

تاثیر عوامل فیزیکی و شیمیایی بر کاهش وزن و خاصیت آنتی اکسیدانی میوه انار (*Punica granatum L.*)، رقم ملس ساوه در زمان انبارداری

صدیقه مهرابیان، احمد مجید*، سمیه ستوده

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم، تهران، ایران

رضوان مهرابیان

کارشناس فضای سبز کرج، کرج، ایران

چکیده

ایران بزرگترین تولید کننده و صادر کننده میوه ارزشمند انار در جهان است. میوه انار به دلیل سرشار بودن از قندها، ویتامین ها و به ویژه ترکیبات آنتی اکسیدان در سال های اخیر مصرف روز افزون یافته و تانن های موجود در آن نیز به عنوان نگهدارنده طبیعی مورد توجه می باشند. یکی از مشکلات میوه انار در ایران نگهداری و عرضه نامناسب آن است. عوامل موثر در پایداری ترکیبات ارزشمند میوه انار علاوه بر رقم آن، شرایط فیزیکی و شیمیایی در زمان انبارداری است. تحقیقات سال های اخیر تاثیر کلسیم کلرید را بر حفظ خصوصیات کمی و کیفی ارقام برخی از میوه ها از جمله سیب در سردخانه نشان داده است.

در پژوهش حاضر با هدف بررسی تاثیر عوامل فیزیکی و شیمیایی در زمان انبارداری بر تغییرات ریختی، کاهش وزن و به ویژه تغییرات خواص آنتی اکسیدانی میوه انار، رقم ملس ساوه که بیشترین میزان کشت را در منطقه دارد و به عنوان رقم مناسب برای انبارداری شناخته شده، در نظر گرفته شده است. دماهای ۴، ۱۸ و ۲۲ درجه سانتی گراد به عنوان عوامل فیزیکی و تیمارهایی به کمک غلظت های ۰.۴٪ و ۰.۶٪ کلسیم کلرید به عنوان عوامل شیمیایی در نظر گرفته شده اند. میوه های مورد نظر با کمک کارشناسان مرکز تحقیقات انار ساوه انتخاب و همگن سازی شده به گروه های تصادفی شامل نمونه های شاهد بدون تیمار شیمیایی و دمایی، نمونه های تحت تیمارهای دمایی (۴، ۱۸ و ۲۲ درجه سانتیگراد) و نمونه های تحت تیمار دمایی و شیمیایی (شستشوی حدود ۵ دقیقه با کلسیم کلرید ۰.۴٪ و

*عده دار مکاتبات

۶٪) تقسیم شدند. پس از شستشو با محلول های کلسیم کلرید کاسه پایدار عده ای از میوه ها نیز با پنبه سترون آغشته به محلولی از همان نوع محلول شستشو پوشانده شد. مدت آزمایش در هر تیمار ۲ و ۳ ماه بود. تایید خاصیت ضد سرطانی آب انارها با استفاده از همگن شده (هموژنای) میکروزومی کبد رت یا «S9» و سالمونلا تیفی موریوم TA 100 انجام شد. ویژگی های ریختی، تغییرات وزن میوه ها هر هفته بررسی و مقایسه شد. آب میوه ها نیز پس از فشردن آنها به کمک سرنگ سترون کشیده شد و خواص آنتی اکسیدانی آن با استفاده از سالمونلاتیفی موریوم TA 100 و میکروزوم مطابق روش Ames بررسی شد. نتایج آزمایش ها نشان داد که نگهداری میوه ها در ۴ درجه سانتی گراد همراه با شستشوی اولیه آنها با محلول ۴ درصد کلسیم کلرید از نظر حفظ ویژگی های ریختی و پایداری وزن میوه ها از سایر تیمارها بهتر است. به طور کلی میوه هایی که با محلول های ۰.۴٪ و ۰.۶٪ کلسیم کلرید شستشو شده بودند نسبت به نمونه های بدون تیمار شیمیایی ماندگاری بهتری نشان دادند. در مدت زمان نگهداری انارها در تیماردهی دمایی و شیمیایی خواص آنتی اکسیدانی و درصد جلوگیری از جهش آنها نسبت به نمونه های تازه بدون تیمار کاهش پیدا کرد، اما در دمای ۴ درجه و کلسیم کلرید ۰.۴٪، درصد جلوگیری از جهش زایی نسبت به سایر تیمارها بالاترین حد بود. با اضافه کردن S9 نیز این درصد جلوگیری از جهش زایی در مواردی افزایش داشت، که می توان آب میوه انار را با خواص ضدسرطانی معرفی نمود.

واژه های کلیدی: انار، تیمار دمایی، تیمار شیمیایی، خواص آنتی اکسیدانی، سالمونلاتیفی موریوم، میکروزوم.

مقدمه

انواع مواد جهش زا و سرطان زا ممکن است از راه تولید رادیکال های آزاد مثل اکسیژن واکنشگر (ROS) اعمال اثر نمایند. ^(۱) رادیکال های آزاد با آلاینده های محیطی، پرتوهای فرا بنفش و بسیاری از فرایندهای متابولیکی عادی نیز تولید می شوند. نقش رادیکال های آزاد در ایجاد یا تشدید بسیاری از بیماری ها روز به روز روشن تر می گردد. رادیکال های آزاد نقش موثری را به عنوان القا کنندگان فرایندهای تجزیه ای از قبیل آسیب به غشاءهای زیستی، ماکرومولکول ها از جمله DNA (ایجاد جهش)، RNA ها و پروتین ها ایفا می کنند. ^(۲)

درکنار دفاع درون زاء، مصرف برخی از مواد غذایی، نقش مهمی را در مقابله با مواد جهش زا یا سرطان زا دارد که از جمله مهم ترین آنها آنتی اکسیدانها می باشند. آنتی اکسیدان ماده ای است که هر گاه در غلظت کم در مقایسه با سوبسترایی که قابلیت اکسید شدن دارد، حضور داشته باشد، از اکسید شدن سوبسترا جلوگیری می کند یا اکسید شدن آن را به تاخیر می اندازد. ^(۳) آنتی اکسیدان های خوراکی از قبیل توکوفرول، اسکوربیک اسید، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنلی نقشی حیاتی در برابر رادیکال های آزاد دارند و نقش خود را از راه زدودن رادیکال های آزاد ایفا می کنند. ^(۴)

انار از میوه هایی است که مواد آنتی اکسیدانی زیادی دارد. ^(۵) میوه آن یکی از قدیمی ترین میوه های خوراکی است. این گیاه به طور وسیعی در کشورهای مدیترانه ای، ایران، هند و به مقدار محدودی در ایالات متحده، چین ژاپن و روسیه کشت می گردد. ^(۶)

اکثر محققین انار را بومی ایران می دانند. این گیاه در سطح وسیعی در مناطق حاشیه کویر رویش می کند و در تمام استان های ایران به جز همدان، ارقام متفاوتی از آن به صورت وحشی و اهلی وجود دارد. ایران با سطح زیر کشت نزدیک به ۶۰۰۰۰ هکتار و حدود ۶۷۰۰۰۰ تن تولید سالیانه، بزرگ ترین تولید کننده و صادر کننده انار در دنیا است.^(۷)

شرایط بسته بندی و نگهداری انار در ایران بسیار نامناسب است. روش سنتی نگهداری باعث می شود تا این محصول خیلی زود به پژمردگی، خشکی پوست، کم آبی و پوسیدگی دچار شود. تحقیقات زیادی در بین سال های ۲۰۰۰-۱۹۷۶ در ایران به منظور بررسی ویژگی های ارقام انار مناطق ورامین، ساوه و یزد انجام شده است. همچنین نگهداری ارقام مختلف در شرایط سرد خانه ای در برودت یک تا صفر درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۸۵٪ و مقایسه این نمونه ها با شاهد که در خارج از سردخانه نگهداری شده بودند نشان داد که رقم ملس ساوه رقمی خوب و قابل توصیه است.^(۸)

در تحقیقی که بر روی ۴ رقم از انارهای منطقه ساوه در دوره انبارداری از لحاظ صفات کیفی، وضعیت ظاهری و بازارپسندی میوه ها و دانه ها، شدت آلودگی و میزان پوسیدگی، تغییر طعم و همچنین میزان کاهش وزن میوه و تغییر رنگ عصاره میوه ها انجام شد، رقم ملس ساوه از بقیه ارقام وضع مطلوب تری داشت.^(۹) در تحقیقی که بر روی ۲ رقم انار ملس ساوه و اقا محمد علی انجام شد هر دو رقم انار دارای خواص آنتی اکسیدانی قابل توجهی بودند.^(۱۰) با توجه به مصرف روز افزون میوه و آب انار و افزایش میزان صادرات آن، بی تردید حفاظت از ویژگی های ظاهری، ممانعت از کاهش وزن و به ویژه دستیابی به روش هایی برای پایداری هر چه بیشتر و بهتر خواص انار از جمله خواص آنتی اکسیدانی آن اهمیت دارد. پژوهش حاضر در راستای همین اهداف به منظور بررسی نقش تیمارهای فیزیکی: دمای ۴، ۱۸ و ۲۲ درجه سانتی گراد (دمای یخچال و محیط خارج از یخچال) و نقش توام برخی تیمارهای شیمیایی (غلظت های ۰.۴٪ و ۰.۶٪ کلسیم کلرید) و دمایی بر ویژگی های میوه انار و خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی آب انار انجام شده است. از آن جا که کلسیم کلرید از کاتابولیسیم لپیدهای غشایی سلول ها و تخریب آن ها ممانعت می کند و فاسد شدن میوه های انباری را توسط عوامل بیماری زا مثل گونه هایی از پنی سیلیوم و بوتریتیس به تاخیر می اندازد،^(۱۱) استفاده از آن به عنوان تیمار شیمیایی منظور شده است. با توجه به این که عوامل بیماری زا و به ویژه قارچ ها از محل های کم مقاومت تر میوه مانند کاسه پایدار بهتر به میوه نفوذ می کنند، بستن این راه نفوذ با پنبه آغشته به غلظت های ۰.۴٪ و ۰.۶٪ کلسیم کلرید نیز به عنوان تیماری دیگر در نظر گرفته شد.

مجموع نتایج شاید بتوانند آگاهی ها و راه حل های مناسبی را برای نگهداری بهتر میوه انار همراه با پایداری خواص آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی آن به دست دهند.

مواد و روش ها

در آزمایش های پژوهش حاضر از مواد زیر استفاده شد:

انار رقم ملس ساوه به عنوان پر مصرف ترین انار داخل کشور، این رقم از مرکز تحقیقات کشاورزی ساوه خریداری شد.

- باکتری جهش یافته سالمونلاتیفی موریوم TA ۱۰۰ دریافت شده از پروفیسور Ames
- محیط کشت آگار حداقل، تاپ آگار، نوترینت آگار، مولر هینتون آگار و نوترینت برات
- سدیم آزید، کریستال ویوله، آنتی بیوتیک آمپی سیلین - کلسیم کلراید
- عصاره میکروزومی (S9) از هوموژنای کبد رت (Rat) نر (وزن متوسط کبد هر حیوان ۹ گرم)

روش کار

انارهای مورد آزمایش به گروه های کاملا تصادفی شامل گروه شاهد بدون تیمار دمایی و شیمیایی، گروه های تحت تیمارهای دمایی (۱۸۴ و ۲۲) درجه سانتی گراد، گروه های تحت تیمار هم زمان شیمیایی (شستشو شده به مدت ۵ دقیقه با غلظت های ۰.۴٪ و ۰.۶٪ کلسیم کلراید) و دمایی و گروه تیمار شده با همان غلظتهای کلسیم کلراید که محل کاسه پایدار (گردن) آنها با پنبه سترون آغشته به محلول های ۰.۴٪ و ۰.۶٪ کلسیم کلراید پوشیده شده بود، تقسیم شدند. برای هر گروه حداقل ۶ انار دو نظر گرفته شد و هر آزمایش دوبار به طور هم زمان تکرار گردید. مدت زمان آزمایش ها تا ۳ ماه ادامه داشت. ویژگی های ریختی انارها در مدت آزمایش مورد توجه قرار گرفت، تغییرات وزن آن ها نیز اندازه گیری شد. بررسی خواص آنتی اکسیدانی (ضدجهشی و ضد سرطانی) آب انارها که پس از فشردن به کمک سرنگ استریل در اول هر هفته کشیده می شد، با استفاده از روش Ames, et al., 1999 مورد بررسی قرار گرفت.^(۱۲) این روش در مراحل زیر انجام شد:

الف: آزمونهای تایید ژنوتیپ سویه سالمونلاتیفی موریوم TA100.

برای تایید سویه در تمامی آزمون های زیر از کشت برات تازه شبانه استفاده شد.

- جهش *ifa*: سویه مورد نظر برای حساسیت به کریستال ویوله آزمایش شد. برای این منظور یک دیسک کاغذی استریل شده آغشته به کریستال ویوله را در سطح پلیت کشت شده با سالمونلاتیفی موریوم TA100 قرار داده بعد از ۲۴ ساعت قطرهاله مهار رشد سنجیده شد.

- جهش *UvrB*: جهش *UvrB* با نشان دادن حساسیت به UV در سویه TA100 عامل این جهش تایید شد.

- فاکتور R: سویه TA100 برای بررسی وجود فاکتور مقاومت به آمپی سیلین مورد آزمایش قرار گرفت. این

آزمایش تنها نشانه مناسب برای کسب اطلاع از وجود پلاسمید PKM101 است که برای افزایش جهش زایی UV و مواد شیمیایی، همانند سازی و مقاومت به آمپی سیلین ضروری است.^(۱۳)

ب: آزمون و سنجش اثر آنتی اکسیدانی آب میوه اناربه وسیله سالمونلاتیفی موریوم TA100.

این آزمون شامل آمیختن ۱ میلی لیتر آب انار و ۵/۰ میلی لیتر کشت تازه شبانه سالمونلاتیفی موریوم TA100 است؛ این مقدار معادل 10^7 عدد باکتری می باشد. ۱ میلی لیتر محلول هیستیدین و بیوتین (۰/۵ mM) و ۰/۱ میلی لیتر ماده جهش زای آزید سدیم نیز به لوله آزمایش که محتوی تاپ آگار بود افزوده شد. لوله را مدت ۳ دقیقه در شیکر قرار داده و بعد بطور یکنواخت در سطح محیط آگار گسترده نموده و بعد از سفت شدن آگار به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار دادیم. کنترل منفی شامل لوله آزمایش حاوی باکتری و آب مقطر سترون بود که

برای مشخص کردن تعداد باکتری‌هایی که جهش برگشتی خودبخودی دارند، مورد استفاده قرار گرفت. کنترل مثبت به صورت لوله های حاوی باکتری و ماده جهش زای آزید سدیم بود. برای هر آزمایش دو پلیت در نظر گرفته شد. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، کلنی های برگشت یافته در پلیت های حاوی آب انار به عنوان ماده آنتی اکسیدان و پلیت های کنترل شمارش شدند.

ج: آزمون ضد جهشی و ضد سرطانی با استفاده از میکروزوم کبد موش (S9):

برای تهیه S9 از رت نر استفاده شد. با شستشوی کبد موش در محلول استریل و سرد پتاسیم کلرید ۰/۱۵ مولار و سانتریفوژ کردن، محلول S9 تهیه می گردد. ^(۱۲) این آزمون نیز به صورت آمیختن ماده آنتی اکسیدان (آب انار)، سویه باکتری آزمایشی، محلول هیستیدین و بیوتین، ماده جهش زا (آزید سدیم) و محلول S9 در لوله آزمایش محتوی تاپ آگار بود، که پس از مخلوط کردن مناسب آنها به کمک شیکر، محلول نهایی، در سطح محیط آگار حداقل در پلیت های سترون گسترده شد.

در این آزمون نیز کنترل مثبت و منفی در نظر گرفته شد. در این پژوهش بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتیگراد کلنی های برگشت یافته شمارش شدند.

مقدار درصد جلوگیری از بازگشت جهش سویه TA100 با استفاده از فرمول $S = \frac{(M-T)/M}{100} \times 100$ محاسبه شد ^(۱۴). در این فرمول S مقدار درصد جلوگیری از جهش القاء شده به وسیله آزید سدیم، T تعداد کلنی های برگشتی در هر پلیت در حضور عامل جهش زا و ماده آنتی اکسیدان آب انار و در نهایت M تعداد کلنی های برگشتی در هر یک از پلیت های کنترل مثبت می باشد (تعداد کلنی های برگشتی خودبخودی در کنترل منفی باید از صورت و مخرج کاسته شود).

تجزیه و تحلیل داده ها از نظر آماری با روش محاسبه میانگین نتایج آزمایش ها و مقایسه میانگین از طریق آزمون T با کمک نرم افزار SPSS و رسم نمودارهای مربوط به کمک نرم افزار Excell انجام شد.

جدول شماره ۱: میانگین کاهش وزن انارها در شرایط فیزیکی - شیمیایی متفاوت بر حسب گرم پس از ۲ ماه و ۲ بار تکرار

شاهد بدون تیمار شیمیایی	تیمار شیمیایی				تیمار دمایی	
	کلسیم کلرید ۰/۴٪ و کلسیم کلرید ۰/۶٪	کلسیم کلرید ۰/۴٪	کلسیم کلرید ۰/۶٪	کلسیم کلرید ۰/۴٪	کلسیم کلرید ۰/۴٪	کلسیم کلرید ۰/۴٪
۲۵	۲۳	۱۶	۲۲	۱۴/۸۸	۴	
۳۱/۸	۲۹/۵	۲۵/۹	۲۸/۸۵	۲۴/۵۶	۱۸	۱۸
۳۵	۳۳	۲۸	۳۰	۲۵/۶۵	۲۲	۲۲

جدول شماره ۲: میانگین کاهش وزن انارها در شرایط فیزیکی - شیمیایی متفاوت بر حسب گرم پس از ۲ ماه و ۲ بار تکرار

تیمار شیمیایی	تیمار دمایی	کلسیم	کلسیم	کلسیم کلرید ۰.۴٪	کلسیم کلرید ۰.۶٪	شاهد بدون
		کلرید ۰.۴٪	کلرید ۰.۶٪	و پنبه آغشته به آن	پنبه آغشته به آن	تیمار شیمیایی
۴	۲۱/۲	۲۶	۲۳	۲۹	۳۱	
۱۸	۳۳	۳۸	۳۵	۳۹/۲	۴۱	
۲۲	۴۱/۲	۴۸/۸	۴۳	۵۱/۸	۵۳	

جدول ۳: مشخصات ژنوتیپی سالمونلاتیفی موریوم TA100

R factor	جهش UVrB	جهش rfa	مشخصه ژنوتیپی
			باکتری
+	+	+	سالمونلاتیفی موریوم TA100

جدول ۴: اثر آنتی اکسیدانی آب میوه انار در شرایط دمایی و شیمیایی بر حسب درصد بازدارندگی با استفاده از سالمونلاتیفی

موریوم TA100 بعد از دو ماه و ۲ بار تکرار

تیمار شیمیایی	تیمار دمایی	کلسیم	کلسیم	کلسیم کلرید ۰.۴٪ و	کلسیم کلرید ۰.۶٪ و	شاهد بدون
		کلرید ۰.۴٪	کلرید ۰.۶٪	پنبه آغشته به آن	پنبه آغشته به آن	شاهد بدون مار (آب انار تازه)
۴	۶۲	۵۰	۶۰/۲۸	۴۷	۴۵	
۱۸	۴۲	۳۵	۴۰	۳۳	۳۰	۷۸/۶
۲۲	۳۰	۲۶	۲۷	۲۳	۲۱	

جدول شماره ۵: اثر آنتی اکسیدانی آب میوه انار در شرایط دمایی و شیمیایی متفاوت بر حسب درصد بازدارندگی با استفاده از

سالمونلاتیفی موریوم TA100 بعد از ۳ ماه و ۲ بار تکرار

تیمار شیمیایی	تیمار دمایی	کلسیم	کلسیم	کلسیم کلرید ۰.۴٪ و	کلسیم کلرید ۰.۶٪ و	شاهد بدون
		کلرید ۰.۴٪	کلرید ۰.۶٪	پنبه آغشته به آن	پنبه آغشته به آن	شاهد بدون تیمار (آب انار تازه)
۴	۵۶/۸	۴۳/۵	۵۳/۲	۴۱/۲	۳۹/۲	
۱۸	۳۶/۲	۳۱/۶	۳۳/۸	۲۸	۲۶/۵	۷۸/۶
۲۲	۲۵/۲	۲۲	۲۳	۲۰/۵	۱۹/۱	

جدول شماره ۶: بررسی اثر آنتی اکسیدانی آب میوه انار در شرایط دمایی و شیمیایی متفاوت بر حسب درصد بازدارندگی با استفاده از سالمونلاتیفی موریوم و میکروزوم بعد از ۲ ماه و ۲ بار تکرار

شاهد بدون تیمار (آب انار تازه)	شاهد بدون تیمار شیمیایی	کلسیم کلرید ۰.۶٪ و پنبه آغشته به آن	کلسیم کلرید ۰.۴٪ آغشته به آن	کلسیم کلرید ۰.۶٪	کلسیم کلرید ۰.۴٪	تیمار شیمیایی	
						تیمار دمایی	
	۴۵/۸	۴۷/۸	۶۱/۲	۵۰	۶۳/۲		۴
۸۱/۲	۲۸/۸	۳۴	۴۰/۸	۳۶/۲	۴۳/۸		۱۸
	۲۲/۳	۲۳	۲۸	۲۷	۳۰		۲۲

جدول شماره ۷: اثر آنتی اکسیدانی آب میوه انار در شرایط دمایی و شیمیایی متفاوت بر حسب درصد بازدارندگی با استفاده از سالمونلاتیفی موریوم و میکروزوم بعد از ۳ ماه و ۲ بار تکرار

شاهد بدون تیمار (آب انار تازه)	شاهد بدون تیمار شیمیایی	کلسیم کلرید ۰.۶٪ پنبه آغشته به آن	کلسیم کلرید ۰.۴٪، پنبه آغشته به آن	کلسیم کلرید ۰.۶٪	کلسیم کلرید ۰.۴٪	تیمار شیمیایی	
						تیمار دمایی	
	۳۹/۲	۴۱/۸	۵۴/۸	۴۴	۵۷/۲		۴
۸۱/۲	۲۶/۸	۲۹	۳۵	۳۲/۴	۳۶/۸		۱۸
	۲۰	۲۳	۲۴/۲	۲۳/۲	۲۶		۲۲

نتایج و بحث

نتایج حاصل از اندازه گیری وزن انارها در دماهای مختلف، تیمار با کلسیم کلرید ۰.۴٪ و ۰.۶٪ و مقایسه با نمونه های شاهد بدون تیمار در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است. میانگین به دست آمده از تفاوت وزن اولیه و ثانویه انارها نشان می دهد که دمای ۲۲ درجه سانتی گراد موجب بیشترین کاهش وزن، چروکیدگی ظاهری، میزان پوسیدگی و عدم بازارپسندی میوه ها شده است. کاهش وزن انارهای ذخیره شده در ۴ درجه سانتی گراد که دمای سردخانه تجاری می باشد با انارهای نگهداری شده در ۲۲ و ۱۸ درجه سانتی گراد تفاوت معنی داری به ترتیب در سطح $P < 0/01$ و $P < 0/01$ را نسبت به نمونه های شاهد نشان می دهد. با بررسی نتایج تیمارهای شیمیایی و دمایی و مقایسه انارهای تحت تیمار با نمونه های شاهد (بدون تیمار شیمیایی) مشخص گردید که انارهای تیمار شده با کلسیم کلرید کاهش وزن کمتری را نسبت به نمونه های شاهد بدون تیمار نشان می دهند (جدول ۱ و ۲). نتایج آزمایشها همبستگی اثر دما با طول مدت نگهداری را بر کاهش وزن میوه ها و تغییرات ظاهری آنها نشان داد. مناسبترین شرایط نگهداری انارها از لحاظ کمترین کاهش وزن و تغییرات ظاهری میوه ها، کمترین میزان پوسیدگی، کمترین تغییرات شدت رنگ عصاره و آب میوه انار در زمان ۲ و ۳ ماه پس از برداشت، دمای ۴ درجه سانتی گراد و شستشوی ۵ دقیقه با محلول ۰.۴٪ کلسیم کلرید می باشد. قرار دادن پنبه آغشته به کلسیم کلرید در کالیکس میوه انار اثر مطلوبی در نگهداری انارها ندارد. تحقیقات متعددی در ایران در زمینه شرایط نگهداری و بسته بندی میوه ها انجام شده است، در همه این تحقیقات یکی از عوامل مهم در طولانی کردن زمان ماندگاری انار و عدم تغییرات ظاهری و حفظ بازارپسندی، انتخاب رقم مناسب پیشنهاد شده است. رقم ملس ساوه به عنوان یکی از ارقام پر

مصرف در داخل کشور و از ارقام خوب از نظر ظاهری و خوراکی و انبارداری معرفی شده است^(۱۵). در پژوهش حاضر نیز از همین رقم استفاده کردیم. در تحقیق دیگری که در ایران انجام شده دمای +۱ درجه سانتی گراد را دمای مناسب برای نگهداری انار گزارش کرده اند^(۹). که با نتایج آزمایش های ما (۴ درجه سانتی گراد) تفاوت دارد.

Mascoki در سال ۱۹۹۶ گزارش کرد که غوطه ور کردن میوه ها (سیب) قبل از انبارداری در کلسیم کلرید موجب افزایش زمان انبارداری با حفظ ظاهر میوه ها و کاهش نسبی کمتر وزن آنها می شود. نتایج آزمایشهای پژوهش حاضر (استفاده از تیمارهای کلسیم کلرید) با نتایج پژوهشهای مسکوکی هم سویی دارد. به نظر می رسد کلسیم با استحکام بخشیدن بیشتر به دیواره های سلولی (افزایش مقدار پکتات کلسیم در تیغه میانی) و نیز ایجاد پل بین میکروتوبولها از اجزای اسکلت سلولی موجب سختی و استحکام پوست انارها شده، ظاهر آنها را حفظ می کند و از کاهش وزن سریع آنها ممانعت می نماید^(۱۶).

نتایج تایید سویه سالمونلاتیفی موریوم TA100 در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. در این پژوهش جهش یافتگی سالمونلا TA100 با جدول پیشنهادی پروفیسور Ames همسویی نشان داد و سویه تایید شد.

نتایج بررسی اثر آنتی اکسیدانی آب انارها با منظور داشتن عوامل دما و کلسیم کلرید ۴ و ۶ درصد بعد از ۲ ماه با استفاده از آزمون Ames و باکتری سالمونلاتیفی موریوم TA100 و مقایسه با اثر آنتی اکسیدانی آب میوه انار تازه بدون تیمار دمایی و شیمیایی به صورت درصد بازدارندگی با استفاده از فرمول $S = (M-T/M) \times 100$ در جدول شماره ۴ و ۵ نشان داده شده است. بالاترین درصد بازدارندگی در دمای ۴ درجه سانتی گراد و تیمار کلسیم کلرید ۴٪ می باشد که به هر حال در مقایسه با نمونه های شاهد یعنی (آب انارهای تازه بدون تیمار دمایی شیمیایی) حدود ۱۷٪ کاهش دارد. اثر قوی آنتی اکسیدانی آب انار تازه رقم ملس ساوه در پژوهشهای قبلی ما مشخص و گزارش شده است^(۱۰). Maskan در سال ۲۰۰۴ وجود ترکیبات اسیدی، ویتامین ها، پلی ساکاریدها، پلی فنل ها و ترکیبات معدنی را در انار گزارش کرده است. نقش آنتی اکسیدانی آب انار را می توان هم به دلیل وجود ویتامین های مختلف و هم به دلیل وجود ترکیبات فنلی به ویژه آنتوسیانین ها، فلاونوئیدها و تانن ها دانست^(۱۷).

نتایج آزمون درصد بازدارندگی جهش زایی آب میوه انار به علاوه میکروزوم های کبد موش در حدی مشابه و کمی قوی تر از نمونه های بدون میکروزوم می باشد (جدول شماره ۷).

این اختلاف معنی دار نیست. مزیت تیمار دمایی ۴°C و کلسیم کلرید ۴٪ در این آزمایش نیز مورد تایید است. اختلاف میانگین تعداد کلنی های برگشتی در کاربرد و عدم کاربرد میکروزوم ها یعنی TA100-S9 و TA100+S9 وجود ندارد. استفاده از میکروزوم کبد موش برای هر چه شبیه تر شدن محیط های کشت به شرایط درونی بدن انسان و انتساب اثر ضد جهشی به اثر ضد سرطانی میکروزومهای کبد موش، به محیط اضافه می شود. فعالیت سیتوکرم P ۴۵۰ موجود در میکروزومها اثرات جهش زایی آزید سدیم را کاهش می دهد. در پژوهشی که توسط گروهی از محققین انجام شده است آب میوه انار را برای جلوگیری از سرطان سینه معرفی نموده اند^(۱۸).

نتایج بررسی اثر آنتی اکسیدانی آب میوه انار با منظور داشتن تیمار دمایی و تیمار شیمیایی کلسیم کلرید ۴ و ۶٪ بعد از ۳ ماه در جدول شماره ۶ آورده شده است.

با توجه به درصد جلوگیری از جهش و شمارش کلنی های برگشتی در نمونه آب انار تازه و نمونه های بعد از تیمار دمایی و شیمیایی و مقایسه با جدول شماره ۴، دمای ۴ درجه سانتیگراد و تیمار کلسیم کلرید ۰.۴٪ کمترین کاهش اثر آنتی اکسیدانی را نشان می دهد. اما افزایش زمان نگهداری به هر حال موجب کاهش اثر آنتی اکسیدانی آب میوه انار می شود، بطوریکه در زمان ۲ ماه نگهداری درصد جلوگیری از جهش ۰.۶۲٪ نسبت به ۰.۷۸/۶٪ آب میوه تازه انار و در ۳ ماه نگهداری درصد جلوگیری از جهش به ۰.۵۶/۸٪ کاهش می یابد. پژوهشهایی در مورد تغییر ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی آب میوه انار از جمله میزان اسید، شکر، ویتامین ها، پلی ساکاریدها، پلی فنل ها و ترکیبات معدنی میزان چربی و اسیدهای چرب انجام شده است^(۱۹).

کاهش اثر آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی آب میوه انار در پژوهش حاضر را می توان با تغییر در ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی آب میوه انار در شرایط نگهداری مربوط دانست.

نتیجه گیری

در مجموع نتایج آزمایشهای پژوهش حاضر نشان می دهد که متناسب با طولانی شدن زمان نگهداری میوه انار نه تنها ویژگیهای ظاهری (ریختی) آن تغییر می کند و وزن آن کاهش می یابد، بلکه خواص آنتی اکسیدانی، ضد جهشی و ضد سرطانی آن نیز کمتر می شود. این تغییرات در دمای ۱۸ و ۲۲ درجه سانتی گراد شدید است. استفاده از تیمار دمایی ۴°C همراه با تیمار ۰.۴٪ کلسیم کلرید می تواند تا حد قابل توجهی از تغییرات مذکور و به ویژه کاهش شدید خواص ضد جهشی و ضد سرطانی انارها ممانعت نماید و موجب پایداری نسبی این خواص گردد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر با استفاده از مساعدت های مالی و همکاری معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تربیت معلم تهران انجام شده است. این مساعدت ها موجب کمال تشکر می باشد.

References:

1. Negi, P. S., Jayaprakasha, B. S. and Jena, *Antioxidant and Antimutagenic Activities of Pomegranate Peel Extracts*, Food chem., **80**, 393 (2003).
2. Guo, C., Yang, j. and Hang, Y., *Antioxidant Activities of Peel. pulp and Seed Fraction of common Fruits as Determined by FRAP assay*, Nutrition Research, **23**, 1719 (2003).
3. Jayaprakasha, G. K., Rao, L. I. and Sakariah, K. K., *Bio. Org. Med Chem.*, **12**, 5141 (2004).
4. Gil, M. I., Tomas – Barberan, F. A., Hess- pierce, B., Holcroft, D. M. and Kader, A. A., *J. Agric Food Chem*, **10**, 4581 (2000).
5. Ann, R., Free radical and inflammation, *J. Bio. Med.*, **60** (5), 442 (2001).
6. Fadavi, A., Barzegar, M. and Azizi, M. H., *Journal of Food Composition and Analysis*, **8**, 118 (2005).
7. Shakeri, M., *Pests and Diseases of Pomegranate*, Tasbih Pub., 126 (2003).
8. Sheraphatian, D., *Iranian Food Science and Technology Abstracts* 1(1996).
9. Asgrai, S. m. B. and Shahedy, M., *Iranian food Science and Technology Abstract*, 118 (1996).
10. Ghasemian, A., Mehrabian, S. and Majd, A., *Pakistan Jauhmal Biological Sciences*, **9**(7), 1402 (2006).
11. Chardonnet, C. O., Sams, C. E. and Conway, W. S., *J. Food. Prot. Jan.*, **65**(1), 172 (2002).

12. Ames, B. N., McCann, J. and Yamasaki, E., *Mutate Res.*, **31**,347 (1999).
13. Maron, D. M., *Bio Med.*, **20**, 113(1986).
14. Ong, T., Wong, W. Z., Stewart, J. D. and Brockman, H. E., *Chlorophyllin: a Potent Antimutagen Against Research and Dietary Complex Mixture Mutation Research*, **173** (11), 113 (1986).
15. Mirjallili, A., *Recognition of Pomegranate*, Agriculture Ministiy, 2 (2002).
16. Mascoky, A., *Iranian Food Science and Technology Abstract*, 1 (1996).
17. Maskan, M., *Journal of Food Engineering*, 205 (2004).
18. Kim, N. D., Mehta, R. and Neeman, I., *Breast Cancer Res Treat*, **71**, 203 (2002).
19. Singh, R.P., Murthy, K.N.C, Jayakasha, G.K., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 81 (2002).

Archive of SID