

تولید بیوپلیمر ژلاتین/پکتین حاوی نانومولسیون آنتوسیانین استخراج شده از پوست پسته  
برای افزایش زمان ماندگاری میگو پا سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*)  
علیرضا طاهری-یگانه<sup>۱</sup>، حامد اهری<sup>۲</sup>، زهره مشاک<sup>۳</sup>، مهدی جعفری<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- نویسنده مسئول: استاد گروه علوم و صنایع غذایی و عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران. پست الکترونیکی: Dr.h.ahari@gmail.com

۳- دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، دانشکده دامپزشکی، کرج، ایران

۴- استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۱

## چکیده

**سابقه و هدف:** نسل جدیدی از مواد بسته بندی سازگار با محیط زیست برای بهبود کیفیت، ایمنی، ارزش غذایی، ماندگاری و پایداری مواد غذایی مورد نیاز است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر بیوپلیمر تولید شده بر پایه ژلاتین/پکتین حاوی نانومولسیون آنتوسیانین استخراج شده از پوست پسته، جهت افزایش ماندگاری میگو در دوره نگهداری است.

**مواد و روش‌ها:** پس از استخراج آنتوسیانین پوست پسته با روش فراصوت و تهیه نانومولسیون آنتوسیانین، فیلم نانوکامپوزیتی حاوی ۱٪ آنتوسیانین و مقادیر متفاوت ژلاتین/پکتین تهیه شد و سپس فیلم‌های بسته‌بندی برای پوشش روی نمونه‌های میگو استفاده شد و آزمون‌های شیمیایی، میکروبی، رنگی و حسی نمونه‌های میگوی پا سفید غربی در روزهای ۰، ۳، ۷ و ۱۴ و دماهای ۴ و ۲۰°C مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** بالاترین میزان pH، TVB-N و TBA و جمعیت باکتری‌های مزوفیل، سایکروتروف و انتروباکتریاسه متعلق به نمونه شاهد و پایین‌ترین میزان آن متعلق به فیلم نانوکامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته بود. بالاترین میزان مؤلفه رنگی L\* در نمونه میگوی پوشش دهی شده با فیلم ژلاتین و پایین‌ترین میزان آن در نمونه میگوی پوشش‌دهی شده با فیلم نانوکامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته بود. همچنین پایین‌ترین میزان مؤلفه‌های رنگی a\* و b\* در نمونه میگوی پوشش‌دهی شده با فیلم ژلاتین و بالاترین میزان آن در نمونه میگوی پوشش‌دهی شده با فیلم نانوکامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته دیده شد.

**نتیجه‌گیری:** فیلم نانوکامپوزیت بر پایه ژلاتین/پکتین حاوی نانومولسیون آنتوسیانین پوست پسته می‌تواند به عنوان بسته بندی هوشمند و فعال برای بررسی تازگی/فساد میگو و افزایش مدت زمان ماندگاری آن استفاده شود.

**واژگان کلیدی:** آنتوسیانین، نانومولسیون، نانوکامپوزیت، میگو، پوست پسته

## پیام‌های اصلی

- در این پژوهش فیلم بسته بندی فعال برپایه بیوپلیمرهای ژلاتین/پکتین حاوی نانومولسیون آنتوسیانین تولید شد.
- فیلم بسته بندی فعال اثرات ضد میکروبی خوبی بر علیه باکتری‌های مزوفیل، سایکروتروف‌ها و انتروباکتریاسه نشان داد.
- فیلم بسته بندی فعال با کاهش تشکیل میزان TVB-N، TBA و pH باعث افزایش ماندگاری نمونه های میگو شد.
- پیشنهاد می شود فیلم نانوکامپوزیت تولید شده می تواند به عنوان بسته بندی هوشمند و فعال برای پایش تازگی/فساد میگو و افزایش مدت زمان ماندگاری آن استفاده شود.

## ● مقدمه

آبزیان و فراورده‌های دریایی به دلیل برخورداری از پروتئین با ارزش بیولوژیکی بالا و همچنین وجود اسیدهای چرب امگا-۳ که مصرف مداوم آن باعث کاهش میزان چربی و کلسترول خون می‌شود، اهمیت بسزایی در تغذیه مردم جهان دارند (۱، ۲). در میان مواد غذایی دریایی، میگو یکی از بیشترین تقاضاها در تجارت جهانی را دارا بوده با این وجود، میگو نسبت به فساد و تغییرات بیوشیمیایی، میکروبیولوژی یا فیزیکی پس از صید بسیار آسیب‌پذیر می‌باشد که منجر به زمان ماندگاری محدود محصول می‌شود (۳). به منظور جلوگیری از فساد بیوشیمیایی، میکروبی یا فیزیکی در میگو روش‌های متداولی مثل سرد کردن، انجماد و ایجاد یک لایه آب منجمد بر روی سطح میگو اغلب مورد استفاده قرار می‌گیرد. علاوه بر این روش‌ها، تکنیک‌های جدیدی در مطالعات اخیر مثل اشعه‌دهی، اتمسفر اصلاح شده یا نانوذرات و اسانس‌ها/عصاره‌های طبیعی و یا ترکیب فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی با عصاره مواد گیاهی مختلف که حاوی ترکیبات زیست فعال مختلف هستند، نیز استفاده شده است (۴، ۵).

در سال‌های اخیر توجه زیادی به تولید فیلم‌های زیست تخریب پذیر و کاربردهای صنعتی آنها شده است. فیلم‌های خوراکی لایه‌ای نازک از مواد هستند که بر سطح ماده غذایی قرار می‌گیرند و در برابر انتقال رطوبت، اکسیژن و مواد حل شده در آن ماده غذایی سدی ایجاد می‌کنند. این فیلم‌ها سریعتر از مواد پلیمری تجزیه می‌شوند و مشکلات زیست محیطی به همراه ندارند (۶، ۷). بسته بندی براساس مواد سنتزی متداول، به علت زیست تخریب پذیر نبودن آنها، منجر به مشکلات جدی زیست محیطی شده است؛ از این رو در سال‌های اخیر علاقه زیادی در تولید مواد ترموپلاستیک از بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر، به ویژه آنهایی که از منابع تجدید پذیر مشتق شده‌اند، به وجود آمده است. در این زمینه، بیوپلیمرهایی مانند پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و صمغ‌ها را می‌توان یک منبع جایگزین برای توسعه مواد بسته‌بندی دانست (۸، ۹). پکتین و ژلاتین دو بیوپلیمر زیست تخریب پذیر می‌باشند که به صورت گسترده در تهیه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۹، ۱۰).

پکتین یک پلی ساکارید ساختاری دیواره سلولی گیاهان است و به عنوان یک ماکرومولکول با وزن مولکولی بالا شناخته می‌شود که می‌تواند به هیدروژل تبدیل شود و شبکه‌ای انعطاف پذیر از زنجیره‌های پلیمری را تشکیل دهد (۱۱). پکتین دارای ساختار پیچیده‌ای است که توسط هوموگالاکتورونان، رامنوگالاکتورونان I،

رامنوگالاکتورونان II و زایلوگالاکتورونان تشکیل شده است. زیست سازگاری، توانایی تشکیل فیلم و غیرسمی بودن پکتین بیشترین توجه را در بین این پلیمرهای زیستی طبیعی به خود جلب کرده است (۱۲).

ژلاتین یک بیوپلیمر طبیعی است که از هیدرولیز کلاژن به دست می‌آید که به طور گسترده به عنوان یک ماده تشکیل دهنده فیلم در صنایع غذایی، مکمل‌ها و داروسازی استفاده می‌شود. محققان به ویژه به استفاده از ژلاتین برای این منظور علاقه مند هستند زیرا به مواد زائد صنعت فرآوری گوشت اجازه می‌دهد تا به یک ماده کاربردی با ارزش تبدیل شود و همچنین به دلیل ویژگی‌های کاربردی جدید آن در مواد بسته بندی زیست تخریب پذیر (۱۳).

آنتوسیانین‌ها مهم‌ترین گروه از رنگدانه‌های طبیعی بعد از کلروفیل هستند که غیرسمی و محلول در آب بوده و در سطح وسیعی در مایع سلول‌های گیاهی وجود دارند. این رنگدانه‌های فلاونوئیدی مسئول رنگ‌های قرمز، آبی و بنفش در بسیاری از میوه‌ها، سبزی‌ها و گل‌ها هستند (۱۴، ۱۵). به طور خاص، گزارش شده است که رنگدانه‌هایی که مسئول رنگ مغز پسته و همچنین بسیاری از سبزیجات و میوه‌ها هستند شامل سیانیدین-۳-گالاکتوزید عمده‌ترین آنتوسیانین موجود در پسته است که باعث ایجاد رنگ پوست در پسته می‌شود و فقط در پوست آن وجود دارد. باید به این نکته اشاره کرد که نه تنها دانه پسته، بلکه پوست آن حاوی مقادیر مجزایی از ترکیبات زیست فعال است (۱۶، ۱۷). از این این مطالعه با هدف تولید فیلم‌های بسته بندی هوشمند بر پایه ژلاتین/پکتین با تثبیت نانوامولسیون آنتوسیانین پوست پسته جهت افزایش مدت زمان ماندگاری میگو در دوره نگهداری انجام شد.

## ● مواد و روش‌ها

پکتین، ژلاتین، سدیم تری پلی فسفات، قرص رینگر، محیط کشت نوترینت آگار، محلول پپتون ۱٪، مولر هینتون براث، مولر هینتون آگار، MRS آگار، SPS آگار، تری کلرو استیک اسید، دی اتیل تری آمین پنتا استیک اسید، تیوباربتوریک اسید، پتاسیم پرسولفات، سدیم کربنات، آلومینیوم کلرید، سدیم هیدروکسید، گالیک اسید، مالون دی آلدهید از شرکت مرک (آلمان) خریداری شده بودند. نمونه های میگو و پوست پسته از بازار محلی خریداری شده بودند. کلیه مواد استفاده شده در مطالعه درجه آزمایشگاهی داشتند.

## سنتز فیلم هوشمند ضد میکروبی

ابتدا آنتوسیانین پوست پسته با کمک روش فراصوت و حلال (متانول خالص و کلریدریک اسید خالص به نسبت ۱:۹۹) استخراج و سپس نانوامولسیون آن تهیه شد. بدین صورت که ابتدا پکتین پودر شده به آرامی به آب فوق خالص در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انحلال کامل آن اضافه و برای اطمینان از هیدراتاسیون کامل بیوپلیمر یک شب در یخچال نگهداری شد. سپس محلول پکتین با آنتوسیانین با استفاده از میکسر آزمایشگاهی با سرعت ۹۶۰۰ rpm و به مدت ۲ دقیقه مخلوط شد که منجر به تشکیل امولسیون درشت شد. نانوامولسیون‌ها با عبور دادن امولسیون‌های درشت از یک میکروسیال‌ساز در ۱۵۰ MPa به مدت ۵ سیکل به دست آمد و در خروجی واحد میکروسیال‌سازی از طریق یک سیم پیچ خارجی غوطه‌ور در حمام آب با یخ خنک شد.

سپس برای سنتز فیلم کامپوزیت، پکتین و ژلاتین بطور جداگانه در آب مقطر (۰/۳ درصد (وزنی/حجمی)) حل شد. سپس گلیسرول به عنوان نرم کننده به محلول‌های ژلاتین و/یا پکتین در سطح ۱۵ درصد (بر اساس وزن خشک پروتئین و/یا پلی ساکارید) اضافه شد. محلول‌های تشکیل دهنده فیلم با استفاده از یک همزن مغناطیسی به آرامی در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه هم زده و سپس بلافاصله برای تهیه فیلم استفاده شدند. برای تهیه فیلم‌های کامپوزیتی، پکتین و ژلاتین در نسبت‌های متفاوت (وزنی/وزنی) با نانوامولسیون آنتوسیانین ترکیب و به آرامی همگن شدند. در تمام فرمولاسیون‌ها، ۲۵ میلی‌لیتر از هر محلول روی ظروف پتری (۶ × ۶ سانتی متر) ریخته شد. سپس در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی RH (Relative humidity) ۵۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت خشک شد.

## جمع آوری نمونه های میگو

میزان یک کیلوگرم میگوی پا سفید غربی یا وانامی (*Litopenaeus vannamei*) با میانگین وزنی هر میگو  $2 \pm 0.2$  گرمی و طول کارپاس  $1.1 \pm 0.7$  از مغازه‌های طرف قرارداد با شبلات ایران خریداری شد و به نسبت ۱ به ۲ (وزنی/وزنی) درون جعبه‌های یونولیتی حاوی یخ قرار گرفته و سریع به آزمایشگاه انتقال داده شدند. سپس نمونه های میگو در فیلم های بسته‌بندی سنتز شده به شرح زیر بسته بندی و دردمای یخچال نگهداری شدند و برای روزهای آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند: T1: میگوی پوشش دهی شده با فیلم ژلاتین، T2: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۹۹٪ ژلاتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته، T3: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۸۹٪ ژلاتین + ۱۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین

پوست پسته، T4: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته.

## آزمون های شیمیایی میگو

**اندازه گیری pH:** pH نمونه‌ها توسط pH متر اندازه‌گیری شد. ابتدا pH دستگاه با بافر استاندارد در ۳ و ۷ کالیبره (تنظیم) شد. ۵ گرم از نمونه با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر همگن شده و سپس در دمای محیط، pH نمونه‌ها تعیین شد.

**اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید (TBARS):** تغییرات تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌های میگو به صورت کالریمتریک (رنگ‌سنجی) انجام شد. حدود ۱۰ گرم از نمونه گوشت میگو وزن شده و با ۱ میلی‌لیتر از BHT (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و ۳۵ میلی‌لیتر از تری‌کلرواستیک اسید (۵٪) هموزن شدند. محلول هموزن به دست آمده به یک فلاسک انتقال داده شده و سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر از آب مقطر اضافه و تقطیر شد. بعد از جمع آوری ۵۰ میلی‌لیتر از تقطیر شده (عصاره)، محلول از طریق یک کاغذ صافی (واتمن شماره ۴۱) فیلتر شد. ۵ میلی‌لیتر از محلول فیلتر شده با ۵ میلی‌لیتر از محلول تیوباربیتوریک اسید (۰/۰۲ مولار) ترکیب و در حمام آب در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از سرد کردن محلول، جذب نمونه‌ها در ۵۳۲ نانومتر در برابر آب، به عنوان شاهد، اندازه‌گیری شد. مقدار تیوباربیتوریک اسید بر اساس اکی والان میلی گرم مالون دی آلدئید بر یک کیلوگرم نمونه بیان شد.

$$TBARS = \left( \frac{\text{وزن نمونه}}{882nm} \right) \times 9.24$$

**اندازه‌گیری نیتروژن بازی فرار کل (TVN):** ترکیبات نیتروژنی فرار از طریق تقطیر مستقیم میگو هموزن شده بعد از اضافه کردن منیزیم اکسید اندازه‌گیری شدند. تقطیر حاصل در یک فلاسک که دارای محلول آبی بوریک اسید ۲٪، مخلوطی از شناساگرهای متیل رد و بروموکراسول سبز (هر کدام ۰/۱٪) اتانول جمع آوری شد. سپس محلول بوریک اسید با سولفوریک اسید ۰/۱ نرمال تیترا شد. مقدار نیتروژن کل فرار (میلی گرم نیتروژن بر ۱۰۰ گرم میگو) بر اساس مصرف اسید سولفوریک محاسبه شد.

$$TVB - N \left( \frac{mg}{100g} \right) = \frac{14 \times 100 \times \text{غلظت اسید هیدروکلریک} \times \text{حجم اسید هیدروکلریک اضافه شده}}{10}$$

## آزمون های میکروبی میگو

**آماده سازی نمونه‌های میگو:** در یک ظرف پلاستیکی استریل، مقدار ۱۰ گرم از نمونه با ۹۰ میلی لیتر محلول رقیق کننده آب پپتون بافر استریل (۰/۱ درصد) ترکیب شدند و نمونه‌ها با مخلوط‌کن استومر با کیسه‌های استریل همگن

### تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به دست آمده در آزمایشات برای داده‌های تجربی (آزمایشی) به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار در سه تکرار بیان شدند. داده‌های آزمایشات با تجزیه و تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA One-way) مقایسه و تفاوت‌های معنی‌دار آماری بین مقادیر میانگین‌ها (در مواردی که اثر کلی تیمارها معنی‌دار بود) با استفاده از آزمون تعقیبی چند دامنه‌ای دانکن تعیین شد. نتایج آزمون‌های آماری به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام شد. سطح معنی‌داری  $P < 0.05$  برای مقایسه داده‌ها در نظر گرفته شد.

### • یافته‌ها

#### آزمون‌های میکروبی

تعداد کل باکتری‌های زنده مزوفیل: تأثیر نوع فیلم خوراکی و زمان نگهداری (۱۴ روز) نمونه‌های میگو بر شمارش کلی باکتری‌های زنده مزوفیل در دماهای مختلف ( $4^{\circ}\text{C}$  و  $20^{\circ}\text{C}$ ) در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که، در دماهای مورد بررسی در روز صفر، اختلاف معنی‌داری در میزان تعداد کل باکتری‌های زنده مزوفیل نمونه‌های میگو مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). بالاترین و پایین‌ترین جمعیت باکتری در روز پایان نگهداری به ترتیب، در نمونه شاهد  $8.92 \pm 0.02 \text{ Log CFU/g}$  و برای  $12.73 \pm 0.03 \text{ Log CFU/g}$  و  $4^{\circ}\text{C}$  برای  $20^{\circ}\text{C}$  و نمونه میگوی بسته‌بندی شده با فیلم نانوکامپوزیت  $7.9 \pm 0.1$  ژلاتین +  $2.0 \pm 0.1$  پکتین +  $1.0 \pm 0.1$  آنتوسیانین پوست پسته بود.

شدند. سپس با پیپت استریل ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اولیه به لوله حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول رقیق کننده ریخته و توسط ورتکس به مدت ۵ تا ۱۰ ثانیه مخلوط شد (رقت  $10^{-2}$ )؛ این عمل برای بدست آوردن رقت‌های متوالی بعدی تا رقت موردنظر انجام شد.

**آزمون‌های میکروبی میگو (باکتری‌های سایکروتروف، باکتری‌های مزوفیل و انتروباکتریاسه):** شمارش باکتری‌های سایکروتروف و باکتری‌های مزوفیل (شمارش کلی باکتریایی) با استفاده از محیط کشت نوترینت آگار انجام شد، به این صورت که پلیت‌های کشت سطحی شده برای شمارش‌های باکتری‌های مزوفیل در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲ روز و برای سایکروتروف‌ها در دمای  $10^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد برای مدت ۷ روز انکوباسیون (گرمخانه‌گذاری) شدند. باکتری‌های انتروباکتریاسه در محیط کشت VRBGA (Violet Red Bile Glucose Agar) پس از انکوباسیون در  $37^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت پلیت‌های بین  $30-300$  کلنی شمارش شدند و در نهایت نتایج به صورت cfu/g از نمونه‌ها بیان شد.

**آزمون حسی:** نمونه‌ها در هر دوره‌ی زمانی نمونه برداری شدند و توسط ۲۰ نفر ارزیاب نیمه آموزش دیده از لحاظ فاکتورهای حسی (بو، رنگ، بافت، پذیرش کلی) مطابق با طرح ۵ نقطه‌ای هدونیک ارزیابی گردیدند، لازم به ذکر است که به ترتیب نمرات ۵، ۴، ۳، ۲ و ۱ به عنوان حداکثر و حداقل نمره قابل قبول برای مصرف میگو در نظر گرفته شد.

جدول ۱. تأثیر فیلم نانوکامپوزیت و زمان نگهداری بر باکتری‌های مزوفیل هوازی نمونه‌های میگو

| تیمارها              | روز ۰                      | روز ۳                      | روز ۷                      | روز ۱۴                      |
|----------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| $4^{\circ}\text{C}$  |                            |                            |                            |                             |
| T1                   | $4.28 \pm 0.01 \text{ aA}$ | $5.70 \pm 0.03 \text{ aA}$ | $6.88 \pm 0.02 \text{ aA}$ | $8.92 \pm 0.02 \text{ aA}$  |
| T2                   | $4.28 \pm 0.01 \text{ aA}$ | $5.40 \pm 0.01 \text{ bA}$ | $6.34 \pm 0.00 \text{ bA}$ | $7.92 \pm 0.01 \text{ bA}$  |
| T3                   | $4.27 \pm 0.02 \text{ aA}$ | $5.27 \pm 0.03 \text{ cA}$ | $6.02 \pm 0.02 \text{ cA}$ | $7.66 \pm 0.03 \text{ cA}$  |
| T4                   | $4.28 \pm 0.01 \text{ aA}$ | $5.11 \pm 0.02 \text{ dA}$ | $5.83 \pm 0.02 \text{ dA}$ | $7.38 \pm 0.01 \text{ dA}$  |
| $20^{\circ}\text{C}$ |                            |                            |                            |                             |
| T1                   | $4.28 \pm 0.01 \text{ aA}$ | $6.70 \pm 0.03 \text{ aA}$ | $9.00 \pm 0.01 \text{ aA}$ | $12.73 \pm 0.03 \text{ aA}$ |
| T2                   | $4.28 \pm 0.01 \text{ aA}$ | $6.40 \pm 0.01 \text{ bA}$ | $8.26 \pm 0.01 \text{ bA}$ | $12.21 \pm 0.00 \text{ bA}$ |
| T3                   | $4.27 \pm 0.02 \text{ aA}$ | $6.27 \pm 0.03 \text{ bA}$ | $7.60 \pm 0.07 \text{ cA}$ | $11.78 \pm 0.03 \text{ cA}$ |
| T4                   | $4.28 \pm 0.01 \text{ aA}$ | $6.11 \pm 0.02 \text{ cA}$ | $7.27 \pm 0.01 \text{ dA}$ | $11.24 \pm 0.13 \text{ dA}$ |

حروف کوچک متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در ستون و حروف بزرگ متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطر می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

T1: میگوی پوشش دهی شده با فیلم ژلاتین، T2: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۹۹٪ ژلاتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته، T3: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۸۹٪ ژلاتین + ۱۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته، T4: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته

**باکتری‌های سایکروتروف:** نتایج تعداد باکتری‌های سایکروتروف نمونه‌ها در طی نگهداری در دماهای مختلف ( $4^{\circ}\text{C}$  و  $20^{\circ}\text{C}$ ) در جداول ۲ ارائه شده است. میزان اولیه باکتری‌های سرمادوست  $\log \text{CFU/g}$   $3/16$  بود. تعداد باکتری‌های سایکروتروف نمونه شاهد و تیمار شده طی دوره نگهداری به طور معنی‌دار افزایش یافتند. در دمای  $4^{\circ}\text{C}$ ، تعداد باکتری‌های

سرمادوست در میگوی بسته‌بندی شده با فیلم نانوکامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته تا ۱۴ روز نگهداری پایین‌تر از حد مجاز توصیه شده در میگوی خام بود. اما تعداد باکتری‌های سرمادوست نمونه میگوی شاهد و نمونه‌های تیمار شده در پایان روز نگهداری در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  بالاتر از حد مجاز بودند.

**جدول ۲.** تأثیر فیلم نانوکامپوزیت و زمان نگهداری بر تغییرات باکتری‌های سرمادوست نمونه‌های میگو

| تیمارها              | روز ۰                      | روز ۳                      | روز ۷                      | روز ۱۴                      |
|----------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| $4^{\circ}\text{C}$  |                            |                            |                            |                             |
| T1                   | $3/16 \pm 0/03 \text{ aA}$ | $5/38 \pm 0/01 \text{ aA}$ | $6/64 \pm 0/05 \text{ aA}$ | $8/14 \pm 0/00 \text{ aA}$  |
| T2                   | $3/13 \pm 0/05 \text{ aA}$ | $5/19 \pm 0/00 \text{ bA}$ | $6/13 \pm 0/02 \text{ bA}$ | $7/39 \pm 0/01 \text{ bA}$  |
| T3                   | $3/14 \pm 0/04 \text{ aA}$ | $4/99 \pm 0/02 \text{ cA}$ | $5/89 \pm 0/02 \text{ cA}$ | $6/55 \pm 0/06 \text{ cA}$  |
| T4                   | $3/16 \pm 0/02 \text{ aA}$ | $4/84 \pm 0/01 \text{ dA}$ | $5/64 \pm 0/08 \text{ dA}$ | $6/39 \pm 0/01 \text{ dA}$  |
| $20^{\circ}\text{C}$ |                            |                            |                            |                             |
| T1                   | $3/16 \pm 0/03 \text{ aA}$ | $5/63 \pm 0/02 \text{ aA}$ | $8/26 \pm 0/01 \text{ aA}$ | $12/86 \pm 0/02 \text{ aA}$ |
| T2                   | $3/13 \pm 0/05 \text{ aA}$ | $5/19 \pm 0/00 \text{ bA}$ | $7/38 \pm 0/01 \text{ bA}$ | $11/36 \pm 0/00 \text{ bA}$ |
| T3                   | $3/14 \pm 0/04 \text{ aA}$ | $4/84 \pm 0/02 \text{ dA}$ | $7/28 \pm 0/00 \text{ cA}$ | $11/19 \pm 0/00 \text{ cA}$ |
| T4                   | $3/16 \pm 0/02 \text{ aA}$ | $4/99 \pm 0/02 \text{ cA}$ | $6/84 \pm 0/04 \text{ dA}$ | $10/92 \pm 0/02 \text{ dA}$ |

حروف کوچک متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در ستون و حروف بزرگ متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطر می‌باشد ( $P < 0/05$ ).

T1: میگوی پوشش دهی شده با فیلم ژلاتین، T2: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۹۹٪ ژلاتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته، T3: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۸۹٪ ژلاتین + ۱۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته، T4: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته

**جدول ۳.** تأثیر فیلم نانوکامپوزیت و زمان نگهداری بر تغییرات باکتری‌های انتروباکتریاسه نمونه‌های میگو

| تیمارها              | روز ۰                      | روز ۳                      | روز ۷                      | روز ۱۴                      |
|----------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| $4^{\circ}\text{C}$  |                            |                            |                            |                             |
| T1                   | $2/76 \pm 0/05 \text{ aA}$ | $4/27 \pm 0/01 \text{ aA}$ | $5/61 \pm 0/04 \text{ aA}$ | $7/23 \pm 0/00 \text{ aA}$  |
| T2                   | $2/77 \pm 0/02 \text{ aA}$ | $4/21 \pm 0/01 \text{ bA}$ | $5/10 \pm 0/01 \text{ bA}$ | $6/65 \pm 0/04 \text{ bA}$  |
| T3                   | $2/77 \pm 0/06 \text{ aA}$ | $4/11 \pm 0/01 \text{ cA}$ | $4/91 \pm 0/01 \text{ dA}$ | $6/37 \pm 0/00 \text{ cA}$  |
| T4                   | $2/73 \pm 0/04 \text{ aA}$ | $3/99 \pm 0/02 \text{ dA}$ | $5/01 \pm 0/01 \text{ cA}$ | $5/81 \pm 0/02 \text{ dA}$  |
| $20^{\circ}\text{C}$ |                            |                            |                            |                             |
| T1                   | $2/76 \pm 0/05 \text{ aA}$ | $5/08 \pm 0/01 \text{ aA}$ | $7/07 \pm 0/01 \text{ aA}$ | $10/80 \pm 0/03 \text{ aA}$ |
| T2                   | $2/77 \pm 0/02 \text{ aA}$ | $4/24 \pm 0/00 \text{ bA}$ | $6/41 \pm 0/01 \text{ bA}$ | $10/35 \pm 0/00 \text{ bA}$ |
| T3                   | $2/77 \pm 0/06 \text{ aA}$ | $3/98 \pm 0/01 \text{ cA}$ | $6/15 \pm 0/01 \text{ cA}$ | $9/92 \pm 0/02 \text{ cA}$  |
| T4                   | $2/73 \pm 0/04 \text{ aA}$ | $3/65 \pm 0/02 \text{ dA}$ | $5/21 \pm 0/01 \text{ dA}$ | $9/33 \pm 0/00 \text{ dA}$  |

حروف کوچک متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در ستون و حروف بزرگ متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطر می‌باشد ( $P < 0/05$ ).

T1: میگوی پوشش دهی شده با فیلم ژلاتین، T2: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۹۹٪ ژلاتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته، T3: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۸۹٪ ژلاتین + ۱۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته، T4: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته

مختلف ( $4^{\circ}\text{C}$  و  $20^{\circ}\text{C}$ ) در جدول ۵ ارائه شده است. نتایج نشان داد، در دماهای مورد بررسی در روز صفر، اختلاف معنی‌داری در میزان اسید تیوباربیتوریک نمونه‌های میگو مشاهده نشد ( $P>0/05$ ). در سایر روزهای مورد بررسی، بالاترین میزان اسید تیوباربیتوریک متعلق به نمونه شاهد و پایین‌ترین میزان آن متعلق به نمونه میگوی بسته‌بندی شده با فیلم نانوکامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته بود. مطابق با نتایج، میزان اسید تیوباربیتوریک تمام نمونه‌ها در طی مدت نگهداری در هر دو دمای مورد بررسی افزایش یافت.

**اندازه‌گیری ازت تام فرار (TVB-N):** نتایج تغییرات ازت تام فرار نمونه‌ها در طی مدت زمان نگهداری و در دماهای مختلف ( $4^{\circ}\text{C}$  و  $20^{\circ}\text{C}$ ) در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج نشان داد که در دماهای مورد بررسی، در روز صفر، اختلاف معنی‌داری در میزان ازت تام فرار نمونه‌های میگو مشاهده نشد ( $P>0/05$ ). در دیگر روزهای مورد بررسی، بالاترین میزان ازت تام فرار متعلق به نمونه شاهد و پایین‌ترین میزان آن متعلق به نمونه فیلم نانوکامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته بود. مطابق با نتایج، میزان اسید تیوباربیتوریک تمام نمونه‌ها در طی مدت نگهداری در هر دو دمای مورد بررسی افزایش یافت.

**انتروباکتریاسه:** تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه نمونه‌ها در طی نگهداری در دماهای مختلف ( $4^{\circ}\text{C}$  و  $20^{\circ}\text{C}$ ) در جدول ۳ ارائه شده است. میزان اولیه باکتری‌های انتروباکتریاسه  $\log 2/76 \text{ CFU/g}$  بود. تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه نمونه شاهد و تیمار شده طی دوره نگهداری به طور معنی‌دار افزایش یافتند. پایین‌ترین تعداد باکتری‌های انتروباکتریاسه متعلق به نمونه میگوی بسته‌بندی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته بود.

### آزمون‌های شیمیایی

**pH:** نتایج تغییرات میزان pH نمونه‌ها در طی مدت نگهداری در دماهای ( $4^{\circ}\text{C}$  و  $20^{\circ}\text{C}$ ) در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج نشان داد، در دماهای مورد بررسی، در روز صفر، اختلاف معنی‌داری در میزان pH نمونه‌های میگو مشاهده نشد ( $P>0/05$ ). در سایر روزهای مورد بررسی، بالاترین میزان pH متعلق به نمونه شاهد و پایین‌ترین میزان آن متعلق به نمونه میگو بسته‌بندی شده با فیلم نانوکامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته بود. مطابق با نتایج، pH تمام نمونه‌ها در طی مدت نگهداری در هر دو دمای مورد بررسی افزایش یافت.

**اندازه‌گیری تیوباربیتوریک اسید (TBARS):** نتایج تغییرات اسید تیوباربیتوریک نمونه‌ها در طی مدت نگهداری و در دماهای

جدول ۴. تأثیر فیلم نانوکامپوزیت و زمان نگهداری بر تغییرات pH نمونه‌های میگو

| تیمارها              | روز ۰                      | روز ۳                       | روز ۷                      | روز ۱۴                     |
|----------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| $4^{\circ}\text{C}$  |                            |                             |                            |                            |
| T1                   | $5/40 \pm 0/00 \text{ aA}$ | $5/51 \pm 0/01 \text{ aA}$  | $5/73 \pm 0/01 \text{ aA}$ | $6/09 \pm 0/01 \text{ aA}$ |
| T2                   | $5/40 \pm 0/01 \text{ aA}$ | $5/43 \pm 0/01 \text{ bA}$  | $5/68 \pm 0/01 \text{ bA}$ | $5/95 \pm 0/01 \text{ bA}$ |
| T3                   | $5/40 \pm 0/01 \text{ aA}$ | $5/41 \pm 0/01 \text{ cA}$  | $5/58 \pm 0/01 \text{ cA}$ | $5/79 \pm 0/01 \text{ cA}$ |
| T4                   | $5/40 \pm 0/01 \text{ aA}$ | $5/41 \pm 0/00 \text{ bcA}$ | $5/54 \pm 0/01 \text{ dA}$ | $5/66 \pm 0/01 \text{ dA}$ |
| $20^{\circ}\text{C}$ |                            |                             |                            |                            |
| T1                   | $5/40 \pm 0/00 \text{ aA}$ | $5/66 \pm 0/01 \text{ aA}$  | $5/98 \pm 0/00 \text{ aA}$ | $6/48 \pm 0/01 \text{ aA}$ |
| T2                   | $5/40 \pm 0/01 \text{ aA}$ | $5/54 \pm 0/00 \text{ bA}$  | $5/79 \pm 0/02 \text{ bA}$ | $6/19 \pm 0/01 \text{ bA}$ |
| T3                   | $5/40 \pm 0/01 \text{ aA}$ | $5/49 \pm 0/01 \text{ cA}$  | $5/67 \pm 0/01 \text{ cA}$ | $6/12 \pm 0/01 \text{ cA}$ |
| T4                   | $5/40 \pm 0/01 \text{ aA}$ | $5/46 \pm 0/01 \text{ dA}$  | $5/59 \pm 0/02 \text{ dA}$ | $6/00 \pm 0/00 \text{ dA}$ |

حروف کوچک متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در ستون و حروف بزرگ متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطر می‌باشد ( $P<0/05$ ).

T1: میگوی پوشش دهی شده با فیلم ژلاتین، T2: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۹۹٪ ژلاتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته، T3: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۸۹٪ ژلاتین + ۱۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته، T4: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته

جدول ۵. تأثیر فیلم نانوکامپوزیت و زمان نگهداری بر تغییرات TBARS نمونه‌های میگو

| تیماها | روز ۰          | روز ۳          | روز ۷          | روز ۱۴         |
|--------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| ۴ °C   |                |                |                |                |
| T1     | ۰/۲۱ ± ۰/۰۰ aA | ۰/۳۴ ± ۰/۰۰ aA | ۰/۵۰ ± ۰/۰۰ aA | ۰/۷۹ ± ۰/۰۰ aA |
| T2     | ۰/۲۱ ± ۰/۰۰ aA | ۰/۳۱ ± ۰/۰۰ bA | ۰/۴۵ ± ۰/۰۰ bA | ۰/۶۷ ± ۰/۰۰ bA |
| T3     | ۰/۲۱ ± ۰/۰۰ aA | ۰/۲۸ ± ۰/۰۰ cA | ۰/۳۶ ± ۰/۰۰ cA | ۰/۵۷ ± ۰/۰۰ cA |
| T4     | ۰/۲۱ ± ۰/۰۱ aA | ۰/۲۶ ± ۰/۰۰ dA | ۰/۳۲ ± ۰/۰۰ dA | ۰/۵۰ ± ۰/۰۰ dA |
| ۲۰ °C  |                |                |                |                |
| T1     | ۰/۲۱ ± ۰/۰۰ aA | ۰/۴۹ ± ۰/۰۰ aA | ۰/۷۱ ± ۰/۰۰ aA | ۱/۰۹ ± ۰/۰۰ aA |
| T2     | ۰/۲۱ ± ۰/۰۰ aA | ۰/۴۶ ± ۰/۰۰ bA | ۰/۶۱ ± ۰/۰۰ bA | ۰/۹۴ ± ۰/۰۰ bA |
| T3     | ۰/۲۱ ± ۰/۰۰ aA | ۰/۴۳ ± ۰/۰۱ cA | ۰/۵۲ ± ۰/۰۰ cA | ۰/۸۶ ± ۰/۰۰ cA |
| T4     | ۰/۲۱ ± ۰/۰۱ aA | ۰/۴۲ ± ۰/۰۱ cA | ۰/۵۰ ± ۰/۰۰ dA | ۰/۷۹ ± ۰/۰۰ dA |

حروف کوچک متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در ستون و حروف بزرگ متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطر می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

T1: میگوی پوشش دهی شده با فیلم ژلاتین، T2: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۹۹٪ ژلاتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته، T3: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۸۹٪ ژلاتین + ۱۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته، T4: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته

جدول ۶. تأثیر فیلم نانوکامپوزیت و زمان نگهداری بر تغییرات TVB-N نمونه‌های میگو

| تیماها | روز ۰          | روز ۳           | روز ۷           | روز ۱۴          |
|--------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| ۴ °C   |                |                 |                 |                 |
| T1     | ۳/۵۰ ± ۰/۰۰ aA | ۹/۳۳ ± ۰/۴۰ aA  | ۱۲/۶۰ ± ۰/۷۰ aA | ۲۷/۵۳ ± ۰/۰۰ aA |
| T2     | ۳/۵۰ ± ۰/۰۰ aA | ۸/۶۳ ± ۰/۴۰ aA  | ۱۱/۲۰ ± ۰/۷۰ bA | ۲۴/۷۳ ± ۰/۰۰ bA |
| T3     | ۳/۵۰ ± ۰/۰۰ aA | ۷/۴۶ ± ۰/۴۰ bA  | ۱۰/۰۳ ± ۰/۸۰ bA | ۲۱/۹۳ ± ۰/۰۰ cA |
| T4     | ۳/۵۰ ± ۰/۰۰ aA | ۶/۵۳ ± ۰/۴۰ cA  | ۸/۶۳ ± ۰/۴۰ cA  | ۱۹/۸۳ ± ۰/۰۰ dA |
| ۲۰ °C  |                |                 |                 |                 |
| T1     | ۳/۵۰ ± ۰/۰۰ aA | ۱۴/۷۰ ± ۰/۷۰ aA | ۱۹/۳۶ ± ۰/۴۰ aA | ۴۹/۷۰ ± ۰/۷۰ aA |
| T2     | ۳/۵۰ ± ۰/۰۰ aA | ۱۳/۷۶ ± ۰/۴۰ bA | ۱۷/۲۶ ± ۰/۴۰ bA | ۴۳/۱۶ ± ۰/۸۰ bA |
| T3     | ۳/۵۰ ± ۰/۰۰ aA | ۱۲/۳۶ ± ۰/۴۰ cA | ۱۵/۸۶ ± ۰/۴۰ cA | ۳۸/۵۰ ± ۰/۷۰ cA |
| T4     | ۳/۵۰ ± ۰/۰۰ aA | ۹/۵۶ ± ۰/۴۰ dA  | ۱۳/۳۰ ± ۰/۷۰ dA | ۳۴/۷۶ ± ۰/۴۰ dA |

حروف کوچک متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در ستون و حروف بزرگ متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطر می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

T1: میگوی پوشش دهی شده با فیلم ژلاتین، T2: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۹۹٪ ژلاتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته، T3: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۸۹٪ ژلاتین + ۱۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته، T4: میگوی پوشش دهی شده با فیلم نانو کامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته

### تغییرات امتیازات حسی بر روی نمونه‌های میگو

نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه‌های میگوی بسته‌بندی شده با فیلم نانوکامپوزیت در جداول تکمیلی (۷-۱۰) ارائه شده است. بررسی امتیازات مربوط به بو، بافت و رنگ نمونه‌های میگوی بسته بندی شده با فیلم نانوکامپوزیت نشان داد که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین نمونه شاهد و سایر تیمارها وجود نداشت. نتایج حاصل از مقایسه میانگین امتیازات داده شده به رنگ، بو و بافت محصول نشان داد که با زمان نگهداری امتیازی که ارزیاب‌ها به رنگ، بو و بافت محصول دادند به طور

معنی‌داری کاهش یافت، بطوری که روند کاهشی امتیاز طعم در دمای ۲۰ °C با شدت بیشتری بود. در تمامی روزهای مورد بررسی به جز روز ۱۴ام و در دماهای مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری در امتیاز پذیرش کلی بین نمونه شاهد و سایر تیمارها ملاحظه نشد. در نهایت مقایسه پذیرش کلی نمونه‌ها نشان داد که کمترین امتیاز پذیرش کلی مربوط به تیمار شاهد بود و بالاترین امتیاز مربوط به نمونه میگوی بسته‌بندی شده با فیلم نانوکامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته بود.

## • بحث

## آزمون های میکروبی

مهار رشد باکتریایی به وسیله پوشش فیلم را می توان به اثر پوششی آن و ممانعت از نفوذ اکسیژن نسبت داد. در مطالعه Youssra Ben Azaza و همکاران (۲۰۲۲) در تحقیقات خود مشاهده کردند که تعداد کل باکتری های مزوفیل نمونه های میگو دارای پوشش کیتوزان-ایزوله پروتئین ساردینلا و نمونه شاهد به طور معنی داری با زمان نگهداری افزایش یافت. تعداد باکتری های مزوفیل نمونه شاهد از  $\log \text{CFU/g}$  ۰/۳۲ در روز ۰ به  $\log \text{CFU/g}$  ۵/۷۹ در روز ۹ام افزایش یافت که کمتر از حداکثر حد مجاز برای کیفیت قابل قبول گوشت میگو است. نتایج همچنین نشان داد که تعداد باکتری های مزوفیل نمونه های تیمار شده به طور قابل توجهی کمتر از نمونه کنترل بود. این یافته ها حاکی از آن است که ایزوله پروتئین ساردینلا می تواند به طور مؤثری از رشد میکروارگانیسم ها جلوگیری کرده و مدت زمان ماندگاری میگو را افزایش دهد (۱۸).

فساد میگو تازه در دمای پایین اغلب بوسیله باکتری های سرمادوست گرم منفی (به ویژه گونه های سودوموناس) ایجاد می گردد. باکتری های سرمادوست گرم منفی، گروه اصلی میکروارگانیسم های مسئول فساد میگو تازه نگهداری شده در دمای یخچال هستند. بیشترین حد پیشنهاد شده برای باکتری های سرمادوست در میگو  $\log \text{CFU/g}$  ۷ است (۱۹). Noori و همکاران در سال ۲۰۱۸ در بررسی فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی پوشش خوراکی بر پایه نانومولسیون حاوی اسانس زنجبیل و تأثیر آن بر ایمنی و ویژگی کیفی فیله سینه مرغ، بیان نمودند که پوشش های خوراکی مبتنی بر نانو امولسیون با ۶ درصد نانومولسیون اسانس زنجبیل باعث کاهش معنی دار کل باکتری های سایکروفیل در فیله های مرغ طی ۱۲ روز نگهداری در یخچال شد (۲۰).

## آزمون های شیمیایی

در تمامی محصولات دریایی از pH به عنوان شاخصی برای تشخیص فساد شیمیایی استفاده می شود که این فساد معمولاً با افت کیفیتی محصول مرتبط می باشد. احتمالاً افزایش pH می تواند به علت افزایش بازهای فرار (آمونیاک و تری متیل آمین) ایجاد شده توسط آنزیم های داخلی و یا میکروبی باشد. کمتر بودن pH در نمونه های بسته بندی شده با فیلم ژلاتین/پکتین حاوی نانومولسیون آنتوسیانین پوست پسته احتمالاً به علت کاهش رشد میکروبی آن ها نسبت به نمونه شاهد باشد. همچنین در حضور پوشش مذکور، سطح میگو در معرض اتمسفر از عملکرد فساد اکسیژن بیشتر ممانعت شده

است که خود می تواند عامل پایین بودن pH باشد. نتایج مشابهی در میزان pH در مطالعه Farajzadeh و همکاران (۲۰۱۵) طی بسته بندی میگو توسط فیلم کیتوزان/ژلاتین (۲۱) و همچنین در مطالعه Mohebi و همکاران (۲۰۱۷) طی بسته بندی میگوی پوست کنی شده توسط فیلم کیتوزان/ژلاتین مشاهده شد (۲۲). مقدار اسید تیوباربتوریک (TBA) به طور وسیعی برای نشان دادن درجه اکسیداسیون لیپید استفاده می گردد و حضور ترکیبات فعال TBA نشان دهنده مرحله دوم اکسیداسیون است که طی آن پراکسیدها به آلدئیدها، کتون ها و الکل ها اکسید می گردند. پیشنهاد شده است که حداکثر میزان قابل قبول اندیس تیوباربتوریک اسید برای کیفیت مطلوب محصول  $\text{mg MDA/kg}$  ۵ است در حالی که تا  $\text{mg MDA/kg}$  ۸ قابل مصرف است (۲۳). روند افزایشی شاخص TBARS طی مدت نگهداری ممکن است به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان ها در ماهیچه میگو باشد. همچنین آلدئیدها به عنوان محصولات ثانویه اکسیداسیون از تجزیه هیدروپراکسیدها ایجاد می شوند. روند افزایشی هیدروپراکسیدها می تواند دلیلی بر این موضوع باشد (۲۴). Sharma و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند نمونه های ناگت مرغ بسته بندی شده با فیلم خوراکی بر پایه آلزینات کلسیم و مالتودکسترین حاوی *Rubia cordifolia*، میزان تیوباربتوریک اسید کمتری از نمونه شاهد داشتند. این یافته ها حاکی از آن است که *Rubia cordifolia* قادر هستند از اکسیداسیون لیپید در مواد غذایی جلوگیری کنند، علت اصلی آن وجود فیتوکمیکال های فعال زیستی است که پتانسیل مهار واکنش های زنجیره ای اکسیداسیون لیپیدی و خنثی کردن رادیکال های آزاد را داراست (۲۵).

ازت تام فرار (TVB-N) متداول ترین شاخص کیفیت ماهی و میگو است. مقادیر بالای ازت تام فرار مطلوب نمی باشد زیرا نشان دهنده حضور مواد نیتروژنی حاصل از تخریب ایجاد شده توسط باکتری های پروتئولیتیک بر روی ترکیبات نیتروژنی نظیر پروتئین ها و اسید نوکلئیک است. بالاترین حد برای ازت تام فرار  $\text{mg/100 g}$  ۳۵ گوشت میگو به عنوان آغاز فرایند فساد است (۲۶). افزایش مقدار نیتروژن فرار کل در تمامی نمونه ها طی دوره نگهداری را می توان با فعالیت باکتری های مولد فساد مرتبط دانست. میزان بالای فعالیت باکتری ها ترکیباتی نظیر تری متیل آمین اکساید و پپتیدها و آمینواسیدها را به بازهای فرار می شکنند. ماهی و محصولات آن بر اساس این شاخص به چهار گروه تقسیم می شوند: تا  $\text{mg/100 g}$  ۲۵، کیفیت عالی؛ تا  $\text{mg/100 g}$  ۳۰، کیفیت خوب؛ تا  $\text{mg/100 g}$  ۳۵، محدودیت مصرف؛ بالای  $\text{mg/100 g}$  ۳۵، فاسد (۴). در نمونه های پوششی در کل دوره نگهداری همواره مقدار نیتروژن فرار کل کمتر از



جمعیت میکروبی باکتری‌های مزوفیل، سایکروتروف و انتروباکتریاسه نمونه‌های میگو مشاهده نشد. در دیگر روزهای مورد بررسی، بالاترین فاکتورهای مذکور متعلق به نمونه ۱ (شاهد) و پایین‌ترین میزان آن متعلق به نمونه ۴ (فیلم نانوکامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته) بود. مقایسه پذیرش کلی نمونه‌ها همچنین نشان داد که کمترین امتیاز پذیرش کلی مربوط به تیمار شاهد بود و بالاترین امتیاز مربوط به نمونه میگوی بسته‌بندی شده با فیلم نانوکامپوزیت ۷۹٪ ژلاتین + ۲۰٪ پکتین + ۱٪ آنتوسیانین پوست پسته بود. از این‌رو این بسته‌بندی طراحی شده می‌تواند برای بسته‌بندی سایر محصولات غذایی فسادپذیر مورد استفاده و ارزیابی قرار گیرد.

مقدار آن در نمونه شاهد بود. این مقدار بالاتر را می‌توان به مقدار بالاتر شمارش باکتریایی در تیمار شاهد نسبت داد. Aghaei و همکاران در سال ۲۰۱۸ در توسعه نانوالیاف استات سلولز حاوی آلیزارین به عنوان حسگر هالوکرومیک در ارزیابی کیفی فساد ماهی قزل‌آلای رنگین به مدت ۱۲ روز در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) بیان نمودند که TVB-N نمونه‌های ماهی با گذشت زمان افزایش یافت (۲۷).

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که فیلم بسته‌بندی هوشمند حاوی آنتوسیانین پوست پسته تأثیر قابل توجهی بر خصوصیات میکروبی، شیمیایی و حسی نمونه‌های میگو داشت. در روز صفر، اختلاف آماری معنی‌داری در میزان pH، TVBN و TBA،

## References

- Jayasekara C, Mendis E, Kim SK. Seafood in the human diet for better nutrition and health. *Encyclopedia of Marine Biotechnology*. 2020;2939-59.
- Farmery AK, Scott JM, Brewer TD, Eriksson H, Steenbergen DJ, Albert J, et al. Aquatic foods and nutrition in the Pacific. *Nutrients*. 2020;12(12):3705.
- Lin D, Sun L-C, Chen Y-L, Liu G-M, Miao S, Cao M-J. Shrimp spoilage mechanisms and functional films/coatings used to maintain and monitor its quality during storage. *Trends in Food Science & Technology*. 2022;25-37.
- Peng S, Wei H, Zhan S, Yang W, Lou Q, Deng S, et al. Spoilage mechanism and preservation technologies on the quality of shrimp: An overview. *Trends in Food Science & Technology*. 2022.
- Das J, Mishra HN. A comprehensive review of the spoilage of shrimp and advances in various indicators/sensors for shrimp spoilage monitoring. *Food Research International*. 2023;113270.
- Alias A, Wan MK, Sarbon N. Emerging materials and technologies of multi-layer film for food packaging application: A review. *Food Control*. 2022;136:108875.
- Grzebieniarsz W, Biswas D, Roy S, Jamróz E. Advances in biopolymer-based multi-layer film preparations and food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life*. 2023;35:101033.
- Xie Q, Liu G, Zhang Y, Yu J, Wang Y, Ma X. Active edible films with plant extracts: A updated review of their types, preparations, reinforcing properties, and applications in muscle foods packaging and preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2023;63(32):11425-47.
- Said N, Howell NK, Sarbon N. A review on potential use of gelatin-based film as active and smart biodegradable films for food packaging application. *Food Reviews International*. 2023;39(2):1063-85.
- Roy S, Priyadarshi R, Lopusiewicz Ł, Biswas D, Chandel V, Rhim J-W. Recent progress in pectin extraction, characterization, and pectin-based films for active food packaging applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023;124248.
- Huang J, Hu Z, Hu L, Li G, Yao Q, Hu Y. Pectin-based active packaging: A critical review on preparation, physical properties and novel application in food preservation. *Trends in Food Science & Technology*. 2021;118:167-78.
- Tavassoli M, Khezerlou A, Moghaddam TN, Firoozy S, Bakhshizadeh M, Sani MA, et al. Sumac (*Rhus coriaria* L.) anthocyanin loaded-pectin and chitosan nanofiber matrices for real-time monitoring of shrimp freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023;242:125044.
- Tkaczewska J, Morawska M, Kulawik P, Zajac M. Characterization of carp (*Cyprinus carpio*) skin gelatin extracted using different pretreatments method. *Food Hydrocolloids*. 2018;81:169-79.
- Singh S, Gaikwad KK, Lee YS. Anthocyanin-A natural dye for smart food packaging systems. *Korean Journal of Packaging Science & Technology*. 2018;24(3):167-80.
- Neves D, Andrade PB, Videira RA, de Freitas V, Cruz L. Berry anthocyanin-based films in smart food packaging: A mini-review. *Food Hydrocolloids*. 2022;133:107885.
- Bagheri F, Hassanshahi G, Kahanamani Falahatipour S, Dini A, Mohamadi M, Ahmadi Z, et al. Effects of Pistachios and Their Different Plant Parts on Various Disorders: Evidence about Their Therapeutic Effects on Diabetes Mellitus, Gastrointestinal and Liver Disorders, as well as Blood Pressure. *Pistachio and Health Journal*. 2021;4(4):28-47.
- Bagheri F, Mohammadifard N, Khanamani Falahati-Pour S. The effect of pistachio supplementation on metabolic syndrome and its components in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition Reviews*. 2022;80(10):2051-63.
- Azaza YB, Hamdi M, Charmette C, Jridi M, Li S, Nasri M, Nasri R. Development and characterization of active packaging films based on chitosan and sardinella protein isolate: Effects on the quality and the shelf life of shrimps. *Food Packaging and Shelf Life*. 2022;31:100796.
- Liu T, Liu J, Wang P, Li X, Zhong Y, Yan W, et al. Effect of slurry ice on quality characteristics and microbiota composition of Pacific white shrimp during refrigerated storage. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2023;14:100792.

20. Noori S, Zeynali F, Almasi H. Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets. *Food control*. 2018;84:312-20.
21. Faraj Zade F, Shahidi SA, Hamze S. Optimization of chitosan and/or gelatin edible coatings to improve quality of refrigerated shrimp. *Journal of food science and technology (Iran)*. 2015;13(53):79-91.
22. Mohebi E, Shahbazi Y. Application of chitosan and gelatin based active packaging films for peeled shrimp preservation: A novel functional wrapping design. *LWT - Food Science and Technology*. 2017;76:108-16.
23. Ghani MA, Barril C, Bedgood Jr DR, Prenzler PD. Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. *Food chemistry*. 2017;230:195-207.
24. Wang L, Zang M, Zhao X, Cheng X, Li X, Bai J. Lipid oxidation and free radical formation of shrimp (*penaeus vannamei*) during hot air drying. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2023:1-12.
25. Sharma R, Bhat ZF, Kumar A, Kumar S, Bhatti MA, Jayawardena R. *Rubia cordifolia* based novel edible film for improved lipid oxidative and microbial stability of meat products. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2021;45(7):e15654.
26. Bekhit AE-DA, Holman BWB, Giteru SG, Hopkins DL. Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and its role in meat spoilage: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2021;109:280-302.
27. Aghaei Z, Ghorani B, Emadzadeh B, Kadkhodaei R, Tucker N. Protein-based halochromic electrospun nanosensor for monitoring trout fish freshness. *Food Control*. 2020;111:107065.

## Designing Packaging Films Based on Gelatin/Pectin with Immobilizing Anthocyanin Nanoemulsions of Pistachio Peels for the Shelf-life Enhancement of Shrimps (*Litopenaeus vannamei*)

Taheri-Yeganeh A.R<sup>1</sup>, Ahari H<sup>2\*</sup>, Mashak Z<sup>3</sup>, Jafari M<sup>4</sup>

1- Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- \*Corresponding author: Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Email: Dr.h.ahari@gmail.com

3- Corresponding author, Department of Food Hygiene, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

4-Department of Food Materials & Process Design Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Received 30 Apr, 2024

Accepted 3 Jul, 2024

**Background and Objectives:** A new generation of ecofriendly packaging materials is necessary to improve food quality, safety, nutritional value, shelf-life and sustainability. The aim of the study was to produce packaging films based on gelatin/pectin with immobilizing of pistachio-peel anthocyanin nanoemulsions to increase the shelf life of shrimps during storage.

**Materials & Methods:** After extracting pistachio-peel anthocyanin and preparing anthocyanin nanoemulsions, nanocomposite films containing 1% anthocyanin and various percentages of gelatin/pectin were prepared and then packaging films were used to pack shrimp samples. Then, chemical, microbial, color and sensory characteristics of the shrimps were assessed on Days 0, 3, 7 and 14 at 4 and 20 °C.

**Results:** The highest quantities of pH, TVB-N and TBA and the greatest populations of mesophilic and psychrotrophic bacteria and *Enterobacteriaceae* belonged to the control and the lowest quantities of these variables belonged to the sample of 79%-gelatin nanocomposite film with 20% pectin and 1% pistachio peel anthocyanin. The highest  $L^*$  was reported in shrimp samples covered with gelatin film and the lowest  $L^*$  was recorded in shrimp samples packed with nanocomposite film of 79% gelatin with 20% pectin and 1% pistachio-peel anthocyanin. Moreover, the lowest  $a^*$  and  $b^*$  were seen in shrimp samples packed with gelatin film and the highest  $a^*$  and  $b^*$  were observed in shrimp samples packed with nanocomposite films of 79% gelatin with 20% pectin and 1% pistachio-peel anthocyanin.

**Conclusion:** Composite films can be used as smart active packaging to increase the shelf life and freshness of shrimps.

**Keywords:** Anthocyanin, Nanoemulsion, Nanocomposite, Shrimp, Pistachio-peel