شیلات، مجله منابع طبیعی ایران
دوره ۷۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹
صفحات ۴۹۶-۴۸۳

اثر نانو امولسیون بر پایه روغن آفتابگردان بر کیفیت و ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طی دوره نگهداری در یخچال

سید ولی حسینی[۱]، غلامرضا شاه حسینی[۲*]، امیرحسین جمالی[۱]، کبری ضیایی[۱]

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج ایران
۲. پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران

تاریخ دریافت:۱۳۹۹/۰۷/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۱۵

چکیده

نانوامولسیون‌های روغن در آب Oil-in-water nanoemulsions مبتنی بر روغن‌های گیاهی بواسطه توانایی آنها در ناپایدار کردن پوشش چربی موجود در دیوارۀ سلولی ارگانیسم، دارای قابلیت ضد میکروارگانیسمیِ گسترده‌ای علیه باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و اسپورها بوده و از همین‌رو استفاده از آنها بعنوان راهی برای افزایش مدت ماندگاری ماهیان در طی دورۀ نگهداری در شرایط سرد مورد توجه قرار گرفته است. در پژوهش حاضر اثر نانوامولسیون بر پایه روغن آفتابگردان بر کیفیت و ماندگاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان طی دوازده روز نگهداری در یخچال مورد بررسی قرار گرفت. پس از آماده سازی ماهیان و تهیه فیله از آنها، نمونه‌ها توسط نانوامولسیون روغن آفتابگردان پوشش‌دهی شد و سپس طی دوازده روز نگاهداری در یخچال و در چهار مرحله (روزهای ۰، بلافاصله پس از تیمار پوشش‌دهی، ۴، ۸ و ۱۲) از نظر برخی از شاخص‌های ارزیابی کیفیت نظیر میزان فساد اکسیداسیون چربی (سنجش ترکیبات ثانویه حاصل از اکسیداسیون چربی؛ TBA)، مجموع ترکیبات ازتۀ فرار TVB-N، ظرفیت نگهداری آب WHC، شاخص‌های رنگی (شامل شاخص‌های روشنایی L*، قرمزی a* و زردی b*) مورد ارزیابی قرار گرفت. فیله‌های بدون پوشش‌دهی بعنوان شاهد در نظر گرفته شدند. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده نشان داد که پوشش‌دهی فیله‌ها با نانوامولسیون روغن آفتابگردان بر عمدۀ شاخص‌های مورد بررسی تاثیر معنی‌داری دارد ($P<0.05$) و موجب حفظ بهتر فیلۀ ماهیان مورد بررسی در مقابل شرایط فساد خواهد شد. لذا، با توجه به دستاوردهای پژوهش حاضر، پوشش‌دهی فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با نانوامولسیون روغن آفتابگردان در هنگام استفاده از شیوه سرد Chilled storage جهت نگهداری آنها پیشنهاد می‌گردد.

لغات کلیدی: کیفیت ماهی، فرآوری آبزیان، نگهداری در شرایط سرد، نانوامولسیون روغن در آب

* نویسنده مسئول: غلامرضا شاه حسینی
Email: ghshahhoseini@aeoi.org.ir

Journal of Fisheries
Vol. 73, No. 3, Autumn 2020
pp. 483-496

Assessment of oil-in-water nanoemulsion based on sunflower oil on the quality of rainbow trout during refrigerated storage

Seyed Vali Hosseini[1], Gholamreza Shahhosseini[2*], Amirhossein Jamali[1], Kobra Ziaei[1]

1. Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj Iran
2. Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran

Received: 18-Sep-2020 Accepted: 06-Nov-2020

Abstract

Oil-in-water nanoemulsions based on vegetable oils have extensive antimicrobial properties against bacteria, viruses, fungi and spores due to their ability to destabilize the lipids in the cell wall of the organism. For this reason, their application has been considered as a way to increase the shelf life of fish during the chilled storage. In the present investigation, the effect of oil-in-water nanoemulsion of sunflower oil on the quality and shelf life of rainbow trout fillet during twelve days of refrigeration storage was investigated. After preparing the fillets, the samples were coated with a sunflower oil nanoemulsion and then refrigerated for twelve days, then at four-day intervals (0- immediately after coating treatment-, 4, 8 and 12 days) were evaluated for some quality indicators (thiobarbituric acid, TBA), total volatile nitrogen, TVB-N; water holding capacity, WHC; & color parameters (including brightness L^*, redness a^* and yellowness b^*). Uncoated fillets were considered as control set. The obtained results showed that coating the fillets with nanoemulsion of sunflower oil had a significant effect on most of the studied indicators ($P < 0.05$) and resulted in better protection of the fillets against spoilage conditions. Therefore, according to the achievements of the present study, it is recommended to cover rainbow trout fillets with sunflower oil nanoemulsion when chilled storage is used to preserve them.

Keywords: Cold storage, Fish quality, Oil-in-water nanoemulsion, Seafood processing.

Corresponding author: Gholamreza Shahhosseini Email: ghshahhoseini@aeoi.org.ir

۱. مقدمه

در مقایسه با سایر مواد غذایی گوشتی، ماهیان از سرعت فسادپذیری بسیار بالاتری برخوردار هستند. با این وجود، بدلیل خواص ارزشمند غذایی خاصی که در آنها وجود دارد، مصرفشان در سال‌های اخیر شدت یافته است. افزایش نیاز مصرف‌کنندگان به چنین محصولاتی، ضرورت بهبود روش‌های حفظ کیفیت آنها را در طی دوران نگهداری، دو چندان کرده است. از همین‌روست که تحقیقات گسترده‌ای در خصوص بررسی عوامل دخیل در بروز فساد و راه‌های جلوگیری از آن در جریان است (Medina *et al*., 2009).

اصولاً فاسد شدن ماهیان تازه عمدتاً به دلیل عملکرد میکروارگانیسم‌هایی مانند باکتری (و یا متابولیت‌های آنها) و همچنین فعالیت‌های بیوشیمیایی کنترل نشده پس از مرگ است. یکی از مهمترین و در عین حال اساسی‌ترین استراتژی‌ای که تا حد زیادی در سرتاسر دنیا به منظور حفظ خصوصیات اصلی تغذیه‌ای و همچنین خواص حسی ماهیان صید شده مورد پذیرش قرار گرفته است کاهش سریع دمای آنها و نگهداریشان در شرایط سرد است (Durmus *et al*., 2020; Ozogul *et al*., 2016).

با وجود قابلیت‌های خاصی که تکنیک سردسازی[1] برای حفظ کیفیت و همچنین جنبه‌های تغذیه‌ای ماهی دارد، اما این فناوری به تنهایی چندان شانسی برای موفقیت ندارد و باید با فناوری های کمکی دیگری همراه گردد تا بتواند خصوصیات تغذیه‌ای ماهی را تا حد ممکن حفظ نمود تا موجبات بهره‌مندی حداکثری را از این ماده غذایی فراسودمند فراهم نماید. یکی از روش‌های تکمیلی برای حفظ بهتر کیفیت ماهیان در شیوه نگهداری در شرایط سرد (غیرمنجمد)، غوطه‌ورسازی فیله‌های ماهی در نانوامولسیون‌های روغن در آب Oil-in-water nanoemulsions مبتنی بر روغن های گیاهی و یا حاوی اسانس آنها essential oil است. و امروزه توجه زیادی به آنها شده است. گزارش شده است که نانوامولسیون‌ها دارای قابلیت ضد میکروارگانیسمی گسترده‌ای علیه باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و اسپورها دارند. آنها این توانایی را از طریق ناپایدار کردن پوشش چربی ارگانیسم انجام می‌دهند (Durmus *et al*., 2019; Ozogul *et al*., 2017; Yazgan *et al*., 2017). برخلاف نگهدارنده‌های شیمیایی، نانوامولسیون‌های روغن در آب مبتنی بر روغن‌های گیاهی عمدتاً فاقد اثرات جانبی بوده و به دلیل داشتند حداقل مخاطرات برای مصرف‌کنندگان، امروزه بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (Joe *et al*., 2012). در کنار رونق‌گیری مجدد استفاده از نگهدارنده‌های مشتق شده از منابع طبیعی، اخیراً فناوری نانو در جنبه‌های مختلف صنایع غذایی وارد شده و در بین تولید کنندگان محصولات غذایی و همچنین مصرف‌کنندگانی آن جذابیت پیدا کرده است. در فناوری نانو مواد غذایی، از نانوذرات برای انتقال رنگ، طعم و خاصیت ضدمیکروبی استفاده می‌شود و در فرآیندهای مختلفی از قبیل ذخیره‌سازی، شناسایی پاتوژن، بسته‌بندی هوشمند و سایر موارد از آن استفاده شده است. در بین این نانوذرات، از نانوامولسیونها به عنوان سیستم تحویل/انتقال لیپیدهای فعال زیستی، داروها، طعم دهنده‌ها، آنتی اکسیدان‌ها و مواد ضد میکروبی استفاده می‌شود. پیش‌تر نگرانی‌هایی مبنی بر استفاده از این گروه از نگهدارنده‌ها در صنایع غذایی مطرح بود که امروزه معلوم گردید که اگر استفادهٔ آنها در حد مناسب و توصیه شده باشد، این ترکیبات ایمن بوده و بر سلول‌های یوکاریوتی موجود در بافت تأثیر نمی‌گذارند. لذا ممانعتی در جهت کاربرد آنها در صنایع غذایی بعنوان یک وسیله کمکی جهت حفظ کیفیت آنها در طی دوره نگهداری وجود ندارد (Joe *et al*., 2012).

قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) یکی از مهمترین و در عین حال پرتولیدترین ماهی پرورشی سردابی در ایران و جهان است که بدلایل مختلفی، طی یک دهه گذشته، تقاضا برای مصرف آن به میزان قابل توجهی افزایش یافته است (FAO, 2017). با وجود ارزشمندی خاص این ماهی، اما بدلایل چندی از جمله وجود مقادیر زیاد اسیدهای چرب غیر اشباع، تنوع

[1] Chilling/Icing/Refrigeration

اسید های امینه، ... و همچنین فلور خاص باکتریایی موجود در ماهی، امکان بروز فساد در آن در مقایسه با ماهیان پرورشی گرم آبی در طی دورهٔ پس از صید نسبتا بالاتر است. لذا با توجه به افزایش مصرف روزافزون این ماهی و نظر به قابلیت فساد زود هنگام آن، مصرف کنندگان دنبال افزایش مدت نگهداری، بدون کاهش کیفیت این محصول با یک نگهدارنده‌ی طبیعی و خوراکی هستند. نظر به آنکه پیشتر اثبات شد که نانوامولسیون روغن آفتابگردان قابلیت حفظ کیفیت مواد غذایی را از طریق تکنیک پوشش‌دهی دارا می‌باشد، لذا تحقیق حاضر بنا دارد این قابلیت را در حفظ کیفیت ماهی قزل آلا مورد ارزیابی قرار دهد. بدیهی است دستاورد این تحقیق می‌تواند مبنایی برای استفاده از چنین فناوری‌هایی ایمن در حفظ کیفیت ماهیان در صنایع تبدیلی مرتبط باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. تهیه نانو امولسیون روغن در آب آفتابگردان

به منظور تهیه نانو امولسیون روغن در آب آفتابگردان، از روش شرح داده شده توسط "جو" و همکاران با اندکی تغییرات استفاده گردید (Joe *et al*., 2012). فاز روغنی امولسیون روغن در آب آفتابگردان تشکیل شده از روغن آفتابگردان، اتانول[1] و Tween 80 (بعنوان سورفاکتانت) به ترتیب ۱۴، ۳ و ۳ درصد بود. پس از تهیه اجزای فاز روغنی، اجزاء بخوبی با هم مخلوط و سپس در دمای ۸۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت نگهداری شدند. آنگاه در دمای محیط سرد شده و سپس ۸۰ درصد مابقی حجم مخلوط را با آب مقطر سرد استریل شده به حجم رسانیده شد بعد از اختلاط آب با فاز روغنی، مخلوط از طریق دستگاه هموژنایزر التراسونیک به مدت ۱۵ دقیقه با دامنه ۷۲amplitude همگن شد (قدرت هموژنایزر ۵۰۰ W، فرکانس انتشار التراسوند ۲۰کیلوهرتز، اندازه‌ی سانترود ۵/۶ میلی‌متر و ارتفاع ۶۰ میلی‌متر). در طول مدت همگن سازی، دمای امولسیون از طریق یخ خورد شده در محدودهٔ ۱۵ درجه‌سانتی‌گراد کنترل شد. مخلوط تهیه شده نانوامولسیون ۱۴ در صد روغن در آب آفتابگردان از کل امولسیون تهیه شده می‌باشد.

۲.۲. آماده‌سازی ماهی و پوشش‌دهی آن با نانوامولسیون روغن در آب آفتابگردان

در این تحقیق از ماهی قزل‌آلای رنگین کمان استفاده شد. ماهیان مورد نیاز (با میانگین وزن تقریبی ۱۵±۳۸۰ گرم) از بازار عرضه مواد پروتئینی کرج تهیه و در شرایط سرد به آزمایشگاه فرآوری آبزیان (گروه شیلات) دانشگاه تهران منتقل گردید. پس از انتقال به آزمایشگاه، ماهیان با آب شستشو داده شده و آنگاه با چاقوی تمیز بخش شکمی آنها شکافته شده و محتویات شکمی تخلیه شد، سپس سر، دم و پوست ماهی جدا شده و آنگاه اقدام به تهیه فیله با قطعات نسبتاً یکسان ۱۰۰ گرمی شد. فیله‌ها با آب تمیز سرد بخوبی شستشو داده شدو سپس بر روی سیم توری گذاشته شد تا آب اضافی از فیله‌ها جدا گردد. فیله‌های تهیه شده به دو قسمت تقسیم شدند. گروهی بعنوان تیمار شاهد که بدون هیچگونه عملیات بعدی، در پوشش‌های مخصوص بسته‌بندی مواد غذایی گوشتی، بسته‌بندی شد و گروهی دیگر در نانوامولسیون تهیه شده به مدت ۳ دقیقه غوطه‌ور شدند. پس از غوطه‌ورسازی، فیله‌ها از محلول خارج و اجازه داده شد تا محلول مازاد از فیله‌ها جدا گردد. آنگاه مجدداً فیله‌ها در محلول به مدت ۳ دقیقه غوطه‌ور شد. عملیات غوطه‌ور سازی و خروج از محلول تا سه دفعه تکرار شد. پس از اجرای مرحه سوم، فیله‌ها روی سیم توری تمیز گذاشته شدند تا محلول مازاد از آنها جدا شود. سپس

[1] در تحقیق حاضر اتانول به عنوان یک کوسورفاکتانت در نانوامولسیون عمل می‌کند. بطورکلی کوسورفاکتانت‌هایی که در نانو امولسیون روغن در آب استفاده می‌شوند عمدتاً شامل پروپانول، اتانول، اتیلن گلیکول، گلیسیرین، ... می‌باشند که برای بدست آوردن سیستم نانوامولسیون در غلظت پایین به عنوان کوسورفاکتانت و برای افزایش سیالیت (از طریق کاهش کشش سطحی) بکار می‌روند و اجازه می‌دهند که روغن نفوذ بیشتری به این ناحیه آبی داشته باشد. الکل‌ها همچنین ممکن است مخلوط شدن فازهای آب و روغن که ناشی از پراکندگی این فازهاست را افزایش دهند.

همانند تیمار شاهد، فیله‌ها بسته‌بندی شدند. آنگاه هر دو تیمار تهیه شده در یخچال به مدت ۱۲ روز نگاهداری شده و در فواصل ۳ روز آنالیزهای ارزیابی کیفیت روی آنها انجام شد (Yazgan *et al.*, 2017).

۲.۳. شاخص‌های ارزیابی کیفیت

۲.۳.۱. سنجش ترکیبات ثانویه فساد اکسیداسیون چربی (شاخص تیوبار بیتوریک اسید، TBA[1])

در این پژوهش مقادیر اسید تیوباربیتوریک، به روش شرح داده شده توسط Pikul و همکاران و با اندکی تغییرات مورد ارزیابی قرار گرفت (Pikul *et al.*, 1989). ابتدا ۲ گرم نمونه با ۸ میلی‌لیتر اسید پرکلریدریک ۴ درصد هموژن گردید. سپس نمونه‌های هموژن شده به مدت ۳۰ دقیقه در کابین تاریک قرار داده شدند. پس از طی زمان مذکور، نمونه‌ها از کابین خارج و با استفاده از سانترفیوژ محلول فوقانی جدا گردید (سرعت دور روتور دستگاه ۸۰۰۰ جی در طی ۱۰ دقیقه). سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول صاف شده با ۵ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۲ درصد معرف اسید تیوباربیتوریک به لوله‌های آزمایش درب‌دار منتقل شد و پس از یک دقیقه ورتکس کردن، به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آبی ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از طی مدت مذکور و سرد شدن لوله‌ها در دمای محیط، مقدار جذب محلول حاصل از هر یک از نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتوفتومتری UV-2100 (Unico, USA) در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد خوانده شد و میزان میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم نمونه گزارش شد.

۲.۳.۲. اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب (WHC) از طریق آب قابل تراوش (EW[2])

مقادیر شاخص ظرفیت نگهداری آب از طریق آب قابل تراوش بر اساس روش پیشنهادی Park اندازه‌گیری شد (Park, 2005). ابتدا چند عدد از کاغذ صافی کاملا خشک را روی ترازو گذاشته و با فشردن دگمه TARE وزن آن را صفر تنظیم شد (از وزن آن صرفنظر شد). آنگاه حدود ۱ تا ۲ گرم از نمونه روی کاغذ صافی بصورت یک لایه نازک پخش (قطر تقریبی ۲۵ میلی متر و ضخامت تقریبی ۳ تا ۵ میلی متر) و سپس توزین شد (وزن اولیه نمونه). آنگاه نمونه را به مدت ۵ دقیقه توسط یک وزنه ۲ کیلویی تحت فشار ثابت قرار داده شد و سپس با تیغه اسکالپل همهٔ نمونه با دقت تمام از کاغذ صافی جدا و مقدار آن توزین شد (وزن نمونه بعد از فشار). با توجه به میزان آب خارج شده از بافت نمونه تحت فشار، آب قابل تراوش (EW) و ظرفیت نگهداری آب (WHC) بر حسب درصد از طریق فرمول زیر محاسبه شدند:

فرمول شماره ۱:

$$EW = \left(\frac{\text{وزن نمونه بعد از فشار} - \text{وزن اولیه نمونه}}{\text{وزن اولیه نمونه}}\right) \times ۱۰۰$$

فرمول شماره ۲:

$$WHC = \left(\frac{\text{آب تراوش شده } (\%)}{\text{رطوبت نمونه اولیه } (\%)}\right) \times ۱۰۰$$

۲.۳.۳. سنجش مجموع بازهای فرار نیتروژنی (*TVB-N*)

برای تعیین مقادیر مجموع ترکیبات نیتروژنی فرار، از روش Conway micro-diffusion method شرح داده شده توسط Rawdkuen و همکاران (۲۰۱۰) با اندکی تغییرات استفاده شد که نحوهٔ عمل در فلوچارت زیر بیان شده است.

پس از انجام مراحل زیر مقادیر TVB-N از طریق رابطه زیر محاسبه گردید:

[(۱۰۰۰/وزن نمونه) × حجم بخش محلول آزمایش × تفاضل حجم اسید مصرفی برای نمونه و شاهد × نرمالیتهٔ اسید × ۱۴] = میزان TVB-N برحسب میلیگرم ازت در صد گرم نمونه

[1] Thiobarbituric acid; TBA
[2] Water-holding capacity; WHC
[3] Expressible water

۲ گرم نمونه با ۸ میلی‌لیتر از تری‌کلرواسید استیک (TCA) ۴ درصد در ظرف تعیین شده ریخته شود
(آزمایش شاهد بدون نمونه نیز همزمان تهیه شود)

⇩

قرار دادن نمونه در دستگاه شیکِر shaker به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۸۰ rpm

⇩

انتقال نمونه به داخل لوله‌های فالکون و سپس سانتریفیوژ کردن آنها با دور ۴۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه

⇩

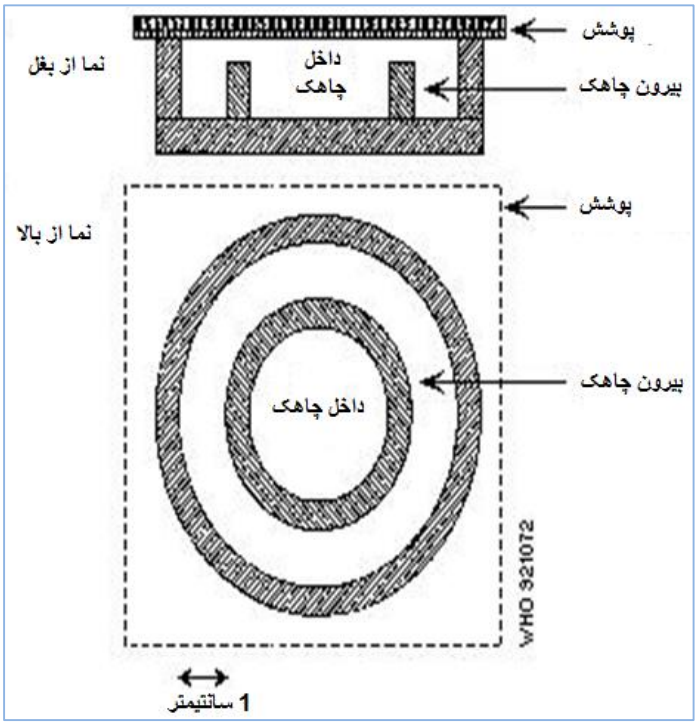
برداشتن ۲ میلی‌لیتر از فاز رویی و انتقال به حلقهٔ بیرونی ظرف مخصوص TVB-N
(به نمای شماتیک ظرف در شکل ۱ مراجعه شود)

⇩

قرار دادن نمونه‌ها در آون با دمای ۳۷ درجهٔ سانتیگراد به مدت یک ساعت
(در صورت وجود ترکیبات ازته در نمونه، محتویات حلقهٔ مرکزی به رنگ سبز کم رنگ در می‌آید)

⇩

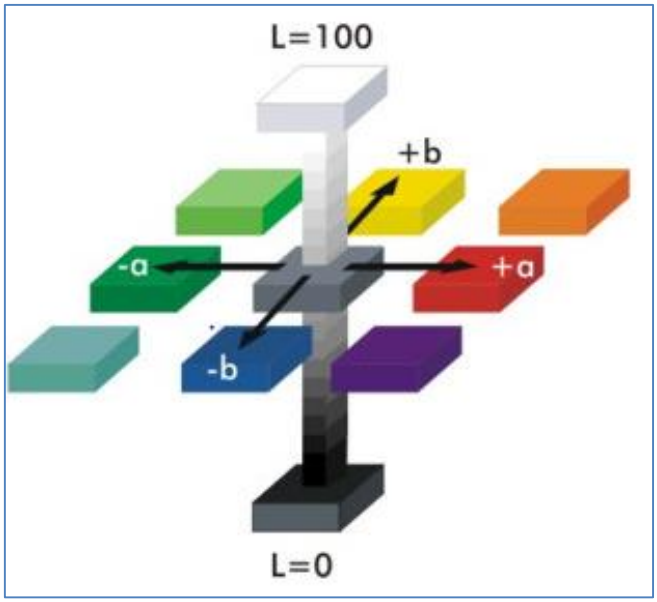
تیتراسیون با استفاده از HCl یکصدم نرمال تا ظهور رنگ قرمز پوست پیازی و سپس محاسبهٔ مقدار TVB-N



شکل۱ - نمای شماتیک از ظرف مخصوص اندازه‌گیری مجموع ترکیبات نیتروژنی فرار به روش Conway micro-diffusion method

۲.۳.۴. ارزیابی رنگ

برای ارز یابی ر نگ، از دســـتگاه Color Analyzer اســـتفاده شـــد. کلیه نمونه‌های پوشـــش داده شـــده با نانو امولســـیون و شـــاهد در شـــرایط یکســـان نوری از نظر این شـــاخص مورد ارزیابی قرار گرفتند. به منظور بررســـی خصوصیات رنگی از فضای L*، a* و b* استفاده گردید و مقادیر هر یک از فضاهای رنگی مورد ا شاره در ۹ نقطه از هر یک از تیمارها، قرائت گردید. در این فضـــای رنگی، مولفه L * نشـــان دهنده میزان روشـــنی نمونه می‌باشـــد و دامنه‌ی آن از صفر (سیاه خالص)، تا ۱۰۰ (سفید خالص)، متغیر اســـت. مقادیر مولفه a* بین منفی ۶۰ تا مثبت ۶۰ قرار دارد و مقادیر مثبت معادل رنگ قرمز و مقادیر منفی معادل رنگ ســـبز می‌باشـــد. مقادیر b* نیز مانند مولفه a* می‌باشـــد و مقادیر منفی معادل رنگ آبی و مقادیر مثبت معادل رنگ زرد است. الگوی نشان داده شده در شکل ۲، توضیحات ارائه شده را بهتر به نمایش می‌گذارد:



شکل ۲- تصویر الگوی خصوصیات رنگی در فضای L*، a* و b*

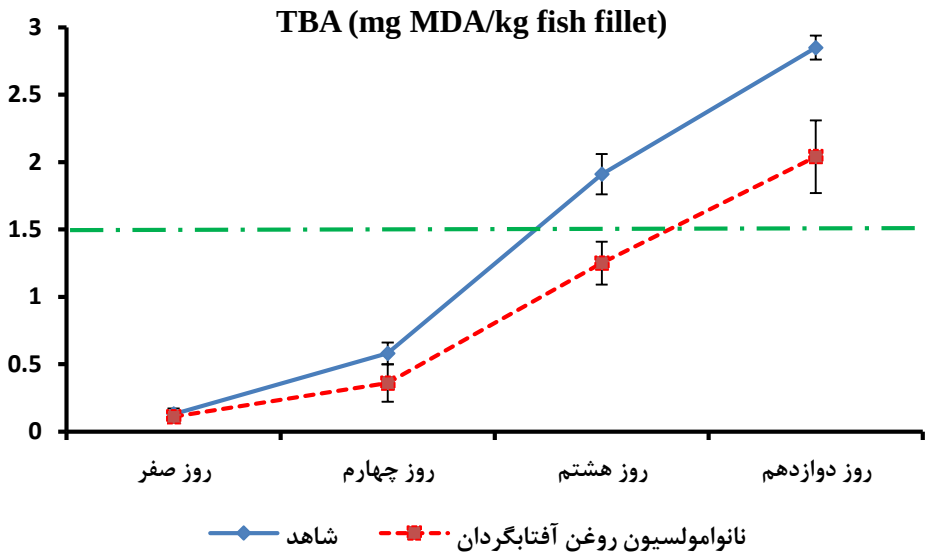
۲.۴. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این تحقیق، نتایج بدســـت آمده توســـط نرم‌افزار آماری SPSS ورژن ۱۵ مورد تجزیه و تحلیل آماری نتایج قـرار گـرفـتـنـد. از تـجـزیـه واریـانـس یـک طـرفـه (ANOWA-one way) و با استفاده از آزمون دانکن جهت مقایســه میانگین‌ها و بررســی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار در بین نتایج حاصـــله اســـتفاده گردید. رســـم نمودارها نیز با اســـتفاده از نرم افزار تحت ویندوز Excell صورت گرفت.

۳. نتایج

۳.۱. ترکیبات ثانویه فساد اکسیداسیون چربی

نتایج حاصـــل از ســـنجش ترکیبات ثانویه فســـاد اکسیدا سیونی چربی (میزان تیوباربیتوریک ا سید، TBA) نشان می‌دهد که عامل زمان، در مقادیر این شاخص تاثیر معنی‌داری داشـــته بطوریکه در هر دو گروه از فیله‌های قزل‌آلای مورد بررسی، مقادیر این شاخص روند صعودی را با گذر زمان نشـــان داد ($P<0.05$). در این میان، مقادیر ســـنجش شـــده در تیمارهایی که با نانوامولســـیون روغن آفتابگردان پوشـــش‌دهی شـــده بودند، بطور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کمتر بوده است (نمودار ۱).



شکل ۳- نمودار مقادیر سنجش شدهٔ شاخص تیوباربیتوریک اسید، TBA (برحسب میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید در هر کیلوگرم از فیله/بافت/گوشت ماهی) در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دو حالت پوشش‌دهی شده با نانوامولسیون روغن آفتابگردان و شاهد (بدون پوشش). خط‌چین به رنگ سبز، بیانگر حد مجاز این شاخص در ماهیان (۱،۵ میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید در یک کیلوگرم فیله) است.

۳.۲. اندازه گیری مجموع ترکیبات ازته فرار (TVB-N)

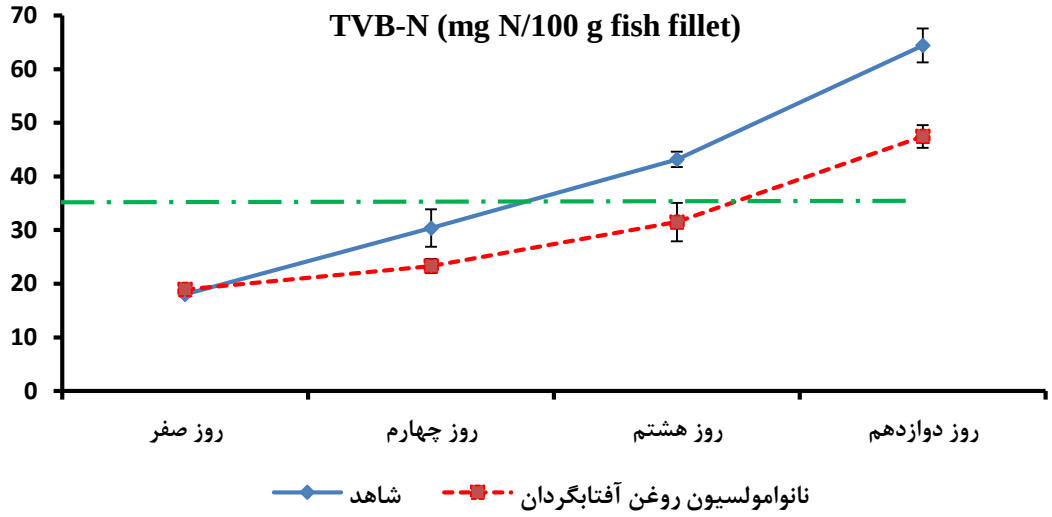
نتایج حاصل از سنجش ترکیبات ازتهٔ فرار (برحسب میلی‌گرم ازت در یکصد گرم، TVB-N) در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دو حالت پوشش‌دهی شده با نانوامولسیون روغن آفتابگردان و شاهد (بدون پوشش) در نمودار ۲ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل آماری مربوط به یافته‌های این شاخص نشان می‌دهد که عامل زمان و همچنین تیمار پوشش‌دهی، در مقادیر این شاخص تاثیر معنی‌داری داشته بطوریکه در هر دو گروه از فیله‌های قزل‌آلای مورد بررسی، مقادیر این شاخص روند صعودی را با گذر زمان نشان داد و بین دو گروه مقادیر سنجش شده تفاوت معنی‌داری را به نمایش گذاشت ($P<0.05$). در این میان، مقادیر سنجش شده در تیمارهایی که با نانوامولسیون روغن آفتابگردان پوشش‌دهی شده بودند، بطور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کمتر بوده است.

با توجه به نتایج بدست آمده، مقدار شاخص TVB-N در تیمار شاهد از روز چهارم نگهداری به بعد، از حد مجاز فراتر رفت اما برای تیمار پوشش‌دهی شده با نانوامولسیون روغن در آب آفتابگردان از روز هشتم نگهداری عبور کرد. که این نتیجه می‌تواند به عملکرد مثبت پوشش اعمال شده در زمینه کنترل عوامل تجزیه کننده ترکیبات ازت‌دار مربوط باشد.

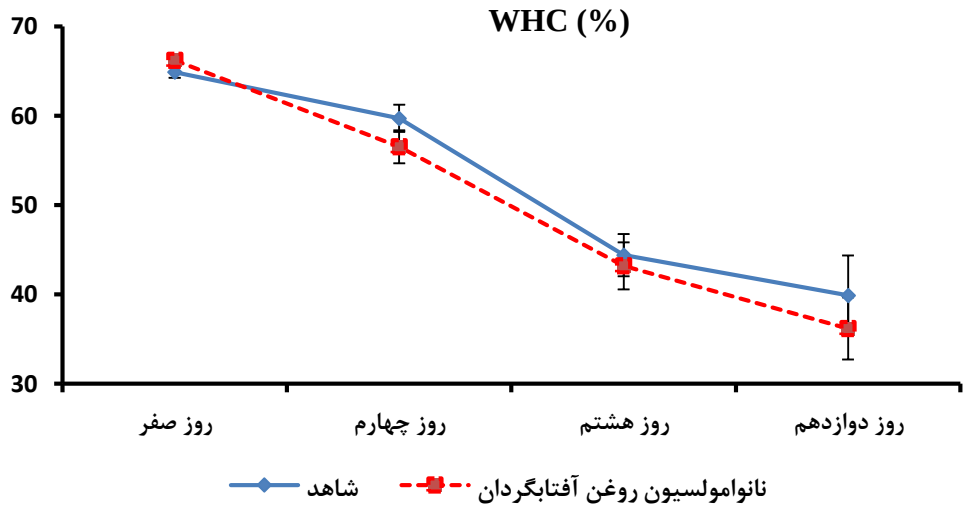
۳.۳. ارزیابی ظرفیت نگهداری آب (WHC)

نمودار ۳نتایج حاصل از سنجش شاخص ظرفیت نگهداری آب (برحسب در صد؛ WHC) در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دو حالت پوشش‌دهی شده با نانوامولسیون روغن آفتابگردان و شاهد (بدون پوشش) را نشان می‌دهد. تجزیه و تحلیل آماری مربوط به یافته‌های این شاخص نشان می‌دهد که هرچند پوشش‌دهی فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با نانوامولسیون روغن در آب آفتابگردان، موجب ارتقاء توانایی پروتئین‌های فیله در حفظ و نگهداری آب شده است، اما از نظر آماری در مقادیر این شاخص تاثیر معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشده است. در مقابل، عامل زمان بر مقادیر ظرفیت نگهداری آب در هر دو گروه موثر بوده بطوریکه با گذر زمان مقدار اندازه‌گیری شده در هر دو گروه تفاوت معنی‌داری را نسبت به زمان شروع نگهداری به نمایش گذاشت ($P<0.05$). در این میان، مقادیر سنجش شده در

تیمارهایی که با نانوامولسیون روغن آفتابگردان پوشش‌دهی شده بودند، بطور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کمتر بوده است.



شکل ۴- نمودارمقادیر سنجش شدهٔ شاخص مجموع ترکیبات ازتهٔ فرار (برحسب میلی‌گرم ازت در یکصد گرم، TVB-N) در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دو حالت پوشش‌دهی شده با نانوامولسیون روغن آفتابگردان و شاهد (بدون پوشش). خط‌چین به رنگ سبز، بیانگر حد مجاز این شاخص در ماهیان (۲۵ میلی‌گرم ازت در صد گرم فیله) است.

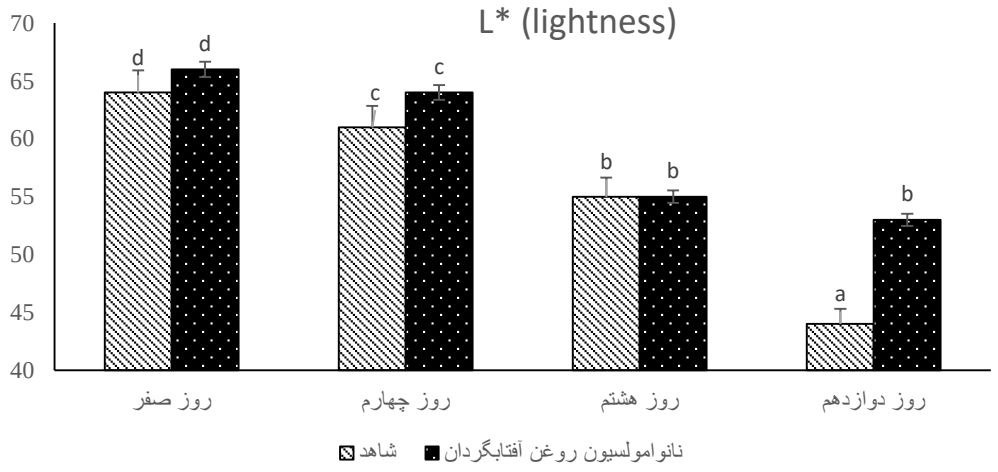


شکل ۵- نمودارمقادیر سنجش شدهٔ شاخص ظرفیت نگهداری آب (برحسب درصد؛ WHC) در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دو حالت پوشش‌دهی شده با نانوامولسیون روغن آفتابگردان و شاهد (بدون پوشش)

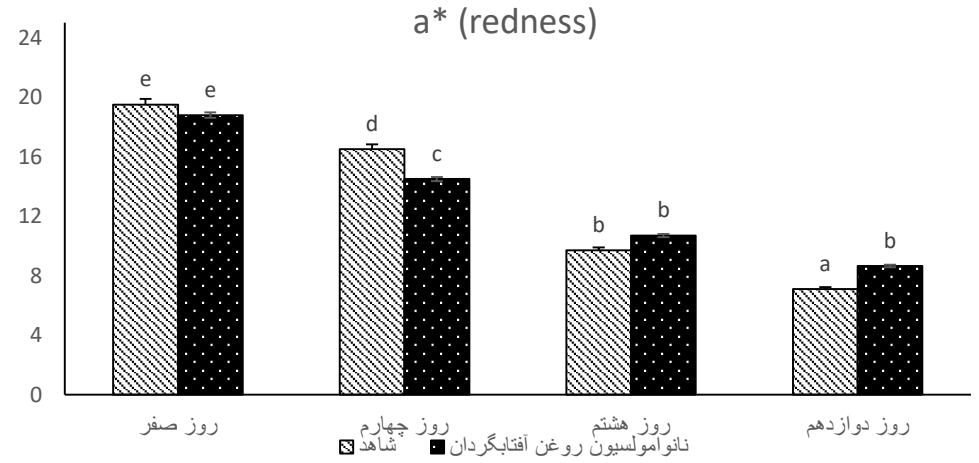
۳.۴. رنگ‌سنجی

نتایج حاصل از رنگ‌سنجیِ فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دو حالت پوشش‌دهی شده با نانوامولسیون روغن آفتابگردان و شاهد (بدون پوشش) در نمودارهای ۴، ۵ و ۶ نشان داده شده است (نمودار ۴ مربوط به روشنایی lightness; L* ، نمودار ۵ مربوط به قرمزی

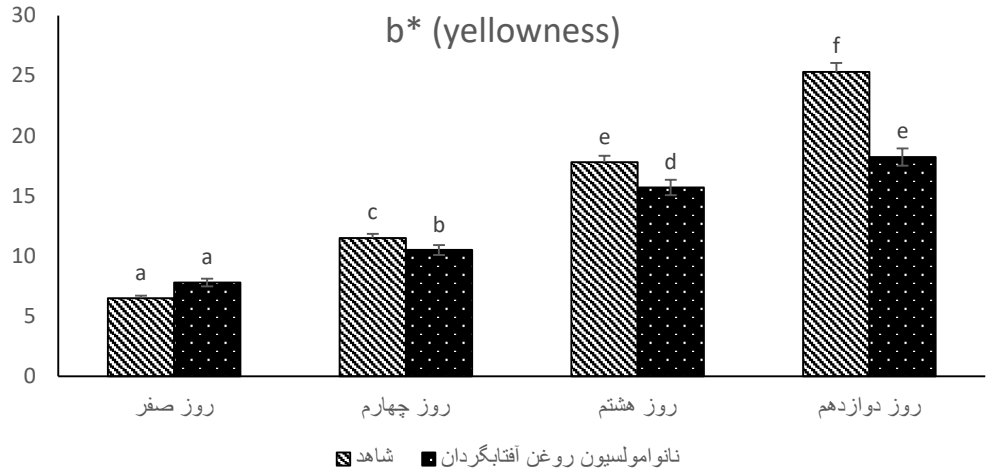
a*; redness و نمودار ۶ مربوط به زردی b*; yellowness می‌باشد). تجزیه و تحلیل آماری مربوط به یافته‌های این شاخص نشان می‌دهد که پوشش‌دهی فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با نانوامولسیون روغن در آب آفتابگردان، بر کیفیت ترکیب رنگی فیله‌ها تأثیر داشته بطوریکه با فزایش زمان نگهداری، این تاثیر بیشتر خود را نشان داده است ($P<0.05$). شدت تغییرات در مقدار روشنایی نمونه‌های شاهد بیشتر از نمونه‌های پوشش‌دهی شده بود بطوریکه از مقدار ۶۴ در روز اول به ۴۴ در انتهای دورهٔ نگهداری رسید. در مقابل تغییرات عددی مربوط به این پارامتر در فیله‌های پوشش‌دهی شده از ۶۶ در روز اول به ۵۳ در روز دوازدهم نگهداری رسید. چنین روند نزولی در خصوص پارامتر قرمزی فیله‌های نگهداری شده در یخچال برای هر دو گروه مشاهده شد بطوریکه در نمونه شاهد از ۱۹/۵ به ۷/۱ و در نمونه پوشش‌دهی شده از ۱۸/۸ به ۸/۶۵ تغییرات را به نمایش گذاشت. از طرفی دیگر، مقادیر اندازه‌گیری شده در خصوص پارامتر زردی، نشان می‌دهد که مقدار آن در هر دو تیمار در طی دورهٔ نگهداری افزایش یافت و شدت تغییرات آن در گذر زمان معنی‌دار بوده است.



شکل ۶- نمودار مقادیر سنجش شدهٔ شاخص روشنایی (L*; lightness) در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دو حالت پوشش‌دهی شده با نانوامولسیون روغن آفتابگردان و شاهد (بدون پوشش)



شکل ۷- نمودار مقادیر سنجش شدهٔ شاخص روشنایی (a*; redness) در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دو حالت پوشش‌دهی شده با نانوامولسیون روغن آفتابگردان و شاهد (بدون پوشش)



شکل ۸- نمودار مقادیر سنجش شدهٔ شاخص روشنایی (b*; yellowness) در فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در دو حالت پوشش‌دهی شده با نانوامولسیون روغن آفتابگردان و شاهد (بدون پوشش)

۴. بحث

اصولاً تفاوت در ترکیب شیمیایی بدن ماهی که خود به عوامل داخلی از جمله سن، جنس، اندازه و عوامل خارجی نظیر کیفیت آب (شوری، دما، ...)، فصل، منطقهٔ جغرافیایی، رژیم غذایی و شرایط کلی پرورش بستگی دارد (Abd Rahman *et al*., 1995; Şener *et al*., 2005)، در کنار روش نگهداری و شیوهٔ فرآوری آن بر میزان سرعت نزول کیفیت آن در دوران پس از صید موثر است. در تحقیق حاضر از ماهی قزل‌آلای رنگین کمان استفاده شد. ماهی مذکور به این علت انتخاب شد که در حال حاضر یکی از مهمترین ماهی پرورشی سردآبی ایران و جهان است که از نظر اقتصادی اهمیت قابل توجه‌ای دارد. این ماهی از میزان بالایی چربی در عضلات خود برخوردار بوده بطوریکه جزوه ماهیان چرب دسته‌بندی می‌شود. از همین‌رو انتخاب روش آسان و اقتصادی جهت حفظ کیفیت آن در دوران پس از صید، ضرورت دارد.

در ماهی زنده و ماهیانی که تازه صید شده باشند، تعادلی بین عوامل پراکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی که واکنش‌های اکسیداتیو چربی را در کنترل خود دارند، وجود دارد (Hultin, 1992). اما پس از صید و با گذشت زمان، تعادل فوق بر هم خورده و فساد اکسیداتیو (Aubourg *et al*., 1993; Saeed and Howell, 2002) و هیدرولتیکی چربی (Pacheco-Aguilar *et al*., 2000; Namulema *et al*., 1999) آغاز می‌گردد.

مطالعات قبلی نشان داد که کیفیت ماهی در طول مدت سردسازی کاهش می‌یابد و تغییرات چربی نقش مهمی در افت کیفیت آن بر عهده دارد (Hosseini, 2006). نتایج بدست آمده در این تحقیق، با تأکید بر مطالعات مذکور، میزان افت کیفیت را با استفاده یا عدم استفاده از تیمارهای تکمیلی/کمکی در طی دورهٔ نگهداری در شرایط غیرانجماد مرتبط می‌داند. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصله نشان داد که تیمار فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با نانوامولسیون روغن در آب آفتابگردان بر سرعت بروز فساد اکسیداسیونی چربی تاثیر معنی‌داری داشته و این تاثیر از راه محدود کردن دسترسی اکسیژن به اسیدهای چرب غیراشباع موجود در فیله‌های مورد بررسی جهت آغاز اکسیداسیون چربی صورت گرفته است. نتایج تحقیق حاضر با پژوهش‌های انجام شده در این خصوص مطابقت دارد (Shadman *et al*., 2017; Ozogul *et al*., 2016; Durmus *et al*., 2020).

سنجش مقادیر مجموع ترکیبات از ته فرار یکی از شاخص‌های شیمیایی نسبتاً مهم در جهت تشخیص

میزان تازگی و کیفیت ماهیان می‌باشد. محققین برای این شاخص حد مجاز متفاوتی را ارائه دادند ولی در عمدهٔ آنها حد مجاز TVB-N ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن در صد گرم گوشت گزارش شده است (Marrakchi *et al*., 1990).

براساس گزارشات علمی موجود، افزایش میزان TVB-N تحت تاثیر مستقیم فعالیت باکتریایی و آنزیم های پروتئاز درونی ماهی قرار دارد. در این میان ارتباط تجزیه (فساد) باکتریایی گوشت با این شاخص شیمیایی بسیار پر رنگ و قابل توجه است. به این معنا که با پیشرفت تجزیه باکتریایی در یک ماده غذایی مقدار این شاخص نیز افزایش نشان خواهد داد. در واقع کاهش سرعت تجزیه ترکیبات ازت‌دار موجود در فیله های پوشش‌دهی شده با نانوامولسیون روغن در آب آفتابگردان در طی دوران نگهداری می‌تواند به خواص ضدمیکروبی این پوشش (از طریق ناپایدار کردن پوشش چربی ارگانیسم و بدنبال آن برهم خوردن تعادل ترکیبات موجود در بدن) نسبت داد. خاصیتی که پیشتر توسط سایر محققین به اثبات رسید (Yazgan, 2017; Durmus, 2019; Ozogul, 2017; Ozogul *et al*., 2016; Durmus *et al*., 2020). که این با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد.

وجود مقادیر مناسبی از آب در عضلات ماهی، یکی از مولفه‌های مهم هم برای مصرف کننده و هم برای صنایع فرآوری آن می‌باشد. از همین‌رو ارزیابی قابلیت نگهداری آب توسط عضلات ماهی، به عنوان یکی از شاخص‌های مهم کیفیت همواره مطرح بوده است. اصولاً کاهش یافتن مقادیر آب موجود در عضلات اغلب در نتیجه یک سری تغییرات ساختاری در ماهیچه است که بعد از مرگ رخ می‌دهد. محققین نشان دادند که ظرفیت نگهداری آب از جمله مهمترین پارامترهای ارزیابی کیفیت ماهی و فرآورده‌های آن است که بیانگر توانایی پروتئین محصول در نگهداری آب می‌باشد. اثر متقابل پروتئین و آب بر ماهیت بافت، آبداری، تردی، رنگ و طعم محصولات شیلاتی تأثیرگذار می‌باشد (Ingadottir and Kristinson, 2010).

پیشتر اثبات شده است که یکی از روش کارآمد برای بررسی تغییرات کیفیت در گوشت ماهی، ارزیابی ظرفیت نگهداری آب در عضله و بررسی تغییرات ریزساختارهای بافتی آن در طی دوره نگهداری است. آب در گوشت ماهی توسط پروتئین‌های موجود در عضله ماهی نگاهداری می‌شود و هرگونه تخریب در ساختار پروتئین موجب از دست رفتن و کاهش توانایی آن در حفظ آب موجود در بافت می‌شود. در واقع بین تخریب فیبرهای عضلانی و ظرفیت نگهداری آب فیله ماهی رابطه مستقیمی وجود دارد موضوعی که در تحقیق (Sharifian and Attaran Fariman, 2013) بر روی ماهی هامور معمولی (*Epinephelus coioides*) در طی دوره نگهداری در یخچال به اثبات رسیده است، که نتایج فوق مشابه با این تحقیق است.

محققین علت تغییر در پارامترهای رنگی مانند روشنایی و همچنین قرمزی را به دناتوره شدن پروتئین‌ها و تجزیهٔ رنگدانه‌های موجود در فیله در طی دورهٔ نگهداری نسبت داده‌اند بطوریکه با فزایش دوران نگهداری، مقادیر بیشتری از پروتئین‌ها و رنگدانه‌ها دناتوره و تجزیه شده و از همین‌رو بر میزان روشنایی و همچنین قرمزی فیله‌ها موثر هستند. نتیجه‌گیری مشابهی توسط La- ongnual و Sriket بر روی فیله های ماهی *Pangasius bocourti* در طی دورهٔ نگهداری مشاهده شد (Sriket and La-ongnual, 2018).

محققین علت افزایش میزان زردی در نمونه‌های ماهی را در طی دورهٔ نگهداری به افزایش فساد اکسیداسیون چربی و تولید ترکیبات ثانویه ناشی از فساد اکسیداسیونی چربی در ماهیان نسبت می‌دهند. با توجه به آنکه در طی دورهٔ نگهداری مقدار شاخص TBA با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در یخچال افزایش یافته است، چنین مطابقتی توجیه می‌گردد. در واقع محصولات ثانویه ناشی از اکسیداسیون چربی مانند آلدهیدها Aldehydes، کتون‌ها ketones و ترکیبات کربونیل‌دار carbonyl compounds می‌توانند با گروه‌های آمین آزاد در پروتئین واکنش بدهند که این واکنش منجر به تغییر رنگ discoloration و تولید بوهای ناپسند unpleasant odors از فیله می‌شود (Pokorny, 1981; Wsowicz et al., 2004). یافته های

تحقیق حاضر با نتایج La-ongnual و Sriket بر روی فیله های ماهی *Pangasius bocourti* مطابقت دارد (Sriket and La-ongnual, 2018) که این مطالعات تطابق با این پژوهش دراد.

نتیجه‌گیری نهایی

در تحقیق حاضر قابلیت نانوامولسیون روغن در آب آفتابگردان بر جلوگیری از سرعت نزول کیفیت فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین در طی دوازده روز نگهداری در یخچال مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بوده است که در عمدۀ شاخص ارزیابی کیفیت مورد استفاده، فیله‌های پوشش‌دهی شده با نانوامولسیون روغن در آب آفتابگردان از کیفیت ماندگاری بهتری برخوردار بودند. لذا استفاده از این روش برای ماندگاری بهتر این محصول در طی دورۀ نگهداری در یخچال پیشنهاد می‌گردد.

۵. منابع

References

Abd Rahman, S., Osman, T. S. H., Hassan, O. Daud, N. M., 1995. Fatty acid composition of some Malaysian fresh water fish. *Food Chemistry* 54(1), 45–49.

Aubourg, S. P., 1993. Review: interaction of malondialdehyde with biological molecules – new trends about reactivity and significance. *International Journal of Food Science and Technology* 28(4), 323–335.

Durmus, M., 2019. The effects of nanoemulsions based on citrus essential oils (orange, andarin, grapefruit, and lemon) on the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets at 4±2° C. *Journal of Food Safety* 40 (1), e12718.

Durmus, M., Bensid, A., Ozogul, Y., Kosker, A., Ucar, Y., Kuley Boga, E., Durmus, M., Ozogul, F., 2020. Influence of olive oil–based nanoemulsion on the fatty acid profiles of rainbow trout fillets. *Aquaculture International*) 28, 1997–2014.

FAO; Fisheries Technical Paper No. 210. 2017. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Hosseini, S.V., 2006. Lipid qualty changes of golden gray mullet (*Liza aurata*) and Kutum (*Rutilus frisii kutum*) during ice storage. Master Thesis. 72 pages. (*In Persian*)

Hultin, H.O., Decker, E.A., Kelleher, S. D., Osinchak, J. E., 1992. Control of lipid oxidation processes in minced fatty fish, in Bligh E G, Seafood Science and Technology, Oxford, Fishing News Books. 93-100.

Ingadottir, B., Kristinson, H.G., 2010. Gelation of protein isolates extracted from tilapia light muscle by pH shift processing. Food Chemistry 118(3), 780-798.

Joe, M.M., Chauhan, P.S., Bradeeba, K., Shagol, C., Sivakumaar, P.K., 2012. Influence of sunflower oil based nanoemulsion (AUSN-4) on the shelf life and quality of Indo-Pacific king mackerel (*Scomberomorus guttatus*) steaks stored at 20°C. *Food Control* 23(2), 564–570.

Kilinc, B., Cakli, S., Dincer, T., Tolasa, S., 2009. Microbiological, chemical, sensory, color, and textural changes of rainbow trout fillets treated with sodium acetate, sodium lactate, sodium citrate, and stored at 4°C. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 18(1-2), 3-17.

Marrakchi, E., Bennour, A.M., Bouchriti, N., Hamama, A., Tagafait, H., 1990. Sensory, chemical and microbiological assessments of Moroccan sardines (Sardina pilchardus) stored in ice. *Journal of Food Protection* 53(7), 600–605

Medina, I., Gallardo, J. M., Aubourg, S. P., 2009. Quality preservation in chilled and frozen fish products by employment of slurry ice and natural antioxidants. International Journal of Food Science and Technology 44(8), 1467-1479.

Namulema, A., Muyonga, J. H., Kaaya, A.N., 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at –13 and –27 ºC. *Food Research International* 32(2), 151-156.

Ozogul, Y., Durmus, M., Ucar, Y., Ozogul, F., Regenstein, J.M, 2016. Comparative study of nanoemulsions based on commercial oils (sunflower, canola, corn, olive, soybean, and hazelnut oils): effect on microbial, sensory, and chemical qualities of refrigerated farmed sea bass. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 33, 422–430.

Ozogul, Y., Yuvka, I., Ucar, Y., Durmus, M., Kösker, A.R., Oz, M., Ozogul, F., 2017. Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. *LWT Food Science and Technology* 75, 677–684.

Pacheco-Aguilar, R., Lugo-Sachez, M. E., Robles-Burgueno, R., 2000. Postmortem biochemical and functional characteristic of montery sardine muscle stored at 0 ºC. *Journal of Food Science* 65(1), 40-47.

Park J. W (Edidtor). 2005. Surimi and Surimi Seafood (Second Edition). CRC Press, Taylor & Francis Group (961 pages).

Pikul, J., Leszczynski, D.E., Kummerow, F.A., 1989. Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* (37), 1309 – 1313.

Pokorny, J. 1981. Browning from lipid-protein interactions. *Progress in Food and Nutrition Science* 5(1), 421–428.

Rawdkuen, S., Jongjareonrak, A., Phatcharat, S., Benjakul, S., 2010. Assessment of protein changes in farmed giant catfish (*Pangasianodon gigas*) muscles during refrigerated storage. *International Journal of Food Science and Technology* 45(5), 985–994.

Saeed, S., Howell, N.K., 2001. 12-lipoxygenase activity in the muscle tissue of Atlantic mackerl *(scomber scombrus)* and its prevention by antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81(8), 745-750.

Şener, E., Yildiz, M., Savaş, E., 2005. Effects of Dietary Lipids on Growth and Fatty Acid Composition in Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) Juveniles. Turkish *Journal of Vetenary and Animal Sciences* 29, 1101-1107.

Shadman, S., Hosseini, S.E., Langroudi, H.E., Shabani S., 2017. Evaluation of the effect of a sunflower oil-based nanoemulsion with Zataria multiflora Boiss. Essential oil on the physicochemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during cold storage. *LWT-Food Science and Technology* 79, 511–517

Shadman, S., Hosseini, S.E., Langroudi, H.E., Shabani, S. 2017. Evaluation of the effect of a sunflower oil-based nanoemulsion with Zataria multiflora Boiss. essential oil on the physicochemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during cold storage. *LWT-Food Science and Technology* 79, 511-517.

Sharifian, S., Attaran Fariman, G. 2013. Investigation of the relationship between the destruction of muscle fibers and the water holding capacity of *Epinephelus coioides* during refrigeration. *Journal of Oceanography* 4 (16), 55-61 (*In Persian*)

Sriket, P., La-ongnual, T. 2018. Quality changes and discoloration of Basa (*Pangasius bocourti*) fillet during frozen storage. *Journal of Chemistry* 2018, 1-7.

Wasowic, Erwin., Gramza, Anna., Hes, Marzanna., Jelen, Henryk H., Korczak, Jozef., Małecka, Maria., Mildner-Szkudlarz, Sylwia., Rudzinska, Magdalena., Samotyja, Urszula., Zawirska-Wojtasiak, Renata. 2004. Oxidation of lipids in food. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 13, 87–100.

Yazgan, H., Ozogul, Y., Durmus, M., Balikci, E., Gokdoğan, S., Ucar, Y., Aksun, E.T., 2017. Effects of oil-in-water nanoemulsion based on sunflower oil on the quality of farmed sea bass and gilthead sea bream stored at chilled temperature (2±2°C). *Journal of Aquatic Food Product and Technology* 26(8), 979–992.