

ارائه مدلی یکپارچه برای ارزیابی شناساگرهای زمان-دما به منظور حفاظت از مواد غذایی دریایی در مقابل بوتولیسم

وجیهه نیک‌زاده^{۱*}، ناصر صداقت^۲، مهدی سعادت‌مند طرزجان^۳، فریده طباطبایی یزدی^۴

۱- دانشجوی دکتری تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار، هیأت علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار، هیأت علمی گروه برق، آزمایشگاه تصویربرداری پزشکی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴- دانشیار، هیأت علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۲/۴/۸)

چکیده

شناساگرهای زمان-دما (TTI) به عنوان ابزاری برای کنترل ایمنی مواد غذایی تازه‌ی بسته‌بندی شده در محیط‌های کم اکسیژن استفاده می‌شوند. معادلات TTI‌های با کینتیک درجه‌ی صفر قبلاً بر اساس مدل اسکینر-لارکین بررسی و شبیه‌سازی شده است. بر این اساس، برای آنکه TTI قبل از تولید توکسین منقضی گردد، باید منحنی آرنیوس TTI (در دستگاه مختصات $\ln k$ برحسب $1/T$) در همه‌ی دماها بالاتر از منحنی اسکینر-لارکین-آرنیوس درجه‌ی صفر (SLA0) قرار گیرد. اما با توجه به اینکه اکثر TTI‌ها (همانند دیگر فرآیندهای طبیعی) دارای رفتار درجه‌ی یک می‌باشند، مدل SLA0 نمی‌تواند توصیف دقیقی از عملکرد آنها ارائه دهد. هدف این تحقیق توسعه مدلی به منظور تعیین کارایی همه‌ی انواع TTI‌ها برای مواد غذایی مستعد رشد کلستریدیوم بوتولینوم، بخصوص غذاهای دریایی بسته‌بندی شده با اکسیژن کاهش یافته می‌باشد. در این مقاله، با معرفی دسته منحنی‌های اسکینر-لارکین-آرنیوس درجه‌ی یک (SLA1)، مدل اسکینر-لارکین برای TTI‌های با کینتیک درجه‌ی یک توسعه داده شده و با مدل درجه‌ی صفر مقایسه گردیده است. در ادامه، نشان می‌دهیم که دسته منحنی‌های SLA1 شامل منحنی SLA0 نیز بوده و قادر به توصیف رفتار TTI‌های درجه‌ی صفر و یک به صورت همزمان می‌باشد. بررسی عملکرد TTI‌های با رفتار درجه‌ی صفر و درجه‌ی یک و مقایسه آنها بیانگر این حقیقت است که مدل SLA0 قادر به توصیف رفتار TTI‌های درجه‌ی یک نبوده و نتایج حاصل از آن در مواقعی سختگیرانه و گاهی خوش‌بینانه می‌باشد. مدل پیشنهادی امکان استفاده از همه‌ی انواع برچسب‌های TTI را برای بسته‌بندی غذاهای دریایی فراهم می‌آورد.

کلید واژگان: شناساگرهای زمان-دما، غذاهای دریایی، بسته‌بندی با اکسیژن کاهش یافته، بوتولیسم

* مسئول مکاتبات: Vnikzade@Yahoo.com

$$\text{Log}(L) = 0.65 - 0.0525T + 2.74/T \quad (1)$$

که L زمان تأخیر سمی شدن (lag time) برحسب روز و T دما برحسب درجه سلسیوس است. شکل ۱-الف نمودار منحنی اسکینر و لارکین را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، منحنی اسکینر و لارکین یک مرز تجربی در اطراف تمامی شرایط شناخته شده برای رشد *C. botulinum* ارائه می‌دهد [۱۰].

معمولاً تغییرات ایجاد شده در مواد غذایی سرد تازه نامطلوب است و نشان دهنده افت کیفیت ماده غذایی و یا افت ایمنی آن است. همچنین تشخیص داده شده است که سرعت این چنین تغییراتی با توجه به دما تغییر می‌کند. در حقیقت، معادله‌ی (۱) حساسیت دمایی آزادسازی توکسین توسط *C. botulinum* را نشان می‌دهد [۱۰]. TTI ها با استفاده از سیستم‌های فیزیکی و/یا شیمیایی نسبتاً ساده طراحی شده‌اند که خصوصیات حساسیت دمایی قابل فهمی دارند [۱۱، ۱۲]. TTI های طراحی شده برای تضمین ایمنی غذاهای دریایی تازه *ROP* بایستی به ناظر اجازه دهند که تفسیر TTI را به رابطه اسکینر و لارکین (معادله‌ی ۱) ارتباط دهد. هدف این تحقیق توسعه مدلی به منظور تعیین کارایی TTI ها برای مواد غذایی مستعد به رشد *C. botulinum*، بخصوص غذاهای دریایی بسته‌بندی شده با اکسیژن کاهش یافته می‌باشد. برای این منظور، معادلات TTI های با رفتار درجه‌ی صفر و رابطه‌ی آرنیوس مرتبط با آنها، براساس مدل اسکینر-لارکین، بررسی و شبیه‌سازی شد. بعلاوه، برای TTI های با کینتیک درجه‌ی یک نیز مدل اسکینر-لارکین توسعه داده شده و با مدل درجه‌ی صفر مقایسه گردیده است.

۲- مواد و روش‌ها

به طور کلی، سرعت تغییر پارامتر قابل مشاهده TTI (A)، از معادله‌ی زیر تبعیت می‌کند:

$$\pm \frac{dA}{dt} = kA^n \quad (2)$$

که k ثابت سرعت واکنش، و n درجه واکنش است. در سیستم‌های بسیار پیچیده نظیر مواد غذایی، تغییرات کلی غالباً

۱- مقدمه

بسته‌بندی با اکسیژن کاهش یافته^۱ (*ROP*) برای مواد غذایی تازه دارای حداقل ۲ مزیت است: بهبود کارایی تولید، حمل و نقل و توزیع و افزایش زمان ماندگاری. بسته‌بندی *ROP* معمولاً از طریق بسته‌بندی خلأ یا بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده (*MAP*) انجام می‌شود [۱]. تمایلات اخیر به استفاده از بسته‌بندی *ROP* برای مواد غذایی تازه، خطرات تازه‌ای درخصوص ابتلا به بوتولیسم ایجاد کرده است. زیرا، اولاً در این نوع بسته‌بندی امکان حضور توکسین قبل از بروز فساد آشکار دور از انتظار نبوده [۵، ۶، ۲، ۳، ۴] و ثانیاً غذاهای دریایی بمراتب کمتر از سایر مواد غذایی پخته می‌شوند. بنابراین، حل مسائل ایمنی مرتبط با غذاهای دریایی تازه *ROP* می‌تواند منجر به تسهیل کاربرد این تکنولوژی برای بسیاری از مواد غذایی گردد [۱].

اگرچه مطالعات نشان داده‌اند که بسته‌بندی *MAP* احتمالاً قادر به طولانی کردن زمان ماندگاری ماهی تازه می‌باشد، اما استفاده از آن به دلیل خطر باکتری‌های پاتوژن (که سبب ایجاد سمیت قبل از فساد آشکار می‌شوند) محدود می‌گردد [۷]. کلسترییدیوم بوتولینوم در دماهای بالاتر توکسین را با سرعت بیشتری نسبت به دماهای پایین‌تر تولید می‌کند [۵، ۶، ۸]. حداقل دما برای رشد *C. botulinum* نوع E و غیر پروتئولیتیک نوع B و F حدود ۳/۳ درجه‌ی سانتی‌گراد است. هنگامی که زمان ماندگاری مواد غذایی سرد افزایش می‌یابد، زمان بیشتری برای *C. botulinum* در جهت رشد و تشکیل توکسین، در دسترس است. زمانی که دماهای نگهداری افزایش می‌یابد، زمان لازم برای تشکیل توکسین کاهش می‌یابد. *FDA* صنعت را به حفظ دماهای سرد، در طی نگهداری، توزیع، عرضه، یا حمل و نقل مواد غذایی سرد توسط مصرف‌کننده، معطوف می‌دارد [۹].

اسکینر و لارکین (۱۹۹۸) یک رابطه‌ی تجربی به شرح زیر برای پیش‌بینی زمان مورد نیاز برای مشاهده‌ی توکسین *C. botulinum* به عنوان تابعی از دما، ارائه نمودند [۱۰]:

¹ Reduced Oxygen Packaging

یک، پاسخ مشاهده شده در روزهای اول بسیار بیشتر از پاسخ در روزهای انتهایی خواهد بود (معادله ۶).

۲-۱- کینتیک درجه‌ی صفر

Welt و همکاران در سال ۲۰۰۳ معادلات TTI های درجه‌ی صفر و رابطه‌ی آرنیوس مرتبط با آنها را، براساس مدل اسکینر-لارکین برای رشد کلستریدیوم بوتولینوم در غذاهای دریایی بسته‌بندی شده با اکسیژن کاهش یافته، بررسی و شبیه‌سازی نموده‌اند [۱]. برای این منظور، آنها فرمول تجربی اسکینر و لارکین (۱۹۹۸) [۱۰] را به رابطه‌ی متناظر آرنیوس آن تبدیل نمودند. به عبارت دقیق‌تر، رابطه‌ی آرنیوس که بیانگر چگونگی تغییرات ثابت سرعت واکنش (k) با دمای مطلق (T) است مطابق با معادله‌ی زیر تعریف می‌شود:

$$k = k_0 \exp\left(\frac{-E_a}{RK}\right) \quad (۷)$$

که $K=273.15+T$ دما برحسب درجه‌ی کلون و k_0 مقداری ثابت است. به طور کلی، ثابت سرعت واکنش با دما افزایش می‌یابد. بدیهی است که میزان حساسیت ثابت سرعت به دما، بوسیله‌ی انرژی فعالسازی E_a کنترل می‌شود. به عبارت دقیق‌تر، برای دو TTI با مقادیر E_a متفاوت، به ازای یک تغییر دمای معین، ثابت سرعت واکنش در TTI با انرژی فعالسازی بزرگ‌تر، بیشتر تغییر خواهد کرد. به طور کلی، پارامترهای آرنیوس k_0 و E_a با بررسی نمودار $\ln(k)$ برحسب عکس دمای مطلق ($1/K$) بدست می‌آیند. زیرا مطابق معادله‌ی زیر، در دستگاه مختصات مذکور، معادله‌ی آرنیوس به صورت خطی با شیب $-E_a/R$ و عرض از مبدا $\ln(k_0)$ بیان می‌شود:

$$\ln(k) = \ln(k_0) - \frac{E_a}{RK} \quad (۸)$$

منطبق بر کینتیک‌های درجه‌ی صفر ($n=0$) یا درجه‌ی شبه اول ($n=1$) هستند. معمولاً فرآیندهای غالب در طبیعت دارای رفتار کینتیک درجه اول می‌باشند. در این حالت، سرعت تغییر A در هر زمان معین، متناسب است با مقدار آن است:

$$\pm \frac{dA}{dt} = kA \quad (۳)$$

اگرچه که رفتار درجه صفر معمولاً در فرآیندهای طبیعی مشاهده نمی‌شود، اما به جهت سادگی تحلیل، همواره مورد توجه محققین بوده است [۱۴، ۱۳، ۱۱]. زیرا، در این حالت، سرعت تغییر A ثابت است:

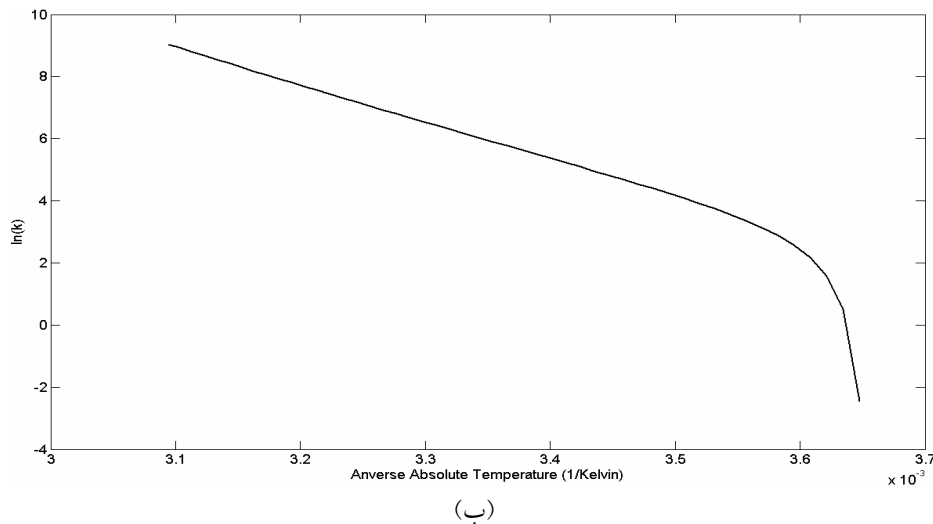
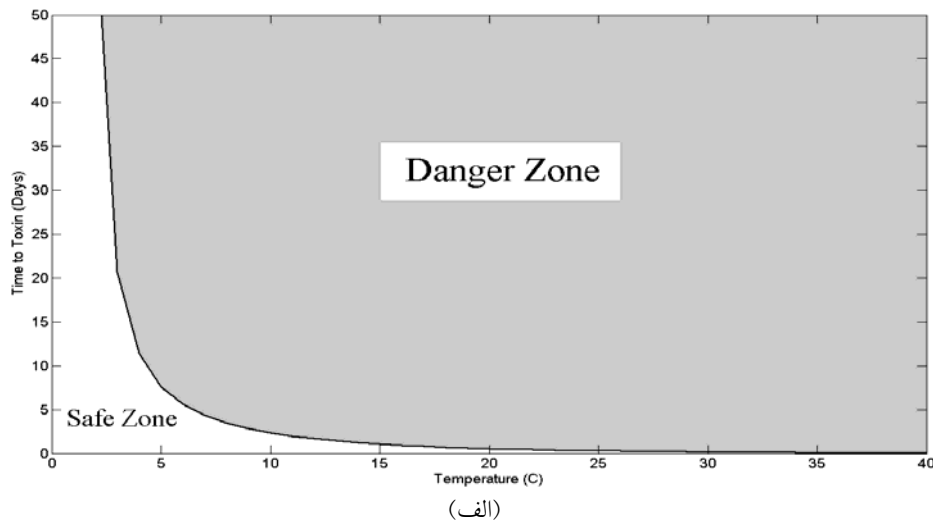
$$\pm \frac{dA}{dt} = k \quad (۴)$$

با حل معادلات (۴) و (۳)، می‌توان روابط حاکم بر رفتار TTI های درجه صفر و درجه یک را، به ترتیب مطابق با معادله‌های (۵) و (۶)، در زمان‌های معین بیان نمود:

$$n = 0 \Rightarrow \pm \int_{A_0}^A dA = k \int_0^t dt \Rightarrow A = A_0 \pm kt \quad (۵)$$

$$n = 1 \Rightarrow \int_{A_0}^A \frac{1}{A} dA = k \int_0^t \pm dt \Rightarrow A = A_0 e^{\pm kt} \quad (۶)$$

همانطور که مشاهده می‌شود، کار با روابط کینتیک مرتبه‌ی صفر به دلیل شبه خطی بودن در مقایسه با روابط نمایی مربوط به مرتبه‌ی یک بسیار آسان‌تر می‌باشد. به عنوان مثال، اگر یک TTI درجه‌ی صفر در دمای ۲ درجه سانتیگراد طی ۱۰ روز منقضی شود (مثلاً vitsab® M2-10)، انتظار می‌رود که (به صورت خطی) در هر روز ۱۰٪ از کل پاسخ ($A_0=100\%$) مشاهده گردد (معادله‌ی ۵ را ببینید). این در حالی است که به جهت نمایی بودن روابط، برای یک TTI مشابه با درجه‌ی



شکل ۱ منحنی‌های (الف) اسکینر-لارکین و (ب) اسکینر-لارکین-آرنیوس درجه‌ی صفر (SLA0)

گرفته می‌شود. لذا، با استفاده از معادله‌ی (۱) می‌توان نوشت:

$$(10)$$

$$\ln(k) = \ln(A_0) - \ln(L) = \ln(100) - \frac{\log L}{\log 2.7183} = 3.11 + 0.1209 \cdot \frac{6.31}{T}$$

نمودار مربوط به معادله‌ی فوق، که به نام منحنی S&L-Arrhenius مرتبه‌ی صفر (SLA0) شناخته می‌شود، در شکل ۱-ب نشان داده شده است. Welt و همکاران پیشنهاد نمودند که برای آنکه TTI قبل از تولید سم منقضی شود لازم است نمودار مربوط به آن، در همه‌ی دماها، بالای منحنی S&L-Arrhenius قرار گیرد [۱]. آنها در کار دیگری، صحت تئوری خود را با بررسی تجربی عملکرد چندین TTI متفاوت (از جمله vitsab® M2-10) در دماهای مختلف تایید نمودند [۱۳].

با قواعد طبیعی، پایان زمان تأخیر اسکینر و لارکین (L)، همزمان با جوانه‌زنی اسپوره‌های *C. botulinum*، رشد باکتری‌ها و آزادسازی توکسین می‌باشد. بنابراین، یک TTI ایده‌آل باید در هر دما، دقیقاً در زمان تأخیر L متناظر با آن دما، منقضی گردد. به عبارت دقیق‌تر، اگر TTI از درجه‌ی صفر باشد باید در زمان L(T) مقدار A=0 گردد. لذا، با جایگذاری مقادیر اخیر در معادله‌ی (۵) می‌توان نوشت (A₀=100):

$$k(T) = \frac{A_0}{L(T)} \quad (9)$$

برای رسم معادله‌ی اخیر در صفحه‌ی ln(k) برحسب 1/K (به منظور مقایسه با معادله‌ی ۸) از دو طرف معادله‌ی فوق ln

۲-۲- آزمون مرتبه‌ی صفر

از آنجا که منحنی SLA0 تنها برای TTI‌های مرتبه‌ی صفر معتبر می‌باشد، لازم است که ابتدا از کینتیک مرتبه‌ی صفر TTI مورد نظر اطمینان حاصل کرد. روش پیشنهادی ما برای این منظور (که آزمون مرتبه‌ی صفر نامیده می‌شود) مقایسه مقادیر ثابت سرعت واکنش حاصل از معادله‌ی واکنش (۵) و معادله‌ی آرنیوس (۹) می‌باشد. به عبارت دقیق‌تر، می‌توان با آزمایش TTI‌ها در شرایط دما-ثابت پارامترهای k_0 ، E_a را بدست آورد [۱۴]. بعلاوه، می‌توان مشخص نمود که TTI‌ی مورد نظر در دمای مشخص T_0 ظرف مدت معین L_0 منقضی می‌شود. با جایگذاری مقادیر پارامترهای مذکور در معادله‌های (۵) و (۹)، داریم:

(۱۱)

$$\begin{cases} (a) & k' = \frac{100}{L_0} \\ (b) & k'' = k_0 \exp\left(-\frac{E_a}{R(273.15 + T_0)}\right) \end{cases}$$

طبق آزمون مرتبه‌ی صفر پیشنهادی، TTI دارای کینتیک مرتبه‌ی صفر می‌باشد اگر و تنها اگر رابطه‌ی $k' = k''$ برقرار باشد:

(۱۲)

$$k' = k'' \Leftrightarrow \text{TTI's kinetic is of zero - order}$$

در این حالت، معادلات واکنش و آرنیوس با یکدیگر سازگار شده و کینتیک مرتبه‌ی صفر را تایید می‌نمایند. بدیهی است که هرچه اختلاف k' و k'' بیشتر باشد، رفتار TTI از کینتیک مرتبه‌ی صفر دورتر (و منطبق بر کینتیک مرتبه‌ی یک) خواهد بود. با وجود این، از آنجاییکه واکنش‌های طبیعی معمولاً دارای کینتیک درجه‌ی یک می‌باشند، فرض درجه‌ی صفر (یا شبه صفر) بودن TTI قابل تعمیم به همه‌ی موارد نخواهد بود.

۲-۳- کینتیک درجه‌ی یک

انتظار کلی از TTI آن است که توصیف‌کننده‌ی شرایط واقعی محصول بسته‌بندی شده باشد. به عبارت دیگر، همانطور که دیر منقضی شدن TTI (بعد از تولید توکسین) ممکن است منجر به بروز مشکلات بهداشتی گردد، خیلی زود منقضی شدن آن

نیز می‌تواند موجب خسارت اقتصادی قابل توجه برای تولید کننده و شبکه‌ی توزیع گردد. بنابراین، TTI ایده‌آل برای یک محصول باید کمی قبل از تولید توکسین (و نه خیلی زودتر از آن) منقضی گردد. در این بخش، نشان می‌دهیم که شرط منحنی SLA0 برای TTI‌های درجه‌ی یک معتبر نبوده و نمی‌تواند منجر به انتخاب TTI نزدیک به ایده‌آل گردد. سپس، با معرفی منحنی‌های SLA1، روشی مطمئن برای انتخاب یک TTI درجه‌ی یک ایده‌آل ارائه می‌گردد.

همواره فرض می‌شود که در ابتدای فرآیند انقضای TTI، $A = A_0 = 100\%$ بوده و در طول فرآیند کاهش یابد. در TTI‌های مرتبه‌ی صفر، در انتهای فرآیند انقضا $A = 0\%$ کاهش می‌یابد. اما با توجه به معادله‌ی (۶)، در یک TTI مرتبه یک، A تنها در زمان $t = \infty$ صفر می‌شود. لذا می‌توان چنین فرض نمود که در یک TTI مرتبه‌ی یک، هنگامی که کمیت قابل مشاهده‌ی A به مقدار $0 < A_f$ کاهش یابد، TTI منقضی خواهد شد. اگرچه A_f ممکن است خیلی کوچک باشد، اما صفر نخواهد بود. محاسبه‌ی A_f برای یک TTI درجه یک بسیار آسان می‌باشد. برای این منظور کافی است برای دمای T_0 ، مقادیر ثابت سرعت واکنش $k = k''$ (معادله‌ی (۱۱))، $A_0 = 100$ و $L = L_0$ در معادله‌ی (۶) قرار گیرد. با فرض کاهش‌ی بودن معادله‌ی واکنش داریم:

(۱۳)

$$A_f = 100 \exp(-k''L_0) = 100 \exp\left(-k_0 L_0 \exp\left(-\frac{E_a}{R(273.15 + T_0)}\right)\right)$$

همانند بحث مربوط به کینتیک مرتبه‌ی صفر، برای آنکه یک TTI مرتبه‌ی یک شرط منحنی اسکینر-لارکین را برآورده سازد، باید همزمان با (یا قبل از) تولید توکسین منقضی شود. برای این منظور، باید در زمان $L(T)$ کمیت قابل مشاهده‌ی TTI به مقدار A_f برسد. لذا، می‌توان نوشت:

(۱۴)

$$A_f = 100 \exp(-kL(T)) \Rightarrow k = \frac{\ln(100) - \ln(A_f)}{L(T)} = \frac{-\ln(A_f/100)}{L(T)}$$

همانطور که مشاهده می‌شود، در مقایسه با معادله‌ی (۹)

(کینتیک مرتبه‌ی صفر)، در معادله‌ی فوق (برای TTI مرتبه‌ی

یک) تنها صورت کسر از ثابت ۱۰۰ به عبارت ثابت $-\ln(A_f)$

گیرد. در این حالت، (برخلاف ارزیابی منحنی SLA0) به دلیل قرار گرفتن منحنی آرنیوس در بالای SLA1، TTI قابل قبول بوده و قبل از تولید توکسین منقضی خواهد شد.

در مقابل، برای $A_f < \hat{A}_f$ منحنی SLA1 در بالای SLA0 قرار می‌گیرد که در این حالت، نتایج حاصل از SLA0 برای TTI‌های مرتبه‌ی اول خوش‌بینانه خواهد بود. یعنی می‌توان TTI مرتبه‌ی اولی یافت که منحنی آرنیوس آن در بالای SLA0 و در زیر SLA1 قرار گیرد. در این حالت، با اینکه منحنی آرنیوس در بالای SLA0 قرار گرفته اما باز هم ممکن است TTI بعد از تولید توکسین منقضی گردد (زیرا منحنی آرنیوس در زیر SLA1 قرار گرفته است).

در نتیجه می‌توان گفت که انتخاب TTI مرتبه‌ی اول براساس منحنی SLA0 می‌تواند منجر به نتایج غلط و بروز مشکلات بهداشتی جدی گردد. به عنوان مثال، در شکل ۲-ب، سه منحنی آرنیوس مختلف a ، b و c در صفحه‌ی SLA1 رسم شده است. با فرض کینتیک مرتبه‌ی صفر، منحنی‌های a و b (که بالای SLA0 هستند) قابل قبول و منحنی c (که بخشی از آن در زیر SLA0 قرار گرفته است) غیرقابل قبول می‌باشد. اما با فرض کینتیک مرتبه‌ی یک، باید مقدار A_f برای هر یک از منحنی‌های مذکور در دست باشد. روشن است که منحنی‌های a ، b و c به ترتیب به ازای $A_f < 3.72E-130$ ، $3.72E-42 < A_f < 3.72E-20$ و $A_f > 3.72E-20$ قابل قبول می‌باشند (زیرا در بالای منحنی مربوطه قرار گرفته‌اند). به عبارت دیگر، با اینکه منحنی b از دیدگاه منحنی SLA0 (کینتیک مرتبه‌ی صفر) قابل قبول است اما ممکن است (بسته به مقدار A_f) از دیدگاه منحنی SLA1 غیرقابل قبول باشد. بعلاوه، منحنی c نیز که در زیر منحنی SLA0 قرار گرفته، در صورتی که دارای A_f به اندازه کافی بزرگ باشد، می‌تواند از دیدگاه کینتیک مرتبه‌ی یک (منحنی SLA1) مورد قبول واقع شود. بنابراین، قضاوت درباره‌ی TTI‌های مرتبه‌ی یک با استفاده از منحنی SLA0 خالی از اشکال نبوده و می‌تواند منجر به نتایج نادرست گردد.

(100/ تغییر نموده است. بنابراین، برای آنکه یک TTI مرتبه‌ی صفر و یک TTI مرتبه‌ی یک با k یکسان، همزمان با هم منقضی گردند باید شرط $\hat{A}_f = 100e^{-100} = 3.72E-42$ برقرار باشد. به عبارت دیگر، اگر A_f بیشتر از \hat{A}_f باشد، TTI مرتبه‌ی یک زودتر و اگر کمتر باشد، دیرتر از TTI مرتبه‌ی صفر متناظر (با k مشابه) منقضی می‌گردد.

برای رسم معادله‌ی (۱۱) در صفحه‌ی $\ln(k)$ برحسب $1/K$ (به منظور مقایسه با معادله ۸)، پس از اعمال \ln بر دو طرف معادله‌ی (۱۴)، داریم:

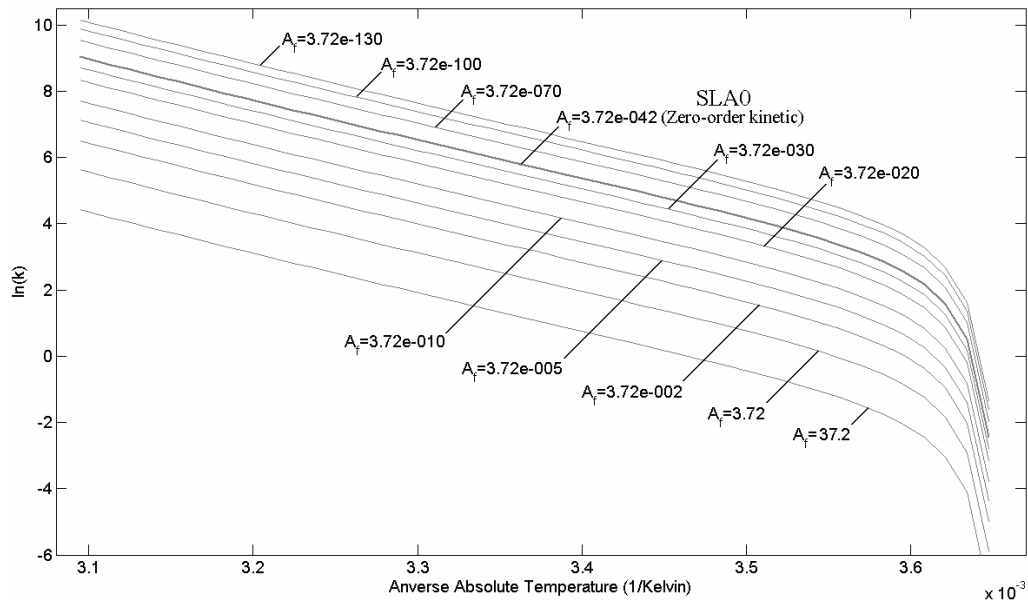
(۱۵)

$$\ln(k) = \ln\left(\ln\left(\frac{100}{A_f}\right)\right) - \ln(L(T)) = \ln\left(\ln\left(\frac{100}{A_f}\right)\right) - 1.50 + 0.1209 \frac{6.31}{T}$$

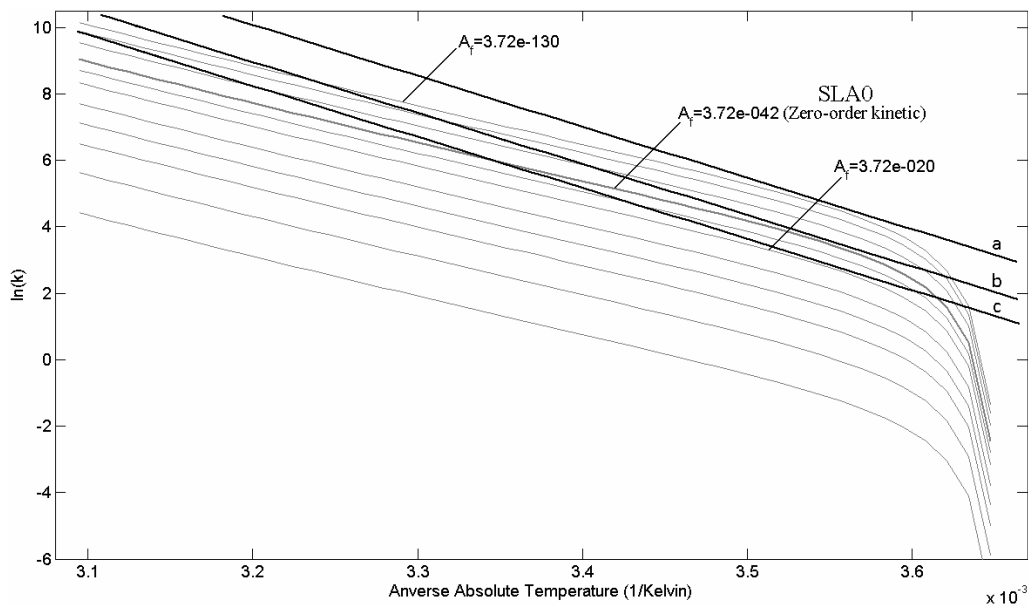
نمودار حاصل از رسم معادله‌ی فوق در دستگاه مختصات $\ln(k)$ برحسب $1/K$ را منحنی SLA1(A_f) می‌نامیم. همانطور که مشاهده می‌شود، عرض از مبدا منحنی SLA1 وابسته به A_f می‌باشد؛ به طوری که هرچه A_f کوچکتر باشد، عرض از مبدا منحنی SLA1 افزایش می‌یابد و برعکس. در حالت خاص، منحنی SLA1(\hat{A}_f) بر منحنی SLA0 منطبق می‌گردد. به عبارت دیگر، منحنی SLA1 شکل توسعه‌یافته‌ی SLA0 می‌باشد. برای آنکه یک TTI مرتبه‌ی یک قبل از تولید توکسین منقضی شود، لازم است منحنی آرنیوس آن در دستگاه مختصات $\ln(k)$ برحسب $1/K$ در همه‌ی دماها بالاتر از SLA1(A_f) باشد.

۳- یافته‌ها و بحث

در شکل ۲-الف، منحنی SLA1 برای مقادیر مختلف A_f نشان داده شده است ($A_f = 3.72E-42$ معادل با SKL0). همانطور که مشاهده می‌شود، به ازای $\hat{A}_f < A_f$ منحنی SLA1 در زیر SLA0 قرار می‌گیرد. در نتیجه، نتایج حاصل از SLA0 برای این دسته از TTI‌های مرتبه‌ی اول سخت‌گیرانه خواهد بود. یعنی، وجود دارد TTI مرتبه‌ی اولی که منحنی آرنیوس آن در زیر SLA0 و بالای SLA1 قرار



(الف)



(ب)

شکل ۲ (الف) منحنی SKL1 به ازای مقادیر مختلف A_f و (ب) سه منحنی آرنیوس نمونه

جدول ۱ مشخصات سه TTI مختلف شامل Vitsab C2-10، Vitsab M2-10 و Lifelines TJ2. مقادیر E_a و k_0 از [۱۴] در

جدول درج گردیده است.

TTI	E_a (kJ/mol)	k_0 (%/d)	$\bar{A}_f = E[A_f]$ (%)	STD(A_f)
Vitsab C2-10	63.240	1.20E+13	1.61E-40	3.01E-40
Vitsab M2-10	98.66	5.37E+19	3.72E-41	5.97E-41
Lifelines TJ2	95.64	1.14E+17	32.07	1.82

جدول ۲ محاسبه‌ی مقادیر A_f در دماهای مختلف و بررسی آزمون مرتبه‌ی صفر برای Vitsab C2-10، Vitsab M2-10 و Lifelines TJ2. مقادیر L_0 از [۱۴] در جدول درج گردیده است.

TTI	Spec.	$T_0=15\text{ }^\circ\text{C}$	$T_0=10\text{ }^\circ\text{C}$	$T_0=5\text{ }^\circ\text{C}$	$T_0=0\text{ }^\circ\text{C}$
Vitsab C2-10	L_0 (d)	2.39	3.67	6.63	10.18
	k' (%/d)	41.79	27.26	15.09	9.83
	k'' (%/d)	41.24	25.88	15.97	9.68
	A_f	1.37E-41	6.12E-40	1.09E-44	1.70E-41
Vitsab M2-10	L_0 (d)	1.38	2.94	7.04	—
	k' (%/d)	72.46	33.98	14.20	—
	k'' (%/d)	70.05	33.85	15.94	—
	A_f	1.01E-40	5.41E-42	1.75E-47	—
Lifelines TJ2	L_0 (d)	2.29	4.28	8.77	—
	k' (%/d)	11.40	23.35	43.63	—
	k'' (%/d)	0.53	0.26	0.13	—
	A_f	29.98	32.87	33.35	—

محدود می‌باشد که این خود تأییدی بر صحت مدل مرتبه‌ی یک پیشنهادی است. بعلاوه، همانطور که انتظار می‌رفت (به دلیل برخورداری از کینتیک شبه صفر)، مقدار A_f برای Vitsab C2-10 و Vitsab M2-10 بسیار به \hat{A}_f نزدیک بوده است. بنابراین، مقایسه‌ی منحنی آرنیوس این دو TTI با منحنی‌های SLA0 و SLA1 منجر به نتایج مشابهی خواهد شد. در مقابل، A_f برای Lifelines TJ2 بسیار بزرگتر از \hat{A}_f است که در نتیجه، منحنی SLA0 نمی‌تواند ارزیابی صحیحی از عملکرد این نوع TTI داشته باشد. در این حالت، پاسخ صحیح تنها با استفاده از منحنی SLA1 با A_f متناظر بدست خواهد آمد. در جدول ۱، متوسط A_f ($\bar{A}_f = E[A_f]$) و انحراف معیار A_f به تفکیک TTI‌های مورد بررسی گزارش شده است. بدیهی است که \bar{A}_f بهترین گزینه برای پیش‌بینی رفتار TTI در دماهای مختلف است. بنابراین براساس معادله‌ی (۱۵)، می‌توان منحنی SLA1 را برای TTI مورد نظر به صورت زیر بدست آورد:

$$\ln(k) = \ln\left(\ln\left(\frac{100}{A_f}\right)\right) - 1.50 + 0.1209T - \frac{6.31}{T} \quad (16)$$

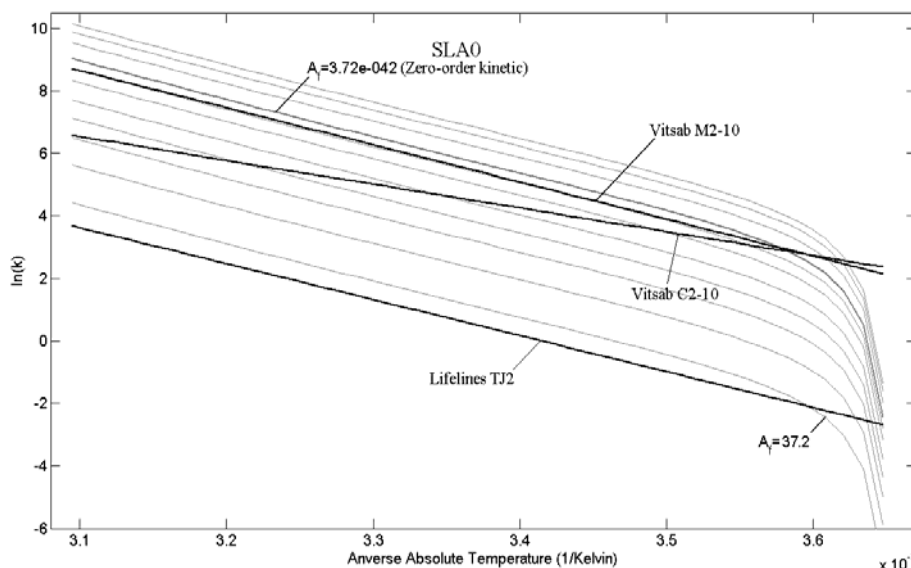
در شکل ۳، منحنی‌های آرنیوس هر سه TTI مورد بررسی در صفحه SLA1 نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، بخشی از هر دو منحنی Vitsab C2-10 و Vitsab M2-10 در زیر منحنی SLA0 قرار گرفته که با توجه به کینتیک شبه صفر دو TTI مذکور می‌توان نتیجه گرفت که این دو TTI لزوماً قبل از رشد *C. botulinum* متقاضی نشده و در نتیجه برای بسته‌بندی مواد غذایی در شرایط اکسیژن کاهش یافته مناسب نیستند و در نتیجه غیرقابل قبول می‌باشند.

۳-۱-۳ TTI‌های تجاری

به منظور بررسی بیشتر صحت تئوری پیشنهادی، در ادامه براساس معیار SLA1، قابلیت استفاده از TTI‌های تجاری Vitsab C2-10، Vitsab M2-10 و Lifelines TJ2 برای حفاظت از مواد غذایی در بسته‌بندی کم اکسیژن بررسی می‌شود. به طور کلی، تغییر رنگ TTI‌های Vitsab از سبز به زرد براساس تغییر pH داخل برچسب (ناشی از تجزیه یک چربی در مجاورت یک آنزیم) رخ می‌دهد. این در حالی است که TTI‌های Lifelines بر پایه‌ی فرآیند پلیمریزه شدن یک مونومر استیلنی و تبدیل آن به یک پلیمر شفاف ساخته شده‌اند. رنگ این نوع TTI‌ها در طول زمان از روشن به تیره تغییر می‌کند.

در جدول‌های ۱ و ۲ مشخصات سه TTI فوق لیست شده است. مقادیر پارامترهای E_a و k_0 در جدول ۱ و مقادیر L_0 به ازای دماهای ۱۵، ۱۰، ۵ و صفر درجه سلسیوس در جدول درج گردیده است [۱۴]. مطابق بخش ۲-۲، برای تعیین نوع کینتیک TTI از آزمون مرتبه‌ی صفر پیشنهادی استفاده شده است. برای این منظور، با استفاده از معادله‌ی (۱۱)، مقادیر k' و k'' در دماهای مورد نظر محاسبه شده است. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، برای Vitsab C2-10 و Vitsab M2-10، مقادیر k' و k'' در همه‌ی دماها به یکدیگر نزدیک بوده و می‌توان فرض نمود که دارای کینتیک شبه صفر هستند. اما در Lifelines TJ2 اختلاف k' و k'' بسیار زیاد بوده که نشان دهنده تبعیت از کینتیک مرتبه‌ی یک می‌باشد.

در مرحله‌ی بعد، با استفاده از معادله‌ی (۱۳)، مقادیر A_f برای هر TTI در دماهای مشخص شده محاسبه گردید. مطابق جدول ۲، اولاً برای هر TTI، تغییرات A_f در دماهای مختلف



شکل ۳ منحنی آرنیوس Vitsab M2-10، Vitsab C2-10 و Lifelines TJ2 در صفحه‌ی منحنی‌های SLA1

خواهد بود. اما در مقابل، در شرایطی که منحنی آرنیوس یک TTI مرتبه‌ی اول در بالای SLA0 و در زیر SLA1 قرار گیرد، نتایج حاصل از SLA0 برای TTI‌های مرتبه‌ی اول خوش‌بینانه خواهد بود. از اینرو قضاوت درباره‌ی TTI‌های مرتبه‌ی یک با استفاده از منحنی SLA0 خالی از اشکال نبوده و می‌تواند منجر به نتایج نادرست گردد. به عبارت دیگر، انتخاب TTI مرتبه‌ی اول براساس منحنی SLA0 می‌تواند منجر به نتایج غلط و بروز مشکلات بهداشتی جدی گردد.

۵- منابع

- [1] Welt, B.A., Sage, D.S., and Berger K.L. 2003. Performance specification of time-temperature integrators designed to protect against botulism in refrigerated fresh foods. J Food Sci. 68(1): 2-9.
- [2] Cann, D.C., Wilson, B.B., Hobbs, G., and Shewan, J.M. 1965. The growth and toxin production of Clostridium botulinum type E in certain vacuum packaged fish. J Appl Bacteriol. 28(3):431-6.
- [3] Eklund, M.W. 1982. Significance of Clostridium botulinum in fishery products preserved short of sterilization. Food Technol. 107-12, 115.
- [4] Post, L.S., Lee, D.A., Solberg, M., Furgang, D., Specchio, J., and Graham, C. 1985. Development of botulinal toxin and sensory deterioration during storage of

همچنین، منحنی آرنیوس Lifelines TJ2 نیز در زیر SLA0 قرار گرفته است اما با توجه به کینتیک مرتبه یک آن نمی‌توان بدون توجه به مقدار \bar{A}_f درباره عملکرد آن قضاوت نمود. همانطور که در جدول ۱ گزارش شده است برای TTI اخیر $\bar{A}_f = 32.07$ است. از آنجا که منحنی آرنیوس Lifelines TJ2 در زیر منحنی SLA1 با $A_f = 37.2 > 32.07$ قرار گرفته است، لذا می‌توان نتیجه گرفت که این TTI نیز لزوماً قبل از تولید توکسین منقضی نشده و استفاده از آن توصیه نمی‌شود.

۴- نتیجه‌گیری کلی

TTI‌ها ابزاری برای کنترل ایمنی مواد غذایی مستعد رشد کلستریدیوم بوتولینوم، بخصوص غذاهای دریایی بسته‌بندی شده با اکسیژن کاهش یافته، می‌باشند. از آنجاییکه واکنش‌های طبیعی معمولاً دارای کینتیک درجه‌ی یک می‌باشند، فرض درجه‌ی صفر بودن TTI سهل‌انگارانه به نظر می‌رسد. لذا روش پیشنهادی ما در این تحقیق برای حصول اطمینان از مرتبه‌ی صفر بودن کینتیک TTI مورد نظر، آزمون مرتبه‌ی صفر می‌باشد. در مواقعی که منحنی آرنیوس یک TTI مرتبه‌ی اول در زیر SLA0 و بالای SLA1 قرار گیرد، یعنی TTI قبل از تولید توکسین منقضی می‌گردد. در نتیجه، نتایج حاصل از SLA0 برای این دسته از TTI‌های مرتبه‌ی اول سخت‌گیرانه

- [9] [FDA] Food and Drug Administration. 2001. Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guide: 3rd Ed. Washington, D.C.: FDA.
- [10] Skinner, G.E., and Larkin, J.W. 1998. Conservative prediction of time to Clostridium botulinum toxin formation for use with time-temperature indicators to ensure the safety of foods. *J Food Prot.* 61(9):1154-60.
- [11] Shimoni, E., Anderson, E.M., and Labuza, T.P. 2001. Reliability of time-temperature indicators under temperature abuse. *J Food Sci.* 66(9):1337-40.
- [12] Taoukis, P.S., and Labuza, T.P. 1989b. Reliability of time-temperature indicators as food quality monitors under nonisothermal conditions. *J Food Sci.* 54(4):789-92.
- [13] Mendoza, T.F., Welt, B.A., Otwell, S., Teixeira, A.A., Kristonsson, H., Balaban, M.O. 2004. Kinetic parameter estimation of time-temperature integrators intended for use with packaged fresh seafood. *J Food Sci.* 69(3): 90-96.
- [14] Mendoza, T.F. 2003. Kinetic parameter estimation of time-temperature integrators for use with packaged fresh seafood: Ph.D. Thesis, The University of Florida.
- vacuum and modified atmosphere packaged fish fillets. *J Food Sci.* 50:990-6.
- [5] Reddy, N.R., Paradis, A., Roman, M.G., Solomon, H.M., and Rhodehamel, E.J. 1996. Toxin development by Clostridium botulinum in modified atmosphere-packaged fresh Tilapia fillets during storage. *J Food Sci.* 61(3):632-5.
- [6] Reddy, N.R., Roman, M.G., Villanueva, M., Solomon, H.M., Kautter, D.A., and Rhodehamel, E.J. 1997a. Shelf life and Clostridium botulinum toxin development during storage of modified atmosphere-packaged fresh catfish fillets. *J Food Sci.* 62(4):878-83.
- [7] Hong, L.C., Leblanc, E.L., Hawrysh, Z.J., and Hardin, R.T. 1996. Quality of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.) fillets during modified atmosphere storage. *J Food Sci.* 61(3):646-51.
- [8] Reddy, N.R., Solomon, H.M., Yep, H., Roman, M.G., and Rhodehamel, E.J. 1997b. Shelf life and toxin development by Clostridium botulinum during storage of modified atmosphere-packaged fresh aquacultured salmon fillets. *J Food Protect.* 60(9):1055-63.

A new integrated model to evaluate time-temperature indicators for fresh seafood with the purpose of protection against botulism

Nikzade, V. ^{1*}, Sedaghat, N. ², Saadatmand-Tarzjan, M. ³,
Tabatbaei Yazdi, F. ⁴

1. Ph.D. Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.
3. Assistant Professor, Medical Imaging Lab, Department of Electrical Engineering, Faculty of Engineering, Ferdowsi University Of Mashhad.
4. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.

(Received: 91/8/20 Accepted: 92/4/8)

Time-temperature indicators (TTIs) are used to check the safety of the fresh foods with reduced oxygen packaging (ROP). Already, the behavior of TTIs with zero-order kinetic was described based on Skinner-Larkin model. For TTI expiration before toxin formation, the Arrhenius curve of TTI (in the coordinates system of $\ln k$ versus $1/T$) should be located above the zero-order Skinner-Larkin-Arrhenius curve (SLA0) for all possible temperatures. However, SLA0 may incorrectly describe TTIs behaviors since they often provide first-order kinetic (similar to most natural processes). Developing a new model to describe the behavior of all types of TTIs (with zero or first-order kinetic) for fresh seafoods with ROP is the main goal of this research. In this paper, the first-order Skinner-Larkin-Arrhenius (SLA1) model is proposed as a pencil of curves to extend SLA0 for the TTIs with first-order kinetic. Furthermore, because of including the SLA0 curve, the SLA1 model can be equivalently used for both zero-order and first-order TTIs. Simulation results demonstrated that SLA0 could not correctly predict the behavior of first-order TTIs. By using the proposed model, we can successfully predict the behavior of both zero-order and first-order TTIs for fresh seafoods with ROP.

Keywords: Time-temperature indicators, Seafoods, Reduced oxygen packaging, Botulism”

* Corresponding Author E-Mail Address: Vnikzade@Yahoo.com