Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 53, No 4, Winter 2023 (1045-1059)
DOI: 10.22059/ijhs.2022.339576.2022

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۳، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۴۰۱ (ص ۱۰۵۹-۱۰۴۵)

نشریه پژوهشی:

تأثیر ازن و عصاره مرزه خوزستانی بر ماندگاری و کیفیت آریل‌های انار رقم ملس ساوه

تقی اکبری[۱]، محمدعلی عسگری سرچشمه[۲*] و صمد نژاد ابراهیمی[۳]
۱ و ۲. دانشجوی دکتری و دانشیار، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۳. دانشیار، پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۱۸)

چکیده

آریل‌های انار آماده مصرف می‌تواند جایگزین مناسبی برای مصرف میوه‌های تازه باشند، اما عمر پس از برداشت کوتاهی دارند، بنابراین نیاز به روش ایمن و سالم برای حفظ کیفیت این آریل‌ها طی دوره نگهداری ضروری می‌باشد. به همین منظور آزمایش حاضر به منظور بررسی تأثیر تیمار تلفیقی ازن و عصاره مرزه خوزستانی بر روی آریل‌های انار رقم ملس ساوه طی دوره انبارمانی به مدت ۲۱ روز در سردخانه با دمای ٤ درجه سلسیوس انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل با دو عامل تیمار پس از برداشت (شامل هفت تیمار: ۱) ۱ پی‌پی‌ام ازن؛ ۲) ۳ پی‌پی‌ام ازن؛ ۳) ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره ۰/۵ درصد مرزه؛ ٤) ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره ۱ درصد مرزه؛ ۵) ازن ۳ پی‌پی‌ام + عصاره ۰/۵ درصد مرزه؛ ٦) ازن ۳ پی‌پی‌ام + عصاره ۱ درصد مرزه؛ و ۷) شاهد) و زمان نمونه‌برداری (صفر (قبل از انبارمانی)، ۷، ١٤ و ۲۱ روز پس از نگهداری آریل‌ها در سردخانه) با سه تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد بیشترین مقدار اسید قابل تیتراسیون (۱/۱۵ درصد)، آنتوسیانین (١٢٦ پی‌پی‌ام)، فنل کل (۱۱۵/٦ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم بافت تازه) و ویتامین ث (۳۰/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بافت تازه) در طول دوره انبارمانی از تیمار ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره ۰/۵ درصد مرزه بدست آمد. همچنین آریل‌های انار تیمار شده با ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره ۰/۵ درصد مرزه بالاترین کیفیت ظاهری و کمترین جمعیت باکتری‌های مزوفیلیک، سایکروفیلیک، مخمرها و آلودگی قارچی را داشتند. به طور کلی تیمار ترکیبی ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره ۰/۵ درصد مرزه خوزستانی به عنوان یک روش ایمن و سالم برای نگهداری آریل‌های انار در انبار توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: **آب ازن‌دار، آلودگی میکروبی، انبارمانی، صفات بیوشیمیایی، عصاره‌ی گیاهی**

Effect of ozone and *Satureja khuzistanica* extract on the shelf life and quality of pomegranate arils cv. Malas Saveh

Taghi Akbari[1], Mohammad Ali Askari Sarcheshmeh[2*] and Samad Nejad-Ebrahimi[3]
1, 2. Ph. D. Candidate and Associate Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
3. Associate Professor of Medicinal Plants Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran
(Received: May. 16, 2022 - Accepted: Sep. 07, 2022)

ABSTRACT

Ready-to-use pomegranate arils can be a good alternative to fresh fruits, but they have a short shelf life, so a safe and healthy method is needed to maintain the quality of these arils during storage. For this purpose, the present study was conducted to investigate the effect of combined ozone treatment and *Satureja khuzistanica* extract on pomegranate arils of Malas Saveh cultivar during storage for 21 days in the cold storage at 4 °C. Factorial experiment with two factors of postharvest treatments (including seven treatments: 1) 1 ppm ozone; 2) 3 ppm ozone; 3) 1 ppm ozone + 0.5% *S. khuzistanica* extract; 4) 1 ppm ozone + 1% *S. khuzistanica* extract; 5) 3 ppm ozone + 0.5% *S. khuzistanica* extract; 6) 3 ppm ozone + 1% *S. khuzistanica* extract; and 7) control), and sampling time (zero (before storage), 7, 14 and 21 days after storing arils in cold storage) were performed with three repetitions. The results showed that the highest amount of titratable acid (TA) (1.15%), anthocyanin (126 ppm), total phenol (115.6 mg GAE g^{-1} FW), and vitamin C (30.5 mg 100 g FW) during the storage period was obtained from 1 ppm ozone treatment with 0.5% extract of *S. khuzistanica*. Also, pomegranate arils treated with 1 ppm ozone + 0.5% *S. khuzistanica* extract had the highest appearance quality, and the lowest population of mesophilic, and psychrophilic bacteria, yeasts and fungal infections. In general, the combined treatment of ozone 1 ppm + 0.5% *S. khuzistanica* extracts is recommended as a safe and healthy method for storing pomegranate arils in storage.

Keywords: Biochemical traits, microbial contamination, ozonated water, plant extract, storage.

* Corresponding author E-mail: askari@ut.ac.ir

مقدمه

انار (*Punica granatun* L.) در آب و هوای گرمسیری و نیمه‌گرمسیری رشد می‌کند و یکی از قدیمی‌ترین میوه‌های خوراکی بومی ایران و کشورهای همجوار است (Stover & Mercure, 2007). پرورش انار برای هزاران سال در خاورمیانه، آسیای جنوبی، آناتولی و برخی از کشورهای اطراف مدیترانه ادامه داشته است (Selcuk & Erkan, 2015). مشخص شده است که موطن این میوه ایران و افغانستان بوده است که بعدها به کشورهای چین، هند و کشورهای مدیترانه گسترش یافته است (Askari Sarcheshmeh *et al*., 2020). میزان تولید این محصول در ایران در حدود ۱/۱ میلیون تن در سال می‌باشد ولی میزان صادرات ناچیز است (Pirzad *et al*., 2021). در سال‌های اخیر، محبوبیت میوه انار به دلیل ارزش تغذیه‌ای و خصوصیات دارویی آن افزایش یافته است (Buluc & Koyuncu, 2020). تحقیقات مربوط به محصولات مفید و دارای ارزش غذایی بالا به دلیل افزایش آگاهی در مورد سلامت غذایی در جهان افزایش یافته است. انار دارای مقدار بالایی از ترکیبات آنتی-اکسیدان و ویتامین C است که به عنوان یک غذای کاربردی و مفید در نظر گرفته شده است (Varasteh *et al*., 2012). میوه انار بصورت تازه‌خوری مصرف می‌شود اما آریل کردن آن مشکل بوده و این موضوع باعث کاهش مصرف آن شده است. از سوی دیگر میوه انار بسیار حساس به سوختگی، ترک‌خوردگی و سرمازدگی بوده که موجب کاهش کیفیت ظاهری و بازارپسندی محصول می‌شود، در حالی‌که آریل‌های آن همچنان سالم است (Varasteh *et al*., 2012). به همین دلیل عرضه آن بصورت آماده مصرف نه تنها می‌تواند تقاضا برای مصرف را افزایش دهد، بلکه مصرف آریل‌های سالمی که به دلیل وضعیت نامناسب پوست قابلیت عرضه به بازار را ندارند نیز امکان‌پذیر شده و می‌تواند باعث کاهش چشمگیر ضایعات آن گردد (Ghasemnezhad *et al*., 2013; Lopez *et al*., 2005). با این وجود مصرف‌کنندگان نگرانی‌های خاصی نسبت به استفاده از اینگونه محصولات غذایی به دلیل عدم اطمینان کامل از ایمن بودن آنها (به خاطر مصرف مواد نگهدارنده و ...) دارند. در ضمن آریل‌های آماده مصرف انار نیز مانند هر محصول آماده مصرف دیگری عمر پس از برداشت کوتاهی دارند. قهوه‌ای شدن آنزیمی، از دست دادن ارزش غذایی و کاهش ایمنی به دلیل رشد میکروارگانیسم‌ها عوامل مهمی هستند که عمر پس از برداشت آنها را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Labbe *et al*., 2010). در نهایت از یک طرف حفظ سلامت آریل‌های انار و از طرف دیگر ایجاد اطمینان برای مصرف‌کننده مبنی بر ایمن بودن محصول موجب گردیده تا از روش‌های ایمن و ساده جهت حفظ کیفیت محصولات آماده مصرف استفاده گردد.

ازن به عنوان یک ماده ضدعفونی‌کننده در سال ۲۰۰۱ تایید شده و مورد توجه محققان و مردم در بخش‌های مختلف قرار گرفته است (Karaca & Velioglu, 2020). ازن که به طور گسترده‌ای در صنایع غذایی استفاده می‌شود، یک ماده غیرسمی و ضدمیکروبی قوی است (Whangchai *et al*., 2006) و می‌تواند به صورت ایمن در دوز و مدت زمان مناسب در میوه‌ها و سبزی‌ها به صورت گاز یا حل شده در آب استفاده شود (Kuşçu & Pazır, 2004). در مطالعات قبلی، ازن به عنوان یک تیمار پس از برداشت در حفظ کیفیت و بهبود عمر انبارمانی میوه‌ها و سبزی‌ها استفاده شده است (Buluc & Koyuncu, 2020; Zhang *et al*., 2020; Özen *et al*., 2020). علاوه بر این تیمار ازن مقاومت میوه‌ها و سبزیجات را با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (Xu *et al*., 2019; Lv *et al*., 2019)، از بین بردن قارچ‌های بیماری‌زا (Paulikienė *et al*., 2020; De Santis *et al*., 2021) و جلوگیری از پیشرفت آلودگی میکروبی (Chen *et al*., 2020) افزایش داده است. با وجود اثرات مثبت اشاره شده، ازن در دوزهای بالا بر دیواره سلولی محصولات حساس یا با دیواره نازک مثل آریل انار، توت، توت‌فرنگی و ... اثر تخریبی دارد (Buluc & Koyuncu, 2020)، از طرف دیگر در دوزهای پایین نیز تاثیر آن در از بین بردن میکروارگانیسم‌ها کاهش می‌یابد. بنابراین اخیراً کاربرد ازن تا حدودی برای محصولی حساس همانند آریل انار محدود گردیده است، که البته راهکار آن شاید افزودن مواد آنتی‌اکسیدان و محافظت‌کننده مثل اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی است تا هم دیواره سلولی نازک آریل‌ها را در برابر خاصیت اکسیدکنندگی

بالای ازن مصون نگه دارد و هم موجب کاهش آلودگی میکروبی آریل‌ها شود (Hasheminya *et al*., 2019).

اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌تواند به دلیل ترکیبات پلی‌فنلی آنها باشد (Shehata *et al*., 2020; Almasaudi *et al*., 2022). تحقیقات انجام شده در سال‌های اخیر نشان می‌دهد که عصاره و اسانس تعداد زیادی از گیاهان دارویی اثرات بازدارندگی و گاهی کشندگی کامل میکروارگانیسم‌های مختلف را دارند (Fazeli *et al*., 2007). در صنایع غذایی نیز به علت گرایش منفی مردم در مصرف غذاهایی که در آنها از نگهدارنده‌های شیمیایی استفاده شده است، باعث گردیده که از منابع گیاهی علاوه بر طعم‌دهنده، به عنوان ضد میکروب نیز استفاده نمایند (Burt, 2004). مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*) گیاهی بومی ایران است که کارواکرول به عنوان جزء اصلی اسانس این گیاه محسوب می‌شود. شواهد زیادی مبنی بر خواص ضدویروسی، ضدباکتریایی و ضدقارچی اجزای سازنده اسانس مرزه گزارش شده است (Hasheminya *et al*., 2019). گزارش شده است اسانس مرزه خوزستانی غنی از کارواکرول و تیمول است که می‌تواند اثرات آنتی‌اکسیدانی بالایی داشته باشد (Saidi, 2014). جمعیت قارچ‌های *Penicillium digitatum*، *Botrytis cinerea* و *Rhizopus stolonifera* در میوه‌های توت‌فرنگی با کاربرد اسانس سه گونه مرزه کاهش معنی‌داری یافته است و در بین سه گونه مرزه، مرزه خوزستانی قوی‌ترین اسانس از نظر فعالیت قارچ‌کشی را داشت که می‌تواند برای استفاده در صنایع غذایی برای کنترل کپک‌ها و بهبود ایمنی میوه‌ها و سبزیجات مناسب باشد (Farzaneh *et al*., 2015). همچنین در مطالعه‌ای دیگر گزارش شده است صمغ کتیرای غنی‌شده با اسانس مرزه خوزستانی تعداد میکروارگانیسم‌هایی مانند مخمرها، کپک‌ها و باکتری‌ها را در مقایسه با نمونه‌های شاهد کاهش داده است و موجب افزایش تجمع مواد فنلی، اسید آسکوربیک، سفتی بافت و حفظ کیفیت تغذیه‌ای قارچ تکمه‌ای با کاهش درصد قهوه‌ای شدن شده است (Nasiri *et al*., 2018).

با توجه به موارد ذکر شده، در این مطالعه سعی شد تا با کاربرد عصاره گیاهی مرزه خوزستانی آسیب‌زدگی ازن به آریل‌های انار را کاهش داده، و ترکیبات مفید مانند فنل کل، آنتوسیانین و ویتامین ث را حفظ کرد تا بتوان کیفیت تغذیه‌ای و ظاهری آریل‌های انار را طی دوره نگهداری بهبود بخشید.

مواد و روش‌ها

تهیه میوه‌های انار

میوه‌های انار رقم ملس ساوه در زمان بلوغ تجاری (بر اساس شاخص میزان مواد جامد محلول که بیش از ۱۳ درجه بریکس باشد) از درختان پانزده ساله موجود در یک باغ تجاری انار واقع در شهرستان ساوه برداشت و بی‌درنگ در همان روز به آزمایشگاه پس از برداشت گروه علوم باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل گردید. در آغاز میوه‌های ناسالم شامل میوه‌های آفتاب‌سوخته، ترکیده، آفت‌زده، له شده و ضرب دیده جدا و میوه‌های سالم انتخاب شده شستشو شدند. سپس آریل‌ها از پوست میوه جدا گردیده و تحت تأثیر تیمارهای موردنظر قرار گرفتند.

تهیه تیمارها

استخراج عصاره مرزه خوزستانی به روش خیساندن انجام شد. بدین منظور، اندام هوایی مرزه خوزستانی با آسیاب پودر و از الک با شماره منفذ ۴۰ عبور داده شد. پودر اندام هوایی این گیاهان با نسبت ۱:۱۰ (۱ گرم پودر اندام هوایی در ۱۰ میلی‌لیتر حلال (آب) در دمای محیط به مدت ۳ ساعت به خوبی مخلوط و عصاره حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ جدا شد (Jamshidi *et al*., 2014). جهت ازنه‌کردن آب مورداستفاده نیز از دستگاه تولیدکننده ازن مدل MHP 1H ساخت کشور فرانسه استفاده شد.

اعمال تیمار

آزمایش به صورت فاکتوریل با دو عامل تیمار پس از برداشت (شامل هفت تیمار: ۱) ازن ۱ پی‌پی‌ام ؛ ۲) ازن ۳ پی‌پی‌ام ؛ ۳) ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره ۰/۵ درصد مرزه؛ ۴) ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره ۱ درصد مرزه؛ ۵) ازن ۳ پی‌پی‌ام

+ عصاره ۰/۵ درصد مرزه؛ ۶) ازن ۳ پی‌پی‌ام + عصاره ۱ درصد مرزه؛ و ۷) شاهد) و زمان نمونه‌برداری (صفر (قبل از انبارمانی)، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از نگهداری آریل‌ها در سردخانه) با سه تکرار اجرا شد. جهت اعمال تیمار ابتدا آریل‌ها (۱۵۰ گرم برای هر تکرار) به مدت ۵ دقیقه در محلول عصاره گیاهی (غلظت‌های ۰/۵ و ۱ درصد) غوطه‌ور شدند، و پس از خشک کردن اولیه تحت تیمار آب ازن‌دار (به روش غوطه‌وری به مدت ۱ دقیقه در غلظت‌های ۱ و ۳ پی‌پی‌ام) قرار داده شدند. سپس آریل‌ها در دمای آزمایشگاه (۱±۲۴ درجه سلسیوس) قرار گرفتند تا خشک شوند. پس از خشک شدن، آریل‌های هر تکرار در ظروف پلاستیکی درب‌دار قرار داده شدند و به سردخانه‌ای با دمای ۴ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۹۰ درصد منتقل گردید. نگهداری نمونه‌ها در سردخانه ۲۱ روز به طول انجامید و طی این مدت در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱، نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری صفات مورد نظر انجام شد.

ارزیابی ویژگی‌ها

pH آب میوه

ابتدا pH متر دیجیتال (مدل pH-200 L شرکت Istek ساخت کشور کره) با استفاده از بافرهای ۴ و ۷ کالیبره شد. سپس عصاره آریل‌های انار را در بشر ریخته و پس از قراردادن الکترودها در محلول، pH مورد نظر قرائت شد. پس از هر قرائت الکترود با آب مقطر شستشو داده شد و با کاغذ صافی خشک گردید (Holcroft *et al*., 1998).

اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)

از روش تیتراسیون با سود ۰/۲ نرمال برای اندازه‌گیری میزان اسیدهای آلی استفاده شد. مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب میوه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و سپس تیتراسیون با استفاده از سود ۰/۲ نرمال تا رسیدن به pH حدود ۸/۲ انجام شد. میزان اسیدیته قابل تیتراسیون بر اساس اسید غالب (اسید سیتریک) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Han *et al*., 2004):

$$C= [(N\times V\times E) \div D] \times 100$$

که در آن، C اسیدیته قابل تیتراسیون عصاره برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره، N نرمالیته سود مصرفی، V حجم سود مصرفی، E اکی والان گرم اسید آلی غالب و D حجم نمونه بر اساس میلی‌لیتر است.

مواد جامد محلول (TSS)

مواد جامد محلول با استفاده از دستگاه رفراکتومتر دستی مدل PR-101 اندازه‌گیری شد. دستگاه ابتدا با آب مقطر کالیبره گردید و سپس دو قطره از آب آریل انار در عدسی دستگاه قرار داده شد و درصد مواد جامد محلول بر حسب درجه بریکس به دست آمد (Khan *et al*., 1985).

محتوای آنتوسیانین

به منظور اندازه‌گیری غلظت آنتوسیانین به ۱ میلی‌لیتر عصاره‌ی آریل‌های انار ۱۰ میلی‌لیتر متانول حاوی ۱ درصد اسید کلریدریک (حجمی/حجمی) افزوده و نمونه حاصل به مدت یک دقیقه همزده و سپس با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. فاز بالایی جدا و جذب آن به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160, Japan) در طول موج‌های ۵۱۰ و ۷۰۰ نانومتر ثبت شد. غلظت آنتوسیانین‌های موجود در نمونه بر حسب پی‌پی‌ام بیان شد (Wang & Gao, 2013).

محتوای فنل کل

اندازه‌گیری محتوای فنل کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتو انجام شد (Singleton & Rossi, 1965). برای همین منظور، به ۱ میلی‌لیتر عصاره صاف شده آریل‌ها ۵۰ میلی‌لیتر متانول اضافه شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۶۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۱/۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد، سپس ۱ میلی‌لیتر از معرف فولین سیوکالتو ۰/۲ نرمال به آن اضافه شد. مخلوط به دست آمده به مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شد. سپس میزان جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۵۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت، میزان فنل کل بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم بافت تازه بیان شد.

محتوای ویتامین C

برای اندازه‌گیری میزان ویتامین ث موجود در آریل‌های انار از روش یدومتریک استفاده شد (Sayyari *et al*., 2011). برای این منظور ۲۵ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده آریل‌ها به داخل ارلن مایر ریخته و به آن ۱۰ قطره نشاسته ۱ درصد اضافه شد سپس با محلول ید تا زمان تشکیل رنگ آبی تیتر شد. پایان تیتراسیون زمانی که رنگ آبی تشکیل شده به مدت ۲۰ ثانیه پایدار ماند، کامل شد. میزان ویتامین آریل‌ها بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر میوه بیان شد.

ارزیابی حسی

به منظور ارزیابی حسی آریل‌های انار تیمار شده از ۵ نفر ارزیاب استفاده شد و پرسش‌نامه‌ای که قبلاً تهیه شده بود را تکمیل نمودند. پرسش‌نامه شامل سوالاتی از قبیل چگونگی رنگ، طعم، بو و بافت آریل‌ها بوده که به هر میوه‌ی مورد تست نمره‌ای تعلق می‌گرفت. به این صورت که به ویژگی‌های رنگ، طعم، بو و بافت آریل‌های انار نمره‌ای از ۱ تا ۵ داده شد که ۱: بسیارکم، ۲: کم، ۳: متوسط، ۴: زیاد و ۵: بسیار زیاد بود (Valero *et al*., 2008).

سنجش آلودگی میکروبی

در مراحل مختلف نمونه‌برداری سنجش آلودگی میکروبی بر روی آن‌ها صورت گرفت. برای این منظور از محیط‌های کشت پی‌دی‌ای (Potato dextrose agar) (برای آزمون میکروبی شمارش کپک و مخمر) و پی‌سی‌ای (Plate count agar) (برای آزمون میکروبی شمارش باکتری مزوفیلیک و سایکروفیلیک) استفاده شد (Kalb *et al*., 2013). برای همین منظور ابتدا ۳۰ گرم آریل از هر تکرار برداشته شد و در شرایط استریل به طور جداگانه آب آنها گرفته شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از آب میوه با ۹ میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده سرم فیزیولوژی مخلوط شد تا رقت 10^{-1} حاصل شود. سپس از آن برای درست کردن رقت‌های 10^{-2}، 10^{-3}، 10^{-4} استفاده شد. برای شمارش کپک و مخمر از هر یک از رقت‌های ساخته شده، میزان ۰/۱ میلی‌لیتر با میکروپیپت استریل بر روی محیط کشت پی‌دی‌ای منتقل و در سه تکرار به شکل سطحی کشت داده شد. پس از ۵-۳ روز نگهداری در انکوباتور ۲۵ درجه سلسیوس تعداد کلنی‌های هر پلیت شمارش شد. برای شمارش باکتری‌های مزوفیلیک و سایکروفیلیک از هر یک از رقت‌های ساخته شده، مقدار ۱ میلی‌لیتر با پیپت استریل در پلیت ریخته و کشت مخلوط یا آمیخته با استفاده از محیط کشت پی‌سی‌ای مذاب در سه تکرار انجام شد. پلیت‌ها پس از منعقد شدن به صورت وارونه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری‌های مزوفیلیک و ۷ درجه سانتی‌گراد برای باکتری‌های سایکروفیلیک به مدت ۴۸-۲۴ ساعت قرار داده شدند. سپس تعداد کلنی‌های هر پلیت شمارش شد. نتایج سنجش میکروبی بر اساس تعداد کلنی تشکیل شده بر حسب $\log_{10}$ cfu/ml گزارش گردید.

آنالیز آماری

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون LSD انجام شد.

نتایج و بحث

pH

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار و زمان انبارمانی و برهمکنش این دو عامل در سطح احتمال یک درصد بر pH آریل انار رقم ملس ساوه معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$؛ جدول ۱). بیشترین مقدار pH در آریل‌های انار تیمار نشده (کنترل) در روز ۲۱ روز انبارمانی بدست آمد، و در تیمارهای کنترل، و ازن ۱ و ۳ پی‌پی‌ام در طول انبارمانی روند افزایشی، و در سایر تیمارها روند کاهش داشت، طوری که کمترین مقدار آن در روز آخر انبارمانی در آریل‌های انار تیمار شده با ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره ۰/۵ درصد مرزه بدست آمد (شکل ۱). طی دوره رسیدن محصول و نگهداری در انبار pH محصول افزایش می‌یابد که ناشی از نشت اسیدهای آلی از واکوئل به درون سیتوزول و اکسیداسیون این اسیدهای آلی طی فرآیند تنفس و تبدیل شدن اسیدهای آلی به قند است (Taheri *et al*., 2020). این افزایش در اکثر میوه‌ها متفاوت

می‌باشد، زیرا علاوه بر اسیدهای آلی سایر مواد موجود در میوه نظیر قندها، فعالیت میکروبی و تولید متابولیت‌های اسیدی نیز امکان تأثیر بر pH را دارند (Zahran *et al*., 2015)، به همین دلیل پیش‌بینی افزایش یا کاهش pH در میوه‌هایی مثل انار در طول دوره انبارمانی مشکل می‌باشد. گزارش شده است که کاربرد ازن در گشنیز موجب کاهش تنفس و حفظ pH محصول می‌شود (Xu *et al*., 2019). عصاره‌های گیاهی هم از طریق تأثیر بر کاهش تنفس و حفظ کیفیت میوه طی دوره انبارمانی، می‌توانند سبب حفظ pH محصول طی دوره انبارمانی شوند که چنین نتایجی در فلفل دلمه‌ای گزارش شده است (Taheri *et al*., 2020).

اسید قابل تیتراسیون (TA)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار و زمان انبارمانی و برهمکنش این دو عامل در سطح احتمال یک درصد بر اسید قابل تیتراسیون آریل انار رقم ملس ساوه معنی‌دار بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۱).

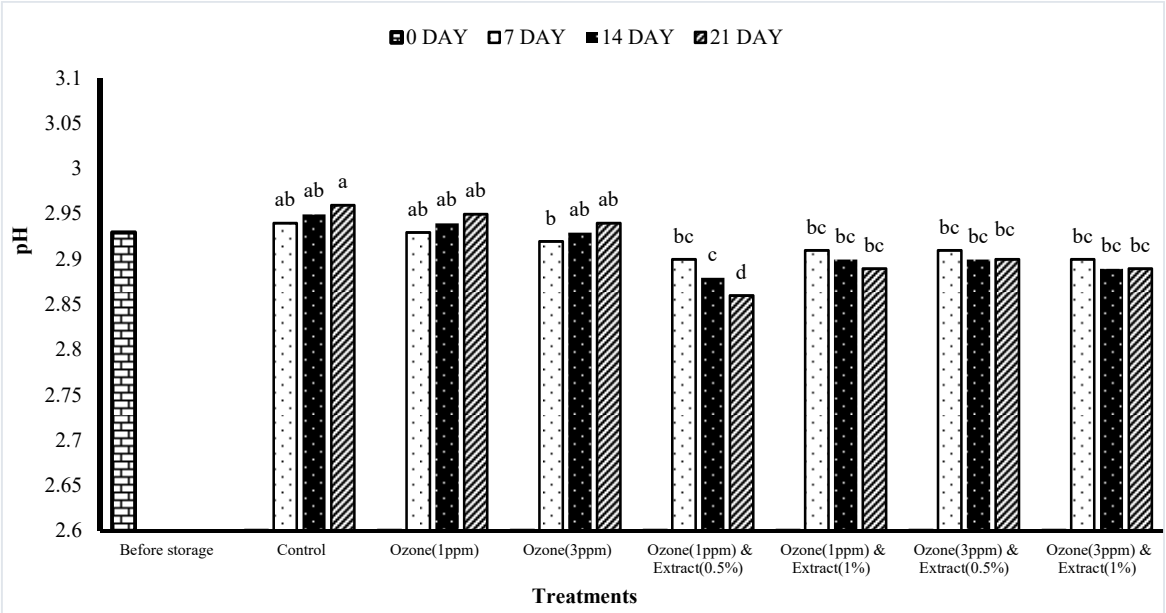
جدول ۱. تجزیه واریانس اثر ترکیبی ازن و عصاره‌ی مرزه خوزستانی بر خصوصیات کمی، کیفی و فیتوشیمیایی آریل انار رقم ملس ساوه طی دوره انبارمانی

Table 1. Analysis of variance of the combined effect of ozone and *Satureja khuzistanica* extract on quantitative, qualitative and phytochemical properties of pomegranate arils of Malas Saveh cultivar during storage

Sources of variation	df	Mean of suares										
		pH	TA	TSS	Anthocyanin	Ascorbic acid	Total phenol	Sensory evaluation	Mesophilic bacteria	Psychrophilic bacteria	Yeast	Fungal
Treatment	6	0.018^{ns}	0.037**	1.05**	988.1**	311.1**	1427.006**	8.75**	15.89**	14.66**	14.61**	16.57**
Storage time	2	0.18^{ns}	0.113**	1.12**	1503.5**	91.04**	2731.39**	46.15**	51.12**	46.96**	60.01**	57.2**
Treatment× Storage time	12	0.005^{ns}	0.008**	0.088**	77.98**	9.99**	36.18**	1.28**	4.72**	4.72**	4.63**	4.33**
Error	42	0.001	0.0008	0.004	0.029	0.4	0.101	0.19	0.043	0.043	0.063	0.394
CV (%)	-	1.13	2.97	0.41	0.15	2.8	0.36	19.78	7.14	7.14	8.89	20.87

Ns، **، *: به ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار و تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

Ns, **, *: not significant and significant differences at 1 and 5% of probability levels, respectively.



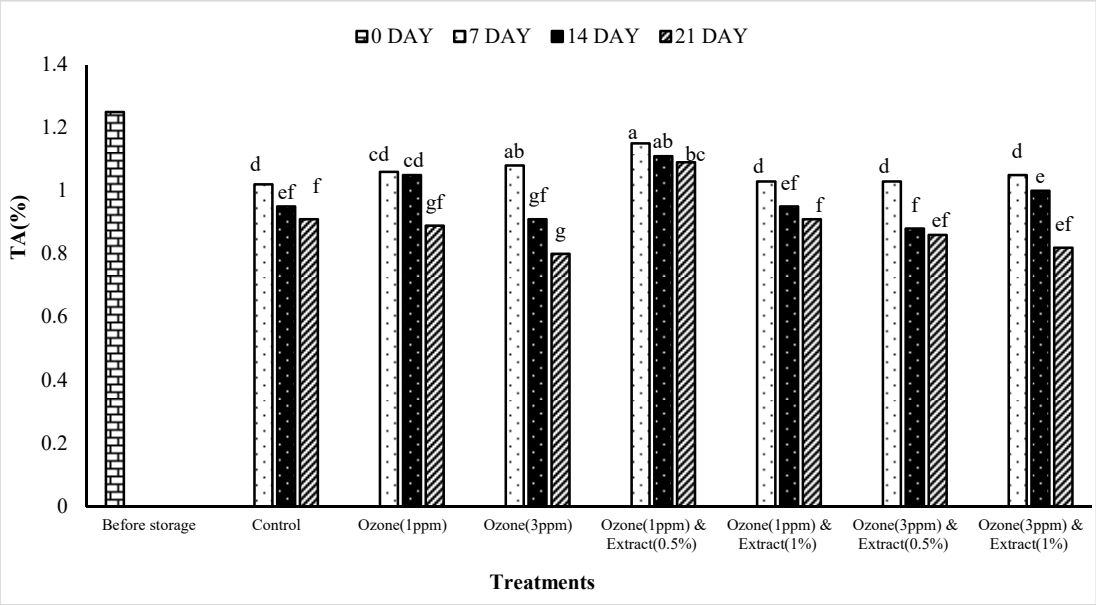
شکل ۱. تأثیر ازن و عصاره مرزه بر pH آریل انار رقم ملس ساوه طی دوره انبارمانی

Figure 1. The effect of ozone and *Satureja khuzistanica* extract combination on pH of pomegranate arils cv. Malas Saveh during storage

بیشترین مقدار اسید قابل تیتراسیون در آریل‌های انار تیمارشده با ازن ۱ پی‌پی‌ام+ عصاره مرزه ۰/۵ درصد در هفتمین روز انبارمانی بدست آمد، ولی با افزایش زمان انبارمانی مقدار اسید قابل تیتراسیون در اکثر تیمارها روند کاهشی داشت، طوری که کمترین مقدار آن در روز آخر انبارمانی در آریل‌های انار تیمار شده با ازن ۳ پی‌پی‌ام بدست آمد (شکل ۲). اسیدهای آلی به همراه قند نقش مهمی در ایجاد طعم میوه دارند و نسبت بین اسیدهای آلی و قند عامل تعیین-کننده‌ای در طعم شیرین یا ترش میوه است (Buluc & Koyuncu, 2020). طی دوره انبارمانی مقدار اسیدهای آلی به دلیل تبدیل شدن به قند طی فرآیند تنفس کاهش می‌یابد و عدم کاربرد تیمارهای پس از برداشت و شرایط نگهداری نامناسب میزان کاهش اسیدهای آلی میوه را افزایش می‌دهند (Khan *et al*., 2008). در این تحقیق کاربرد ازن به همراه عصاره مرزه توانست اسیدیته آریل‌های انار طی دوره نگهداری را حفظ کند. البته بسته به دوز کاربردی ازن و غلظت عصاره نتایج متفاوت بود طوری که بیشترین تأثیر را در حفظ اسیدیته در هر سه زمان اندازه‌گیری تیمار ترکیبی ازن ۱ پی‌پی‌ام+ عصاره مرزه ۰/۵ درصد داشت. ازن و عصاره‌های گیاهی از طریق کاهش تنفس و تبخیر و تعرق میوه‌ها سبب حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری میوه‌ها می‌شوند (Wei *et al*., 2018). گزارش شده است که که ازن ۰/۵ پی‌پی‌ام با جلوگیری از فعالیت‌های متابولیکی انار میزان تنفس و از دست رفتن اسیدیته را کاهش می‌دهد (Buluc & Koyuncu, 2020). همچنین کاربرد اسانس‌های گیاهی در شرایط پس از برداشت میوه توت‌فرنگی، باعث حفظ اسیدکل میوه‌ها نسبت به میوه‌های شاهد شد (Wei *et al*., 2018).

مواد جامد محلول (TSS)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار و زمان انبارمانی و برهمکنش این دو عامل در سطح احتمال یک درصد بر مقدار مواد جامد محلول آریل انار رقم ملس ساوه معنی‌دار بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۱). بیشترین مقدار مواد جامد محلول در آریل‌های انار تیمار شده با ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره مرزه ۰/۵ درصد در هفتمین روز انبارمانی بدست آمد، ولی با افزایش زمان انبارمانی مقدار مواد جامد محلول در همه تیمارها روند کاهشی داشت، طوری که کمترین مقدار آن در روز آخر انبارمانی در آریل‌های انار تیمار شده با ازن ۳ پی‌پی‌ام بدست آمد (شکل ۳).



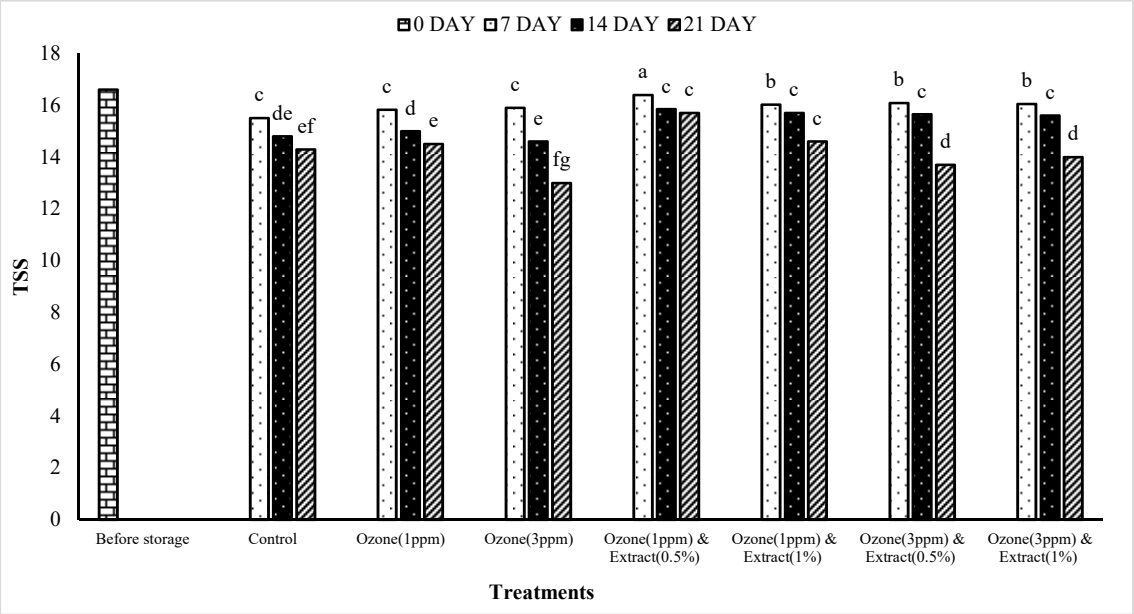
شکل ۲. تأثیر ازن و عصاره مرزه بر اسید قابل تیتراسیون (TA) آریل انار رقم ملس ساوه طی دوره انبارمانی

Figure 2. The effect of ozone and *Satureja khuzistanica* extract combination treatment on TA of pomegranate arils cv. Malas Saveh during storage

قسمت اعظم مواد جامد محلول قابل حل در میوه شامل قندها و درصد کمی نیز شامل اسیدهای آمینه، اسید آلی، ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌باشد و در طعم و بافت میوه مؤثر می‌باشند (Souza *et al*., 2018). در تحقیق حاضر میزان مواد جامد با افزایش زمان انبارمانی در همه تیمارها کاهش یافت که چنین گزارشی در آریل‌های انار ارائه شده است (Aindongo *et al*., 2013) و ناشی از مصرف این مواد جامد محلول طی فرآیند تنفس می‌باشد ولی کاربرد ازن و عصاره مرزه توانست سبب حفظ مواد جامد محلول و کاهش تنفس در آریل‌های انار شود که بیشترین میزان مواد جامد محلول نیز در تیمار ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره مرزه ۰/۵ درصد بدست آمد. در میوه توت‌فرنگی نشان داده شده است که از دست رفتن مواد جامد محلول در میوه‌های تیمار شده با ازن کاهش می‌یابد که با نتایج ما مطابقت داشت (Zhang *et al*., 2020). در مورد تأثیر عصاره مرزه بر حفظ مواد جامد محلول هم گزارش شده است که در انگورهای تیمار شده با اسانس‌های ریحان، رازیانه، مرزه و آویشن میزان مواد جامد محلول حفظ شد (Abdolahi *et al*., 2010). در واقع کاربرد عصاره مرزه به همراه ازن علاوه بر افزایش اثرات مثبت ازن سبب کاهش اثرات منفی آن نیز شده است.

آنتوسیانین

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار و زمان انبارمانی و برهمکنش آنها در سطح احتمال یک درصد بر میزان آنتوسیانین آریل انار رقم ملس ساوه معنی‌دار بود ($P<$ ۰/۰۵؛ جدول ۱). بیشترین مقدار آنتوسیانین در آریل‌های انار تیمار شده با ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره مرزه ۰/۵ درصد در هفتمین روز انبارمانی بدست آمد، ولی با افزایش زمان انبارمانی مقدار آنتوسیانین در همه تیمارها روند کاهشی در پیش گرفت، طوری که کمترین مقدار آن در روز آخر انبارمانی در آریل‌های انار تیمار نشده (کنترل) بدست آمد. این موضوع نشان می‌دهد که کاربرد ترکیبی ازن و عصاره مرزه سبب حفظ آنتوسیانین آریل‌های انار شده است (شکل ۴). آنتوسیانین عامل اصلی رنگ پوست میوه و آریل انار است و کاهش میزان آنتوسیانین کل آریل‌های انار در شرایط انباری می‌تواند نتیجه تخریب آنها در اثر افزایش فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل‌اکسیداز و پراکسیداز باشد (Wang & Gao, 2013). تیمارهای پس از برداشت بکار رفته در تحقیق حاضر به طور معنی‌داری تخریب آنتوسیانین‌ها را به تأخیر انداختند که بیشترین تأثیر را تیمار ترکیبی ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره مرزه ۰/۵ درصد داشت.



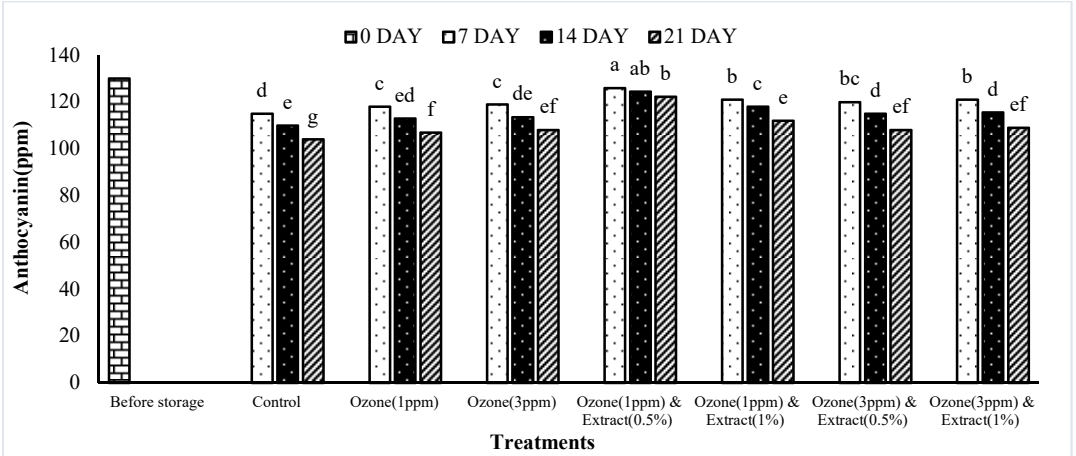
شکل ۳. تأثیر تیمار ترکیبی ازن و عصاره گیاهی بر مواد جامد محلول (TSS) آریل انار رقم ملس ساوه طی دوره انبارمانی

Figure 3. The effect of ozone and *Satureja khuzistanica* extract combination treatment on TSS of pomegranate arils of Malas Saveh cultivar during storage

تأثیر مثبت ازن و عصاره مرزه در حفظ آنتوسیانین می‌تواند از طریق کاهش تلفات آب، کاهش میزان اکسیژن در دسترس برای فعالیت آنزیم‌ها، کاهش تنفس و ایجاد اتمسفر تغییر یافته باشد که موجب کاهش سرعت تخریب آنتوسیانین طی دوره پس از برداشت می‌باشد (Saidi, 2014). تأثیر ازن بر حفظ آنتوسیانین طی دوره انبارمانی در میوه توت‌فرنگی گزارش شده است (Zhang *et al*., 2020). علت تأثیر عصاره مرزه بر حفظ آنتوسیانین طی دوره انبارمانی به احتمال زیاد می‌تواند به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مرزه باشد که از اکسیده شدن آنتوسیانین در اثر فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز در طول دوره انبارمانی جلوگیری می‌کند و خروج رنگیزه از واکوئل را به تأخیر انداخته و در نتیجه سرعت تغییر رنگ را کند می‌کند (Saidi, 2014).

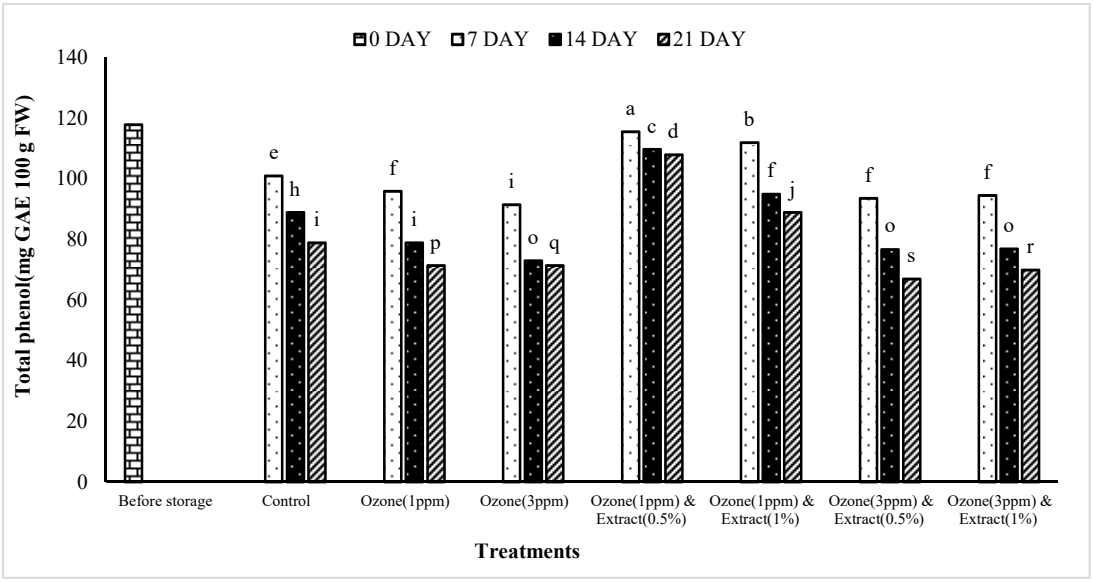
فنول کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار و زمان انبارمانی و برهمکنش آنها در سطح احتمال یک درصد بر میزان فنل کل انار رقم ملس ساوه معنی‌دار بود (P< ۰/۰۵؛ جدول ۱). بیشترین میزان فنول کل در آریل‌های انار تیمار شده با ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره مرزه ۰/۵ درصد در هفتمین روز انبارمانی بدست آمد (شکل ۵). ترکیبات فنلی جزء متابولیت‌های ثانویه در گیاه می‌باشند که در پاسخ به عوامل تنش‌زای درونی و بیرونی در مکانیسم دفاعی گیاه سنتز می‌شوند و از طرف دیگر مسئول ایجاد عطر، طعم و رنگ در میوه ها می‌باشند (Xu *et al*., 2019). در تحقیق حاضر کاربرد تیمارهای ترکیبی ازن و عصاره مرزه تا حدودی از کاهش فنل کل جلوگیری کرد. ازن با غیرفعال نمودن آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز سبب حفظ ترکیبات فنلی و کاهش قهوه‌ای شدن آنزیمی می‌شود (Xu *et al*., 2019). گزارش شده است که ازن ظاهر فیزیکی گشنیز را حفظ کرده و میزان تنفس و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز را کاهش می‌دهد (Xu *et al*., 2019). در آزمایش حاضر غلظت ۱ پی‌پی‌ام ازن نسبت به غلظت ۳ پی‌پی‌ام آن تأثیر بیشتری در حفظ ترکیبات فنلی داشت که دلیل آن می‌تواند به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی مربوط باشد. زیرا غلظت‌های بالای ازن می‌تواند منجر به تنش اکسیداتیو و تولید اکسیژن‌های فعال شود که باید توسط آنتی‌اکسیدان‌های موجود در بافت میوه مثل ترکیبات فنولی مهار شوند و این واکنش مهار اکسیژن‌های فعال موجب مصرف ترکیبات فنلی می‌شود (Glowacz *et al*., 2015)، که در نهایت سبب کاهش ترکیبات فنولی می‌شود. عصاره‌های گیاهی نیز همانند ازن با کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز و همچنین خواص ضد میکروبی خود بر عمر انباری (ماندگاری) و حفظ ترکیبات فنلی محصولات بسیار مؤثر هستند (Alikhani *et al*., 2009; Taheri *et al*., 2020).



شکل ۴. تأثیر تیمار ترکیبی ازن و عصاره مرزه بر آنتوسیانین آریل انار رقم ملس ساوه طی دوره انبارمانی

Figure 4. The effect of ozone and *Satureja khuzistanica* extract combination treatment on total anthocyanin of pomegranate arils cv. Malas Saveh during storage



شکل ۵. تأثیر تیمار ترکیبی ازن و عصاره گیاهی بر فنل کل آریل انار رقم ملس ساوه طی دوره انبارمانی

Figure 5. The effect of ozone and *Satureja khuzistanica* extract combination treatment on total phenol of pomegranate arils of Malas Saveh cultivar during storage

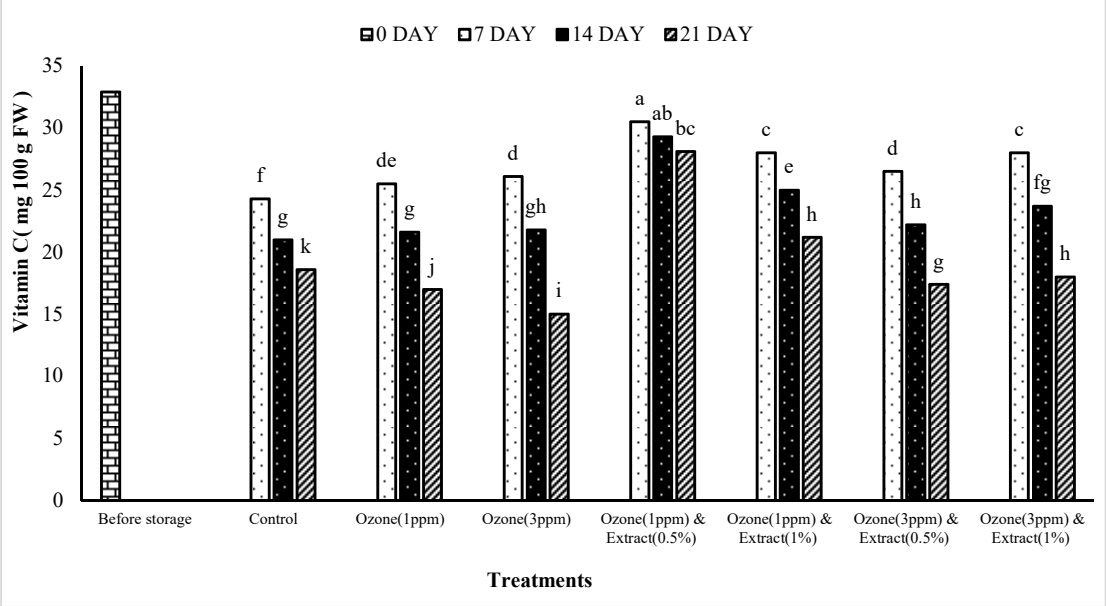
ویتامین ث

نتایج نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار و زمان انبارمانی و برهمکنش آنها در سطح احتمال یک درصد بر محتوای ویتامین ث آریل انار رقم ملس ساوه معنی‌دار بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۱). با افزایش زمان انبارمانی محتوای ویتامین ث در همه تیمارها روند کاهشی داشت، ولی در تیمار ترکیبی ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره مرزه ۰/۵ درصد در همه زمان‌های انبارمانی محتوای ویتامین ث بیشتر بود و کمترین تغییرات در محتوای ویتامین ث در این تیمار مشاهده شد (شکل ۶). ویتامین ث قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن بوده و از تنش‌های اکسیداتیو جلوگیری می‌کند (Nasiri *et al*., 2018). به نظر می‌رسد تیمار ترکیبی ازن و عصاره مرزه با کاهش میزان اکسیژن در دسترس، اکسیداسیون آسکوربیک اسید را کاهش داده باشند. دلیل کاهش ویتامین ث طی دوره انبارمانی ناشی از مصرف این ویتامین به عنوان دهنده‌ی الکترون به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان‌ها برای خنثی کردن رادیکال‌های آزاد می‌باشد (Sogvar *et al*., 2016). کاربرد ازن در میوه توت‌فرنگی طی دوره پس از برداشت موجب حفظ اسید آسکوربیک در میوه‌های تیمار شده گردید (Zhang *et al*., 2020). همچنین گزارش شده است که کاربرد صمغ کتیرا غنی‌شده با اسانس مرزه خوزستانی در قارچ تکمه‌ای طی دوره پس از برداشت سبب جلوگیری از کاهش اسید آسکوربیک در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد شد (Nasiri *et al*., 2018).

ارزیابی حسی

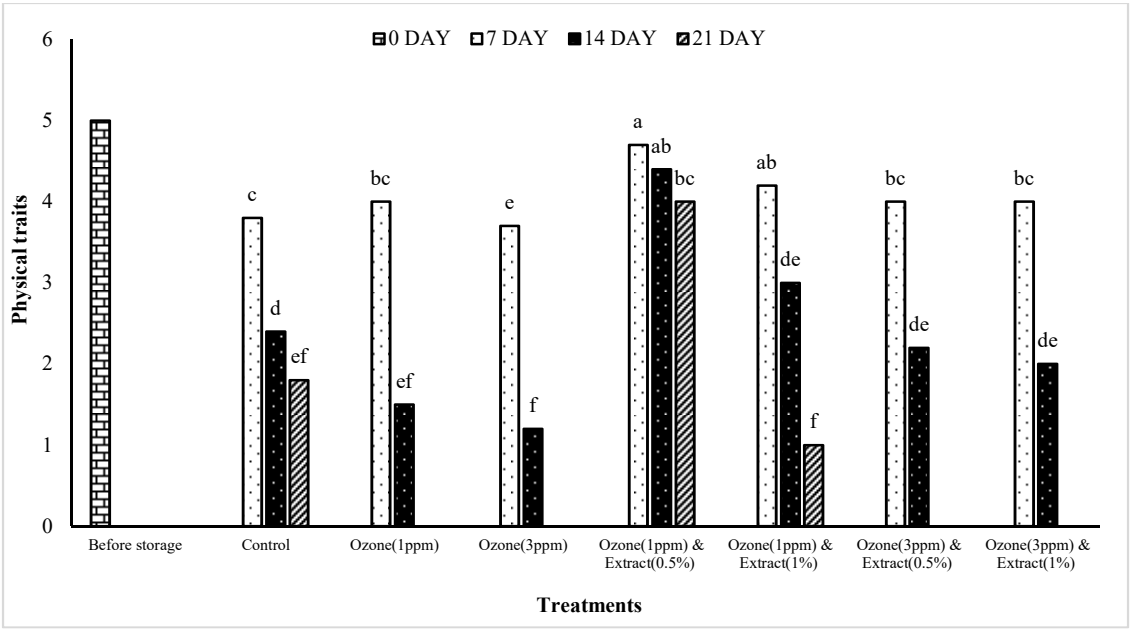
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار و زمان انبارمانی و برهمکنش آنها در سطح احتمال یک درصد بر ارزیابی حسی آریل انار رقم ملس ساوه معنی‌دار بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۱). مطابق نتایج مقایسه میانگین، آریل‌های انار تیمار شده با ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره مرزه ۰/۵ درصد در همه روزهای انبارمانی بیشترین امتیاز را از نظر ارزیابی حسی به خود اختصاص دادند (شکل ۷). هر عاملی که بتواند کیفیت ظاهری و خوراکی محصولات باغی را طی دوره انبارمانی حفظ کند و سرعت فرآیندهای متابولیکی و تنفس را کاهش دهد، می‌تواند سبب افزایش بازارپسندی و کاهش قهوه‌ای شدن این محصولات شود (Özen *et al*., 2020). در تحقیق حاضر، با افزایش زمان انبارمانی همانطور که انتظار می‌رفت امتیازات داده‌شده به کیفیت حسی آریل-های انار کاهش یافت و عطر، طعم و رنگ آریل‌ها به طور معنی‌داری دچار زوال شد. در نمونه‌های تیمار

شده با ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره مرزه ۰/۵ درصد به دلیل کاهش تنفس، کاهش پوسیدگی قارچی و باکتریایی و ویژگی ضد پیری آن کیفیت خوراکی آریل‌ها حفظ شد و از نظر عطر، تازگی، مزه و بافت بهتر از تیمارهای دیگر بود. در یک گزارش آب ازن‌دار با جلوگیری از تخریب کلروفیل، رنگ سبز فلفل دلمه‌ای را حفظ کرد و علاوه بر این، کیفیت حسی فلفل‌ها با استفاده از ازن در طی دوره انبارمانی حفظ شد (Özen *et al*., 2020). همچنین کاربرد صمغ کتیرا غنی‌شده با اسانس مرزه خوزستانی سبب حفظ کیفیت حسی قارچ تکمه‌ای طی دوره انبارمانی شد (Nasiri *et al*., 2018).



شکل ۶. تأثیر تیمار ترکیبی ازن و عصاره مرزه بر ویتامین ث آریل انار رقم ملس ساوه طی دوره انبارمانی

Figure 6. The effect of ozone and *Satureja khuzistanica* extract combination treatment on vitamin C of pomegranate arils cv. Malas Saveh during storage

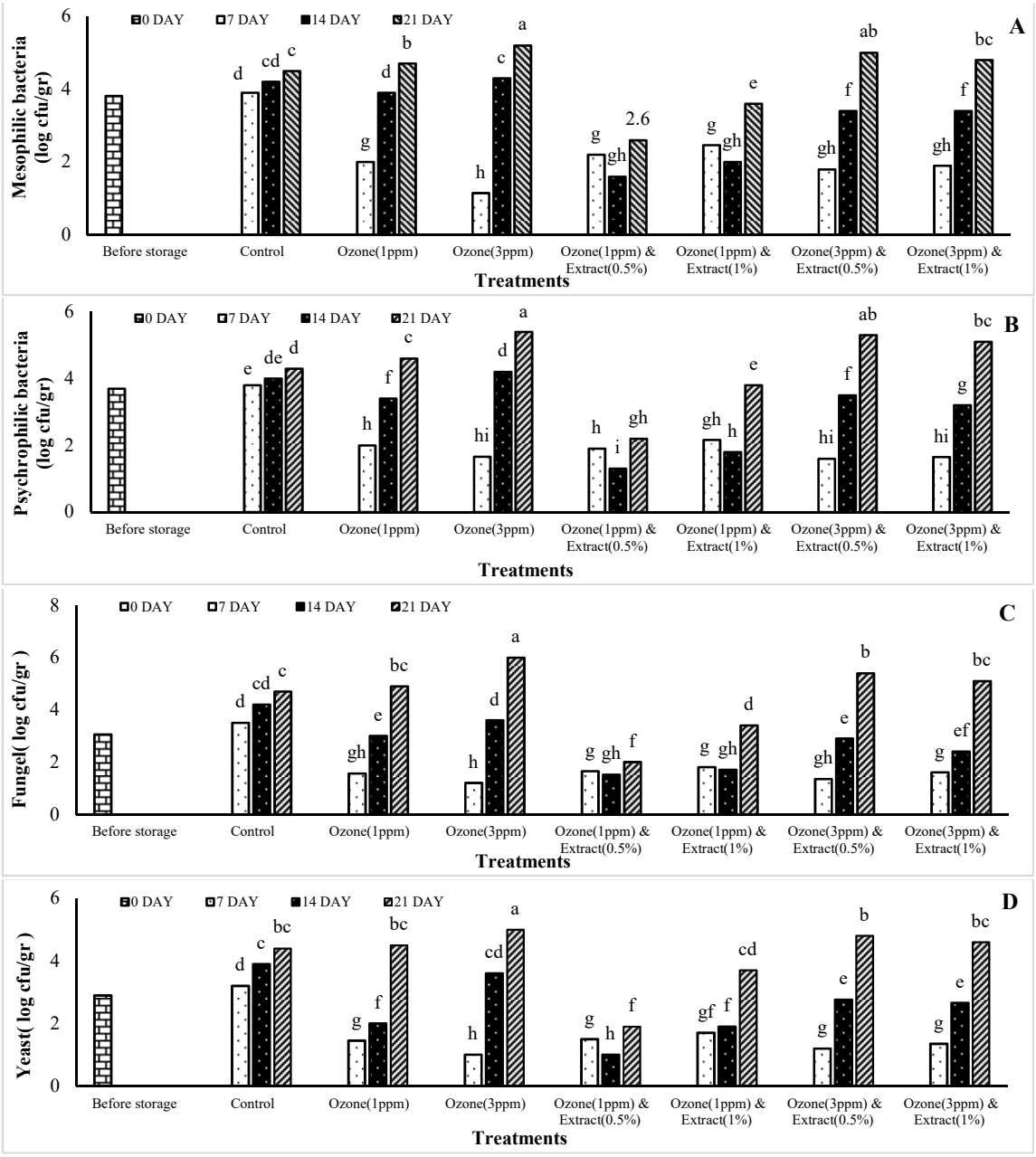


شکل ۷. تأثیر تیمارترکیبی ازن و عصاره مرزه بر ویژگی‌های حسی آریل انار رقم ملس ساوه طی دوره انبارمانی

Figure 7. The effect of ozone and *Satureja khuzistanica* extract combination treatment on sensory evaluation of pomegranate arils of Malas Saveh cultivar during storage

آلودگی میکروبی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار و زمان انبارمانی و برهمکنش آنها در سطح احتمال یک درصد بر جمعیت باکتری‌های مزوفیلیک، سایکروفیلیک، کپک‌ها و مخمرهای آریل انار رقم ملس ساوه معنی‌دار بود (P<۰/۰۵؛ جدول ۱). براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین جمعیت باکتری‌ها، کپک‌ها و مخمرها در روز هفتم انبارمانی متعلق به نمونه‌های کنترل و در روزهای ۱۴ و ۲۱ متعلق به آریل‌های تیمار شده با ازن ۳ پی‌پی‌ام بود، در صورتی که در روزهای ۱۴ و ۲۱، نمونه‌های تیمارشده با ازن ۱ پی‌پی‌ام + عصاره مرزه ۰/۵ درصد به طور معنی‌داری کمترین جمعیت باکتری‌های مزوفیلیک (شکل A-۸)، باکتری‌های سایکروفیلیک (شکل B-۸)، کپک‌ها (شکل C-۸) و مخمرها (شکل D-۸) را داشت.



شکل ۸. تأثیر تیمار ترکیبی ازن و عصاره مرزه بر جمعیت باکتری‌های مزوفیلیک (A)، سایکروفیلیک (B)، کپک‌ها (C) و مخمرهای (D) آریل انار رقم ملس ساوه طی دوره انبارمانی

Figure 8. The effect of ozone and *Satureja khuzistanica* extract combination treatment on population of mesophilic (A), psychrophilic (B), fungal (C) and yeasts (D) of pomegranate arils of Malas Saveh cultivar during storage

باکتری‌ها، کپک‌ها و مخمرها از مهمترین عوامل ایجادکننده‌ی پوسیدگی و بیماری‌های ناشی از مواد غذایی می‌باشند که بار سنگین بهداشتی و اقتصادی را بر انسان‌ها تحمیل کرده است (Šernaitė *et al*., 2020). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با وجود افزایش آلودگی میکروبی آریل‌های انار با افزایش زمان انبارمانی، کاربرد ازن و عصاره مرزه به صورت ترکیبی توانست جمعیت میکروبی را در سطح آریل‌های انار به طور معنی‌داری کاهش دهد. کاربرد ازن به تنهایی در کنترل جمعیت میکروبی آریل‌های انار، نسبت به نمونه‌های تیمار نشده (شاهد)، هر چند در ابتدا مؤثر واقع گردید ولیکن با افزایش زمان انبارمانی میزان جمعیت میکروبی بیشتر شد که نشان می‌دهد کاربرد ازن به تنهایی در کنترل جمعیت میکروبی سطح آریل‌های انار در این آزمایش مؤثر نبود، و این اثر منفی احتمالاً به اثرات تخریبی ازن بر دیواره سلولی محصولات حساس مثل آریل انار برمی‌گردد. در صورتی که کاربرد ترکیبی ازن با عصاره مرزه اثر منفی ازن را خنثی و سبب افزایش اثرات مثبت آن شد. میزان پوسیدگی در هویج‌های تیمار شده با ازن به طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود (Paulikienė *et al*., 2020). همچنین تیمار ازن به طور معنی‌داری توانست از بروز پوسیدگی ناشی از قارچ فوزاریوم در حبه‌های سیر طی دوره انبارمانی جلوگیری کند (De Santis *et al*., 2021). استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی روشی ایمن و قابل قبول برای مدیریت بیماری‌های گیاهی و محافظت گیاهان از میکروارگانیسم‌های بیماریزا می‌باشد (Shehata *et al*., 2020).

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که تیمار ترکیبی ازن ۱ پی‌پی‌ام+ عصاره ۰/۵ درصد مرزه خوزستانی بیشترین تأثیر را در حفظ کیفیت آریل‌های انار طی سه هفته نگهداری در انبار با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد داشت و می‌توان از این تیمار ترکیبی برای نگهداری آریل‌های انار در انبار استفاده کرد. همچنین کاربرد ترکیبی ازن به همراه عصاره مرزه خوزستانی، علاوه بر افزایش اثرات مفید ازن، از اثرات اکسیدکنندگی بالای ازن بر روی محصولات با دیواره سلولی نازک مثل آریل‌های انار جلوگیری می‌کند و به عنوان یک روش ارگانیک برای نگهداری آریل‌های انار در انبار توصیه می‌شود.

REFERENCES

1. Abdolahi, A., Hassani, A., Ghosta, Y., Bernousi, I., & Meshkatalsadat, M. (2010). Study on the potential use of essential oils for decay control and quality preservation of ‘Tabarzeh’ table grape. *Journal of Plant Protection Research*, 50, 45-52.
2. Aindongo, W.V., Caleb, O.J., Mahajan, P., Manley, M., & Opara, U. (2013). Effects of storage conditions on transpiration rate of pomegranate aril-sacs and arils. *Talor and Francis Online Library*, 31(1), 35-42.
3. Alikhani, M., Sharifani, M., Azizi, M., Musavizadehr, S.J., & Rahim, M. (2009). Increasing shelf life and maintaining quality of strawberry (*Fragaria ananassa* L.) with application of mucilage edible coating and plant essential oil. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 16 (2), 1-9.
4. Almasaudi, N. M., Al-Qurashi, A. D., Elsayed, M. I., & Abo-Elyousr, K. A. (2022). Essential oils of oregano and cinnamon as an alternative method for control of gray mold disease of table grapes caused by *Botrytis cinerea*. *Journal of Plant Pathology*, *104*(1), 317-328.
5. Askari Sarcheshmeh, M. A., Babalar, M., Pirzad, F., Talaei, A. R., & Lesani, H. (2020). Impact of methyl jasmonate treatment on antioxidant system of pomegranate fruit cv "Malase" Saveh during storage. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51(3), 679-689 (in Persian).
6. Buluc, O., & Koyuncu, M. A. (2020). Effects of intermittent ozone treatment on postharvest quality and storage Life of pomegranate. *Ozone: Science and Engineering*, 1-9.
7. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*, *94*(3), 223-253.
8. Chen, C., Zhang, H., Zhang, X., Dong, C., Xue, W., & Xu, W. (2020). The effect of different doses of ozone treatments on the postharvest quality and biodiversity of cantaloupes. *Postharvest Biology and Technology*, *163*, 111124.
9. De Santis, D., Garzoli, S., & Vettraino, A. M. (2021). Effect of gaseous ozone treatment on the aroma and clove rot by *Fusarium proliferatum* during garlic postharvest storage. *Heliyon*, 7(4), e06634.

10. Farzaneh, M., Kiani, H., Sharifi, R., Reisi, M., & Hadian, J. (2015). Chemical composition and antifungal effects of three species of *Satureja* (*S. hortensis*, *S. spicigera*, and *S. khuzistanica*) essential oils on the main pathogens of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 145-151.
11. Fazeli, M. R., Amin, G., Attari, M. M. A., Ashtiani, H., Jamalifar, H., & Samadi, N. (2007). Antimicrobial activities of Iranian Sumac and Avishane shirazi (*Zataria multiflora*) against some food -borne bacteria. *Food Control*, 18, 646-649.
12. Ghasemnezhad, M., Zareh, S., Rassa, M., & Sajedi, R.H. (2013). Effect of chitosan coating on maintenance of aril quality, microbial population and PPO activity of pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Tarom) at cold storage temperature. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 368-374.
13. Glowacz, M., Colgan, R., & Rees, D. (2015). Influence of continuous exposure to gaseous ozone on the quality of red bell peppers, cucumbers and zucchini. *Postharvest Biology and Technology,* 99, 1-8.
14. 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× ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest biology and Technology*, *33*(1), 67-78.
15. Hasheminya, S. M., Mokarram, R. R., Ghanbarzadeh, B., Hamishekar, H., Kafil, H. S., & Dehghannya, J. (2019). Development and characterization of biocomposite films made from kefiran, carboxymethyl cellulose and *Satureja Khuzestanica* essential oil. *Food chemistry*, 289, 443-452.
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*(1), 136-140.
17. Jamshidi, M., Shabani, E., Hashemi, Z., & Ebrahimzadeh, M. A. (2014). Evaluation of three methods for the extraction of antioxidants from leaf and aerial parts of *Lythrum salicaria* L. (Lythraceae). *International Food Research Journal*, *21*(2), 783-788.
18. Kalb, D., Lackner, G., & Hoffmeister, D. (2013). Fungal peptide synthetases: an update on functions and specificity signatures. Fungal Biology Reviews, 27(2), 43-50.
19. Karaca, H., & Velioglu, Y.S. (2020). Effects of ozone and chlorine washes and subsequent cold storage on microbiological quality and shelf life of fresh parsley leaves. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 127, 109421.
20. Khan, I., Sattar, A., Wahid, M., & Jan, M. (1985). Radiation preservation of dry fruits. *Proc. Radiation Disinfestation of Food and Agricultural Products*. *Institution in Tropical Agriculture*. Hawaii, Honolulu, USA, 207.
21. Khan, A.S., Singh, Z., Abbasi, A.M., & Swinny, E.E. (2008). Pre-or post-harvest applications of putrescine and low temperature storage affect fruit ripening and quality of ′Angelino′ plum. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 88, 1686-1695.
22. Kuşçu, A., & Pazır, F. (2004). Ozone application in food industry. *The Journal of Food, 29*(2), 123-29.
23. Labbe, M., Alvaro, P. & Carmen, S. (2010). Antioxidant capacity and phenolic composition of juices from pomegranates stored in refrigeration. *International Conference on Food Innovation- Food innova.* Valencia .Spain, pp 430.
24. Lopez, V., Conesa, A., & Artes, F. (2005). Shelf life and overall quality of minimally processed pomegranate arils modified atmosphere packaged and treated with UV-C. *Postharvest Biology and Technology*, 37, 174-185.
25. Lv, Y., Tahir, I. I., & Olsson, M. E. (2019). Effect of ozone application on bioactive compounds of apple fruit during short-term cold storage. *Scientia Horticulturae*, 253, 49-60.
26. Nasiri, M., Barzegar, M., Sahari, M.A., & Niakousari, M. (2018). Application of Tragacanth gum impregnated with *Satureja khuzistanica* essential oil as a natural coating for enhancement of postharvest quality and shelf life of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 218-226.
27. Özen, T., Koyuncu, M.A., & Erbaş, D. (2020). Effect of ozone treatments on the removal of pesticide residues and postharvest quality in green pepper. *Journal of Food Science and Technology*, 1-11.
28. Paulikienė, S., Venslauskas, K., Raila, A., Žvirdauskienė, R., & Naujokienė, V. (2020). The influence of ozone technology on reduction of carrot loss and environmental impact. *Journal of Cleaner Production*, 244, 118734.
29. Pirzad, F., Askari Sarcheshmeh, M. A., Babalar, M., Talaei, A., & Lesani, H. (2021). Effect of arginine and methyl jasmonate on chilling injury and nutritional quality of pomegranate fruit cv "Malase Saveh". *Iranian Journal of Horticultural Science*, 52(3), 541-552 (in Persian).
30. Saidi, M. (2014). Antioxidant activities and chemical composition of essential oils from Satureja khuzestanica, Oliveria decumbens and Thymus daenensis. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(3), 513-521.

31. Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M., & Valero, D. (2011). Vapour treatments with methyl salicylate or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage of pomegranates. *Food Chemistry*, 124, 964-970.
32. Selcuk, N., & Erkan, M. (2015). Changes in phenolic compounds and antioxidant activity of sour sweet pomegranates Cv. 'Hicaznar' during Long-term storage under modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology, 109*, 30-39.
33. Šernaitė, L., Rasiukevičiūtė, N., & Valiuškaitė, A. (2020). The extracts of cinnamon and clove as potential biofungicides against strawberry grey mould. *Plants*, 9(5), 613.
34. Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
35. Shehata, S. A., Abdeldaym, E. A., Ali, M. R., Mohamed, R. M., Bob, R. I., & Abdelgawad, K. F. (2020). Effect of some citrus essential oils on post-harvest shelf life and physicochemical quality of strawberries during cold storage. *Agronomy*, *10*(10), 1466.
36. Sogvar, O.B., Koushesh Saba, M., & Emamifar. (2016). *Aloe vera* and ascorbic acid coatings maintain postharvest quality and reduce microbial load of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology,* 114, 29-35.
37. Souza, L.P., Faroni, L.R.D., Heleno, F., Cecon, P.R., Gonçalves, T.D.C., Silva, G.J., & Prates, L. H.F. (2018). Effects of ozone treatment on postharvest carrot quality. *LTW-Food Science and Technology*, 90, 53-60.
38. Stover, E.D., & Mercure, E.W. (2007). The pomegranate: a new look at the fruit of paradise. *HortScience*, *42*(5), 1088-1092.
39. Taheri, A., Behnamian, M., Dezhsetan, S., & Karimirad, R. (2020). Shelf life extension of bell pepper by application of chitosan nanoparticles containing *Heracleum persicum* fruit essential oil. *Postharvest Biology and Technology*, 170, 111313.
40. Valero, D., Valverde, J.M., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Castillo, S., & Serrano, M. (2008). The combination of modified atmosphere packaging with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 317-327.
41. 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.
42. 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.
43. Wei, Y., Wei, Y., Xu, F., & Shao, X. (2018). The combined effects of tea tree oil and hot air treatment on the quality and sensory characteristics and decay of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 136, 139-144.
44. Whangchai, K., Saengnil, K., & Uthaibutra, K. (2006). Effect of ozone in combination with some organic acids on the control of postharvest decay and pericarp browning of Longan fruit. *Crop Protection, 25*(8), 821-825.
45. Xu, D., Shi, M., Jia, B., Yan, Z., Gao, L., Guan, W., & Zuo, J. (2019). Effect of ozone on the activity of antioxidant and chlorophyll degrading enzymes during postharvest storage of coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(8), e14020.
46. Zahran, A.A.H., Ramadan, A.H., & Ahmed, T.A.W. (2015). Effect of chitosan on biochemical composition and antioxidant activity of minimally processed-Wonderful pomegranate arils during cold storage. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 88, 241-248.
47. Zhang, H., Li, K., Zhang, X., Dong, C., Ji, H., Ke, R., & Chen, C. (2020). Effects of ozone treatment on the antioxidant capacity of postharvest strawberry. *RSC Advances*, 10(63), 38142-38157.