نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۷ شماره ۴/ سال ۱۳۹۶/ صفحات ۱۰۳ تا ۱۱۹

تأثیر فیلم فعال سلولز باکتریایی حاوی اسانس رزماری و نانوذرات اکسید روی بر ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و تغذیه‌ای دانه‌های انار آماده مصرف در طول نگهداری سرد

معصومه خادم[۱]، هادی الماسی[۲*] و سعید مشکینی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۲٤

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، موسسه آموزش عالی آفاق ارومیه
[۲] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
[۳] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، موسسه آموزش عالی آفاق ارومیه
[*] مسئول مکاتبه: Email: h.almasi@urmia.ac.ir

چکیده

امروزه استفاده از محصولات غذایی آماده مصرف در حال گسترش است و افزایش ماندگاری این محصولات، توجه محققین را به خود جلب کرده است. هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر فیلم زیست تخریب پذیر فعال برپایه سلولز باکتریایی حاوی اسانس رزماری و نانوذرات اکسید روی (ZnO) (در دو غلظت ۲/۵ و ۵ درصد وزنی فیلم سلولز) بر روی خواص شیمیایی، ترکیبات تغذیه‌ای و کیفیت میکروبی دانه‌های انار آماده مصرف در طول ۱۲ روز نگهداری در دمای ٤C° بود. همچنین تأثیر تابش دهی فیلم‌های حاوی ZnO با نور UV در طول موج ۲٤٥nm به مدت ۱۰ دقیقه بر روی عملکرد نانوذرات ZnO مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که اسانس رزماری باعث کاهش pH و نانوذرات ZnO باعث افزایش pH دانه‌های انار در طول نگهداری می‌شوند. همچنین فیلم‌های فعال در حفظ بریکس دانه‌های انار، موثرتر از فیلم شاهد بودند. نمونه‌های در تماس با فیلم حاوی ۵ درصد ZnO و تابش دهی شده با نور UV، در روز دوازدهم، بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی (٤۳/٥ درصد) و بیشترین میزان ویتامین ث (٦٤/۳ میلی گرم بر میلی لیتر) را نشان دادند. با این وجود، تأثیر اسانس رزماری در حفظ خصوصیات رنگی انار بیشتر از نانوذرات ZnO بود و نمونه تیمار شده با فیلم حاوی ۵ درصد اسانس رزماری، در روز آخر نگهداری، بالاترین اندیس a^* (۱۸/۰۰) و کمترین اختلاف رنگ کلی (۱/٦۱) با نمونه انار تازه را نشان داد. نتایج آزمون میکروبی نشان داد که نانوذرات ZnO در کنترل رشد باکتری‌ها موثرتر از اسانس رزماری عمل می‌کنند و تابش دهی نور UV نیز فعالیت ضدمیکروبی آنها را افزایش می‌دهد. جمعیت کپک و مخمر تا روز چهارم نگهداری افزایش یافت اما پس از آن رو به کاهش گذاشت. بطور کلی، نمونه‌های دانه انار در تماس با فیلم فعال حاوی نانوذرات ZnO تابش دهی شده، بهترین خصوصیات شیمیایی و میکروبی را در طول نگهداری نشان داد اما تأثیر اسانس رزماری در حفظ رنگ نمونه‌ها بیشتر از ZnO بود.

واژگان کلیدی: انار، فیلم سلولز باکتریایی، اسانس رزماری، نانوذرات ZnO، بار میکروبی

مقدمه

توسعه زندگی ماشینی، تمایل به استفاده از محصولات غذایی آماده مصرف و فراوری شده را افزایش داده است. امروزه این سهولت مصرف، علاوه بر وعده‌های غذایی، در مورد میوه‌ها و سبزیجات نیز صدق می‌کند. انار از جمله میوه‌هایی است که معمولاً مصرف آن سخت تر از سایر میوه‌هاست (اسماعیل و همکاران ۲۰۱۲).

انار (*Punica granatum* L) میوه‌ای متعلق به خانواده Punicaceae و بومی ایران تا مناطق هیمالیا می‌باشد و به صورت گسترده در هند، ایران، ایالات متحده آمریکا، ترکیه و اسپانیا کشت داده می‌شود (دومال و همکاران، ۲۰۱٤). میوه انار یک میوه غیر فرازگرا، با سرعت تنفس نسبتاً پایین می‌باشد و بالغ شدن در این گیاه قبل از برداشت رخ می‌دهد (اوگرادی و همکاران ۲۰۱٤). دانه انار حدود ٦۰ درصد کل وزن میوه را تشکیل داده و شامل حدود ۸۰ درصد عصاره و ۲۰ درصد ماده خشک است. انار همچنین منبع غذایی بسیار غنی از آنتی اکسیدان‌های پلی فنلی، آنتوسیانین‌ها و تانن‌ها می‌باشد (سریکومار و همکاران، ۲۰۱٤). انار علاوه بر ویژگی‌های تغذیه‌ای، دارای اثرات درمانی و سلامت بخش مختلفی است (آویرام و دورنفلد ۲۰۰۱؛ اسماعیل و همکاران، ۲۰۱۲).

بسیاری از مصرف کنندگان میوه، تمایل زیادی به استفاده از میوه انار دارند. اغلب آنها به دلیل مصرف نه چندان آسان این میوه، انواع دیگری از میوه‌ها را ترجیح می‌دهند. در این زمینه، فرآوری میوه انار به صورت دانه‌های انار آماده مصرف می‌تواند یک راه حل مناسب برای افزایش مصرف انار باشد (ماریا و همکاران، ۱۹۹٦). با این وجود، خارج کردن دانه‌ها از پوسته چرمی باعث از دست دادن کیفیت کلی میوه پس از ذخیره سازی در شرایط یخچال (مانند آسیب سرمایی، افت وزن، فساد میکروبی، تغییرات بیولوژیکی قهوه‌ای شدن) می‌شود و همین امر قابلیت تجاری سازی عرضه دانه‌های انار به بازار را کاهش می‌دهد (کالب و همکاران، ۲۰۱۲).

استفاده از سیستم‌های بسته بندی نوین یکی از راهکارهای مناسب جهت افزایش ماندگاری دانه‌های انار محسوب می‌شود. بسته بندی‌های فعال از جمله مهمترین انواع بسته بندی‌هایی هستند که تأثیر آنها بر روی حفظ کیفیت دانه‌های انار مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است (لوپز روبیرا و همکاران ۲۰۰۵؛ ماقومی و همکاران ۲۰۱۳؛ کاپتانکو و همکاران ۲۰۱۵). فیلم‌های ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی، جاذب‌های اکسیژن و اتانول از جمله مهمترین انواع بسته بندی‌های فعال مورد استفاده در صنایع غذایی محسوب می‌شوند.

از انواع مختلفی از پلیمرهای سنتزی و بیوپلیمرهای طبیعی برای تولید بسته بندی‌های فعال مواد غذایی استفاده می‌شود. سلولز باکتریایی[۱] که توسط باکتری استیک اسید گونه *گلوکونوباکتر زایلینوس*[۲] به‌دست می‌آید، یک بیوپلیمر با کاربردهای مختلف غذایی و غیرغذایی است. غشای نانوالیاف سلولز باکتریایی، یک ماده زیست تخریب پذیر با ماهیت بسیار بلورین و با ظرفیت جذب مایعات بالا می‌باشد. همچنین مقاومت مکانیکی قابل توجه آن بدلیل ماهیت بلورین و قدرت تشکیل پیوند بین مولکولی زیاد، کاربردهای گسترده‌ای را پیش روی این بیوپلیمر میکروبی قرار داده است (شاه و همکاران، ۲۰۱۳). مزیت مهم دیگر نانوالیاف سلولز نسبت به سلولز گیاهی، درجه خلوص صددرصد و عدم وجود ناخالصی‌های همی سلولزی و لیگنینی در آن می‌باشد (راجواده و همکاران، ۲۰۱۵). ساختار شبکه‌ای سه بعدی نانوالیاف سلولز باکتریایی با اندازه‌ی منافذی در گستره‌ی ۱٦۰-۱۲۰ نانومتر آن را قادر می‌سازد که به عنوان حامل ترکیبات ضدمیکروبی یا آنتی اکسیدانی عمل نموده و در رهاسازی کنترل شدهٔ آنها ایفای نقش کند (شی و همکاران، ۲۰۱٤). مطالعات مختلفی بر روی

۱. Bacterial cellulose

2. *Gluconacetobacter xylinus*

تولید بسته بندی‌های فعال از نانوالیاف سلولز باکتریایی صورت گرفته است (جیپا و همکاران، ۲۰۱۲؛ گائو و همکاران، ۲۰۱٤؛ شاه محمدی و الماسی، ۲۰۱٦).

از انواع مختلفی از ترکیبات ضدمیکروبی می‌توان در تولید بسته بندی‌های فعال استفاده نمود. اسانس رزماری یکی از قدیمی‌ترین نگهدارنده‌های طبیعی محسوب می‌شود. رزماری گیاه دارویی است که به طور گسترده در سراسر جهان استفاده می‌شود. عصاره و اسانس رزماری به عنوان ترکیبی با فعالیت آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی بالا پذیرفته شده است (پنگ، ۲۰۰۵). اسانس از برگ گیاه رزماری به دست می‌آید و به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی متعدد مانند دی ترپنها و تری ترپنهای فنلی، اسیدهای فنلیک و فلاوونوئیدها از قدرت آنتی اکسیدانی بالایی برخوردار است و همچنین خاصیت ضدمیکروبی در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها نشان می‌دهد (شهیدی ۱۹۹۷). از اسانس رزماری در تولید انواع مختلفی از فیلم‌های فعال استفاده شده است (سیدیم و ساریکوس ۲۰۰٦؛ عبداللهی و همکاران ۲۰۱۲).

یکی دیگر از ترکیباتی که بعنوان ماده ضدمیکروبی اخیراً مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است، نانوذرات فلزی اکسید روی (ZnO) می‌باشد. خاصیت ضد میکروبی ترکیبات اکسید روی از گذشته بسیار دور شناخته شده و کاربردهای فراوانی در ضدعفونی کردن وسایل پزشکی، تصفیه آب و بهبود زخم‌ها، تولید کرم‌ها، لوسیون‌ها و پمادهای ضدباکتری دارد (گجار و همکاران، ۲۰۰۹). اکسید روی یکی از پنج ترکیب اصلی روی است که اخیراً بعنوان ماده بی‌خطر توسط سازمان غذا و داروی آمریکا تشخیص داده شده است (اسپیتیا و همکارانف ۲۰۱۲). خاصیت ضد میکروبی نانو ذرات اکسید روی در برابر باکتری‌های گرم منفی بیشتر از باکتری‌های گرم مثبت است (شاه محمدی و الماسی ۲۰۱٦). گزارش‌های متعددی در زمینه استفاده از نانوذرات ZnO در تولید بسته بندی‌های زیست تخریب پذیر ضدمیکروبی وجود دارد (یو و همکاران، ۲۰۰۹؛ لی و همکاران، ۲۰۱۰، ویسنتینی و همکاران، ۲۰۱۰).

یکی از نکات مهم در مورد فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسید روی، تشدید فعالیت آنها تحت تأثیر تابش نور فرابنفش می‌باشد (میلز و همکاران، ۲۰۰٦). تحت تأثیر تابش نور UV، نانوذرات ZnO خاصیت فوتوکاتالیستی پیدا کرده و اکسیژن محیط را جذب نموده و به شکل H_2O_2 آزاد می‌کنند. بنابراین تابش نور فرابنفش از یک طرف باعث کاهش غلظت اکسیژن در محیط شده و از طرف دیگر به تقویت نقش ضدمیکروبی این نانوذرات کمک می‌کند (نوروزی ۱۳۹۰). با وجود تأثیر نور فرابنفش در افزایش خاصیت ضدمیکروبی نانوذرات ZnO، استفاده از این تکنیک در نگهداری مواد غذایی، چندان مورد توجه قرار نگرفته است.

مطالعات مختلفی بر روی تأثیر اسانس رزماری و نانوذرات اکسید روی در افزایش ماندگاری محصولات غذایی مختلف صورت گرفته است (هویزمن و همکاران ۱۹۹٤؛ نام و همکاران ۲۰۰٦؛ لی و همکاران ۲۰۱۱؛ پانه‌آ و همکاران ۲۰۱٤). با این وجود، تأثیر این دو نگهدارنده بر روی افزایش ماندگاری دانه‌های انار آماده مصرف مورد بررسی قرار نگرفته است. همچنین از سلولز باکتریایی در تولید فیلم فعال به منظور نگهداری دانه‌های انار استفاده نشده است. هدف از این پژوهش، استفاده از غشای سلولز باکتریایی حاوی اسانس رزماری و نانوذرات اکسید روی در دو غلظت مختلف بر ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و میکروبی دانه‌های انار در طول ۱۲ روز نگهداری در دمای یخچال بود. همچنین تأثیر تابش دهی نور UV در افزایش عملکرد بسته‌بندی‌های حاوی نانوذرات ZnO مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد

انار رقم کاشمر دانه ریز از بازار تبریز تهیه شد. نانوذرات اکسید روی با میانگین قطر ذرات ۳۰nm از شرکت پیشگامان نانومواد ایرانیان (مشهد، ایران) خریداری شد. سلولز باکتریایی تولید شده به‌وسیله باکتری *گلوکونوباکتر زایلینوس* به شکل غشاهای ژل مانند از شرکت نانونوین پلیمر (ساری، ایران) تهیه شد. مهمترین ویژگی‌های غشای سلولز باکتریایی استفاده شده، عبارتند از: میانگین قطر نانوالیاف ~۴۵nm، درجه بلورینگی ~۷۸٪ و درجه خلوص ۹۹ درصد. ظروف پلی استایرنی و لفاف‌های پلی اتیلنی جهت بسته بندی دانه‌های انار از شرکت توان صنعت کرمانشاه خریداری گردید. کلیه مواد شیمیایی و محیط‌های کشت مورد استفاده در انجام آزمون‌ها از نماینده شرکت Sigma-Aldrich (آمریکا) تهیه شد.

استخراج اسانس رزماری

گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) از یک عطاری تهیه شد و اصالت جنس و گونه‌ی آن توسط آزمایشگاه گیاه شناسی گروه زراعت دانشگاه ارومیه، مورد تأیید قرار گرفت. به منظور استخراج اسانس رزماری (RE) از روش تقطیر آبی استفاده شد. بدین صورت که برگ‌های رزماری به نسبت ۱ به ۵ با آب مقطر مخلوط شده و در دستگاه کلونجر، به مدت ٤ ساعت تحت عملیات استخراج اسانس قرار گرفت. اسانس بدست آمده، تا زمان مصرف در ظروف تیره رنگ و در دمای یخچال نگهداری شد.

تولید غشاهای فعال سلولز باکتریایی

روش افزودن ترکیبات ضدمیکروبی به فیلم سلولز باکتریایی بدین صورت بود که محلول حاوی اسانس یا نانوذرات ZnO بر روی غشای مرطوب سلولز باکتریایی در داخل یک پلیت ریخته شده و پس از خشک شدن، تمامی ترکیب فعال جذب غشای خشک شده می‌شد. برای این منظور، اسانس رزماری در مقادیر ۲/۵ و ۵ درصد وزن خشک سلولز باکتریایی، در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر پخش شد و امولسیفایر توئین ۸۰ به میزان ۲۰ درصد وزن اسانس اضافه شد. پس از همزدن مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۰۰۰rpm، امولسیون تهیه شده به پلیت حاوی غشای سلولز باکتریایی با قطر ۱۰ سانتی متر منتقل شد و در دمای محیط به مدت ۲٤ ساعت خشک شد تا فیلم فعال سلولز باکتریایی حاوی اسانس رزماری بدست آید (RE2.5%, RE5%). به منظور تهیه فیلم‌های حاوی نانوذرات ZnO نیز مشابه همین روند اجرا شد. ZnO در غلظت‌های ۲/۵ و ۵ درصد وزن خشک سلولز باکتریایی، در ۲۰ میلی لیتر آب پخش شد و پس از تیمار اولتراسوند (AS ONE مدل USD 4R ساخت ژاپن) به مدت ۱۰ دقیقه در فرکانس ٤۰ کیلوهرتز، دیسپرسیون‌های نانوذرات به سطح فیلم سلولز درون پلیت منتقل گردیده و در دمای محیط خشک شدند (ZnO2.5%, ZnO5%) (شاه محمدی و الماسی، ۲۰۱٦). به منظور مطالعه‌ی تأثیر نور UV بر فعالیت ZnO، دسته‌ای از فیلم‌های حاوی ZnO، به مدت ۱۰ دقیقه در معرض تابش نور UV با طول موج nm ۲٤۵ در فاصله ۲۰ سانتی متری از سطح فیلم قرار گرفتند (ZnO-UV2.5%, ZnO-UV5%).

آماده سازی و بسته بندی دانه های انار

میوه‌های سالم و بدون ترک خوردگی انار از سردخانه به آزمایشگاه انتقال داده شدند. ابتدا میوه‌ها توسط آب مقطر شسته شده و خشک شدند. سپس به کمک چاقوی تیز و استریل، از ناحیه مرکزی به دو نیم بریده شدند. دانه‌های انار به صورت دستی و در شرایط بهداشتی ایزوله، از پوست جدا شدند و به مدت ۱۰ دقیقه در محلول پرکلرین ٪۵ غوطه ور شدند. برای نگهداری دانه‌های انار آماده مصرف از ظروف پلاستیکی پلی استایرنی ۲۰۰ گرمی استفاده شد و از لفاف پلی اتیلنی شفاف با درزبندی حرارتی به عنوان بسته بندی نهایی محصول استفاده شد. فیلم‌های فعال تولید شده، در ابعاد cm^2 ۱۰×۵ بریده شده و در کف ظروف پلاستیکی

تعبیه شدند. دانه‌های انار در تماس با فیلم خالص سلولز باکتریایی و همچنین نمونه‌های انار بدون فیلم نیز بعنوان نمونه شاهد مورد استفاده قرار گرفتند. سپس مقادیر ۱۵۰ گرم از دانه‌های انار، توزین شده و بر روی فیلم‌های فعال داخل ظروف ریخته شدند. پس از درزبندی حرارتی لفاف‌های بسته بندی، نمونه‌ها به مدت ۱۲ روز در دمای ٤ درجه سانتی گراد نگهداری شده و در دوره‌های زمانی صفر، ٤، ۸ و ۱۲ روز، آزمون‌های فیزیکوشیمیایی (pH، میزان اسید اسکوربیک، قدرت آنتی اکسیدانی، خواص رنگی)، میکروبی و حسی بر روی نمونه‌های انار انجام گرفت (کالب و همکاران ۲۰۱۳). آب میوه مورد نیاز برای آزمون‌های مربوطه به صورت دستی با استفاده از فشار دست و فیلتراسیون از طریق توری تمیز استخراج شد (زهران و همکاران ۲۰۱۵).

روش های انجام آزمون

تعیین مواد جامد محلول کل [۱](TSS) (بریکس)

بریکس عصاره انار بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۲٦۸۵ توسط رفراکترومتر مدل Bertuzzl Lattometro اندازه گیری شد.

اندازه گیری pH

pH آب انار استخراج شده از دانه‌ها توسط pH متر مدل HANNA (HI96100) اندازه گیری شد.

اندازه گیری اسید آسکوربیک

غلظت اسید آسکوربیک دانه‌های انار بر اساس کاهش رنگ ترکیب ٦و۲-دیکروفنل ایندوفنل (DICP) توسط اسید آسکوربیک اندازه گیری شد. در این روش یک میلی لیتر از آب میوه دانه‌های انار با ۳ میلی لیتر اسید متافسفریک ۱ درصد مخلوط شده و پس از سانتریفیوژ کردن در ۲۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای محیط، مقدار ۰/۵ میلی لیتر DCIP به محلول سانتریفیوژ شده اضافه شد. سپس میزان جذب اسید آسکوربیک در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico, UV2100, Germany) خوانده شد. غلظت اسید آسکوربیک با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک و DCIP محاسبه شد و به صورت میلی گرم اسید اسکوربیک در میلی لیتر آب انار گزارش شد (کالب و همکاران ۲۰۱۳).

تعیین قدرت آنتی اکسیدانی انار

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد در آب انار، بوسیله توانایی در بی‌رنگ نمودن محلول متانولی ارغوانی رنگ ۲و۲-دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه گیری شد. نیم میلی لیتر از آب انار تیمارهای مختلف به ۵ میلی لیتر محلول متانولی ۰/۰۰٤ درصد DPPH افزوده شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، میزان جذب در طول موج ۵۱۷ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در مقایسه با نمونه شاهد قرائت شد. قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH بر اساس درصد به صورت زیر محاسبه شد (قاسم نژاد و همکاران ۲۰۱۳):

(۱)

$$DPPH\ \ scavenging\ activity\ (\%) = \frac{A_{blank} - A_{sample}}{A_{blank}} \times 100$$

A_{blank} میزان جذب شاهد (متانول) و A_{sample} جذب نمونه است.

تعیین خواص رنگی

تجزیه و تحلیل رنگ دانه‌های انار در روز دوازدهم نگهداری توسط دستگاه هانتر لب (Minolta, CIE Lab) صورت گرفت و در آن فاکتورهای رنگی برحسب روشنایی (L^*), قرمزی-سبزی (a^*) و زردی-آبی (b^*) مورد محاسبه قرار گرفت. همچنین اختلاف رنگ کلی دانه‌های انار در روز دوازدهم، با دانه‌های انار تازه در روز اول آزمون، با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (کالب و همکاران، ۲۰۱۳):

(۲)

$$\Delta E = \left[(a_1 - a_0)^2 + (b_1 - b_0)^2 + (L_1 - L_0)^2\right]^{0.5}$$

۱ . Total Soluble Solids

a_1، b_1 و L_1 پارامترهای رنگی تیمارهای مختلف در روز دوازدهم و a_0، b_0 و L_0 پارامترهای رنگی دانه‌های انار تازه در روز اول آزمون می‌باشند.

آزمون میکروبی

شمارش کلی میکروارگانیسم‌های مزوفیل هوازی بر روی محیط کشت PCA[1] طبق استاندارد ملی ایران شماره ٥٤٨٤ و شمارش کلی مخمر و کپک روی محیط کشت PDA [2] نیز طبق همان استاندارد ملی ایران انجام شد و نتایج به صورت $CFUgr^{-1}$ گزارش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

همهٔ آزمون‌ها در سه تکرار در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 21 در سطح احتمال ٥٪ ($p<۰/۰۵$) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام شد.

نتایج و بحث

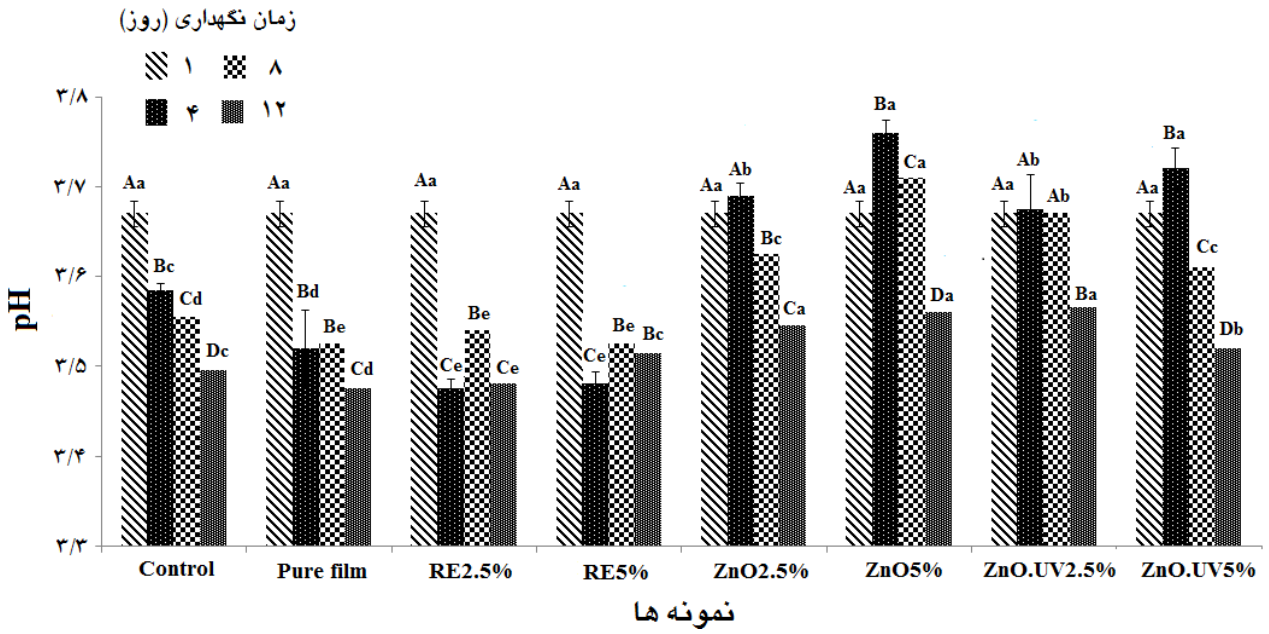
میزان pH

تاثیر تیمارهای مختلف بر روی pH دانه‌های انار در شکل ۱ نشان داده شده است. pH دانه‌های انار در روز اول آماده سازی نمونه‌ها برابر ۳/٦٧ بود. همان طور که مشاهده می‌شود، میزان pH از روز چهارم در همه نمونه‌ها شروع به کاهش می‌کند بجز نمونه‌های حاوی ZnO که توانسته‌اند pH محصول را بدون تغییر معنی دار ($p >۰/۰۵$) حفظ کنند. این کنترل pH توسط فیلم‌های حاوی ZnO تا روز هشتم ادامه داشته است. اما در روز دوازدهم، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نمی‌شود ($p >۰/۰۵$). بطور کلی اسانس رزماری باعث کاهش pH و نانوذرات ZnO باعث افزایش pH شدند. تابش‌دهی نور UV نیز تأثیر معنی داری بر تغییرات pH در نمونه‌های در تماس با ZnO نداشت.

به طور کلی تغییرات pH با دلایل مختلفی در ارتباط است. از جمله عوامل موثر در تغییر pH در حین نگهداری دانه‌های انار، می‌توان بدین موارد اشاره نمود: تغییر در شرایط بیوشیمیایی میوه، آهسته تر شدن سرعت تنفس و فعالیت متابولیک، مصرف اسیدها ضمن تنفس در طول ذخیره سازی و فعالیت میکروبی و تولید متابولیت‌های اسیدی (زهران و همکاران ۲۰۱۵). بنابراین پیش بینی کاهش یا افزایش pH در میوه‌هایی مانند انار در طول دوره ذخیره سازی امر مشکلی است. نتایج این تحقیق مطابق با نتایج ارگون و ارگون (۲۰۰۹) و زهران و همکاران (۲۰۱۵) بود که افزایش تدریجی pH انار طی دوره نگهداری سرد را گزارش کردند و در تضاد با نتایج آیهان و اشتورک (۲۰۰۹) است که مشاهده کردند pH دانه‌های انار یک کاهش جزئی از ۳/۳ به ۳/۱ در طول نگهداری نشان می‌دهد. گل و همکاران (۲۰۱۳) مشاهده کردند که pH در طول ذخیره سازی توت فرنگی، در تمامی نمونه‌ها (هم تیمار شده و هم شاهد) افزایش یافت و افزایش pH در شاهد نسبت به توت فرنگی پوشش داده شده با CMC بیشتر بوده است که این مطابق با نتایج بدست آمده در این پژوهش می‌باشد.

احتمال می‌رود ZnO با داشتن خواص ضد میکروبی قوی باعث کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها شده و در نتیجه، باعث عدم تولید متابولیت‌های اسیدی حاصل از رشد میکروارگانیسم‌ها می‌شود. درنتیجه مصرف اسیدهای آلی در اثر تنفس، بیشتر از تولید متابولیت‌های اسیدی در اثر فعالیت میکروبی بوده و pH رو به افزایش می‌گذارد. اما بدلیل اثر کمتر اسانس رزماری در کنترل رشد میکروبی، تولید متابولیت‌های اسیدی و کاهش pH در این نمونه‌ها بیشتر بوده است.

1 . Plate Count Agar
2 . Potato Dextrose Agar



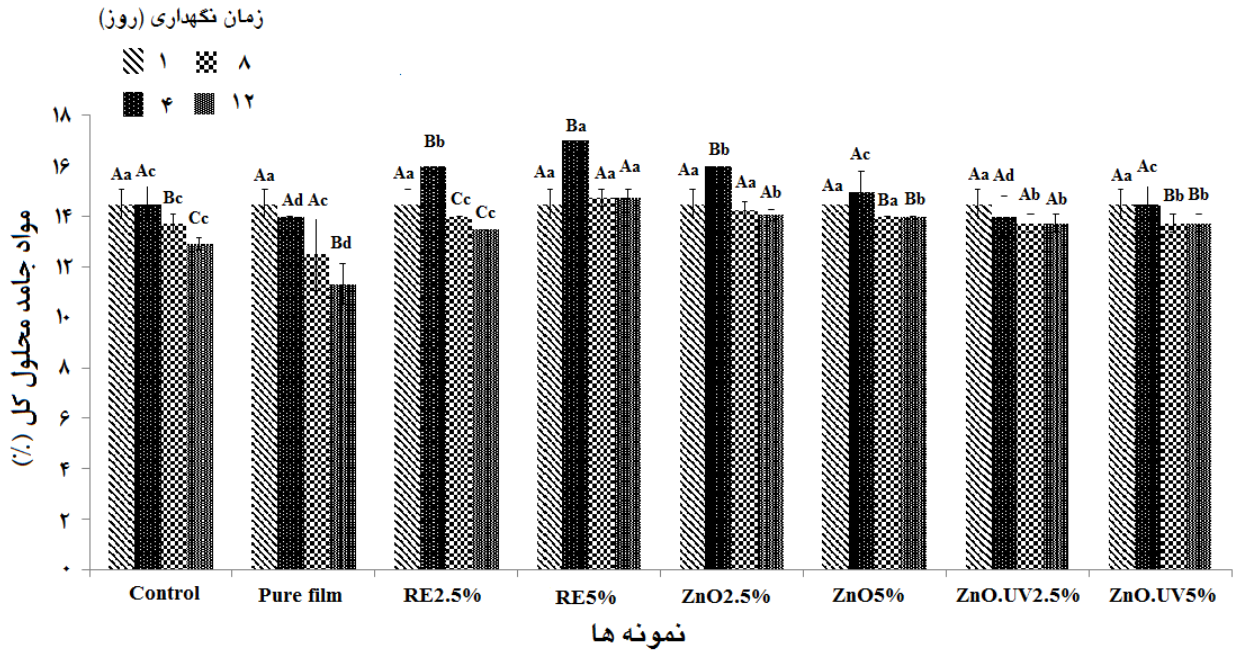
شکل ۱- تغییرات pH در نمونه‌های انار تیمار شده با فیلم‌های فعال حاوی اسانس رزماری و ZnO در طول نگهداری در دمای یخچال

حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) در بین زمان‌ها و حروف غیرمشابه کوچک نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) در بین تیمارها در هر زمان آزمون است.

مواد جامد محلول کل (بریکس)

منظور از TSS، کل مواد جامد محلول در آب است که ممکن است از نظر ماهیت، آلی یا معدنی باشند. بریکس برای دانه‌های انار تازه، برابر ۱٤/٥ گزارش شد. نتایج نشان داد که بریکس در طول ۱۲ روز نگهداری سرد، بجز تفاوت جزئی در برخی از نمونه‌ها، تغییر معنی داری از خود نشان نداده است (شکل ۲). بیشترین اختلاف معنی دار در بین روزهای نگهداری، در نمونه‌های حاوی فیلم خالص و پس از آن در نمونه کنترل که فاقد فیلم بود مشاهده شد. درحالیکه فیلم‌های فعال قادر بودند TSS نمونه‌های انار را در طول زمان حفظ کنند. بنابراین مشخص می‌شود که فیلم‌های فعال، در کنترل بریکس در طول دوره نگهداری، موثر بوده‌اند. قند ماده تشکیل دهنده اصلی مواد جامد محلول است و در طی تنفس و دیگر فعالیت‌های بیوشیمیایی و همچنین فعالیت میکروارگانیسم‌ها، مصرف می‌شود (گل و همکاران، ۲۰۱۳). نتایج بدست آمده در این پژوهش مبنی بر عدم تغییر بریکس در طول زمان در نمونه‌های حاوی فیلم فعال، ممکن است مربوط به اثر مهاری ترکیبات فعال روی تنفس باشد. اسانس رزماری، با اشباع کردن اتمسفر داخلی بسته از ترکیبات فنولی فرار، فعالیت تنفسی انار را کاهش می‌دهد (سیدیم و ساریکوس ۲۰۰٦). نانوذرات ZnO نیز با کنترل فعالیت میکروبی و جذب اکسیژن، تجزیه‌ی مواد محلول انار را مهار نموده و در نتیجه مانع کاهش بریکس می‌شوند (یو و همکاران، ۲۰۰۹). همان طور که در شکل ۲ مشخص است، تحت تأثیر تابش نور UV، نقش فیلم‌های حاوی ZnO در کنترل تغییرات بریکس بیشتر می‌شود. همان طور که ذکر شد، تحت تأثیر نور UV، فعالیت فوتوکاتالیستی ZnO بیشتر شده و با جذب اکسیژن، فعالیت متابولیکی دانه‌های انار را متوقف می‌کند. این نتایج مطابق با مطالعات گل و همکاران (۲۰۱۳) و ژو و همکاران (۲۰۰۸) است که نشان دادند پوشش CMC می‌تواند در مقایسه با نمونه شاهد مواد جامد محلول را در توت

فرنگی و گلابی بهتر حفظ کند. در مورد حفظ مواد جامد محلول در دانه‌های انار با استفاده از پوشش بره موم و متابی سولفیت سدیم (کامل و همکاران ۲۰۱۵) و پوشش آلوئه ورا و پکتین (حسینی و مرادی نژاد ۱۳۹٤) نیز نتایج مشابهی به دست آمد. دلیل افزایش بریکس تا روز چهارم، احتمالاً آب اندازی و افت وزن دانه‌های انار در زمان‌های اولیه نگهداری باشد که باعث افزایش TSS شده است.



شکل ۲- میزان مواد جامد محلول در نمونه‌های انار تیمار شده با فیلم‌های فعال حاوی اسانس رزماری و ZnO در طول نگهداری در دمای یخچال

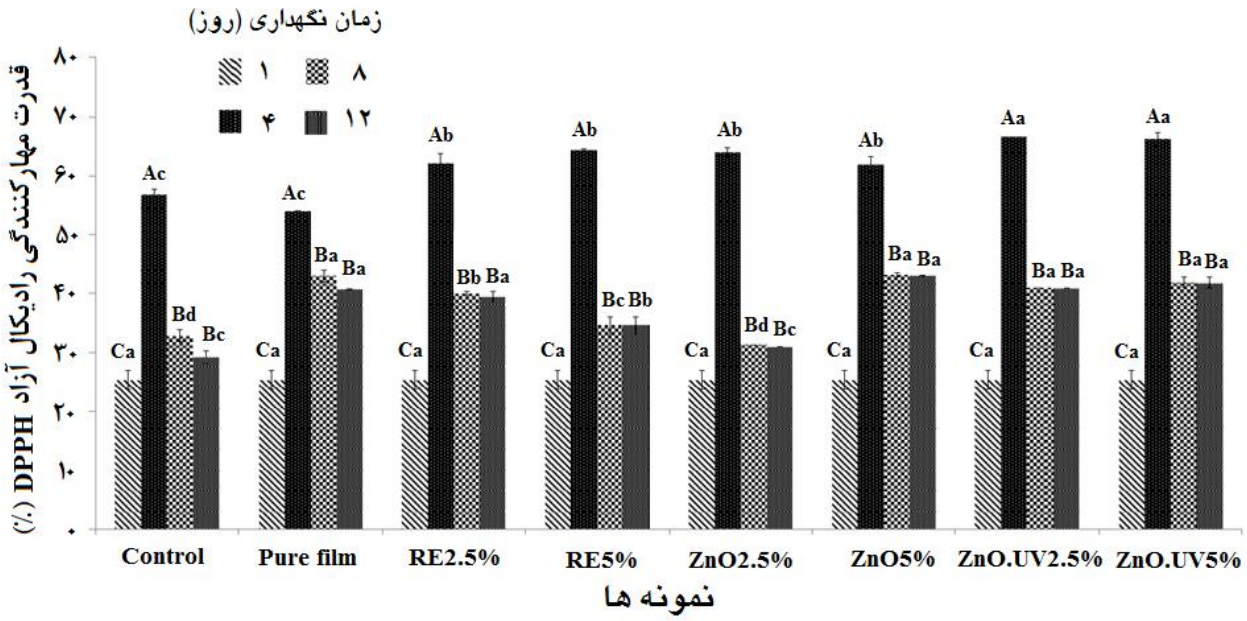
حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) در بین زمان‌ها و حروف غیرمشابه کوچک نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) در بین تیمارها در هر زمان آزمون است.

قدرت آنتی اکسیدانی

میوه انار بدلیل دارا بودن آنتوسیانین و ترکیبات فنولی فراوان و همچنین میزان اسید اسکوربیک زیاد، به بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی در بین میوه‌ها و تأثیر مثبت آن در پیشگیری از بیماری‌های قلبی عروقی و انواع سرطان مشهور است. بنابراین اندازه گیری قدرت آنتی اکسیدانی این میوه از اهمیت بالایی برخوردار خواهد بود. فعالیت آنتی اکسیدانی دانه‌های انار تازه در این مطالعه، برابر ۲۵/۲۸ درصد بود. نتایج تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی تیمارهای مختلف انار در شکل ۳ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی در روز چهارم در همه نمونه‌ها به طور معنی داری (P<۰/۰۵) رو به افزایش گذاشته است و مجدداً از روز هشتم کاهش یافته و تا روز دوازدهم در همه نمونه‌ها ثابت مانده است. تأثیر ZnO در حفظ قدرت آنتی اکسیدانی بیشتر از اسانس رزماری بود. بطور کلی نمونه شاهد در روز دوازدهم کمترین قدرت آنتی اکسیدانی و نمونه‌های در تماس با فیلم‌های فعال حاوی ZnO تیمار شده با نور UV بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را داشتند. دلیل افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی تا روز چهارم را می‌توان آب اندازی و درنتیجه افزایش غلظت ترکیبات فنولی در میوه انار دانست. شروع تخریب ترکیبات فنولی از روز چهار به بعد نیز نشان می‌دهد که تجزیه‌ی این ترکیبات و کاهش

مقدار آنها، روند آهسته تری نسبت به سایر فعالیت‌های متابولیکی در دانه‌های انار داشته و با اندکی تأخیر شروع می‌شود. فیلم‌های فعال، با تغییر اتمسفر فضای داخلی بسته، روند تغییرات متابولیکی را کند می‌کنند و همچنین کنترل رشد میکروبی، مانع تجزیه ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌شود. به همین دلیل، در حالت استفاده از فیلم‌های فعال، کاهشی در فعالیت آنتی اکسیدانی دانه‌های انار مشاهده نمی‌شود.

برخی دیگر از محققین نیز گزارش کرده‌اند که قدرت آنتی اکسیدانی دانه‌های انار تیمار شده با پوشش‌های خوراکی یا بسته بندی‌های نوین مختلف، تا روز چهارم نگهداری افزایش و پس از آن کاهش یافته است (زهران و همکاران ۲۰۱۵؛ آیهان و اشتورک ۲۰۰۹؛ فاول و اوپارا ۲۰۱۳).



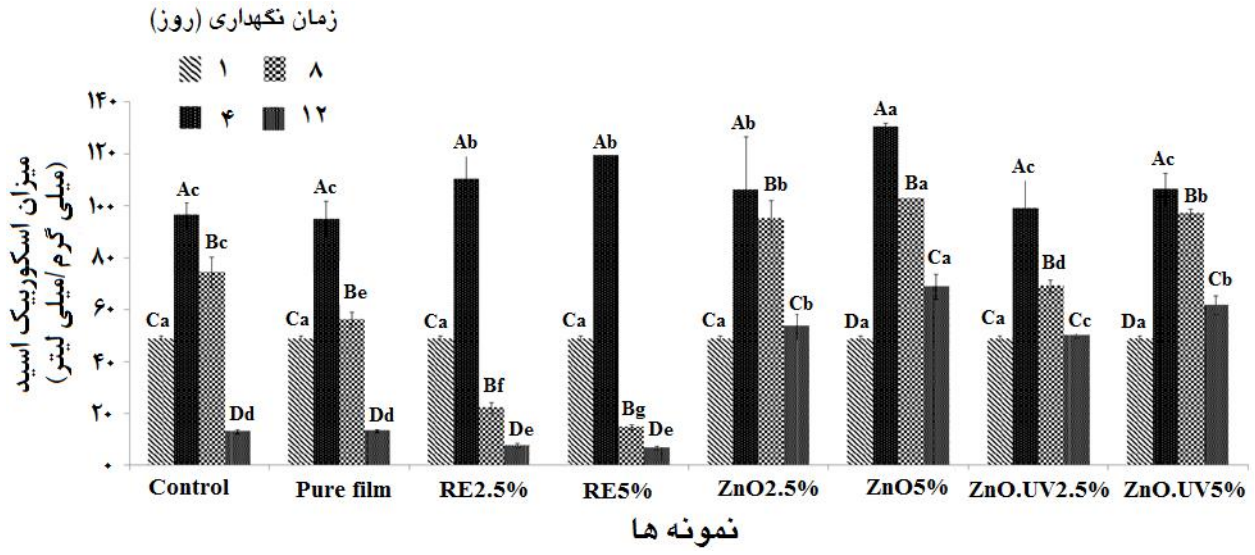
شکل ۳- قدرت آنتی اکسیدانی نمونه‌های انار تیمار شده با فیلم‌های فعال حاوی اسانس رزماری و ZnO در طول نگهداری در دمای یخچال

حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) در بین زمان‌ها و حروف غیرمشابه کوچک نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) در بین تیمارها در هر زمان آزمون است.

میزان اسید آسکوربیک (ویتامین ث)

شکل ٤ مقادیر اسید اسکوربیک را در نمونه‌های انار در طول نگهداری نشان می‌دهد. مقدار ویتامین ث در دانه‌های انار تازه، برابر ٤٨/٨ میلی گرم بر میلی لیتر بدست آمد. روند تغییرات اسید اسکوربیک، مشابه قدرت آنتی اکسیدانی بود. همان گونه که مشخص است، میزان اسید آسکوربیک در روز چهارم افزایش معنی داری (p<0.05) را نشان داد. اما از روز هشتم در همه نمونه‌ها رو به کاهش گذاشت. با این حال، میزان کاهش آن در نمونه‌های حاوی ZnO کمتر از سایر نمونه‌ها بوده است. با افزایش غلظت ZnO، میزان حفظ ویتامین ث در روز دوازدهم نگهداری افزایش یافت. فیلم‌های حاوی اسانس رزماری، در حفظ ویتامین ث حتی ضعیف‌تر از نمونه‌های شاهد عمل نمودند. این امر نشان می‌دهد که قدرت روبش اکسیژن موجود در هوای بسته بندی توسط نانو ذرات ZnO بیشتر از تأثیر ترکیبات

فرار اسانس در تغییر اتمسفر داخل بسته بوده است. با این وجود، تابش نور UV نتوانست تأثیر معنی داری در حفظ ویتامین ث ایجاد کند. این پدیده نشان می‌دهد که بجز کاهش اکسیژن در دسترس، عواملی دیگری نیز در حفظ ترکیبات آنتی اکسیدانی در انار از جمله اسیداسکوربیک موثر می‌باشند. بعنوان مثال، در تحقیقی که ماقومی و همکاران (۲۰۱۳) بر روی دانه‌های انار فرآوری شده با هوای گرم و بسته بندی شده با اتمسفر اصلاح شده با اکسیژن و دی اکسید کربن انجام دادند مشخص شد که بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده با اکسیژن در دمای ٤٥ درجه سانتی گراد در مدت زمان ١٤ روز انبار داری سرد (٤ درجه سانتی گراد) بهتر توانسته بود ویتامین ث را حفظ کند.



شکل ۴- میزان اسکوربیک اسید در نمونه‌های انار تیمار شده با فیلم‌های فعال حاوی اسانس رزماری و ZnO در طول نگهداری در دمای یخچال

حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) در بین زمان‌ها و حروف غیرمشابه کوچک نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) در بین تیمارها در هر زمان آزمون است.

خواص رنگی

ویژگی‌های رنگی دانه‌های انار یکی از پارامترهای مهم تأثیرگذار در پذیرش این محصول می‌باشد. مقادیر L^*، a^* و b^* دانه‌های انار در روز اول آماده سازی نمونه‌ها، بترتیب برابر ١٤/٢٨، ١٩/٣٢ و ٤/٩١ بودند. مقادیر بالاتر اندیس a^* نسبت به سایر پارامترها، نشان دهندهٔ درجه قرمزی بالاتر و غالب بودن رنگ قرمز در این میوه می‌باشد. همچنین اندیس L^* نیز حد قابل قبولی داشته و نشان دهنده روشنایی مطلوب دانه‌های انار است. جدول ١، شاخص‌های L^*، a^* و b^* دانه‌های انار در روز دوازدهم نگهداری و همچنین اختلاف رنگ آنها در روز دوازدهم با انار تازه در روز اول را نشان می‌دهد. همان طور که مشخص است، میزان L^*، a^* و b^* در همهٔ تیمارها نسبت به دانه‌های انار در روز اول آزمون، کاهش یافته‌اند اما این کاهش، در نمونه شاهد و نمونه حاوی فیلم خالص سلولز باکتریایی بیشتر از سایر نمونه‌هاست. با افزودن ترکیبات فعال به فیلم سلولز، ثبات رنگ دانه‌های انار بیشتر شده و پارامترهای رنگی پس از دوازده روز، بطور معنی داری بالاتر از نمونه شاهد بود. بطوریکه نمونه در تماس با فیلم حاوی ٥٪ اسانس رزماری، بیشترین میزان روشنایی (اندیس L^*)

و شاخص قرمزی (اندیس a^*) را در روز دوازدهم نشان داد.

اختلاف رنگ کلی دانه‌های انار با نمونه‌ی روز اول، فاکتور مناسب تری جهت توصیف روند تغییرات رنگی است. هرچه ΔE کوچکتر باشد نشان دهندهٔ تغییرات رنگی کمتر و شباهت بیشتر انار از نظر خواص رنگی به نمونه‌ی تازه می‌باشد. همان طور که در جدول ۱ مشخص است، با استفاده از اسانس رزماری و نانوذرات ZnO، میزان ΔE رفته رفته کاهش می‌یابد. بطور کلی تأثیر اسانس رزماری در حفظ خصوصیات رنگی دانه‌های انار بیشتر از نانوذرات ZnO بود و نمونه‌های حاوی ۵ و ۲/۵ درصد اسانس رزماری کمترین اختلاف رنگ را نشان دادند و پس از آنها تیمار حاوی ۵ درصد ZnO و تابش دهی شده با نور UV، اختلاف رنگ کمتری داشت. دلیل این امر را می‌توان به فراریت ترکیبات موثر اسانس رزماری در مقایسه با نانوذرات ZnO نسبت داد. درواقع ترکیبات اسانس با اشباع کردن محیط داخلی بسته و قرارگیری بر روی دانه‌های انار، واکنش پذیری آنتوسیانین‌ها با اکسیژن را کاهش می‌دهند اما نانوذرات ZnO قادر به ایجاد چنین لایه محافظی نیستند. در مورد تأثیر مثبت پوشش دهی با ترکیبات فعال و بیوپلیمرهای مختلف در حفظ خواص رنگی انار، نتایج متعددی گزارش شده است که موید این تأثیر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌باشند (کرمی مقدم و همکاران ۲۰۱٤؛ اوز و اولوکانل ۲۰۱۲).

جدول ۱- شاخص‌های رنگی (L^*، a^* و b^*) دانه های انار در روز دوازدهم نگهداری و اختلاف رنگ کلی (ΔE) آنها با انار تازه در روز اول آزمون

تیمارها	L^*	a^*	b^*	ΔE
Control	۱۰/۱±۳۳/۲۱^{a}	۱۱/۰±۷۹/۵٦^{a}	٤/۰±۸۲/۳۲^{c}	۸/۰±۵۰/٦۷^{e}
Pure film	۱۰/۰±۵۵/۸۷^{a}	۱۳/۱±۹٦/۳۲^{b}	۵/۰±۵۹/۳٤^{d}	٦/۰±۵٦/۸۷^{d}
RE2.5%	۱۳/۰±۷۵/۷۸^{c}	۱۷/۰±۹۷/۲۱^{e}	٤/۰±۷۷/۰۹^{c}	۱/۰±٤۵/۹۸^{a}
RE5%	۱٤/۱±۱٦/۲۱^{c}	۱۸/۰±۰۰/۰۰^{e}	۵/۰±۸٤/٤۵^{d}	۱/۰±٦۱/۲۲^{a}
ZnO2.5%	۱۲/۰±۳۳/۵٤^{b}	۱٤/۰±۳۷/۰۹^{c}	۳/۰±۹٤/٦۷^{b}	۵/۰±۵۰/۱۸^{c}
ZnO5%	۱۲/۰±۷۲/٦۷^{b}	۱٤/۰±۵۸/۱۳^{c}	۳/۰±۰۱/٤٤^{a}	۵/۰±۳۳/۹۸^{c}
ZnO.UV2.5%	۱۳/۰±۳۸/۸۹^{c}	۱۳/۰±۸۲/۱۱^{b}	۵/۰±۱۰/۸۷^{d}	۵/۰±۵۷/۰۰^{c}
ZnO.UV5%	۱۳/۰±۱٦/۵٦^{c}	۱۵/۱±٦۳/۰۹^{d}	٤/۰±۰۹/٤۵^{b}	۳/۰±۹٤/۵٤^{b}

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده‌ی وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است ($P<۰/۰۵$).

کیفیت میکروبی

نتایج آزمون شمارش کلی باکتریایی دانه‌های انار در جدول ۲ ارائه شده است. شمارش کلی نمونه‌های انار، در روز اول و بلافاصله پس از خارج کردن دانه‌ها از داخل غلاف، برابر ۱/۱۱ $CFU.gr^{-1}$ بود. همان طور که مشخص است، بار میکروبی تمام نمونه‌ها با گذشت زمان بطور معنی داری افزایش یافته است و بیشترین میزان افزایش مربوط به نمونه شاهد بود (افزایش ۹/۳۲ $CFU.gr^{-1}$ در طول ۱۲ روز). این امر نشان دهندهٔ استعداد بالای دانه‌های انار به فساد میکروبی در طول مدت نگهداری می‌باشد. با این وجود، در نمونه‌های در تماس با فیلم‌های فعال، این روند افزایشی کندتر بوده است. اسانس رزماری در کنترل افزایش بار میکروبی موثر بود اما تأثیر نانوذرات ZnO مخصوصاً در حالت

استفاده از تابش نور UV، بیشتر بوده است. فیلم حاوی ۵ درصد ZnO و تابش دهی شده با نور UV، کمترین شمارش میکروبی در روز دوازدهم را نشان داد. نکته قابل تأمل در مورد تغییرات بار میکروبی این است که فیلم‌های فعال تنها در تماس با لایه زیرین دانه‌های انار بوده‌اند، اما نمونه برداری از دانه‌های انار جهت انجام آزمون‌ها از تمامی قسمت‌های انار صورت گرفته است. این امر نشان می‌دهد که صرفاً تماس فیزیکی بین فیلم‌های فعال و دانه‌های انار، جهت ایفای نقش محافظت کنندگی آنها لازم نیست. درواقع، ترکیبات فعال اسانس رزماری و نانوذرات ZnO با تغییر اتمسفر محتوی بسته، به کنترل رشد میکروبی کمک می‌کنند. اسانس رزماری با تبخیر ترکیبات فنولی و اشباع کردن فضای داخلی بسته، نقش ضدمیکروبی خود را نشان می‌دهد. نانوذرات ZnO نیز با جذب اکسیژن و تولید گونه‌های اکسیژنی فعال به مرگ باکتری‌ها کمک می‌کنند. تابش نور UV خاصیت فوتوکاتالیستی ZnO را افزایش داده و فعالیت روبشی اکسیژن توسط این نانوذره بیشتر می‌شود و درنتیجه خاصیت ضدمیکروبی آن افزایش می‌یابد. این پدیده، در مطالعات پیشین بر روی نانوذرات ZnO نیز به اثبات رسیده است. کالب و همکاران (۲۰۱۳) و قاسم نژاد و همکاران (۲۰۱۳) نیز به ترتیب تأثیر بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده و پوشش دهی با کیتوزان را بر کنترل افزایش بارمیکروبی دانه‌های انار در طول نگهداری به اثبات رسانده‌اند.

جدول ۳ شمارش کپک و مخمر نمونه‌های انار را نشان می‌دهد.

جدول ۲- میزان جمعیت باکتریایی کل ($CFU.gr^{-1}$) در نمونه‌های انار تیمار شده با فیلم‌های فعال حاوی اسانس رزماری و ZnO در طول نگهداری در دمای یخچال.

تیمارها	زمان نگهداری (روز)		
	۴	۸	۱۲
Control	٤/٠±٣٣/٠١^{Ad}	٧/١±٠٠/٠٤^{Be}	١٠/١±٤٣/٩١^{Cf}
Pure film	٤/٠±٢٥/٦٧^{Ad}	٧/٠±٣٥/٥٧^{Be}	٩/٠±٩٨/٣١^{Ce}
RE2.5%	٣/٠±١١/٤٨^{Ac}	٥/٠±٤٥/٤٤^{Bd}	٧/٠±٢١/٧٨^{Cd}
RE5%	٣/٠±١٩/١١^{Ac}	٥/٠±٠٠/٧٦^{Bd}	٦/٠±٥٦/٤٥^{Cc}
ZnO2.5%	٣/٠±٠٠/٥٤^{Abc}	٤/٠±٣٣/٦٧^{Bc}	٤/٠±٩٨/٠٧^{Cb}
ZnO5%	٢/٠±٥٥/٠٧^{Ab}	٣/٠±٥٢/٣٧^{Bb}	٤/٠±٠٩/٥٦^{Ca}
ZnO.UV2.5%	١/٠±٣٨/٧٩^{Aa}	٢/٠±٨٧/٥٦^{Ba}	٣/٠±٣٨/٠٩^{Ca}
ZnO.UV5%	١/٠±١٦/٣٢^{Aa}	٢/٠±٨٩/١٦^{Ba}	٣/٠±٢٣/٧٧^{Ca}

حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) در بین زمان‌ها و حروف غیرمشابه کوچک نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار (P<۰/۰۵) در بین تیمارها در هر زمان آزمون است.

جدول ۳- میزان جمعیت کل کپک و مخمر ($CFU.gr^{-1}$) در نمونه‌های انار تیمار شده با فیلم‌های فعال حاوی اسانس رزماری و ZnO در طول نگهداری در دمای یخچال.

تیمارها	زمان نگهداری (روز)		
	۴	۸	۱۲
Control	۲/۰±۸۷/۳٤^{Ab}	۲/۰±۰٥/۱۱^{Bbc}	۱/۰±۹۳/۳۲^{Bbc}
Pure film	۲/۰±٤۳/۱۲^{Ab}	۲/۰±۲۸/٦٥^{Ac}	۲/۰±۳۸/۱۱^{Ac}
RE2.5%	۲/۰±٤۲/۱٥^{Ab}	۲/۰±۰۰/٦٤^{Abc}	۱/۰±۸۱/٦۸^{Ab}
RE5%	۱/۰±۷۹/۲۱^{Aa}	۱/۰±٥٤/٥٤^{Ab}	۱/۰±٤٥/۰۹^{Ab}
ZnO2.5%	۱/۰±٤٥/۳٤^{Aa}	۱/۰±۰۹/۲۱^{Aab}	۰/۰±۹۸/۰۷^{Aa}
ZnO5%	۱/۰±٦۸/۱۷^{Aa}	۱/۰±٤۳/٦٥^{Ab}	ND
ZnO.UV2.5%	۱/۰±٥٤/٦٥^{Aa}	۱/۰±۰۷/۷٦^{Aab}	۰/۰±۹۷/۳۹^{Aa}
ZnO.UV5%	۱/۰±۹۸/۳۲^{Aa}	۰/۰±۷۹/۳۳^{Ba}	ND

ND: زیر حد تشخیص؛ حروف غیرمشابه بزرگ نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار ($P<۰/۰٥$) در بین زمان‌ها در یک ردیف و حروف غیرمشابه کوچک نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار ($P<۰/۰٥$) در بین تیمارها در یک ستون است.

میزان کپک و مخمر برای انار تازه، برابر صفر بود. به طور کلی کپک‌ها نسبت به باکتری‌ها سرعت رشد کمتری دارند تا جاییکه اگر شرایط برای رشد باکتری‌ها مساعد باشد معمولاً رشد و تکثیر کپک‌ها کمتر است. همان طور که در جدول ۳ مشخص است، جمعیت کپک و مخمر در روز چهارم در همه نمونه‌ها افزایش یافته و پس از آن، تا روز دوازدهم کاهش یافته است. دلیل این امر احتمالاً تأثیر اسانس و ZnO بر روی رشد و تکثیر جمعیت باکتریایی و فراهم شدن شرایط برای کپک‌ها تا روز چهارم باشد. اما از روز هشتم به دلیل تولید متابولیت‌های ثانویه توسط خود کپک‌ها و سایر میکروارگانیسم‌ها، شرایط برای رشد این ارگانیسم‌ها مهیا نمی‌شود. با توجه به نتایج جدول ۳ مشخص است که تأثیر نانوذرات ZnO و همچنین تابش دهی نور UV بر روی کپک و مخمر نیز بیشتر از اسانس رزماری می‌باشد. آیهان و اشتورک (۲۰۰۹) نشان دادند که جمعیت کپک‌ها در همه نمونه‌های دانه‌های انار شاهد و بسته بندی شده تحت اتمسفر اصلاح شده، زیر حد تشخیص بود و این نوع بسته بندی، تأثیری بر روی رشد این میکروارگانیسم‌ها نداشته است. درحالیکه قاسم نژاد و همکاران (۲۰۱۳) کاهش جمعت کپک و مخمر در دانه‌های انار پوشش داده شده با کیتوزان در طول ۱۲ روز نگهداری در دمای یخچال را گزارش نمودند.

نتیجه گیری

هدف از این پژوهش، طراحی یک بسته بندی فعال با استفاده از ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی طبیعی، به منظور افزایش ماندگاری دانه‌های انار آماده مصرف بود. نتایج ثابت کرد که استفاده از این نوع فناوری، در کاهش تنفس و کاهش بار میکروبی مفید بوده و در عین حال، تأثیر زیادی بر روی خواص رنگی محصول ندارند. مشخص شد که استفاده از بسته بندی فعال حاوی نانوذرات ZnO اثر بیشتری نسبت به اسانس رزماری بر حفظ خصوصیات کیفی دانه‌های انار دارد. همچنین در ادامه‌ی پژوهش‌های محققین پیشین، ثابت شد که تابش دهی نانوذرات ZnO با نور UV، فعالیت فوتوکاتالیستی آن را افزایش داده و نقش

ممانعت کنندگی آن در پیشگیری از فساد میکروبی و شیمیایی را افزایش می‌دهد. نتایج این پژوهش ثابت کرد که با استفاده از فیلم زیست تخریب پذیر سلولز باکتریایی و با افزودن ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی، می‌توان محصول جدید دانه‌های انار آماده مصرف را به بازار مصرف ایران ارائه نمود بطوریکه ماندگاری و خصوصیات کیفی خود را در طول نگهداری حفظ نماید.

منابع مورد استفاده

استاندارد ملی ایران، شماره ۲٦۸۵، آبمیوه‌ها – روش‌های آزمون، ۱۳۸٦. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

استاندارد ملی ایران، شماره ٥٤٨٤، شیر و فراورده‌های آن – روش شمارش کلنی پرگنه های میکروارگانیسم ها در ۳۰ درجه سلسیوس، ۱۳۸۱. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

حسینی ز، مرادی نژاد ف، ۱۳۹٤. تاثیر پوشش های خوراکی آلوئه ورا و پکتین بر ماندگاری و خواص کیفی آریل‌های انار. دومین همایش ملی گیاهان دارویی، طب سنتی و کشاورزی ارگانیک، دانشگاه تهران.

نوروزی ر، ۱۳۹۰. حذف فتوکاتالیستی اشرشیاکلای با استفاده از اشعه فرا بنفش و نانوذرات اکسید روی، مجله علوم آزمایشگاهی، ٥(۲): ٦۱– ٥۲.

Abdollahi M, Rezaei M and Farzi G, 2012. A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. Journal of Food Engineering 111(2): 343-350.

Aviram M and Dornfeld L, 2001. Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. Atherosclerosis 158: 195–198.

Ayhan Z and EsTurk O, 2009. Overall quality and shelf life of minimally processed and modified atmosphere packaged “ready-to-eat” pomegranate arils. Journal of Food Science 74: 399-405.

Caleb OJ, Opara UL and Witthuhn CR, 2012. Modified atmosphere packaging of pomegranate fruit and arils. Food and Bioprocess Technology 5: 15-30.

Caleb OJ, Opara UL, Mahajan PV, Manely M, Mokwena L abd Tredoux AG, 2013. Effect of modified atmosphere packaging and storage on volatile composition and postharvest life of minimally-processed pomegranate arils. Postharvest Technology 43: 312-320.

Dhumal SS, Karale AR, Jadhav SB and Kad VP, 2014. Recent advances and the developments in the pomegranate processing and utilization: a review. Journal of Agriculture and Crop Science 1: 1-17.

Ergun M and Ergun N, 2009. Maintaining quality of minimally processed pomegranate arils by honey treatments. British Food Journal 111: 396-406.

Fawole O and Opara U, 2013. Effects of storage temperature and duration physiological responses of pomegranate fruit. Industrial Crops and Products 47: 300-309.

Gajjar P, Pettee B, Britt DW, Huang W, Johnson W and Anderson AJ, 2009. Antimicrobial activities of commercial nanoparticles against an environmental soil microbe, *Pseudomonas putida* KT2440. Journal of Biological Engineering 3(9): 1178-1183.

Gao C, Yan T, Du J, He F, Luo H and Wan W, 2014. Introduction of broad spectrum antibacterial properties to bacterial cellulose nanofibers via immobilising ε-polylysine nanocoatings. Food Hydrocolloids 36: 204-211.

Ghasemnezhad M, Zareh S, Rassa M and Sajedi R, 2013. Effect of chitosan coating on maintenance of arils quality, microbial population and PPO activity of pomegranate (*punica granatum* L.cv. Tarom) at cold storage temperature. Journal of Science of Food and Agriculture 93: 368–374.

Gol NB, Patel PR and Ramana Rao TV, 2013. Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. Postharvest Biology and Technology 85: 185–195.

Grady L, Sigge G, Caleb OJ and Opara UL, 2014. Bioactive compounds and quality attributes of pomegranate arils (*Punica granatum* L.) processed after long-term storage. Food Packaging and Shelf Life 2: 30 – 37.

Huisman M, Madsen HL and Skibsted LH, 1994. The combined effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and modified atmosphere packaging as protection against warmed over flavor in cooked minced pork meat. European Food Research and Technology 198: 57-64.

Ismail T, Sestili P and Akhtar S, 2012. Pomegranate peel and fruit extracts:Areview of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. Journal of Ethnopharmacology 143: 397–405.

Jipa IM, Stoica-Guzun A and Stroescu M, 2012. Controlled release of sorbic acid from bacterial cellulose based mono and multilayer antimicrobial films. LWT-Food Science and Technology 47: 400–406.

Kamel HM, Zeinab A and Eman AA, 2015. The effect of propolis and sodium metabisulfite as postharvest treatments on pomegranate arils storage. American-Eurasian Journal of Agriculture & Environment 15(10): 1962-1973.

Kapetanakou AE, Stragkas IG and Skandamis PN, 2015. Developing an antimicrobial packaging of ready-to-eat pomegranate arils based on vapors of brandy or distillery ethanol. Food Research International 69: 141–150.

Karami Moghadam A, Emam Jome Z and Yassini Ardakani SA, 2014. Study Physical properties, mechanical, barrier, and antimicrobial films containing sodium caseinate pomegranate peel extract. Iranian Journal of Biosystems Engineering 45(2): 121 -130.

Li LH, Deng JC, Deng HR, Liu ZL and Li XL, 2010. Preparation, characterization and antimicrobial activities of chitosan/Ag/ZnO blend films. Chemical Engineering Journal 160: 378–382.

Li X, Li W, Jiang Y, Ding Y, Yun J, Tang Y and Zhang P, 2011. Effect of nano-ZnO-coated active packaging on quality of fresh-cut ‘Fuji’ apple. International Journal of Food Science and Technology 46(9): 1947-1955.

Lopez-Rubira V, Allende A and Artes F, 2005. Shelf life and overall quality of minimally processed pomegranate arils modified atmosphere packaged and treated with UV-C. Postharvest Biology and Technology 37: 174–185.

Maghoumi M, Gómez PA, Mostofi Y, Zamani Z, Artés-Hernández F and Artés F, 2013. Combined effect of heat treatment, UV-C and superatmospheric oxygen packing on phenolics and browning related enzymes of fresh-cut pomegranate arils. LWT - Food Science and Technology 54: 389–396.

Maria I, Gil JA, Martinez A and Francisco A, 1996. Minimally Processed Pomegranate Seeds. LWT-Food Science and Technology 29: 708–713.

Mills A, Doyle G, Peiro, MA and Durrant J, 2006. Demonstration of a novel, flexible, photocatalytic oxygen-scavenging polymer film. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry 177: 328–331.

Nam KC, Ko KY, Min BR, Ismail H, Lee EJ, Cordray L and Ahn H, 2006. Influence of rosemary–tocopherol/packaging combination on meat quality and the survival of pathogens in restructured irradiated pork loins. Meat Science 74(2): 380–387.

OZ AT and Ulukanl Z, 2012. Application of edible of strach-based coating including glycerol plus *oleum nigella* on arils from long-stored whole pomegranate fruits. Journal of Food Processing and Preservation 36: 81–95.

Panea B, Ripoll G, González J, Fernández-Cuello J and Albertí P, 2014. Effect of nanocomposite packaging containing different proportions of ZnO and Ag on chicken breast meat quality. Journal of Food Engineering 123: 104-112.

Peng Y, 2005. Determination of active components in rosemary by capillary electrophoresis with electrochemical detection. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Fujian/Shanghai 39: 431-437.

Rajwade JM, Paknikar KM and Kumbhar JK, 2015. Applications of bacterial cellulose and its composites in biomedicine. Applied Microbiology and Biotechnology 99: 2491–2511.

Seydim AC and Sarikus G, 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food Research International 39(5): 639-644.

Shah N, Ul-Islam M, Khattak WA and Park JK, 2013. Overview of bacterial cellulose composites: a multipurpose advanced material. Carbohydrate Polymers 98: 1585–1598.

Shahidi F, 1997. Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Applications. AOCS Press, Champaign, Illinois, pp: 321-332.

Shahmohammadi Jebel F and Almasi H, 2016. Morphological, physical, antimicrobial and release properties of ZnOnanoparticles-loaded bacterial cellulose films. Carbohydrate Polymers 149: 8–19.

Shi Z, Zhang Y, Phillips GO and Yang G, 2014. Utilization of bacterial cellulose in food. Food Hydrocolloids 35: 539–545.

Sreekumar S, Sithul H, Muraleedharan P, Mohammed Azeez J and Sreeharshan S, 2014. Pomegranate fruit as a rich source of biologically active compounds. Biomedical Research International 21: 1-12.

Vicentini DS, Smania A and Laranjeira MCM, 2010. Chitosan/poly (vinyl alcohol) films containing ZnO nanoparticles and plasticizers. Materials Science and Engineering C 30: 503–508.

Yu J, Yang J, Liu B and Ma X, 2009. Preparation and characterization of glycerol plasticized-pea starch/ZnO-carboxymethyl cellulose sodium nanocomposites. Bioresource Technology 100: 2832–2841.

Zahran AH, Hassanein RA and AbdelWahab AT, 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.

Zhou R, Mo Y, Li Y, Zhao Y, Zhang G and Hu Y, 2008. Quality and internal characteristics of Huanghua pears (*Pyrus pyrifolia Nakai*, cv. Huanghua) treated with different kinds of coatings during storage. Postharvest Biology and Technology 49: 171–179.

Effect of bacterial cellulose based active film containing Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil and ZnO nanoparticles on chemical, microbial and nutritional properties of ready to eat pomegranate arils during cold storage

M Khadem[1], H Almasi[2*] and S Meshkini[3]

Received: December 2, 2016 Accepted: February 12, 2017

[1] MSc Student of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Afagh Higher Education Institute, Urmia, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Afagh Higher Education Institute, Urmia, Iran
*Corresponding author: h.almasi@urmia.ac.ir

Abstract

Nowadays, the using of ready to eat food products is growing and the shelf life increasing of these products has been attracted attention of researchers. The aim of this research was to investigate the effect of bacterial cellulose based biodegradable active film containing Rosemary essential oil (RE) and ZnO nanoparticles (at concentrations of 2.5 and 5% wt. of cellulose) on the chemical properties, nutritional components and microbial quality of ready to eat pomegranate arils during 12 days storage at 4 °C. Also the effect of UV irradiation at 245 nm for 10 min on the performance of the ZnO loaded films was evaluated. Results exhibited that the RE causes to decrease and ZnO causes to increase of pH during storage. Also, the active films were more effective than control film in the maintenance of arils Brix. The 5% ZnO loaded and UV irradiated sample had the highest antioxidant activity (43.5%) and vitamin C content (64.3 mg/ml) at day 12. Nevertheless, the effect of RE on the color properties of pomegranate arils was more than ZnO and 5% RE loaded sample, exhibited the highest a value (18.00) and the lowest total color difference (1.61) with fresh arils. The results of microbial evaluation showed that the ZnO nanoparticles were more effective than RE in the control of bacterial growth and also the UV irradiation increased the antimicrobial activity of ZnO. The yeast and mold content was increased up to day 4 but was diminished after that. Generally, the pomegranate arils stored in contact with irradiated ZnO loaded active films, had the best chemical and microbial quality attributes but the effect of RE on the color preserving of arils was more than ZnO.

Key words: Pomegranate, Bacterial cellulose film, Rosemary essential oil, ZnO nanoparticles, Microbial count