

## تأثیر پوشش‌های مختلف پس از برداشت بر میزان رنگ و آنتوسیانین انار ملس ساوه در دوره انبارداری سرد

حسین میغانی<sup>۱\*</sup>، محمود قاسم‌نژاد<sup>۲</sup> و داود بخشی<sup>۲</sup>

۱. استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

۲. دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۱۸)

### چکیده

رنگ پوست و بذر پوشینه (آریل) انار (بخش خوراکی) از شاخص‌هایی است که کیفیت میوه و انتخاب مصرف‌کننده را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این پژوهش تأثیر سه نوع پوشش (کیتوزان ۱ و ۲ درصد، واکس ژداسول و واکس بریتکس) بر شاخص‌های رنگ آریل و آنتوسیانین‌های موجود در آب انار رقم ملس ساوه در دوره ۱۲۰ روز انبارداری در دمای ۴/۵ درجه سلسیوس بررسی شد. شاخص‌های یادشده پیش از تیمار، در ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ روز پس از آغاز انبارداری نیز اندازه‌گیری شدند. نتایج وجود مشتقات مونو و دی‌گلوکوزیدی دلفینیدین، سیانیدین و پلارگونیدین را در هنگام برداشت میوه نشان داد. بنابراین نتایج، نوع آنتوسیانین تحت تأثیر نوع تیمار و زمان انبارداری قرار نگرفت. همچنین در چهل روز نخست انبارداری شاخص روشنایی (L\*) و خلوص رنگ (کروما) کاهش یافت، درحالی‌که شاخص زاویه هیو و آنتوسیانین کل در این مدت افزایش یافت که نشان‌دهنده ادامه ساخت (سنتز) آنتوسیانین در فرآیند دوران پس از برداشت میوه است. پس از آن تا پایان دوره انبارداری به تدریج شاخص L\* و خلوص رنگ افزایش و زاویه هیو و میزان آنتوسیانین کل کاهش یافت، به طوری‌که میزان کاهش در میوه‌های تیمار شده کمتر از شاهد بود. نتایج نشان داد آنتوسیانین‌های دی‌گلوکوزیدی پایدارتر از انواع مونوگلوکوزیدی است. بنا بر نتایج به دست آمده از این پژوهش در مقایسه بین پوشش‌های مورد استفاده، تیمار واکس ژداسول و کیتوزان ۲ درصد در حفظ شاخص‌های رنگ بذر پوشینه و میزان آنتوسیانین میوه انار مؤثرتر بودند.

واژه‌های کلیدی: انار، فام‌نگاری (HPLC)، کیتوزان، کیفیت میوه، واکس.

## Effect of different postharvest coating on colour and anthocyanin content of pomegranate fruit cv. 'Malas-e-Saveh' during cold storage

Hossein Meighani<sup>1\*</sup>, Mahmood Ghasemnezhad<sup>2</sup> and Dvood Bakhshi<sup>2</sup>

1. Assistant Professor, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran

2. Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: June 30, 2015 - Accepted: Oct. 10, 2015)

### ABSTRACT

Pomegranate aril and peel fruit colour are important factors affect fruit quality and consumer preference. In this study, the effects of three coating treatments (1 and 2% chitosan, Xedasol M14 and Britex Ti wax) investigated on the aril colour parameters and anthocyanins content of pomegranate fruit cv. Malas-e-Saveh during 120 days storage at 4.5°C. Above traits were measured at harvest time and 40, 80 and 120 days after storage. The results appeared diglucosides and -mono glucosides derivatives of cyanidin, delphinidin and pelargonidin in the pomegranate juice at harvest time. The profile of individual anthocyanins pomegranate juice was not affected by coating treatments and storage time. Up to 40 days storage, L\* and chroma parameters reduced while in this time hue angle and total anthocyanin content increased. It is reflected that the anthocyanin synthesis continues in harvested fruit. Then, up to the end of storage the L\* and chroma parameters gradually reduced and hue angle and total anthocyanin content increased that the level of reducing in the treated fruits were lower than that untreated fruits. The results showed that the diglucoside anthocyanins were more stable than the monoglucosides. Overall, xedasol and 2% chitosan coating treatments were more effective in maintaining of the colour parameters and anthocyanin content.

**Keywords:** Chitosan, chromatography (HPLC), pomegranate, fruit quality, wax.

### مقدمه

انار (*Punica granatum* L.) یکی از کهن‌ترین میوه‌هایی است که بر پایه شواهد تاریخی، ایران مبدأ و خاستگاه اصلی آن بوده و از ایران به دیگر نقاط جهان پراکنده شده است. امروزه انار به‌طور گسترده‌ای در بسیاری از نقاط گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان کشت می‌شود (Mousavinezhad *et al.*, 2009). بخش خوراکی انار بذر پوشینه (آریل) نام دارد که حدود ۵۲ درصد وزن میوه را تشکیل می‌دهد و شامل ۷۸ درصد آب‌میوه و ۲۲ درصد بذر است. میوه انار به‌صورت تازه یا فرآوری‌شده مصرف می‌شود (Varasteh *et al.*, 2012). آب انار میزان زیادی اسیدهای آلی، قند، پلی‌ساکارید، آنتوسیانین، ترکیب‌های فنلی، آسکوربیک اسید (ویتامین ث) و نمک‌های کانی دارد (Gil *et al.*, 2000). وجود ترکیب‌های بالا سبب شده که آب انار فعالیت پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) بالایی داشته باشد. بنابراین تمایل افراد به مصرف انار به سبب نقشی که در سلامتی انسان دارد، روزبه‌روز در حال افزایش است که این حالت نیز افزایش سطح زیر کشت و تولید انار را به همراه دارد (Fawole & Opara, 2013a).

رنگ قرمز پوست و بذر پوشینه انار مربوط به رنگیژه آنتوسیانین است. آنتوسیانین‌های شناخته‌شده در آب انار شامل مشتقات مونو (۳-) و دی (۳ و ۵-) گلوکوزیدی سیانیدین<sup>۱</sup>، دلفینیدین<sup>۲</sup> و پلارگونیدین<sup>۳</sup> است (Miguel *et al.*, 2004; Fawole & Opara, 2013b). آنتوسیانین تحت تأثیر عامل‌های مختلفی مانند دما و نور، pH، هورمون‌های گیاهی، متابولیت‌های ثانویه، عنصرهای غذایی و شرایط پس از برداشت قرار می‌گیرد (Holcroft & Kader, 1999; He *et al.*, 2010). گزارش‌های موجود گویای آن است که ساخت (سنتز) آنتوسیانین در شرایط پس از برداشت حتی در انبار سرد نیز می‌تواند ادامه پیدا کند و تیمارهای پس از برداشت، میزان ساخت و یا تخریب آنتوسیانین را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Holcroft & Kader, 1999; Miguel *et al.*, 2004; Varasteh *et al.*, 2012).

گرچه به نظر می‌رسد میوه انار پوست به نسبت کلفت و ضخیمی دارد، اما فضاهای زیادی در آن وجود دارد که حرکت آزاد بخار آب را امکان‌پذیر می‌سازد و آن را به از دست دادن رطوبت حساس می‌سازد (Kader *et al.*, 1984). از دست دادن آب منجر به خشکیدگی و چروکیدگی پوست میوه انار می‌شود که کیفیت و بازاریابی آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Nanda *et al.*, 2001; Fawole & Opara, 2013a).

واکس‌ها و پوشش‌های خوراکی انتقال اکسیژن و بخار آب از سطح میوه را کاهش می‌دهند و به‌این‌ترتیب تنفس میوه کم و انبارمانی آن افزایش می‌یابد (Falguera *et al.*, 2011). کیتوزان پوشش خوراکی است که در حقیقت کیتین دی‌استیله‌شده است و از پوسته سخت‌پوستانی چون خرچنگ و میگو به دست می‌آید که با ایجاد یک لایه نیمه تراوا در اطراف میوه می‌تواند انبارمانی آن‌ها را افزایش دهد (Jiang *et al.*, 2005). در پژوهشی، تیمار پس از برداشت توت‌فرنگی با کیتوزان افزایش سفتی بافت میوه را در مقایسه با شاهد موجب شد (Bhaskara-Reddy *et al.*, 2000). همچنین کاربرد پس از برداشت کیتوزان کاهش آنتوسیانین در لیچی (Jiang *et al.*, 2005)، توت‌فرنگی (Vargas *et al.*, 2006) و انار (Varasteh *et al.*, 2012) را به تأخیر انداخت. در پژوهشی دیگر پوشش بذر پوشینه‌های انار با کیتوزان کاهش فنول کل، آنتوسیانین کل، و ظرفیت پاداکسندگی را در دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس کم کرد (Ghasemnezhad *et al.*, 2013).

واکس کارنابا<sup>۴</sup> از برگ‌ها و جوانه‌های برگ‌های نخل روغنی<sup>۵</sup> که متعلق به خانواده پالماسه<sup>۶</sup> است به دست می‌آید و به‌طور تجاری به‌عنوان عامل براق‌کننده در مواد آرایشی، داروسازی، دندانپزشکی، کشاورزی و صنایع غذایی و پوشش آب‌نبات استفاده می‌شود. واکس کارنابا به‌تنهایی و یا ترکیب با دیگر مواد به‌عنوان پوشش نگه‌دارنده محصولات کشاورزی نیز استفاده می‌شود (Goncalves *et al.*, 2010). میوه انار

4. Carnauba wax  
5. *Copernicia cerifera* Mart.  
6. Palmaceae

1. Cyanidin  
2. Delphinidin  
3. Pelargonidin

سوئیس<sup>۱</sup>، واکس ژداسول ام ۱۴<sup>۲</sup> حاوی امولسیون ۲۷ درصد کارنابا به همراه افزودنی‌های غذایی از شرکت ژدا اینترنشنال فرانسه<sup>۳</sup> و واکس بریتکس تی‌آی<sup>۴</sup> حاوی ۱۸ درصد روزین چوب به همراه ایمازالیل ۰/۲ درصد و تیابندازول ۵ درصد از شرکت برودکس اسپانیا<sup>۵</sup> و شاهد (بدون پوشش) و زمان نمونه‌برداری (پیش از اعمال تیمار (روز ۰) و ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ روز پس از نگهداری میوه‌ها در سردخانه) با سه تکرار در قالب طرح کامل تصادفی اجرا شد. میوه‌ها در تیمار کیتوزان به روش غوطه‌وری<sup>۶</sup> به مدت دو دقیقه و در تیمار واکس با استفاده از روش برس‌زنی<sup>۷</sup> پوشش‌دار شدند. سپس میوه‌های پوشش‌دار شده در دمای اتاق قرار گرفت تا خشک شوند. شمار پانزده عدد میوه از هر تیمار درون سبدهای پلاستیکی نگهداری میوه قرار گرفتند و به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. آنگاه سبدها در سردخانه با دمای  $4/5 \pm 0/5$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی  $90 \pm 5$  درصد به مدت چهار ماه قرار داده شدند. در هر مرحله نمونه‌برداری پنج عدد میوه از هر تکرار برداشته شد و به روش دستی پوست و دانه از هم جدا شد، بخشی از بذر پوشینه‌ها برای اندازه‌گیری شاخص‌های رنگ و بخش دیگر پس از آگیری با آب‌میوه‌گیر دستی برای اندازه‌گیری نوع و میزان آنتوسیانین استفاده شد.

#### ارزیابی ویژگی‌ها

##### شاخص‌های رنگ بذر پوشینه

شاخص‌های رنگ بذر پوشینه با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج (مدل Minolta-CR400 ساخت کشور ژاپن) اندازه‌گیری شدند. برای این منظور میزان ۲۰ گرم بذر پوشینه درون یک پتری‌دیش قرار گرفتند و شاخص‌های رنگ در سه نقطه از بذر پوشینه‌ها خوانده شد (Fawole & Opara, 2013a). در این روش مقادیر  $L^*$  (درخشندگی)،  $(L=0)$  سیاه مطلق تا  $L=100$

تیمار شده با واکس کارنابا به‌تنهایی و یا همراه با پوترسین غلظت بالاتری از آنتوسیانین، ظرفیت پاداکسندگی، آسکوربیک اسید، تانن و ویژگی‌های حسی در دوره انبارداری نشان داد (Barman *et al.*, 2011). در پژوهشی دیگر واکس کارنابا فرآیند رسیدن، کاهش وزن و تغییر رنگ گوشت و پوست میوه انبه را کند کرد، اما تأثیری بر میزان ویتامین ث نداشت (Hoa & Ducamp, 2008). به‌طور کلی واکس‌ها و پوشش‌های خوراکی با تغییر اتمسفر درونی میوه، میزان متابولیت‌های ثانویه، فعالیت پاداکسندگی، کیفیت حسی، رنگ، سفتی، رشد میکروبی، تولید اتیلن و ترکیب‌های فرار را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Falguera *et al.*, 2011). رقم ملس ساوه معروف‌ترین انار کشت‌شده در استان مرکزی است که بیشترین سطح زیر کشت را به خود اختصاص داده است و میوه‌هایی با اندازه متوسط تا درشت و رنگ پوست و بذر پوشینه قرمز تولید می‌کند. در این پژوهش ضمن نگهداری میوه انار در دمای پایین، تأثیر سه نوع پوشش میوه بر حفظ شاخص‌های رنگ و نوع و میزان آنتوسیانین بررسی شد.

#### مواد و روش‌ها

میوه‌های انار رقم ملس ساوه در زمان بلوغ تجاری از درختان پانزده ساله موجود در یک باغ تجاری انار واقع در شهرستان ساوه برداشت و بی‌درنگ در همان روز به آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشگاه گیلان منتقل شدند. در آغاز میوه‌های ناسالم شامل میوه‌های آفتاب‌سوخته، ترکیده، آفت‌زده، له‌شده و ضرب‌دیده جدا شد. میوه‌های سالم و با اندازه متوسط (۳۵۰-۳۰۰ گرم) انتخاب و پس از تمیز کردن گردو خاک از روی سطح میوه‌ها، به ۵ گروه (هر گروه شامل ۴۵ عدد میوه) تقسیم شدند.

#### اعمال تیمار

آزمایش به‌صورت فاکتوریل با دو عامل نوع پوشش شامل غلظت‌های ۱ و ۲ درصد کیتوزان با وزن مولکولی متوسط (۴۰۰ کیلو دالتون) از شرکت فلوکا

1. Fluka, Buchs, Switzerland
2. Xedasil M14
3. Xeda International Co. France
4. Britex Ti
5. Brodrex Co. Spain
6. Dipping
7. Brushing

## نتایج و بحث

### شاخص‌های رنگ بذر پوشینه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر ساده تیمار پوشش، دوره انبارداری و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص‌های رنگ بذر پوشینه ( $L^*$ )، خلوص رنگ و زاویه هیو) در دوره انبارداری در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار است. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین تیمارهای مختلف پوششی از نظر شاخص  $L^*$  و زاویه هیو در پایان دوره انبارداری اختلاف معنی‌داری وجود دارد، البته پس از گذشت چهل روز از انبارداری میوه‌ها، کاهش معنی‌داری در شاخص  $L^*$  و زاویه هیو در همه تیمارها نسبت به زمان برداشت مشاهده شد. سپس مقادیر شاخص  $L^*$  و زاویه هیو تا پایان دوره انبارداری افزایش یافت، که میزان افزایش در میوه‌های شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای پوششی بود. در پایان دوره انبارداری، تأثیر پوشش‌های مختلف بر شاخص روشنایی معنی‌دار نبود، اما میزان زاویه هیو در تیمار واکس بریتکس به‌طور معنی‌داری بیشتر از کیتوزان ۲ درصد و واکس ژداسول بود، ولی با تیمار کیتوزان ۱ درصد از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). شاخص خلوص رنگ در دوره ۱۲۰ روز انبارداری در میوه‌های تیمار شده و شاهد کاهش یافت، اما میزان کاهش در میوه‌های شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر از میوه‌های تیمار شده بود، گرچه پس از چهل روز انبارداری میزان خلوص رنگ افزایش یافت که این افزایش در شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر از میوه‌های تیمار شده بود، اما پس از آن تا پایان دوره انبارداری میزان آن کاهش یافت (جدول ۱).

رنگ یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های ارزیابی عمر پس از برداشت و کیفیت میوه‌هاست. تحقیقات پیشین نشان داد که پوشش‌های مختلف در دوره انبارداری تغییر شاخص‌های رنگ میوه را به تأخیر انداخت و باعث حفظ رنگ میوه در طول دوره نگهداری پس از برداشت شد (Jiang *et al.*, 2005; Vargas *et al.*, 2006; Hu *et al.*, 2011; Varasteh *et al.*, 2012). افزایش شاخص زاویه هیو در بذر پوشینه‌های انار رقم ملس ساوه تا چهل روز پس از انبارداری می‌تواند

(سفید مطلق)،  $a^*$  [سبزی (-) به قرمزی (+)] و  $b^*$  [آبی (-) به زردی (+)]، زاویه رنگ  $[Hue\ angle = \arctan(b^*/a^*)]$  و خلوص رنگ (کروما)  $Chroma = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$  اندازه‌گیری شدند.

### نوع و میزان آنتوسیانین‌ها

برای اندازه‌گیری نوع آنتوسیانین‌ها، در آغاز آب انار به مدت ده دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. آنگاه محلول روشناور به‌منظور حذف ذرات باقی‌مانده از پالایشگر استات سلولزی ۰/۴۵ میکرونی عبور داده شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از آب انار پالایش‌شده به دستگاه فام‌نگار (کروماتوگراف) مایع با کارایی بالا (HPLC) تزریق شد. سامانه مورد استفاده مدل Unicam-Crystal-200 مجهز به آشکارساز UV-Visible بود. برای جداسازی از ستون Bondapack-C18 مدل (Waters 2487) به طول ۱۵۰ میلی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر با روزهایی به اندازه ۱۰ میکرومتر استفاده شد. حالت (فاز) متحرک شامل متانول خالص با درجه HPLC و فرمیک اسید ۵ درصد بود. جداسازی به روش گرادینان و با استفاده از حالت متحرک فرمیک اسید ۵ درصد (A) و متانول (B) صورت گرفت. میزان نسبی حالت B در پانزده دقیقه با یک شیب خطی از ۱۵ درصد به ۳۵ درصد رسید، سپس تا دقیقه ۲۰ با سرعت ثابت ادامه یافت. سرعت جریان حالت متحرک ۱ میلی‌متر بر دقیقه و طول موج ۵۱۰ نانومتر بود. محاسبه غلظت با استفاده از روش استاندارد خارجی و با مقایسه زمان‌های بازداری آنتوسیانین‌های موجود در نمونه با استانداردهای خالص هر آنتوسیانین (شرکت اکستراسنتز-فرانسه) انجام گرفت (Miguel *et al.*, 2004). در پایان با استفاده از سطح زیر منحنی هر آنتوسیانین، نوع و غلظت آنتوسیانین‌های موجود در نمونه‌های مختلف آب انار تعیین شد. از حاصل جمع تک‌تک آنتوسیانین‌ها، آنتوسیانین کل محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (V. 9.1) و مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

موجود در بذر پوشینه تغییر شاخص‌های رنگ را در مقایسه با شاهد کندتر کرد. در آناناس نیز کاربرد واکس کارنابا سبب به تأخیر انداختن تغییر رنگ میوه‌ها در دوره انبارداری شد (Hu *et al.*, 2011). همچنین در توت‌فرنگی و تمشک جنگلی استفاده از پوشش کیتوزان باعث به تأخیر افتادن تغییر رنگ میوه‌ها شد، در این میوه‌ها کیتوزان با کاهش از دست رفتن رطوبت، تغییر pH را به تأخیر انداخته و باعث کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز (PPO) و حفظ رنگ قرمز آنتوسیانین شد (Han *et al.*, 2004). بنابراین، به نظر می‌رسد که تفاوت تیمارهای پوششی در حفظ شاخص‌های رنگ بذر پوشینه می‌تواند به توانایی‌شان در به تأخیر انداختن پیری و کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده آنتوسیانین مربوط باشد.

به‌واسطه ادامه ساخت آنتوسیانین در بذر پوشینه‌های انار باشد. نتایج همسانی نیز در انار رقم رباب نی‌ریز تیمار شده با کیتوزان (Varasteh *et al.*, 2012) و رقم واندرفول نیز گزارش شده است (Holcroft *et al.*, 1998). از سوی، کاهش زاویه هیو در پایان دوره انباری نیز می‌تواند نتیجه آسیب آنتوسیانین‌ها باشد که با نتایج Varasteh *et al.* (2012) همخوانی دارد.

در این پژوهش شاخص  $L^*$  و خلوص رنگ بذر پوشینه انار در میوه‌های پوشش‌دار و شاهد در دوره انبارداری افزایش یافت. افزایش شاخص روشنایی و خلوص رنگ در میوه‌های انار تیمار شده با کیتوزان (Varasteh *et al.*, 2012) و انبه تیمار شده با واکس کارنابا، سمپرفرش<sup>۱</sup> و ژل آلوئه (Dang *et al.*, 2008) نیز گزارش شده است. به نظر می‌رسد تیمارهای پوشش به‌کاررفته با حفظ بیشتر آنتوسیانین‌های

جدول ۱. تأثیر تیمار پوشش بر شاخص‌های رنگ بذر پوشینه انار رقم ملس ساوه در دوره انبارداری

Table 1. The effect of coating treatment on the colour parameters of pomegranate aril cv. Malas-e-Saveh during storage

Colour parameters	Treatment	Storage duration (Days)			
		0 (at harvest)	40	80	120
L*	Control	23.05 gh	18.98 j	25.43 cde	30.73 a
	1% Chitosan	23.05 gh	20.48 ij	25.14 def	27.19 b
	2% Chitosan	23.05 gh	20.00 j	22.12 hi	26.73 bcd
	Xedasol M14	23.05 gh	20.27 j	24.52 fgh	27.50 bcde
	Britex Ti	23.05 gh	19.50 ij	23.50 efg	25.80 b
Chroma	Control	19.67 d	14.95 f	22.73 c	29.96 a
	1% Chitosan	19.67 d	16.99 e	20.18 d	24.02 bc
	2% Chitosan	19.67 d	16.51 e	19.89 d	23.87 c
	Xedasol M14	19.67 d	15.54 ef	19.97 d	22.49 c
	Britex Ti	19.67 d	16.34 ef	20.11 d	25.91 b
Hue angle (h°)	Control	23.96 de	26.33 a	22.70 fgh	20.05 j
	1% Chitosan	23.96 de	24.79 bcd	23.41 ef	21.63 hi
	2% Chitosan	23.96 de	25.15 bc	24.16 cde	22.14 ghi
	Xedasol M14	23.96 de	25.86 ab	23.16 efg	22.51 fgh
	Britex Ti	23.96 de	25.28 abc	23.16 efg	21.17 i

\* میانگین‌های دارای حرف‌های متفاوت در سطرها و ستون‌های مختلف برای هر صفت در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری دارند.

\* Means with different letter in each column and row for each parameters are significantly different at 5% probability level.

هنگام برداشت ۲۳۴/۲۱ میلی‌گرم در لیتر بود که از این میزان حدود ۷۲ درصد مربوط به آنتوسیانین‌های دی‌گلوکوزیدی و بقیه مونوگلوکوزیدی هستند. آنتوسیانین غالب در انار ملس ساوه، سیانیدین ۳ و ۵-دی‌گلوکوزید بود که حدود ۵۲ درصد آنتوسیانین کل را تشکیل داد (شکل ۲).

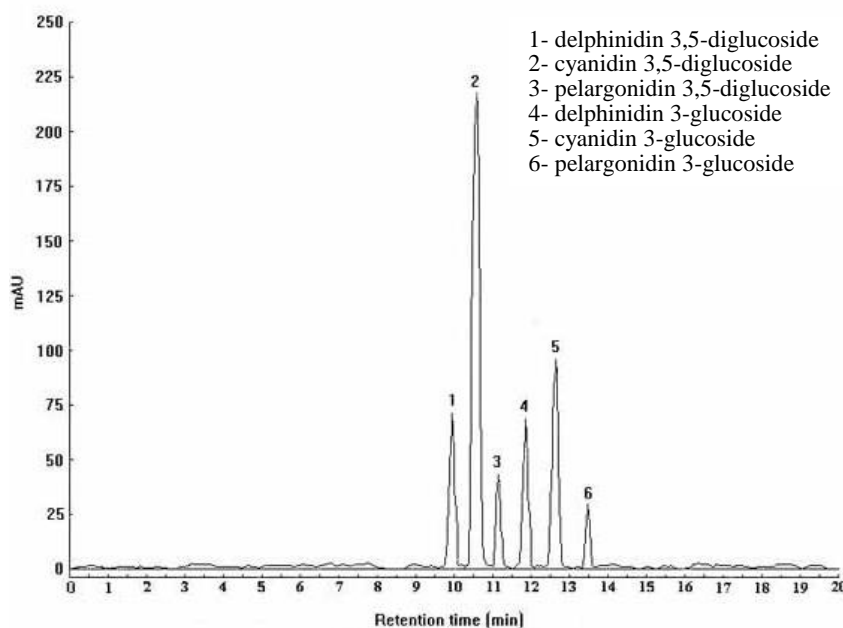
### نوع و میزان آنتوسیانین

شش نوع آنتوسیانین (دلفینیدین ۳ و ۵-دی‌گلوکوزید، سیانیدین ۳ و ۵-دی‌گلوکوزید، پلارگونیدین ۳ و ۵-دی‌گلوکوزید، دلفینیدین ۳-مونوگلوکوزید، سیانیدین ۳-مونوگلوکوزید و پلارگونیدین ۳-مونوگلوکوزید) در آب‌میوه انار رقم ملس ساوه به روش فام‌نگار مایع با کارایی بالا در زمان برداشت شناسایی شد (شکل ۱). میزان آنتوسیانین کل آب انار رقم ملس ساوه در

1. Semperfresh
2. Polyphenol oxidase (PPO)

کل و نوع آنتوسیانین‌ها به‌جز پلارگونیدین مونو و دی‌گلوکوزید معنی‌دار شد. درحالی‌که تنها اثر ساده دوره انبارداری بر میزان آنتوسیانین‌های پلارگونیدین مونو و دی‌گلوکوزید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، اما تیمار پوشش و اثر متقابل تیمار پوشش و مدت انبارداری بر آن‌ها اثر معنی‌داری نشان نداد.

نتایج ارزیابی آنتوسیانین‌ها در دوره انبارداری در تیمارهای مختلف نشان داد که نوع تیمار پوششی و زمان انبارداری روی نوع آنتوسیانین‌ها تأثیری نداشت، اما میزان آن‌ها تحت تأثیر قرار گرفت. در این زمینه تأثیر تیمار پوشش، دوره انبارداری و اثر متقابل تیمار و مدت انبارداری در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان آنتوسیانین



شکل ۱. فام‌نگار آنتوسیانین‌های موجود در آب انار رقم ملس ساوه در هنگام برداشت

Figure 1. A chromatogram of anthocyanins in the pomegranate juice cv. Malas-e-Saveh at harvest time.

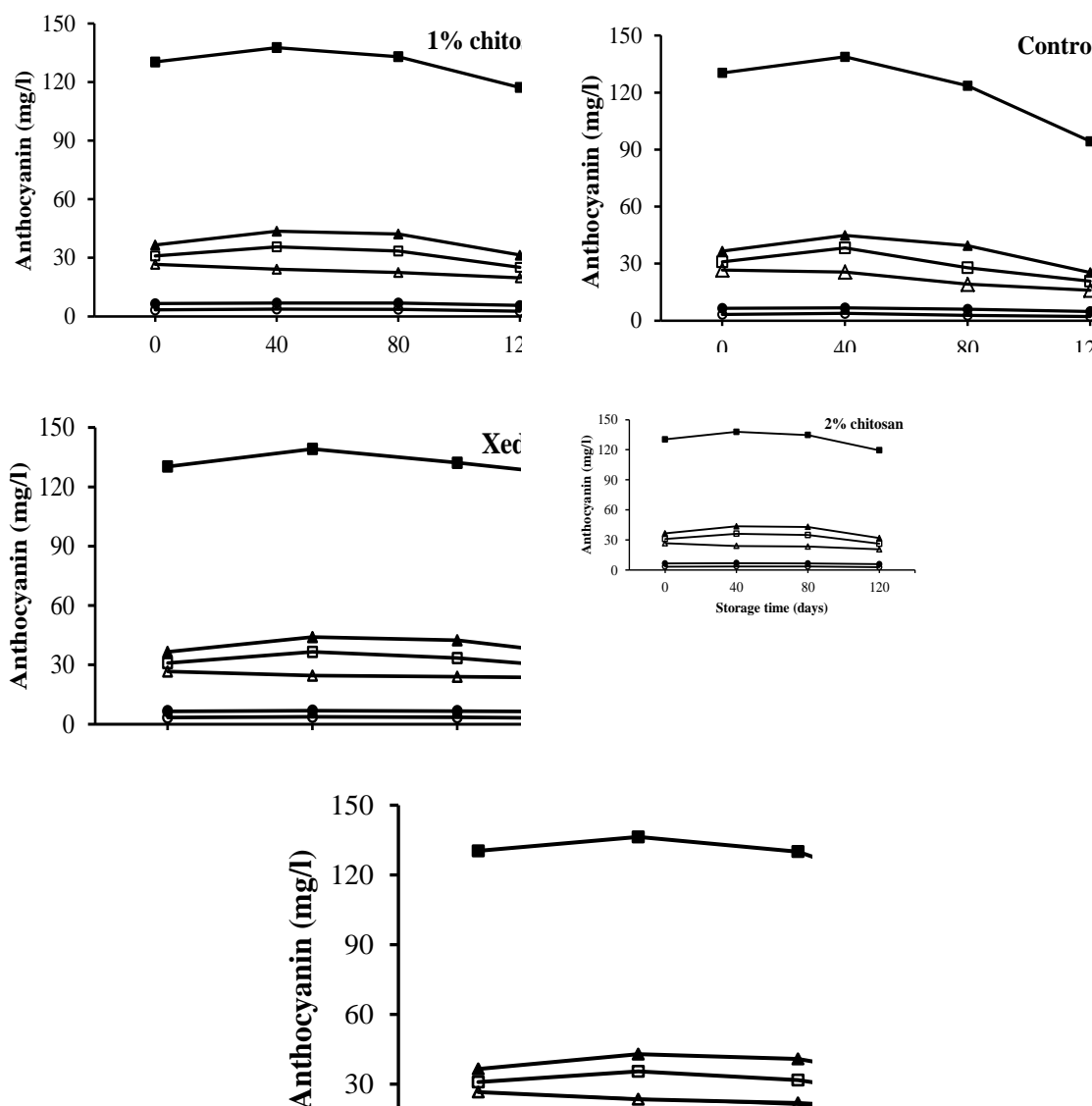
کاهش آنتوسیانین‌های مونوگلوکوزیدی در دوره انبارداری در میوه‌های شاهد و پوشش داده‌شده بیشتر از انواع دی‌گلوکوزیدی بود، به‌طوری‌که در پایان دوره انبارداری حدود ۷۹ درصد آنتوسیانین میوه‌های گروه شاهد از نوع دی‌گلوکوزیدی و ۲۱ درصد مونو گلوکوزیدی بود که در مقایسه با آغاز آزمایش آنتوسیانین‌های مونوگلوکوزیدی درصد کمتری را تشکیل می‌دهند (شکل ۲).

آنتوسیانین عامل اصلی رنگ پوست میوه و بذر پوشینه انار است. آنتوسیانین‌های موجود در بذر پوشینه، سیانیدین‌ها (عامل رنگ قرمز)، دلفینیدین‌ها (عامل رنگ ارغوانی یا بنفش) و پلارگونیدین‌ها (عامل رنگ قرمز روشن تا قرمز نارنجی) هستند (Gil et al., 2000). نوع آنتوسیانین‌های استخراج‌شده از آب انار رقم ملس ساوه همسان آنتوسیانین‌های گزارش‌شده از دیگر رقم‌های انار (Gil et al., 2000; Miguel et al., )

نتایج نشان داد که میزان هر یک از آنتوسیانین‌ها و آنتوسیانین کل بذر پوشینه انارهای تیمار شده و شاهد در چهل روز نخست انبارداری اندکی افزایش یافت و سپس تا پایان دوره انبارداری آن‌ها به‌تدریج کاهش یافت. در پایان دوره انبارداری میوه‌های تیمار شده در مقایسه با شاهد آنتوسیانین بیشتری داشتند یا به عبارتی تیمار پوشش باعث کندتر شدن روند کاهش آنتوسیانین در دوره انبارداری شد. در این زمان بیشترین میزان آنتوسیانین کل با میانگین ۲۱۸/۲۵ میلی‌گرم در لیتر آب‌میوه از تیمار واکس ژداسول به‌دست آمد که با شاهد و دیگر تیمارهای پوشش به‌جز غلظت ۲ درصد کیتوزان از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نشان داد و کمترین میزان آنتوسیانین با میانگین ۱۶۳/۳۹ میلی‌گرم در لیتر از میوه‌های گروه شاهد به دست آمد (شکل ۳).

Alighourchi ( ۲۵۲/۲۲ میلی‌گرم در لیتر متفاوت بود ( Alighourchi *et al.*, 2008). سیانیدین ۳ و ۵-دی‌گلوکوزید آنتوسیانین غالب در انار رقم ملس ساوه بود که با نتایج گزارش‌شده در انار رقم رباب نی‌ریز ( Varasteh *et al.*, 2012)، شماری از رقم‌های ایرانی ( Alighourchi *et al.*, 2008) و انار رقم رابی ( Fawole and Opara, 2013b) همخوانی دارد.

2004; Alighourchi *et al.*, 2008; Varasteh *et al.*, 2012) است اما میزان نسبی هر یک از آنتوسیانین‌ها و آنتوسیانین کل آب انار تا حدودی با رقم‌های دیگر متفاوت است. میزان آنتوسیانین کل در انار رقم رباب نی‌ریز ۹۳۵ میلی‌گرم در لیتر ( Varasteh *et al.*, 2012)، در رقم واندرفول ۳۰۶ میلی‌گرم در لیتر ( Gil *et al.*, 2000) و در پانزده رقم انار ایرانی از ۱۵/۰۱ تا

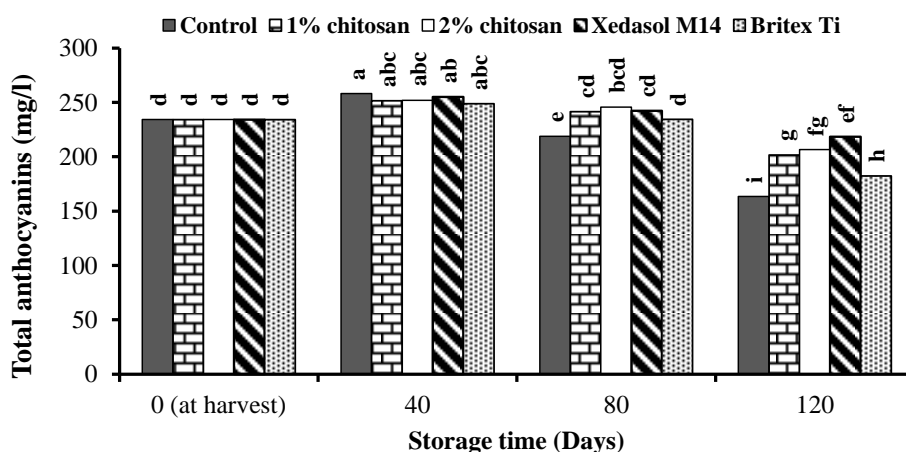


شکل ۲. تأثیر تیمار پوشش بر میزان آنتوسیانین‌های مختلف انار ملس ساوه در دوره انبارداری. دلفینیدین ۳-مونوگلوکوزید (△)، دلفینیدین ۳ و ۵-دی‌گلوکوزید (▲)، سیانیدین ۳-مونوگلوکوزید (□)، سیانیدین ۳ و ۵-دی‌گلوکوزید (■)، پلارگونیدین ۳-پلارگونیدین ۳-گلوکوزید (○)، پلارگونیدین ۳ و ۵-دی‌گلوکوزید (●).

Figure 2. The effect of coating treatment on the concentration of individual anthocyanins in the pomegranate juice cv. Malas-e-Saveh during storage. delphinidin 3-monoglucoside (△), delphinidin 3,5-diglucoside (▲), cyanidin 3- glucoside (□), cyanidin 3,5-diglucoside (■), pelargonidin 3-glucoside (○), pelargonidin 3,5-diglucoside (●).

Han (2004; Wang & Gao, 2013)، تمشک جنگلی (Han *et al.*, 2004) و گیلان (Goncalves *et al.*, 2007) نیز پیش‌تر گزارش شده است که این افزایش می‌تواند نتیجه زیست‌ساخت (بیوسنتز) ترکیب‌های فنلی و آنتوسیانین‌ها در شرایط پس از برداشت باشد (Miguel *et al.*, 2004) و یا به دلیل از دست رفتن بیشتر آب از این میوه‌ها و افزایش غلظت آنتوسیانین بذر پوشینه باشد چیزی که در میوه‌های شاهد در این پژوهش مشاهده شد (Fawole & Opara, 2013a). در پایان دوره انبارداری میزان آنتوسیانین کل در مقایسه با زمان برداشت کاهش یافت که با نتایج گزارش شده در رقم‌های مختلف انار (Barman *et al.*, 2011; Varasteh *et al.*, 2012; Fawole & Opara, 2013a)، توت‌فرنگی (Vargas *et al.*, 2006) و لیچی (Jiang *et al.*, 2005) همخوانی دارد.

اما دلفینیدین ۳ و ۵-دی‌گلوکوزید در شماری دیگر از رقم‌های انار ایرانی (Mousavinezhad *et al.*, 2009)، سیانیدین ۳-مونوگلوکوزید در انار رقم واندر فول (Gil *et al.*, 2000) و دلفینیدین ۳-مونوگلوکوزید در انار رقم آساریا (Miguel *et al.*, 2004) به‌عنوان آنتوسیانین غالب گزارش شده است. تنوع در میزان آنتوسیانین‌ها به اختلاف در رقم‌های مورد بررسی، شرایط محیطی، مرحله بلوغ میوه، عملیات باغی و شرایط پس از برداشت و انبارداری برمی‌گردد (Miguel *et al.*, 2004; Fawole & Opara, 2013a,b). در این پژوهش میزان آنتوسیانین کل پس از چهل روز انبارداری افزایش نشان داد. آنتوسیانین پس از برداشت در رقم‌های مختلف انار (Artes *et al.*, 2000; Miguel *et al.*, 2004; Varasteh *et al.*, 2012)، توت‌فرنگی (Han *et al.*, 2012)



شکل ۳. تأثیر تیمار پوشش بر میزان آنتوسیانین کل انار ملس ساوه در دوره انبارداری

Figure 3. The effect of coating treatment on the total anthocyanins concentration of pomegranate juice cv. Malas-e-Saveh during storage

(Barman *et al.*, 2011; Varasteh *et al.*, 2012). همچنین گزارش شده است که استفاده از غشاء (فیلم) پلی‌اتیلن و واکس بریلاکوا<sup>۲</sup> در انار رقم آساریا به‌طور مؤثری در مقایسه با تیمار شاهد آنتوسیانین را حفظ کرد (Miguel *et al.*, 2004). تأثیر مثبت پوشش کیتوزان در حفظ آنتوسیانین در بذر پوشینه انار (Ghasemnezhad *et al.*, 2013)، لیچی (Jiang *et al.*,

کاهش میزان آنتوسیانین کل بذر پوشینه‌های انار در شرایط انباری می‌تواند نتیجه تخریب آن‌ها در اثر افزایش فعالیت آنزیم‌های PPO و پراکسیداز (POD)<sup>۱</sup> باشد. تیمارهای پوششی به‌کاررفته به‌طور معنی‌داری تخریب آنتوسیانین‌ها را به تأخیر انداخت. تأثیر مثبت پوشش کیتوزان و واکس کارنابا در حفظ آنتوسیانین انار دوره انبارداری پیش‌تر نیز گزارش شده است



رنگ در اوایل انبارداری به‌واسطه ادامه ساخت آنتوسیانین در شرایط پس از برداشت است. در کل نوع تیمار پوششی و زمان انبارداری میزان آنتوسیانین بذر پوشینه را کاهش داد، اما بر نوع آنتوسیانین‌ها تأثیری نداشت. تیمارهای پوششی در حفظ آنتوسیانین و جلوگیری از تغییر شاخص‌های رنگ بذر پوشینه نقش مؤثری داشتند. به‌نظر می‌رسد تفاوت تیمارهای پوششی به غلظت اکسیژن درونی میوه، توانایی‌شان در به تأخیر انداختن پیری و کاهش فعالیت آنزیم‌های تخریب‌کننده آنتوسیانین‌ها مربوط است. از سویی میزان کاهش آنتوسیانین‌های مونوگلوکوزیدی بیشتر از انواع دی‌گلوکوزیدی بود که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر آن‌ها در مقابل تخریب است. به‌طور کلی واکس ژداسول و کیتوزان ۲ درصد نقش مؤثرتری در حفظ آنتوسیانین میوه انار در مدت ۱۲۰ روز انبارداری داشتند.

2005) و تمشک جنگلی (Han et al., 2004) نیز گزارش شده است. به نظر می‌رسد این پوشش‌ها با کاهش تلفات آب، ایجاد اتمسفر تغییر یافته و کاهش میزان اکسیژن در دسترس برای فعالیت آنزیم‌ها، تخریب آنتوسیانین را کند می‌کنند (Jiang et al., 2005). در این پژوهش میزان تخریب آنتوسیانین‌های مونوگلوکوزیدی در پایان دوره انبارداری بیشتر از آنتوسیانین‌های دی‌گلوکوزیدی بود، که علت آن به پایداری بیشتر آنتوسیانین‌های دی‌گلوکوزیدی نسبت به مونوگلوکوزیدی برمی‌گردد (Miguel et al., 2004; He et al., 2010; Varasteh et al., 2012).

#### نتیجه‌گیری کلی

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد که آنتوسیانین غالب در انار ملس ساوه سیانیدین ۳ و ۵-دی‌گلوکوزید است. افزایش میزان آنتوسیانین و تغییر

#### REFERENCES

1. Alighourchi, H., Barzegar, M. & Abbasi, S. (2008). Anthocyanins characterization of 15 Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their variation after cold storage and pasteurization. *European Food Research and Technology*, 227, 881-887.
2. Artés, F. & Tomás-Barberán, F. A. (2000). Postharvest technological treatments of pomegranate and preparation of derived products. *CIHEAM-Options Mediterraneennes*, 42, 199-204.
3. Barman, K., Asrey, R. & Pal, R. K. (2011). Putrescine and carnauba wax pretreatments alleviate chilling injury, enhance shelf life and preserve pomegranate fruit quality during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 130, 795-800.
4. Bhaskara-Reddy, B. M. V., Belkacemi, K., Corcuff, F. C., Arul, J. & Angers, P. (2000). Effect of preharvest chitosan sprays on postharvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 20, 39-51.
5. Dang, K. T. H., Singh, Z. & Winny, A. E. S. (2008). Edible coatings influence fruit ripening, quality, and aroma biosynthesis in mango fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1361-1370.
6. Falguera, F., Quintero, J. P., Jimenez, A., Munoz, J. A. & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science and Technology*, 22, 292-303.
7. Fawole, O. A. & Opara, U. L. (2013a). Effects of storage temperature and duration on physiological responses of pomegranate fruit. *Industrial Crops and Products*, 47, 300-309.
8. Fawole, O. A. & Opara, U. L. (2013b). Changes in physical properties, chemical and elemental composition and antioxidant capacity of pomegranate (cv. Ruby) fruit at five maturity stages. *Scientia Horticulturae*, 150, 37-46.
9. Ghasemnezhad, M., Zareh, S., Rassa, M. & Sajedi, R. H. (2013). Effect of chitosan coating on maintenance of aril quality, microbial population and PPO activity of pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Tarom) at cold storage temperature. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 368-374.
10. Gil, M. I., Tomas-Barberan, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M. & Kader, A. A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4581-4589.
11. Goncalves, B., Silva, A. P., Moutinho-Pereira, J., Bacelar, E., Rosa, E. & Meyer, A. S. (2007). Effect of ripeness and postharvest storage on the evolution of colour and anthocyanins in cherries (*Prunus avium* L.). *Food Chemistry*, 103, 976-984.
12. Han, C., Zhao, Y., Leonard, S. W. & Traber, M. G. (2004). Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria X ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biology and Technology*, 33, 67-78.

13. He, F., Mu, L., Yan, G. L., Liang, N. N., Pan, Q. H., Wang, J., Reeves, M. J. & Duan, C. Q. (2010). Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules*, 15, 9057-9091.
14. Hoa, T. T. & Ducamp, M. N. (2008). Effects of different coatings on biochemical changes of 'cat Hoa loc' mangoes in storage. *Postharvest Biology and Technology*, 48, 150-152.
15. Holcroft, D. M. & Kader, A. A. (1999). Carbon dioxide-induced changes in colour and anthocyanin synthesis of stored strawberry fruit. *HortScience*, 34, 1244-1248.
16. Holcroft, D. M., Gil, M. I. & Kader, A. A. (1998). Effect of carbon dioxide on anthocyanins, phenylalanine ammonia lyase and glucosyltransferase in the arils of stored pomegranates, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123, 136-140.
17. Hu, H., Li, X., Dong, C. & Chen, W. (2011). Effects of wax treatment on quality and postharvest physiology of pineapple fruit in cold storage. *African Journal of Biotechnology*, 10, 7592-7603.
18. Jiang, Y., Li, J. & Jiang, W. (2005). Effects of chitosan coating on shelf life of cold-stored litchi fruit at ambient temperature. *LWT-Food Science and Technology*, 38, 757-761.
19. Kader, A. A., Chordas, A. & Elyatem, S. M. (1984). Responses of pomegranates to ethylene treatment and storage temperature. *California Agriculture*, 38, 14-15.
20. Miguel, G., Fontes, C., Antunes, D., Neves, A. & Martins, D. (2004). Anthocyanin concentration of 'Assaria' pomegranate fruits during different cold storage conditions. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, 338-342.
21. Mousavinejad, G., Emam-Djomeh, Z., Rezaei, K. & Haddad-Khodaparast, M. H. (2009). Identification and quantification of phenolic compounds and their effects on antioxidant activity in pomegranate juices of eight Iranian cultivars. *Food Chemistry*, 115, 1274-1278.
22. Nanda, S., Rao, D. V. S. & Krishnamurthy, S. (2001). Effects of shrink film wrapping and storage temperature on the shelf life and quality of pomegranate fruits cv. Ganesh. *Postharvest Biology and Technology*, 22, 61-69.
23. Varasteh, F., Arzani, K., Barzegar, M. & Zamani, Z. (2012). Changes in anthocyanins in arils of chitosan-coated pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Rabbab-e-Neyriz) fruit during cold storage. *Food Chemistry*, 130, 267-272.
24. Vargas, M., Albors, A., Chiralt, A. & Gonzalez-Martinez, C. (2006). Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 164-171.
25. Wang, S. Y. & Gao, H. (2013). Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries (*Fragaria x aranassa* Duch.). *LWT-Food Science and Technology*, 52, 71-79.