بهبود خصوصیات میکروبی و بافتی سیب تازه برش خورده در طول مدت نگهداری

سمیرا محمدی[۱]، فرود باقری[۳،۲،۱]، محسن رادی[۳،۲،۱]*، صدیقه امیری

[۱] گروه علوم و صنایع غذایی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

[۲] گروه کشاورزی پایدار و امنیت غذایی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

[۳] باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

*نویسنده مسئول: m.radi@iauyasooj.ac.ir

چکیده

عمر نگهداری محصولات تازه‌برش‌خورده بسیارکوتاه است و به سرعت دچار فساد در پس از برداشت می شوند. راه‌های مختلفی جهت افزایش عمر نگهداری این محصولات وجود دارد که یکی از مواردی که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است، استفاده از بیوپلیمرهای زیست تخریب‌پذیر به‌عنوان جایگزین‌های پوشش‌های خوراکی سنتی است. هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر پوشش خوراکی آلژینات‌کلسیم حاوی اسانس آویشن بر افزایش عمر نگهداری سیب تازه‌برش خورده بود. بدین منظور، برش‌های سیب با پوشش آلژینات‌کلسیم حاوی اسانس آویشن پوشش داده شد و خصوصیات میکروبی و بافتی آن طی روزهای ۰، ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با گذشت زمان شمارش کلی و تعداد کپک و مخمر افزایش یافت اما این روند افزایشی در نمونه‌های پوشش داده شده کمتر بود. بررسی بافت نمونه‌ها نشان داد که پوشش‌دهی موجب حفظ سفتی بافت نسبت به‌نمونه کنترل شد. نتایج این تحقیق نشان داد که پوشش‌دهی برش‌های تازه سیب با فیلم آلژینات‌کلسیم و نیز فیلم آلژینات کلسیم حاوی اسانس آویشن عمر نگهداری محصول را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی : آلژینات کلسیم، اسانس آویشن، سیب تازه برش‌خورده، فیلم خوراکی، فساد میکروبی.

مقدمه

میوه‌های تازه برش‌خورده به‌عنوان یک محصول آماده مصرف مشکل میکروبی پیدا می‌کنند و این امر باعث می‌شود عمر نگه‌داری آنها کم شود، با استفاده از فیلم‌های خوراکی ضدمیکروبی می‌توان عمر نگهداری این محصولات را افزایش داد. فیلم‌های خوراکی یکی از روش‌های متداول برای حفظ کیفیت میوه‌ها و سبزی‌ها می‌باشد. میوه‌ها نیاز به اعمال روش‌های نگه‌داری خاصی دارند تا از پوسیدگی و فاسد شدن در امان باشند، پلیمرهای طبیعی که به‌عنوان فیلم‌های خوراکی تجدیدپذیر به‌کار می‌روند شامل سه دسته اصلی پلی‌ساکاریدها (از قبیل پکتین، آلژینات وکیتوسان)، لیپیدها (مانند انواع واکس‌ها) و پروتئین‌ها می‌باشند. پوشش‌های زیست تخریب‌پذیر نسبت به پلیمرهای سنتی ویژگی‌هایی از جمله زیست‌تخریب‌پذیر بودن، کنترل تنفس میوه و بازدارندگی از انتقال ترکیبات بودار را دارند (مهدی زاده، ۱۳۹۵). امروزه استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی با منشاء گیاهی و حیوانی به خاطر توانایی بالقوه آنها به‌عنوان افزودنی‌های سالم به‌منظور کنترل میکروبی، شیمیایی و افزایش ماندگاری، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. آویشن شیرازی، گیاهی درختچه‌ای و متعلق به تیره نعناعیان است که به‌طور سنتی به‌عنوان افزودنی و چاشنی در مواد غذایی استفاده می‌شود، با وارد کردن اسانس در فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر، خوراکی و تولید فیلم‌های تحت عنوان فیلم ضدمیکروبی می‌توان از فساد میکروبی و شیمیایی جلوگیری کرد (مرادی و همکاران، ۱۳۸۹). آلژینات پلی‌ساکارید استخراج شده از جلبک دریایی قهوه‌ای (Phaeophyceae) و از عوامل ژل‌ساز معمول مورد استفاده در صنایع غذایی است، زمانیکه یون‌های دو و چندظرفیتی و به‌طور معمول، Ca^{2+} با انتهای گلوکورونیک‌اسید تعامل برقرار می‌کنند منجر به‌تشکیل یک شبکه سه‌بعدی می‌شود (Mancini and McHugh., 2000). برومند و همکاران در سال ۱۳۹۲ به بررسی اثر ضدمیکروبی فیلم خوراکی کازئینی حاوی اسانس آویشن شیرازی بر سه میکروارگانیسم بیماری‌زای غذایی پرداختند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که اسانس آویشن شیرازی بیشترین تأثیر را روی باکتری گرم مثبت داشت. مرادی و همکارن در سال ۱۳۸۹ به‌بررسی ارزیابی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، رنگ و اثرات ضد باکتریایی فیلم خوراکی کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی علیه *Listeria mocytogenes* پرداختند. این مطالعه نشان داد که افزودن اسانس، موجب بهبود خصوصیات عملکردی و ضد باکتریایی فیلم می‌گردد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های سیب (رقم گلدن دلیشز- برداشت در اوایل پاییز) از باغی در یاسوج تهیه گردید و تا زمان آزمایش در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. آلژینات سدیم با نسبت گلورونیک اسید به مانورونیک اسید ۴۰/۶۰، کلریدکلسیم و پروپیلن گلیکول از شرکت مرک و اتانول ۹۵٪ از شرکت هامون طب مرکزی تهیه شدند.

آماده‌سازی فیلم آلژینات کلسیم حاوی اسانس آویشن: ابتدا ۲ درصد (وزنی/حجمی) آلژینات و پروپیلن گلیکول به میزان ۱ درصد (وزنی/حجمی) وزن شد. سپس ۲٪ آلژینات را با مقداری الکل ترکیب کرده تا آلژینات کامل حل شود و سپس با آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رساندیم و بعد ۱٪ پروپیلن گلیکول به آن اضافه کردیم و توسط هموژنایزر مغناطیسی (۸۰۰ دور دردقیقه) به مدت ۱ ساعت هم‌زده شد و در یک ظرف سرپیچ‌دار به‌مدت ۲۴ ساعت باقی‌ماند تا کامل هیدراته شد. برای تهیه فیلم حاوی اسانس میزان ۱ میلی‌لیتر اسانس آویشن و ۲۰ میلی‌لیتر توئین ۸۰ به آب مقطر با حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر افزوده شد. سپس بعد از ۲۴ ساعت وزن کرده و مقدار ۲۰ گرم درون پلیت پلی‌استایرنی ریخته و در دمای محیط به‌مدت ۴۸ ساعت گذاشته‌شد تا خشک شود (Bagheri *et al.*, 2019).

جدول۱- تیمارهای استفاده شده به‌همراه علائم اختصاری

تیمار	علامت اختصاری
کنترل (بدون پوشش)	Control
پوشش داده شده با آلژینات کلسیم	AlgCa
پوشش داده شده با آلژینات کلسیم حاوی اسانس آویشن	AlgCaE

نحوه پوشش‌دهی بر قطعات سیب: نمونه‌های سیب خریداری شده تمیز و شسته شدند و به قسمت‌های مساوی (۵/۵ × ۳/۵ × ۱/۵ سانتی‌متر) تقسیم گردیدند. سپس قطعات سیب به‌مدت ۳۰ ثانیه در محلول مورد نظر غوطه‌ور شد. نمونه‌ها درون ظرف‌های درب‌دار دارای سوراخ جهت تبادل گازهای تنفسی قرار داده شدند و تا زمان انجام آزمون‌ها در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس و رطوبت ۶۰ درصد نگهداری شدند.

آزمون میکروبی نمونه‌های سیب: ۱۰گرم از هر تیمار در شرایط اسپتیک برداشته شده و با ۹۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به خوبی مخلوط شد. به این ترتیب رقت ۱۰ حاصل‌شده و در ادامه رقت‌های مورد نیاز (10^{-2}، 10^{-3} و ...) از این رقت تهیه گردید. بعد از آن محیط کشت که از قبل تهیه و داخل اتوکلاو استریل شده بود را برداشته و تا دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک شد و سپس تا ۱/۳ فضای پلیت پر شد (حدود ۲۰-۱۵ میلی لیتر) و سپس ۰/۵۰ میلی‌لیتر از هر رقت برداشته شده و در هر پلیت ریخته شد. سپس برای شمارش کلی باکتری‌ها در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت (محیط کشت نوترینت‌براث) و برای کپک و مخمر به مدت ۳ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (محیط‌کشت PDA) به صورت وارونه در انکوباتور قرار داده شدند. بعد از دو روز پلیت‌های حاوی ۳۰۰-۱۰ کلنی انتخاب شده و شمارش باکتری‌ها انجام شد. برای محاسبه‌ی تعداد باکتری ها، تعداد کلنی‌های شمارش شده در عکس رقت مورد استفاده ضرب گردید و نتایج به صورت LogCFU/g بدست آمد.

آزمون بافت‌سنجی نمونه‌های سیب: برای تعیین ویژگی‌های بافت نمونه‌های سیب پوشش‌داده شده از دستگاه Texture Analyzer استفاده گردید. بدین منظور از آزمون نفوذ تک محوری (سوراخ‌کردن (puncture test)) استفاده شد. پروب مورد استفاده از نوع استوانه‌ای فولاد زنگ نزن با قاعده مسطح و قطر ۶ میلی‌متر تنظیم گردید. عمق نفوذ ۵، سرعت نفوذ ۱، تریگر ۴ و تست نرمال جهت ارزیابی بافت استفاده گردید. بار بکار رفته (به‌شکل گرم) برای نفوذ در نمونه به‌عنوان معیاری از سفتی بافت گزارش گردید.

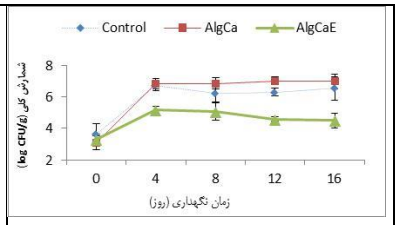
آنالیز آماری: همه آزمایشات در سه تکرار انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده‌از آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون دانکن در سطح ۵ ٪ انجام گرفت.

نتایج و بحث

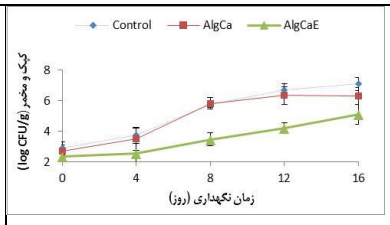
روند تغییرات شمارش کلی باکتری نمونه‌های سیب تازه‌برش خورده در طول دوره نگهداری: روند تغییرات باکتری در سیب تازه‌برش خورده در طول دوره نگهداری در نمودار یک آورده شده است. دربررسی تیمارهای مختلف نتایج بدست آمده نشان داد که به‌طور کلی نمونه‌ی حاوی اسانس جمعیت میکروبی کمتری طی نگهداری داشت و دارای اختلاف آماری معنی‌دار با دو تیمار دیگر بود. بین نمونه کنترل و فیلم آلژینات کلسیم (AlgCa) اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. به‌طورکلی با گذشت زمان جمعیت میکروبی در هر سه تیمار مورد بررسی افزایش یافته بود اما روند این افزایش در نمونه حاوی اسانس کمتر بود. مرادی و همکاران (۱۳۸۹) فیلم خوراکی کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی را تولیدکردند و بیان‌کردند که این فیلم موجب بهبود خصوصیات عملکردی و میکروبی فیلم شد. مکانیسم اثر ضدباکتریایی اسانس‌های ضروری به‌عنوان "مکانیسم اختلال" شناخته شده است، با توجه به‌ساختار آب‌گریز اسانس‌های ضروری، آنها می‌توانند به غشای سلولی حمله کنند و آن را تخریب کنند که منجر به تخلیه محتوای آن می‌شود، هم‌چنین می‌توانند بر سیستم‌های آنزیمی اثر بگذارند و مثلا فرآیند تنفس سلولی را مهار کنند (Noshirvani *et al.*, 2017).

روند تغییرات تعداد کپک و مخمر نمونه‌های سیب برش‌خورده در طول دوره نگهداری: نتایج رشد کپک و مخمر در نمونه‌های سیب برش‌خورده در نمودار ۲ نشان‌داده شده است. بین نمونه‌های کنترل و فیلم آلژینات کلسیم اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد ولی طی دوره نگهداری هر سه تیمار روند افزایشی را نشان دادند که البته در نمونه حاوی اسانس آویشن، این روند افزایشی کمتر بود و اسانس توانسته بود از رشد سریع کپک و مخمر جلوگیری کند. نتایج این مطالعه با نتایج بررسی تقی‌زاده و همکاران در سال ۱۳۹۴ بر بهینه‌سازی فرمولاسیون پوشش‌های فعال پلی‌ساکاریدی برای افزایش ماندگاری سیب کامل رد دلشیز از طریق روش سطح پاسخ مطابقت دارد. مکانیسم ضدباکتریایی اسانس، به اثرات قابل توجه روی ساختار سطح و ویژگی‌های عملکردی غشای سلولی نسبت داده می‌شود (Noshirvani *et al.*, 2017).

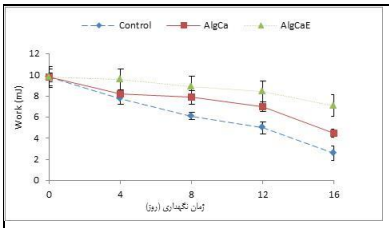
روند تغییرات بافت نمونه‌های سیب تازه برش‌خورده در طول دوره نگهداری: فاکتور Hardness در نمونه‌های سیب تازه برش خورده در طول دوره نگه داری در نمودار ۳ آورده شده است. نتایج نشان داد که به‌طورکلی با افزایش زمان نگهداری، سفتی کاهش یافته است که این کاهش در نمونه کنترل بیشتر بود و در نمونه‌ی آلژینات کلسیم حاوی اسانس (AlgCaE) کمتر بود. در دوره رسیدن و پیری، فعالیت آنزیم‌ها بر بافت اثر می‌گذارد و موج حل‌شدن پکتین و در نتیجه نرمی بافت می‌شود، کاهش سفتی بافت میوه در مدت نگهداری به‌دلیل تخریب پروتوپکتین نامحلول و تبدیل آن به اسیدپکتیک و پکتین محلول است، افزایش فعالیت پکتین‌استراز و پلی‌گالاکتوروناز باعث کاهش طول زنجیر مواد پکتینی و نرمی بافت میوه می‌شود (صحرایی‌خوش‌گردی و همکاران، ۱۳۹۳). نمونه AlgCa نسبت به نمونه Control بافت سفت‌تر و نسبت به نمونه AlgCaE بافت نرم‌تری داشت. با توجه به نمودار ۳، نمونه‌ی AlgCaE نسبت به دو نمونه دیگر سفتی خود را بهتر حفظ کرده بود. پوشش‌دهی با کم‌کردن میزان تنفس میوه از افزایش غلظت اتیلن و تجزیهٔ پروتوپکتین به پکتین و اسیدهای گالاکتورونیک جلوگیری‌کرده و آن هم خود موجب حفظ سفتی بافت میوه شده است، همچنین پوشش‌دهی از تبخیر آب میوه به نحو مؤثری جلوگیری کرده و بافت میوه از صدمات ناشی از تبخیر آب مانند چروکیدگی و چرمی شدن محفوظ می‌ماند (شاملو و همکاران، ۱۳۹۸). نتایج در این تحقیق با مطالعه‌ی شاملو و همکاران در سال ۱۳۹۸ که بر روی افزایش زمان ماندگاری قارچ خوراکی دکمه‌ای و با پوشش‌های خوراکی بر پایه پلیمرهای طبیعی انجام گرفت مطابقت داشت. صحرایی‌خوش‌گردی و همکاران در سال ۱۳۹۳ تأثیر پوشش نانوامولسیون حاوی کیتوزان بر افزایش ماندگاری سیب گلاب رقم گلاب کهنز در مدت انبارداری را مورد بررسی قرار دادند. با افزایش زمان نگهداری سفتی بافت سیب کاهش می‌یابد. کاهش سفتی بافت میوه در مدت نگهداری به‌دلیل تخریب پروتوپکتین نامحلول و تبدیل آن به اسیدپکتیتک و پکتین محلول است.



شکل ۱- تغییرات باکتری



شکل۲- تغییرات کپک و مخمر



شکل ۳- تغییرات بافت

منابع

تقی‌زاده، آ.، قنبرزاده، ب.، قیاسی فر.، ش. و صوتی، م. ۱۳۹۴. "بهینه‌سازی فرمولاسیون پوشش‌های فعال پلی‌ساکاریدی برای افزایش ماندگاری سیب کامل رد دلشیز از طریق روش سطح پاسخ"، مهندسی بیوسیستم ایران، ۴۶ (۳): ۲۹۵-۳۰۴.

شاملو، ص.، وزیری، ع.، شکرابی، آ. و سیف کردی، ع. ا. ۱۳۹۸. "افزایش زمان ماندگاری قارچ خوراکی دکمه‌ای با پوشش‌های خوراکی بر پایه پلیمرهای طبیعی"، ۱۶ (۹۱).

صحرایی‌خوش‌گردی، ع.، بدیعی، ف. و یاسینی‌اردکانی، س. ع. ۱۳۹۳. "تأثیر پوشش نانوامولسیون حاوی کیتوزان بر افزایش ماندگاری سیب گلاب رقم گلاب کهنز در مدت انبارداری"، بخش تحقیقات مهندسی صنایع غذایی و فناوری پس از برداشت، ۴۵ (۲): ۱۱۳-۱۲۰.

مرادی، م.، تاجیک، ح.، رضوی روحانی، س. م.، ارومیه ای، ع.، ملکی نژاد، ح. و ساعی دهکردی، س. س. ۱۳۸۹. "ارزیابی خصوصیات آنتی‌اکسیدان، رنگ و اثرات ضدباکتریایی فیلم‌خوراکی کیتوزان حاوی اسانس آویشن شیرازی علیه لستریا منوسیتوژنز"، ۱۵ (۴).

Mancini, F., McHugh, T. 2000. Fruit-alginate interactions in novel restructured products. Food/Nahrung, 44(3): 152-157 .

Noshirvani, N., Ghanbarzadeh, B., Gardrat, C., Rezaei, M. R., Hashemi, M., Le Coz, C., Coma, V. (2017). Cinnamon and ginger essential oils to improve antifungal, physical and mechanical properties of chitosan-carboxymethyl cellulose films. Food Hydrocolloids, 70:36-45.

The improvement of microbial and textural properties of fresh-cut apple during the storage time

Samira Mohammadi [1], Foroud Bagheri [1,2,3], Mohsen Radi[1,2,3*], Sedigheh Amiri[1,2,3]
[1] Department of Food Science and Technology, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran
[2] Sustainable Agriculture and Food Security Research Group, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran
[3] Young Researchers and Elite Club, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran
[*] *Corresponding author: m.radi@iauyasooj.ac.ir*

Abstract
The shelf life of vegetables and fruits is very short and they spoil quickly after harvest. There are several ways to increase the shelf life of these products, one of which has attracted the attentions in recent years, is the use of biodegradable biopolymers. The aim of this study was to investigate the effect of edible film of calcium alginate containing thyme essential oil on increasing the shelf life of fresh-cut apple. For this purpose, the apple slices were covered with calcium alginate containing thyme essential oil and the microbial and textural properties of fresh-cut apples on days 0, 4, 8, 12 and 16 were investigated. The results showed that the total viable count and the mold and yeast population increased during the storage time, but this increasing trend was lower in the sample containing thyme essential oil. In addition, the films could maintain the firmness of apples texture compared to the control sample. The results of this study showed that the covering of fresh-cut apples with plain and thyme essential oil containing calcium alginate increased the shelf life of the product.

***Keywords*:** Calcium alginate, thyme essential oil, fresh-cut apple, edible film, microbial spoilage.