

## تأثیر پوشش خوراکی کازئینات سدیم بر کیفیت ماهی قزل آلابی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی نگهداری در دمای یخچال

مرجان زرگر<sup>۱</sup>، سکینه یگانه<sup>۲\*</sup>، سید هادی رضوی<sup>۳</sup>، سید مهدی اجاق<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- دانشیار گروه صنایع غذایی، دانشکده بیوسیستم، دانشگاه علوم کشاورزی کرج

۴- استادیار گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۲۰)

### چکیده

فیلم‌های خوراکی به عنوان محصولات طبیعی، سازگار با محیط زیست و قابل بازیافت می‌توانند جایگزین مناسبی برای بسته‌بندی‌های حاصله از مشتقات نفتی باشند که امروزه متداول است. در این مطالعه، تأثیر پوشش خوراکی کازئینات سدیم (SC) بر ماندگاری قزل‌آلابی رنگین‌کمان در طول نگهداری در یخچال، مورد بررسی قرار گرفت.

نمونه‌های ماهی، با محلول کازئینات سدیم ۸٪، تیمار شده و پس از خشک شدن محلول و شکل‌گیری پوشش، به مدت ۲۰ روز در دمای  $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$  در یخچال نگهداری شدند. هر چهار روز یکبار (روزهای ۰، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰)، نمونه‌های ماهی تیمار و شاهد، مورد آزمایش‌های شیمیایی (PV، TBA) و FFA و pH و TVB-N) و آزمایش‌های میکروبی (شمارش باکتری‌های هوای مزوفیل و باکتری‌های سرماگرا) قرار گرفتند.

پوشش کازئینات سدیم به طور معنی‌داری باعث کاهش مقادیر پراکسید (در روز ۱۶ در تیمار شاهد و دارای پوشش به ترتیب  $1 \pm 0/1$  و  $0/1 \pm 0/1$ ) و در روزهای پایانی دوره نگهداری، به طور معنی‌داری باعث کاهش بار میکروبی به ویژه باکتری‌های هوای مزوفیل (در روز ۲۰ در تیمار شاهد و دارای پوشش به ترتیب  $1 \pm 0/1$  و  $0/07 \pm 0/07$ ) ( $p < 0/05$ ) در مدت نگهداری در یخچال شد.

کلید واژگان: پوشش خوراکی، کازئینات سدیم، ماندگاری، قزل‌آلابی رنگین‌کمان

\* مسئول مکاتبات: skyeganeh@gmail.com

## ۱- مقدمه

دهد. به دلیل ساختار کازئین و توالی اسیدآمینه، پیوندهای هیدروژنی، واکنش‌های الکتروستاتیکی و نیروهای هیدروفوبی، در تشکیل فیلم مؤثر می‌باشد [۱۰]. فیلم‌های خوراکی با پایه کازئین به دلیل کیفیت بالای تغذیه‌ای، خواص بسیار خوب حسی، پتانسیل مناسب جهت محافظت کافی از فرآورده‌های غذایی، همچنین شفافیت، انعطاف‌پذیری و ملایمت طبیعی‌شان برای استفاده در صنایع غذایی مورد توجه هستند [۱۱]. فیلم‌های حاصل از پروتئین‌های شیر، به دلیل پیوندهای بین مولکولی پیچیده‌شان، دارای خواص ممانعت‌کنندگی خوبی در مقابل عبور گازها هستند [۱۲]. تحقیقات چشمگیری در مورد اثر فیلم‌های ساخته شده از پروتئین‌های شیر بر میوه‌ها، سبزیجات و سایر غذاهای لبنی صورت گرفته است؛ در حالیکه تحقیقات در زمینه به‌کارگیری این فیلم‌ها با غذاهای گوشتی بسیار محدود است [۹]. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی تأثیر پوشش خوراکی کازئینات سدیم بر بهبود ماندگاری قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در طول نگهداری در یخچال می‌باشد.

## ۲- مواد و روش‌ها

## ۲-۱- روش تهیه محلول کازئینات سدیم

پس از انحلال پودر کازئینات سدیم (شرکت سیگما) در آب مقطر (۸٪ وزنی/ وزنی)، گلیسرول (مرک، آلمان) به عنوان نرم‌کننده<sup>۲</sup> (نسبت پروتئین به گلیسرول ۱:۰/۳)، به آن افزوده شد [۱۰]. در نهایت جهت بهبود عمل تداخل فازها، محلول‌ها به مدت ۳ دقیقه تحت همزنی با دور بالا توسط میکسر هموژنایزر (-IKA T25 digital ultra turax) قرار گرفتند. در مرحله بعد، مخلوط هموژن شده، با استفاده از پمپ خلأ (کشور انگلستان) هواگیری شد تا حباب‌های هوا از محلول خارج شوند.

## ۲-۲- آماده سازی ماهی

در آذرماه ۱۳۸۹، تعدادی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با وزن متوسط ۶۰۰ گرم، به صورت زنده از یک استخر پرورش ماهیان سردآبی در کرج خریداری شده، پس از صید، سر زنی، تخلیه

از آنجاییکه امروزه، محصولات غذایی در مناطقی دورتر از محل تولیدشان به فروش می‌رسند، لازم است که عمر ماندگاری این محصولات افزایش یابد [۱]. قزل‌آلای رنگین‌کمان دارای ارزش غذایی بالایی بوده و تولید آن از دهه ۱۹۵۰ به طور تصاعدی در سراسر دنیا، افزایش یافته است؛ هرچند نگهداری در سرما و عمل انجماد روش مناسبی برای نگهداری ماهیان است، اما از واکنش‌های میکروبی و شیمیایی که منجر به کاهش کیفیت ماهی می‌شوند، ممانعت کاملی به عمل نمی‌آورد [۲]. از طرفی با توجه به تمایل بیشتر مصرف‌کنندگان به استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی به جای نگهدارنده‌های مصنوعی [۳] و کیفیت بهتر و ایمنی بیشتر غذا و از طرفی مبارزه با مشکل افزایش زباله‌های ناشی از مواد بسته‌بندی اخیراً مطالعات در زمینه به‌کارگیری فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی که موادی زیست‌تخریب‌پذیر<sup>۱</sup> و سازگار با محیط زیست هستند، رو به افزایش است [۴]. به طور کلی، فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی از مواد بیولوژیکی نظیر پلی‌ساکاریدها، لیپیدها، پروتئین‌ها و... و مشتق‌هایشان ساخته می‌شوند [۵].

فیلم‌های پروتئینی به جهت ساختار بیوپلیمریشان خواص ممانعت‌کنندگی بهتری نسبت به فیلم‌های پلی‌ساکاریدی نشان می‌دهند [۶] و می‌توانند از خروج بوی مواد غذایی و انتشار آن در محیط نیز جلوگیری کنند [۷].

بر اساس مطالعات انجام‌شده، پروتئین‌های شیر کامل گاو، شامل حدود ۸۰٪ کازئین و ۲۰٪ پروتئین‌های سرم می‌باشد [۸]. کازئین پروتئینی بی‌نظیر، غنی از کلسیم و دارای کیفیت تغذیه‌ای بالا بوده و به سادگی قابل هضم می‌باشد [۹]. کازئینات سدیم، نمک سدیم کازئین است که دارای طعم خوشایندی بوده و به دلیل قابلیت تشکیل پیوندهای وسیع هیدروژنی بین مولکولی، به راحتی می‌تواند محلول‌های آبدار تشکیل دهد. این ماده تا حد زیادی محلول بوده و خیلی سریع در یک مخلوط آبی پخش می‌شود و در حضور روغن و چربی نیز همگن می‌گردد [۹]. فیلم‌های کازئینی به عنوان ماده میکروکپسوله‌کننده طعم، دارو، پوشش میوه‌جات و سبزیجات و پنیر استفاده می‌شوند [۹]. کازئینات سدیم به راحتی می‌تواند از یک محلول آبی فیلم تشکیل

2. Plasticizer

1. Biodegradable

۲-۴-۲- اندازه گیری تیوباربتوریک اسید<sup>۴</sup>

۲۰۰ میلی گرم از نمونه گوشت میکس شده، به بالن ۲۵ سی سی انتقال یافته، با ۱- بوتانول به حجم رسانده شد. ۵ سی سی از این محلول به لوله فالکون خشک درب دار انتقال یافت و ۵ سی سی معرف TBA (که از انحلال ۲۰۰ میلی گرم پودر TBA در ۱۰۰ سی سی حلال ۱-بوتانول و صاف کردن بوسیله کاغذ صافی به دست آمد) به آن افزوده شد. بعد لوله‌ها در بن ماری با دمای ۹۵°C، به مدت ۲ ساعت قرار گرفتند. سپس در دمای محیط سرد شدند و بعد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان جذب (As) آنها در ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) خوانده شد. با استفاده از رابطه زیر، میزان TBA (بر حسب میلی گرم مالون دی‌آلدئید در هر کیلوگرم از بافت ماهی) مورد محاسبه قرار گرفت [۱۴].

$$TBA = \frac{(As - Ab) \times 50}{200}$$

۲-۴-۳- اندازه گیری اسیدهای چرب آزاد<sup>۵</sup>

در یک ارلن، ۲۵ سی سی اتانول (اپلیکم) ۹۶٪، ریخته و سپس ۲-۳ قطره معرف فنل فتالین به آن افزوده شد. بعد با افزودن ۱-۲ قطره سود نرمال (مرک) خنثی شد که با تغییر رنگ به رنگ پوست پیازی، همراه بود. این محلول به ارلن حاوی چربی (ناشی از تبخیر حلال مابقی فاز پایینی دکانتور)، افزوده شد و روی هیتز قرار گرفت. بعد از اولین جوش، از روی حرارت برداشته شده، ۲-۳ قطره معرف فنل فتالین به آن افزوده شد و بلافاصله با سود تیتز شد و طبق رابطه زیر، میزان اسیدهای چرب آزاد (بر حسب درصد اسید اولئیک)، محاسبه شد [۱۳].

$$FFA = \frac{(N) \times 28.2 \times N/10}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

## ۲-۴-۴- اندازه گیری pH

۵ گرم از گوشت میکس شده ماهی با ۴۵ سی سی آب مقطر و به مدت ۳۰ ثانیه در یک مخلوطکن قرار داده شد تا کاملاً هموزن

امعاء و احشاء و شستشو با آب تمیز، در یخچال یونولیتی حاوی یخ، در مدت ۳۰ دقیقه، به آزمایشگاه شیمی دانشکده بیوسیستم دانشگاه تهران انتقال داده شدند.

## ۲-۳- ایجاد پوشش بر روی ماهی

در آزمایشگاه، ماهی‌ها به مدت ۲ دقیقه در محلول آماده‌شده، غوطه‌ور شده و سپس آویخته شدند تا کمی خشک شده و پوشش مناسب بر روی آنها ایجاد شود. برای اطمینان از ایجاد پوشش بر روی ماهیها این کار دوباره تکرار شد و پس از ۱ ساعت آویخته-شدن در دمای محیط و کمی خشک‌شدن، ماهی‌ها در یخچال قرار گرفتند تا ادامه فرآیند خشک شدن پوشش، در یخچال در دمای ۱°C± صورت گیرد. سپس تیمارها که شامل یک تیمار شاهد فاقد پوشش و یک تیمار دارای پوشش کازئینی بود، به مدت ۲۰ روزه، با فواصل زمانی ۴ روز یکبار (روزهای ۰، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰)، مورد آزمایش‌های شیمیایی و میکروبی قرار گرفتند.

## ۲-۴-۴- آزمایش های شیمیایی

۲-۴-۱- اندازه گیری پراکسید<sup>۳</sup>

۱۵ گرم از گوشت بدون استخوان ماهی خوب میکس شده، در دکانتور قرار داده شد، سپس ۶۰ سی سی کلروفرم (شارلو) و بعد ۶۰ سی سی متانول (مرک) به آن افزوده شد. پس از ۱۲-۲۴ ساعت، ۳۶ سی سی آب مقطر به نمونه افزوده شده و به مدت ۱-۲ ساعت استراحت داده شد تا ۳ فاز تشکیل شود. با دقت، ۲۰ سی سی از فاز پایین، درون ارلن انتقال یافته، ۲۵ سی سی اسید استیک (اپلیکم) کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۲:۳) به آن افزوده شد. سپس ۰/۵ سی سی محلول یدور پتاسیم (مرک) اشباع، ۳۰ سی سی آب مقطر به محتویات ارلن اضافه شده، به مدت ۱ دقیقه استراحت داده شد و بعد مقدار ۰/۵ سی سی معرف نشاسته ۱٪ به آن افزوده شد و درب ارلن را گذاشته، محلول به شدت تکان داده شد. ید آزاد شده، باعث تغییر رنگ محلول شد که با محلول تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال (مرک)، تیتز شد [۱۳]. سپس با استفاده از رابطه زیر، میزان پراکسید محاسبه گردید.

$$PV = \frac{100 \times \text{نمایته} \times \text{حجم مصرفی تیوسولفات}}{\text{وزن نمونه روغن}}$$

4. Thiobarbituric acid (TBA)

5. Free fatty acid (FFA)

3. Peroxide value (PV)

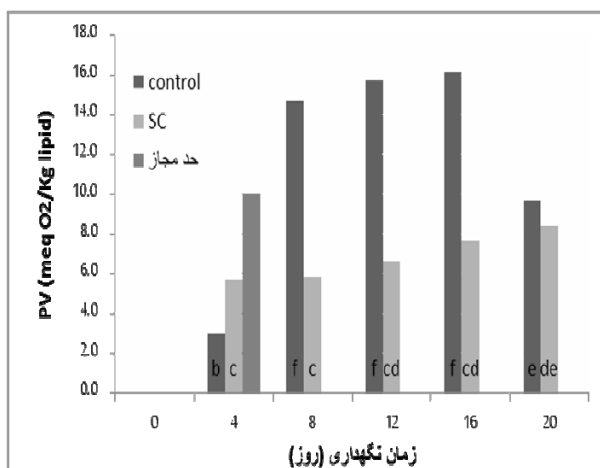
## ۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصله با نرم افزار SPSS19 انجام پذیرفت. به منظور تجزیه و تحلیل مقادیر کمی به دست آمده از آزمایش‌های شیمیایی پس از کنترل نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون (Shapiro-Wilk) از تجزیه واریانس دو طرفه در قالب طرح آماری فاکتوریل کاملاً تصادفی استفاده گردید. برای مقایسه میانگین‌ها، آزمون دانکن به کار رفت [۱۸].

## ۳- یافته‌ها

### ۳-۱- تغییر در میزان پر اکسید (PV)

تغییرات مقادیر پراکسید در مدت زمان نگهداری در یخچال در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱ تغییرات مقادیر پراکسید در تیمارها در مدت زمان نگهداری در یخچال (control: شاهد، SC: ماهی با پوشش) حروف کوچک مشترک در هر ستون نشان از عدم تفاوت معنی دار در زمان‌های مختلف است ( $p > 0.05$ ).

مقدار پراکسید در روز صفر در هر دو تیمار بسیار ناچیز بود. میزان پراکسید در هر دو تیمار شاهد و ماهی دارای پوشش کازئینی روندی افزایشی داشت، اما این افزایش در تیمار شاهد شدت بیشتری داشت و در روز ۱۶ به بیشترین میزان خود  $1/1 \pm$  (۱۶/۱) رسید؛ سپس کاهش آن در روز ۲۰ دیده شد. به استثنای روز ۴، در سایر روزهای نگهداری، سطح پراکسید در تیمار ماهی دارای پوشش کازئینی، به طور معنی داری کمتر از تیمار شاهد بود.

شود. سپس pH نمونه‌ها با استفاده از دستگاه pH متر که در pH ۴ و ۷، کالیبره شده بود، مورد اندازه‌گیری قرار گرفت [۱۵].

### ۲-۴-۵- اندازه‌گیری بازهای از ته فرار<sup>۶</sup>

ابتدا ۱۰ گرم از گوشت میکس شده ماهی و ۲ گرم اکسید منیزیم در یک بالون کلدال توزین شد. سپس ۳۰۰ سی‌سی آب مقطر، ۲ تا ۳ قطره اکتانول (به عنوان ضد کف) و تعدادی ساچمه شیشه‌ای نیز به محتویات بالون افزوده شد. سپس سیستم کلدال نصب شده و در زیر لوله خروجی سیستم، ارلنی حاوی ۲۵ سی‌سی اسید بوریک ۲٪ دارای ۲-۳ قطره معرف متیل‌رد قرار گرفت به طوری که سر لوله خروجی کاملاً درون محلول ارلن بود تا پس از برقراری جریان آب سرد و روشن کردن هیتر و جوشیدن محتویات بالون کلدال، گازهای متصاعد شده که معرف بازهای از ته فرار هستند در محلول درون ارلن جمع آوری شوند که به صورت تغییر رنگ محلول از ارغوانی به سبز روشن نمودار شد. در نهایت این محلول با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیترا شد تا رنگ محلول مجدداً ارغوانی شود. با قرار دادن میزان اسید مصرفی جهت تیتراسیون در رابطه زیر، بازهای از ته فرار بر حسب میلی گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه ماهی محاسبه شد [۱۶].

$$TVB - N = 14 \times \text{حجم اسید سولفوریک مصرفی}$$

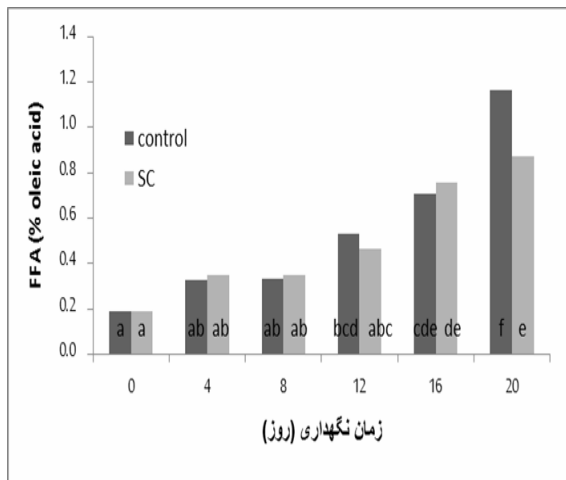
### ۲-۵- آنالیز میکروبی (باکتریهای هوازی مزوفیل

#### و باکتریهای سرماگرا)

ابتدا ۵ گرم از قسمت‌های مختلف گوشت ماهی در شرایط استریل توزین شده و با ۴۵ سی‌سی سرم فیزیولوژی (محلول نمک طعام ۰/۸۵٪) به کمک هاون چینی هموزن شد. سپس از مایع رویی محلول رقت‌های متوالی تهیه شد و از آخرین رقت برای کشت به شیوه پور پلیت<sup>۷</sup> در محیط PCA<sup>۸</sup> (مرک) استفاده شد. پس از قرار دادن پلیت‌های مربوطه در انکوباتور  $37^{\circ}\text{C}$  به مدت ۴۸ ساعت و در انکوباتور  $10^{\circ}\text{C}$  به مدت ۷ روز و شمارش کلنی‌های ایجاد شده، به ترتیب شمارش تمام باکتری‌های هوازی مزوفیل<sup>۹</sup> و تعداد باکتری‌های سرماگرا<sup>۱۰</sup> با قرار گرفتن در رابطه زیر محاسبه و به صورت  $\log_{10} \text{cfu/g}$  بیان شد [۱۶ و ۱۷].

$$\text{عکس ضرب رقت} \times \text{تعداد کلونی} = \text{cfu}$$

6. Total volatile basic-nitrogen (TVB-N)
7. Pour plate
8. Plate count agar
9. Total bacterial counts
10. Psychrophilic counts

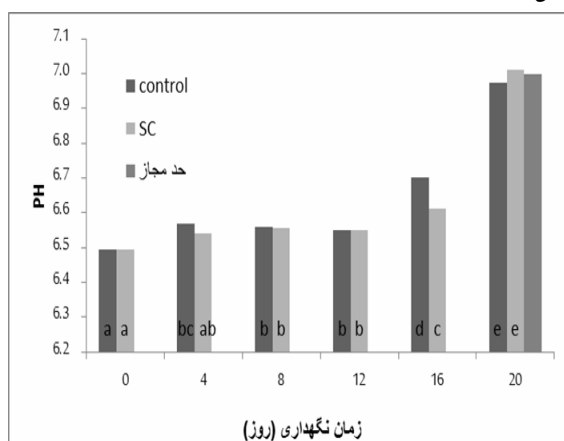


شکل ۳ تغییرات مقادیر اسیدهای چرب آزاد در تیمارها در مدت زمان نگهداری در یخچال (control: شاهد، SC: ماهی با پوشش). حروف کوچک مشترک در هر ستون نشان از عدم تفاوت معنی دار در زمانهای مختلف است ( $p > 0.05$ ).

مقادیر اسیدهای چرب آزاد در طول دوره در هر دو تیمار افزایش یافت اما تا روز ۱۶ بین تیمارها اختلاف معنی داری دیده نشد و تنها در روز ۲۰ مقدار اسیدهای چرب آزاد در تیمار ماهی دارای پوشش به طور معنی داری کمتر از مقدار آن در شاهد بود.

### ۴-۳- مقادیر pH

تغییرات مقادیر pH در تیمارها در مدت نگهداری در یخچال در شکل ۴ نشان داده شده است.

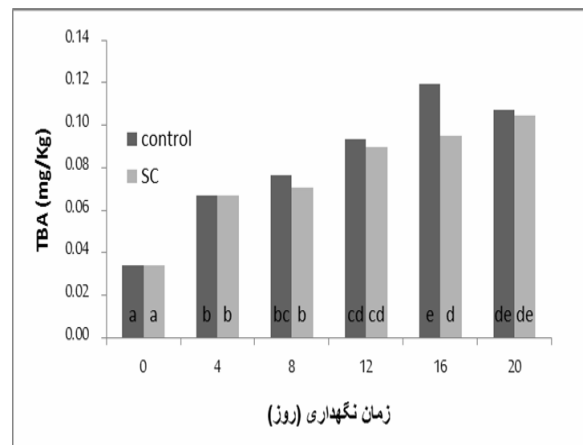


شکل ۴ تغییرات مقادیر pH در تیمارها در مدت زمان نگهداری در یخچال (control: شاهد، SC: ماهی با پوشش) حروف کوچک مشترک در هر ستون نشان از عدم تفاوت معنی دار در زمانهای مختلف است ( $p > 0.05$ ).

بین مقادیر پراکسید در مدت زمان نگهداری در هر دو تیمار اختلاف معنی دار مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).

### ۲-۳- میزان تیو باریتوریک اسید

تغییرات مقادیر TBA در تیمارها در مدت نگهداری در یخچال در شکل ۲ نشان داده شده است که دارای روندی افزایشی بوده است.

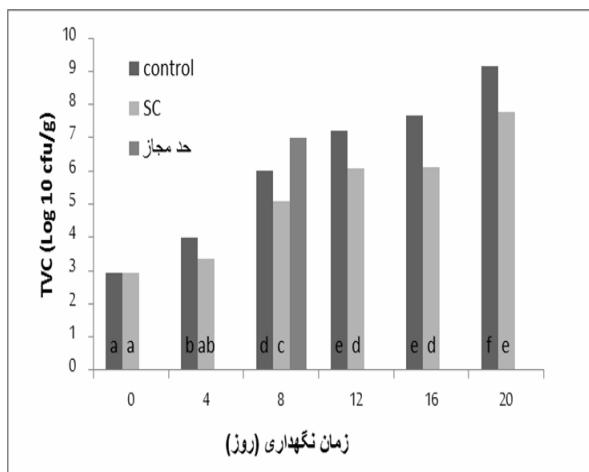


شکل ۲ تغییرات مقادیر تیو باریتوریک اسید در تیمارها در مدت زمان نگهداری در یخچال (control: شاهد، SC: ماهی با پوشش) حروف کوچک مشترک در هر ستون نشان از عدم تفاوت معنی دار در زمانهای مختلف است ( $p > 0.05$ ).

در این تحقیق میزان اولیه TBA،  $0.034 \pm 0.001$  بود و در طول دوره در هر دو تیمار افزایش یافت که در تیمار شاهد به  $0.095 \pm 0.005$  در روز ۱۲ و به  $0.119 \pm 0.003$  در روز ۱۶ رسید در حالیکه در تیمار ماهی با پوشش در روز ۱۶،  $0.095 \pm 0.005$  و در روز ۲۰،  $0.104 \pm 0.003$  بود. مقادیر TBA در تیمار شاهد در روز ۱۶ با تفاوت معنی دار در سطح بالاتری نسبت به تیمار ماهی با پوشش کازینات سدیم بود.

### ۳-۳- میزان اسیدهای چرب آزاد (FFA)

شکل ۳ تغییرات مقادیر اسیدهای چرب آزاد را در تیمارها در مدت زمان نگهداری در یخچال نشان می دهد.

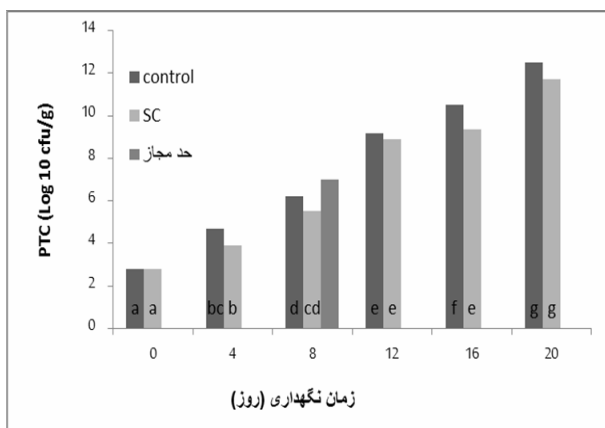


شکل ۶ تغییرات تعداد باکتری‌های هوازی مزوفیل در تیمارها در مدت زمان نگهداری در یخچال (control: شاهد، SC: ماهی با پوشش) حروف کوچک مشترک در هر ستون نشان از عدم تفاوت معنی دار در زمان‌های مختلف است ( $p > 0.05$ ).

میزان بار میکروبی در ابتدای دوره در هر دو تیمار  $2.92 \pm 0.02$  بود که در طول دوره روندی افزایشی داشت و این افزایش در تیمار شاهد دارای شدت بیشتری بود. در تیمار ماهی دارای پوشش کازئینی، در روز ۱۶ به  $7.7 \pm 0.07$  رسید، در حالیکه در نمونه شاهد در روز ۱۲ به  $7.21 \pm 1.1$  رسید.

### ۲-۳-۶- نتایج باکتری‌های سرماگرا (PTC)

تغییرات تعداد باکتری‌های سرماگرا در تیمارها در مدت نگهداری در یخچال در شکل ۷ نشان داده شده است.

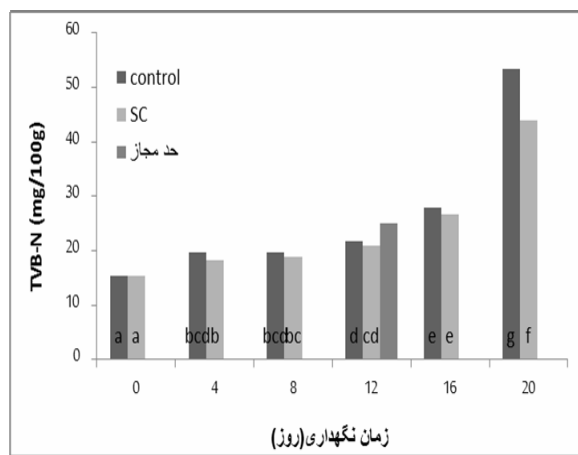


شکل ۷ تغییرات تعداد باکتری‌های سرماگرا در تیمارها در مدت زمان نگهداری در یخچال (control: شاهد، SC: ماهی با پوشش) حروف کوچک مشترک در هر ستون نشان از عدم تفاوت معنی دار در زمان‌های مختلف است ( $p > 0.05$ ).

مقدار pH در ابتدای دوره در هر دو تیمار  $6.49 \pm 0.03$  بود. تنها در روز ۱۶، ماهی دارای پوشش با اختلاف معنی دار کمتر از شاهد بوده است. pH در میانه دوره کاهش و در انتهای دوره افزایش داشت.

### ۳-۵- میزان بازهای ازته فرار

تغییرات مقادیر بازهای ازته فرار (میلی گرم نیتروژن در هر ۱۰۰ گرم گوشت ماهی) در مدت زمان نگهداری در یخچال در شکل ۵ نشان داده شده است.



شکل ۵ تغییرات مقادیر بازهای ازته فرار در تیمارها در مدت زمان نگهداری در یخچال (control: شاهد، SC: ماهی با پوشش) حروف کوچک مشترک در هر ستون نشان از عدم تفاوت معنی دار در زمان‌های مختلف است ( $p > 0.05$ ).

در این مطالعه مقدار بازهای ازته فرار در روز صفر در هر دو تیمار  $15.4 \pm 1.4$  بود که به تدریج افزایش یافت و در روز ۲۰ به  $53.4 \pm 1.06$  در تیمار شاهد و  $43.8 \pm 2.13$  در ماهی دارای پوشش کازئینی رسید. با توجه به شکل در طول دوره، اختلاف بین دو تیمار معنی دار نبوده و تنها در روز ۲۰ سطح TVB-N در تیمار شاهد به طور معنی داری بیشتر از تیمار ماهی دارای پوشش بود.

### ۳-۶- نتایج آزمایشات میکروبی

#### ۱-۳-۶- نتایج باکتری‌های هوازی مزوفیل (TVC)

تغییرات تعداد باکتری‌های هوازی مزوفیل در تیمارها در مدت نگهداری در یخچال در شکل ۶ نشان داده شده است.

TBA در گوشت ماهی به  $2-1 \text{ mg MDA/kg}$  می‌رسد باعث ایجاد بوی نامطبوع در ماهی می‌شود. در مطالعه حاضر، مقادیر این شاخص در همه نمونه‌ها از حد قابل قبول پیشنهادی در طول دوره نگهداری کمتر بود. میزان اولیه TBA  $0.001 \pm 0.034$  بود که با نتایج Fan و همکاران (۲۰۰۹) سازگار بود [۲]. افزایش میزان TBA در تیمارها در طول دوره را می‌توان به اکسیداسیون لیپید و تولید متابولیت‌های فرار در حضور اکسیژن مربوط دانست [۲۰]. مقادیر TBA در تیمار شاهد در روز ۱۶ با تفاوت معنی‌دار در سطح بالاتری نسبت به تیمار ماهی با پوشش کازئینات سدیم بود، که می‌تواند تأییدی بر تأثیر پوشش کازئینات سدیم در ممانعت از اکسیداسیون چربی در گوشت قزل‌آلا باشد. این یافته‌ها، با نتایج تحقیق Caprileo و همکاران (۲۰۱۰) مبنی بر کاهش TBARS در قطعات ۱۵ گرمی گوشت پخته بوقلمون بسته‌بندی‌شده با فیلم کازئینات سدیم در مقایسه با قطعات فاقد پوشش، سازگار بود [۲۳].

**اسیدهای چرب آزاد:** گلیسریدها، گلیکولیپیدها و فسفولیپیدها توسط آنزیم‌های لیپاز هیدرولیز شده و به اسیدهای چرب آزاد تبدیل می‌شوند که در ادامه روند اکسیداسیون چربی به آلدئیدها و کتون‌ها تبدیل می‌شوند [۲۴]. هیدرولیز چربی به تنهایی منجر به کاهش کیفیت، طعم و بوی نامطلوب در محصول نمی‌شود اما FFA به طور مستقیم اثر منفی بر طعم گوشت ماهی دارد و اکسیداسیون چربی را تشدید می‌کند [۲۵]. با توجه به نتایج (شکل ۳) میزان اسیدهای چرب در طول دوره در هر دو تیمار روندی افزایشی داشته که با مطالعه رضایی و همکاران (۲۰۰۸)، مطابقت داشت [۲۶]، اما فقط در انتهای دوره، تیمار دارای پوشش با تفاوت معنی‌داری کمتر از شاهد بوده است.

**pH:** مقدار pH در ابتدای دوره در هر دو تیمار  $6.49 \pm 0.03$  بود که در میانه دوره کاهش و در انتهای دوره افزایش داشت که با نتایج اعتمادی و همکاران (۱۳۸۷) مطابقت داشت [۲۱]. کاهش مقدار pH می‌تواند در اثر تولید اسید لاکتیک ناشی از گلیکولیز در لاشه ماهی پس از مرگ [۲۷] و افزایش آن به دلیل تولید ترکیبات فرار ناشی از فعالیت باکتری‌ها باشد [۲۸]. همانطور که در شکل ۴ دیده می‌شود تنها در روز ۱۶ بین دو تیمار اختلاف معنی‌دار بوده است. شایان ذکر است که pH بیشتر از ۷ نشان-

تعداد باکتری‌های کل در ابتدای دوره در هر دو تیمار  $2/81 \pm 0/03$  بود که در طول دوره افزایش یافت. با توجه به شکل ۷، اثر زمان بر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود ( $P < 0/05$ )، اما اختلاف بین دو تیمار تنها در روز ۱۶ معنی‌دار بوده و با اینکه در سایر روزها بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، تیمار ماهی دارای پوشش در سطح پایین‌تری از شاهد قرار داشت.

## ۷- بحث

**پراکسید (PV):** از شاخص پراکسید به منظور اندازه‌گیری هیدرو پراکسیدها که محصول اولیه اکسیداسیون چربی و اسیدهای چرب چند غیر اشباعی (PUFA) هستند استفاده می‌شود [۱۹]. از آنجا که پراکسیدها ترکیباتی بدون طعم و بو هستند، نمی‌توانند به وسیله مصرف‌کنندگان تشخیص داده شوند اما این ترکیبات باعث به وجود آمدن ترکیبات ثانویه مانند آلدئیدها و کتون‌ها می‌شوند که سبب تندشدن اکسیداسیونی می‌شود [۲۰]. میزان پراکسید در هر دو تیمار شاهد و ماهی دارای پوشش کازئینی روندی افزایشی داشت، اما این افزایش در تیمار شاهد شدت بیشتری داشت و در روز ۱۶ به بیشترین میزان خود ( $1/1 \pm 16/1$ ) رسید؛ سپس کاهش آن در روز ۲۰ دیده شد که ممکن است به دلیل واکنش‌های ثانویه اکسیداسیون و تجزیه پراکسیدها به ترکیبات ثانویه و تولید کربونیل‌ها و ترکیبات فرار باشد [۲۱]. بین مقادیر پراکسید در مدت زمان نگهداری در دو تیمار اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/05$ ) که می‌تواند دلیلی بر ممانعت از عبور اکسیژن توسط پوشش کازئینی باشد، این نتایج با نتایج Atares و همکاران (۲۰۱۰) مبنی بر مشابهت مقدار PV در نمونه روغن پوشانده‌شده با فویل آلومینیومی و روغن پوشانده‌شده با فیلم کازئینات سدیم در تأخیر فساد اکسیداسیونی روغن نسبت به روغن فاقد محافظ، سازگار بود [۱۰].

**تیو باریتوریک اسید (TBA):** شاخصی برای اکسیداسیون چربی می‌باشد که محصولات ثانویه اکسیداسیون به ویژه آلدئیدها را نشان می‌دهد که از شکست هیدرو پراکسیدها ایجاد می‌شوند. Lakshanan (۲۰۰۰) محدوده ۱-۲ میلی گرم مالون دی آلدئید برکیلوگرم چربی را به عنوان حد قابل قبول مقادیر تیوباریتوریک اسید در ماهیان معرفی کرد [۲۲]. زمانیکه مقدار

کمتر از شاهد بوده است که می‌تواند نشان دهنده تأثیر پوشش کازئینی در ممانعت از عبور آلودگی باشد.

## ۸- نتیجه‌گیری

هدف از بسته‌بندی غذا حفظ کیفیت و سلامت غذا از زمان تولید تا زمان استفاده توسط مصرف‌کننده است. عملکرد مهم دیگر بسته‌بندی، حفاظت از محصول در برابر صدمات فیزیکی، شیمیایی یا بیولوژیکی است [۳۲]. نتایج این مطالعه نشان داد که پوشش کازئینات سدیم در تأخیر فساد اکسیداسیونی نقش دارد که نشان دهنده اثر ممانعتی این پوشش در مقابل نفوذ هوا و فساد اکسیداسیونی و قابلیت استفاده از آن در صنایع بسته‌بندی سازگار با طبیعت می‌باشد، اگرچه فاقد اثر ضد میکروبی گزارش شده است اما در این تحقیق تا حدودی توانسته از عبور آلودگی جلوگیری کند؛ لذا انجام مطالعات در زمینه به‌کارگیری مواد ضد میکروبی و نگهدارنده‌های طبیعی، می‌تواند در جهت ارتقاء کیفیت و اثر نگهدارندگی پوشش کازئینات سدیم سودمند باشد.

## ۹- سپاسگزاری

از جناب دکتر حسین رحمانی به جهت راهنمایی‌های ارزنده‌شان در زمینه تجزیه و تحلیل آماری تشکر و قدردانی می‌گردد.

## ۱۰- منابع

- [1] Cagri A, Ustunol Z, Ryser ET, Antimicrobial edible films and coatings, Food Prot 2004, 67(4): 833-48.
- [2] Fan w, Sun J, Chen Y, Qiu J, Zhang, Y, Chi Y, Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage, Food Chemistry 2009, 115: 66-70.
- [3] Sathivel S, Liu Q, Huang J, Prinyawiwatkul W, The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage, Journal of Food Engineering 2007, 83: 366-373.
- [4] Borumand A. Research on antimicrobial production of casein films [dissertation]. Tehran University, Dep of Biosystems, 2008 [in Persian]

دهنده فساد است [۲۷] که در این تحقیق تا روز ۱۶ در هر دو تیمار کمتر از این حد بود اما در روز ۲۰ به این حد رسید.

**بازهای ازته فرار (TVB\_N):** مجموع بازهای نیتروژنی فرار یک اصطلاح عمومی است که شامل تری‌متیل‌آمین، دی‌متیل‌آمین، آمونیاک و دیگر بازهای نیتروژنی که با فساد غذاهای دریایی در اثر فعالیت باکتری‌ها همراه است، میگردد [۲۹]. ایجاد این ماده سبب ایجاد بوی نامطبوع فساد می‌گردد و قابلیت پذیرش توسط مصرف‌کننده را کاهش می‌دهد. Gimenez و همکاران (۲۰۰۲)، بالاترین حد قابل قبول را برای گوشت  $mg N/100 g$  ۲۵ عنوان کردند [۳۰]. مقادیر بازهای ازته در این مطالعه، به تدریج افزایش یافت که با نتایج ذوالفقاری و همکاران (۱۳۹۰) مطابقت داشت [۲۹] و تا روز ۱۲ در هر دو تیمار کمتر از حد مجاز بود، اما از روز ۱۶ به بعد در هر دو تیمار به مقدار بالاتر از حد مجاز پیشنهادی رسید.

**باکتری‌های هوازی مزوفیل (TVC):** فساد مواد غذایی عمدتاً ناشی از رشد میکروب‌ها است. میزان اولیه بار میکروبی در هر دو تیمار  $۰/۰۲ \pm ۲/۹۲$  بود که نشان‌دهنده کیفیت بالای ماهی تهیه‌شده، بود [۲۰]. در نمونه دارای پوشش تا روز ۱۶ تعداد باکتری‌ها کمتر از بیشترین حد مجاز باکتری در ماهی خام یعنی ۷ بود [۱۷]؛ در حالیکه در نمونه شاهد در روز ۱۲ به بالای این حد یعنی  $۷/۲۱ \pm ۱/۱$  رسید. نتایج این بررسی با نتایج Fan و همکاران (۲۰۰۹) در زمینه بار باکتریایی فیله کپور نقره‌ای، ذوالفقاری و همکاران (۱۳۹۰) و اجاق و همکاران (۲۰۱۰) در مورد بار باکتریایی در فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان، مطابقت داشت [۲، ۲۹، ۳۱]. سطح پایین‌تر بار میکروبی در تیمار ماهی دارای پوشش نشان می‌دهد که پوشش کازئینی تا حدی توانسته به عنوان مانعی در برابر آلودگی میکروبی عمل کند.

**باکتری‌های سرماگرا (PTC):** بار باکتریایی مجاز برای باکتری‌های سرماگرای هوازی  $۷ \log cfu/g$  گزارش شده است [۲۰]. در هر دو تیمار بعد از روز ۸ تعداد باکتری‌ها به بالاتر از حد مجاز رسید که می‌تواند تأییدی بر عدم وجود خاصیت ضد میکروبی در پوشش کازئینات سدیم باشد.

اختلاف بین دو تیمار تنها در روز ۱۶ معنی دار بوده و لی در تمام دوره سطح بار میکروبی در تیمار ماهی دارای پوشش کازئینی



- [17] Ibrahim Sallam K, Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate, and sodium citrate in refrigerated sliced salmon, *Food Control* 2007, 18: 566–575.
- [18] Zar JH, *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall International Inc 1999, 660 pp. Department Aberdeen, UK.
- [19] Olafsdottir G, Martinsdottir E, Oehlenschlager J, Dalgaard P, Jensen B, Undeland I, Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trend Food Sci & Techn* 1997, 8: 258–265
- [20] Hamzeh A, Rezaei M, Antioxidant and antibacterial effects of sodium alginate coating enriched with thyme essential oil on rainbow trout fillets during refrigerated storage, *Iranian Journal of Food Science* 2011, 3(6): 11-20.
- [21] Etemadi H, Rezai M, Abedian AA, Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on shelf life extension of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *JFST* 2008; 4(5):67-77 [in Persian]
- [22] Lakshmanan PT, Fish spoilage and quality assessment. In T. S. G. Iyer, M. K. Kandoran, Mary Thomas, & P. T. Mathew (Eds.), *Quality assurance in seafood processing* 2000, pp. 26–40. Cochin: Society Fisher Techno (India).
- [23] Caprioli MO, Sullivan FJ, Monahan, Interference of Sodium Caseinate in the TBARS Assay, *Food Chemistry* 2010, doi: 10.1016.
- [24] Hamilton RJ, Kalu C, Prisk E, Padley FB, Pierce H, Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chem*, 1997, 60(2): 193–199.
- [25] Aubourg S, Fluorescence study of the prooxidant activity of free fatty acids on marine lipids. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2001, 81, 385–390.
- [26] Rezaei M, Hosseini SF, Ershad Langrudi H, Safari R, Hossein SV. Effect of delayed icing on quality changes of iced rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Food Chem* 2008; 106: 1161-1165.
- [27] Rostamzad H, Shabanpoor B, Shabani A, Kashani Nejad M, Vacuum packaging and its effect on lipid oxidative and hydrolytic spoiling indices in frozen Persian sturgeon fillets during 6 month storage at -18, *Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi)* 2009; 83:29-34 [in Persian]
- [5] Cutter CN, Sumner SS, Application of edible coatings on muscle foods. In A. Gennadios (Ed.), *Protein-based films and coatings*, Boca Raton, FL: CRC Press 2002, pp. 467–484.
- [6] Guilbert s, Gonard N, Gorris LGM, Prolongation of the shelf-life of perishable food product using biodegradable film and coating. *LWT* 1996, 29:10-17.
- [7] Buo noeore GG, Del Nobile MA, Dimartino C, Gambacorta G, La Nott E, Nicoluis L, Modeling the water transport properties of casein-based edible coating, *Journal of Food Engineering* 2002, 60: 99-106.
- [8] Chen H, Functional properties and applications of edible films made of milk proteins, *Dairy Sci* 1995, 78: 2563-2585.
- [9] Khwaldia K, Banon S, Perez C, Desobry S, Properties of sodium caseinate film forming dispersions and films, *Dairy Sci* 2004,87: 2011-1016.
- [10] Atarés L, Bonilla J, Chiralt A, Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils, *Journal of Food Engineering* 2010, 100 : 678-687.
- [11] Schou M, Longares A, Montesions-Herrero C, Monahan FJ, Oriordan DI, Osullivan M, Properties of edible sodium caseinate film and their application food wrapping. *LWT* 2004, 38:605-610.
- [12] Chen H, Formation and properties of casein film and coating, ch7. In: *Protein based edible film and coating*, CRC Press 2002.
- [13] Egan H, Kirk RS, Sawyer R, Pearson's chemical analysis of food, 9th Edition Longman Scientific and Technica 1997, pp: 609-634.
- [14] Namulema A, Muyonga JH, Kaaya AN, Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at -13 and -27°C, *Food Research International* 1999, 32: 151-156.
- [15] Hernández MD, López MB, Álvarez A, Ferrandini E, García García B, Garrido MD, Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage, *Food Chemistry* 2009, 114: 237–245.
- [16] Goulas AE, Kontominas MG, Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry* 2005, 93: 511–520.

- [30] Gimenez B, Roncales P, Beltran JA, Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout, *Journal of Science & Food Agricultural* 2002, 84: 1154–1159.
- [31] Ojagh SM, Rezaei M, Razavi SH, Hosseini SMH, Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout, *Food Chemistry* 2010, 120: 193-198.
- [32] Dallyn H, Shorten D, Hygiene aspects of packaging in the food industry, *International Biodeterioration* 1998, 24: 392–3876.
- [28] Ruiz-Capillas C, Moral A, Residual effect of CO<sub>2</sub> on hake (*Merluccius merluccius* L.) stored in modified and controlled atmospheres. *European Food Research and Technology* 2001, 212: 413–420.
- [29] Zolfaghari M, Shabanpoor B, Falahzadeh S, Study of trend of chemical and microbial changes of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to determine the its optimum shelf-life during storage in Refrigerator temperature (4°C), *Journal of Natural Environmental, Iranian Journal of Natural Resources* 2011, 2(64):107-119 [in Persian]

## Effects of Sodium Caseinate edible coating on quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during storage in refrigerator temperature

Zargar, M. <sup>1</sup>, Yeganeh, S. <sup>2\*</sup>, Razavi, S. H. <sup>3</sup>, Ojagh, S. M. <sup>4</sup>

1. MA Student in Dept. of Fisheries ,Sari Agricultural Sciences & Natural Resources University, Sari, Iran
  2. Assistant prof, Dept. of Fisheries ,Sari Agricultural Sciences & Natural Resources University, Sari, Iran
  3. Dept. of Food Science and Engineering, Collage of Agriculture, University of Tehran, Iran
  4. Assistant prof, Dept. of Fisheries, Agriculture & Natural Resources University, Gorgan, Iran
- (Received: 89/7/12 Accepted: 90/9/20)

Edible films as natural, environmentally- friendly and renewable products, can be an appropriate alternative for petroleum-based packaging materials that are common today. In this study, the effects of Sodium Caseinate (SC) edible coating on quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during refrigerated storage ( $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) were investigated.

Fish samples were treated with 8% Sodium Caseinate solution and stored in refrigerator for 20 days after drying the coating solution. The control and the coated fish samples were analyzed periodically each 4 days of storage time (0, 4, 8, 12, 16, 20 days) for chemical (PV, TBA, FFA, pH, TVB-N) and microbiological (total viable count and scycrophilic count) characteristics.

The sodium caseinate coating reduced peroxide values ( $16.1\pm 0.1$  and  $7.1\pm 0.01$  in control and SC, respectively) and during last days of storage, reduced bacterial count significantly ( $9.1\pm 1$  and  $7.7\pm 0.07$  in control and SC, respectively) ( $P<0.05$ ) in rainbow trout samples during the refrigerated storage.

**Key words:** Edible film, Sodium Caseinate, shelf life, Rainbow trout

---

\*Corresponding Author E-Mail Address: skyeganeh@gmail.com