مقایسه عملکرد حسگرهای برموفنول آبی و برموکروزول سبز در تعیین فساد باکتریایی و شیمیایی گوشت چرخ شده ماهی کیلکای معمولی (*Clupeonella cultriventris caspia*) نگهداری شده در یخچال

شهاب نقدی[1]، مسعود رضائی *[1]، نادر بهرامی فر[2]

*rezai_ma@modares.ac.ir

۱- گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
۲- گروه محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۸

چکیده

در این پژوهش یک حسگر بر پایه فیلم زیستی کیتوزان به همراه حسگرهای برموفنول آبی و برموکروزول سبز بر پایه کاغذ صافی به منظور تعیین کیفیت میکروبی گوشت چرخ شده ماهی کیلکای معمولی نگهداری شده در دمای یخچال استفاده شدند. شاخص بار باکتریایی کل (TVC) در روز صفر برابر با ۳/۴۷۳ Log CFU/gr بود که در انتهای دوره نگهداری به تعداد Log ۶/۴۹۷ CFU/gr تغییر کرد ($p<0/05$). تعداد باکتری‌های سرمادوست (PTC) در ابتدای نگهداری ۱/۴۷۳Log CFU/gr بود و در طول دوره نگهداری در یخچال روند افزایشی نشان داد و سپس به مقدار ۷/۵۱۶ Log CFU/gr رسید ($p<0/05$). شاخص بازهای ازته فرار (TVB-N) در ابتدای دوره نگهداری ۷/۰۱ mg N/100g بود که در انتهای نگهداری به mg N/100g ۴۴/۳۴۸ افزایش یافت ($p<0/05$). pH در طول نگهداری از ۶/۱۰۵ به ۶/۸۲۷ تغییر کرد ($p<0/05$). میزان همبستگی بین شاخص های میکروبی، شیمیایی و تغییر ارزش رنگ (ΔE) متفاوت بوده و بالاترین نتایج همبستگی در حسگر برموفنول آبی مشاهده شد که همبستگی آن با شاخص‌های باکتری‌های سرمادوست، بار باکتریایی کل، کل بازهای ازته فرار و pH بترتیب ۰/۹۴۱، ۰/۹۸۹، ۰/۹۱۲ و ۰/۷۷۹ بود ($p<0.05$). بر اساس نتایج این تحقیق مشخص شد که همزمان با تغییرات میکروبی و شیمیایی درون بسته گوشت چرخ شده ماهی، حسگرها شروع به تغییر رنگ می‌کنند و کاهش کیفیت را به صورت تغییر رنگ نشان می‌دهند.

واژگان کلیدی: حسگر تازگی، کیتوزان، فساد باکتریایی، فساد شیمیایی، گوشت چرخ شده ماهی

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.17.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119411]

مقدمه

آبزیان علاوه بر اینکه منابع غنی از مواد مغذی برای مصارف انسانی هستند، حائز ویژگی‌های خاصی از جمله، غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ می‌باشند که در سایر منابع زیستی خشکی‌زی محدودتر است و نقش بسیار مهمی در سلامت و کاهش خطر ابتلا به بیماری‌ها ایفاء می‌کنند (Alasalvar *et al*., 2010). در نتیجه، مصرف آبزیان و فرآورده‌های حاصل از آنها در سراسر دنیا روز به روز در حال افزایش است. با توجه به منابع محدود ماهی در دنیا و ایران استفاده از گونه‌هایی که دارای ارزش تجاری کم هستند، مورد توجه است. در این باره، ماهی کیلکا از خانواده شگ ماهیان (*Clupeidae*) از جنس Clupeonella است که به عنوان غالب‌ترین جنس از خانواده شگ ماهیان در دریای خزر و شامل دو گونه کیلکای آنچوی (Bordin, 1904) *Clupeonella engrauliformis* و کیلکای چشم درشت *Clupeonella grimmi* (Kesler, 1877) و زیر گونه کیلکای معمولی *Clupeonella cultriventris caspia* می‌باشد (Ovissipour *et al*., 2013). ذخایر گونه کیلکای معمولی در دریای خزر ۴۹/۶ هزار تن برآورد شده است که شامل بیش از ۷۶ درصد از ذخایر کیلکا ماهیان می‌شود (Perafkandeh & Keymaram, 2011). این گونه ۹۷ درصد از میزان صید کیلکا ماهیان را در سواحل جنوب شامل شده و به عنوان گونه غالب صید شناخته می‌شود. همچنین میزان صید کیلکا ماهیان در سواحل جنوبی دریای خزر در سال ۱۳۹۵، به بیش از ۲۵ هزار تن بوده است (سالنامه آماری شیلات ایران، ۱۳۹۵). متاسفانه به - دلیل اندازه کوچک، فسادپذیری بالا و عدم تخلیه شکمی تنها بخش کوچکی به میزان ۴ درصد از کیلکا ماهیان صید شده به مصرف انسانی می‌رسد و مابقی آن برای تولید آرد ماهی استفاده می‌شود که می‌توان از آنها برای تولید فرآورده‌های با ارزش افزوده مناسب از جمله گوشت چرخ شده ماهی، سوریمی و انواع مختلفی از فرآورده‌های تقلیدی استفاده کرد (Jorjani, 2014). محصولات دریایی به دلایل مختلفی از قبیل pH خنثی و محتوای پروتئینی با کیفیت بالا در معرض فساد میکروبی قرار می‌گیرند. فساد باکتریایی به علت استفاده باکتری‌های عامل فساد از اسید آمینه‌های آزاد و تولید محصولات مختلف انواع آمین‌ها از تری متیل آمین و آمونیاک اتفاق می‌افتد (Listyarini *et al*., Kuswandi *et al*., 2012 ;2017). امروزه موضوع بسته بندی محصولات غذایی به یکی از مسائل مهم دنیا تبدیل شده است. بسته بندی‌های هوشمند نوعی از بسته بندی‌های محصولات هستند که برای نمایش وضعیت درون بسته بندی مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند و می‌تواند کیفیت محصول را به صورت تغییر رنگ (Kuswandi *et al* ., 2015)، تغییر ولتاژ الکترود (Silvestre *et al*., 2011) و طریق‌های مختلف به مصرف کننده بخوبی نشان دهند. در میان این بسته‌بندی‌های هوشمند دارای شناساگرهای pH نوعی از بسته‌بندی‌های هوشمند هستند که کیفیت محصول را به صورت تغییر رنگ به مصرف کننده گزارش می‌دهند، این شناساگرها می‌توانند بر پایه مواد مختلفی از قبیل پلیمرهای طبیعی مثل کیتوزان، سلولز استات، کارژینان و پلیمرهای با منشاء مختلف نیز باشند (Kuswandi *et al*., 2012; Kuswandi *et al*., 2015; Prieto *et al*., 2017; Zhai *et al*., 2017). Kuswandi و Nurfawaidi (۲۰۱۷) از دو شناساگر pH متیل رد و برموکروزول بنفش بر پایه کاغذ صافی برای تعیین تازگی گوشت خوک استفاده کردند که عملکرد حسگرها تغییر رنگ در صورت بروز فساد در گوشت خوک بود. در مطالعه بهمنی و همکاران (۱۳۹۵) از شناساگرهای فنول قرمز و برموکروزول سبز برای تعیین تازگی فیله ماهی قزل‌آلا رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) استفاده شد که نتایج آنها نشان داد که با افزایش دوره نگهداری، شناساگرهای تعیین تازگی شروع به تغییر رنگ می‌کنند. در مطالعه‌ای دیگر در داخل کشور از یک سنسور رنگ‌سنجی ساده که از آنتوسیانین استخراج شده از کلم قرمز بر پایه کاغذ صافی تشکیل شده بود، برای تشخیص فساد ماهی قزل‌آلا استفاده شد که نتایج این تحقیق نشان داد که با تغییر در روند فساد حسگر دچار تغییر رنگ شده و می‌تواند تغییر کیفیت را با تغییر رنگ نشان دهد (مجدی‌نسب و همکاران، ۱۳۹۶). کیتوزان یکی از منابع

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.17.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119411]

پلی ساکاریدی تجدیدپذیر زیستی فراوان است که از منابع مختلف همانند پوسته سخت پوستان از قبیل میگو، خرچنگ و.... استحصال می‌شود که با توجه به ویژگی‌های مناسب این پلی ساکارید برای تولید انواع فیلم‌ها مناسب است که می‌توانند به عنوان پایه حسگر مورد استفاده قرار گیرند Silvestre *et al*., 2011; Kakaei and (Shhbazi, 2016). استفاده همزمان از چند شناساگر برای تعیین تازگی محصولات غذایی سبب بهبود عملکرد تشخیص مصرف کننده می‌شود و همچنین اطمینان مصرف کننده از عملکرد بسته بندی هوشمند را افزایش می‌دهد (Kuswandi & Nurfawaidi, 2017). هدف از این مطالعه بررسی و مقایسه عملکرد حسگرهای برموفنول آبی و برموکروزول سبز بر پایه کاغذ صافی و برموفنول آبی بر پایه کیتوزان در تعیین فساد باکتریایی و شیمیایی گوشت چرخ شده ماهی کیلکای معمولی در دمای یخچال بوده است.

مواد و روش کار

ماهی کیلکا به صورت تازه و صید روز در زمستان ۱۳۹۶ از لنج گلبهار سواحل بابلسر تهیه شد و در یونولیت‌های حاوی یخ به دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس واقع در شهر نور مازندران منتقل شد. پس از شستشوی ماهیان با آب شیرین سرزنی و دم زنی و تخلیه شکمی ماهیان انجام شد. سپس از چرخ گوشت با چشمی ۰/۵ میلی متر برای تهیه گوشت چرخ شده (مینس) استفاده شد. پس از تولید گوشت چرخ شده برای نگهداری گوشت چرخ شده در یخچال در ۴ درجه سانتی‌گراد مقدار ۵۰۰ گرم از گوشت چرخ شده ماهی را در ظروف یکبار مصرف حاوی حسگر قرار داده شد. شناساگر برومونفول آبی و برموکروزول سبز از شرکت دایجونگ کره جنوبی، پودر کیتوزان شرکت مرک آلمان، استیک اسید شرکت شارلو انگلستان و اتانول شرکت رازی ایران تهیه شدند. از محلول شناساگر حاوی نسبت ۱ میلی‌گرم شناساگر در ۱ میلی‌لیتر اتانول استفاده شد (Kuswandi *et al*., 2012). برای تهیه فیلم از روش Kuswandi و همکاران (۲۰۱۲) با کمی اصلاح استفاده شد، بدین صورت که با حل کردن ۲ گرم کیتوزان در ۱۰۰ میلی لیتر استیک اسید ۱٪ استفاده شد. بعد از حل شدن کامل کیتوزان در استیک اسید بر روی همزن مغناطیسی، محلول کیتوزان- شناساگر در مقادیر مشخص در پلیت‌ها توزین شده و پلیت ها برای مدت ۷۲ ساعت در آون ۴۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند (Kuswandi *et al*., 2012). بعد از تهیه محلول شناساگرها با نسبت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر کاغذهای صافی (کاغذ واتمن) بریده شده در محلول شناساگر به مدت کل طول شب قرار داده شد. سپس از آن خارج شده و در آون خشک شد (Kuswandi *et al*., 2012).

شاخص‌های باکتریایی

مطابق با استاندارد ملی ایران، شماره ۳-۸۹۲۳ (۱۳۸۵) مقدار ۱ گرم از عضله پشتی هر ماهی در ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی همگن شد و پس از ساخت رقت‌ها برای شمارش باکتری‌های کل و باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های تهیه شده، از محیط کشت عمومی نوترینت آگار استفاده شد. برای اندازه گیری این شاخص باید نمونه‌برداری از نمونه ها در روزهای ۰،۴،۸،۱۲ و ۱۶ نگهداری نمونه‌برداری از نمونه‌ها انجام شد. پس از ساخت رقت‌ها از روش پورپلیت برای کشت رقت‌های مختلف استفاده شد. تمامی تیمارها هر کدام با سه تکرار انجام شدند. بعد از کشت، باکتری‌های مزوفیل (TVC) پلیت‌ها را پس از ۴۸ ساعت انکوباتورگذاری در دمای ۲۹ درجه سانتی گراد و باکتری‌های سرماگرا (PTC) را پس از ده روز در دمای یخچال شمارش انجام گرفت. اندازه گیری pH عضله توسط دستگاه pH سنج بافت گوشت تعیین شد (Ojagh *et al*., 2010).

سنجش مجموع مقادیر بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار به روش کجلدال و با قرار دادن ۱۰ گرم نمونه به علاوه ۲ گرم اکسید منیزیم و افزودن ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر داخل بالن و در نهایت جمع‌آوری بازهای ازته فرار در داخل محلول شامل

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.17.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119411]

اسیدبوریک (۲W/V٪) و متیل‌رد به عنوان شاخص و سپس تیتر محلول تغییر رنگ داده حاصل با اسیدسولفوریک تا حاصل شدن رنگ ارغوانی، انجام می‌شد و به صورت میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه ماهی بیان گردید. میزان بازهای نیتروژنی فرار از رابطه ذیل محاسبه شد. برای اندازه گیری این شاخص نمونه‌برداری از نمونه‌ها در روزهای۰،۴،۸،۱۲ و۱۶ نگهداری انجام شد. پس از ساخت رقت‌ها از روش پورپلیت برای کشت رقت‌های مختلف استفاده شد. تمامی تیمارها هر کدام با سه تکرار انجام شدند (Kuswandi *et al*., 2015).

رابطه ۱) حجم اسید سولفوریک مصرفی×۱۴= TVB-N

تصویربرداری از تغییر رنگ حسگرها

تصویربرداری از نمونه‌ها به صورت منظم روزانه و در یک زمان و مکان مشخص توسط دوربین تمام دیجیتال SONY با لنز ۲۲ مگاپیکسل انجام شد. تصاویر بدست آمده برای آنالیز دیجیتالی به کامپیوتر منتقل و سپس به نرم‌افزار فتوشاپ CS2017 منتقل شدند و پس از تبدیل شاخص RGB به L*a*b به صورت لکه‌ای با بزرگی ۳۱ × ۳۱ پیکسل ابتدا average bluer گشته و سپس مقدار شاخص‌های ترکیب رنگ آنها بدقت بررسی و از طریق فرمول ارزش رنگ در نرم‌افزار Exell2016 به ΔE تبدیل شدند. برای انجام این شاخص، سه بسته گوشت چرخ شده ماهی با وزن ۵۰۰ گرم تهیه شده و حسگرهای برموفنول آبی، برموفنول سبز و برموفنول آبی بر پایه کیتوزان در درون بسته قرار داده شدند و تصویربرداری از تمامی آنها انجام گرفت (Kuswandi *et al*., 2012).

رابطه ۲) $\Delta E=\sqrt{(a_{.}-a_{n})^{2}+(b_{.}-bn)^{2}+(L_{.}-L_{n})^{2}}$

L* نشان‌دهنده شدت روشنائی، L*= ۰ به منزله سیاه و L*= ۱۰۰نشان دهنده پراکندگی روشنائی یا نور کامل
a* = موقعیت آن بین سبز و قرمز متغیر است، مقادیر منفی a* نشان دهنده رنگ‌های سبز و مقادیر مثبت آن به منزله رنگ‌های قرمز هستند.

b* = موقعیت آن بین آبی و زرد متغیر است، مقادیر منفی b*نشان دهنده رنگ‌های آبی و مقادیر مثبت آن به منزله رنگ‌های زرد هستند.

تجزیه تحلیل آماری

تصاویر مربوط به تغییر رنگ توسط نرم افزار فتوشاپ CS7 به داده‌ای Lab تبدیل شدند. تجزیه تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS۲۲ انجام شد. برای مقایسه کلی پارامترها همچنین از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن (در سطح ۵ درصد) سپس برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel ۲۰۱۶ استفاده شد.

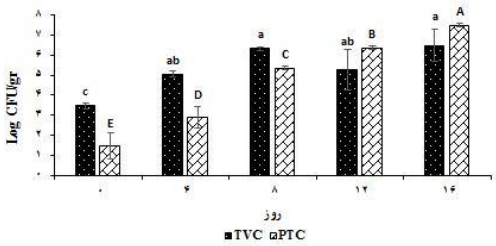
نتایج و بحث

تغییرات باکتریایی

همانطوریکه در شکل ۱ مشخص شده است، تعداد باکتری‌های مزوفیلTVC در روز صفر برابر با Log ۳/۴۷۳CFU/gr گوشت چرخ شده ماهی کیلکا بود که در طول دوره روند افزایشی داشت و بیشترین مقدار آن مربوط به انتهای دوره نگهداری با تعداد Log CFU/gr ۶/۴۹۷ بوده است (p<۰/۰۵). شمارش باکتری‌های سرمادوست نشان داد که در روز صفر تعداد بار باکتریایی سرمادوست PTC برابر با Log CFU/ gr ۱/۴۷۳ گوشت چرخ شده ماهی بود و در طول دوره نگهداری در یخچال روند افزایشی نشان داد که این روند افزایشی معنی‌دار نیز بود (p<۰/۰۵). حد مجاز برای شاخص میکروبی Log cfu / gr $۱۰^{۷}$ می‌باشد که در طول نگهداری گوشت چرخ شده ماهی این شاخص کمتر از این محدوده بوده است (ICMSF, 2002). افزایش بار کل باکتری برای هر تیمار در طول دوره نگهداری به میزان دستکاری، میزان رعایت اصول بهداشتی در روش‌های عمل‌آوری و میزان اولیه باکتری بستگی دارد. تعداد کل باکتری‌های مزوفیل اولیه برای گونه‌های مختلف آب شیرین Log cfu / gr ۶-۲ پیشنهاد شده است (Gimenez *et al*., 2002; Arashisar *et al*., 2014) و میزان بار باکتریایی اولیه نشان‌دهنده فلور میکروبی و وضعیت بهداشتی آب محل

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.17.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119411]

زندگی ماهی است. گروه اصلی میکروارگانیسم‌های مسئول فساد ماهی تازه نگهداری شده به صورت سرد، باکتری‌های سرمادوست گرم منفی هستند.



شکل ۱: تغییرات بار باکتریایی کل و باکتری سرمادوست در طول دوره نگهداری.
وجود حروف متفاوت در هر ستون نشان از وجود اختلاف معنی دار آماری است (p<۰/۰۵)

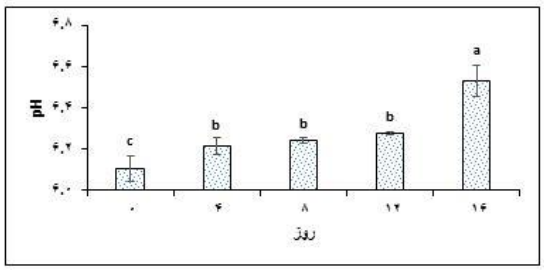
Figure 1: The total bacterial load changes and cool bacteria during storage

این باکتری‌ها قادرند در صفر درجه سلیسیوس یا بیشتر فعالیت نموده و تکثیر پیدا کنند. و باکتری‌ها پس از گذراندن فاز سکون یا فاز تاخیری Lag Phase و عادت به محیط، به سرعت وارد فاز لگاریتمی شده و در شرایط بی هوازی تکثیر یابند بطوریکه که تعداد آنها بسرعت تا 10^{8}-10^{9} در هرگرم عضله یا سانتی متر مربع پوست می‌رسد (Kuswandi *et al*., 2011). افزایش تعداد باکتری‌ها در محیط یخچال معمولاً با تغییرات کیفی همراه است. با این حال عمده تغییرات بوجود آمده ناشی از دو جنس غالب سودوموناس و آلترموناس است که دلیل آن کوتاه‌تر بودن زمان تکثیر در درجه حرارت پایین‌تر نسبت به سایر گونه ها می‌باشد (رضوی شیرازی، ۱۳۸۶). تغییرات باکتریایی از عوامل اصلی تولید گازهای ناشی از تغییر کیفیت محصول غذایی در طول نگهداری هستند. با افزایش دوره نگهداری تجمع گازهای موجود در بسته غذا افزایش می‌یابد و جذب این گازها توسط حسگرها می‌تواند یک کاندید مناسب برای تعیین مدت زمان نگهداری محصول غذایی باشد (Gimenez *et al*., 2002; Kuswandi *et al*., 2011). آمین‌ها گازهای اصلی تولیدی طی روند فساد میکروبی هستند که این گازها به همراه سایر گازهای تولیدی، عوامل اصلی بوی بد ناشی از فساد محصول غذایی هستند که انواعی از حسگرها مثل حسگرهای الکترونیکی (Zaragozá *et al*., 2014)، بیوحسگرها (Kuswandi *et al*., 2011) با مکانیسم‌های مختلف قادر به جذب این گازها هستند و حضور آنها را در محیط نشان می‌دهند.

تغییرات pH

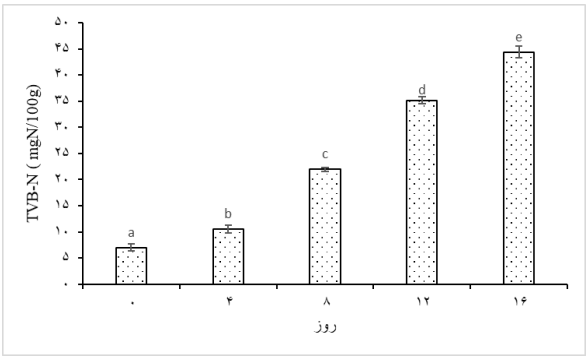
همانطوریکه در شکل ۲ نشان داده شده است، pH در طول دوره نگهداری در حال تغییر بوده و بیشترین مقدار آن مربوط به روز آخر دوره نگهداری (روز ۱۶) با مقدار ۶/۸۲ بوده است و اختلاف معنی‌داری نیز با سایر روزها نیز مشاهده شد (p<۰/۰۵). مقدار pH گوشت ماهی بر حسب گونه آبزی متغیر است. از اینرو، هر چند pH شاخص دقیق و مناسبی برای تعیین تازگی و کیفیت اغلب آبزیان نیست، اما به عنوان یک شاخص تکمیل کننده برای سایر پارامترها استفاده می‌شود (Varlik *et al*., 1993; Zaragozá *et al*., 2014). pH بالاتر از ۷ نشانه فساد ماهی می‌باشد (استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۲۸، ۱۳۸۶) که بر این اساس میزان pH در تمام تیمارهای مورد مطالعه طی دوره نگهداری در محدوده مجاز بوده‌اند.
pHاز جمله فاکتورهای موثر بر رشد میکروبی و فساد غذاهاست و در عین حال می‌تواند متاثر از فعالیت‌های میکروبیولوژیک باشد. pH عضلات ماهی زنده عموماً کمتر از ۷ بوده و مقدار آن ۷-۶/۵ است که با تغییر فصل، تغذیه و درجه حرارت بدن ماهی تغییر می‌کند (Kuswandi *et al*., 2015). تجزیه ترکیبات نیتروزنی در طول نگهداری ماهی منجر به افزایش pH گوشت می‌شود که بخشی از این افزایش ممکن است مرتبط با تشکیل آمین‌هایی از قبیل آمونیاک و تری متیل آمین به دلیل تجزیه پروتئینی باشد که نشانگر رشد باکتری‌ها، کاهش کیفیت و در نهایت فساد ماهی است (Mohan *et al*., 2008).

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.17.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119411]



شکل ۲: نمودار مربوط به تغییرات pHدر طول دوره نگهداری در دمای یخچال
وجود حروف متفاوت در هر ستون نشان از وجود اختلاف معنی دار آماری است (p<۰/۰۵) و حروف یکسان نشان از عدم اختلاف معنی دار آماری است (p>۰/۰۵).

Figure 2: Diagram of pH changes during storage at refrigerator temperature



شکل ۳: نمودار مربوط به تغییراتTVB-N در طول دوره نگهداری در دمای یخچال
وجود حروف متفاوت در هر ستون نشان از وجود اختلاف معنی دار آماری است (p<۰/۰۵).

Figure 3: charts the changes TVB-N during storage at refrigerator temperature

تغییرات TVB-N

مجموع بازهای نیتروژنی آزاد TVB-N عموما به رشد باکتری‌ها و فعالیت آنزیم‌های باکتریایی بر سویستراهای پروتئینی مربوط می‌شود که با تخریب پروتئین‌ها و شکستن اسیدهای آمینه همراه می‌باشد (Listyarini *et al*., 2017 ; Dudnyk *et al*., 2018 ; بهرامی‌فر و همکاران، ۱۳۹۵). سطح مجموع بازهای نیتروژنی آزاد TVB-N به عوامل مختلفی از قبیل تولید آمین‌های مختلفی از قبیل آمونیاک، هیستامین، پوتریسین، کادوارین و... بستگی دارد که تمامی این ترکیبات از تخریب پروتئین‌های موجود در گوشت حاصل می‌شوند (Kusawandi *et al*., 2011). با توجه به شکل ۳ مقدار این شاخص در طول نگهداری در یخچال روند افزایشی داشت ($p<0.05$). مقادیر مختلفی برای مقدار مجاز این شاخص ۳۰ mg N/100g است (Connell, 1990). تغییر در مقدار این شاخص به عوامل مختلفی بستگی دارد و عوامل مهمی از قبیل فعالیت باکتریایی، خود گونه جاندار و شرایط نگهداری بر مقدار این شاخص تاثیرگذارند (Zaragozá *et al*., 2014).

تغییرات رنگ حسگر و شاخص های Lab

نتایج این شاخص متناسب با جذب گازهای حاصل از فساد درون بسته توسط حسگرها تغییر می‌کند. با افزایش فساد، رهایش گازها به درون بسته بیشتر می‌شود و این امر می‌تواند سبب تغییر رنگ حسگرها شود. همانطوریکه در جدول ۱ مشخص است، شاخص روشنایی*L در حسگرهای برموفنول آبی بر پایه کاغذ صافی و بر پایه فیلم کیتوزان در طول نگهداری گوشت چرخ شده ماهی روند کاهشی نشان داده است که می‌توان آن را به جذب گازهای حاصل از فساد توسط حسگرها و تغییر pH در آنها نسبت داد. اما این شاخص در برموکروزول سبز روند مرتبی نشان نداد. شاخص *a نیز در حسگرهای برموفنول آبی بر پایه کاغذ صافی و بر پایه فیلم کیتوزان در طول نگهداری گوشت چرخ شده ماهی روند کاهشی نشان داده است. این شاخص در حسگر برموکروزول سبز روند افزایشی نشان داد که این اتفاق به ماهیت این شناساگر بازمی‌گردد. زیرا این حسگر در محیط‌های قلیایی بدین گونه عمل می‌کند. شاخص *b در طول دوره نگهداری در تمامی حسگرها روند کاهشی نشان داده است که نشان دهنده قلیایی شدن تمام حسگرها می‌باشد. تغییرات رنگی ایجاد شده در تمام حسگر به تولید ترکیبات حاصل از فساد باکتریایی، اکسداسیونی و شیمیایی بازمی‌گردد.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.17.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119411]

جدول۱: تغییرات شاخص های رنگیLab حسگرها در طول نگهداری گوشت چرخ شده ماهی در یخچال

Table 1: Changes in Color Indicators Lab Sensors during the storage of minced meat in the refrigerator

روز	حسگرها	L	a	b	تصویر
	Br Blue	۲۴/۶۶	۷/۶۶	۲۵/۳۳	
۰	Br Green	۵۵	-۱۳/۳۳	-۵/۶۶	
	Br B Chitosan	۳۷	۶/۳۳	۳۸/۶۶	
	Br Blue	۲۱/۳۳	۳/۶۶	۱۶/۶۶	
۴	Br Green	۵۲/۳۳	-۱۱/۳۳	-۱۰/۳۳	
	Br B Chitosan	۲۴	۱/۳۳	۲۹	
	Br Blue	۱۹/۶۶	۲/۳۳	۱	
۸	Br Green	۵۳/۶۶	-۸/۳۳	-۹/۳۳	
	Br B Chitosan	۲۴	-۰/۶۶	۲۹/۶۶	
	Br Blue	۱۸/۶۶	۲/۳۳	۰/۳۳	
۱۲	Br Green	۴۹	-۷/۶۶	-۵/۳۳	
	Br B Chitosan	۲۳/۳۳	-۰/۳۳	۲۹	
	Br Blue	۱۲/۳۳	۱/۳۳	-۴	
۱۶	Br Green	۵۲/۶۶	-۶/۳۳	-۵/۳۳	
	Br B Chitosan	۱۸/۳۳	-۱/۶۶	۲۵/۶۶	

Br Blue: Bromophenol blue
Br Green: Bromocresol green
Br B Chitosan: Bromophenol blue Chitosan.

گروهی از این ترکیبات تولیدی، ترکیبات آمینی هستند که موجب قلیایی شدن محصول و اتمسفر داخل بسته‌ی غذا می‌شوند. در ادامه، نتایج تغییرات رنگی ایجاد شده در حسگرها با نتایج حاصل از مطالعات Kuswandi و همکاران (۲۰۱۵) و Kuswandi و همکاران (۲۰۱۱) همسو می‌باشند.

تعیین همبستگی شاخص‌های فساد میکروبی با شاخص ΔE

همانطوریکه در جدول ۲ مشاهده می‌شود، میزان همبستگی بین شاخص‌ها متفاوت است و بالاترین نتایج همبستگی بین شاخص‌های مختلف و تغییر رنگ حسگرها در حسگر برموفنول آبی بالاترین همبستگی مشاهده شد و در تمامی حسگرها همبستگی‌های بدست آمده مقدار بالای مثبت ۵۰ درصد بوده که نشان از همبستگی بالا و

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.17.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119411]

مناسب است و در تمامی آنها همبستگی‌ها معنی‌دار بوده است ($p<0.05$). این نتایج حاکی از آن است که از فساد میکروبی می‌تواند به عنوان یک شاخص مناسب برای شاخص تازگی در ساخت حسگرها مورد استفاده قرار گیرد. امروزه در مطالعات مختلفی مشاهده شده که به جای اینکه تنها یک حسگر برای تعیین تازگی مورد استفاده قرار گیرد، از مجموعه‌ای از حسگرها استفاده می‌شود که به طور کلی به مجموع آنها "پد" گفته می‌شود. از مزایای بکار بردن همزمان چند حسگر برای تعیین تازگی دقت بالاتر و کاهش خطای تعیین تازگی با استفاده از شاخص تغییر رنگ است Kuswandi and Nurfawaidi, 2017).

جدول۲: میزان همبستگی شاخص‌های فساد میکروبی با شاخص ΔE

Table 2: The correlation between microbial spoilage indices with the index ΔE.

حسگرها	شاخص‌ها			
	TVB-N	PTC	TVC	pH
Br Blue	۰/۹۱۲	۰/۹۴۱	۰/۹۸۹	۰/۷۷۹
Br B Chitosan	۰/۷۳۸	۰/۷۶۳	۰/۸۰۶	۰/۷۴۹
Br Green	۰/۶۶۹	۰/۶۸۲	۰/۷۵۵	۰/۵۲۸

Br Blue: Bromophenol blue
Br Green: Bromocresol green
Br B Chitosan: Bromophenol blue Chitosan.

نتیجه‌گیری

در طول نگهداری ماهی یا فرآورده‌های حاصل از آن شروع به کاهش کیفیت می‌کنند. کاهش کیفیت آنها با تجزیه سوبستراهای پروتئین‌ها و چربی‌ها توسط ارگانیسم‌های مختلفی آغاز می‌شود و در ادامه با تولید ترکیبات مختلفی از قبیل ترکیبات نیتروژن‌دار ادامه می‌یابد. حسگرهای ساخته شده با جذب ترکیبات حاصل از فساد مواد غذایی یونیزه شده و دچار تغییر pH می‌شوند و این حسگرها تغییر کیفیت را با تغییر رنگ نشان می‌دهند. همچنین نتایج حاصل از همبستگی نشان داد که حسگرهای ساخته شده، دارای قابلیت تعیین تازگی گوشت چرخ شده ماهی کیلکای بسته بندی شده هستند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت.

منابع

استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۲۸ ، ۱۳۸۶. گوشت و فرآورده‌های آن. اندازه گیری pH . صفحات ۸-۱.

بهرامی فر ، م.، رومیانی ، ل.، و عسکری ساری ، ا.، ۱۳۹۴. مطالعه تاثیر انواع بسته بندی برماندگاری فیله کپورعلفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) در دمای یخچال ۴ درجه سانتی گراد. مجله علمی شیلات ایران، ۲۵(۳): ۷۲-۶۳.

بهمنی، ذ.، خانی پور، ع.، ارومیه ای، ع.، مطلبی، ع.، ۱۳۹۵. بررسی عملکرد شناساگر تازگی در بسته‌بندی هوشمند فیله قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی مدت نگهداری در یخچال. مجله علمی شیلات ایران ، ۲۵(۳): ۱۲۱-۱۳۲.

رضوی شیرازی، ح.، ۱۳۸۰ تکنولوژی فرآورده‌های دریایی. انتشارات نقش مهر. ۲۹۲ صفحه.

سالنامه آماری سازمان شیلات ایران، ۱۳۹۵ . سازمان شیلات ایران معاونت برنامه ریزی و توسعه مدیریت، دفتر برنامه و بودجه. ۶۴ صفحه.

مجدی‌نسب، م.، سپیدنامه، م.، نگهداری فر، م.، ۱۳۹۶. تشخیص فساد ماهی قزل آلا (*Salmo trutta*) در طول نگهداری با استفاده از یک سنسور رنگ سنجی کاغذی ساده. علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۵ (۷۷): ۳۰۲-۲۹۳

Alasalvar, C., Shahidi, F., Miyashita, K. and Wanasundara, U., 2010. Seafood quality, safety, and health applications: an overview. Handbook of seafood quality, safety and health applications, pp.1-10.

Arashisar, Ş., Hisar, O., Kaya, M. and Yanik, T., 2014. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorynchus mykiss*)

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.17.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119411]

fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 97(2): 209-214. DOI: 10.1016 /j.ijfoodmicro.2004.05.024

Connell, J.J., 1990. Control of Fish Quality. Published by Fishing News Book. 3rd edition, 122-150

Dudnyk, I., Janeček, E.R., Vaucher-Joset, J. and Stellacci, F., 2018. Edible sensors for meat and seafood freshness. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 259: 1108-1112. DOI: 10.1016/j.snb.2017.12.057

Gimenez, B., Roncales, P. and Beltran, J.A., 2002. Modified atmosphere packaging of filleted rainbow trout. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(10): 1154-1159. DOI: 10.1002/jsfa.1136

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), 2002. Micro-organisms in foods 7, microbiological testing in food safety management. Kluwer/ Plenum /Springer, London.

Jorjani, S., 2014. Chemical composition and fatty acid profile of common kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*). *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 12(1): 119-128.

Kakaei, S. and Shahbazi, Y., 2016. Effect of chitosan-gelatin film incorporated with ethanolic red grape seed extract and *Ziziphora clinopodioides* essential oil on survival of *Listeria monocytogenes* and chemical, microbial and sensory properties of minced trout fillet. *LWT-Food Science and Technology*, 72: 432-438. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.05.021

Kuswandi, B. and Nurfawaidi, A., 2017. On-package dual sensors label based on pH indicators for real-time monitoring of beef freshness. *Food Control*, 82: 91-100. Doi: 10.1016/j.foodcont.2017.06.028

Kuswandi, B., Wicaksono, Y., Abdullah, A., Heng, L.Y. and Ahmad, M., 2011. Smart packaging: sensors for monitoring of food quality and safety. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, *5*(3-4), pp.137-146. DOI: 10.1007/s11694-011-.

Kuswandi, B., Larasati, T.S., Abdullah, A. and Heng, L.Y., 2012. Real-time monitoring of shrimp spoilage using on-package sticker sensor based on natural dye of curcumin. *Food Analytical Methods*, *5*(4), pp.881-889. DOI: 10.1007/s12161-011-

Kuswandi, B., Damayanti, F., Jayus, J., Abdullah, A. and Heng, L.Y., 2015. Simple and low-cost on-package sticker sensor based on litmus paper for real-time monitoring of beef freshness. *Journal of Mathematical and Fundamental Sciences*, *47*(3), pp.236-251. DOI: 10.5614%2Fj.math.fund.sci.2015.47.3.2

Listyarini, A., Sholihah, W., Imawan, C. and Fitriana, R., 2017. August. Colorimetrie method by using natural dye for monitoring fish spoilage. In *2017 International Seminar on Sensors, Instrumentation, Measurement and Metrology (ISSIMM)* (pp. 141-145). IEEE. DOI: 10.1109/ISSIMM.2017.8124279

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.17.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119411]

Mohan, C.O., Ravishankar, C.N. and Srinivasagopal, T.K., 2008. Effect of O2 scavenger on the shelf-life of catfish (*Pangasius sutchi*) steaks during chilled storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(3): 442-448. DOI: 10.1002/jsfa.3105

Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. and Hosseini, S.M.H., 2010. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, *122*(1), pp.161-166. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2010.02.033

Ovissipour, M., Rasco, B., Shiroodi, S.G., Modanlow, M., Gholami, S. and Nemati, M., 2013. Antioxidant activity of protein hydrolysates from whole anchovy sprat (*Clupeonella engrauliformis*) prepared using endogenous enzymes and commercial proteases. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(7):1718-1726. DOI: 10.1002/JSFA.5957

Perafkandeh, F. and Keymaram, F., 2012. Evaluation and determine the amount of recoverable reserves of Clupeonella cultriventris caspia (Svetovidov, 1941) in the the southern Caspian Sea, Journal of Marine Science and Technology, 11(3): 16-24.

Prietto, L., Mirapalhete, T.C., Pinto, V.Z., Hoffmann, J.F., Vanier, N.L., Lim, L.T., Dias, A.R.G. and da Rosa Zavareze, E., 2017. pH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. *LWT, 80,* pp.492-500. DOI: 10.1016/J.LWT.2017. 03.006

Silvestre, C., Duraccio, D. and Cimmino, S., 2011. Food packaging based on polymer nanomaterials. *Progress in polymer science*, *36*(12), pp.1766-1782**.** DOI: 10.1016 J.PROGPOLYMSCI.2011.02.003

Varlik, C., Ugur, M., Gokoglu, N. and Gun, H., 1993. Quality control methods and principals for aquaculture. Istanbul Society of Food Technology, 17, 98. .

Zaragozá, P., Fernández-Segovia, I., Fuentes, A., Vivancos, J.L., Ros-Lis, J.V., Barat, J.M. and Martínez-Máñez, R., 2014. Monitorization of Atlantic salmon (Salmo salar) spoilage using an optoelectronic nose. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *195*, pp.478-485. DOI: 10.1016/J.SNB.2014.01.017

Zhai, X., Shi, J., Zou, X., Wang, S., Jiang, C., Zhang, J., Huang, X., Zhang, W. and Holmes, M., 2017. Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roselle anthocyanins for fish freshness monitoring. *Food hydrocolloids*, *69*, pp :308-317. DOI: 10.1016/J.FOODHYD.2017.02.014.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.17.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119411]

Comparison of the performance of bromophenol blue and bromocresol green Sensors in determining the microbial spoilage of (*Clupeonella cultriventris caspia*) stored in the refrigerator

Naghdi Sh.[1]; Rezaei M.[1*]; Bahramifar N.[2]

[*]rezai_ma@modares.ac.ir

1- Seafood Processing Department, Marine Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
2- Environment Department, Marine Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1398.28.4.17.4]
[DOI: 10.22092/ISFJ.2019.119411]

Abstract

In this study, a sensor based on chitosan biofilm with bromophenol blue and bromocresol green sensors based on filter paper were used to determine the bacterial quality of common Kilka fish mince in refrigerated temperature. The total viable bacterial count (TVCs) on day zero was 3.473 log CFU / gr, which at the end of the storage period was changed to 6.497 log CFU / gr ($p < 0.05$). The psychrotrophic bacterial counts (PTCs) at the beginning storage time was a 1.473 log CFU / gr and increased during the refrigerated storage time and achieved to 7.516 log CFU / gr ($p < 0.05$). Total volatile basic nitrogen (TVB-N) at the beginning of the storage period was 7.01mg N/100g, which increased to 44.348 mg N/100g at the end of the storage ($p < 0.05$). The pH during storage time changed from 6.105 to 6.827 ($p < 0.05$). The correlation among microbial, chemical and color change values (ΔE) was different, and the highest correlation was observed in bromophenol blue indicator, which correlates with TVCs, The PTCs, TVB-N and pH were 0.941, 0.989, 0.912 and 0.779, respectively ($p < 0.05$). Based on the results of this study, it was found which bacterial and chemical changes spoilage in the minced fish package was simultaneous with the sensors color change and they show a quality decrease as form color change.

Keywords: Sensor freshness, Chitosan, Bacterial spoilage, Chemical spoilage, Mince fish

[*]Corresponding author