

(OPEN ACCESS)

Performance Evaluation of Coated Paper-Based pH-Sensitive Nanosensors Containing Sugar Beet Pulp Nanofibers for Detecting Spoilage of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fillets during Refrigerated Storage

Zahra Nahvi¹, Seyed Vali Hosseini^{*2}, Alireza Mirvaghefi³,
Mohammad Azadfallah⁴, Hossein Yousefi⁵

1. Ph.D. Student of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: zahra.nahvi@yahoo.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: hosseini@ut.ac.ir
3. Professor, Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: avaghefi@ut.ac.ir
4. Associate Prof., Dept. of Wood and Paper Sciences and Technology, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: adfallah@ut.ac.ir
5. Associate Prof., Dept. of Wood Technology and Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hypusefi@gau.ac.ir

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 07.26.2024

Revised: 08.05.2024

Accepted: 08.20.2024

Keywords:

Agricultural waste,
Fish spoilage,
Nano biosensor,
Refrigerated storage,
Smart packaging

ABSTRACT

In this study, a pH-sensitive colorimetric sensor was designed and evaluated to detect the spoilage of rainbow trout fillets during refrigerated storage. The sensor was prepared using a combination of beet pulp nanofibers, bentonite, and bromothymol blue, and then incorporated into the packaging of rainbow trout fillets. The packages were stored at 4 °C for 12 days, and during this period, the color changes of the sensor were monitored using the CIELab system. To confirm the sensor's effectiveness, additional tests were conducted, including measurements of pH changes, total volatile basic nitrogen (TVB-N), and total microbial load. The results demonstrated that the embedded sensor effectively detected the spoilage of rainbow trout fillets and showed color changes over time. Furthermore, the measurements of total microbial load, pH, and TVB-N exhibited a significant correlation with the color changes of the sensor ($R^2=0.73$). Therefore, it can be concluded that the developed sensor is highly sensitive to pH changes resulting from fish spoilage and is recommended for use in detecting spoilage levels in the packaging of rainbow trout fillets during refrigerated storage. This sensor can serve as an effective and efficient tool for detecting fish spoilage, providing both consumers and producers with a reliable method to ensure the freshness of the product.

Cite this article: Nahvi, Zahra, Hosseini, Seyed Vali, Mirvaghefi, Alireza, Azadfallah, Mohammad, Yousefi, Hossein. 2025. Performance Evaluation of Coated Paper-Based pH-Sensitive Nanosensors Containing Sugar Beet Pulp Nanofibers for Detecting Spoilage of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fillets during Refrigerated Storage. *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 14 (2), 121-140.



© The Author(s).

Doi: 10.22069/japu.2024.22659.1893

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

ارزیابی عملکرد نانوحسگر حساس به pH مبتنی بر کاغذ پوشی داده شده حاوی نانوالیاف تفاله چغندر قند جهت تشخیص فساد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول نگهداری در یخچال

زهرا نحوی^۱، سید ولی حسینی^{۲*}، علیرضا میروافقی^۳، محمد آزادفلاح^۴، حسین یوسفی^۵

۱. دانشجوی دکتری شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
رایانامه: zahra.nahvi@yahoo.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
رایانامه: hosseinisv@ut.ac.ir
۳. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
رایانامه: avaghefi@ut.ac.ir
۴. دانشیار گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
رایانامه: adfallah@ut.ac.ir
۵. دانشیار گروه تکنولوژی و مهندسی چوب، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
رایانامه: hypusefi@gu.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله:	در این پژوهش، یک حسگر رنگ‌سنجی حساس به تغییرات pH برای تشخیص فساد
مقاله کامل علمی- پژوهشی	ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول نگهداری در یخچال طراحی و ارزیابی شد. این حسگر با
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۰۵	استفاده از ترکیب نانوالیاف تفاله چغندر قند، بتونیت و بروموتیمول آبی تهیه شده و در بسته‌های
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۵/۱۵	فیله ماهی قزل‌آلا تعبیه گردید. بسته‌ها به مدت ۱۲ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۳۰	شدند و در طی این دوره، تغییرات رنگ حسگر با استفاده از سیستم CIELab بررسی شد.
واژه‌های کلیدی:	برای تأیید کارایی حسگر، آزمایش‌های تکمیلی دیگری نیز انجام شد که شامل اندازه‌گیری
بسته‌بندی هوشمند،	تغییرات pH، مجموع ترکیبات نیتروژنی فرار (TVB-N) و بار میکروبی کل بود. نتایج نشان
ضایعات کشاورزی،	داد که حسگر تعبیه شده کارایی مناسبی در تشخیص فساد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دارد
فساد ماهی،	و با گذشت زمان، تغییرات رنگ را به نمایش گذاشت. همچنین، سنجش میزان بار میکروبی
نانو سنسور زیستی،	کل، pH و TVB-N همبستگی معناداری با تغییر رنگ حاصل از حسگر نشان داد ($R^2=0.73$).
نگهداری در یخچال	بر این اساس، می‌توان نتیجه گرفت که حسگر تولیدی دارای حساسیت بالایی نسبت به تغییرات
	pH ناشی از فساد ماهی است و استفاده از آن برای تشخیص میزان فساد در بسته‌بندی فیله
	ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول دوره نگهداری در یخچال توصیه می‌شود. این حسگر

می‌تواند به عنوان ابزاری مؤثر و کارآمد برای تشخیص فساد ماهی مورد استفاده قرار گیرد و با مشاهده تغییر رنگ، به مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان کمک کند تا از تازگی محصول اطمینان حاصل کنند.

استناد: نحوی، زهرا، حسینی، سید ولی، میرواقفی، علیرضا، آزادفلاح، محمد، یوسفی، حسین (۱۴۰۴). ارزیابی عملکرد نانوحسگر حساس به pH مبتنی بر کاغذ پوشش داده شده حاوی نانوالیاف تفاله چغندر قند جهت تشخیص فساد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول نگهداری در یخچال. نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ۱۴ (۲)، ۱۴۰-۱۲۱.

Doi: 10.22069/japu.2024.22659.1893



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

فساد مواد غذایی یکی از موضوعات مهم در طی حمل و نقل، نگهداری و فرآوری آن می‌باشد. می‌توان گفت، کیفیت و ایمنی غذا از مهم‌ترین و در عین حال چالش‌برانگیزترین موضوعات صنایع غذایی در سال‌های اخیر است. بنابراین نظارت و کنترل ناکافی در هر مرحله از زنجیره تأمین مواد غذایی (اعم از تولید، حمل و نقل، فرآوری، ذخیره‌سازی، توزیع، بازاریابی و مصرف) به اتلاف مواد غذایی منجر می‌شود. امروزه، تقاضا برای محصولات با کیفیت و ماندگاری بیش‌تر در سطح جهانی در حال افزایش است (۱). برای این منظور، بسته‌بندی، نقشی حیاتی را در حفظ کیفیت مواد غذایی ایفا می‌کنند (۲). سیستم‌های معمول بسته‌بندی مواد غذایی قادر به پاسخگویی به تقاضای فعلی بازار نیستند (۳، ۴). بنابراین، ساخت ترکیبات بسته‌بندی با کاربردهای خلاقانه، یعنی "بسته‌بندی هوشمند" (SMP)^۱ پتانسیل و مزایای خوبی را نشان می‌دهد (۵).

بسته‌بندی هوشمند دارای یک برچسب کوچک و کم‌هزینه است که برای نظارت بر تازگی یا شرایط ماده غذایی به بسته آن متصل می‌شود (۶، ۷). معمولاً بسته‌بندی هوشمند دارای یک نشانگر است که امکان تغییر رنگ را با واکنش با ترکیبات شیمیایی آزاد شده از غذای بسته‌بندی شده فراهم می‌کند (۸). از سوی دیگر، مهم‌ترین گام در طراحی و توسعه یک سیستم بسته‌بندی مواد غذایی حذف تغییرات نامطلوب کیفی و حفظ و توسعه ویژگی‌های مطلوب کیفیت می‌باشد. بنابراین مطالعه و درک سیستماتیک مکانیسم‌های فساد ماده غذایی هدف مهمی تلقی می‌شود (۹).

محصولات دریایی به دلیل ارزش غذایی بالا، نقش مهمی در رژیم غذایی دارند و مصرف آن‌ها به طور قابل توجهی افزایش یافته است (۵). با این حال، این

محصولات به دلیل ویژگی‌های خاص خود، مانند pH نزدیک به خنثی و ترکیبات نیتروژنی غیرپروتئینی، بسیار فسادپذیر هستند و نیاز به فرآوری و بسته‌بندی سریع دارند (۱۰، ۱۱). در این بین، ماهی قزل‌آلا یکی از محبوب‌ترین ماهیان سردآبی پرورشی ایران و جهان می‌باشد. بر اساس آماری که توسط فائو گزارش شده، تولید قزل‌آلای رنگین‌کمان از دهه ۱۹۵۰ رشد چشمگیری داشته است (۱۲). در ایران نیز پرورش این ماهی در دهه اخیر به شدت افزایش یافته است. طبق گزارش‌های سازمان شیلات ایران، ماهیان سردآبی مانند قزل‌آلای رنگین‌کمان سالانه تولید بالایی دارند و این گونه یکی از اصلی‌ترین ماهی‌های صادراتی ایرانی است (۱۳).

تازگی یکی از شاخص‌های مهم در ارزیابی کیفیت ماهی و محصولات دریایی است و نظارت سریع و دقیق بر آن اهمیت زیادی دارد (۱۴، ۱۵). در این راستا، بسته‌بندی غذاهای دریایی برای حفظ کیفیت و ایمنی محصولات و تضمین حمل و نقل ایمن آن‌ها بسیار مهم است (۱۶). فناوری بسته‌بندی هوشمند که کیفیت و ایمنی را بهبود می‌بخشد و مدت ماندگاری محصولات فاسد شدنی را افزایش می‌دهد، از جدیدترین روش‌های بسته‌بندی مواد غذایی است (۱۷). این فناوری شرایط ذخیره‌سازی و تاریخچه محصول را از تولید تا مصرف نشان می‌دهد (۱۸).

حسگرهای حساس به pH که با تغییر رنگ به وجود آمین‌های فرار ناشی از فساد ماهی پاسخ می‌دهند، از جمله ابزارهای این فناوری هستند. این حسگرها با به دام انداختن رنگ حساس به pH در داخل یک ماتریس پلیمری ایجاد می‌شوند و در نهایت به حضور مواد شیمیایی فرار یعنی مجموع بازهای نیتروژن فرار (TVB-N)^۲ با تغییر رنگ قابل مشاهده پاسخ می‌دهد (۱۷).

حسگرهای pH بصری معمولاً شامل دو بخش هستند: تکیه‌گاه جامد و رنگ حساس به pH (۱۹). این رنگ‌ها می‌توانند به صورت فیزیکی یا کووالانسی به تکیه‌گاه متصل شوند یا در ماتریس‌های پلیمری به دام بیفتند (۲۰). رنگ‌های مورد استفاده در این حسگرها شامل بروموکروزول سبز^۱ و بنفش^۲، کلروفنل^۳، متیل رد^۴، برموتیمول آبی (BB)^۵ و زایلنول^۶ می‌باشند (۲۱).

در سال‌های اخیر، بیوپلیمرهای تجدیدپذیر و زیست‌تخریب‌پذیر در بسته‌بندی مواد غذایی مورد توجه قرار گرفته‌اند. علاوه بر این، برای بهبود خواص مکانیکی و ممانعتی این بیوپلیمرها، از ترکیب آن‌ها با پلیمرهای دیگر یا نانوذرات معدنی استفاده می‌شود (۲۲).

در این راستا، حسگرهای مبتنی بر کاغذ به دلیل دسترسی گسترده، قیمت پایین، قابلیت تجزیه زیستی و زیست‌تخریب‌پذیری، کاربرد گسترده‌ای دارند (۲۳). از طرفی، کاغذ به دلیل تجزیه بیولوژیکی، سبک بودن، خواص مکانیکی خوب و قابلیت بازیافت، ماده‌ای عالی برای کاربردهای مختلف از جمله بسته‌بندی می‌باشد (۲۴). در سال‌های اخیر چندین بیوپلیمر به‌عنوان پوشش کاغذ، مانند پلی‌ساکاریدها (مشتقات نشاسته و سلولز، کیتوزان و آلژینات‌ها)، پروتئین‌ها (کازئین، آب پنیر، کلاژن، سویا و گلوتن)، لیپیدها (موم، واکس و اسیدهای چرب آزاد) و پلی‌استرها (پلی‌هیدروکسی آلکانوات‌ها (PHA)^۷ و پلی‌لاکتیک اسید (PLA)^۸ استفاده شده‌اند (۲۵، ۲۶).

مواد تجدیدپذیر مانند زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی، بقایای کشاورزی و گیاهان یک‌ساله، منابع جایگزین

مناسبی برای تولید خمیر سلولز مورد نیاز صنایع در نظر گرفته می‌شوند که سازگار با محیط‌زیست و فراوان هستند. تفاله چغندر قند یکی از محصولات فرعی کارخانه‌های قند می‌باشد. حدود ۴ تا ۵ درصد وزن تر ریشه چغندر قند را تفاله تشکیل می‌دهد که فقط بخش کمی از آن به عنوان غذای حیوانات با ارزش غذایی کم مورد مصرف دامداران قرار می‌گیرد و تجمع باقی‌مانده‌ها باعث آلودگی محیط زیست می‌شود (۲۷، ۲۸). به‌طوری‌که تولید سالانه تفاله چغندر قند در اتحادیه اروپا به حدود ۱۴ میلیون تن می‌رسد. تفاله چغندر قند یک ترکیب لیگنوسلولزی می‌باشد که دارای ۶۵ درصد تا ۸۰ درصد پلی‌ساکارید (۲۴ درصد تا ۴۰ درصد سلولز، ۳۰ درصد همی‌سلولز و ۳۰ درصد پکتین)، مقدار کمی پروتئین، لیگنین، ترکیبات فنلی، چربی و خاکستر است (۲۷). بنابراین، می‌توان گفت استفاده از تفاله چغندر قند به عنوان منبع فراوان و ارزان به منظور تولید نانوالیاف سلولز کارآمد می‌باشد (۲۹).

در این پژوهش، برخلاف مطالعات قبلی که از فیلم به عنوان یک روش ساخت آشکارساز استفاده می‌شد (۳۰، ۳۱، ۳۲)، یک نانوحسگر حساس به pH مبتنی بر کاغذ پوشش داده شده، به منظور نظارت بر تازگی و تشخیص فساد ماهی ساخته شد و قابلیت آن مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به این نکته که آب‌دوستی و تخلخل بستر ممکن است چالش‌هایی را برای کنترل، جذب و انتقال کامل آب، گازها و روغن‌ها برای بسته‌بندی مبتنی بر کاغذ ایجاد کند. بنابراین در این مطالعه پوشش ممانعتی جدیدی برای بسترهای کاغذی توسعه داده شد که به عنوان یک حسگر عمل کرده و ضمن بهره‌مندی از مزایای بی‌شمار مواد بسته‌بندی سلولزی می‌تواند عملکرد کاغذهای بسته‌بندی را در تشخیص فساد فرآورده‌های آبزیان ارتقاء بخشد و در نتیجه به سلامتی و ایمنی مواد غذایی کمک شایانی خواهد شد.

- 1- Bromocresol green
- 2- Bromocresol purple
- 3- Chlorophenol
- 4- Methyl red
- 5- Bromothymol blue
- 6- Xylenol
- 7- Polyhydroxy Alkanoates
- 8- Polylactic Acid

مواد و روش‌ها

تفاله چغندر قند مورد آزمایش به طول ۳-۴ سانتی‌متر از کارخانه قند قزوین به صورت خشک و اکستروژ شده تهیه شد. اسید هیدروکلریک ۳۷ درصد، اسید سولفوریک، متیل قرمز، آمونیوم هیدروکسید، برموتیمول آبی، اتانول ۹۶ درصد از شرکت مرک، بنتونیت از شرکت مجللی و ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان از بازار ماهی‌فروشان کرج به صورت تازه (صید همان روز) تهیه شد.

اندازه‌گیری پروتئین و خاکستر و رطوبت تفاله چغندر قند: نمونه‌های خشک شده تفاله چغندر قند، آسیاب و از الک با مش ۶۰ عبور داده شد. آن‌گاه به منظور تعیین میزان پروتئین نمونه از روش کج‌دال استفاده شد. در این روش در حضور اسید سولفوریک و کاتالیزور نمونه ماهی هضم سپس اتم نیتروژن به وسیله یک واسطه قلیایی ترکیبات آلی نیتروژن‌دار به سولفات آمونیم تبدیل و سپس در اسیدکلریدریک یا اسیدبوریک جذب شده و به وسیله تیتراسیون با یک اسید مقدار آن تعیین گردید؛ بنابراین تعیین مقدار پروتئین در سه مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون انجام شد و میزان پروتئین با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۳۳):

$$\text{نرمالیتة اسید} \times \text{حجم اسید مصرفی} \\ \text{درصد ازت} = \frac{100 \times 0.14 \times}{\text{وزن نمونه (گرم)}}$$

$$\text{درصد ازت} = 6/25 \times \text{درصد پروتئین}$$

جهت تعیین میزان خاکستر، روش کار بر مبنای از بین بردن مواد آلی و باقی‌مانده مواد معدنی در دمای ۵۰۰-۵۵۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد (۳۳):

$$\text{درصد خاکستر} = \frac{(B-A) \times 100}{W}$$

که در آن، W وزن نمونه تر، B وزن بوته و خاکستر، A وزن بوته.

تعیین مقدار رطوبت، بر اساس خشک نمودن ماده غذایی در اثر حرارت 105 ± 2 درجه سانتی‌گراد آون و به روش غیرمستقیم می‌باشد. با استفاده از وزن نمونه خشک شده، مقدار رطوبت نمونه (برحسب درصد)، مطابق رابطه زیر محاسبه گردید (۳۳):

$$[\text{وزن اولیه نمونه} / (\text{وزن خشک نمونه} - \text{وزن اولیه نمونه})] = \\ \text{میزان رطوبت (درصد)} \times 100$$

سنجش میزان فیبر و هلو سولولز تفاله چغندر قند: تعیین مقدار فیبر نمونه‌های تفاله چغندر قند به روش فرانکلین (۱۹۳۸) انجام شد. ابتدا نمونه‌ها وزن و به مدت ۲۴ ساعت درون مخلوط آب اکسیژنه / اسید استیک به نسبت ۱/۱ در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد درون آون قرار داده شدند. پس از طی این زمان نمونه‌ها خارج گردیده و درون کاغذ صافی که از قبل وزن شده قرار گرفتند و با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس به نمونه‌ها به همراه کاغذ صافی درون آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. پس از آن نمونه‌های خشک شده وزن شدند و مقدار فیبر نمونه‌ها محاسبه شد (۳۴).

جهت تعیین مقدار هلو سولولز نمونه، مقدار ۲/۵ گرم نمونه به وسیله ترازوی دقیق وزن و به یک ارلن مایر منتقل شد. سپس ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر داغ، ۰/۵ میلی‌لیتر استیک اسید و ۱ گرم سدیم کلریت به آن اضافه گردید. دهانه ارلن با درپوش پوشانده شد و داخل حمام آب گرم در دمای ۷۱ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از یک ساعت دوباره ۰/۵ میلی‌لیتر استیک اسید و ۱ گرم سدیم کلریت به مخلوط ارلن اضافه شد. عمل افزودن استیک اسید و سدیم کلریت به مخلوط واکنش در ۶ مرتبه و با فاصله زمانی یک

فرمولاسیون و آماده‌سازی پوشش: برای تهیه پوشش از روش هاکوویتا و همکاران (۲۰۱۵) با کمی تغییر استفاده شد. پوشش‌ها از سه جز ساخته شدند: رنگ حساس به pH (۱ قسمت)، رنگدانه (ذرات بنتونیت، ۱۰۰ قسمت) و اتصال‌دهنده (۱۰ قسمت برای سوسپانسیون نانوالیاف تفال چغندر قند) برموتیمول آبی (BTB) و یک آشکارساز با قابلیت تغییر رنگ مشخص از زرد به آبی، به عنوان آشکارساز TVB-N، استفاده گردید. بنتونیت و BTB با استفاده همزن مکانیکی با اتصال‌دهنده سوسپانسیون نانوالیاف تفال چغندر قند با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه مخلوط شد. همچنین آب به مخلوط اضافه شده تا به گرانیوی مطلوب برای پوشش برسد (۳۵).

ساخت نانوحسگرها: نانوحسگرها با استفاده از مواد پوشش همگن شده بر روی کاغذهای صافی واتمن شماره ۴۲ به وسیله میله پوشش‌دهی دستی RK Control K101 (RK Print Coat Instruments, Ltd UK) با شماره ۴ پوشش‌دهی شدند. سپس، کاغذهای پوشش داده شده در معرض هوای گرم قرار گرفتند و بلافاصله خشک شدند (۳۶). **مشخصه‌یابی نانوحسگرهای ساخته شده:** تجزیه و تحلیل مورفولوژی و ساختار از طریق میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FESEM)^۱ انجام شد. به منظور دریافت تصاویر با وضوح و کیفیت لازم و جلوگیری از تجمع الکترون، سطح نمونه‌ها قبل از آزمایش با پوشش طلا رسانا شدند. همچنین، ساختار نانوحسگرهای تهیه شده، اتصالات بدون تیمار تفال چغندر قند، نانوالیاف تفال چغندر قند و بنتونیت با استفاده از طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR)^۲ ارزیابی شدند.

آماده‌سازی نمونه‌های ماهی و نگهداری آن‌ها: نمونه‌ها ماهیان قزل‌آلا از بازار ماهی‌فروشان کرج تهیه

ساعت انجام شد. پس از گذشت ۳ ساعت از زمان انجام واکنش و بعد از اضافه کردن ۰/۵ میلی‌لیتر استیک اسید و ۱ گرم سدیم کلریت به مخلوط برای مرتبه ششم، واکنش به مدت ۲۰ ساعت در حمام آبگرم در دمای ۷۱ درجه سانتی‌گراد انجام شد. در هنگام انجام واکنش، رنگ مخلوط واکنش از زرد به سفید تغییر یافت. پس از پایان زمان واکنش، مخلوط در دمای اتاق سرد و هولوسلولز به وسیله قیف بوخنر (Buchner flask) روی کاغذ صافی جداسازی شد. هولوسلولز با آب مقطر و در نهایت با استون شستشو داده شده و بعد در آون در دمای ۱۱۹ درجه سانتی‌گراد خشک گردیده و پس از خشک شدن، میزان هولوسلولز تفال چغندر قند با توزین دقیق به دست آمد.

تهیه و ساخت نانوحسگر

تولید اتصال‌دهنده نانوالیاف تفال چغندر قند: تفال چغندر قند به روش هیدورترمال در یک محیط اسیدی با استفاده از اسیدکلریدریک غلیظ در دمای بالا و فشار اتمسفر عمل‌آوری شد. بدین‌صورت که مخلوطی به نسبت ۹/۱ نسبت آب و اسید/ بیومس تهیه شد و در دمای مورد نظر به مدت ۶۰ دقیقه درون حمام آب قرار داده شد. پس از آن با استفاده از یک مخلوط‌کن حرفه‌ای به صورت مکانیکی مخلوط شدند. در نهایت، نمونه‌ها شستشو و برای آزمایش‌های بعدی خشک گردیدند. سپس به منظور تولید نانوالیاف، سوسپانسیون تفال چغندر قند تیمار شده با اسید از دستگاه آسیاب (Masuko) دارای قدرت سایشی فوق‌العاده زیاد یا به اصطلاح Supermasscolloider عبور داده شدند. همچنین برای رسیدن به سطح مطلوب از فیبریلایسیون از دو سنگ مختلف با اندازه مش مختلف استفاده گردید (۲۳).

1- Field Emission Scanning Electron Microscopy

2- Fourier Transform Infrared Spectroscopy

و پس از فیله کردن در شرایط بهداشتی به تیمارهای موردنظر تقسیم و در درون بطری‌های شیشه‌ای استریل منتقل گردیدند. از فیله‌ها بلافاصله نمونه‌برداری شد (روز ۰) و از نظر محتوای میکروبی بررسی گردیدند. فیله‌های باقیمانده برای ارزیابی نانوحسگر و شمارش میکروبی در هر زمان از زمان نمونه برداری، در دو گروه تحت شرایط استریل تقسیم شدند. در ادامه نمونه‌ها درون ظروف مهر و موم شده با پارافیلیم نگهداری و سپس همه نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ذخیره گردیدند (۳۷).

ارزیابی پاسخ نانوحسگر به عنوان شاخص تازگی ماهی: قطعات فیله ماهی درون ظرف‌های استریل جداگانه قرار داده و سپس نانوحسگرها در فضای سر ظروف قرار گرفتند (دایره‌هایی با قطر ۱۵ میلی‌متر) در داخل یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت دوازده روز نگهداری شدند. در نهایت پاسخ نانوحسگرها به مدت ۱۲ روز به صورت بصری مشاهده و عکس‌برداری انجام شد. همچنین تغییرات رنگی نانوحسگرها با استفاده از دستورالعمل ارائه شده در بخش "تجزیه و تحلیل رنگ‌سنجی" مورد ارزیابی قرار گرفت (۳۸).

تجزیه و تحلیل رنگ‌سنجی: فضای رنگی CIELAB در سال ۱۹۸۶ برای توصیف روابط بین رنگ‌های بصری با استفاده از چشم غیرمسلح توسط کمیسیون بین‌المللی روشنایی توصیه شده است. در این فضای رنگی، L^* نشانگر روشنایی (۰ تا ۱۰۰)، a^* و b^* مختصات رنگ می‌باشند، به طوری که a^* محور قرمز/سبز ("+" به سمت قرمز و "-" به سمت سبز) و b^* محور زرد/آبی ("+" به سمت زرد و "-" به سمت آبی) می‌باشد (۳۹). پارامترهای رنگ (به عنوان مثال L^* ، a^* و b^*) با استفاده از نرم‌افزار فتوشاپ تعیین شدند.

شمارش کلی باکتری‌های سرمادوست: به منظور شمارش باکتری‌های سرمادوست در طول نگهداری ماهی، یک میلی‌لیتر از رقت‌های موردنظر در محیط کشت پلیت کانت آگار به صورت پور پلیت دو لایه کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۱۲ روز در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۴۰).

شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل: بدین منظور یک میلی‌لیتر از رقت‌های موردنظر در محیط کشت پلیت کانت آگار به صورت پور پلیت دو لایه کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شدند (۴۰).

اندازه‌گیری pH فیله ماهی: برای اندازه‌گیری pH، ۵ گرم گوشت ماهی در ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه هموژنایزر همگن شد. و در نهایت pH نمونه با دستگاه pH متر که با بافر ۴ و ۷ استاندارد شده بود، خوانده شد (۴۰).

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 از ته فرار در داخل محلول شامل اسیدبوریک (W/V ۲ درصد) و متیل قرمز به عنوان شاخص و سپس تیتروم محلول تغییر رنگ داده حاصل با اسید سولفوریک تا حاصل شدن رنگ ارغوانی انجام و نتایج به صورت میلی‌گرم نیتروژن در ۱۰۰ گرم نمونه ماهی بیان شد. میزان بازهای نیتروژنی فرار از رابطه زیر محاسبه شد. برای اندازه‌گیری این شاخص نمونه‌برداری از نمونه‌ها در روزهای ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲ روز ذخیره سازی انجام گرفت (۴۱).

($100 \times 1/4 \times$ حجم اسید سولفوریک مصرفی) وزن نمونه

$$TVB-N =$$

تجزیه تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از برنامه‌های Excel و نسخه ۱۶ SPSS انجام شد. برای این کار ابتدا با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنف از نرمال بودن یا نبودن داده‌ها اطمینان حاصل شد و در صورت نرمال بودن داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) و T غیرمستقل استفاده گردید. هم‌چنین جهت تعیین وجود تفاوت معنی‌دار بین مقادیر میانگین تیمارهای مختلف از آزمون دانکن در سطح $(P \leq 0.05)$ استفاده شد. تمامی نتایج از سه تکرار به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه گردید. هم‌چنین به منظور رسم نمودارها، از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

آنالیز شیمیایی نمونه: نتایج حاصل از آنالیز نمونه تفاله چغندر قند در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به جدول ۱، تفاله چغندر قند دارای ۶۳ درصد فیبر است. این مقدار بالاتر از فیبر موجود در چوب

۴۰-۵۰ درصد (۲۷) و کاه گندم، ۳۰-۴۰ درصد است. تاتپینار و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تفاله چغندر قند دارای حدود ۶۰-۶۵ درصد فیبر است که با نتایج پژوهش ما مطابقت دارد (۴۲). این شباهت می‌تواند به تشابه در فرآوری و آنالیز مواد بازگردد. از طرفی، مقدار فیبر تفاله چغندر قند بالاتر از فیبر موجود در چوب و کاه گندم است که می‌تواند نشان‌دهنده پتانسیل بالای آن برای کاربردهای مختلف صنعتی باشد. از طرفی، همی سلولز در تفاله چغندر قند به میزان ۵۴ درصد وجود دارد. این مقدار بیش‌تر از همی سلولز موجود در چوب، ۲۵-۳۵ درصد و کاه گندم ۲۰-۳۰ درصد است (۴۳). زمینسکی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که همی سلولز در تفاله چغندر قند حدود ۵۰-۵۵ درصد است، که تطابق خوبی با نتایج این پژوهش دارد (۴۴). دلیل تطابق می‌تواند به ساختار شیمیایی مشابه این مواد بازگردد و نشان‌دهنده فرآوری مناسب تفاله چغندر قند می‌باشد.

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی موجود در تفاله چغندر قند.

Table 1. Chemical Composition of Sugar Beet Pul.

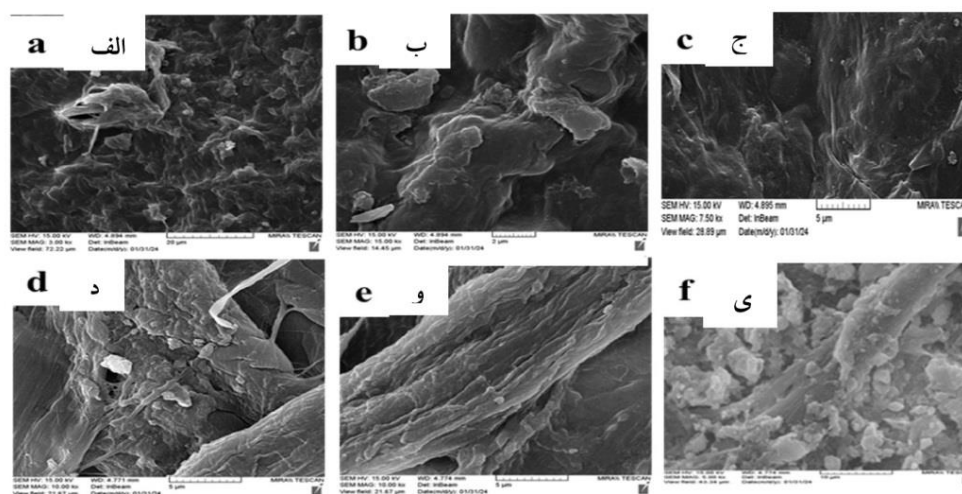
Proximate composition	(%)
Fiber	63
Holo celolose	34
Lignine	3.5
Proteine	8.86
Ash	7.63
Moisture	4.36

شده در شکل ۱ نشان داده شده است. شکل (f) ویژگی‌های مورفولوژیکی دقیق‌تر آشکار ساز، از جمله الیاف سلولزی بلند کاغذ صافی در پس‌زمینه پوشیده شده توسط ذرات بتونیت و ریزه‌ها و الیاف کوتاه

نتایج مربوط به مورفولوژی و ساختار
نتایج مربوط به بررسی میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی FESEM: اندازه و مورفولوژی سطح نانوالیاف تفاله چغندر قند و نانوحسگرهای سنتز

پروتئین) است که در نتیجه تیمار اسیدی داغ به‌صورت فیزیکی یا شیمیایی روی سطح الیاف‌ها جذب می‌شوند (۴۵). در واقع، تیمار تفاله چغندر قند در دمای بالا و pH پایین باعث تشکیل کمپلکس‌های پروتئین- پلی‌ساکارید از طریق برهمکنش‌های الکترواستاتیکی می‌شود.

تفاله چغندر قند نشان می‌دهد. همچنین از تصویر شکل (f) می‌توان فهمید که ساختار پلاکتی و لایه‌ای بنتونیت متشکل از منافذ داخلی، می‌تواند برای جذب گاز هدف توسط مکان‌های مختلف در سطح نانوحسگر مفید باشد. در تصاویر میکروسکوپی نانوالیاف‌ها ذراتی مشاهده می‌شود که احتمالاً متعلق به ترکیبات غیرسلولزی (مانند پکتین، همی‌سلولز و



شکل ۱- تصاویر FESEM از نانوالیاف تفاله چغندر قند الف، ب، ج و سطح نانوحسگرهای سنتز شده د، و، ی.

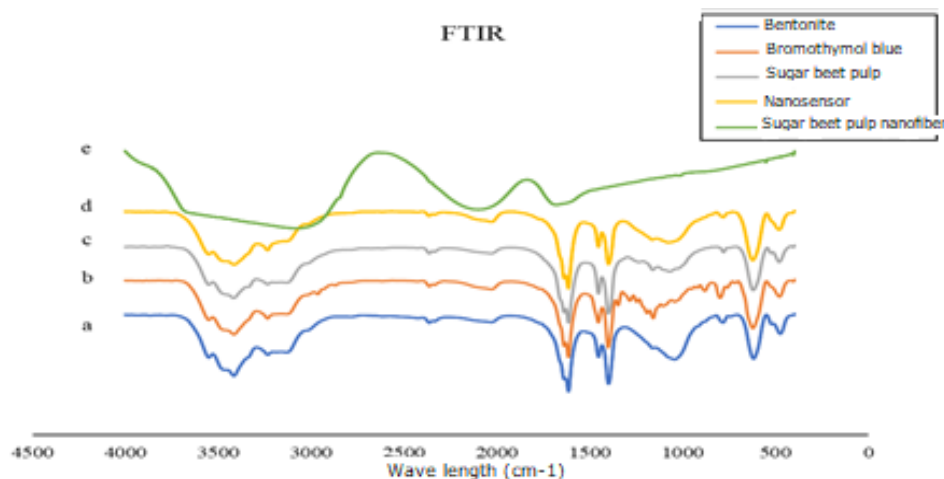
Figure 1. FESEM images of sugar beet pulp nanofibers a, b, c and synthesized nanosensor surfaces d, e, f.

نتایج مربوط به تست FT-IR: طیف‌سنجی FTIR یک ابزار مفید برای شناسایی حضور گروه‌های عاملی خاص در یک مولکول دارای پیوند شیمیایی خاص، به‌عنوان بخشی از خصوصیات ماده محسوب می‌شود. بنابراین به‌منظور بررسی پیوندهای شیمیایی نانوحسگر ساخته شده از دستگاه طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FT-IR) استفاده شد (۴۶). طیف FT-IR پودر بنتونیت، پودر تفاله چغندر قند، نانوالیاف تفاله چغندر قند، پودر برموتیمول آبی و نانوحسگر ساخته شکل ۲ نشان داده شده است. برای پودر بنتونیت ظهور پیک مشخصی در 3630 cm^{-1} نشان داد که نشان‌دهنده ارتعاش کششی O-H می‌باشد، که کین و همکاران (۲۰۲۱)، پیک مشابه‌ای را در

3460 cm^{-1} مشاهده کردند (۴۷). همچنین پیک مشاهده شده در 1044 cm^{-1} و 1399 cm^{-1} مربوط به ارتعاش خمشی Si-O می‌باشد که با مشاهدات بانیک و همکاران (۲۰۱۵) همخوانی داشت (۴۸). همچنین پودر برموتیمول آبی پیک‌های واضحی 1156 cm^{-1} و 1192 cm^{-1} نشان داد که نشان‌دهنده ارتعاش کششی SO_3 می‌باشد که با مطالعات علی و همکاران (۲۰۱۷) همخوانی دارد و پیک جذبی 623 cm^{-1} که مربوط به ارتعاش کششی پیوند Br-C آلیفاتیک می‌باشد را نشان داد که مطابق با مشاهدات میراندا و همکاران (۲۰۲۰) بود (۴۹ و ۵۰). تفاله چغندر قند پیک‌های واضحی حدود 1683 cm^{-1} و 1615 cm^{-1} به سبب ارتعاش کششی نامتقارن و

برموتیمول آبی و 3415 cm^{-1} تفاله چغندر قند که نشان‌دهنده ارتعاشات کششی گروه OH می‌باشد به طول موج کمی پایین‌تر، 3413 cm^{-1} جا به جا شده است، این احتمال می‌رود که این تغییر به سبب تشکیل تعداد زیادی پیوند هیدروژنی باشد، که با مطالعات تاباک و همکاران (۲۰۱۱) و سورندرا و ویرابادراسوامی (۲۰۱۷) مطابقت دارد (۵۳ و ۵۴). همچنین در نانوحسگر پیک‌های 1399 cm^{-1} مرتبط با ارتعاش کششی Si-O و 623 cm^{-1} برای ارتعاش کششی پیوند Br-C آلیفاتیک مشاهده شد که این موضوع به ترتیب وجود بتونیت و برموتیمول آبی را تأیید می‌کند (۵۵).

مقارن $\text{C}=\text{O}$ نشان داد، همچنین پیک جذبی 950 cm^{-1} تا 1200 cm^{-1} که اوج پیک آن در 1070 cm^{-1} است که به پیوند C-O در C-O-C یا C-O-C در C50 در ساختار سلولزی یا قند باقی‌مانده تفاله چغندر قند نسبت داده می‌شود، و پیک 1200 cm^{-1} تا 1800 cm^{-1} مربوط به گروه‌های کربوکسیل COOH بود (۵۱ و ۵۲). در خصوص طیف نانوالیاف تفاله چغندر قند پیک واضحی در 1679 cm^{-1} مشاهده شد که مرتبط با افزایش گروه‌های کربوکسیل COOH می‌باشد، که این موضوع انجام تیمار اسیدی بر روی تفاله چغندر قند را تأیید می‌کند (۲۳). طیف نانوحسگرها نشان داد که پیک‌های مشاهده شده در 3414 cm^{-1} که مرتبط با



شکل ۲- طیف FTIR پودر بتونیت (a)، پودر برموتیمول آبی (b)، تفاله چغندر قند (c)، نانو حسگر (d)، نانوالیاف تفاله چغندر قند (e).
Figure 2. FTIR spectra of bentonite powder (a), bromothymol blue powder (b), sugar beet pulp (c), nanosensor (d), sugar beet pulp nanofibers (e).

باکتری‌های هوازی روی فیله‌های ماهی ذخیره‌شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، به مدت دوازده روز به صورت سه روز یکبار پایش شد و نتایج به صورت یک نمودار نیمه لگاریتمی (CFU) در هر گرم ماهی در مقابل زمان نگهداری ماهی ارائه شد. با توجه به شکل ۳، مقدار اولیه TVC درون پلیت میزان اولیه برای فیله‌ها در روز ۰ نگهداری $3/55\text{ log CFU/g}$

آزمون‌های میکروبی: مواد مغذی که در ماهیچه ماهی موجود است شرایط مساعدی را برای رشد میکروبی فراهم می‌کند، بنابراین میکروارگانیسم‌ها عامل اصلی فساد بیش‌تر محصولات دریایی هستند (۵۶). تغییرات میزان بار باکتریایی کل TVC^1 در شکل ۳ نشان داده شده است. به منظور ارزیابی حسگر رنگی، تعداد

1- Total viable counts

بود که با گذشت زمان نگهداری برای همه تیمارها افزایش یافت. در واقع نتایج نشان داد که نگهداری فیله‌های ماهی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، نتوانسته رشد میکروارگانیسم‌ها را کاملاً مهار کند. به‌طوری‌که میانگین بار باکتریایی TVC در پایان دوره نگهداری در یخچال به $8/18 \log \text{CFU/g}$ افزایش یافت که این نتایج مطابق با سایر مطالعات انجام شده در زمینه بررسی کیفیت میکروبی ماهی قزل‌آلا می‌باشد (۵۷) و (۵۸). بر اساس استاندارد بین‌المللی میکروبیولوژی مواد غذایی حداکثر بار میکروبی مورد قبول در ماهی تازه $7 \log \text{CFU/g}$ می‌باشد (۵۹).

هم‌چنین، تغییر در تعداد باکتری‌های سرمادوست فیله ماهی قزل‌آلا طی نگهداری در دمای یخچال در شکل ۳ نشان داده شده است. تعداد اولیه باکتری‌های سرما دوست روز ۰ برای فیله‌ها $3/64 \log \text{CFU/g}$ بود. در مورد این باکتری‌ها نیز همانند TVC با گذشت زمان نگهداری روند افزایشی مشاهده شد. به‌طوری‌که این تعداد در آخرین روز نگهداری (روز دوازدهم) به $7/54 \log \text{CFU/g}$ رسید. پژوهش‌گران به این نتیجه رسیدند که، میزان بار باکتریایی اولیه آبزیان، جمعیت میکروبی و وضعیت بهداشتی در محیط آبی آن‌ها را منعکس می‌کند (۶۰). از سوی دیگر، میکروارگانیسم‌ها در تمام سطوح خارجی (پوست و آبشش) و روده ماهی‌های زنده و تازه صید شده یافت می‌شوند، بنابراین تعداد کل میکروارگانیسم‌ها بسیار متفاوت است و محدوده طبیعی 10^2-10^7CFU در سانتی‌مترمربع در سطح پوست می‌رسد (۶۱). هم‌چنین، افزایش بار کل باکتری برای هر تیمار در طول دوره نگهداری به میزان دست‌کاری، تجهیزات، میزان رعایت اصول بهداشتی در روش‌های عمل‌آوری و میزان اولیه باکتری بستگی دارد (۱۶). در طول نگهداری سرد، تغییر در انواع باکتری‌ها وجود دارد به‌طوری‌که فساد ماهی تازه عمدتاً با باکتری‌های سرمادوست گرم منفی همانند سودوموناس، مرتبط

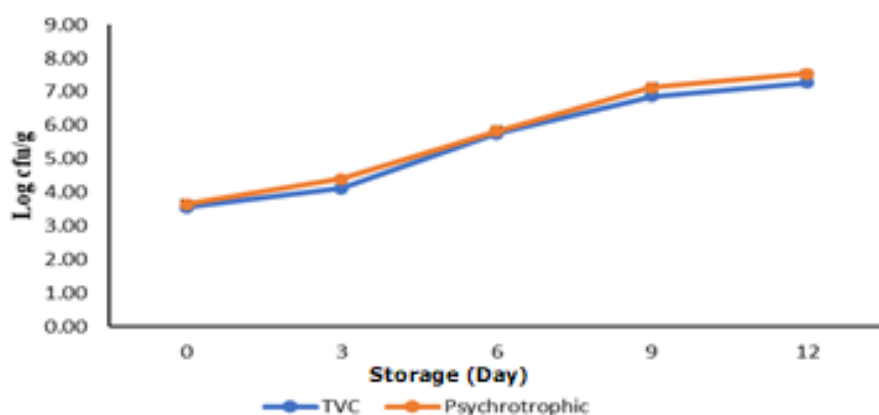
می‌باشند که پس از گذر یک تا دو هفته نگهداری بر جمعیت میکروبی موجود غالب می‌شوند (۴). بنابراین می‌توان ذکر کرد که، عمده تغییرات به‌وجود آمده ناشی از دو جنس غالب سودوموناس^۱ و آلترموناس^۲ به سبب کوتاه‌تر بودن زمان تکثیر و درجه حرارت پایین‌تر نسبت به سایر گونه‌ها می‌باشد (۶۲).

تغییرات pH در طول دوره نگهداری: یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های ماهی pH بالای آن بعد از مرگ است، در مطالعه حاضر، با توجه به شکل ۴ مقادیر pH نمونه‌ها به تدریج از $6/77$ در روز ۰ به $7/57$ در روز ۱۲ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت، که احتمالاً به دلیل تولید تری متیل آمین (TMA) و سایر ترکیبات فرار ناشی از فساد باکتری می‌باشد. pH از جمله فاکتورهای مؤثر بر رشد میکروبی و فساد غذاها بوده و در عین‌حال می‌تواند متأثر از فعالیت‌های میکروبیولوژیک باشد. از طرفی مقدار pH ماهیچه ماهی زنده نزدیک به ۷ است که پس از مرگ بسته به فصل، گونه و سایر عوامل می‌تواند از ۶ تا ۷ متغیر باشد، بنابراین pH شاخص دقیق و مناسبی برای تعیین تازگی و کیفیت اغلب آبزیان نیست، اما به‌عنوان یک شاخص تکمیل‌کننده برای پارامترهای دیگر استفاده می‌شود (۶۳).

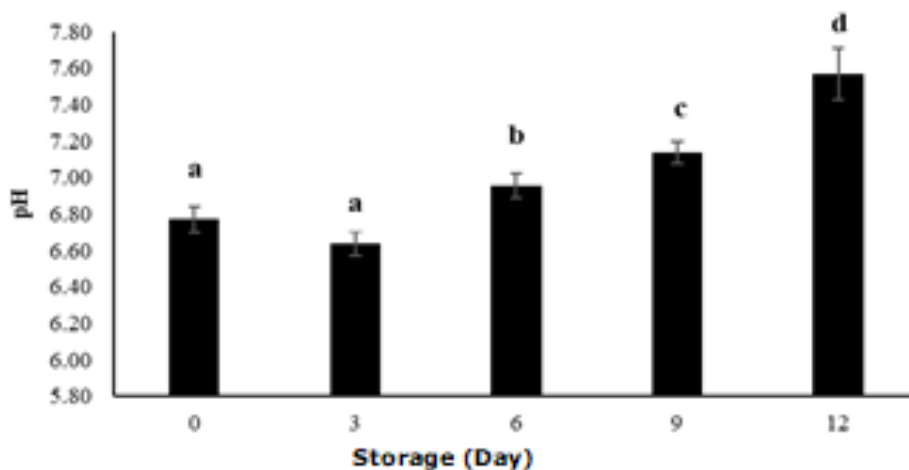
هم‌چنین، تغییرات در مقادیر pH نمونه‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان در طول ذخیره‌سازی در مطالعه حاضر از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/05$)، که مشابه نتایج یافت‌شده برای سایر گونه‌های ماهی در طول ذخیره‌سازی است. کاسترو و همکاران (۲۰۰۶) گزارش دادند که مقدار pH تقریباً ۷ شروع زوال ماهی را نشان می‌دهد و پیشنهاد می‌کنند که این افزایش سطح pH به دلیل تجمع ترکیبات قلیایی مانند TMA و سایر مشتقات TVBN است که عمدتاً به سبب فعالیت میکروبی در طول فساد ماهیچه ماهی تولید می‌شوند می‌باشد (۶۴).

1- Pseudomonas

2- Alteromonas



شکل ۳- تغییرات رشد باکتریایی کل TVC و سرمادوست در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد یخچال.
Figure 3. Changes in total bacterial growth (TVC) and psychrotrophic bacteria during storage at 4 °C in the refrigerator.



شکل ۴- تغییرات pH در دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد یخچال.
حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنادار بین مقادیر pH می باشند ($P < 0.05$), داده ها $\pm$ انحراف معیار ارائه شدند.

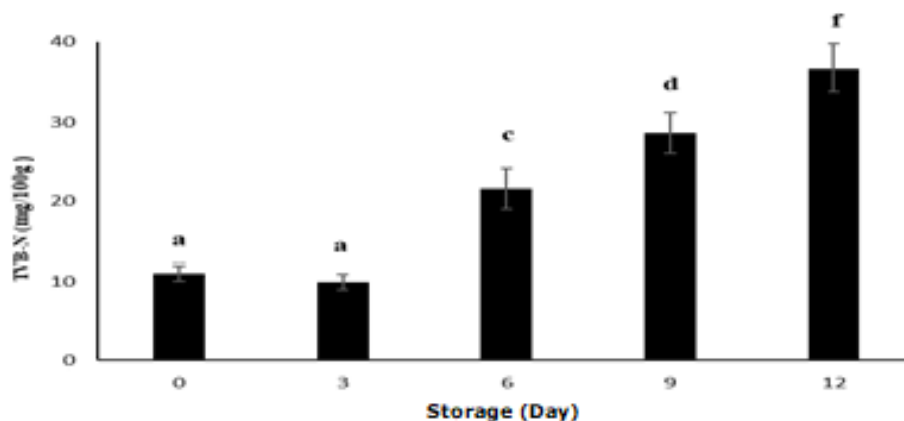
Figure 4. Changes in pH during the storage period at 4°C in the refrigerator.
Different letters on each column indicate significant differences between pH values ($P < 0.05$).
Data are presented as mean $\pm$ standard deviation.

مقدار شاخص مجموع ترکیبات ازته فرار TVB-N: میزان TVB-N به میزان باکتری و در نتیجه به تخریب باکتریایی وابسته است. تجزیه و تخریب ماهی یک فرایند پروتئولیتیک پیشرونده است که غالباً توسط فعالیت میکروارگانیسم ها و به میزان کم تر توسط آنزیم های اتولیتیک انجام می شود (۶۵). همان طور که در شکل ۵ مشاهده می شود، در طول نگهداری

فیلدهای قزل آلا رنگین کمان در دمای ۴ درجه سانتی گراد، مقادیر TVB-N به دلیل کاهش تازگی نمونه های ماهی روندی افزایشی داشت. که این نتایج با نتایج سایر پژوهش گران در این زمینه همخوانی دارد (۲۳، ۳۷ و ۶۶). زمانی که که غلظت TVB-N از ۳۰ mg/۱۰۰g بیش تر شود، ماهی باید برای مصرف خطرناک در نظر گرفته شود (۶۷). ژزک و همکاران

۱۱/۰۸ در روز اول به ۳۶/۷۵ بعد از ۱۲ روز در مطالعه ما مطابق با زاراگوزا و همکاران (۲۰۱۴) می‌باشد (۷۰). با توجه به شکل ۶ مشاهده شد که، روند کلی افزایش میزان ترکیبات ازته فرار در طول نگهداری فیله در دمای یخچال همخوانی مناسبی با تغییرات رنگ سنسور داشت، به‌طوری‌که با افزایش تولید ترکیبات ازته و تجمع آن‌ها در فضای بسته‌بندی ماهی، pH محیط به سمت قلیایی پیش رفته و پوشش ایجاد شده بر روی کاغذ صافی در برابر این تغییرات pH تغییر رنگ می‌دهند. نتایج مشاهده شده با پژوهش‌های پاکوئیت و همکاران (۲۰۰۷) که از بروموکرزول سبز به عنوان نشانگر برای تشخیص فساد در ماهی استفاده کردند و تغییر رنگ در نتیجه افزایش TVB-N را گزارش کردند مطابقت داشت (۱۸).

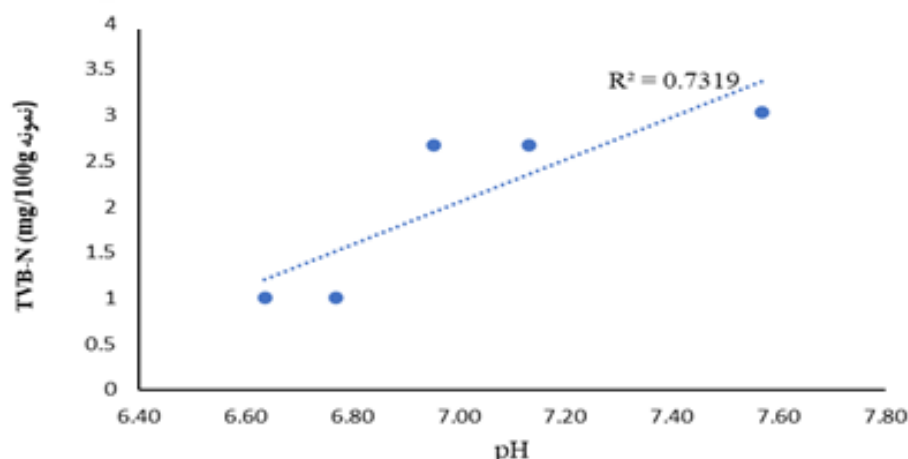
(۲۰۱۵) پیشنهاد کرد که سطح توصیه شده TVB-N برای فساد ۲۰ mg/۱۰۰g در ماهی‌های چرب مشابه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان است (۶۸). بررسی همبستگی بین تغییرات TVB-N و pH نشان داد که مقدار این همبستگی مثبت و معنی‌دار است (شکل ۶). از آنجایی‌که TVB-N در مطالعه ما به حداکثر سطوح نزدیک شد، بنابراین می‌توان به رابطه مستقیم آن با تغییر رنگ نشانگر، TVC و pH اشاره نمود که با نتایج گزارش شده توسط موریسی و همکاران (۲۰۱۶) که از معرف‌های رنگی به عنوان نشانگر فساد ماهی استفاده کردند، مطابقت دارد (۴۰). از سوی دیگر، کاسوندی و همکاران (۲۰۱۴)، از فیلم پلی‌انیلین حاوی نشانگر با انواع مختلف آمین‌های فرار اولیه برای تشخیص فساد ماهی استفاده و نتایج مشابهی را گزارش کردند (۶۹). افزایش TVB-N از



شکل ۵- تغییرات TVB-N در دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد یخچال.

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنادار بین مقادیر TVB-N می‌باشند ($P < 0.05$)، داده‌ها $\pm$ انحراف معیار ارائه شدند.

Figure 5. Changes in TVB-N during the storage period at 4°C in the refrigerator.
Different letters on each column indicate significant differences between TVB-N values ($P < 0.05$).
Data are presented as mean $\pm$ standard deviation.



شکل ۶- تصویر همبستگی TVB-N با ارزش رنگ pH.

Figure 6. Correlation between TVB-N and pH value color image.

نگهداری، روز فساد می‌باشد و با گذشت زمان (روز دوازدهم) نانوحسگرها کدرتر می‌شوند، که می‌تواند به سبب تولید حداکثری ترکیبات ازته فرار باشد، در واقع نانو حسگرهای موردنظر در روزهای ابتدایی سبز و سپس آبی شدند و در نهایت با گذشت زمان کدرتر شدند. این نتایج با یافته‌های کاسوندی و همکاران (۲۰۲۲) در مورد تغییرات رنگ حسگر حساس به pH مبتنی بر کاغذ با استفاده از بروموکروزول بنفش^۱ و برموتیمول آبی^۲ تهیه شده مطابقت داشت. به‌طوری‌که، همبستگی بین تغییر رنگ حسگر حساس به pH دوتیکه ساخته شده و تخریب ماهی در طول زمان، وضعیت فساد ماهی را به صورت بصری با تغییر رنگ به بنفش در بروموکروزول بنفش و آبی برموتیمول آبی نشان می‌دهد (۷۱).

تغییرات فاکتورهای L^* (روشنایی)، a^* (قرمزی-سبزی) و b^* (زرد-آبی): این فاکتورها متناسب با جذب گازهای حاصل از فساد ماهی درون بسته‌بندی از طریق تغییر رنگ حسگرها تغییر می‌کنند. به‌طوری‌که با افزایش فساد، رهائش گازها به درون بسته بیش‌تر و این امر می‌تواند سبب تغییر رنگ حسگرها شود. جدول ۲ نتایج میانگین داده‌های مربوط به تغییر در فاکتورهای رنگی L^* ، a^* و b^* حسگرها در طی زمان نگهداری فیله‌های ماهی در دمای یخچال را نشان می‌دهد. بر اساس جدول ۲ مشخص است که در تمامی حسگرها شاخص b^* زردی-آبی کاهش یافت. علت این امر برهم‌کنش بین ترکیبات ازته فرار حاصل از ماهی با ترکیبات برموتیمول آبی موجود در حسگر کاغذی می‌باشد. کاهش مقدار این پارامتر رنگی به سمت اعداد منفی با گذشت زمان نشان‌دهنده آبی شدن رنگ کاغذ صافی می‌باشد. با توجه به نتایج فاکتورهای a^* و L^* به طور مشابه با فاکتور b^* روند نزولی داشته‌اند. با توجه به یافته‌های آنالیزهای میکروبی، شیمیایی (تغییرات بار میکروبی، شاخص TVBN-N) و تغییرات فاکتورهای رنگی lab نانوحسگرها می‌توان ذکر کرد که روز نهم

1- Bromocresol purple

2- Bromothymol blue

جدول ۲- تغییرات فاکتورهای رنگ lab نانوحسگرهای بر پایه نانوالیاف چغندر قند در طول مدت نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد یخچال.

Table 2. Changes in color factors of lab-based nanofiber sensors made from beetroot during storage at 4 °C.

b*	a*	L*	Storage (day)
26.33 ± 3.51	7 ± 1.73	65.67 ± 0.58	0
10.33 ± 2.08	0.33 ± 1.53	69.44 ± 3.79	3
14.33 ± 2.52	2 ± 1	55.67 ± 0.58	6
1.67 ± 2.31	-4 ± 1	53.33 ± 2.52	9
3 ± 3.46	-6 ± 1	56.33 ± 1.53	12

نتیجه‌گیری

امروزه آسیب‌های مخرب ناشی از فساد و تقلب در ارائه محصول بی‌کیفیت باعث تغییر در رویکرد مصرف‌کنندگان و تولیدکنندگان شده است. در این پژوهش یک نانوحسگر رنگ‌سنجی مقرون به صرفه با استفاده از نانوالیاف تفاله چغندر قند، بتونیت و رنگ حساس به pH به منظور تشخیص فساد ماهی در طی دوره نگهداری طراحی شد. این حسگر در برابر تغییرات pH و آمین‌های فرار تولید شده در طول نگهداری ماهی بسیار حساس بود. نتایج مشاهده

بصری و نیز نتایج حاصل از آنالیز رنگ‌سنجی a^* ، L^* و b^* این حسگر در توافق با مقادیر TVB-N و الگوی رشد میکروبی در تشخیص به موقع فساد و غیرقابل مصرف شدن نمونه‌ها بود، که نشان‌دهنده امکان کاربرد این حسگر به عنوان شاخص pH در تشخیص فساد ماهی و سایر محصولات با میزان پروتئین بالا می‌باشد. این حسگر ساده را می‌توان در بسته‌بندی محصولات غذایی - شیلاتی استفاده کرد.

منابع

1. Ishangulyyev, R., Kim, S., & Lee, S. H. (2019). Understanding food loss and waste-why are we losing and wasting food?. *Foods*, 8(8), 297.
2. Abedi-Firoozjah, R., Yousefi, S., Heydari, M., Seyedfatehi, F., Jafarzadeh, S., Mohammadi, R., ... & Garavand, F. (2022). Application of red cabbage anthocyanins as pH-sensitive pigments in smart food packaging and sensors. *Polymers*, 14(8), 1629.
3. Mohan, C. O. (2018). Modern practices in seafood packaging.
4. Tamime, A. (2011). *Himalayan fermented foods—Microbiology, nutrition and ethnic values*.
5. Wu, D., Zhang, M., Chen, H., & Bhandari, B. (2021). Freshness monitoring technology of fish products in intelligent packaging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(8), 1279-1292.
6. Abedi-Firoozjah, R., Salim, S. A., Hasanvand, S., Assadpour, E., Azizi-Lalabadi, M., Prieto, M. A., & Jafari, S. M. (2023). Application of smart packaging for seafood: A comprehensive review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 22(2), 1438-1461.
7. Guo, X., Ma, L., Wu, W., Li, S., Lei, X., Wu, X., ... & Liu, F. (2022). Ultra-sensitive flexible piezoresistive pressure sensor prepared by laser-assisted copper template for health monitoring. *Sensors and Actuators A: Physical*, 334, 113325.
8. Hyun, W. J., Park, O. O., & Chin, B. D. (2013). Foldable graphene electronic circuits based on paper substrates. *Advanced Materials*, 25(34), 4729-4734.

9. Jin, P., Wang, P., Pang, W., Wang, H., Jiao, Y., Zhang, J., ... & Feng, X. (2022). Fluid microchannel encapsulation to improve the stretchability of flexible electronics. *Advanced Materials Technologies*, 7(6), 2101126.
10. Walsh, H., & Kerry, J. P. (2012). Packaging of ready-to-serve and retail-ready meat, poultry and seafood products. In *Advances in meat, poultry and seafood packaging* (pp. 406-436). Woodhead Publishing.
11. Zhang, M., Chen, H., Mujumdar, A. S., Tang, J., Miao, S., & Wang, Y. (2017). Recent developments in high-quality drying of vegetables, fruits, and aquatic products. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(6), 1239-1255.
12. Gokoglu, N. (2020). Innovations in seafood packaging technologies: A review. *Food Reviews International*, 36(4), 340-366.
13. Skilbrei, O. T. (2012). The importance of escaped farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a vector for the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) depends on the hydrological conditions in the fjord. *Hydrobiologia*, 686, 287-297.
14. Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S., & Brooks, M. S. (2010). Fish spoilage mechanisms and preservation techniques. *American journal of applied sciences*, 7(7), 859.
15. Shahidi, F., & Botta, J. R. (2012). *Seafoods: chemistry, processing technology and quality*. Springer Science & Business Media.
16. Tsironi, T. N., & Taoukis, P. S. (2018). Current practice and innovations in fish packaging. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 27(10), 1024-1047.
17. Nesvadba, P. (2003). Introduction to and outcome of the project "Multi-sensor techniques for monitoring the quality of fish"(MUSTEC, FAIR CT 98 4076). *from Catch to Consumer*, 175.
18. Pacquit, A., Frisby, J., Diamond, D., Lau, K. T., Farrell, A., Quilty, B., & Diamond, D. (2007). Development of a smart packaging for the monitoring of fish spoilage. *Food chemistry*, 102(2), 466-470.
19. Pourjavaher, S., Almasi, H., Meshkini, S., Pirs, S., & Parandi, E. (2017). Development of a colorimetric pH indicator based on bacterial cellulose nanofibers and red cabbage (*Brassica oleraceae*) extract. *Carbohydrate polymers*, 156, 193-201.
20. Abolghasemi, M. M., Sobhi, M., & Piryaee, M. (2016). Preparation of a novel green optical pH sensor based on immobilization of red grape extract on bioorganic agarose membrane. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 224, 391-395.
21. Horan, T. J. (2000). *U.S. Patent No. 6,149,952*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
22. Majeed, K., Jawaid, M., Hassan, A. A. B. A. A., Bakar, A. A., Khalil, H. A., Salema, A. A., & Inuwa, I. (2013). Potential materials for food packaging from nanoclay/natural fibres filled hybrid composites. *Materials & Design (1980-2015)*, 46, 391-410.
23. Alamdari, N. E., Aksoy, B., Aksoy, M., Beck, B. H., & Jiang, Z. (2021). A novel paper-based and pH-sensitive intelligent detector in meat and seafood packaging. *Talanta*, 224, 121913.
24. Jin, K., Tang, Y., Liu, J., Wang, J., & Ye, C. (2021). Nanofibrillated cellulose as coating agent for food packaging paper. *International Journal of Biological Macromolecules*, 168, 331-338.
25. Khwaldia, K., Arab-Tehrany, E., & Desobry, S. (2010). Biopolymer coatings on paper packaging materials. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9(1), 82-91.
26. Tang, X. Z., Kumar, P., Alavi, S., & Sandeep, K. P. (2012). Recent advances in biopolymers and biopolymer-based nanocomposites for food packaging materials. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(5), 426-442.
27. Toğrul, H., & Arslan, N. (2003). Flow properties of sugar beet pulp cellulose and intrinsic viscosity-molecular weight

- relationship. *Carbohydrate Polymers*, 54(1), 63-71.
28. Martani, F., Maestroni, L., Torchio, M., Ami, D., Natalello, A., Lotti, M., ... & Branduardi, P. (2020). Conversion of sugar beet residues into lipids by *Lipomyces starkeyi* for biodiesel production. *Microbial Cell Factories*, 19, 1-13.
29. Modelska, M., Berłowska, J., Kregiel, D., Cieciura, W., Antolak, H., Tomaszewska, J., ... & Witonska, I. A. (2017). Concept for recycling waste biomass from the sugar industry for chemical and biotechnological purposes. *Molecules*, 22(9), 1544.
30. Zhai, X., Shi, J., Zou, X., Wang, S., Jiang, C., Zhang, J., ... & Holmes, M. (2017). Novel colorimetric films based on starch/polyvinyl alcohol incorporated with roselle anthocyanins for fish freshness monitoring. *Food Hydrocolloids*, 69, 308-317.
31. Koosha, M., & Hamed, S. (2019). Intelligent Chitosan/PVA nanocomposite films containing black carrot anthocyanin and bentonite nanoclays with improved mechanical, thermal and antibacterial properties. *Progress in Organic Coatings*, 127, 338-347.
32. Mohammadlinejad, S., Almasi, H., & Moradi, M. (2020). Immobilization of *Echium amoenum* anthocyanins into bacterial cellulose film: A novel colorimetric pH indicator for freshness/spoilage monitoring of shrimp. *Food Control*, 113, 107169.
33. Helrich, K. C. (Ed.). (1990). *Official methods of Analysis of the AOAC. Volume 2* (No. Ed. 15, pp. xvii+-1298).
34. Franklin, G. L. (1938). The preparation of woody tissues for microscopic examination. *For. Production and Research. Laboratory*, 40.
35. Hakovirta, M., Aksoy, B., & Hakovirta, J. (2015). Self-assembled micro-structured sensors for food safety in paper based food packaging. *Materials Science and Engineering: C*, 53, 331-335.
36. Ezati, P., Tajik, H., Moradi, M., & Molaei, R. (2019). Intelligent pH-sensitive indicator based on starch-cellulose and alizarin dye to track freshness of rainbow trout fillet. *International journal of biological macromolecules*, 132, 157-165.
37. Majdinasab, M., Hosseini, S. M. H., Sepidname, M., Negahdarifar, M., & Li, P. (2018). Development of a novel colorimetric sensor based on alginate beads for monitoring rainbow trout spoilage. *Journal of food science and technology*, 55, 1695-1704.
38. Van der Schueren, L., De Meyer, T., Steyaert, I., Ceylan, Ö., Hemelsoet, K., Van Speybroeck, V., & De Clerck, K. (2013). Polycaprolactone and polycaprolactone/chitosan nanofibres functionalised with the pH-sensitive dye Nitrazine Yellow. *Carbohydrate polymers*, 91(1), 284-293.
39. Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A. J. (2013). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. *Food and bioprocess technology*, 6, 36-60.
40. Morsy, M. K., Zór, K., Kostasheva, N., Alstrøm, T. S., Heiskanen, A., El-Tanahi, H., ... & Emnéus, J. (2016). Development and validation of a colorimetric sensor array for fish spoilage monitoring. *Food control*, 60, 346-352.
41. Goulas, A. E., & Kontominas, M. G. (2005). Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food chemistry*, 93(3), 511-520.
42. Taştıncı, K., Öztürk, M., Altay, V., & Polat, H. (2019). Sugar Beet: An Overutilized Ancient Crop. In *Crop production technologies for sustainable use and conservation* (pp. 321-363). Apple Academic Press.
43. Fengel, D., & Wegener, G. (Eds.). (2011). *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*. Walter de Gruyter.

44. Ziemiński, K., Romanowska, I., & Kowalska, M. (2012). Enzymatic pretreatment of lignocellulosic wastes to improve biogas production. *Waste management*, 32(6), 1131-1137.
45. Hiasa, S., Kumagai, A., Endo, T., & Edashige, Y. (2016). Prevention of aggregation of pectin-containing cellulose nanofibers prepared from mandarin peel. *Journal of Fiber Science and Technology*, 72(1), 17-26.
46. Arafat, M. T., Mahmud, M. M., Wong, S. Y., & Li, X. (2021). PVA/PAA based electrospun nanofibers with pH-responsive color change using bromothymol blue and on-demand ciprofloxacin release properties. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 61, 102297.
47. Qin, Y., Peng, T., Sun, H., Zeng, L., Li, Y., & Zhou, C. (2021). Effect of montmorillonite layer charge on the thermal stability of bentonite. *Clays and Clay Minerals*, 69(3), 328-338.
48. Banik, N., Jahan, S. A., Mostofa, S., Kabir, H., Sharmin, N., Rahman, M., & Ahmed, S. (2015). Synthesis and characterization of organoclay modified with cetylpyridinium chloride. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 50(1), 65-70.
49. Miranda, K. W., Ntarelli, C. V., Thomazi, A. C., Ferreira, G. M., Frota, M. M., Bastos, M. D. S. R., ... & Oliveira, J. E. (2020). Halochromic polystyrene nanofibers obtained by solution blow spinning for wine pH sensing. *Sensors*, 20(2), 417.
50. Ali, R., Saleh, S. M., & Aly, S. M. (2017). Fluorescent gold nanoclusters as pH sensors for the pH 5 to 9 range and for imaging of blood cell pH values. *Microchimica Acta*, 184, 3309-3315.
51. Gupta, V., Ramakanth, D., Verma, C., Maji, P. K., & Gaikwad, K. K. (2023). Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from amla (*Phyllanthus emblica*) pomace. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(17), 15451-15462.
52. Norrahrim, M. N. F., Kasim, N. A. M., Knight, V. F., Ujang, F. A., Janudin, N., Razak, M. A. I. A., ... & Yunus, W. M. Z. W. (2021). Nanocellulose: The next super versatile material for the military. *Materials Advances*, 2(5), 1485-1506.
53. Tabak, A., Yilmaz, N. E. R. İ. M. A. N., Eren, E. M. R. E., Caglar, B., Afsin, B., & Sarihan, A. D. E. M. (2011). Structural analysis of naproxen-intercalated bentonite (Unye). *Chemical Engineering Journal*, 174(1), 281-288.
54. Surendra, B. S., & Veerabhadraswamy, M. (2017). Microwave assisted synthesis of polymer via bioplatfrom chemical intermediate derived from Jatropha deoiled seed cake. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, 2(3), 340-346.
55. Fosso-Kankeu, E., Potgieter, J., & Waanders, F. B. (2019). Removal of malachite green and toluidine blue dyes from aqueous solution using a clay-biochar composite of bentonite and sweet sorghum bagasse.
56. Özyurt, G., Özkütük, A. S., Şimşek, A., Yeşilsu, A. F., & Ergüven, M. (2015). Quality and shelf life of cold and frozen rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets: effects of fish protein-based biodegradable coatings. *International Journal of Food Properties*, 18(9), 1876-1887.
57. Majdinasab, M., Hosseini, S. M. H., Sepidname, M., Negahdarifar, M., & Li, P. (2018). Development of a novel colorimetric sensor based on alginate beads for monitoring rainbow trout spoilage. *Journal of food science and technology*, 55, 1695-1704.
58. Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Koocheki, A., & Khazaei, N. (2014). Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. *International journal of food microbiology*, 174, 88-97.

59. Bélanger, P., Tanguay, F., Hamel, M., & Phypers, M. (2015). Foodborne illness: An overview of foodborne outbreaks in Canada reported through outbreak summaries: 2008-2014. *Canada Communicable Disease Report*, 41(11), 254.
60. Alizadeh-Sani, M., Tavassoli, M., Mohammadian, E., Ehsani, A., Khaniki, G. J., Priyadarshi, R., & Rhim, J. W. (2021). pH-responsive color indicator films based on methylcellulose/chitosan nanofiber and barberry anthocyanins for real-time monitoring of meat freshness. *International Journal of Biological Macromolecules*, 166, 741-750.
61. Kostaki, M., Giatrakou, V., Savvaidis, I. N., & Kontominas, M. G. (2009). Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food microbiology*, 26(5), 475-482.
62. Sivertsvik, M., Jeksrud, W. K., & Rosnes, J. T. (2002). A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products—significance of microbial growth, activities and safety. *International journal of food science & technology*, 37(2), 107-127.
63. Rastiani, F., Jebali, A., Hekmatimoghaddam, S., Khalili Sadrabad, E., Akrami Mohajeri, F., & Dehghani-Tafti, A. (2019). Monitoring the freshness of rainbow trout using intelligent PH-sensitive indicator during storage. *Journal of Nutrition and Food Security*, 4(4), 225-235.
64. Castro, P., Padrón, J. C. P., Cansino, M. J. C., Velázquez, E. S., & De Larriva, R. M. (2006). Total volatile base nitrogen and its use to assess freshness in European sea bass stored in ice. *Food control*, 17(4), 245-248.
65. Ceylan, Z., Sengor, G. F. U., & Yilmaz, M. T. (2017). A novel approach to limit chemical deterioration of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fillets: Coating with electrospun nanofibers as characterized by molecular, thermal, and microstructural properties. *Journal of food science*, 82(5), 1163-1170.
66. Kuswandi, B., Restyana, A., Abdullah, A., Heng, L. Y., & Ahmad, M. (2012). A novel colorimetric food package label for fish spoilage based on polyaniline film. *Food control*, 25(1), 184-189.
67. Özoğul, F., & Özoğul, Y. (2000). Comparision of methods used for determination of total volatile basic nitrogen (TVB-N) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish journal of zoology*, 24(1), 113-120.
68. Ježek, F., & Buchtová, H. (2015). The effect of vacuum packaging on physicochemical changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during cold storage. *Acta Veterinaria Brno*, 83(10), 51-58.
69. Kuswandi, B., Jayus, Oktaviana, R., Abdullah, A., & Heng, L. Y. (2014). A novel on-package sticker sensor based on methyl red for real-time monitoring of broiler chicken cut freshness. *Packaging technology and science*, 27(1), 69-81.
70. Zaragoza, P., Fernandez-Segovia, I., Fuentes, A., Vivancos, J. L., Ros-Lis, J. V., Barat, J. M., & Martinez-Manez, R. (2014). Monitorization of Atlantic salmon (*Salmo salar*) spoilage using an optoelectronic nose. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 195, 478-485.
71. Kuswandi, B., Hasanah, F., Pratoko, D. K., & Kristiningrum, N. (2022). Colorimetric Paper-Based Dual Indicator Label for Real-Time Monitoring of Fish Freshness. *Food Technology and Biotechnology*, 60(4), 499-508.