

بررسی تغییرات میکروبی، شیمیایی و رنگ برگر ماهی در شرایط مختلف نگهداری با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی

محمد جواد خلف پور^۱، لاله رومیانی^{۲*}

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

۲- گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

* نویسنده مسئول (l.roomiani@iauhvaz.ac.ir)

چکیده

هدف از این مطالعه ارزیابی و پیش‌بینی تغییرات میزان کل باکتریایی، سودوموناس، سایکروتروف، انتروباکتریاسه‌آ، باکتری‌های اسید لاکتیکی و شاخص‌های شیمیایی شامل بازهای نیتروژنی فرار و مالون‌دی‌آلدئید در برگر ماهی پخته‌شده در دماهای ۴۵، ۵۵، ۶۵، ۷۵ و ۸۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی بود. مدت زمان پخت ۲۰ و ۳۰ دقیقه و طول دوره نگهداری ۱۸ روز بود. نتایج نشان داد دمای پخت ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه به‌جز در غیرفعال‌سازی سودوموناس در سایر گروه‌ها بی‌تأثیر بود. دمای پخت ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه موجب کنترل باکتری‌های سایکروتروف‌ها و انتروباکتریاسه‌آ شد. میزان سودوموناس در زمان پخت ۲۰ دقیقه در دو دمای ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد، باکتری‌های اسید لاکتیکی در زمان پخت ۲۰ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد در محدوده استاندارد بار باکتریایی نبودند و نتایج نشان داد که برگر ماهی به‌جز در این تیمارها، در سایر تیمارها تا انتهای دوره نگهداری قابل مصرف بود. دمای پخت ۸۵ درجه سانتی‌گراد در هر دو زمان پخت، موجب غیرفعال‌سازی باکتری‌های سودوموناس، انتروباکتریاسه‌آ و لاکتوباسیلوس شد. دما بیشترین و مدت زمان کمترین تأثیر بر مدل ارائه‌شده برای مالون‌دی‌آلدئید را داشت. فیش‌برگرها در طول زمان نگهداری در محدوده مجاز برای بازهای نیتروژنی فرار قرار داشتند. با افزایش زمان نگهداری، شاخص L^* روند افزایشی و رنگ فیش‌برگرها تمایل به سفیدی داشت. باتوجه به دامنه تغییرات داده‌های خروجی‌ها و مقایسه داده‌های ورودی و خروجی، می‌توان عنوان کرد که نتایج شبکه عصبی (پرسپترون چندلایه) قابل اعتماد بوده و می‌توان از آن برای کاهش هزینه‌های آزمایش‌ها در صنعت تولید برگر استفاده کرد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۱/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۳۰

تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۱/۰۱/۳۰

واژه‌های کلیدی

برگر ماهی

تغییرات شیمیایی

تغییرات میکروبی

شبکه عصبی مصنوعی



مقدمه

فراورده‌های غذایی حاصل از آبزیان به علت وجود پروتئین بالا، از جمله غذاهای فسادپذیر بوده که در اثر فعالیت‌های میکروبی و آنزیمی در رنگ، بافت و مزه آنها تغییراتی رخ می‌دهد (Bao, Zhou, Lu, Luo, & Shen, 2013). اصولاً فاسدشدن ماهیان تازه به دلیل عملکرد

میکروارگانیزم‌هایی مانند باکتری و یا متابولیت‌های آنها و فعالیت‌های بیوشیمیایی کنترل‌نشده پس از مرگ می‌باشد (Li, Zhang, Song, Feng, & Luo, 2018). از بین بردن و یا غیرفعال کردن باکتری‌ها و آنزیم‌های آنها، موجب افزایش ماندگاری آبزیان مورد استفاده و تضمین ایمنی و سلامتی آن برای مصرف‌کننده می‌شود (Durmus, 2020). از بین

از طریق پایگاه اطلاعاتی کامپیوتری انجام داد (Nollet & Toldrá, 2009).

در این ارتباط، کاربرد شبکه‌های عصبی مصنوعی برای پیشگویی کیفیت گوشت ژامبون براساس فساد پروتئین (Zhu et al., 2021) و ارزیابی میزان بازهای نیتروژنی فرار در فیله ماهی با استفاده از شبکه عصبی مورد مطالعه قرار گرفته است (Moosavi-Nasab, Khoshnoudi-Nia, Azimifar, & Kamyab, 2021). در مطالعه دیگری از شبکه عصبی مصنوعی برای پیش‌بینی واکنش‌های نگهداری و دما بر وضعیت میکروبی فیله کپور نقره‌ای^۳ استفاده کردند (Hosseini et al., 2021). ماندگاری ماهی کپور معمولی^۴ با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی (پس‌انتشار^۵) در شرایط انجام بررسی شد. ضریب رگرسیون ۰/۹۹۰۴-۰/۸۶۴۲، میانگین مربع خطا کم و خطای نسبی ۱۰ درصد، توانست پیش‌بینی ماندگاری ماهی در دمای ۲۶۶-۲۱۸ کلوین را با دقت انجام دهد (Lan, Yang, Gong, & Xie, 2022).

با توجه به اینکه مطالعه‌های گسترده‌ای در استفاده از این مدل‌ها به منظور پوشش تمامی پارامترهای کیفی برای بررسی ماندگاری آبزیان و فراورده‌های آنها انجام نشده است، لذا هدف از این مطالعه بررسی تغییرات میکروبی و شیمیایی برگر ماهی در شرایط مختلف نگهداری با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه برگر ماهی

برای تهیه برگر ماهی ۷۵ درصد از فیله کپور نقره‌ای به همراه افزودنی‌های مجاز به میزان ۲۵ درصد که شامل: ۷ درصد پودر سوخاری، ۱۰ درصد پودر پیاز، ۱/۴ درصد پودر سیر، ۱/۵ درصد رب گوجه‌فرنگی، ۱/۶ درصد آب‌لیمو، ۳/۱ درصد نمک، ۰/۴ درصد ادویه (شامل فلفل، کاری، زردچوبه، هل، جوز، زیره، تخم‌گشنیز بود، استفاده شد. سپس فرایند قالب‌زنی، آردزنی اولیه و آردزنی ثانویه برگرها انجام و با استفاده از دستگاه دوخت و کیوم بسته‌بندی شدند. برگرها با دو زمان پخت ۲۰ و ۳۰ دقیقه در ۴ دمای متفاوت پخت، پاستوریزه شدند. بسته‌های پاستوریزه شده به سرعت در تونل انجامد پیوسته در دمای ۳۵- درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه سرد شدند (Hosseini et al., 2021) در نهایت پس از

روش‌های مختلفی که برای حفاظت و نگهداری آبزیان و فراورده‌های آنها در مقابل عوامل فساد مورد استفاده قرار می‌گیرند، روش‌های مبتنی بر حرارت، از مهم‌ترین و پرکاربردترین آنها می‌باشند که در فراوری مواد غذایی نظیر برگر ماهی اهمیت بالایی دارند (مسلمی اجارستاقی، مسلمی، ایگدری، حسینی و عابدی، ۱۳۹۶).

یکی از مشکلات اصلی در جریان آزمایش‌های مرتبط با مواد غذایی، حجم بالای نمونه‌های مورد نیاز است که هزینه بالایی را به واحدهای تحقیق و توسعه کارخانجات، مؤسسات تحقیقاتی و غیره تحمیل می‌کند. طی سال‌های اخیر، روش‌های مرتبط با مدل‌سازی به دلیل کاهش تعداد آزمایش‌ها، در حال توسعه هستند (Mittal, 2013). مدل‌های جنبشی بر پایه قانون آرنیوس^۱ به‌طور گسترده برای پیش‌بینی تغییر ناخواسته در کیفیت فراورده‌های آبی استفاده می‌شوند (Jia et al., 2018). برخی نتایج به‌دست‌آمده از این مدل‌ها برای گونه‌هایی نظیر کپور معمولی، انحراف و خطاهای زیادی دارند. خطاهایی که بین مقدار حقیقی و پیش‌بینی تفاوت زیادی دارند با این وجود اکثر مدل‌ها این خطاها را در نظر نمی‌گیرند (Kong et al., 2016; Tascikaraoglu & Uzunoglu, 2014). برای اکثر مدل‌های پیش‌بینی، تنها عوامل اصلی در نظر گرفته و عوامل جزئی نادیده گرفته می‌شوند. به همین دلیل تفاوت بین مقادیر پیش‌بینی شده و تجربی ایجاد می‌شود که باعث خطاهایی در مقادیر نهایی می‌شود (Sadhu, Banerjee, Lahiri, & Chakrabarty, 2022). به همین منظور، شبکه عصبی مصنوعی (ANN^۲) برای کاهش خطاهای باقی‌مانده استفاده می‌شود (Khadir, 2021). شبکه عصبی مصنوعی برای تجدیدنظر در مدل کینتیکی و پیش‌بینی نتایج نهایی با دقت بالا به کار گرفته می‌شود. این مدل به‌طور ساده موضوع یا مفهومی است که برای نشان دادن نتایج یک پدیده روی پدیده‌ای دیگر مورد استفاده قرار می‌گیرد و امکان پاسخ به سؤال‌های مرتبط با یک سیستم بدون انجام آزمایش‌های تجربی را فراهم می‌سازد (Mohammadi Lalabadi, Sadeghi, & Mireei, 2020). چنانچه مدل‌های ریاضی مانند آرنیوس و شبکه عصبی مصنوعی، به طیف وسیعی از مواد غذایی توسعه پیدا کند، شاید بتوان پیش‌بینی دوره نگهداری و سلامت غذا را

³ *Hypophthalmichthys molitrix*

⁴ *Trachinotus ovatus*

⁵ Back Propagation

¹ Arrhenins

² Artificial Neural Network

ردبایل گلوکز آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت مشخص شد (سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI], ۱۳۹۳).

اندازه‌گیری بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N^۴)

اندازه‌گیری TVB-N به کمک دستگاه کج‌دال (Hanon K1100، ساخت چین) صورت گرفت (رابطه^۱). ۱۰ گرم برگر ماهی به یک بالن ۵۰۰ میلی‌لیتری انتقال یافت. سپس ۲ گرم اکسید منیزیم به‌عنوان کاتالیزور به آن اضافه و در نهایت ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر برای تقطیر به آن اضافه شد. در مرحله بعد ۲۵ میلی‌لیتر اسید بوریک ۲ درصد نرمال به آن افزوده شد. بعد از نصب سیستم، دستگاه کج‌دال روشن‌شده به مدت ۴۵ دقیقه حرارت داده شد تا زمانی که محلول داخل ارلن‌مایر به رنگ زرد درآمد. سپس با اسید سولفوریک ۰/۰۱ نرمال تیتراژ شد تا به رنگ اولیه (ارغوانی) تبدیل شد (AOAC, 1995).

رابطه^۱ (۱)

$$V2 - V1 \times 1/4 \times 100 = \text{میزان مواد از ته فرار}$$

در رابطه^۱ (۱)، V1: تیتراژول نمونه شاهد (میلی‌لیتر) و

V2: نمونه مصرفی (میلی‌لیتر) است.

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA^۵)

اکسیداسیون چربی از طریق اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید به‌دست‌آمد (AOAC, 2000). ۱۰ گرم برگر ماهی در محلول تری‌کلرواستیک اسید ۵ درصد حل شد. میزان مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از دستگاه HPLC سری ۱۲۰۰ (CA, Palo Alto, Agilent Technologies، ساخت آمریکا) مجهز به بخش‌های گاز-حامل، نمونه‌گیر خودکار و آشکارساز نوع DAD^۶، اندازه‌گیری شد. یک ستون تحلیلی فاز معکوس C₁₈ (۱۵۰ میلی‌لیتر، با قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر، اندازه ذرات ۵ میکرومتر) (Teknokroma, Barcelona, Analitica S.A، ساخت اسپانیا) برای جداسازی استفاده شد. دما در ۳۰ درجه سانتی‌گراد ثابت نگه‌داشته شد. فاز متحرک متشکل از ۵۰ میلی‌مولار محلول بافری KH₂PO₄، متانول و استون نیتريت به‌صورت ایزوکراتیک به مدت ۱ دقیقه پمپ شد. میزان جذب در

خروج از دستگاه، محصولات با استفاده از کیسه‌های پلی‌اتیلن بسته‌بندی و در سردخانه ۱۸- درجه سانتی‌گراد برای ۱۸ روز (در روزهای صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸) نگهداری شدند.

شمارش باکتری‌های سایکروتروف و سودوموناس

تحت شرایط استریل و در زیر هود آزمایشگاهی، مقدار ۵ گرم از برگر ماهی توسط پنس و قیچی استریل جدا و در کیسه‌های پلاستیکی استریل مخصوص قرار داده شد. سپس ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به آن افزوده و سپس کیسه جهت هموژنیزاسیون محتویات به دستگاه استومیکرو (مدل Inter-science 400، ساخت فرانسه) به مدت ۱ دقیقه منتقل گردید. نمونه هموژن‌شده به روش معمول رقیق‌سازی متوالی‌شده و روی پلیت‌های حاوی محیط کشت آگار مغذی و به روش کشت سطحی کشت داده شد. جهت شمارش باکتری‌های سایکروتروف پلیت‌ها به مدت ۷-۱۰ روز و در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (فهیم، خانی‌پور، زارع‌گشتی و امیری‌سندسی، ۱۳۹۶).

شمارش کل باکتری‌های زنده (TVC^۱)

تعیین بار میکروبی طبق استاندارد ملی ایران انجام شد (سازمان ملی استاندارد ایران [ISIRI], ۱۳۹۴). به‌این‌منظور ۵ گرم نمونه برگر با ۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر به کیسه استریل استومیکرو منتقل و به‌صورت هموژن تهیه شد. سپس نمونه تا رقت ۱۰^۵ میلی‌لیتر رقیق شد. ۱ میلی‌لیتر از هر رقت در پلت حاوی محیط کشت کانت آگار قرار داده شد. بعد از ۱۰ دقیقه تمام پلت‌ها وارونه و در انکوباتور (مدل XB032، ساخت فرانسه) به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

شمارش باکتری‌های اسید لاکتیکی و انتروباکتریاسه^۲

یک نمونه ۵ گرمی از برگر با ۵ سی‌سی آب پیتونه استریل سرد به مدت ۵ دقیقه همگن شد. رقت‌سازی متوالی در ۹ میلی‌لیتر آب پیتونه انجام شد و تهیه رقت تا ۱۰^{-۵} ادامه پیدا کرد. از محیط کشت ام‌آراس برات^۳ جهت کشت باکتری‌های اسید لاکتیکی استفاده شد. مدت زمان گرم‌خانه‌گذاری در ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز بود. تعداد انتروباکتریاسه^۲ با روش مشابه در محیط کشت ویولت

⁴ Total Volatile Basic Nitrogen

⁵ Malondialdehyde

⁶ Diode-Array Detection

¹ Total Viable Count

² Enterobacteriaceae

³ MRS Broth

در این مطالعه، به منظور بررسی اثر فرایند پخت بر شاخص‌های ماندگاری و توانایی پیش‌بینی تغییرات میکروبی برگر ماهی شبکه عصبی پرسپترون چندلایه (MLP) که یک شبکه عصبی مصنوعی پیش‌خور است (Bhadoria, Saha, Biswas, & Chowdhury, 2021) با ۳ متغیر مستقل و ۷ متغیر وابسته استفاده شد. شبکه عصبی پرسپترون چندلایه یکی از الگوریتم‌های رایج شبکه عصبی مصنوعی است، که برای حل مسائل طبقه‌بندی و رگرسیون یا شبیه‌سازی نوروهای بیولوژیکی استفاده می‌شود (Liu, 2021). باتوجه به اینکه قواعد یا دستورهای مشخصی برای طراحی شبکه‌های عصبی وجود ندارد، جهت رسیدن به بهترین نتیجه ممکن در طراحی شبکه عصبی مصنوعی، معماری‌های مختلفی با تعداد متغیر نوروها (۳۰-۳) در لایه اول و دوم و نیز عملکردهای مختلف توابع فعال‌سازی (تانژانت هیپربولیک^۵، گوسین و خطی) در لایه‌های پنهان مورد بررسی قرار گرفت. برای اعتبارسنجی مدل از دو روش استفاده شد. در روش اول، مجموعه داده‌های ورودی به روش تصادفی^۶ و با نرخ ۳۳ درصد جهت اعتبارسنجی داخلی استفاده و در روش دوم به ترتیب از ۲۵، ۵۰ و ۲۵ درصد، طبقه‌بندی تصادفی برای آموزش، آزمایش، اعتبارسنجی استفاده شد (Grayson, Gardner, & Stephens, 2015). باتوجه به احتمال سوگیری‌های سیستماتیک در انتخاب داده‌های آموزشی و اعتبارسنجی بسیار زیاد است، در نهایت از روش اول (روش پیش‌فرض نرم‌افزار SAS) برای آموزش و اعتبارسنجی استفاده شد. متغیرهای ورودی مدل شامل دمای پخت (۴۵، ۵۵، ۶۵، ۷۵ و ۸۵ درجه سانتی‌گراد)، مدت زمان پخت (۲۰ و ۳۰ دقیقه) و طول دوره نگهداری (۱۸ روز) بود. متغیرهای خروجی مدل شامل جمعیت باکتری‌های *انتروباکتریاسه*، اسید لاکتیکی، *سودوموناس*، سایکروتروف و تعداد کل باکتریایی (TVC) و مقدار بازهای نیتروژنی فرار و مالون‌دی‌آلدئید بود. تجزیه و تحلیل‌های آماری و مدل‌سازی شبکه مصنوعی با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۱۶ انجام شد و برای ارزیابی توپولوژی‌های مختلف شبکه عصبی و نیز مقادیر پیش‌بینی‌شده با مشاهده‌های تجربی از شاخص‌های مجذور میانگین مربع خطا (RMSE^۷)، میانگین مربع خطا

۵۶۰ نانومتر توسط اسپکتوفتومتر (GENE sys10UV) قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد از محلول تتراآتوکسی پروپان (C₁₁H₂₄O₄) استفاده شد. نتایج به صورت میکرومول بر کیلوگرم نمونه برگر بیان شد.

ارزیابی رنگ

آزمون رنگ‌سنجی با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج (مدل هانتربل ۴۵۱۰، ساخت آمریکا) انجام شد که در آن L^* ، b^* و a^* به ترتیب نشان‌دهنده شدت سیاهی-سفیدی، زردی-آبی و سبزی-قرمزی است (Giannoglou, Dimitrakellis, Eftimiadou, Gogolides, & Katsaros, 2021). یک صفحه سفید استاندارد شده برای استاندارد کردن دستگاه استفاده شد.

مدل‌سازی سیستم شبکه عصبی (ANNs^۱)

در این مطالعه، اطلاعات مورد نیاز برای طراحی سیستم عصبی وابسته به درجه حرارت و زمان ذخیره‌سازی بود. مدل‌های پرسپترون چندلایه (MLP^۲) برای دسته‌بندی داده‌ها به کار برده شد. خروجی نوروها به وسیله رابطه (۲) و (۳) محاسبه گردید:

رابطه (۲)

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (y_{pre}^i - y_{exp}^i)^2}{\sum_{i=1}^N (y_{pre}^i - \bar{y})^2}$$

رابطه (۳)

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (y_{pre}^i - y_{exp}^i)^2}$$

در رابطه (۲) و (۳)، y_{pre} و y_{exp} برای متغیرهای پیش‌بینی و مورد آزمایش هستند. y نشان‌دهنده میانگین متغیرها و N تعداد کل ران‌هاست. براساس بالاترین ضریب تبیین (R^2) و کمترین خطای جذر میانگین مربعات (RMSE^۳)، بهترین توپولوژی ANN انتخاب شد. نرم‌افزار مطلب (نسخه ۲۰۱۸) برای مدل‌سازی ANN استفاده شد (Ioachimescu, Ramos, Hoffman, & Stoller, 2021).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تمام آزمون‌های شیمیایی و میکروبی با ۳ تکرار انجام شدند.

^۵ Hyperbolic functions

^۶ Holdback

^۷ Root Mean Squared Error

^۱ Artificial Neural Network

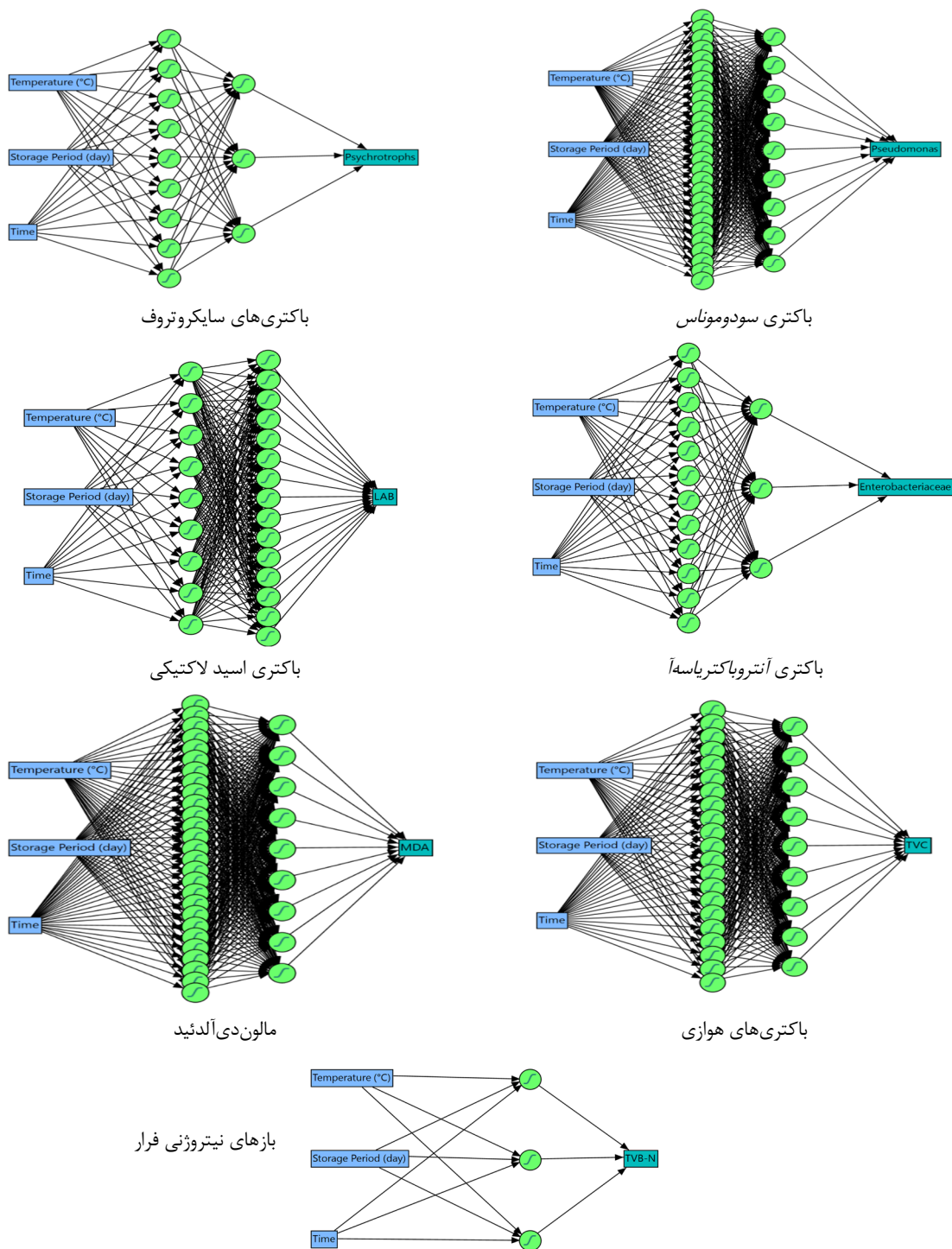
^۲ Multilayer perceptron

^۳ Coefficient of Determination

^۴ Root Mean Square Deviation

نرم‌افزار R نسخه ۴.۰ صورت گرفت. تمامی محاسبات با سیستم (ZBook 17 G5 Mobile Workstation) شرکت اچ‌پی (HP) انجام گردید.

میانگین قدرمطلق خطا (MAD^2)، میانگین خطا (MSE^1)، ضریب تعیین (R^2) و ضریب همبستگی (R^3) استفاده شد. محاسبات رگرسیونی این بخش توسط



شکل ۱ - شبکه عصبی طراحی شده برای متغیرهای مورد بررسی

- ¹ Mean Squared Error
- ² Mean Absolute Error
- ³ Mean Squares Error
- ⁴ Regression

نتایج و بحث

در این مطالعه، ساختار شبکه عصبی مصنوعی در حالت کلی شامل ۳ نورون در لایه ورودی (شامل دوره نگهداری، زمان و دمای پخت)، ۲۰ نورون (با توابع فعال‌سازی تانژانت هیپربولیک) در لایه مخفی و ۷ نورون در لایه خروجی تعیین شد (شکل ۱)، اما به دلیل پیچیدگی شبکه طراحی شده در حالت کلی برای هریک از متغیرهای خروجی به صورت جداگانه نیز شبکه عصبی مصنوعی طراحی شد، که این امر موجب ساده‌تر شدن مدل، افزایش ضریب تبیین (R^2) مدل و کاهش مقدار عددی ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE) شد. در هر صورت یکی از معایب شبکه عصبی مصنوعی، پیچیدگی توابع و معادله‌ها در لایه پنهان است که منجر به عدم درک شفافیت یا اثر جعبه سیاه^۱ می‌شود، اما می‌توان آن را به راحتی در هر نورون و در تمام لایه‌ها تجسم کرد (Ioachimescu et al., 2021).

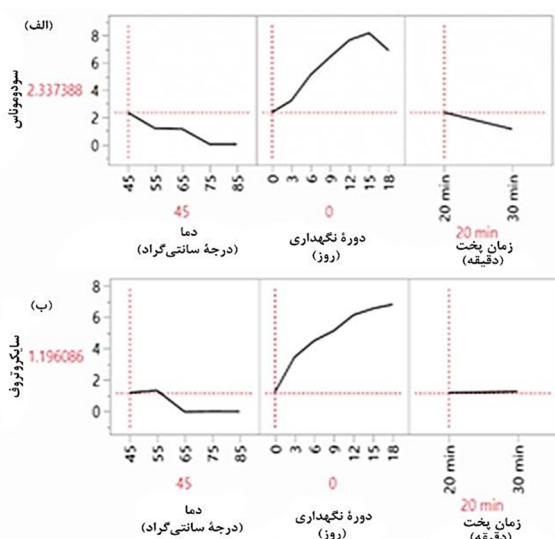
با افزایش دمای پخت از ۴۵ تا ۸۵ درجه سانتی‌گراد و زمان پخت از ۲۰ به ۳۰ دقیقه، میزان غیرفعال شدن باکتری‌ها افزایش یافت ($P < 0.05$). همچنین با افزایش طول دوره نگهداری، جمعیت نهایی میکروارگانیسم‌های عامل فساد در محصول افزایش یافت، اما در بعضی روزها، روند صعودی از نظر آماری معنی‌دار نبود.

بررسی تغییرات تعداد باکتری سودوموناس و سایکروتروف در برگر ماهی تحت تأثیر زمان، دمای پخت و دوره نگهداری

در مدت زمان‌های پخت ۲۰ و ۳۰ دقیقه و در دماهای ۷۵ و ۸۵ درجه سانتی‌گراد، باکتری سودوموناس تا روز ۹ نگهداری و در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد تا روز ۱۵ رشد نکرد و پایین‌ترین میزان رشد این باکتری در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. با افزایش دوره نگهداری، رشد باکتری افزایش یافت. در خصوص زمان پخت، افزایش زمان از ۲۰ به ۳۰ دقیقه رشد باکتری را کاهش داد. دما بالاترین سطح تأثیرگذاری را روی باکتری سودوموناس داشت و به دنبال آن دوره نگهداری و زمان حرارت‌دهی قرار داشتند (شکل ۲-الف).

در مدت زمان پخت ۲۰ و ۳۰ دقیقه، گروه باکتری‌های سایکروتروف در دماهای ۷۵ و ۸۵ درجه سانتی‌گراد تا روز

۱۸ نگهداری رشد نکرد. با افزایش دمای پخت از ۵۵ تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد، روند رشد باکتری کاهش یافت و در ادامه با افزایش دما تا ۸۵ درجه سانتی‌گراد، میزان رشد روندی ثابت و خطی داشت (شکل ۲-ب). همچنین با افزایش زمان نگهداری برگر ماهی، رشد باکتری افزایش داشت. افزایش زمان اعمال تیمارهای حرارتی، تأثیر معنی‌داری بر کاهش جمعیت باکتری مورد مطالعه نداشت. دمای پخت بالاترین سطح تأثیر را روی رشد باکتری سایکروتروف و به دنبال آن دوره نگهداری و مدت زمان پخت داشت.



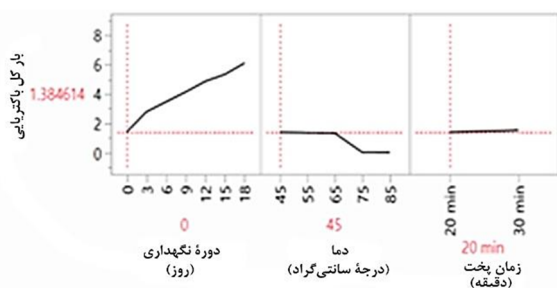
شکل ۲- تأثیر پارامترهای دما، زمان پخت و دوره نگهداری بر رشد باکتری (الف) سودوموناس و (ب) سایکروتروف (لگاریتم واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم) در برگر ماهی

بررسی تغییرات تعداد باکتری انتروباکتریاسه آ و اسید لاکتیکی در برگر ماهی تحت تأثیر زمان، دمای پخت و دوره نگهداری

در دماهای ۶۵، ۷۵ و ۸۵ درجه سانتی‌گراد و زمان پخت ۲۰ و ۳۰ دقیقه، تا روز ۳ نگهداری باکتری انتروباکتریاسه آ رشد نکرد. زمان پخت ۲۰ دقیقه و دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد تا روز ۶ و در زمان پخت ۳۰ دقیقه تا روز ۱۵، رشد باکتری مشاهده نشد. برگرهای ماهی با مدت زمان پخت ۲۰ و ۳۰ دقیقه و دمای پخت ۸۵ درجه سانتی‌گراد، تا انتهای دوره نگهداری رشد باکتری را نشان ندادند. باتوجه به شکل (۳-الف)، میزان رشد باکتری در دماهای پخت ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد به شکل خطی بود، اما با افزایش دمای پخت کاهش رشد باکتری مشاهده شد. در دماهای ۶۵، ۷۵ و ۸۵ درجه سانتی‌گراد، رشد باکتری خطی بود که نشان داد تغییر دمای پخت از ۶۵ به ۸۵ درجه

¹ Black Box

پخت ۶۵ و ۷۵ درجه سانتی‌گراد، در سایر روزهای نگهداری، برگر ماهی حاوی باکتری بود. روند رشد باکتری‌ها با افزایش دوره نگهداری افزایش داشت و در تمامی گروه‌های مورد بررسی در انتهای دوره به بالاترین میزان خود رسید. رشد باکتری‌ها در دماهای ۴۵، ۵۵ و ۶۵ درجه سانتی‌گراد، تغییر معنی‌داری نداشت، اما در دو دمای ۷۵ و ۸۵ درجه سانتی‌گراد کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). روند ثابت خطی میزان بار باکتریایی کل، با افزایش زمان تیمار حرارتی، نشان داد که عامل مذکور روی تغییر شاخص باکتریایی کل در محدوده مورد بررسی، تأثیر معنی‌داری ندارد. به این ترتیب مدت زمان نگهداری برگر ماهی بیشترین تأثیر را بر بار کل باکتریایی داشت (شکل ۴).



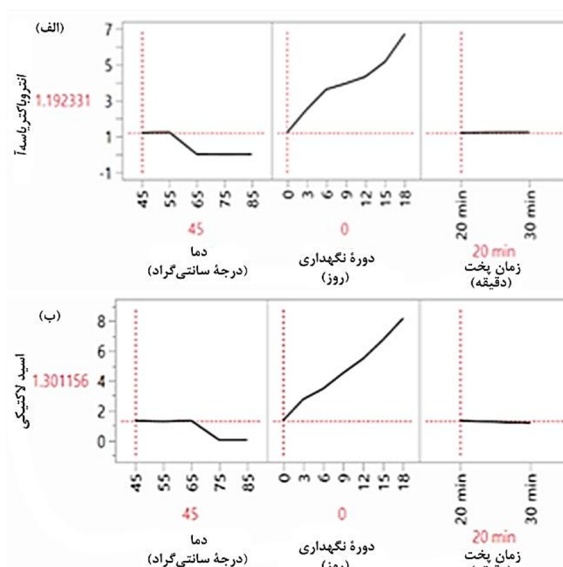
شکل ۴- بررسی تأثیر پارامترهای دما و زمان پخت و دوره نگهداری بر رشد بار کل باکتریایی (لگاریتم واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم) در برگر ماهی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد، پخت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ و ۳۰ دقیقه و نیز پخت در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه، توان غیرفعال‌سازی تمامی گروه‌های باکتریایی را نداشت. پخت ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه به جز در غیرفعال‌سازی سودوموناس در سایر گروه‌ها بی‌تأثیر بود. دمای پخت ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه موجب غیرفعال‌سازی دو گروه سایکروتروف و *انتروباکتریاسه آ* شده و بر سایر گروه‌ها تأثیری نداشت. دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد دمای مناسب رشد *انتروباکتریاسه آ* می‌باشد، اما دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد و به احتمال روش پخت باعث کم‌شدن رشد آنها شد. در مطالعه‌ای که روی کپور معمولی انجام گرفت، نشان داده شد که بعد از ۱۴ روز باکتری *انتروباکتریاسه آ* رشد کرده بود (Li et al., 2018).

دمای پخت ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه به جز برای بار کل باکتریایی، موجب غیرفعال‌سازی سایر گروه‌های باکتریایی شد. دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد،

سانتی‌گراد تأثیر معنی‌داری بر رشد باکتری نداشت. با افزایش دوره نگهداری رشد باکتری روند افزایشی را نشان داد و در روز ۱۸ به بالاترین سطح خود رسید. دمای پخت بالاترین تأثیر و دوره نگهداری کمترین تأثیر را روی رشد این گروه از باکتری‌ها داشت (شکل ۳-الف).

باتوجه به نتایج شکل (۳-ب) مقایسه داده‌ها در هر دو زمان پخت، نشان‌دهنده کاهش رشد باکتری‌های اسید لاکتیکی در اثر حرارت‌دهی است. در هر دو زمان پخت، در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد، رشد باکتری مشاهده نشد. در مدت زمان پخت ۲۰ دقیقه، دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد تا روز ۶ و در مدت زمان پخت ۳۰ دقیقه، تا روز ۱۵ نگهداری رشد باکتری دیده نشد (شکل ۳-ب). روند افزایش رشد باکتری با افزایش دوره نگهداری در تمام دماها به جز ۸۵ درجه سانتی‌گراد که باکتری رشدی نداشت، مشاهده شد. رشد باکتری تحت تأثیر مدت زمان پخت ۲۰ و ۳۰ دقیقه قرار نگرفت. دمای پخت، دوره نگهداری و زمان پخت به ترتیب مهم‌ترین پارامترهای تأثیرگذار روی رشد باکتری‌های اسید لاکتیکی در برگر ماهی بودند (شکل ۳-ب).



شکل ۳- تأثیر پارامترهای دما، زمان پخت و دوره نگهداری بر رشد باکتری (الف) *انتروباکتریاسه آ* و (ب) اسید لاکتیکی (لگاریتم واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم) در برگر ماهی

بررسی تغییرات بار کل باکتریایی در برگر ماهی تحت تأثیر زمان و دمای پخت و دوره نگهداری به جز در سه روز اول مطالعه، در برگر ماهی با مدت زمان پخت ۲۰ دقیقه و تا روز ۶ با پخت ۳۰ دقیقه در دماهای

افزایش یابد. دوم، زمان تکثیر سلول‌های آسیب‌دیده نسبت به کل سلول‌های زنده بیشتر باشد و سوم، بهبود سلول‌های آسیب‌دیده می‌تواند تحت تأثیر دمای آنکوباسیون قرار گیرد (Genç, 2022).

بررسی تغییرات TVB-N در برگر ماهی تحت تأثیر زمان، دمای پخت و دوره نگهداری

تا روز ۱۸، در برگرها، میزان TVB-N روند افزایشی نشان داد. با افزایش دمای پخت، میزان این شاخص کاهش یافت. براساس شکل ۵، شیب کاهشی میزان TVB-N با افزایش دما آهسته بود. در بررسی میزان تأثیرگذاری پارامترهای دما، دوره نگهداری و مدت زمان پخت، دوره نگهداری مهم‌ترین عامل تأثیرگذار بر TVB-N و زمان پخت کمترین تأثیر را داشت. TVB-N به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های دخیل در فساد آبریان و فراورده‌های آنهاست که در اثر فعالیت‌های باکتری‌ها تولید می‌شود (Bao et al., 2013). از این رو، قابل پیش‌بینی است که روندی مشابه با رشد باکتری داشته باشد. به این ترتیب طول دوره نگهداری و مدت زمان فرایند پخت به ترتیب بیشترین و کمترین میزان تأثیر بر مدل ارائه‌شده برای TVB-N را داشتند. بالاترین سطح قابل قبول بازهای نیتروژنی فرار در گوشت ماهی ۲۵ میلی‌گرم نیتروژن به ازای ۱۰۰ گرم گوشت پیشنهاد شده است (Moosavi-Nasab et al., 2021) که تمام برگرهای موردآزمون در این تحقیق، در محدوده مجاز برای این پارامتر قرار داشتند. در مطالعه‌ای که روی فیله قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد، مدل شبکه عصبی مصنوعی برای پیش‌بینی تغییرات TVB-N به کارگرفته شد. Moosavi-Nasab و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند مدل ذکرشده برای پیش‌بینی تغییرات بازهای نیتروژنی فرار مناسب است ($R^2=0/۸۵۳$).

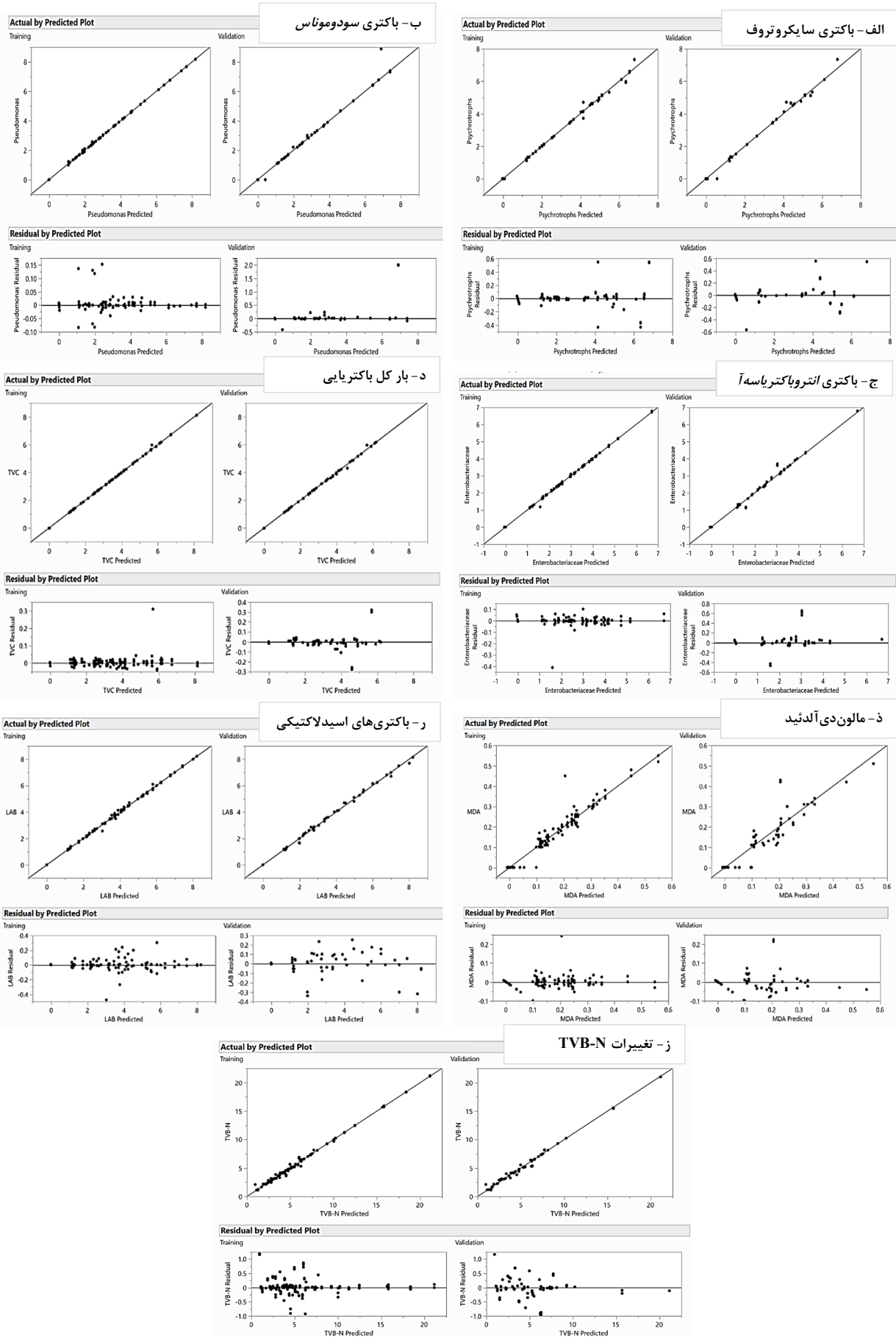


شکل ۵- بررسی تأثیر پارامترهای دما، زمان پخت و دوره نگهداری مؤثر روی تغییرات بازهای نیتروژنی فرار (نیتروژن بر ۱۰۰ گرم) در برگر ماهی

مناسب برای رشد بار کل باکتریایی مناسب است. اما رشد این گروه از دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد کاهش نشان داد. به احتمال مدت زمان نگهداری و روش پخت در کاهش رشد بار کل باکتریایی تأثیر داشته است. در مطالعه‌ای که روی کپور نقره‌ای انجام شد، دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد نتوانست مانع رشد باکتری‌های اسید لاکتیکی، سودوموناس، انتروباکتریاسه‌آ و سایکروتروف شود (Hosseini et al., 2021). در مطالعه دیگر روی کپور نقره‌ای حرارت‌دیده در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، بعد از ۱۴ روز رشد باکتری‌های انتروباکتریاسه‌آ مشاهده گردید (Jia et al., 2018). در کپور معمولی، رشد باکتری‌های اسید لاکتیکی در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، با همین روش پخت، بیشتر از مقدار مجاز گزارش شد (Can, 2011). رشد قابل‌ملاحظه‌ای برای همین گروه از باکتری‌ها در کپور نقره‌ای در دمای ۸۰ و ۹۸ درجه سانتی‌گراد مشاهده شده است (Hosseini et al., 2021).

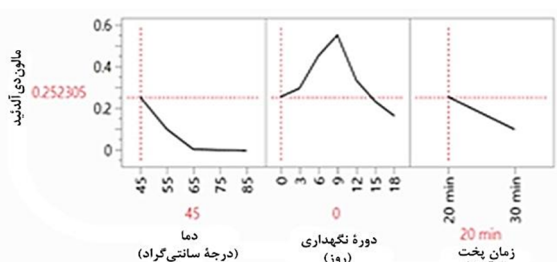
باتوجه به استاندارد 10^7 لگاریتم واحد تشکیل‌دهنده کلنی بر گرم (Splittstoesser & Vanderzant, 1992)، میزان باکتری‌های سودوموناس در زمان پخت ۲۰ دقیقه در دماهای ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد، باکتری اسید لاکتیکی در زمان پخت ۲۰ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد در محدوده استاندارد نبودند. در مطالعه Zhu و همکاران (۲۰۲۱)، دمای پخت ۸۵ درجه سانتی‌گراد در هر دو زمان پخت (۲۰ و ۳۰ دقیقه)، موجب غیرفعال‌سازی باکتری‌های سودوموناس، انتروباکتریاسه‌آ و اسید لاکتیکی شد. رشد باکتری‌های سودوموناس، انتروباکتریاسه‌آ، سایکروتروف و اسید لاکتیکی در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد و رشد کل باکتریایی در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد می‌تواند درباره دمای مناسب برای رشد باکتری‌ها باشد (Zhu et al., 2021).

Hosseini و همکاران (۲۰۲۱) در مدل‌سازی شبکه عصبی بررسی تأثیر دما و دوره نگهداری روی رشد باکتری در کپور نقره‌ای، رشد کل باکتریایی در دمای ۸۰ و ۹۸ درجه سانتی‌گراد و انتروباکتریاسه‌آ در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد با مقاومت این باکتری‌ها به حرارت مرتبط دانستند که می‌تواند ناشی از بازسازی سلول‌ها باشد. این رفتار به دلیل بازیابی سلول‌های آسیب‌دیده بود. رفتار رشد سلول‌های آسیب‌دیده از سه جهت متفاوت از سلول‌های زنده می‌تواند باشد: اول، دوره تأخیر سلول‌های آسیب‌دیده با استفاده از محیط کشت بازیابی‌شده، به‌طور قابل‌توجهی



شکل ۶- مقایسه مقادیر اندازه گیری شده و قابل پیش بینی پارامترهای مورد مطالعه بر اساس شبکه عصبی مصنوعی

معنی داری پایین تر بود ($P < 0.05$) (Delfino et al., 2021). مطالعه‌ای دیگر بر تأثیر استفاده از گیاه رازیانه دریایی^۲ در برگر ماهی ماکرل^۳ نشان داد که با افزایش زمان نگهداری میزان اکسیداسیون اولیه و در نهایت محصولات ناشی از اکسیداسیون ثانویه مانند مالون‌دی‌آلدئید افزایش می‌یابد (Rico, Albertos, Martinez-Alvarez, Lopez-Caballero,) (& Martin-Diana, 2020).



شکل ۷- بررسی تأثیر پارامترهای دما، زمان پخت و دوره نگهداری مؤثر روی تغییرات مالون‌دی‌آلدئید (میکرومول بر کیلوگرم) در برگر ماهی

بررسی پارامترهای رنگ در برگر ماهی تحت تأثیر زمان و دمای پخت و مدت زمان نگهداری
باتوجه به شکل (۸)، پارامتر L^* در برگرهای ماهی مورد مطالعه، در زمان پخت ۲۰ دقیقه در مقایسه با مدت زمان پخت ۳۰ مقدار کمتری را نشان داد. با افزایش مدت زمان نگهداری در هر دو زمان پخت، میزان این پارامتر افزایش یافت و در روز ۱۸ به بالاترین میزان خود رسید. میزان L^* با افزایش زمان پخت افزایش پیدا کرد. باتوجه به داده‌ها، در تمام دوره‌های نگهداری در هر دو زمان پخت ۲۰ و ۳۰ دقیقه، میزان L^* بین دماهای پخت و شاهد تفاوت معنی داری نداشت. کمترین میزان a^* در محدوده زمان پخت ۲۰ و ۳۰ دقیقه، در تیمارهای شاهد و بیشترین میزان آن در برگرهای ماهی پخته شده در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. میزان این شاخص با افزایش زمان نگهداری روند افزایشی داشت. در انتهای دوره، در زمان پخت ۲۰ و ۳۰ دقیقه بالاترین میزان a^* در ۸۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. در دمای پخت ۸۵ درجه سانتی‌گراد، میزان b^* بالاترین مقدار را نشان داشت. روند افزایشی این شاخص با افزایش زمان نگهداری نشان داده شد. برگرهای پخته شده در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد در زمان ۲۰ و ۳۰ دقیقه پخت، بالاترین میزان پارامتر b^* را داشتند. زمان و دمای پخت دو عاملی هستند که روی پارامترهای رنگ مؤثرند (Genç, 2022).

تناسب بین پارامترهای اندازه‌گیری شده و پیش‌بینی شده تغییرات در برگر ماهی در شکل (۶) نشان داده شده است. در مجموع اهمیت متغیرهای ورودی بر متغیرهای خروجی، از تقسیم خطای مدل ساخته شده در غیاب هر یک از متغیرها بر خطای مدل ساخته شده با تأثیر تمامی متغیرها برآورد شد. در حالت کلی، دمای پخت با ضریب (۰/۶۱۳) مهم‌ترین عامل در تغییرات پارامترهای خروجی بود و پس از آن، طول دوره نگهداری و مدت زمان پخت به ترتیب با ضرایب (۰/۳۹۵) و (۰/۰۶۹) در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. براساس شکل (۶)، مقدار میانگین خطا (ME) تمایل به برآورد کمتر^۱ مقادیر پیش‌بینی شده مقدار بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N) نسبت به داده‌های مشاهده شده را نشان داد. شبکه عصبی طراحی شده برای (TVB-N)، مقادیر پیش‌بینی را به‌طور جزئی کمتر از مقادیر اندازه‌گیری شده آن تخمین زد.

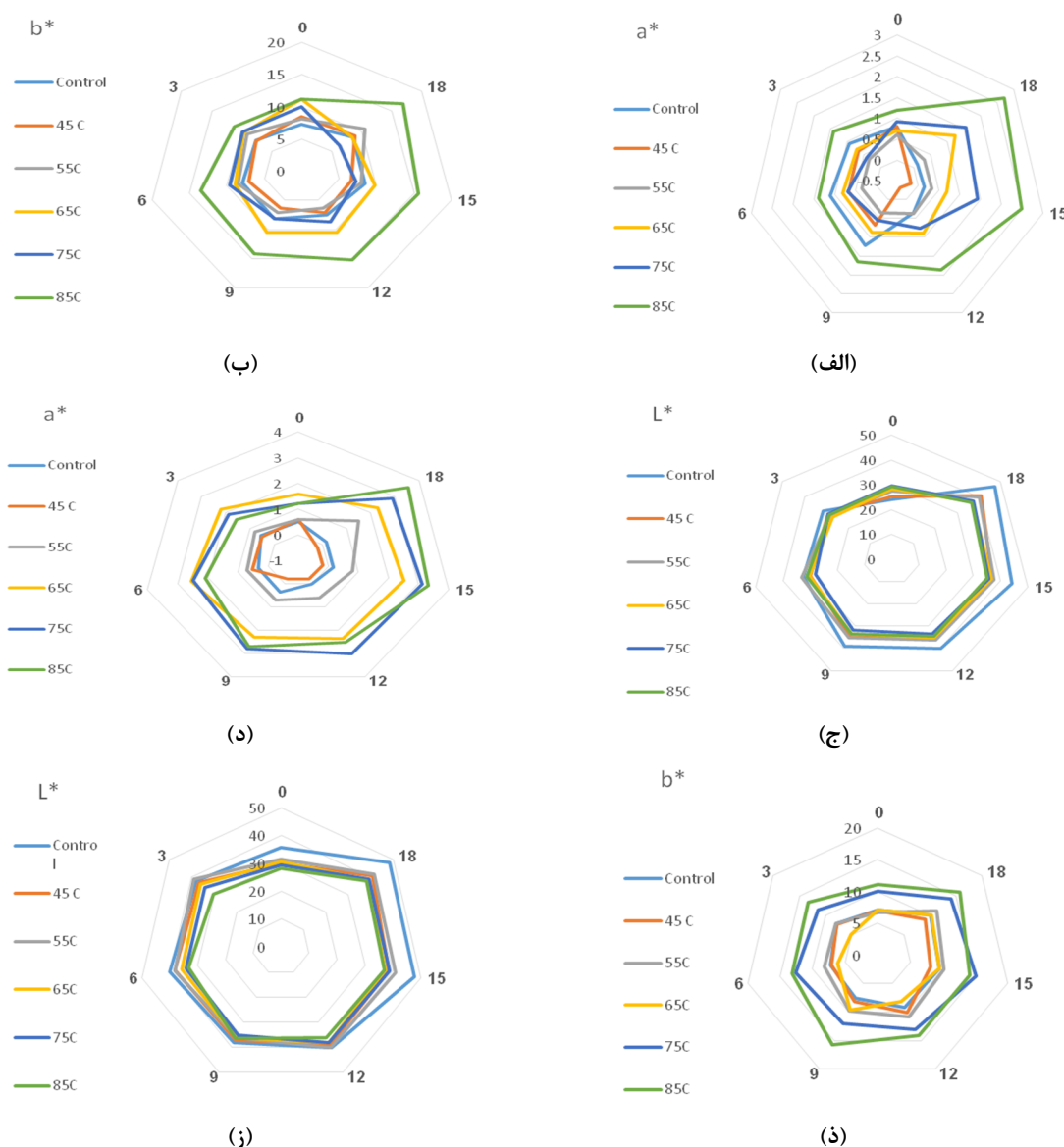
بررسی تغییرات MDA در برگر ماهی تحت تأثیر زمان، دمای پخت و دوره نگهداری

در زمان پخت ۲۰ دقیقه، دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد و در زمان پخت ۳۰ دقیقه، در دماهای ۷۵ و ۸۵ درجه سانتی‌گراد میزان MDA صفر اندازه‌گیری شد. باتوجه به شکل (۷)، روند کاهش میزان MDA با افزایش دمای پخت تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد ادامه داشت، اما در محدوده ۶۵ تا ۸۵ درجه سانتی‌گراد، میزان این شاخص روند ثابتی داشت. در مورد زمان پخت، در برگرهایی که به مدت ۲۰ دقیقه پخته شده بودند، میزان MDA به شکل معنی‌داری بالاتر از برگرهایی بود که در ۳۰ دقیقه پخته شده بودند ($P < 0.05$). با افزایش دوره نگهداری تا روز ۹، میزان MDA برگر ماهی افزایش یافت. یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون چربی‌ها مالون‌دی‌آلدئید است که یکی از معیارهای رایج جهت ارزیابی اکسیداسیون می‌باشد. فرایند تولید برگر ماهی و چرخ کردن گوشت، به سرعت بر اکسیداسیون چربی از طریق اختلال سلولی و در معرض قرار گرفتن گوشت با هوا و فعال شدن لیپواکسیژناز که می‌تواند باعث شروع اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه شود، تأثیر می‌گذارد (Joaquin, Tolasa, Oliveira, Lee, & Lee, 2008). میزان مجاز MDA در آبیان ۲-۱ میکروگرم مالون‌دی‌آلدئید بر گرم است (Messina et al., 2021). در مطالعه‌ای که روی فیش‌برگر تیلپیا صورت گرفت میزان MDA در تیمارهای حاوی عصاره گیاهان دارویی در مقایسه با گروه کنترل با اختلاف

² *Crithmum maritimum*

³ *Scomber scombrus*

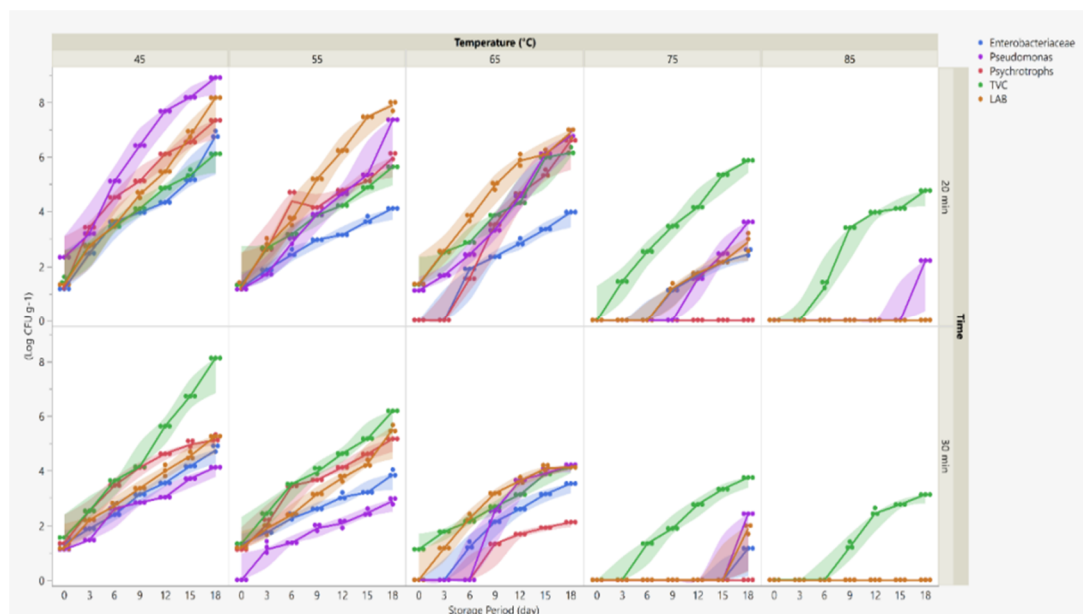
¹ Under Estimation



شکل ۸- پارامترهای رنگ در برگر ماهی تحت تأثیر زمان (۲۰ (الف، ب، ج) و ۳۰ دقیقه (د، ز)، دمای پخت و مدت زمان نگهداری

همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند روش پخت تأثیر معنی‌داری بر رنگ برگرها داشت. برگرهایی که گریل شده بودند فاکتور L^* کمتری نسبت به برگرهایی پخته شده داشتند، اما فاکتور a^* بیشتری نشان دادند. مطالعه دیگر نشان داد که برگرهایی گریل شده با آن پخته شده بودند، فاکتور L^* بیشتری نسبت به آنهایی که گریل شده بودند، داشتند (HassabAlla, Mohamed, Ibrahim, & Abdelmageed, 2009). همکاران (۲۰۰۹) ادعا داشتند رنگ برگرها کاملاً مرتبط با روش پخت، دما و زمان پخت دارد. در شکل (۹)، نتایج مطالب ذکر شده این تحقیق را تأیید می‌کند.

نتایج یک مطالعه نشان داد فیش‌برگرهایی که با میکروویو پخته شده بودند، فاکتور رنگ L^* آنها نسبت به سایر تیمارها (بخارپز و سرخ‌شده) بیشتر بود. Zhou و همکاران (۲۰۲۱) مکانیسم انتقال گرما در روش میکروویو را عامل این برتری دانستند و نشان دادند که زمان پخت عامل کلیدی در تغییرات رنگ گوشت است. پروسه پخت، رنگ برگر ماهی را تغییر می‌دهد. رنگ، طعم و بو برگر ماهی به دلیل تشکیل ترکیبات رنگی در طی واکنش میلارد در سطح برگرها تغییر می‌یابد. در مطالعه‌ای که روی تغییرات رنگ برگر تیلاپیا انجام شد، رنگ برگرها بعد از پخت هنوز روشن بود و فاکتور L^* افزایش داشت و Bairy, Bertan, Corazza, & Lenzi, (2015).



شکل ۹- اثر فرایند پخت بر تغییرات جمعیت باکتری‌های مورد مطالعه در برگر ماهی در طول ۱۸ روز نگهداری

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که زمان و دمای پخت عواملی مهم در میزان رشد عوامل باکتریایی و مقادیر MDA و TVB-N بودند. همچنین افزایش حرارت سبب قرمز شدن بیشتر برگر شد که احتمالاً پذیرش بیشتر برگر از سوی مصرف‌کننده را به دنبال دارد. در بین عوامل باکتریایی به جز TVC که طول مدت نگهداری مهم‌ترین عامل تأثیرگذار روی آن بود، در مورد سایر باکتری‌ها، دمای پخت عامل مهم و تأثیرگذار بود. در خصوص TVB-N، طول دوره نگهداری و در مورد MDA دمای پخت تأثیرگذارترین پارامتر شناخته شده بودند. باتوجه به دامنه تغییرات داده‌های خروجی‌ها، این میزان دقت مدل (براساس ضریب تعیین و ضریب خطا) در پیش‌بینی، نشان

می‌دهد نتایج شبکه عصبی قابل اعتماد است. بنابراین می‌توان از این روش در مقابل سایر روش‌های پرهزینه و زمان‌بر آزمایشگاهی استفاده و تغییرات پارامترهای خروجی در محصول نهایی را پیش‌بینی کرد.

مشارکت نویسندگان

محمدجواد خلف‌پور: جمع‌آوری داده، نوشتن پیش‌نویس مقاله و آنالیز داده‌ها؛ لاله رومیانی: ارائه ایده پژوهشی و طراحی مطالعه، تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها، بازبینی و اصلاح مقاله، نظارت بر مطالعه و تأیید نسخه نهایی.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

منابع

- سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۹۳). میکروبیولوژی زنجیره غذایی-روش جامع برای شمارش میکروارگانیسم‌ها- قسمت ۱: شمارش کلنی در $30^{\circ}C$ با استفاده از روش کشت آمیخته. (استاندارد ملی ایران به شماره ۱-۵۲۷۲، چاپ اول). برگرفته از <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=43263>
- سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۹۴). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام-الزامات کلی و راهنما برای آزمون‌های میکروبیولوژی. (استاندارد ملی ایران به شماره ۹۸۹۹، تجدیدنظر اول). برگرفته از <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=43546>

- فهیم، ا.، خانی پور، ع. ا.، زارع گشتی، ق.، و امیری سندسی، س. (۱۳۹۶). بهبود ویژگی‌های حسی و ماندگاری برگر تهیه شده از ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) با استفاده از پکتین. علوم و فنون شیلات، ۶(۳)، ۱۲۳-۱۳۱. doi:<http://dorl.net/20.1001.1.23225513.1396.6.3.8.4>
- مسلمی اجارستانی، ع.، مسلمی، م.، ایگدری، س.، حسینی، س.، و عابدی، ر. (۱۳۹۶). بررسی شیوه‌های مختلف کشتار ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) بر کیفیت و ماندگاری آن طی دوره نگهداری در یخچال. شیلات، ۷۰(۴)، ۴۱۶-۴۲۳. doi:<https://doi.org/10.22059/jfisheries.2018.246788.1006>
- AOAC. (1995). *Official Methods of Analysis* (14th ed.): Washington D.C: Association of Official analytical chemists.
- AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis* (17th ed.): Washington D.C: Association of Official Analytical Chemists.
- Bainy, E. M., Bertan, L. C., Corazza, M. L., & Lenzi, M. K. (2015). Effect of grilling and baking on physicochemical and textural properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish burger. *J Food Sci Technol*, 52(8), 5111-5119. doi:<https://doi.org/10.1007/s13197-014-1604-3>
- Bao ,Y., Zhou, Z., Lu, H., Luo, Y., & Shen, H. (2013). Modelling quality changes in S ongpu mirror carp (*C yprinus carpio*) fillets stored at chilled temperatures: comparison between A rrenius model and log-logistic model. *International journal of food science & technology*, 48(2), 387-393. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03200.x>
- Bhadoria, R. K., Saha, J., Biswas, S., & Chowdhury, C. (2021). Chapter 7 - IoT-based location-aware smart healthcare framework with user mobility support in normal and emergency scenario: a comprehensive survey. In V. E. Balas & S. Pal (Eds.), *Healthcare Paradigms in the Internet of Things Ecosystem* (pp. 137-161): Academic Press.
- Can, Ö. P. (2011). Evaluation of the microbiological, chemical and sensory quality of carp processed by the sous vide method. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 5, 1060-1065. doi:<https://doi.org/10.5281/zenodo.1081880>
- Delfino, L. A., Mattje, L. G. B., Silva, M., Araujo, M. C., Tormen, L., & Bainy, E. M. (2021). Evaluation of Moringa and Lavandula extracts as natural antioxidants in tilapia fish burger. *Journal of Culinary Science & Technology*, 1-16. doi:<https://doi.org/10.1080/15428052.2021.1883494>
- Durmus, M. (2020). The effects of nanoemulsions based on citrus essential oils (orange, mandarin, grapefruit, and lemon) on the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets at $4\pm 2^{\circ}$ C. *Journal of Food Safety*, 40(1), e12718. doi:<https://doi.org/10.1111/jfs.12718>
- Fahim, A., Khanipour, A., Zare Gashti, Q., & Amiri Sandsi, S. A. (2018). Improving sensory properties and shelf life of burger prepared from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) using pectin. *Fish Scientific Technology*, 3, 123-131. doi:<https://dorl.net/20.1001.1.23225513.1396.6.3.8.4> (in Persian)
- Genç, İ. Y. (2022). Prediction of storage time in different seafood based on color values with artificial neural network modeling. *Journal of Food Science and Technology*, 59(6), 2501-2509. doi:<https://doi.org/10.1007/s13197-021-05269-0>
- Giannoglou, M., Dimitrakellis, P., Efthimiadou ,A., Gogolides, E., & Katsaros, G. (2021). Comparative Study on the Effect of Cold Atmospheric Plasma, Ozonation, Pulsed Electromagnetic Fields and High-Pressure Technologies on Sea Bream Fillet Quality Indices and Shelf Life. *Food Engineering Reviews*, 13(1), 175-184. doi:<https://doi.org/10.1007/s12393-020-09248-7>
- Grayson, J., Gardner, S., & Stephens, M. (2015). *Building better models with JMP Pro*: SAS Institute.
- HassabAlla, A., Mohamed, G., Ibrahim, H., & Abdelmageed, M. (2009). Frozen cooked catfish burger: effect of different cooking methods and storage on its quality. *Global Veterinaria*, 3(3), 216-226 .

- Hosseini, S. V., Pero, M., Tahergorabi, R., Kazemzadeh, S., Alemán, R. S., Fuentes, J. A. M., . . . Sanchez, X. F. (2021). Modeling by artificial neural networks of silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) with sous vide processing on the effects of storage and processing temperatures on the microbiological status. *bioRxiv*. doi:<https://doi.org/10.1101/2021.01.26.428224>
- Ioachimescu, O. C., Ramos, J. A., Hoffman, M., & Stoller, J. K. (2021). Area under the expiratory flow-volume curve: predicted values by regression and deep learning methods and recommendations for clinical practice. *BMJ open respiratory research*, 8(1), e000925. doi:<http://dx.doi.org/10.1136/bmjresp-2021-000925>
- Iranian National Standardization Organization [ISIRI]. (2015). Microbiology of the food chain-Horizontal method for the enumeration of microorganisms-Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique. (ISIRI No. 5272-1, 1st Edition). Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=43263> (in Persian)
- Iranian National Standardization Organization [ISIRI]. (2016). Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations. (ISIRI No. 9899, 1st Edition). Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=43546> (in Persian)
- Jia, S., Liu, X., Huang, Z., Li, Y., Zhang, L., & Luo, Y. (2018). Effects of chitosan oligosaccharides on microbiota composition of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) determined by culture-dependent and independent methods during chilled storage. *International journal of food microbiology*, 268, 81-91. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.011>
- Joaquin, H. J. F., Tolasa, S., Oliveira, A. C. M., Lee, C. M., & Lee, K. H. (2008). Effect of Milk Protein Concentrate on Lipid Oxidation and Formation of Fishy Volatiles in Herring Mince (*Clupea harengus*) during Frozen Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(1), 166-172. doi:<https://doi.org/10.1021/jf072460i>
- Khadir, M. T. (2021). *Artificial Neural Networks in Food Processing: Modeling and Predictive Control*: Berlin, Boston: De Gruyter.
- Kong, C., Wang, H., Li, D., Zhang, Y., Pan, J., Zhu, B., & Luo, Y. (2016). Quality changes and predictive models of radial basis function neural networks for brined common carp (*Cyprinus carpio*) fillets during frozen storage. *Food Chemistry*, 201, 327-333. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.088>
- Lan, W., Yang, X., Gong, T & ,Xie, J. (2022). Predicting the shelf life of *Trachinotus ovatus* during frozen storage using a back propagation (BP) neural network model. *Aquaculture and Fisheries*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.12.016>
- Li, D., Zhang, J., Song, S., Feng, L & ,Luo, Y. (2018). Influence of heat processing on the volatile organic compounds and microbial diversity of salted and vacuum-packaged silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets during storage. *Food microbiology*, 72, 73-81. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.11.009>
- Liu, H. (2021). Chapter 5 - Single-point wind forecasting methods based on reinforcement learning. In H. Liu (Ed.), *Wind Forecasting in Railway Engineering* (pp. 177-214): Elsevier.
- Messina, C. M., Arena, R., Ficano, G., Randazzo, M ,Morghese, M., La Barbera, L., . . . Santulli, A. (2021). Effect of cold smoking and natural antioxidants on quality traits, safety and shelf life of farmed meagre (*Argyrosomus regius*) fillets, as a strategy to diversify aquaculture products. *Foods*, 10(11), 2522, doi:<https://doi.org/10.3390/foods10112522>
- Mittal, G. S. (2013). Chapter 18 - Artificial Neural Network (ANN) Based Process Modeling. In M. Kutz (Ed.), *Handbook of Farm, Dairy and Food Machinery Engineering (Second Edition)* (pp. 467-473). San Diego: Academic Press.
- Mohammadi Lalabadi, H., Sadeghi, M., & Mireei, S. A. (2020). Fish freshness categorization from eyes and gills color features using multi-class artificial neural network and support vector machines. *Aquacultural Engineering*, 90, 102076. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102076>

- Moosavi-Nasab, M., Khoshnoudi-Nia, S., Azimifar, Z., & Kamyab, S. (2021). Evaluation of the total volatile basic nitrogen (TVB-N) content in fish fillets using hyperspectral imaging coupled with deep learning neural network and meta-analysis. *Scientific reports*, 11(1), 5094. doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-021-84659-y>
- Moslemi Ajarestaghi, A., Moslemi, M., Eagderi, S., Hosseini, S. V., & Abedi, R. (2018). Effects of Slaughtering Methods on quality of Silver Carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) During Refrigerated Storage. *Journal of Fisheries*, 70(4), 416-423. doi:<https://doi.org/10.22059/jfisheries.2018.246788.1006> (in Persian)
- Nollet, L. M., & Toldrá, F. (2009). *Handbook of seafood and seafood products analysis*: CRC Press.
- Rico, D., Albertos, I., Martinez-Alvarez, O., Lopez-Caballero, M. E., & Martin-Diana, A. B. (2020). Use of Sea Fennel as a Natural Ingredient of Edible Films for Extending the Shelf Life of Fresh Fish Burgers. *Molecules*, 25(22), 5260. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules25225260>
- Sadhu, T., Banerjee, I., Lahiri, S. K., & Chakrabarty, J. (2022). Enhancement of nutritional value of fried fish using an artificial intelligence approach. *Environ Sci Pollut Res Int*, 29(14), 20048-20063. doi:<https://doi.org/10.1007/s11356-021-13548-8>
- Splittstoesser, D. F., & Vanderzant, C. (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*: American Public Health Association.
- Tascikaraoglu, A., & Uzunoglu, M. (2014). A review of combined approaches for prediction of short-term wind speed and power. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 34, 243-254. doi:<https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.03.033>
- Zhou, P., Feng, Q., Yang, X., Gao, R., Li, Y., Bai, F., . . . Xiao, F. (2021). Sous vide pretreatment in cooking sturgeon fish burger: Effects on physicochemical properties and sensory characteristics. *International journal of food science & technology*, 56(6), 2973-2982. doi:<https://doi.org/10.1111/ijfs.14938>
- Zhu, N., Wang, K., Zhang, S.-l., Zhao, B., Yang, J.-n., & Wang, S.-w. (2021). Application of artificial neural networks to predict multiple quality of dry-cured ham based on protein degradation. *Food Chemistry*, 344, 128586. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128586>

Investigation of Microbial, Chemical and Color Changes of Fish Burgers in Different Storage Conditions using Artificial Neural Network

Mohammad Javad Khalafpour¹, Laleh Roomiani^{2*}

1- Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

2- Department of Fisheries, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran

* Corresponding author (l.roomiani@iauahvaz.ac.ir)

Abstract

The aim of this study was to evaluate and predict changes in total viable count (TVC), *Pseudomonas*, Psychrotroph, *Enterobacteriaceae*, Lactic Acid bacteria and chemical parameters including volatile nitrogen bases (TVB-N) and malondialdehyde (MDA) in cooking silver carp burger at 45, 55, 65, 75 and 85 °C using artificial neural network. The cooking time was 20 and 30 min and the storage was 18 days. Cooking at 55 °C for 30 min had no effect on inactivating other groups, but it did affect *Pseudomonas*. Cooking at 65 °C for 20 min controlled Psychrotrophs and *Enterobacteriaceae* and had no effect on other groups. The amount of *Pseudomonas* during cooking time of 20 min at 45 and 55 °C and *Lactobacillus* during cooking time of 20 min at 45 °C were not within the standard bacterial load and the results showed that fish burgers could be consumed in other treatments until the end of the storage period, except in these treatments. At both cooking times, the cooking temperature of 85 °C inactivated *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae* and Lactic Acid bacteria. Temperature had the most and time had the least effect on the model proposed for MDA. The burgers were within range of TVB-N during storage. By increasing the storage time, the color index L* was increasing and the color of the burgers tended to be white. It can be said that the neural network (MLP) results are reliable and can be used to reduce the cost of experiments in the production industry of burger.

Keywords: Artificial neural network, Chemical changes, Fish burger, Microbial changes

