

## ارزیابی اثر پلاسمای سرد بر ماندگاری لیموترش

نغمه هلالی<sup>۱</sup>، سید احمد شهیدی<sup>۱\*</sup>، علیرضا شهاب لواسانی<sup>۲\*</sup>، محمود حبیبیان<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>گروه علوم صنایع غذایی، واحد آیت... ۱. آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

<sup>۲</sup>گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

<sup>۳</sup>گروه 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 ایتالیکوم 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 ایتالیکوم بودند. در بررسی خواص فیزیکی لیموترش (بافت و وزن)، مشاهده شد که اثر نوع گاز بر این شاخص‌ها معنی‌داری بوده است. افزایش زمان تیمار پلاسما 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 آلكالوئیدی 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 100 gr آن میزان 64٪ از نیاز روزانه ی انسان به این ویتامین را می تواند تأمین کند. به طور معمول، غلظت ویتامین C در لیموترش معادل 50 mg در هر 100 gr لیموترش است (۱).

پلازما 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 پلاسمای سرد می توان به دو روش سد دی الکتریک<sup>۱</sup> و جت پلازما اشاره کرد. همچنین، می توان پلاسمای سرد را به دو دسته ی مستقیم و غیر مستقیم نیز تقسیم بندی کرد. در پلاسمای مستقیم، بین نمونه و گاز پلازما 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 پلازما اشاره کرد. در پلاسمای غیر مستقیم، بین ماده و دستگاه تولید پلازما 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 پلاسمای سرد می توان به تخلیه سد دی الکتریک<sup>۲</sup> (DBD)، تخلیه کرونا<sup>۳</sup>، تخلیه فرکانس رادیویی و جت پلازما در فشار اتمسفری اشاره کرد (۴). محبوب ترین فناوری پلاسمای سرد، تخلیه سد دی

الکتریک (DBD) می باشد. پلاسمای 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 پلاسمای 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 توجیها و دلایل متعددی را داشته است (۲). تیمار میوه های بسته بندی نشده با پلاسمای سرد در 36°C و رطوبت اشباع، به مدت سه روز به طور مؤثر مانع از پوسیدگی شد و نگهداری در دمای 0°C، 17، ماندگاری را به مدت 35 روز افزایش داد. برای اولین بار در سال 1922 تیمار حرارتی میوه توسط فاست و همکاران برای کاهش *فیتوفتورا سیتروفوتورا*<sup>۴</sup> انجام شد. همچنین، تحقیقات دیگر نشان داد تیمار پس از برداشت، در دمای 0°C 34-36 طی مدت 48-72 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 پلاسمای 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

<sup>3</sup> Corona discharge

<sup>4</sup> *Phytophthora citrophthora*

<sup>1</sup> Dielectric-barrier

<sup>2</sup> Dielectric Barrier Discharge

موثر است (۱۰). در پژوهش حاضر، اثر پلاسما سرد بر مدت ماندگاری لیمو ترش مطالعه شد.

## مواد و روش‌ها

### آماده‌سازی نمونه‌ها و انجام آزمون‌های میکروبی

نمونه‌های لیمو ترش در مدت زمان فراوری پلاسما، به ترتیب ۰، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ min تحت تاثیر دو نوع گاز (آرگون و هوا) قرار گرفتند و بلافاصله بار میکروبی آنها اندازه‌گیری شد. همچنین، برای آزمایش ارزیابی شاخص‌های کیفی طی نگهداری در دمای پایین، ابتدا سه گروه لیمو ترش با ویژگی یکسان انتخاب شدند. در گروه‌های انتخاب شده نمونه‌های لیمو ترش تحت تیمارهای مذکور قرار گرفتند. برای ارزیابی بار میکروبی نمونه‌ها، شامل باکتری‌های مزوفیل هوازی و مخمر و کپک‌ها، از روش شمارش کلی استفاده شد. برای شمارش باکتری‌های مزوفیل هوازی، محیط کشت استریل پلیت کانت آگار<sup>۴</sup> و روش کشت پور پلیت استفاده شد. شمارش کپک و مخمر در محیط کشت استریل پوتیتو دکستروز آگار<sup>۵</sup> با اسید تارتاریک ۱۰٪ و روش کشت سطحی انجام شد.

در روش کشت سطحی برای شمارش کپک و مخمر، به تهیه سوسپانسیونی از باکتری نیاز است. برای این کار از سوش میکروبی تهیه شده از بانک میکروبی ایران استفاده شد. سپس، از سوش میکروبی با استفاده از سمپلر برداشته شد و بر سطح محیط کشت جامد استریل منتقل شد. با استفاده از میله پخش کننده شیشه‌ای عصایی شکل به قطر حدوداً ۳/۵ mm و طول ۲۰ cm و با زاویه قائمه یا آنس به صورت یکنواخت بر سطح لیمو ترش پخش شد. در این روش برای کشت کپک و مخمر مقدار ۱۰۰۰۰ µl از رقت ۱۰<sup>-۲</sup> بر پلیت های استریل محیط کشت دکستروز آگار منتقل شد. سپس، پلیت‌های کشت داده شده در دمای ۲۵ °C به مدت ۲ روز در انکوباتور قرار داده شدند.

### شمارش کلونی باکتری‌های هوازی

استفاده از نگهدارنده‌ها تا مقدار بسیار زیادی به کیفیتی برابر با محصول تازه برداشت شده رساند.

یکی از عوامل فساد مواد غذایی تنفس است. تنفس فرایند شکستن مواد آلی به محصولات ساده است که انرژی لازم برای متابولیسم را فراهم می‌کند. افزایش تنفس، منجر به افزایش سرعت متابولیسم در میوه و سبزی‌ها می‌شود و در نتیجه فرایند پیری را تسریع می‌کند. دما، با افزایش نیاز به انرژی برای واکنش‌های متابولیکی سرعت تنفس را تحت تأثیر قرار می‌دهد. بنابراین، سرعت تنفس با افزایش دمای محصول افزایش می‌یابد. اختلالات فیزیولوژیکی به وسیله عدم تعادل مواد مغذی، برداشت نامناسب و نگهداری در دمای نامناسب اتفاق می‌افتد (۶). پلاسما یک گاز یونیزه است که شامل الکترون، یون، رادیکال، گونه‌های فعال، اتم‌های برانگیخته است، مولکول‌های پلاسما را می‌توان برای مواد حساس به دما مانند سلول‌های بیولوژیکی و برای عقیم‌سازی، بهبود عملکرد دانه و عملکرد محصول استفاده کرد (۴). در طی مطالعاتی، استفاده از پلاسما سرد در فناوری مواد غذایی باعث از بین رفتن اسپوره‌های عامل فساد مواد غذایی شد. از آرگون آغشته شده در هوا برای از بین بردن گونه اسپریلوس لیمو ترش استفاده شد (۷). در رابطه با گونه اسپریلوس تحقیقات اخیر نشان داده است که پلاسما سرد به تنهایی می‌تواند اسپورها را از بین ببرد و همچنین قادر به تخریب افلاتوکسین می‌باشد (۸). اثرات تخلیه سد دی الکتریک (DBD) پلاسما سرد بر روی آنزیم‌های بیماری زا و آنتراکنوز<sup>۱</sup> ناشی از کلتوتریکوم آسیانوم<sup>۲</sup> در انبه بررسی شد. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌های تخریب کننده دیواره سلولی و نیز لاکازها<sup>۳</sup> و ژن‌های بیماری زا کاهش یافتند (۹). در مطالعه پلاسما سرد روی زغال اخته، مشخص شد که تیمار پلاسما سرد تخلیه سد دی الکتریک (CP) در حفظ کیفیت میوه و مهار رشد میکروارگانیسم‌ها در زغال اخته، به ویژه در حفظ سفتی، قندها و اسیدهای آسکوربیک

4 PCA

5 PDA

<sup>1</sup> anthracnose

<sup>2</sup> *Colletotrichum asianum*

<sup>3</sup> Laccases

پلیت کانت آگار به مدت ۳-۵ روز در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  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 محاسبه شد.

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

### تلقیح بار میکروبی

پنی‌سیلیوم *ایتالیکوم*<sup>۱</sup> 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  $0.001\text{ gr}$  اندازه‌گیری شد و به مدت ۱۴ روز در یخچال در دمای  $6^{\circ}\text{C}$  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  $11\text{ mm}$  استفاده شد (۱۰).

#### pH و اسیدهای قابل تیتراسیون

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

در روش کشت آمیخته ابتدا سوسپانسیونی از باکتری تهیه شد. مقدار  $100\ \mu\text{m}$  از سوسپانسیون تهیه‌شده در کف پلیت استریل ریخته شد و  $15\text{--}20\text{ ml}$  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

برای تهیه سرم فیزیولوژیک،  $8/5\text{ gr}$  نمک سدیم کلرید به  $1000\text{ ml}$  آب مقطر اضافه شد. پس از حل کردن، محلول حاصل برای استریل شدن در دستگاه اتوکالو قرار داده شد. در تهیه محیط‌های کشت پلیت کانت آگار و دکستروز آگار به ترتیب  $22/5$  و  $39$  از پودر پلیت کانت آگار و دکستروز آگار هر کدام جداگانه به  $1000\text{ ml}$  آب مقطر اضافه شدند. محیط کشت‌ها و وسایل موردنیاز نیز در دمای  $121^{\circ}\text{C}$  و فشار  $15\text{ psi}$  به مدت  $15\text{ min}$  با استفاده از اتوکلاو استریل شد. سرم فیزیولوژیک 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  $1\text{ ml}$  اسید تارتاریک  $10\%$  استریل شده با فیلتر  $45\ \mu\text{m}$ ، به  $100\text{ ml}$  از محیط کشت استریل دکستروز آگار<sup>۲</sup>، 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

<sup>1</sup> *Penicillium italicum*

اکی والان اسید غالب × نرمالیته سود × حجم عصاره × ۱۰۰/۱۰۰۰ × حجم سود مصرفی = اسید کل

## روش آماری و تحلیل نتایج

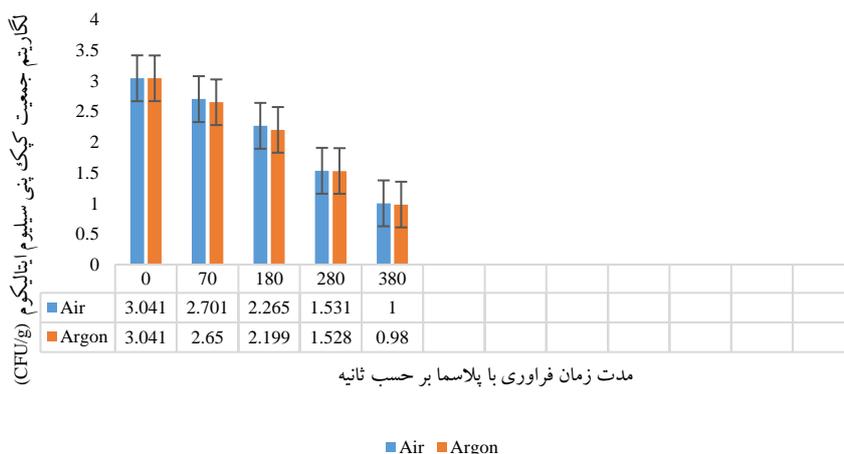
آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی می باشد. برای تشخیص معنادار بودن ( $p < 0.05$ ) یا عدم تشخیص معنی دار بودن ( $p > 0.05$ ) از تجزیه واریانس دوطرفه و مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۹۵٪ استفاده شد.

## 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/ایتالیکوم 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/ایتالیکوم معنی دار بوده است ( $p < 0.05$ ).

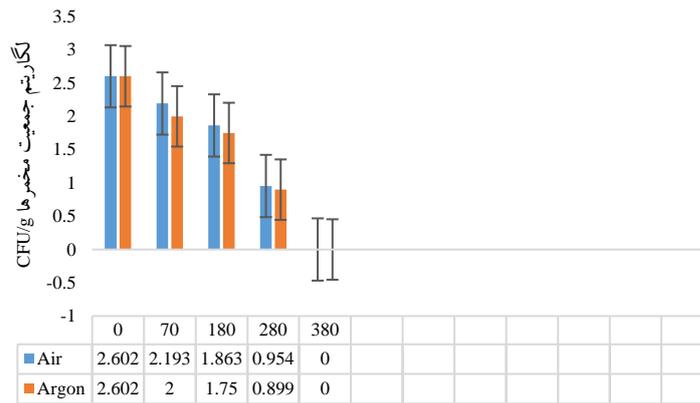
نتایج شکل ۲ و جدول ۲ نشان می دهد که پلاسمای سرد در شاخص زمان باعث کاهش کپک پنی سیلیوم/ایتالیکوم و مخمر در نمونه های لیموترش شده است. اوف و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی اثر پلاسمای سرد بر گونه اسپرژیلوس به نتایجی مشابه دست یافتند که در این پژوهش به آن مستند شده است، نتایج حاصل از پژوهش ها نشان داد که نوع گاز پلاسمای سرد می تواند بر ساختار کپک اثر گذار باشد. با توجه به ساختار ضخیم دیواره سلولی کپک و قارچ ها در مقایسه با غشا پتیدوگلیکانی دیواره سلولی باکتری ها، این تاثیر در آنها کمتر است. به همین علت می توان این ضعف را با افزایش زمان در معرض قرارگیری نمونه در تیمار پلاسمای سرد پوشش داد.



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

جدول ۱. تجزیه واریانس لگاریتمی جمعیت کپک پنی سیلیوم/ایتالیکوم 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 × نوع گاز	1138.210	4	-	-	.000



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

جدول ۲. تجزیه واریانس لگاریتم جمعیت مخمرها CFU/g تحت تیمار پلاسما 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 پلاسما 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 پلاسما سرد در روز ۹ام می باشد که به نسبت نمونه شاهد کمترین میزان کاهش وزن را داشته است. نتایج مبین این بود که استفاده از پلاسما 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 پلاسما سرد اتمسفری بر میزان از دست دادن

ساختار کپک ها و قارچ ها از ماتریکس های پلی ساکراید و فیبریل های سلولز و کیتین تشکیل شده است، این امر باعث می شود که مقاومت دیواره سلولی در تیمار پلاسما سرد افزایش یافته و ساختار DNA دیرتر تخریب شود. یهوشا و همکاران (۱۹۸۷) در مطالعه اثر پلاسما سرد بر فیتوفتورا سیتروفیتورا به حساسیت کمتر کپک ها و مخمرها در تیمار پلاسما سرد به نسبت با سایر گونه های باکتری ها در مواجهه با اثر پلاسما 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 میکروارگانیزم به دست آمده توسط تیمار پلاسما 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).

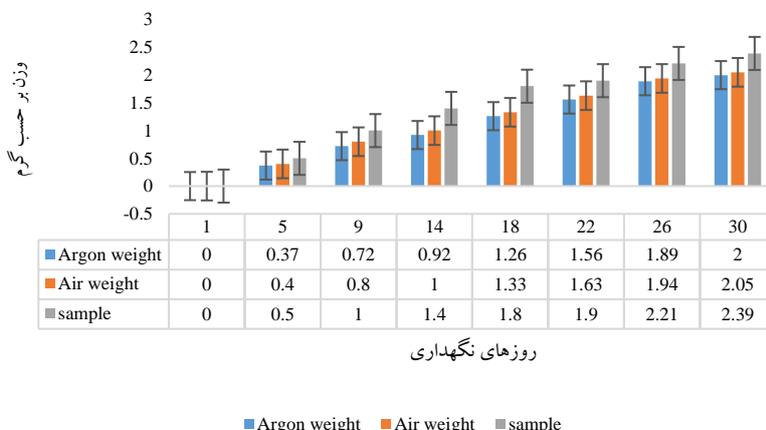
### درصد کاهش وزن

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<sup>۱</sup> 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

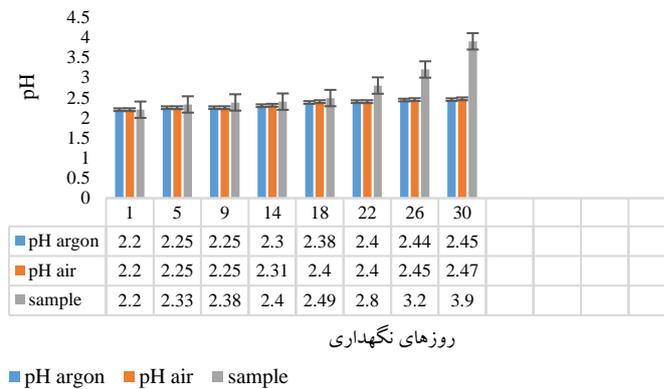


شکل ۳. میزان کاهش وزن نمونه‌های شاهد و تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا

جدول ۳. تجزیه واریانس وزن لیمو ترش شاهد 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

<sup>1</sup> 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

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

### 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<sup>۱</sup> و کاهش مقاومت سطحی یا نفوذپذیری<sup>۲</sup> 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

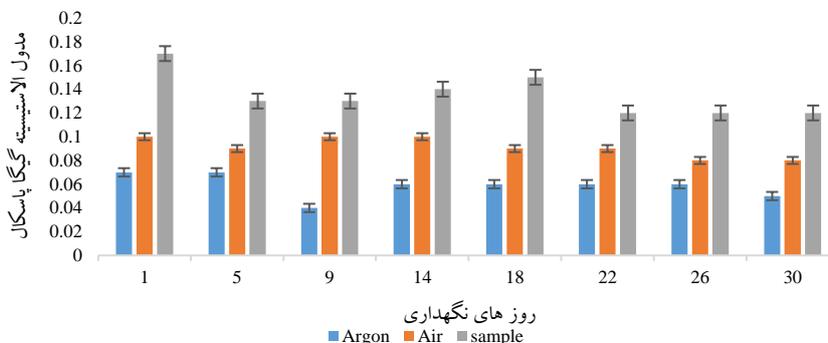
و ۰/۱ و ۰/۱۱ و در نمونه شاهد میزان ۰/۱۲ GPa می‌باشد (شکل ۵). بررسی و مقایسه میزان نفوذپذیری در نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد و نمونه‌ی شاهد، با گذشت سی روز پس از نگهداری محصول، نشان داد که گشتاور نیروی نفوذپذیری در سطح لیمو ترش در سی امین روز پس از اعمال تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوای تحت تاثیر تیمار 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 ۲۲ ام 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

<sup>۱</sup>- E<sub>mod</sub>

<sup>۲</sup>-F<sub>max</sub>

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 الاستیسیته نمونه‌ی شاهد و نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا

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

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

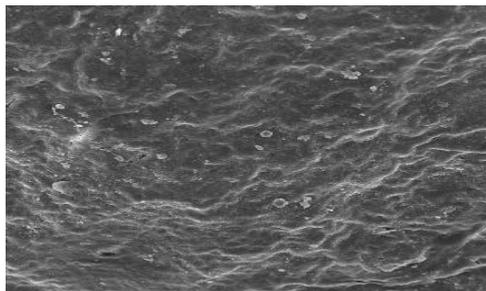


شکل ۶. بررسی میزان نفوذ پذیری سطح لیمو ترش شاهد و نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا

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

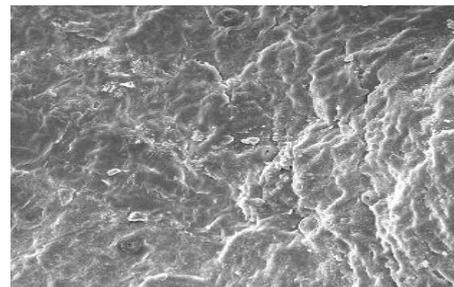
منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	خطا
زمان فراوری	11039.040	4	2207.808	34.832	.000
نوع گاز	380.310	1	63.385	-	.000
زمان × نوع گاز	11419.350	4	-	-	.000

شکافته شدن ساختار سلولی میکروارگانیزم‌های موجود در سطح، خلل‌ها و فرج‌های موجود در سطح میوه اشکار شده است مقایسه و تحلیل مولکولی تصاویر به دست آمده از سطح لیموترش 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 میکروارگانیزم‌های 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/استریتومایسس<sup>۲</sup> 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 لیموترش به دلیل اثر پلاسمای سرد می‌باشد (شکل ۷ و ۸).

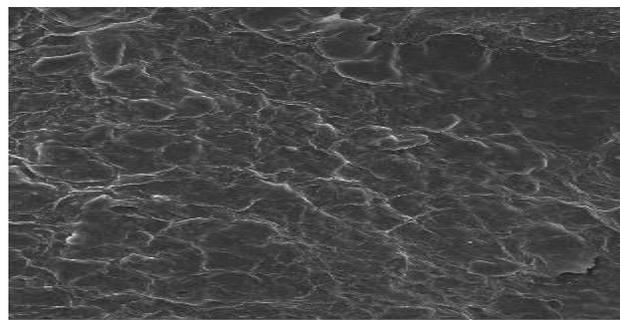


**بررسی میزان تغییرات مولکولی سطح لیمو ترش نمونه‌ی شاهد و نمونه‌های تحت تیمار پلاسمای سرد آرگون و هوا به وسیله SEM**

برای بررسی تغییرات سطح لیمو ترش از میکروسکوپ الکترونی روبشی<sup>۱</sup> (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 میکروارگانیزم‌ها و پرشدگی خلل فرج‌های سطح لیمو توسط میکروارگانیزم‌ها را مشاهده کرد. با اعمال تیمار پلاسمای سرد می‌توان به این مهم دست یافت که ساختار سطح لیمو ترش به وسیله‌ی انهدام ساختار سلولی میکروارگانیزم‌ها تا حدود زیادی حفظ شده است و پس از



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



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

<sup>2</sup> Endophytic *Streptomyces*

<sup>1</sup> 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 لیمو ترش و مطالعه‌ی اثرگذاری آنها بر فعالیت میکروبی و ساختار فیزیکی آن مدت ماندگاری لیمو ترش به مدت بیست روز نسبت به نمونه شاهد افزایش پیدا کرد؛ پلاسمای سرد منجر به لایه نشانی در سطح لیمو ترش گشت و اثرات گاز تأثیر مثبتی بر کنترل شرایط سطح لیمو ترش ایجاد نمود و نوعی از استریل بر سطح لیمو ترش ایجاد کرد که منجر به حفظ کیفیت لیمو ترش 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 لیمو ترش تا پایان مدت نگهداری آن ایجاد می‌نماید؛ همان‌گونه که انتظار می‌رفت با گذشت زمان ساختار لیمو ترش 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 لیمو ترش 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 Helali<sup>1</sup>, Seyed Ahmad Shahidy<sup>1\*</sup>, Alireza Shahab Lavasani<sup>2\*</sup>, Mahmoud Habibiyan<sup>3</sup>

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

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

<sup>3</sup>Chemistry 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@iauaramin.ac.ir