



تاثیر نانو پوشش کیتوزان حاوی عصاره پوست انار بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی دانه انار طی نگهداری

طیبه شاهی^۱، محمد قربانی^{۲*}، سید مهدی جعفری^۳، علیرضا صادقی ماهونک^۳، یحیی مقصدلو^۳، عادل بیگ بابایی^۴

۱-دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و عضو گروه پژوهشی گروه پژوهشی

بهبینه‌سازی تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جهاد دانشگاهی خراسان جنوبی .

۲-دانشیار و عضو هیئت علمی گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ایران.

۳-گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ایران.

۴- گروه شیمی مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی مشهد، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۰۳	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۰۴	
کلمات کلیدی:	
دانه تازه انار،	
نانو پوشش خوراکی،	
کیتوزان،	
ترکیبات فنلی،	
ضد میکروبی.	
DOI: 10.22034/FSCT.19.126.71	
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.18.9	
* مسئول مکاتبات:	
moghorbani@yahoo.com	

انار یکی از میوه‌های بومی ایران است و با توجه به وجود ترکیبات زیست فعال مفید و سلامتی بخش، تمایل به استفاده از آن به خصوص در کشورهای پیشرفته افزایش یافته است. در بین فرآورده‌های انار، دانه انار به دلیل فرآوری کمتر و ارزش تغذیه‌ای بیشتر آن مانند دیگر محصولات کشاورزی بیشتر مورد اقبال مصرف کننده قرار گرفته است. با توجه به مدت زمان ماندگاری کم دانه انار، در این پژوهش تاثیر پوشش‌های خوراکی (عصاره پوست انار ۱٪، نانوکیتوزان ۱٪، نانوکیتوزان ۱٪ حاوی عصاره پوست انار ۱٪ بر افزایش زمان ماندگاری دانه‌های انار آماده مصرف به مدت ۱۴ روز در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. طی دوره نگهداری، pH، مواد جامد محلول کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی، آنتوسیانین کل و بار میکروبی در فواصل زمانی ۱، ۷ و ۱۴ روز اندازه‌گیری شد. نتایج این تحقیق نشان داد که حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی و آنتوسیانین کل در دانه‌های انار پوشش داده شده بیشتر از نمونه شاهد بودند. روند تغییرات pH نیز در بین تیمارهای مختلف یکسان بود. نتایج بررسی بار میکروبی نشان داد که افزایش شمارش کلی و کپک و مخمر در تیمارهای پوشش دهی شده نسبت به نمونه شاهد کمتر بود. بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق پوشش نانوکیتوزان ۱٪ حاوی عصاره پوست انار ۱٪ می‌تواند مدت زمان ماندگاری دانه انار در دمای یخچال افزایش دهد. با تحقق این هدف، به اعتقاد نویسندگان تحول مهمی در ماندگاری دانه انار تازه بوجود خواهد آمد.

۱- مقدمه

کاهش کیفیت و افزایش زمان ماندگاری دانه انار آماده مصرف تاثیر دارند.

اخیرا استفاده از پوشش‌های خوراکی به منظور حفظ کیفیت و افزایش زمان انبارداری میوه‌های آماده مصرف بسیار مورد توجه قرار گرفته است. پوشش‌های خوراکی در واقع لایه نازکی از کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، لیپیدها و ترکیبی از این مواد می‌باشند [۱۱] که توسط روش‌هایی نظیر واکس زدن، اسپری کردن و غوطه ور کردن به صورت لایه نازک بر روی محصول پوشش داده می‌شوند. استفاده از پوشش‌های خوراکی در میوه و سبزی‌های تازه از طریق کاهش از دست دادن رطوبت و نرخ تنفس، فساد محصول را به تاخیر می‌اندازند [۱۲].

کیتوزان هتروپلیمری ازت دار و دارای بار الکتریکی مثبت است که از دی استیله شدن پلیمر طبیعی کیتین بدست می‌آید و به دلیل خاصیت ضد میکروبی، زیست تخریب پذیری و غیر سمی بودن به تنهایی یا همراه با سایر ترکیبات به عنوان پوشش جهت نگهداری انواع میوه مورد استفاده قرار می‌گیرد. کیتوزان به دلیل حضور یون‌های کاتیونی آمونیم دارای خاصیت ضد میکروبی در برابر باکتری‌ها، مخمرها و کپک‌ها بوده و در پوشش‌های خوراکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. کیتوزان از طریق برهمکنش با اجزای دیواره سلولی و تجزیه پپتیدو گلیکان، باعث نشت الکترولیت‌ها از سلول‌های میکروارگانیسم‌ها می‌شود و همچنین مانع ورود مواد غذایی به داخل سلول می‌شود [۱۳]. علاوه بر این پوشش کیتوزان با ایجاد لایه نیمه تراوا، نفوذپذیری نسبی به بخار آب داشته و با تنظیم تغییرات گازها باعث تغییر اتمسفر داخلی محصول، کاهش سرعت تنفس، تاخیر در فرآیند رسیدن میوه و افزایش زمان ماندگاری محصول می‌گردد [۱۴].

پوست انار نیز به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به عنوان ضایعات دور ریخته می‌شود. در بین قسمت‌های مختلف میوه انار، پوست انار دارای بیشترین میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. ترکیبات فنلی اصلی موجود در پوست انار شامل گالیک اسید، پونیکالترین، کلروژیک اسید، کافئیک اسید پروتوکاچیک اسید، فلوریدزین، کوئرستین، کاتچین و کوماریک اسید می‌باشد. پوست انار علاوه بر اثرات دارویی، دارای خاصیت ضد میکروبی بوده به طوری که اثرات آن به خوبی شناخته شده است [۱۵].

علاوه بر این، پوشش‌های خوراکی همراه با ترکیبات عملگرا

انار با نام علمی گراناتوم پونیکا^۱ از خانواده پومیکاسه^۲ از مهمترین محصولات تجاری بوده که به طور گسترده در مناطقی از آسیا، شمال شرق آفریقا، مدیترانه و خاورمیانه کشت می‌شود [۱]. ایران به دلیل تنوع کیفیت و سطح زیرکشت، یکی از بزرگ‌ترین تولیدکننده این میوه در دنیا می‌باشد [۲]. بخش خوراکی میوه انار آریل^۳ نام دارد که در حدود ۶۰-۵۵ درصد از وزن کل میوه را دارا می‌باشد که حدود ۸۵-۷۵ درصد آن را آب میوه و ۲۵-۱۵ درصد آن را، بذر شامل می‌شود [۳]. آب میوه به علت داشتن مقادیر قابل توجهی از آنتوسیانین‌ها، ترکیبات فنولی، اسید الازیک، تانن‌ها، اسید اسکوربیک، کلسیم و فسفر از اهمیت فراوانی برخوردار است. وجود ترکیبات ویژه موجود در آب انار باعث کاهش فشار خون، کاهش کلسترول بد خون^۴، جلوگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی و سرطان می‌شود. وجود این خصوصیات سلامتی بخش در طول چند دهه گذشته موجب افزایش تقاضای جهانی آن شده است [۴]. از طرف دیگر بسته‌بندی دانه انار آماده مصرف به دلیل سهولت مصرف، افزایش ارزش افزوده و استفاده از میوه‌های با ظاهر نامناسب (ریزبودن، آفتاب سوختگی و ترک خوردگی) مورد توجه قرار گرفته است [۳].

دانه انار آماده مصرف با حداقل فرآیند بیشتر مستعد فساد میکروبی و کاهش کیفیت، کاهش ارزش تغذیه‌ای، رنگ، بافت و خصوصیات ارگانولپتیکی در اثر فعالیت آنزیم‌های داخلی، افزایش سرعت تنفس و تولید اتیلن می‌باشد که برخی از آنها برای سلامتی انسان مضر هستند. از این رو، در چندین سال اخیر، استفاده از روش‌های درست و صحیح جدا کردن دانه‌ها و نگهداری مناسب به منظور عرضه به بازار بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۵].

تحقیقات مختلفی جهت افزایش زمان ماندگاری دانه انار آماده مصرف و حفظ ترکیبات تغذیه‌ای آن با استفاده از روش‌های گوناگون صورت گرفته است. نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که استفاده از پیش تیمار [۶]، اتمسفر اصلاح شده [۷]، [۸] کنترل دما در حین فرآیند و نگهداری [۹]، پوشش‌های خوراکی [۱۰]، نوع بسته بندی [۸] و ترکیب این موارد در

1. Granatum punica
2. Punicacea
3. Aril
4. LDL

خوراکی ضد میکروبی و افزودنی طبیعی، جهت نگهداری دانه انار گزارش نشده است. با توجه به ویژگی آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی کیتوزان حاوی عصاره پوست انار، تحقیق حاضر جهت بررسی تاثیر این ترکیبات بر خواص میکروبی و فیزیکی‌شیمیایی دانه انار طی نگهداری انجام گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

میوه انار رقم شیشه کپ فردوس، کیتوزان با وزن مولکولی متوسط، تری پلی فسفات، سود، متانول، ۲ و ۱- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل^۵ (شرکت سیگما آلد ریچ، آمریکا)، اسید استیک، کربنات سدیم و معرف فولین سیوکالته (شرکت مرک آلمان).

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- استخراج عصاره پوست انار

انار رسیده در آبان ماه ۱۳۹۸ از باغ الگویی در شهرستان فردوس جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل و تا شروع آزمایشات در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگه داری شد. مقداری از میوه‌ها بلافاصله پوست گیری و پوست آن جهت استخراج ترکیبات فنلی در سایه خشک شد. پوست خشک شده توسط آسیاب خرد و تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۲۰- نگهداری شد. استخراج ترکیبات فنلی با روش اولتراسونیک و با حلال اتانول ۷۰٪ انجام گردید. در این روش استخراج با نسبت ۱:۱۰ حلال/ماده خشک، در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۵ دقیقه صورت گرفت. سپس عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (5000 rpm) و به وسیله روتاری اوپراتور تحت خلا، تغلیظ و با آون (دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد) خشک گردید و تا شروع آزمایشات در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید [۲۸].

۲-۲-۲- آماده‌سازی نانوپوشش کیتوزان و نانوپوشش

کیتوزان حاوی عصاره پوست انار

محلول کیتوزان ۱٪ (با وزن مولکولی متوسط و درجه استیل‌شدن ۸۵-۷۵٪) با استفاده از اسید استیک ۱٪ و مخلوط کردن به مدت ۲۴ ساعت توسط همزن مغناطیسی تهیه شد. سپس

شامل آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات ضد میکروبی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. ترکیبات مختلف همراه با پوشش‌های خوراکی جهت افزایش زمان ماندگاری و ارزش تغذیه‌ای میوه‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته است از جمله کیتوزان حاوی سریم و روی [۱۶، ۱۷]، کیتوزان حاوی اسانس بادیان [۱۸]، کیتوزان حاوی تیمول [۱۹]، آلژینات حاوی ترکیبات فنلی چای [۲۰]. نتایج این تحقیقات کارایی موثر پوشش‌های خوراکی در ترکیب با ترکیبات عملگر جهت افزایش ماندگاری میوه‌ها و سبزی‌ها را نشان می‌دهند.

استفاده از کیتوزان ۱٪ باعث کاهش رشد میکروبی، حفظ آنتوسیانین‌ها و افزایش زمان ماندگاری دانه انار به مدت ۱۹-۱۲ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد شده است [۲۱]. همچنین غوطه وری در محلول اسیدآسکوربیک همراه با کیتوزان از طریق کاهش بار میکروبی و جلوگیری از قهوه‌ای شدن بافت باعث افزایش زمان انبارمانی دانه انار شده است [۲۲]. استفاده از عصاره پوست انار در ترکیب با کیتوزان ۲٪ باعث کاهش مونسایتوزن در کلم بروکلی برش خورده شده در طی نگهداری به مدت ۵ روز شده است [۲۳]. پوشش‌دهی توت فرنگی با استفاده از کیتوزان ۲٪ در ترکیب با عصاره چای سبز (غلظت ۳۰٪) باعث جلوگیری از رشد باکتری‌ها، کپک‌ها و مخمرها در طی نگهداری شده است [۲۴].

استفاده از تکنولوژی نانو در تهیه پوشش‌های خوراکی به دلیل کاهش اندازه ذرات و همچنین رهایش تدریجی ترکیبات فعال در طی نگهداری باعث افزایش کارایی این پوشش‌ها شده است. استفاده از نانو امولسیون کیتوزان (۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) در ترکیب با اسانس رازیانه (۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر) باعث افزایش زمان نگهداری و حفظ خصوصیات کیفی در میوه‌های توت سیاه نسبت به نمونه شاهد شده است [۲۵].

با توجه به اینکه عصاره‌های گیاهان منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی هستند ولی تحت شرایط مختلف محیطی پایداری کمتری دارند. از این رو استفاده از روش‌هایی مانند ریزپوشانی و رهایش کنترل شده آنها دارای اهمیت قابل توجه‌ای می‌باشد. نانوریزپوشانی ترکیبات فنلی استخراج شده از منابع طبیعی مختلف (توت فرنگی، برگ چای سبز، برگ زیتون، پوست انار) و رهاسازی آن تحت شرایط سیستم مدل مورد بررسی قرار گرفته است [۲۶، ۲۷]. ولی تاکنون استفاده از نانو پوشش کیتوزان حاوی عصاره پوست انار به عنوان پوشش

بعد از کالیبره نمودن با بافرهای ۴ و ۷ برای تعیین pH نمونه‌های سرکه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده گردید. الکترودم pH متر در داخل نمونه‌های سرکه قرار گرفت و pH خوانده شد [۲۹].

۲-۲-۳- اسیدیته

اسیدیته آب انار به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال اندازه‌گیری شد. برای این کار به ۵ میلی‌متر از آب میوه رقیق شده با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر، ۲ قطره فنل فتالین افزوده شد و با هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال تیتراژ گردید. ظهور رنگ صورتی روشن و رسیدن pH محلول به ۸/۱ پایان تیتراسیون بود. اسیدیته آب انار بر حسب اسید سیتریک مطابق رابطه زیر محاسبه گردید [۲۹].

$$\text{رابطه (۱)} \quad N \times \text{Meq} \times 100 / V = \text{درصد اسیدیته}$$

در این رابطه N حجم سود مصرفی به میلی‌لیتر، Meq میلی‌اکی والان اسید سیتریک (۰/۰۶۴) و V حجم مصرفی آب انار بر حسب میلی‌لیتر می‌باشد.

۲-۲-۴- ترکیبات فنلی کل

مقدار ترکیبات فنلی کل بر حسب اسید گالیک و به روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد. ۳۰۰ میکرولیتر از آب انار رقیق شده (با نسبت ۱:۱۰ با متانول) با معرف فولین سیوکالتو ۱۰٪ و ۱/۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۷/۵٪ مخلوط گردید. جذب مخلوط نیم ساعت بعد در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Recording-Visible-U، Shimadzu 160 A) قرائت شد. نمودار استاندارد اسید گالیک با غلظت‌های ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ ترسیم شد و نتایج به صورت میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ میلی‌لیتر بر پایه اسید گالیک گزارش گردید [۳۰].

۲-۲-۵- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش DPPH اندازه‌گیری گردید. ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره با ۲/۹ میلی‌لیتر از DPPH ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری گردید. سپس جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (Recording-Visible-U، Shimadzu 160 A) قرائت گردید. با توجه به رابطه (۲) درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی محاسبه گردید [۲۱].

تری پلی فسفات با غلظت ۰/۳٪ به محلول اضافه و توسط همزن مغناطیسی (۳،۷۰۰۰ rpm، ۳ ساعت) همزده شد. جهت تولید نانو ذرات کیتوزان حاوی عصاره قبل از اضافه کردن تری پلی فسفات، عصاره پوست انار با غلظت ۱٪ به محلول کیتوزان اضافه و توسط همزن مغناطیسی همزده شد [۲۷]. محدوده اندازه ذرات ریزپوشانی شده بین ۴۱۰-۳۶۵ نانومتر قرار داشت.

۲-۲-۳- پوشش دهی دانه انار

در این پژوهش از انار شیشه کپ فردوس به عنوان مهمترین رقم صادراتی منطقه فردوس در خراسان جنوبی استفاده شد. انارهای سالم و با وزن ۲۰۰-۳۰۰ گرم جهت اعمال تیمار انتخاب گردیدند. انارها را با آب شستشو داده و خشک نمودیم، سپس دانه‌های انار تحت شرایط استریل از پوسته جدا نموده و برای اطمینان از یکنواختی نمونه‌ها، دانه‌ها با یکدیگر مخلوط گردیدند. جهت پوشش دهی دانه‌های انار از روش اسپری استفاده گردید. تیمارها پس از پوشش دهی و خشک شدن در دمای محیط در مجاورت پنکه و جریان هوا، در بسته‌بندی پلی‌اتیلن و در دمای ۵ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱۴ روز نگهداری شدند. تیمارها شامل موارد زیر می‌باشد:

۱- آب مقطر (Control) C =

۲- عصاره پوست انار (۱٪)

PPE = (Pomgranate peel extract)

۳- نانوذرات کیتوزان (۱٪)

CSNPs = (Chitosan Nano Particle Size)

۴- نانوذرات کیتوزان (۱٪) حاوی عصاره پوست انار (۱٪)

PPE-loaded CSNPs =

سپس آزمون‌های مربوطه در فواصل زمانی ۱، ۷ و ۱۴ روز پس از بسته‌بندی انجام گرفت.

۲-۲-۲- آزمون‌ها

۲-۲-۲-۱- مواد جامد محلول (بریکس)

برای تعیین مواد جامد محلول از رفاکتومتر دیجیتالی (مدل RX-5000، شرکت آتاگو کشور ژاپن) استفاده گردید. ابتدا دستگاه با آب مقطر کالیبره شد. سپس چند قطره آب انار بر روی عدسی رفاکتومتر ریخته شد. عدد قرائت شده به عنوان مواد جامد محلول (بریکس) بیان گردید [۲۹].

۲-۲-۲-۲- pH

از pH متر دیجیتال (مدل ۸۲۶، شرکت Metrohm، سوئیس)

رابطه (۲)

۲-۲-۷- آزمون میکروبی

مطابق استاندارد ملی ایران (شماره ۵۲۷۲)، شمارش کلی میکروارگانیزم‌های مزوفیل هوازی در محیط کشت (Plate Yeast extract- dextrose) PCA (Count Agar) [۳۲] و شمارش کلی کپک و مخمر بر روی محیط کشت (YGCA (chloramphenicol- agar طبق استاندارد ملی شماره ۹۹۷ انجام گرفت و نتایج به صورت log CFU/g گزارش گردید [۳۳].

۲-۳- آنالیز آماری

در این پژوهش داده‌های بدست آمده در قالب آزمایش فاکتوریل بر اساس طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا و به کمک نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل شدند. اثر پوشش‌ها و مدت زمان به عنوان متغیر مستقل مورد مطالعه قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن با حداکثر خطای قابل قبول ۵ درصد استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مواد جامد محلول

بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات مستقل تیمار و زمان و اثرات متقابل زمان و تیمار بر میزان مواد جامد محلول در دانه های انار آماده مصرف در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۱).

Table 1 Variance analysis of effects of different edible coating and storage time on physicochemical characteristics of pomegranate arils

Variable source	d.f	Mean square				
		Total soluble solids	pH	Total Phenolic	Antioxidant Activity	total anthocyanin content
Treat	3	0.03**	0.03**	93888.04**	9.90 ^{ns}	303.39**
Time	2	11.2**	11.20**	26514.67**	227.38**	1782.88**
Treat × Time	6	0.13**	0.13**	16325.03**	3.57 ^{ns}	244.30**
Error	24	0.01	0.01	2119.66	4.16	2.53
Coefficient variations		0.19	0.20	2.50	7.95	1.88

**Significant difference at 1% error probability level.

محلول (۱۷/۴۴٪) نیز در نمونه شاهد و روز اول مشاهده گردد که با تمام تیمارها اختلاف معنی داری داشت. با افزایش زمان نگهداری میزان مواد جامد محلول در تیمارهای افزایش یافت. در صورتی که در تیمار نانوکیتوزان ۱٪ و نانوپوشش کیتوزان

= درصد مهار رادیکال آزاد (درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی

$$Ac-As / Ac \times 100$$

Ac = جذب شاهد As = جذب نمونه

۲-۲-۶- آنتوسیانین کل

برای اندازه گیری مقدار آنتوسیانین کل نمونه‌ها از روش pH افتراقی با دو بافر کلرید پتاسیم با pH = ۱ و بافر استات سدیم با pH = ۴/۵ استفاده شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از آب انار صاف شده با ۵ میلی‌لیتر از هریک از بافرها به صورت جداگانه مخلوط گردید. پس از ۱۰ دقیقه، جذب در طول موج های ۵۱۰ و ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری و با استفاده از روابط (۳، ۴)، مقدار آنتوسیانین کل به عنوان میلی‌گرم سیانیدین-۳-گلیوکوزید در ۱۰۰ میلی‌لیتر گزارش گردید.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{510} - A_{700})_{pH4.5} \quad (3)$$

A₇₀₀ و A₅₁₀ به ترتیب مقدار جذب در طول موج های ۵۱۰ و ۷۰۰ نانومتر می باشد. سپس مقدار کل آنتوسیانین هر نمونه با استفاده از معادله زیر محاسبه شد [۲۱].

رابطه (۴)

$$\text{مقدار آنتوسیانین کل (mg/100)} = A \times MW \times DF \times 100 / \epsilon$$

MW = وزن مولکولی آنتوسیانین غالب (سیانیدین-۳-گلیوکوزید) $\epsilon = 4492 \text{ g/mol}^{-1}$ DF = فاکتور رقت، ϵ = ضریب جذب مولی سیانیدین-۳-گلیوکوزید (۲۶۹۰۰)

نتایج مقایسه میانگین (جدول ۲) نشان داد که بیشترین میزان مواد جامد محلول (۱۹/۹۲٪) در تیمار شاهد و روز ۱۴ مشاهده گردید که با تیمار عصاره ۱٪ و روز ۱۴ اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد نشان نداد. کمترین میزان مواد جامد

به ساده در حین نگهداری باعث افزایش میزان مواد جامد محلول می‌گردد [۳۶]. کیتوزان به دلیل غشا نیمه تراوا باعث کاهش شدت تنفس، تولید اتیلن و فعالیت‌های متابولیکی شده و سرعت افزایش مواد جامد محلول را کاهش می‌دهد که با نتایج بدست آمده از این تحقیق مشابیهت دارد. افزایش تنفس و میزان مصرف قندها و فعالیت متابولیکی دانه‌های انار باعث کاهش مقدار مواد جامد محلول می‌گردد. ثابت ماندن میزان مواد جامد محلول و عدم تغییر معنی دار آن در طی زمان ماندگاری نیز توسط برخی از محققین گزارش شده است [۳۷]. نوع و شرایط بسته بندی و نگهداری، نوع و رقم میوه انار و تیمارهای مورد استفاده باعث ایجاد نتایج متفاوت شده است.

حاوی عصاره (۱٪) از روز ۷ تا ۱۴ کاهش در میزان مواد جامد محلول مشاهده گردید. در روز هفتم نیز مقدار مواد جامد محلول در تیمار کیتوزان و نانوپوشش کیتوزان حاوی عصاره بیشتر از نمونه شاهد بود که با نتایج مقصودی و همکاران (۱۳۹۱) که گزارش کردند پوشش کیتوزان حاوی وانیلین مقدار ماده جامد محلول بیشتری از نمونه شاهد دارد، مطابقت داشت [۳۴].

حاجی‌وند قاسمی‌آبادی و همکاران نیز (۱۴۰۰) گزارش کردند که شدت افزایش میزان مواد جامد محلول در طول مدت نگهداری در نمونه پوشش داده شده با کیتوزان کمتر از نمونه شاهد بوده است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد [۳۵]. کاهش میزان رطوبت و وزن و همچنین تبدیل قندهای مرکب

Table 2 Mean comparison of edible coating treatments on physicochemical characteristics of pomegranate arils at different times

Time	Treats	Studied Indices				
		Total soluble solids (%)	pH	Total Phenolic (Galic acid) (mg/L)	Antioxidant Activity (%)	total anthocyanin content (mg cyanidin-3-glucoside eq. L-1)
First day	C	17.44 ^h	3.37 ^{ab}	1811.06 ^{de}	30.72 ^a	98.79 ^b
	PPE (1%)	17.57 ^g	3.08 ^b	1990.36 ^{ab}	32.41 ^a	107.87 ^a
	CSNP (1%)	17.61 ^{fg}	3.15 ^b	1913.36 ^{bd}	30.27 ^{ab}	98.58 ^b
	PPE- CSNPs	17.67 ^f	3.17 ^c	1927.36 ^{bd}	31.07 ^a	101.41 ^b
Seventh day	C	19.27 ^c	3.59 ^a	1671.9 ^{fg}	21.5 ^{de}	70.14 ^e
	PPE (1%)	19.64 ^c	3.54 ^a	1959.14 ^{abc}	20.76 ^{de}	67.3 ^{ef}
	CSNP (1%)	19.73 ^b	3.5 ^a	1670.73 ^{fg}	18.61 ^e	73.85 ^d
	PPE- CSNPs	19.72 ^b	3.5 ^a	1878.87 ^{cd}	20.98 ^{de}	106.84 ^a
Forteenth day	C	19.92 ^a	3.19 ^{bc}	1587.01 ^g	23.73 ^{cd}	70.05 ^e
	PPE (1%)	19.9 ^a	3.18 ^b	1893.87 ^{cd}	26.21 ^{bc}	80.5 ^c
	CSNP (1%)	19.39 ^d	3.17 ^b	1712.6 ^{ef}	23.07 ^{cd}	66.5 ^f
	PPE- CSNPs	19.4 ^d	3.18 ^b	2059.11 ^a	28.45 ^{ab}	75.93 ^d

Means in the same column bearing a common letters are significantly different at $P < 0.05$.

کاهش یافته است [۷]. که با نتایج این تحقیق مطابق داشت. علیرضالو و همکاران (۱۳۹۷) گزارش کردند کیتوزان در ترکیب با عصاره چای سبز باعث جلوگیری از افزایش pH میوه توت فرنگی در طی نگهداری شده است [۲۴].

با افزایش مدت زمان نگهداری میوه‌ها شدت تنفس و مصرف اسیدهای آلی افزایش و اسید تبدیل به قند شده و pH افزایش می‌یابد. از طرف دیگر با افزایش تنفس میزان اکسیژن کاهش و غلظت دی اکسید کربن افزایش یافته و منجر به کاهش pH و افزایش اسیدیته می‌شود [۳۸]. همچنین رشد نسبی کپک‌ها و مخمرها در طی نگهداری باعث مصرف اسیدهای آلی و افزایش pH می‌شود [۳۹]. در این تحقیق نیز در نمونه شاهد کاهش pH ولی در سایر نمونه‌ها عدم تغییر یا افزایش pH مشاهده شد که نشان دهنده فعالیت ضد میکروبی پوشش‌ها و

۳-۲- pH

بر اساس نتایج آنالیز واریانس تاثیر مستقل نوع پوشش دهی و زمان نگهداری و همچنین اثرات متقابل تیمار و زمان بر میزان pH از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). مطابق نتایج مقایسه میانگین بیشترین مقدار pH (۳/۵۹) در تیمار شاهد و در روز هفتم گزارش شد که با سایر پوشش‌ها در روز هفتم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد نشان نداد. کمترین میزان pH (۳/۰۸) نیز در تیمار عصاره ۱٪ پوست انار و در روز اول مشاهده شد. با افزایش مدت زمان نگهداری ابتدا pH افزایش و سپس کاهش یافته است و بیشترین تغییرات مربوط به تیمار شاهد بوده است. نتایج تحقیق قربانی و همکاران (۱۳۹۶) نیز نشان داد با افزایش مدت زمان نگهداری دانه انار از روز ۱۰ تا ۱۶ مقدار pH

کنترل شدت تنفس می‌باشد. علاوه بر اسیدهای آلی موجود در انار سایر ترکیبات مانند قندها نیز باعث تاثیر بر pH می‌شوند. از این رو در این تحقیق به دلیل وجود عوامل مختلف و تاثیر گذار بر pH تغییرات آن روند ثابتی نداشت.

۳-۳- ترکیبات فنلی کل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات مستقل زمان و پوشش دهی و اثرات متقابل آنها بر میزان ترکیبات فنلی در سطح احتمال یک درصد تاثیر معنی داری نشان داده است (جدول ۱). مطابق نتایج مقایسه میانگین ترکیبات فنلی (جدول ۲) بیشترین مقدار ترکیبات فنلی (mg Galic acid /L) در تیمار نانوپوشش کیتوزان حاوی عصاره و در روز ۱۴ مشاهده گردید که با برخی تیمارها اختلاف معنی داری نشان داد. کمترین مقدار ترکیبات فنلی (mg Galic acid /L) (۱۵۸۷/۰۱) نشان داده شد. تیمارهای عصاره و نانوپوشش کیتوزان حاوی عصاره سبب به تیمار شاهد و کیتوزان دارای مقدار بیشتری ترکیبات فنلی بودند که این به دلیل وجود ترکیبات فنلی موجود در عصاره پوست انار می‌باشد. با افزایش مدت زمان نگهداری میزان ترکیبات فنلی در تیمارها کاهش یافت به جز تیمار نانوپوشش کیتوزان حاوی عصاره پوست انار که در روز ۱۴ افزایش یافت که علت آن مربوط به حفظ ترکیبات فنلی توسط مواد دیواره و رهاسازی آن از پوشش و انتقال آن به سطح دانه انار بوده است. پلی فنل‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی می‌باشند و می‌توانند رادیکال‌های آزاد را خنثی کنند. علاوه بر این وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در عصاره پوست انار باعث کاهش فعالیت‌های آنزیمی می‌شود. از این رو می‌توانند در صنعت مواد غذایی به عنوان پوشش خوراکی در بسته بندی مورد استفاده قرار گیرند.

در تحقیقی پوشش کیتوزان-پولالان غنی شده با عصاره پوست انار باعث کنترل کاهش ترکیبات فنلی در انبه نسبت به نمونه شاهد شده است [۴۰]. نتایج تحقیقات مختلف نیز نشان می‌دهد استفاده از عصاره پوست انار در ترکیب با سایر پوشش‌ها باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی در میوه‌ها می‌شود [۴۱ و ۴۲] که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. در پژوهشی مقدار فنل کل دانه انار در طول نگهداری و با استفاده از صمغ فارسی در ترکیب با اسانس دارچین ثابت ماند [۳۷].

تحقیقات Ayhan and Eştürk (۲۰۰۹) نشان داد که ابتدا ترکیبات فنلی دانه‌های انار کاهش و سپس تا روز ۱۲ افزایش

می‌یابد. نتایج این تحقیق تغییرات و تنوع در میزان ترکیبات فنلی را به دلیل تغییر در میزان اسیدیته و مواد جامد محلول گزارش کردند که خود باعث تغییر در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتوسیانین‌ها می‌شود [۴۳].

کیتوزان به دلیل ایجاد لایه نیمه تراوا باعث کاهش تبادل اکسیژن شده و دسترسی آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز را به اکسیژن کاهش می‌دهد. همچنین تانن موجود در پوست انار با اکسیژن واکنش داده و باعث کنترل شدت تنفس و فعالیت آنزیمی می‌شود [۴۴]. از این رو در طی نگهداری کاهش میزان ترکیبات فنلی رو به حداقل می‌رساند. علاوه بر این استفاده از عصاره پوست انار خود باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی در دانه انار می‌شود. همچنین کاهش کمتر ترکیبات فنلی در نمونه ریزپوشانی شده نسبی به نمونه آزاد به دلیل اثر حفاظتی مواد دیواره می‌باشد، به طوری که ریزپوشانی ترکیبات فنلی باعث ثبات و افزایش ماندگاری ترکیبات فنلی می‌شود.

۳-۴- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که اثر مستقل زمان در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود. در صورتی که اثرات مستقل تیمار و اثرات متقابل زمان و تیمار تاثیر معنی داری نداشت. کمترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۱/۱۸/۶۱) در تیمار کیتوزان و روز ۷ یافت شد که با سایر تیمارها در روز ۷ اختلاف معنی داری نداشت. بیشترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۳۲/۴۱) در تیمار عصاره پوست انار و روز اول مشاهده گردید که با سایر تیمارها در روز اول اختلاف معنی داری نشان نداد. با افزایش زمان نگهداری از روز اول تا ۷ فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهش و سپس تا روز ۱۴ افزایش یافت. بیشترین مقدار افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به تیمار نانوپوشش کیتوزان حاوی عصاره پوست انار بود. در تحقیقی با افزایش زمان نگهداری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دانه‌های انار پوشش داده شده با کیتوزان نسبت به شاهد افزایش یافت که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت [۴۵].

پوشش‌های خوراکی از طریق کاهش شدت تنفس و تولید اتیلن باعث بهبود خاصیت آنتی‌اکسیدانی در محصولات می‌شوند. در طی نگهداری میوه‌ها و سبزی‌ها کاهش ترکیبات فنلی و اسید اسکوربیک باعث کاهش میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌شود [۳۶]. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در انار بیشتر تحت تاثیر

ترکیبات فنلی از جمله الاژی تانن و کمتر تحت تاثیر میزان آنتوسیانین‌ها و اسید آسکوربیک می‌باشد [۴۶].

در تیمار نانوپوشش کیتوزان حاوی عصاره پوست انار به دلیل حفظ و رهاسازی ترکیبات فنلی در روز ۱۴ میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت که با روز اول اختلاف معنی‌داری نشان نداد. کیتوزان باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز، پراکسیداز، آسکوربیک اسیداکسیداز و پلی‌گالاکتوروناز می‌شود [۴۷].

۳-۵- آنتوسیانین کل

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) آنتوسیانین کل نشان داد تاثیر مستقل زمان و پوشش و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بررسی نتایج مقایسه میانگین (جدول ۲) بر دانه‌های انار نشان داد میزان آنتوسیانین کل در طی زمان نگهداری کاهش معنی‌داری نشان داد. بیشترین مقدار آنتوسیانین کل ($\text{mg cyanidin-3-glucoside eq. L}^{-1}$) در تیمار عصاره پوست انار و در روز اول مشاهده گردید با تیمار نانوپوشش کیتوزان حاوی عصاره پوست انار در روز هفتم اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین مقدار آنتوسیانین کل ($\text{mg cyanidin-3-glucoside eq. L}^{-1}$) در تیمار کیتوزان ۱ درصد و در روز چهاردهم مشاهده شد که با سایر تیمارها به جز تیمار عصاره پوست انار ۱ درصد و روز هفتم اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد.

سیانیدین ۳-گلیکوزید به عنوان رنگدانه اصلی آنتوسیانین در میوه انار می‌باشد [۴۸]. عوامل مختلفی از جمله دما، اکسیژن، اسید آسکوربیک، ترکیبات فنلی، آنزیم‌ها، افزایش زمان نگهداری، اکسیداسیون، افزایش تنفس، تغییر در میزان مواد جامد محلول، اسیدیته و pH، کاهش رطوبت محصول، ساختار و نوع میوه موجب کاهش مقدار آنتوسیانین‌ها می‌شود [۴۹].

کاهش میزان آنتوسیانین کل در طی نگهداری، با مطالعات قربانی و همکاران (۱۳۹۶) بر روی دانه انار، مطابقت داشت [۷].

loPez-robira و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که میزان آنتوسیانین کل دانه انار پس از ۱۳ روز نگهداری در دمای یخچال ثابت بوده است [۵۰]. در تحقیقی دیگر نیز عدم تغییر در میزان آنتوسیانین کل دانه انار در طی هفته اول نگهداری

گزارش کردند [۴۸]. در پژوهشی دیگر با افزایش مدت زمان نگهداری میزان آنتوسیانین کل در دانه انار تحت تاثیر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز در طی نگهداری افزایش یافته است که با نتایج این تحقیق مطابقت نداشت [۴۵]. افزایش فعالیت آنزیم‌های بیوستز کننده سبب افزایش سنتز آنتوسیانین‌ها پس از برداشت میوه حتی در دماهای پایین می‌شوند و تیمارهای پس از برداشت بر بیوستز و تجزیه آنتوسیانین‌ها و یا هر دوی آنها تاثیر گذار هستند.

کیتوزان باعث حفظ و کنترل کاهش میزان آنتوسیانین کل در دانه انار می‌شود. کیتوزان از طریق ایجاد پوششی بر سطح میوه علاوه بر کنترل شدت تنفس، میزان اکسیژن در دسترس برای واکنش اکسیداسیون آنزیمی آنتوسیانین‌ها را کاهش می‌دهد [۵۱ و ۴۵]. در صورتی که نتایج تحقیق دیگری نشان داد کیتوزان سنتز آنتوسیانین را در توت فرنگی کاهش می‌دهد [۵۲] که با نتایج این تحقیق مطابق داشت.

حفظ آنتوسیانین‌ها در دانه انار به دلیل خواص رنگی، ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی و قلبی عروقی اهمیت زیادی دارد [۵۳].

۳-۶- شمارش کلی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر مستقل زمان و پوشش و اثرات متقابل آنها بر شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. پوشش‌های مورد استفاده در این تحقیق اثر قابل توجهی بر میزان شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها نداشتند. بر اساس نتایج مقایسه میانگین کمترین مقدار شمارش کلی ($\log \text{CFU/g}$) در تیمار نانوپوشش کیتوزان حاوی عصاره ۱ درصد و در روز اول مشاهده گردید که با تیمار کیتوزان ۱ درصد و روز اول اختلاف معنی‌داری نشان نداد. بیشترین مقدار شمارش کلی ($\log \text{CFU/g}$) نیز در تیمار شاهد و در روز چهاردهم مشاهده گردید که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد. بر اساس نتایج بدست آمده شمارش کلی دانه‌های انار در طی نگهداری افزایش یافت اما تیمارهای عصاره پوست انار ۱ درصد، کیتوزان ۱ درصد و نانوپوشش کیتوزان حاوی عصاره پوست انار به میزان قابل توجهی از افزایش شمارش کلی دانه‌های انار طی نگهداری نسبت به نمونه شاهد جلوگیری کردند (جدول ۴).

Table 3 Variance analysis of effects of different edible coating and storage time on physicochemical characteristics of pomegranate arils

Variable source	d.f	Mean square	
		Total count	Moulds and Yeasts
Treat	3	2.15**	0.77**
Time	2	4.82**	7.52**
Treat × Time	6	0.47**	0.38**
Error	24	0.07	0.06
Coefficient variations		7.88	11.56

**Significant difference at 1% error probability level.

Table 4 Mean comparison of edible coating treatments on physicochemical characteristics of pomegranate arils at different times

Time	Treats	Studied Indices	
		Total count (log CFU/g)	Moulds and Yeasts (log CFU/g)
First day	C	2.81 ^d	1.14 ^c
	PPE (1%)	2.2 ^e	0.99 ^e
	CSNP (1%)	2.17 ^{ef}	0.9 ^e
	PPE- CSNPs	2.1 ^f	1.02 ^e
Seventh day	C	3.69 ^b	2.84 ^{bc}
	PPE (1%)	3.08 ^{cd}	2.29 ^d
	CSNP (1%)	3.42 ^{bc}	2.45 ^{cd}
	PPE- CSNPs	2.85 ^d	2.44 ^{cd}
Forteenth day	C	5.5 ^a	3.8 ^a
	PPE (1%)	3.57 ^{bc}	2.39 ^{cd}
	CSNP (1%)	3.48 ^{bc}	3.22 ^b
	PPE- CSNPs	2.88 ^d	1.92 ^d

Means in the same column bearing a common letters are significantly different at P<0.05.

نانو ذرات کیتوزان دارای اثرات ضد باکتریایی بیشتری نسبت به کیتوزان در برابر *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* نشان دادند. نانوذرات کیتوزان به دلیل اندازه کوچکتر و سطح بیشتر خیلی راحت تر و بهتر به سلول باکتریایی می چسبند و با غشا سلولی واکنش می دهند و با تجزیه پپتیدوگلیکال دیواره سلولی باعث نشت الکترولیت ها از داخل سلول می شوند [۱۳]. در تحقیق دیگر گزارش کردند نانوذرات کیتوزان به دلیل بار الکتریکی مثبت کمتر نسبت به پلیمر آزاد، دارای اثر بازدارندگی کمتری بر استافیلوکوکوس و باکتری های گرم منفی می باشد [۶۰].

با توجه به اثرات ضد میکروبی کیتوزان و عصاره پوست انار، خاصیت ضد میکروبی ترکیب این دو ماده مقدار قابل توجهی افزایش می یابد. در تحقیقی استفاده از کیتوزان حاوی عصاره پوست انار بهترین تیمار جهت حفظ کیفیت میوه گوارا گزارش شده است [۶۱]. عصاره نانوکپسوله شده نعنای نسبت به عصاره معمولی نیز توانست روند رشد باکتری *Escherichia coli* را بیشتر کاهش دهد [۶۲] که با نتایج این تحقیق مطابق داشتند. در تحقیقی دیگر افزودن عصاره پوست انار به آلژینات سدیم

اثرات ضد باکتریایی گیاهان مربوط به ترکیبات فنلی می باشد. مطالعات پیشین نیز نشان می دهد خواص ضد میکروبی با افزایش میزان ترکیبات فنلی افزایش می یابد [۵۸ و ۵۷]. خاصیت ضد میکروبی قوی عصاره پوست انار مربوط به مقادیر بالای ترکیبات فنلی شامل الازیک اسید و پوناکالیزین α و β می باشد. ترکیبات فنلی به دلیل خاصیت ضد میکروبی باعث نفوذپذیری غشا لپیدی دیواره سلولی و میتوکندری شده و در نهایت منجر به خروج محتویات سلولی و مرگ سلول شده و یا از رشد و تکثیر آن جلوگیری می کنند [۵۹]. انتشار ترکیبات فنلی عصاره پوست انار به داخل سلول ها به دلیل آبریز بودن ترکیبات فعال موجود در آن افزایش می یابد [۴۴].

نتایج تحقیقات مختلف نیز اثرات ضد میکروبی کیتوزان را نشان می دهد [۵۴-۵۶] که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. ریزپوشانی ترکیبات ضد میکروبی با استفاده از کیتوزان باعث افزایش پایداری ترکیب مورد نظر و در نتیجه افزایش بازده فعالیت ضد میکروبی آن را به همراه دارد. همچنین می تواند حداقل غلظت مورد نیاز ترکیب ضد میکروبی را کاهش دهد [۲۶].

نیز، خاصیت ضد میکروبی و میکروب کشی فیلم را افزایش داده است (۶۳).

ریزپوشانی ترکیبات فنلی پوست انار طی نگهداری و با رهاسازی به موقع این ترکیبات تأثیر ضد میکروبی این ترکیبات حفظ شده و و سبب کاهش میزان فعالیت باکتری ها در طی نگهداری می‌شود.

۳-۷- کپک و مخمر

نتایج تجزیه واریانس بر میزان کپک و مخمر نشان داد که اثر مستقل زمان و پوشش و اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۳). کمترین مقدار کپک و مخمر ($0.9 \log \text{CFU/g}$) در تیمار نانوپوشش کیتوزان ۱ درصد حاوی عصاره پوست انار ۱ درصد و در روز اول مشاهده گردید که با سایر تیمارها در روز اول اختلاف معنی‌داری نشان نداد. بیشترین مقدار کپک و مخمر ($\log \text{CFU/g}$) در تیمار شاهد و روز چهاردهم مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان داد. مطابق نتایج مقدار کپک و مخمر در طی نگهداری افزایش یافت اما تیمارهای عصاره پوست انار، نانو کیتوزان و نانو کیتوزان حاوی عصاره از میزان افزایش کپک و مخمر در طی انبارمانی نسبت به نمونه شاهد جلوگیری نمودند. بیشترین تأثیر بر جلوگیری از افزایش میزان کپک و مخمر مربوط به تیمار نانو کیتوزان حاوی عصاره بود. گروه های هیدروکسیل موجود در ترکیبات فنلی با تأثیر بر غشای سلولی میکرو ارگانیسم‌ها باعث افزایش نفوذپذیری، خروج مواد، واکنش با پروتئین‌های میکروبی و مهار آنزیم ترانسفراز گلیکوزیل و در نهایت تخریب سلولی می‌شوند [۶۴، ۶۵].

کیتوزان علاوه بر ایجاد اتمسفر داخلی کنترل شده دارای فعالیت ضد میکروبی خوبی نیز می‌باشد. گزارشات مختلف نیز نتایج مشابه این تحقیق را گزارش کردند. نتایج علیرضالو و همکاران (۱۳۹۷) نشان داد اثرات هم افزایی کیتوزان همراه با عصاره چای سبز باعث کاهش میزان کپک‌ها و مخمرهای توت فرنگی رقم سلوا در طی نگهداری شده است [۲۴]. استفاده از کیتوزان در ترکیب با عصاره پوست انار باعث کنترل قارچ *Penicillium digitatum* در مرکبات شده است [۴۲]. وجود ترکیبات فنلی در عصاره ریزپوشانی شده و عصاره آزاد پونه‌سای بینالودی باعث جلوگیری از رشد کپک و مخمر شده

است [۶۶]. استفاده از کیتوزان رشد قارچ بر روی توت فرنگی را به شکل قابل توجهی کاهش داده است در صورتی که کیتوزان حاوی وانیلین رشد قارچ ها را کاملاً متوقف کرده‌است [۳۴]. از این رو در این تحقیق وجود ترکیبات فنلی زیاد موجود در پوست انار باعث ایجاد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا و خاصیت ضد قارچی در عصاره آن شده است.

۴- نتیجه گیری

اخیراً استفاده از ضایعات بخش‌های مختلف کشاورزی به عنوان نگهدارنده طبیعی جهت افزایش مدت زمان ماندگاری میوه‌های برش خورده و آماده مصرف و همچنین افزایش ارزش تغذیه‌ای میوه‌ها و سبزی‌ها مورد توجه قرار گرفته است. در این تحقیق ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی دانه انار آماده مصرف شامل مواد جامد محلول کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی، آنتوسیانین کل، شمارش کلی و کپک و مخمر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش مدت زمان نگهداری دانه انار بار میکروبی افزایش و میزان آنتوسیانین کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهش یافت. استفاده از پوشش‌های عصاره پوست انار (۱٪)، کیتوزان (۱٪) و نانوپوشش کیتوزان حاوی عصاره پوست انار باعث حفظ بهتر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و کنترل بهتر بار میکروبی نسبت به نمونه شاهد گردید. در این بین تأثیر کیتوزان حاوی عصاره پوست انار بیشتر از سایر تیمارها بود. به طور کلی بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق، استفاده از نانوپوشش کیتوزان ۱٪ حاوی عصاره پوست انار ۱٪ به عنوان یک نگهدارنده طبیعی جهت افزایش زمان ماندگاری و حفظ بهتر کیفیت تغذیه‌ای دانه انار پیشنهاد می‌گردد.

۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از همکاری گروه فرآوری موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی مشهد و جناب آقای دکتر مرتضی محمدی جهت همکاری و فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی و همچنین شبکه آزمایشگاهی فناوری‌های راهبردی جهت استفاده از تخفیفات آزمایشگاهی سپاسگزاری نمایند.

۶- منابع

- Macromolecules, 104: 1030-1038.
- [12] Rojas-Graü, M. A., Soliva-Fortuny, R., Martin-Belloso, O. 2010. Edible coatings: Past, present and future. *Stewart Postharvest Review*, 6(3):1-5.
- [13] Rejane, C. G., Sinara, T.B.M., Odilio, B.G. A. 2016. Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan and its quaternized derivative on *E. coli* and *S. aureus* growth. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26: 122-127.
- [14] Olawuyi, L. F., ParK, J. J., Lee, J. J., Lee, W. Y. 2018. Combined effect of chitosan coating and modified atmosphere packaging on fresh-cut cucumber. *Food science and nutrition*, 7(3): 1043-1052.
- [15] Du, L., Li, J., Zhang, X., Wang, L., Zhang, V., Yang, M., Hou, C. 2019. Pomegranate peel polyphenols inhibits inflammation in LPS-induced RAW264.7 macrophages via the suppression of TLR4/NF- κ B pathway activation. *Food & Nutrition Research*, 63:4-23.
- [16] Li, Y., Zhou, Y., Wang, Z., Cai, R., Yue, T., Cui, L. 2021. Preparation and Characterization of Chitosan-Nano-ZnO Composite Films for Preservation of Cherry Tomatoes. *Foods*, 10: 3135-3150.
- [17] Wu, H., Wang, D., Shi, J., Xue, S., Gao, M. 2010. Effect of the Complex of Zinc(II) and Cerium(IV) with Chitosan on the Preservation Quality and Degradation of Organophosphorus Pesticides in Chinese Jujube (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. Dongzao). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(9): 5757-5762.
- [18] Akyüz Yılmaz, B. , Kaya, M. , Akyüz, L. , Çakmak, Y. S. , Karaman Erkul, S. , Sargin, İ. & Koç, B. 2018. Characterization of Chitosan-Based Films with Different Aniseed Oil Content. *Cumhuriyet Science Journal* , 39(4): 999-1006.
- [19] Saki, m., ValizadehKaji, B., Abbasifar, A., Shahrjerdi, I. 2019. Effect of chitosan coating combined with thymol essential oil on physicochemical and qualitative properties of fresh fig (*Ficus carica* L.) fruit during cold storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13: 1147-1158.
- [20] A. Spanou and P. Giannouli. 2013. Extend of Self-Life of Potato Round Slices with Edible Coating, Green Tea and Ascorbic
- [1] Holland, D., Hatib, K., Bar-Ya'akov, I. 2010. Pomegranate: botany, horticulture, breeding. *Horticultural Reviews*, 32: 127-191.
- [2] Kheyrodin, H., Kheyrodin, S. 2017. Important of Pomegranates in Iran. *International Journal of Research Studies in Agricultural Science*, 3(10): 1-9.
- [3] Dhineshkumar, V., Ramasamy, D., Srivastav, P.P. 2015. Modified Atmosphere Packaging of Pomegranate Arils: Review. *Journal of Agriculture and Crop Science*, 2: 12-24.
- [4] Kumar, N., Kumar, S. 2018. Functional Properties of Pomegranate (*Punica granatum* L.). *The Pharma Innovation Journal*; 7(10): 71-81.
- [5] Shahi, T., Mirzaie, H. 2013. Application of modified atmosphere packaging on pomegranate aril *Journal of Packaging Sciencd and Techniques*, 16: 1-12.
- [6] Azizi, F., Erfani Moghadam, J., Khademi, O., Nourollahi, Kh. 2017. Effects of oxalic acid and ascorbic acid on shelf life of pomegranate arils. *Food science and technology*, 71(14): 15-24.
- [7] Ghorbani, M., Sedaghat, N., Milani, E., Koocheki, A. 2017. Evaluation of color and texture characteristics of "ready to eat" pomegranate arils during storage and optimization of packaging conditions using response surface methodology (RSM). *Food science and technology*, 66 (14): 1-16.
- [8] Palma, A., Schirra, M., D'Aquino, S., La Malfa, S., Continella, G. 2009. Modified Atmosphere Packaging of Pomegranate Fruit and Arils: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 5(1):15-30.
- [9] Sudhakar Rao, D. V., Shivashankara, K. S. 2018. Effect of modified atmosphere packaging on the extension of storage life and quality maintenance of pomegranate (cv. 'Bhagwa') at ambient and low temperatures. *J Food Sci Technol*, 55(6): 2103-2113.
- [10] Öz, A. T., Eker, T. 2017. Effects of edible coating of minimally processed pomegranate fruit. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, 21(1): 105- 109.
- [11] Basharat, Y., Abhaya, K. S. 2017. Flaxseed gum in combination with lemongrass essential oil as an effective edible coating for ready-to-eat pomegranate arils. *International Journal of Biological*

- Chemistry, 80:393-397.
- [31] Larrauri J.A., Sanchez-Moreno C., and Saura-Calixto F. 1998. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 2694-2697.
- [32] Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Enumeration of total count at 30 °C ,ISIRI 5272, Karaj: 2003. [in Persian].
- [33] Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Detection and enumeration of moulds and yeasts colony count technique at 25°C, ISIRI 997, Karaj: 2009. [in Persian].
- [34] Maghsoodi V., Razavi, J. , Rajabi, N. 2012. Chitosan and Vanillin as Preservatives to Prolong the Shelf Life of Strawberry. . *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 34 (9): 77-83.
- [35] Hajivand-Ghasemabadi, Sh., Zare-Bavani, M., Noshad, M. 2022. Influence of Gelatin, Aloe Gel and Chitosan Coatings on Physicochemical Characteristics of Fresh-cut Persian Shallot during Storage. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 119(18): 169-182.
- [36] Ghasemnezhad, M., Zareh, S., Rassa, M., & Sajedi, R. H. 2013. Effect of chitosan coating on maintenance of aril quality, microbial population and PPO activity of pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Tarom) at cold storage temperature. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2): 368-374.
- [37] Barzgar, H., Jokar, A., Eslami, M. 2018. Effect of Persian Gum Coating Containing Cinnamon Essential Oil on the Shelf Life of Pomegranate Arils. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 50(1): 67-76.
- [38] Sandhya. 2010. Modified atmosphere packaging of fresh produce. *LWT- Food Science and Technology*, 43: 381-392.
- [39] Zivanovic, S., Li, J., Davidson, P.M. and Kit, K. 2007. Physical, mech of Chitosan / PEO blend films. *Biomacromolecules*, 8: 1505-1510.
- [40] Chien, P.J., Sheu, F., Yang, F.H. 2007. Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *J Food Eng*, 78(1): 225-229.
- [41] Taberner, V., Sanchís, E., Mateos, M., Palou, L., Pérez-Gago, M.B. 2018. Pectin-based edible coatings formulated with Acid. *International Journal of Nutrition and Food Engineering*, 7(7): 591-595.
- [21] Munhuweyia, K. Lennox, C. L., Meitz-Hopkins, J. C., Caleb, O. G., Sigged, G. O., Opara, U. L. 2017. Investigating the effects of crab shell chitosan on fungal mycelial growth and postharvest quality attributes of pomegranate whole fruit and arils. *Scientia Horticulturae*, 220: 78-89.
- [22] Özdemir, K. S., Gökmen, V. 2017. Extending the shelf-life of pomegranate arils with chitosan-ascorbic acid coating. *LWT - Food Science and Technology*, 76: 172-180.
- [23] Alvarez, M. V., Ponce, A. G., Moreira, M. R. 2013. Antimicrobial efficiency of chitosan coating enriched with bioactive compounds to improve the safety of fresh cut broccoli. *LWT - Food Science and Technology*, 50: 78-87.
- [24] Alirezalu., K., Tavakolian., R., Jafarpour., P. 2017. Improvement of quality and shelf-life of strawberries with chitosan coatings enriched with green tea extract . *Pomology Research Scientific Journal*, 3(1): 43-56.
- [25] Parvizi, V., Shirzad, H., Alirezalu, A. 2020. Effect of chitosan nanoemulsion with *Foeniculum vulgare* Mill. Essential oil on antioxidant activity and phytochemical compounds of *Morus nigra* L. *Pomology Research Scientific Journal*, 5(1): 1-15.
- [26] Pulicharla, R., Marques, C., Kumar Das, R., Rouissi, T., Kaur Brar, S. 2016. Encapsulation and release studies of strawberry polyphenols in biodegradable chitosan nanoformulation. *Biological Macromolecules*, 88: 171-178.
- [27] Stoica, R., Şomoghi, R., Ion, R.M. 2013. Preparation of chitosan-tripolyphosphate nanoparticle for encapsulation of polyphenols extracted from Rose Hips. *Nanomaterials and Biostructures*, 8(3): 955-963.
- [28] Bimakr, M., R. Abdul Rahman, F. Taip, N. Mohd Adzahan, Z. Sarker, and A. Ganjloo. 2013. Ultrasound-assisted extraction of valuable compounds from winter melon (*Benincasa his-pida*) seeds. *Int. Food Res. J*, 20: 331-3.
- [29] AOAC, (1990). Official methods of analysis, 15th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemist, 930.35j.
- [30] Negi, P.S., Jayaprakasha, G.K. and Jena, B.S. 2003. Antioxidant and antimutagenic activities of pomegranate peel extracts. *Food*

- modified at-mosphere packaged and treated with UV-C. *Postharvest Biol. Tech.*, 37(2): 174-185.
- [51] Varasteh, f., arzaNi, k., barzegar, M., zaMaNi, Z. 2012. Changes in anthocyanins in arils of chitosan-coated pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Rabbab-e-Neyriz) fruit during cold storage. *Food Chem*, 130 (2): 267-27.
- [52] El ghaouth, a., PoNNaMPalaM, r., boulet, M., 1991: Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. *J. Food Sci*, 56 (6): 1618-1621.
- [53] Da costa, c.t., Horton, d., Margolis, S.A. 2000. Analysis of anthocyanins in foods by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 881(1-2): 403-410.
- [54] Lopez-Cabllero, M.E., GOomez-Guillen, M.C., Perez -Mateos, M., Montero, P. 2005. A chitosan-gelatin blend as a coating for fish patties. *Food Hydrocoll*, 19: 303–311.
- [55] Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H., Hosseini, S.M.H. 2010. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chem*, 120: 193–198.
- [56] Tsai, G.J., Su, W.H., Chen, H.C., Pan, C.L. 2002. Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation. *Fisheries Sci*, 68: 170–177.
- [57] Loziene, K., Venskutonis, P.R., Sipailiene, A., Labokas, J. 2006. Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes, *Food chemistry*, 103(2): 546-559
- [58] Bragaa, L.C., Shupp, J. W., Cummings, C., Jett, B., Takahashi, J. A., Carmod, L. S., Chartone-Souza. E., Nascimento, A. M. A. 2005. Pomegranate extract inhibits *Staphylococcus aureus* growth and subsequent enterotoxin production, *Journal of Ethnopharmacology*: 96, 335–339.
- [59] Bahri-Sahloul, R., Ben Fredj, R., Boughalleb, N., Shriaa, J., Saguem, S., Hilbert, J. L. 2014. Phenolic Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts Obtained from *Crataegus azarolus* L. var. *aronia* (Willd.) Batt. *Ovaries CalliJournal of Botany*, 20: 1-12.
- [60] Sadeghi, A.M.M., Dorkoosh, F.A., Avadi, pomegranate peel extracts and other antibrowning agents to extend shelf life of fresh-cut 'RojoBrillante'. *Acta. Horti*, 1194: 887–894.
- [42] Kharchoufi, S., Parafati, L., Licciardello, F.,Muratore, G., Hamdi, M., Cirvilleri, G. & Restuccia, C. 2018. Edible coatingsincorporating pomegranate peel extract and biocontrol yeast to reduce *Penicillium digitatum*postharvest decay of oranges. *Food Microbiology*, 74: 107-112.
- [43] Ayhan, Z., and Eştürk, O. 2009. Overall Quality and Shelf Life of Minimally Processed and Modified Atmosphere Packaged "Ready-to-Eat" Pomegranate Arils. *Journal of Food Science*, 74(5): 399-405.
- [44] Karami moghadam, A., Emam-Djomeh, Z. 2017. Antimicrobial activity of caseinate – based edible film incorporated with pomegranate peel extract on minced meat. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 62 (14): 323-330.
- [45] AbdelHamid Zahran, A., Hassanein, R. A., AbdelWahab, H. T. 2015. Effect of chitosan on biochemical composition and antioxidant activity of minimally processed 'Wonderful' pomegranate arils during cold storage. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 88: 241 – 248.
- [46] Tehranifar, A., Zarei, M., Esfandiyari, B., Nemati, Z. 2014. Study of Physical Properties, Phenolics Compounds and Antioxidant Activity of Thirty Different Iranian Cultivars of Pomegranates Peels. *The Journal of Horticultural Science*, 28(3): 312-318.
- [47] Ruoyi, k., Zhifang, Y., zhaoxin, L. 2005. Effect of coating and intermit- tent warming on enzymes, soluble pectin substances and ascorbic acid of *Prunus persica* (cv. Zhonghuashoutao) during refrigerated storage. *Food Res. Int*, 38 (3): 331-336.
- [48] Gil, M.i., sanchez, r., MariN, J.g., artes, F., 1996. Quality changes in pomegranate during ripening and cold storage. *Zeitschrift fur Lebens- mittel Untersuchung und – Forschung*, 202(6): 481-485.
- [49] Oz, A and Ulukanli, Z. 2012. Application of edible starch-based coating including glycerol plus *Oleum nigella* on arils from long-stored whole pomegranate fruits. *Food Processing and Preservation* 36(1): 81-95.
- [50] LoPez-rubira, V., Conesa, a., Allende, a., Artes, F., 2005. Shelf life and overall quality of minimally processed pomegranate arils

- Extract (PPE) with Sodium Alginate (Alg-Na) Coating on Fruit Decay Control and Quality Postharvest of Sweet Lemon Fruit cv Mahali. *Food Technology & Nutrition*, 17 (3): 107-122.
- [64] Khetabi, A. E., Lahlali, R., Askarne, L. 2020. Efficacy assessment of pomegranate peel aqueous extract for brown rot (*Monilinia spp.*) disease control. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 110: 101482.
- [65] Nicosia, M. G. L. D., Pangallo, S., Raphael, G. Control of postharvest fungal rots on citrus fruit and sweet cherries using a pomegranate peel extract. *Postharvest Biology and Tech-nology*, 114: 54–61.
- [66] Azimi Mahalleh, A., Mortazavi, S. A., Sharayeei, P., Azar Pazhooh, E., Niazmand, R. 2020. Antioxidative and Antimicrobial Properties of Free and Microencapsulated Extracts of *Nepeta* (*Nepeta Binaludensis*). *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 12(2): 15-29.
- M.R., Saadat, P., Rafee-tehrani, M. and Junginger, H.E. 2008. Preparation, characterization and antibacterial activities of chitosan, N-trimethyl chitosan (TMC) and N-diethylmethyl chitosan (DEMC) nanoparticles loaded with insulin using both the ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation methods. *Int. J. Pharm.*, 355: 299–306.
- [61] Nair, M. S., Saxena, A., Kaur, C. 2018. Effect of chitosan and alginate based coatings enriched with pomegranate peel extract to extend the postharvest quality of guava (*Psidium guajava L.*). *Food Chemistry*, 240: 245-252.
- [62] Pasdar, N., Mortazavi, S. A., Saeidi, M., Safari, R. 2022. Evaluation of Antimicrobial Effect of Nanoparticles on Increasing Doogh Storage. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 120 (18): 295-304.
- [63] Taherpour, L., HosseiniFarahi, M., M. Radi. 2018. Application of Pomegranate Peel



Effect of chitosan nano-coating loaded with pomegranate peel extract on physicochemical and microbial characteristics of pomegranate arils during storage

Shahi, T. ¹, Ghorbani, M. ^{2*}, Jafari, S. M. ³, Sadeghi Mahoonak, A. ⁴, Maghsoudlou, Y. ⁵, Bigbabaie, A. ⁶

1. PhD student of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Member of Optimizing the Production and Processing of Medicinal Plants, Academic Center for Education, Culture and Research, Southern Khorasan Province, Iran.

2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Science and Technology Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

3. Department of Food Chemistry, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 01/ 23

Accepted 2022/ 04/ 24

Keywords:

Pomegranate fresh arils,
Nano-edible coating,
Chitosan,
Phenolic compounds,
antimicrobial effect.

DOI: 10.22034/FSCT.19.126.71

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.18.9

*Corresponding Author E-Mail:
m.ghorbani@gau.ac.ir

ABSTRACT

Pomegranate is one of the native fruits in Iran and its consumption has been following an increasing trend especially in developed countries due to its healthy bioactive compounds. In this study, effect of edible coating (Pomegranate peel extract 1% (PPE)), Chitosan Nano Particles 1%, (CSNPs), Pomegranate peel extract loaded with Chitosan and Nano Particle Size (PPE-loaded CSNPs) on ready to eat pomegranate arils during 14 days of storage under refrigerated conditions (5±1) were investigated. pH, total soluble solids (Brix), antioxidant activity, phenolic compounds, total anthocyanin, and microbial load were analyzed after 1, 7 and 14 days of storage. The trend of pH changes was the same among different treatments. However according to the results, antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins were higher in the coated pomegranate arils than in the control uncoated sample. Yeasts and molds loads in coated samples and total microbial counts were lower compared with the control. Based on the results of this study, a coating of 1% nano chitosan containing 1% pomegranate peel extract can increase the shelf life of pomegranate arils at refrigerator temperature.