Archive of SID

بررسی خصوصیات ضد اکسایشی و ضدمیکروبی عصارهٔ آبی پوست انار در شرایط آزمایشگاهی و مدل غذایی

پروین شرایعی[1*] - الهام آذرپژوه [1]

استادیار پژوهش بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: 96/09/05 تاریخ پذیرش: 96/11/03

چکیده

پژوهش حاضر با هدف استفادهٔ بهینه از پوست انار به عنوان پسماند کشاورزی و کارخانه‌های تولید آب انار و بررسی خواص ضداکسایشی و ضدمیکروبی آن انجام پذیرفت. بدین منظور، پایداری اکسایشی روغن تخلیص شده سویا در حضور مقادیر مختلف عصارهٔ آبی پوست انار (استخراج شده با کمک فرآیند فراصوت؛ 1، 2، 4 و 6 درصد) در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی هیدروکسی-بوتیل‌تولوئن (0/01 درصد) طی 280 ساعت آزمون گرمخانه‌گذاری در دمای 50 درجهٔ سلسیوس مورد پایش قرار گرفت. هم‌چنین خواص ضدمیکروبی عصارهٔ آبی پوست انار در غلظت 0/1 و 0/3درصد در مقایسه با نگهدارندهٔ سنتزی سوربات‌پتاسیم (با غلظت 0/1 درصد)، بر بازدارندگی از رشد کپک آسپرژیلوس‌نایجر و باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکولی در شرایط آزمایشگاهی و غذایی (کیک روغنی) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد پایداری اکسایشی بر مبنای عدد پراکسید روغن تخلیص شده سویا (نمونه شاهد)، 0/4 درصد بود، که در حضور مقادیر مختلف عصارهٔ آبی پوست انار و آنتی‌اکسیدان سنتزی هیدروکسی‌بوتیل‌تولوئن به ترتیب از 0/96 تا 8/21 درصد وتا 8/33 درصد افزایش یافت. هم‌چنین، نتایج نشان داد که تمامی غلظت‌های عصارهٔ آبی دارای فعالیت ضدمیکروبی بودند، اما تاثیر عصاره بر میکروارگانیسم‌های مختلف یکسان نبود؛ به طوری که بیشترین قطر هالهٔ عدم رشد عصاره برای اشرشیاکولی (حدود 19 میلی‌متر) و کمترین قطر هالهٔ عدم رشد برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (حدود 12 میلی‌متر) بدست آمد. هم‌چنین عصارهٔ آبی پوست انار باعث کنترل رشد کپک و مخمر در محصول کیک روغنی طی مدت نگهداری شد و اثر ضدقارچی آن در غلظت 3 درصد تقریبا معادل اثرنگهدارندهٔ شیمیایی سوربات پتاسیم بود.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنلی، ضد قارچ، عصارهٔ آبی پوست انار،کیک روغنی.

* مسوول مکاتبات: parvin_sharayei@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

1-مقدمه

امروزه محدودهٔ وسیعی از افزودنی‌ها با اهداف گوناگون در تهیهٔ فرآورده‌های غذایی مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند. اهمیت این افزودنی‌ها به حدی است که بدون بهره‌گیری از آنها، تولید و مصرف بسیاری از فرآورده‌های غذایی تقریبا غیرممکن می‌شود. یکی از مهم‌ترین افزودنی‌های غذایی، ترکیبات ضداکسایشی و ضدمیکروبی سنتزی می‌باشند که نقش مهمی در طولانی شدن عمر نگهداری مواد غذایی و کاهش ضایعات دارند (43). اکسایش لیپیدی از جمله مشکلات بزرگ در استفاده از روغنها و چربیهای خوراکی است که باعث تولید مواد مضر در آنها می‌شود و سلامت انسان را به خطر می‌اندازد (38). تاکنون تلاش زیادی برای کاهش میزان واکنش‌های اکسایشی صورت پذیرفته و روش-های مختلفی به منظور پایدارسازی روغن‌های خوراکی پیشنهاد شده‌است که از آن جمله می‌توان به اختلاط روغن‌های چند غیراشباع با انواع اشباع یا تک غیر اشباع، هیدروژنه کردن روغن‌های غیراشباع، اصلاح ژنتیکی ساختار اسید چرب و استفاده از آنتی اکسیدان‌ها اشاره کرد (43). اضافه کردن آنتی‌اکسیدانها از جمله روش‌های رایج برای بهبود پایداری روغن‌های خوراکی است. در حال حاضر، آنتی‌اکسیدانهای سنتزی مجاز در فرآورده‌های غذایی شامل هیدروکسی-تولوئن‌بوتیله، هیدروکسی‌آنیزول‌بوتیله، پروپیل‌گالات و ترسیوبوتیل‌هیدروکینون می‌باشند (45). نگرانی ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدانهای سنتزی به لحاظ مسایل مربوط به سلامت و ایمنی و نیز محدودیت در حدود مجاز مصرف، مصرف کنندگان مواد غذایی را به استفاده از فرآورده‌های طبیعی در مواد غذایی ترغیب نموده است (36). هم‌چنین، کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها نیز یکی از مهم‌ترین جنبه‌های نگهداری مواد غذایی است. فرآورده‌های شیرینی و قنادی بخش مهمی از تولیدات غذایی کشور را تشکیل می‌دهند که به صورت صنعتی و صنفی تولید و عرضه می‌گردند. رشد کپک و مخمر، یکی از مهم‌ترین مشکلات صنعت تولید محصولات پخت (نظیر کیک) می‌باشد که سبب کاهش عمر مفید این دسته از مواد غذایی می‌شود (37). با توجه به مصرف زیاد این فرآورده‌ها، لازم است که کنترل‌های میکروبی هم از نظر بهداشتی و هم از نظر صنعتی به منظور بالا بردن زمان ماندگاری و حفظ کیفیت فرآورده بکار برده شود. سوربات پتاسیم از جمله موادی نگهدارنده‌ای است که سبب جلوگیری از فساد میکروبی در مواد غذایی و افزایش عمر انبارمانی می-گردد. این ماده به عنوان نگهدارنده در نان و سایر محصولات نانوایی، لبنیات، مرباها و شربت‌ها، ترشی‌ها، آب‌میوه‌ها، و میوه‌های خشک قابل استفاده است (32). از آنجایی که استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی از جمله سوربات‌پتاسیم، بنزوات و پروپیونات و غیره به علت مسمومیت، آسیب کبدی، سرطان‌زایی و به مخاطره انداختن سلامتی محدود گشته است، صنایع تولید کیک و کلوچه، به دنبال استفاده از نگهدارنده-های طبیعی و بی‌ضرر (همانند عصاره‌های گیاهی) می‌باشد، که ضمن حفظ کیفیت و خواص حسی، باعث افزایش زمان ماندگاری و بهبود سلامتی جامعه نیز گردد. افزودنی‌های طبیعی از بافت‌های مختلف گیاهی و حیوانی استخراج می-شوند که میزان ترکیبات فعال آنها بسته به نوع منبع متفاوت است. رایج‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شامل ترکیبات فنلی می‌باشند (19). پوست انار، منبعی سرشار و غنی از ترکیبات پلی‌فنلی، تانن‌ها، آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فلاونوئیدی است (26، 27 و 33) و می‌تواند یکی از منابع با ارزش برای تولید افزودنی‌های طبیعی باشد. انار با نام علمی punica granatum از خانواده پونیکاسه، بومی مناطق نیمه گرمسیری ایران می‌باشد. میزان تولید انار در ایران در سال 1394-1393، 1086629.8تن و سطح زیرکشت آن 83933/1 هکتار برآورد شده‌است (2)، بنابراین می‌توان تخمین زد که سالیانه در حدود 803320/43 تن پوست انار به صورت ضایعات تولید و دور ریخته می‌شود (پوست انار تقریبا 30 تا 40 درصد وزن کل میوه را شامل می‌شود). این امراز سویی باعث هدر رفتن سرمایه‌های ملی شده و از سوی دیگر دفع آن نیز باعث ایجاد

www.SID.ir

Archive of SID

مشکلات زیست محیطی خواهد شد؛ در حالی که در دنیای امروز توجه ویژه‌ای به استفادهٔ بهینه از ضایعات گیاهی و استخراج ترکیبات زیست‌فعال (مانند ترکیبات ضداکسایشی و ضدمیکروبی) از آن‌ها می‌شود (36).نظیری و همکاران (1391)، اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های متانولی پوست انار ترش و انار شیرین را در مقایسه با محلول آبی آنتی بیوتیک-های تتراسایکلین و کلرامفنیکل، با روش انتشار در آگار با استفاده از دیسک و رقیق‌سازی متوالی بر روی ده باکتری بیماری‌زای جدا شده از دام مورد بررسی قرار دادند. بیشترین قطر هالهٔ مهار رشد باکتری توسط عصاره‌های گیاهی برای استافیلوکوکوس اورئوس حدود 25 میلی‌متر و کم‌ترین قطر هالهٔ مهار رشد برای پاستورلا مولتوسیدا[1] حدود 9 میلی‌متر به دست آمد. کم‌ترین غلظت مهار کننده رشد باکتری و حداقل غلظت کشنده باکتری عصاره‌های گیاهی فوق برای استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب 7/8 و 62/5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین گردید (10).ابراهیم[2] (2010)، فعالیت ضد میکروبی عصارهٔ متانولی و اتانولی پوست انار را بر علیه رشد استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکولی، آسپرژیلوس‌نایجر و ساکارومایسز سرویزیه و خواص آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ اتانولی آن را بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان بررسی نمود. نتایج این تحقیق مشخص نمودکه فعالیت ضد میکروبی وآنتی‌اکسیدانی عصارهٔ متانولی پوست انار بالاتر از عصارهٔ اتانولی می‌باشد (22). اقبال[3] و همکاران (2008) و کانات[4] و همکاران (2010)، نیز گزارش نمودند عصارهٔ متانولی پوست انار می‌تواند به ترتیب باعث پایدارسازی روغن آفتابگردان و روغن ماهی شود (23، 24). نگی و جایاپراشکا [5] (2003)، خواص ضداکسایشی عصارهٔ متانولی، استونی و اتیل استاتی پوست انار (استخراج شده به روش ماسراسیون) را در غلظت های 5، 10، 25 و 50 پی‌پی‌ام را با آنتی‌اکسیدان سنتزی هیدروکسی بوتیل آنیزول مورد مقایسه قرار داده و گزارش نمودند که عصارهٔ متانولی پوست انار دارای خاصیت آنتی-اکسیدانی قابل مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی هیدروکسی بوتیل آنیزول است (33). یعقوبی[6] و همکاران (2010)، نیز گزارش نمودند که عصارهٔ استخراج شده با حلال استون در غلظت‌های 0/01 تا 0/05 درصد، خواص آنتی‌اکسیدانی به مراتب بالاتری نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی هیدروکسی-بوتیل‌تولوئن و هیدروکسی‌آنیزول‌تولوئن دارند (46).بر طیق بررسی‌های به عمل آمده، مشخص شده‌است که در اکثر تحقیقات انجام شده عصاره پوست انار با استفاده از حلال‌های آلی استخراج شده‌است؛ که این امر استفاده از عصارهٔ حاصله را در مواد غذایی به دلیل کاهش ایمنی، محدود می‌نماید. بنابراین با توجه به این امر و هم چنین با توجه به اهمیت استفادهٔ بهینه از پسماند محصولات کشاورزی و کارخانه‌های صنایع غذایی (کارخانه‌های تولید آب انار)، پژوهش حاضر با اهداف بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف عصارهٔ آبی بر پایداری اکسایشی روغن تخلیص شده سویا در مقایسه با آنتی-اکسیدان سنتزی هیدروکسی‌بوتیل تولوئن و بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصارهٔ آبی در غلظت‌های مختلف در شرایط آزمایشگاهی و غذایی (کیک روغنی) در مقایسه با نگهدارندهٔ شیمیایی سوربات پتاسیم انجام پذیرفت.

2-مواد و روش‌ها

2-1- مواد اولیه

پوست انار (رقم ملس) از کارخانه تولید آب میوه انار واقع در شهر مشهد (کارخانه شهد ایران) تهیه و پس از جداسازی ضایعات در فیلم بسته‌بندی پلی‌اتیلن با دانسیته پایین با ضخامت 140 میکرون بسته‌بندی گردیدند. بسته‌ها در دمای 18- درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمایشات بعدی نگهداری شدند.

[1] Pasteurella Multicida
[2] Ibrahium
[3] Iqbal
[4] Kanatt
[5] Negi and Jayaprakasha
[6] Yasoubi

www.SID.ir

Archive of SID

معرف فولین‌سیوکالچو، TPTZ[1]، DPPH[2]، متانول، کربنات-سدیم، سولفات‌آهن II، کلریدآهن III شش‌آبه، استات‌سدیم سه‌آبه، پتاسیم‌کلراید، اسیدکلریدریک غلیظ و دیگر مواد شیمیایی مورد نیاز از شرکت‌های مرک، سیگما- آلدریچ، شارلو و کالدون با درجه تجزیه‌ای[3] خریداری شدند.

2-2- فرآیند استخراج ترکیبات موثر پوست انار

استخراج ترکیبات موثر با استفاده از حلال آب و با کمک فرآیند فراصوت انجام شد. بدین منظور، ابتدا پوست انار به نسبت 1 به 4 وزنی حجمی با آب مخلوط و به مدت 5 دقیقه با شدت 60 درصد صوت‌دهی گردید (5). برای اعمال امواج فراصوت از دستگاه فراصوت ساخت شرکت هلشر آلمان مدل یوپی 400 اس[4] با قدرت400 وات و پروب از نوع H_7 از جنس تیتانیوم با قطر7 میلی‌متر و طول 100 میلی‌متر، استفاده شد. سپس عملیات استخراج عصاره با هم زدن شدید به مدت 48 ساعت در محیط تاریک ادامه یافت. محلول تحت خلاء صاف گردید و با تبخیر کنندۀ دوار تحت خلاء (مدل Laborota 4000 efficient، ساخت کشورآلمان) تحت دمای 45 درجۀ سلسیوس تا حد آبگیری کامل تغلیظ گردید (6). جهت جلوگیری از کف کردن و همچنین جهت رسیدن به دمای مناسب برای ورود به خشک‌کن انجمادی، محلول تغلیظ شده به مدت 19 ساعت در فریزر با دمای 70- درجۀ سلسیوس نگهداری و سپس به خشک‌کن انجمادی (مدل Operon FDB- 550، ساخت کشورکره) منتقل شد. نمونه‌ها در خشک‌کن انجمادی در دمای 55- درجۀ سلسیوس با فشار 0/15 میلی‌متر جیوه طی 20 ساعت خشک شدند. نمونه‌های خشک شده تا زمان انجام آزمایشات بعدی، در تاریکی و دمای 18- درجۀ سلسیوس نگهداری شدند.

2-3- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد میکروب

ویژگی‌های ضدمیکروبی عصاره آبی پوست انار، با روش حداقل غلظت بازدارندگی تعیین شد (41). برای تعیین خواص ضدباکتریابی از دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با شماره ATCC25923 به عنوان گرم مثبت و اشرشیاکولی O157:H7 با شماره ATCC10536 به عنوان گرم منفی وبرای تعیین خواص ضدقارچی از کپک آسپرژیلوس نایجر با شماره ATCC16404 استفاده شد. میزان قطرهالۀ عدم رشد باکتری-ها و کپک با روش انتشار در آگار با استفاده از دیسک تعیین گردید (29).

2-4- تخلیص روغن سویا

تخلیص روغن سویا با استفاده از کروماتوگرافی ستونی چندلایه‌ای (آلومینا- سیلیکاژل) به همراه اصلاحاتی در روش Belhaj و همکاران (2010) صورت گرفت (15). برای اطمینان از حذف ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، روغن دوبار از ستون پر شده با آلومینا و سیلیکاژل عبور داده شد و مقادیر ترکیبات پلی‌فنلی کل و عدد پراکسید بعد از هر مرحله تخلیص اندازه‌گیری شد.

2-5- آزمون گرمخانه‌گذاری

مقدار 0/5، 1، 2، 4 و 6 درصد از عصاره آبی پوست انار و نیز 0/01 درصد از آنتی‌اکسیدان سنتزی هیدروکسی‌بوتیل‌تولوئن به روغن تخلیص شدۀ سویا اضافه شد (هر مخلوط در دو تکرار تهیه شد). 10 گرم از مخلوط‌های فوق در ظروفی به قطر6 میلی‌متر و ارتفاع 90 میلی متر اضافه و در اینکوباتور با دمای 50 درجه سلسیوس قرار داده شد. نمونه‌برداری از مخلوط روغن‌ها، در ابتدای گرمخانه‌گذاری و در فواصل زمانی معین طی فرآیند اکسایش تسریع یافته انجام شد. نمونه‌ها تا زمان انجام آزمون عدد پراکسید در فریزر (دمای 18- درجۀ سلسیوس) نگهداری شدند (5).

[1] 2, 4, 6-tris (2-pyridyl)-s-triazine
[2] 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
[3] Analytical grade
[4] Heilscher, Germany – UP400S

www.SID.ir

Archive of SID

2-6- ساختار اسید چربی

ترکیب اسید چربی نمونه روغن به وسیله کروماتوگرافی گاز-مایع تعیین شد و بر اساس درصد نسبی سطوح گزارش شد. استرهای متیل اسیدهای چرب با اختلاط روغن و هگزان (0/3 گرم در 7 میلی لیتر) با هفت میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی دو نرمال دردمای 50 درجه سلسیوس به مدت 15 دقیقه تهیه شدند. استرهای اسیدهای چرب با کروماتوگراف HP-5890 (Hewlett-Packard, CA,USA) مجهز به ستونهای مویینه CP-FIL88 شیشه‌ای سیلیکا (60 متر طول، 0/22 میلی‌متر قطر داخلی، 0/2 میکرومتر ضخامت لایه داخلی) و آشکارساز یونی شعله‌ای شناسایی گردیدند. گاز هلیم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان 0/7 میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد. دمای آون، بخش تزریق و آشکارساز به ترتیب 198، 280و 250 درجه سلسیوس بود. آزمایشها در دو تکرار انجام شدند (21).

2-7- اندازه‌گیری عدد پراکسید

یک دهم تا 0/2 گرم نمونه روغن، بسته به میزان اکسایش آن، در لوله‌های آزمایش 15 میلی‌لیتری وزن شد و با 9/8 میلی‌لیتر حلال کلروفرم : متانل (به نسبت 3:7) مخلوط و به مدت 2 تا 4 ثانیه هم زده شد. عدد پراکسید از رابطه 1محاسبه شد:

$$PV = \frac{(As - Ab) \times m}{55.84 \times W \times 2} \qquad \text{(رابطه1)}$$

که As، جذب نمونه و Ab جذب شاهد در طول موج 500 نانومتر است. m شیب به دست آمده از منحنی کالیبراسیون است (40/86 با ضریب تبیین 0/99) و W وزن نمونه روغن است (40).

2-8- روش تهیه خمیر و پخت کیک روغنی (یزدی)

کیک روغنی به روش نقی پور (1391) تهیه و پخت شد (11). سوربات پتاسیم به عنوان نگهدارندهٔ شیمیایی ضدمیکروبی در سطح 0/1 درصد و همچنین عصارهٔ بهینه استخراج شدهٔ انار در غلظت‌های 0/3 و 1 درصد به مخلوط اضافه شدند (مقادیر بر اساس آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی رشد کپک با استفاده از روش انتشار دیسک انتخاب شدند). پس از اتمام عمل پخت و خروج سینی ها از درون فر، کیک های پخته شده به آزمایشگاه انتقال و اجازه داده شد در معرض هوای آزمایشگاه سرد گردند. کیک ها در بسته‌های پلی‌اتیلنی با ضخامت 70 میکرون بسته‌بندی شدند و به مدت 9 روز در شرایط محیط (دمای 25 درجهٔ سلسیوس) نگهداری شدند و در روز تولید (بعد از 4 ساعت خنک شدن)، 3 و 9 روز پس از تولید، آزمایش اندازه‌گیری تعداد کل کپک و مخمر انجام شد.

2-9- کشت و شمارش کپک و مخمر در محصول کیک روغنی

آزمون میکروبی شامل شمارش کلی کپک و مخمر طبق استاندارد 2-10899 و با استفاده از محیط کشت پوتیتودکستروزآگار[1] و آماده‌سازی نمونه‌ها مطابق با استاندارد 4-8923 انجام شد (8 و9). پلیت‌های کشت داده شده در 25 درجه سلسیوس به مدت 3 روز گرمخانه‌گذاری شدند. در نهایت تعداد کلنی‌های تشکیل شده مورد بررسی و شمارش قرار گرفت.

2-10- تعیین ترکیبات فنلی

میزان ترکیبات فنلی کل بر اساس روش فولین سیوکالچو تعیین گردید. مقدار 100 میکرولیتر از عصاره (مخلوط 100 میلی-گرم عصارهٔ خشک شده انار با 2000 میکرولیتر متانول) با 2/5 میلی لیتر معرف فولین سیوکالچو[2]مخلوط و به مدت 3 دقیقه در حالت سکون قرار داده شد تا واکنش صورت گیرد. در ادامه 5 میلی‌لیتر کربنات سدیم 7/5 درصد به آن اضافه و بعد از یک دقیقه با آب مقطر به حجم50 میلی‌لیتر رسانده شد. نمونه به مدت 24 ساعت در مکانی تاریک نگهداری و سپس جذب آن در طول موج 765 نانومتردر برابر شاهد قرائت شد.

[1] Potato Dextrose Agar
[2] Ciocalteu's phenol

www.SID.ir

Archive of SID

میزان ترکیبات فنولی کل موجود در نمونه از روی منحنی استاندارد تعیین شد. منحنی استاندارد با ترسیم داده‌های جذب اسید گالیک در طول موج765 نانومتردر غلظت‌های 100 تا 950 پی‌پی‌ام بدست آمد. نتایج بر اساس میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم نمونه با استفاده از معادله برازش داده شده بر منحنی استاندارد گزارش گردید (13).

2-11- تعیین قدرت احیا کنندگی آهن III (FRAP[1])

ابتدا محلولی شامل 100 میلی‌گرم نمونه در 2میلی‌لیتر متانول تهیه شد و30 میکرولیتر آن با 900 میکرولیتر محلول FRAP و90 میکرولیتر آب مقطر در لوله آزمایش مخلوط شد. لوله آزمایش بعد از ورتکس در بن‌ماری قرار گرفت و پس از رسیدن دمای آن به 37 درجهٔ سلسیوس، مقدار جذب در مقابل شاهد و در طول موج 595 نانومتر خوانده شد. مقدار آهن II با استفاده از معادله برازش داده شده بر منحنی استاندارد (مقدار جذب محلول‌های استاندارد سولفات آهن II با غلظت‌های 200 تا 2000 میکرومول در لیتر در طول موج 595 نانومتر) به دست آمد (16).

2-12- تعیین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

ابتدا محلول 0/006درصد رادیکال آزاد DPPH در متانول تهیه شد. سپس به لوله‌های آزمایش دارای یک میلی‌لیتر محلول متانولی نمونه با غلظت‌های مختلف (بسته به قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد)، یک میلی‌لیتر از محلول فوق اضافه شد. لوله‌های آزمایش بعد از همزدن به مدت یک ساعت در جای تاریک نگهداری شدند و سپس جذب آنها در طول موج 512 نانومتر در برابر شاهد قرائت گردید. درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد طبق رابطهٔ 1 محاسبه شد.

$$A\% = \frac{A_C - A_S}{A_C} \times 100$$

که درآن: A% درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، A_C جذب شاهد و A_S جذب نمونه است. پس از ترسیم نمودار درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد در برابر غلظت نمونه، منحنی مناسب روی داده‌ها برازش داده شد و سپس غلظتی را که در آن، نمونه قادر به مهار کردن 50 درصد رادیکال‌های آزاد است تحت عنوان IC_{50} محاسبه گردید (20).

2-13- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شدند. میانگین‌های حاصل از انجام آزمون‌ها با نرم‌افزار MStatC و بر اساس آزمون دانکن در سطح 5 درصد ($p<0/05$) مقایسه شدند.

3-نتایج و بحث

3-1-بررسی میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی-اکسیدانی عصارهٔ آبی پوست انار

ویژگی‌های عصارهٔ آبی استخراج شده از پوست انار در مقایسه با آلفا- توکوفرول در جدول 1 نشان داده‌شده‌است. همان طور که از جدول 1 مشاهده می‌شود، عصارهٔ آبی استخراج شده از پوست انار دارای مقدار قابل توجهی ترکیبات فنلی می‌باشد. به طور کلی، پوست انار دارای ترکیبات فنلی با وزن مولکولی کم و یا متوسط مانند آنتوسیانین‌ها، گالوتانین‌ها[2]، هیدروکسی-سینامیک اسید[3]، هیدروبنزوئیک اسید[4] و یا ترکیبات فنلی با جرم مولکولی بالا همانند الایژیتانن[5]، استرهای گالاژیل[6] و پروآنتوسیانیدین‌ها[7] می‌باشد (25). نتایج تحقیقات نشان داده است پلی‌فنل‌های قابل هیدرولیز به‌خصوص الایژیتانن‌ها و ترکیبات حاصل از هیدرولیز آن از مهمترین ترکیبات فنلی موجود در پوست انار هستند (39). الایژیتانن‌ها، ترکیبات فنلی حل شونده در آب با جرم مولکولی بالا هستند که به آسانی

[1] Ferric reducing activity of plasma

[2] gallotannins
[3] hydroxycinnamic acids
[4] hydroxybenzoic acids
[5] ellagitannins
[6] gallagyl esters
[7] proanthocyanidins

www.SID.ir

Archive of SID

هیدرولیز می‌شوند و فرآورده‌های جانبی متفاوتی مانند الایژیک اسید، پونیکالاژین، پونیکالین[1] و گالاژیک[2] اسید را تولید می‌کنند. الایژیک اسید، ترکیب فنلی مونومری با ساختاری نسبتا پایدار می‌باشد که قدرت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد (34).

هم چنین از جدول 1 مشاهده می‌شود، عصارهٔ آبی پوست انار دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی به مراتب بالاتر از توکوفرول است. به‌طورکلی، قابلیت نسبی ترکیبات فنلی عصارهٔ پوست انار برای عمل‌کردن به عنوان آنتی‌اکسیدان، به تعداد و قرارگیری گروه‌های هیدروکسیل آن مربوط است. این گروه-ها، مانند گروه‌های هیدروکسیل موجودر در کاتکول[3]، با قابلیت گیرندگی آهن و فلزات واسطه از انتشار رادیکال‌های آزاد حاصل از واکنش اکسایش جلوگیری بعمل می‌آورند (35 و 44).

جدول1- میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ آبی انار در مقایسه با عصارهٔ متانولی- آبی آلفا- توکوفرول

جزء اندازه‌گیری شده	عصارهٔآبی	آلفا- توکوفرول
ترکیبات فنلی کل (میلی‌گرم بر گرم)	60/89 ± 1/84	-
قدرت احیاءکنندگی‌آهن سه‌ظرفیتی (میکرومول‌آهن II بر لیتر)	1430/29 ± 11/60 [a]	104/54 ± 2/64 [b]
قدرت گیرندگی رادیکال آزاد (درصد)	78/78 ± 1/87 [a]	25/48 ± 0/95 [b]
IC_{50} (میلی گرم بر میلی لیتر)	0/42 ±0/01 [b]	31/50 ± 1/45 [a]

* اعداد (± انحراف استاندارد)، میانگین 3 تکرار است. ارقام دارای حروف مشترک از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($P < 0/05$).

[1] punicalin
[2] gallagic acid
[3] catechol

www.SID.ir

Archive of SID

3-2- بررسی تاثیر عصارۀآبی پوست انار بر پایداری اکسایشی روغن سویا

کیفیت و ساختار اسید چرب روغن تصفیه شده سویا بدون آنتی اکسیدان (روغن مورد مطالعه) در جدول 2 آورده شده است. اسیدهای چرب اشباع عمده روغن سویا، اسید پالمتیک و پس از آن اسید استئاریک بودند. مقدار اسیدهای چرب تک غیر اشباع و چند غیراشباع روغن سویا به ترتیب 24/31 و 57/40 درصد بود. نسبت اسیدهای چرب چند غیراشباع به اشباع 2/36 درصد بود؛ این نسبت معمولاً به عنوان معیاری از سیرناشدگی لیپیدها و نیز تمایل آن‌ها به خود اکسایش لیپیدی در نظر گرفته می‌شود (31). اعداد پراکسید و اسیدی

جدول 2- ساختار اسید چرب روغن تخلیص شده سویا

کمیت اندازه گیری شده	روغن تخلیص شده سویا
اسید میریستیک (C14:0)	0/11 ± 0/01
اسید پالمتیک (C16:0)	11/10 ± 0/04
اسید پالمیتولئیک (C16:1)	0/15 ± 0/01
اسید استئاریک (C18:0)	5/60 ± 0/06
اسید اولئیک (C18:1)	24/01 ± 0/04
اسید لینولئیک (C18:2)	49/85 ± 0/06
اسید لینولنیک (C18:3)	7/55 ±0 /02
اسید آراشیدیک (C20:0)	0/65 ± 0/04
اسید گادولئیک (C20:1)	0/15 ±0 /04
اسید بهینیک (C22:0)	0/45 ± 0/01
اسید چرب اشباع (SFA)	17/92 ± 0/09
اسید چرب چند تک اشباع (MUFA)	24/31 ± 0/11
اسیدهای چرب چند غیر اشباع (PUFA)	57/40 ± 0/12
نسبت USFA/SFA	2/36 ± 0/03
عدد پراکسید (میلی‌اکی‌والان‌گرم اکسیژن بر کیلوگرم)	2/ 25± 0/66
اسیدهای چرب آزاد (میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم بر گرم)	0/ 85± 0/03

* اعداد (± انحراف استاندارد).

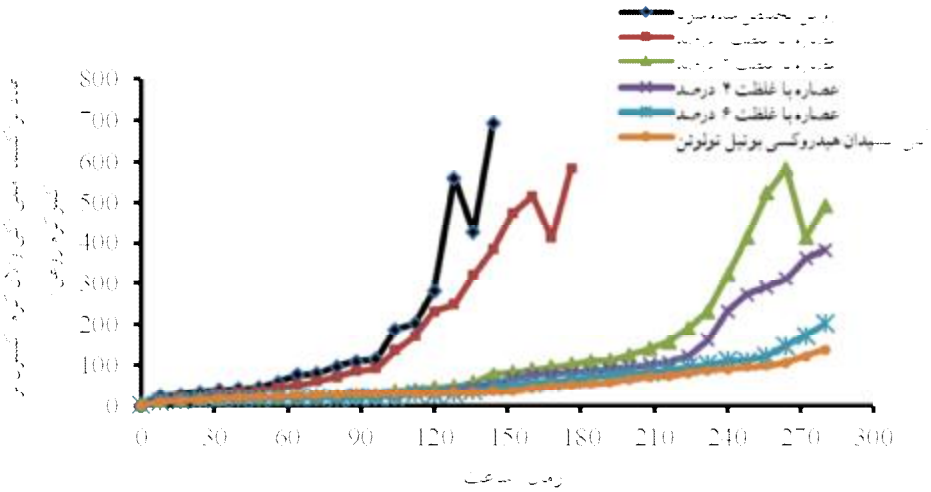
روغن مورد مطالعه، به ترتیب 2/25 میلی‌اکی‌والان گرم اکسیژن بر کیلوگرم روغن و 0/85 میلی‌گرم پتاس بر گرم بود؛ که نشان دهنده کیفیت مناسب و غیراکسایشی روغن مورد مطالعه بود. اعداد پراکسید و اسیدی به ترتیب نمادهای میزان کل ترکیبات هیدروپراکسیدی و تندی ناشی از هیدرولیز روغن‌ها و چربی‌های خوراکی بوده، به منظور ارزیابی کیفیت اولیه مواد لیپیدی به کار برده می‌شوند (28). حد مجاز اعداد پراکسید و اسیدی برای روغن‌های تصفیه شده به ترتیب 10 میلی‌اکی‌والان گرم بر کیلوگرم و 0/6 میلی‌گرم بر گرم و برای روغن‌های استخراج شده به روش پرس سرد یا روغن‌های بکر به ترتیب 15 میلی‌اکی‌والان گرم بر کیلوگرم و 0/4 میلی‌گرم بر گرم تعیین شده‌است (18).

www.SID.ir

Archive of SID

3-3-آزمون گرمخانه‌گذاری

تغییرات عدد پراکسید روغن تخلیص شده سویا تحت تاثیر افزودن 1، 2، 4 و 6 درصد عصارهٔ آبی پوست انار (استخراج شده در شرایط بهینه) و نیز 0/01 درصد آنتی‌اکسیدان سنتزی هیدروکسی‌بوتیل‌تولوئن طی 280 ساعت آزمون گرمخانه-گذاری در دمای 50 درجهٔ سلسیوس در شکل 1 آورده شده است.



شکل 1- منحنی‌های سینتیکی تولید هیدروپراکسید طی اکسایش روغن تخلیص شده سویا در حضور1، 2، 4 و 6 درصد عصارهٔ آبی پوست انار (استخراج شده در شرایط بهینه) و در حضور 0/01 درصد آنتی‌اکسیدان سنتزی هیدروکسی بوتیل تولوئن در 50 درجهٔ سلسیوس در تاریکی. تمام منحنی‌های سینتیکی حاصل میانگین سه آزمایش مستقل می‌باشند.

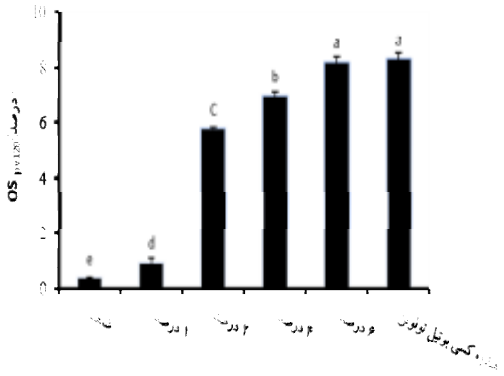
میزان اولیه عدد پراکسید روغن تخلیص شده سویا و روغن سویا حامل درصدهای مختلف عصاره آبی پوست انار از 2/2 تا 2/86 میلی‌اکی‌والان‌گرم بر کیلوگرم متغیر بود که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین آنها وجود نداشت (آزمون دانکن، P <0/05). همانطور که از شکل 1 مشاهده می‌شود، عدد پراکسید روغن تخلیص شده سویا (نمونه شاهد)، طی اکسایش روندی افزایشی داشت که پس از رسیدن به حداکثر مقدار خود (پس از 128 ساعت) کاهش یافت. روند مشابهی در مورد تیمارهای حاوی 1 و 2 درصد عصاره آبی پوست انار پس گذشت به ترتیب 160 و 172 ساعت مشاهده شد؛ اما روند تغییرات عدد پراکسید سایر تیمارها تا پایان 280 ساعت افزایشی بود و شکستی در منحنی پراکسید آنها مشاهده نشد. هیدروپراکسیدها محصولات اولیه اکسایش لیپیدها هستند و مقدار آنها طی اکسایش لیپیدی افزایش و سپس کاهش می‌یابد (20).تغییرات عدد پراکسید نمونه‌های روغن در حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طی زمان 120 ساعت مورد بررسی قرار گرفت و درصد معکوس تغییرات عدد پراکسید ($\frac{PV_{120}}{PV_{t_0}}$) به عنوان شاخص پایداری اکسایشی بر مبنای پراکسید (OS_{PV})[1] در نمونه‌های مختلف در نظر گرفته شد. شایان ذکر است تغییرات پراکسید نمونه‌ها صرفا در مرحلهٔ انتشار مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. پایداری اکسایشی بر مبنای پراکسید روغن تخلیص شدهٔ سویا تحت تاثیر افزودن 1، 2، 4 و 6 درصد عصارهٔ آبی پوست انار و نیز 0/01 درصد هیدروکسی‌بوتیل‌تولوئن طی آزمون گرمخانه‌گذاری (دمای 50 درجهٔ سلسیوس) در مدت 120 ساعت در شکل 2 نشان داده شده است. همانطور که از شکل 2 مشاهده می‌شود،

[1] Oxidative Stability

www.SID.ir

Archive of SID

پایداری اکسایشی روغن سویا خالص در حضور عصارهٔ آبی پوست انار افزایش یافت.



شکل 2- اثر افزودن 1، 2، 4 و 6 درصد عصارهٔ آبی پوست انار(استخراج شده در شرایط بهینه) و 0/01 درصد آنتی‌اکسیدان سنتزی هیدروکسی بوتیل تولوئن بر معکوس تغییرات عدد پراکسید (OS_{PV}) روغن تخلیص شده سویا پس از 120 ساعت نگهداری در 50 درجهٔ سلسیوس. ستون‌های دارای حروف مشترک از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون دانکن، $P < 0/05$). تیرک‌های ترسیم شده در انتهای هر ستون نشان دهندهٔ انحراف استاندارد داده‌های اندازه‌گیری شده است.

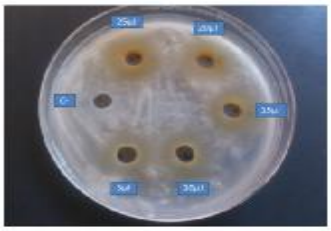
همانطور که از شکل‌های 1و 2 مشاهده می‌شود، تمامی غلظت‌های عصارهٔ آبی پوست انار حائز فعالیت آنتی‌اکسیدانی بودند و قدرت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ آبی پوست انار با غلظت 6 درصد (8/31 درصد)، تقریباً معادل قدرت آنتی‌اکسیدان سنتزی هیدروکسی بوتیل تولوئن (8/33 درصد) بود. این پدیده، احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات فنلی در عصارهٔ آبی پوست انار و خواص آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات می‌باشد.به طورکلی، ترکیبات فنلی به عنوان آنتی‌اکسیدان‌هایی هستند که به خاطر داشتن عوامل احیاء کننده، قدرت هیدروژن دهندگی، فرونشاندن اکسیژن یگانه و گیرندگی فلزات سنگین، سبب شکستن واکنش‌های زنجیره‌ایی اکسایش شده، به این ترتیب اسیدهای چرب چند غیر اشباع و روغن‌های حاوی این اسیدهای چرب را در برابر اکسایش حفظ می‌نمایند. از طرفی، اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی در روغن‌ها به غلظت این ترکیبات، دما، محتوای اسیدچرب و فیزیکی روغن بستگی دارد (13). ابراهیم (2010) و اقبال و همکاران (2008)، نیز نشان دادند عصارهٔ متانولی پوست انار می‌تواند باعث پایدارسازی روغن آفتابگردان شود (22 و 23). کانات و همکاران (2010)، نیز گزارش نمودند که عصارهٔ متانولی پوست انار باعث پایدارسازی روغن ماهی می‌شود (24). نگی و جایاپراشکا (2003)، نیز گزارش نمودند که عصارهٔ متانولی پوست انار دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل مقایسه با آنتی-اکسیدان سنتزی هیدروکسی بوتیل آنیزول است (33). یعثوبی و همکاران (2010)، نیز گزارش نمودند که عصارهٔ استخراج شده با حلال استون، خواص آنتی‌اکسیدانی به مراتب بالاتری نسبت به آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی هیدروکسی‌بوتیل‌تولوئن و هیدروکسی‌آنیزول‌تولوئن دارند (46). بنابر نتایج حاصل از پژوهش حاضر، عصاره آبی پوست انار استخراج شده در شرایط بهینه فراصوت‌دهی (شدت 60 درصد و زمان 5 دقیقه با قدرت 400 وات)، نیز دارای ترکیبات موثر آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و قادر است در پایدارسازی روغن سویا مورد استفاده قرار گیرد.

3-3- بررسی تاثیر عصارهٔ آبی پوست انار بر بازدارندگی از میکروارگانیسم‌ها

تاثیر حجم‌های مختلف (5 تا 25 میکرولیتر) از عصارهٔ آبی پوست انار (غلظت 0/3 درصد) در مقایسه با نگهدارندهٔ سنتزی سوربات پتاسیم، بر بازدارندگی از رشد کپک آسپرژیلوس نایجر بعد از 72ساعت نگهداری در 25 درجه سلسیوس و استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکولی بعد از 24 ساعت نگهداری در 37 درجهٔ سلسیوس در شکل 3 و نتایج مربوط به قطر هالهٔ عدم رشد میکروارگانیسم در جدول 3 نشان داده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID



الف

ب

شکل 3- اثر حجم‌های مختلف عصارهٔ آبی پوست انار (غلظت 0/3 درصد) بر الف) رشد و مهار کپک آسپرژیلوس نایجر بعد از 72 ساعت نگهداری در 25 درجهٔ سلسیوس و ب) رشد و مهار اشرشیا کولی و استافیلوکوکوس اورئوس بعد از 24 ساعت نگهداری در 37 درجهٔ سلسیوس.

جدول3- اثرعصارهٔ آبی پوست انار در مقایسه با نگهدارنده سنتزی سوربات پتاسیم بر میانگین قطر هالهٔ عدم رشد کپک آسپرژیلوس نایجر، اشرشیا کولی واستافیلوکوکوس اورئوس

نمونه	منطقه بازداری (میلی‌متر)		
	آسپرژیلوس نایجر	اشرشیا کولی	استافیلوکوکوس اورئوس
عصارهٔ آبی پوست انار (0/1 درصد)	13/24 ± 0/15[b]	14/87 ± 0/51[b]	11/7 3± 0/65[c]
عصارهٔ آبی پوست انار (0/3 درصد)	17/7 ± 0/28[a]	19/01 ± 0/89[a]	13/81 ± 0/38[b]
سوربات پتاسیم (0/1 درصد)	18/ 3± 0/30[a]	13/7 ± 1/08[b]	12/20 ± 0/78[a]
اتانول 70 درصد (شاهد)	-	-	-

ارقام دارای حروف مشترک از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($P < 0/05$). خط تیره به معنای عدم تشکیل هالهٔ مهار رشد می‌باشد.

همانطور که از جدول 3 مشاهده می‌شود، تمامی غلظت‌های عصاره آبی پوست انار دارای فعالیت ضدمیکروبی بودند، اما تاثیر عصاره بر میکروارگانیسم‌های مختلف یکسان نبود. به طوری که تاثیر آن بر کپک و باکتری گرم منفی اشرشیاکولی به مراتب بالاتر از تاثیر آن بر بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بود. با افزایش غلظت عصاره از 0/1 به 0/3 درصد، میانگین قطر هالهٔ عدم رشد میکروارگانیسم‌ها افزایش یافت. هم‌چنین، اثر ضد میکروبی عصارهٔ آبی حاصله در غلظت 0/3درصد بر کپک آسپرژیلوس نایجر (با قطر هالهٔ عدم رشد 17/7 میلی‌متر) تقریبا معادل با نگهدارنده سنتزی سوربات پتاسیم (با قطر هالهٔ عدم رشد 18/3 میلی‌متر) بود واثر ضدباکتریایی آن (هم برای باکتری گرم مثبت و هم گرم منفی) به مراتب بالاتر از سوربات پتاسیم بود. سوربات‌پتاسیم، بر طیف وسیعی از کپک‌ها و مخمرها موثر است. علت این پدیده، به دلیل مهار آنزیم‌های دهیدروژناز در اکسیداسیون اسیدچرب، مهار آنزیم‌های حاوی سولفیدریل و در نتیجهٔ جفت نشدن فسفوریلاسیون اکسایشی، مهار کاتالاز و افزایش هیدروژن پراکسید در سلول می‌باشد. اما بر باکتری‌ها اثر ضدمیکروبی کمتری دارد (17).اثر ضدمیکروبی عصاره آبی پوست انار، نیز احتمالاً به دلیل ترکیبات فنلی موجود در آن است. ترکیبات فنلی نقش مهمی در جلوگیری از رشد باکتری ها و قارچ‌ها دارند و میزان تاثیر این ترکیبات بسته به نوع ترکیبات فنلی، غلظت ترکیبات فنلی، روش عصاره‌گیری و حلال مورد استفاده برای عصاره‌گیری و .... متفاوت است (19). سلاح‌ورزی و همکاران (1390)، و ابراهیم (2010)، نیز گزارش نمودند، عصارهٔ متانولی پوست انار دارای خاصیت مهارکنندگی رشد کپک آسپرژیلوس نایجر است (4 و 22). هم چنین، الایژیتانن‌های موجود در پوست انار و برخی از

www.SID.ir

Archive of SID

ترکیبات پلی فنلی دیگر، فعالیت ضدباکتریایی بر تعداد زیادی از پاتوژن‌های موجود در غذا و میکروارگانیسم‌های واگیردار مانند استافیلوکوکوس اورئوس، نیز نشان داده‌اند (12،43 و 44).

3-4- ارزیابی اثر ضد کپکی عصاره در کیک روغنی

نتایج ارزیابی میکروبی کیک روغنی (تعداد کل کپک و مخمر) تحت تاثیر افزودن عصارهٔ آبی خشک شدهٔ انجمادی (0/1 و 0/3درصد) در مقایسه با افزودن نگهدارنده سنتزی سوربات پتاسیم (0/1 درصد) و نمونه شاهد (فاقد هر نوع مادهٔ افزودنی) طی 9 روز نگهداری در شرایط محیط (دمای 25 درجهٔ سلسیوس) در جدول 4 نشان داده شده است.

جدول 4- میزان رشد کپک مخمر($Log_{10}^{(cfu/g)}$)در کیک روغنی طی 9 روز نگهداری در شرایط محیطی تحت تاثیر افزودن سوربات پتاسیم (0/1 درصد)، عصارهٔ آبی خشک شده انجمادی (0/1 و 0/3 درصد)

نمونه کیک	مدت زمان نگهداری (روز)		
	درروز اول تولید	3	9
شاهد	-	1/18±0/48[a]	1/63±0/50 [a]
سوربات پتاسیم 0/1 درصد	-	-	0/12±0/00[d]
عصارهٔ آبی خشک شده انجمادی- 0/1 درصد	-	1/01±0/31[b]	1/48± 0/10[b]
عصارهٔ آبی خشک شده انجمادی- 0/3 درصد	-	0/87±0/18[c]	1/24± 0/32 [c]

اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون دانکن، $p<0/05$).

همانطور که از جدول 4 نیزمشاهده می‌شود، با افزایش زمان نگهداری، میزان رشد کپک و مخمر افزایش یافت؛ اما، هر دو نوع افزودنی طبیعی و سنتزی سبب کاهش میزان رشد کپک و مخمر در نمونه‌های تولیدی نسبت به نمونهٔ شاهد شدند. کمترین میزان رشد کپک و مخمر بعد از 9 روز نگهداری در شرایط محیطی در نمونهٔ حاوی 1 درصد عصارهٔ آبی و نمونهٔ حاوی 0/1 درصد سوربات پتاسیم مشاهده شد. البته لازم به ذکر است مطابق با استاندارد ملی ایران در خصوص فرآورده-های قنادی به شمارهٔ 2395، تمام نمونه‌های کیک حاوی افزودنی‌های طبیعی و سنتزی تا پایان 9 روز نگهداری در شرایط محیط، در محدودهٔ قابل قبول به لحاظ بار میکروبی قرار داشتند (7). اثر بازدارندگی از رشد کپک و مخمر توسط سوربات پتاسیم، همانطور که قبلاً نیز ذکر گردید، احتمالاً به دلیل مهار آنزم‌های دهیدروژناز، سولفیدریل اکسیداز و کاتالاز در سلول میکروبی می‌باشد (17). حیدری‌نیا و همکاران (1385)، نیز تحقیقاتی در رابطه با اثر نگهدارندگی بنزوات سدیم و سوربات پتاسیم در موادغذایی برآسپرژیلوس نایجر انجام داده وگزارش نمودند که سوربات پتاسیم باعث مهار رشد آسپرژیلوس می‌گردد (3). مارین[1] و همکاران (2002)، تاثیرات نگهدارنده‌های بر پایه اسیدضعیف (سوربات پتاسیم، بنزوات سدیم، پروپیونات کلسیم) را در انواع فرآورده‌های قنادی بر محافظت از فساد آسپرژیلوس نایجر وآسپرژیلوس فلاووس بررسی و گزارش نمودند که سوربات پتاسیم با غلظت 0/3درصد به طور چشم‌گیری مانع از رشد وفساد قارچی در این نوع محصولات می‌شود (30). افشاریان طرقبه و همکاران (1395) نیز گزارش نمودند که سوربات پتاسیم در غلظت 0/1 درصد باعث مهار رشد کپک و مخمر در کیک روغنی می‌شود (1). محافظت از رشد کپک و مخمر توسط عصارهٔ پوست انار، احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات فنلی می‌باشد. مشخص شده است ترکیبات فنلی با دارابودن خواص ضد میکروبی به لیپیدهای غشاء سلولی و میتوکندری وارد می

[1] Marín

www.SID.ir

Archive of SID

شوند و ضمن تغییر شکل سلولی و ایجاد نفوذ پذیری بیشتر آنها، باعث خروج یون و دیگر محتویات سلولی می‌گردند. اگرچه خروج مقادیر مشخصی از مواد داخل باکتری، می‌تواند برای سلول قابل تحمل باشد، ولی خروج مقادیر زیاد محتویات سلولی با خروج مولکول‌ها و یون‌های حیاتی سبب مرگ سلول می‌شود (34).

4-نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد تمامی غلظت‌های عصارهٔ آبی پوست انار، حائز فعالیت آنتی‌اکسیدانی بودند و قدرت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ آبی پوست انار با غلظت 6 درصد تقریباً معادل قدرت آنتی-اکسیدان سنتزی هیدروکسی‌بوتیل‌تولوئن بود. هم‌چنین، نتایج نشان داد عصارهٔ آبی حاصله دارای خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی بوده و رشد کپک و مخمر رادر محصول غذایی کیک روغنی کنترل نمود. به طوریکه میزان رشد کپک و مخمر در نمونهٔ کیک حاوی 1درصد عصارهٔ آبی بعد از 9 روز نگهداری در شرایط محیطی بسیار کم و معادل اثرنگهدارندهٔ شیمیایی سوربات پتاسیم بود. بنابراین، پوست انار با توجه به دارا بودن مقادیر مناسبی ترکیبات فنلی، می‌تواند به عنوان منبعی برای تولید ترکیبات ضداکسایشی و ضدمیکروبی طبیعی و ارزان قیمت مورد استفاده قرار گیرد تا علاوه بر کاهش ضایعات محصولات کشاورزی باعث ایجاد ارزش افزوده و کاهش آلودگی‌های زیست محیطی نیز گردد.

5-منابع

1. افشاریان طرقبه، س.، شیخ الاسلامی، ز.، عطایی صالحی،ا. 1395. تاثیر اسانس پوست پرتقال به عنوان نگهدارندهٔ طبیعی بر خصوصیات رئولوژیک، حسی و میکروبی کیک روغنی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی شماره 50 ، دوره 13 . 133-143.
2. آمارنامه کشاورزی . 1394. انتشارات وزارت کشاورزی، معاونت برنامه‌ریزی و پشتیبانی، اداره کل آمار و اطلاعات.
3. حیدری نیا، آ.، کلانتر، ح.، افروی، آ.، سدادی، آ.، 1385. اثرات حفاظت غلظت‌های مختلف سدیم بنزوات، پتاسیم سوربات بر رشد آسپرژیلوس نایجر، نهمین کنگره ملی تغذیه، دانشکده داروسازی دانشگاه تبریز.
4. سلاح ورزی، و.، تهرانی فر، ع.، جهانبخش مشهدی، و. 1389. مکانیسم کنترل قارچ‌های پس از برداشت توسط عصاره قسمت‌های مختلف انار.اولین همایش ملی کشاورزی پایدار و تولید محصول .
5. شرایعی، پ. 1396. بررسی اثرامواج فراصوت و ریزپوشانی بر خواص ضداکسایشی و ضدقارچی عصاره پوست انار در سیستم مدل و غذایی. گزارش پروژه پژوهشی. 96/457.
6. فرهوش، ر. 1382. استخراج، تخلیص و شناسایی فراکسیون عمدهٔ آنتی‌اکسیدانی برگ گیاه نوروزک و بررسی خصوصیات آن. پایان نامهٔ دکتری. دانشگاه فردوسی مشهد.
7. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. 1373.ویژگی‌های میکروبیولوژیک درفرآورده‌های شیرینی و قنادی. استاندارد ملی ایران، شماره 2395.
8. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. 1385. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – آماده-سازی آزمایه- سوسپانسیون اولیه ورقت‌های اعشاری برای آزمون‌های میکروبیولوژی- قسمت چهارم: مقررات ویژه برای آماده‌سازی محصولاتی به غیر از شیر،گوشت، ماهی و فراورده‌های آن‌ها. استاندارد ملی ایران شماره 4- 8923.

www.SID.ir

Archive of SID

9. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. 1387. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- روش جامع برای شمارش کپک‌ها و مخمرها، قسمت دوم: روش شمارش کلنی در فرآورده‌های با فعالیت آبی (a_w) مساوی یا کم‌تر از 0/95. استاندارد ملی ایران، شماره 2 -10899.

10. نظیری، ز.، رجاییان، ح.، فیروزی، ر. 1391. اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های پوست انار ترش و شیرین (پونیکا گراناتوم) بومی ایران بر علیه باکتری‌های بیماری‌زا. تحقیقات دامپزشکی ایران (دانشگاه شیراز). جلد 41، شماره 13، 282-288.

11. نقی‌پور، ف.، حبیبی نجفی، م. ح.، کریمی، م.، حداد خداپرست، م. ح. شیخ الاسلامی، ز. 1391. بررسی امکان تولیدکیک بدون گلوتن با استفاده سورگوم، شیر سویا و صمغ زانتان. رساله دکتری، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی.

12. Aguilera-Carbo, A., Augur, C., Prado-Barragan, L. A., Favela- Torres, E., and Aguilar, C. N. 2008. Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. Applied Microbiology and Biotechnology, 78: 189–199.

13. Arab – Tehrani, E., Jacquot, M., Gaiani, C., Imran, M., Desorby, S., and Linder, M. 2012. Beneficial effects and oxidative stability of omega-3 long – chain polyunsaturated fatty acids. Trends in Food Science and Technology, 25: 24-33.

14. Arapitsas, P. 2012. Hydrolyzable tannin analysis in food. Food Chemistry, 135, 1708–1717.

15. Belhaj, N., Arab- Tehrani, E., and Linder, M. 2010. Oxidative kinetics of salmon oil in bulk and in nanoemolsion stabilized by marine lecitin. Process Biochemistry, 45: 187- 195.

16. Benzie, I. F. F.and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239:70-76.

17. Buazzi, M.M., and Marth, E. H.1991. Mechanism in the inhibition of Listeria monocytogenes by potassium sorbate. Food Microbiol, 8: 249-56.

18. CX-STAN 210. 1999. Codex standard for named vegetable oils. Codex Alimentarius, 8:11-25. Frankel, E.N. 1998. Lipid Oxidation. The Oily Press LTD.

19. Das, K., Tiwari, R. K. S., and Shrivastava, D. K. 2010. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. Journal of Medicinal Plants Research, 4(2): 104-111.

20. Ersus, S. and Yurdagel, U. 2007. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (Daucuscarota L.) by spray drier. Journal of Food Engineering, 80:805-812

21. Farhoosh, R., Tavakkoli, J., and Hadad Khodaparast, M.H. 2008. Chemical composition and oxidative stability of kernel oils from two current subspecies of Pistacia atlantica in Iran. Journal of the American Oil Chemists' Society, 85: 723–729.

22. Ibrahium .M.I. 2010. Efficiency of Pomegranate Peel Extract as Antimicrobial, Antioxidant and Protective Agents. World Journal of Agricultural Sciences, 6 (4): 338-344.

23. Iqbal, S., Haleem, S., Akhtar, M., Zia-ul-Haq, M., and Akbar, J. 2008. Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. Food Research International, 41: 194–200.

24. Kanatt, S. R., Chander, R., and Sharma, A. 2010. Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. International Journal of Food Science and Technology, 45: 216–222

25. Kumari, A., Dora, J., Kumar, A., and Kumar, A. 2012. Pomegranate (Punica granatum) –overview. International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences, 1:1218–1222.

www.SID.ir

Archive of SID

26. Li, Y. f., Guo, C. j., Yang, J. J., Wei, J. Y., Xu, J., and Cheng, S. 2004. Study on extraction of antioxidants in pomegranate peel and its antioxidant activities in vitro. Acta Nutrimenta Sinica, 2: 018.
27. Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., and Cheng, S. 2006. Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. Food chemistry, 96(2): 254-260.
28. Lovaas, E.A. 1992. Sensitive spectrophotometric method for lipid hydroperoxide determination. Journal of the American Oil Chemists' Society, 69: 777-783.
29. Mangena, T., and Muyima, N.Y. 1999. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of Artemisia afra, Pteronia incana and Rosmarinus officinalis on selected bacteria and yeast strains. Lett Appl Microbiol. 28(4), 291-296.
30. Marín, S., Guynot, M.E., Neira, P., Bernadí, M., Sanchis, V. and Ramos, A. J. 2002. Risk assessment of the use of sub-optimal levels of weak acid preservatives in the control of mould growth on bakery products. Int. J. Food Microbiol, 79: 203–211.
31. Mendez, E., Sanhueza, J., Speisky, H., and Valenzuela, A. 1996. Validation of the Rancimat test for the assessment of the relative stability of fish oils. Journal of American Oil Chemists' Society, 73: 1033-1037.
32. Namiki, M. 1990. Antioxidant/ antimutgens in food. Critical reviews in food science and nutrition, 29: 273- 300.
33. Negi, P. and Jayaprakasha, G. 2003. Antioxidant and antibacterial activities of Punica granatum peel extracts. Journal of food science, 68(4): 1473-1477.
34. Pauli, A. 2006. α- Bisabolol from chamomile-A specific ergostrol biosynthesis inhibitor. Journal of Aromatherapy, 16:5-21.
35. Rangan, C., and Barceloux, D.G. 2009. Food Additives and Sensitivities. Disease-a-Month 55(5): 292-311.
36. Sagdic, O., Ozturk, I., and Kisi. O. 2012. Modeling antimicrobial effect of different grape pomace and extracts on S. aureus and E. coli in vegetable soup using artificial neural network and fuzzy logic system. Expert Systems with Applications, 39: 6792- 6798.
37. Sahari, M. A. and Asgari, S. 2013. Effects of Plants Bioactive Compounds on Foods Microbial Spoilage and Lipid Oxidation. Food Science and Technology, 1(3): 52-61.
38. Samarin, A.M., Poorazarang, H. Hematyar, N., and Elhamirad, A. 2012. Phenolics in potato peels: Extraction and utilization as natural antioxidants. World Applied Sciences Journal, 18(2): 191–195.
39. Seeram, N. P., and Heber, D. 2011. Purification of pomegranate ellagitannins and their uses thereof. US patents, no. US 7919636 B2.
40. Shantha, N.C., and Decker E.A.1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. Journal of the American Oil Chemis' Society, 77: 21–424.Sindambiwe, J.B., Calomme, M., Cos, P., Totte, J., Pieters, L., Vlietinck, A. 1999. Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activites. Journal Ethnopharmacol. 65(1), 71-77.
41. Teixeira, M. I., Andrade, L. R., Farina, M., and Rocha-Leao, M. H. M. 2004. Characterization of short chain fatty acid microcapsules produced by spray drying. Materials Science and Engineering, 24:653-658.
42. Torronen, R. 2009. Source and health effect of dietary ellagitannins. In S. Quideau (Ed.), Chemistry and biology of ellagitannins – an underestimated class of bioactive plant polyphenols. Singapore: Imperial College Press/World Scientific Publishing.

www.SID.ir

Archive of SID

43. Vennat, B., Bos, M. A., Pourrat, A., and Bastide, P. 1994. Procyanidins from tormentil: Fractionation and study of the anti-radical activity towards superoxide anion. Biological & Pharmaceutical Bulletin, 17: 1613–1615.
44. Warner, C., Daniels, D., Lin, F., Joe, F., and Fazio, T. 1986. Fate of antioxidants and antioxidant-derived products in deep-fat frying and cookie baking, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 34: 1-5.
45. Yasoubi, P., Barzegar, M., Sahari, M., and Azizi, M. 2010. Total phenolic contents and antioxidant activity of pomegranate (Punica granatum L.) peel extracts. Journal of Agricultural Science and Technology, 9: 35-42.

www.SID.ir