

پایش تازگی/فساد فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با استفاده از فیلم شناساگر حساس به pH بر پایه صمغ عربی-کربوکسی متیل سلولز حاوی آنتوسیانین ریحان بنفش (*Ocimum basilicum* L.)

امیر رضائی^۱، مسعود رضائی^{۲*}، مهدی آل بوفتیل^۲

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

۲- پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

چکیده

در تحقیق حاضر فیلم شناساگر حساس به pH بر پایه صمغ عربی-کربوکسی متیل سلولز و آنتوسیانین ریحان بنفش (*Ocimum basilicum* L.) تهیه و برای پایش تازگی/فساد فیله ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طی دوره نگهداری در یخچال مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور عصاره آنتوسیانینی ریحان بنفش تهیه و با غلظت‌های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی گرم به ۱۰۰ میلی لیتر محلول فیلم پلیمرهای صمغ عربی-کربوکسی متیل سلولز اضافه شد. تغییرات رنگی فیلم‌های تهیه شده در pH و غلظت‌های مختلف گاز آمونیاک سنجش شدند. نتایج این بررسی نشان داد که رنگ فیلم‌های شناساگر در pH پایین‌تری تا ارغوانی، در pH خنثی بی‌رنگ و در pH بالا به رنگ زرد بود. همچنین واکنش فیلم‌های شناساگر در حضور گاز آمونیاک مشابه افزایش pH بوده و رنگ زرد مشاهده شد. در طول دوره نگهداری در یخچال، شاخص‌های ارزیابی تازگی فیله ماهی از قبیل میزان pH، بازهای ازته فرار کل (TVB-N) و بار باکتریایی کل (TVC) نیز علاوه بر رنگ فیلم‌ها اندازه‌گیری شدند. میزان بار باکتریایی کل، بازهای ازته فرار و pH در روز صفر به ترتیب $4/8 \log \text{cfu/g}$ ، $5/2 \text{ mg/100g}$ و $6/7$ اندازه‌گیری شدند. این پارامترها با افزایش مدت زمان دوره نگهداری در یخچال افزایش معنی‌دار یافتند. میزان بازهای ازته فرار و باکتریایی کل در روز هشتم از حد مجاز مصرف انسانی فراتر رفتند. رنگ فیلم‌های حاوی شناساگر در ابتدای دوره (روز صفر) بی‌رنگ و در روز دوازدهم به رنگ زرد که نشانه وقوع فساد می‌باشد، تغییر یافت.

کلید واژه‌ها: پایش تازگی، فیلم‌های زیست تخریب پذیر، شناساگر pH، آنتوسیانین، دوره نگهداری

مقدمه

منابع پروتئین دریایی یکی از مهم‌ترین اقلام تامین کننده پروتئین حیوانی در سبد غذایی ملت‌ها شناخته شده‌اند [۱]. از منابع دریایی می‌توان به ماهی اشاره کرد که یک منبع غنی از پروتئین محسوب می‌شود به طوری که در مقایسه با انواع گوشت‌ها، از نظر کمی بیشترین درصد پروتئین را دارد (به طور متوسط ۲۲-۱۸ درصد) [۲،۳]. یکی از مهم‌ترین و مطلوب‌ترین آبزیان پرورشی در ایران، ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بوده که جزء ماهیان چرب و سردابی به حساب آمده و بیشترین میزان پرورش را به خود اختصاص داده است [۴].

بسیاری از مواد غذایی مستعد فساد هستند و پیشگیری از این فرآیند در طی آماده سازی، نگهداری، فرآوری و توزیع ضروری است. همچنین تجارت مواد غذایی و نقل و انتقال بین کشورها اهمیت پیشگیری از فساد را افزایش داده است [۵]. مطالعات پیشین نشان داده است که آبزیان به ویژه ماهی‌ها علیرغم داشتن ارزش غذایی بالا، نسبت به سایر غذاهای گوشتی، سریعتر فاسد می‌شوند. براساس گزارشات موجود، مدت زمان ماندگاری ماهی قزل آلائی رنگین کمان کوتاه بوده و بین ۹ تا ۱۱ روز می‌باشد [۶]. از مهم‌ترین عوامل تاثیرگذار بر فساد ماهی می‌توان مدت زمان نگهداری و دمای پس از صید را نام برد [۷].

تاکنون به منظور ارزیابی تازگی و کنترل عمر ماندگاری محصولات غذایی از قبیل ماهی، روش‌های مختلفی همچون روش‌های حسی، روش‌های میکروبی و روش‌های شیمیایی استفاده شده است. این روش‌ها مبتنی بر نمونه برداری از ماهی و انجام آزمایش بر روی نمونه‌ها بوده [۸] و مصرف مواد شیمیایی، افزایش هزینه و وقت‌گیر بودن از معایب این روش‌ها می‌باشد. علاوه بر این امکان استفاده از این روش‌ها برای مصرف‌کننده و فروشنده در سطح بازار وجود ندارد. از

نوع مقاله

مقاله پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۵/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۵

تاریخ چاپ الکترونیکی:

۱۴۰۴/۰۶/۳۰

*نویسنده مسئول:

rezai_ma@modares.ac.ir

طرف دیگر نیز تعیین تازگی ماهی و عمر ماندگاری ماهی‌های بسته‌بندی شده با استفاده از این روش‌ها مقدور نمی‌باشد [۹، ۱۰] از این رو توسعه روش‌های جدید تعیین تازگی مواد غذایی امری ضروری و مهم بنظر می‌رسد.

فیلم‌ها و پوشش‌های زیست تخریب پذیر و یا خوراکی که در سال‌های اخیر توجه خاصی را به خود جلب کرده‌اند، می‌توانند به عنوان راهکاری دیگر برای جلوگیری از مضرات بسته بندی‌های معمول مورد استفاده قرار گیرند [۱۱]. کاربردی بودن، شکل‌پذیری آسان، قیمت ارزان، سبکی، مقاومت شیمیایی بالا، تنوع خواص فیزیکی، فرآیند تولید آسان در پلیمرهای طبیعی منجر به ایجاد جایگزین مناسبی برای مواد مرسوم در بسته بندی شده‌اند [۱۲]. دو دسته از ترکیبات مهم در ساخت فیلم‌های خوراکی، پروتئین‌ها و پلی ساکاریدها هستند. از مهم‌ترین پروتئین‌ها و پلی ساکاریدهای استفاده شده برای تهیه فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی می‌توان به کازئین شیر، کلاژن، ژلاتین، سلولز، پکتین، دکستروز، نشاسته، کیتوزان، کاراژینان، آلژینات و صمغ‌ها اشاره کرد [۱۳، ۱۴، ۱۵].

کربوکسی متیل سلولز پلیمری با وزن مولکولی بالا، خطی و محلول در آب بوده و از واحدهای β -D (۱→۴) گلوکوپیرانوز تشکیل شده است. کربوکسی متیل سلولز یکی از پلیمرهای مشتق شده از سلولز است که علاوه بر قیمت ارزان و تشکیل فیلم، بازدارندگی نسبتاً خوبی به اکسیژن و چربی‌ها داشته و فیلم‌های شفاف تولید می‌نماید. این ماده از جایگزینی گروه‌های کربوکسی متیل ($-\text{CH}_2\text{-COOH}$) بجای برخی از گروه‌های هیدروکسیل (OH) بدست می‌آید و بر خلاف سلولز محلول در آب می‌باشد. این پلیمر در صنعت غذا برای نگهداری رطوبت، بهبود بافت و افزایش عمر ماندگاری به صورت فراگیر استفاده می‌شود [۱۶].

صمغ‌ها نیز گروه بزرگی از ترکیبات پلی ساکاریدی هستند که در آب حل شده و سبب تولید محصولاتی با ویسکوزیته بالا می‌شوند. صمغ‌ها بطور وسیع در صنایع غذایی برای تهیه ژل و به عنوان پایدار کننده مورد استفاده قرار می‌گیرند. کتیرا، صمغ عربی، صمغ فارسی نمونه‌هایی از صمغ‌های گیاهی هستند. صمغ‌ها با ایجاد شبکه در فیلم باعث افزایش مقاومت آن‌ها نسبت به کشش می‌شوند [۱۷]. علاوه بر این بسیاری از صمغ‌ها نسبت به بیوپلیمرهایی مانند کیتوزان و ژلاتین قیمت کم‌تری دارند که این امر منجر به کاهش هزینه‌های تولید می‌گردد. صمغ عربی ماده‌ای متشرحه از درخت *Acacia senegal* و هترو پلی-ساکاریدی پیچیده است. این صمغ از ترکیباتی با وزن مولکولی بالا (۸۵۰-۳۵۰ کیلو دالتون) تشکیل شده است. در صمغ عربی برخلاف سایر صمغ‌ها افزایش ویسکوزیته در غلظت‌های پایین، کم است ولی با افزایش غلظت آن ویسکوزیته به سرعت افزایش می‌یابد [۱۸].

بسته‌بندی‌های هوشمند می‌توانند به عنوان روشی برای ارزیابی کیفیت و تعیین نقاط بحرانی بدون آسیب به بسته‌بندی مورد استفاده قرار گیرند [۱۹]. بسته‌بندی هوشمند به عنوان یک سیستم بسته‌بندی مواد غذایی تعریف می‌شود که می‌تواند نشان دهنده شرایط غذایی به مصرف کنندگان در هنگام خرید باشد [۲۰]. علاوه بر این، با استفاده از شناساگر به دلیل کاهش در هزینه‌ها، عدم نیاز به متخصص برای تعیین کیفیت و عدم آسیب زیست‌محیطی، بسته‌بندی هوشمند نسبت به روش‌های قدیمی ارجحیت پیدا می‌کند [۲۱]. بسته‌بندی‌های هوشمند شامل شناساگرها یا حسگرهایی هستند که نمایشگر کیفیت محصول می‌باشند. شناساگرها از طریق بخش گیرنده محصولات حاصل از فساد میکروبی یا شیمیایی را جذب و ثبت کرده و این اطلاعات را توسط پیام‌هایی مانند تغییر رنگ نشان می‌دهند. تغییر pH یک عامل مهم در رابطه با بررسی فساد در بسیاری از محصولات غذایی محسوب می‌شود و تاکنون مطالعات متعددی به دلیل حساسیت بالا و کاهش هزینه‌ها در رابطه با توسعه شاخص pH به عنوان سیستم بسته‌بندی هوشمند صورت گرفته است [۲۲]. ترکیبات شیمیایی مختلفی از قبیل بروموفنول آبی و کلروفنول قرمز وجود دارند که به تغییرات pH حساس بوده و می‌توانند به منظور شناساگر برای تغییرات pH ناشی از فساد مورد استفاده قرار گیرند. اما در سال‌های اخیر تقاضا برای کاهش استفاده از ترکیبات شیمیایی مصنوعی به دلیل امکان ایجاد اثرات سوء بر سلامت انسان رو به افزایش می‌باشد. پتانسیل استفاده از رنگ‌های طبیعی برای سنجش pH در سیستم‌های بسته‌بندی هوشمند به دلیل عدم ایجاد آلودگی‌های زیستی و عدم سمیت برای انسان در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است [۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶]. در میان رنگ‌های طبیعی گیاهان، آنتوسیانین‌ها واکنش رنگی حساس به محدوده pH دارند [۲۷] لذا می‌توانند به عنوان نشانگرهای pH مورد استفاده قرار گیرند. تاکنون بسته بندی‌های هوشمند مختلفی تولید و از آنها برای ارزیابی تازگی/فساد مواد غذایی مختلف استفاده شده است.

با این حال، تاکنون مطالعه‌ای مبنی بر ارزیابی میزان فساد فیله ماهی با استفاده از نشانگر تازگی بر پایه فیلم کامپوزیت صمغ عربی-کربوکسی متیل سلولز حاوی آنتوسیانین ریحان بنفش صورت نگرفته است. بنابراین تحقیق حاضر با هدف تهیه فیلم کامپوزیت شناساگر pH و بررسی قابلیت آن جهت بررسی تازگی/فساد فیله ماهی قزل آلا رنگین کمان در طی دوره نگهداری در یخچال انجام شد.

مواد و روش‌ها

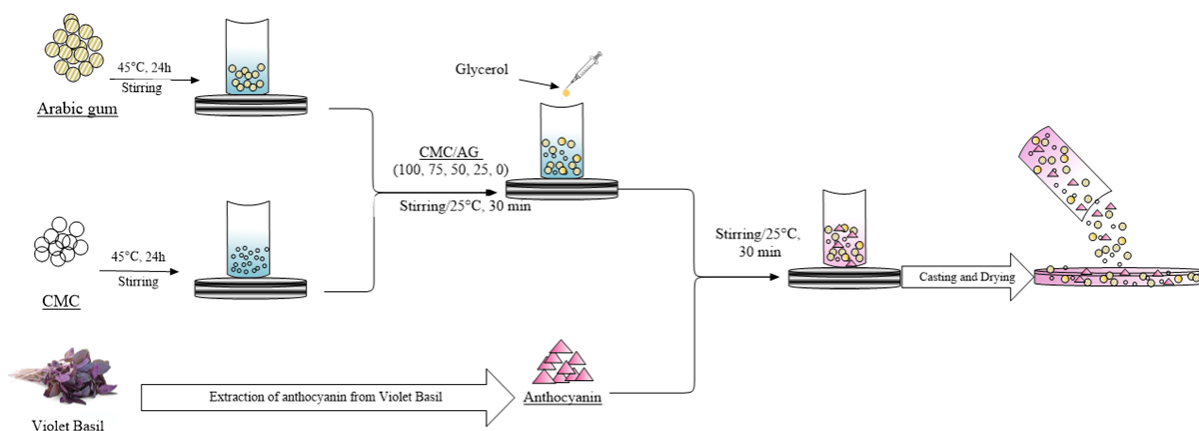
به منظور انجام تحقیق حاضر مواد اولیه از قبیل سود، اسیدکلریدریک، گلیسرون، کربوکسی متیل سلولز، محیط کشت PCA از شرکت مرک آلمان تهیه گردید. صمغ عربی، ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و ریحان بنفش از بازار محلی تهیه شدند. ماهی تهیه شده در کنار یخ و در حداقل زمان (۳۰ دقیقه) به آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی دانشگاه تربیت مدرس منتقل گردید.

استخراج عصاره آنتوسیانینی از ریحان بنفش

گیاه ریحان بنفش از بازار محلی تهیه و در سایه خشک شد. سپس نمونه‌های خشک شده توسط آسیاب خانگی پودر شدند. استخراج عصاره آنتوسیانینی از ریحان بنفش براساس روش McCance و همکاران (۲۰۱۶) با کمی تغییرات انجام شد [۱۲]. بدین منظور گیاه ریحان بنفش خشک و پودر تهیه شده با نسبت ۱ به ۱۰ (گرم بر میلی‌لیتر) با اتانول ۸۵ درصد مخلوط شده و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت عصاره‌گیری شد. مایع روماند (سوپرناتانت) نمونه‌ها با استفاده از سانتریفیوژ (۹۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) جدا شده و فرآیند تغلیظ با استفاده از روتاری در دمای ۴۵ سانتی‌گراد تا جداسازی کامل حلال انجام شد. نمونه تغلیظ شده با استفاده از فریزدرایر خشک و تا استفاده در مراحل بعدی در دمای کمتر از ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تهیه فیلم‌های شناساگر حساس به pH

به منظور تهیه فیلم کامپوزیت، محلول پلیمرهای صمغ عربی و کربوکسی متیل سلولز به صورت جداگانه با نسبت یک درصد وزنی با آب مقطر مخلوط شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد توسط همزن مغناطیسی به آرامی همگن گردید. در ساعت پایانی به منظور ایجاد انعطاف‌پذیری در فیلم‌ها گلیسرول (۰/۳ گرم به یک گرم پلیمر) به محلول‌های پلیمری اضافه گردید. محلول‌های تهیه شده پس از همگن‌سازی با نسبت برابر و به مدت ۳۰ دقیقه با یکدیگر مخلوط شده و سپس آنتوسیانین استخراج شده در نسبت‌های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم به ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول فیلم کامپوزیت اضافه گردید. در نهایت پس از جاب زدائی، محلول فیلم‌های شناساگر در پلیت‌هایی با قطر ۸ سانتی‌متری ریخته شده و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید. فیلم‌های شناساگر تهیه شده پس از جداسازی از پلیت‌ها تا استفاده‌های بعدی داخل زیپ کیپ و دسیکاتور حاوی سیلیکاژل نگهداری شدند [۲۸].



شکل ۱: فرآیند تولید فیلم‌های شناساگر حساس به pH

ارزیابی شناساگرها

بررسی حساسیت فیلم‌های شناساگر تهیه شده نسبت به pHهای مختلف

در بررسی حساسیت شناساگرهای تهیه شده نسبت به pH های مختلف، ابتدا محلول‌هایی با pH ۲، ۷ و ۱۲ با استفاده از اسیدکلریدریک و سود تهیه شد. در مرحله بعد فیلم‌های شناساگر تهیه شده با ابعاد ۲×۲ سانتی‌متر برش خورده و سپس ۱۰ میکرولیتر از محلول با pH های مختلف به آنها اضافه شد. تغییرات رنگی ایجاد شده با استفاده از دوربین عکاسی در شرایط یکسان ثبت گردید [۲۸].

بررسی حساسیت فیلم‌های شناساگر تهیه شده نسبت به گاز آمونیاک

به این منظور ابتدا فیلم‌های شناساگر تهیه شده به ابعاد ۲×۲ سانتی‌متر برش داده شده و سپس به دیواره ظرف شیشه‌ای سر پوشیده چسبیده شد. سپس مقدار ۵ میلی‌لیتر محلول آمونیاک به محیط وارد شده و تغییرات رنگی پس از گذشت ۲ دقیقه توسط دوربین عکاسی ثبت شد [۲۸].

سنجش تازگی فیله ماهی:

تهیه بسته‌بندی حاوی فیلم شناساگر

ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تازه پس از تهیه به صورت فیله داخل ظرف بسته‌بندی یکبار مصرف شفاف، قرار داده شد. شناساگرهای تهیه شده با ابعاد ۴×۱ سانتی‌متر برش داده شده و با استفاده از چسب کاغذی روی درب بسته‌بندی قرار گرفت. نمونه‌های ماهی بسته بندی شده به مدت ۱۲ روز در دمای یخچال نگهداری شده و نمونه‌برداری به منظور اندازه‌گیری بار باکتریایی کل، سنجش pH و میزان TVB-N هر چهار روز یکبار صورت گرفت. تغییرات رنگی شناساگرهای جایگزاری شده نیز با استفاده از دوربین دیجیتال ثبت شد. لازم به ذکر است تمامی عکس برداری‌ها در شرایط یکسان از نظر مکان و زمان انجام شد [۲۹].

اندازه‌گیری pH

اندازه‌گیری pH عضله ماهی با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتال در طول دوره نگهداری همزمان با کشت میکروبی انجام شد. به این منظور ۵ گرم از گوشت ماهی در ۴۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به خوبی همگن شده و pH آن اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری بازهای از ته فرار (TVB-N)

میزان بازهای از ته فرار با استفاده از روش تیتراسیون و سیستم کلدال صورت گرفت. به این منظور ۱۰ گرم نمونه با ۲ گرم اکسید منیزیم به ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و داخل بالن کلدال حرارت داده شد. اسید بوریک ۲ درصد و ۱-۲ قطره متیل رد به عنوان شاخص به سیستم وارد شد. تیتراسیون محلول زرد حاصله با استفاده از اسید سولفوریک تا ایجاد شدن رنگ ارغوانی انجام و در نهایت با استفاده از معادلات مربوطه، میزان TVB-N به صورت میلی‌گرم در صد گرم گوشت ماهی محاسبه شد [۳۰].

اندازه‌گیری بار باکتریایی کل

برای این منظور مقدار پنج گرم از گوشت ماهی جدا شده و با ۴۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به خوبی هموژن گردید. در ادامه رقت‌سازی میکروبی انجام و با استفاده از روش کشت پورپلیت در محیط کشت عمومی پلیت کانت آگار، کشت باکتریایی صورت گرفت. پس از انکوباتورگذاری به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، شمارش بارباکتریایی کل انجام شد [۳۰].

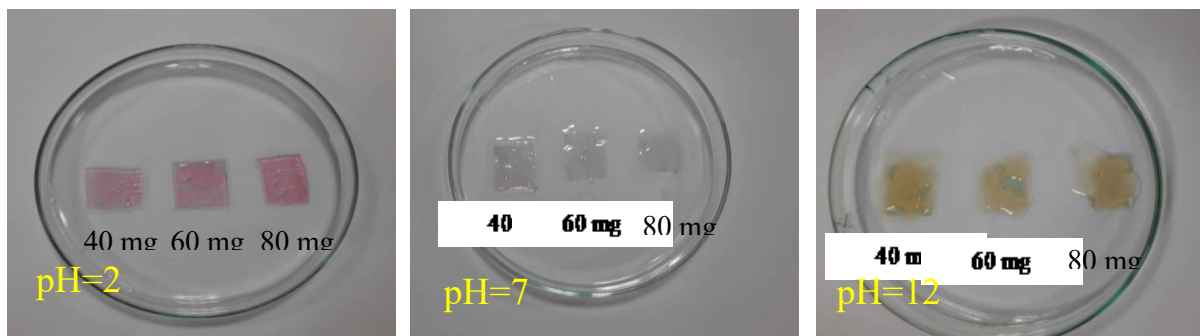
تجزیه و تحلیل آماری

تمامی نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده است.

نتایج

تغییرات رنگی فیلم‌های شناساگر تهیه شده نسبت به pH های مختلف

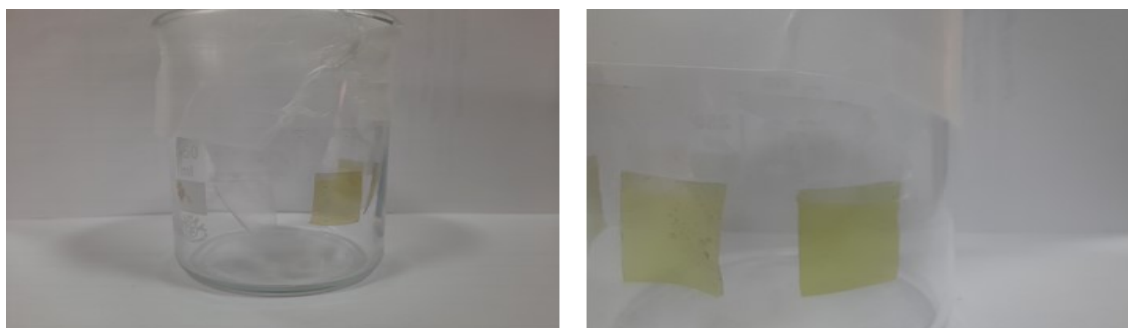
تغییرات رنگی فیلم‌های شناساگر تهیه شده در pH های ۲، ۷ و ۱۲ بررسی شده و تصاویر آن در شکل شماره ۲ نشان داده شده است. همانطور که در شکل قابل مشاهده می‌باشد، در محیط اسیدی فیلم‌های شناساگر دارای رنگ صورتی تا ارغوانی بودند اما با تغییر pH محیط به خنثی، رنگ نمونه‌ها از بین رفته و بی‌رنگ شدند. با افزایش pH و در محیط قلیایی رنگ فیلم‌های شناساگر به رنگ زرد تغییر یافت.



شکل ۲: پاسخ رنگی فیلم‌های شناساگر تهیه شده به pH های مختلف

تغییرات رنگی فیلم‌های شناساگر تهیه شده نسبت به گاز آمونیاک

به منظور شبیه‌سازی فساد فیله ماهی، بررسی تغییرات رنگی فیلم‌های شناساگر تهیه شده در حضور گاز آمونیاک نیز انجام پذیرفته‌مانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است رنگ فیلم‌های حاوی آنتوسیانین در حضور آمونیاک به رنگ زرد تغییر کرد.

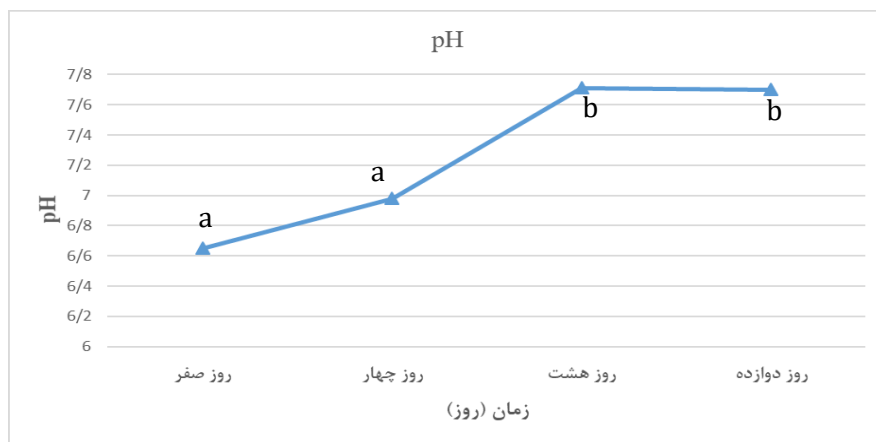


شکل ۳: پاسخ رنگی فیلم‌های شناساگر تهیه شده به غلظت‌های مختلف گاز آمونیاک

سنجش تازگی فیله ماهی

pH میزان

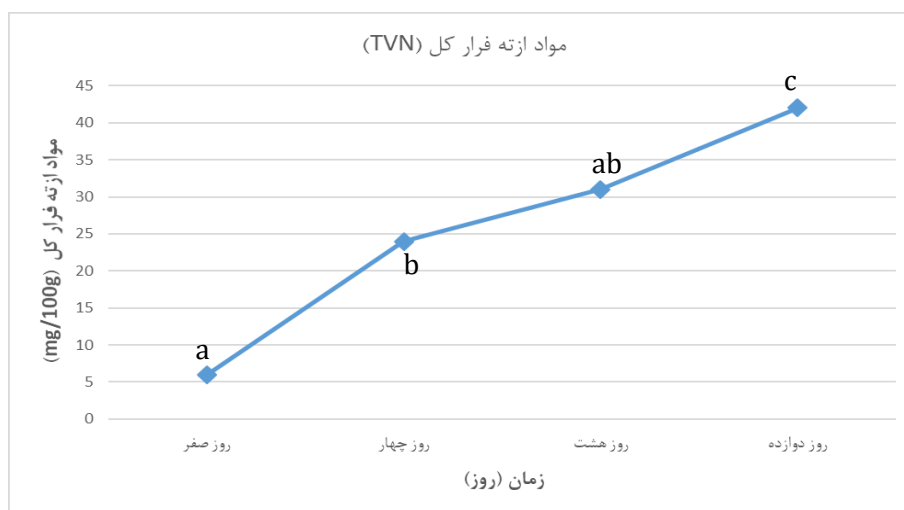
در تحقیق حاضر میزان pH در طول دوره نگهداری اندازه‌گیری و نتایج آن در شکل ۴ قابل مشاهده می‌باشد. میزان pH در طول دوره نگهداری به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافت و از ۶/۷ در روز صفر به ۷/۷ در روز دوازدهم رسید.



شکل ۴: تغییرات pH فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در طی دوره نگهداری دمای یخچال (+۴ درجه سانتیگراد). حروف انگلیسی کوچک متفاوت، تفاوت معنی‌دار بین هر تیمار را نشان می‌دهد ($p < 0.05$).

میزان بازهای ازته فرار (TVB-N)

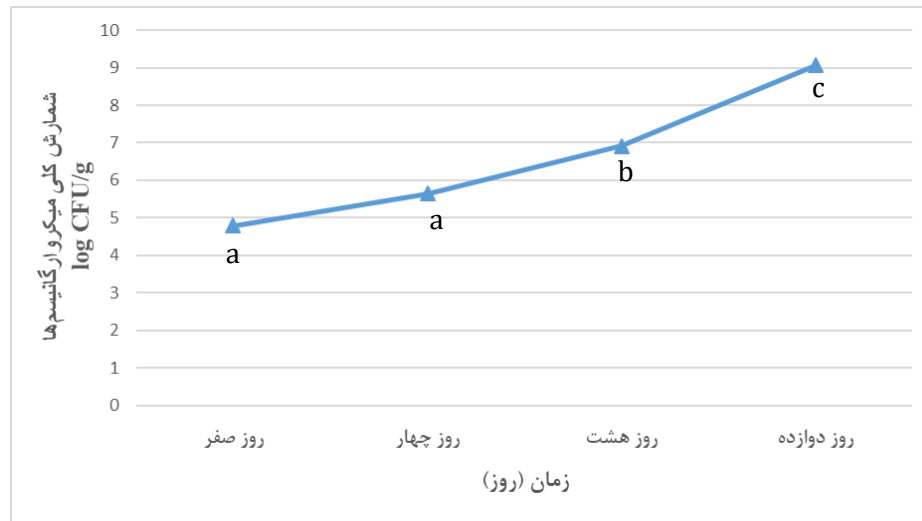
میزان بازهای ازته فرار در طول دوره نگهداری اندازه‌گیری و نتایج آن در شکل ۵ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود میزان بازهای ازته فرار در طول دوره نگهداری به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش یافت. میزان TVB-N در روز صفر برابر با $5/2 \text{ mg}/100\text{g}$ بود اما در طول دوره نگهداری در روز چهارم حدود ۵ برابر افزایش یافته ($24 \text{ mg}/100\text{g}$) و در روز دوازدهم $42 \text{ mg}/100\text{g}$ اندازه‌گیری شد.



شکل ۵: تغییرات مواد ازته فرار کل (TVB-N) فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در طی دوره نگهداری دمای یخچال (+۴ درجه سانتیگراد). حروف انگلیسی کوچک متفاوت، تفاوت معنی‌دار بین هر تیمار را نشان می‌دهد ($p < 0.05$).

میزان باربakterیایی کل

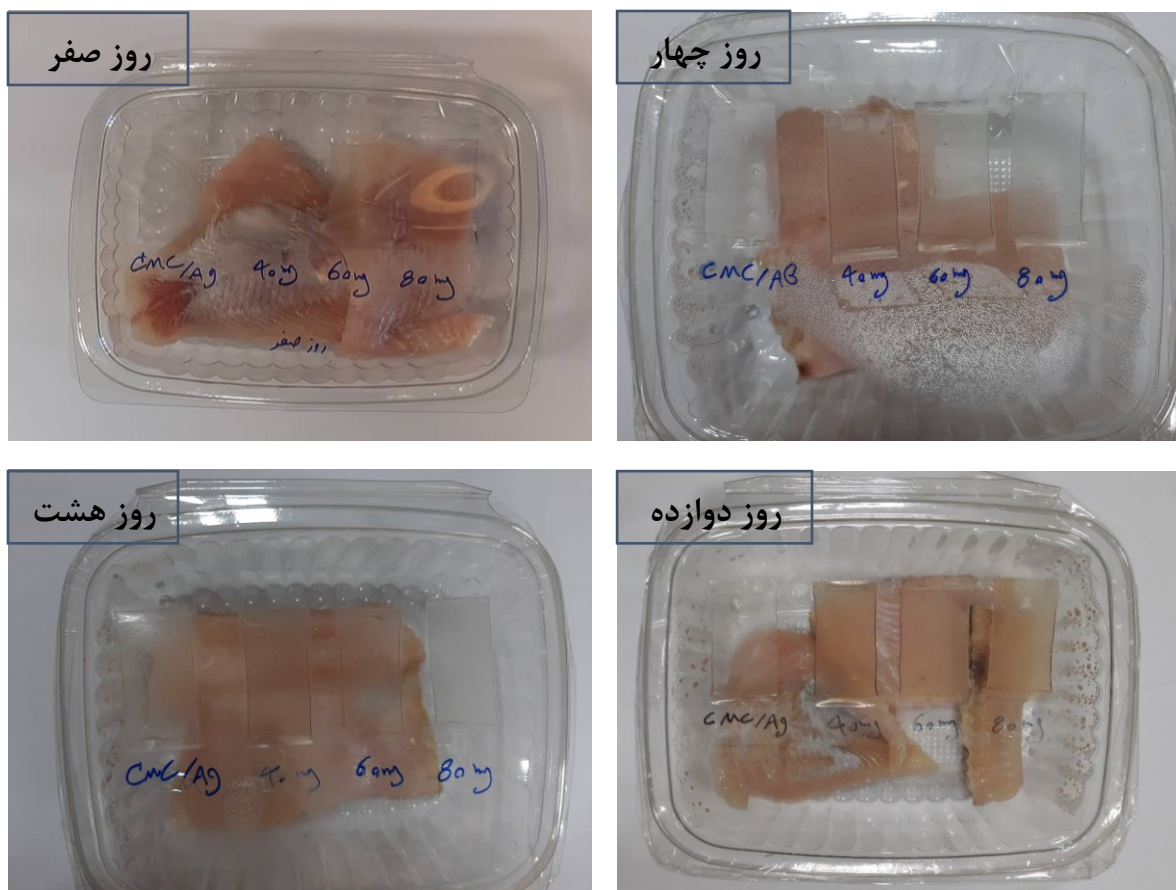
با توجه به تاثیر افزایش میزان باربakterیایی کل در میزان تازگی/فساد محصولات غذایی، این شاخص در طول دوره نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به تناوب اندازه‌گیری شده و نتایج آن در شکل ۶ نشان داده شده است. در روز صفر میزان باربakterیایی کل $4/8 \log \text{cfu}/\text{g}$ اندازه‌گیری شد که نشان‌دهنده تازگی و مقبولیت فیله ماهی می‌باشد. در طول دوره نگهداری در روزهای هشتم و دوازدهم باربakterیایی کل به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش پیدا کرد و به ترتیب $6/8 \log \text{cfu}/\text{g}$ و $9 \log \text{cfu}/\text{g}$ اندازه‌گیری شد.



شکل ۶: تغییرات بار باکتریایی کل (TVC) فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان در طی دوره نگهداری دمای یخچال (۴+ درجه سانتیگراد). حروف انگلیسی کوچک متفاوت، تفاوت معنی‌دار بین هر تیمار را نشان می‌دهد ($p < 0.05$).

کاربرد فیلم‌های شناساگر تهیه شده در ارزیابی فساد فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان

فیلم‌های شناساگر تهیه شده به منظور ردیابی میزان فساد در بسته‌بندی فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان به تعداد ۴ عدد به شرح نمونه فاقد آنتوسیانین، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی گرم آنتوسیانین، در سقف بسته‌بندی نصب شده و نتایج آن در شکل شماره ۷ قابل مشاهده می‌باشد. مطابق با تصویر فیلم‌های شناساگر تعبیه شده در روز صفر به صورت بی رنگ در سقف بسته‌بندی قابل مشاهده می‌باشد با افزایش مدت زمان نگهداری، فعالیت باکتریایی و به طبع آن تجمع میزان بازهای ازته فرار در محفظه بسته‌بندی، رنگ شناساگرها تغییر کرد. در این رابطه در روز دوازدهم شناساگرهای تعبیه شده به رنگ به زرد مشاهده شدند.



شکل ۷: تغییرات رنگی فیلم‌های شناساگر نصب شده در داخل بسته‌بندی حاوی ماهی در طی دوره نگهداری دمای یخچال (۴+ درجه سانتیگراد)

بحث و نتیجه‌گیری

شناساگرهای حساس به pH به دلیل قابلیت‌های بالقوه در ردیابی فساد و ارزیابی میزان تازگی محصولات تاکنون در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته‌اند. در مطالعه‌ای مشخص شد که آنتوسیانین استخراج شده از کلم بنفش نسبت به pHهای مختلف واکنش رنگی داشته و در محیط‌های اسیدی به رنگ قرمز قابل مشاهده بوده و به محیط‌های قلیایی به رنگ زرد تا سبز واکنش نشان داد [۲۶]. همچنین در مطالعه Chim و همکاران (۲۰۲۴) واکنش رنگی مشابهی در محلول آنتوسیانین استخراج شده از سیب ستاره‌ای بنفش مشاهده شد و این تغییرات رنگی با افزایش درصد آنتوسیانین رابطه مستقیم داشت [۳۱]. در راستای نتایج این مطالعات، در تحقیق حاضر رنگ عصاره آنتوسیانینی ربان بنفش نیز در pHهای مختلف به رنگ‌های مختلفی مشاهده شد. علت این تغییر رنگ‌ها به دلیل ساختار طبیعی آنتوسیانین‌های استخراج شده و حساسیت آن به pHهای مختلف می‌باشد [۳۱]. لذا با اضافه شدن آنتوسیانین در بستر فیلم کامپوزیت صمغ عربی-کربوکسی متیل سلولز خاصیت شناساگری در آن ایجاد شده و با قرارگیری در pHهای مختلف به واسطه وجود آنتوسیانین، رنگ فیلم‌های شناساگر تغییر یافت. نتایج گزارش شده توسط سایر محققین نیز اثبات کرده است که اضافه کردن آنتوسیانین در بستر فیلم‌های پلیمری باعث ایجاد حساسیت آن‌ها نسبت به pH می‌شود. مطالعات Yong و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که فیلم شناساگر تهیه شده از کیتوزان حاوی آنتوسیانین سیب زمینی بنفش می‌تواند قابلیت تغییر رنگ در pHهای مختلف را داشته باشد، به طوری که در pH اسیدی فیلم‌های شناساگر تهیه شده دارای رنگ قرمز بوده و با افزایش pH رنگ زرد قابل مشاهده بود [۳۲]. در ادامه بررسی تغییرات رنگی فیلم‌های شناساگر تهیه شده در حضور گاز آمونیاک به منظور شبیه‌سازی فساد فیله ماهی بررسی شد. فیلم‌های شناساگرهای تهیه شده حاوی غلظت‌های مختلف (صفر (کنترل)، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر محلول فیلم) داخل ظرف سر

پوشیده (بشر) نصب شده و محلول آمونیاک به داخل ظرف تزریق و تغییرات رنگی آن‌ها مشاهده شد. همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، نمونه‌های فیلم حاوی آنتوسیانین به حضور آمونیاک واکنش داده و رنگ آن‌ها به رنگ زرد تغییر کرد. مکانیسم این تغییر رنگ به این صورت می‌باشد که آمونیاک فرار ابتدا با مولکول‌های آب موجود در فیلم‌های شناساگر واکنش داده و کمپلکس آمونیاک-آب را تشکیل می‌دهد که سپس به فرم های NH_4^+ و OH^- هیدرولیز می‌شود. این تغییرات در میزان OH^- منجر به تغییر pH شده و در نهایت تغییرات رنگی در سطح فیلم‌های شناساگر را به همراه دارد [۳۳]. در مطالعه‌ای فیلم‌های شناساگر حساس به pH بر پایه کربوکسی متیل سلولز حاوی آنتوسیانین گل نخود پروانه‌ای (*Clitoria ternatea*) توسط Pimonpan و همکاران (۲۰۲۴) تهیه و نتایج آن‌ها نشان داد که با قرارگیری فیلم شناساگر در معرض بخار آمونیاک رنگ سطحی به زرد تا سبز تغییر می‌یابد [۳۴]. در مطالعه دیگری Liu و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که فیلم‌های شناساگر بر پایه فیلم کامپوزیت پلی‌ونیل الکل-سدیم کربوکسی متیل سلولز حاوی آنتوسیانین کلم قرمز که بی‌رنگ بودند در حضور گاز آمونیاک به رنگ سبز در آمدند [۳۵].

افزایش pH گوشت به ویژه در آبزیان تاثیر به خصوصی بر ویژگی‌های حسی از قبیل طعم، بو، رنگ و بافت داشته و منجر به افت ویژگی‌های کیفی فرآورده در طول دوره نگهداری می‌گردد. به این منظور اندازه‌گیری میزان pH سه گونه ماهی *Spanish mackerel*, *Chub mackerel* و *Largehead hairtail* توسط محققین در طول ۷ روز ماندگاری انجام شد و نتایج آن‌ها نشان داد که در دماهای $+4^\circ\text{C}$ ، $+18^\circ\text{C}$ و $+28^\circ\text{C}$ درجه سانتی‌گراد میزان pH در هر سه گونه با افزایش مدت زمان ماندگاری، افزایش یافت [۳۶]. در مطالعه Ningtyas و همکاران (۲۰۲۵) میزان pH فیله ماهی *Catin* در دمای اتاق طی مدت ۱۵ ساعت با تناوب سه ساعت یکبار اندازه‌گیری شد. در این مطالعه میزان pH در ساعات ابتدایی کاهش یافت که علت آن به فعالیت آنزیم‌های پروتئاز داخلی ماهی نسبت داده شد [۳۷]. همچنین اندازه‌گیری میزان pH در فیله ماهی تیلپیا نشان داد که در طی هشت روز نگهداری فیله ماهی در دمای یخچال میزان pH فیله در ابتدا کاهش جزئی داشته و سپس افزایش می‌یابد [۳۸]. افزایش میزان pH در طی دوره نگهداری تقریباً با گذشت زمان ۲۴ ساعت اتفاق افتاده و می‌تواند مرتبط با فعالیت‌های آنزیمی و میکروبی بوده که باعث تولید بازهای فرار از قبیل آمونیاک و تری‌متیل آمین می‌گردد [۳۶، ۳۷، ۳۸].

از طرف دیگر افزایش میزان فعالیت باکتری‌های پروتئولیتیک می‌تواند دلیلی بر افزایش میزان بازهای از ته فرار باشد. در این رابطه در مطالعه Basdeki و همکاران (۲۰۲۵) بر روی ماهی *Sea Bream* میزان TVB-N در روز صفر حدود $5 \text{ mg}/100\text{g}$ اندازه‌گیری و در طول دوره نگهداری ۱۵ ساعته این میزان به بیش از $20 \text{ mg}/100\text{g}$ رسید [۳۹]. همچنین نگهداری فیله ماهی تیلپیا در دمای 4°C درجه سانتی‌گراد نشان داد که با افزایش مدت زمان ماندگاری میزان TVB-N به طور معنی داری ($p < 0.05$) افزایش یافته و در روز هشتم به 222 میلی‌گرم در کیلوگرم رسید که به معنی فساد کامل تعبیر گردید. در واقع فعالیت باکتریایی باعث تبدیل ترکیباتی مثل پروتئین‌ها، پلی‌پپتیدها و آمینواسیدها به ترکیبات آمونیاکی و بازهای فرار می‌گردد که به عنوان شاخص TVB-N در طول دوره نگهداری به منظور ارزیابی میزان تازگی/فساد قابل اندازه‌گیری می‌باشد [۳۸].

رشد و افزایش تعداد باکتری‌های کل در سطح مواد غذایی سرد شده یکی از مهم‌ترین عوامل فساد آن‌ها می‌باشد. آبزیان تازه صید شده با توجه به شرایط دمایی، نگهداری و نحوه عمل‌آوری دارای فلور طبیعی یا بار باکتریایی اولیه بوده که این میزان در ماهی‌های آب شیرین تازه حدود $\log 2-6 \text{ cfu/g}$ می‌باشد [۳۵]. مطالعات Shi و همکاران (۲۰۲۱) نیز ثابت کرده است که در طول نگهداری فیله ماهی تیلپیا، بار باکتریایی از $\log 3/39 \text{ cfu/g}$ در روز صفر به $\log 7/63 \text{ cfu/g}$ در روز دهم رسید [۳۸]. همچنین در سه گونه ماهی *Spanish mackerel*, *Chub mackerel* و *Largehead hairtail* میزان بار باکتریایی کل در طی دوره هفت روزه اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده نشان داد که افزایش مدت زمان ماندگاری در دمای بالای صفر، افزایش میزان بار باکتریایی کل را به همراه خواهد داشت [۳۶].

در مطالعه حاضر رفتار تغییر رنگ شناساگرهای تعبیه شده در داخل بسته‌بندی ماهی همسو با تغییرات رنگی شناساگر تهیه شده در pHهای مختلف و در مواجهه با گاز آمونیاک در محیط آزمایشگاهی بود. بدین صورت که در با افزایش زمان ماندگاری و وقوع فساد، رنگ فیلم‌های شناساگر به رنگ

زرد تغییر یافتند. این مسئله می‌تواند نشان‌دهنده تجمع گاز آمونیاک یا ترکیبات نیتروژنی فرار حاصل از فساد داخل محیط بسته‌بندی (به علت واکنش‌های شیمیایی و رشد میکروبی) بوده که منتج به افزایش pH شناساگر شده است. تغییرات رنگی در شناساگرها در صورتی قابل مشاهده است که محتوی آنتوسیانین به کار گرفته شده در بستر شناساگرها مناسب باشد. اما در صورتی که محتوی آنتوسیانین به کار گرفته شده در حد کافی نباشد تغییرات رنگی ایجاد نشده یا نامحسوس است. بنابراین با توجه به این نتایج می‌توان استناد کرد که محتوی آنتوسیانین به کار گرفته شده در حد مناسبی بوده و از طریق تغییرات رنگی ایجاد شده برای ارزیابی و نظارت بر تازگی ماهی مناسب است. در مطالعات سایر محققین نیز مشخص شده است که با افزایش مدت زمان ماندگاری میزان بارباکتریایی افزایش یافته که با افزایش میزان TVB-N همراه است و در نهایت باعث تغییر رنگ شناساگرهای موجود در بسته‌بندی خواهد شد [۳۹،۳۸]. همچنین در مطالعه Huang و همکاران (۲۰۱۹) مشخص شد در صورتی که مقادیر آنتوسیانین استفاده شده برای تهیه شناساگرها در حد کافی نباشد، تغییرات رنگی قابل ملاحظه‌ای صورت نمی‌گیرد [۴۰].

نتیجه گیری نهایی

با توجه به اهمیت تعیین تازگی مواد غذایی بسته‌بندی شده به ویژه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان و نگرانی‌های ناشی از مصرف ترکیبات سنتزی، مطالعه حاضر با هدف تولید بسته‌بندی هوشمند بر پایه ترکیبات زیست تخریب‌پذیر حاوی شناساگر استخراج شده گیاهی در غلظت‌های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر به منظور بررسی روند فساد در فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان صورت گرفت. در ادامه در بررسی‌های سنجش عملکرد شناساگر در pHهای ۲ تا ۱۲ مشخص شد که با افزایش pH رنگ شناساگرها از قرمز (pH ۲) تا زرد (pH ۱۴) تغییر می‌کند. همچنین واکنش تغییرات رنگی مشهودی در فیلم‌های شناساگر تهیه شده در حضور آمونیاک مشاهده شده شد. به طوری که با افزودن آمونیاک به محیط رنگ شناساگرها از بی رنگ به زرد تغییر یافت. در دوره نگهداری فیله ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مشخص شد که با افزایش مدت زمان ماندگاری میزان بار باکتریایی کل (TVC)، بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) و pH فیله ماهی بسته‌بندی شده افزایش یافت که این تغییرات در شناساگرهای تعبیه شده به صورت تغییرات رنگی (رنگ زرد) قابل مشاهده بود.

تأییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: این پژوهش در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد و با حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است.

منابع

- [1] Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y., & Chi, Y. (2009). Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry*, 115(1), 66-70.
- [2] Ihuahi, J.A., Omojowo, F.S., and Ugoala A.E. (2005). Effect of spice treatment on the quality of hot-smoke catfish (*Clarias gariepinus*) National institute for freshwater fisheries research NIFFR, In: fish Processing Quality control and Package for international markets Pp: 363-36.
- [3] Ikeme, A.I., and Bhandary, C.S. (2001). Effect of spice treatment on the quality of hot smoked mackerel (*Scomber scombrus*) presented at the seventh FAO expert consultation in Africa, Senegal. 10p.
- [4] De Castro, F.A.F., Pinheiro Sant'Ana, H.M., Campos, F.M., Costa, N.M.B., Silva, M.T.C., Salaro, A.L., & Franceschini, S.D.C.C. (2007). Fatty acid composition of three freshwater fishes under different storage and cooking processes. *Food Chemistry*, 103, 1080-1090.
- [5] Ekhtiarzade, H., Akhondzadeh Basti, A., Misaghi, A., Ebrahimzadeh mousavi, H., Bokae, S., Taherkhani, P., Abbaszadeh, S., Khanjarigh nemati, A. and Sadeghi, S., (2011). Effect of zataria multi flora bioess essential oil on the growth of *Listeria monocytogenes* in salt fish. *Medical Plants*. 10: 89-96.
- [6] Hamzeh, A. and Rezaei, M., (2010). Antioxidant and antibacterial effects of sodium alginate coating enrich with thyme essential oil on Rainbow Trout fillets during refrigerator storage. *J. Iranian Nutrition Science and Food Industry*. 3: 11-20.

- [7] Rezaei, M., and S.F. Hosseini, (2008). Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. *Journal of Food science*, 73: 93-96.
- [8] Heising J., Dekker M., Bartels P., Van Boekel M., 2012. a Non-Destructive Ammonium Detection Method as Indicator for Freshness for Packed Fish: Application on Cod, *Journal of Food Engineering*, 110(2): 254-261.
- [9] Heising J., Bartels P., Van Boekel M., Dekker M., 2014. Non-Destructive Sensing of the Freshness of Packed Cod Fish Using Conductivity and pH Electrodes, *Journal of Food Engineering*, 124(1): 80-85.
- [10] Kuswandi B., Larasati T.S., Abdullah A., 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): 881-889.
- [11] Emiroğlu, Z. K., Yemiş, G. P., Coşkun, B. K., & Candoğan, K. (2010): Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat Science*, 86(2), 283-288.
- [12] McCance, K. R., Flanigan, P.M., Quick, M.M., & Niemeyer, E.D. (2016): Influence of plant maturity on anthocyanin concentrations, phenolic composition, and antioxidant properties of 3 purple basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 53, 30-39.
- [13] Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., & Ibarz, A. (2011): Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 292-303.
- [14] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & 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, 161–166.
- [15] Pereda, M., Ponce, A. G., Marcovich, N. E., Ruseckaite, R. A. and Martucci, J. F. (2011). Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, 25(5): 1372-1381.
- [16] Fasihi H, Fazilati M, Hashemi M, Noshirvani N, (2017). Novel carboxymethyl cellulose-polyvinyl alcohol blend films stabilized by Pickering emulsion incorporation method. *Carbohydrate polymer.*, 167: 79-89.
- [17] Bosquez-Molina, E., Tomás, S.A., Rodríguez-Huezo, M.E. (2010). Influence of CaCl on the water vapor permeability and the surface morphology of mesquite gum based edible films. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie - Food Sci. Technol.*, 43, 1419-1425.
- [18] Chen, C.H., Lai, L.S. (2008). Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum films in the presence of plasticizer. *Food Hydrocolloids.*, 22, 1584-1595.
- [19] Biji K., Ravishankar C., Mohan C., Gopal T.S., 2015. Smart Packaging Systems for Food Applications: a Review, *Journal of Food Science and Technology*, 1(4): 1-11.
- [20] Pereda, M., Ponce, A. G., Marcovich, N. E., Ruseckaite, R. A. and Martucci, J. F. (2011). Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, 25(5): 1372-1381.
- [21] J. Kerry and Butler “Smart Packaging Technologies for Fast Moving Consumer Goods”. West Sussex: John Wiley and Sons Ltd, 2008.
- [22] Silva-Pereira, M. C., Teixeira, J. A., Pereira-Junior, V. A., & Stefani, R. (2015). Chitosan/corn starch blend films with extract from Brassica oleraceae (red cabbage) as a visual indicator of fish deterioration. *LWT-Food Science and Technology*, 61(1), 258–262.

-
- [23] Pavai, M., Mihaly, J., & Paszternak, A. (2015). PH and CO₂ sensing by curcumincoloured cellophane test strip. *Food Analytical Methods*, 8(9), 2243–2249.
- [24] Yoshida, C. M. P., Maciel, V. B. V., Mendonca, M. E. D., & Franco, T. T. (2014). Chitosan bio based and intelligent films: Monitoring pH variations. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1), 83–89.
- [25] Collar, C., Andreu, P., Martinez, J.C. and Armero, E., (1999). Optimization of hydrocolloid addition to improve wheat bread dough functionality: areasponse surface methodology study. *Food Hydrocolloids*, 469- 475.
- [26] Zhang, X. H., Lu, S. S., & Chen, X. (2014). A visual pH sensing film using natural dyes from *Bauhinia blakeana* Dunn. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 198, 268–273.
- [27] Golasz, L. B., Silva, J. D., & Silva, S. B. D. (2013). Film with anthocyanins as an indicator of chilled pork deterioration. *Food Science and Technology (Campinas)*, 33, 155–162.
- [28] Rezaei, A., Rezaei, M. and Alboofetileh, M. (2022). Preparation and evaluation some properties of pH indicator film based on Arabic gum- Carboxy methyl cellulose composite film containing of Violet basil (*Ocimum basilicum* L.) Anthocyanin. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 18(4), 527-541. doi: 10.22067/ifstrj.2021.69500.1030 [In Persian]
- [29] Chen, K., Li, J., Li, L., Wang, Y., Qin, Y., & Chen, H. (2023). A pH indicator film based on sodium alginate/gelatin and plum peel extract for monitoring the freshness of chicken. *Food Bioscience*, 53, 102584.
- [30] Alboofetileh, M., Rezaei, M., Hosseini, H., & Abdollahi, M. (2014). Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogens. *Food control*, 36(1), 1-7.
- [31] Chim-Chi, Y. A., Fernández-Méndez, A. R., Pérez-Pacheco, E., Canto-Pinto, J. C., Estrada-León, R. J., Ortiz-Fernández, A., ... & Pérez-Padilla, Y. (2024). Development of pH indicator smart packaging films with anthocyanins from the purple star apple shell (*Chrysophyllum cainito* L.). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 18(4), 2651-2660.
- [32] Yong, H., Wang, X., Bai, R., Miao, Z., Zhang, X., & Liu, J. (2019). Development of antioxidant and intelligent pH-sensing packaging films by incorporating purple-fleshed sweet potato extract into chitosan matrix. *Food hydrocolloids*, 90, 216-224.
- [33] Jiang GuangYang, J. G., Xiao LiYuan, X. L., Wang ZhangYing, W. Z., Chen AnJun, C. A., Wu HeJun, W. H., & Zhang ZhiQing, Z. Z. (2019). Development and application of intelligent indicator films using blended film-forming solutions combined with purple sweet potato anthocyanins.
- [34] Kaewprachu, P., Romruen, O., Jaisan, C., Rawdkuen, S., & Klunklin, W. (2024). Smart colorimetric sensing films based on carboxymethyl cellulose incorporated with a natural pH indicator. *International Journal of Biological Macromolecules*, 259, 129156.
- [35] Liu, D., Cui, Z., Shang, M., & Zhong, Y. (2021). A colorimetric film based on polyvinyl alcohol/sodium carboxymethyl cellulose incorporated with red cabbage anthocyanin for monitoring pork freshness. *Food Packaging and Shelf Life*, 28, 100641.
- [36] Kim, D. Y., Park, S. W., & Shin, H. S. (2023). Fish freshness indicator for sensing fish quality during storage. *Foods*, 12(9), 1801.
- [37] Ningtyas, R., Jayarachman, M. N., & Imam, S. (2023, May). The use of colour indicator as a smart packaging for monitoring spoilage fillet catin fish (*Pangasius* sp.) in room temperature. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1177, No. 1, p. 012048). IOP Publishing.
- [38] Chen, Z., & Feng, A. (2020). The quality evaluation method of tilapia fillets stored at 3 and– 2° C based on fractal dimension changes. *Journal of Food Process Engineering*, 43(7), e13407.

- [39] Basdeki, E., Vasilaki, S. E., Sensi, M., Flemetakis, E., Biscarini, F., Power, D., & Tsironi, T. (2025). Reviewing the Correlation of Fish Quality Alteration and In-Package Headspace Composition: Evidence From a pH Freshness Indicator Case Study. *International Journal of Food Science*, 2025(1), 3576183.
- [40] Huang, Z., Wang, Q., Xia, L., Hui, J., Li, J., Feng, Y., & Chen, Y. (2019). Preliminarily exploring of the association between sugars and anthocyanin accumulation in apricot fruit during ripening. *Scientia Horticulturae*, 248, 112-117.

Freshness/spoilage monitoring of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet using pH-sensitive indicator film based on Arabic gum-carboxymethyl cellulose incorporated with purple basil (*Ocimum basilicum*. L) anthocyanin

Amir Rezaei¹, Masoud Rezaei^{1*}, Mehdi Alboofetileh²

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

2- Persian Gulf and Oman Sea Ecological Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran

ABSTRACT

In the present study, pH-sensitive indicator film based on Arabic gum-carboxymethyl cellulose and purple basil (*Ocimum basilicum* L.) anthocyanin was prepared and used to monitor the freshness/spoilage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet during refrigerated storage period. For this purpose, anthocyanin of purple basil were extracted and added to the 100 mL of the Arabic gum-carboxymethyl cellulose film solution at concentrations of 40, 60, and 80 mg. The color change of the prepared films was measured at different pH levels (2-12) and ammonia gas concentrations. Result of this evaluations showed that the color of the indicator films was pink to purple at low pH, colorless at neutral pH, and yellow at high pH. Furthermore, the response of the indicator films in the presence of ammonia gas was similar to high pH, which the color was yellow. During the refrigerated storage period, freshness evaluation indices of the fish fillet, such as pH, total volatile basic nitrogen (TVB-N) and total bacterial count (TVC) were measured in addition to the films color. The TVC, TVB-N and pH were measured at day 0 as 4.8 log cfu/g, 5.2 mg/100g, and 6.7, respectively. These parameters were increased significantly with increasing the 12-day storage period. TVB-N and TVC were exceeded the permissible human consumption limit on day 8. The color of the indicator films was colorless at the beginning of the period (day 0) and it was changed to yellow at day 12, which is a sign of spoilage.

KEYWORDS: Freshness monitoring, Biodegradable films, pH Indicator, Anthocyanin, Storage period

ARTICLE TYPE

Original Research

ARTICLE HISTORY

Received: 06 July 2025

Revised: 11 August 2025

Accepted: 06 September 2025

ePublished: 21 September 2025

* Corresponding Author:

Email address:

Tel:

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2322-5513