



ارزیابی اثر پلاسمای سرد بر ماندگاری لیموترش

نغمه هلالی^۱، سید احمد شهیدی^{۱*}، علیرضا شهاب لواسانی^{۲*}، محمود حبیبیان^۳

^۱گروه علوم صنایع غذایی، واحد آیت ۱... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

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

^۳گروه مهندسی شیمی، پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۴

چکیده

پلاسمای سرد یکی از روش‌های افزایش عمر مفید در صنعت مواد غذایی است که باعث کاهش فسادپذیری می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی افزایش ماندگاری لیموترش با پلاسمای سرد تهیه شده بود. نمونه‌ها با استفاده از دو گاز (آرگون و هوا) در مدت زمان‌های ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ در سطح لیموترش تحت تیمار پلاسمای سرد قرار گرفت که منجر به کاهش، مخمر و کپک پنی‌سیلیوم/یتالیکوم تا ۹۹٪ شد. نتایج آنالیزهای میکروبی و فیزیکی ثابت نمود که در مدت زمان ۵ min تحت تیمار پلاسمای سرد گازهای آرگون و هوا بار میکروبی را تا ۹۹٪ کاهش داد و کمترین اثر بر روی خواص فیزیکی و ظاهری محصول لیموترش را ایجاد کرد. پس از تیمار، نمونه‌های گرفته شده فاقد کلی فرم و کپک پنی‌سیلیوم/یتالیکوم بودند. در بررسی خواص فیزیکی لیموترش (بافت و وزن)، مشاهده شد که اثر نوع گاز بر این شاخص‌ها معنی‌داری بوده است. افزایش زمان تیمار پلاسمای در زمان ۶ min و فشار اتمسفری تفاوت معنی‌دار در کاهش سیکل لگاریتمی شد ($p < 0.05$). در بررسی نوع گاز و اثر آن بر تیمار نشان داد که نوع گاز تفاوت معنی‌داری ایجاد می‌کند و حدود ده درصد اثربخشی گاز آرگون از هوا کمی بیشتر می‌باشد ($p < 0.05$). پس از اعمال پلاسمای سرد در لیموترش مشخص شد که پلاسمای سرد روش مناسب و کم‌هزینه‌ای برای استریل و پاستوریزاسیون لیموترش در جهت افزایش ماندگاری آن خواهد بود.

واژگان کلیدی: مدت ماندگاری، لیموترش، پلاسمای سرد

* sashahidy@yahoo.com

* shahablavasani@iauvaramin.ac.ir

مقدمه

لیموترش از خانواده Rutaceae و با نام علمی *Citrus lemon* L. یکی از گیاهان دارویی می باشد که بیشتر به خاطر ترکیبات آلكالویدی موجود در آن پرورش داده می شود. منشأ اولیه لیموترش به طور دقیق مشخص نیست، اما به نظر می رسد اولین بار در آسام (شمال هندوستان)، شمال میانمار و چین رشد کرده است. لیموترش منبع غنی از ویتامین C (اسید آسکوربیک) می باشد و هر ۱۰۰ gr آن میزان ۶۴٪ از نیاز روزانه ی انسان به این ویتامین را می تواند تأمین کند. به طور معمول، غلظت ویتامین C در لیموترش معادل ۵۰ mg در هر ۱۰۰ gr لیموترش است (۱).

پلاسما سرد روشی برای کاهش بار میکروبی است که با فعال سازی واکنش های شیمیایی حاصل از تخلیه سد دی الکتریک در گازهای بی اثر تولید می شود. این واکنش های شیمیایی برای کاهش بار میکروبی، در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها از جمله باکتری ها، قارچ ها، اسپورها، ویروس ها و همچنین، سموم دفع آفات و مایکو توکسین ها موثر می باشند (۲).

برای معرفی پلاسما سرد می توان به دو روش سد دی الکتریک^۱ و جت پلاسما اشاره کرد. همچنین، می توان پلاسما سرد را به دو دسته ی مستقیم و غیر مستقیم نیز تقسیم بندی کرد. در پلاسما مستقیم، بین نمونه و گاز پلاسما فاصله ای وجود ندارد و تحت تماس مستقیم با رادیکال ها و گونه های واکنشی قرار می گیرد. از انواع این روش، می توان به روش سد دی الکتریک و جت پلاسما اشاره کرد. در پلاسما غیر مستقیم، بین ماده و دستگاه تولید پلاسما فاصله وجود دارد و غیر فعال سازی میکرو ارگانیسم ها به وسیله ی اشعه و رادیکال های آزاد دارای عمر بالا انجام می شود (۳).

از دستگاه های تولید کننده ی پلاسما سرد می توان به تخلیه سد دی الکتریک^۲ (DBD)، تخلیه کرونا^۳، تخلیه فرکانس رادیویی و جت پلاسما در فشار اتمسفری اشاره کرد (۴). محبوب ترین فناوری پلاسما سرد، تخلیه سد دی

الکتریک (DBD) می باشد. پلاسما سد دی الکتریک می تواند بدون افزودنی و پیش پردازشی ماکرومولکول های مواد غذایی را اصلاح کند و به آن خاصیت سلامت غذایی و تازه مانی در مصرف را دهد. با استفاده از پلاسما سرد در داخل بسته به صورت معمول و تجدیدپذیر می توان مدت ماندگاری و هوشمندسازی بسته بندی را توسعه داد. سال های طولانی است که برای مبارزه با میکروارگانیسم های عامل فساد به صورت فیزیکی در فراوری مواد غذایی از گرما استفاده می شود و همچنین، در جهت ماندگاری محصولات فراورده های غذایی از ترکیبات ضد میکروبی طبیعی و سینتیک نیز استفاده می شود. اما استفاده از الکترومغناطیس برای حفظ یک یا چند ماده غذایی مورد نیاز جامعه انسانی مربوط به قرن اخیر می باشد. این روش در مقایسه با استفاده از فناوری های کنسرو و سایر فناوری ها دارای تفاوت چشمگیری با آنها می باشد. این فناوری تحت آزمایش های متعددی بوده است و از بشریت در زمان صلح نیز حمایت کرده، با انقلاب به وجود آمده در قرن بیستم و معرفی پلیمرها، استفاده از کنسرو درون کیسه ها توجیهات و دلایل متعددی را داشته است (۲). تیمار میوه های بسته بندی نشده با پلاسما سرد در ۳۶ °C و رطوبت اشباع، به مدت سه روز به طور مؤثر مانع از پوسیدگی شد و نگهداری در دمای ۵ °C ۱۷، ماندگاری را به مدت ۳۵ روز افزایش داد. برای اولین بار در سال ۱۹۲۲ تیمار حرارتی میوه توسط فاست و همکاران برای کاهش *فیتوفتورا سیتروفوتورا*^۴ انجام شد. همچنین، تحقیقات دیگر نشان داد تیمار پس از برداشت، در دمای ۵ °C ۳۶-۳۴ طی مدت ۴۸-۷۲ به طور مؤثرتری پوسیدگی را کنترل و کاهش داد (۵). با توجه به این نتایج و پژوهش ها، می توان گفت به نظر می رسد که پلاسما سرد به سبب کاهش ضایعات محصول و افزایش بازدهی و دائمی بودن این فناوری در بلندمدت، دارای توجیه فنی و اقتصادی خواهد بود. این فناوری را می توان جایگزین سایر فناوری های با کاربرد مشابه قرار داد و کیفیت محصول نهایی را با عدم استفاده از روش های فیزیکی و شیمیایی نظیر حرارت دهی و

³ Corona discharge

⁴ *Phytophthora citrophthora*

¹ Dielectric-barrier

² Dielectric Barrier Discharge

موثر است (۱۰). در پژوهش حاضر، اثر پلاسماي سرد بر مدت ماندگاري ليمو ترش مطالعه شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازي نمونه‌ها و انجام آزمون‌هاي ميكروبي

نمونه‌هاي ليمو ترش در مدت زمان فراوري پلاسما، به ترتيب ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ min تحت تاثير دو نوع گاز (آرگون و هوا) قرار گرفتند و بلافاصله بار ميكروبي آنها اندازه‌گيري شد. همچنين، براي آزمائش ارزياي شاخص‌هاي كيفي طي نگهداري در دماي پايين، ابتدا سه گروه ليمو ترش با ويژگي يكسان انتخاب شدند. در گروه‌هاي انتخاب شده نمونه‌هاي ليمو ترش تحت تيمارهاي مذکور قرار گرفتند. براي ارزياي بار ميكروبي نمونه‌ها، شامل باكتري‌هاي مزوفيل هوازي و مخمر و كپك‌ها، از روش شمارش كلي استفاده شد. براي شمارش باكتري‌هاي مزوفيل هوازي، محيط‌كشت استريل پليت كانت آگار^۴ و روش كشت پور پليت استفاده شد. شمارش كپك و مخمر در محيط‌كشت استريل پوتيتو دكستروز آگار^۵ با اسيد تارتاريك ۱۰٪ و روش كشت سطحي انجام شد.

در روش كشت سطحي براي شمارش كپك و مخمر، به تهيه سوسپانسيوني از باكتري نياز است. براي اين كار از سوش ميكروبي تهيه شده از بانك ميكروبي ايران استفاده شد. سپس، از سوش ميكروبي با استفاده از سمپلر برداشته شد و بر سطح محيط‌كشت جامد استريل منتقل شد. با استفاده از ميله پخش‌كننده شيشه‌اي عصايي شكل به قطر حدودا ۳/۵ mm و طول ۲۰ cm و با زاويه قائمه يا آنس به صورت يكنواخت بر سطح ليمو ترش پخش شد. در اين روش براي كشت كپك و مخمر مقدار ۱۰۰۰ µl از رقت ۱۰^{-۲} بر پليت هاي استريل محيط‌كشت دكستروز آگار منتقل شد. سپس، پليت‌هاي كشت داده شده در دماي ۲۵ °C به مدت ۲ روز در انكوباتور قرار داده شدند.

شمارش كلوني باكتري‌هاي هوازي

استفاده از نگهدارنده‌ها تا مقدار بسيار زيادي به كيفيتي برابر با محصول تازه برداشت شده رساند.

يكی از عوامل فساد مواد غذايي تنفس است. تنفس فرايند شكستن مواد آلي به محصولات ساده است كه انرژي لازم براي متابوليسم را فراهم مي‌كند. افزايش تنفس، منجر به افزايش سرعت متابوليسم در ميوه و سبزي‌ها مي‌شود و در نتيجه فرايند پيري را تسريع مي‌كند. دما، با افزايش نياز به انرژي براي واكنش‌هاي متابوليكي سرعت تنفس را تحت تاثير قرار مي‌دهد. بنابراين، سرعت تنفس با افزايش دماي محصول افزايش مي‌يابد. اختلالات فيزيولوژيكي به وسيله عدم تعادل مواد مغذي، برداشت نامناسب و نگهداري در دماي نامناسب اتفاق مي‌افتد (۶). پلاسما يك گاز يونيزه است كه شامل الكترون، يون، راديكال، گونه‌هاي فعال، اتم‌هاي برانگيخته است، مولكول‌هاي پلاسما را مي‌توان براي مواد حساس به دما مانند سلول‌هاي بيولوژيكي و براي عقيم‌سازي، بهبود عملکرد دانه و عملکرد محصول استفاده كرد (۴). در طي مطالعاتي، استفاده از پلاسماي سرد در فناوري مواد غذايي باعث از بين رفتن اسپوره‌هاي عامل فساد مواد غذايي شد. از آرگون آغشته شده در هوا براي از بين بردن گونه اسپريژيلوس ليمو ترش استفاده شد (۷). در رابطه با گونه اسپريژيلوس تحقيقات اخير نشان داده است كه پلاسماي سرد به تنهائي مي‌تواند اسپورها را از بين ببرد و همچنين قادر به تخریب افلاتوكسين مي‌باشد (۸). اثرات تخليه سد دي الكتريك (DBD) پلاسماي سرد بر روي آنزيم‌هاي بيماري زا و آنترائكنوز^۱ ناشي از كلتوتريكوم آسيانوم^۲ در انبه بررسي شد. نتايج نشان داد كه فعاليت آنزيم‌هاي تخریب‌كننده ديواره سلولي و نيز لاکازها^۳ و ژن‌هاي بيماري‌زا کاهش يافتند (۹). در مطالعه پلاسماي سرد روي زغال اخته، مشخص شد كه تيمار پلاسماي سرد تخليه سد دي الكتريك (CP) در حفظ كيفيت ميوه و مهار رشد ميكروارگانيسم‌ها در زغال اخته، به ويژه در حفظ سفتي، قندها و اسيدهاي آسكوربيك

4 PCA

5 PDA

¹ anthracnose

² *Colletotrichum asianum*

³ Laccases

در روش کشت آمیخته ابتدا سوسپانسیون از باکتری تهیه شد. مقدار $100 \mu\text{m}$ از سوسپانسیون تهیه شده در کف پلیت استریل ریخته شد و $15-20 \text{ ml}$ محیط کشت به پلیت اضافه شد و با حرکات دورانی کامل مخلوط شد. پلیت‌های کشت داده شده با روش پورپلیت و با استفاده از محیط کشت

پلیت کانت آگار به مدت ۳-۵ روز در دمای 37°C در داخل انکوباتور قرار داده شدند. از هر رقت ۲ مشاهده و از هر تیمار ۳ تکرار کشت داده شد. پس از انکوباسیون، پلیت‌های کلنی شمارش شدند. در نهایت بار میکروبی مطابق معادله ۱

معادله ۱ $\text{عکس مقدار کشت داده شده} \times \text{عکس ضریب رقت} \times \text{تعداد کلنی شمارش شده} = \text{بار میکروبی}$

تلقیح بار میکروبی

پنی‌سیلیوم /یتالیکوم^۱ با رقت 10^{-1} ، روی سطح لیموترش تلقیح شد. لیموترش آلوده شده تحت پلاسمای سرد قرار گرفت و پس از آن مورد آزمون میکروبی قرار داده شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی

درصد کاهش وزن

برای اندازه‌گیری تغییرات وزن، نمونه‌های لیموترش پس از تیمار با گاز پلاسمای در ظروف استریل قرار داده شدند. سپس، وزن نمونه‌ها هر روز با ترازوی دیجیتال با دقت 0.001 gr اندازه‌گیری شد و به مدت ۱۴ روز در یخچال در دمای 6°C نگهداری شدند. درصد کاهش وزن نمونه‌ها از معادله ۲ محاسبه شد. به این ترتیب، درصد کاهش وزن در طول نگهداری در تیمارهای مختلف مقایسه شد و درصد کاهش وزن نمونه نسبت به وزن اولیه محاسبه شد (۱۰).

معادله ۲ $100 \times (\text{وزن میوه قبل از بسته‌بندی} / \text{وزن میوه بعد از بسته‌بندی} - \text{وزن میوه قبل از بسته‌بندی})$

استاندارد شده‌اند. از دست دادن رطوبت، اصلی‌ترین علت کاهش وزن میوه طی انبارداری است که از طریق چروکیدگی و کاهش بازارپسندی میوه باعث خسارت‌های اقتصادی زیادی می‌شود. از دیگر دلایل افت وزن، تنفس میوه و سوختن مواد آلی از جمله قندها است. برای اندازه‌گیری سفتی بافت میوه از دستگاه سفتی‌سنج با پروب 11 mm استفاده شد (۱۰).

pH و اسیدهای قابل تیتراسیون

مقدار pH با دستگاه pH متر و میزان اسید میوه بر حسب اسیدسیتریک و با سود 0.1 N و با معادله ۳ محاسبه شد (۱۰).

برای تهیه سرم فیزیولوژیک، $8/5 \text{ gr}$ نمک سدیم کلرید به 1000 ml آب مقطر اضافه شد. پس از حل کردن، محلول حاصل برای استریل شدن در دستگاه اتوکلاو قرار داده شد. در تهیه محیط‌های کشت پلیت کانت آگار و دکستروز آگار به ترتیب $22/5 \text{ gr}$ و 39 از پودر پلیت کانت آگار و دکستروز آگار هر کدام جداگانه به 1000 ml آب مقطر اضافه شدند. محیط کشت‌ها و وسایل موردنیاز نیز در دمای 121°C و فشار 15 psi به مدت 15 min با استفاده از اتوکلاو استریل شد. سرم فیزیولوژیکی و محیط کشت‌های استریل شده تا زمان استفاده در یخچال استریل نگهداری شدند. برای فراهم کردن شرایط اسیدی برای رشد کپک و مخمر و همچنین برای جلوگیری از رشد سایر میکروارگانیسم‌ها، مقدار 1 ml اسید تارتاریک 10% استریل شده با فیلتر $45 \mu\text{m}$ ، به 100 ml از محیط کشت استریل دکستروز آگار^۲، اضافه شد.

سفتی بافت و ساختار لیموترش

بافت یکی از خواص فیزیکی مواد غذایی است که بیانگر کیفیت آنها می‌باشد. بافت محصولات غذایی و کشاورزی شامل گستره وسیعی از تعاریف و شاخص‌ها می‌باشد. این شاخص‌ها ویسکوزیته، سفتی، نرمی، خاصیت کشسانی و کشش‌پذیری می‌باشد که برای اندازه‌گیری هر یک از این ویژگی‌ها دستگاه خاصی استفاده می‌شود. روش‌های 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

معادله ۳

¹ *Penicillium italicum*

اکی والان اسید غالب $\times$ نرمالیه سود $\times$ حجم عصاره $\times 100/1000$ $\times$ حجم سود مصرفی = اسید کل

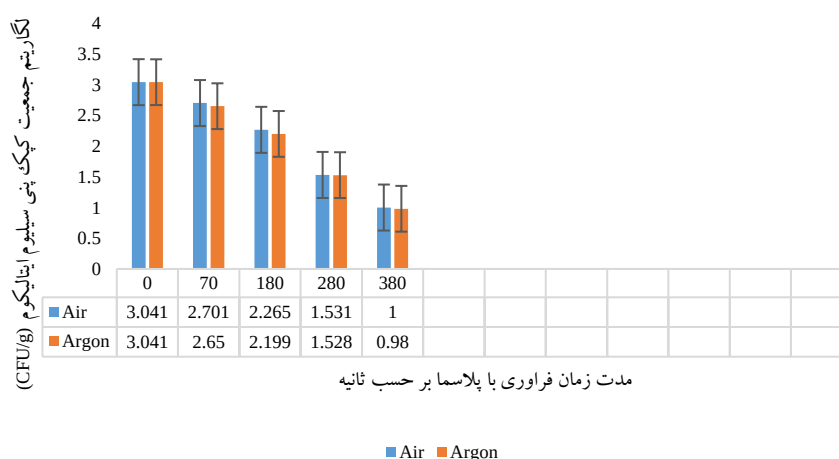
روش آماری و تحلیل نتایج

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی می باشد. برای تشخیص معنادار بودن ($p < 0.05$) یا عدم تشخیص معنی دار بودن ($p > 0.05$) از تجزیه واریانس دوطرفه و مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۹۵٪ استفاده شد.

نتایج

نتایج و آنالیز میکروبی

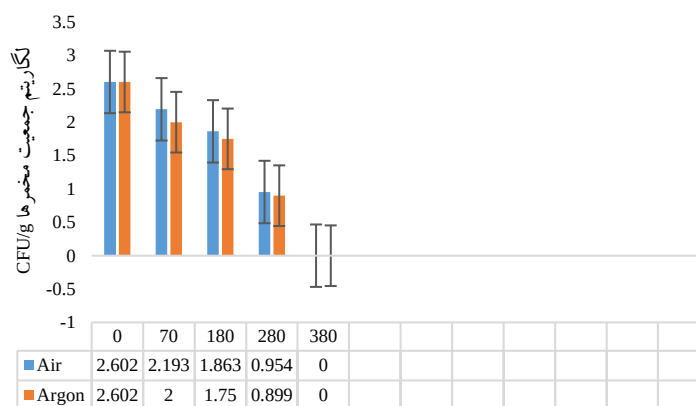
فراوری پلاسمای سرد بر لیموترش نشان داد که نوع گاز مورد استفاده در تیمار پلاسمای سرد با گذشت زمان تأثیر معنی داری ($p < 0.05$) بر روی بار کپک پنی سیلیوم/یتالیکوم داشته است (جدول ۱ و شکل ۱). نوع گاز در شمارش کلی باکتری ها موثر بود و در مخمر اثری نداشت و برای کپک پنی سیلیوم/یتالیکوم معنی دار بوده است ($p < 0.05$).



شکل ۱. میزان کاهش لگاریتم جمعیت کپک پنی سیلیوم/یتالیکوم در اثر پلاسمای سرد آرگون و هوا

جدول ۱. تجزیه واریانس لگاریتمی جمعیت کپک پنی سیلیوم/یتالیکوم توسط پلاسمای سرد آرگون و هوا

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	خطا
زمان فراوری	1050.155	4	210.031	14.311	.030
نوع گاز	88.055	1	14.676	-	.000
زمان $\times$ نوع گاز	1138.210	4	-	-	.000



مدت زمان فراوری با پلاسما بر حسب ثانیه

شکل ۲. میزان کاهش لگاریتم جمعیت مخمرها CFU/g تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا

جدول ۲. تجزیه واریانس لگاریتم جمعیت مخمرها CFU/g تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	خطا
زمان فراوری	11039.040	4	2207.808	34.832	.000
نوع گاز	380.310	1	63.385	-	.000
زمان × نوع گاز	11419.350	4	-	-	.000

در طول مدت نگهداری پس از اعمال تیمار پلاسمای سرد گاز آرگون و هوا (شکل ۳) میزان افت وزن در طی مدت ۱۴ روز در هر دو تیمار روندی افزایشی را دارد و در مقایسه با نمونه شاهد دارای اختلاف معنادار می باشد (جدول ۳) ($p < 0.05$). بر طبق این نتایج مشاهده شد که اثرگذاری گاز آرگون در تیمارها کمی بیشتر از هوا می باشد. در پایان نگهداری بیشترین افت وزنی مربوط به روز ۱۴م و بهترین نتیجه در اثرگذاری پلاسمای سرد در روز ۹م می باشد که به نسبت نمونه شاهد کمترین میزان کاهش وزن را داشته است. نتایج مبین این بود که استفاده از پلاسمای سرد بین ۵ الی ۱۰٪ از کاهش وزن لیموترش جلوگیری کرد. یکی از عوامل کاهش وزن محصولات از دست دادن آب است و آب گریزی سطحی نشان دهنده باز شدن ساختار مولکولی و در نتیجه از دست دادن آب محصول و کاهش وزن می باشد. در بررسی اثر پلاسمای سرد اتمسفری بر میزان از دست دادن

ساختار کپک ها و قارچ ها از ماتریکس های پلی ساکارید و فیبریل های سلولز و کیتین تشکیل شده است، این امر باعث می شود که مقاومت دیواره سلولی در تیمار پلاسمای سرد افزایش یافته و ساختار DNA دیرتر تخریب شود. بیهوشا و همکاران (۱۹۸۷) در مطالعه اثر پلاسمای سرد بر فیتوفتورا سیترافتورا به حساسیت کمتر کپک ها و مخمرها در تیمار پلاسمای سرد به نسبت با سایر گونه های باکتری ها در مواجهه با اثر پلاسمای سرد پی بردند که این حالت به دلیل ساختار مستحکم دیواره سلولی کپک و قارچ در مقایسه با باکتری های می باشد که به وسیله ی افزایش زمان تیمار می توان این ضعف را پوشش داد (۵). نرخ غیر فعال سازی میکروارگانیسم به دست آمده توسط تیمار پلاسمای سرد از ۰/۹ CFU/g تا ۸ می باشد و اثر ولتاژ و گاز پلاسما با مولفه اصلی دارای همبستگی معنادار می باشد که با نتایج به دست آمده در این پژوهش همسو است (۱۱).

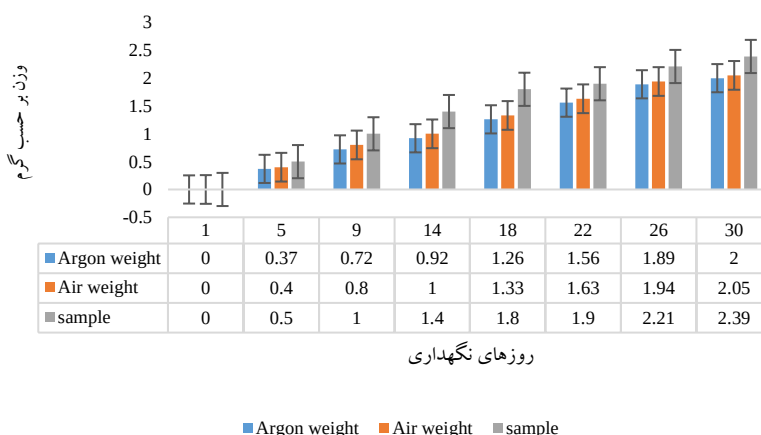
درصد کاهش وزن

پنجم و نهم و چهاردهم معنی دار بوده است. نتایج میزان تغییرات اسیدیته نمونه‌ها در این پژوهش نشان‌گر این امر می‌باشد که تغییرات اسیدیته در نمونه‌های بدون تیمار پلاسمای سرد (نمونه شاهد) نوسان بیشتری در مقایسه با نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد داشته است. به طوری که، در روز سی ام میزان اسیدیته لیمو ترش نمونه شاهد عدد ۳ و لیمو ترش‌های تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا به ترتیب ۲/۴۵ و ۲/۴۷ بوده است، که نشان‌دهنده کاهش میزان اسیدی بودن لیمو ترش شاهد به نسبت لیمو ترش‌های تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و اکسیژن می‌باشد (شکل ۴). این نتایج با نتایج حاصل در پژوهش مشابه در بررسی اثر پلاسمای سرد بر روی سطح توسط میرسا و همکاران (سال ۲۰۱۴) یکسان بوده است. (۲).

آب محصول، پلاسمای سرد با ایجاد خوشه‌های آب‌گریز^۱ و بر اثر فعالیت‌های سطحی این خوشه‌ها که مانع از دست رفتن آب محصول می‌شود، حدود پنج برابر فعالیت کنترل‌ی آب‌گریزی را از سطح محصول افزایش داده در نتیجه منجر به کاهش درصد افت وزن محصول شده است (۱۰).

اثر pH

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد در طول مدت نگهداری اثر پلاسمای سرد و نوع گاز آرگون و هوا در نگهداری اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه آنها تأثیر معناداری در سطح ۱٪ بر تغییرات اسیدیته داشته‌اند (جدول ۴). نتایج مقایسه‌ای میانگین‌های اثرات گازهای آرگون و هوا تحت تیمار پلاسمای سرد در افزایش ماندگاری نشان داد (شکل ۴) که گاز آرگون تأثیر معناداری در سطح ۱٪ بر کنترل اسیدیته محصول داشته است، همچنین در طول مدت نگهداری تفاوت مقادیر اسیدیته در تمامی روزها به جز روز

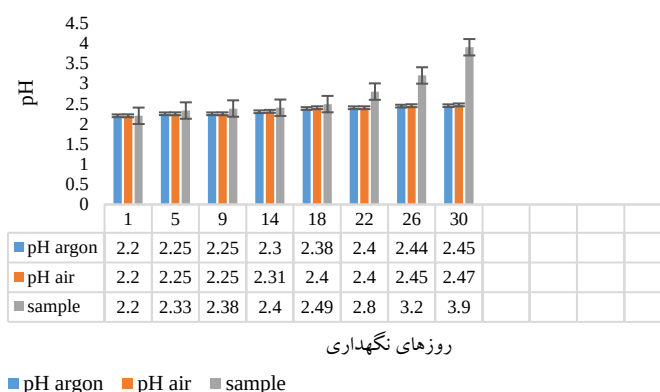


شکل ۳. میزان کاهش وزن نمونه‌های شاهد و تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا

جدول ۳. تجزیه واریانس وزن لیمو ترش و نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	خطا
زمان فراوری	1038.023	4	173.004	28.796	.021
نوع گاز	420.550	1	6.008	-	.000
زمان × نوع گاز	1042.229	4	-	-	.000

¹ Hydrophobic clusters



شکل ۴. میزان تغییرات اسیدیته نمونه شاهد و نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا

جدول ۴. تجزیه واریانس pH لیمو ترش شاهد و نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا

خطا	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	منابع تغییرات
.001	17.196	656.018	4	3936.107	زمان فراوری
.000	-	38.150	1	267.050	نوع گاز
.000	-	-	4	4203.157	زمان × نوع گاز

بافت و الاستیسیته لیموترش

در بررسی ساختار بافت و مطالعه‌ی سطح لیموترش، از موارد مهم و اصلی در تعیین میزان کیفیت لیموترش، بررسی مدول الاستیسیته محصول است که می‌تواند نشان دهنده‌ی مقبولیت کیفیت محصول باشد. افزایش مدت زمان نگهداری لیموترش می‌تواند روی خاصیت ترشی و بافت آن تاثیر گذار باشد. در مطالعات انجام شده بر بررسی مدول الاستیسیته^۱ و کاهش مقاومت سطحی یا نفوذپذیری^۲ در بافت لیموترش، درصد مقاومت سطحی محصولات با گذشت زمان کاهش یافت که این موضوع به دلیل کاهش فعالیت آبی و به اصطلاح پیری محصول به دلیل فعالیت‌های شیمیایی و آنزیمی میوه در طول مدت نگهداری می‌باشد. در روز ۳۰ام از مدت ماندگاری لیموترش کمترین میزان مدول الاستیسیته تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا به ترتیب ۰/۱۲ GPa

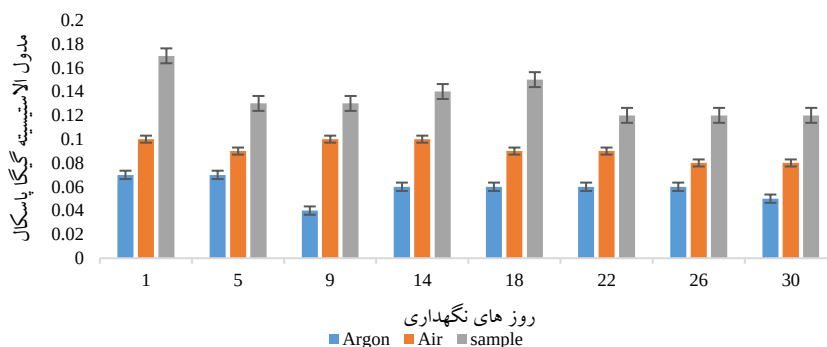
۰/۱۵ و ۰/۱ و در نمونه شاهد میزان ۰/۱۲ GPa می‌باشد (شکل ۵). بررسی و مقایسه میزان نفوذپذیری در نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد و نمونه‌ی شاهد، با گذشت سی روز پس از نگهداری محصول، نشان داد که گشتاور نیروی نفوذپذیری در سطح لیمو ترش در سی امین روز پس از اعمال تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوای تحت تاثیر تیمار پلاسمای سرد معادل ۸ N و در نمونه‌ی شاهد ۶ N می‌باشد که نشان دهنده‌ی مقاومت سطحی بالاتر نمونه‌ی تحت تیمار پلاسمای سرد پس از گذشت سی روز به نسبت نمونه‌ی شاهد می‌باشد. (شکل ۶). بهترین کیفیت ماندگاری با توجه به مدول الاستیسیته و نفوذپذیری مربوط به روز ۲۲ام می‌باشد که مدل الاستیسیته در آرگون و هوای تحت تیمار پلاسمای سرد به ترتیب ۰/۱۲ Pa و ۰/۰۹ و در نمونه‌ی شاهد ۰/۱۲ GPa اندازه‌گیری شد که نمونه‌ها دارای شرایط مقبول‌تری جهت

^۲-Fmax

^۱- Emod

کیفیت و پایداری محصول را بهبود دهد و در طول فراوری موجب حفظ خواص فیزیکوشیمیایی و مواد مغذی زیستی گوجه‌فرنگی شود (۱۲).

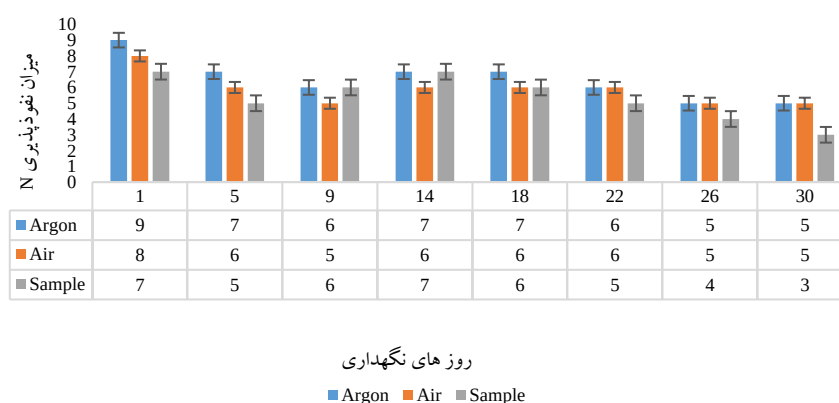
استفاده می‌باشند (جدول ۵). در بررسی تأثیر پلاسمای سرد اتمسفری در گوجه گیلاسی در طول مدت ماندگاری نتایج مشابهی ارائه شد (۲). یافته‌های مطالعه اثر پلاسمای سرد در گوجه‌فرنگی نشان می‌دهد که تیمار پلاسمای سرد می‌تواند



شکل ۵. بررسی مدول الاستیسیت نمونه‌ی شاهد و نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا

جدول ۵. تجزیه واریانس مدول الاستیسیت لیمو ترش شاهد و نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا

خطا	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	منابع تغییرات
.001	46.427	2476.043	4	7428.130	زمان فراوری
.000	-	53.333	1	213.330	نوع گاز
.000	-	-	4	7641.460	زمان × نوع گاز



شکل ۶. بررسی میزان نفوذ پذیری سطح لیمو ترش شاهد و نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا

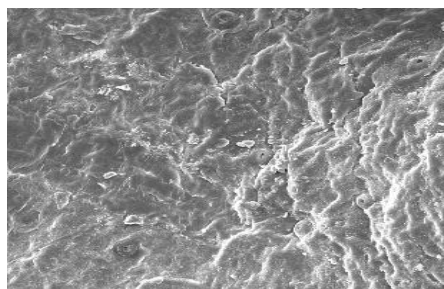
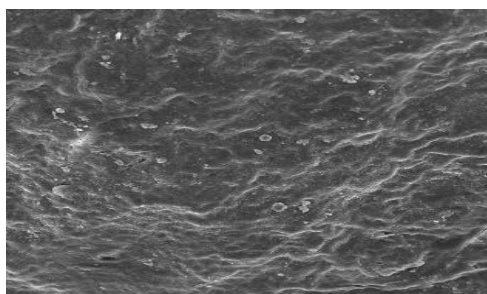
جدول ۶. تجزیه واریانس میزان نفوذ پذیری سطح لیمو ترش شاهد و نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا

خطا	F	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	منابع تغییرات
.000	34.832	2207.808	4	11039.040	زمان فراوری
.000	-	63.385	1	380.310	نوع گاز
.000	-	-	4	11419.350	زمان × نوع گاز

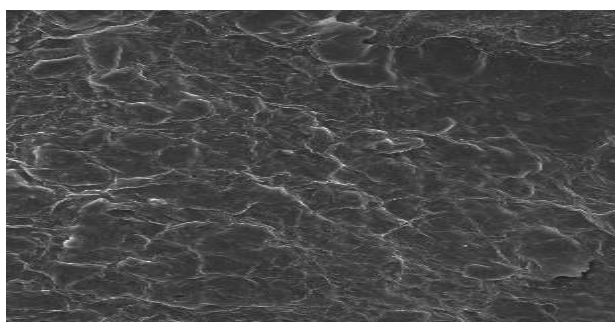
بررسی میزان تغییرات مولکولی سطح لیمو ترش نمونه‌ی شاهد و نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا به وسیله SEM

برای بررسی تغییرات سطح لیمو ترش از میکروسکوپ الکترونی روبشی^۱ (SEM) استفاده شد. پس از بررسی عکس‌های میکروسکوپی آنالیز شده توسط دستگاه SEM تغییرات سطح بررسی شد. در بررسی عکس‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی در نمونه‌ی قبل از تیمار پلاسمای سرد، می‌توان میزان خلل و فرج سطح لیمو ترش را مشاهده کرد. همچنین، پس از القای میکروبی سطح لیمو ترش می‌توان فعالیت میکروارگانیسم‌ها و پرشدگی خلل فرج‌های سطح لیمو توسط میکروارگانیسم‌ها را مشاهده کرد. با اعمال تیمار پلاسمای سرد می‌توان به این مهم دست یافت که ساختار سطح لیمو ترش به وسیله‌ی انهدام ساختار سلولی میکروارگانیسم‌ها تا حدود زیادی حفظ شده است و پس از

شکافته شدن ساختار سلولی میکروارگانیسم‌های موجود در سطح، خلل‌ها و فرج‌های موجود در سطح میوه اشکار شده است. مقایسه و تحلیل مولکولی تصاویر به دست آمده از سطح لیمو ترش به وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد تغییرات مولکولی در سطح میوه لیمو ترش در تمامی تیمارها وجود نداشته است و تنها تغییر ایجاد شده قابل مشاهده کشته شدن و از هم گسسته شدن ساختار سلولی میکروارگانیسم‌های موجود در سطح نمونه‌های فراوری شده با پلاسمای سرد بوده و فراوری پلاسمای سرد سبب تغییرات بافتی در سطح لیمو ترش نشده است. نگایو و همکاران (۲۰۲۳) در بررسی خاصیت ضد میکروبی آندوفیت/ستریتومایسس^۲ در پرتقال، به نتایجی مشابه با اثر پلاسمای سرد بر کنترل شرایط میکروبی عامل فساد مرکبات دست یافته بودند (۱۳). مطابق با نتایج پژوهش حاضر عدم تغییر ساختار سطح لیمو ترش به دلیل اثر پلاسمای سرد می‌باشد (شکل ۷ و ۸).



شکل ۷. تصویر سمت راست ریز ساختار بافت لیمو ترش فراوری شده با پلاسمای سرد و تصویر سمت چپ لیمو ترش حاوی تلفیح کپک



شکل ۸. تصویر ریز ساختار بافت لیمو ترش فراوری شده با پلاسمای سرد

² Endophytic Streptomyces

¹ scanning electron microscope

4. Liao X, Liu D, Xiang Q, Ahn J, Chen S, Ye X, Ding T. Inactivation mechanisms of non-thermal plasma on microbes: A review. *Food Control*. 2017; 1(75):83-91.
5. Ben-Yehoshua S, Barak E, Shapiro B. Postharvest curing at high temperatures reduces decay of individually sealed lemons, pomelos, and other citrus fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1987;112(4):658-63.
6. Kader A. Importance of fruits, nuts, and vegetables in human nutrition and health. *Perishables handling quarterly*. 2001 May;106(4):6.
7. Ouf SA, Basher AH, Mohamed AA. Inhibitory effect of double atmospheric pressure argon cold plasma on spores and mycotoxin production of *Aspergillus niger* contaminating date palm fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2015;95(15):3204-3210.
8. Shi EL, Hammett GW, Stoltzfus-Dueck T, Hakim A. Gyrokinetic continuum simulation of turbulence in a straight open-field-line plasma. *Journal of Plasma Physics*. 2017;83(3):1-27.
9. Wu Y, Cheng JH, Keener KM, Sun DW. Inhibitory effects of dielectric barrier discharge cold plasma on pathogenic enzymes and anthracnose for mango postharvest preservation. *Postharvest Biology and Technology*. 2023;196:112181.
10. Zhou D, Sun R, Zhu W, Shi Y, Ni S, Wu C, Li T. Impact of dielectric barrier discharge cold plasma on the quality and phenolic metabolism in blueberries based on metabonomic analysis. *Postharvest Biology and Technology*. 2023;197:112208.
11. Monjazebe Marvdashti L, Arabameri M, Yousefi B, Eslami M, Emadi A, Ebrahimi A, Abdolshahi A, Abdel-Wahhab M. Cold Plasma Technology Impact on Microorganisms Inactivation in Foods: A Systematic Review. *Journal of Chemical Health Risks*. 2023; 13(0):1-12.
12. Starek-Wójcicka A, Sagan A, Terebun P, Kwiatkowski M, Osmólska E, Krajewska M, Grządka E, Matsuyama N, Hayashi N, Pawlat J. Quality of Tomato Juice as Influenced by Non-Thermal Air Plasma Treatment. *Applied Sciences*. 2023;13(578): 1-13.
13. Hong-Thao PT, Mai-Linh NV, Hong-Lien NT, Van Hieu N. Biological characteristics and antimicrobial activity of endophytic *Streptomyces* sp. TQR12-4 isolated from elite *Citrus nobilis* cultivar Ham Yen of Vietnam. *International journal of microbiology*. 2016; 2016: 7207818.

بحث و نتیجه گیری

با توجه به نتایج ارائه شده در پژوهش تأثیر اثر پلاسمای سرد تحت تیمار گازهای آرگون و هوا بر مدت ماندگاری لیموترش و مطالعه‌ی اثرگذاری آنها بر فعالیت میکروبی و ساختار فیزیکی آن مدت ماندگاری لیموترش به مدت بیست روز نسبت به نمونه شاهد افزایش پیدا کرد؛ پلاسمای سرد منجر به لایه نشانی در سطح لیموترش گشت و اثرات گاز تأثیر مثبتی بر کنترل شرایط سطح لیموترش ایجاد نمود و نوعی از استریل بر سطح لیموترش ایجاد کرد که منجر به حفظ کیفیت لیموترش در طول مدت نگهداری شد، نتایج ارائه شده در این پژوهش نشان داد که در طول مدت نگهداری پلاسمای سرد می‌تواند اثر مثبت و معنی‌داری در حفظ کیفیت لیموترش تا پایان مدت نگهداری آن ایجاد می‌نماید؛ همان‌گونه که انتظار می‌رفت با گذشت زمان ساختار لیموترش دچار پیری می‌گردد و کیفیت آن کاهش می‌یابد که این تغییرات در سطح ۱٪ معنی‌دار می‌باشد. در جمع‌بندی نتایج می‌توان به این مهم اذعان داشت پلاسمای سرد آرگون و هوا با ایجاد لایه نشانی بر سطح محصول و کاهش قدرت انتقال جرم و رطوبت و انتقال گازهای ورودی و خروجی به ساختار لیموترش و ایجاد استریل سطحی، منجر به کاهش فعالیت میکروبی و افزایش ماندگاری محصول می‌شود.

منابع

1. Govindan SV, Cardillo TM, Moon SJ, Hansen HJ, Goldenberg DM. CEACAM5-targeted therapy of human colonic and pancreatic cancer xenografts with potent labetuzumab-SN-38 immunoconjugates. *Clinical Cancer Research*. 2009;15(19):6052-6061.
2. Misra NN. The contribution of non-thermal and advanced oxidation technologies towards dissipation of pesticide residues. *Trends in food science & technology*. 2015;45(2):229-244.
3. Roshanak S, Maleki M, Sani MA, Tavassoli M, Pirkhezranian Z, Shahidi F. The impact of cold plasma innovative technology on quality and safety of refrigerated hamburger: Analysis of microbial safety and physicochemical properties. *International Journal of Food Microbiology*. 2023;388:110066.



Evaluation of the effect of cold plasma on the shelf life of sour lemon

Naghmeh Helali¹, Seyed Ahmad Shahidy^{1*}, Alireza Shahab Lavasani^{2*}, Mahmoud Habibiyan³

¹Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.

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

³Chemistry and Chemical Engineering Research Center of Iran, Tehran, Iran.

Abstract

Cold plasma is one of the ways to increase useful life in the food industry, which reduces pollution. The aim of this study was to investigate the increase in the shelf life of lemons prepared with cold plasma. The samples were subjected to cold plasma treatment using two gases (argon and air) for a period of 0, 5, 10 and 20 minutes on the surface of lime, which reduced yeast and copy italicum 1 to 99%. The results of microbial analyzes revealed that within five minutes under the plasma treatment of argon cold gases and air, the microbial load reduced by 99% and had the least effect on the physical and appearance properties of the lime product. After applying the treatment, the samples were free of coliform and *P. italicum* mold. Examining the physical properties of lime (texture and weight) showed that the effect of gas type had a significant effect on these indicators. The increase in plasma treatment time in six minutes and atmospheric pressure was significantly different ($p < 0.05$). Examining the type of gas and its effect on the treatment showed that the type makes a significant difference and about ten percent of the effectiveness of argon gas is slightly higher than air. It will be a suitable and low-cost method for sterilizing and pasteurizing limes in order to preserve them.

Key words: Shelf life, Sour lemon, cold plasma

*sashahidy@yahoo.com

*shahablavasani@iauvaramin.ac.ir