

تأثیر بسته‌بندی فعال میکروبی بر کیفیت پس از برداشت میوه توت فرنگی

اعظم امیری¹، سید محمد حسن مرتضوی²، محمد محمودی سورستانی^{2*}،
علیرضا کیاست³، زهرا رمضان⁴

1- دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

2- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

3- استاد گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

4- استاد مرکز تحقیقات نانو تکنولوژی، بخش شیمی دارو، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

(تاریخ دریافت: 97/04/02 تاریخ پذیرش: 97/08/29)

چکیده

بسته‌بندی با خاصیت ضد میکروبی یکی از مهم‌ترین کاربردهای بسته‌بندی فعال است. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر بسته‌بندی فعال ضد میکروبی بر کیفیت پس از برداشت میوه توت فرنگی رقم کامارزا انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با 4 نوع بسته‌بندی میوه شامل شاهد بدون تلقیح قارچ، شاهد با تلقیح قارچ، و بسته‌بندی شده با غلظت 12 و 24 میکرولیتر اسانس نعناع فلفلی در میلی‌لیتر هوای بسته و زمان آنالیز (0، 4، 8 و 12 روز) اجرا شد. در طی آزمایش صفات کیفی و بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش دوره نگهداری در همه میوه‌های بسته‌بندی شده شاخص‌های درصد پوسیدگی، کاهش وزن، آنتوسیانین کل، فنول و فلاونوئید کل به طور معنی‌داری افزایش درحالی که میزان ویتامین ث، و ظرفیت آنتی اکسیدانی کاهش یافت. در میوه‌های بسته‌بندی شده با اسانس نعناع فلفلی به طور معنی‌داری صفات کیفی بهبود یافت. جمعیت میکروبی طی دوره نگهداری در تیمارهای شاهد افزایش و در بسته میوه حاوی اسانس نعناع فلفلی کاهش یافت. غلظت 24 میکرولیتر/میلی‌لیتر اسانس نعناع فلفلی لود شده در فوم میکروسلولی نشاسته با رهایش آهسته توانست درصد پوسیدگی میوه و ویژگی‌های کیفی میوه توت‌فرنگی را طی انبارداری سرد حفظ نماید. با توجه به اینکه اسانس گیاه نعناع فلفلی بعلت وجود ترکیباتی غالب نظیر منتون و متول در غلظت‌های نسبتاً پایین روی رشد قارچ بویتریتیس بسیار موثر است، لذا استفاده از این اسانس بجای مواد نگهدارنده مصنوعی که اثرات سوء آن‌ها مشخص شده است یک امر مفید و مؤثر به نظر می‌رسد.

کلید واژگان: اسانس، بسته‌بندی، ویتامین ث، ظرفیت آنتی اکسیدانی.

*مستول مکاتبات: m.mahmoodi@scu.ac.ir

1- مقدمه

میوه توت‌فرنگی پس از برداشت سریعاً در مسیر زوال قرار می‌گیرد. از مهم‌ترین دلایل از بین رفتن میوه توت‌فرنگی، آلودگی‌های قارچی مانند پوتریتیس می‌باشد. از آنجایی که میوه توت‌فرنگی برخلاف بسیاری از دیگر میوه‌ها، از نظر ساختاری فاقد لایه پوششی است، امکان استفاده از ترکیبات قارچ‌کش برای کنترل آلودگی‌های قارچی وجود ندارد. مسأله‌ای که امروزه به عنوان چالشی جدی در فروش توت‌فرنگی دیده می‌شود و نظارتی در این زمینه وجود ندارد. از این رو دستیابی به روش‌های ایمن، ارزان و مؤثر برای حفظ کیفیت میوه توت‌فرنگی پس از برداشت می‌تواند حائز اهمیت زیادی باشد. بسته‌بندی در شرایط اتمسفر تغییر یافته روشی کارا برای نگهداری محصولات تازه است. در این نوع بسته‌بندی، تغییر ترکیب گازی اطراف محصول می‌تواند به کاهش سرعت تنفس محصول کمک کند، رشد آلودگی‌های میکروبی را کاهش دهد و روند فعالیت‌های متابولیکی و کاهش رطوبت در میوه‌ها و سبزیجات را کند نماید. تغییر ترکیب گازی اطراف محصول می‌تواند با اثر بر متابولیسم میوه، سبب به تأخیر انداختن تغییرات آنزیمی و حفظ ویژگی‌های ظاهری محصول شود [1]. بسته‌بندی با اتمسفر تغییر یافته طی دهه‌های اخیر به ویژه در آمریکا و ژاپن به منظور نگهداری مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته است و کاربرد انواع گوناگون این نوع بسته‌بندی روز به روز در حال گسترش است. بسته‌بندی با اتمسفر تغییر یافته شامل انواع فعال و غیرفعال می‌باشد که در بسته‌بندی فعال، اضافه نمودن ترکیب جاذب یا آزادکننده گازها (بالشتک یا Sachet) به داخل بسته سبب تغییر هدفمند نسبت گازهای درون بسته می‌شود. بسته‌بندی فعال اجازه تعامل بسته با محصول را می‌دهد و نقش پویا در حفظ مواد غذایی بازی می‌کند [2]. بسته‌بندی آنتی‌میکروبی یکی از مهم‌ترین کاربردهای بسته‌بندی فعال است. بسته‌بندی با خواص آنتی‌میکروبی در واقع یک سیستم بسته‌بندی است که قادر به کشتن و از بین بردن آلودگی‌ها و میکروارگانیسم‌های عامل فساد مواد غذایی است [3]. کاربرد 2-نونان در بسته‌بندی فعال توت‌فرنگی وحشی به همراه اتمسفر تغییر یافته سبب بهبود عمر قفسه‌ای میوه شد. غلظت پایین 2-نونان بر

خواص کیفی و حسی محصول تأثیر نداشت اما باعث کاهش رشد قارچ‌ها شده و با کاهش فعالیت‌های فیزیولوژیکی پس از برداشت میوه باعث تأخیر در پیری گردید [4]. بسته‌بندی فعال توت‌فرنگی با غلظت‌های مختلف از عصاره دارچین تأخیر در فساد قارچی میوه و بهبود شاخص‌های کیفی میوه را باعث گردید. در مقایسه با شاهد استحکام بافت افزایش و میزان افت وزن، شدت تنفس و درصد فساد کاهش نشان داد [5]. بسته‌بندی فعال با لیبیل حاوی اسانس دارچین باعث افزایش عمر قفسه‌ای هلو گردید که نسبت به بسته‌های بدون لیبیل کارایی بهتری نشان داد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی هلو مانند کاهش وزن و سفتی نیز در بسته‌بندی فعال بهتر بودند. از فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز جلوگیری شد و فعالیت سایر آنزیم‌ها را تحت تأثیر قرار داد. پس از 12 روز نگهداری هلو بسته‌بندی شده در دمای اتاق، کیفیت میوه مطلوب گزارش گردید و اثری از طعم اسانس دارچین بوسیله افراد پنلیست در میوه مشاهده نشد [6]. در استفاده اسانس بعنوان بخشی از بسته‌بندی آنتی‌میکروبی برای نگهداری خربزه‌ی درختی، رشد میکروبی در میوه‌ها کاهش یافت. با توجه به عدم تفاوت خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بین شاهد و تیمارها، اثر مضر بر کیفیت میوه پایا نداشت و رسیدن طبیعی میوه تحت تأثیر اسانس قرار نگرفت [7]. این آزمایش با هدف بررسی کاربرد اسانس نعناع فلفلی در بسته‌بندی فعال جهت کنترل رشد قارچ *cinerea Botrytis* توت‌فرنگی رقم کامارزا انجام شد.

2- مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهمن ماه 1396 در آزمایشگاه‌های گروه علوم باغبانی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد. برای انتخاب اسانس مؤثر با حداقل غلظت بازدارندگی¹ (MIC) ابتدا تست این ویترو (in vitro) با 7 نوع اسانس اکالیپتوس، ترخون، لیموترش، نعناع فلفلی، مرزه، زیره و رزماری با 9 غلظت با دو روش کاربرد اختلاط با محیط کشت و کاربرد تدریجی صورت گرفت و سپس بهترین اسانس از نظر قدرت بازدارندگی رشد قارچ *Botrytis cinerea* با کمترین غلظت انتخاب گردید. اسانس نعناع فلفلی با 1 میکرولیتر در میلی‌لیتر هوای پتريدیش

1. Minimum Inhibitory Concentration



Fig 1 Antimicrobial sachet in fruit packs

2-3- صفات اندازه‌گیری شده

بسته‌های میوه در روز اول توزین و در هر روز نمونه‌برداری با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت 0/01 مجدداً توزین شده و از اختلاف وزن آن‌ها برای محاسبه درصد کاهش وزن استفاده شد [9]. غلظت مواد جامد محلول با استفاده از رفاکتومتر دیجیتالی ATAGO و برحسب درجه بریکس اندازه‌گیری شد. ویتامین ث میوه‌ها بر اساس روش تیتراسیون با رنگ دی‌کلروفنل‌ایندوفنل (DCIP) ³ اندازه‌گیری و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر 100 گرم وزن تر گزارش شد [10]. مواد فنولی کل بر اساس آزمون Folin-Ciocalteu اندازه‌گیری شد. میزان جذب مخلوط واکنش در طول موج 725 نانومتر قرائت شده و نتایج بر اساس نمودار استاندارد بدست آمده برای اسید گالیک برحسب *equivalent mg/100g Galic acid* (GAE) بافت زنده گزارش شد [11]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها نیز بر اساس خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد 2-2 دی فنیل -1- پیکریل هیدرازیل با کمی تغییر انجام شد [12]. آنتوسیانین کل میوه بر اساس روش اختلاف پ‌هاش، با استفاده از دو بافر کلرید پتاسیم 0/025 مولار با پ‌هاش 1 و بافر استات سدیم 0/4 مولار با پ‌هاش 4 اندازه‌گیری شد [13]. میزان جذب نمونه‌ها در دو طول موج 520 و 700 نانومتر قرائت و میزان آنتوسیانین بر حسب میلی‌گرم سیانیدین-3 گلوکوزید بر گرم بافت گیاه بیان شد. فلاونوئیدهای کل با روش آلومینوم کلراید کالریتری با شدت جذب محلول در طول موج 510 نانومتر خوانده و غلظت فلاونوئیدها بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در 100 گرم وزن تر ارائه گردید [14]. ارزیابی درصد پوسیدگی به روش

با روش کاربرد تدخینی انتخاب گردید و به ساخت ساشه تعمیم داده شد. میوه‌ها در مرحله بلوغ تجاری برداشت و سپس به آزمایشگاه منتقل گردید. ابتدا فوم میکروسلولی نشاسته تهیه شد [8]. سپس هر ساشه ² (0/5 گرم) با اسانس نعناع فلفلی (تهیه شده از شرکت باریج اسانس کاشان) با غلظت 0، 12 و 24 میکرولیتر/ میلی‌لیتر هوای بسته، مخلوط شد. ساشه جهت اعمال در بسته میوه در قسمت فوقانی ظرف قرار گرفت (شکل 1).

برای جداسازی اولیه قارچ از محیط کشت PDA و آب آگار استفاده شد. برای این منظور میوه‌های توت فرنگی پوسیده، پس از جمع‌آوری از بازار، به آزمایشگاه منتقل شده و در جریان ملایم آب به مدت 15 min شستشو گردیدند. میوه‌ها روی کاغذ صافی استریل در زیر هود خشک شده و قسمت‌های آلوده آن‌ها کشت گردید. سپس در انکوباتور در دمای 25°C قرار گرفتند تا کلونی‌های قارچ ظاهر شد. برای خالص سازی قارچ از روش تک اسپور استفاده شد. صحت شناسایی آن‌ها توسط دکتر محرابی کوشکی از اساتید قارچ شناسی گروه گیاهپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز تایید شد.

2-1- تصویربرداری میکروگراف‌های الکترونی

فوم نشاسته

نمونه فوم نشاسته در ابعاد 1x1 سانتیمتر برش داده و سپس با طلا پوشیده شده و با یک میکروسکوپ الکترونی روبشی Scanning 0144S/ مدل هیتاچی (SEM) ساخت ژاپن مشاهده گردید.

2-2- آماده‌سازی میوه

میوه‌ها با هیپوکلریت سدیم 0/1 درصد به مدت 1 دقیقه ضدعفونی و سپس سوسپانسیون اسپور قارچ *Botrytis cinerea* با غلظت 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر در دو نقطه طولی میوه تزریق شد. در هر بسته میوه 7 عدد میوه قرار گرفت و میوه‌ها هر 4 روز یکبار در روزهای 0، 4، 8 و 12 روز مورد آنالیز کیفی قرار گرفتند.

3. 2,6-dichlorophenolindophenol

2. Sachet

کاربرد آن بهبود بخشید. کمپلکس، پیوند غیرکوالان مولکول-های کوچک با نشاسته است که این مولکول‌ها با ورود به حفره‌ی ماریچ آمیلوز با نشاسته پیوند می‌دهند [16]. فوم میکروسلولی نشاسته، با خواص منحصر بفردی مانند غیرسمی بودن، زیست تخریب‌پذیری، سطح مخصوص بالا، و حفرات ریز می‌باشد [8]. فوم‌های میکروسلولی، فوم‌های جامد با دانسیته پائین هستند که از یک شبکه جامد با حفرات پر شده از هوا دارای ساختار متخلخل با قطر چند میکرومتر یا کوچکتر (50 میکرون) تشکیل شده‌اند. و حدود 25% (وزنی/وزنی)، مایع غیر آبی را جذب می‌کند [17].

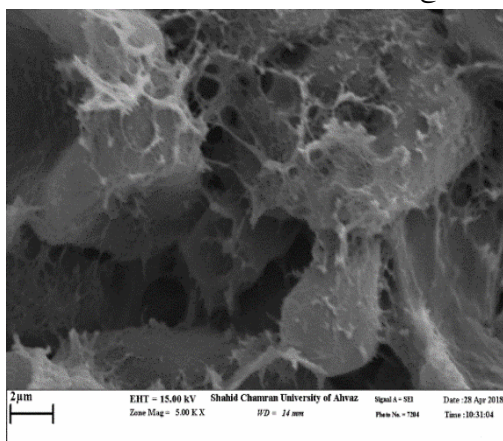


Fig 2 The SEM images Starch microcellular foams

Table 1 Identified compounds in peppermint essential oil

Components	Percentage
Limonene (%)	4.9
Cineole (%)	5.9
Menthone (%)	23.4
Isomenthone (%)	4.3
Isopulegol (%)	0.08
Menthol (%)	21.12
Pulegone (%)	3.8
Carvone (%)	2.7

3-2- افت وزن

همانطور که در شکل 3 مشاهده می‌گردد با افزایش دوره نگهداری، افت وزنی همه نمونه‌ها افزایش یافته است. به-طوری‌که بیشترین افت وزن در آخرین روز نگهداری مشاهده می‌گردد. نتایج نشان از تاثیر معنی‌دار استفاده از اسانس نعناع

نمره‌دهی براساس تعداد میوه‌های آلوده نسبت به میوه‌های سالم با فرمول زیر صورت گرفت [15].

$$\text{تعداد میوه مربوط به آن} \times \text{درجه پریمی‌دگی} = \frac{\sum \text{شاخص پریمی‌دگی}}{\text{تعداد میوه مربوط به تیمار}}$$

2-4- بررسی وضعیت میکروبی

جهت اندازه‌گیری بار میکروبی مقدار 50 گرم از بافت میوه با 450 میلی‌لیتر آب و توئین استریل در هاون کاملاً مخلوط شد. رقت‌های مختلف از عصاره صاف شده ساخته شد و 100 میکرولیتر از هر رقت بصورت سطحی کشت داده شد. تعداد کلونی‌های کپک و مخمر از محیط کشت تغییر یافته‌ی رزنگال-کلرآمفنیکل آگار (RCA)⁴ پس از 72 ساعت در دمای 25 درجه سانتیگراد و کلونی‌های باکتریایی پس از 48 ساعت در دمای 30 درجه سانتیگراد بر روی محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA)⁵ شمارش شد. جمعیت کپک، مخمر و باکتری در هر نمونه بر اساس شاخص CFU⁶ که تعداد کلونی را به ازای گرم نشان می‌دهد از رابطه‌ی زیر محاسبه شد [15].

$$\text{تعداد کلونی در تمام محیط} \times \text{تولید شمارش شده در هر پلیت} = \text{تعداد کلونی کپک مخمر} \left(\frac{\text{CFU}}{\text{g}} \right)$$

2-5- آنالیز آماری

آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی انجام شد. آنالیز آماری با نرم‌افزار MSTATC و رسم نمودارها با Excel (2013) صورت گرفت.

3- نتایج و بحث

3-1- بررسی میکروگراف تصویربرداری الکترونی SEM

در شکل (2) ماهیت متخلخل فوم میکروسلولی نشاسته با تصویربرداری الکترونی نمایان است. نشاسته قادر است با مولکول‌های کوچک به ویژه مولکول‌های غیرقطبی ترکیبات طعم‌دار و آروما کمپلکس ایجاد کرده، طعم غذا را از طریق کاهش تبخیر و همچنین کنترل رهایش آن در طول نگهداری و

4. Rosbengal-Chloramphenicol Agar

5. plate count agar

6. Colony forming units

تیمار شاهد همراه با تلقیح قارچ، از بین رفتن مواد غذایی ذخیره شده در میوه توسط قارچ بوتریتیس سینرا و بالا بودن متابولیسم می‌باشد. بخار اسانس فرآیند آبرزایی (دهیدراسیون) را در انگور [31] و هلو [6] نیز کاهش داد. نتایج ناشی از تیمار انگور با اسانس بذر گریپ فروت نیز افت وزن کمتر میوه‌های تیمار شده نسبت به میوه‌های شاهد را نشان داد [34]. اسانس به‌عنوان سدی بین میوه و محیط پیرامون قرار گرفته، بنابراین تبادل‌های خارجی را کاهش داده و در نهایت جلوی از دست دادن آب میوه‌ها را می‌گیرد [6].

3-3- مواد جامد محلول

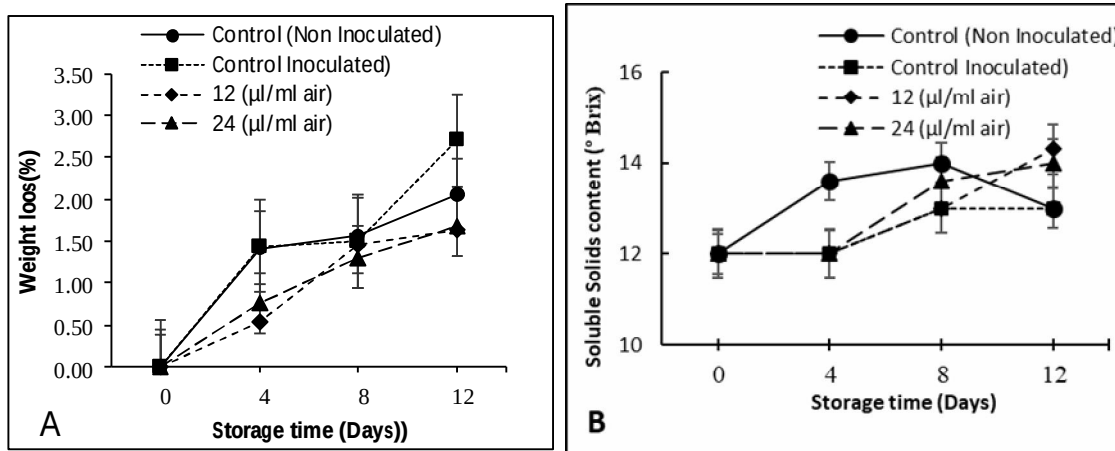


Fig 3 Weight loss (%) (A), soluble solids content (°Brix) (B) in strawberry fruit either untreated or treated with peppermint essential oil at different concentrations. Fruit were stored at 1 °C for up to 12 days

اسانس درخت چای نیز افزایش قند را نسبت به میوه تیمار نشده باعث گردیده است [21].

3-4- ویتامین ث

همانگونه که در شکل 4-الف مشاهده می‌شود با افزایش دوره نگهداری ویتامین ث در همه‌ی نمونه‌ها کاهش یافت. مطالعات زیادی [20]، [22] کاهش ویتامین ث را در میوه‌ی توت فرنگی با گذشت زمان گزارش کردند. میوه‌های بسته حاوی اسانس نعناع فلفلی، ویتامین ث بیشتری نسبت به میوه‌های بدون اسانس طی مدت نگهداری داشتند. کاهش ویتامین ث طی دوره‌ی نگهداری بعثت خاصیت اتواکسیداسیون و واکنش با اکسیژن هوا می‌باشد [22]. اکسیداسیون ویتامین ث توسط آنزیم آسکوربات اکسیداز باعث کاهش مقدار آن می‌شود. کاربرد اسانس‌ها فعالیت این آنزیم را کاهش داده و مقدار آن را حفظ می‌نماید [23]. در پژوهش دیگری، حبه‌های انگور تیمار شده با اوزنول و تیمول، ویتامین ث بیشتری داشته است [23].

فلفلی در کاهش افت وزن میوه‌های توت فرنگی داشت به طوریکه نمونه‌های بسته‌بندی شده در فضای حاوی 24 میکرولیتر اسانس در هر میلی‌لیتر هوا کمترین افت وزنی را داشتند. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش میزان اسانس، افت وزنی کمتری در نمونه‌ها اتفاق می‌افتد. تغییرات کاهش وزن میوه در روزهای آخر بعثت افزایش فعالیت متابولیکی و همچنین رشد سریع میکروبی با تخریب بافت میوه می‌باشد [6]. مطابق با این نتایج، مطالعاتی دیگر [18]، [19]، [20] کاهش وزن میوه توت فرنگی را در ارقام مختلف طی دوره نگهداری گزارش نمودند. علت بالا بودن درصد کاهش وزن در

همانگونه که در شکل 3 مشاهده می‌شود با افزایش مدت زمان نگهداری درصد مواد جامد محلول میوه در همه نمونه‌ها افزایش یافت، افزایش درصد مواد جامد محلول طی نگهداری میوه به کاهش آب موجود در میوه ارتباط داده می‌شود، بطوریکه در توت فرنگی‌های که بیشترین تلفات آب را دارند، تغییرات بیشتری در مواد جامد محلول آن‌ها گزارش شده است [22]. همچنین حلالیت پلی‌گالاکترونیک و همی سلولز موجود در دیواره سلولی در میوه توت فرنگی بالغ ممکن است باعث افزایش مواد جامد محلول در دوره نگهداری گردد [22]. نتایج نشان از تاثیر اسانس نعناع فلفلی بر درصد مواد جامد محلول در میوه‌های توت فرنگی داشت به طوریکه نمونه‌های بسته‌بندی شده در فضای حاوی 24 میکرولیتر اسانس در هر میلی‌لیتر هوا در آخرین روز بیشترین درصد مواد جامد محلول را داشتند. در میوه توت فرنگی با تیمار تدخیتی اسانس دارچین نتایج مشابهی گزارش شده است [19]. تیمار میوه تمشک با

3-5- مواد فنولی و فلاونوئید کل

کاهش تغییرات مواد فنولی طی دوره نگهداری تا روز 4 در شکل 4-ج در همه نمونه‌ها نمایان است. مقدار مواد فنولی در آخرین روز نگهداری در میوه‌های بسته‌بندی شده با اسانس نعنای فلفلی با غلظت 24 میکرولیتر/میلی‌لیتر اسانس بیشتر بود. به طور مشابهی، تیمار میوه توت فرنگی با بخار کارواکرول و متیل سینامات سبب افزایش مقدار مواد فنولی گردیده است [18]. بر خلاف آن، کاهش مقدار مواد فنولی در کاربرد تدخینی اسانس اکالپتوس و دارچین برای میوه توت فرنگی مشاهده گردیده است [19]. روند تغییر فلاونوئید کل طی دوره نگهداری میوه در همه میوه‌های بسته‌بندی شده تا روز 8 کاهش، اما پس از آن در میوه‌های بسته‌بندی شده با غلظت 12 و 24 میکرولیتر / میلی‌لیتر اسانس نعنای فلفلی افزایشی بود (شکل 4-ه). نتایج مشابهی در میوه توت‌فرنگی رقم پاروس طی دوره نگهداری ثبت شده است [24]. آنزیم فنیل آلانین آمینولیز، آنزیم کلیدی در چرخه فنیل پروپانوئید و متابولیسم ترکیبات فنولی می‌باشد. تیمار توت فرنگی با اسانس درخت چای باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین می‌گردد [25]. بنظر می‌رسد این آنزیم با تولید مواد فنولی باعث تقویت سیستم دفاعی گیاه در مقابل قارچ بوتریس تلخیص شده، می‌شود. با این وجود اسانس دارچین در هلوی آلوده شده بطور طبیعی تاثیری در محتوای مواد فنولی و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمینولیز نداشته است [26].

3-6- آنتوسیانین کل

نتایج نشان داد که با افزایش دوره نگهداری، غلظت آنتوسیانین در همه میوه‌های بسته‌بندی شده افزایش می‌یابد شکل 4-ه. نتایج مشابهی در رقم پاروس [27] و چند رقم دیگر توت فرنگی [2]، گزارش شده است. میوه‌های شاهد تلخیص شده با قارچ بیشترین میزان آنتوسیانین را نشان داد. همانگونه که در کاهش وزن میوه مشاهده می‌شود بیشترین میزان کاهش وزن در این نمونه‌ها ثبت شده است. افزایش مقدار آنتوسیانین طی دوره برداشت با کاهش وزن و از دست دادن رطوبت میوه و در نتیجه تغلیظ مقدار آنتوسیانین مرتبط می‌باشد [24]. آنتوسیانین‌ها گروهی از ترکیبات فنولی هستند که در رنگ قرمز-آبی بسیاری از سبزیجات و میوه‌ها دخیل هستند. و در سلامتی انسان نقش مهمی دارند. این نتایج نشان‌دهنده سنتز این ترکیبات پس از برداشت می‌باشد [29]. در تحقیق دیگری، تیمار میوه‌های توت فرنگی رقم سلوا با اسانس ریحان بصورت

تدخینی باعث بهبود شاخص رنگ آن شده است. علت آن خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس در جلوگیری از اکسیداسیون آنتوسیانین بیان گردیده است [30].

3-7- ظرفیت آنتی اکسیدانی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش دوره نگهداری میوه، ظرفیت آنتی اکسیدانی کاهش یافت (شکل 4-ب). بطوریکه کمترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در روز آخر مشاهده شد. کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی طی دوره نگهداری در پژوهش‌های پیشین گزارش شده است [31]، [27]، [29]. میوه‌های بسته‌بندی شده با غلظت 12 و 24 میکرولیتر/میلی‌لیتر اسانس نعنای فلفلی بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در روز آخر داشتند. پیری و پوسیدگی میوه طی دوره نگهداری میوه علت کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد [24]. بنظر می‌رسد اسانس نعنای فلفلی با کاهش فعالیت رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از پیری، فعالیت آنتی‌اکسیدانی را حفظ نموده است. ظرفیت آنتی-اکسیدانی با مقدار ویتامین ث و مواد فنولی رابطه مستقیم دارد [32]. در تحقیق حاضر مقدار ماده فنولی در میوه‌های شاهد همراه تلخیص قارچ کم بود و کمترین ظرفیت آنتی اکسیدانی نیز در این میوه‌ها ثبت گردید. علاوه بر آن، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین مقدار ویتامین ث و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی وجود داشت. به طور مشابه، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین مقدار ویتامین ث و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در آلوی قطره طلای تیمار شده با بخار اسانس ریحان [33] و انگور تیمار شده با آوژنول و تیمول [34]، طی دوره نگهداری گزارش شده است. کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش مقدار هیدروآسکوربیک اسید و کاهش مقدار آسکوربیک اسید همراه است [28]. این نتایج بیانگر نقش مهم ویتامین ث در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه توت فرنگی است.

3-8- وضعیت میکروبی

تغییرات کلونی‌های باکتریایی و کلونی‌های کپک و مخمر بین تیمارهای شاهد و غلظت‌های 12 و 24 میکرولیتر/میلی‌لیتر طی دوره نگهداری در جدول 1 آورده شده است. با گذشت زمان از روز 4 به روز 8 و 12 در دو غلظت اسانس، تعداد کلونی‌های باکتریایی، کپک و مخمر کاهش یافته است. مطابق با این نتایج، کاهش تعداد کلونی باکتریایی، کپک و مخمر با عصاره انار و انگور در روزهای پایانی نگهداری میوه توت فرنگی گزارش گردیده است [35]. در پژوهش دیگری، با افزایش دوره نگهداری، افزایش بار میکروبی در توت فرنگی ثبت شده است،

تدریج رهایش این اسانس در بسته‌بندی توت‌فرنگی افزایش و در نتیجه در روزهای پایانی بار میکروبی را کاهش می‌دهد. سمیت سلولی اسانس عمدتاً به دلیل حضور فنول‌ها، آلدئیدها و الکل‌هاست که مانع فعالیت قارچ‌ها می‌شود [36]. اسانس‌ها در سلول‌های یوکاریوتی می‌توانند قطب‌زدایی غشاهای میتوکندری را به وسیله کاهش پتانسیل غشاء و تأثیر بر چرخه یونی کلسیم و دیگر کانال‌های یونی و شیب pH تحریک نمایند [37].

اما میوه‌ی تیمار شده با تیمول، بار میکروبی کمتری طی دوره نگهداری نسبت به شاهد داشته است [23]. در تحقیق دیگری، بار میکروبی میوه توت‌فرنگی طی دوره نگهداری میوه افزایش یافته است اما تیمار ژل آلونهورا تا روز 6 نگهداری، میزان بار میکروبی را کاهش و پس از آن افزایش داده است [27]. با گذشت زمان اثر ضد قارچی اسانس نعنای فلفلی افزایش می‌یابد. احتمالاً میکرو ذرات فوم نشاسته به عنوان یک عامل جاذب اسانس نعنای فلفلی عمل نموده و به علت ساختار متخلخل خود اسانس نعنای فلفلی را در خود نگه داشته و به

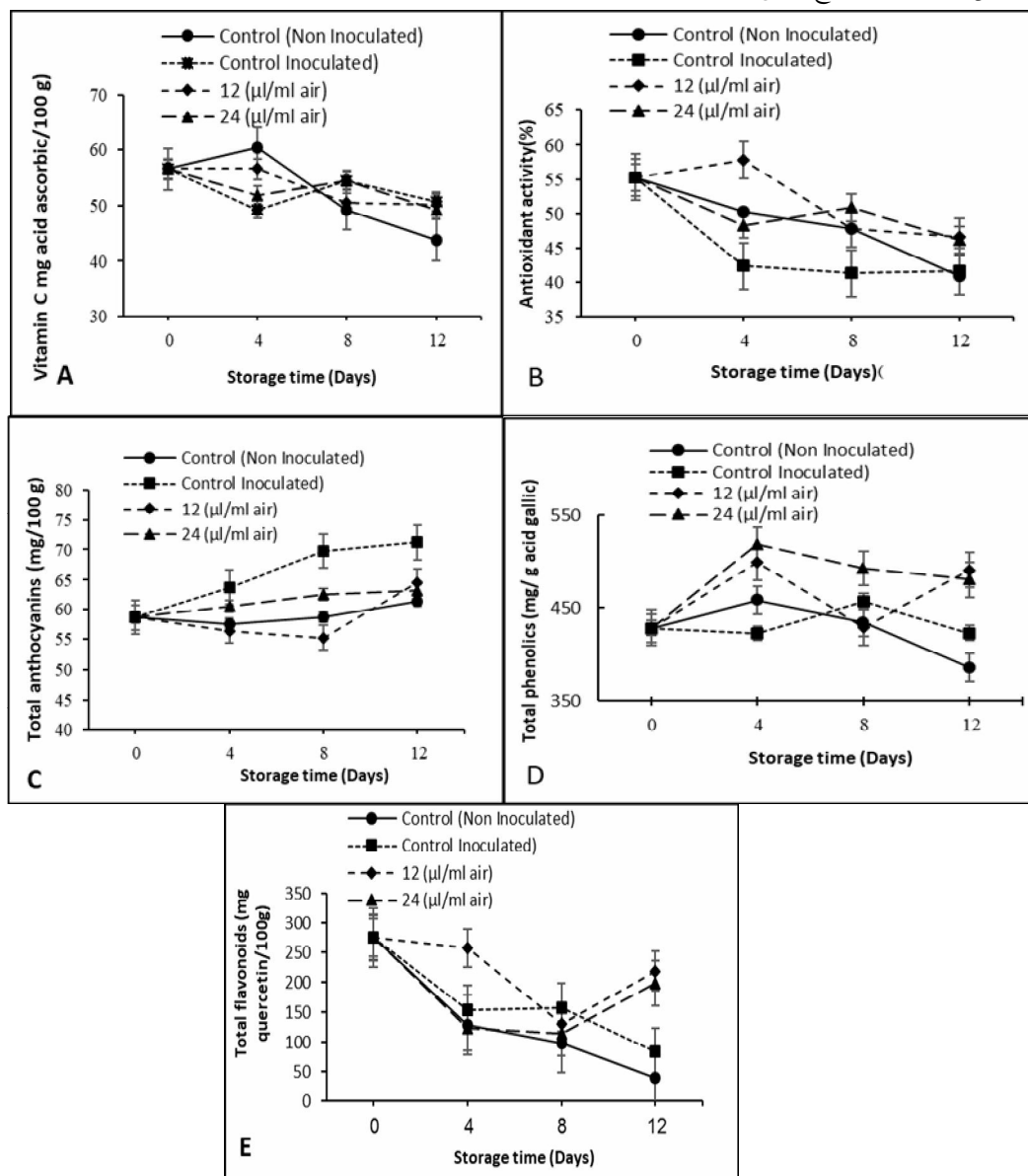


Fig 4 Vitamin C (mg acid ascorbic /100 g fresh weight) (A), anthocyanin (mg /100 g of pelargonidin-3-glucoside on a fresh weight basis) (B), total phenol (mg/ g of gallic acid on a fresh weight basis) (C), antioxidant capacity (%DPPHsc) (D) and total flavonoids (mg/100 g quercetin on a fresh weight basis) (E) in strawberry fruit either untreated or treated with peppermint essential oil at different concentrations. Fruit were stored at 1 °C for up to 12 days.

کاربرد تدخینی ترکیبی اتانول، سیترال، اسید جاسمونیک، لینالول و وانیلین اثر مثبتی بر کاهش پوسیدگی و افزایش عمر قفسه‌ای توت فرنگی داشته است. میوه‌های تیمار شده با پی‌پی‌ام از ترکیبات مذکور، خواص ارگانولپتیک قابل قبولی نشان دادند اما دوز بالاتر از 750 پی‌پی‌ام اثر سمیت روی میوه را در پی داشته است [43]. به طور مشابهی، غلظت بالای بخارات تیمول در گیلان قهوه‌ای شدن دم میوه و تغییر طعم را سبب شد [45]. کاربرد تدخینی 11/5 میکرولیتر/لیتر هوا اسانس میخک و اسانس خردل با غلظت 1/93 میکرولیتر در لیتر هوا علائم پوسیدگی را در توت فرنگی کنترل نموده است [44].



Fig 5 effect of volatile treatments on strawberry calyx

اسانس‌ها سیالیت غشاهای را تغییر می‌دهند به طوریکه غیرطبیعی نفوذپذیر می‌شوند و منجر به نشت رادیکال‌ها، سیتوکروم C، یون‌های کلسیم و پروتئین‌ها شده و باعث تنش اکسایشی می‌گردند [38]. افزایش نشت مواد داخل سلولی میسیلیوم قارچ *B. cinerea* با افزایش غلظت اسانس علف لیمو [25] و درخت چای مشاهده شده است [39]. اسانس نعناع فلفلی بکاربرده شده حاوی درصد بالایی از منتول و منتون می‌باشد (جدول 1). خاصیت ضد میکروبی اسانس نعناع فلفلی با ترکیبات منتول، ایزومنتون، پولگون، کاروون، پیریتون، دی هیدروکاروون و بتاکاریوفیلین ارتباط دارد [40]، [41]، مقدار مونوترپن‌های هیدروکربنه اسانس نعناع فلفلی در فاز بخار 62/8 درصد و سه برابر فاز مایع است. علت خاصیت آنتی میکروبی قوی این اسانس، حلالیت سریع این ترکیبات در غشای سلولی در فاز گازی می‌باشد [42].

3-9- درصد پوسیدگی

بیشترین درصد پوسیدگی در میوه‌های شاهد تلقیح شده با اسپور قارچ وجود داشت (جدول 1). تیمار اسانس نعناع فلفلی از رشد اسپور قارچ جلوگیری نمود. اگرچه در میوه‌های بسته‌بندی شده با غلظت 24 میکرولیتر/ میلی‌لیتر هوای بسته، شاخص پوسیدگی صفر مشاهده شد اما در این میوه‌ها، خشکیدگی کالیکس میوه در روز 12 بیشتر بود (شکل 2).

Table 2 Total aerobic mesophilic bacteria and total yeast + mold counts (Log CFU/g) and decay in strawberry fruit either untreated or treated with different concentrations essential oil of (%) index Fruits were stored at °C for up to 12 days..peppermint

Microbial group	Treatments	Storage time (days)		
		4	8	12
Total aerobic mesophilic bacteria	Control (Non-inoculated)	3.38 ^c	2.75 ^c	4.63 ^b
	Control (Inoculated)	5.38 ^{ab}	5.88 ^a	4.90 ^b
	12 (µl/ml air)	0.7 ^{de}	1.50 ^d	0.88 ^{de}
	24 (µl/ml air)	1.48 ^d	0.68 ^{de}	.35 ^e
Total yeast and mold	Control (Non-inoculated)	4.90 ^{bc}	5.30 ^{ab}	5.66 ^a
	Control (Inoculated)	4.50 ^c	4.75 ^{bc}	4.45 ^c
	12 (µl/ml air)	1.73 ^d	1.73 ^d	1.15 ^{de}
	24 (µl/ml air)	1.60 ^d	0.52 ^{ef}	0.45 ^f
Decay index(%)	Control (Non-inoculated)	. ^d	16.66 ^{bcd}	27.78 ^{abc}
	Control (Inoculated)	. ^d	33.33 ^{ab}	44.40 ^a
	12 (µl/ml air)	. ^d	11.11 ^{cd}	16.66 ^{bcd}
	24 (µl/ml air)	. ^d	. ^d	. ^d

Within the same microbial group, means with different letters in the same column are significantly different (P < 0.05) according to the LSD test

4- منابع

- evaluation of methods. Food Chemistry. 96: 654-664.
- [11] Slinkard, K. and Singleton, V.L. 1977. Total phenol analyses: Automation and Comparison with Manual Methods. American Journal of Enology and Viticulture. 28: 49-55.
- [12] Brand-Williams, W, Cuvelier M. E, Berset C, 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. 28:25-30.
- [13] Lee, J., Durst, R.W. and Wrolstad, R.E. 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. Journal of AOAC International. 88: 1269.
- [14] Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. food chemistry. 64:555-559.
- [15] Cao, Sh., Hu, Zh., Pang, B. 2010. Optimization of postharvest ultrasonic treatment of strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology. 55:150-153.
- [16] Ades, H., Kesselman, E., Ungar, Y., & Shimoni, E. 2012. Complexation with starch for encapsulation and controlled release of menthone and menthol. LWT-Food Science and Technology. 45(2): 277-288.
- [17] Glenn, Gregory M, 2008. Temperature Related Structural Changes in Wheat and Corn Starch Granules and Their Effects on Gels and Dry Foam, Department of Agriculture. 60:476-484.
- [18] Peretto, G., Du, W., Avena-Bustillos, R. Bouy L., Sui Sheng T S., Paolo Sambo, H., McHugh, T.H. 2014. Increasing strawberry shelf-life with carvacrol and methyl cinnamate antimicrobial vapors released from edible films. Postharvest Biology and Technology. 89 11-18.
- [19] Tzortzakis, N.G. 2007. Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds Innovative. Food Science and Emerging Technologies. 8: 111-117.
- [20] Sirooee nejad, B., Mortazavi, S.M.H., Moallemi, N. And Eshghi, S., 2013. Effect of post-harvest application of putrescine and
- [1] Mortazavi, S.M.H., Karami, Z., and Mostaan, A. 2015. Use of ethylene scavenger sachet in modified atmosphere packaging to maintain storage stability of khalal date fruit. International Journal of Postharvest Technology and Innovation. 5: 52-63.
- [2] Ahvenainen, R. 2003. Novel food packaging techniques. Published in North America by CRC Press LLC. 589PP.
- [3] Payan, M., Hamedi, M. 2013. Application of active packaging in foods - A review . Journal of Food Science and Technology. 38(10): 49-67.
- [4] Almenar, E., Catala, R., Hernandez-Munoz, P., and Gavara, R. 2009. Optimization of an active package for wild strawberries based on the release of 2-nonanone. LWT - Food Science and Technology. 42: 587-593.
- [5] Ahmadi Jozani, M., Javanmard, M., and Iraqi, M. 2015. Evaluation of the effect of cinnamon extract on active packaging to improve strawberry shelf life. Journal of Package Science and Technology. 23: 52-59.
- [6] Montero-Prado, P., Rodriguez- Lafuente, A., Nerin, C., 2011. Active label-based packaging to extend the shelf-life of "Calanda" peach fruit: Changes in fruit quality and enzymatic activity. Postharvest biology and Technology. 60: 211-219.
- [7] Espitia, P. J.P.A. 2012. Assessment of the efficiency of essential oils in the preservation of postharvest papaya in an antimicrobial packaging system. Food Technology. 15(4) : 307-316.
- [8] Wu, Ch., Wang, Zh., Zhi, Zh., Jiang, T., Zhang, J., and Wang. S., 2011. Development of biodegradable porous starch foam for improving oral delivery of poorly water soluble drugs. International Journal of Pharmaceutics. 403: 162-169 .
- [9] Razzaq, K., Khan, A.S., Malik, A.U., Shahid, M., Ullah, S., 2014. Role of putrescine in regulating fruit softening and antioxidative enzyme systems in '*Samar Bahisht Chaunsa*' mango. Postharvest Biology and Technology. 96:23-32.
- [10] Hernández, Y., Lobo, M. G. and González, M. 2006. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative

- [29] Wang, S. Y., and Gao, H.Y. 2013. Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *LWT - Food Science and Technology*. 52: 71–79.
- [30] Asghari Marjanloo, A., Mostofi, Y., Shoaibi, Sh., Moghome M. 2008 Effect of Basil Oil on Control of Grain Cartilage and Post-Harvest Quality of Strawberry (*Selva*). *Journal of Medicinal Plants*. 8(1): 131-139.
- [31] Eshghi, S., Hashemi, M., Mohammadi, A., Badii, F., Mohammadhoseini, Z., and Ahmadi, K. 2014. Effect of nanochitosan-based coating with and without copper loaded on physicochemical and bioactive components of fresh strawberry fruit (*Fragaria x ananassa Duchesne*) during storage. *Food and Bioprocess Technology*. 7: 2397–2409.
- [32] Tulipani, S., Mezzetti, B., Capocasa, F., Bompadre, S., Beekwilder, J., De Vos, C.H.R., Capanoglu, E., Bovy, A., Battino, M., 2008. Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. *J. Agric. Food Chem*. 56: 696–704.
- [33] Fakhar, Z., Mostofi, Y., Zamani, Z. 2014. Application of *Ocimum basilicum* Essential Oil as Vapor on Postharvest Storage of Plum Fruit cv. 'Golden Drop'. *Notulae Scientia Biologicae*, 6(4):454-459.
- [34] Valero, D., Valverde, J.M., Mart'inez-Romero, D., Guillen, F., Castillo, S., Serrano, M. 2006. The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*. 41:317–327.
- [35] Durana, M., Seckin Adaya, M., Demirel Zorbaa, N., Temizkana, R., Burak Büyükcana, M., Canera, C. 2016. Potential of antimicrobial active packaging 'containing natamycin, nisin, pomegranate and grape seed extract in chitosan coating' to extend shelf life of fresh strawberry. *Food and Bioprocess Technology*. 354-363
- [36] Bruni, R., Medici, A., Andreotti, E., Fantin, C., Muzzoli, M. and Dehesa, M. 2003. Chemical composition and biological activities of *Isphingo* essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (lam) kosterm. (lauraceae) ultraviolet irradiation on quality of strawberry fruit of *Selva* cultivar. *Plant Products*. 36: 117-127
- [21] Wang, C.Y. 2003. Maintaining postharvest quality of raspberries with natural volatile compounds. *International Journal of Food Science and Technology*. 38:869–875.
- [22] Sogvar, O.B., Koushesh Saba, M., Emamifar, A., and Hallaj, R. 2016. Influence of nano-ZnO on microbial growth, bioactive content and postharvest quality of strawberries during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 35:168–176.
- [23] Atress, Amal SH., El-Mogy, M.M. Aboul-Anean, HE. And Alsanius, BW. 2010. Improving strawberry Fruit Storability by Edible Coating as a Carrier of Thymol or Calcium Chloride. *Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants*. 2(3): 88-97.
- [24] Meighani, H., Boroomand, N., and Moghbeli, E. 2018. Effect of chitosan coating and CaCl₂ on maintaining postharvest quality and antioxidant compound of strawberry fruit. *Journal of Food Science and Technology*. 76(15):307-317.
- [25] Shao, X., Wang, H., Xu, F., Cheng, S. 2013. Effects and possible mechanisms of tea tree oil vapor treatment on the main disease in postharvest strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 77: 94–101.
- [26] Arrebola, A., Sivakumar, D., Bacigalupo, and R., Korsten, L. 2010. Combined application of antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* and essential oils for the control of peach postharvest diseases. *Crop Protection*. 29 : 369–377.
- [27] Sogvar, O.B., Koushesh Saba, M., Emamifar. 2016. Aloe vera and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 114 29–35.
- [28] Cordenunsi, B. R., Genovese, M. I., Nascimento, J. O., Aymoto Hassimotto, N. M., dos Santos, R. J., and Lajolo, F. M. 2005. Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars. *Food Chemistry*. 91: 113 -121.

- [42] Tyagi, A.K, and Malik, A. 2011. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. *Food Control*, 22:1707-1714.
- [43] Brantley. R. C. 2014. Development of Novel Anti-Microbial Plant Essential- Oil treatments to reduce the Postharvest Incidence of *Botrytis cinerea* of Strawberries. Thesis presented to the Faculty of California Polytechnic State University, San Luis Obispo.
- [44] Aguilar-González, A.E., Palou, E. and López-Malo, A. 2015. Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 32: 181-185.
- [45] Serrano, M., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Valverde, J. M., Zapata, P. J., Castillo, S. and Valero, D. 2008. The addition of essential oils to MAP as a tool to maintain the overall quality of fruits. *Trends in Food Science and Technology*, 9, 464-471.
- flower calkes. *Food Chemistry*. 85: 415-421.
- [37] Richter C, Schlegel J. 1993. Mitochondrial Ca²⁺ release induced by prooxidants. *Toxicol Lett* 1993; 67:119-127. Richter C. Mitochondrial calcium transport. *Toxicology Letters*. 67 :119-127.
- [38] Bakkali F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46 : 446–475.
- [39] Mbili, N.C., Opara, U.L., Lennox. C. L. and Vries, FA. 2017. Citrus and lemongrass essential oils inhibit *Botrytis cinerea* on ‘Golden Delicious’, ‘Pink Lady’ and ‘Granny Smith’ apples. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 124:499–511.
- [40] Tassou, C., Koutsoumaris, K, and Nychas, G.J.E. 2000. Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus Aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Research International*. 33: 273-280.
- [41] Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A, and Rasooli, I. 2006. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*. 67: 1249-1255.

The Effect of Active Microbial Packaging on Postharvest Quality of Strawberry Fruit

Amiri, A. ¹, Mortazavi, S. M. H. ², Mahmoodi Sourestani, M. ^{2*}, Kiasat, A. R. ³, Ramezani, Z. ⁴

1. PhD student of Horticultural Science Department, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

2. Associate Professor of Horticultural Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

3. Professor of Chemistry Department, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.

4. Professor of Nanotechnology Research Center, Medicinal Chemistry Department, Faculty of Pharmacy, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran..

(Received: 2018/12/20 Accepted:2018/06/23)

Antimicrobial packaging is one of the most important applications of active packaging. The purpose of this study was to investigate the effect of antimicrobial packaging on the quality of strawberry fruit cv. Camarosa. The experiment was conducted as factorial in a completely randomized design with four types of fruit packaging control with no inoculation and inoculation of fungi, 12 and 24 μ l of essential oil /ml air and the second factor was sampling time (harvest time, 4, 8 and 12 days). During the experiment, traits qualitative and biochemical properties were investigated. The results showed that with increasing storage time in all treatments, decay percentage, weight loss, total anthocyanin, total phenol and flavonoid increased, while the amount of vitamin C and antioxidant capacity decreased. The amount of vitamin C, flavonoids and antioxidant capacity in fruits treated with peppermint essential oil were significantly higher than those of the control group. The microbial populations during the storage period was decreased in the treatment of essential oils. Totally, It seems that The concentration of 24 μ l / ml peppermint essential oil loaded with microselles foam with slow release could reduce the percentage of fruit decay and microbial populations and maintain the qualitative and biochemical properties of strawberry fruit during cold storage. Considering that the essential oil of peppermint is very effective on the growth of *Botrytis cinerea* due to the presence of dominant components such as menthol and menthol at relatively low concentrations, so using this essential oil instead of artificial preservatives, It looks like something useful and effective.

Keywords: Essential oil, Packaging, Vitamin C, Antioxidant capacity.

* Corresponding Author E-Mail Address: m.mahmoodi@scu.ac.ir