

تأثیر بسته بندی نانوکامپوزیت با فیلم رس و پلی اتیلن سبک بر خواص شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Onhorhynchus mykiss*) طی نگهداری در یخچال

علی اصغر خانی پور^{۱*}، ذبیح اله بهمنی^۲، عبدالرسول ارومیه ای^۳ و عباسعلی مطلبی^۴

^۱ موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی، سازمان تحقیقات،

آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران.

^۲ دانشجوی دکتری فرآوری محصولات شیلاتی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور،

پژوهشکده آبی پروری آبهای داخلی، بخش فرآوری محصولات شیلاتی

^۳ پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، ^۴ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۱

چکیده

کاربرد نانوتکنولوژی در صنعت بسته بندی مواد غذایی در سال های اخیر گسترش زیادی یافته و در حال تجاری شدن است. افزودن مواد نانویی باعث بهبودی خواص ممانعت کنندگی پلیمرها در برابر گازهایی نظیر اکسیژن و دی اکسید کربن، افزایش ممانعت کنندگی در برابر اشعه ماوراء بنفش، استحکام مکانیکی، سفتی، پایداری و مقاومت حرارتی پلیمر پایه می شود. در این تحقیق فیلم نانوکامپوزیت پلی اتیلن سبک و ۵ درصد نانوذرات رس را به عنوان تیمار آزمایشی و فیلم پلی اتیلن سبک را به عنوان تیمار شاهد تولید و جهت بسته بندی فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان و نگهداری در یخچال مورد استفاده قرار گرفت سپس جهت بررسی وضعیت کیفی فیله های بسته بندی شده در روزهای صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ نمونه برداری و از آزمونهای شیمیایی (pH, TVB-N, PV, TBARS)، میکروبی (TVC, PTC, LAB, EBC and H₂S producing bacteria) و حسی استفاده گردید. براساس نتایج بدست آمده، اختلاف معنی داری بین تیمارهای شاهد و آزمایشی در روزهای مختلف نمونه برداری مشاهده و در نتیجه مدت ماندگاری فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان در تیمارهای شاهد و آزمایشی به ترتیب ۱۳ تا ۱۵ و ۱۸ تا ۲۰ روز تعیین شده است.

واژه های کلیدی: قزل آلائی رنگین کمان، پلی اتیلن سبک، مدت ماندگاری، نانو ذرات رس

مقدمه

در واقع به دوره زمانی که یک ماده غذایی تحت شرایط نگهداری مشخص برای مصرف مناسب و امن باشد، مهم است. بدین منظور از تکنیک های متفاوتی مانند سرد سازی محصول بلافاصله پس از صید، نگه داری در یخ، بسته بندی در خلاء و اتمسفر اصلاح شده، پرتو دهی با اشعه گاما و UV استفاده شده است (Savvadis و همکاران، ۲۰۰۲)، تعیین فساد بر اساس، ارزیابی کیفی محصول با روش های متعدد حسی، بیوشیمیایی، فیزیکی و میکروبیولوژی می باشد

با توجه به رشد روز افزون میزان پرورش ماهی قزل آلائی رنگین کمان در آب شیرین و کسب رتبه اول جهان (سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۳) و قابلیت فساد پذیری بالای ماهیان سبب شده تا حفظ کیفیت ماهی تازه، یکی از مسائل مهم مورد توجه صنعت ماهی و مصرف کنندگان باشد (Liston، ۱۹۸۰). در این رابطه توجه به عمر ماندگاری محصول

* نویسنده مسئول: AAkhanipour@yahoo.com

زنجره‌های پلیمری و برقراری و برهمکنش‌های قوی، باعث تقویت شبکه پلیمری و بهبود خواص مکانیکی، بازدارندگی در برابر گازها (اکسیژن و دی اکسید کربن، کاهش نفوذ پذیری نسبت به بخار آب و افزایش مقاومت حرارتی می‌شود (Arora و Padua، ۲۰۰۹). در این تحقیق جهت بهبود خواص سد کنندگی پلی اتیلن سبک نسبت به گازهای اکسیژن و دی اکسید کربن و تاخیر در فساد به ویژه فساد ناشی از اکسیداسیون چربی‌ها و در نهایت افزایش عمرماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای کمان از بسته‌بندی توسط فیلم نانو کامپوزیت رس، پلی اتیلن سبک استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

ساخت فیلم نانو کامپوزیت رس - پلی اتیلن سبک:
جهت تولید فیلم کامپوزیت پلی اتیلن سبک و ۵ درصد نانو ذرات رس، ۵۰ گرم مونومر پلینت سدیم را به همراه ۳ درصد سازگار کننده پلی اتیلن مالئیک انیدرید (PEMA)، پلی اتیلن سبک (LDPE) و پلی اتیلن سبک خطی (LLDEPE) مخلوط نموده و همزده تا پوشش کامل نانوذرات رس بر گرانول‌ها ادامه یافت و مخلوط نهایی را در دستگاه اکسترودر دو ماریچ (مدل Brabender، ساخت آلمان) جهت انجام فرآیند واکنش مذابی با دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد و دور ۸۰ rpm قرار گرفت سپس گرانول‌های نانوکامپوزیت تولید شده به وسیله دستگاه اکسترودر تک ماریچ با دای دمشی به فیلم‌های با ضخامت 40 ± 2 میکرون جهت استفاده در تیمارها و فیلم بدون ذرات نانو کامپوزیت به عنوان شاهد تولید شد تمامی این مراحل در پژوهشگاه پتروشیمی و پلیمر ایران به انجام رسیده است.

آماده کرده نمونه ماهی: برای آماده سازی ماهی، میزان چهار کیلوگرم ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را به صورت زنده از بازار خریداری نموده و توسط

(Gram و Huss، ۱۹۹۶؛ Gill، ۱۹۹۲). فسفاد باکتریایی ماهی نگهداری شده در یخچال تحت شرایط هوایی توسط میکروارگانیسم‌های گرم منفی سرمدوست مانند سودوموناس، آلترموناس، شوانلا و گونه‌های مختلف فلاوباکتریوم اتفاق می‌افتد (Hubbs، ۱۹۹۱). ماهیان چرب مثل ماهی آزاد و قزل‌آلا (*Oncorhynchus mykiss*) دارای سطوح بالایی از اسیدهای چرب چند غیر اشباع^۱ می‌باشند که به خاطر اثرات مفیدی که این اسیدهای چرب برای سلامتی دارند مصرف آنها توصیه می‌شود. از طرفی چربی ماهیان به دلیل داشتن مقدار قابل توجهی از اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه در مقابل فسادهای ناشی از اکسیداسیون بسیار حساس بوده و دچار آسیب دیدگی می‌گردد (Viscidi و همکاران، ۲۰۰۴؛ Vicetti و همکاران، ۲۰۰۴). اقداماتی در جلوگیری و یا به تعویق انداختن فساد ماهی‌ها و فرآورده‌های آن گزارش شده است که از آن جمله می‌توان به کنترل درجه حرارت و کاهش آن، استفاده از انواع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و مصنوعی، نمک سود کردن، بسته بندی و...، بسته بندی، نقش اصلی بسته‌بندی علاوه بر بازیابی و اطلاعاتی که به مصرف کننده می‌دهد (Gomez-Guillen و همکاران، ۲۰۰۹) حفظ کیفیت و ایمنی ماده غذایی از طریق کنترل انتقال ماده بین ماده غذایی، بسته بندی و اتمسفر است همچنین محافظ خوبی در مقابل نور و آسیب‌های مکانیکی می‌باشد (Baldwin و Hagenmaier، ۲۰۱۲). پلی اتیلن (PE) به علت این که متداول‌ترین و اقتصادی‌ترین ماده بسته‌بندی غذا و محصولات کشاورزی است (Jokar، ۲۰۱۰) و همچنین نوع پلی اتیلن سبک (LDPE) به سبب داشتن قابلیت تولید فیلم، استفاده شده است. ویژگی‌های فیزیکی، مکانیکی و ممانعت کنندگی پلی اتیلن می‌تواند با اقزودن نانو ذرات رس بهبود یابد. جایگیری نانو ذرات بین

1. PUFA: Polyunsaturat Fatty Acid

ساعت انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد (ICMSF, ۱۹۷۸). در نهایت برای شمارش باکتری‌های تولید کننده H_2S به ویژه *Shewanella putrefaciens* از محیط کشت Plate Iron Agar در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار روز استفاده شد (Gennari و Campanini, ۱۹۹۱).

آزمون حسی: در این تحقیق از جدول QIM (Quality Index Method) استفاده شده است و فاکتورهای مانند پوست، رنگ، بو و بافت، در دو تیمار بسته بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک، بسته بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس - پلی اتیلن سبک، توسط ۷ ارزیاب آموزش دیده مورد بررسی قرار گرفت امتیازبندی از ۰ تا ۱۰ می باشد که به این شرح است کیفیت عالی از ۰ تا ۱/۵، کیفیت خوب از ۱/۵ تا ۳ کیفیت متوسط از ۳ تا ۵ می باشد بعد از ۵ کیفیت غیر قابل قبول است (Cristiana, ۲۰۱۳).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصله از دو تیمار بسته بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک، بسته بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس پلی اتیلن سبک، در سه تکرار با نرم افزار SPSS 18 انجام شده که در آن جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولموگراف - اسمیرنوف (Kolmogorav-Smirnov) استفاده شد و با اثبات نرمال بودن داده‌ها از تجزیه واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) استفاده شده است. همچنین جهت مشخص نمودن وجود یا عدم وجود تفاوت معنی دار در مورد هر آزمون شیمیایی (pH, TVB-N, PV, TBARS)، میکروبی (LAB, EBC, TVC, PTC, and H_2S producing bacteria) و حسی، بین تیمار هدف و شاهد از آزمون تی غیر جفتی استفاده شده است. برای پیدا نمودن اختلاف معنی دار در بین

یونولیت حاوی یخ به نسبت ۲ به ۱ (ماهی به یخ) به بخش تحقیقات فرآوری آبزیان منتقل نموده و پس از شستشو و ضد عفونی کردن میز و ابزار کار، ماهیان را با آب سرد شسته سپس آنها را فیله نموده و هر فیله در داخل کیسه‌هایی از جنس پلی اتیلن سبک به عنوان تیمار شاهد و پلی اتیلن سبک و نانو ذرات رس ۵ درصد به عنوان تیمار آزمایشی، قرار گرفته است. پس از قرار دادن در یخچال در دمای 4 ± 2 درجه سانتی‌گراد، در فواصل زمانی روزهای صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ نمونه برداری کرده و از لحاظ شاخص‌های کیفی شامل آزمون‌های شیمیایی (pH, TVC, PTC, TVB-N, PV, TBARS)، میکروبی (LAB, EBC, H_2S producing bacteria) و حسی مورد بررسی قرار گرفتند.

آنالیز شیمیایی: اندازه‌گیری چربی کل، پروتئین کل، خاکستر، رطوبت، pH و اندازه‌گیری میزان بازهای از ته فرار (TVB-N) mgN/100g (پروانه، ۱۳۷۷)، میزان عدد پراکسید (PV) بر حسب میلی‌اکی‌والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم گوشت و شاخص تیوباربتوریک اسید (mg MA/Kg Fish Flesh TBARS) از روش (Egan و همکاران، ۱۹۸۱)) استفاده شده است.

آنالیز باکتریایی: برای شمارش کلی باکتری‌ها از محیط کشت پلیت کانت آگار به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، شمارش باکتری‌های سرمادوست و سرماگرا از محیط کشت پلیت کانت آگار به مدت ۱۰ روز در ۷-۱۰ درجه سانتی‌گراد (APHA, ۲۰۰۱)، برای شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک از محیط کشت (deMan Rogosa and Sharpe (MRS) agar به همراه ۲ عدد گاز پک نوع A در داخل جار بی هوازی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد و برای شمارش اتروباکتریاسه از محیط کشت Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) بعد از ۲۴

نتایج حاصل از آزمون‌های حسی ماهیان مورد آزمایش از آزمون «کروسکال-والیس»-Test Kruskal-Wallis و آزمون من ویتنی Mann-Whitni test استفاده گردید.

نتایج و بحث

آزمون‌های شیمیایی: جدول ۱، میزان ترکیبات تقریبی بدن ماهی (رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر)

جدول ۱- آنالیز فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

نوع ترکیب	میانگین ± انحراف معیار
پروتئین	۲۰/۹۷ ± ۱/۰۲
چربی	۵/۹۹ ± ۰/۸۷
رطوبت	۷۲/۱۶ ± ۳/۵۴
خاکستر	۱/۰۴ ± ۰/۲

میانگین ± انحراف معیار n=۳

ناشی از عدم حلالیت CO₂ در نمونه‌های ماهی باشد (تجمع CO₂) که به موجب افزایش pH، کاهش می‌یابد (Fan و همکاران، ۲۰۰۸). چنین نتیجه‌ای در مطالعات (Manju و همکاران، ۲۰۰۷؛ Tiffney و Mills، ۱۹۸۲) نیز مشاهده شده است. افزایش pH ممکن است ناشی از تولید ترکیبات پایه فرار از قبیل آمونیاک، آمونیوم، تری‌متیل‌آمین (TMA) در اثر عمل آنزیم‌های داخلی یا آنزیم‌های میکروبی باشد (Riebroy و همکاران، ۲۰۰۷).

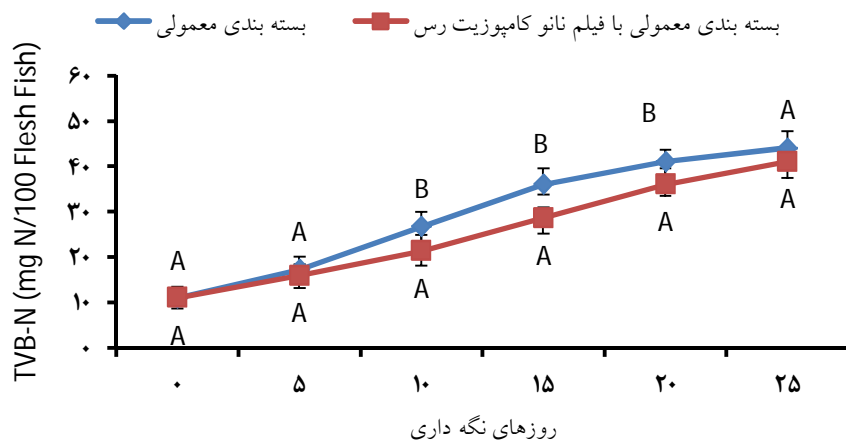
تغییرات pH، با توجه به نمودار ۱، روند تغییرات pH در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف، طی زمان نگهداری ابتدا کاهش و سپس افزایش می‌یابد و این روند در دو تیمار مشابه هم می‌باشد مقدار pH در روز اول نمونه برداری در دو تیمار شاهد و آزمایشی به ترتیب ۶/۶۲ و ۶/۵۵ بوده است که در انتهای دوره نگه‌داری به ترتیب به میزان ۶/۷۹ و ۶/۶۳ رسید. نتایج بیانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار (P>۰/۰۵) بین دو تیمار شاهد و آزمایشی در هر روز می‌باشد. کاهش اولیه pH ممکن است



نمودار ۱- تغییرات pH در دو تیمار بسته‌بندی معمولی با فیلم پلی‌اتیلن سبک و بسته‌بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس و پلی‌اتیلن سبک طی مدت زمان نگهداری در یخچال.

۳۶/۳ و در روز ۲۰ در تیمار آزمایشی ۳۷/۱ میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی بوده است که بیش از حد مجاز (۳۵ میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی) بود. محتوی TVB-N شامل دامنه وسیعی از ترکیبات پایه‌ای فرار از جمله آمونیاک، متیل آمین، دی متیل آمین، تری متیل آمین و دیگر ترکیبات مشابه می باشد که در اثر فعالیت های میکروبی تولید می شوند (Rodriguez و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج مشابهی در مورد ماهیان مثل سوف رودخانه نیل (*Lates niloticus* Karungi و همکاران، ۲۰۰۴) و مار ماهی اروپایی (*Anguilla Anguilla* Ozogul و همکاران، ۲۰۰۵) مشاهده می شود.

بازهای ازته فرار (TVB-N): براساس نمودار ۲، میزان بازهای ازته فرار در تیمارهای مختلف فیله ماهی قزل آلی رنگین کمان، طی زمان نگهداری در یخچال دمای 4 ± 2 درجه سانتی گراد، افزایش یافته که بیانگر شروع واکنش های فساد میکروبی بود. نتایج حاصل از آزمون های آماری مبین وجود تفاوت معنی دار ($P \leq 0/05$) در هر تیمار طی روزهای مختلف نمونه برداری همچنین نتایج آزمون t غیر جفتی، عدم وجود تفاوت معنی دار ($P > 0/05$) بین دو تیمار بوده است مقدار بازهای ازته فرار در روز اول نمونه برداری دو تیمار شاهد و آزمایشی به ترتیب ۱۰/۹۵ و ۱۰/۹۶ می باشد و در روز ۱۵ در تیمار شاهد به میزان



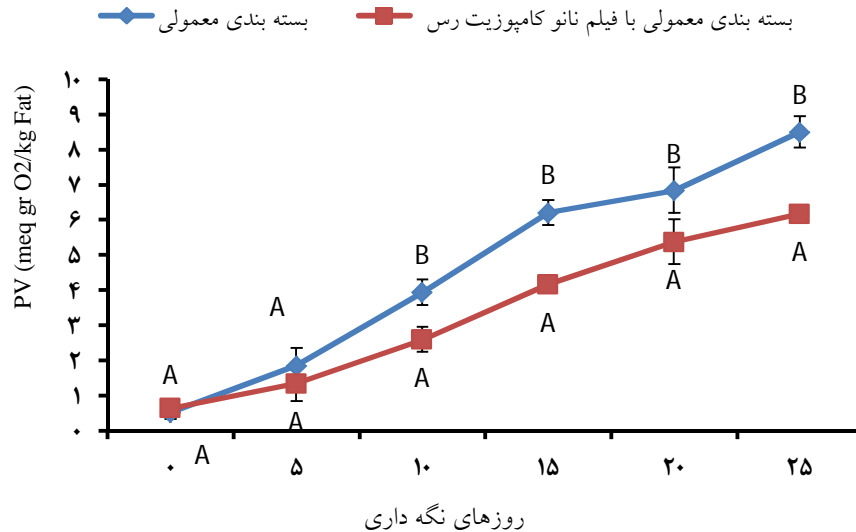
نمودار ۲- تغییرات بازهای ازته فرار (TVB-N) در دو تیمار بسته بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک و بسته بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس و پلی اتیلن سبک طی مدت مختلف نگه داری در یخچال

اکسیژن در کیلوگرم چربی رسیده است ولی تغییرات پراکسید در تیمار آزمایشی با سرعت کمتری و در روز ۲۰ نگه داری به ۵/۳۶ میلی اکی والان گرم اکسیژن در کیلوگرم چربی بود. علت کاهش عدد پراکسید در تیمار آزمایشی بخاطر توزیع یکنواخت نانو ذرات رس در فیلم نانو کامپوزیت رس، پلی اتیلن سبک که باعث بهبود خاصیت سد کنندگی این فیلم نسبت به گازهای اکسیژن، دی اکسید کربن و نیتروژن شده است. این نتایج مشابه نتایج بدست آمده از تحقیقات اثر

تغییرات عدد پراکسید (PV): بر اساس نمودار ۳، تغییرات عدد پراکسید در فیله ماهی قزل آلی رنگین کمان در دو تیمار شاهد و آزمایشی، طی زمان نگه داری افزایش داشته است. البته سرعت افزایش تولید پراکسید در تیمار شاهد با سرعت بیشتری همراه بوده است میزان پراکسید در شروع زمان نگه داری در دو تیمار شاهد و آزمایشی به ترتیب ۰/۵۱ و ۰/۶۳ بوده است که طی زمان نگه داری در یخچال میزان پراکسید در تیمار شاهد در روز ۱۵ به ۶/۲ میلی اکی والان گرم

شده قزل آلای رنگین کمان در یخ بوده است
Khanipour و Mirzakhani، ۲۰۱۲؛
Kontominas و همکاران (۲۰۰۴).

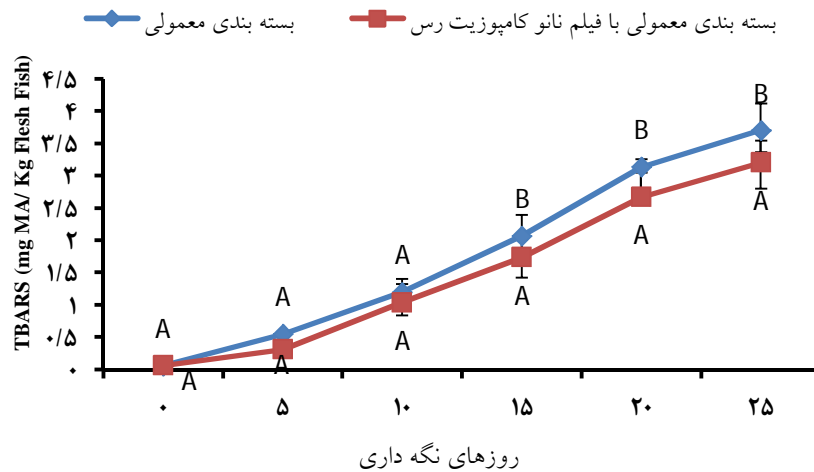
روش‌های مختلف بسته بندی بر مدت ماندگاری
ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دودی شده در یخچال و
ارزیابی میکروبی، شیمیایی و حسی ماهی کامل و فیله



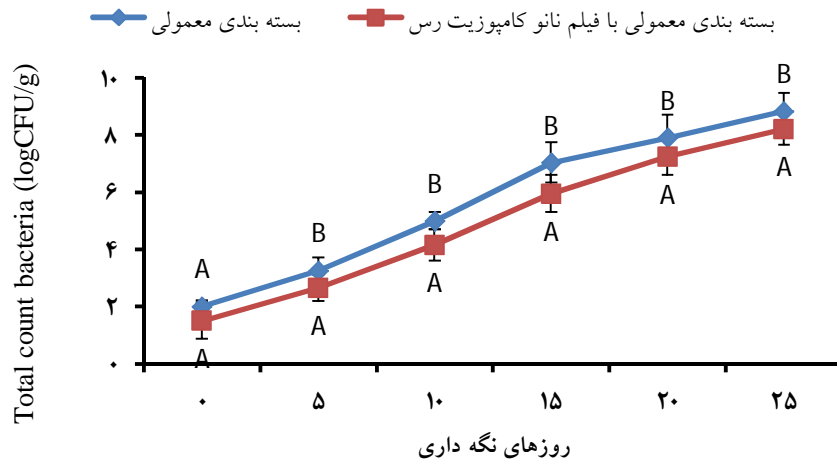
نمودار ۳- تغییرات عدد پراکسید (PV) در دو تیمار بسته بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک و بسته بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس و پلی اتیلن سبک طی مدت مختلف نگه داری در یخچال

طی مدت نگه داری می باشد تفاوت آماری بین روزهای اولیه و انتهایی هر تیمار معنی دار ($p \leq 0.05$) بوده است اما اختلاف بین دو تیمار تا روز ۱۵ نگه داری فاقد تفاوت معنی دار ($p > 0.05$) و بعد از آن تفاوت معنی دار ($p \leq 0.05$) بوده است. این نتایج مشابه نتایج بدست آمده از تحقیقات اثر روش‌های مختلف بسته بندی بر مدت ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان دودی شده در یخچال و ارزیابی میکروبی، شیمیایی و حسی ماهی کامل و فیله شده قزل آلای رنگین کمان در یخ بوده است (Khanipour و Mirzakhani، ۲۰۱۲؛ Kontominas و همکاران ۲۰۰۴).

تیوباربیتوریک اسید **TBARS**: تیوباربیتوریک اسید به عنوان محصول و ثانویه فرآیند اکسیداسون لپید می باشند براساس نمودار ۴، مقدار تیوباربیتوریک اسید در مدت نگه داری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در یخچال در تیمار شاهد و آزمایشی روند افزایشی داشته که سرعت این افزایش در تیمار شاهد (بسته بندی معمولی فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان با فیلم پلی اتیلن سبک) نسبت به تیمار آزمایشی بیشتر می باشد که بیانگر اثر معنی دار نانو ذرات رس در بهبود خاصیت سد کنندگی فیلم نانوکامپوزیت رس، پلی اتیلن سبک نسبت به فیلم پلی اتیلن سبک در فرآیند اکسیداسیون فیله ماهی قزل آلای رنگین کمان



نمودار ۴- تغییرات میزان تیوباریتوتیک اسید TBARS در دو تیمار بسته بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک و بسته بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس و پلی اتیلن سبک طی روزهای مختلف نگه داری در یخچال.



نمودار ۵- تغییرات شمارش کلی باکتری ها (TVC) در دو تیمار بسته بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک و بسته بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس و پلی اتیلن سبک طی روزهای مختلف نگه داری در یخچال.

آزمون های میکروبی

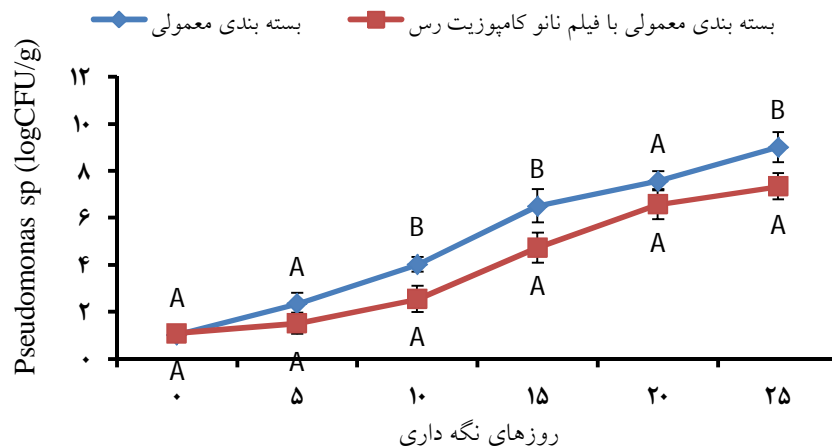
شمارش تعداد کل باکتری ها (TVC): براساس نمودار ۵، تعداد باکتری های (TVC) در فیله ماهی قزل آلابی رنگین کمان در دو تیمار شاهد و آزمایشی، طی زمان نگه داری در یخچال دمای 4 ± 2 درجه سانتی گراد، روند افزایشی داشته است البته سرعت افزایش بار میکروبی در تیمار شاهد بیشتر از تیمار آزمایشی بوده و در نتیجه باعث ماندگاری بیشتر فیله ماهی قزل آلابی رنگین کمان در تیمار آزمایشی شده است. میزان کل باکتری ها در تیمار شاهد در روز ۱۵،

$7/03 \log CFU/g$ و در تیمار آزمایشی در روز ۲۰، $7/23 \log CFU/g$ که از میزان مجاز، ۷ بیشتر بوده است. شمارش کل باکتریها (TVC) در مطالعات انجام شده بر روی ماهی قزل آلابی رنگین کمان پرورشی نگه داری شده در یخ و ماهی هامور سفید وحشی طی مدت ۲۲ روز نگه داری به طور معنی داری افزایش یافت به طوری که در روز ۱۶ از میزان مجاز ($7 \log cfu/g$) فراتر رفت (Ozgul و همکاران، ۲۰۰۸، Rezaei و همکاران، ۲۰۰۸). با توجه به روند افزایشی شمارش کل باکتری ها در دوره نگه

Gimenez و همکاران، ۲۰۰۲). نمودار ۶، تعداد باکتری‌های سرمادوست را نشان می‌دهد که طی دوره نگهداری افزایشی داشته است. تعداد باکتری‌های سرمادوست در تیمار شاهد در روزهای صفر، ۲۰ و ۲۵ نگره داری، به ترتیب ۱/۷، ۷/۵ و ۹ log CFU/g و در تیمار آزمایشی در روزهای صفر، ۲۰ و ۲۵ نگره داری به ترتیب ۱/۵۷، ۶/۵۶ و ۷/۳ log CFU/g بود. که منطبق نتایج بدست آمده از تحقیقات ارزیابی میکروبی، شیمیایی و حسی ماهی کامل و فیله شده قزل آلائی رنگین کمان در یخ بوده است (Kontominas و همکاران، ۲۰۰۴). در مطالعه Gimenez و همکاران (۲۰۰۲) PTC فیله قزل آلائی رنگین کمان پرورشی بسته بندی شده در فویل‌های آلومینیومی، خلاء و اتمسفر اصلاح شده نتیجه گرفتند این نمونه‌ها به ترتیب بعد از ۶، ۱۰، ۱۴ روز نگهداری در یخ به ۷ log CFU/g رسیدند.

داری در دو تیمار شاهد و آزمایشی به ترتیب در روزهای ۱۵ و ۲۰ از حد مجاز بیشتر شد. بیشترین حد پیشنهاد شده (MRL) برای TVC در ماهی قزل آلائی رنگین کمان ۷ log CFU/g است (ICMSF، ۱۹۸۶). مقایسه نتایج این تحقیق با سایر مطالعات نشان دهنده که منطبق با نتایج سایر محققین است.

باکتری‌های سرمادوست (PTC): باکتری‌های سرمادوست گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیزم‌های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد هستند (Gram و همکاران، ۱۹۸۷؛ Gram و Huss، ۱۹۹۶). باکتری‌های هوازی از قبیل گونه‌های *Pseudomonas spp* جزء گروه‌های باکتریایی غالب در گوشت قزل آلائی رنگین کمان می‌باشند که به طور گسترده‌ای به فساد گوشت نگهداری شده در شرایط هوازی کمک می‌کنند (Sousa و همکاران، ۱۹۹۶). بار باکتریایی مجاز برای باکتری‌های هوازی (سرمادوست‌ها) ۷ log cfu/g گزارش شده است.

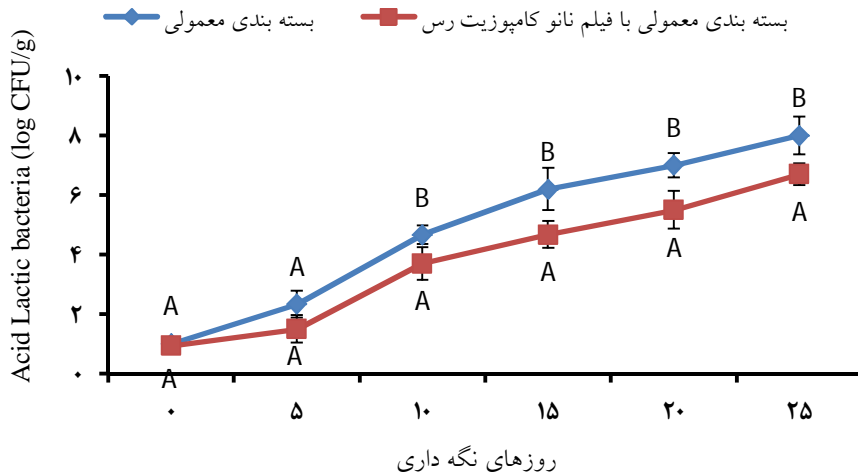


نمودار ۶. تغییرات باکتری‌های سرمادوست (سودموناس) در دو تیمار بسته بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک و بسته بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس و پلی اتیلن سبک طی روزهای مختلف نگه داری در یخچال.

افزایش بار میکروبی در تیمار شاهد بیشتر از تیمار آزمایشی بوده و در نتیجه باعث ماندگاری بیشتر فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان در تیمار آزمایشی شده است. میزان باکتری‌های اسید لاکتیک در انتهای دوره نگه داری به ترتیب در تیمار شاهد و آزمایشی log CFU/g

باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB): براساس نمودار ۷، نتایج حاصل از شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک، در فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان در دو تیمار شاهد و آزمایشی، طی زمان نگه داری در یخچال دمای 4 ± 2 درجه سانتی‌گراد، روند افزایشی داشته است البته سرعت

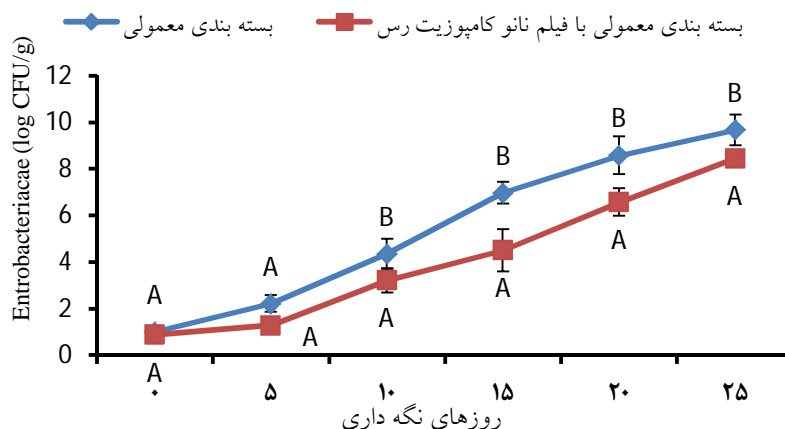
۸ و ۶/۷ بوده است این نتایج با مطالعات Sallam (۲۰۰۷) در ماهی آزاد مطابقت دارد.



نمودار ۷- تغییرات باکتری‌های اسید لاکتیک در دو تیمار بسته‌بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک و بسته‌بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس و پلی اتیلن سبک طی مدت مختلف نگهداری در یخچال.

انتروباکتریاسه‌ها، بخشی از فلور میکروبی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تازه نگهداری شده در 2 ± 1 درجه سانتی‌گراد در طول دوره نگهداری بود که این نتایج با مطالعات انجام شده بر روی انتروباکتریاسه در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (Amanatudou و همکاران، ۲۰۰۰) باس دریایی (Papadopoulos و همکاران، ۲۰۰۳) قزل‌آلای رنگین‌کمان (Chytiri و همکاران، ۲۰۰۴) ماهی آزاد اقیانوس آرام (Sallam، ۲۰۰۷) مطابقت دارد.

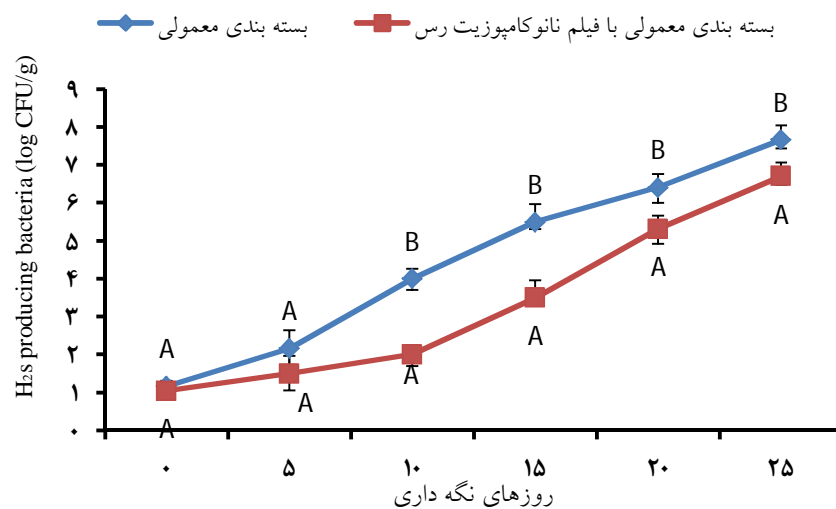
انتروباکتریاسه‌ها (EBC)، با توجه به نمودار شماره ۸، تعداد انتروباکتریاسه‌ها در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف، طی زمان نگهداری در یخچال دمای 4 ± 2 درجه سانتی‌گراد، افزایش یافته و نتایج حاصل از آنالیز واریانس بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار ($P \leq 0/05$) در هر تیمار بین روزهای اول و آخر نمونه‌برداری و همچنین نتایج آزمون t غیر جفتی، بیانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار ($P > 0/05$) بین دو تیمار به جزء روزهای ۱۵ و ۲۰ نگهداری بوده است.



نمودار ۸- تغییرات میزان انتروباکتریاسه‌ها در دو تیمار بسته‌بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک و بسته‌بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس و پلی اتیلن سبک طی مدت نگهداری در یخچال.

در دامای یخچال در تیمار شاهد و آزمایشی بیشتر از حد مجاز $7 \log \text{ cfu/g}$ بوده است که منطبق با نتایج بدست آمده از تحقیقات ارزیابی میکروبی، شیمیایی و حسی ماهی کامل و فیله شده قزل آلی رنگین کمان در یخ و همچنین با نتایج تحقیق افزایش مدت ماندگاری فیله ماهی سیم دریایی بسته‌بندی شده تحت شرایط خلاء با ترکیب اشعه گاما و نگه داری در یخچال منطبق بوده است (Kontomina و همکاران، ۲۰۰۵).

باکتری‌های تولیدکننده سولفید هیدروژن (H_2S Producing Bacteria): براساس نمودار ۹، تعداد باکتری‌های تولیدکننده سولفید هیدروژن به ویژه *Shewanella putrefaciens* در ابتدای دوره نگه‌داری در یخچال در تیمار شاهد و آزمایشی به ترتیب $1/52$ و $1/46 \log \text{ CFU/g}$ بوده است که میزان آن برای هر دو تیمار شاهد و آزمایشی در طول دوره نگه داری با توجه به زمان به طور معنی داری افزایش یافت و در انتهای دوره نگه داری (۲۵ روز)



نمودار ۹- تغییرات میزان باکتری‌های تولیدکننده سولفید هیدروژن در دو تیمار بسته بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک و بسته بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس و پلی اتیلن سبک طی روزهای مختلف نگه داری در یخچال.

بو فیله در دو تیمار بسته‌بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک (تیمار شاهد)، بسته‌بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس - پلی اتیلن سبک (تیمار آزمایشی)، مورد بررسی قرار گرفت بر اساس نتایج تیمار شاهد در روز ۱۵ نگه داری مجموع فاکتورها به $5/6$ رسید و در تیمار آزمایشی در روز ۲۰ به $7/8$ رسیده است و نشان از بروز فساد در تیمارها بوده است با توجه به جدول ۲، اختلاف بین دو تیمار معنی دار نمی باشد ولی اختلاف در هر تیمار در روزهای نگه‌داری در یخچال معنی دار ($P \leq 0/05$)

ارزیابی حسی: اگر چه انواعی از روش‌های بیوشیمیایی، فیزیکی و میکروبیولوژی برای تعیین تازگی ماهی استفاده می شوند (Gram و Huss, ۱۹۹۶; Gill, ۱۹۹۲)، ارزیابی حسی هنوز رضایت بخش ترین روش برای رسیدن به این هدف است (Reineccius, ۱۹۹۰; Connell, ۱۹۷۵). روش‌های حسی سریع و ساده هستند و بلافاصله داده‌های کیفی را پیش بینی می کنند (Connell, ۱۹۷۵). براساس نتایج حاصل از جدول ۲ که از روش QIM استفاده شده است و فاکتورهای مانند پوست، رنگ، بافت و

ماهی سیم (*Megalobrama amblycephala*) شکم خالی توسط کیسه‌های پلی اتیلنی نگه داری شده در یخچال با شاخص کیفی (QI)، ۰ تا ۳۳، منطبق بوده است (Song و همکاران، ۲۰۱۱).

است. که این نتایج با نتایج تحقیقات مطالعه عمر ماندگاری ماهی آزاد اقیانوس اطلس پرورشی (*Salmo salar*) نگه‌داری شده در یخ با شاخص کیفی (QI)، ۰ تا ۲۴، ۲۰ روز منطبق بوده است (Sveinsdottir، ۲۰۰۲) و با نتایج تحقیق بسته‌بندی

جدول ۲- ارزیابی حسی فیله قزل‌آلای رنگین کمان در دو تیمار شاهد و آزمایشی.

دوره نگهداری (روز)						
تیمار (نوع بسته‌بندی)	۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵
معمولی	۰/۴±۰/۰۲Aa	۱/۶±۰/۳۸Aab	۳/۲±۱/۲Ab	۵/۶±۱/۸۷Ac	۷/۶±۲/۵۸Acd	۹/۴±۲/۳۴Ad
معمولی با فیلم نانو	۰/۲±۰/۰۱Aa	۱/۲±۰/۵۶Aab	۲/۶±۱/۲۶Ab	۴/۸±۱/۶۸Ac	۷/۸±۲/۶۵Ad	۹/۲±۲/۴۵Ae

*میانگین ± انحراف معیار، n=۳ حروف انگلیسی کوچک نشان‌دهنده وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار درون هر تیمار در روزهای مختلف نمونه‌گیری می‌باشد و حروف انگلیسی بزرگ نشان‌دهنده وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در هر روز نمونه‌برداری می‌باشد

نتیجه‌گیری

دو تیمار بسته بندی معمولی فیله قزل آلائی رنگین کمان با فیلم پلی اتیلن سبک به عنوان تیمار شاهد و بسته بندی معمولی معمولی فیله قزل آلائی رنگین کمان با فیلم نانوکامپوزیت رس- پلی اتیلن سبک به عنوان تیمار آزمایشی که در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفته است نشان دادند که فیلم نانوکامپوزیت به دلیل کاهش میزان نفوذپذیری نسبت به گازهای اکسیژن و دی اکسید کربن باعث تاخیر در فساد اکسیداسیونی فیله قزل الای رنگین کمان و به طور معنی داری باعث افزایش مدت ماندگاری آن در دمای یخچال شده است بر اساس نتایج بدست آمده از آنالیز

میکروبی و ارتباط مستقیم و مثبت آن با نتایج حاصل از ارزیابی حسی مدت ماندگاری فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان به ترتیب در تیمار شاهد و تیمار آزمایشی، ۱۳ تا ۱۵ و ۱۸ تا ۲۰ روز بوده است.

سپاسگزاری

از کارشناسان کارگاه پلاستیک پژوهشگاه پتروشیمی و پلیمر ایران و همچنین از کلیه کارکنان بخش تحقیقات فرآوری آبزیان انزلی که کمال همکاری در انجام پروژه را داشته اند تقدیر و تشکر می‌نمایم.

منابع

- پروانه، و.، ۱۳۷۷. کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۲۵ صفحه.
- سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۳. سالنامه آماری سازمان شیلات ایران. ۳۳ صفحه.
- APHA (American Public Health Association)., 2001. In C. Frances Pouch Downes and Keith Ito (Eds), Compendium of methods for the microbiological examination of foods (4th ed.). Washington, DC: APHA.

- Arora, A., and Padua, G.W., 2009. Nanocomposites in Food Packaging. *Journal of Food Science.*, 75, 43-49.
- Baldwin, E. A., and Hagenmaier, R. D., 2012. Edible coating and films to improve food quality: CRC PressILIC.
- Chouliara, I., Savvaidis, I.N., Riganakos, K., and Kontominas, M.G., 2005. Shelf- life extension of vacuum-packaged Seabream (*Sparus aurata*) fillets by combined γ -irradiation and refrigeration: microbiological, chemical and sensory change. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 85, 779-784.
- Chytiri, S., Chouliara, I., Savvaidis, I.N., and Kontominas, M.G., 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology*, 21:157-165.
- Connell, J.J. 1975. Control of fish quality. Surrey: Fishing News (Books).
- Cristiana, D. 2013. Quality index method to assess the freshness and shelf life of fish. *Brazarch. Biotechnology.* 56(4), 587-598.
- Egan H., Krik R.S., and Sawyer R., 1997. *Pearsons Chemical Analysis of Foods.* 9(edn), pp. 609-634.
- Fan W., Chi Y., and Zhang S., 2008. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice. *Food Chemistry*, 108: 148–153.
- Gimenez, B., Roncales, P., and Beltran, J.A., 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbowtrout. *J. Science Food Agriculture.* 84, 1154–1159.
- Gennari, M., and Campanini, R., 1991. Isolamento e caratterizzazione di *Shewanella putrefaciens* da pesce fresco e alterato, carni fresche e alterato, prodotti lattiero-caseari, acqua e solo. *Ind. Aliment.* 30, 965-976.
- Gill, T.A., 1992. Chemical and biochemical indices in seafood quality. In: Huss, H.H., Jacobsen, M., Liston, J. (Eds.), *Quality Assurance in the Fish Industry.* Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 377–387.
- Gimenez B., Roncales P., and Beltran J.A., 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *J. Science Food Agriculture.* 84, 1154–1159.
- Gomez-Guillen, M.C., Perez-Mateos, M., Gomez-Estaca, J., Lopez-Caballero, E., Gimenez, B., and Montero, P., 2009. Fish gelatin: a renewable material for developing active biodegradable films. *Trends in food science and Technology.* 20(1), 3-16.
- Gram, L., and Huss, H.H., 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. I. *J. Food Microbiology*, 33: 121–137.
- Huzbor, M.C., Saiz, A.I., Yeannes, M.I., and Fritz, R., 2006. Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*). *LWT Food Science & Technology*, 39: 99–104.
- Hubbs, J., 1991. Fish: microbiological spoilage and safety. *Food Sci. Technol. Today* 5: 166–173.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specification Foods), 1986. *Microorganisms in foods 20 sampling for microbiological analysis. Principles and specific application (2nd ed)* Buffalo, NY: university Toronto press.
- Jokar, M., AbdolRahman, R., Ibrahim, N.A., Abdollah, L.C., and Tang, C.P., 2010. Melt Production and Antibacterial Efficiency of Low-Density Polyethylene (LDPE)–Silver Nanocomposite film. *Food Bioprocess and Technology.* 5, 719-728.
- Khanipour, A. A., and Mirzakhani, N., 2012. Effect of different packing method on shelf life of smoked rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during storage at 0-2°C. *Iranian Journal of Fisheries Sciences.* 12(3), 620-628.
- Karungi, C., Byaruhanga, Y.B., and Muyonga, J.H., 2004. Effect of pre – icing duration on quality deterioration of iced Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*, 85, 13–17.

- Liston, J., 1980. Microbiology in fishery science. In: Connell, J.J. (Ed.), *Advances in Fish Science and Technology*. Fishing News Book Limited, Surrey, Farnham, pp. 138–157.
- Manju, S., Srinivasa Gopal, T. K., Jose Leema Ravishankar, C. N., & Ashok Kumar, K., 2007. Nucleotide degradation of sodium acetate and potassium sorbate dip treated and vacuum packed Black Pomfret (*Parastromateus niger*) and Pearlsplit (*Etroplus suratensis*) during chill storage. *Journal of Food Chemistry*, 102, 699–706.
- Riebroy S., Benjakul S., Visessanguan W., and Tanaka M., 2007. Effect of ice storage of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) on the chemical composition, Properties and acceptability of Som-fug, a fermented Thai fish mince. *Food Chemistry*, 102, 270-280.
- Rodriguez, A., Carriles, N., M. Cruz, J., and Aubourg, P. 2008. Changes in the of farmed salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with previous storage in slurry ice (-1.5 °C). *LWT-Food Science and Technology*, 41: 1726-1732.
- Özogul, Y., Özyurt, G., Özogul, F., Kuley, E., and Polat, A., 2005. Freshness assessment of European eel (*Anguilla anguilla*) by sensory, chemical and microbiological methods. *Food Chem*, 92: 745–751.
- Ozogul F., Ozogul Y., and Kuley E., 2008. Nucleotide degradation and biogenic amine formation of wild white grouper (*Epinephelus aeneus*) stored in ice and at chill temperature (4°C). *Food Chemistry*, vol 108: 933–941.
- Papadopoulos, V., Chouliara, I., Badeka, A., Savvaiddis, I.N., and Kontominas, M.G., 2003. Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured seabass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Food Microb*, 20: 411–420.
- Protela, C.D.G., 2009. Tecnologia pos-despesca dos camarões de aguadoce *Macrobrachium rosenbergii* e *Macrobrachium amazonicum* [Doc thesis]. Jaboticabal, Brazil: Universidade Estadual Paulista.
- Rezaei, M., and Hosseini S.F., 2008. Quality Assessment of Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) during Chilled Storage. *Journal of Food Science*, 73: 93-96.
- Rezaei, M., Hosseini S.F., Ershad Langrudi H., Safari R., and Hossein, S.V., 2008. Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Food Chemistry*, vol. 106: 1161–1165.
- Sallam, K.I., 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food control*, 18(5): 566-575.
- Savvaiddis, I.N., Skandamis, P.N., Riganakos, K.A., Panagiotakis, N., and Kontominas, M.G., 2002. Control of natural microbial flora and *Listeria monocytogenes* in vacuum packaged trout at 4 and 10°C using irradiation. *J. Food Prot.* 65: 515–522.
- Song, Y., Liu, L., Shen, H., You, J., and Luo, Y., 2011. Effect of alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control*. 22: 608-615.
- Sousa J. A., Romalde J.L., Ledo A., Eiras J. C., Barja J.L., and Toranzo A.E., 1996. Health status of two salmonid aquaculture facilities in North Portugal: characterization of the bacterial and viral pathogens causing notifiable diseases. *J. Fish Dis.* 19, 83–89.
- Tiffney, P., and Mills, A., 1982. Storage trials of controlled atmosphere packaged fish products. Tech. Rep. No. 191. Sea Fish Industry Authority.
- Tokur, B., 2007. The effect of different cooking methods on proximate composition and lipid quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 874-879.
- Vicetti, R., Ishittani, T., Salas, A., and Ayava, M., 2003. Use of alpha-tocopherol combined with synergists and compared to other antioxidants on the oxidative stability of sardine skin lipids. *Journal of Food Composition and Analysis*. 18(2-3): 131-137.

Viscidi, K.A., Dougherty, M.P., Briggs, J., and Camira, M.E., 2004. Complex phenolic compounds reduce lipid oxidation in extruded oat cereals. *Lebensmittel Wissenschaft Und-technologie*. 37(7), 789-796.