

## تأثیر بسته‌بندی نانوکامپوزیت با فیلم رس و پلی‌اتیلن سبک بر خواص شیمیایی، میکروبی و حسی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onhorhynchus mykiss*) طی نگهداری در یخچال

علی‌اصغر خانی‌پور<sup>۱\*</sup>، ذبیح‌اله بهمنی<sup>۲</sup>، عبدالرسول ارومیه‌ای<sup>۳</sup> و عباسعلی مطلبی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> پژوهشگاه آبی‌پروری آبهای داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرانزلی، ایران

<sup>۲</sup> پژوهشگاه آبی‌پروری آبهای داخلی، بخش فرآوری محصولات شیلاتی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، ایران

<sup>۳</sup> پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی، تهران، ایران

<sup>۴</sup> سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸۳/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۱

### چکیده

کاربرد نانوتکنولوژی در صنعت بسته‌بندی مواد غذایی در سال‌های اخیر گسترش زیادی یافته و در حال تجاری شدن است. افزودن مواد نانویی باعث بهبودی خواص ممانعت‌کنندگی پلیمرها در برابر گازهایی نظیر اکسیژن و دی‌اکسید کربن، افزایش ممانعت‌کنندگی در برابر اشعه ماوراء بنفش، استحکام مکانیکی، سفتی، پایداری و مقاومت حرارتی پلیمر پایه می‌شود. در این تحقیق فیلم نانوکامپوزیت پلی‌اتیلن سبک و ۵ درصد نانوذرات رس را به‌عنوان تیمار آزمایشی و فیلم پلی‌اتیلن سبک را به‌عنوان تیمار شاهد تولید و جهت بسته‌بندی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و نگهداری در یخچال مورد استفاده قرار گرفت سپس جهت بررسی وضعیت کیفی فیله‌های بسته‌بندی شده در روزهای صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ نمونه‌برداری و از آزمون‌های شیمیایی (pH, TVB-N, PV, TBARS)، میکروبی (TVC, PTC, LAB, EBC and H<sub>2</sub>S producing bacteria) و حسی استفاده گردید. براساس نتایج بدست آمده، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای شاهد و آزمایشی در روزهای مختلف نمونه‌برداری مشاهده و در نتیجه مدت ماندگاری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای شاهد و آزمایشی به‌ترتیب ۱۳ تا ۱۵ و ۱۸ تا ۲۰ روز تعیین شده است.

**واژه‌های کلیدی:** قزل‌آلای رنگین‌کمان، پلی‌اتیلن سبک، مدت ماندگاری، نانو ذرات رس

### مقدمه

با توجه به رشد روز افزون میزان پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان 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 مصرف‌کنندگان باشد (Liston, ۱۹۸۰). در این رابطه توجه به عمر ماندگاری محصول در واقع به دوره زمانی که یک ماده غذایی تحت

شرایط نگهداری مشخص برای مصرف مناسب و امن باشد، مهم است. بدین‌منظور از تکنیک‌های متفاوتی مانند سرد سازی محصول بلافاصله پس از صید، ننگه داری در یخ، بسته‌بندی در خلاء و اتمسفر اصلاح شده، پرتودهی با اشعه گاما و UV استفاده شده است (Savvadis و همکاران، ۲۰۰۲)، تعیین فساد بر اساس، ارزیابی کیفی محصول با روش‌های متعدد حسی، بیوشیمیایی، فیزیکی و میکروبیولوژی می‌باشد (Gram و Huss، ۱۹۹۶؛ Gill، ۱۹۹۲). فساد باکتریایی ماهی

\*نویسنده مسئول: aakhanipour@yahoo.com

مکانیکی، بازدارندگی در برابر گازها (اکسیژن و دی اکسید کربن، کاهش نفوذ پذیری نسبت به بخار آب و افزایش مقاومت حرارتی می شود (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 چربی ها و در نهایت افزایش عمر ماندگاری فیله ماهی قزل آلائی کمان از بسته بندی توسط فیلم نانو کامپوزیت رس، پلی اتیلن سبک استفاده شده است.

### مواد و روش ها

**ساخت فیلم نانو کامپوزیت رس - پلی اتیلن سبک:** جهت تولید فیلم کامپوزیت پلی اتیلن سبک و ۵ درصد نانو ذرات رس، ۵۰ گرم مونوموریلونت 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 گرانول ها ادامه یافت و مخلوط نهایی را در دستگاه اکسترودر دو ماریچ (مدل Brabender، ساخت آلمان) جهت انجام فرآیند واکنش مذابی با دمای ۱۵۰ درجه سانتی گراد و دور ۸۰ rpm قرار گرفت سپس گرانول های نانو کامپوزیت تولید شده به وسیله دستگاه اکسترودر تک ماریچ با دای دمشی به فیلم های با ضخامت  $40 \pm 2$  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 قزل آلائی رنگین کمان را به صورت زنده از بازار خریداری نموده و توسط یونولیت حاوی یخ به نسبت ۲ به ۱ (ماهی به یخ) به

نگهداری شده در یخچال تحت شرایط هوایی توسط میکروارگانیزم های گرم منفی سرمادوست مانند سودوموناس، آلتروموناس، شوانلا و گونه های مختلف فلاویباکتریوم اتفاق می افتد (Hubbs, ۱۹۹۱). ماهیان چرب مثل ماهی آزاد و قزل آلا (*Oncorhynchus mykiss*) دارای سطوح بالایی از اسیدهای چرب چند غیر اشباع<sup>۱</sup> می باشند که به خاطر اثرات مفیدی که این اسیدهای چرب برای سلامتی دارند مصرف آنها توصیه می شود. 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 می گردد (Viscidi و همکاران، ۲۰۰۴؛ Vicetti و همکاران، ۲۰۰۴). اقداماتی در جلوگیری و یا به تعویق انداختن فساد ماهی ها و فرآورده های آن گزارش شده است که از آن جمله می توان به کنترل درجه حرارت و کاهش آن، استفاده از انواع آنتی اکسیدان های طبیعی و مصنوعی، نمک سود کردن، بسته بندی و... بسته بندی، نقش اصلی بسته بندی علاوه بر بازاریابی و اطلاعاتی که به مصرف کننده می دهد (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 آسیب های مکانیکی می باشد (Baldwin و Hagenmaier, ۲۰۱۲). پلی اتیلن (PE) به علت این که متداول ترین و اقتصادی ترین ماده بسته بندی غذا و محصولات کشاورزی است (Jokar, ۲۰۱۰) و همچنین نوع پلی اتیلن سبک (LDPE) به سبب داشتن قابلیت تولید فیلم، استفاده شده است. ویژگی های فیزیکی، مکانیکی و ممانعت کنندگی پلی اتیلن می تواند با افزودن نانو ذرات رس بهبود یابد. جایگیری نانو ذرات بین زنجیره های پلیمری و برقراری و برهمکنش های قوی، باعث تقویت شبکه پلیمری و بهبود خواص

1. PUFA: Polyunsaturat Fatty Acid

تولید کننده  $H_2S$  به ویژه *Shewanella putrefaciens* از محیط کشت Iron Agar Plate 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، فیله، بو و بافت، در دو تیمار بسته بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک، بسته‌بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس- پلی اتیلن سبک، توسط ۷ ارزیاب آموزش دیده مورد بررسی قرار گرفت امتیازبندی از ۰ تا ۱۰ می‌باشد 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 می‌باشد 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 نرم‌افزار SPSS 18 انجام شده که در آن جهت بررسی نرمال بودن داده ها از آزمون کولموگوراف-اسمیرنوف (Kolomogorav-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 معنی‌دار در مورد هر آزمون شیمیایی (pH, TVB-N, PV, TBARS)، میکروبی (TVC, PTC, LAB, EBC and  $H_2S$  producing bacteria) و حسی، بین تیمار هدف و شاهد از آزمون تی غیر جفتی استفاده شده است. برای پیدا نمودن اختلاف معنی‌دار در بین نتایج حاصل از آزمون‌های حسی ماهیان مورد آزمایش از آزمون «کوروسکال-والیس» Test Kruskal-Wallis و آزمون من ویتنی Mann-Whitny test استفاده گردید.

بخش تحقیقات فرآوری آبزیان منتقل نموده و پس از شستشو و ضدعفونی 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  $4 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، در فواصل زمانی روزهای صفر، ۵، ۱۰، ۲۰، ۱۵ و ۲۵ نمونه برداری کرده و از لحاظ شاخص‌های کیفی شامل آزمون های شیمیایی (pH, TVB-N, PV, TBARS)، میکروبی (TVC, PTC, 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 ازته فرار (TVB-N) mgN/100g (پروانه، ۱۳۷۷)، میزان عدد پراکسید (PV) بر حسب میلی‌اکی‌والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم گوشت و شاخص تیوباربتیوریک اسید (TBARS) mg MA/Kg Fish Flesh 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) agar (MRS) به همراه ۲ عدد گاز پک نوع A در داخل جار بی‌هوایی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد و برای شمارش انتروباکتریاسه از محیط کشت Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد (ICMSF, ۱۹۷۸). در نهایت برای شمارش باکتری‌های

## نتایج و بحث

آزمون‌های شیمیایی: جدول ۱، میزان ترکیبات تقریبی بدن ماهی (رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر) این ترکیبات حتی در ماهیان متعلق به یک گونه نیز به دلیل تفاوت در اندازه، بلوغ جنسی و رژیم

غذایی دوره پرورش متفاوت می‌باشد (Tokur, 2007). در مطالعه حال حاضر با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده شد که میزان این شاخص تقریباً منطبق با نتایج (Rezaei و همکاران، 2008؛ Khanipour و Mirzakhani، 2012) بوده است.

جدول ۱- آنالیز فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان

نوع ترکیب	مقدار
پروتئین	20/97 ± 1/02
چربی	5/99 ± 0/87
رطوبت	72/16 ± 3/54
خاکستر	1/04 ± 0/2

میانگین ± انحراف معیار n=3

**تغییرات pH**، با توجه به نمودار ۱، روند تغییرات pH در فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان 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 6/62 و 6/55 بوده است که در انتهای دوره نگه داری به ترتیب به میزان 6/79 و 6/63 رسید. نتایج بیانگر عدم وجود تفاوت معنی دار ( $P > 0/05$ ) بین دو تیمار شاهد و آزمایشی در

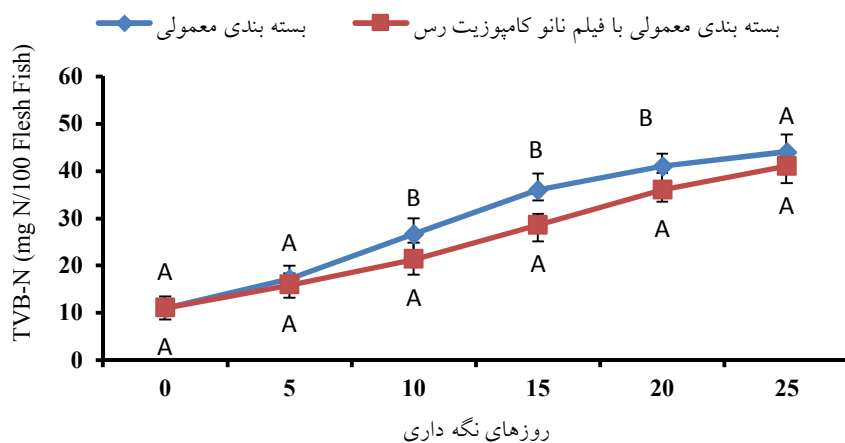
هر روز می‌باشد. کاهش اولیه pH ممکن است ناشی از عدم حلالیت CO<sub>2</sub> در نمونه‌های ماهی باشد (تجمع CO<sub>2</sub>) که به موجب افزایش pH، CO<sub>2</sub> کاهش می‌یابد (Fan و همکاران، 2008). چنین نتیجه‌ای در مطالعات (Manju و همکاران، 2007؛ Tiffney و Mills، 1982) نیز مشاهده شده است. افزایش pH ممکن است ناشی از تولید ترکیبات پایه فرار از قبیل آمونیاک، آمونیم، تری‌متیل‌آمین (TMA) در اثر عمل آنزیم‌های داخلی یا آنزیم‌های میکروبی باشد (Riebroy و همکاران، 2007).



نمودار ۱- تغییرات pH 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 زمان نگه داری در یخچال.

در روز ۲۰ در تیمار آزمایشی ۳۷/۱ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی بوده است که بیش از حد مجاز (۳۵ میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم گوشت ماهی) بود. محتوی TVB-N شامل دامنه وسیعی از ترکیبات پایه‌ای فرار از جمله آمونیاک، متیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین، تری‌متیل‌آمین و دیگر ترکیبات مشابه می‌باشد که در اثر فعالیت‌های میکروبی تولید می‌شوند (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 می‌شود.

بازهای ازته فرار (TVB-N): براساس نمودار ۲، میزان بازهای ازته فرار در تیمارهای مختلف فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان، طی زمان نگهداری در یخچال دمای  $4 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، افزایش یافته که بیانگر شروع واکنش‌های فساد میکروبی بود. نتایج حاصل از آزمون‌های آماری مبین وجود تفاوت معنی‌دار (P ≤ ۰/۰۵) در هر تیمار طی روزهای مختلف نمونه برداری همچنین نتایج آزمون t غیر جفتی، عدم وجود تفاوت معنی‌دار (P > ۰/۰۵) 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 می‌باشد و در روز ۱۵ در تیمار شاهد به میزان ۳۶/۳ و



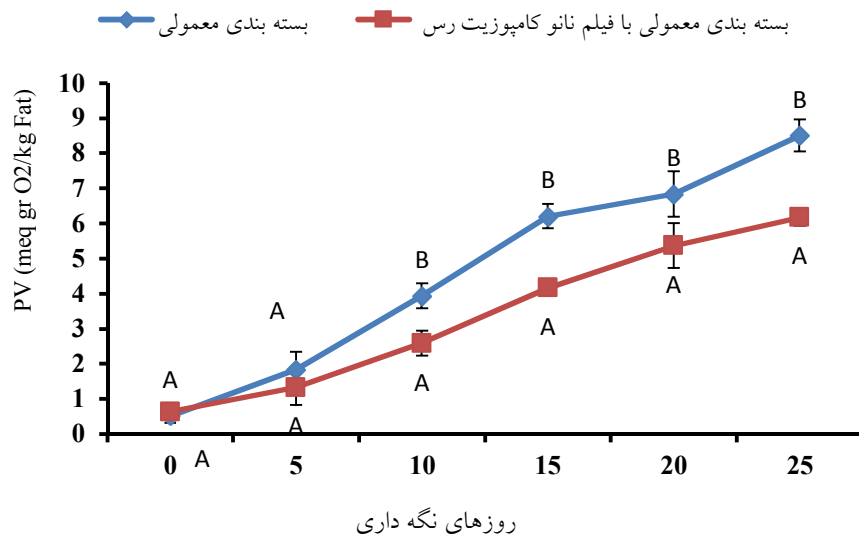
نمودار ۲- تغییرات بازهای ازته فرار (TVB-N) در دو تیمار بسته بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک و بسته بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس و پلی اتیلن سبک طی مدت مختلف نگه داری در یخچال

اکسیژن در کیلوگرم چربی رسیده است ولی تغییرات پراکسید در تیمار آزمایشی با سرعت کمتری و در روز ۲۰ نگه‌داری به ۵/۳۶ میلی‌اکی 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، دی‌اکسیدکربن 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 قزل‌آلای 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 میلی‌اکی والان گرم

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

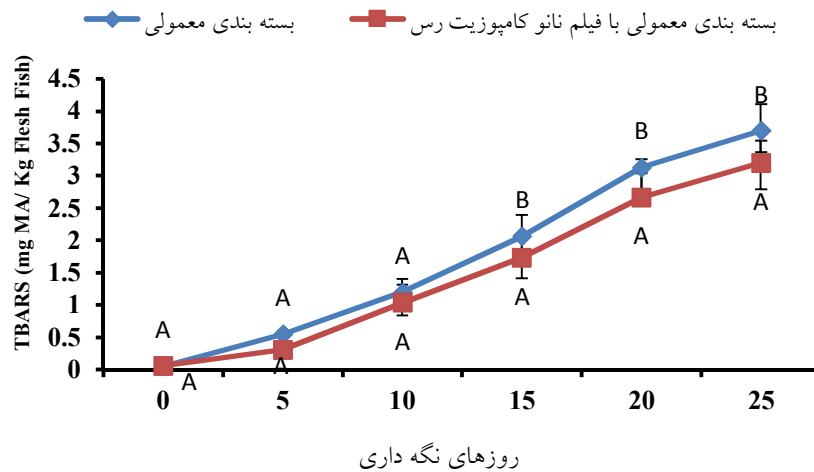
روش های مختلف بسته بندی بر مدت ماندگاری ماهی قرل آلای رنگین کمان دودی شده در یخچال و ارزیابی میکروبی، شیمیایی و حسی ماهی کامل و فیله شده



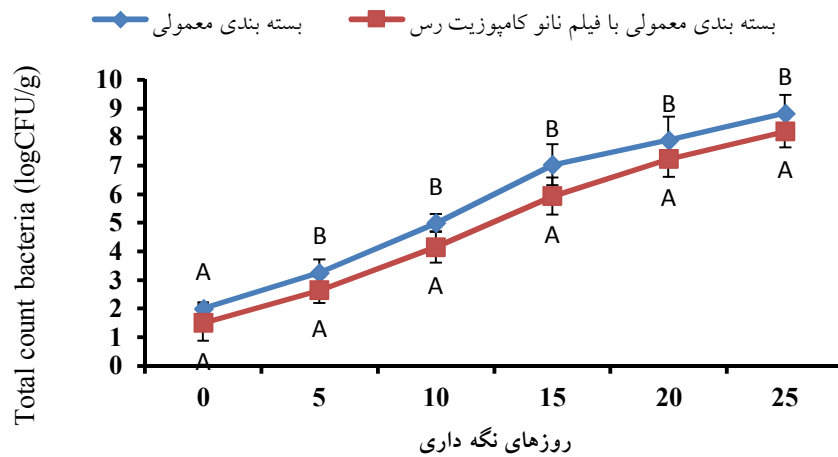
نمودار ۳- تغییرات عدد پراکسید (PV) در دو تیمار بسته بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک و بسته بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس و پلی اتیلن سبک طی مدت مختلف نگه داری در یخچال

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 روش های مختلف بسته بندی بر مدت ماندگاری ماهی قرل آلای رنگین کمان دودی شده در یخچال و ارزیابی میکروبی، شیمیایی و حسی ماهی کامل و فیله شده قرل 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 قرل آلای رنگین کمان در یخچال در تیمار شاهد و آزمایشی روند افزایشی داشته که سرعت این افزایش در تیمار شاهد (بسته بندی معمولی فیله ماهی قرل 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 قرل آلای رنگین کمان طی



نمودار ۴- تغییرات میزان تیوباریتوریک 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 باکتری‌ها (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.

### آزمون‌های میکروبی

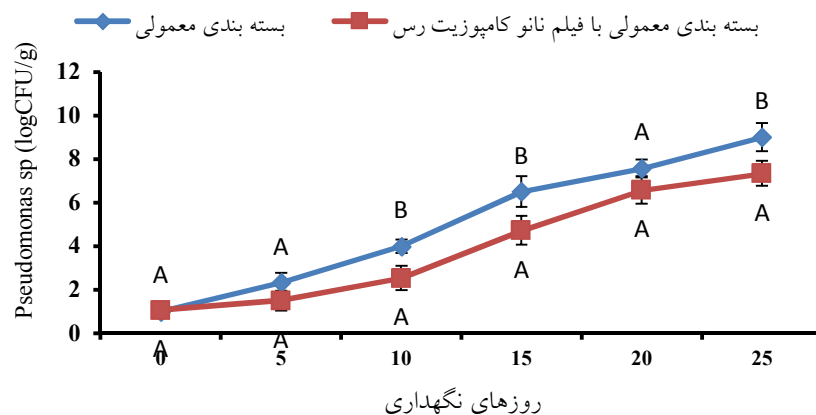
شمارش تعداد کل باکتری‌ها (TVC): براساس نمودار ۵، تعداد باکتری‌های (TVC) در فیله ماهی قزل آلابی رنگین کمان در دو تیمار شاهد و آزمایشی، طی زمان نگه داری در یخچال دمای  $4 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، روند افزایشی داشته است البته سرعت افزایش بار میکروبی در تیمار شاهد بیشتر از تیمار آزمایشی بوده و در نتیجه باعث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

$7.03 \log CFU/g$  و در تیمار آزمایشی در روز ۲۰،  $7 \log CFU/g$  که از میزان مجاز،  $7 \log CFU/g$  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 ماهی‌ها مور 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 باکتری‌ها در دوره نگه

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 آلابی رنگین کمان  $7 \log \text{CFU/g}$  است (ICMSF, ۱۹۸۶). مقایسه نتایج این تحقیق با سایر مطالعات نشان دهنده که منطبق با نتایج سایر محققین است.

**باکتری های سرمادوست (PTC):** باکتری های سرمادوست گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیزم های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد هستند (Gram و همکاران، ۱۹۸۷؛ Gram و Huss, ۱۹۹۶). باکتری های هوازی از قبیل گونه های *Pseudomonas spp* جزء گروه های باکتریایی غالب در گوشت قزل آلابی رنگین کمان می باشند که به طور گسترده ای به فساد گوشت نگهداری شده در شرایط هوازی کمک می کنند (Sousa و همکاران، ۱۹۹۶). بار باکتریایی مجاز برای باکتری های هوازی رسیدند.

(سرمادوست ها)  $7 \log \text{cfu/g}$  گزارش شده است (Gimenez و همکاران، ۲۰۰۲). نمودار ۶، تعداد باکتری های سرمادوست را نشان می دهد که طی دوره نگهداری افزایشی داشته است تعداد باکتری های سرمادوست در تیمار شاهد در روزهای صفر، ۲۰ و ۲۵ نگهداری، به ترتیب  $1/7$ ،  $7/5$  و  $9 \log \text{CFU/g}$  و در تیمار آزمایشی در روزهای صفر، ۲۰ و ۲۵ نگهداری به ترتیب  $1/57$ ،  $6/56$  و  $7/3 \log \text{CFU/g}$  بود. که منطبق نتایج بدست آمده از تحقیقات ارزیابی میکروبی، شیمیایی و حسی ماهی کامل و فیله شده قزل آلابی رنگین کمان در یخ بوده است (Kontominas و همکاران، ۲۰۰۴). در مطالعه Gimenez و همکاران (۲۰۰۲) PTC فیله قزل آلابی رنگین کمان پرورشی بسته بندی شده در فویل های آلومینیومی، خلاء و اتمسفر اصلاح شده نتیجه گرفتند این نمونه ها به ترتیب بعد از ۶، ۱۰، ۱۴ روز نگهداری در یخ به  $7 \log \text{CFU/g}$

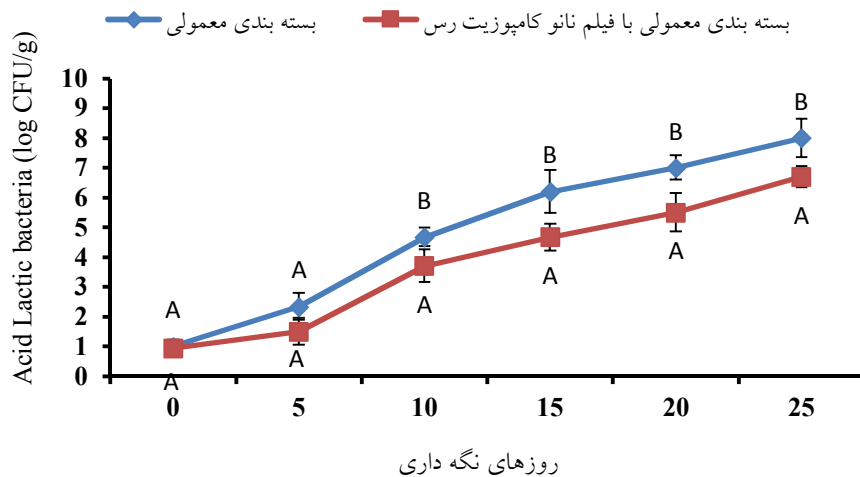


نمودار ۶. تغییرات باکتری های سرمادوست (سودموناس) در دو تیمار بسته بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک و بسته بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس و پلی اتیلن سبک طی روزهای مختلف نگه داری در یخچال.

آزمایشی بوده و در نتیجه باعث ماندگاری بیشتر فیله ماهی قزل آلابی رنگین کمان در تیمار آزمایشی شده است میزان باکتری های اسید لاکتیک در انتهای دوره نگه داری به ترتیب در تیمار شاهد و آزمایشی  $\log \text{CFU/g}$  ۸ و  $6/7$  بوده است این نتایج با مطالعات Sallam (۲۰۰۷) در ماهی آزاد مطابقت دارد.

**باکتری های اسید لاکتیک (LAB):** براساس نمودار ۷، نتایج حاصل از شمارش باکتری های اسید لاکتیک، در فیله ماهی قزل آلابی رنگین کمان در دو تیمار شاهد و آزمایشی، طی زمان نگه داری در یخچال دمای  $4 \pm 2$  درجه سانتی گراد، روند افزایشی داشته است البته سرعت افزایش بار میکروبی در تیمار شاهد بیشتر از تیمار

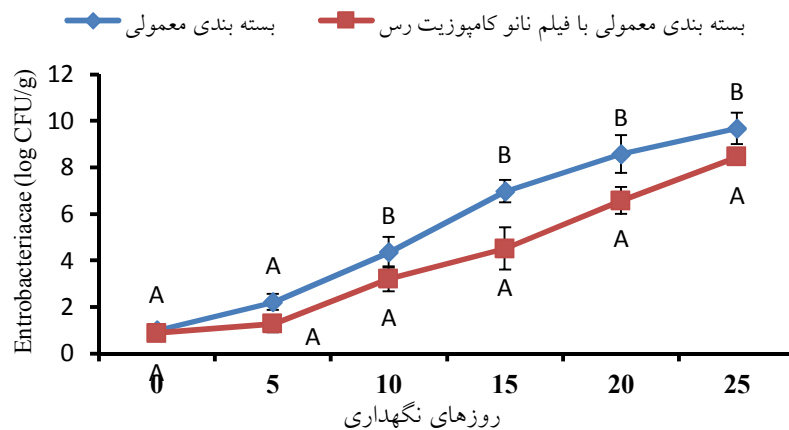




نمودار ۷- تغییرات باکتری‌های اسید لاکتیک در دو تیمار بسته‌بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک و بسته‌بندی معمولی با فیلم نانو کامپوزیت رس و پلی اتیلن سبک طی مدت مختلف نگهداری در یخچال.

انتروباکتریاسه‌ها، بخشی از فلور میکروبی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تازه نگهداری شده در  $2 \pm 1$  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.

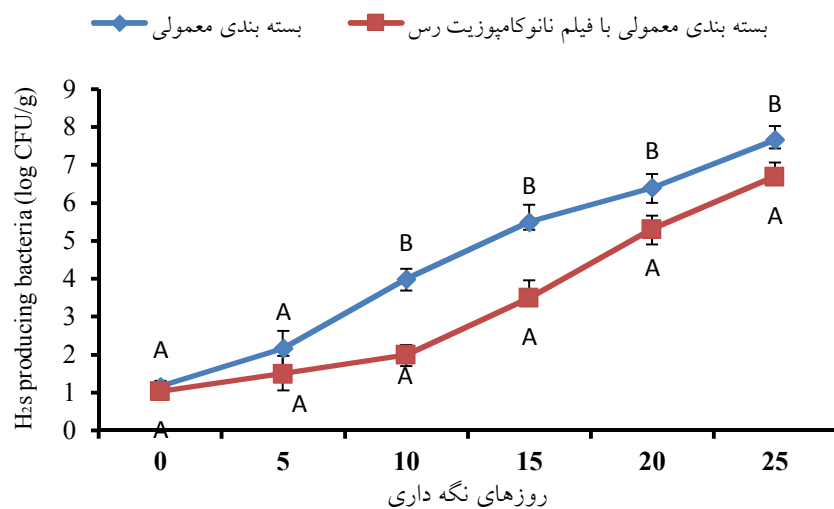
انتروباکتریاسه‌ها (EBC)، با توجه به نمودار شماره ۸، تعداد انتروباکتریاسه‌ها در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در تیمارهای مختلف، طی زمان نگهداری در یخچال دمای  $4 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، افزایش یافته و نتایج حاصل از آنالیز واریانس بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) در هر تیمار بین روزهای اول 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 آلابی رنگین کمان در یخ و همچنین با نتایج تحقیق افزایش مدت ماندگاری فیله ماهی سیم دریایی بسته بندی شده تحت شرایط خلاء با ترکیب اشعه گاما و نگه داری در یخچال منطبق بوده است (Kontominas و همکاران، ۲۰۰۵؛ Kontomina و همکاران، ۲۰۰۴).

باکتری های تولیدکننده سولفید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{S}$  Producing Bacteria): براساس نمودار ۹، تعداد باکتری های تولید کننده سولفید هیدروژن به ویژه *Shewanella putrefaciens* در ابتدای دوره نگه داری 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 باکتری های تولید کننده 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.

فیله در دو تیمار بسته بندی معمولی با فیلم پلی اتیلن سبک (تیمار شاهد)، بسته بندی 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 نگه داری در یخچال معنی دار ( $P \leq 0/05$ ) است. که این نتایج با

ارزیابی حسی: اگر چه انواعی از روش های 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). روش های حسی سریع و ساده هستند و بلافاصله داده های 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 بو

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).

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.

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 قزل‌آلای رنگین کمان به ترتیب در تیمار شاهد و تیمار آزمایشی، ۱۳ تا ۱۵ و ۱۸ تا ۲۰ روز بوده است.

### نتیجه‌گیری

دو تیمار بسته‌بندی معمولی فیله قزل‌آلای رنگین کمان با فیلم پلی اتیلن سبک به عنوان تیمار شاهد و بسته بندی معمولی معمولی فیله قزل‌آلای 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 قزل‌آلای رنگین کمان و به طور معنی‌داری باعث افزایش مدت ماندگاری آن در دمای

### 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 داشته‌اند تقدیر و تشکر می‌نماییم.

### منابع

۱. پروانه، و. ۱۳۷۷. کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۲۵ صفحه.
۲. سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۳. سالنامه آماری سازمان شیلات ایران. ۳۳ صفحه.
3. 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.
4. Arora, A., and Padua, G.W. 2009. Nanocomposites in Food Packaging. Journal of Food Science. 75: 43-49.
5. Baldwin, E.A., and Hagenmaier, R.D. 2012. Edible coating and films to improve food quality: CRC PressILIC.

6. Chouliara, I., Savvaidis, I.N., Riganakos, K., and Kontominas, M.G. 2005. Shelf- life extension of vacuum-packaged Seabream (*Sparus aurata*) fillets by combined  $\gamma$ -irradiation and refrigeration: microbiological, chemical and sensory change. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85: 779-784.
7. 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.
8. Connell, J.J. 1975. Control of fish quality. Surrey: Fishing News (Books).
9. Cristiana, D. 2013. Quality index method to assess the freshness and shelf life of fish. *Brazarch. Biotechnology*. 56(4): 587-598.
10. Egan, H., Krik, R.S., and Sawyer, R. 1997. *Pearsons Chemical Analysis of Foods*. 9(edn), pp. 609-634.
11. 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.
12. Gimenez, B., Roncales, P., and Beltran, J.A. 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbowtrout. *J. Science Food Agriculture*. 84: 1154-1159.
13. 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.
14. 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.
15. Gimenez, B., Roncales, P., and Beltran, J.A. 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *J. Science Food Agriculture*. 84: 1154-1159.
16. 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.
17. Gram, L., and Huss, H.H. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. I. *J. Food Microbiology*, 33: 121-137.
18. 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.
19. Hubbs, J. 1991. Fish: microbiological spoilage and safety. *Food Sci. Technol. Today* 5: 166–173.
20. 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.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. 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.
25. Manju, S., Srinivasa Gopal, T.K., Jose Leema Ravishankar, C.N., and 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.
26. 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.

27. 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.
28. 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.
29. 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*, 108: 933-941.
30. Papadopoulos, V., Chouliara, I., Badeka, A., Savva, 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.
31. Protela, C.D.G. 2009. Tecnologia pos-despesca dos camarões de água doce *Macrobrachium rosenbergii* e *Macrobrachium amazonicum* [Doc thesis]. Jaboticabal, Brazil: Universidade Estadual Paulista.
32. 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.
33. 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*, 106: 1161-1165.
34. 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.
35. Savva, 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.
36. 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.
37. 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.
38. Tiffney, P., and Mills, A. 1982. Storage trials of controlled atmosphere packaged fish products. Tech. Rep. No. 191. Sea Fish Industry Authority.
39. 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.
40. 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.
41. 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.

**Effect of packaging with nanocomposite film clay/low density polyethylene (LDPE) on the chemical, microbiological and sensory properties fillet of *Oncorhynchus mykiss* during storage at refrigerator**

**A.A. Khanipour<sup>1\*</sup>, Z. Bahmani<sup>2</sup>, A.R. Oromiehie<sup>3</sup>, A.A. Motalebi<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Iranian Fisheries Science Research Institute, Inland Water Aquaculture Research center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Anzali, Iran

<sup>2</sup> Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Iranian Polymer and Petrochemical Institute, Tehran, Iran

<sup>4</sup> Agriculture Researches, Education and Extension Organization, Tehran, Iran

---

**Abstract**

Application of Nanotechnology in the food packaging industry in recent years become more widespread and is being commercialized. Add nanomaterials, caused an improvement barrier properties of polymers to gases such as oxygen and carbon dioxide, increased UV rays barrier, mechanical strength, stiffness, stability and heat resistance of the base polymer. in this study composite film with 5% nanoparticles of clay were produced as experimental treatment and low density polyethylene(LDPE) film as a control treatment and was used for packing rainbow trout fillet and kept in the refrigerator. Then to investigate the quality fillets packed on days zero, 5, 10, 15, 20 and 25 was used chemical tests (pH, TVB-N, PV, TBARS), microbial (TVC, PTC, LAB, EBC and H<sub>2</sub>S producing bacteria) and sensory. Based on the results obtain of the tests and data analysis have been observed significant differences between treatments on different days and thus, shelf-life of rainbow trout fillet have been determined in the control and experimental treatments respectively, 13 to 15 and 18 to 20 days.

**Keywords:** Rainbow trout, Low density polyethylene (LDPE) , Shelf- life, Clay nanoparticles

---

\*Corresponding author; AAKhanipour@yahoo.com