فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد۱۵- شماره ۲- تابستان۱۳۹۹

مقاله تحقیقی

اثر بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده و لفاف‌های انعطاف‌پذیر بر جمعیت میکروبی پنیر لیقوان

نازنین زند *، دنیا محمد ظاهری، لیلا ناطقی

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

*** مسئول مکاتبات:** n_zand2008@yahoo.com

محل انجام تحقیق: آزمایشگاه گروه صنایع غذایی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تهران، آزمایشگاه کنترل کیفیت صنایع لبنی تین (دامداران)

تاریخ دریافت:۱۴۰۰/۲/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۲۵

چکیده

در این تحقیق اثر سه نوع فیلم قابل انعطاف چند لایه و غلظت‌های مختلف سه نوع مخلوط گازی (دی‌اکسیدکربن، نیتروژن، اکسیژن) و نیز شرایط تحت خلاء و شاهد برای افزایش زمان ماندگاری پنیر لیقوان در شرایط دمای محیط (25^0C) مورد بررسی قرار گرفت. بسته‌بندی شاهد با ۴ نوع بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده با ترکیب‌های گازی که شامل ۱) ۷۰ درصد CO_2 و ۳۰ درصد N_2، ۲) ۳۰ درصد CO_2 و ۷۰ درصد N_2، ۳) ۴۷/۵ درصد N_2 و ۴۷/۵ درصد CO_2 ، ۵ درصد O_2 و ۴) تحت خلاء بودند، مقایسه گردیدند. برای بسته‌بندی نمونه‌ها از فیلم قابل انعطاف، لفاف ۳ لایه $PET_{(12)}/AL_{(7)}/LLD_{(100)}$ لفاف۴ لایه، $LLD_{(100)}/PET_{(12)}/AL_{(7)}/PET_{(12)}/LLD_{(100)}$ و لفاف ۳ لایه $PET_{(12)}/AL_{(7)}/LLD_{(100)}$ استفاده شد. نمونه‌های بسته‌بندی شده، در زمان‌های مختلف (بیست روز) در روزهای ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ مورد آزمون میکروبی (شمارش کلی میکروارگانیسم ها و شمارش کپک‌ها و مخمرها و شمارش کلی‌فرم) و آزمون شیمیایی pH قرار گرفتند. نتایج در قالب طرح کاملا تصادفی توسط نرم‌افزار آماری SPSS ورژن ۲۲ و به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P<0.05$) انجام گرفت. استفاده از MAP برای کنترل فساد کافی نبود، امّا روند فساد را به تأخیر انداخت. طبق نتایج بهترین شرایط نگهداری متعلق به نمونه‌های موجود در لفاف چهار لایه با نفوذپذیری و عبور بخار آب کمتر به همراه ترکیب گازی ۷۰ درصد CO_2 و ۳۰ درصد N_2 به دلیل خاصیت میکروبی بالاتر است که تا ۲۰ روز عمر ماندگاری پنیر لیقوان افزایش داد و تأثیر مطلوب‌تر بر میزان pH داشت.

واژه های کلیدی: بسته‌بندی تحت اتمسفر اصلاح شده، جمعیت میکروبی، پنیر لیقوان ، لفاف‌های انعطاف‌پذیر چند لایه

مقدمه

انسان از آغاز پیدایش به دنبال روش‌های بهینه برای نگهداری مواد غذایی به منظور افزایش مدت ماندگاری و قابلیت مصرف آنها بوده است. تخمیر طبیعی برخی مواد غذایی نیز از جمله روشهای نگهداری مواد غذایی است که از قدیم‌الایام توسط آسیایی‌ها به کار گرفته شده است. در پرتو شناخت تکنولوژی‌های مرتبط با فرآوری مواد غذایی، آنچنان پیشرفت در صنایع غذایی روی داد که امروزه مصرف‌کنندگان بیشتر به کیفیت مواد غذایی عرضه شده به جای کمیت آنها اهمیت می‌دهند (۱) مواد غذایی در هنگام نگهداری ممکن است به اشکال مختلفی دستخوش فساد شوند.این فساد می‌تواند بر طعم، رنگ، بافت، کیفیت بهداشتی و ارزش تغذیه‌ای ماده غذایی اثر بگذارد. باید توجه شود که ترکیبات و اجزاء حساس و بسیار آماده در مواد غذایی برای انجام واکنش‌های زیان‌آور وجود دارند که به سادگی ممکن است تحت تأثیر عوامل محیطی نظیر

حرارت، اکسیژن، نور، میکروارگانیسم‌ها و رطوبت گرفتار تغییرات نامناسب و واکنش‌های مخربی شوند. تنوع و تعداد این عوامل زیان‌بار و همچنین وجود ویژگی‌های متفاوت در میان مواد غذایی باعث گردیده است که روش-ها یا تکنیک‌های مختلفی برای مقابله با آنها ابداع و توسعه یابند (۲). این مسئله از گذشته‌های دور به منزله یک مشکل بسیار خطیر برای بشر مطرح بوده و انسان را به تلاشی سخت و مستمر وادار کرده است که راه‌ها و روش-هایی را بیابند تا بتوانند مواد غذایی مورد نیاز خود را حفظ و نگهداری نمایند. اگرچه، در طی یک دوره زمانی هزاران ساله آگاهی‌ها و توانائی‌های بسیار زیادی برای این منظور در جوامع بشری به دست می‌آید و روش‌های ارزشمندی ابداع و بکار گرفته می شوند، اما همه اینها نشأت گرفته از تجربه هستند و تبیین علمی روش‌ها و تکنولوژی نگهداری مواد غذایی در واقع از حدود اواسط قرن نوزدهم و اوایل قرن بیستم صورت می‌گیرد که بهبود و گسترش سریع آن را به همراه دارد. بسته‌بندی یک عامل مؤثر در مسیر طولانی تولید، توزیع و بازاریابی عمل می‌کند، به طوری که بسته‌بندی می‌تواند به عنوان یک مزیت رقابتی، در بازارهای داخلی وخارجی استفاده نمود (۳). بسته‌بندی علمی رو به رشد و تحول‌پذیر است به طوری که امروزه ورود به بسته‌بندی‌های هوشمند موجب افزایش سهم فروش کالاهای با این نوع بسته‌بندی در رقابت با سایر کالاها شده است. هدف از بسته‌بندی کردن مواد غذایی نگهداری و جلوگیری از خطر فساد درونی و بیرونی و اکسایشی آن و همچنین حمل و نقل مواد غذایی بهتر و آسانتر آن می‌باشد (۴). تکنولوژی بسته‌بندی مرتباً در حال تغییر است. کارخانجات صنایع غذایی به دنبال کسب موفقیت در بازارهای داخلی و بازارهای صادرات هستند به طوری که از نظر طراحی بسته‌بندی و استفاده از تکنولوژی جدید، همگام با بازار حرکت کنند. تکنولوژی بسته‌بندی تحت اتمسفر اصلاح شده، می‌تواند پنیر لیقوان را برای مدت طولانی‌تری حفظ کند. بسته‌بندی تحت اتمسفر اصلاح شده روش مؤثر و اقتصادی برای افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی، در طی حمل و نقل و بازاریابی بدون استفاده از انجماد و کنسرو کردن می‌باشد (۵،۶). پنیر نام عمومی برخی از فرآورده‌های شیری است که با تغییر در اجزاء کازئین شیر تولید و ساخته می‌شود. خواص بی‌نظیر و مغذی شیر و فسادپذیری بالای آن سبب شده تا انسان اولیه سعی بر یافتن راه‌هایی برای افزایش ماندگاری این محصول نماید. پنیر را قدیمی‌ترین فرآورده شیری تولید شده به وسیله انسان دانسته‌اند، بخش اعظم شیر تولیدی در جهان به پنیر تبدیل می‌شود. تولید پنیر به عنوان قدیمی‌ترین روش نگهداری شیر شامل این مراحل است: ۱- تخمیر و اسیدی کردن شیر ۲- تغلیظ مواد جامد شیر و نمک‌زنی و آب نمک‌گذاری دانشمندان بر این باورند که پنیر از منطقه جلگه حاصلخیز بین رود دجله و فرات کشور عراق در حدود ۸۰۰۰ سال پیش منشأ گرفته است، اگر چه اخیراً دانشمندان روسی از بررسی‌های باستان‌شناسی خود در سیبری همراه با اجساد قدیمی منجمد تکه‌ای پنیر را نیز به‌دست آورده‌اند. پنیرهای آب نمکی یکی از قدیمی‌ترین پنیرهایی هستند که از خاور میانه و اطراف دریای مدیترانه در حدود۸۰۰۰ سال پیش منشاء گرفته است. در حال حاضر این محصول به عنوان یک فرآورده لذیذ و مغذی با تنوع بالا در جهان تولید و مصرف می شود (۷).

پنیر منبع غلیظ شده‌ای از مواد مغذی موجود در شیر است و می‌تواند نقش مهمی در برنامه غذایی انسان ایفاء کند. پنیر از لحاظ مقدار و کیفیت پروتیئن دارای جایگاه بالایی نسبت به سایر مواد لبنی می‌باشد و در برگیرنده تمامی اسیدهای آمینه ضروری در مقادیر متناسب با نیاز بدن است (۸).

پنیر لیقوان از جمله پنیرهای بومی استان آذربایجان شرقی می‌باشد و از شیر خام گوسفندی و بدون گذراندن مرحله پاستوریزاسیون حرارتی تولید می‌گردد (۹). پنیر لیقوان به دلیل خواص ویژه خود از محبوبیت عمومی برخوردار بوده و در سراسر ایران مورد استفاده قرار می-گیرند و دارای ارزش اقتصادی و تغذیه ای بالایی است. از طرف دیگر، در طول تاریخ مصرف پنیرهای سنتی، همه-گیری و بیماری‌هایی با منشاء مواد غذایی متعددی را سبب گردیده، لذا مراقبت از وضعیت بهداشتی این پنیرها ضروری می‌باشد (۱۰).

توجه به اهمیت و مصرف پنیر در بین مردم ایران و نظر به اینکه استان آذربایجان شرقی یکی از مراکز عمده تولید پنیر محلی در کشور می باشد و پنیر محلی لیقوان در سراسر ایران از شهرت و معروفیت خاصی برخوردار است و همچنین رشد آگاهی عمومی و به تبع آن افزایش تقاضا برای مصرف محصولات طبیعی و دوری راه‌ها و

پیمودن مسیرهای طولانی جهت توزیع مواد غذایی تولید کنندگان و فعالان این بخش را به سمت عرضه مواد غذایی با ماندگاری بالا سوق می‌دهد. اتمسفر اصلاح شده یک روش طبیعی است که ساختار و خواص شیمیایی محصولات را تغییر نمی‌دهد. این روش بر پایه ترکیب هوای موجود در بسته‌بندی مواد غذایی است. گازهایی که به طور معمول در این روش استفاده می‌شود، عبارتند از دی اکسید کربن، ازن و... به طور کلی هدف از نگهداری در سیستم اتمسفر اصلاح شده کاهش فعالیت‌های متابولیکی و رشد میکروارگانیسم‌ها و افزایش ماندگاری محصول با محدود کردن مقدار اکسیژن توسط جایگزینی مقادیر بالایی دی‌اکسید کربن می‌باشد. استفاده از این نوع بسته‌بندی در صنعت لبنیات اغلب در محصول پنیر مورد بررسی قرار گرفته است (۱۱).

بسته‌بندی MAP[1] یا همان بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده، عمل اصلاح ترکیب فضای داخلی یک بسته به منظور بهبود عمر مفید محصول مورد نظر می‌باشد. کشور انگلستان اولین کشوری بود که از سیستم اتمسفر اصلاح شده برای افزایش ماندگاری گوشت خوک و ماهی استفاده کرد، اما این روش بتدریج در سایر کشورها گسترش یافت و امروزه بیشتر در مورد میوه و سبزیجات تازه به کار می رود. در ایران نیز گرچه اغلب از سیستم وکیوم (خروج هوا) در بسته‌بندی‌ها استفاده می‌شود، اما در چند سال اخیر با پیشرفت روش‌های بسته‌بندی نوین و مطابق استانداردهای جهانی استفاده از بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده در حال گسترش است، چرا که بر اساس تحقیقات پژوهشگران صرفا خروج اکسیژن از محیط برای حفظ و نگهداری ماده غذایی کافی نیست (۱۲).

استفاده از اتمسفر اصلاح شده با جایگزینی اکسیژن موجود در بسته‌بندی با گازهای CO_2 و N_2 هنگام نگهداری مواد غذایی از رشد میکروارگانیسم‌های هوازی، کپک و مخمرها و باکتری‌های پروتئولیتیک جلوگیری می‌کند و همچنین باعث کاهش فعالیت‌های متابولیکی ماده غذایی و کاهش رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد و پاتوژن موجود در آن با محدود کردن مقدار اکسیژن تحت مقادیر بالای دی‌اکسیدکربن می‌گردد (۱۳).

دو نکته بسیار مهم در این روش نگهداری مواد غذایی وجود دارد، یکی درجه حرارت و دیگر فرآیند MAP است. کاهش دما و استفاده از این روش باعث کاهش سرعت واکنش‌های شیمیایی می‌شود. بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده، به معنی جایگزین کردن هوای موجود در بسته با مخلوطی از گازهای متفاوت است. به طور معمول مخلوطی از دی اکسید کربن، نیتروژن و اکسیژن در بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده فضای خالی درون بسته‌بندی ابتدا خلا می شود و سپس ترکیب گازهای مورد نظر، تحت فشار جایگزین این فضا می‌گردد و بدین ترتیب فعالیت‌های آنزیمی و میکروبی محصول کنترل می‌شود. این بسته بندی به ظاهر روش بسیار ساده‌ای است. خالی کردن هوای داخل بسته و جایگزین کردن آن با ترکیبی از گازها، اما در عمل پیچیدگی‌های تکنیکی زیادی هم دارد. تعیین نسبت گازها و نگهداشتن این اتمسفر درون بسته بندی و اطراف ماده غذایی چندان ساده نیست و در برخی موارد غیر ممکن است. در مورد یک بسته‌بندی پیش‌بینی تغییرات آتی و در واقع قابل پیش‌بینی بودن این تغییرات تاثیر بسیار زیادی در تخمین عمر ماندگاری دارد (۱۴).

پژوهشی های اخیر روی خوراک مرغ در مدت سه هفته، گوشت تازه شتر مرغ در مدت دو هفته و نیز ماهی سفید دودی در زمان دو ماه تحت اتمسفر اصلاح شده و لفاف‌های غیر قابل نفوذ به بخار آب و اکسیژن(۱۶،۱۵) ، در راستای کاهش رشد باکتری هوازی، بی هوازی،کلی فرم و تغییرات pH و خواص حسی در سال های قبل انجام شده است که با توجه به مشابهت تیمارهای گازی و نوع لفاف بسته‌بندی راهنمای انجام این تحقیق بوده است. هدف از این تحقیق بررسی اثر بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده و فیلم‌های چندلایه انعطاف‌پذیر بر تغییرات pH، رشد باکتری‌های هوازی، کلی‌فرم، کپک و مخمر طی ۲۰روز نگهداری پنیر لیقوان بود.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی و تولید پنیر لیقوان

برای اجرای این تحقیق، ۹ کیلوگرم پنیر لیقوان (۹ بسته پنیر فله ۱ کیلوگرمی) از فروشگاه زنجیره‌ای رفاه واقع در کرج برای آزمایش تهیه شد. محیط‌های کشت مورد نیاز (YGC ، VRB ، CMM ،PCA) از شرکت

[1] Modified Atmosphere Packaging

مرک آلمان، لفاف‌های بسته‌بندی از شرکت پلاستیک ماشین الوان و سایر مواد شیمیایی از شرکت مرک (آلمان) تهیه گردید.

روش آماده‌سازی نمونه‌ها

پنیرها به تکه‌های کوچک برش داده شدند. کلیه نمونه‌های پنیر (اندازه قطعات ۵×۵ و حدود ۵۰ گرم) به آزمایشگاه گروه صنایع غذایی پردیس کشاورزی دانشگاه تهران منتقل و سپس با دستگاه بسته‌بندی اتمسفر اصلاح شده (HENKELMAN مدل Modified Atmosphere، آلمان) توسط ۵ نوع گاز A_1 (۷۰ درصد دی‌اکسیدکربن + ۳۰ درصد نیتروژن)، A_2 (۳۰ درصد دی‌اکسیدکربن + ۷۰ درصد نیتروژن)، A_3 (۴۷/۵ درصد دی‌اکسیدکربن + ۴۷/۵ درصد نیتروژن و ۵ درصد اکسیژن)، A_4 (خلاء)، و A_5 بسته‌بندی معمولی (بدون تزریق گاز) پس از تخلیه هوا و در سه نوع پوشش C_1، C_2 و C_3 (۱۷) بسته‌بندی گردیدند. سپس، درب بسته‌ها دوخته شده و در دمای محیط (25^0C) نگهداری گردیدند. نمونه ها در مدت زمان ۲۰ روز طی روزهای پنجم، دهم، پانزدهم و بیستم از محل خارج شده و بلافاصله به آزمایشگاه کنترل کیفیت صنایع لبنی تین (دامداران) جهت انجام آزمون‌های میکروبی و شیمیایی مربوطه انتقال داده شدند. در این تحقیق شرایط بدون تزریق گاز بعنوان شاهد مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱).

جدول ۱- خصوصیات سه نوع فیلم پلیمری چند لایه مورد استفاده در تحقیق

نمونه	لایه	ضخامت فیلم	ضخامت درزبندی فیلم	درصد عبور اکسیژن ($ml/m^2.day$)	درصد عبور آب ($g/m^2.day$)
PET/AL/LLD	۱۲/۱۲/۱۰۰	۱۲۴	۵۸/۸۸	۰	۰/۱۱
PET/AL/PET/LLD	۱۲/۷/۱۲/۱۰۰	۱۳۱	۶۱/۰۳	۰	۰/۰۸۹
PET/AL/LLD	۱۲/۷/۱۰۰	۱۱۹	۴۸/۸۹	۰	۰/۵۰

PET: Poly Ethylene Terephthalate; LLD: Low Density Poly Ethylene; AL: Aluminum

آزمون های میکروبی

شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی در محیط کشت های PCA & CMM

ابتدا یک گرم نمونه پنیر لیقوان در زیر هود میکروبی در آزمایشگاه وزن شد و در ۱۰ سی‌سی محلول رینگر له شد، هم زمان به محیط کشت غنی کننده ۱۰ CMM[1] سی‌سی اضافه شد و به مدت سه روز در انکوباسیون ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد، سپس به روش CFU یک سری ۶ تایی لوله حاوی آب مقطر استریل با افزودن ۱سی‌سی از نمونه به لوله شماره ۱سریال رقت تهیه شد و به روش پور پلیت در محیط کشت PCA[2] کشت داده شد و به مدت ۳ روز در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد جهت شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی انکوبه شد. سپس، توسط دستگاه کلنی کانتر تعداد میکروارگانیسم‌ها شمارش شد. شیوه ساخت محیط PCA ، ابتدا ۲۳/۵ گرم از پودر محیط کشت را در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل نموده، سپس در اتوکلاو 121^0C به مدت ۱۵ دقیقه استریل نموده، بعد از آن که دما به 45^0C ۴۰-۴۵ رسید، محیط را داخل پلیت‌ها ریخته و اجازه می‌دهیم تا سفت شود. سپس محیط کشت PCA آماده کشت می‌باشد، یک میلی لیتر از نمونه توسط سمپلر برداشته شد و روی محیط کشت ریخته می‌شود و به صورت ۸ انگلیسی همزده می‌شود تا خشک شود تمام مراحل زیر هود انجام گردید (۱۴،۱۸).

شمارش کلی میکروار گانیسم‌های بی‌هوازی (کلی‌فرم) در محیط کشت VRB

ابتدا ۱ گرم پنیر لیقوان در زیر هود لامینار وزن شد و در ۱۰ میلی لیتر محلول رینگر حل شد، هم زمان یک سری ۶ تایی لوله حاوی آب مقطر استریل با افزودن یک میلی لیتر از نمونه به لوله شماره ۱ رقت تهیه شد و به

[1] Cooked Meat Media
[2] Plate Count Agar

روش پورپلیت دو لایه در محیط کشت VRBA[1] کشت داده شد و به مدت ۳ روز در جار بی‌هوازی ۲۵ درجه سانتی‌گراد جهت شمارش کلی‌فرم انکوبه و سپس شمارش شد. شیوه ساخت محیط VRBA، ابتدا ۴۰ گرم از پودر محیط کشت را در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل نموده سپس در اتوکلاو 121^0C مدت ۱۵ دقیقه استریل نموده بعد از آن که دما به ۴۰- ۴۵ درجه سانتی‌گراد رسید، محیط را داخل پلیت‌ها ریخته اجازه می‌دهیم تا سفت شود. سپس محیط کشت VRBA آماده کشت می‌باشد رنگ این محیط قرمز تا ارغوانی می‌باشد، یک میلی لیتر از نمونه توسط سمپلر برداشته می‌شود بر روی محیط کشت ریخته می‌شود و به صورت ۸ انگلیسی همزده می‌شود تا خشک شود و تمام مراحل زیر هود انجام می‌شود. بلافاصله لایه دوم ریخته شده و اجازه داده شد تا سفت شود بعد به جار بی‌هوازی انتقال گردید (۱۳،۱۹).

شمارش کلی کپک و مخمر در محیط کشت YGC

ابتدا ۱ گرم پنیر لیقوان در زیر هود لامینار وزن شد و در ۱۰ میلی‌لیتر محلول رینگر حل شد، سپس یک سری ۶ تایی لوله حاوی آب مقطر استریل با افزودن یک میلی-لیتر از نمونه به لوله شماره ۱ رقت تهیه شد و به روش پورپلیت دو لایه در محیط کشت YGC[2] کشت داده شد و به مدت ۳ روز در جار بی‌هوازی ۲۵ درجه سانتی‌گراد جهت شمارش کپک و مخمر گرمخانه‌گذاری شد. سپس کپک و مخمرها شمارش شد. شیوه ساخت محیط YGC ، ابتدا ۴۰ گرم از پودر محیط کشت را در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل نموده سپس در اتوکلاو 121^0C به مدت ۱۵ دقیقه استریل نموده و بعد از آن که دما به ۴۰- ۴۵ درجه سانتی‌گراد رسید، محیط را داخل پلیت‌ها ریخته اجازه می‌دهیم تا سفت شود. سپس محیط کشت YGC آماده کشت می‌باشد، یک میلی‌لیتر از نمونه توسط سمپلر برداشته می‌شود و روی محیط کشت ریخته می‌شود و به صورت ۸ انگلیسی همزده می‌شود تا خشک شود. تمام مراحل زیر هود انجام می‌گیرد. سپس بعد از آنکه نمونه خشک شد لایه دوم ریخته شد و اجازه داده شد تا کاملا سفت شود و به جار بی‌هوازی انتقال گردید (۱۳،۱۹).

آزمون شیمیایی

اندازه‌گیری pH

دستگاه pH متر برای اندازه‌گیری pH در مواد اسیدی و (OH^-) در مواد قلیایی بکار می‌رود و دقت آن دو رقم اعشار می‌باشد. این دستگاه تولید شرکت سازنده Metron سوئیس می‌باشد. در روش اندازه‌گیری pH، دستگاه pH متر ابتدا با محلول‌های تامپون ۴ و ۷ تنظیم شد. با محلول‌های تامپون ۴ و ۷ تنظیم شد. الکترود pHمتر را پس از تنظیم مستقیم در پنیر فرو برده به طوری که حباب حساس pH متر کاملاً داخل نمونه پنیر لیقوان قرار گرفت. حداقل ۴۵ ثانیه الکترود با پنیر در تماس بوده و pH رویت شده ثبت گردید (۲۰).

روش تجزیه وتحلیل آماری

در این پژوهش آزمایش به صورت ۳ فاکتوریل بود که فاکتورC (اثر نوع لفاف‌های انعطاف‌پذیر چند لایه) در ۳ سطح C1 تا C3 و فاکتور A (گاز مورد استفاده برای بسته‌بندی) در ۵ سطح A1 تا A5 ، فاکتور Z (زمان نگهداری) در ۴ سطح ۵ ، ۱۰، ۱۵ و۲۰ روز بر جمعیت میکروبی پنیر لیقوان مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی و با آزمایش فاکتوریل در سه تکرار طراحی شد. داده‌ها پس از جمع‌آوری، مرتب شده و با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

شمارش کلی باکتری‌های هوازی

نتایج شمارش کلی باکتری‌های هوازی نمونه‌های پنیر لیقوان بسته‌بندی شده در فیلم‌های چند لایه انعطاف‌پذیر و اتمسفر اصلاح شده در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به جدول شمارش کلی باکتری های هوازی پنیر لیقوان بسته بندی شده در طی مدت زمان نگهداری روند رشد باکتری های هوازی برای کلیه تیمارها افزایشی بوده و افزایش معنی دار در شمارش کلی باکتری های هوازی در روزهای پنجم ،دهم ، پانزدهم وجودداشت و در روز بیستم افزایش معنی دار با شدت بالاتری حاصل گردید($p\leq ۰/۰۵$). مطابق با جدول مقایسه میانگین شمارش کلی باکتری های هوازی و بررسی داده ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن مشخص گردیدکه در

[1] Violet Red Bile Agar
[2] Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar

روز ۲۰ ام نگهداری بیشترین تعداد شمارش باکتری های هوازی (۶/۲۲log cfu/ml) متعلق به تیمار C_3A_5 با پوشش ۳ لایه PET12/AL7/LLD100 و بسته بندی بدون تزریق گاز بود.کمترین تعداد شمارش باکتری های هوازی (۲/۱۵cfu/ml log) را تیمار C_2A_1 باپوشش۴ لایه PET12/AL7/PET12/LLD100 و بسته بندی تحت شرایط ۷۰ درصدگاز CO_2 و ۳۰ درصدگازN_2 در روز۵ ام نگهداری به خود اختصاص داده است. با توجه به نتایج تجزیه واریانس شمارش کلی باکتری‌های هوازی (جدول ۶) نتایج آزمایشات نشان دادند که نوع لفاف‌های انعطاف پذیر، شرایط بسته‌بندی و زمان نگهداری تفاوت کاملا" معنی داری بر شمارش کلی باکتری‌های هوازی پنیر لیقوان بسته بندی شده داشتند (p<۰/۰۱). اثرات متقابل دو جانبه و اثر سه جانبه (نوع لفاف‌های انعطاف پذیر× شرایط بسته بندی× زمان نگهداری) نیز تاثیر کاملا" معنی داری بر شمارش کلی باکتری‌های هوازی پنیر لیقوان بسته‌بندی شده داشتند (p<۰/۰۱).

جدول ۲ - نتایج شمارش کلی باکتری های هوازی (log cfu/ml) پنیر لیقوان بسته بندی شده در فیلم های چند لایه انعطاف پذیر و اتمسفر اصلاح شده.

تیمار	روز ۵	روز ۱۰	روز ۱۵	روز ۲۰	میانگین تیمار در زمان
C1A1	۲/۳٦±۰/۰٤^{m}	۲/۸۳±۰/۰۰^{gh}	۳/۲۵±۰/۰۰^{l}	٤/۵۰±۰/۰۰^{k}	۳/۲٤±۰/۹۱^{bcd}
C2A1	۲/۱۵±۰/۰۰^{o}	۲/۵۷±۰/۰۰^{j}	۲/۸۹±۰/۰۰^{n}	۳/۰۰±۰/۰۰^{n}	۲/٦۵±۰/۳۸^{d}
C3A1	۲/٤۵±۰/۰۰^{l}	۲/۸۸±۰/۰۰^{efgh}	۳/۳۲±۰/۰۰^{k}	٤/۵۸±۰/۰۰^{j}	۳/۳۱±۰/۹۲^{bcd}
C1A2	۲/۸۳±۰/۰۰^{g}	۲/۹۵±۰/۰۰^{def}	۳/٦۵±۰/۰۰^{h}	٤/۷٤±۰/۰۰^{g}	۳/۵۵±۰/۸۷^{abcd}
C2A2	۲/٦٤±۰/۰۰^{i}	۲/۷۸±۰/۲۲^{hi}	۳/۳۲±۰/۰۰^{l}	۳/۸۹±۰/۰۰^{l}	۳/۱٦±۰/۵٦^{bcd}
C3A2	۲/۸۹±۰/۰۰^{f}	۳/۰۰±۰/۰۰^{d}	۳/۹۹±۰/۰۰^{f}	٤/۸۵±۰/۰۰^{f}	۳/٦۸±۰/۹۲^{abcd}
C1A3	۲/۵۰±۰/۰۰^{k}	۲/۸۷±۰/۰۰^{gh}	۳/٤۷±۰/۰۰^{j}	٤/٦۱±۰/۰۰^{i}	۳/۳٦±۰/۹۲^{bcd}
C2A3	۲/۲۲±۰/۰۰^{n}	۲/٦۹±۰/۰۰^{i}	۲/۹٦±۰/۰۰^{m}	۳/٦٦±۰/۰۰^{m}	۲/۸۸±۰/۵۹^{cd}
C3A3	۲/۵۱±۰/۰۰^{j}	۲/۹۱±۰/۰۰^{defg}	۳/۵۷±۰/۰۰^{i}	٤/٦۵±۰/۰۰^{h}	۳/٤۱±۰/۹۳^{bcd}
C1A4	۲/۹۲±۰/۰۰^{e}	۳/۳۵±۰/۰۰^{c}	٤/۲۲±۰/۰۰^{e}	٤/۸۹±۰/۰۰^{e}	۳/۸۵±۰/۸۸^{abcd}
C2A4	۲/۷۸±۰/۰۰^{h}	۲/۹۹±۰/۰۰^{de}	۳/۷۵±۰/۰۰^{g}	٤/۵۹±۰/۰۰^{j}	۳/۵۳±۰/۸۱^{abcd}
C3A4	۳/۵۰±۰/۰۰^{b}	۳/۸۸±۰/۰۰^{b}	٤/۸۱±۰/۰٤^{b}	۵/۹۵±۰/۰۰^{b}	۳/۵٤±۱/۰۹^{ab}
C1A5	۳/۰۰±۰/۰۰^{c}	۳/۸۸±۰/۰۰^{b}	٤/۵٤±۰/۰۰^{c}	۵/۲۰±۰/۰۰^{c}	٤/۱۵±۰/۹٤^{abc}
C2A5	۲/۹۵±۰/۰۰^{d}	۳/٤۵±۰/۰٦^{c}	٤/٤۷±۰/۰۰^{d}	۵/۰۰±۰/۰۰^{d}	۳/۹۷±۰/۹۳^{abcd}
C3A5	۳/۹۸±۰/۰۰^{a}	٤/٤۸±۰/۰٦^{a}	۵/۰۰±۰/۰۰^{a}	٦/۲۲±۰/۰۰^{a}	٤/۹۲±۰/۹٦^{a}
میانگین لفاف × گاز	۲/۷۸±۰/٤٦	۳/۱۷±۰/۵۲	۳/۸۱±۰/٦٤	٤/٦۹±۰/۷۸	۳/٦۱±۰/٦۰

مقادیر دارای حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی داری ندارند(p>۰/۰۵)

شمارش کلی‌فرم

نتایج شمارش کلی‌فرم نمونه‌های پنیر لیقوان بسته‌بندی شده در فیلم‌های چند لایه انعطاف‌پذیر و اتمسفر اصلاح شده در جدول ۳ نشان داده شده است. با توجه به جدول مقایسه میانگین شمارش کلی‌فرم‌ها پنیر لیقوان بسته‌بندی شده در طی مدت نگهداری روند تغییرات شمارش کلی‌فرم‌ها برای کلیه تیمارها یکسان و باافزایش معنی‌دار بود (p≤۰/۰۵). با توجه به جدول مقایسه میانگین شمارش کلی‌فرم و بررسی داده‌ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن مشخص گردید که در روز ۲۰ام نگهداری بیشترین تعداد شمارش کلی فرم (log ۳/۵۳cfu/ml) متعلق به تیمار C3A5 با پوشش ۳ لایه PET12/AL7/LLD100 و بسته‌بندی بدون تزریق گاز بود. کمترین تعداد شمارش کلی‌فرم (log

۱/۳۰cfu/ml) را تیمار C2A1 با پوشش ۴ لایه PET12/AL7/PET12/LLD100 و بسته‌بندی تحت شرایط ۷۰ درصدگاز CO2 و ۳۰ درصد گاز N2 پس از ۵ روز نگهداری به خود اختصاص داده بود. با توجه به جدول تجزیه واریانس شمارش کلی‌فرم (جدول ۶) نتایج آزمایشات نشان دادند که نوع لفاف‌های انعطاف‌پذیر، شرایط بسته‌بندی و زمان نگهداری تفاوت کاملا" معنی-داری بر شمارش کلی‌فرم پنیر لیقوان بسته‌بندی شده داشتند ($p<۰/۰۱$). اثرات متقابل دوجانبه و اثر سه‌جانبه (نوع لفاف‌های انعطاف پذیر × شرایط بسته‌بندی × زمان نگهداری) نیز تاثیر کاملا" معنی‌داری بر شمارش کلی‌فرم پنیر لیقوان بسته‌بندی شده داشتند ($p<۰/۰۱$).

جدول ۳ - مقایسه میانگین شمارش کلی‌فرم (log cfu/ml) پنیر لیقوان بسته بندی شده در فیلم‌های چند لایه انعطاف‌پذیر و اتمسفر اصلاح شده.

تیمار	روز ۵	روز ۱۰	روز ۱۵	روز ۲۰	میانگین تیمار در زمان
C1A1	۱/۴۳±۰/۰۱^{n}	۱/۷۴±۰/۰۰^{ij}	۱/۹۷۷±۰/۰۰^{n}	۲/۲۰±۰/۰۰^{k}	۱/۸۴±۰/۳۰^{gh}
C2A1	۱/۳۰±۰/۰۲^{o}	۱/۶۲±۰/۰۱^{j}	۱/۸۶±۰/۰۰^{o}	۲/۱۲±۰/۵۷^{k}	۱/۷۲±۰/۴۳^{h}
C3A1	۱/۵۱±۰/۰۱^{m}	۱/۸۴±۰/۰۰^{hij}	۲/۰۴±۰/۰۰^{m}	۲/۳۳±۰/۰۰^{jk}	۱/۹۳±۰/۲۹^{gh}
C1A2	۲/۰۴±۰/۰۰^{h}	۲/۴۱±۰/۰۰^{cde}	۲/۵۷±۰/۰۰^{h}	۲/۸۰±۰/۰۰^{fgh}	۲/۴۵±۰/۳۲^{cdef}
C2A2	۱/۹۳±۰/۰۰^{i}	۲/۳۰±۰/۰۰^{def}	۲/۴۷±۰/۰۰^{i}	۲/۶۸±۰/۰۰^{ghi}	۲/۳۴±۰/۳۱^{defg}
C3A2	۲/۱۳±۰/۰۰^{g}	۲/۴۵±۰/۵۷^{ab}	۲/۶۵±۰/۰۰^{g}	۲/۸۸±۰/۰۰^{efg}	۲/۶۲±۰/۳۴^{bcde}
C1A3	۱/۷۳±۰/۰۰^{k}	۲/۰۷±۰/۰۰^{efgh}	۲/۲۷±۰/۰۰^{k}	۲/۴۷±۰/۰۰^{ij}	۲/۱۴±۰/۳۱^{efgh}
C2A3	۱/۶۱±۰/۰۱^{l}	۱/۹۶±۰/۰۰^{ghi}	۲/۱۴±۰/۰۰^{l}	۲/۳۵±۰/۰۰^{jk}	۲/۰۲±۰/۳۱^{fgh}
C3A3	۱/۷۷±۰/۰۰^{j}	۲/۱۷±۰/۰۰^{efg}	۲/۳۴±۰/۰۰^{j}	۲/۵۵±۰/۰۰^{hij}	۲/۲۱±۰/۳۲^{efgh}
C1A4	۲/۳۹±۰/۰۰^{e}	۲/۷۵±۰/۰۰^{bc}	۲/۹۳±۰/۰۰^{e}	۳/۱۳±۰/۰۰^{cde}	۲/۸۰±۰/۳۱^{abcd}
C2A4	۲/۱۹±۰/۱۳^{f}	۲/۶۳±۰/۰۰^{bcd}	۲/۸۱±۰/۰۰^{f}	۳/۰۰±۰/۰۰^{def}	۲/۶۶±۰/۳۴^{bcde}
C3A4	۲/۴۹±۰/۰۰^{d}	۲/۸۵±۰/۰۰^{ab}	۲/۹۹±۰/۰۰^{d}	۳/۲۱±۰/۰۰^{bcd}	۲/۸۸±۰/۳۰^{abc}
C1A5	۲/۷۴±۰/۰۰^{b}	۲/۹۷±۰/۵۷^{bc}	۳/۳۰±۰/۰۰^{b}	۳/۴۶±۰/۰۰^{ab}	۳/۰۷±۰/۳۶^{ab}
C2A5	۲/۶۲±۰/۰۰^{c}	۲/۷۷±۰/۰۰^{ab}	۳/۱۷±۰/۰۰^{c}	۳/۳۳±۰/۰۰^{abc}	۳/۰۲±۰/۳۰^{ab}
C3A5	۲/۸۴±۰/۰۰^{a}	۳/۲۰±۰/۰۰^{a}	۳/۳۹±۰/۰۰^{a}	۳/۵۳±۰/۰۰^{a}	۳/۲۴±۰/۳۰^{a}
میانگین لفاف× گاز	۲/۰۵±۰/۴۸	۲/۴۱±۰/۵۱	۲/۵۹±۰/۴۸	۲/۸۰±۰/۴۶	۲/۴۶±۰/۴۸

مقادیر دارای حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌داری ندارند ($p>۰/۰۵$).

نتایج شمارش کپک و مخمر

نتایج شمارش کپک و مخمر نمونه‌های پنیر لیقوان بسته‌بندی شده در فیلم‌های چند لایه انعطاف‌پذیر و اتمسفر اصلاح شده در جدول ۴ نشان داده شده است. با توجه به جدول شمارش کپک و مخمر پنیر لیقوان بسته-بندی شده در طی مدت زمان نگهداری روند رشد کپک و مخمر برای کلیه تیمارها یکسان و در این مدت در تمامی تیمارها روند افزایشی معنی دار داشت ($p\leq۰/۰۵$). با توجه به جدول مقایسه میانگین شمارش کپک و مخمر و بررسی داده ها با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن مشخص گردید که در روز ۲۰ام نگهداری بیشترین تعداد شمارش کپک و مخمر (۳/۲۷log cfu/ml) متعلق به تیمار C3A5 با پوشش ۳لایهPET12/AL7/LLD100 و بسته بندی بدون تزریق گاز بود. کمترین تعداد شمارش کپک و مخمر (۰/۹۰log cfu/ml)را تیمار C2A1 با پوشش۴ لایه PET12/AL7/PET12/LLD100و بسته بندی تحت شرایط ۷۰ درصد گاز CO2 و ۳۰ درصد گاز N2 در روز ۵ام نگهداری به خود اختصاص داده بود. با توجه به جدول

تجزیه واریانس شمارش کپک و مخمر (جدول ۶) نتایج آزمایشات نشان دادند که نوع لفاف‌های انعطاف پذیر، شرایط بسته‌بندی و زمان نگهداری تفاوت کاملا″ معنی داری بر شمارش کپک و مخمر پنیر لیقوان بسته بندی شده، داشتند ($p<۰/۰۱$). اثر متقابل دوجانبه (نوع لفاف-های انعطاف پذیر چند لایه× زمان نگهداری) نیز تفاوت کاملا″ معنی‌داری بر شمارش کپک و مخمر پنیر لیقوان بسته‌بندی شده داشت ($p<۰/۰۱$). اثر متقابل دوجانبه (نوع لفاف‌های انعطاف‌پذیر چند لایه× شرایط بسته بندی) تاثیر معنی‌داری بر شمارش کپک و مخمر پنیر لیقوان بسته-بندی شده داشت ($۰/۰۵<p<۰/۰۱$). اثر متقابل دوجانبه (نوع لفاف‌های انعطاف‌پذیر چند لایه×زمان نگهداری) و اثر سه جانبه (نوع لفاف‌های انعطاف پذیر× شرایط بسته بندی× زمان نگهداری) تاثیر معنی‌داری بر شمارش کپک و مخمر پنیر لیقوان بسته‌بندی شده نداشتند ($p>۰/۰۵$).

جدول ۴ - مقایسه میانگین شمارش کپک و مخمر (log cfu/ml) پنیر لیقوان بسته‌بندی شده در فیلم‌های چند لایه انعطاف‌پذیر و اتمسفر اصلاح شده.

تیمار	روز ۵	روز ۱۰	روز ۱۵	روز ۲۰	میانگین تیمار در زمان
C1A1	۱/۰۷±۰/۰۳^{n}	۱/۲۵±۰/۰۲^{l}	۱/۷۳±۰/۰۰^{n}	۲/۱۱±۰/۰۰^{m}	۱/۴۸±۰/۵۲^{ef}
C2A1	۰/۹۰±۰/۰۵^{n}	۱/۰۲±۰/۰۲^{m}	۱/۵۹±۰/۱۱^{o}	۱/۹۰±۰/۰۰^{n}	۱/۳۵±۰/۴۷^{f}
C3A1	۰/۱۴±۰/۰۳^{l}	۱/۲۵±۰/۵۹^{l}	۱/۸۱±۰/۰۰^{m}	۲/۲۰±۰/۰۰^{l}	۱/۶۰±۰/۴۹^{def}
C1A2	۱/۸۵±۰/۰۰^{h}	۱/۹۲±۰/۰۰^{i}	۲/۰۵±۰/۰۲^{i}	۲/۵۵±۰/۰۱^{j}	۲/۰۶±۰/۳۵^{bcdef}
C2A2	۱/۷۲±۰/۰۰^{h}	۱/۹۲±۰/۰۰^{i}	۱/۹۹±۰/۰۰^{j}	۲/۴۳±۰/۱۶^{k}	۲/۰۵±۰/۲۶^{bcdef}
C3A2	۱/۸۹±۰/۰۰^{g}	۲/۰۷±۰/۰۰^{g}	۲/۲۴±۰/۰۰^{h}	۲/۶۴±۰/۱۳^{i}	۲/۲۱±۰/۳۱^{abcd}
C1A3	۱/۶۷±۰/۰۰^{j}	۱/۸۷±۰/۰۰^{j}	۱/۹۸±۰/۰۰^{k}	۲/۸۹±۰/۱۴^{g}	۲/۱۰±۰/۵۴^{bcde}
C2A3	۱/۴۶±۰/۰۱^{k}	۱/۷۱±۰/۰۰^{k}	۱/۸۴±۰/۰۰^{l}	۲/۸۱±۰/۴۲^{h}	۱/۹۵±۰/۵۸^{cdef}
C3A3	۱/۷۲±۰/۰۰^{i}	۱/۹۵±۰/۰۰^{h}	۲/۴۶±۰/۰۰^{g}	۳/۱۴±۰/۳۶^{c}	۲/۳۲±۰/۶۲^{abcd}
C1A4	۲/۱۱±۰/۰۰^{e}	۲/۳۴±۰/۰۰^{e}	۲/۸۲±۰/۰۰^{d}	۳/۰۸±۰/۵۸^{d}	۲/۵۹±۰/۴۴^{abc}
C2A4	۱/۹۶±۰/۰۰^{f}	۲/۱۱±۰/۰۰^{f}	۲/۶۸±۰/۰۰^{e}	۲/۹۵±۰/۲۸^{f}	۲/۴۲±۰/۴۶^{abc}
C3A4	۲/۲۵±۰/۰۰^{d}	۲/۴۹±۰/۰۰^{d}	۲/۹۱±۰/۰۰^{b}	۳/۲۰±۰/۱۹^{b}	۲/۷۱±۰/۴۲^{ab}
C1A5	۲/۴۰±۰/۰۰^{b}	۲/۶۵±۰/۰۰^{b}	۲/۸۶±۰/۵۷^{c}	۳/۱۴±۰/۴۴^{c}	۲/۷۶±۰/۳۱^{ab}
C2A5	۲/۳۰±۰/۰۰^{c}	۲/۵۶±۰/۰۰^{c}	۲/۶۵±۰/۰۰^{f}	۳/۰۶±۰/۴۵^{e}	۲/۶۴±۰/۳۱^{abc}
C3A5	۲/۴۷±۰/۰۰^{a}	۲/۶۹±۰/۰۰^{a}	۲/۹۴±۰/۰۰^{a}	۳/۲۷±۰/۲۲^{a}	۲/۸۴±۰/۳۴^{a}
میانگین لفاف × گاز	۱/۷۹±۰/۴۷	۱/۹۷±۰/۵۵	۲/۳۰±۰/۴۹	۲/۷۵±۰/۴۷	۲/۲۰±۰/۴۹

مقادیر دارای حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی داری ندارند($p>۰/۰۵$)

نتایج pH

نتایج تغییرات pH نمونه‌های پنیر لیقوان بسته‌بندی شده در فیلم‌های چندلایه انعطاف‌پذیر و اتمسفر اصلاح شده در جدول ۵ نشان داده شده است. مطابق با نتایج میزان pH پنیر لیقوان بسته‌بندی شده طی مدت زمان نگهداری در تمامی تیمارها روند کاهشی و افزایشی داشت. با توجه به جدول مقایسه میانگین pH و بررسی داده‌ها با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن مشخص گردید که در روز ۲۰ام نگهداری بیشترین مقدار pH (۵/۵۶) متعلق به تیمار C3A5 با لفاف ۳ لایه PET12/AL7/LLD100 و بسته‌بندی بدون تزریق گاز بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار در مقدار pH نداشت ($p\geq۰/۰۵$) و کمترین مقدار pH (۵/۲۸) را تیمار C2A1 با پوشش ۴ لایه PET12/AL7/PET12/LLD100 و بسته‌بندی تحت شرایط ۷۰ درصد گاز CO_2 و ۳۰ درصد گاز N_2 به خود اختصاص داده بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی-دار در مقدار pH نداشت ($p\geq۰/۰۵$). با توجه به جدول تجزیه واریانس pH (جدول ۶) نتایج آزمایشات نشان

دادند که نوع لفاف‌های انعطاف‌پذیر و شرایط بسته‌بندی تفاوت معنی‌داری بر pH پنیر لیقوان بسته‌بندی شده داشتند (۰/۰۵>p>۰/۰۱). اثر زمان نگهداری بر pH پنیر لیقوان بسته‌بندی شده کاملا" معنی‌دار بود (p<۰/۰۱). اثرات متقابل دوجانبه و اثر سه‌جانبه (نوع لفاف‌های انعطاف پذیر× شرایط بسته‌بندی× زمان نگهداری) تاثیر معنی‌داری بر pH پنیر بسته‌بندی شده نداشتند (p>۰/۰۵).

با توجه به بررسی اثر سه گانه سینتیک pH پنیر لیقوان بسته‌بندی شده در طی مدت زمان نگهداری روند تغییرات pH برای کلیه تیمارها یکسان بود. همانگونه که مشاهده می‌شود در کلیه تیمارها طی ۱۰ روز نگهداری شاهد افزایش pH اما از روز ۱۰ تا ۲۰ نگهداری کاهش pH مشاهده شد. نتایج میانگین تیمار در زمان نگهداری نشان داد که کمترین میانگین تیمار در زمان pH مربوط به تیمار C2A1 با پوشش ۴ لایه PET12/AL7/PET12/LLD100 و بسته‌بندی تحت شرایط اتمسفر ۷۰ درصد گاز دی‌اکسید کربن و ۳۰ درصد گاز نیتروژن بود. بالاترین میانگین تیمار در زمان برای pH را تیمار C3A5 با پوشش ۳لایه PET12/AL7/LLD100 و بسته‌بندی بدون تزریق گاز به خود اختصاص داده بود.

جدول ۵ - مقایسه میانگین pH پنیر لیقوان بسته‌بندی شده در فیلم‌های چند لایه انعطاف‌پذیر و اتمسفر اصلاح شده.

تیمار	روز ۵	روز ۱۰	روز ۱۵	روز ۲۰	میانگین تیمار در زمان
C1A1	۵/۴۷±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۲±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۴±۰/۱۵ ^{a}	۵/۳۷±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۵±۰/۰۶ ^{def}
C2A1	۵/۴۶±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۰±۰/۱۵ ^{a}	۵/۳۷±۰/۱۵ ^{a}	۵/۲۸±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۰±۰/۰۹ ^{f}
C3A1	۵/۴۹±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۴±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۷±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۱±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۸±۰/۰۵ ^{bcdef}
C1A2	۵/۴۹±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۴±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۸±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۶±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۹±۰/۰۳ ^{bcde}
C2A2	۵/۴۹±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۳±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۵±۰/۱۵ ^{a}	۵/۳۸±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۶±۰/۰۶ ^{def}
C3A2	۵/۵۱±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۷±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۲±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۹±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۲±۰/۰۳ ^{abcd}
C1A3	۵/۴۸±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۲±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۶±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۱±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۷±۰/۰۴ ^{cdef}
C2A3	۵/۴۷±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۱±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۰±۰/۱۵ ^{a}	۵/۳۴±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۳±۰/۰۷ ^{ef}
C3A3	۵/۵۱±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۵±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۱±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۵±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۰±۰/۰۴ ^{abcde}
C1A4	۵/۵۳±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۶±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۵±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۷±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۳±۰/۰۴ ^{abcd}
C2A4	۵/۵۰±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۵±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۷±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۲±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۸±۰/۰۵ ^{bcdef}
C3A4	۵/۵۴±۰/۱۶ ^{a}	۵/۵۹±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۶±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۲±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۵±۰/۰۳ ^{abc}
C1A5	۵/۵۷±۰/۱۶ ^{a}	۵/۶۰±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۸±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۱±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۷±۰/۰۴ ^{ab}
C2A5	۵/۵۵±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۸±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۰±۰/۱۵ ^{a}	۵/۴۶±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۲±۰/۰۵ ^{abcd}
C3A5	۵/۵۸±۰/۱۶ ^{a}	۵/۶۳±۰/۱۶ ^{a}	۵/۵۹±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۶±۰/۱۵ ^{a}	۵/۵۹±۰/۰۲ ^{a}
میانگین لفاف × گاز	۵/۵۱±۰/۱۳	۵/۵۵±۰/۱۳	۵/۴۹±۰/۱۴	۵/۴۳±۰/۱۴	۵/۵۰±۰/۱۳

مقادیر دارای حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی داری ندارند(p>۰/۰۵)

مدت ماندگاری پنیر لیقوان در لفاف ۴لایه تحت شرایط ترکیبات گازی A1 , A3 و A2 ۲۰روز، ۱۹روز، ۱۸روز و تحت شرایط خلاء ۱۶ روز و بدون تزریق گاز ۱۰ روز. در لفاف ۳ لایه (آلومینیم قوی) تحت شرایط ترکیبات گازی گازی A1 , A3 و A2 ، ۱۸ روز ،۱۶ روز ،۱۴روز و تحت شرایط خلاء ۱۲ روز و بدون تزریق گاز ۸ روز. همراه با لفاف ۳ لایه (آلومینیوم ضعیف) تحت شرایط ترکیبات گازی گازی A1 , A3 و A2 ، ۱۵ روز، ۱۴ روز ، ۱۲روز و تحت شرایط خلاء ۱۰ روز و بدون تزریق گاز ۶ روز گزارش شد.

جدول ۶ - جدول تجزیه واریانس تأثیر نوع لفاف انعطاف‌پذیر، شرایط بسته‌بندی و زمان نگهداری بر تعداد کل باکتری‌های هوازی، کلی فرم، کپک، مخمر و PH در پنیر لیقوان.

نوع منبع تغییرات	باکتری هوازی		کلی فرم		کپک و مخمر		pH	
(SOV)	(F)	(P)	(F)	(P)	(F)	(P)	(F)	(P)
اثر نوع لفاف های انعطاف پذیر چند لایه (C)	۷۶۸۳/۲۰۸**	۰/۰۰۰	۳۸/۳۶۸**	۰/۰۰۰	۱۸/۷۷۹**	۰/۰۰۰	۲/۹۳۳*	۰/۰۵
اثرشرایط بسته بندی (A)	۹۷۶۵/۶۹٤**	۰/۰۰۰	٥٥٤/۳۳۸**	۰/۰۰۰	۲٤۳/۷٦۲**	۰/۰۰۰	۲/۹۸٤*	۰/۰۲۲
اثر زمان نگهداری(Z)	۲۹۷٦٦/٥٦۰**	۰/۰۰۰	۲۷۳/٦۷۷**	۰/۰۰۰	۲۳٥/۰۰۹**	۰/۰۰۰	٤/۳۳۲**	۰/۰۰٦
اثر متقابل(A×C)	۳۸٦/۲٦۷**	۰/۰۰۰	/۹۳۹ns	۰/٤۸۷	۲/٤۱۷*	۰/۰۱۹	۰/۰۰۸ns	۱/۰۰۰
اثر متقابل(Z×C)	٤٤۳/۱۰٦**	۰/۰۰۰	۱/٦٥۰ ns	۰/۱۳۹	۱/٦۲۹ns	۰/۱٤٥	۰/۲٤۷ ns	
اثر متقابل(Z×A)	۱٤۳/۲٤۷**	۰/۰۰۰	۱/۱٥۳ ns	۰/۳۲٥	۹/۸۷٤**	۰/۰۰۰	۰/۰۸٦ ns	
اثرمتقابل(Z×A×C)	۸۱/۹۸۲**	۰/۰۰۰	۰/۸۸۸ ns	۰/٦۱۷	۱/٥٦۷ ns	۰/۰٦۰	۰/۰۱۰ ns	

- علامت ** نشان دهنده تفاوت کاملاً معنی دار ($p<۰/۰۱$)
- علامت * نشان دهنده تفاوت معنی دار ($۰/۰۵<p<۰/۰۱$)
- علامت ns نشان دهنده عدم معنی داری ($p>۰/۰۵$)

بحث

با توجه به نتایج می‌توان اظهار داشت تاثیر سه‌گانه ترکیب گازی، زمان و پوشش‌های مختلف بر روی شمارش کلی باکتری‌های هوازی،کلی‌فرم و کپک و مخمر در همه تیمارها یک روند افزایشی داشت که در روز بیستم افزایش معنی‌دار با شدت بالاتری حاصل گردید. به گونه‌ای که بیشترین شمارش هوازی، کلی‌فرم، کپک و مخمر در روز بیستم در پوشش سه لایه با آلومینیوم ضعیف مربوط به نمونه شاهد در روز بیستم ،که علت افزایش امکان رشد و تکثیر باکتری‌ها با گذشت زمان و عدم استفاده از ترکیب گازی و پوشش ضعیف تر است و کمترین شمارش در روز پنجم در پوشش چهار لایه مربوط به ترکیب گازی ۷۰ درصد CO_2 و ۳۰ درصد N_2 است که این به علت نوع اتمسفر، بازه زمانی بسته‌ها، ضخامت بالا و تعداد لایه بیشتر و قدرت نفوذپذیری کم به بخار آب و اکسیژن است. از طرفی علت کاهش شمارش باکتری‌های هوازی، کلی-فرم، کپک و مخمر به دلیل نوع ترکیب گازی بسته‌ها و خاصیت میکروب‌کشی گاز CO_2 است که باعث کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها در روز پنجم شده است.

شعبان پور و ذوالفقاری (۲۰۱۲) به نتایج مشابهی با این تحقیق دست یافتند. آنها خاطر نشان کردند که مخلوط گازی دارای ترکیب مناسب برای افزایش ماندگاری محصول به همراه لفافی که دارای نفوذپذیری کم باشد می‌تواند از طریق ممانعت از رشد باکتری‌های گرم منفی سودوموناس و دیگر سایکروتروف‌های گرم منفی موجب افزایش قابل‌توجهی در ماندگاری غذاهای مختلف شود که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت (۲۱).

Killefer (۱۹۳۰) نشان داد که عمر نگهداری گوشت بره و خوک در غلظت ۱۰۰ درصد CO_2 دمای ۷-۴ درجه سانتی‌گراد دو برابر گوشت‌هایی بود که در هوای معمولی در همان درجه حرارت نگه داشته شده بود که با نتایج این تحقیق مشابهت داشت (۲۲).

Hanks و همکاران (۱۹۸۱) دریافت در صورت نگه‌داری قزل‌آلا و ماهی کراکر در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و محیط CO_2 نسبت به نمونه‌های شاهد حداقل یک لگاریتم تفاوت در شمارش باکتریایی آنها مشاهده شد که با نتایج این تحقیق مشابهت داشت (۲۳).

برخی از محققان در پژوهشی در خصوص اثر بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده با ترکیبات مشابه گازی و لفاف‌های انعطاف‌پذیر چند لایه افزایش زمان ماندگاری خوراک مرغ و نیز ترکیبات آردی را انجام دادند که در مدت ۲۱ روز ماندگاری با حفظ خواص حسی این مواد غذایی مشاهده شد و با نتایج این تحقیق از نظر روند شمارش باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی مطابقت داشته است (۲۵،۲۴).

نتایج تحقیقی که روی گوشت تازه شترمرغ بعد از مدت زمان ۱۵ روز و تحت اتمسفر اصلاح شده (۳۰ درصد N_2و ۷۰ درصد CO_2) و لفاف‌های انعطاف‌پذیر در راستای کنترل رشد باکتری هوازی در پوشش‌های چند لایه انجام شده با نتایج این تحقیق از نظر شمارش کلی باکتری هوازی مطابقت داشت (۲۶).

زند و ساکیان محمدی (۲۰۱۶) تحقیقی بر روی ماهی دودی در زمان ۶۰ روز با استفاده از پوشش‌های انعطاف‌پذیر ۳ لایه و ۴ لایه تحت اتمسفر های اصلاح شده مختلف در راستای بررسی رشد باکتری هوازی انجام دادند که با نتایج این تحقیق از نظر شمارش کلی باکتری هوازی مشابهت داشته است (۲۷).

Olivers و همکاران (۲۰۱۲) طی این تحقیق ایشان پنیر مازارلای قطعه شده در بسته‌هایی از جنس pvc و نیز شیوه‌های نوین در نگهدای و بسته‌بندی پنیر فایوردی لات (نوعی محصول لبنی در جنوب ایتالیا و شبیه پنیر موزارلا) را مورد بررسی قرار دادند. فایوردی لات با روش‌های سنتی و یا با استفاده از شیر پاستوریزه و کشت آغازگر تجاری باکتری‌های اسید لاکتیک ساخته می‌گردد. اگرچه، پنیر در طی تشکیل دلمه یک تیمار حرارتی دریافت می‌کند، اما آلودگی پس از تولید بواسطه میکروارگانیسم‌ها به علت رطوبت (۵۵ تا ۶۰ درصد) و محتوی چربی بالا (بیش از ۴۵ درصد) ممکن است عمر انباری محصول را تا چند روز محدود کند. اخیرا توجهات زیادی بر روی روش‌های نگهداری غیر حرارتی جدید بر مبنای استفاده از ترکیبات طبیعی با ضد میکروبی متمرکز شده که مانع رشد کلی‌فرم‌ها در طی دوره انبار داری شده است که نتایج این پژوهش با تحقیق مذکور مطابقت داشت (۲۸).

Parry (۱۹۹۳) گزارش نمود که کپک بر روی گوشت می‌تواند رشد کند، اما با استفاده از ۴ درصد گاز دی‌اکسیدکربن رشد آنها به تأخیر می‌افتد که با افزایش میزان گاز دی‌اکسیدکربن در بسته‌بندی از رشد کپک‌ها جلوگیری می‌کند که با نتایج این تحقیق در راستای کنترل رشد کپک با افزایش CO_2 به میزان ۷۰ درصد مشابهت داشت(۲۹).

همچنین، در تحقیق دیگری که توسط Kakouri & Nychas (۱۹۹۴) انجام گردید طی نگهداری گوشت مرغ در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد و در اتمسفر حاوی ۲۰ درصد CO_2، ۱۰۰ درصد CO_2 و۱۰۰ درصد N_2 و نیز شرایط خلاء نشان دادند که رشد بی‌هوازی‌ها بویژه باکتری‌های اسید لاکتیک در اتمسفر حاوی ۱۰۰ درصد CO_2کمتر از ۲۰ درصد CO_2 و در اتمسفرهای ۲۰ درصد CO_2 کمتر از اتمسفر حاوی ۱۰۰ درصد N_2 می‌باشد و همچنین در شرایط خلاء نیز بیشترین تعداد باکتری‌های بی‌هوازی وجود داشته است که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت (۳۰).

در مطالعه ای توسط Cai و همکاران (۱۹۹۷) نوعی گربه ماهی با مخلوطی از چهار نژاد کلستریدیوم تلقیح شده و در محیط حاوی ۸۰ درصد CO_2 و۲۰ درصد N_2 در کیسه‌های غیرقابل نفوذ به O_2 و در دمای ۴ و۱۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند، تمام آنهایی که در ۱۰ درجه نگه‌داری شده بودند بعد از ۶ روز سمی شدند آنهایی که در ۴ درجه در بسته‌های نفوذپذیر نگهداری شده بودند، در روز نهم سمی شدند. اما در آنهایی که به شکل MAP بسته‌بندی گردیدند تا روز هجدهم سمی تولید نشد. طی این تحقیق پی به ممانعت‌کنندگی اتمسفر اصلاح شده در برابر کلستریدیوم بردند که با نتایج این تحقیق در رشد بی‌هوازی‌ها مطابقت داشت (۳۱).

در پژوهشی های دیگری اثر بسته‌بندی با پاکت‌های انعطاف‌پذیر در خوراک قارچ و خوراک سبزیجات نشان داد در ۴ لایه‌ها در طول ۶۰ روز شرایط نگهداری بهتر و رشد بی‌هوازی‌ها در نمونه‌های خوراک بسته‌بندی شده در محدوده استاندارد بود که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت (۳۳،۳۲).

در تحقیقی توسط ستوده و همکاران (۲۰۱۳) اثر MAP را در افزایش مدت ماندگاری خوراک مرغ (با ادویه) بسته‌بندی شده به این نتیجه رسیدند که رشد لاکتوباسیلوس‌ها در اتمسفر معمولی بعد از ۷ روز و تحت شرایط وکیوم بعد از ۲۱ روز و تحت شرایط اتمسفر اصلاح شده بعد از ۲۸ روز بود. پس MAP اثر مهارکنندگی روی رشد باکتری‌ها، خصوصا بی‌هوازی‌ها دارد که با نتایج این تحقیق مشابهت داشت (۳۴).

در پژوهشی دیگر اثر بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده و لفاف‌های انعطاف‌پذیر چند لایه روی تعداد کلستریدیوم ماهی سفید دودی بررسی شد. آزمون‌های میکروبی، در زمان‌های مختلف در طول ۶۰ روز نشان داد که غلظت CO_2 باعث افزایش عمر مفید ماهی سفید دودی شده است. همچنین آنها بیان کردند بهترین شرایط

از لحاظ مدت ماندگاری متعلق به ترکیب گازی ۷۰ درصد CO_2 و لفاف ۴ لایه (۱۳۱ میکرون) است که نتایج این پژوهش با تحقیق مذکور از نظر شمارش کلی باکتری بی‌هوازی مطابقت داشت (۳۵).

در پژوهشی دیگر اثر فیلم‌های پلیمری چند لایه بر روی رشد باکتری‌های بی‌هوازی در گوشت تازه شترمرغ در یخچال ۴ درجه بررسی شد، استفاده از MAP برای کنترل فساد کافی نیست، اما روند فساد به تأخیر افتاده است، با این حال، بهترین شرایط متعلق به مخلوط گاز حاوی۷۰ درصد CO_2 ، و تا ۱۵ روز قابل قبول بود. حداکثر تعداد باکتری‌های بی‌هوازی‌ها که در این نمونه گوشت رشد کردند مربوط به ۳۰ درصد CO_2 در پوشش ۱۱۹ میکرون و کمترین رشد به تیمار تحت ۷۰ درصد CO_2 در پوشش ۱۳۱ میکرون تعلق داشت. همچنین، افزایش درصد CO_2 به علت خواص ضد باکتری گاز دی‌اکسیدکربن، باعث کنترل رشد باکتری‌های بی‌هوازی در نمونه‌های گوشت بسته‌بندی شده در مدت نگهداری در محدوده استاندارد بود که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت (۳۶).

در پژوهشی زند و ساکیان محمدی (۲۰۱۶) اثر بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده و لفاف‌های انعطاف‌پذیر چند لایه بر رشد باکتری‌های بی‌هوازی ماهی سفید دودی در دمای محیط ۶۰ روز انجام گردید. ارزیابی‌های انجام شده نشان داد که بهترین شرایط از لحاظ مدت ماندگاری متعلق به ترکیب گازی ۷۰ درصد CO_2 و لفاف ۱۳۱ میکرون است و با نتایج این تحقیق از نظر شمارش کلی باکتری بی‌هوازی و پوشش انتخابی مشابهت داشته است (۳۷).

با توجه به نتایج ارایه شده بیشترین مقدارpH در لفاف اول، لفاف دوم و لفاف سوم مربوط به نمونه شاهد و کمترین مقدار pH در لفاف اول، دوم و سوم مربوط به ترکیب گازی A1 و لفاف ۱۳۱ میکرون در طی مدت نگهداری بود. در حقیقت نوع اتمسفر و نیز نوع پوشش بسته بندی بهترین اثر را طی روزها روی تغییرات pH(تغییرات کنترل شده) داشته است.بیشترین تأثیرات بر روی pH در کلیه ترکیبات گازی و نمونه شاهد در طول بیست روز مربوط به لفاف سوم (لفاف سه لایه با آلو مینیم ضعیف تر) و کمترین مقدار pH مربوط به لفاف دوم (چهار لایه) بود. لفاف‌های اول، دوم و سوم با هم تفاوت آماری معنی‌دار داشتند. بطور کلی می‌توان نتیجه گرفت بهترین اثر متقابل دوگانه را در روند تغییرات pH مربوط به لفاف ۱۳۱ میکرون به همراه ترکیب گاز ۷۰ درصد CO_2 است و بعد از آن لفاف چهار لایه به همراه خلاء بهترین اثر را داشته است. علت آن افزایش غلظت CO_2 است که موجب افزایش تولید اسید کربنیک حاصل از ترکیب CO_2 با آب موجود درنمونه شده و باعث کاهش pH پنیر لیقوان در ترکیب گاز A1 می‌گردد به‌طوریکه ملاحظه شد میزان pH در این ترکیب گازی کمتر از سایر روش‌های بسته‌بندی طی زمان نگهداری بود. در لفاف چهار لایه به خاطر ضخامت و خاصیت نفوذ پذیری کم بسته‌بندی به بخار آب است که بهترین اثر را روی مقدار pH داشته است .در تحقیق اثر پوشش های انعطاف پذیر در بسته‌بندی مواد غذایی ، به این نتیجه رسیدندکه کاربرد لفاف چهار لایه دارای کمترین تغییرات pH است که با نتایج این تحقیق در تغییرات pH مطابقت داشت (۳۸). برخی از محققان نتایجی مشابه با این تحقیق داشتند. طی تحقیقی، از مخلوط دو گاز نیتروژن و دی اکسید کربن و خلا به همراه فیلم‌های انعطاف‌پذیر چند لایه جهت افزایش مدت ماندگاری خوراک مرغ استفاده کردند. نتایج نشان داد بهترین شرایط مربوط به مخلوط گاز CO_2 بالاتر و لفاف ضخیم تر است همچنین نتیجه گرفتند کمترین تغییرات pH مربوط گاز ۷۰ درصد CO_2 و لفاف چهار لایه است و بیشترین تغییرات pH مربوط به شرایط خلاء و شاهد که نتایج این پژوهش با تحقیق مذکور در روند کاهش تغییرات pH مطابقت داشت (۲۱).زند و حافظ پور(۲۰۱۶) در پژوهشی اثر بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده و فیلم‌های پلیمری چند لایه بر روی pH گوشت تازه شتر مرغ در دمای۴ درجه سانتی‌گراد در طول ۱۵ روز مورد بررسی قرار دادند. ارزیابی‌های انجام شده نشان داد که غلظت بالاترCO_2 باعث کاهش این فاکتور و افزایش عمر این گوشت شد که با نتایج این تحقیق مشابهت داشت (۳۹). در پژوهشی دیگر اثر بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده و فیلم‌های پلیمری چند لایه بر روی pH ماهی سفید دودی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. آزمون‌های شیمیایی pH در زمان‌های مختلف در طول ۶۰ روز انجام شد. ارزیابی‌های انجام شده نشان داد که غلظت بالاتر CO_2 باعث کاهش این فاکتور و افزایش عمر

نگهداری ماهی سفید دودی شد که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت (۴۰).

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از بسته‌بندی MAP با اتمسفر اصلاح شده، برای کنترل فساد کافی نیست، اما روند فساد را به تأخیر انداخته است. البته به اثرات منفی CO_2 در مقادیر بالا بر روی طعم و مزه باید توجه شود. طبق شواهد شرایط تحت خلاء و ۳۰٪ CO_2 بر مدت ماندگاری تأثیر مشابهی دارند. هرچه درصد CO_2 بالا می‌رود، مدت ماندگاری نیز افزایش می‌یابد. وجود دی‌اکسیدکربن به عنوان یک فاکتور اصلی ضدباکتریایی در اتمسفر اصلاح شده می‌باشد و میزان تأثیر گاز بستگی به غلظت اولیه و نهایی گاز درون بسته و درجه حرارت نگهداری و جمعیت اولیه میکروبی دارد. CO_2 مرحله تاخیر و زمان تولید باکتری‌های هوازی را طولانی می‌کند و همچنین محیط را مقداری اسیدی کرده و این مسئله باعث کاهش رشد میکروب ها می‌شود. البته این تکنولوژی برای مواد غذایی که میکروارگانیسم عامل فساد آنها هوازی، گرم منفی، سرمادوست است، موثرتر می‌باشد. در یک نگاه کلی، بسته‌بندی نمونه‌ها با لفاف چهار لایه نسبت به دو لفاف دیگر ویژگی حفاظت‌کنندگی بهتری دارد، زیرا نفوذپذیری و عبور بخار آب در بسته‌هایی با لفاف چهار لایه کمتر از لفاف سه لایه بود. استفاده از این بسته‌بندی به همراه ترکیب گازی A1 ، برای نگهداری و ماندگاری پنیر لیقوان در زمان طولانی بهتر ارزیابی شد و نیز کمترین تغییر در pH مربوط به نمونه‌های بسته‌بندی شده با لفاف ۴ لایه در اتمسفر ۷۰ درصد CO_2 و بیشترین تغییر مربوط به نمونه‌های بسته‌بندی شده با لفاف ۳ لایه (آلومینیوم ضعیف) و نمونه شاهد بود.

تقدیر و تشکر

مطالعه حاضر با حمایت های بی‌دریغ اداره امور آزمایشگاه‌های گروه صنایع غذایی پردیس کشاورزی دانشگاه تهران و کنترل کیفیت صنایع لبنی تین (دامداران) انجام گرفته است که بدین وسیله از رئیس و کلیه کارشناسان واحدهای مذکور تشکر و قدردانی می-گردد.

منابع مورد استفاده

1. Jung, H., 2007. Packaging for nonthermal processing of food. Departement of food science university of manitoba, pp. 248.
2. Paine, Y., Frank, A., 1992. Modified atmosphere packaging. A Hand Book of Food. Chapman& Hall. pp: 242-246.
3. Adeli, A., 2008. Principles of marketing and packaging of aquatic animals. Tehran Publications.Press, pp. 204 (In Persian).
4. Mirnezami Ziabari, S. H., 2010. Food Packaging Principles, Aijj Publications Press, pp. 337 (In Persian).
5. Zand, N., Allahyari, A. S., 2013. The influence of MAP and different multilayer flexible films on shelf life extension of candy bread. Journal of European Zoological Research 2(3): 29-38.
6. Zand, N., Sotoudeh, B., 2013. The effect of MAP and multilayer flexible pouch for shelf life prolongation of chicken meal. Journal of European Zoological Research 2(2): 26-33
7. Fox, P. F, Law, J., MCsweeney, P. L. H., Wallace, J., 1993. Cheese, chemistry, physicsand microbiology Vol. 10. Chapman and Hall Press, London,UK.
8. Anonymous, 1972. Faonutrition study, Vol. 27(1): 10-12.
9. Muslimi, A., Vhesari, J., Vajdiri, H., 2014. The effect of nisin nanoliposomes on the growth of lactic acid bacteria and physicochemical properties in Liquvan cheese, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, First National Conference on Inclusive Strategic Quality Development in Industry.
10. Mirzaei, H., Shakerinia, M., 2008, Study of the health status of traditional white cheeses in Tabriz market in 2007, 15th Iranian Veterinary Congress, Tehran, Iranian Veterinary Society.
11. Sanhya, M., 2010. Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. Journal of LWT - Food Science and Technology 43: 381-392.
12. Caleb, O. J., Opara, U. L., Witthuhn, C. R., 2012. Modified atmosphere packaging of pomegranate fruit and arils: a review. Journal of Food and Bioprocess Technology 5: 15-30.
13. Anonymous, 1991. Iranian National Standard No, 2326 (In Persian).
14. Anonymous, 2000. Comprehensive method for general counting of

microorganisms at 30°C. Iranian Institute of Standards and Industrial Research, No. 5272. (In Persian).
15. Zand, N., Mailova, E., 2010. Combined packaging material flexible packs characteristics dependence on changes of components composition and quantity. Processing of Engineering Academy of Armenia, (Article in Russian) Republic of Armenia 7(1): 129-132.
16. Zand, N., Mailova, E., 2010. The strength of the weld seams of flexible packages depending on the sealing mode. Journal of Agro science (Article in Russian) Republic of Armenia 1(2): 73-77.
17. Zand, N., Mailova, E., 2010. The influence of thermal processing on hermit city of flexible packaging. Journal of Agronomy and Agroecology, (Article in Russian) Republic of Armenia 2: 96-99.
18. Anonymous, 1992. Milk and its products - Total counting of the form - The colony Aerobic microorganisms count method, Iranian National Standard No. 9263. (In Persian).
19. Anonymous, 2007. Cheese-microbial properties, Iranian Institute of Standards and Industrial Research, No. 10154. (In Persian).
20. Anonymous, 2006. Milk and its products – measure pH method. Iranian National Standard No. 2852. (In Persian).
21. Shabanpour, B., Zolfaghari, M., 2012. Processing and packaging of fish with changed atmosphere. Gorgan Uni Press, pp. 187, 220-222 (In Persian).
22. Killefer, D. H., 1930. Carbon dioxide preservation of meat and fish. Journal of Industrial Engineering Chemistry 22: 140-143.
23. Hanks, H., 1981. Shelf life studies on carbon dioxide packaged finfish from the gulf of Mexico. Journal of Food Science 45: 157-162.
24. Zand, N., Sotoudeh, B., 2013. The influence of MAP on sensory properties of chicken meal. Journal of Annals of Biological Research 4(7): 175-181.
25. Zand, N., Allahyari, A. S., 2013. The effect of MAP on sensory evaluation of candy bread. Journal of Annals of Biological Research 4(7): 243-251.
26. Zand, N., Hafez pour, A. 2016. Effect of MAP and Multi-layer Flexible Films on the Growth of Aerobic Bacteria of Fresh Ostrich Meat. Journal of International Medical Research & Health Sciences 5(11): 143-151.
27. Zand, N., Sakian Mohammadi, A., 2016. Influence of MAP and multi-layer flexible pouches on aerobic bacteria count of smoked kutum fish (*Rutilus frisii kutum*). Journal of International Medical Research & Health Sciences 5(11): 174-181.
28. Olivers, M. L., Sihufe, G. A., Capra, M. L., Rubiolo, A. C., Zorrilla, S. E., 2012. Effeet of of protective atmospheres on physical, microbiological and reheological characteristics of sliced mozzarella cheese. LWT– Food Science and Technology 1: 465-470.
29. Parry, R. T., 1993. Introduction, in principles and application of modified atmosphere packaging of food. Blasckie Academic & Professional, Glasgow, pp: 1-1.
30. Kakouri, A., Nychas, G. J. E., 1994. Storage of poultry meat under modified atmosphere or vacuum packs. Journal of Applied Bacteriology 76(2): 163-172.
31. Cai, P., Harrisson, M. A., Huang, Y. W., Silva, L., 1997. Toxin prodaction by clostridium botulinum type E in packaging channel catfish. Journal of Food Protect 60: 1358-1363.
32. Zand, N., 2013. Sterilization of packed mushroom meal by high frequency electromagnetic field. Journal of European Experimental Biology 3(2): 598-607.
33. Zand, N., 2013. Combination of high frequency electromagnetic induction with thermal processing for shelf life prolongation of packed vegetables meal. Journal of European Experimental Biology 3(3): 246-253.
34. Sotoudeh, B., Zand, N., Tajabadi, E. M., 2013. The usage of MAP for shelf life extension of packed spicy chicken meal. Journal of European Experimental Biology 3: 617-623.
35. Zand, N., Sakian Mohammadi, A., Eshaghi, M., 2016. Influence of MAP and multi-layer flexible pouches on clostridium count of smoked kutum fish (*Rutilus frisii kutum*). Journal of International Medical Research & Health Sciences 5(11): 191-198.
36. Zand, N., Hafez pour, A., Asadolahi, S., 2016. Effect of MAP and multi-layer flexible films on the growth of anaerobic bacteria of fresh ostrich meat. Journal of International Medical Research & Health Sciences 5(11): 182-190.
37. Zand, N., Sakian Mohammadi, A., 2016. Influence of MAP and multi-layer flexible films on growth of anaerobic bacteria of smoked kutum fish (*Rutilus frisii kutum*). Journal of Der Pharma Chemical 8(19): 624-631.

38. Zand, N., Mailova, E., 2009. The study of the barrier properties of the combined films. Journal of Annals of Agrarian Science (Article in Russian) Republic of Georgia 7(3): 94-95.
39. Zand, N., Hafez pour, A., 2016. Influence of modified atmosphere packaging and multi-layer flexible pouches on pH of fresh ostrich meat. Journal of Entomology and Applied Science Letters 3(5): 169-176.
40. Zand, N., Sakian Mohammadi, A., Eshaghi, M., 2017. Effect of modified atmosphere packaging and multi-layer flexible films on pH of smoked kutum fish (*Rutilus frisii kutum*). International Journal of Aquatic Science 5(11): 191-198.