



## توسعه مدل سینتیکی عمر ماندگاری برای کاهوی برش خورده تازه رقم رومین، بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده منفذدار

بهاره سالمی<sup>۱</sup>، ناصر صداقت<sup>۲\*</sup>، محمدجواد وریدی<sup>۲</sup>، سید محمود موسوی<sup>۳</sup>، فریده طباطبایی یزدی<sup>۲</sup>

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

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استاد گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد

### اطلاعات مقاله

### چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۹/۲۷

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۴/۰۷

کلمات کلیدی:

مدلسازی سینتیکی،

عمر ماندگاری،

اتمیسفر اصلاح شده،

منفذ،

کاهوی برش خورده رومین.

DOI: 10.29252/fsct.18.06.19

\* مسئول مکاتبات:

sedaghat@um.ac.ir

تنش های ناشی از زخمی شدن بافت کاهوی برش خورده آماده مصرف معمولاً منجر به افزایش سرعت تنفس در آن می شود. عمر ماندگاری این محصول بستگی به مراحل فراوری و بسته بندی، نوع فیلم بسته بندی و شرایط محیطی در طی زمان نگهداری دارد. هدف این پژوهش ارزیابی اثر دما و زمان نگهداری، تیمار پوششی و تعداد منافذ فیلم بسته بندی بر تردی بافت و ارزیابی حسی کاهوی برش خورده و بسته بندی شده در شرایط اتمسفر اصلاح شده و همچنین توسعه مدل سینتیکی عمر انبارمانی این محصول می باشد. به این منظور، ۲۵۰ گرم کاهوی برش خورده شستشو شده و پس از پوشش دهی در دو غلظت متفاوت ۰/۵/۱/۵ و ۰/۱/۱/۵ درصد لاکتات کلسیم و سیستین، در بسته هایی از جنس پلی اتیلن (با ضخامت ۴۲ میکرومتر) و با تعداد منافذ ۰، ۲۰ و ۴۰ در متر مربع با غلظت اولیه ۲۱٪ اکسیژن، ۰٪ دی اکسید کربن بسته بندی شدند. این پژوهش در دو دمای ۵ و ۱۰ درجه سانتی گراد و طی ۱۲ روز انجام گرفت. شاخص های کیفی نظیر تردی بافت و ارزیابی حسی (پذیرش کلی) در طی این مدت مورد ارزیابی قرار گرفت. علاوه بر این، مدلی ریاضی برای توصیف سینتیک تغییرات تردی بافت و ارزیابی حسی نمونه ها توسعه داده شد و نهایتاً زمان ماندگاری نمونه ها بر مبنای پذیرش کلی تخمین زده شد. نتایج نشان داد تغییرات پارامترهای تردی و ارزیابی حسی از معادله سینتیکی درجه صفر تبعیت می کند. نتایج پیش بینی عمر انبارمانی نمونه های کاهوی برش خورده نشان داد نمونه های دارای پوشش حاوی ۱/۵٪ لاکتات کلسیم و ۰/۱٪ سیستین، نگهداری شده در بسته های دارای ۲۰ منفذ در دمای ۵ و ۱۰ درجه سانتی گراد و نمونه های دارای پوشش حاوی ۱/۵٪ لاکتات کلسیم و ۰/۵٪ سیستین، نگهداری شده در بسته های دارای ۲۰ منفذ در دمای ۵ درجه سانتی گراد، به ترتیب عمر ماندگاری معادل ۱۲/۶۲، ۱۲/۵۹ و ۱۱/۵۹ روز را دارند (عدم تفاوت معنی دار در  $p < 0.05$ ).

## ۱- مقدمه

کاهو یکی از سبزی‌های با مصرف بالا و دارای اهمیت اقتصادی در سراسر دنیاست. کاهوی برش خورده بیش از ۸۰٪ کل تولید محصولات تازه را به خود اختصاص داده است [۱]. از آنجاکه کاهو عمدتاً بصورت تازه مصرف می‌شود، از دست رفتن تردی بافت مشکل اصلی در صنعت کاهوی برش خورده محسوب می‌گردد [۲]. فسادپذیری این محصول ناشی از محتوای بالای آب و میزان بالای تنفس و تعریق آن است. لذا این محصول نیاز به مراقبت‌های ویژه جهت حفظ کیفیت و تازگی دارد. بر این اساس، بسته‌بندی تحت اتمسفر اصلاح شده<sup>۱</sup> (MAP) تکنولوژی مطلوبی برای حفظ طراوت و تازگی این محصولات با کنترل غلظت  $O_2$  و  $CO_2$  است [۳]. با این حال، طراحی این سیستم برای میوه‌ها و سبزی‌های تازه کار پیچیده‌ای است که نیاز به درک درستی از تعاملات دینامیکی و پویای ایجاد شده بین محصول، اتمسفر ایجاد شده در بسته و فیلم بسته‌بندی دارد [۴]. بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده برای محصولات غذایی تازه با تنفس بالا، با استفاده از فیلم‌های دارای منافذ میکروسکوپی و یا ماکروسکوپی مزایای بیشتری را نسبت به بسته‌بندی‌های بدون منفذ نشان داده است. این منافذ اجازه می‌دهند تبادلات گازی بیشتری نسبت به فیلم‌های پلیمری معمول (دارای نفوذپذیری بسیار پایین) انجام شود. این فیلم‌ها دارای چند عملکرد بسیار مهم هستند. آن‌ها علاوه بر برقراری جریان همرفت و جلوگیری از انقباض و چروکیدگی بسته با نوسان درجه حرارت، با اعمال نفوذپذیری غیرانتخابی، نسبت انتقال گاز  $CO_2$  به  $O_2$  را تنظیم می‌کنند. در واقع در این فیلم‌ها نسبت نفوذپذیری این گازها برابر یک است در حالیکه این میزان برای فیلم‌های پلیمری بسیار متفاوت و معمولاً ۳-۶ می‌باشد [۵]. از سوی دیگر، از آنجا که ضریب تنفس محصولات تازه بین  $1/3$  تا  $0/7$  نوسان می‌کند، این امر اجازه می‌دهد سطح بالای اکسیژن و سطح پایین دی اکسیدکربن در بسته بدون ایجاد شرایط بی‌هوای برای محصول مورد نظر فراهم شود [۶]. این فاکتورها در مجموع علاقه به استفاده از این فیلم‌ها را توجیه می‌کند. قابل ذکر است، سرعت بالای تنفس در محصولاتی که به میزان کم فرآوری شده‌اند باعث می‌شود محصول نیاز به منافذ بزرگتری برای تبادلات گازی داشته باشد [۷].

دما یکی از مهمترین فاکتورهای محیطی در زمان پس از برداشت محصولات تازه است به نحوی که با کاهش دما سرعت واکنش‌های بیوشیمیایی کاهش یافته و عمر ماندگاری محصول افزایش می‌یابد [۸]. طراحی سیستم MAP با توجه به وابستگی میزان تنفس و تعریق کاهو به دما و همچنین میزان نفوذپذیری فیلم بسته‌بندی بویژه زمانیکه دما ثابت نباشد می‌تواند بسیار چالش برانگیز باشد.

سانچز و همکاران در سال ۲۰۰۰ گزارش کردند که تعداد منافذ بر محتوای نهایی گاز داخل بسته موثر بوده و استفاده از ۴-۲ منفذ با قطر ۱ میلی‌متر و یا ۲-۱ منفذ با قطر ۲ میلی‌متر برای نگهداری ۵۰۰ گرم توت فرنگی به منظور دستیابی به ترکیب گاز توصیه شده مناسب است [۹]. اولیویرا و همکاران در سال ۲۰۱۲ به این نتیجه رسیدند که استفاده از ۲ منفذ با قطر ۰/۳۳ میلی‌متر برای نگهداری ۱۱۰ گرم قارچ برش خورده در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد مناسب است [۱۰]. لوسرا و همکاران (۲۰۱۲a) گزارش کردند فیلم‌های پلیمری منفذدار با کمترین سرعت انتقال  $O_2$  با ۲ سوراخ ۷۰ میکرومتری بهترین غلظت گاز را در فضای بالای بسته (۵٪ اکسیژن و ۱۲٪ دی اکسیدکربن) برای گل کلم ایجاد می‌کند [۱۱].

عمر ماندگاری محصولات تازه به دوره زمانی محدود پس از تولید و بسته‌بندی محصول اطلاق می‌شود که طی آن سطح قابل قبول کیفیت محصول برای مصرف کننده حفظ شده باشد [۱۲]. عمر ماندگاری محصولات غذایی بستگی به ویژگی‌های آن محصول، فرمولاسیون، نوع و روش فرآوری، ویژگی‌های بسته‌بندی و نهایتاً شرایط نگهداری محصول دارد [۱۳]. تغییرات ویژگی‌های کیفی محصولات تازه در طی زمان نگهداری به صورت کمی توسط مدل‌های ریاضی سینتیکی (زمانیکه تحت تاثیر عوامل محیطی نظیر دما قرار می‌گیرند) قابل اندازه‌گیری است. به این منظور شاخص کیفی مورد نظر در طی زمان اندازه‌گیری و تغییرات آن طی زمان بر روی نمودار رسم می‌شود. سپس معادله خط و ضریب همبستگی تعیین می‌گردد. برای محاسبه ماندگاری می‌توان در فرمول خط بدست آمده به جای Y مقدار شاخص کیفی مورد نظر را قرار دهیم و X که مقدار ماندگاری است را محاسبه کنیم. به منظور توضیح اثر دما بر سرعت واکنش، از رابطه آرنیوس استفاده می‌شود [۱۴].

## ۲-۲- پوشش دهی، بسته‌بندی و نمونه برداری

در این مرحله مواد اولیه تهیه شده به ۳ قسمت مساوی تقسیم و قسمت اول و دوم به ترتیب با محلول‌های حاوی ۰/۵/۱/۵ درصد و ۰/۱/۱/۵ درصد لاکتات کلسیم و سیستین (وزنی/حجمی) پوشش داده شدند و قسمت سوم بدون پوشش در نظر گرفته شد. نمونه‌های حاصل در شرایط MAP غیرفعال توسط سه دسته فیلم بسته‌بندی انعطاف پذیر از جنس پلی اتیلن با ابعاد ۲۸×۳۰ سانتی‌متر مربع و ضخامت ۰/۰۲ میلی‌متر، به ترتیب تحت شرایط فیلم، ۱- فاقد منفذ، ۲- منفذدار با تعداد منافذ ۲۰ و قطر منافذ ۰/۲۶ میلی‌متر و ۳- منفذدار با تعداد ۴۰ منفذ و قطر منافذ ۰/۲۶ میلی‌متر با استفاده از دستگاه مپ هنکلمن<sup>۲</sup> (Gustav Muller and Co., Bad Homburg, Germany) با هوای معمولی<sup>۳</sup> بسته‌بندی شد. از دمای ۵ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵٪ برای نگهداری نمونه‌ها به مدت ۱۲ روز استفاده شد. نمونه‌گیری در فواصل زمانی ۴ روز انجام شد و آزمون‌های لازم بر روی آن‌ها انجام گرفت.

## ۲-۳- اندازه‌گیری شاخص تردی بافت

### نمونه‌های کاهو

برای اندازه‌گیری تغییرات بافت نمونه‌های کاهوی برش خورده طی ۱۲ روز نگهداری از آزمون کرامر استفاده شد که با دستگاه آنالیز بافت<sup>۴</sup> (TA/XT/PLUS Stable Micro. Systems Ltd., Godalming, UK) انجام گرفت. به این ترتیب که ابتدا نوارهای کاهو داخل سیلندری مکعبی شکل از جنس فولاد ضد زنگ قرار گرفت. در این روش نیروی فشاری توسط نفوذ کننده (۱۰ تیغه) مجهز به یک سل بارگذار ۳۰ کیلوگرمی بر روی نمونه‌ها قرار داده شد. به نحوی که تیغه‌ها پس از بریدن نمونه‌های داخل سیلندر مکعبی از شیارهای کف سیلندر حاوی نمونه به میزان ۱ سانتی‌متر خارج شوند. سرعت حرکت پروب ۱/۶۷ میلی‌متر بر ثانیه در نظر گرفته شد. پس از انجام آزمون و رسم منحنی نیرو-فاصله، شاخص ضریب تردی (CC) از طریق رابطه (۱) محاسبه شد:

$$CC = \frac{A - B}{A} \quad (\text{رابطه ۱})$$

موهپاترا و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند که دما نقش قابل ملاحظه‌ای در کنترل روند تخریب ویژگی‌های کیفی نظیر رنگ و بافت قارچ دارد. آنها همچنین یک وابستگی خطی میان اندیس قهوه‌ای شدن با دما و یک وابستگی دمایی به کمک رابطه آرنیوس میان دما و زمان نگهداری نمونه‌ها با توجه به تغییرات اندیس سختی بافت قارچ گزارش کردند [۱۵].

به منظور حفظ ویژگی‌های کیفی و افزایش عمر ماندگاری کاهوی برش خورده تازه در طی زمان ذخیره‌سازی، توزیع و مصرف نیاز به طراحی و استفاده از سیستم MAP منفذدار با در نظر گرفتن تاثیر دمای محیط می‌باشد. بنابراین ارزیابی سینتیک تغییرات شاخص‌های کیفی محصول بسته‌بندی شده در فیلم‌های منفذدار همراه با توسعه یک مدل ریاضی جهت پیش‌بینی عمر ماندگاری کاهوی برش خورده تازه ضروری است. مروری بر کارهای انجام شده نشان می‌دهد تاکنون از سیستم MAP منفذدار به منظور نگهداری کاهوی برش خورده استفاده نشده است. همچنین، مدلسازی سینتیکی ویژگی‌های کیفی این محصول انجام نگرفته است و این پژوهش به عنوان اولین گام در جهت پاسخ به این نیاز است. بنابراین هدف از این پژوهش (۱) بررسی تاثیر فیلم بسته‌بندی و همچنین اثر دمای نگهداری بر تردی بافت و ارزیابی حسی (پذیرش کلی) کاهوی برش خورده، (۲) تجزیه و تحلیل سینتیک تغییرات تردی بافت و پذیرش کلی از طریق توسعه مدل‌های سینتیکی مرتبط و نهایتاً (۳) تخمین عمر ماندگاری محصول می‌باشد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- تهیه مواد اولیه

کاهوی پیچ معمولی رقم رومین از یکی از مزارع اطراف شهر مشهد با رعایت اصول علمی نمونه‌گیری آماری تهیه و به آزمایشگاه صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شد. بلافاصله پس از آماده سازی اولیه توسط دستگاه خردکن به شکل نوارهای ۲ سانتی‌متری برش داده شد و پس از شستشو توسط سانتریفیوژ آبیگری شد. لاکتات کلسیم و سیستین از کارخانه شیمیایی ایران<sup>۱</sup> (ICF) تهیه شد.

2. Henkelman  
3. 78.09% Nitrogen, 20.95% Oxygen, 0.93% Argon, 0.03% Carbon dioxide  
4. Texture Analyser

1. Iran chemical factory

که در آن A بالاترین نیروی ثبت شده و B، پایین‌ترین نیروی ثبت شده توسط دستگاه است [۱۱].

## ۲-۴-مدلسازی سینتیکی ویژگی‌های کیفی (تردی بافت و پذیرش کلی) نمونه‌های کاهوی

### برش خورده

سینتیک تغییرات ویژگی‌های کیفی نمونه‌های کاهو از روابط زیر تبعیت می‌کند:

$$Q - Q_0 = -Kt \quad (\text{رابطه ۲}) \quad \text{مدل درجه صفر}$$

$$\ln Q - \ln Q_0 = -Kt \quad (\text{رابطه ۳}) \quad \text{مدل درجه یک}$$

در این رابطه Q برابر با مقدار ویژگی کیفی اندازه‌گیری شده می‌باشد. همچنین  $Q_0$ ، t و K به ترتیب مقدار ویژگی کیفی مورد نظر در روز اول، زمان و ثابت سرعت واکنش است.

به منظور انتخاب مناسب‌ترین مدل توصیف کننده تغییر شاخص پذیرش کلی با زمان از معیارهای ضریب همبستگی و ریشه میانگین مربعات خطا استفاده می‌شود.

قابل ذکر است که ثابت سرعت واکنش وابسته به دما است. از رابطه آرنیوس به منظور تعیین وابستگی دمایی ثابت سرعت واکنش استفاده می‌شود:

$$K = K_{\text{ref}} \exp(-Ea/R_g(1/T - 1/T_{\text{ref}})) \quad (\text{رابطه ۴})$$

که در آن T،  $T_{\text{ref}}$ ،  $K_{\text{ref}}$  و  $Ea$  به ترتیب برابر دما بر حسب کلون، دمای مطلق رفرنس (برابر با ۲۷۳/۱۵ کلون)، ثابت سرعت واکنش در دمای رفرنس، انرژی اکتیواسیون بر حسب کیلوکالری بر مول و ثابت جهانی گازها (برابر با ۱/۹۸ Kcal/mol.K) است [۱۴].

در این پژوهش از نرم افزار اوريجين پرو<sup>۱</sup> ورژن ۷ به منظور رسم و استخراج پارامترهای رگرسیون خطی (Q) در برابر زمان و  $\ln Q$  در برابر زمان) استفاده شد.

## ۲-۵-ارزیابی حسی نمونه‌های کاهو

به منظور ارزیابی حسی نمونه‌ها، ۳ بسته از هر نمونه در روز ۰، ۴، ۸ و ۱۲ در اختیار ۲۵ ارزیاب قرار گرفت. ارزیاب‌ها از افراد ۲۰-۳۰ سال انتخاب شدند. ارزیابی پذیرش کلی نمونه‌های کاهوی برش خورده و آماده مصرف، با استفاده از آزمون هدونیک پنج نقطه‌ای و در مقایسه با نمونه شاهد انجام شد به نحوی که برای بهترین نمونه امتیاز ۵ و برای بدترین نمونه امتیاز یک در نظر گرفته شد [۱۷].

## ۲-۶-طرح آماری مورد استفاده

نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص تردی بافت در ۷ تکرار و شاخص ارزیابی حسی در ۳ تکرار با استفاده از طرح فاکتوریل (بسته بندی در ۳ سطح، محلول پوششی در ۳ سطح، دما در ۲ سطح و زمان در ۴ سطح) در قالب طرح کاملاً تصادفی به کمک نرم‌افزار آماری SPSS آنالیز شد. در صورت معنی‌دار بودن تیمارها، مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون فیشر در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام گرفت. رسم نمودارها با نرم افزار اوريجين پرو ورژن ۷ انجام گرفت.

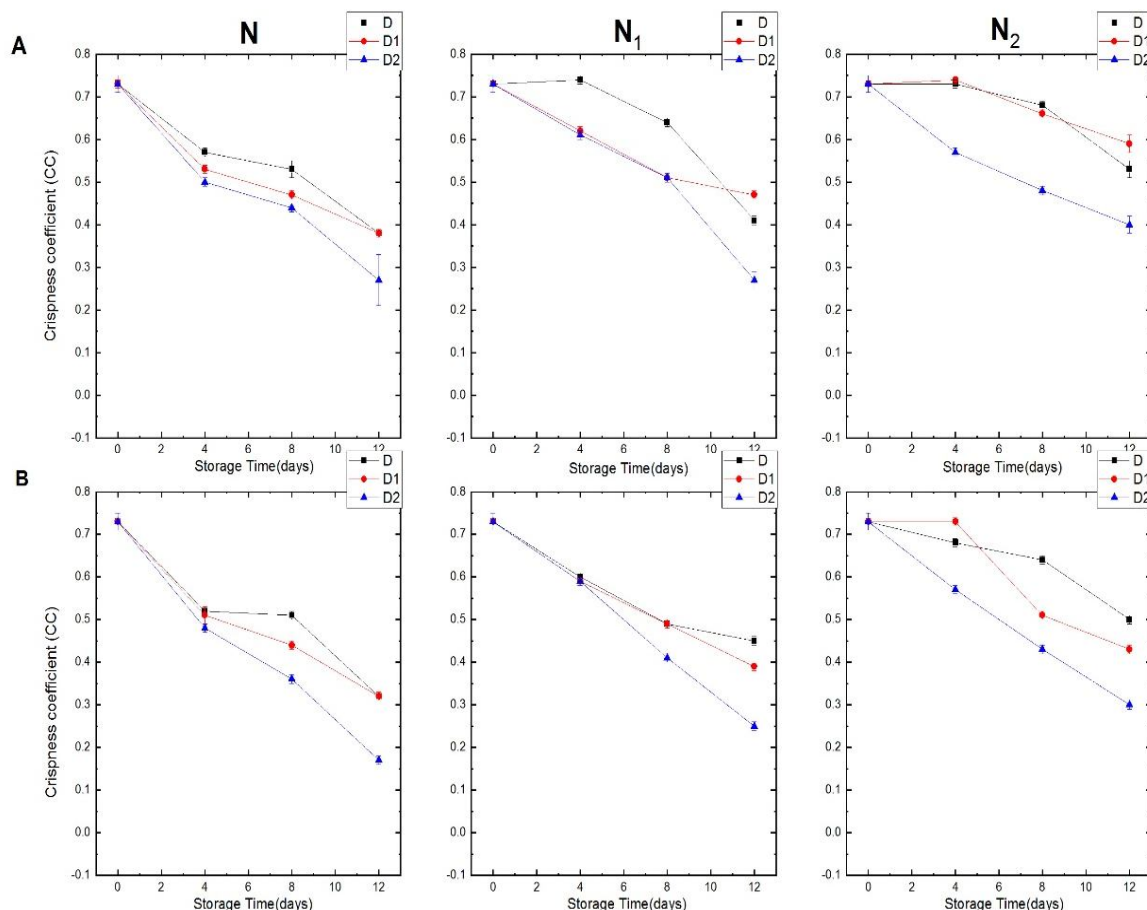
## ۳-نتایج و بحث

### ۳-۱-شاخص تردی بافت نمونه‌های کاهو

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، تعداد منافذ بسته-بندی، نوع تیمار پوششی، دما و زمان نگهداری نمونه‌های کاهوی برش خورده تازه و اثر متقابل این فاکتورها دارای اثر معنی‌دار بر شاخص تردی بافت نمونه‌های کاهو بودند ( $p \leq 0.05$ ). برش‌های کاهو در روز اول نگهداری دارای میانگین ضریب تردی  $0.73 \pm 0.02$  بودند. شکل ۱ نشان می‌دهد ضریب تردی نمونه‌های کاهو در طی ۱۲ روز نگهداری در هر دو دمای ۵ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد کاهش یافته است. نتایج مشابهی در سال ۲۰۱۱ توسط مارتینز-سانچز و همکاران بدست آمده است [۱۶]. شکل ۱ همچنین نشان می‌دهد نمونه‌های تیمار شده با محلول پوششی حاوی ۱/۵٪ لاکتات کلسیم و ۰/۵٪ سیستین که در فیلم‌های پلی‌اتیلنی دارای ۲۰ منفذ بسته‌بندی شده بودند، بالاترین میزان ضریب تردی را در طی ۱۲ روز زمان نگهداری به خود اختصاص دادند. نتایج نشان داد ضریب تردی نمونه‌های بسته‌های دارای ۴۰ منفذ در مقایسه با نمونه‌های بسته‌های حاوی ۲۰ منفذ و فاقد منفذ کاهش معنی‌داری داشته است، که علت آن می‌تواند مربوط به کاهش محتوای رطوبت نمونه‌های بسته‌بندی شده در بسته‌های با منافذ بیشتر باشد که منجر به افت فشار تورژانس در سلول‌های بافت و کاهش تردی بافت شده است [۱۸ و ۱۹]. ریکو و همکاران در سال ۲۰۰۷ و امز-اولیو و همکاران در سال ۲۰۰۷ نتایج مشابهی در ارتباط با استفاده از لاکتات کلسیم به منظور بهبود سفتی بافت و افزایش عمر ماندگاری میوه‌ها و سبزی‌های برش خورده تازه گزارش کردند [۲۰ و ۱۷].

**Table 1** Means square of crispness and Sensory evaluation (total acceptance) for fresh-cut lettuce strips

Source	df	Means square	
		Crispness	Total acceptance
Coating (C)	2	0.145***	64.54***
Temperature of storage (TS)	1	0.100***	63.09***
Days of storage (DS)	3	1.310***	574.80***
Packaging film (PF)	2	0.120***	118.80***
C × TS × DS × PF	12	0.002***	2.69***
Error	0.27	0.031***	1728

\*, \*\*, \*\*\* Significant at  $P = 0.05$ ,  $0.01$ , or  $0.001$ , respectively.**Fig 1** Changes in crispness coefficient of fresh-cut lettuce strips (N) without immersion treatment, (N1) with immersion treatment containing 1.5%CaL/0.1Cys and (N2) 1.5%CaL/0.5Cys at different temperatures (A) 5 °C and (B) 10 °C for samples packaged under (D) MAP, (D1) 20-PM-MAP and (D2) 40-PM-MAP system, during 12 days of storage. Values represent means  $\pm$  SD of seven replicates

تعیین سرعت افت ضریب تردی بافت از معادلات سینتیکی درجه صفر و اول استفاده شد. ضریب همبستگی بالا (۰/۹۳) و ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE) کم (۰/۵۷) مابین داده-های تجربی و نتایج پیش‌بینی شده با هر مدل نشان داد برای این شاخص داده‌های حاصل از مدل درجه صفر مطابقت بیشتری با داده‌های آزمایشگاهی دارند (جدول ۲).

### ۳-۲-مدلسازی سینتیکی شاخص تردی بافت

#### کاهوی برش خورده

از آنجاکه شاخص تردی بافت یکی از پارامترهای کلیدی برای تعیین زمان ماندگاری سبزی‌های برگ‌ی تعریف می‌شود، تفسیر تغییرات این شاخص از اهمیت زیادی برخوردار است. برای

**Table 2** Results of different models in terms of root mean square error (RMSE) and correlation coefficient ( $R^2$ ), for crispness and sensory evaluation of fresh-cut lettuce

Index	Crispness		Sensory evaluation	
Model	Zero order	First order	Zero order	First order
RMSE	0.57	0.70	3.79	3.79
$R^2$	0.93	0.92	0.95	0.73

که در آن  $K_{cc}$  برابر با ثابت سرعت تخریب تردی بافت،  $C_{cc}$  برابر با مقدار شاخص تردی در زمان صفر و  $Ea_1$  برابر انرژی اکتیواسیون واکنش تخریب بافت است [۱۴].

مقادیر ضرایب محاسبه شده برای روابط فوق، شامل ثابت سرعت واکنش و میزان انرژی فعالسازی در جدول ۳ آمده است.

بنابراین، معادله نهایی برای توصیف تغییرات شاخص تردی به عنوان تابعی از دما استخراج شد (رابطه ۵ و ۶).

$$Q = -K_{cc} t + C_{cc} \quad (\text{رابطه ۵})$$

$$K_{cc} = K_{ref} \cdot \exp[-Ea_1 / R_g (1/T - 1/T_{ref})] \quad (\text{رابطه ۶})$$

**Table 3** Reaction rate constant ( $K_{cc0}$ ,  $C_{cc0}$ ), and activation energy, ( $Ea_1$ ,  $Ea_2$ ) of crispness changes of fresh-cut lettuce strips (N) without immersion treatment, (N1) with immersion treatment containing 1.5%CaL/0.1Cys and (N2) 1.5%CaL/0.5Cys for samples packaged under (D) MAP, (D1) 20-PM-MAP and (D2) 40-PM-MAP system, during 12 days of storage

	treatment								
	N			N <sub>1</sub>			N <sub>2</sub>		
	D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>
$K_{ref}(s^{-1})$	0.04	0.04	0.06	0.03	0.03	0.05	0.02	0.01	0.05
$Ea_1(kcal.mol^{-1})$	7198.4	6364.5	3852.4	12592.2	12476.9	3965.7	29686.1	40663.7	4599.5
$R^2$	0.95	0.93	0.95	0.90	0.96	0.95	0.85	0.85	0.97

بالتر از بین رفتن تردی بافت و مقادیر کوچکتر انرژی فعالسازی ( $Ea_1$ ) نشاندهنده حساسیت کمتر نمونه‌ها نسبت به تخریب بافت است [۲۱]. بنابراین، تردی بافت نمونه‌های دارای پوشش حاوی ۱/۵٪ لاکتات کلسیم و ۰/۵٪ سیستین، بسته‌بندی شده در بسته‌های دارای ۲۰ منفذ و یا بدون منفذ و نمونه‌های دارای پوشش حاوی ۱/۵٪ لاکتات کلسیم و ۰/۸٪ سیستین و بسته‌بندی شده در بسته‌های با ۲۰ منفذ، با توجه به مقادیر کمتر  $K_{cc}$ ، مدت زمان بیشتری حفظ شده است.

جدول ۴ مقادیر ضرایب محاسبه شده را برای معادله توصیف کننده شاخص تردی در دماهای ۵ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود مقادیر ضریب  $K_{cc}$  برای تمامی نمونه‌ها با افزایش دمای نگهداری افزایش یافته است. که با نتایج به دست آمده توسط اولیوئرا و همکاران در سال ۲۰۱۲ مطابقت دارد [۱۰]. همچنین نمونه‌های نگهداری شده در بسته‌های دارای ۴۰ منفذ در هر دو دما، دارای مقادیر بزرگتر ثابت سرعت واکنش و مقادیر کوچکتر انرژی فعالسازی هستند. مقادیر بزرگتر ثابت سرعت واکنش ( $K_{cc}$ ) نشاندهنده سرعت

**Table 4** Parameters estimate of the kinetic model describing the changes in crispness coefficient of fresh-cut lettuce strips (N) without immersion treatment, (N1) with immersion treatment containing 1.5%CaL/0.1Cys and (N2) 1.5%CaL/0.5Cys at 5 °C and 10 °C for samples packaged under (D) MAP, (D1) 20-PM-MAP and (D2) 40-PM-MAP system, during 12 days of storage

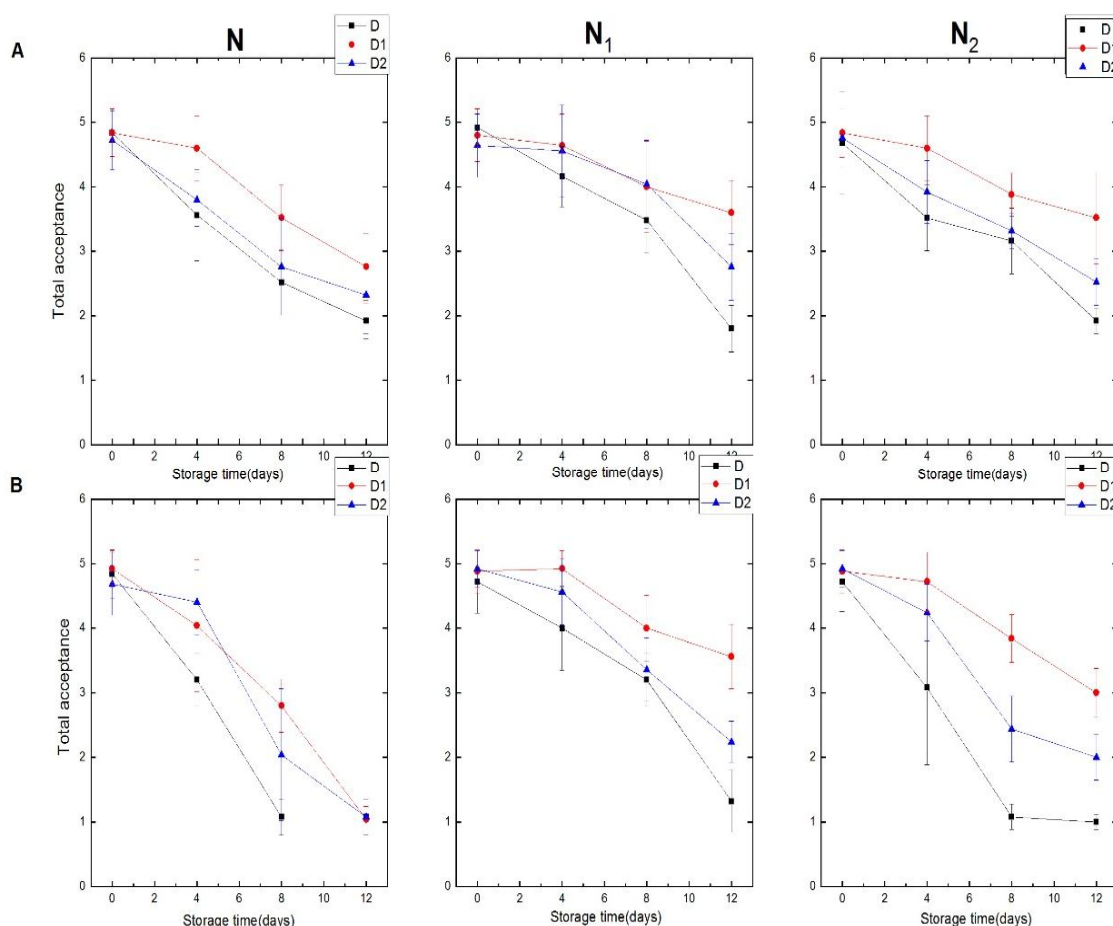
Temperature (°C)		treatment								
		N			N <sub>1</sub>			N <sub>2</sub>		
		D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>
5	$K_{cc}$	0.026	0.027	0.034	0.032	0.021	0.036	0.016	0.012	0.027
	$C_{cc}$	0.737	0.693	0.701	0.981	0.715	0.781	0.803	0.755	0.707
	$R^2$	0.95	0.93	0.95	0.90	0.96	0.95	0.85	0.85	0.97
	$K_{cc}$	0.029	0.030	0.042	0.035	0.026	0.039	0.018	0.028	0.028
	$C_{cc}$	0.747	0.694	0.705	1.091	0.717	0.796	0.823	0.768	0.768
	$R^2$	0.91	0.94	0.98	0.95	0.99	0.99	0.91	0.88	0.88

## ۳-۳-ارزیابی حسی (پذیرش کلی)

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، تعداد منافذ بسته‌بندی، نوع تیمار پوششی، دما و زمان نگهداری نمونه‌های کاهوی برش خورده تازه و اثر متقابل این فاکتورها دارای اثر معنی‌دار بر شاخص پذیرش کلی نمونه‌های کاهو بودند ( $p \leq 0.05$ ). شکل ۲ نشان می‌دهد میزان پذیرش کلی نمونه‌های کاهو در طی ۱۲ روز نگهداری در هر دو دمای ۵ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد کاهش یافته است. همچنین نمونه‌های بسته‌بندی شده در فیلم‌های دارای ۲۰ منفذ بالاترین امتیاز و نمونه‌های بسته‌بندی شده در فیلم‌های بدون منفذ کمترین امتیاز را در طی ۱۲ روز نگهداری در هر دو دمای ۵ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد به خود اختصاص دادند، که علت آن می‌تواند ایجاد شرایط بی-

هوازی در این بسته‌ها باشد که منجر به از بین رفتن ویژگی‌های کیفی و حسی نظیر عطر و طعم می‌شود [۱۶ و ۱۷].

نتایج نشان داد پس از ۱۲ روز بالاترین امتیاز ارزیاب‌ها مربوط به نمونه‌های پوشش داده شده با محلول حاوی ۱/۵٪ لاکتات کلسیم و ۰/۱٪ سیستین، بسته‌بندی شده در فیلم‌های با ۲۰ منفذ و نگهداری شده در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد است که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های تحت تیمار مشابه و نگهداری شده در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و همچنین نمونه‌های پوشش داده شده با محلول حاوی ۱/۵٪ لاکتات کلسیم و ۰/۵٪ سیستین، نگهداری شده در بسته‌های دارای ۲۰ منفذ نداشتند. سوزا-گالاگر و ماهاجان در سال ۲۰۱۳ و دریوک و همکاران در سال ۲۰۱۰ به نتایج مشابهی دست یافتند [۲۲ و ۲۳].



**Fig 2** Changes in sensory evaluation (total acceptance) of fresh-cut lettuce strips (N) without immersion treatment, (N1) with immersion treatment containing 1.5%CaL/0.1Cys and (N2) 1.5%CaL/0.5Cys at different temperatures (A) 5 °C and (B) 10 °C for samples packaged under (D) MAP, (D1) 20-PM-MAP and (D2) 40-PM-MAP system, during 12 days of storage. Values represent means  $\pm$  SD of three replicates



## ۳-۴- تخمین زمان ماندگاری کاهوی برش

## خورده بر اساس ویژگی پذیرش کلی

تعیین مدت زمان نگهداری و تغییراتی که طی نگهداری اتفاق می‌افتد، مستلزم داشتن اطلاعات دقیق در مورد سیستم غذایی، شرایط فراآوری، بسته‌بندی و نگهداری می‌باشد. در این پژوهش از روش ارزیابی حسی به عنوان متداولترین روش محاسبه زمان ماندگاری استفاده شد. برای تخمین زمان ماندگاری نمونه‌های کاهو مدل‌سازی سینتیکی شاخص پذیرش کلی با استفاده از مدل سینتیکی درجه صفر و یک انجام گرفت (رابطه ۲ و ۳). با توجه به ضریب همبستگی بالا (۰/۹۵) مابین داده‌های تجربی و نتایج پیش‌بینی شده با مدل سینتیکی درجه

صفر (جدول ۲)، این مدل برای بررسی روند تغییرات این شاخص انتخاب و معادله نهایی برای توصیف تغییرات این شاخص توسط این مدل استخراج شد (رابطه ۸، ۹ و ۱۰).

$$Q = -K_s t + C_s \quad (\text{رابطه ۸})$$

$$K_s = K_{ref} \cdot \exp[-Ea_2 / R_g (1/T - 1/T_{ref})] \quad (\text{رابطه ۹})$$

که در آن  $K_s$  برابر با ثابت سرعت ویژگی پذیرش کلی،  $C_s$  برابر با امتیاز پذیرش کلی توسط ارزیاب‌ها در زمان صفر و  $Ea_2$  برابر انرژی اکتیواسیون ویژگی پذیرش کلی است.

مقادیر ضرایب محاسبه شده برای روابط فوق، شامل ثابت سرعت واکنش و میزان انرژی فعالسازی در جدول ۵ آمده است.

**Table 5** Reaction rate constant ( $K_{s0}$ ,  $C_{s0}$ ), and activation energy, ( $Ea_3$ ,  $Ea_4$ ) of sensory evaluation (total acceptance) changes of fresh-cut lettuce strips (N) without immersion treatment, (N1) with immersion treatment containing 1.5%CaL/0.1Cys and (N2) 1.5%CaL/0.5Cys for samples packaged under (D) MAP, (D1) 20-PM-MAP and (D2) 40-PM-MAP system, during 12 days of storage

	treatment								
	N			N <sub>1</sub>			N <sub>2</sub>		
	D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>
$K_{ref}(s^{-1})$	0.220	0.114	0.114	0.216	0.100	0.140	0.188	0.110	0.148
$Ea_2(kcal.mol^{-1})$	2496.3	8658.9	8366.6	4930.2	17142.8	7644.7	6258.5	15931.6	7644.7
$R^2$	0.96	0.95	0.96	0.94	0.96	0.92	0.97	0.96	0.94

۲۰ منفذ دارای کمترین مقدار ثابت سرعت واکنش ( $K_s$ ) و بالاترین مقدار انرژی فعالسازی هستند (جدول ۵ و ۶)، در نتیجه این نمونه‌ها دارای کیفیت بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها بوده و امتیاز بالاتری را دریافت نموده‌اند.

مقادیر محاسبه شده‌ی ضرایب رابطه‌ی ۸، برای دماهای ۵ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد در جدول ۶ آمده است.

همانطور که مشاهده می‌شود، مقادیر ثابت سرعت واکنش ( $K_s$ ) با افزایش دما، افزایش یافته است. نمونه‌های دارای پوشش لاکتات کلسیم و سیستین، بسته‌بندی شده در بسته‌های دارای

**Table 6** Parameters estimate of the kinetic model describing the changes in sensory evaluation (total acceptance) of fresh-cut lettuce strips (N) without immersion treatment, (N1) with immersion treatment containing 1.5%CaL/0.1Cys and (N2) 1.5%CaL/0.5Cys at 5 °C and 10 °C for samples packaged under (D) MAP, (D1) 20-PM-MAP and (D2) 40-PM-MAP system, during 12 days of storage

Temperature (°C)		treatment								
		N			N <sub>1</sub>			N <sub>2</sub>		
		D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>
5	$K_s$	0.271	0.201	0.202	0.255	0.120	0.193	0.251	0.131	0.181
	$C_s$	4.68	5.09	4.58	5.12	4.70	5.14	4.76	5.09	4.97
	$R^2$	0.90	0.97	0.80	0.95	0.98	0.92	0.95	0.98	0.99
	$K_s$	0.332	0.323	0.350	0.298	0.130	0.232	0.331	0.171	0.270
	$C_s$	0.33	0.33	0.36	0.29	0.19	0.23	0.33	0.24	0.20
	$R^2$	0.95	0.93	0.95	0.96	0.95	0.96	0.94	0.94	0.91

نمونه‌ها در دو دمای ۵ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

در پایان با در نظر گرفتن وابستگی دمایی ثابت سرعت واکنش، از مدل بدست آمده برای تخمین زمان ماندگاری



نمره پذیرش کلی ۳/۵ از ۵ به عنوان نقطه انقطاع برای پذیرش نمونه‌ها و پایان زمان ماندگاری در نظر گرفته شد [۲۴].  
جدول ۷ مدت زمان ماندگاری نمونه‌های کاهو بسته‌بندی شده می‌دهد.

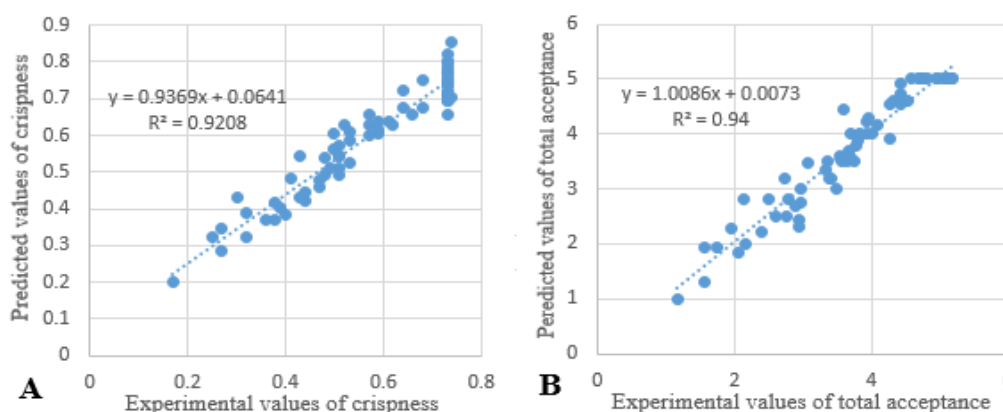
**Table 7** Values of the estimated shelf lives and the correlation coefficient of fresh-cut lettuce strips (N) without immersion treatment, (N1) with immersion treatment containing 1.5%CaL/0.1Cys and (N2) 1.5%CaL/0.5Cys, for samples packaged under (D) MAP, (D1) 20-PM-MAP and (D2) 40-PM-MAP system, at the investigated storage temperatures

			treatment								
			N			N <sub>1</sub>			N <sub>2</sub>		
			D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>
Temperature (°C)	5	Shelf life (day)	4.41	8.40	5.89	6.44	12.62	9.19	5.05	11.59	6.91
		R <sup>2</sup>	0.90	0.97	0.80	0.95	0.98	0.92	0.95	0.98	0.99
	10	Shelf life (day)	3.66	5.16	5.02	5.55	12.59	7.36	3.47	9.74	5.70
		R <sup>2</sup>	0.95	0.93	0.95	0.96	0.95	0.96	0.94	0.94	0.91

### ۳-۵-تایید مدل

به منظور تایید بخش پیش‌بینی تغییرات تردی بافت و همچنین تغییر ویژگی‌های حسی (پذیرش کلی) نمونه‌های کاهو، از مقایسه مقادیر پیش‌بینی شده برای این شاخص با مقادیر اندازه‌گیری شده استفاده شد (شکل ۳). ضریب همبستگی بالا ( $R^2$ ) نشانگر مناسب بودن این مدل‌ها برای توصیف روند تغییرات این شاخص‌ها و اعتبار مدل است.

مطابق جدول ۷، نمونه‌های دارای پوشش حاوی ۱/۵٪ لاکتات کلسیم و ۰/۱٪ سیستین، نگهداری شده در بسته‌های دارای ۲۰ منفذ در دمای ۵ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد و نمونه‌های دارای پوشش حاوی ۱/۵٪ لاکتات کلسیم و ۰/۵٪ سیستین، نگهداری شده در بسته‌های دارای ۲۰ منفذ در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد، بالاترین عمر ماندگاری به ترتیب معادل ۱۲/۶۲ و ۱۲/۵۹ و ۱۱/۵۹ روز را دارند.



**Fig 3** Determination coefficient ( $R^2$ ) of experimental vs. predicted values achieved by zero order kinetic model for the two different parameters studied: A: crispness, B: sensory evaluation (total acceptance)

حاصل از مقایسه داده‌های آزمایشی با داده‌های پیش‌بینی شده توسط مدل نشان داد برای توصیف تغییرات این دو شاخص استفاده از مدل سینتیکی درجه صفر مناسب می‌باشد. همچنین، نتایج حاصل از تخمین زمان ماندگاری نشان داد نمونه‌های دارای پوشش حاوی ۱/۵٪ لاکتات کلسیم و ۰/۱٪ سیستین، نگهداری شده در بسته‌های دارای ۲۰ منفذ در دمای ۵ و ۱۰

### ۴-نتیجه‌گیری

مدلی ریاضی برای توصیف سینتیک تغییرات تردی بافت و ارزیابی حسی کاهوی برش خورده تازه رقم رومین طی پوشش‌دهی و بسته‌بندی در بسته‌هایی با تعداد منافذ متفاوت، نگهداری شده در دماهای مختلف توسعه داده شد. نتایج

Comparison of high performance liquid chromatography and spectrofluorimetry for vitamin C analysis of greenbeans (*Phaseolus Vulgaris* L.). *Journal of Food Technology*, 210: 220-225.

- [10] Oliveira, F., Sousa-Gallagher, M., Mahajan, P., & Teixeira, J. (2012). Development of shelf-life kinetic model for modified atmosphere packaging of fresh sliced mushrooms. *Journal of food Engineering*, 111(2), 466-473.
- [11] Lucera, A., Conte, A., Del Nobile, M.A., 2012a. Shelf life of ready-to-cook cauliflower mixtures as affected by packaging film mass transport properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 47: 1598-1604.
- [12] Nicoli, M. C. (2012). *Shelf life assessment of food*. CRC Press.
- [13] Robertson, G. L. (2009). *Food packaging and shelf life: a practical guide*. CRC Press.
- [14] Olivera, D. F., Bambicha, R., Laporte, G., Cárdenas, F. C., & Mestorino, N. (2013). Kinetics of colour and texture changes of beef during storage. *Journal of food science and technology*, 50(4), 821-825.
- [15] Mohapatra, D., Bira, Z. M., Kerry, J. P., Frías, J. M., & Rodrigues, F. A. (2010). Postharvest hardness and color evolution of white button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal of food science*, 75(3), E146-E152.
- [16] Martínez-Sánchez, A., Tudela, J. A., Luna, C., Allende, A., Gil, M. I. 2011. Low oxygen levels and light exposure affect quality of fresh-cut *Romaine Lettuce*. *Journal of Postharvest Biology and Technology*, 59: 34-42.
- [17] Rico, D., Martin-Diana, A. B., Barat, J. M., & Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(7), 373-386.
- [18] Toivonen, P. M. A., & Brummell, D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 1-14.
- [19] Rux, G., Caleb, O. J., Geyer, M., & Mahajan, P. V. (2017). Impact of water rinsing and perforation-mediated MAP on the quality and off-odour development for rucola. *Food Packaging and Shelf Life*, 100(11), 21-30.

درجه سانتی‌گراد و نمونه‌های دارای پوشش حاوی ۱/۵٪ لاکتات کلسیم و ۰/۵٪ سیستین، نگهداری شده در بسته‌های دارای ۲۰ منفذ در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد، بالاترین عمر ماندگاری را دارند.

## ۵-منابع

- [1] Beltrán, D., Selma, M. V., Marín, A., & Gil, M. I. (2005). Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(14), 5654-5663.
- [2] Ihl, M., Aravena, L., Scheuermann, E., Uquiche, E., Bifani, V. 2003. Effect of immersion solutions on shelf-life of minimally processed lettuce. *Journal of Lebensmittel-Wissenschaft and Technology*, 36: 591-599.
- [3] Caleb, O. J., Mahajan, P. V., Al-Said, F. A., Opara, U. L. 2013a. Modified atmosphere packaging technology of fresh and fresh-cut produce and the microbial consequences-a review. *Journal of Food Bioprocess Technology*. 6:303-329.
- [4] González-Buesa, J., Ferrer-Mairal, A., Oria, R., & Salvador, M. L. 2009. A mathematical model for packaging with microperforated films of fresh-cut fruits and vegetables. *Journal of Food Engineering*, 95: 158-165.
- [5] Brody, A. L. 2005. What is fresh about fresh-cut? *Journal of Food Technology*, 59: 74-77. Cadwallader, K.R., Weenen, H. 2002. Freshness and Shelf Life of Foods. ACS. Symposium Series, 836: 270-291. American Chemical Society, Washington, D.c.
- [6] Paul, D. R., & Clarke, R. 2002. Modeling of modified atmosphere packaging based on designs with a membrane and perforations. *Journal of Membrane Science*, 208: 269-283.
- [7] Dirim, S. N., Ozden, H. O., Bayindirli, A., Esin, A. 2004. Modification of water vapour transfer rate of low density polyethylene films for food packaging. *Journal of Food Engineering*, 63: 9-13.
- [8] Robertson, G. L. (2006a). Packaging of horticultural products. In *Food Packaging: Principles and Practice* (pp. 360-380). CRC Press.
- [9] Sánchez-Mata M.C., Cámara-Hurtado M., Díez-Marques C. Torija-Isasa M.E. 2000.

- [23] De Reuck, K., Sivakumar, D., & Korsten, L. (2009). Effect of passive and active modified atmosphere packaging on quality retention of two cultivars of litchi (*Litchi Chinensis* Sonn.). *Journal of Food Quality*, 33, 337–351.
- [24] Pour sharif, Z. 2017. Shelf life Modelling and evaluation of modified atmosphere packaging and edible coating (Chitosan-Aloe vera) effect on maintaining quality of Orange. Ph.D theses. College of Agriculture. Ferdowsi University, Mashhad.
- [20] Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. 2007. Effect of ripeness on the shelf-life of fresh-cut melon preserved by modified atmosphere packaging. *Journal of European Food Research and Technology*, 225: 301-311.
- [21] Corzo, O., Bracho, N., Pereira, A., Vásquez, A., 2008. Weibull distribution for modeling air drying of coroba slices. *Food Science and Technology* 41, 2023–2028.
- [22] Sousa-Gallagher, M. J., & Mahajan, P. V. (2013). Integrative mathematical modelling for MAP design of fresh-produce: Theoretical analysis and experimental validation. *Food control*, 29(2), 444-450.



## Development of shelf-life kinetic model for perforated modified atmosphere packaging of fresh-cut Romaine lettuce

Salemi, B. <sup>1</sup>, Sedaghat, N. <sup>2\*</sup>, Varidi, M. J. <sup>2</sup>, Mousavi, S. M. <sup>3</sup>, Tabatabaei Yazdi, F. <sup>2</sup>

1. Ph.D. Student of Food Science and Technology Department, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad.
2. Professor of Food Science and Technology Department, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad.
3. Professor of Chemical Engineering Department, College of Engineering, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Article History:</b></p> <p>Received 2019/ 12/ 18 Accepted 2020/ 06/ 27</p> <p><b>Keywords:</b></p> <p>Kinetic model, Shelf life, Modified atmosphere packaging, Perforation, 'Romaine' lettuces.</p> <p><b>DOI:</b> 10.29252/fsct.18.06.19</p> <p>*Corresponding Author E-Mail: sedaghat@um.ac.ir</p>	<p>Mechanical injuries in to the tissue of ready-to-eat fresh-cut lettuce usually cause stresses which leads to increasing respiration rate. The shelf life of this product depends on the processing and packaging steps, the type of packaging film and the environmental conditions during storage. The purpose of this study was to evaluate the effect of storage time, storage temperature, immersion pretreatment and the number of perforations of packing film on the crispness coefficient and sensory evaluation (total acceptance) of fresh-cut packaged lettuce stored under modified atmospheric condition and also development of shelf-life kinetic model of this product. For this purpose, 250 g of the lettuce strips were washed and immersed into two different concentrations (1.5/0.5 and 1.5/0.1) of CaL/Cys, then packed and sealed in low-density polyethylene packaging films (LDPE, 42 <math>\mu\text{m}</math> thickness) with no perforation (N-MAP: 21% O<sub>2</sub>, 0% CO<sub>2</sub>) and 20 and 40 perforations per m<sup>2</sup>, respectively. The study was carried out at two temperatures of 5 and 10 °C, for a storage time of 12 days. Indices of quality maintenance, i.e., crispness coefficient and sensory evaluation (total acceptance) were investigated. Furthermore, a mathematical model was developed to describe the kinetics of changes in crispness coefficient and sensory evaluation. Then, the shelf life of the samples was predicted based on sensory evaluation. The results showed that changes in selected targeted parameters could be best described by a zero-order. The prediction of shelf life of fresh-cut lettuce samples showed that samples treated with 1.5%CaL/0.1% Cys packed in 20-PM-MAP, stored at 5°C and 10 °C and samples treated with 1.5%CaL/0.5% Cys packed in 20-PM-MAP stored at 5°C, had a shelf life of 12.62, 12.59 and 11.59 days (with no significant difference at <math>p &lt; 0.05</math>), respectively.</p>