



## مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: [www.fsct.modares.ac.ir](http://www.fsct.modares.ac.ir)

### مقاله علمی-پژوهشی

#### ارزیابی اثر اسانس میخک هندی بر کاهش تعداد کلنی های تلقیح شده آسپرژیلوس نایجر بر روی میوه گواوا تو سرخ

مهدی پورهاشمی<sup>۱</sup>، مهناز هاشمی روان<sup>۲\*</sup>، دکتر نازنین زند<sup>۳</sup>، دکتر علیرضا شهاب لواسانی<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۲- استادیار گروه علوم صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۳- استادیار گروه علوم صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۴- دانشیار گروه علوم صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

#### اطلاعات مقاله

#### چکیده

#### تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۷/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۱

#### کلمات کلیدی:

آسپرژیلوس نایجر،

گواوا،

اسانس میخک هندی،

مدت ماندگاری

DOI:10.22034/FSCT.22.163.173.

\* مسئول مکاتبات:

m\_hashemiravan@yahoo.com

این مطالعه به ارزیابی اثر اسانس میخک هندی بر کاهش تعداد کلنی های آسپرژیلوس نایجر در میوه گواوا تو سرخ پرداخته است. هدف تحقیق بررسی تأثیرات ضد میکروبی اسانس میخک هندی با استفاده از غلظت های مختلف بر روی میوه های گواوا آلوده به آسپرژیلوس نایجر بود. برای این منظور، غلظت های مختلف اسانس میخک هندی (۰.۵، ۰.۶، ۰.۷، ۰.۸ میلی گرم در ۱۰۰ گرم میوه) به میوه های گواوا تزریق و سپس میوه ها با آسپرژیلوس نایجر تلقیح شدند. تأثیرات ضد میکروبی اسانس میخک هندی با اندازه گیری تعداد کلنی های کپک، pH، سفتی بافت، درصد کاهش وزن، رطوبت و تغییرات رنگ میوه در روز ۱، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸ در دمای ۱۵-۱۸ درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اسانس میخک هندی به طور قابل توجهی تعداد کلنی های آسپرژیلوس نایجر را کاهش می دهد. بالاترین اثر کاهش تعداد کپک ها با غلظت ۰.۷ میلی گرم در ۱۰۰ گرم میوه مشاهده شد، که به کاهش ۲/۲۹ لگاریتمی بار میکروبی منجر گردید. همچنین، درصد کاهش وزن و تغییرات pH نیز بهبود یافت. در مقایسه با تیمارهای بدون اسانس، تیمارهایی که با غلظت های بالاتر اسانس میخک هندی درمان شده بودند، کاهش قابل توجهی در درصد کاهش وزن و آسیب های بافتی نشان دادند. نتایج آزمون آنتی اکسیدانی DPPH نیز حاکی از فعالیت بالای آنتی اکسیدانی اسانس میخک هندی بود. به طور کلی، اسانس میخک هندی به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی مؤثر در کاهش آلودگی آسپرژیلوس نایجر و بهبود کیفیت میوه گواوا تو سرخ قابلیت استفاده دارد، و می تواند در مدیریت پوسیدگی های پس از برداشت میوه ها به کار رود.

## ۱- مقدمه

در جهان امروز تکیه بر تولید از منابع داخلی در محصولات اساسی و توسعه صادرات از اهداف استراتژیک تأمین امنیت غذایی کشورها؛ و ارتقاء بهره وری عوامل تولید، حفاظت از منابع پایه تولید، ارتقاء دانش فنی تولیدکنندگان، توسعه پژوهش های کاربردی و غیره جزو اهداف کیفی و کمی در توسعه کشورها معرفی شده است. خطرات مرتبط با انتقال میکروارگانیسم های بیماری زای ناشی از مواد غذایی، به یک مساله نگران کننده جهانی در صنایع غذایی، تبدیل شده است. در سال ۲۰۱۱، اتحادیه اروپا به تنهایی در مجموع ۵۶۴۸ شیوع بیماری ناشی از مواد غذایی گزارش کرده است که از ۶۹۵۵۳ مورد، ۷۱۲۵ مورد به بستری شدن در بیمارستان و ۹۳ مورد منجر به مرگ شده اند. شیوع بیماری های مرتبط با شرایط بهداشتی، که با مصرف محصولات غذایی در ارتباط هستند، نیازمند تحقیق و پژوهش برای دستیابی به تکنیک های آلودگی زدایی کارآمدتری می باشد [۱].

## ۱-۱- گواوا:

گواوا با نام علمی *Psidium guajava L.* گیاهی از خانواده *Myrtaceae* است. به نظر میرسد که این گیاه از جنوب مکزیک یا آمریکای شمالی منشاء گرفته باشد [۲]. از نظر گیاهشناسی میوه سته بوده و اندازه آن متوسط تا بزرگ، به وزن ۱۱۰ تا ۲۵۰ گرم و قطری در حدود ۵ تا ۱۰ سانتیمتر می باشد. شکل میوه براساس نوع رقم، گلابی، تخم مرغی و یا کروی است. سطح میوه نرم تا زبر بوده و عاری از کرک می باشد. رنگ میوه نابالغ اغلب سبز تیره بوده که در حالت بالغ به زرد تغییر

می کند. گوشت میوه رسیده، نرم و به رنگ سفید، صورتی یا قرمز می باشد. بذره های این میوه سفت است. از ویژگی های مطلوب میوه برای مصرف خوراکی، دارا بودن گوشت ضخیم، تعداد کم بذر و غلظت بالای قند می باشد [۳]. کشت گواوا در ایران، در استانهای هرمزگان و سیستان و بلوچستان انجام می شود. سطح زیر کشت این محصول در ایران ۱۲۹۷ هکتار با تولید ۷۳۳۱ تن می باشد [۴].

بیماری های پس از برداشت در گواوا<sup>۱</sup> به علت شرایط آب و هوایی گرم و مرطوب در مرحله برداشت رایج می باشند. پوسیدگی های میوه در مرحله بلوغ و رسیدن میوه، در طی برداشت، انتقال و همچنین انبارداری ظاهر می گردند. معمول ترین بیماری قارچی پس از برداشت است که باعث خسارت شدیدی در گواوا می گردد [۵].

گواوا که معمولاً به دلیل ارزش غذایی و تغذیه ای خود در سراسر جهان شناخته می شود. ترکیباتی از جمله کورستین، گوايچاورین، ایزوفلاونوئیدها، اسید گالیک، کاتچین، اپی کاتچین، روتین، نارینجین، فلاونوئیدهای کامفرول و لسیتین های مخصوص گالاکتوز فعالیت امیدوارکننده ای از خود نشان داده اند [۶].

سفتی میوه در گواوا طی رسیدن کم می گردد و این کاهش به هشت برابر از مرحله سبز بالغ به مرحله نرم می رسد. میزان پروتئین کل میوه در طی رسیدن میوه زیاد می شود. همچنین میزان آنتی اکسیدانت کل و فنولها در طی رسیدن کاهش می یابند [۷].

۱-۲- آسپرژیلوس نایجر<sup>۲</sup>:

قارچ آسپرژیلوس نایجر عضو جنس آسپرژیلوس می باشد و متعلق به قارچ هایی می باشد که معمولاً به صورت غیرجنسی تکثیر می یابند، البته تولید مثل جنسی (قارچ عالی) نیز در این جنس مشاهده می شود.

شاخصه ی اصلی آسپرژیلوس نایجر در جداسازی آن از سایر گونه های آسپرژیلوس، تولید کربن سیاه و یا اسپورهای بسیار سیاه می باشد کنیدیوفورهای نرم و عموماً بی رنگ و اسپورهای گرد و دارای برآمدگی های مشخص از دیگر ویژگی های فیزیکی آسپرژیلوس نایجر جهت شناسایی می باشد. این ویژگی های فیزیکی مثل رنگ اسپور و سرعت رشد آسپرژیلوس نایجر در محیط کشت مشخص جهت جداسازی آسپرژیلوس نایجر از محیط استفاده می شود [۸]. آسپرژیلوس نایجر علاوه بر فاسد نمودن مواد غذایی، می تواند یکسری متابولیت های قارچی که مایکوتوکسین نام دارند تولید کنند که به شرایط رشد و نوع گونه نیز بستگی دارد. مالفترین ها که به وسیله آسپرژیلوس نایجر تولید می شوند به صورت بالقوه بسیار سمی می باشند. رشد آسپرژیلوس نایجر در بافت های بدن و دستگاه تنفس، آسپرژیلوزیس نام دارد. اگر چه آسپرژیلوس نایجر به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب در نظر گرفته می شود؛ طبق تحقیقات انجام شده امکان ایجاد اتومایکوزیس توسط این کپک نیز وجود دارد. مصرف مواد غذایی آلوده به توکسین های آسپرژیلوس نایجر می تواند باعث ایجاد سرطان شود. عضو اصلی که در مجاورت با توکسین های این کپک آسیب می بیند کبد است [۸].

۱-۳- اسانس میخک هندی<sup>۳</sup>:

اسانس های گیاهی به عنوان دسته مهمی از ترکیبات ضد میکروبی طبیعی ظرفیت مناسبی را برای استفاده در انواع

مواد غذایی جهت مقابله با میکروارگانیسم های بیماری زا و عامل فساد را دارا هستند. این ترکیبات، عصاره های فرار و معطری هستند که از بخش های مختلف گیاهان شامل گل، دانه، غنچه، برگ و ریشه بدست می آیند. بدلیل ویژگی های شناخته شده زیستی و طعم دهندگی عصاره ها و اسانس های گیاهی، این دسته از ترکیبات در میان پرمصرف ترین مواد افزودنی (به اشکال مختلف) در انواع مواد غذایی محسوب می شوند [۹].

خاصیت قارچ کشی اسانس میخک، در اثر ترکیبات فنولی موجود در آن مثل اوژنول است. اسانس میخک هندی به طور موثری علیه بیماری های پس از برداشت کاربرد دارد و از خاصیت ضد عفونی کننده آن می توان در کنترل میکروارگانیسم های بیماری زای گیاهان استفاده کرد [۱۰].

ترکیب اسانس توسط طیف سنجی جرمی کروماتوگرافی گازی<sup>۴</sup> و پتانسیل آنتی اکسیدانی آن را با روش DPPH<sup>۵</sup> ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل طیف سنجی جرمی کروماتوگرافی گازی اسانس میخک هندی منجر به شناسایی ۳۷ ترکیب شیمیایی شد که حدود ۹۹.۴۹ درصد از کل اسانس را تشکیل می دهد. اسانس میخک غنی از اوژنول (۵۹.۸۷٪) بوده است [۱۱].

کاریوفیلن ۲۳.۵۸٪، α- سلین (۴.۶۷٪)، α-ترپینیل استات (۴.۱۲٪) و هومولن (۳.۷۴٪). میخک اسانس آنتی اکسیدان قوی با حداکثر بازداري ۹۰.۹۴ درصد، قابل مقایسه با ترکیبات آنتی اکسیدانی می باشد [۱۱، ۱۲].

## ۲- مواد و روش ها

۱-۲- مواد اولیه: شامل میوه گواوا تو سرخ از استان سیستان و بلوچستان با متوسط وزنی ۱۱۰ گرم و یک شرایط محیطی کاشت و برداشت و آلودگی یکسان، محیط کشت میکروبی DG18<sup>۶</sup> مرک آلمان، سوش میکروبی آسپرژیلوس نایجر تهیه

5- Diphenyl picrylhydrazyl

6- Dichloran %18 Glycerol

2 -*Aspergillus niger*3 -*Daphne odora* essential oil

4- Gas chromatography mass spectrometry

شده از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران و اسانس میخک هندی از شرکت بل آلمان تهیه گردیدند. در ابتدا بررسی غلظت و حداقل مقدار کشندگی اسانس میخک هندی انجام شد.

۲-۲- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد (MIC)<sup>۷</sup> با استفاده از روش میکرو دیلوشن براث

برای این منظور از گونه‌های باکتری‌های مورد مطالعه یک کشت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و در محیط کشت مولر هینتون براث (مرک آلمان) استفاده شد. محلول‌های استوک از اسانس میخک هندی تهیه و از پلیت ۹۶ خانه ای جهت بررسی استفاده شد. غلظت‌های مختلف اسانس با رقیق سازی محلول اصلی تهیه و پس از آن پلیت ۹۶ خانه ای به انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد بمدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد و پس از طی مدت گرمخانه گذاری محلول تری فینیل تترازیلوم کلراید با غلظت ۵ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد و به هرخانه ۲۵ میکرولیتر از این معرف افزوده شد و اولین غلظتی که در آن رشد باکتری روی نداده و رنگ قرمز تشکیل نشد به عنوان MIC گزارش گردید [۱۳].

۲-۳- تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)<sup>۸</sup> اسانس حداقل غلظت کشندگی اسانس میخک هندی برای باکتری‌های مورد مطالعه تعیین می‌شود. میزان ۱۰ میکرولیتر از چاهک‌هایی که فاقد رشد باکتری‌ها بودند، به پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرمخانه گذاری می‌شوند. پتری‌هایی که فاقد کلنی بودند به عنوان MBC گزارش گردید. تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام گرفت [۱۳].

افزودن اسانس میخک هندی با سرنگ انسولین به بدنه گواوا در ۶ نقطه تزریق گردید و گواوا بر اساس حداقل غلظت

کشندگی اسانس در ۵ سطح غلظت به شرح S1 با غلظت ۰/۴ میلی گرم در ۱۰۰ گرم میوه گواوا و S2 با غلظت ۰/۵ میلی گرم در ۱۰۰ گرم میوه گواوا و S3 با غلظت ۰/۶ میلی گرم در ۱۰۰ گرم میوه گواوا و S4 با غلظت ۰/۷ میلی گرم در ۱۰۰ گرم میوه گواوا و S5 با غلظت ۰/۸ میلی گرم در ۱۰۰ گرم میوه گواوا و دو نمونه گواوا بدون اسانس T0 گواوا شاهد بدون هیچ فرآیند و T1 گواوا آلوده شده با آسپرژیلوس نایجر و پس از افزودن اسانس به گواوا مربوطه، میوه‌های گواوا را با آسپرژیلوس نایجر تلقیح گردید.

۲-۴- آماده سازی گواوا تلقیح شده به آسپرژیلوس نایجر: کشت‌های اولیه آسپرژیلوس نایجر: برای تهیه کشت‌های اولیه و ذخیره از آسپرژیلوس نایجر، از محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار<sup>۹</sup> در تشتک‌های سترون یکبار مصرف و کشت‌های شیب دار استفاده شد. ابتدا یک سوسپانسیون از پودر لیوفیلیزه آسپرژیلوس نایجر در ۲ میلی لیتر آب مقطر سترون تهیه گردید. از این سوسپانسیون به عنوان مایه تلقی برای تهیه کشت‌های ذخیره استفاده شد.

با استفاده از سویه قارچی آسپرژیلوس نایجر گواوا تو سرخ را با رقت ۱۰<sup>۴</sup> کلنی در هر گرم از گواوا آلوده گردید و گواوا تو سرخ آلوده شده با سویه باکتریایی را برای تصدیق وجود باکتری مورد آزمون میکروبی قرار گرفت و پس از آن گواوا تو سرخ را مورد آزمون میکروبی در آزمایشگاه شرکت بهار نیکو گستران و آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و شیمیایی در پژوهشگاه مهندسی شیمی ایران از روز اول تا روز بیست و هشتم بصورت هفتگی مورد بررسی و آزمون در ۳ تکرار قرار گرفتند.

Table No. 1 – Guava treatments

| Infected With<br>Aspergillus niger | density Daphne odora<br>essential oil (mg/100g) | Type           | treatment | Row |
|------------------------------------|-------------------------------------------------|----------------|-----------|-----|
| Yes                                | 0.4                                             | Infected Guava | S1        | 1   |
| Yes                                | 0.5                                             | Infected Guava | S2        | 2   |
| Yes                                | 0.6                                             | Infected Guava | S3        | 3   |

9 -Potato Dextrose Agar

7 -Minimum Inhibitory Concentration

8 -Minimum Bacteriocidal Concentration

|     |     |                |                |   |
|-----|-----|----------------|----------------|---|
| Yes | 0.7 | Infected Guava | S4             | 4 |
| Yes | 0.8 | Infected Guava | S5             | 5 |
| No  | 0   | Guava Withess  | T <sub>0</sub> | 6 |
| Yes | 0   | Infected Guava | T <sub>1</sub> | 7 |

متفاوتی از جمله روشهای حسی و تجهیزات الکترونیکی برای سنجش بافت مواد غذایی وجود دارد که برخی از این روشها برای آزمون بافت مواد غذایی خاصی استاندارد شده اند. از دست دادن رطوبت، اصلی ترین علت کاهش وزن میوه طی انبارداری است که از طریق چروکیدگی و کاهش بازارپسندی میوه باعث خسارتهای اقتصادی زیادی می شود. از دیگر دلایل افت وزن، تنفس میوه و سوختن مواد آلی از جمله قندها است. سفتی بافت میوه با دستگاه مگنسیس تیلور<sup>۱۱</sup> اندازه گیری شد. آزمون نفوذسنجی (پنترومتري): سختی بافت میوه ها، نیروی مورد نیاز برای فروکردن پروب در گوشت میوه می باشد و توسط دستگاه آنالیز کننده بافت<sup>۱۲</sup> که بیشترین نیروی مقاومت کننده در مقابل نفوذ را بر حسب نیوتن نشان می دهد اندازه گیری گردید. برای هر تیمار از ۱۰ میوه استفاده شد [۱۷، ۱۸].

#### ۲-۸- درصد کاهش وزن :

برای اندازه گیری تغییرات وزن، ابتدا نمونه های گواوا تو سرخ بر روی ترازو قرار داده شد و سپس وزن نمونه ها هر روز با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری شد و به مدت ۲۸ روز در یخچال در دمای ۱۵-۱۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند. درصد کاهش وزن نمونه ها از طریق رابطه ۱ محاسبه شد [۱۹].

رابطه شماره ۱ درصد کاهش وزن

۱۰۰\*(وزن میوه در روز اول / وزن میوه بعد گذشت زمان (۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸ روز) - وزن میوه روز اول) = درصد کاهش وزن

#### ۲-۹- آزمون اندازه گیری رطوبت:

#### ۲-۵- آزمون شمارش کپک های هوازی و بی هوازی :

ابتدا ۱ گرم نمونه گواوا را در زیر هود میکروبی وزن نموده و در ۱۰ سی سی محلول رینگر حل شده، 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 گردید و در محیط کشت DG18 به صورت پورپلیت دو لایه در جار بی هوازی کشت داده شد. بعد از در آون خلاء ۳۷ درجه سانتی گراد و با استفاده از گاز پک به مدت ۷۲ ساعت جهت شمارش کپک های هوازی و بی هوازی اختیاری در پلیت های چند قسمتی نگهداری شد. سپس از دستگاه کلنی کانت برای شمارش تعداد کپک استفاده شد [۱۴، ۱۵].

#### ۲-۶- آزمون اندازه گیری pH :

آزمایش pH با دستگاه لاموته آمریکایی<sup>۱۰</sup> انجام شد و دستگاه pH متر به ترتیب توسط محلول بافر با pH ۷ و همچنین محلول بافر با pH ۴ کالیبره شده و سپس، مقداری نمونه را در یک بشر خشک و تمیز ریخته شده و الکتروود دستگاه pH متر درون آن قرار گرفت و پس از گذشت مدت زمان اندک دمای pH متر با توجه به دمای نمونه تنظیم گردیده و پس از ثابت شدن عدد، pH نمونه قرائت شد [۱۶].

#### ۲-۷- سفتی پوست و ساختار گواوا تو سرخ :

بافت یکی از خواص فیزیکی مواد غذایی است که بیانگر کیفیت آنها می باشد. بافت محصولات غذایی و کشاورزی شامل گستره وسیعی از تعاریف و شاخصها می باشد. این شاخصها شامل ویسکوزیته، سفتی، نرمی، خاصیت کشسانی و کشش پذیری می باشد که برای اندازه گیری هر یک از این ویژگیها دستگاه خاصی مورد استفاده قرار می گیرد. روشهای

## ۲-۱۲- روش تجزیه و تحلیل اطلاعات:

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها به صورت آزمایشگاهی انجام گردید که به صورت کاملاً تصادفی از نوع مقادیر تکرارشونده بود در جهت تشخیص کاملاً معنادار بودن ( $p < 0.01$ ) یا معنا دار بودن ( $p < 0.05$ ) عدم تشخیص معنی دار بودن ( $p > 0.05$ ) از تجزیه واریانس دوطرفه<sup>۱۳</sup> و مقایسه میانگین‌ها با آزمون برای تیمار که شامل نمونه گاوآلوده شده به اسپرژیلوس نایجر و استفاده از ۵ غلظت تحت اثر اسانس میخک هندی بر گاوآلوده تو سرخ در سه تکرار صورت گرفت.

## ۳- یافته‌ها و نتایج:

## ۳-۱- شمارش کلی کپک:

در جدول شماره ۲ لگاریتم کپک در نمونه های گاوآلوده تحت تیمار اسانس میخک هندی و بدون اسانس آمده است، در روز اول گاوآلوده شده دارای  $\text{Log cfu/ml}$  ۴ بود که این مقدار بیشترین مقدار  $\text{Log cfu/ml}$  در بین تیمارها بود. و پایین ترین مقدار  $\text{Log cfu/ml}$  در روز اول مربوط به گاوآلوده تیمار اسانس میخک هندی با غلظت ۰/۷ میلی گرم بر صد گرم با  $\text{Log cfu/ml}$  ۲/۰۱ بود. روند تغییرات در طول زمان نگهداری از روز اول تا روز ۲۸ روند رشد، کپک های هوازی و بی هوازی برای کلیه تیمارها یکسان و افزایش معنی داری در شمارش تعداد کپک هوازی و بی هوازی وجود داشت ( $P < 0.05$ ). شرایط نگهداری تمام نمونه های گاوآلوده در دمای ۱۵-۱۸ درجه سانتی گراد بوده است. در روز ۲۸ بیشترین  $\text{Log cfu/ml}$  مربوط به تیمار گاوآلوده شده با اسپرژیلوس نایجر با مقدار  $\text{Log cfu/ml}$  ۵/۸۱ و کمترین مقدار  $\text{Log cfu/ml}$  ۳/۵۲ گاوآلوده تحت تیمار اسانس میخک هندی با غلظت ۰/۷ میلی گرم بر صد گرم بوده است.

محتوای رطوبت با اندازه گیری وزن قبل و بعد از نگهداری در آون ۱۱۰ درجه تا رسیدن به وزن ثابت بررسی می گردد [۱۹].

رابطه شماره ۲- روش محاسبه رطوبت:

وزن قبل از قرار گیری در آون - وزن بعد از قرار گیری در آون \* ۱۰۰ = درصد رطوبت  
۲-۱۰- رنگ:

ظاهر محصول یکی از مهمترین خصوصیات کیفی حسی در مواد غذایی تازه و فرآیند شده و همچنین ارزش فروش آنها می باشد. رنگ میوه ها و سبزیها در اثر رنگدانه های طبیعی شامل کلروفیل محلول در آب (سبز)، کاروتنوئیدها (زرد، نارنجی و قرمز)، آنتوسیانین های محلول در آب (قرمز و آبی)، فالونوئیدها (زرد) و بتالائین (قرمز) ایجاد می شود [۲۰]. رنگ سطح مواد غذایی مهمترین پارامتر کیفی از نظر مصرف کننده می باشد. از این رو در پذیرش محصول دارای اهمیت ویژه ای می باشد. آزمون رنگ سنجی با استفاده از دستگاه رنگ سنج مدل TES ۱۳۵ انجام شد. برای انجام آزمون، ابتدا دستگاه با صفحات استاندارد کالیبره شد. تغییرات رنگ نمونه های گاوآلوده تو سرخ شاهد و تیمار شده با پلاسما در طول مدت نگهداری با استفاده از اندازه گیری شاخص روشنایی  $L^*$  (سیاه-سفید) و شاخص های  $a^*$  (قرمز-سبز) و  $b^*$  (آبی-زرد) ارزیابی شد.

۲-۱۱- بررسی اثر آنتی اکسیدانی گاوآلوده تو سرخ با استفاده از محلول DPPH

گاوآلوده تو سرخ به اضافه ۲ میلی لیتر از محلول رادیکالی DPPH با غلظت ۱۵٪ میلی مول بر لیتر مخلوط گردید و به منظور رقیق شدن نمونه برای قرارگیری در محدوده خطی جذب مقدار ۲ میلی لیتر متانول به مخلوط اضافه شد و پس از ۴۵ دقیقه قرارگرفتن در تاریکی، جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرار گرفت. برای به دست آمدن میزان جذب محلول DPPH نمونه با ترکیب ۲ میلی لیتر از متانولی رادیکال DPPH با ۳ میلی لیتر متانول خالص استفاده شد [۲۱].

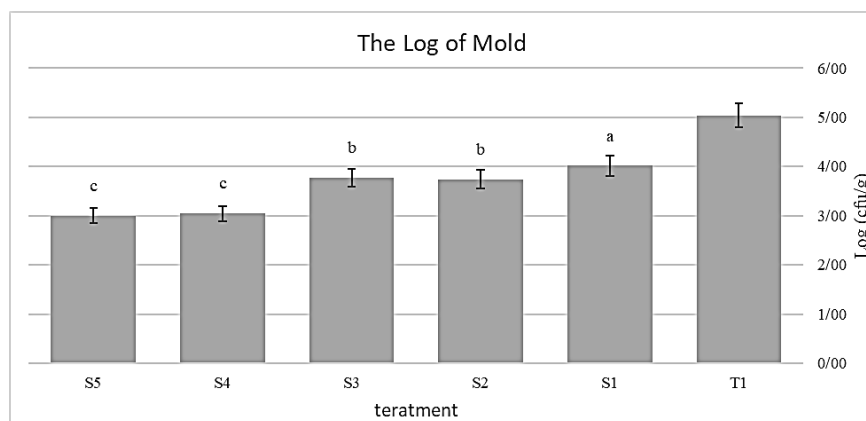
Table No. 2- Comparison of mold Log cfu/ml of guava infected with *Aspergillus niger* and guava infected under *Daphne odora* essential oil treatment from day 1 to day 28

| Day 28                     | Day 21                    | Day 14                    | Day 7                     | Day 1                     | treatment      |
|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------|
| 4.62 ± 0.001 <sup>a</sup>  | 4.51 ± 0.011 <sup>a</sup> | 4.22 ± 0.013 <sup>a</sup> | 3.75 ± 0.024 <sup>a</sup> | 2.98 ± 0.019 <sup>a</sup> | S1             |
| 4.54 ± 0.021 <sup>ab</sup> | 4.42 ± 0.041 <sup>b</sup> | 4.15 ± 0.018 <sup>b</sup> | 3.67 ± 0.021 <sup>b</sup> | 2.92 ± 0.009 <sup>a</sup> | S2             |
| 4.25 ± 0.023 <sup>b</sup>  | 4.15 ± 0.021 <sup>c</sup> | 3.95 ± 0.005 <sup>c</sup> | 3.48 ± 0.018 <sup>c</sup> | 2.82 ± 0.028 <sup>b</sup> | S3             |
| 3.52 ± 0.014 <sup>c</sup>  | 3.52 ± 0.033 <sup>d</sup> | 3.23 ± 0.043 <sup>d</sup> | 2.85 ± 0.038 <sup>d</sup> | 2.01 ± 0.028 <sup>c</sup> | S4             |
| 3.58 ± 0.019 <sup>d</sup>  | 3.48 ± 0.05 <sup>e</sup>  | 3.18 ± 0.006 <sup>e</sup> | 2.7 ± 0.024 <sup>e</sup>  | 2.05 ± 0.026 <sup>d</sup> | S5             |
| 5.81 ± 0.039               | 5.62 ± 0.092              | 5.13 ± 0.012              | 4.65 ± 0.035              | 4 ± 0.006                 | T <sub>1</sub> |

Values with the same letters do not have a significant difference in Hurston ( $P > 0.05$ )

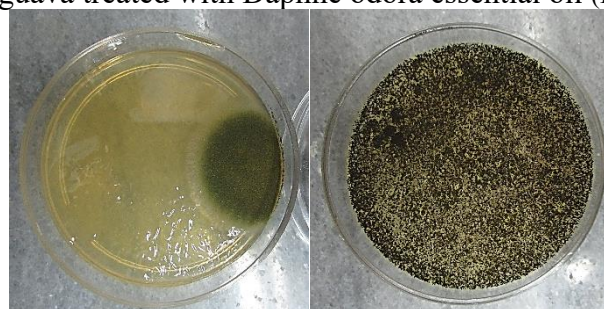
The significance level is  $p < 0.05$

T1 guava infected with *Aspergillus niger*, S1 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.4 mg/100 g, S2 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.5 mg/100 g, S3 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.6 mg/100 g, S4 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.7 mg/100 g, S5 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration 0.8 mg per 100 grams

Graph No. 1 - Comparison of the average mold log cfu/ml of guava infected with *Aspergillus niger* and guava infected with *Daphne odora* essential oil treatment from day 1 to day 28

The significance level is  $p < 0.05$

T1 guava infected with *Aspergillus niger*, S1 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.4 mg/100 g, S2 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.5 mg/100 g, S3 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.6 mg/100 g, S4 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.7 mg/100 g, S5 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration 0.8 mg per 100 grams

Photo number 1 - DG18 culture medium for guava infected with *Aspergillus niger* (A) and guava treated with *Daphne odora* essential oil (B)

B

A

### ۳-۲- ارزیابی بافت :

۲۸ بیشترین مقدار مربوط به تیمار گواوا با غلظت ۰/۸ و با

ارزیابی بافت نمونه ها با دستگاه مگنيس تیلور بر روی گواوا  
 ها در جدول شماره ۳ انجام شد و در روز اول  $\text{Kg/cm}^3$   
 عدد ۲/۸۴ بوده است و کمترین مقدار سفتی بافت  
 مربوط به گواوا آلوده شده با آسپرژیلوس نایجر بدون اسانس  
 ۴/۷۶ بوده است و در طی نگهداری کاهش می یابد. در روز می باشد.

Table No. 3- Tissue comparison ( $\text{Kg/cm}^3$ ) of guava infected with *Aspergillus niger* and guava infected with *Daphne odora* essential oil treatment from day 1 to day 28

| Day 28             | Day 21             | Day 14             | Day 7              | Day 1              | treatment |
|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------|
| $2.17 \pm 0.015^d$ | $2.8 \pm 0.235^d$  | $3.26 \pm 0.115^b$ | $4 \pm 0.23^b$     | $4.76 \pm 0.165^a$ | S1        |
| $2.35 \pm 0.19^c$  | $3 \pm 0.195^c$    | $3.18 \pm 0.04^c$  | $4.01 \pm 0.145^b$ | $4.76 \pm 0.165^a$ | S2        |
| $2.64 \pm 0.02^d$  | $3.11 \pm 0.145^b$ | $3.55 \pm 0.04^b$  | $4.21 \pm 0.13^a$  | $4.76 \pm 0.165^a$ | S3        |
| $2.83 \pm 0.225^b$ | $3.31 \pm 0.2^a$   | $3.87 \pm 0.08^a$  | $4.28 \pm 0.14^a$  | $4.76 \pm 0.165^a$ | S4        |
| $2.84 \pm 0.12^a$  | $3.67 \pm 0.225^a$ | $3.9 \pm 0.06^b$   | $4.3 \pm 0.15^a$   | $4.76 \pm 0.165^a$ | S5        |
| $0.51 \pm 0.04$    | $0.98 \pm 0.1$     | $1.38 \pm 0.03$    | $2.43 \pm 0.065$   | $4.76 \pm 0.165$   | T1        |

The

significance level is  $p < 0.05$

Values with the same letters do not have a significant difference in Hurston ( $P > 0.05$ ). The tissue evaluation value on the first day (4.76) was the same for all treatments (a). Values with the same letters for day 7 were S3, S4, and S5 (a) and S1 and S2 (b). For the fourteenth day, S1, S3, and S5 are equal to (b), and on the twenty-first day, S4 and S5 are equal to (a), and on the twenty-eighth day, S1 and S3 are equal to (d).

T1 guava infected with *Aspergillus niger*, S1 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.4 mg/100 g, S2 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.5 mg/100 g, S3 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.6 mg/100 g, S4 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.7 mg/100 g, S5 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration 0.8 mg per 100 grams

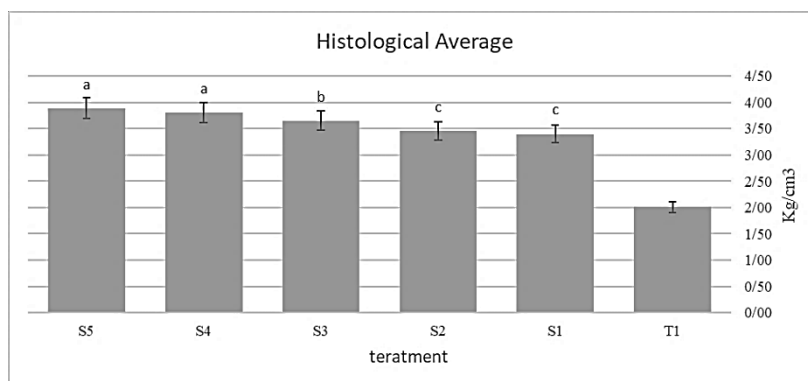


Chart No. 2 - Comparison of average texture ( $\text{Kg/cm}^3$ ) of guava infected with *Aspergillus niger* and infected guava treated with *Daphne odora* essential oil from day 1 to day 28

T1 guava infected with *Aspergillus niger*, S1 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.4 mg/100 g, S2 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.5 mg/100 g, S3 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.6 mg/100 g, S4 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.7 mg/100 g, S5 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration 0.8 mg per 100 grams

### ۳-۳- ارزیابی pH :

در ارزیابی pH گواوا جدول شماره ۴ کلیه تیمار ها در روز

اول عدد ۴/۸ بوده و در طی فرآیند نگهداری در طول ۲۸ روز

در کلیه تیمار ها روند کاهشی داشته است.

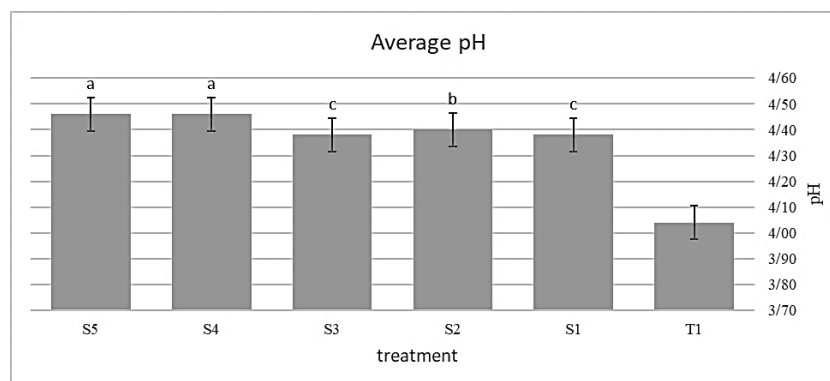
Table No. 4- pH comparison of guava infected with *Aspergillus niger* and guava infected with *Daphne odora* essential oil treatment from day 1 to day 28

| Day 28          | Day 21          | Day 14          | Day 7           | Day 1           | treatment |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------|
| $4 \pm 0^c$     | $4.2 \pm 0.2^b$ | $4.4 \pm 0.2^b$ | $4.6 \pm 0.1^a$ | $4.8 \pm 0.1^a$ | S1        |
| $4 \pm 0.1^c$   | $4.2 \pm 0.1^b$ | $4.3 \pm 0.1^c$ | $4.6 \pm 0.1^a$ | $4.8 \pm 0.1^a$ | S2        |
| $3.9 \pm 0.2^d$ | $4.2 \pm 0.2^b$ | $4.4 \pm 0^b$   | $4.6 \pm 0.2^a$ | $4.8 \pm 0.1^a$ | S3        |
| $4.1 \pm 0.1^b$ | $4.3 \pm 0.2^a$ | $4.5 \pm 0.2^a$ | $4.6 \pm 0.2^a$ | $4.8 \pm 0.1^a$ | S4        |
| $4.2 \pm 0.1^a$ | $4.3 \pm 0.1^a$ | $4.4 \pm 0.2^b$ | $4.6 \pm 0.2^a$ | $4.8 \pm 0.1^a$ | S5        |
| $3.6 \pm 0.1$   | $3.7 \pm 0.1$   | $3.9 \pm 0.1$   | $4.2 \pm 0.2$   | $4.8 \pm 0.1$   | T1        |

The significance level is  $p > 0.05$

Values with the same letters in Hurston do not have significant differences ( $P > 0.05$ ). And the pH value on the first day was the same for all treatments (4.8). The pH value for all *Daphne odora* essential oil treatments was 4.6 (a) on the seventh day. and on the fourteenth day S1, S3 and S5 equal to (b) and on the twenty-first day S4 and S5 equal to (a) and S1, S2 and S3 treatment equal to (b) and on the twenty-eighth day S1 and S2 treatment It is equal to (c).

T1 guava infected with *Aspergillus niger*, S1 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.4 mg/100 g, S2 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.5 mg/100 g, S3 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.6 mg/100 g, S4 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.7 mg/100 g, S5 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration 0.8 mg per 100 grams

Graph No. 3- Comparison of the average pH of guava infected with *Aspergillus niger* and guava infected with Indian *Daphne odora* essential oil from the first day to the 28th day

The significance level is  $p > 0.05$

T1 guava infected with *Aspergillus niger*, S1 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.4 mg/100 g, S2 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.5 mg/100 g, S3 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.6 mg/100 g, S4 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.7 mg/100 g, S5 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration 0.8 mg per 100 grams

۳-۴ درصد کاهش وزن : گواوا آورده شده است. با توجه به فعالیت میکروبی بالا و همچنین آسیب بافت در گواوا آلوده شده به آسپرژیلوس نایجر بدون اسانس دارای بالاترین مقدار کاهش وزن و بالاترین مقدار غلظت اسانس در تیمار ها دارای پایین ترین مقدار کاهش وزن قابل مشاهده می باشد.

درصد کاهش وزن میوه گواوا پس از محاسبه و توزین گواوا مشخص شده هر تیمار در زمان های یک هفته و ۱۴ روز و ۲۱ روز و ۲۸ روز محاسبه شده و با مقایسه و تناسب آن با وزن اولیه در روز اول مقدار درصد کاهش وزن، محاسبه شده است. در جدول شماره ۵ مقدار درصد کاهش تیمار های

Table No. 5- Comparison of weight loss percentage of guava infected with *Aspergillus niger* and infected guava treated with *Daphne odora* essential oil from the 7th day to the 28th day

| Day 28                    | Day 21                    | Day 14                    | Day 7                     | treatment |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------|
| 27.24 ± 0.47 <sup>a</sup> | 24.75 ± 0.01 <sup>c</sup> | 15.90 ± 0.09 <sup>a</sup> | 11.12 ± 0.28 <sup>c</sup> | S1        |
| 27.09 ± 0.03 <sup>a</sup> | 25.92 ± 0.3 <sup>b</sup>  | 14.76 ± 0.27 <sup>b</sup> | 11.31 ± 0.32 <sup>b</sup> | S2        |
| 26.94 ± 0.28 <sup>b</sup> | 23.77 ± 0.25 <sup>d</sup> | 14.09 ± 0.27 <sup>c</sup> | 11.40 ± 0.12 <sup>a</sup> | S3        |
| 25.10 ± 0.44 <sup>c</sup> | 22.09 ± 0.36 <sup>e</sup> | 14.01 ± 0.21 <sup>c</sup> | 11.01 ± 0.43 <sup>d</sup> | S4        |
| 25.03 ± 0.17 <sup>b</sup> | 22.13 ± 0.44 <sup>a</sup> | 13.95 ± 0.12 <sup>d</sup> | 10.26 ± 0.46 <sup>e</sup> | S5        |
| 55.18 ± 0.34              | 35.5 ± 0.11               | 27.31 ± 0.37              | 19 ± 0.24                 | T1        |

The significance level is  $p < 0.05$

Values with the same letters in Hurston do not have significant differences ( $P > 0.05$ ). The values with the same letters on the fourteenth day S3 and S4 are equal to (c) and on the twenty-eighth day S1 and S2 are equal to (a) and S1 and S2 are equal to (a) and S3 and S5 are equal to (b).

T1 guava infected with *Aspergillus niger*, S1 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.4 mg/100 g, S2 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.5 mg/100 g, S3 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.6 mg/100 g, S4 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.7 mg/100 g, S5 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration 0.8 mg per 100 grams

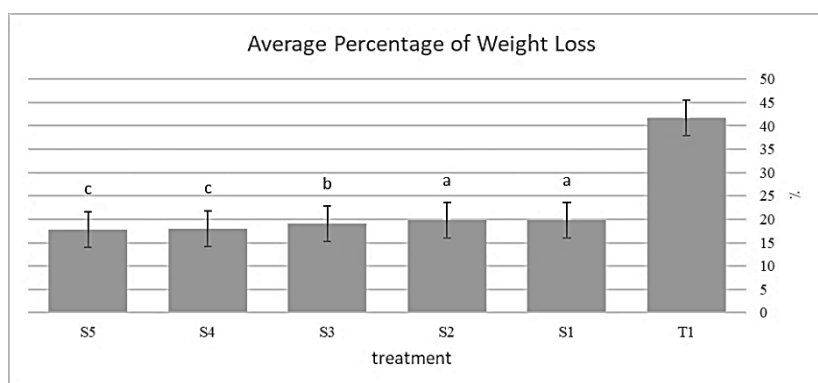


Chart No. 4 - Comparison of the average weight loss percentage of guava infected with *Aspergillus niger* and guava infected with *Daphne odora* essential oil treatment from the first day to the 28th day

The significance level is  $p < 0.05$

T1 guava infected with *Aspergillus niger*, S1 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.4 mg/100 g, S2 infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.5 mg/100 g, S3 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.6 mg/100 g, S4 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration of 0.7 mg/100 g, S5 Infected guava treated with *Daphne odora* essential oil with a concentration 0.8 mg per 100 grams

مقدار DPPH مربوط به گواوا آلوده شده تحت تیمار اسانس : DPPH درصد ۳-۵

در جدول شماره ۶ نتایج آزمون DPPH در تیمارهای گواوا میخک هندی با غلظت ۰/۸ و کمترین مربوط به گواوا آلوده شده با آسپرژیلوس نایجر می باشد.

Table No. 6- Comparison of DPPH percentage of guava infected with *Aspergillus niger* and guava infected with *Daphne odora* essential oil treatment

| T1       | S5                    | S4                    | S3                    | S2                    | S1                    | treatment |
|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|
| 46 ± 0.2 | 54 ± 0.3 <sup>b</sup> | 55 ± 0.1 <sup>a</sup> | 52 ± 0.1 <sup>d</sup> | 53 ± 0.1 <sup>c</sup> | 52 ± 0.1 <sup>d</sup> | DPPHse%   |

The significance level is  $p < 0.05$

Values with the same letters do not have a significant difference in Hurston ( $P > 0.05$ ).

T1 guava infected with *Aspergillus niger*, S1 infected guava treated with Daphne odora essential oil with a concentration of 0.4 mg/100 g, S2 infected guava treated with Daphne odora essential oil with a concentration of 0.5 mg/100 g, S3 Infected guava treated with Daphne odora essential oil with a concentration of 0.6 mg/100 g, S4 Infected guava treated with Daphne odora essential oil with a concentration of 0.7 mg/100 g, S5 Infected guava treated with Daphne odora essential oil with a concentration 0.8 mg per 100 grams

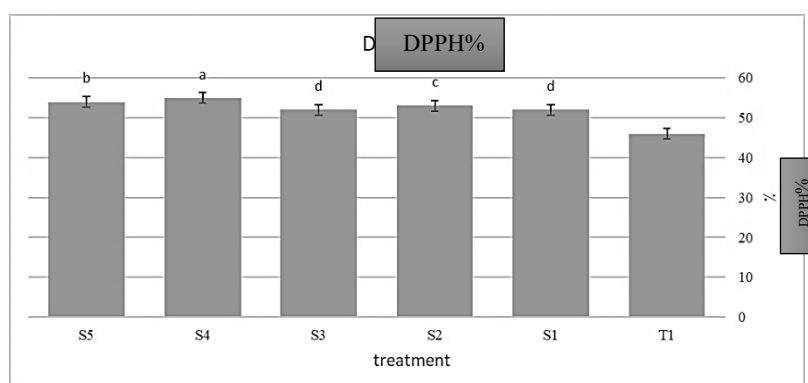


Chart No. 5 - Comparison of the average DPPH of guava infected with *Aspergillus niger* and guava infected with Daphne odora essential oil treatment from the first day to the 28th day

The significance level is  $p < 0.05$

T1 guava infected with *Aspergillus niger*, S1 infected guava treated with Daphne odora essential oil with a concentration of 0.4 mg/100 g, S2 infected guava treated with Daphne odora essential oil with a concentration of 0.5 mg/100 g, S3 Infected guava treated with Daphne odora essential oil with a concentration of 0.6 mg/100 g, S4 Infected guava treated with Daphne odora essential oil with a concentration of 0.7 mg/100 g, S5 Infected guava treated with Daphne odora essential oil with a concentration 0.8 mg per 100 grams

Table No. 7- Analysis of variance of the effect of the log of mold on the treatment of infected guava with Daphne odora essential oil

| Test                      | Source  | DF | Adj SS   | Adj MS   | F-Value            | P-Value |
|---------------------------|---------|----|----------|----------|--------------------|---------|
| Mold                      | density | 1  | 0.7453   | 0.74529  | 20.59*             | 0.020   |
| Mold                      | Error   | 3  | 0.1086   | 0.03620  |                    |         |
| Mold                      | Total   | 4  | 0.8539   |          |                    |         |
| texture                   | density | 1  | 0.176890 | 0.176890 | 115.61**           | 0.002   |
| texture                   | Error   | 3  | 0.004590 | 0.001530 |                    |         |
| texture                   | Total   | 4  | 0.181480 |          |                    |         |
| pH                        | density | 1  | 0.004840 | 0.004840 | 7.72 <sup>ns</sup> | 0.069   |
| pH                        | Error   | 3  | 0.001880 | 0.000627 |                    |         |
| pH                        | Total   | 4  | 0.006720 |          |                    |         |
| Percentage of Weight Loss | density | 1  | 3.0058   | 3.00578  | 32.26*             | 0.011   |
| Percentage of Weight Loss | Error   | 3  | 0.2795   | 0.09318  |                    |         |
| Percentage of Weight Loss | Total   | 4  | 3.2853   |          |                    |         |
| DPPH                      | density | 1  | 3.600    | 3.600    | 3.38 <sup>ns</sup> | 0.164   |
| DPPH                      | Error   | 3  | 3.200    | 1.067    |                    |         |
| DPPH                      | Total   | 4  | 6.800    |          |                    |         |

The sign \*\* indicates a The difference is quite significant ( $p < 0.01$ ).

The sign \* indicates a significant difference ( $0.01 < p < 0.05$ )

ns sign indicates non-significance ( $p > 0.05$ )

۳-۶- تغییرات رنگ گواوا:

تغییرات رنگی در طی نگهداری میوه گواوا در پارامتر  $\Delta E$  بصورت روند افزایشی و رابطه آن معنی دار نبوده ( $P > 0.05$ ) و در پارامتر  $\Delta h$  روند کاهشی و رابطه معنی دار بوده است.

Table No. 8- Investigation of the color indicators of the infected red Guara under the treatment of *Daphne odora* essential oil

| Des. Day | L*   | a*    | b*   | $\Delta E$ | $\Delta h$ |
|----------|------|-------|------|------------|------------|
| 1        | 53/7 | -37/5 | 52/2 | 0          | 0          |
| 7        | 38   | -17/4 | 35/7 | 30/4       | -9/62      |
| 14       | 37/6 | -15   | 35/3 | 32/4       | -12/7      |
| 21       | 46/2 | -8/23 | 36/3 | 34/1       | -22/9      |
| 28       | 34/1 | -6/36 | 26/9 | 44/6       | -22/4      |

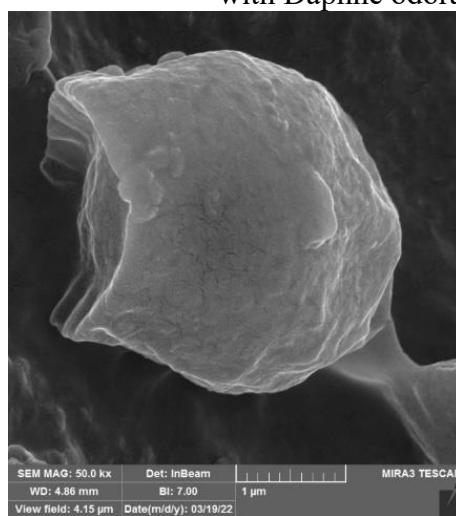
Table No. 9- Analysis of variance of the average effect of  $\Delta E$ ,  $\Delta h$  on the treatment of infected guava treated with *Daphne odora* essential oil:

| Test       | Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value            | P-Value |
|------------|--------|----|--------|--------|--------------------|---------|
| $\Delta E$ | Day    | 1  | 836.0  | 835.96 | 8.78 <sup>ns</sup> | 0.059   |
| $\Delta E$ | Error  | 3  | 285.5  | 95.16  |                    |         |
| $\Delta E$ | Total  | 4  | 1121.4 |        |                    |         |
| $\Delta h$ | Day    | 1  | 333.79 | 333.79 | 31.57*             | 0.011   |
| $\Delta h$ | Error  | 3  | 31.72  | 10.57  |                    |         |
| $\Delta h$ | Total  | 4  | 365.51 |        |                    |         |

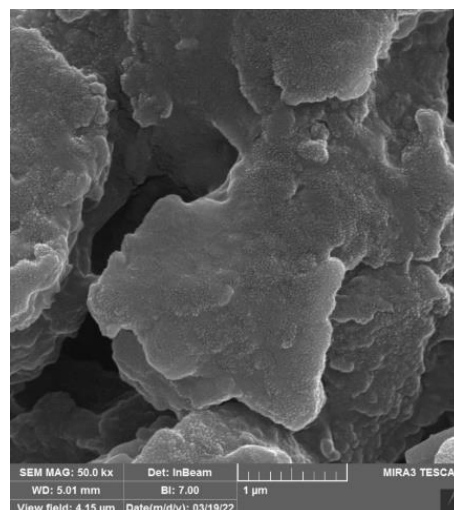
The sign \* indicates a significant difference ( $0.01 < p < 0.05$ ).

ns sign indicates non-significance ( $p > 0.05$ )

Photo number 2- SEM of guava infected with *Aspergillus niger* (C) and infected guava treated with *Daphne odora* essential oil (D)



C



D

را دارا می باشد و همچنین درروز اول برای غلظت ۰/۱ درصد به مقدار ۱ لگاریتم بار میکروبی آسپرژیلوس نایجر را در میوه گواوا کاهش داده و بهترین مقدار کاهش برای درصد اسانس به مقدار ۰/۷ اختصاص یافت با مقدار ۱/۹۵ لگاریتم کاهش آلودگی و روند غلظت اسانس با اثر کشندگی اسانس دارای رابطه معنا داری می باشد ( $P < 0.05$ ). این روند کاهشی

#### ۴-تحلیل :

در بررسی اثر اسانس میخک هندی بر میوه گواوا آلوده شده به آسپرژیلوس نایجر با رقت ۱۰۴ نشان دهنده این موضوع می باشد که پس از بررسی اثر کشندگی اسانس میخک هندی مشخص گردید که غلظت بالاتر از ۰/۴ دارای اثر کشندگی

در روزهای ۷ و ۱۴ و ۲۱ و ۲۸ نیز ادامه دارد بطوری که در روز ۲۸ لوگاریتم میوه گواوا آلوده شده به مقدار  $5/81$  CFU/ml می رسد که بالاترین بار میکروبی در این آزمون بوده است و کمترین مقدار مربوط به  $S4$  با مقدار  $3/52$  CFU/ml می باشد که به مقدار  $2/29$  لوگاریتم کمتر از گواوا آلوده شده می باشد با این حال با گذشت ۲۸ روز بار میکروبی تیمار  $S4$  و  $S5$  کمتر از  $T1$  روز اول می باشد. این امر نشان دهنده این موضوع می باشد که بهترین اثر کشندگی بار میکروبی کپک برای اسانس میخک هندی در میوه گواوا با توجه به ترکیبات این میوه و خصوصیات فیزیکیوشیمیایی آن مقدار  $0/7$  و  $0/8$  میلی گرم در  $100$  گرم می باشد. در تجزیه واریانس غلظت اسانس میخک هندی در گواوا  $F\_Value$  برابر  $20/59$  با سطح معنی داری  $(P = 0/02)$  بوده است.

در ارزیابی بافت میوه گواوا در روز اول به مقدار  $4/76$  برای تمام تیمار ها بوده است و این مقدار در اثر گذشت زمان با توجه به واکنش های شیمیایی داخل میوه و تاثیر عوامل دیگر کاهش پیدا می کند و بافت میوه شل می گردد. این مقدار به حدی کاهش پیدا می کند که در میوه گواوا آلوده شده بدون اسانس به مقدار  $0/51$   $Kg/cm^3$  و برای  $S5$  به بالاترین مقدار خود یعنی  $2/84$   $Kg/cm^3$  می رسد. روند کاهش مقاومت بافتی و سطحی میوه گواوا با غلظت اسانس میخک هندی دارای رابطه کاملاً معنی دار  $P = 0/002$  می باشد. و در بهترین حالت که برای تیمار  $S5$  می باشد به مقدار  $1/92$   $Kg/cm^3$  کاهش و در بدترین حالت غلظت اسانس مقدار  $0/4$  میلی گرم در  $100$  گرم معادل  $2/59$   $Kg/cm^3$  کاهش می باشد این در حالی است که در میوه گواوا آلوده شده به مقدار  $4/25$   $Kg/cm^3$  کاهش وجود داشته است. این امر نشان می دهد که تاثیر اسانس در حفظ ساختار بافت میوه گواوا موثر بوده و دارای رابطه کاملاً معنا دار  $p < 0/01$  می باشد.

در ارزیابی pH در روز اول برای تمام غلظت ها و حتی گواوا آلوده شده با آسپرژیلوس نایجر هدد  $4/8$  بود در حالی که با افزایش مدت زمان از روز اول تا روز ۲۸ pH کاهش یافته ولی رابطه معنی داری بین غلظت اسانس میخک هندی و

مدت زمان وجود نداشت  $(p > 0/05)$ . در روز ۲۸ مقدار pH تیمار  $T1$  به مقدار  $1/2$  کاهش یافته و محیطی اسیدی شکل داده که این امر نشان دهنده خرابی و فساد کامل میوه گواوا آلوده شده با آسپرژیلوس نایجر می باشد ولی pH نمونه های تیمار اسانس میخک هندی بین  $0/8$  تا  $0/4$  در روز ۲۸ کاهش داشته که این امر نشان دهنده این موضوع می باشد که اسانس میخک هندی توانسته تعادل pH را برای میوه گواوا به ارمغان آورد. عدد  $F\_Value$  در pH  $7/72$  و عدد  $P\_Value$  معادل  $0/69$  بوده است که نشان دهنده رابطه غیر معنی دار می باشد.

در ارزیابی کاهش درصد وزن گواوا تا ۲۸ روز میزان کاهش درصد وزن با میزان غلظت اسانس میخک هندی رابطه معنی داری  $(P < 0/05)$  دارد. با افزایش میزان غلظت اسانس میخک هندی از میزان  $0/4$  به  $0/8$  میزان کاهش درصد وزن کاهش می یابد که نشان دهنده حفظ کیفیت بیشتر و جلوگیری از مصرف آب و  $a_w$  گواوا توسط میکروارگانیسم ها می باشد. همچنین میزان کاهش وزن در گواوا آلوده شده بیشترین مقدار کاهش می باشد که نشان دهنده از بین رفتن آب میوه گواوا می باشد و رنج درصد کاهش وزن در میوه گواوا با اسانس میخک هندی بین  $25/03$  تا  $27/24$  می باشد. بیشترین مقدار کاهش وزن در هفته اول رخ داده است و کمترین مقدار درصد کاهش وزن از روز ۲۱ تا ۲۸ می باشد. عدد  $F\_Value$  برای میانگین درصد کاهش وزن  $32/26$  بوده است با عدد  $F\_Value$  معادل  $0/11$  بوده است.

در ارزیابی DPPH پایین ترین مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به گواوا آلوده شده می باشد و بیشترین مقدار مربوط به گواوا آلوده تحت تیمار اسانس میخک هندی با غلظت  $0/7$  میلی گرم در  $100$  گرم می باشد که این مقدار معادل  $55$  می باشد و نشان دهند این موضوع می باشد که این میوه در روز ۲۸ نیز قابلیت مصرف دارد. عدد  $F\_Value$  تیمار  $3/38$  و عدد  $P\_Value$  معادل  $0/164$  می باشد که نشان دهند رابطه غیر معنی دار می باشد.

در ارزیابی رنگ میوه گواوا پارامترهای میانگین  $\Delta E$ ،  $\Delta h$  نشان می دهد که  $\Delta E$  در حال افزایش و  $\Delta h$  در حال کاهش می

سانتی گراد) داشت [۲۲]. که نشان دهنده اثر اسانس میخک هندی در حفظ کیفیت و ماندگاری میوه گواوا نیز می شود. در مطالعه ای یک راه حل پایدار برای حفظ کیفیت لیچی با ارزیابی تأثیر پوشش های نانوامولسیون موم کارناوبا در غلظت های مختلف، با یا بدون اسانس های میخک هندی و نعنای فلفلی<sup>۱۵</sup> بر نگهداری لیچی پس از برداشت بود که منجر به افزایش کیفیت میوه لیچی پس از برداشت گردید [۲۳]. درمان با اسانس میخک هندی موجب حفظ کیفیت میوه های لیچی از جمله رنگ، pH و TSS شد. اسانس های میخک جزو اجزای اصلی بود [۲۴]. در پژوهش دیگر اسانس میخک هندی روی بازدارندگی از رشد قارچ های انباری *F. solani*، *A. alternata* و *B. cinerea* تأثیر بسزایی داشت، اما دامنه تأثیر غلظت های مختلف آن روی این قارچ ها متفاوت بود. پیش از این نیز فعالیت ضد قارچی، ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی در اسانس و عصاره میخک و ترکیب های مشتق شده از آن به اثبات رسیده است [۲۵].

#### ۶- نتیجه گیری نهایی :

میخک سرشار از ترکیبات فنولیک به ویژه اورژنول است که دارای آنتی اکسیدان، ضد التهاب، ضد میکروبی، ضد قارچ و خواص ترمیم زخم را نشان داده اند. افزودن اسانس به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در محصولات غذایی و لبنی و ماتریس های غذایی و همچنین جایگزینی برای نگهدارنده های مصنوعی بوده است [۲۴]. نگهدارنده های شیمیایی به طور گسترده ای به عنوان رویکرد اولیه برای جلوگیری از فساد مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرند، اما پذیرش آنها در بین مصرف کنندگان به تدریج در حال کاهش است [۲۵]. با توجه به پتانسیل درمانی اسانس میخک هندی، به عنوان یک عنصر زیست فعال در پوشش میوه ها و سبزیجات تازه استفاده شده است [۲۶]. و با توجه به خاصیت ضد میکروبی آن می تواند برای کاهش بار میکروبی مورد استفاده قرار گیرد و اما بهترین تیمار برای نگهداری میوه گواوا و همچنین

باشد و رابطه معنی داری برای  $\Delta E$  وجود ندارد و عدد F-Value  $8/78$  و عدد P-Value معادل  $0/09$  می باشد. برای  $\Delta h$  عدد F-Value  $31/57$  و عدد P-Value معادل  $0/01$  می باشد. که نشان دهنده رابطه معنی دار بین غلظت و میزان  $\Delta h$  می باشد ( $P < 0/05$ ).

در ارزیابی SEM<sup>۱۴</sup> نشانه هایی از آسیب های سطحی و تغییرات مورفولوژیکی در پوست و بافت گواوا آلوده شده با اسپرژیلوس نابجر وجود داشت، ساختارهای قارچی روی سطح گواوا رشد کرده اند، و همچنین وجود تجمعات یا تغییرات در سطح گواوا که ممکن است ناشی از فعالیت های قارچ باشد. ولی در SEM گواوا تحت تیمار اسانس میخک هندی ساختار سطحی گواوا تحت تأثیر اسانس تغییر نکرده است، ساختارهای قارچی کاهش یافته یا از بین رفته اند، سطح گواوا شامل کاهش آسیب های ناشی از قارچ یا بهبود در ساختار سطحی می باشد.

#### ۵- بحث :

در مطالعه Shukla، اثر خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی پوشش خوراکی کیتوزان ترکیب شده با اسانس میخک بر بهبود کیفیت و ماندگاری کتلت مرغ بررسی شد. کتلت های مرغ به چهار گروه تقسیم و در پوشش های خوراکی با ترکیبات مختلف غوطه ور شدند. این چهار گروه شامل موارد زیر بودند: گروه T1 به عنوان شاهد، گروه T2 در محلول ۱٪ اسید استیک گلاسیال، گروه T3 در محلول ۱/۵٪ کیتوزان، و گروه T4 در محلول ۱/۵٪ کیتوزان مخلوط با ۰/۵٪ اسانس میخک. تیمارها به مدت ۳۵ روز در یخچال با دمای  $1 \pm 4$  درجه سانتی گراد نگهداری شده و برای ارزیابی پارامترهای کیفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج نشان داد که گروه T4 به طور معناداری ( $p < 0/05$ ) پارامترهای کیفی را نسبت به سایر تیمارها بهبود بخشیده است. این مطالعه نشان داد که گروه T4 با ماندگاری ۳۰ روز، پایدارترین تیمار در میان تمام گروه ها بود، در حالی که گروه شاهد تنها ماندگاری ۱۰ روزه را در یخچال ( $1 \pm 4$  درجه

15 -Mentha piperita (MEO)

14- Scanning electron microscope

مؤثر برای کنترل بیماری‌های پس از برداشت و حفظ کیفیت میوه‌ها، به ویژه در شرایط انبارداری، می‌تواند به بهبود امنیت غذایی و کاهش ضایعات کمک کند.

#### ۷- سپاسگزاری

مطالعه حاضر در شرکت بهار نیکو گستران و پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران انجام شده است و بدین وسیله از رئیس و کلیه کارشناسان محترم واحد‌های مذکور ریاست و کارمندان محترم پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا تشکر و قدردانی می‌گردد.

کاهش بار آلودگی در گاوآه تیمار با اسانس میخک هندی با غلظت ۰/۷ میلی گرم در ۱۰۰ گرم بوده است. زیرا مقدار لگاریتم کپک در روز ۲۸ برای این تیمار ۳/۵۲ (کمترین مقدار cfu/ml) بوده است و همچنین از نظر ارزیابی بافت تقریباً برابر با غلظت ۰/۸ میلی گرم در ۱۰۰ گرم در روز ۲۸ بوده است و از نظر میانگین کلی pH نیز برابر با غلظت ۰/۸ میلی گرم در ۱۰۰ گرم می‌باشد و از نظر ارزیابی DPPH بالاترین مقدار (عدد ۵۵) را داشته است و همچنین از نظر خصوصیات ظاهری نیز از بقیه تیمارها بهتر بوده است. استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان یک روش طبیعی و

#### ۸- منابع

- [1] [Jayasena, D.D., Kim, H.J., Yong, H.I., Park, S., Kim, K., Choe, W., Jo, C., (2015). "Flexible thin-layer dielectric barrier discharge plasma treatment of pork butt and beef loin: effects on pathogen inactivation and meat-quality attributes". Food Microbiology, 46: 51-57.
- [2] Siddig, M., Ahmed, J., Lobo, M. G., Ozadali, F., (2012). "Tropical and subtropical fruits: postharvest physiology, processing and packaging". Wiley Publishing. P. 637.
- [3] Singh, S.P., (2010). "Prospective and retrospective approaches to postharvest quality management of fresh Tropical Guava (*Psidium guajava* L.) fruit in supply chain". Fresh Produce, 4: 36 - 48.
- [4] Ahmadi, K., Qolizadeh, H., Ebadzadeh, H., Hatami, F., Hosseinpour, R., Abdshah, H., Rezaei, M.M., Fazli Estebaq, M., (2016), "Ministry of Jihad Agriculture" Planning and Economic Deputy, Information and Communication Technology Center, Agricultural Statistics, Volume 3, Horticultural Products. [In Persian]
- [5] Lim, T. K., Manicom, B.Q., (2003). "Diseases of Tropical Guava. In Ploetz, R. C. Diseases of Tropical Fruit Crops". Oxford shire, CABI, 275 - 290
- [6] Uzzaman Shakib, Akanda Khokon Miah, Mehjabin Sanzia, G.M. Masud Parvez "A short review on a Nutritional Fruit : Tropical Guava Citation: G. M. Masud Parvez et al. (2018), "A short review on a Nutritional Fruit : Tropical Guava". Opn Acc Tox & Res.1;1, 1-8.
- [7] Ahmadi, K., Qolizadeh, H., Ebadzadeh, H., Hatami, F., Hosseinpour, R., Abdshah, H., Rezaei, M.M., Fazli Estbaraq, M., 2015, Statistics Agriculture, the third volume, horticultural products, Ministry of Agricultural Jihad, Planning and Economic Deputy, Information and Communication Technology Center. [In Persian]
- [8] Yalmeh, M., Habibi Najafi, M.B., Hosseini, F., 2013, evaluation of the effect of table salt on the growth of *Aspergillus niger* isolated from tomato paste, 21st National Congress of Food Sciences and Industries of Iran, Shiraz University. [In Persian]
- [9] Mithaghi, A., Saidi, M., Nouri, N., Rezaei Golestani, M.R. (2017). Studying the effect of oregano essential oil and ethanol extract of propolis on antibacterial properties and some physical properties of biodegradable polylactic acid films, Journal of Health and Environment, Scientific Research Quarterly of the Iranian Environmental Health Scientific Association, Volume 11, Number 1, Pages 111-122. [In Persian]
- [10] Zand, N., Ayazzadeh, A., Sediqi R., Effect of modified atmosphere, *Daphne odora* essential oil and flexible envelopes on microbial and sensory properties of red pepper, 2021, first period, third issue, winter 2021, research paper pp. 57-74. [In Persian]
- [11] Ahmad, J., (2023). "Characterization of Essential Oil Composition of *Syzygium aromaticum* Linn. (Clove) by GC-MS and Evaluation of its Antioxidant Activity", Article in Journal of Angiotherapy · November 2023, DOI: 10.25163/angiotherapy.719358
- [12] Eboumbou Massodi, M., Cecilia Mime, L., Dongmo Fogang, H., Tonfack Djikeng, F., Lakshmi Karuna, M., Macaire Womeni, H., (2018). "Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Syzygium aromaticum* and *Monodora myristica* Essential Oils from Cameroon", Journal of food atability, J. Food. Stab (2018) 1(1): 1-13
- [13] Ginting, E., Retnaningrum, E., Widiasih, D., (2021). "Antibacterial activity of clove (*Syzygium*

- aromaticum) and cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) essential oil against extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing bacteria", *Veterinary World*, EISSN: 2231-0916, Available at
- [14] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2005. Characteristics and test methods of fresh vegetable and other products - The colony count method (aerobic; mold and yeast colonies counting). Iranian National Standard No. 7635. [In Persian]
- [15] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2010. Fruits and their products-measurement method of chemical and microbial properties. Iranian National Standard No. 12588. [In Persian]
- [16] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 1998. pH measurement in fruit and vegetable products. Iranian National Standard No. 4404. [In Persian]
- [17] Saberi, L., 2014. The effect of bioactive coating of aloe vera with carboxymethyl cellulose for the preservation of button mushrooms, master's thesis, Tabriz University. [In Persian]
- [18] D'Aquino, S., Continella, A., Gentile, A., Dai, S., Deng, Z., Palma, A., (2020). "Decay control and quality of individually film-wrapped lemons treated with sodium carbonate". *Food Control*, 108, 106878.
- [19] Honarvar, Z., Farhoodi, M., Khani, M. R., Mohammadi, A., Shokri, B., Ferdowsi, R., & Shojaee-Aliabadi, S. (2017). Application of cold plasma to develop carboxymethyl cellulose-coated polypropylene films containing essential oil. *Carbohydrate polymers*, 176, 1-10 .
- [20] Baygan, A., Jafari Jed, A., Mehravar, N., Habibzadeh, M., 2016, Natural pigments and their application in food industry, the first international congress and the 24th national congress of food sciences and industries of Iran. [In Persian]
- [21] Sethi, Sh., Joshi, A., Arora, B., Bhowmik, A., Sharma, R.R., Kumar, P., 2020, Significance of FRAP, DPPH, and CUPRAC assays for antioxidant activity determination in apple fruit extracts, *European Food Research and Technology*, Volume 246, pages 591–598, (2020)
- [22] Shukla, V., Mendiratta, S., Jayavant Zende, R., Agrawal, R., Jaiswal, R., (2020). "Effects of chitosan coating enriched with *Syzygium aromaticum* essential oil on quality and shelf-life of chicken patties", *journal of food processing and preservation*, First published: 13 August 2020, <https://doi.org/10.1111/jfpp.14870>
- [23] Fukuyama C., Duarte, L., Pedrino, I., Mitsuyuki, M., Bogusz Junior, S., Ferreira, M., (2024). "Effect of carnauba wax nanoemulsion associated with *Syzygium aromaticum* and *Mentha piperita* essential oils as an alternative to extend lychee post-harvest shelf life", *Sustainable Food Technology*, 2024, 2, 426–436
- [24] Fukuyama C., Duarte, L., Pedrino, I., Mitsuyuki, M., Bogusz Junior, S., Ferreira, M., (2024). "Effect of carnauba wax nanoemulsion associated with *Syzygium aromaticum* and *Mentha piperita* essential oils as an alternative to extend lychee post-harvest shelf life", *Sustainable Food Technology*, 2024, 2, 426–436
- [25] Serrano, M., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Valverde, J.M., Zapata, P.J., Castillo, S., 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*, 19: 464-471
- [26] Soares Farias, P.K., Alves da Fonseca, F.S., Ronie Martins, E., Mota Sales, M.S., Leite, A.S., Santos de Oliveira, F.B., Mendes, P.M., Azevedo, A.M., Brandi, I.V., Duraes, R.R., Almeida Ravnjak, J.M., de Souza, C.N., de Andrade Souto, C., (2022). "The addition of *Syzygium aromaticum* essential oil preserves the microbiological and physicochemical quality of the fermented milk beverage during storage", *International Journal of Advanced Engineering Research and Science (IJAERS)*, Peer-Reviewed Journal, ISSN: 2349-6495(P) | 2456-1908(O), Vol-9, Issue-5; May, 2022
- [27] Liu, W., Su, E., (2024). "Screening, evaluation and identification of promising plant extracts for development of novel natural preservatives", *Food Bioscience*, Volume 58, April 2024, 103672
- [28] Kumar Pandey, V., Srivastava, S., Ashish, Kumar Dash, K., Singh, R., Dar, A., H., Singh, T., Farooqui, A., Mukkaram Shaikh, A., (2024). "Bioactive properties of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil nanoemulsion: A comprehensive review", *Heliyon* 10 (2024) e22437



## Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: [www.fsct.modares.ir](http://www.fsct.modares.ir)

### Scientific Research

### Evaluation of the effect of *Daphne odora* essential oil on reducing the number of *Aspergillus niger* inoculated colonies on red guava fruit

Mahdi Pourhashemi<sup>1</sup>, Mahnaz HashemiRavan<sup>2\*</sup>, Dr. Nazanin Zand<sup>3</sup>, Dr. Alireza Shahab Lavasani<sup>4</sup>

1-Ph.D. student, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

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

3-Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

4-Associate professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

#### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received: 2024/10/15

Accepted: 2025/3/11

#### Keywords:

*Aspergillus niger*,

guava,

*Daphne odora* essential oil,

Shelf life

**DOI: 10.22034/FSCT.22.163.173.**

\*Corresponding Author E-

m\_hashemiravan@yahoo.com

#### ABSTRACT

This study evaluated the effect of *Daphne odora* essential oil (*Syzygium aromaticum*) on reducing *Aspergillus niger* colony counts in red-fleshed guava fruits. The objective of the research was to investigate the antimicrobial effects of *Daphne odora* essential oil at different concentrations on guava fruits infected with *Aspergillus niger*. For this purpose, various concentrations of *Daphne odora* essential oil (0.4, 0.5, 0.6, 0.7, and 0.8 mg per 100 g of fruit) were injected into the guava fruits, which were then inoculated with *Aspergillus niger*. The antimicrobial effects of *Daphne odora* essential oil were assessed by measuring mold colony counts, pH, texture firmness, weight loss percentage, moisture content, and color changes in the fruits on days 1, 7, 14, 21, and 28 at a temperature of 15-18°C. The results showed that *Daphne odora* essential oil significantly reduced the colony counts of *Aspergillus niger*. The highest reduction in mold colonies was observed at a concentration of 0.7 mg per 100 g of fruit, leading to a 2.29 log reduction in microbial load. Furthermore, weight loss percentage and pH changes were improved. Compared to untreated samples, those treated with higher concentrations of *Daphne odora* essential oil showed a significant reduction in weight loss percentage and tissue damage. The results of the DPPH antioxidant assay also indicated high antioxidant activity of *Daphne odora* essential oil. In conclusion, *Daphne odora* essential oil demonstrates potential as an effective antimicrobial agent for reducing *Aspergillus niger* contamination and improving the quality of red-fleshed guava. It could be utilized for managing post-harvest fruit decay.