**دانشکده منابع طبیعی**

**گروه شیلات**

**پروژه کارشناسی**

"اثر نانو امولسیون بر پایه روغن زیتون بر کیفیت و ماندگاری ماهی قزل آلا طی دوره نگهداری در شرایط سرد (oncorhynchus mykiss)"

**استاد راهنما: دکتر سید ولی حسینی**

**دانشجو:پیمان عسکری**

 **سال تحصیلی:98\_99**



**مقدمه:**

ماهی یک ماده غذایی بسیار قابل فساد در مقایسه با سایر کالاهای تازه است و افزایش نیاز مصرف کنندگان برای محصولات تازه و ایمن با ماندگاری بیشتر ، ضرورت بهبود روش های حفظ ماهی برای ماهی های تازه را ضروری کرده است. (mulla et all، 2014).

قزل آلای رنگین کمان (Oncorhynchus mykiss) متعلق به خانواده سالمونیدا است. تقاضا برای قزل آلای رنگین کمان طی یک دهه گذشته به میزان قابل توجهی افزایش یافته است و این می تواند به دلیل ویژگی های مطلوب آن باشد. میزان تولید آبزی پروری جهانی قزل آلای رنگین کمان O.mykiss در سال 2010 تقریبا 750.000 تن گزارش شده است.(FAO. 2011)

تازگی یکی از مهمترین جنبه های ماهی است و به دلیل ترجیحات مصرف کننده ، تمایل زیادی برای انتخاب ماهی های بسیار تازه وجود دارد (کانل ، 2001 ؛ Sveinsdóttir ، Martinsdóttir ، Hyldig ، Jørgensen ، و Kristbergsson ، 2002).

فاسد شدن ماهی تازه به دلیل عمل باکتریایی و آنزیمی در هنگام فساد است. محصولات ماهی سالهاست که از طریق گونه های تازه و از طریق طیف گسترده ای از فرآیندهای تکنولوژیکی از گونه های تازه به دست می آیند. برای حفظ خصوصیات اصلی گونه های ماهی ، دو استراتژی اساسی تا حد زیادی در کشورهایی که فناوری توسعه یافته در آن وجود دارد ، یعنی ذخیره سرمازدگی و یخ زدگی به کار گرفته شده اند. (Torrieri، Cavella، Villani، & Masi، 2006)

با توجه به تقاضا برای غذاهای تازه با ماندگاری طولانی مدت ، تحقیقات قابل توجهی جهت تمدید عمر مفید این غذاها انجام شده است (Mascheroni، 2012، Sallam، 2007، Kashiri et al.، 2010).

ماهی قزل آلا رنگین کمان به طور معمول روی یخ ذخیره می شود و منتقل می شود (رضایی و حسینی ، 2008) ، اما در مدت زمان بسیار کوتاهی از بین می رود ، و طول عمر مفید آن را مهم می کند (Kilinc، Cakli، Dincer، & Tolasa، 2009). متوسط ​​پروتئین و چربی به ترتیب در قزل آلای رنگین کمان به ترتیب 19.6 و 4.43 بود (Celik et al.، 2008).

روغنهای اساسی مایعات روغنی معطر هستند که از مواد گیاهی (گل ها ، جوانه ها ، دانه ها ، برگها ، پوست ، گیاهان ، چوب ، میوه و ریشه) به دست می آیند. مدتهاست که به رسمیت شناخته شده است که برخی از روغنهای اساسی دارای خاصیت ضد میکروبی ، ضد ویروسی ، آنتی بیوتیکی و آنتی اکسیدانی هستند (برت ، 2004).

به تازگی ، فناوری نانو مواد غذایی ، زیر مجموعه ویژه ای از فناوری نانو ، در بین پردازنده های مواد غذایی و مصرف کنندگان جذابیت پیدا می کند. در فناوری نانو مواد غذایی از نانوذرات برای انتقال رنگ ، طعم و خاصیت ضد میکروبی استفاده می شود و در فرآیندهای مختلفی از قبیل ذخیره سازی ، شناسایی پاتوژن ، بسته بندی هوشمند و سایر موارد به کار می رود. در بین این نانوذرات ، از نانو امولسیونها به عنوان سیستم تحویل لیپیدهای فعال زیستی ، داروها ، طعم دهنده ها ، آنتی اکسیدان ها و مواد ضد میکروبی استفاده می شود. علاوه بر این ، این ترکیبات خفیف ، ایمن بوده و بر سلولهای یوکاریوتی موجود در بافت تأثیر نمی گذارد (جو و همکاران ، 2012).

با توجه به افزایش مصرف روز افزون محصولات آبزی مثل ماهی قزل آلا و قابلیت فساد زود هنگام این محصول مصرف کنندگان دنبال افزایش مدت نگهداری، بدون کاهش کیفیت این محصول با یک نگهدارنده ی طبیعی و خوراکی هستند با توجه به این که نانوامولسیون روغن زیتون تمام فاکتورهای بالا را به عنوان یک پوشش­دهنده­ی ماده غذایی خواهد داشت لذا این تحقیق برای بدست آوردن نتیجه علمی برای حفظ ماده غذایی با این نانوامولسیون که می­تواند در آینده باب جدیدی در این موضوع را برای محققان باز نماید؛ خواهد بود.

**مواد و روش ها:**

**امولسیون**

فاز روغن در امولسیون تشکیل خواهد شد از: روغن زیتون 14درصد، اتانول3درصد، سورفاکتانت حدود 3 درصد از امولسیون را تشکیل خواهند داد واین حدودا 20درصد امولسیون خواهد بود. اجزای این فاز روغنی باهم مخلوط خواهند شد و سپس دردمای 86 درجه سانتی­گراد به مدت 1 ساعت نگهداری می­شوند سپس با آب که 80 درصد بقیه امولسیون است مخلوط می­شود این مخلوط بوسیله هموژنایزر التراسونیک به مدت 15 دقیقه با دامنه amplitude72 همگن خواهدشد. قدرت هموژنایزر W 500 خواهد بود وفرکانس انتشار التراسوند 20کیلوهرتز خواهد بود. اندازه­ی سانترود 6/5 میلی­متر و ارتفاع 60 میلی­متر خواهد بود در طول همگن شدن دمای امولسیون حدود 15 درجه­سانتی­گراد کنترل می­شود. اتانول به عنوان یک کوسورفاکتانت در نانوامولسیون خواهد بود. کوسورفاکتانت­هایی که در نانو امولسیون استفاده خواهد شد شامل ترانسکوتول پی /پروپانول/ اتانول /اتیلن گلیکول /گلیسیرین /کاربیتول peg400 / ان بوتانول/ ایزوپروپیل پروپیلن/ گلیکول و الکل می­باشد که برای بدست آوردن سیستم نانوامولسیون درغلظت پایین به عنوان سورفاکتانت استفاده خواهند شد. الکل به عنوان کوسورفاکتانت برای افزایش سیالیت اضافه می­شود و برای تحرک دم هیدروکربن و کاهش کشش سطحی خواهد بود و اجازه می­دهد روغن نفوذ بیشتری به این ناحیه داشته باشد. الکل­ها همچنین ممکن است مخلوط شدن فازهای آب و روغن که ناشی از پراکندگی این فازهاست را افزایش دهند.ماهی تهیه شده پس از جداسازی پوست و زوائد و تهیه فیله به 2 گروه تقسیم خواهند شد. یک گروه به عنوان نمونه شاهد خواهد بود و گروه دیگر نانوامولسیون می­شود و سپس با فیلم بسته­بندی خواهد شد. تمام نمونه­ها در یخچال (2±2) درجه سانتی­گراد نگهداری خواهد شد. داده­ها با استفاده از 3 تکرار از هر تیمار بدست خواهد امد از این تکرارها در فواصل 3 روزه برای انجام آنالیزجدا خواهیم کرد .(Yazgan *et al*., 2017)

**1- سنجش تيوبار بيتوريك اسيد (TBA)**

جهت سنج شاخص اسید تیوباربیتوریک ابتدا 2 گرم نمونه با 8 میلی‌لیتر اسید پرکلریدریک 4 درصد هموژن خواهدگردید. سپس نمونه‌های هموژن به مدت 30 دقیقه در کابین تاریک قرار داده خواهند شدند. پس از طی زمان مذکور نمونه‌ها از کابین خارج و با استفاده از سانترفیوژ صاف می شوند. سپس 5 میلی‌لیتر از محلول صاف شده و 5 میلی‌لیتر از محلول 02/0 درصد معرف اسید تیوباربیتوریک به لوله‌های آزمایش درب‌دار منتقل شده و به مدت 30 دقیقه در حمام آبی 95 درجه سانتی‌گراد قرار داده خواهد شد. پس از 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 530 نانومتر در مقابل شاهد خوانده شده و میزان میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدئید در کیلوگرم نمونه گزارش خواهد شد (Chatzikyriakidou and Katsanidis, 2012).

**2- اندازه گیري ظرفیت نگهداري آب (WHC)**

 جهت محاسبه ظرفیت نگهداری آب، مقدار یک گرم نمونه روی دوتکه کاغذ قرار گرفته و با استفاده از یک وزنه دو کیلوگرمی به مدت 5 دقیقه تحت فشار قرار داده شد. سپس میزان آب تراوش شده نمونه ها با استفاده از رابطه 2-1 تعیین گردید. سپس ظرفیت نگهداری آب نمونه­ها با استفاده از رابطه2-2 محاسبه شد (Hertoget et al.,1997) .

 وزن اولیه کاغذ صافی – وزن ثانویه کاغذ صافی = میزان تراوش

رطوبت اولیه نمونه=[وزن گوشت تر)- وزن گوشت تر/ (وزن گوشت خشک]×100

WHC= 1- میزان آب تراوش شده/ رطوبت اولیه نمونه ×100

**3- سنجش مجموع بازهاي فرار نيتروژني** **TVB-N))**

جهت اندازه‌گیری TVB-N حدود 2 گرم نمونه با 8 میلی‌لیتر محلول TCA 4 درصد مخلوط و به خوبی هموژن خواهد گردید. سپس محلول هموژن بدست آمده به مدت 30 دقیقه با سرعت rpm 4000 سانتریفیوژ خواهد شد. پس از آن مقدار 2 میلی‌لیتر از محلول فوقانی جدا و به همراه 2 میلی لیتر محلول کربنات پتاسیم فوق اشباع در لایه خارجی ظرف مخصوص تست TVB-N و 2 میلی‌لیتر 1درصد به همراه چند قطره معرف (معرف متیل رد و بروموکروزول) در لایه داخلی آن ریخته خواهد شد و پس از بستن درب، ظرف حاوی نمونه به مدت 3 ساعت بر روی دستگاه شیکر (در دمای محیط) قرار خواهد گرفت. پس از طی زمان مذکور محلول موجود در لایه داخلی ظرف با استفاده از اسید کلریدریک 01/0 نرمال تیتر خواهد گردید. عمل تیتراسیون تا زمان رویت تغییر رنگ محلول مذکور از سبز به صورتی ادامه خواهد یافت. سپس مقدار ترکیبات نیتروژنی فرار نمونه با استفاده از فرمول زیر محاسبه خواهد شد (Rawdkuen *et al.*, 2010):

**4-آنالیز رنگ**

برای آنالیز رنگ، از دستگاه Color Analyzerاستفاده خواهد شد. بدین ترتیب که نمونه­های نانو امولسیون شده و شاهد پس از هر نمونه برداری، با این دستگاه مورد آنالیز قرار می­گیرند و مقادیر L\*وa\* وb\* با نمونه شاهد مقایسه خواهد شد

**5- آنالیز آماری**

برای تجزیه و تحلیل آماری نتایج از نرم افزار spss استفاده گردید. با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه ( ANOWA-ONE Way) به وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار و با استفاده از آزمون دانکن به مقایسه بین میانگین ها پرداختیم. سپس رسم نمودار­ها با استفاده از نرم افزار تحت ویندوز Excell صورت گرفت.

**نتایج و بحث:**

**اندازه گیری میزان تیوباربیتوریک اسید ( TBA )**

**طبق اندازه گیری میزان تیوباربیتوریک اسید نمونه تیمار و شاهد، هر دو از زیر0.01 میلی گرم مالون دی آلدهید در روز صفر شروع و به بالای 1 میلی گرم رسیدند که همواره مقدار تیمار کمتر بوده است.**

**اندازه گیری مجموع ترکیبات ازته فرار( TVB-N )**

میزان مجموع ترکیبات ازته فرار اندازه گیری شد که بر اساس آن تیمار از 1 میلی گرم شروع و به 5 میلی گرم رسید و همچنین شاهد از 1 میلی گرم شروع و به 7 میلی گرم دست یافت. طبق این برآورد مجموعه ترکیبات ازته فرار شاهد از ابتدا با سیل صعودی تری نسبت به تیمار داشته است.

**ارزیابی ظرفیت نگهداری آب ( WHC)**

همانطور که مشاهده شد ظرفیت نگهداری آب تیمار و شاهد که از روز صفر که 50% بود به مرور در روز دوازده به زیر 30% رسید و این روند نزولی ظرفیت نگهداری آب نشان میدهد که تفاوت معنی داری بین تیمار و شاهد نبوده است.

**رنگ سنجی:شاخصL**

طی فرایند آزمایش از روز صفر تا دوازده شاخص رنگL بین سی تا شصت نوسان داشته و بین تیمار و شاهد اختلاف معنی داری نبوده است.

**رنگ سنجی:شاخص a**

طی فرایند آزمایش از روز صفر تا دوازده شاخص رنگa در روز صفر تیمار و شاهد 16 بوده است ولی تا روز چهار روند نزولی زیاد تا بین 6 و 8 داشته است و تا روز دوازده به 10 رسیده است.

**رنگ سنجی:شاخص b**

طی فرایند آزمایش از روز صفر تا دوازده شاخص رنگb از روز صفر تا روز دوازده روند تقریبا بین 20 تا 25 تقریبا ثابت بوده است.

**نتیجه گری و پیشنهادات:**

در این آزمایش که نمونه فیله ماهی (oncorhynchus mykiss) در روغن زیتون نانو امولسیون شد در دوازده روز؛ در شاخص های اندازه گیری شده همواره نمونه تیمار نسبت به شاهد نتایج بهتری داشته و از روند فساد آهسته تری برخوردار بوده است لذا استفاده از این روش میتواند برای ماندگاری بهتر این محصول نتایج و توجیهات اقتصادی بهتری داشته باشد.

منابع:

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.

Fisheries, F. A. O. (2010). Aquaculture Department. *The state of world fisheries and aquaculture*, 197.

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 & technology*, *44*(8), 1467-1479.

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.