



اثر بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده و اسانس‌های پرتقال و لیمو بر جمعیت میکروبی و خواص ارگانولپتیکی آلوچه فرآوری شده

نازنین زند^{۱*}، علی کاشانی^۲

۱- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.
۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۲۵

کلمات کلیدی:

بسته‌بندی تحت اتمسفر اصلاح شده،

جمعیت میکروبی،

آلوچه فرآوری شده،

اسانس پرتقال،

اسانس لیمو.

DOI: 10.52547/fsct.18.121.10

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.15.9

* مسئول مکاتبات:

n_zand2008@yahoo.com

در این مطالعه اثر غلظت‌های سه نوع مخلوط گازی (دی‌اکسیدکربن، نیتروژن) و نیز شرایط تحت خلاء و بسته‌بندی بدون تزریق گاز و اسانس‌های پرتقال و لیمو برای افزایش زمان ماندگاری آلوچه فرآوری شده در شرایط محیط (۲۵۰C) در یک پوشش ۴ لایه (۱۳۹ میکرون) مورد بررسی قرار گرفت. شاهد با ۴ نوع بسته‌بندی تحت اتمسفر اصلاح شده با ترکیب‌های گازی که شامل (۱) ۸۰ درصد CO_2 + ۲۰ درصد N_2 (۲) ۲۰ درصد CO_2 + ۸۰ درصد N_2 (۳) ۵۰ درصد CO_2 + ۵۰ درصد N_2 و (۴) تحت خلاء که همراه با تزریق اسانس‌های پرتقال و لیمو و بدون اسانس بودند، مقایسه گردید. آزمون‌های شمارش باکتری‌های هوازی، کپک و مخمر، pH و ارزیابی حسی در دو ماه نگهداری انجام شد. آنالیز نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی توسط نرم‌افزار آماری SPSS ورژن ۲۲ و با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P < 0.05$) انجام گرفت. مدت ماندگاری آلوچه با اسانس پرتقال تحت خلاء و تحت ترکیبات گازی ۸۰ درصد CO_2 ، ۵۰ درصد CO_2 ، ۲۰ درصد CO_2 و شاهد به ترتیب ۶۰، ۶۰، ۴۵، ۴۰ و ۳۰ روز، با اسانس لیمو تحت خلاء و تحت ترکیب گازی ۸۰ درصد CO_2 ، ۵۵، ۵۵، ۵۰ روز و تحت ترکیبات گازی ۵۰ درصد CO_2 ، ۲۰ درصد CO_2 و شاهد ۴۰، ۳۰، ۲۰ روز. در نمونه بدون تزریق اسانس تحت خلاء و تحت ترکیبات گازی ۸۰ درصد CO_2 ، ۵۰ درصد CO_2 ، ۲۰ درصد CO_2 و شاهد به ترتیب ۳۰، ۴۵، ۴۵ و ۱۵ روز گزارش شد. بهترین شرایط نگهداری متعلق به نمونه‌های حاوی اسانس پرتقال تحت شرایط خلاء و ۸۰ درصد CO_2 بود که تا ۶۰ روز عمر ماندگاری آلوچه را افزایش داد و تأثیر مطلوبی نیز بر میزان pH و نیز بر خواص حسی نمونه‌ها گذاشت که به دلیل خاصیت ضد میکروبی بالای این دو فاکتور ارزیابی شد.

۱- مقدمه

با توجه به محدودیت قابلیت نگهداری میوه‌های تازه و اهمیت حفظ کیفیت آن تا هنگام مصرف، محققین به دنبال روش‌هایی هستند که ضمن افزایش زمان ماندگاری، بتوانند با حفظ کیفیت مطلوب خوراکی، آن‌ها را به دست مصرف کننده برسانند. آلوچه فراوری شده فراورده ای است که از آلو خشک شده یا تازه، آلبالو، زردآلو، آلو زرد، سیب، زغال اخته و غیره تهیه می شود که پس از جداسازی، شستشو، فرآیند پخت و افزودن مواد افزودنی مجاز شامل نمک، شکر و اسیدسیتریک، به صورت بسته‌دار یا بدون بسته بندی و عرضه می گردد. فرآیند تولید آلوچه فراوری شده مشابه لواشک است. تولید آلوچه‌های فراوری شده، در مراحل خرد و صاف کردن متفاوت و فاقد مرحله خشک کردن بوده و در تجهیزاتی نظیر پهن کننده، سرد کننده، روکش کننده و برش زن خودکار عمل می کنند. آلوچه در مقایسه با لواشک میزان رطوبت بیشتری دارد و امکان رشد میکروبی در آلوچه فراوری شده در مقایسه با لواشک، با توجه به درصد رطوبت بالاتر آن بیشتر است [۱]. تهیه آلوچه و لواشک از زمانی شروع شد که مردم با استفاده از یک آسیاب سنگی تو خالی، میوه‌ها را له کرده و آن را در مقابل آفتاب، خشک و برای زمستان نگهداری می کردند. سال‌ها بعد استفاده از پالپ یا گوشت میوه‌ها به جای میوه کامل رایج شد. در این روش گوشت میوه را به صورت کاملاً نرم در آورده، در برابر آفتاب پهن می کردند تا رطوبت خود را ازدست داده و به شکل ورقه نازکی از میوه خشک شده در آید. با توجه به فراوانی میوه در کشور به ویژه در فصول خاص، تولید آلوچه و لواشک به عنوان یکی از تنقلات مغذی در ایران از دیرباز رواج داشته است. بسیاری از خواص میوه‌ها مانند فیبر و رنگدانه‌های آنتی اکسیدانی در آلوچه و لواشک میوه‌ها هم وجود دارد، املاح میوه‌هایی که به صورت لواشک یا آلوچه در می آید، با جوشاندن، تغلیظ و خشک کردن، افزایش می‌یابد. بسته بندی مانعی در برابر تماس فراورده غذایی با محیط است، به علاوه ورود نور، انتقال حرارت، رطوبت و گاز و تماس میکروب‌ها یا حشرات را کنترل می کند. بسته بندی لواشک و آلوچه فراوری شده به عنوان یک روش نگهداری باید به گونه ای باشد که فراورده را در برابر رطوبت، آفت‌ها، عوامل فساد و سایر تغییرات فیزیکی و شیمیایی نگهداری نموده و ویژگی‌های فراورده را حفظ کند [۲]. نقش اصلی نمک در

بهبود طعم و ویژگی‌های رئولوژیکی آلوچه فراوری شده بوده، ضمن آن که از رشد باکتری‌های ناخواسته نیز تا حدی جلوگیری می‌کند و به عنوان نگهدارنده کاربرد دارد، معمولاً مقدار افزودن نمک کلرید سدیم بین ۲ تا ۳ درصد وزن آلوچه فراوری شده می باشد. این میزان نمک در لواشک‌های صنعتی، با توجه به این که مصرف مواد غذایی با درصد نمک بالا می‌تواند در آینده منجر به بروز بیماری‌های کلیوی و قلبی - عروقی و فشار خون بالا شود، استفاده از این فراورده مغذی را برای برخی افراد محدود کرده است. از دیگر ضررهای میوه‌هایی که به لواشک تبدیل می‌شوند، اسیدیته بالای آنها است که به دلیل وجود اسید سیتریک در فرمولاسیون اولیه ایجاد شده است و باعث فرسایش سطح مینای دندان در دراز مدت می‌گردد به علاوه، برخی از افراد، مشکل افزایش ترشح اسید معده دارند که با مصرف نوع صنعتی، این مشکل در آنها شدت پیدا می‌کند. استفاده از پوشش‌های مناسب و غیرقابل نفوذ و نیز روش‌های نوین در نگهداری می تواند کمک مؤثری در حفظ کیفیت این محصول و عدم نیاز به استفاده از نمک اضافی و جوهر لیمو را فراهم کند [۲، ۱]. یانگ^۱ (۲۰۰۱) اثر گیاهان معطر در نگهداری و پیشگیری از فساد مواد غذایی از دوران باستان برای انسان به خوبی شناخته شده بود. اخیراً متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی مانند اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی از نظر اثرات ضد میکروبی مورد توجه خاصی قرار گرفته است [۳]. اسانس پرتقال به دلیل رایحه خوش و دلپذیر، در صنایع غذایی به طور گسترده در تولید کیک، کلوچه، نوشیدنی‌ها، بستنی، ژله، شربت و بسیاری از خوراکی‌های دیگر مورد استفاده قرار می‌گیرد. اسانس لیمو نیز فقط از مواد طبیعی گیاهی ساخته شده است و برای طعم دادن به خامه یا اسفنج کیک و همچنین پخت و پز عمومی، دسر‌ها و موارد دیگر بسیار مناسب است. اسانس‌های لیمو و پرتقال یک طعم دهنده طبیعی می‌باشند که یک محلول پایدار در برابر حرارت حین پخت ایجاد می‌کند. این دو اسانس فاقد الکل بوده و یک حلال مناسب به شمار آمده و به راحتی در بافت ماده غذایی نفوذ می‌کنند. همچنین به بهبود مشکلات گوارشی و افزایش اشتها کمک کرده و با ایجاد خاصیت نشاط آور، با افسردگی و استرس نیز مقابله می‌کند. از خواص آرامبخش این دو ترکیب سیتراتی می‌توان برای رفع اختلالات

خواب و از بین بردن اسپاسم‌های عضلانی ناشی از تنش اشاره نمود. همچنین با تنظیم pH از فعالیت باکتری‌ها در بدن جلوگیری می‌کند [۴]. چارلز و همکاران^۱ (۲۰۰۶) بسته‌بندی یک عامل مهم یا یک استراتژی است که برای ارتقاء کیفیت محصول، محافظت و جلوگیری از خطر فساد درونی و بیرونی و اکسایشی آن به کار می‌رود. اساسی‌ترین هدف بسته‌بندی فراهم کردن ساده‌ترین و اقتصادی‌ترین طریقه تحویل کالا از نقطه تولید به مصرف‌کننده است. بنابراین بسته‌بندی به عنوان یک عامل قوی و مؤثر در مسیر طولانی تولید، توزیع و بازاریابی عمل می‌کند، به طوری که از بسته‌بندی جذاب و نفیس می‌تواند به عنوان یک مزیت رقابتی در بازارهای داخلی و خارجی استفاده نمود [۵]. مک‌میلین^۲ (۲۰۲۰) انتخاب پوشش‌های پلیمری جدید، تجهیزات تزریق گاز و مخلوط کردن دی‌اکسید کربن، نیتروژن و اکسیژن در سیستم‌های اصلاح اتمسفر برای غذاهای گوشتی، میوه‌ها و سبزیجات، محصولات نانوائی، محصولات لبنی، غذاهای نیمه آماده، نوشیدنی‌ها، غذاهای نیمه مرطوب، و غذاهای خشک در سال‌های اخیر رایج شده است و با توجه به ویژگی‌های ماده غذایی در بسته‌بندی تعیین می‌گردد. ایمنی میکروبی مواد غذایی در این تکنیک وابسته به جمعیت انواع میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا موجود در بسته است. بنابراین، نگرانی برای خطر رشد میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی و تولید سم در دماهای بالا و نیز بیماری‌های ناشی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا هوازی موجود در غذاهای یخچالی با pHهای مختلف وجود دارد. سیستم‌های بسته‌بندی فعال و ترکیب آن با عوامل آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی طبیعی این مهم را در طول فرایند نگهداری فراهم می‌سازد [۶]. کری و همکاران^۳ (۲۰۰۶) کارخانجات صنایع غذایی با استفاده از تکنولوژی‌های نوین به دنبال کسب موفقیت در صادرات، همگام با بازار جهانی می‌باشند. این تکنولوژی علاوه بر کنترل بار میکروبی با حفظ خواص ارگانولپتیکی، در طی حمل و نقل و بازاریابی نسبت به روش انجماد و کنسرو کردن ارجح است [۷]. در روش MAP^۴ یا بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده، عمل اصلاح ترکیب فضای داخلی یک بسته به منظور بهبود عمر مفید ماده غذایی مورد

نظر می‌باشد. کشور انگلستان اولین کشوری بود که از سیستم اتمسفر اصلاح شده برای افزایش ماندگاری گوشت خوک و ماهی استفاده کرد. این روش به تدریج در سایر کشورهای دیگر گسترش یافت و امروزه بیشتر در مورد میوه و سبزیجات تازه به کار می‌رود. در اغلب کشورها از سیستم وکیوم (خروج هوا) در بسته‌بندی‌ها استفاده می‌شود اما در چند سال اخیر با پیشرفت در روش‌های بسته‌بندی نوین و مطابق استانداردهای جهانی استفاده از بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده در حال گسترش است [۸]. بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده، به معنی جایگزین کردن هوای موجود در بسته با مخلوطی از گازهای متفاوت و به طور معمول مخلوطی از دی‌اکسید کربن، نیتروژن و اکسیژن است. در بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده فضای خالی درون بسته‌بندی ابتدا خلا می‌شود و سپس ترکیب گازهای مورد نظر، تحت فشار جایگزین این فضا می‌گردد و بدین ترتیب فعالیت‌های آنزیمی و میکروبی محصول کنترل می‌گردد. این بسته‌بندی به ظاهر روش بسیار ساده‌ای است اما خالی کردن هوای داخل بسته و جایگزین کردن آن با ترکیبی از گازها در عمل پیچیدگی‌های تکنیکی زیادی هم دارد بر اساس تحقیقات، خروج اکسیژن از محیط برای حفظ و نگهداری ماده غذایی کافی نیست و تعیین نسبت گازها و نگهداشتن این اتمسفر درون بسته‌بندی و اطراف ماده غذایی دشواری و در برخی موارد غیر ممکن است. در مورد یک بسته‌بندی پیش‌بینی تغییرات آتی و در واقع قابل پیش‌بینی بودن این تغییرات تأثیر بسیار زیادی در تخمین عمر ماندگاری دارد در این روش نگهداری مواد غذایی دارای دو نکته بسیار مهم یکی درجه حرارت و دیگری خود فرآیند اتمسفر اصلاح شده می‌باشد [۹]. پژوهشی‌هایی بر روی گوجه گیلاسی و پنیر لیقوان در مدت چند هفته، گوشت تازه شتر مرغ و بلدرچین در مدت دو هفته و نیز ماهی سفید دودی و کشک خشک در زمان دو ماه تحت بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده و لفاف‌های غیر قابل نفوذ به بخار آب و اکسیژن، در راستای کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها و کنترل تغییرات pH و بهبود خواص حسی که در سال‌های قبل انجام شده است، با توجه به مشابهت تیمارهای گازی و نوع لفاف بسته‌بندی راهنمای انجام این تحقیق بوده است. هدف از این تحقیق نیز تعیین اثر بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده در یک پوشش ۴ لایه (۱۳۹ میکرون) انعطاف‌پذیر همراه با به کارگیری اسانس پرتقال و

1. Charles

2. McMillin

3. Kerry

4. Modified Atmosphere Packaging

۲۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا غلیظ گردد.

بسته بندی نمونه‌ها: کلیه نمونه‌های آلوجه با وزن ۵۰ گرم به آزمایشگاه بیوفیزیک گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران منتقل، پس از کنترل دما، نمونه‌ها آماده‌ی بسته بندی گردید و درون یک نوع پوشش ۴ لایه، پس از تزریق اسانس پرتقال و اسانس لیمو با سرنگ استریل به میزان ۰/۳ درصد وزنی نمونه (W_E/W_S)، قرار داده شد و برای تزریق گاز و دوخت بسته به دستگاه بسته‌بندی منتقل گردید. سپس با دستگاه بسته بندی اتمسفر اصلاح شده (HENKELMAN، مدل A200، ساخت کشور آلمان) توسط ۵ نوع گاز، G_1 (۸۰ درصد دی‌اکسیدکربن + ۲۰ درصد نیتروژن)، G_2 (۲۰ درصد دی‌اکسیدکربن + ۸۰ درصد نیتروژن)، G_3 (۵۰ درصد دی‌اکسیدکربن + ۵۰ درصد نیتروژن) و G_4 (خلأ) و G_5 بسته بندی شاهد (بدون تزریق گاز)، پس از تخلیه هوا، به همراه تزریق اسانس در ۳ سطح E_1 (اسانس لیمو)، E_2 (اسانس پرتقال) و E_3 (بدون اسانس) در لفاف ۴ لایه با ضخامت ۱۳۹ میکرون (حاوی لایه‌های مختلف پلی استر، آلومینیم، پلی پروپیلن جهت داده شده و پلی اتیلن با دانسیته کم) بسته‌بندی گردیدند و بلافاصله به آزمایشگاه محل نگهداری در آزمایشگاه میکروبی و کنترل کیفی شرکت پلاستیک ماشین الوان انتقال یافت و در دمای محیط ($T = 25 \pm 0.5^\circ C$) نگهداری گردید و در مدت زمان ۶۰ Z₁-Z₅ طی روزهای پانزدهم، سی ام، چهل و پنجم و شصتم، نمونه‌ها از محل خارج شده است و به آزمایشگاه جهت انجام آزمون‌های میکروبی و شیمیایی وحسی مربوطه انتقال داده شدند. خصوصیات پوشش بسته بندی مورد استفاده در پژوهش مطابق با نتایج تحقیق محققان به شرح جدول ۱ ذکر شده است [۱۰، ۱۱].

اسانس لیمو بر رشد باکتری‌های هوازی بیماری زا، کپک و مخمر، تغییرات pH و خواص حسی (رنگ، بو، مزه، ظاهر و بافت) طی ۶۰ روز نگهداری آلوجه فرآوری شده، بدون استفاده از نمک بالا و اسید سیتریک به شکل مطلوب برای مدت طولانی‌تر، این ماده غذایی مغذی پر مصرف با بار آلودگی بالا می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی و تولید و بسته بندی آلوجه

مواد اولیه: برای اجرای این تحقیق، ۱۰ کیلوگرم آلوجه فرآوری شده در شرایط کاملاً بهداشتی با فرمولاسیون مشخص (۵۰ درصد برگه زردآلو، ۳۵ درصد خرما و ۱۵ درصد پوره سیب، بدون اسید سیتریک) تولید شده در کارخانه باغلار واقع در شهر تهران تهیه شد. محیط‌های کشت مورد نیاز (PCA، DG 18، E.E. Broth) از شرکت کیوبلنت (کانادا)، لفاف‌های بسته‌بندی از شرکت پلاستیک ماشین الوان (ایران) و سایر مواد شیمیایی از شرکت مرک (آلمان) و اسانس‌ها از شرکت‌های بل و دهلر (آلمان)، تهیه گردید.

تولید نمونه‌ها: ۱) شست و شوی میوه‌ها، که شامل شست و شوی اولیه و علف گیری و شست و شوی ثانویه بود و برای دست یابی به یک فرآیند مطلوب میوه‌ها در آب خیس‌انده شده تا چسبندگی مواد خارجی کمتر شود و جدا شدن آنها در مراحل شستشو آسان تر گردد، ۲) خرد کردن، توسط دستگاه خرد کننده پالپ میوه تهیه شد، ۳) پیش گرم کردن، در این مرحله میوه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد حرارت دیده تا آماده ورود به مرحله بعد گردند، ۵) صاف کردن، در این مرحله توسط فرآیند الک کردن، تفاله از پالپ‌ها جدا گردید، ۶) تغلیظ پوره میوه‌های صاف شده، پوره به مدت

Table 1 Analytical characteristics of container (4-layer) used in this research

Samples	Layers	Thickness (μ)	Tensile of sealing film (N)	Oxygen transmission rate (ml/m ² .day)	Water vapor transmission rate (g/m ² .day)
PET/AL/OPP/LLD	12/7/20/100	139	60.15	0	0.139

PET: Poly Ethylene Terephthalate; OPP: Oriented Poly Propylene; LLD: Low Density Poly Ethylene; AL: Aluminum

میکروارگانیزم‌ها DG18^۲ محیط کشت عمومی برای شمارش کلی کپک‌ها و مخمرها^۳ E.E.Broth محیط کشت

۲-۲- آزمون های میکروبی

PCA^۱ محیط کشت عمومی برای شمارش کلی

2. Dichloran18%Glycerol

3. Entrobacteriaceae Enrichment Broth

1. Plate Count Agar

شده روش حواس پنج گانه (هدونیک ۵ نقطه‌ای) استفاده گردید. ملاک عمل، نظر و تمایل شخصی افراد به صورت تصادفی نسبت به مصرف محصول بود. ارزیابی در روزهای ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ برای هر ۱۵ نوع بسته بندی که بر اساس ویژگی های ارگانولپتیکی (ظاهر، رنگ، بافت، مزه و بو) و با استفاده از یک رتبه‌بندی به صورت ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ به ترتیب برای بسیار خوب، خوب، متوسط، بد، بسیار بد انجام گردید [۱۴].

داوران حسی امتیاز مشخصی را نسبت به حداکثر امتیازی که در فرم های ارزشیابی ارائه شده مشخص شده بود، را برای نمونه‌های آلوچه تعیین کردند. در این رابطه از ۱۰ نفر اعضای پانل آموزش دیده کمک گرفته شد [۱۵]. ارزیابی حسی تحت شرایط مشابه نور و دمایی انجام گرفت، که این شرایط طی همه دوره آزمایشات ثابت بودند. امتیازدهی با مقیاس ۱ تا ۵ (۱ بهترین امتیاز و ۵ بدترین امتیاز) در این روش در محدوده تغییرات، صرفاً تا زمان خروج آلوچه از حالت بو و طعم طبیعی (بعنوان فساد درجه اول) و یا رسیدن به بوی غیرقابل قبول فساد (بعنوان فساد درجه دوم) مبنای ارزیابی قرار داده شد [۱۶].

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش آزمایش به صورت ۳ فاکتوریل و مستقل بود که فاکتور E (اثر نوع اسانس) در ۳ سطح E₁ تا E₃ و فاکتور G (گاز مورد استفاده برای بسته‌بندی) در ۵ سطح G₁ تا G₅، فاکتور Z (زمان نگهداری) در ۴ سطح ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز بر جمعیت میکروبی، pH و خواص حسی آلوچه در مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار طراحی شد. داده‌ها پس از جمع آوری، مرتب شده و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- شمارش کلی باکتری‌های هوازی

نتایج شمارش کلی باکتری‌های هوازی نمونه‌های آلوچه بسته‌بندی شده در پوشش ۴ لایه تحت شرایط مختلف اتمسفر اصلاح شده و نیز اسانس‌های پرتقال و لیمو در جدول ۲ نشان

اختصاصی برای غنی سازی باکتری‌های هوازی قبل از انتقال به محیط کشت PCA

۲-۲-۱- شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل در

محیط کشت PCA و E.E.B

برای این منظور، ۱ گرم نمونه در زیر هود لامینار در آزمایشگاه وزن شده و در ۱۰ سی سی محلول رینگر حل و سپس به محیط کشت غنی کننده E.E. Broth ۱۰ سی سی اضافه گردید و به مدت سه روز در انکوباسیون ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. به روش CFU یک سری ۶ تایی لوله حاوی آب مقطر استریل با افزودن ۱ سی سی از نمونه به لوله شماره ۱ سریال رقت تهیه و به روش پور پلیت در محیط کشت PCA کشت داده شد و به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد جهت شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی انکوبه گردید. ازدستگاه کلنی کانتر جهت شمارش تعداد میکروارگانیسم‌ها استفاده شده است [۱۲].

۲-۲-۲- شمارش کلی کپک و مخمر

برای این منظور، ۱ گرم نمونه در زیر هود لامینار در آزمایشگاه وزن شده و در ۱۰ سی سی محلول رینگر حل و سپس به روش CFU یک سری ۶ تایی لوله حاوی آب مقطر استریل با افزودن ۱ سی سی از نمونه به لوله شماره ۱ سریال رقت تهیه و در محیط کشت DG 18 به روش پور پلیت دو لایه در جار بی هوازی کشت داده شد. بعد در آون خلاء ۳۷ درجه سانتی گراد و با خلاء به مدت ۷۲ ساعت جهت شمارش کپک و مخمر نگهداری گردید. ازدستگاه کلنی کانتر جهت شمارش تعداد میکروارگانیسم‌ها استفاده شده است [۱۲].

۲-۳- اندازه‌گیری pH

دستگاه pH متر (ساخت شرکت طب آزما ایران) برای اندازه‌گیری pH در مواد اسیدی و (OH-) در مواد قلیایی (دقت دو رقم اعشار) بکار گرفته شد. در روش اندازه‌گیری pH، دستگاه pH متر ابتدا با محلول‌های تامپون ۴ و ۷ تنظیم شد. مقدار ۱۰ گرم نمونه (آلوچه) را در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و سپس بوسیله الکتروود دستگاه که از قبل کالیبره شده مقدار pH روئیت و ثبت گردید [۱۳].

۲-۴- ارزیابی حسی (ظاهر، بافت، مزه، بو، رنگ)

به منظور ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های آلوچه فرآوری

داده شده است. با توجه نتایج در طی مدت زمان نگهداری، روند رشد باکتری‌های هوازی برای کلیه تیمارها افزایشی بوده و افزایش معنی دار در شمارش کلی باکتری‌های هوازی در روزهای پانزدهم، سی ام، چهل و پنجم وجود داشت که در روز شصتم افزایش معنی دار با میزان بالاتری حاصل گردید ($p \leq 0.05$). مطابق با جدول مقایسه میانگین شمارش کلی باکتری‌های هوازی و بررسی داده‌ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن مشخص گردید که در روز ۶۰ ام نگهداری بیشترین تعداد شمارش باکتری‌های هوازی ($5/28 \log cfu/ml$) متعلق به تیمار E_3G_5 بسته بندی بدون تزریق گاز و اسانس بود. کمترین تعداد شمارش باکتری‌های هوازی مربوط به تیمارهای E_2G_1 و E_2G_4 ($\log cfu/ml$) $2/87$ الی $2/90$) با بسته بندی تحت شرایط ۸۰ درصد گاز CO_2 و ۲۰ درصد گاز N_2 و نیز خلا همراه با اسانس پرتقال در روز ۱۵ ام نگهداری به خود اختصاص داده است. با توجه به نتایج تجزیه واریانس شمارش کلی باکتری‌های هوازی (جدول ۶) نتایج آزمایشات نشان دادند که نوع اسانس‌ها، شرایط بسته بندی و زمان نگهداری تفاوت کاملاً معنی داری بر شمارش کلی باکتری‌های هوازی آلوچه بسته بندی شده داشتند ($p < 0.01$). کلیه اثرات متقابل دو جانبه و نیز اثر متقابل سه جانبه (نوع اسانس × شرایط بسته بندی × زمان نگهداری) تاثیر معنی داری بر شمارش کلی باکتری‌های هوازی آلوچه بسته بندی شده نداشتند ($p > 0.05$). همانطور که اشاره شد، تیمار E_3G_5 بیشترین و تیمارهای E_2G_1 و E_2G_4 کمترین شمارش را داشتند. علت آن خاصیت ضد میکروبی اسانس حاوی سیترات در ماده غذایی فرآوری شده با pH پایین و نیز آب آزاد کمتر نمونه نسبت به محصولات تازه است که در نمونه خلا هم سطح با خاصیت ضد میکروبی گاز دی‌اکسیدکربن در درصدهای بالای این گاز عمل کرده است. اثر زمان‌های مختلف بر روی تعداد باکتری‌های هوازی نشان داد که روز شصتم بیشترین و روز پانزدهم کمترین شمارش

را دارا بود که علت فرصت باکتری جهت رشد و تکثیر تا روز شصتم است. این دو فاکتور از تکثیر باکتری در فاز لگاریتمی جلوگیری کرده اند و فاز لگاریتمی را به شدت در کلیه نمونه‌های حاوی ترکیب گازی و اسانس نسبت به شاهد به تاخیر انداخته است و رشد باکتری‌ها را محدوده استاندارد قرار داده است.

تیلور^۱ (۲۰۰۸)، در یک پژوهش نشان داده شد که عمر نگهداری گوشت بره و خوک در غلظت ۱۰۰ درصد CO_2 و دمای ۷-۴ درجه سانتی‌گراد دو برابر گوشت‌هایی بود که در بسته بندی معمولی در همان درجه حرارت نگه داشته شده بود که با نتایج این تحقیق مشابهت داشت [۱۷]. بینگول و همکاران^۲ (۲۰۱۱)، در بررسی که بر روی گوشت تازه شتر مرغ تحت اتمسفر اصلاح شده، با غلظت CO_2 بالای ۶۰ درصد در راستای کنترل جمعیت میکروبی انجام دادند به نتایج مشابهی با تحقیق اخیر از نظر کنترل باکتری‌های هوازی دست یافتند [۱۸]. ذولفقاری و همکاران (۱۳۹۰)، خاطر نشان کردند که استفاده از خلا برای افزایش ماندگاری ماده غذایی نمک سود شده به همراه پوششی که دارای نفوذپذیری کمتری به گازها باشد می‌تواند از طریق ممانعت در رشد و تکثیر باکتری‌های گرم منفی سودوموناس و دیگر سایکروتروف‌های گرم منفی موجب افزایش قابل توجهی در ماندگاری این غذاها گردد [۱۹]. ستوده و همکاران (۲۰۱۳) در خصوص اثر بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده با درصد بالای دی اکسید کربن و پوشش‌های پلیمری چند لایه در افزایش زمان ماندگاری خوراک مرغ بدون گزارش نمودند که مدت سه هفته ماندگاری خوراک مرغ بدون تغییر در خواص حسی افزایش یافت و با توجه به مشابهت تیمارهای گازی و نوع لفاف بسته‌بندی با نتایج این تحقیق از نظر روند شمارش باکتری‌های هوازی مطابقت داشت [۲۰]. مول و همکاران^۳ (۲۰۱۴) گزارش دادند،

1. Taylor
2. Bingol
3. Mol

بر روی کنترل رشد باکتری‌های پاتوژن هوازی ماهی سفید دودی (ماهی فراوری شده) نشان داد، بعد از مدت زمان ۶۰ روز با استفاده از لفاف‌های چندلایه و تحت اتمسفر اصلاح شده ۳۰ درصد N_2 و ۷۰ درصد CO_2 این باکتری‌ها نسبت به نمونه شاهد رشد معنی دار لگاریتمی کمتری داشتند [۲۲].

اثرات بسته بندی نوعی سوشی فراوری شده تحت شرایط ترکیب گازی با غلظت بالای دی اکسید کربن در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نسبت به نمونه‌های شاهد به گونه ای است که تعداد باکتری مزوفیل و سایکروفیل هوازی در نمونه‌های حاوی گاز کاهش معنی داری داشتند و حداقل یک لگاریتم تفاوت در شمارش باکتری‌های هوازی مشاهده گردید [۲۱]. نتایج پژوهش

Table 2 Results of total aerobic bacteria count ($\log cfu g^{-1}$) of processed prunes packed in flexible multilayer film under modified atmospheres and orange and lemon essential oils

Treatment	Day 15	Day 30	Day 45	Day 60
E1G1	3.01±0.02 ^{cd}	3.30±0.01 ^l	3.69±0.00 ^l	4.04±0.00 ^l
E2G1	2.87±0.00 ^d	3.11±0.01 ⁿ	3.64±0.00 ^l	3.90±0.00 ^m
E3G1	3.30±0.01 ^{bc}	3.61±0.00 ^g	4.02±0.01 ^e	4.39±0.00 ^f
E1G2	3.30±0.01 ^{bc}	3.69±0.00 ^f	3.95±0.00 ^f	4.47±0.01 ^e
E2G2	3.08±0.02 ^{cd}	3.44±0.01 ^j	3.69±0.00 ⁱ	4.25±0.00 ^h
E3G2	3.60±0.00 ^{ab}	3.01±0.02 ^b	4.27±0.00 ^b	4.84±0.00 ^b
E1G3	3.17±0.00 ^{cd}	3.60±0.00 ^g	3.90±0.00 ^g	4.34±0.00 ^g
E2G3	2.95±0.00 ^{cd}	3.36±0.00 ^k	3.61±0.05 ^j	4.14±0.00 ^j
E3G3	3.81±0.58 ^a	3.91±0.01 ^c	4.19±0.07 ^c	4.69±0.00 ^c
E1G4	3.04±0.00 ^{cd}	3.47±0.00 ⁱ	3.77±0.01 ^h	4.20±0.01 ⁱ
E2G4	2.90±0.00 ^{cd}	3.15±0.01 ^m	3.70±0.01 ^k	3.95±0.01 ^k
E3G4	3.69±0.58 ^{ab}	3.79±0.00 ^e	4.09±0.00 ^d	4.54±0.00 ^d
E1G5	3.60±0.00 ^{ab}	3.84±0.00 ^d	4.17±0.00 ^c	4.69±0.00 ^c
E2G5	3.30±0.01 ^{bc}	3.58±0.00 ^h	4.01±0.02 ^e	4.54±0.00 ^d
E3G5	3.90±0.00 ^a	4.16±0.00 ^a	4.54±0.01 ^a	5.28±0.00 ^a

Different letters showed a significant difference in each of the four columns ($p \leq 0.05$).

N_2 و نیز خلا همراه با اسانس پرتقال در روز ۱۵ ام نگهداری به خود اختصاص داده است. با توجه به نتایج تجزیه واریانس شمارش کپک و مخمر (جدول ۶) نتایج آزمایشات نشان دادند که نوع اسانس‌ها، شرایط بسته بندی و زمان نگهداری تفاوت کاملاً معنی داری بر شمارش کپک و مخمر هوازی آلوچه بسته بندی شده داشتند ($p < 0.01$). کلیه اثرات متقابل دو جانبه متقابل (نوع اسانس ها × زمان نگهداری)، (شرایط بسته بندی × زمان نگهداری) و (شرایط بسته بندی × نوع اسانس ها) و نیز اثر متقابل سه جانبه (نوع اسانس × شرایط بسته بندی × زمان نگهداری) تاثیر کاملاً معنی داری بر شمارش کپک و مخمر آلوچه بسته بندی شده داشتند ($p < 0.01$). همانطور که اشاره شد، تیمار E_3G_5 بیشترین و تیمارهای E_2G_1 و خلا کمترین مقدار شمارش را داشتند. علت آن تشدید خاصیت ضد میکروبی اسانس پرتقال در pH های اسیدی همراه با خاصیت ضد میکروبی گاز دی‌اکسیدکربن در

۳-۲- شمارش کپک و مخمر

نتایج شمارش تعداد کپک و مخمر نمونه‌های آلوچه بسته‌بندی شده در پوشش ۴ لایه تحت شرایط مختلف اتمسفر اصلاح شده و نیز اسانس‌های پرتقال و لیمو در جدول ۳ نشان داده شده است. با توجه نتایج در طی مدت زمان نگهداری، روند رشد کپک و مخمر برای کلیه تیمارها یکسان و در این مدت در تمامی تیمارها روند افزایشی معنی دار داشت ($p \leq 0.05$). مطابق با جدول مقایسه میانگین شمارش کپک و مخمر و بررسی داده‌ها با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن مشخص گردید که در روز ۶۰ ام نگهداری بیشترین تعداد کپک و مخمر ($4/62 \log cfu/ml$) متعلق به تیمار E_3G_5 بسته بندی بدون تزریق گاز و اسانس بود. کمترین تعداد کپک و مخمر مربوط به تیمارهای E_2G_1 و E_2G_4 ($1/45 \log cfu/ml$ الی $1/39$) با بسته بندی تحت شرایط ۸۰ درصد گاز CO_2 و ۲۰ درصد گاز

درصد‌های بالای گاز CO_2 و فعالیت آبی کمتر در خلا است. اثر زمان‌های مختلف بر روی شمارش کپک و مخمر نشان داد که روز شصت‌ام بیشترین و روز پانزدهم کمترین شمارش را دارا بود که دلیل فرصت رشد و تکثیر میکروارگانیسم تا روز شصت‌ام است. در کلیه نمونه‌های حاوی ترکیب گازی و اسانس تعداد کپک و مخمر در فاز تاخیری در محدوده استاندارد نگه داشته است و این دو فاکتور از رشد میکروارگانیسم در فاز لگاریتمی جلوگیری کرده اند.

محققان طی آزمایشات میکروبی گزارش نمودند، که کپک بر روی محصولات فرآوری شده هم می‌تواند رشد کند اما با استفاده از گاز دی‌اکسید کربن فاز رشد به تأخیر می‌افتد. افزایش میزان گاز دی‌اکسید کربن در بسته‌بندی از رشد سریع کپک‌ها جلوگیری می‌کند که با نتایج این تحقیق در کنترل رشد کپک تحت CO_2 به میزان ۸۰ درصد مشابهت داشت [۲۳]. این^۱ (۱۹۹۷)، در پژوهشی اثر اتمسفرهای متفاوت حاوی گاز دی‌اکسید کربن به نسبت‌های ۱۰۰، ۸۰، ۵۰ همراه ازت و استفاده از نگه دارنده پروپیونات کلسیم به میزان ۰/۲ و ۰/۲۵ درصد، را روی نوعی محصول فرآوری شده با پایه آردی را مورد بررسی قرار داد. با افزایش دی‌اکسید کربن جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک و باکتری‌های مزوفیل هوازی و کپک و مخمر کاهش معنی داری (یک تا دو لگاریتم) نسبت به شاهد (بستگی به شرایط بسته بندی و میزان نگه دارنده) داشته است [۲۴]. سیمسون و همکاران^۲ (۲۰۰۹)، طی تحقیقی تأثیر نوع پوشش بسته بندی و اتمسفر اصلاح شده حاوی گاز دی‌اکسید کربن بالا و ازت کم بدون اکسیژن را بر زمان ماندگاری گروهی از غذاهای فرآوری شده به منظور جلوگیری از فساد میکروبی‌های هوازی و رشد کپک نشان دادند و بیان کردند که در اتمسفر مذکور زمان ماندگاری این مواد غذایی به ۲۰ روز رسیده است درحالی‌که در بسته بندی

معمولی ۷ روز بود. افزایش غلظت CO_2 در هوای داخل بسته زمان ماندگاری این محصولات را ۳ برابر کرده است [۲۵]. احسانی و همکاران در سال ۱۳۹۱، شیوه‌های نوین در نگهداری و بسته‌بندی پنیر فایوردی لات (پنیر ایتالیایی و شبیه پنیر موزارلا) را مورد بررسی قرار دادند. اگرچه پنیر در طی تشکیل دلمه یک تیمار حرارتی دریافت می‌کند، اما آلودگی پس از تولید بواسطه میکروارگانیسم‌ها به علت رطوبت بالا و محتوی چربی بالاتر از ۴۵ درصد، عمر نگهداری محصول را تا چند روز محدود کرده است. لذا توجهات زیادی بر روی روش‌های نگهداری غیر حرارتی جدید بر مبنای استفاده از ترکیبات طبیعی با اثرات ضد میکروبی متمرکز شده که مانع رشد کلی‌فرم‌ها و کپک و مخمر در طی دوره انبار داری شده است که نتایج این پژوهش با تحقیق مذکور در راستای به کار دیگری ترکیبات ضد میکروبی مطابقت داشت [۲۶]. در تحقیقی توسط آروانیتویاننسا و همکاران^۳، (۲۰۱۱)، اثر MAP را در افزایش مدت ماندگاری نوعی فرآورده تخمیری یونانی (تولومپاکی) بررسی کردند و مشخص گردید که نمونه‌ها به تنهایی یا با اضافه شدن شربت عسل به مدت ۱۶ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد تحت ۶۰ درصد CO_2 بدون فساد نگهداری شده اند. شرایط اعمال شده اثر مهارکنندگی بالایی بر رشد مزوفیل‌های هوازی و کپک و مخمر داشت [۲۷]. محققان در پژوهشی (۲۰۱۳)، در بررسی اثر MAP در افزایش مدت ماندگاری خوراک مرغ حاوی ادویه بسته‌بندی شده به این نتیجه رسیدند که رشد لاکتوباسیلوس‌ها در اتمسفر معمولی بعد از ۷ روز و تحت شرایط وکیوم بعد از ۲۶ روز و تحت شرایط اتمسفر اصلاح شده بعد از ۲۸ روز بود. اتمسفر اصلاح شده و خلا همراه ادویه اثر مهارکنندگی قابل توجهی روی رشد میکروب‌ها، خصوصاً بی‌هوازی‌های اختیاری دارد که با نتایج این تحقیق مشابهت داشت [۲۰].

1. Inn
2. Simpson

3. Arvanitoyannis

Table 3 Results of mold and yeast count ($\log \text{cfu g}^{-1}$) of processed prunes packed in flexible multilayer film under modified atmospheres and orange and lemon essential oils

Treatment	Day 15	Day 30	Day 45	Day 60
E1G1	1.69±0.00 ^m	2.17±0.00 ^m	2.30±0.00 ⁿ	2.54±0.00 ⁿ
E2G1	1.39±0.01 ^o	1.87±0.00 ^o	1.99±0.00 ^o	2.39±0.00 ^o
E3G1	1.99±0.00 ⁱ	2.30±0.00 ^l	2.39±0.00 ^l	2.81±0.00 ⁱ
E1G2	2.13±0.00 ^g	2.58±0.00 ^f	2.69±0.00 ^f	2.91±0.00 ^g
E2G2	1.91±0.01 ^j	2.55±0.00 ^h	2.51±0.00 ^j	2.74±0.00 ^j
E3G2	2.43±0.00 ^d	2.85±0.00 ^d	2.91±0.00 ^d	3.21±0.00 ^d
E1G3	2.04±0.00 ^h	2.55±0.00 ^g	2.64±0.00 ^g	2.81±0.00 ^h
E2G3	1.81±0.00 ^l	2.34±0.00 ^j	2.55±0.00 ⁱ	2.69±0.00 ^l
E3G3	2.34±0.00 ^e	2.74±0.00 ^e	2.85±0.00 ^e	3.13±0.00 ^e
E1G4	1.89±0.00 ^k	2.31±0.00 ^k	2.41±0.00 ^k	2.71±0.00 ^k
E2G4	1.45±0.01 ⁿ	1.95±0.00 ⁿ	2.10±0.00 ^m	2.50±0.00 ^m
E3G4	2.19±0.00 ^f	2.41±0.00 ⁱ	2.56±0.00 ^h	3.03±0.00 ^f
E1G5	3.32±0.00 ^b	3.54±0.00 ^b	3.79±0.00 ^b	4.14±0.00 ^b
E2G5	3.14±0.00 ^c	3.24±0.00 ^c	3.54±0.00 ^c	4.02±0.00 ^c
E3G5	3.44±0.00 ^a	3.84±0.00 ^a	4.14±0.00 ^a	4.62±0.00 ^a

Different letters showed a significant difference in each of the four columns ($p \leq 0.05$).

سه جانبه (نوع اسانس × شرایط بسته بندی × زمان نگهداری)

تاثیر معنی داری بر pH آلوجه بسته بندی شده نداشتند ($p > 0.05$). بطور کلی می توان نتیجه گرفت بهترین اثر متقابل دوگانه را در روند تغییرات pH در شرایط ترکیب گازی با دی اکسید کربن بالا حاوی اسانس پرتقال داشته است. علت آن افزایش غلظت CO_2 در حضور این اسانس است که موجب تشدید افزایش تولید اسیدکربنیک حاصل از ترکیب CO_2 با آب موجود در نمونه شده و کاهش pH نمونه ها شده است. استفاده از لفاف چهار لایه به دلیل ضخامت بالا (۱۳۹ میکرون) و خاصیت نفوذ پذیری کم بسته بندی به بخار آب نیز اثرات مطلوبی در کاهش تغییرات pH داشته است و شاهد به دلیل نبود گاز و اسانس بیشترین تغییرات pH را داشت.

در تحقیقی به این نتیجه رسیدند که بسته بندی با لفاف چهار لایه نسبت به سه لایه دارای کمترین تغییرات pH است که با نتایج این تحقیق در کاهش تغییرات pH مطابقت داشت [۱۰-۱۱]. طی تحقیقی از مخلوط دو گاز دی اکسید کربن و نیتروژن جهت افزایش مدت ماندگاری یک غذای دریایی فرآوری شده استفاده کردند. ایشان بیان کردند اثرات بسته بندی با غلظت بالای دی اکسید کربن به گونه ای است که میزان pH در نمونه ها در محدوده ۵/۷ - ۵/۲ در مدت زمان نگهداری ثابت باقی مانده است [۲۱]. در پژوهشی (۲۰۱۶)، اثر بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده و پوشش های چند لایه پلیمری بر روی pH ماهی سفید دودی در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد بررسی شد. آزمون شیمیایی pH نشان داد بهترین شرایط متعلق به ترکیب گازی ۷۰ درصد CO_2 و لفاف ۱۳۱ میکرون بود. غلظت بالاتر CO_2 باعث کنترل این فاکتور و

۳-۳- pH

نتایج pH نمونه های آلوجه بسته بندی شده در پوشش ۴ لایه تحت شرایط مختلف اتمسفر اصلاح شده و نیز اسانس های پرتقال و لیمو در جدول ۴ نشان داده شده است. با توجه نتایج در طی مدت زمان نگهداری، روند تغییرات pH برای تمامی تیمارها روند کاهشی و افزایشی داشت ($p \leq 0.05$). مطابق با جدول مقایسه میانگین تغییرات pH و بررسی داده ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن مشخص گردید که در کلیه تیمارها در روزهای ۱۵ و ۳۰ ام نگهداری تغییر جزئی در مقدار pH وجود داشت و در روز ۴۵ ام نگهداری بیشترین مقدار pH در کلیه تیمارها مشاهده شد و در نهایت در روز ۶۰ ام نگهداری کاهش در مقدار pH مشاهده شد. میانگین پایین ترین میزان pH (۳/۸۷ - ۳/۸۴) مربوط به تیمارهای E_2G_1 و E_2G_4 بسته بندی تحت شرایط اتمسفر ۸۰ درصد گاز دی اکسید کربن و ۲۰ درصد گاز نیتروژن و سپس خلا همراه با اسانس پرتقال و میانگین بالاترین میزان pH (۴/۵۱) متعلق به تیمار E_3G_5 بسته بندی بدون تزریق گاز و اسانس پس از ۶۰ روز نگهداری بود. با توجه به نتایج تجزیه واریانس pH (جدول ۶) نتایج آزمایشات نشان دادند که نوع اسانس ها، شرایط بسته بندی و زمان نگهداری تفاوت کاملاً معنی داری بر pH آلوجه بسته بندی شده داشتند ($p < 0.01$). اثر متقابل دو جانبه (شرایط بسته بندی × زمان نگهداری) نیز تاثیر کاملاً معنی داری بر pH آلوجه بسته بندی شده داشت ($p < 0.01$). اثر متقابل دو جانبه (نوع اسانس × زمان نگهداری) تاثیر معنی داری بر pH آلوجه بسته بندی شده داشت ($p < 0.05$). اثر متقابل دو جانبه (نوع اسانس × شرایط بسته بندی) و نیز اثر

افزایش عمر مفید ماهی سفید دودی در طول دو ماه شده است [۲۸]. در پژوهشی دیگر، اثر اتمسفر اصلاح شده را بر تغییرات pH گوشت تازه شترمرغ در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد مورد مطالعه قرار گرفت. این آزمایش بر روی تیمارهایی تحت شرایط اتمسفر کنترل شده با ترکیبات مختلف گازهای (نیتروژن و دی‌اکسیدکربن) و خلاء، در پوشش‌های پلیمری انجام گردید. با توجه به میزان نفوذپذیری کمتر بخار آب و اکسیژن در پوشش ۴ لایه ۱۳۱ میکرون و همچنین افزایش CO₂ تغییرات pH کمتر شده و گوشت تازه شترمرغ به خوبی در مدت ۱۵ روز حفظ گردید [۲۹].

Table 4 Results of pH of processed prunes packed in flexible multilayer film under modified atmospheres and orange and lemon essential oils

Treatment	Day 15	Day 30	Day 45	Day 60
E1G1	4.02±0.10 ^a	3.96±0.09 ^a	4.17±0.10 ^{bc}	3.90±0.09 ^{fg}
E2G1	4.01±0.10 ^a	3.93±0.09 ^a	4.11±0.10 ^c	3.84±0.11 ^g
E3G1	4.04±0.10 ^a	3.98±0.09 ^a	4.19±0.10 ^{abc}	4.06±0.10 ^{bcd}
E1G2	4.08±0.10 ^a	3.99±0.09 ^a	4.26±0.10 ^{abc}	3.99±0.09 ^{cdefg}
E2G2	4.06±0.10 ^a	3.96±0.09 ^a	4.22±0.10 ^{abc}	3.98±0.09 ^{cdefg}
E3G2	4.10±0.10 ^a	4.02±0.10 ^a	4.30±0.10 ^{abc}	4.12±0.05 ^{bcd}
E1G3	4.07±0.10 ^a	3.98±0.09 ^a	4.17±0.12 ^{abc}	3.97±0.09 ^{cdefg}
E2G3	4.05±0.10 ^a	3.95±0.09 ^a	4.16±0.10 ^{bc}	3.94±0.09 ^{cdefg}
E3G3	4.09±0.10 ^a	4.01±0.10 ^a	4.20±0.13 ^{abc}	4.11±0.10 ^{bcd}
E1G4	4.04±0.10 ^a	3.97±0.09 ^a	4.18±0.10 ^{abc}	3.92±0.09 ^{cdefg}
E2G4	4.02±0.10 ^a	3.94±0.09 ^a	4.15±0.10 ^{bc}	3.89±0.09 ^{fg}
E3G4	4.06±0.10 ^a	4.00±0.09 ^a	4.19±0.12 ^{abc}	4.05±0.13 ^{cdef}
E1G5	4.10±0.10 ^a	4.01±0.09 ^a	4.36±0.11 ^{ab}	4.24±0.10 ^b
E2G5	4.08±0.10 ^a	4.00±0.09 ^a	4.31±0.10 ^{abc}	4.17±0.10 ^{bc}
E3G5	4.12±0.10 ^a	4.06±0.10 ^a	4.39±0.11 ^a	4.51±0.11 ^a

Different letters showed a significant difference in each of the four columns ($p \leq 0.05$)

Table 5 Analytical variances of effect of type of essential oils, packing conditions and storage times on total count of aerobic bacteria, total mold and yeast ($\log \text{cfu g}^{-1}$), and pH of processed prunes packed in flexible multilayer film

Variables	Total aerobic		Mold and Yeast		pH	
	(F)	(P)	(F)	(P)	(F)	(P)
Effect of Essensial Oils(E)	445.028 ^{**}	0.000	35556.847 ^{**}	0.000	11.970 ^{**}	0.000
Effect of Packing Conditions (G)	141.724 ^{**}	0.000	170101.917 ^{**}	0.000	16.820 ^{**}	0.000
Effect of Storage Times(Z)	878.885 ^{**}	0.000	71139.623 ^{**}	0.000	44.177 ^{**}	0.000
Interaction(G×E)	0.800 ^{ns}	0.574	151.840 ^{**}	0.000	0.168 ^{ns}	0.996
Interaction (E×Z)	1.452 ^{ns}	0.201	295.944 ^{**}	0.000	2.471 [*]	0.033
Interaction(G×Z)	1.424 ^{ns}	0.164	542.927 ^{**}	0.000	2.951 ^{**}	0.001
Interaction (E×G×Z)	0.968 ^{ns}	0.513	173.327 ^{**}	0.000	0.129 ^{ns}	1.000

The sign ^{**} represents a significant difference ($p \leq 0.01$).

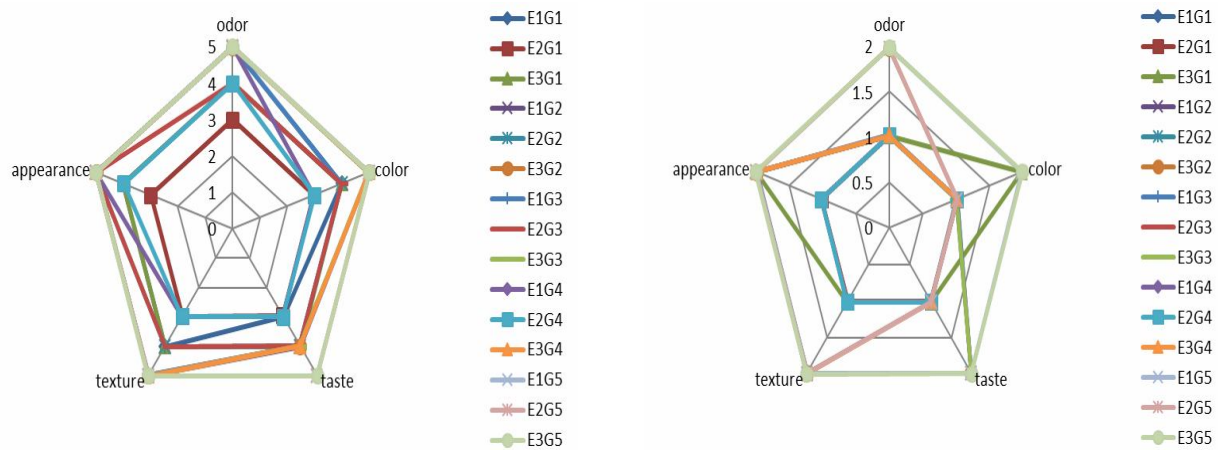
The sign ^{*} represents a significant difference ($0.05 \leq p \leq 0.01$).

The sign ^{ns} represents no significant difference ($p \leq 0.01$).

کمترین و تیمار نمونه بسته بندی شده با اسانس پرتقال بیشترین اثر را روی خواص حسی گذاشتند. از طرفی نتایج اثر متقابل دو جانبه (ترکیب گازی × زمان نگهداری) بر صفات حسی در روزهای پانزدهم، سی ام، چهل و پنجم و شصتم، حالت شاهد (بسته‌بندی بدون تزریق گاز) بیشترین امتیاز ارزیابی حسی و خلا و سپس ترکیبات گاز G1 کمترین امتیاز ارزیابی حسی و بهترین اثر را روی صفات حسی به خود اختصاص داد.

۳-۴- ارزیابی حسی

نتایج مقایسه تیمارهای مختلف نشان داد که در یک نگاه کلی با توجه به نوع اسانس‌ها، شرایط بسته‌بندی و زمان نگهداری در آلوجه بسته بندی شده، اثرات قابل توجهی بر خصوصیات حسی ظاهر، بافت، مزه، بو، رنگ داشته است. با توجه به نتایج تجزیه واریانس خواص حسی (جدول ۷) و نیز شکل ۱، نتایج اثر متقابل دو جانبه (نوع اسانس ها × زمان نگهداری) بر صفات حسی در روزهای پانزدهم، سی ام، چهل و پنجم و شصتم نشان داد که تیمار نمونه بسته بندی شده بدون اسانس



D (day 60)

Fig 1 Results of sensory properties of processed prunes packed in flexible multilayer films under modified atmospheres and orange and lemon essential oils in different storage times
A: 15 day; B: 30day; C: 45day; D: 60day

نتایج اثر متقابل دو جانبه (ترکیب گازی × نوع اسانس ها)، بر حسی نشان داد که نمونه بسته بندی شده بدون اسانس و بدون تزریق گاز کمترین و نمونه بسته بندی شده با اسانس پرتقال به همراه خلا و نیز ترکیب گاز G1 با اختلاف جزئی و همچنین نمونه بسته بندی شده با اسانس لیمو به همراه خلا و نیز ترکیب گاز G1 بیشترین اثر را روی خواص حسی گذاشتند. اسکوگ و اسمیت^۱ (۲۰۰۳)، در بررسی روی بسته بندی سه رقم گیلان با اتمسفر اصلاح شده، آزمایشات نشان داد اتمسفر اصلاح شده حاوی دی اکسید کربن بالا بار میکروبی را کاهش و با حفظ عطر و طعم و بافت و عدم خشکیدگی دم میوه و در نهایت باعث حفظ کیفیت سه رقم گیلان شد که با نتایج خواص حسی این تحقیق مطابقت داشت [۳۰]. سرانو و والرو^۲ (۲۰۰۵)، در تحقیقی از ترکیب اوزنول که یک ترکیب اصلی موجود در اسانس میخک هندی است، برای بهبود مزایای بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده و بررسی اثرات ضد قارچی آن بر روی گیلان های انبار شده استفاده کردند. گیلان ها با حفظ خواص حسی در مدت دو ماه در سردخانه نگهداری شدند که با نتایج این تحقیق مشابهت داشت [۳۱]. در پژوهشی (۲۰۱۶)، اثرات بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده و پوشش های پلیمری چند لایه بر روی خواص حسی ماهی سفید فرآوری شده در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در مدت ۶۰ روز بررسی شد.

1. Skog and Smith

2. Serrano, M and Valero

کردند که بسته‌بندی با لفاف چهار لایه ۱۳۱ میکرون حاوی آلومینیم کمترین تغییرات pH و بهترین خواص ارگانولپتیکی را ایجاد کرده است و این گوشت تا ۱۶ روز با حفظ خواص حسی نگهداری شد [۳۳].

ارزیابی‌های انجام شده نشان داد که اتمسفر حاوی ۷۰ درصد CO₂ نسبت به ۳۰ درصد CO₂ و شاهد باعث بهبود بیشتر خواص ارگانولپتیکی همراه با کاهش رشد میکروبی شده است [۳۲]. در تحقیقی روی گوشت تازه بلدرچین (۲۰۱۸)، به نتایج مشابهی با این تحقیق دست یافتند ایشان خاطر نشان

Table 7 Analytical mean-square (MS) of effect of type of essential oils, packing conditions and storage times on sensory properties of processed prunes packed in flexible multilayer film

Variables	MS				
	Odor	Taste	Color	Appearance	Texture
Effect of Essential Oils (E)	12.097**	7.565**	13.891**	14.363**	13.986**
Effect of Packing Conditions (G)	15.982**	16.064**	8.316**	6.704**	8.347**
Effect of Storage Times (Z)	188.038**	126.886**	148.049**	156.227**	127.653**
Interaction (G×E)	0.367**	0.243**	0.537**	0.416**	0.942**
Interaction (E×Z)	1.240**	0.915**	0.661**	1.789**	1.195**
Interaction (G×Z)	1.951**	1.437**	2.196**	1.249**	0.967**
Interaction (E×G×Z)	0.340**	0.544**	0.966**	0.694**	0.709**

The sign ** represents a significant difference ($p \leq 0.01$).

The sign * represents a significant difference ($0.05 \leq p \leq 0.01$).

The sign ^{ns} represents no significant difference ($p \leq 0.01$).

۴- نتیجه‌گیری کلی

استفاده از بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده همراه اسانس‌های سیتراپی برای کنترل فساد کافی نیست، اما روند فساد آلوده فرآوری شده را به تأخیر انداخته است. در این پژوهش، اثر ترکیب اتمسفر کنترل شده و اسانس در یک نوع پوشش انعطاف پذیر به عنوان یک فاکتورهای اصلی ضد میکروبی بررسی و گزارش شد. میزان تأثیر گاز بستگی به غلظت اولیه و نهایی گاز درون بسته، درجه حرارت نگهداری و جمعیت اولیه میکروبی داشت. دی اکسید کربن مرحله تأخیر و زمان تولید باکتری‌های هوازی و کپک و مخمر را طولانی و همچنین محیط را مقداری اسیدی کرده و این مسئله باعث کاهش جمعیت میکروبی شده است که البته این اثرات در کنار کاربرد اسانس پرتقال و لیمو تشدید گردیده اند. در یک نگاه کلی بسته‌بندی آلوده فرآوری شده در پوشش پلیمری چهار لایه (۱۳۹ میکرون) با قابلیت نفوذپذیری و عبور بخار آب کمتر و همچنین استفاده از اسانس‌های سیتراپی به همراه اتمسفر اصلاح شده برای نگهداری نمونه‌ها در زمان طولانی (دو ماه) بهتر ارزیابی شد. کمترین رشد میکروبی و تغییرات pH و خواص حسی هم مربوط به نمونه‌های بسته‌بندی شده با اسانس پرتقال در خلا و نیز تحت ۸۰ درصد CO₂ و بیشترین تغییر مربوط به نمونه‌های بسته‌بندی شده در شرایط بدون تزریق گاز و بدون اسانس بود.

۵- تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر با حمایت‌های بی دریغ اداره امور آزمایشگاه‌های گروه صنایع غذایی-پردیس کشاورزی دانشگاه تهران و شرکت پلاستیک‌های ماشین الوان و پوشان پلاستیک انجام گرفته است که بدین وسیله از ریاست و کلیه کارشناسان واحدهای مذکور تشکر و قدردانی می‌گردد.

۶- منابع

- [1] Maghsoudi, Sh. 2005. Industrial Method of Production of processed prunes. Marz danesh Publications Tehran. 1st ed. (In Persian)
- [2] Pourmoghimi, M., Sadegh Maki, A. 2005. The 15th National Congress of Food Industry (Qualitative Study of processed prunes of country's production and scientific solutions to improve its quality), Andisheh Publications Tehran, 1st ed. (In Persian)
- [3] Yang, S., Yu, R., Chou, C. 2001. Influence of holding temperature on the growth and survival of *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus* and the production of staphylococcal enterotoxin in egg products. International Journal of Food Microbiology, 63: 99-107.
- [4] Saeedi, A., Asadollah, S., Hashemiravan, M. 2015. Comparison of effect of orange and lemon essential oils on production and shelf-

- attributes. *Journal of Food Chemistry*, 100: 287–296.
- [16] Nielsen, D., Hyldig, G. 2004. Influence of handling procedures and biological factors on the QIM evaluation of whole herring (*Clupea harengus* L.). *Food Research International*, 37:975-983.
- [17] Taylor, A. A. 2008. Packaging fresh meat. In *Developments in Meat Science*, 3rd ed. Lawrie, R. (ed). Elsevier Applied Science publishers, London.
- [18] Bingol, E. Ergun, O. 2011. Effect of modified atmosphere packaging (MAP) on the microbiological quality and shelf life of ostrich meat. *Meat science*, 774-785.
- [19] Zolfaghari, M., Shabanpour, B., Fallahzadeh, S. 2011. The effect of salt and vacuum packaging on the shelf life of rainbow trout fillets during storage at 4 °C, *Journal of Food Science and Technology*, 31,35-44. (In Persian)
- [20] Sotoudeh, B., Zand, N., Tajabadi, M. 2013. The usage of MAP for shelf life extension of packed spicy chicken meal. *Journal of European Experimental Biology*, 3:617-623.
- [21] Mol, S., Uçok Alakavuk, D., Ulusoy, S. 2014. Effects of modified atmosphere packaging on some quality attributes of a ready-to-eat salmon sushi. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 13(2): 394-406.
- [22] Zand, N., Sakian Mohammadi, A. 2016. Influence of MAP and Multi-layer Flexible Pouches on Aerobic Bacteria Count of Smoked Kutum Fish (*Rutilus frisii kutum*). *Journal of International Medical Research & Health Sciences*, 5(11):174-181 b.
- [23] Parry, R.T. 1993. Introduction, In *principles and application of Modified Atmosphere packaging of food*. Blasckie Academic & Professional, Glasgow, pp: 1-1.
- [24] Inn, S.R. 1997. *Modified atmosphere packaging in modern process*. Blackie Academic and Professional, 1st ed:148-150.
- [25] Simpson, R., Acevedo, C., Almonacid, S. 2009. Mass transfer of CO₂ in MAP systems: Advances for non-respiring foods. *Journal of Food Engineering*, 92: 233-239.
- [26] Ehsani, j., Mohsen zadeh, M., khanzadi, S., Jamshidi, A.A. 2012. New methods of storage and packing of Strasciatella cheese. 22nd National Congress on Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. (In Persian).
- life of flavored drinking water. *Iranian journal of Biological Sciences*, 10(4): 49-56
- [5] Charles, F., Sanchez J., Gontard, N. 2006. Absorption kinetics of oxygen and carbon dioxide scavengers as part of active modified atmosphere packaging. *Journal Food Engineering*, 72: 1-7
- [6] McMillin, K. W. 2020. *Modified Atmosphere Packaging*. *Food Safety Engineering (Part of the Food Engineering Series)*, 693-718.
- [7] Kerry, J., Grady, M., Hogan, S. 2006. current and potential utilization of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products. A review. *Meat Science*, 74:113-130.
- [8] Sanhya, M. 2010. Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *Journal of LWT - Food Science and Technology*, 43:381–392.
- [9] Caleb, O.J., Opara, U.L., Witthuhn, C.R. 2012. Modified atmosphere packaging of pomegranate fruit and arils: a review. *Journal of Food and Bioprocess Technology*, 5:15–30.
- [10] Zand, N., Mailova, E. 2010. Combined packaging material flexible packs characteristics dependence on changes of components composition and quantity. *Processing s of Engineering Academy of Armenia*, (7)1:129-132 a. (In Russian)
- [11] Zand, N., Mailova, E. 2010. The strength of the weld seams of flexible packages depending on the sealing mode. *Journal of Agro science*, 1-2: 73-77 b. (In Russian)
- [12] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2005. Characteristics and test methods of Lavashak and other products (processed prunes) - The colony count method (aerobic; mold and yeast colonies counting). *Iranian National Standard No. 7635*. (In Persian)
- [13] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2006. Fruits and their products – measurement method of chemical and microbial properties. *Iranian National Standard No. 4405*. (In Persian)
- [14] Abdelbary, A. 2002. Physical and sensory characteristics of Najdi-camel meat. *Meat science*, 39(1): 59-69.
- [15] Goulas, A.E., Kontominas, M.G. 2007. Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*), *Biochemical and sensory*

- [30] Skog, S and Smith, P. 2003. On-farm Modified atmosphere packaging of sweet cherries. *Acta Horticulture*, 628:415-422.
- [31] Serrano, M and Valero, D, 2005, The use of natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6: 115-123.
- [32] Zand, N., Sakian Mohammadi, A., Eshaghi, M., (2016). Effect of Modified Atmosphere Packaging and Multi-layer Flexible Films on Sensory Evaluation of Smoked Kutum Fish (*Rutilus frisii kutum*). *Der Pharma Chemica*, 8(19): 600-607 .
- [33] Zand, N. Jabbari ,Sh; Effect of Modified Atmosphere Packaging and Multi-layer Flexible Films on pH of Fresh Quail Meat . *Microbiology Research Journal International*, 2017, 20(5): 1-11.
- [27] Arvanitoyannis I., Bosinas, K., Bouletis, A., Gkagtzis, D., Hadjichristodoulou, C., Papaloucas, C. 2011. Study of the effect of atmosphere modification in conjunction with honey on the extent of shelf life of Greek bakery delicacy "touloumpaki". *Anaerobe*, 17 (6): 300-302
- [28] Zand, N., Sakian Mohammadi, A., Eshaghi, M. 2017. Effect of Modified Atmosphere Packaging and Multi-layer Flexible Films on pH of Smoked Kutum Fish (*Rutilus frisii kutum*). *International journal of Aquatic Science*, 5 (11): 191-198
- [29] Zand, N., Hafez pour, A. 2016. Influence of Modified Atmosphere Packaging and Multi-layer Flexible Pouches on pH of Fresh Ostrich Meat. *Journal of Entomology and Applied Science Letters*. 3(5): 169-176.



Effect of Modified Atmosphere Packaging and Orange and Lemon Essential Oils on Microbial Population and Sensory Properties of Processed Prunes

Zand, N. ^{1*}, Kashani, A. ²

1. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 06/ 25

Accepted 2021/ 11/ 16

Keywords:

Modified Atmospheric Packaging,
Microbial Population,
Processed Prunes,
Orange Essential oil,
Lemon Essential oil.

DOI: 10.52547/fst.18.121.20

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.15.9

*Corresponding Author E-Mail:
n_zand2008@yahoo.com

ABSTRACT

In this project, the effect of different concentrations of three types of gas mixtures (carbon dioxide, nitrogen), as well as vacuum condition and ordinary condition as control and also essential oils of orange and lemon were evaluated for extending shelf life of processed prunes at 25 °C in one 4-layer container (139 µ). Non-gas and essential oils injection packaging as control samples, were compared with four types of modified atmosphere packaging 1) 80% CO₂ + 20% N₂; 2) 20% CO₂ + 80% N₂; 3) 50% CO₂ + 50% N₂, and 4) under vacuum condition, combined with injection of orange and lemon essential oils and samples without essential oil. Experiments were performed on samples as follows: microbial test (aerobics count, mold and yeast count) and chemical pH test and organoleptic test in different times 15, 30, 45, 60 (during 2 month). The results were analyzed in a completely randomized design using SPSS statistical software (Ver:22) and Duncan's multiple range test method, with confidence level of 95% (P < 0.05). The shelf life of processed prunes samples were reported with orange essential oil under conditions, vacuum; 80% CO₂; 50% CO₂ & 20% CO₂; 60, 60, 45, 40 days, respectively, and ordinary conditions 30 days, with lemon essential oil under, vacuum conditions 55 days, in gas compositions 80% CO₂; 50% CO₂; 20% CO₂ & control conditions 55, 40, 30, 20 days, without essential oils, under conditions vacuum; 80% CO₂; 50% CO₂; 20% CO₂ & ordinary conditions 45, 45, 30, 25, 15 days, respectively. The best conditions belonged to samples containing orange essential oil under vacuum and 80% CO₂, which were prolonged the shelf life of processed prunes for 60 days, and had desirable effects on amount of pH and also sensory properties, and were evaluated due to high antimicrobial properties of these factors.