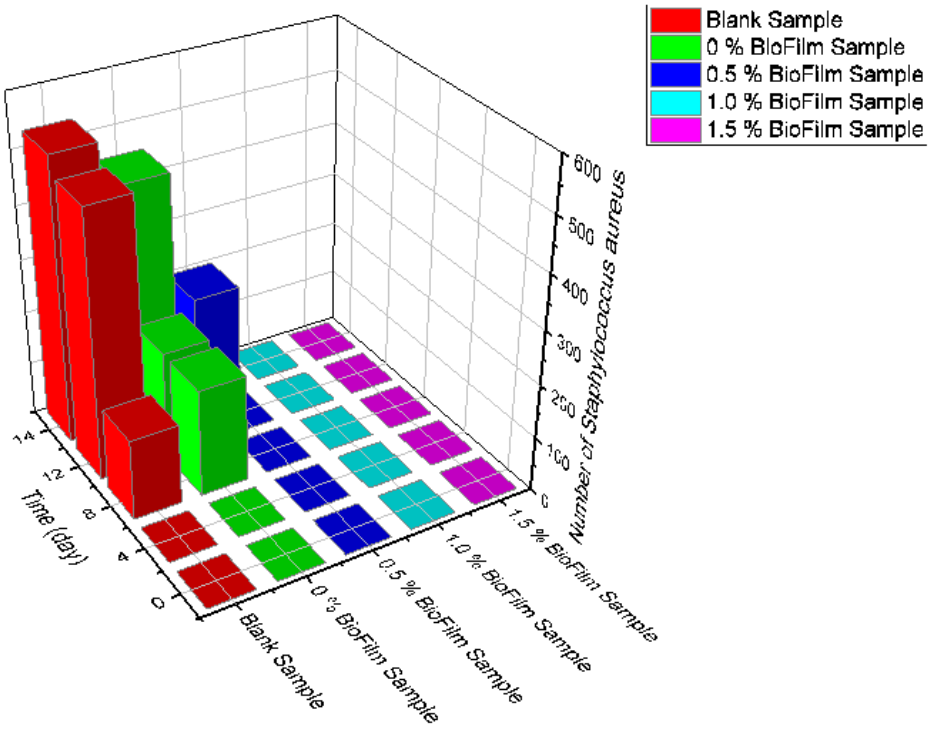


شکل ۳: تصویر نتایج مقایسه میانگین تعداد کل باکتری‌های زنده نمونه‌ها در بازه‌های زمانی ۰، ۴، ۸، ۱۲و ۱۴ روز

بررسی تعداد کل باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس

نتایج مقایسه میانگین تعداد کل باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* در بازه‌های زمانی ۰، ۴، ۸، ۱۲و ۱۴ روز در نمودار ذیل ارائه شده است. میانگین تعداد کل باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* نمونه‌ها در بازه‌های زمانی ۰، ۴، ۸، ۱۲و ۱۴ در فیله های پوشش دهی شده با بیوفیلم‌های حاوی عصاره به صورت معنی داری کمتر از کنترل و بیوفیلم بدون عصاره بود ($p<0.05$). با توجه به نتایج مقایسه میانگین در روزهای صفر و چهاردهم در نمونه های پوشش دهی شده با بیوفیلم ۱ و ۱.۵ درصد مشاهده نگردید ($p>0.05$) اما میزان این سویه ها در روز چهاردهم به صورت معنی داری نسبت به دو بیوفیلم دیگر در پوشش ۰.۵ درصد افزایش یافته بود. همچنین تعداد باکتری های شمارش شده در بیوفیلم های حاوی ۱.۰ و ۱.۵ درصد عصاره در روز چهاردهم به صورت معنی داری کمتر از عصاره ۰.۵ درصد بود ($p<0.05$). با گذشت زمان تعداد کل باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* نمونه ها به طور معنی داری در همه تیمارها به جز پوشش ۱ و ۱.۵ درصد بیوفیلم افزایش یافت ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

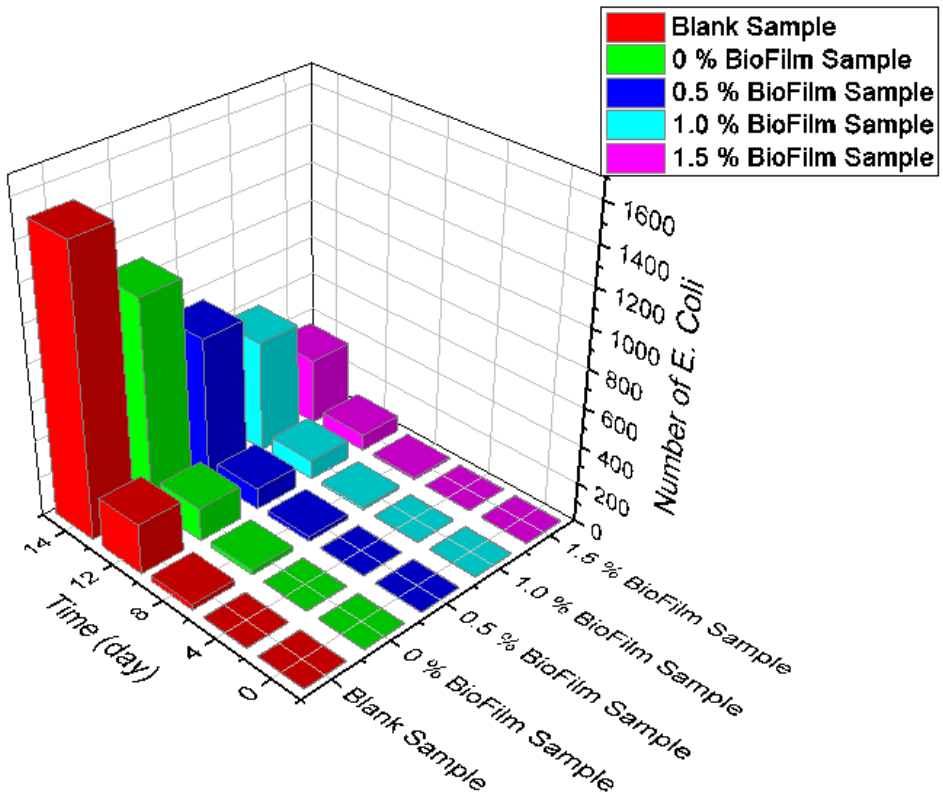


شکل ۴: تصویر نتایج مقایسه میانگین تعداد کل باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* نمونه‌ها در بازه‌های زمانی ۰، ۴، ۸، ۱۲و ۱۴ روز

نتایج شمارش تعداد کل باکتری های *اشرشیا کلی*

نتایج مقایسه میانگین تعداد کل باکتری‌های *اشرشیا کلی* در بازه‌های زمانی ۰، ۴، ۸، ۱۲و ۱۴ روز در نمودار ذیل ارائه شده است. میانگین تعداد کل باکتری‌های *اشرشیا کلی* نمونه‌ها در بازه‌های زمانی ۰، ۴، ۸، ۱۲و ۱۴ در فیله های پوشش دهی شده با بیوفیلمهای حاوی عصاره به صورت معنی داری کمتر از کنترل و بیوفیلم بدون عصاره بود ($p<0.05$). با توجه به نتایج مقایسه میانگین در روزهای صفر و چهاردهم در نمونه های پوشش دهی شده با بیوفیلم ۱ و ۱.۵ درصد مشاهده شد و این میزان کمتر از سایر پوشش ها بود ($p>0.05$) . همچنین تعداد باکتری های شمارش شده در پوشش های حاوی ۱.۰ و ۱.۵ درصد عصاره در روز چهاردهم و دوازدهم به صورت معنی داری بیش از روزهای ۳ تا ۸ بود ($p<0.05$). با گذشت زمان تعداد کل باکتری‌های *اشرشیا کلی* نمونه ها به طور معنی داری در همه تیمارها به جز پوشش ۱ و ۱.۵ درصد بیوفیلم افزایش یافت ($p<۰/۰۵$).

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]



شکل ۵: تصویر نتایج مقایسه میانگین تعداد کل باکتری‌های *اشرشیا کلی* نمونه‌ها در بازه‌های زمانی ۰، ۴، ۸، ۱۲و ۱۴ روز

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

بحث داده‌ها

ماهیان خاویاری به خصوص فیل ماهی به دلیل ترکیبات مغذی خود به خصوص وجود چربی‌هایی از قبیل امگا ۳، یکی از منابع غذایی مهم دریایی برای تغذیه انسان است. ماهی به دلیل قابلیت هضم بالای پروتئین و ترکیب مناسب اسیدهای آمینه ضروری مانند لیزین و متیونین برای سلامت و تغذیه ضروری است(13) . فواید سلامتی اسیدهای لیپید چند غیراشباع ضروری از جمله چربی های امگا ۳ و امگا ۶، علاقه به افزایش مصرف غذاهای دریایی را تحریک می کند. اثر قوی آنزیم های اتولیتیک و فعالیت میکروبی در ماهی تازه، آن را به یکی از فاسد شدنی ترین غذاها تبدیل کرده است (۱۴). استفاده از ماهی تازه در بین مصرف کنندگان تقاضای زیادی دارد اما مصرف ماهی بسته بندی شده نیز رو به افزایش نهاده است. با افزایش اطلاع رسانی از مضرات افزودنی ها و نگهدارنده های شیمیایی مصرف کنندگان می خواهند از غذاهای طبیعی بدون افزودنی های شیمیایی استفاده کنند که از نظر میکروبی سالم هستند و در موارد مناسب از نظر سازگار با محیط زیست بسته بندی می شوند. افزایش ماندگاری مواد غذایی از بار مالی و زیست محیطی صنایع غذایی می کاهد (۱۴). بنابراین با توجه به ایمنی مواد غذایی و سلامت انسان و تمایل مصرف کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی، استفاده از ترکیبات سالم با خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی را می توان روشی موثر برای کنترل رشد میکروبی و افزایش ماندگاری مورد نیاز دانست. علاوه بر این، اثرات سمی بالقوه نگهدارنده های شیمیایی و آنتی اکسیدان های مصنوعی، محققان را بر آن داشته تا روش هایی را برای افزایش ماندگاری غذاهای فاسد شدنی بر اساس ترکیبات طبیعی با طیف گسترده ای از فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی توسعه دهند (۱۵). با این حال، هزینه استفاده از آنها و سایر چالش ها مانند شدت بو و سمیت احتمالی برای انتشار کنترل نشده این مواد در محصولات غذایی و غیرفعال شدن برخی از ترکیبات ارزشمند به دلیل واکنش نامطلوب آنها به محصولات نهایی، باعث محدودیت معقول در استفاده از آنها به عنوان نگهدارنده غذا شده است (۱۶). مطالعات نشان داده اند که عصاره های گیاهی حاوی ترکیبات فعالی هستند که به طور خاص روی سلول های باکتریایی عمل می کنند. به نظر می رسد که فعالیت ضد میکروبی آنها عمدتاً به دلیل ماهیت آبگریز مواد فعال و متابولیت های ثانویه باشد. ترکیبی از عصاره های ضایعات گیاهی طبیعی و ارزان قیمت با پلیمرهای خاصی مانند کیتوزان می تواند انتخاب خوبی برای کاهش دوز این عصاره ها و جلوگیری از اثرات نامطلوب آنها باشد (۱۷). مطالعات قبلی نشان داد که مزیت اصلی این فناوری این است که میزان انتشار عوامل ضد میکروبی را در محصولی که در آن بیشتر در معرض آلودگی باکتریایی قرار دارد، حفظ می کند (۱۸).

کیتوزان یکی از مهم ترین بیوپلیمرهایی است که تاکنون برای ساخت بیوفیلم ها و پوشش های خوراکی استفاده شده است (۱۹). توانایی فیلم های تجدیدپذیر به عنوان حامل ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی و سایر عوامل فعال برای کنترل پاتوژن ها و بهبود کیفیت و ماندگاری آبزیان در صنعت بسته بندی به خوبی مستند شده است (۲۰). مرکبات و ضایعات آنها از ارزش بالایی برخوردار هستند زیرا منبع غنی آنتی اکسیدان ها و ضد میکروبی ها مانند فلاونوئیدهای گلیکوزیدی، کومارین، گلیکوزیدها، بتا و گاما سیتوسترول، پلی فنول ها و اسانس ها هستند (۲۱). این میوه‌ها و محصولات جانبی آن‌ها به دلیل دسترسی اقتصادی مقرون‌به‌صرفه، طعم لذیذ، طعم ترجیحی و آگاهی مصرف‌کنندگان از مزایای بالقوه سلامتی، بسیار رایج هستند. پوست پرتقال (Citrus sinensis L.) منبع مهمی از مواد مغذی مانند اسید اسکوربیک، کاروتنوئیدها و فنولیک ها به طور گسترده ای رشد

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

یافته ترین گونه مرکبات در سراسر جهان است (۲۱). هدف اصلی این مطالعه بررسی تأثیر پوشش کیتوزان غنی‌شده با عصاره ضایعات پرتقال بر افزایش حفظ و خواص شیمیایی و کاهش بار میکروبی فیله‌های ماهیان خاویاری فیل ماهی نگهداری شده در دمای یخچال بود.

میانگین TVB-N در نمونه‌های مورد بررسی ۱۰/۱۲ mgN/100 gr بود در حالی که میزان ۲۵-۳۵ میلی‌گرم N/100 گرم معمولاً به‌عنوان حد بالایی قابل قبول برای مصرف انسانی در نظر گرفته می‌شود (22). آنالیزهای تقریبی اولیه نشان داد که نمونه های ماهی را می توان به عنوان یک محیط مغذی مناسب از لیپید و پروتئین برای مصرف کنندگان در نظر گرفت. این نتایج با Bongiorno و همکاران سازگار است که ماهیان خاویاری را منبع پروتئین با محتوای چربی بالا می دانستند (23). همچنین میانگین pH نمونه‌ها در نمونه خام ۶/۳۵ تعیین شد که مطابق با pH استاندارد بود که در استانداردهای تعریف شده برای ماهی تازه باید بین ۶-۶.۵ باشد. حد بالای مقبولیت ۶.۸۰-۷.۰۰ در نظر گرفته شد (24, 25). علاوه بر این، مقادیر پراکسید (PV) و ۲-تیوباربیتوریک اسید (TBA) به ترتیب ۰.۹۳±۰.۰۲ meq/Kg و ۰.۹۱±۰.۰۱ MDA/Kg بود که بسیار کمتر از مقادیر حد توصیه شده در مطالعات استاندارد بود (26).

اخیراً شاه حسینی و همکاران اثرات آنتی اکسیدانی پوشش خوراکی پولولان حاوی عصاره گیاه علف چشمه (Nasturtiumn officinale) بر فساد شیمیایی فیله ماهیان خاویاری تازه فیل ماهی در طول نگهداری در دمای یخچال را ارزیابی کرد و نشان داد که پوشش پولولان و همچنین عصاره گیاه علف چشمه در غلظت ۱۰۰۰ ppm به طور قابل توجهی اکسیداسیون لیپید را در ماتریس نمونه با واسطه کاهش PV و تولید TBA به تعویق انداخت ($p<0.05$) (27). این یافته‌ها با یافته‌های این مطالعه همسو بوده و نشان‌دهنده اثربخشی مواد پوششی بر ماندگاری فیله‌های ماهیان خاویاری فیل ماهی است.

همچنین این یافته ها مطابق با گزارش قبلی اخیر است که در آن خواص آنتی اکسیدانی پوشش های گیاهی به ترکیبات فنلی آنها نسبت داده شده است (28, 29). در تحقیق دیگری توسط Li و همکارانش یک فیلم بسته بندی کامپوزیت جدید مبتنی بر ژلاتین پوستی ماهی (Cynoglossus semilaevis) و کیتوزان محلول در آب (CH) با غلظت (۰.۲۵،۰.۵،۱.۰ ٪ V/V) اسانس پوست پرتقال تهیه شد. نتایج نشان داد که مقادیر مقاومت کششی ، مدول الاستیک ، حلالیت آب ، رطوبت و نفوذپذیری بخار آب بسته به غلظت عصاره پوست پرتقال، تغییر مینمود. تجزیه و تحلیل طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه ، الگوی طیفی را نشان می داد که تعامل ساختاری بین مولکول های اسانس پوست پرتقال و FSG/CH در فیلم ها وجود دارد. با افزایش غلظت اسانس پوست پرتقال کاهش قابل توجه در مقادیر L* و A* همراه با تقویت رندوم در مقادیر B*، E △ و کدورت فیلم مشاهده شد. فیلم‌های حاوی اسانس پوست پرتقال دمای تخریب و کاهش وزن کمی در مقایسه با فیلم شاهد نشان دادند. علاوه بر این ، گنجاندن اسانس پوست پرتقال باعث افزایش فعالیت مهاری فیلم های بیولوژیکی در برابر رادیکال های آزاد (DPPH و ABTS) و میکروارگانیسم های آزمایش شده (*استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیا کلی*) شد. به طور کلی، یافته های آنها نشان داد که فیلم های ترکیبی فعال مبتنی بر FSG/CH که با اسانس پوست پرتقال ترکیب شده اند می توانند مواد بسته بندی بالقوه ای را برای حفظ کیفیت مواد غذایی ارائه دهند (۳۰). یافته های تحقیق حاضر در توافق با یافته های مطالعات ذکر شده نشان داد که بیوفیلم غنی شده دارای خواص نگهدارنده آنتی اکسیدان و ضد میکروبی بوده و نقش بسیار خوبی در افزایش ماندگاری فیله ماهیان خاویاری در یخچال دارد. تشکیل پوشش‌های بیوفیلم مبتنی بر

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

کیتوزان غنی‌شده با عصاره پوست پرتقال بر میزان کلی باکتری ها همچنین *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* در بافت ماهی مفید بود. این مطالعه همچنین نشان داد که بیوفیلم غنی‌شده دارای خواص نگهدارنده برای آنتی‌اکسیدان‌ها بوده و می‌تواند انعطاف‌پذیری مطلوب را ایجاد کند. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، تأثیر عصاره پوست پرتقال در تمامی تیمارهای پوششی بر کاهش بار میکروبی نسبت به کنترل معنی‌دار بود ($p<0/05$) و تیمار غنی‌شده با ۱/۵ درصد عصاره پوست پرتقال بهترین عملکرد را در کاهش بار میکروبی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نشان داد.

نتیجه گیری

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از پوشش‌های زیست تخریب‌پذیر کیتوزان حاوی عصاره طبیعی پوست پرتقال، راهکاری کارآمد برای افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت ماهیان خاویاری است. خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قوی عصاره پوست پرتقال، این پوشش را به جایگزینی ایمن و سازگار با محیط زیست برای نگهدارنده‌های شیمیایی تبدیل کرده است. با توجه به نگرانی‌های فزاینده در مورد اثرات مضر مواد شیمیایی بر سلامت انسان و محیط زیست، این روش طبیعی می‌تواند گامی مهم در جهت تولید محصولات غذایی سالم‌تر و پایدارتر باشد.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

منابع

.۱ Yu D, Wu L, Regenstein JM, Jiang Q, Yang F, Xu Y, et al. Recent advances in quality retention of non-frozen fish and fishery products: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020;60(10):1747-59.

.۲ Losey RJ, Guiry E, Nomokonova T, Gusev AV, Szpak P. Storing fish?: a dog's isotopic biography provides insight into Iron Age food preservation strategies in the Russian Arctic. Archaeological and Anthropological Sciences. 2020;12:1-12.

.۳ Nwaigwe U. Fish preservation and processing. Food.۳۱-۲:۱;۲۰۱۷ .

.۴ Sampels S. The effects of storage and preservation technologies on the quality of fish products: A review. Journal of food processing and preservation. 2015;39(6):1206-15.

.۵ Malihi N, Danafar F, Moosavi-nasab M. The effect of Oliveria decumbens Vent. essential oils and lysozyme on physicochemical and functional properties of fish gelatin film. Journal of Food Measurement and Characterization. 2022;16(3):2356-64.

.۶ Mallatt J. Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 1985;42(4):630-48.

.۷ Mei J, Ma X, Xie J. Review on natural preservatives for extending fish shelf life. Foods. 2019;8(10):490.

.۸ Mahmud A, Abraha B, Samuel M, Mohammedidris H, Abraham W, Mahmud E. Fish preservation: A multi-dimensional approach. MOJ Food Process Technol. 2018;6:303-10.

.۹ Miguel GA, Jacobsen C, Prieto C, Kempen PJ, Lagaron JM, Chronakis IS, et al. Oxidative stability and physical properties of mayonnaise fortified with zein electrosprayed capsules loaded with fish oil. Journal of Food Engineering. 2019;263:348-58.

.۱۰ Mo WY, Man YB, Wong MH. Use of food waste, fish waste and food processing waste for China's aquaculture industry: Needs and challenge. Science of the Total Environment. 2018;613:635-43.

.۱۱ Mohamad R, Saad A, Yassin M. Effect of Cryopreservation on the Chemical Quality Indicators in Meat of the Mullet (Liza aurata, Risso, 1810) Fishing from Syrian Marine Waters.

.۱۲ Mohamed M, Abdi R, Ronagh M, Abadi S-A, Basir Z. Comparative histomorphology of epidermis of head and caudal peduncle in Otolithes ruber, Huso huso and Pangasius hypophthalmus fish. Iranian Journal of Aquatic Animal Health. 2021;7(1):10-20.

.۱۳ Safari R, Hoseinifar SH, Imanpour MR , Mazandarani M, Sanchouli H, Paolucci M. Effects of dietary polyphenols on mucosal and humoral immune responses, antioxidant defense and growth gene expression in beluga sturgeon (Huso huso). Aquaculture. 2020;528:735494.

.۱۴ Antognazza CM, Vanetti I, De Santis V, Bellani A, Di Francesco M, Puzzi CM, et al. Genetic Investigation of Four Beluga Sturgeon (Huso huso, L.) Broodstocks for its Reintroduction in the Po River Basin. Environments. 2021;8(4):25.

.۱۵ Boscari E, Marino IA, Caruso C, Gessner J, Lari M, Mugue N, et al. Defining criteria for the reintroduction of locally extinct populations based on contemporary and ancient genetic diversity: The case of the Adriatic Beluga sturgeon (Huso huso). Diversity and Distributions. 2021;27(5):816-27.

.۱۶ Beridze T, Boscari E, Scheele F, Edisherashvili T, Anderson C, Congiu L. Interspecific hybridization in natural sturgeon populations of the Eastern Black Sea: the consequence of drastic population decline? Conservation Genetics. 2022;23(1):211-6.

.۱۷ Rivers N ,Daly J, Temple-Smith P. New directions in assisted breeding techniques for fish conservation. Reproduction, Fertility and Development. 2020;32(9):807-21.

.۱۸ Bernos TA, Jeffries KM, Mandrak NE. Linking genomics and fish conservation decision making: a review. Reviews in Fish Biology and Fisheries. 2020;30(4):587-604.

.۱۹ Lima MdM, Carneiro LC, Machado MRG, Dias ARG, Zavareze EdR, Prentice C, et al. Application of films based on chitosan and xanthan gum in refrigerated fish conservation. Brazilian Archives of Biology and Technology. 2020;63.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

.۲۰ Rathod NB, Bangar SP, Šimat V, Ozogul F. Chitosan and gelatine biopolymer-based active/biodegradable packaging for the preservation of fish and fishery products. International Journal of Food Science & Technology.۶۱-۸۵۴:(۲)۵۸;۲۰۲۳ .

.۲۱ Terzioğlu P, Güney F, Parın FN, Şen İ, Tuna S. Biowaste orange peel incorporated chitosan/polyvinyl alcohol composite films for food packaging applications. Food Packaging and Shelf Life. 2021;30:100742.

.۲۲ Khoshnoudi-Nia S, Moosavi-Nasab M. Prediction of various freshness indicators in fish fillets by one multispectral imaging system. Scientific Reports. 2019;9(1):1-11.

.۲۳ Bongiorno T, Foglio L, Proietti L, Vasconi M, Lopez A, Pizzera A, et al. Microalgae from biorefinery as potential protein source for siberian sturgeon (A. baerii) aquafeed. Sustainability. 2020;12(21):8779.

.۲۴ Chen Y-w, Cai W-q, Shi Y-g, Dong X-p, Bai F, Shen S-k, et al. Effects of different salt concentrations and vacuum packaging on the shelf-stability of Russian sturgeon (Acipenser gueldenstaedti) stored at 4° C. Food Control. 2020;109:106865.

.۲۵ Vilkova D, Chèné C, Kondratenko E, Karoui R. A comprehensive review on the assessment of the quality and authenticity of the sturgeon species by different analytical techniques. Food Control. 2022;133:108648.

.۲۶ John AVF, Ogheneughwe GA, Temitope O. Effect of storage methods on the nutritional qualities of African Catfish Clarias gariepinus (Burchell, 1822). African Journal of food science. 2017;11(7):223-33.

.۲۷ Shahhoseini SR, Safari R, Javadian SR. Evaluation antioxidant effects of Pullulan edible coating with watercress extract (Nasturtiumn officinale) on the chemical corruption of fresh beluga sturgeon fillet during storage in a refrigerator. ISFJ. 2021;30.۴۶-۱۳۳:(۲)

.۲۸ Kuntzler SG, Costa JAV, de Morais MG. Development of electrospun nanofibers containing chitosan/PEO blend and phenolic compounds with antibacterial activity. International journal of biological macromolecules. 2018;117:800-6.

.۲۹ de Farias BS, Junior TRSAC, de Almeida Pinto LA. Chitosan-functionalized nanofibers: A comprehensive review on challenges and prospects for food applications. International journal of biological macromolecules. 2019;123:210-20.

.۳۰ Li Y, Tang C, He Q. Effect of orange (Citrus sinensis L.) peel essential oil on characteristics of blend films based on chitosan and fish skin gelatin. Food Bioscience. 2021;41:100927.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]