

# نشانگر رنگ سنجی pH بر پایه ضایعات مواد گیاهی برای پایش روند فساد مواد پروتئینی

فاطمه سرایلو، الهام باهر\*

گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

**چکیده:** در صنایع غذایی تولیدکننده مواد پروتئینی نظیر مرغ، ماهی، سوسیس و کالباس، بکارگیری روش های نوین بسته بندی هوشمند که قادر به افزایش زمان ماندگاری، کنترل و نمایش تغییرات در طی مدت نگهداری و حفظ کیفیت فراورده باشد، همواره جالب توجه بوده است. هدف از این پژوهش ارایه حسگر رنگ سنجی وابسته به pH است که علاوه بر سادگی، کم هزینه و بدون سمیت به جهت تشخیص فساد مواد پروتئینی در طی زمان نگهداری باشد. آزمایشات برای نمونه های پروتئینی در دو دمای محیط و دمای یخچال ( $4^{\circ}C$ ) انجام شده است. جهت ساخت این حسگر از کاغذ واتمن آغشته به عصاره های آبی دور ریز میوه جات و گیاهان استفاده گردید. رشد میکروارگانیسم ها در طول نگهداری مواد پروتئینی منجر به تجزیه آنها و تولید آمین های فرار می شود که با تجمع در محفظه بسته بندی باعث قلبایی شدن محیط می گردد که در نتیجه آن تغییر در رنگ کاغذ صافی آغشته به عصاره آبی با تغییر pH اتفاق خواهد افتاد. این تغییرات رنگ با استفاده از عکس برداری و آنالیز سیستم CIELab مورد بررسی قرار گرفت. همچنین مقادیر اندیس تیوباربیتوریک اسید، کل نیتروژن فرار آزاد شده مواد پروتئینی در طی مدت نگهداری، فنل کل عصاره های آبی بدست آمده از ضایعات گیاهی و تغییرات ظاهری نمونه ها، جهت بررسی همخوانی تغییر رنگ حسگر با پیشرفت روند انجام شد. نتایج بدست آمده همخوانی تغییر رنگ حسگر با روند پیشرفت فساد را تایید می کند.

**واژگان کلیدی:** حسگر رنگ سنجی، میزان ازت های فرار، اندیس تیوباربیتوریک اسید، شیمی سبز، حسگر pH

**KEYWORDS:** Colorimetric sensor, total volatile nitrogen, Thiobarbituric acid index, Green chemistry, pH sensor

## مقدمه

در مورد تازگی گوشت جهت جلوگیری از مسمومیت غذایی رو به افزایش است. بنابراین ارائه روش های قابل اطمینان برای ارزیابی کیفیت و بسته بندی مناسب جهت تایید تازگی مواد پروتئینی به نفع مصرف کنندگان و تولید کنندگان می باشد [۲]. به همین دلایل امروزه بسته بندی های هوشمند حاوی حسگرهای رنگ سنجی در بسته بندی مواد غذایی جهت تشخیص زود هنگام فساد و جلوگیری از

گوشت و فراورده های آن یکی از مهم ترین منابع غذایی مورد نیاز انسان به شمار می روند. علاوه بر نقش مهم گوشت در تأمین سلامتی انسان، این ماده یکی از فسادپذیرترین گروه های مواد غذایی را تشکیل می دهد. رعایت اصول صحیح بسته بندی علاوه بر افزایش ماندگاری این محصول نقش مهمی در کاهش ضایعات و افزایش سطح بهداشت جامعه دارد [۱]. از آن جایی که نگرانی مصرف کنندگان

\*Email: e.baheer@gu.ac.ir

\* عهده دار مکاتبات

آنتراکینون، پرداختند. با کمک دو رنگ حساس به pH از طریق اتصال کووالانسی به کاغذ سلولزی، حسگرهای رنگ سنجی طراحی شد. آنها در این بررسی دریافتند که مدل‌های چاپی به عنوان حسگرهای بسته‌بندی تغییر رنگ هوشمند می‌توانند در قضاوت طراوت مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرند.

*الناز نیک نام و همکاران* [۱۱] در پژوهش دیگری فرایند تشخیص فساد گوشت مرغ و میزان پیشرفت فساد شیمیایی و میکروبی آن توسط معرف های رنگی حاوی ورقه‌های شفاف پلی اتیلن با یک لایه میانی کاغذ صافی به همراه معرف های بروموکروزول گرین یا فنل رد مورد استفاده قرار دادند.

*عاطفه ابراهیمی و همکاران* [۱۲]، حسگرهای رنگی سازگار با محیط زیست برای تشخیص آسان و سریع آنالیت‌های گوناگون، در علوم محیطی طراحی نمودند. در این کار، از یک حسگر رنگی بر پایه نانوذرات نقره/نقره کلرید (Ag@AgCl NPs) اصلاح‌نشده برای تشخیص ساده و سریع یون‌های جیوه (II) استفاده شد. عصاره‌ی آبی میوه‌ی جم به عنوان عامل کاهنده و محدودکننده برای بیوستت نانوذرات Ag@AgCl مورد استفاده قرار گرفت.

در این تحقیق، هدف تهیه حسگر یکبار مصرف و کم هزینه، بمنظور شناسایی روند فساد در گوشت مرغ و سوسیس م باشد. این حسگر، یک حسگر رنگ‌سنجی وابسته به pH ارزان و ایمن بر پایه شیمی سبز است. از آنجایی که تهیه این گونه مواد کم هزینه بوده و تأثیری بر کیفیت مواد غذایی داخل بسته بندی ندارد، استفاده از آن در صنایع غذایی بسیار مناسب خواهد بود بخصوص آنکه بخاطر متابولیت‌های موجود در عصاره گیاهان از خواص ضد میکروبی آن جهت افزایش طول زمان نگهداری هم می‌توان بهره جست.

### بخش تجربی

#### مواد و دستگاه‌های مورد استفاده

مواد شیمیایی که در این آزمایشات استفاده شدند شامل: آمونیاک از شرکت ازنق شیمی، منیزیم اکسید از شرکت پرشیا پیامعدن، بوریک اسید از شرکت شیمی کانه ایرانیان، سولفوریک اسید از شرکت پتروآکام راد، بوتانول از شرکت صنایع شیمیایی آروین، اسید تیوباریتیوریک از شرکت مرک آلمان، استیک اسید گلاسیال از شرکت صنایع شیمیایی دکتر مجلی، گالیک اسید از شرکت نمادکالا، فولین از شرکت مرک آلمان، کاغذ صافی واتمنی شماره ۱ از شرکت نیکوشیمی و سدیم کربنات از شرکت بتنا

خطرات مسمومیت، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. استفاده از حسگرهای غیر الکتریکی در قالب یک بسته‌بندی هوشمند از موارد قابل توجه در صنعت مواد پروتئینی می‌باشد. شناساگرهای مورد استفاده در فرآورده های تشخیص فساد مواد پروتئینی شامل حسگر یکپارچه‌گی محصول، حسگر تازگی و حسگر زمان-دما می‌باشد که عملکرد هر کدام متفاوت می‌باشد. حسگرهای تازگی قادرند در مورد بروز تغییرات کیفی در محصول که حاصل از رشد میکروبی یا تغییرات شیمیایی است، اطلاعات مستقیمی را ارائه دهند [۳،۴].

بطور معمول حسگرهای الکتریکی از گیرنده های شیمیایی یا بیولوژیکی تشکیل شده اند که بطور اختصاصی برای شناسایی آنالیت هدف به همراه یک مبدل فیزیکی طراحی و ساخته شده‌اند که فرایند شناسایی را به سیگنالی قابل اندازه گیری تبدیل می‌کند و اطلاعات کمی و یا کیفی ایجاد می‌کند. این حسگرها برای آزمایش مواد اولیه، ارزیابی اصالت و شناسایی مواد اصلاح شده ژنتیکی، مواد آلرژی زا و آلودگی‌های بیماری‌زا یا شیمیایی قابل استفاده اند. اما حسگرهای یکبار مصرف ابزاری ارزان قیمت و ساده برای استفاده هستند. آنها اثرات حافظه را تجربه نمی‌کنند، قبل از استفاده نیاز به تمیز کردن و آماده سازی ندارند. با توجه به رشد تقاضا برای تجزیه و تحلیل در محل، بازار جهانی حسگرهای یکبار مصرف به سرعت در حال افزایش است [۵،۶]. تاکنون مقالات کمی در زمینه ساخت حسگرهای تازگی به چاپ رسیده است. *مجدی نسب و همکارانش* [۷] در طی پژوهشی برای تشخیص فساد ماهی در طی مدت نگهداری، حسگری بر پایه آنتوسیانین های استخراجی از کلم قرمز طراحی کردند.

*هاکوویرتا<sup>۱</sup> و همکارانش* [۸]، سنسور کاغذی در بسته‌بندی مواد غذایی با استفاده از ذرات ریز ساختار خاک دیاتومه، پلی وینیل الکل و رنگهای حساس به pH طراحی کردند. حساسیت این سنسور کاغذی با آمونیاک مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج خوبی بدست آمد اما مشکل این سنسور عدم توانایی در نشان دادن روند فساد در طی نگهداری بود. *اسکندر آبادی و همکارانش* [۹] در تحقیقی به موضوع تهیه و بررسی خواص پوشش های فعال هوشمند در نگهداری گوشت ماهی پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد که فیلم حاوی آنتوسیانین و عصاره رزماری بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی و ضدباکتری را داشته و ماندگاری طولانی تری برای گوشت ماهی فراهم نمودند.

*ژانگ و همکاران<sup>۲</sup>* [۱۰] در پژوهشی به بررسی حسگرهای رنگ سنجی هوشمند کاغذی برای بسته‌بندی ساخته شده از کروموفورهای حساس به pH مبتنی بر رنگهای واکنشی آزو

(۱) Hakovirta

(۲) Zhang

### اندازه‌گیری فنل کل

میزان فنل کل در عصاره‌ها به روش فولین سیو کالچو و با استفاده از دستگاه اسپکترومتر اندازه‌گیری شد. برای این منظور ابتدا به ۰/۱ گرم از هر یک از عصاره‌ها ۲ میلی‌لیتر متانول اضافه شد. سپس به ۵۰ میکرولیتر از هر یک از استانداردها و عصاره‌ها ۱۰۰ میکرو لیتر معرف فولین ۱۰٪ و ۲/۳ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در تاریکی قرار داده شدند. به مخلوط حاصل حدود ۶۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات ۱ مولار اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه درون حمام ۴۰ درجه سانتی‌گراد توام با تاریکی قرار داده شدند. سپس جذب آنها در ۷۵۰ نانومتر در مقابل شاهد قرائت شد. میزان فنل کل عصاره از روی میزان جذب نمونه و نمودار کالیبراسیون حاصله برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم عصاره خشک گیاه تعیین شد [۱۳].

### بررسی توانایی عصاره‌های بدست آمده برای تغییر رنگ در حضور اسید و باز

ابتدا از هر عصاره به میزان ۱۰ میلی‌لیتر در پلیت‌های شیشه‌ای بصورت جداگانه قرار گرفت و عکس برداری از هر عصاره جهت ثبت رنگ در pH های مختلف انجام شد. برای بررسی رنگ در محیط اسیدی به هر عصاره دو قطره سولفوریک اسید ۳ M (بعنوان اسید قوی) اضافه شد و تغییر رنگ آن‌ها در محیط اسیدی ثبت شد. برای ثبت رنگ در محیط بازی به هر عصاره دو قطره آمونیاک ۳ M (بعنوان باز مشابه با ساختار آمین‌ها) افزوده شد و تغییر رنگ آن‌ها در محیط بازی ثبت شد. براساس مقایسه شدت تغییر رنگ هر عصاره در محیط اسیدی و بازی، عصاره گل شمعدانی قرمز بیشترین میزان تغییر رنگ در محیط اسیدی و بازی و با دو رنگ کاملاً واضح و مشخص نشان داد. تصاویر ثبت شده بصورت داده‌های اضافی ارسال شده است.

### تعیین پارامترهای رنگ سنجی

روشی ساده جهت اندازه‌گیری رنگ استفاده از مدل Lab یا CIELab است. فضای رنگی CIELab یک استاندارد جهانی برای اندازه‌گیری رنگ است که در سال ۱۹۶۷ توسط کمیسیون بین‌المللی روشنایی پذیرفته شده است. \*L مولفه روشنایی یا شفافیت می‌باشد که محدوده آن از ۰ تا ۱۰۰ می‌باشد و پارامتر \*a (از سبزی تا قرمزی) و \*b (از آبی تا زردی) دو مولفه رنگی هستند که محدوده آن نامحدود است ولی در اغلب مقالات محدوده آنها از ۱۲۰ الی ۱۲۰- ذکر شده است. از نظر اقلیدسی فاصله بین دو نقطه رنگی در

می‌باشند. دستگاه‌های مورد استفاده شامل: طیف سنجی نوری دو پرتوی مرئی-فرابنفش (UV-2100)، ترازو دیجیتال (Quintix 224)، هیتر-استیرر (Hs-860) و دستگاه pH متر.

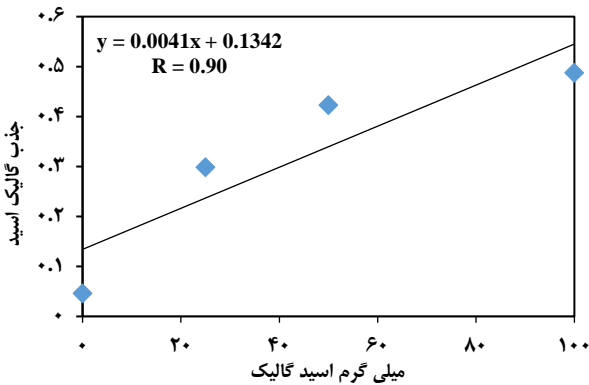
### آماده‌سازی نمونه‌های پروتئینی

نمونه‌ها شامل سوسیس و گوشت مرغ تازه بصورت جداگانه هموژن گردید. برخی نمونه‌ها در یخچال و برخی بیرون از یخچال نگهداری شدند. در هر بار اندازه‌گیری، ۵۰ گرم از نمونه مرغ و سوسیس هموژن شده با دقت توزین شد و درون پلیت‌های ۸ سانتی‌متری قرار گرفت و سپس کاغذ صافی‌های آغشته به عصاره آبی در قسمت پایین درب پلیت چسبانده شدند. به منظور جلوگیری از خروج ترکیبات فرار حاصل از فساد گوشت مرغ و سوسیس دور پلیت‌ها به صورت کامل با سلفون پوشانده شد. تغییرات رنگی کاغذ صافی آغشته به عصاره آبی به مدت ۱۷ روز در دمای یخچال و ۶ روز در دمای محیط مورد بررسی قرار گرفت. در این بازه زمانی آزمایشات دیگری جهت بررسی روند فساد، بر روی نمونه‌ها انجام شد. جهت بررسی تغییرات ظاهری نمونه‌های گوشت مرغ و سوسیس مانند رنگ و بو و شکل بافت، از هر نمونه هموژن شده به میزان ۵۰ گرم درون پلیت‌های پهن و درب‌دار قرار گرفت. نمونه‌ها به مدت ۳ هفته در یخچال و در محیط نگهداری شدند. در طی این مدت عکس‌برداری انجام شد.

### آماده‌سازی عصاره آبی ضایعات میوه و گیاهان

ابتدا ضایعات و دور ریز گیاهان (برگ به *Cydonia oblonga*)، برگ خرمالو (*date-plum*)، تربچه (*Raphanus sativus*)، برگ گردو (*Juglans regia*)، پوست انار (*Punica granatum*)، گلبرگ گل شمعدانی قرمز (*Pelargonium zonal*)، گلبرگ گل شمعدانی صورتی (*Pelargonium Pink*)، گل یخ (*Chimonanthus*) و پوست بادمجان (*Solanum melongena*) جمع‌آوری شده و در فضایی بدون رطوبت و تاریک خشک شدند. نمونه‌ها بعد از خشک شدن آسیاب شده و بصورت مجزا بسته بندی شدند.

مقدار ۲۵-۳۰ گرم از هر یک از ضایعات گیاه توزین شد و درون بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری به میزانی که آب مقطر روی پودرهای آسیاب شده را بگیرد قرار گرفت. بشر حاوی نمونه توسط فویل آلومینیومی پوشیده شد و به مدت ۲۴ ساعت روی استیرر قرار داده شد و سپس عصاره‌ها پس از دو مرحله سانتریفیوژ و عبور از کاغذ صافی جمع‌آوری و در یخچال نگهداری گردید.



شکل ۱ - منحنی کالیبراسیون گالیک اسید

گرفتند. در پایان جذب آن‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنجی جذبی uv-visible اندازه‌گیری شد. جذب نمونه شاهد نیز خوانده شد و میزان جذب با استفاده از معادله (۲) برای محاسبه اندیس تیوباربتوریک اسید که معادل میلی‌گرم مالون آلدئید در یک کیلوگرم نمونه است استفاده گردید. این آزمایش برای هر نمونه سه مرتبه تکرار شد.

$$TBA(mgMDA/Kg) = 50 \times (A_s - A_b) / 200 \quad (2)$$

در این معادله  $A_s$ : میزان جذب نوری نمونه‌ها و  $A_b$ : میزان جذب نوری محلول استاندارد تیوباربتوریک اسید می‌باشد.

## نتیجه‌ها و بحث

### ارزیابی فنل کل

برای رسم منحنی کالیبراسیون گالیک اسید، غلظت‌های ۰.۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ mg/mL آماده و پس از انجام مراحل مختلف مطابق روش ذکر شده مقدار جذب ثبت و نمودار کالیبراسیون برحسب میلی‌گرم گالیک اسید رسم شد. شکل ۱ منحنی کالیبراسیون گالیک اسید را نشان می‌دهد. مقدار فنل کل موجود در عصاره برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره محاسبه و در جدول ۱ آمده است. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود گل شمعدانی قرمز دارای بیشترین مقدار فنل کل می‌باشد و این امر توانایی بیشتر عصاره آن برای تغییر رنگ با تغییر pH را تایید می‌نماید.

### تعیین فاکتورهای $L^*$ (روشنایی) $a^*$ (قرمزی-سبزی) $b^*$ (زرد-آبی)

جداول ۲ و ۳ میزان تغییر در فاکتور رنگی  $L^*$  (روشنایی)،  $a^*$  (قرمزی-سبزی) و  $b^*$  (زرد-آبی) حسگر را طی دوره نگهداری نمونه‌های مرغ و سوسیس به ترتیب در دمای یخچال و دمای محیط نشان می‌دهد.

مدل  $L^*a^*b^*$  با فاصله‌ای که چشم انسان آن را تشخیص می‌دهد تقریباً برابر است. این فضا مستقل از دستگاه است و رنگ به صورت عدد ثابتی بیان می‌شود به همین دلیل از آن در اغلب مطالعات مواد غذایی استفاده می‌شود [۱۶-۱۴]. برای عکس‌برداری از دوربین ۴۸ مگاپیکسل با وضوح  $۱۰۸۰ \times ۲۴۰۰$  و برای تعیین پارامترهای رنگی  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  از نرم افزار گرافیکی فتوشاپ ۸ استفاده شد. بدین منظور حسگرهای تهیه شده جهت عکس‌برداری در یک محفظه جعبه‌ای به ابعاد  $۵۰ \times ۵۰ \times ۶۰$  سانتی متر با زمینه سفید قرار داده شد.

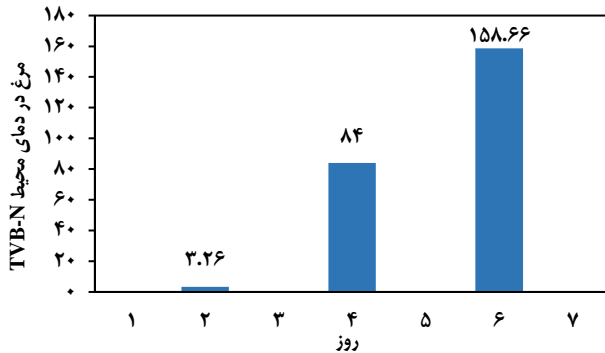
### اندازه‌گیری میزان ترکیبات نیتروژن دار فرار با روش کجل‌دال

یکی از روش‌های شیمیایی جهت تعیین فساد مواد پروتئینی اندازه‌گیری میزان ازته‌های فرار است (TVB-N). به منظور اندازه‌گیری مواد ازته فرار از روش کجل‌دال استفاده شد. در این روش به میزان ۱۰ گرم نمونه هموژن به همراه ۲ گرم منیزیم اکسید به همراه ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، چند قطعه سنگ جوش و چند قطره پارافین (به عنوان ضدکف) در بالن ته گرد قرار گرفت و به مبرد متصل شد. در انتهای مبرد ارلن حاوی چند قطره متیل رد و ۱۰ میلی‌لیتر بوریک اسید ۲٪ جهت جمع‌آوری نمونه قرار گرفت. زمان تقطیر ۴۰ دقیقه در نظر گرفته شد. پس از پایان تقطیر نمونه جمع‌آوری شده، توسط سولفوریک اسید  $N \ 0.1$  تیترو و مقدار اسید مصرفی یادداشت شده و طبق معادله (۱) میزان مواد ازته فرار بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت محاسبه گردید. همچنین pH نمونه‌های جمع‌آوری با دستگاه pH متر اندازه‌گیری گردید [۱۷، ۱۸].

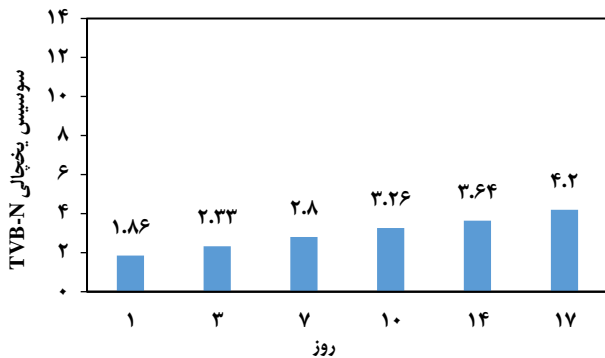
$$TVN(mg/100g) = \frac{1/4 \times 100 \times \text{مقدار اسید مصرفی بر حسب میلی‌لیتر}}{\text{نمونه وزن}} \quad (1)$$

### اندازه‌گیری اندیس تیوباربتوریک اسید (TBA)

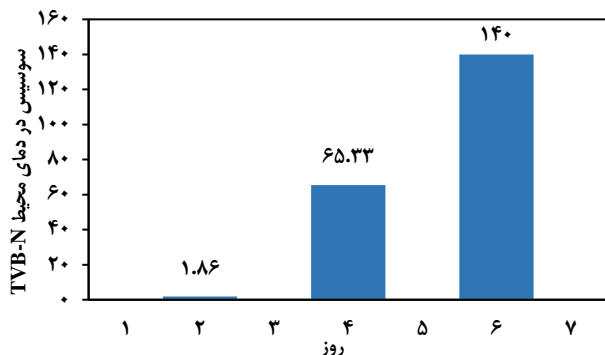
شاخص تیوباربتوریک اسید مربوط به اندازه‌گیری مالون آلدئید است که محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشند [۲۱-۱۹]. این تست برای نمونه هموژن شده مرغ و سوسیس انجام شد. بدین منظور ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه هموژن شده به همراه ۲۵ میلی‌لیتر بوتانول و ۵ میلی‌لیتر معرف تیوباربتوریک اسید در بشر قرار گرفت. برای ساخت شاهد، ۲۵ میلی‌لیتر بوتانول به همراه ۵ میلی‌لیتر معرف تیوباربتوریک اسید درون بشرهای ۱۰۰ میلی‌لیتری قرار گرفت. نمونه‌های ساخته شده به همراه شاهد به مدت ۹۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند و سپس ۱۰ دقیقه در حمام آب یخ قرار



شکل ۳ - تغییرات TVB-N مرغ در دمای محیط برحسب روز



شکل ۴ - تغییرات TVB-N سوسیس در دمای یخچال برحسب روز



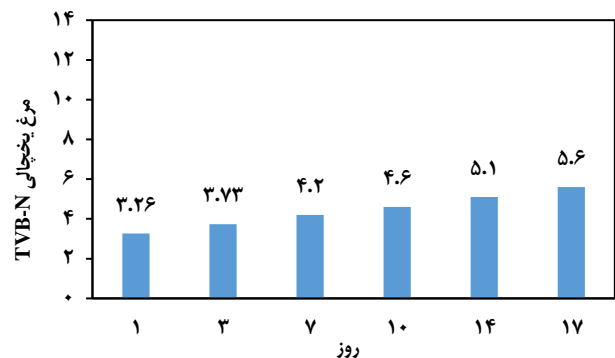
شکل ۵ - تغییرات TVB-N سوسیس در دمای محیط برحسب روز

### میزان ترکیبات ازته فرار

یکی از مهم‌ترین شاخص‌های اندازه‌گیری کیفیت فرآورده‌های پروتئینی میزان ترکیبات ازته فرار آن می‌باشد. این ترکیبات شامل آمونیاک و آمین‌های نوع اول و دوم و سوم هستند. شکل ۲ تا ۵ میزان تغییرات TVB-N را برای نمونه مرغ و سوسیس یخچالی و دمای محیط در روزهای مختلف نگهداری آن‌ها را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، برای نمونه گوشت مرغ در دمای محیط بعد از ۶ روز به ۱۵۸/۶۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم گوشت رسید و برای نمونه سوسیس

جدول ۱ - مقادیر فنل کل اندازه‌گیری شده در عصاره

نام عصاره‌ها	مقدار فنل کل (میلی‌گرم برحسب گالیک اسید در ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره)
پوست انار	$53/12 \pm 0/65$
پوست تربچه	$37/51 \pm 0/23$
برگ خرما	$76/46 \pm 0/88$
گل یخ	$47/02 \pm 0/83$
گل شمعدانی صورتی	$68/48 \pm 0/78$
گل شمعدانی قرمز	$82/14 \pm 0/22$
پوست بادمجان	$58/73 \pm 0/61$
برگ گردو	$46/53 \pm 0/49$
برگ به	$45/07 \pm 0/77$



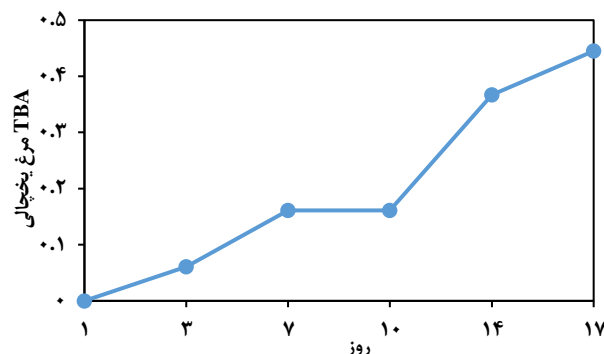
شکل ۲ - تغییرات TVB-N مرغ در دمای یخچال برحسب روز

همانطور که مشاهده می‌شود با پیشرفت روند فساد در نمونه‌های مرغ و سوسیس فاکتور  $L^*$  کاهش پیدا کرد و این نشان‌دهنده کاهش شفافیت رنگ نمونه‌ها و تیره شدن آن‌ها با پیشرفت روند فساد می‌باشد. براساس نتایج بدست آمده، فاکتور  $a^*$  با گذشت زمان به تدریج کاهش پیدا کرده است که با تغییرات pH (افزایش ترکیبات ازته فرار حاصل از فساد گوشت مرغ و سوسیس) و تغییرات رنگی در کاغذ صافی آغشته به عصاره همخوانی دارد. کاهش مقدار این پارامتر رنگ سنجی به سمت اعداد منفی با گذشت زمان نشان دهنده سبزر شدن رنگ کاغذ صافی می‌باشد. فاکتور  $b^*$  با گذشت زمان به تدریج با افزایش روند فساد، کاهش پیدا کرده است. در دمای محیط بعد از یک روز رنگ آبی، سه روز رنگ سبز و در نهایت رنگ کاملاً زرد بعد از ۶ روز مشاهده گردید که نشان‌دهنده اوج فساد نمونه‌های مرغ و سوسیس بود.

بررسی تغییرات ظاهری نمونه‌های گوشت مرغ و سوسیس در دمای یخچال و محیط به همراه حسگر در جدول پشتیبانی به‌منظور کاهش حجم مقاله آورده شده است.

جدول ۲- فاکتورهای L و a و b نمونه های مرغ و سوسیس در دمای یخچال

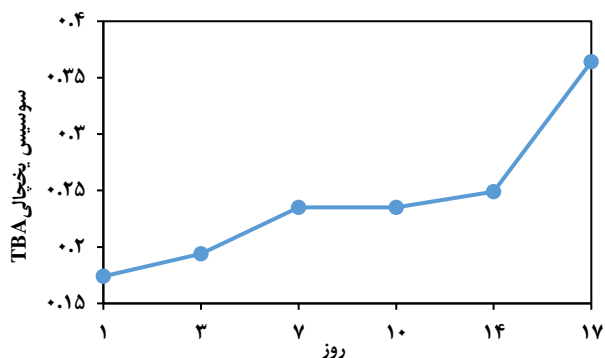
مرغ	L	a	b	pH	سوسیس	L	a	b	pH
روز اول	۴۰	۲۹	۲۹	۸/۹۵	روز اول	۱۰۰	۱۲۰	۱۱۵	۷/۸
روز سوم	۳۸	۲۶	۲۵	۹	روز سوم	۹۴	۱۱۰	۱۰۳	۷/۹۴
روز هفتم	۳۶	۲۳	۲۱	۹/۰۵	روز هفتم	۷۰	۷۳	۸۸	۸/۴
روز دهم	۳۴	۲۰	۱۷	۹/۰۶	روز دهم	۶۴	۶۴	۷۵	۸/۵۲
روز هفدهم	۳۲	۱۷	۱۳	۹/۱	روز هفدهم	۵۸	۵۶	۶۵	۸/۶۲



شکل ۶- تغییرات TBA مرغ در دمای یخچال

جدول ۳- فاکتورهای a، b و L نمونه های مرغ و سوسیس در دمای محیط

مرغ	L	a	b	pH	سوسیس	L	a	b	pH
روز اول	۴۰	۲۹	۲۹	۸/۹۵	روز اول	۱۰۱	۱۲۰	۱۱۵	۷/۸
روز سوم	۱۴	-۸	-۲۱	۹/۴۳	روز سوم	۴۳	۳۴	۳۶	۸/۸۹
روز ششم	۱۱	-۱۳	-۲۷	۹/۴۹	روز ششم	۹	-۱۶	-۳۲	۹/۵۳



شکل ۷- تغییرات TBA سوسیس در دمای یخچال

و سوسیس نشان داده شده است. لازم به ذکر است که تغییر در میزان TBA در طول مدت نگهداری روندی مشابه با میزان TVB-N نشان می دهد. همانطور که مشاهده می شود مقدار تیوباریوتیک اسید در دمای یخچال و دمای محیط در طی روزهای نگهداری بطور قابل توجهی افزایش یافت. البته یک کاهش در مقدار TBA در روز دهم نمونه برداری در دمای یخچال و دمای محیط مشاهده شد که ناشی از واکنش آلدهیدها با ترکیبات آمینی می باشد. از مقایسه آنالیز رنگ سنجی مطابق جدول ۲ و ۳ و روند تغییرات TBA مشاهده می شود که با افزایش شاخص TBA فاکتورهای  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  کاهش می یابد که مطابق با تغییرات آن با تغییرات pH می باشد.

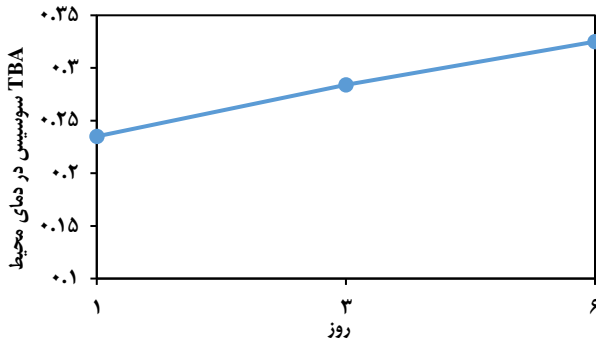
#### ارزیابی pH نمونه ها و بررسی تغییرات آن در ارتباط با پارامترهای اندازه گیری شده

از نمونه های جمع آوری شده در روش کجل دال قبل از تیتراسیون جهت تعیین pH استفاده شد. pH نمونه ها در هر مرحله با استفاده از دستگاه pH متر که با بافرهای ۴ و ۷ کالیبره شده بودند، ثبت شد. نتایج حاصل در جداول ۲ و ۳ آمده است. با توجه به نتایج بدست آمده pH نمونه مرغ در طی نگهداری به ترتیب در دمای محیط از ۸/۹۵ به ۹/۴۹ و در دمای یخچال از ۸/۹۵ به ۹/۳ افزایش یافت. در نمودارهای مربوط به نمونه های سوسیس در طی نگهداری pH به ترتیب در دمای محیط از ۷/۸ به ۹/۵۳ و در دمای یخچال از ۷/۸ به ۸/۹۴ افزایش یافت.

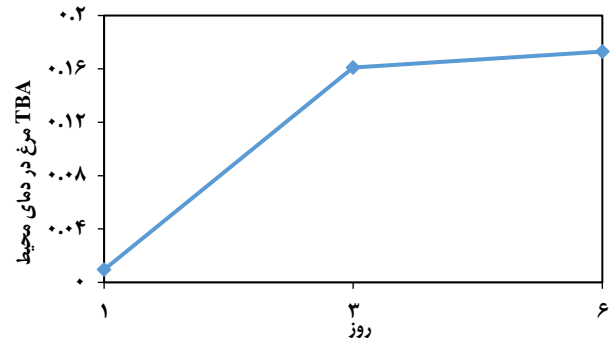
در دمای محیط بعد از ۶ روز به ۱۴۰ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گوشت رسید. میزان ترکیبات نیتروژنی فرار حاصل از گوشت مرغ در یخچال بعد از ۳ هفته به ۵/۶ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گوشت و برای نمونه سوسیس در دمای محیط در بعد از ۳ هفته به ۴/۲ میلی گرم در ۱۰۰ گرم گوشت رسید. افزایش تولید این ترکیبات در طی دوره نگهداری به دلیل رشد باکتری های مزوفیل و سایکروتروفیل است. این میکروارگانیسم ها از طریق تجزیه پروتئین ها و لیپیدها منجر به تولید ترکیبات نیتروژنی فرار می شوند. مقایسه نتایج میزان TVB-N بدست آمده با آنالیز رنگ سنجی حسگر در جدول ۲ و ۳ همخوانی تغییرات درست رنگ با افزایش میزان ترکیبات نیتروژنی فرار را نشان می دهد.

#### تیوباریوتیک اسید

تیوباریوتیک اسید شاخصی است که به طور گسترده برای ارزیابی اکسیداسیون لیپیدها استفاده می شود. روند افزایشی این شاخص در طول مدت نگهداری می تواند به دلیل افزایش آهن آزاد و دیگر پراکسیدان ها در ماهیچه باشد که باعث ایجاد طعم اکسید شده، بوی نامطبوع و کاهش کیفیت محصول می شود. طی آزمون تیوباریوتیک اسید ترکیب مالون آلدهید اندازه گیری می شود. در شکل های ۶ تا ۹، شاخص TBA برای زمان و شرایط مختلف نگهداری گوشت مرغ



شکل ۹ - تغییرات TBA سوسیس در دمای محیط



شکل ۸ - تغییرات TBA مرغ در دمای محیط

نتایج حاصل از اندازه گیری TVB-N، TBA و pH مطابقت داشته بنابراین این حسگر تغییرات pH را با توجه به میزان ترکیبات نیتروژنی فرار تولید شده در طول نگهداری گوشت مرغ و سوسیس را بخوبی نشان می‌دهد بطوری که شدت رنگ آن با توجه به میزان فساد مواد پروتئینی شدیدتر می‌گردد. از آنجایی که حسگر پیشنهادی مبتنی بر کاغذ است، بدلیل داشتن زمینه‌ای روشن، بی‌رنگ و با کنتراست بالا برای تجزیه و تحلیل تغییر رنگ بسیار مناسب می‌باشد. از ویژگی‌های دیگر این حسگر می‌توان به ارزان بودن، سبکی، انعطاف‌پذیری و زیست تخریب‌پذیر بودن آن اشاره نمود.

### تشکر و قدردانی

از بخش پژوهشی و مالی دانشگاه گلستان جهت حمایت از این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

### داده‌های اضافی

تصاویر مربوط به تغییر رنگ حسگر و تغییرات ظاهری نمونه‌ها در فایل جداگانه ارسال شده است.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۰۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۰

روند کلی افزایش میزان ترکیبات نیتروژنی فرار ناشی از تجزیه پروتئین‌ها در طول نگهداری در دمای یخچال و دمای محیط و تجمع آن‌ها در فضای بسته‌بندی، باعث جابجایی pH محیط به سمت pH قلیایی شده و ترکیبات عصاره در کاغذ صافی در برابر این تغییرات pH تغییر رنگ می‌دهند. در این راستا تغییر رنگ کاغذ صافی آغشته به عصاره نیز با توجه به فاکتورهای رنگ سنجی طبق جداول ۲ و ۳، همخوانی درستی با روند افزایش pH و TVB-N و TBA را نشان می‌دهد.

### نتیجه‌گیری

حسگرهای یکبار مصرف ابزاری ارزان قیمت و آسان برای استفاده هستند. آنها مشکل ناشی از اثرات حافظه‌ای را ندارند، بنابراین قبل از استفاده نیاز به تمیز کردن و پیش‌تیمار نیست. با توجه به رشد تقاضا از صوی صنایع غذایی برای تجزیه و کنترل کیفیت در محل، بازار جهانی حسگرهای یکبار مصرف به ویژه برای آنالیزهای نظارتی سریع به سرعت در حال افزایش است. در این مقاله یک حسگر رنگ‌سنجی وابسته به pH بسیار ساده با استفاده از کاغذ صافی واتمن و عصاره‌ی آبی استخراج شده از گل شمعدانی قرمز به منظور تشخیص فساد مرغ و سوسیس در طی دوره‌ی نگهداری طراحی شد. نتایج حاصل از آنالیز رنگ سنجی  $a^*$ ،  $b^*$  و  $L^*$  حسگر با

### مراجع

- [۱] مهدویان مهر ح.، صداقت ن.، مروری بر روش‌های بسته بندی هوشمند در محصولات گوشتی تازه و شناخت مزایا و معایب کاربردی هر یک از روش‌ها، علوم و فنون بسته بندی، (۶) ۲۴: ۵۹۵ (۱۳۹۴).
- [2] Balamatsia C., Patsias A., Kontominas M., Savvaidis I, Possible Role of Volatile Amines as Quality-Indicating Metabolites in Modified Atmospherepackaged Chicken Fillets: Correlation with Microbiological and Sensory Attributes, *Food Chem.*, **104(4)**: 1622–1628 (2007).



- [3] Kerry J., Butler P., "Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods (3<sup>rd</sup> edition)", John Wiley & Sons Ltd, London, (2008).
- [4] Kerry J., Grady M., Hogan M., Past, Current and Potential Utilisation of Active and Intelligent Packaging Systems for Meat and Muscle-based Products: A Review, *Meat Sci.*, **74**: 113–130 (2006).
- [5] Ghoshal G., Recent Trends in Active, and Intelligent Packaging for Food Products in Food Packaging and Preservation, Elsevier Academic Press: Cambridge, MA, USA, 343-374 (2018).
- [6] Morsy M.K., Zor K., Kostesha N., Sonne Alstrøm T., Heiskanen A., El-Tanahi H., Sharaba A., Popkowsky D., Larsen J., Khalaf H., Jakobsen M.H., Emneus J., Development and Validation of a Colorimetric Sensor Array for Fish Spoilage Monitoring, *Food Control*, **60**: 346-352 (2016).
- [۷] مجدی نسب م.، سپیدنامه م.، نگهداری فر م.، تشخیص فساد ماهی قزل آلا (*trutta Salmo*) در طول نگهداری با استفاده از یک سنسور رنگ سنجی کاغذی ساده، علوم و صنایع غذایی، (۷۷): ۱۷: ۲۹۳ تا ۳۰۲ (۱۳۹۷).
- [8] Hakovirta M., Aksoy B., Hakovirta J., Self-Assembled Micro-Structured Sensors for Food Safety in Paper based Food Packaging, *Materials Science and Engineering*, **53**: 331-335 (2015).
- [۹] محمودی اسکندرآبادی س.، محمودیان م.، رحمانی ف.، بسته‌بندی فعال و هوشمند مواد غذایی با به‌کارگیری عامل‌های پادباکتریایی و شناساگر با خاستگاه طبیعی، نشریه پژوهش‌های کاربردی در شیمی، ۴: ۴۳ تا ۵۰ (۱۳۹۹).
- [10] Zhang H., Hou A., Xie K., Gao A., Smart Color-Changing Paper Packaging Sensors with pH Sensitive Chromophores based on Azo-Anthraquinone Reactive Dyes, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **286**: 362-369 (2019).
- [۱۱] نیکنام ا.، جوانمرد داخلی م.، تعیین پیشرفت فساد و ماندگاری گوشت مرغ در یخچال با استفاده از معرف‌های رنگی، فناوری‌های جدید در صنعت غذا، (۲): ۲ تا ۱۴ (۱۳۹۳).
- [۱۲] ابراهیمی ع.، ثمری ف.، رنگ‌سنجی سریع و کارآمد یون جیوه (II) توسط نانوذرات نقره/نقره کلرید سنتز شده‌ی سبز از عصاره‌ی میوه‌ی جم (*Syzygium cumini L. Skeels*)، نشریه شیمی و مهندسی شیمی ایران، (۴): ۴۰ تا ۲۳۵ تا ۲۴۵ (۱۴۰۰).
- [13] Madaan R., Bansal G., Kumar S., Sharma A, Estimation of Total Phenols and Flavonoids in Extracts of *Actaea Spicata* Roots and Antioxidant Activity Studies, *Indian J. Pharm. Sci.*, **73(6)**: 666–669 (2011).
- [14] Mendoza F., Dejmeck P., Aguilera J.M., Calibrated Color Measurements of Agricultural Foods Using Image Analysis, *Postharvest Biology and Technology*, **41**: 285–295 (2006).
- [۱۵] افشاری جویباری ح.، فرحناکی ع.، امکان استفاده از نرم افزار فتوشاپ برای اندازه‌گیری رنگ مواد غذایی: بررسی تغییرات رنگ خرمای مضافتی بم در طی رساندن مصنوعی، پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، (۱): ۵: ۳۷ تا ۴۶ (۱۳۸۸).
- [16] Yam K.L., Papadakis S.E., A Simple Digital Imaging Method for Measuring and Analyzing Color of Food Surfaces, *Journal of Food Engineering*, **61(1)**: 137–142 (2004).



- [17] Ojagh S.M., Rezaei M., Razavi S.H., Hosseini S.M.H., *Effect of Chitosan Coatings Enriched with Cinnamon Oil on the Quality of Refrigerated Rainbow Trout*, *Food Chemistry*, **120(1)**: 193-198 (2010).
- [18] 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*, **115(1)**: 66-70(2009).
- [19] Cai L., Wu X., Dong Z., Li X., Yi S., Li J., *physicochemical Responses and Quality Changes of Red Sea Bream (Pagrosomus Major) to Gum Arabic Coating Enriched with Ergothioneine Treatment during Refrigerated Storage*, *Food Chemistry*, **160**: 82-89 (2014).

[۲۰] فاطمی حسن، شیمی مواد غذایی، شرکت سهامی انتشار، ایران، ۱۷۶ تا ۱۷۹ (۱۳۹۹).

[۲۱] شکر فروش س.ش، عزیزی شیرازی ع، عباس والی م، اثر بسته بندی بر برخی ویژگی های میکروبی، شیمیایی و فیزیکی ماهی قزل آلاهی رنگین کمان پرورشی (*Oncorhynchus mykiss*) نگهداری شده در یخچال، علوم و فنون شیلات، (۴)۳: ۳۱ تا ۴۲ (۱۳۹۳).