

اثر فیلم بسته‌بندی نانوکامپوزیت رس بر کیفیت پس از برداشت انگور سرخ فخری

شاهرودی

مریم ملاحسنی^۱، حجت اله بدافی^۲ حمید رضا اصغری^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علو باغبانی، دانشگاه صنعتی شاهرود

۲- عضو هیئت علمی گروه علوم باغبانی، دانشگاه صنعتی شاهرود

۳- عضو هیئت علمی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی شاهرود

* ایمیل نویسنده مسئول: maryammollahasani4@gmail.com

چکیده

در این پژوهش به منظور بررسی تغییرات بیوشیمیایی بافت‌های انگور رقم سرخ فخری شاهرودی در شرایط بسته‌بندی در اتمسفر تعدیل یافته با دو نوع پوشش پلاستیکی (پلی اتیلن با دانسیته کم و نانو کامپوزیت رس) نسبت به شاهد و با استفاده از یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار طراحی شد. میوه‌ها بعد از تیمار در سردخانه در دمای یک درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۹۰-۸۰٪ نگهداری شدند. میوه‌های تیمار شده هر ۱۵ روز یکبار فاکتورهای فیزیوشیمیایی شامل کاهش وزن، سفتی بافت، pH، TA و محتوای فنل کل اندازه‌گیری شدند. نتایج بدست آمده بعد از ۵۰ روز انبارداری نشان داد که پوشش نانو کامپوزیت رس فاکتورهای سفتی میوه، کاهش وزن، pH، TA و محتوای فنل کل را نسبت به پوشش پلی اتیلن بهتر حفظ و باعث افزایش کیفیت و عمر انبارمانی انگور سرخ فخری شاهرودی به مدت ۵۰ روز شد.

واژگان کلیدی: اتمسفر تعدیل یافته، انبارمانی، انگور، بسته‌بندی

مقدمه

شرایط نگهداری و حفاظت پس از برداشت اغلب با هدف حفظ انتخاب ویژگی‌های کیفیت، از جمله رنگ، استحکام، اسیدیته و قند برای به حداکثر رساندن عمر پس از برداشت و کیفیت تجاری بالاست (Ayala-Zavala et al., 2004). هر سال مقدار زیادی از محصول از زمان برداشت تا زمانی که به دست مصرف کننده برسد از بین می‌رود. انگور (*Vitis vinifera*) میوه‌ای نافرازگرا با فعالیت فیزیولوژیکی نسبتا پایین بوده و در دوره پس از برداشت به دلیل ماهیت بسیار فساد پذیر که ناشی از کاهش وزن، خشک شدن و قهوه‌ای شدن ساقه، نرم شدن حبه‌ها و پوسیدگی پاتولوژیک که به طور عمده ناشی از کپک خاکستری (*Botrytis cinerea*) است



(Valero *et al.*, 2006; Sanchez-Ballesta *et al.*, 2007) دچار ضایعات می‌شود. با وجود کارایی منحصر به فرد گاز دی اکسید گوگرد (SO₂) که در طول ذخیره‌سازی و حمل و نقل برای کنترل توسعه قارچ پس از برداشت استفاده می‌شود (Ustun *et al.*, 2012) حساسیت شدید برای مصرف کننده ایجاد می‌کند (Taylor, 1993). همچنین باعث سفید شدن جبه‌ها، ترک خوردگی، تغییر در رنگ و عطر و طعم می‌شود (Zoffoli *et al.*, 2008). برای حل این مشکل، محققان به منظور کاهش ضایعات پس از برداشت انگور تاکنون از روش‌های مختلف بهره برده‌اند. از جمله می‌توان به استفاده از آنتاگونیست‌هایی مانند قارچ (*Muscodor albus*) و مخمر (*Hanseniaspora uvarum*) (Mlikota Gabler *et al.*, 2010)، اسانس‌ها (والرو و همکاران، ۲۰۰۶)، ازن (کاراکا، ۲۰۱۲) اشاره کرد. افزایش عمر ماندگاری مواد غذایی همراه با نظارت بر کیفیت و ایمنی آنها مطابق استانداردهای بین‌المللی نیازمند بسته بندی است (Silvestre and Duraccio, 2011). اکثر فیلم‌های مورد استفاده برای محصولات تازه در سیستم MAP شامل پلیمر پلی‌وینیل کلراید، پلی‌اتیلن ترفتالات، پلی‌پروپیلن و پلی‌اتیلن می‌باشد (Mangaraj *et al.*, 2009). بسته‌بندی با اتمسفر تعدیل‌یافته (آرتز هراندز و همکاران، ۲۰۰۶) که در آن انتخاب فیلم‌هایی با خواص سدکنندگی مناسب از اهمیت زیادی در حفظ و کیفیت انگور دارند (کاندیر و همکاران، ۲۰۱۲ و کوستا و همکاران، ۲۰۱۳). نتایج بررسی مارتینز و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد که بسته‌بندی انگور در بسته‌های سوراخ نشده پلی‌پروپیلن به مدت ۵۳ باعث حفظ رنگ و کاهش تلفات موثر بود.

هدف از این تحقیق بررسی اثر فیلم بسته‌بندی نانوکامپوزیت رس بر عمر پس از برداشت انگور رقم سرخ فخری شاهرودی بوده است.

مواد و روش‌ها

میوه‌های انگور رقم سرخ فخری شاهرودی در مهر ماه سال ۱۳۹۴ از باغی واقع در استان سمنان، شهرستان شاهرود در مرحله بلوغ تجاری (هنگامی که از نظر رنگ و طعم به کیفیت مطلوب خود رسیده بودند) برداشت و بلافاصله برای انجام آزمایش به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود منتقل شدند. به منظور خنک سازی اولیه به مدت ۲۴ ساعت در سردخانه با دمای 1 ± 2 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از آن میوه‌های سالم و عاری از هرگونه بیماری انتخاب و بعد با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد و آب سترون مقطر شسته و خشک شدند سپس خوشه‌ها را بر اساس طرح آزمایشی فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی در ۳ تکرار و به وزن ۲۵۰ گرم داخل پوشش‌های انتخابی پلی‌اتیلن (۴۰ میکرو) و نانو کامپوزیت رس قرار داده شدند. و میوه‌های بدون بسته‌بندی به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. بسته‌های میوه پس از اتمام کار به سردخانه‌ای با دمای ۱ درجه و رطوبت نسبی ۹۰-۸۰٪ منتقل شدند. برای انجام ارزیابی‌های کیفی، نمونه‌برداری در طول ۵۰ روز انبارداری و هر ۱۰ روز یکبار انجام شد.

رنگ ظاهری میوه

برای محاسبه رنگ میوه، با استفاده دوربین دیجیتال (Canon) با وضوح تصویر ۹ مگا پیکسل تصاویر از سطوح حبه‌های انگور تهیه شد و این تصاویر در نرم افزار فتوشاپ (CS610) برای محاسبه موله‌های رنگی مورد استفاده قرار گرفت.

مواد جامد محلول

مواد جامد محلول عصاره حبه‌ها از ۳۰ حبه از تیمارهای مختلف توسط دستگاه رفرکتومتر (ATAGO master 5EM)، ساخت کشور ژاپن) در دمای اتاق اندازه گیری شد و به صورت درجه بریکس بیان شد.

ارزیابی ظاهری کیفیت میوه‌ها

از طریق ارزیابی بصری حبه‌ها، نمره‌دهی در مقیاس ۱-۵ صورت گرفت.

۱- عالی ۲- خوب ۳- متوسط ۴- ضعیف ۵- بسیار ضعیف

ریزش حبه‌ها

برای ارزیابی ریزش حبه‌ها خوشه‌ها را به وسیله دم آن نگه داشته و سپس به طور عمودی و در فاصله پنج سانتی‌متری سه ضربه معتدل عمودی به آن وارد شد. در این حالت با توجه به تعداد حبه‌های ریزش کرده در یکی از کلاس‌های زیر قرار گرفتند:

۱- خیلی کم ۲- کم ۳- متوسط ۴- شدید ۵- خیلی شدید

قهوه‌ای شدن حبه‌ها

برای ارزیابی میزان قهوه‌ای شدن حبه‌ها از یک مقیاس ۵ نمره‌ای که در آن عدد ۱ معرف مطلوب‌ترین حالت و عدد ۵ معرف نامطلوب‌ترین حالت بود استفاده شد.

۱- ندارد ۲- کم ۳- متوسط ۴- شدید ۵- خیلی شدید

تجزیه و تحلیل داده‌ها

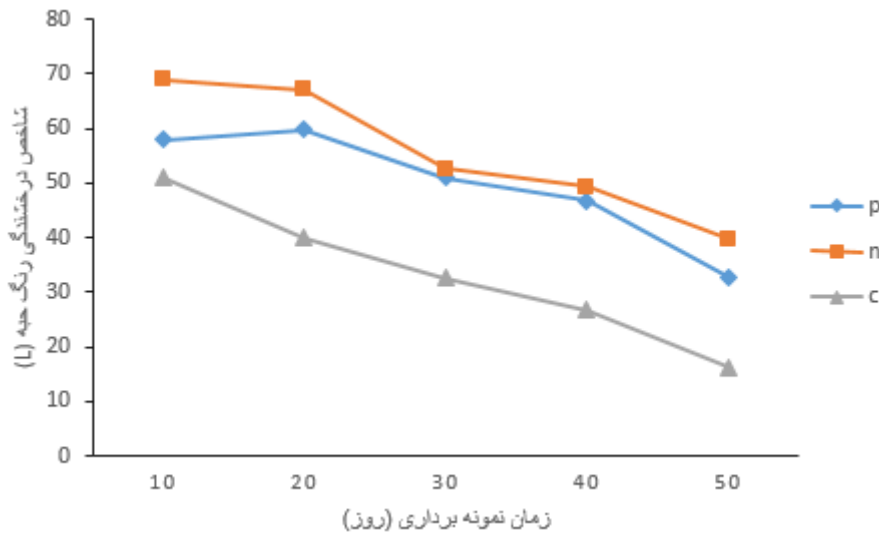
تجزیه آماری نتایج حاصل از این پژوهش به کمک نرم افزار (MSTATC) انجام شد و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح $p \leq 0.05$ صورت گرفت. و رسم نمودار با نرم افزار (EXCEL) انجام شد.

نتایج و بحث

روشنایی میوه

با توجه به شکل ۱ با گذشت زمان درخشندگی میوه‌ها در هر سه نوع فیلم کاهش یافته است و حداکثر کاهش در تیمار شاهد و کمترین در نمونه‌های بسته‌بندی شده با نانو کامپوزیت رس دیده شد. گزارش شده است که میوه‌ها به دلیل فرایند رسیدن در انبار

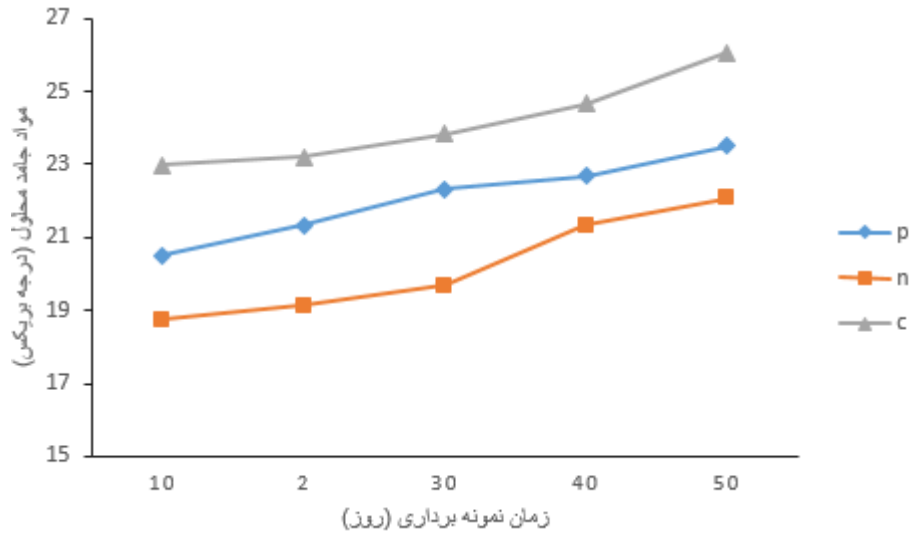
تیره تر می‌شوند و میزان CO₂ بسیار بالا روی رنگ میوه اثر می‌گذارد و افزایش CO₂ سبب به تعویق افتادن توسعه رنگ می‌شود (گیل و همکاران، ۱۹۹۷). رنگ پوست میوه انگور عمدتاً به وسیله ترکیب و محتوای آنتوسیانین‌ها تعیین می‌شود. بر اساس گزارشات سیلوا و همکاران (۲۰۰۹) بر روی میوه اتمویا کاهش در مقدار L* طی دوره انبارداری مرتبط با تیرگی میوه است.



شکل ۱- روند تغییرات درصد شاخص درخشندگی میوه (L) در بسته پلی اتیلن (p)، بسته نانو کامپوزیت رس (n) و شاهد (c)

مواد جامد محلول (TSS)

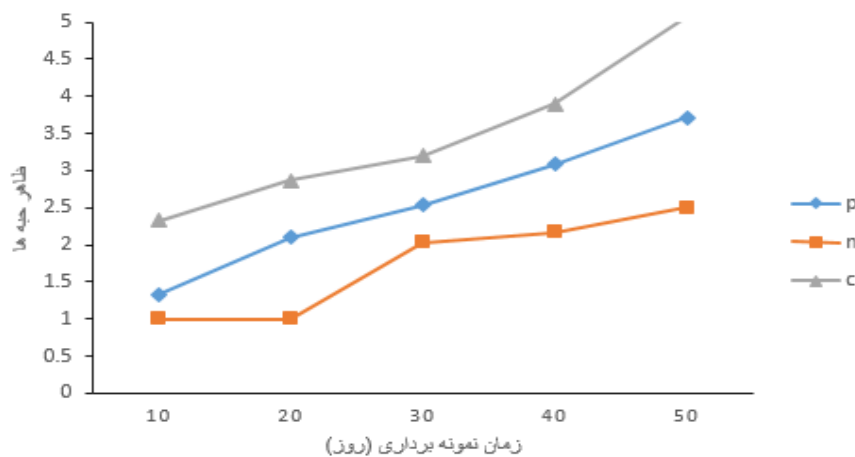
مشاهده شکل ۲ نشان داد با گذشت زمان میزان مواد جامد قابل حل طی انبارداری به تدریج روند افزایشی داشت. که میزان مواد جامد محلول در شاهد در تمام دوره نمونه برداری بالاترین مقدار و کمترین به نمونه‌های بسته‌بندی در فیلم‌های نانو کامپوزیت رس مشاهده شد. صفت مواد جامد محلول کل ارتباط زیادی با میزان رطوبت محصول دارد. مارتینز و همکاران (۲۰۰۲) در گزارشی بر روی میوه انگور بیان کردند با توجه به غیر کلیما کتریک بودن و نداشتن نشاسته، از دست دهی رطوبت منجر به تجمع قندها شده است. در انگور تازه خوری نیز روند افزایشی در مواد جامد محلول طی دوره انبارداری گزارش شده است که با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد (Menga et al., 2008). غلظت مواد جامد محلول از جمله ویژگی‌های کیفی است که در تناسب با اسیدیته در تعیین مزه نقش ایفا می‌کند. توپالیک و میکولیک (۲۰۱۰) گزارش کردند که افزایش میزان مواد جامد محلول در مرحله رسیدن میوه انگور نتیجه کاهش آب میوه و تجزیه قندهای مرکب و تبدیل آنها به قندهای ساده و همچنین ناشی از هضم دیواره‌های سلولی است که در هنگام رسیدن میوه اتفاق می‌افتد.



شکل ۲- روند تغییرات مواد جامد محلول در بسته پلی اتیلن (p)، بسته نانو کامپوزیت رس (n) و شاهد (c)

ارزیابی ظاهری کیفیت میوه‌ها

با توجه به شکل ۳ مشخص می شود با گذشت زمان یک سیر صعودی در مقدار عددی شاخص کیفیت ظاهری میوه‌ها دیده می شود که به مفهوم کاهش کیفی این شاخصه کیفی است. یعنی با گذشت زمان میوه‌ها آب بیشتری از دست داده و کیفیت ظاهری آنها نیز کاهش یافته است. این افزایش برای نمونه‌های شاهد بالاترین مقدار و نمونه‌های بسته‌بندی شده با فیلم نانو کامپوزیت رس کمترین مقدار که نشان دهنده حفظ بهتر کیفیت میوه‌ها است. بهتر بودن کیفیت میوه در میوه‌های بسته‌بندی در فیلم‌های نانو نسبت به شاهد و پلی اتیلن می تواند به دلیل تجمع کمتر ترکیبات نامطبوع (استالدئید و اتانول) باشد (Kader *et al.* , 2000). بر اساس گزارشات (Shi *et al.* , 2007) اتمسفرهایی با شرایط بی‌هوازی فعالیت آنزیم‌های از قبیل پیرووات دکربوکسیلاز (PDC) و الکل دهیدروژناز (ADH) را افزایش می دهند که متعاقبا با تجمع اتانول و استالدئید باعث بدمزگی می شوند.

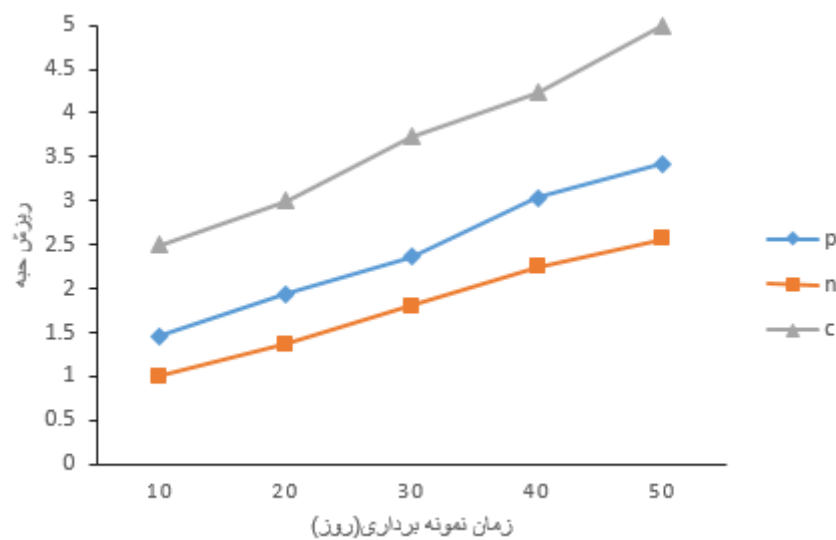


شکل ۳- روند تغییرات ظاهری کیفیت میوه‌ها در بسته پلی اتیلن (p)، بسته نانو کامپوزیت رس (n) و شاهد (c)



ریزش حبه‌ها

نتایج حاصل از مقایسه شکل ۴ در مدت زمان انبارداری خوشه‌های بسته‌بندی شده با فیلم‌های نانو کامپوزیت رس نسبت به پلاستیک‌های پلی‌اتیلن و شاهد که بیشترین ریزش را دارد توانسته ریزش حبه‌ها را به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش دهد که این می‌تواند ناشی از حفظ رطوبت بیشتر و کاهش ورود اکسیژن و خروج دی‌اکسید کربن در بسته‌های نانو باشد. چنانچه می‌دانیم میوه‌ها در قسمت دم خود دارای لایه جدا کننده یا ریزش هستند واکنش‌های آنزیمی آنزیم‌های هضم کننده، کلسیم را در ساختمان دیواره با گروه‌های متیل جایگزین می‌نمایند که موجب حل شدن تیغه میانی و قسمتی از دیواره سلولی می‌گردد بطوری که سلول‌ها دیگر به هم نمی‌چسبند (رسول زادگان، ۱۳۷۵). خو و همکاران (۲۰۰۷) در گزارشی که خوشه‌های انگور را با چیتوزان تیمار کرده بودند، بیان کردند که این تیمارها در مقایسه با شاهد به دلیل جلوگیری از رسیدن بیش از حد حبه‌ها مانع سیاه شدن حبه‌ها و ریزش حبه‌ها گردیده است. زو و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که بالاترین میزان ریزش حبه مربوط به شاهد می‌باشد که همراه با وقوع فساد بیشتر در این حبه‌هاست. هر عاملی که سرعت پیری را کاهش دهد و از رشد علائم پوسیدگی جلوگیری کند باعث حفظ وضعیت ظاهری و بازار پسنندی می‌شود (اثنی عشری و همکاران، ۱۳۸۷).

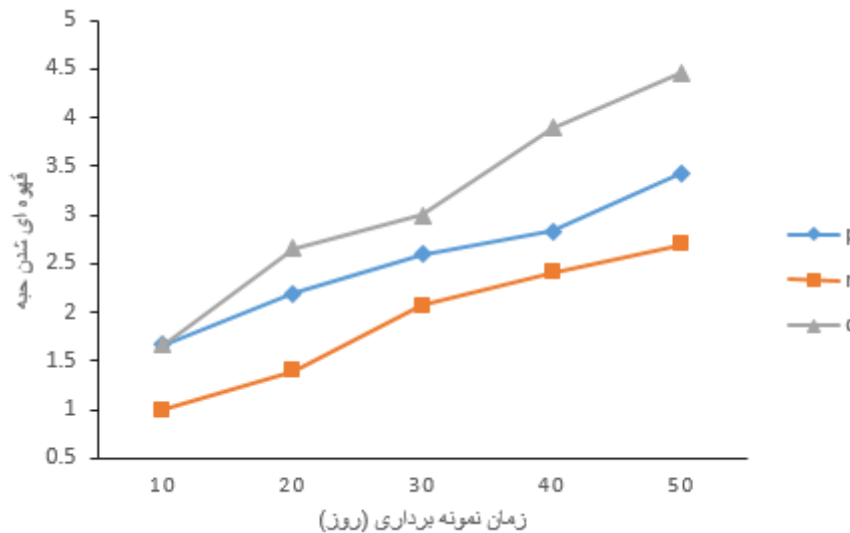


شکل ۴- روند تغییرات ریزش حبه‌ها در بسته پلی‌اتیلن (p)، بسته نانو کامپوزیت رس (n) و شاهد (c)

قهوه‌ای شدن حبه

با توجه به شکل ۵ با گذشت زمان قهوه‌ای شدن حبه‌ها افزایش یافته است که بیشترین افزایش در نمونه‌های شاهد و کمترین در فیلم‌های نانو کامپوزیت رس دیده می‌شود. قهوه‌ای شدن یکی از مشکلات پس از برداشت است که منجر به کاهش ارزش تجاری میوه می‌شود (سایاکی و همکاران، ۲۰۱۰). طی تحقیقات مارتینز رومرو و همکاران (۲۰۰۳) و صابیر و همکاران (۲۰۰۸) کاربرد MAP

با کم کردن اکسیژن و بالا بردن دی اکسید کربن سرعت تنفس کاهش یافته که باعث بازدارندگی فعالیت آنزیم PPO می‌شود. نتایج به دست آمده با نتایج همیدال و همکاران (۱۹۹۵) در کاهوی برش یافته و لو و همکاران (۲۰۰۰) در سیب مشابهت دارد.



شکل ۵- روند تغییرات pH قهوه ای شدن در بسته پلی اتیلن (p)، بسته نانو کامپوزیت رس (n) و شاهد (c)

نتیجه گیری کلی

مهم‌ترین ماموریت یک بسته‌بندی مناسب علاوه بر حفاظت غذا در برابر عوامل محیطی، توانایی کاهش و یا به حداقل رساندن رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب غذایی است. بر اساس نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد شاخص‌ترین نتیجه به دست آمده از این آزمایش استفاده از فیلم‌های نانو کامپوزیت رس با ضخامت ۲۰ میکرومتر جهت بسته‌بندی میوه انگور می‌تواند به عنوان یک فناوری پس از برداشت توانمند مورد استفاده قرار گیرد. تاثیر فیلم‌های نانو کامپوزیت رس با احراز بالاترین میزان L^* و پایین‌ترین شاخص مواد جامد محلول و بهترین نمره دریافتی برای کیفیت ظاهری میوه، ریزش جبهه‌ها و میزان قهوه‌ای شدن می‌تواند به عنوان یک روش سالم و مطلوب جایگزین مناسبی برای مواد شیمیایی در تکنولوژی پس از برداشت باشد.

منابع

- اثنی عشری م و زکایی خسرو شاهی م، ر، ۱۳۸۷. فیزیولوژی و تکنولوژی پس از برداشت. چاپ اول، انتشارات دانشگاه همدان، صفحه ۶۵۸
- رسول زادگان ی، ۱۳۷۵. میوه‌کاری در مناطق معتدله، (تالیف: م. ان و ستود) چاپ سوم، انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان، صفحه ۷۵۹



Ayala-Zavala, J. F., Wang, S. Y., Wang, C. Y., & Gonzales-Aguilar, G. A. (2004). Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *LWT-Food Science and Technology*, 37(7), 687-695. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2004.03.002>.

Artés-Hernández, F., Tomás-Barberán, F.A. and Artés, F. 2006. Modified atmosphere packaging preserves quality of SO₂-free 'Superior seedless' table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 39:146-154.

Argenta, L. C., Krammes, J. G., Megguer, C. A., Amarante, C. V. T., & Mattheis, J. (2003). Ripening and quality of 'Laetitia' plums following harvest and cold storage as affected by inhibition of ethylene action. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38(10), 1139-1148. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2003001000002>.

Avella M D, Vlieger J, Errico M E, Fischer S, Vacca P and Volpe M, 2005. Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. *Food Chemistry* 93:467-74.

Candir, E., Ozdemir, A.E., Kamiloglu, O., Soyly, E.M., Dilbaz, R. and Ustun, D. 2012. Modified atmosphere packaging and ethanol vapor to control decay of 'Red Globe' table grapes during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 63:98-106.

Gil, M. I., Holcroft, D. M. & Kader, A. A. (1997). Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. *Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1662-1667.

Heimdal, H., Kuhn, B. F., Poll, L. & Larsen, L. M. (1995). Biochemical changes and sensory quality of shredded and MA-packaged iceberg lettuce. *Journal of Food Science*, 60, 1265-1268.

Karaca, H., Walse, S.S. and Smilanick, J.L. 2012. Effect of continuous 0.3 ppm gaseous ozone exposure on fungicide residues on table grape berries. *Postharvest Biol Technol.* 64:154-159.

Kader, A. A. & Watkins, C. B. (2000). Modified atmosphere packaging toward 2000 and beyond. *Horticulture Technology*, 10, 483-486.

Koh TH, Melton LD, 2004. Ripening-related changes in cell wall polysaccharides of strawberry cortical and pith tissues. *Postharvest Biology and Technology* 26:23-33

Lu, C. & Toivonen, P. M. A. (2000). Effect of 1 and 100 kPa O₂ atmospheric pretreatment of whole Spartan apples on subsequent quality and shelf life of slices stored in modified atmosphere packages. *Postharvest Biology and Technology*, 18, 99-107.

Martinez-Romero, F. Guillen, S., Castillo, D. and Serrano, M. (2003) Modified atmosphere packing maintains quality of table grapes, *Journal of Food Science*, 68: (5)1838- 1843.

Martínez-Romero D, Guillén F, Castillo S, Valero D, Serrano M. Modified atmosphere packaging maintains quality of table grapes. *J Food Sci.* 2003;68:1838–1843. doi: 10.1111/j.1365-

Mangaraj, S., Goswami, TK., Mahajan PV. (2009). "Applications of plastic films for modified atmosphere packaging of fruits and vegetables a review." *Food Engineering Reviews* 1(2): 158-133.

Martinez, J. and F. Artes (1999). "Effect of packaging treatments and vacuum-cooling on quality of winter harvested iceberg lettuce." *Food Research International* 32(9): 621-627

Mlikota Gabler, F., Mercier, J., Jiménez, J.I. and Smilanick, J.L. 2010. Integration of continuous biofumigation with Muscodor albus with pre-cooling fumigation with ozone or sulfur dioxide to control postharvest gray mold of table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 55:78-84.

Meng, X., Li, B., Liu, J. & Tian, S. (2008). Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. *Food Chemistry*, 106: 50-508.

Silva, A. V. C., Andrade, D. G., Yagui, P., Carnelossi, M. A. G., Muniz, E. M., & Narain, N. (2009). Uso de embalagens e refrigeração na conservação de Atemóia. *Food Science and Technology*, 29(2), 300-304.

Silvestre C, Duraccio D, 2011. Food packaging based on polymer nanomaterials. *Progress in Polymer Science Journal*, 110: 775-795.

Shi, J. X., Goldschmidt, E. E., Goren, R. & Porat, R. (2007). Molecular, biochemical and anatomical factors governing ethanol fermentation metabolism and accumulation of off-flavor in mandarins and grapefruit. *Postharvest Biology and Technology*, 46,242-251

Tanada-Palmu, P. S., and Grosso, R. F. 2005. Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry(Fr a g a r i a a n a n a s a) quality *Postharvest Biol. Technol.* 36:199-208.

Taylor, S.L. 1993. Why sulfite alternatives? *Food Technol.* 47:14-19.

Ustun, D., Candir, E., Ozdemir, A.E., Kamiloglu, O., Soylu, E.M. and Dilbaz, R. 2012. Effects of modified atmosphere packaging and ethanol vapor treatment on the chemical composition of 'Red Globe' table grapes during storage. *Postharvest Biol Technol.* 68:8-15.

Valero, D., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S. and Serrano, M. 2006. The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 41:317-327.

Valero, D., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S. and Serrano, M. 2006. The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 41:317-327.

Xu, W. T., Huang, K. L., Guo, F., Qu, W., Yang, J. J, Liang, Z. H., and Luo, Y. B. 2007. Postharvest grapefruit seed extract and chitosan treatments of table grapes to control *Botrytis cinerea* *Postharvest Biol. Technol.* 46: 86-94.

Zoffoli, J.P., Latorre, B.A. and Naranjo, P. 2008. Hairline, a postharvest cracking disorder in table grapes induced by sulfur dioxide. *Postharvest Biol. Technol.* 47:90-97.

