

تیمار پس از برداشت آب گرم به عنوان جایگزین غیر شیمیایی قارچ کش: تغییرهای فیزیوشیمیایی و توانمندی سازگاری به تنش اکسایشی در میوه لیموشیرین^۱

Postharvest Hot Water Treatment as a Non-Chemical Alternative to Fungicide: Physicochemical Changes and Adaptability to Oxidative Stress in Sweet Lime Fruit

لیلا تقی پور و پدram عصار*^۲

چکیده

اثر تیمارهای پس از برداشت غوطه‌وری در آب گرم و قارچ‌کش کاربندازیم بر ویژگی‌های حسی، فیزیوشیمیایی و پاداکسنده تعیین‌کننده کیفیت درونی و برونی میوه لیموشیرین (*Citrus limettioides* Tan.) مطالعه شد. تیمارها شامل ۴ دقیقه غوطه‌وری در آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس، ۰/۵ گرم در لیتر قارچ‌کش کاربندازیم و آب مقطر (شاهد) بود. میوه‌ها در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵ درصد به مدت ۹۰ روز نگهداری و ارزیابی‌ها در فواصل زمانی ۳۰ روز انجام شد. در مقایسه با میوه‌های شاهد، میوه‌های تیمار شده با آب گرم کاهش وزن و پوسیدگی کم‌تر، شاخص طعم بهتر و میزان بیش‌تری فنول کل در پوست و اسکوربیک اسید در آب میوه داشتند. پس از یک ماه انبارمانی، آن‌ها سطح فعالیت پاداکسنده آنزیمی بیش‌تر (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، اسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) و محتوای پاداکسنده‌های غیرآنزیمی بیش‌تری مانند فنول کل در پوست و اسکوربیک اسید در آب میوه در قیاس با شاهد دارا بودند. پس از آن، فعالیت پاداکسنده آنزیمی پوست میوه‌های تیمار شاهد افزایش یافت در حالی که در میوه‌های تیمار شده با آب گرم کاهش نشان داد. بر مبنای محتوای پاداکسنده‌های غیرآنزیمی و ارزیابی حسی پس از ۳ ماه انبارمانی، میوه‌های تیمار شده با آب گرم مطلوب‌ترین کیفیت درونی و برونی را دارا بودند؛ در حالی که میوه‌های تیمار شده با قارچ‌کش با ظاهری رنگ‌پریده، کم‌ترین کیفیت رنگ پوست و سفتی بافت را داشتند. در این زمان، بررسی میزان پراکسید هیدروژن و فعالیت پاداکسنده آنزیمی پوست نمایان‌گر تحمیل شرایط تنش و آسیب اکسایشی بیش‌تر به میوه‌های تیمار قارچ‌کش نسبت به شاهد بود. بنابراین، تیمار غوطه‌وری آب گرم به عنوان روشی ایمن جهت بهبود و افزایش عمر انبارمانی لیموشیرین و جایگزینی مناسب برای قارچ‌کش شیمیایی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: انبارمانی، پوسیدگی، تنش اکسایشی، تیمار گرمایی، شاخص طعم، قارچ‌کش.

مقدمه

لیموشیرین (*Citrus limettioides* Tan.) یکی از گونه‌های مهم تیره Rutaceae است و به دلیل داشتن ویژگی‌های پاداکسنده و ترکیب‌های زیست‌فعال، اسکوربیک اسید و ماده‌های معدنی مانند فسفر، مس و پتاسیم در آب میوه از ارزش غذایی بالایی برخوردار می‌باشد (۷). از مهم‌ترین عامل‌های ضایعات و کاهش کیفیت میوه مرکبات در دوره پس از برداشت، پوسیدگی‌های قارچی است و خسارت‌های اقتصادی سنگینی را به همراه دارد. گزارش شده که میزان ضایعات در کشورهای در

۱- تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۸/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱

۲- به ترتیب استادیاران گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، صندوق پستی: ۷۴۱۳۵-۱۱۱.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (Pedramassar@gmail.com, Pedramassar@jahromu.ac.ir).

حال توسعه می‌تواند به حدود ۳۰ تا ۵۰ درصد برسد (۳۴). یکی از مهم‌ترین مسائل پس از برداشت در میوه لیموشیرین نیز پوسیدگی قارچی در دوره انبارمانی می‌باشد (۲۲).

در صنعت پس از برداشت مرکبات، کاربرد قارچ‌کش‌های شیمیایی به عنوان روشی ارزان و رایج، جهت کنترل پوسیدگی میوه مرکبات مورد توجه است. بنومیل، تیابندازول و ایمازالیل از جمله سموم قارچ‌کش مورد استفاده جهت کنترل بیماری‌های پس از برداشت مرکبات هستند (۵). امروزه تقاضای جهانی به کشاورزی پایدار و تمایل به تولید و مصرف میوه‌های ارگانیک که از ماده‌های شیمیایی در مراحل مختلف پرورش و نگهداری پس از برداشت آن‌ها استفاده نشده باشد رو به افزایش است (۴). به‌عنوان نمونه، بسیاری از کشورهای واردکننده مرکبات بر اساس قوانین قرنطینه‌ای خود و بر مبنای تقاضای مصرف‌کنندگان، تنها به شرط اعمال تیمارهای ارگانیک و نداشتن باقی‌مانده ماده‌های شیمیایی و سم در محصول اجازه واردات آن‌ها را صادر می‌کنند (۱۸). همچنین، به دلیل خطر مسمومیت قارچ‌کش‌ها برای انسان، سرعت کم تجزیه و تولید گونه‌های مقاوم قارچ‌ها، جایگزین کردن قارچ‌کش‌های شیمیایی با روش‌های آسان، کارا و سازگار با سلامت انسان ضروری می‌باشد (۱۶).

تیمارهای گرمایی از تیمارهای پس از برداشت ارگانیک، سالم و جایگزین سم‌های شیمیایی محسوب می‌شوند که کاربرد آن‌ها به‌منظور کنترل پوسیدگی، کاهش آسیب سرمازدگی، کنترل آفت‌ها و حفظ کیفیت پس از برداشت محصول‌های باغبانی در دهه‌های اول قرن بیستم متداول شد (۳۹). پس از آن و تا به امروز، کاربرد تجاری و محدود تیمارهای گرمایی، به تنهایی و یا در ترکیب با روش‌های دیگر، برای کنترل بیماری‌های قارچی و آفت‌ها، به تاخیر انداختن فراسنجه‌های مربوط به رسیدن، حفظ کیفیت و افزایش عمر انبارمانی محصول‌های باغبانی مرسوم است (۳۹). کاربرد تیمارهای پس از برداشت گرمایی برای مرکبات نیز مورد توجه است (۱۰، ۱۵، ۲۶، ۲۹). به‌عنوان نمونه، اثر مثبت تیمار گرمایی بر کاهش سرمازدگی، کنترل پوسیدگی و حفظ کیفیت پس از برداشت میوه‌های گریپ‌فروت (۳۰)، پرتقال خونی (۳۱) و پرتقال رقم والنسیا (۹) گزارش شده است.

در شهرستان جهرم، به‌عنوان بزرگ‌ترین قطب تولیدکننده محصول لیموشیرین کشور، تیمار محصول برداشت شده با قارچ‌کش شیمیایی کاربرندازیم پیش از انتقال به انبار امری مرسوم است. افزایش آگاهی عمومی مردم و تشدید نگرانی‌های سلامت محور در رابطه با کاربرد سم‌های شیمیایی برای مرکبات، دال بر اهمیت و لزوم انجام پژوهش‌های علمی و فرهنگ‌سازی گسترده به‌منظور معرفی تیمارهای ارگانیک است. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی کارایی تیمار پس از برداشت آب گرم در مقایسه با قارچ‌کش شیمیایی بر کنترل میزان پوسیدگی و نیز مقایسه اثرهای این تیمارها بر ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی تعیین‌کننده کیفیت درونی و برونی میوه لیموشیرین انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

میوه‌های لیموشیرین در مرحله بلوغ تجاری از یک باغ تجاری (عرض جغرافیایی $28^{\circ}31'4''475$ شمالی و طول جغرافیایی $53^{\circ}23'59''733$ شرقی) در شهرستان جهرم برداشت و بی‌درنگ به آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت دانشگاه جهرم منتقل شدند. در باغ مورد اشاره، عملیات داشت مانند آبیاری، تغذیه و مبارزه با آفت‌ها و بیماری‌ها به‌صورت یکنواخت در مورد همه درختان اعمال شد. شاخص بلوغ تجاری میوه‌ها، میزان آب قابل استحصال از آن‌ها به میزان ۳۸ درصد (حجمی/حجمی) بود (۷). پس از انتقال و جداسازی میوه‌های مناسب (سالم و بدون آسیب پوستی) و پیش از اعمال تیمارها، ضدعفونی با محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد به مدت ۲ دقیقه و به‌دنبال آن آبکشی با آب مقطر انجام شد و میوه‌ها در دمای اتاق خشک شدند تا زمانی که اثری از رطوبت بر سطح میوه‌ها باقی نماند.

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل فاکتور غوطه‌وری میوه‌ها و فاکتور زمان نمونه‌گیری (هر کدام در ۳ سطح) بود. تیمارها شامل ۴ دقیقه غوطه‌وری در آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس، قارچ‌کش کاربرندازیم (قارچ‌کش رایج مورد استفاده باغداران شهرستان جهرم) با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر و آب مقطر (به عنوان تیمار شاهد) بود. پس از اعمال غوطه‌وری، میوه‌ها به‌منظور خشک شدن آب سطحی پوست در دمای آزمایشگاه قرار گرفتند. سپس میوه‌های تیمار شده به صورت تکی و جداگانه در پلاستیک پلی‌اتیلنی بسته‌بندی شدند و به مدت ۹۰ روز در انبار با دمای ۱۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵ درصد نگهداری شدند. نمونه‌برداری و ارزیابی ویژگی‌های مدنظر در فواصل زمانی

۳۰ روزه انجام شد. تعداد کل میوه مورد استفاده ۲۷۰ عدد بود. در هر زمان تعداد ۳ تکرار و در هر تکرار ۱۰ میوه برای بررسی اثر هر تیمار بر صفت‌های مورد ارزیابی در نظر گرفته شد.

میزان پوسیدگی با بررسی تعداد میوه پوسیده و با استفاده از فرمول زیر به صورت درصد محاسبه شد (۱۸):

$$\text{تعداد کل میوه} \times 100 = \frac{\text{تعداد میوه پوسیده}}{\text{تعداد کل میوه}} = \text{درصد پوسیدگی}$$

درصد کاهش وزن میوه‌ها با اندازه‌گیری تفاوت وزن میوه‌ها در هر مرحله نمونه برداری نسبت به زمان برداشت و با استفاده از ترازوی دیجیتال و با کاربرد فرمول زیر محاسبه شد (۱۲):

$$\text{وزن اولیه} - \text{وزن ثانویه} = \text{کاهش وزن میوه} \quad \text{وزن اولیه} \times 100 = \text{درصد کاهش وزن میوه}$$

اندازه‌گیری درصد ماده‌های جامد محلول کل (TSS) میوه به کمک دستگاه قندسنج دیجیتال (Milwaukee MA871, Hungary) انجام شد. میزان اسیدیته قابل تیتراژ (TA) به روش تیتراسیون با محلول سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH= ۸/۱ ارزیابی شد (۱۳). شاخص طعم (TSS/TA) میوه با تقسیم TSS بر TA به دست آمد. پی‌اچ آب میوه نیز با استفاده از دستگاه پی‌اچ‌سنج (PHAC، پارت آریا صنعت) اندازه‌گیری شد.

اسکوربیک اسید آب میوه با استفاده از روش تیتراسیون با ۲ و ۶-دی کلروفنول ایندوفنول اندازه‌گیری و به صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه گزارش شد (۱).

فنول کل پوست میوه با روش فولین-سیوکالتیو (Folin-Ciocalteu) ارزیابی شد. یک گرم بافت تازه در هاون چینی با نیتروژن مایع همگن شد و با ۳ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد آمیخته شد. آمیخته حاصل به مدت یک شب در تاریکی و در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس، با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول روشن‌رنگ به عنوان عصاره فنولی استفاده شد. آمیزه‌ای از ۱۳۵ میکرولیتر آب مقطر، ۷۵۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد و ۶۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به ۵۰ میکرولیتر عصاره فنولی استخراج شده اضافه گردید. آمیخته در حمام آب گرم با دمای ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. پس از سرد شدن، میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. نمونه بلانک با استفاده از ۵۰ میکرولیتر استون ۸۰ درصد به جای عصاره فنولی تهیه شد. منحنی استاندارد اسید گالیک در غلظت‌های مختلف تهیه شد و میزان فنول کل پوست میوه بر حسب میکرومول در هر گرم وزن تازه گزارش گردید (۲۵).

برای ارزیابی کاروتنوئید پوست میوه، یک گرم از بافت در حلال استخراج شامل حجم مساوی از استون و اتر نفت هموزن شد. پس از افزودن ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد، آمیخته حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. محلول روشن‌رنگ با حلال استخراج اولیه رقیق شد و با خواندن میزان جذب در طول موج ۴۵۰ نانومتر و با استفاده از منحنی استاندارد میزان کاروتنوئید بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تازه تعیین شد (۲۸).

به منظور تعیین میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، ۰/۵ گرم پوست میوه با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۱ درصد در حمام یخ همگن شد. آمیخته حاصل با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر محلول روشن‌رنگ به ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH=۷) و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم (KI) یک مولار اضافه شد. جذب آمیخته واکنش در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. با استفاده از منحنی استاندارد، میزان H_2O_2 محاسبه و به صورت میکرومول بر گرم وزن تازه گزارش گردید (۳۲).

برای تهیه عصاره لازم برای ارزیابی فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده پوست، ۱ گرم بافت نمونه منجمد نگهداری شده در ۴ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار خنک (pH=۷) همگن‌سازی شد و سپس آمیخته به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ و محلول رویی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس ذخیره شد (۲۳).

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) با سنجش کاهش میزان جذب نوری کمپلکس سوپراکسید - نیتروبلوترازولیوم در طول موج ۵۶۰ نانومتر زیر تأثیر فعالیت آنزیم ارزیابی شد (۳). فعالیت ویژه آنزیمی به صورت واحد بین‌المللی (کمیتی از آن با توانایی کاهش در میزان جذب به میزان ۵۰٪ جذب خوانده شده برای شاهد) به ازای یک گرم وزن تازه نمونه گزارش شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با بررسی کاهش میزان جذب نوری در طول موج ۲۴۰ نانومتر در طی مدت ۱ دقیقه و با استفاده از ضریب خاموشی ۳۶/۶ میلی‌مولار بر سانتی‌متر ارزیابی شد (۸). فعالیت آنزیم برحسب واحد بین‌المللی (میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در مدت یک دقیقه) به ازای یک گرم وزن تازه نمونه محاسبه و گزارش شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) با ارزیابی کاهش میزان جذب نوری در طول موج ۲۹۰ نانومتر در طی مدت ۱ دقیقه و با استفاده از ضریب خاموشی ۲/۸ میلی‌مولار بر سانتی‌متر ارزیابی شد (۲۱). فعالیت آنزیم برحسب واحد بین‌المللی (میکرومول آسکوربات اکسید شده در مدت یک دقیقه) به ازای یک گرم وزن تازه نمونه محاسبه و گزارش شد.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) با ارزیابی افزایش میزان جذب نوری در طول موج ۴۷۰ نانومتر در طی مدت ۱ دقیقه و با استفاده از ضریب خاموشی ۲۶/۶ میلی‌مولار بر سانتی‌متر ارزیابی شد (۶). فعالیت آنزیم برحسب واحد بین‌المللی (میکرومول گایاکول اکسید شده در مدت یک دقیقه) به ازای یک گرم وزن تازه نمونه محاسبه و گزارش شد.

ارزیابی ویژگی‌های حسی (تست پانل) شامل ارزیابی سفتی، رنگ، شادابی پوست، طعم و آبدار بودن میوه‌ها توسط ۸ نفر شامل ۴ آقا و ۴ خانم (بین ۱۸ تا ۲۴ سال) بدون آموزش اولیه و بر مبنای تعریف خود از کیفیت مطلوب انجام شد. هر کدام از واحدهای آزمایشی موجود توسط تمام اعضای پانل ارزیابی شد و هر کدام از افراد ارزیاب با نوشیدن آب معدنی برای ارزیابی بعدی آماده شدند. نتیجه ارزیابی فردی از هر ویژگی به صورت امتیازدهی عددی در بازه ۱ تا ۵ بود که عدد ۱، ۳ و ۵ به ترتیب نشان‌دهنده پائین‌ترین، حد قابل قبول (قابل عرضه با بازار) و بهترین کیفیت بود (۱۹). تمام فرآیند ارزیابی در دمای اتاق و زیر نور استاندارد انجام شد.

پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، واکاوی آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام و میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

بر اساس نتیجه‌های تجزیه واریانس (نشان داده نشده است)، اثر هر کدام از فاکتورهای آزمایشی و برهمکنش اثر آن‌ها بر درصد کاهش وزن میوه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. با گذشت زمان انبارمانی، میزان کاهش وزن میوه‌ها به صورت معنی‌دار افزایش یافت و بیش‌ترین و کم‌ترین میزان کاهش آن در تمام زمان‌های اندازه‌گیری به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد و آب گرم بود. تفاوت بین میوه‌های تیمارهای گرم‌دیده با شاهد و غوطه‌ور شده در قارچ‌کش کاربندازیم به ترتیب پس از یک و دو ماه انبارمانی و اختلاف بین میوه‌های تیمار قارچ‌کش و شاهد پس از سه ماه انبارمانی مشاهده شد (شکل ۱). بنابراین، نتیجه‌های شکل ۱ موید کارایی بیش‌تر تیمار آب گرم نسبت به قارچ‌کش بود.

بر اساس نتیجه‌های تجزیه واریانس (نشان داده نشده است)، اثر هر کدام از فاکتورهای آزمایشی و برهمکنش اثر آن‌ها بر میزان پوسیدگی میوه‌ها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. با گذشت زمان انبارمانی، میزان پوسیدگی میوه‌های شاهد و تیمار آب گرم افزایش یافت. میزان پوسیدگی ثبت شده برای میوه‌های شاهد در سه زمان نمونه‌برداری به ترتیب کمی بیش از ۱۳، ۲۰ و کمی بیش از ۳۳ درصد بود و بین مقادیر دو زمان اول تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در مقابل، میزان پوسیدگی میوه‌های تیمار غوطه‌وری در آب گرم به ترتیب صفر، حدود ۷ و کمی بیش از ۱۳ درصد بود و به این ترتیب مقدار این شاخص در مورد میوه‌های تیمار آب گرم در تمام زمان‌ها به صورت معنی‌داری کم‌تر از میوه‌های شاهد بود. میوه‌های تیمار شده با قارچ‌کش کاربندازیم با گذشت زمان انبارمانی دچار پوسیدگی نشدند (شکل ۱).

کاهش وزن پدیده‌ای است که در دوره انبارمانی میوه رخ می‌دهد. آب جزء اصلی پوست میوه است و حفظ رطوبت برای جلوگیری از کاهش وزن میوه در دوره انبارمانی موثر است. از دست دادن رطوبت به دلیل انتشار آب از سطح پوست با کاهش وزن میوه توسط فرآیندهای تنفس و تعرق مرتبط است. افزون بر این، کاهش موم طبیعی میوه در دوره انبارمانی می‌تواند تعرق را افزایش داده و بر شیب فشار بخار آب بین میوه و هوای پیرامون تأثیر بگذارد (۱۲). با استفاده از تیمار گرمایی می‌توان از شدت هدررفت آب و کاهش وزن محصول کاست. سازوکار عمل تیمار گرمایی، تحریک ساخت لیگنین در محل زخم‌ها و ترک‌ها و التیام پوست است که سرعت از دست دادن آب از سطح پوست را کاهش می‌دهد (۲). در این رابطه در پژوهشی، کاهش وزن میوه‌های لیمو ترش تیمار شده با آب گرم پس از ۱۴ روز نگهداری در انبار سرد، ۵۰ درصد کم‌تر از میوه‌های شاهد

گزارش شد که آن را با اثر تحریکی کاربرد گرما مرتبط دانستند (۴۰). افزون بر آن، جلوگیری از کاهش وزن میوه با کاربرد تیمار غوطه‌وری در آب گرم نتیجه جذب آب در مدت اعمال تیمار نیز عنوان شده است (۳۹). روش اعمال تیمار گرمایی نیز بر کارایی آن و شدت کاهش وزن میوه تأثیرگذار است. به عنوان نمونه، تیمار میوه‌های پرتقال رقم والنسیا با هوای گرم در مقایسه با آب گرم، کاهش وزن را به طور معنی‌داری افزایش داد (۹).

به دنبال اعمال تیمارهای گرمایی، ساخت ماده‌های شبه لیگنینی سبب ممانعت از رشد و نمو قارچ‌ها می‌شود (۲). افزون بر آن، افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و تولید ترکیب‌های فنولی آزاد سبب کاهش شدت آلودگی میکروبی و پوسیدگی میوه‌ها می‌شود (۴۱).

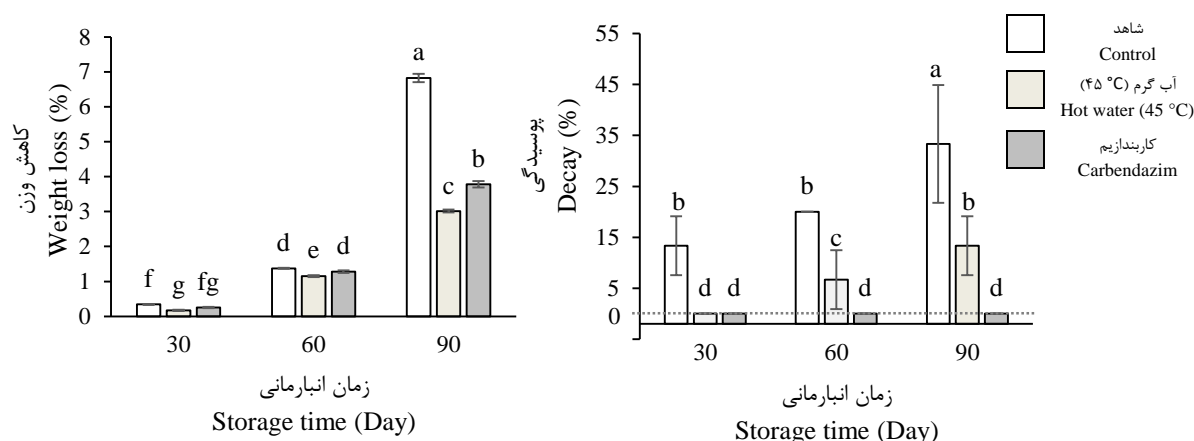


Fig. 1. Fruit weight loss and decay in control, hot water, and carbendazim-treated fruits during storage at 10 °C and 85% RH. Means with the same letter are not significantly different using LSD test at $P \leq 0.05$.

شکل ۱- کاهش وزن و پوسیدگی میوه‌های تیمار شاهد، آب گرم و کاربندازیم در دوره انبارمانی در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵ درصد. بر اساس آزمون کمینه اختلاف معنی‌دار، میانگین‌های دارای حرف مشابه تفاوت معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

بر اساس نتیجه‌های تجزیه واریانس (نشان داده نشده است)، تنها اثر فاکتور غوطه‌وری بر میزان اسیدیته قابل تیتر (TA) و pH آب میوه معنی‌دار بود و در رابطه با درصد ماده‌های جامد محلول کل (TSS) و شاخص طعم (TSS/TA) آب میوه، اثر فاکتورهای آزمایشی و برهمکنش اثر آن‌ها معنی‌دار بود.

با گذشت زمان انبارمانی، TSS آب میوه در تمام تیمارهای غوطه‌وری به صورت معنی‌دار افزایش یافت و بیش‌ترین و کم‌ترین میزان آن در تمام زمان‌های اندازه‌گیری به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد و آب گرم بود. تفاوت بین اثر سطوح فاکتور غوطه‌وری بر میزان TA آب میوه در تمام موارد معنی‌دار بود و بیش‌ترین و کم‌ترین میزان اسیدیته قابل تیتر به ترتیب متعلق به میوه‌های غوطه‌ور شده در آب گرم و شاهد بود. پس از یک ماه انبارمانی، تفاوت معنی‌داری بین میوه‌های شاهد و سایر تیمارهای غوطه‌وری از نظر شاخص طعم آب میوه وجود نداشت. از نظر آماری، پس از دو ماه انبارمانی میزان این شاخص در مورد میوه‌های هر کدام از تیمارها ثابت ماند، اما افزایش جزئی در مورد میوه‌های شاهد سبب ایجاد اختلاف معنی‌دار با میوه‌های گرم‌دیده شد. پس از آن و تا انتهای دوره انبارمانی، میزان این شاخص در میوه‌های شاهد به صورت معنی‌دار افزایش یافت؛ در حالی که شاخص طعم میوه‌های تیمار آب گرم و قارچ‌کش کاربندازیم همچنان مشابه با هم و نیز مشابه با مقادیر متناظر خود در دو زمان ابتدایی نمونه‌گیری بود. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان pH آب میوه به ترتیب مربوط به میوه‌های شاهد و گرما دیده بود و اختلاف بین اثر سطوح فاکتور غوطه‌وری بر میزان این شاخص در تمام موارد معنی‌دار بود (شکل ۲).

میوه مرکبات جهت سوخت و ساز یاخته‌ای در دوره انبارمانی نیاز به تامین انرژی از راه فرایند گلیکولیز و چرخه کربس دارد. از سوی دیگر، این فرایندها می‌توانند قندها و اسیدهای آلی مرکبات را با زیست‌ساخت و کاتابولیسم تغییر دهند (۱۲).

مفهوم TSS، مقدار کل ترکیب‌های محلول در آب میوه است و شاخصی عالی برای تعیین محتوای قند مرکبات است زیرا به-تقریب ۸۰ درصد از TSS را قندها (به طور عمده ساکارز، گلوکز و فروکتوز) تشکیل می‌دهند (۲۰). در پژوهش حاضر، افزایش میزان TSS آب میوه در طی دوره انبارمانی می‌تواند با تجزیه قندهای مرکب به قندهای ساده به علت فعالیت آنزیم‌هایی مانند اینورتاز (تجزیه‌کننده ساکارز) مرتبط باشد (۲۷). صفت TA معرف مقدار اسیدهای آلی است که از اجزای مهم آب مرکبات هستند. در طی نگهداری، با مصرف اسیدهای آلی به عنوان پیش‌ماده اصلی برای تنفس و تولید انرژی از مقدار آن‌ها کاسته می‌شود. افزون بر این، ساخت قندها از اسیدهای آلی بر کاهش میزان TA موثر است (۱۳). در پژوهش حاضر، غلظت بیشتر اسیدهای آلی آب میوه‌های گرمادیده نسبت به شاهد می‌تواند به کاهش سرعت تنفس و تاخیر پیری میوه‌ها مرتبط باشد (۴۰). نسبت قند و اسید آلی نه تنها به عنوان شاخص بلوغ و برداشت مرکبات، بلکه به عنوان شاخص طعم محصول در دوره انبارمانی شناخته می‌شود. مصرف اسیدهای آلی در طول تنفس میوه و تبدیل آن‌ها به قند می‌تواند نسبت TSS/TA را تغییر دهد. به احتمال، تیمار آب گرم با حفظ بهتر اسیدهای آلی و کاهش موثرتر سرعت تنفس میوه باعث حفظ بهتر شاخص طعم شد (۲). بالاتر بودن pH آب میوه در میوه‌های شاهد می‌تواند به دلیل شدت بیشتر تنفس یاخته‌ای و مصرف بیشتر اسیدهای آلی باشد (۱۲). انتظار می‌رود تاثیرگذاری مثبت تیمارهای گرمایی و قارچ‌کش بر کنترل میزان بار میکروبی و شدت آلودگی‌های قارچی با کاهش میزان تنفس میوه‌ها و به دنبال آن حفظ بهتر رطوبت و شاخص‌های کیفی میوه مانند میزان TSS، TA و نسبت TSS/TA مرتبط باشد.

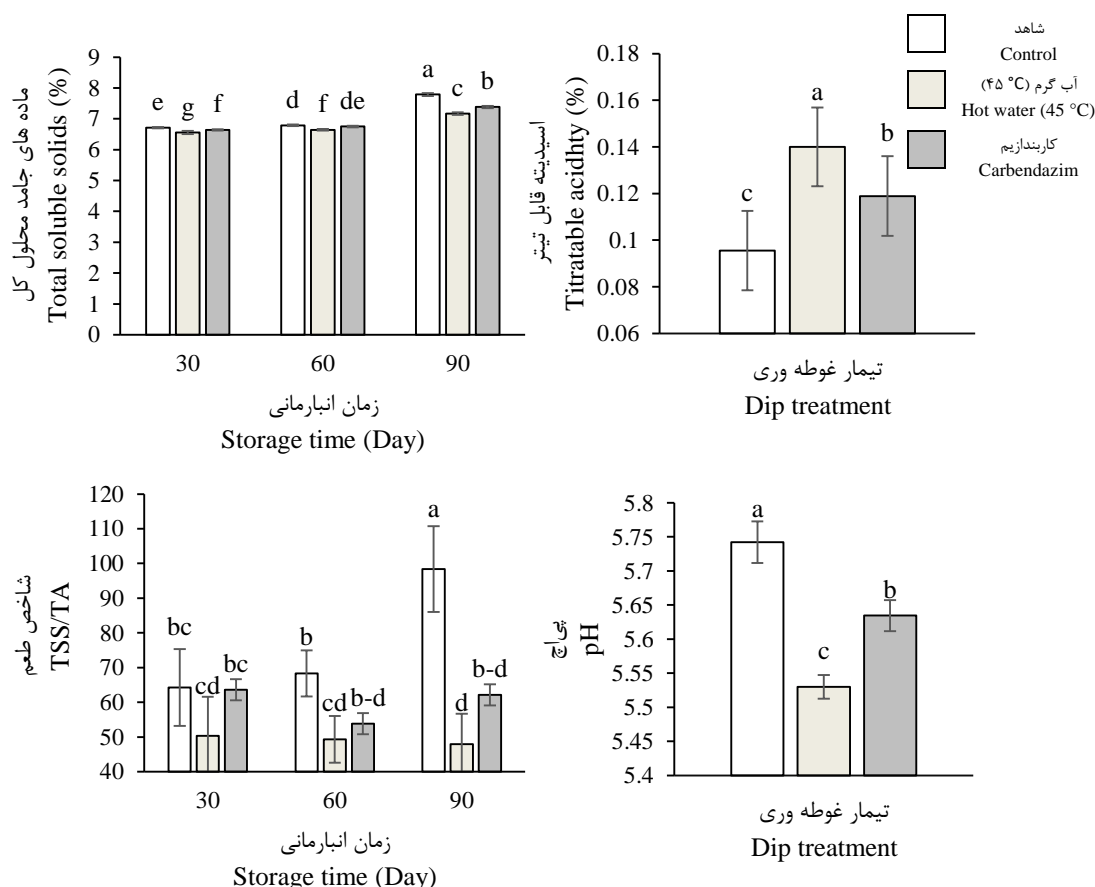


Fig. 2. Total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), TSS/TA, and pH in juice of control, hot water, and fungicide-treated fruits during storage at 10 °C and 85% RH. Means with the same letter are not significantly different using LSD test at $P \leq 0.05$.

شکل ۲- ماده‌های جامد محلول کل (TSS)، اسیدیته قابل تیتراژ (TA)، نسبت ماده‌های جامد محلول کل به اسیدیته قابل تیتراژ (TSS/TA) و پی‌اچ آب میوه‌های تیمار شاهد، آب گرم و قارچ‌کش در دوره انبارمانی در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵ درصد. بر اساس آزمون کمینه اختلاف معنی‌دار، میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد تفاوت‌های معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

بر اساس نتیجه‌های تجزیه واریانس (نشان داده نشده است)، اثر هر کدام از فاکتورهای آزمایشی و برهمکنش اثر آن‌ها بر میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2) پوست میوه معنی‌دار بود. با گذشت زمان انبارمانی، میزان پراکسید هیدروژن پوست میوه‌های تیمار شده با آب گرم و شاهد به ترتیب با کاهش و افزایش معنی‌دار همراه بود، اما روند تغییر این شاخص در میوه‌های تیمار قارچ‌کش کاربندازیم به صورت ویژه و با افزایش معنی‌دار در زمان دوم نسبت به زمان اول و در پی آن کاهش معنی‌دار در زمان سوم نسبت به زمان دوم همراه بود. پس از یک ماه انبارمانی، بیش‌ترین میزان این شاخص در میوه‌های گرمادیده ثبت شد که به صورت معنی‌دار بیش‌تر از میزان موجود در پوست میوه‌های تیمار شده با قارچ‌کش بود. پس از دو و سه ماه انبارمانی، بیش‌ترین میزان این شاخص مربوط به میوه‌های تیمار قارچ‌کش بود و کم‌ترین مقادیر پراکسید هیدروژن پوست میوه در ماه دوم مربوط به میوه‌های شاهد و در ماه سوم مربوط به میوه‌های گرمادیده بود. افزون بر این، در هر دو زمان، تمام تفاوت‌های موجود بین تیمارها معنی‌دار بود (شکل ۳).

بر اساس نتیجه‌های تجزیه واریانس (نشان داده نشده است)، اثر هر کدام از فاکتورهای آزمایشی و برهمکنش اثر آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) معنی‌دار بود.

با گذشت زمان انبارمانی، میزان فعالیت آنزیم SOD پوست میوه‌های تیمار غوطه‌وری در آب گرم و شاهد به ترتیب با کاهش و افزایش معنی‌دار همراه بود، اما روند تغییر این شاخص در میوه‌های تیمار شده با قارچ‌کش کاربندازیم به صورت ویژه و با افزایش معنی‌دار در زمان دوم نسبت به زمان اول و به دنبال آن کاهش معنی‌دار در زمان سوم نسبت به زمان دوم همراه بود. پس از یک ماه انبارمانی، بیش‌ترین میزان این شاخص در میوه‌های گرمادیده و تیمار قارچ‌کش ثبت شد که به صورت مشابه و معنی‌دار بیش‌تر از مقادیر موجود در پوست میوه‌های تیمار شاهد بود. پس از دو ماه انبارمانی، بیش‌ترین مقدار این شاخص مربوط به میوه‌های تیمار قارچ‌کش بود که به صورت معنی‌دار بیش از مقادیر متناظر در میوه‌های شاهد و گرمادیده بود و تفاوت معنی‌داری بین دو مورد آخر وجود نداشت. پس از سه ماه انبارمانی، بیش‌ترین مقدار این شاخص مربوط به میوه‌های شاهد بود و مقادیر مربوط به تیمارهای قارچ‌کش و آب گرم در رتبه‌های بعدی قرار داشتند و تمام تفاوت‌های موجود بین تیمارها معنی‌دار بود (شکل ۳).

با گذشت زمان انبارمانی، میزان فعالیت آنزیم CAT پوست میوه‌های شاهد با افزایش پیوسته و معنی‌دار همراه بود. در مورد میوه‌های تیمار قارچ‌کش کاربندازیم، افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم در زمان دوم نسبت به زمان اول و به دنبال آن کاهش معنی‌دار در زمان سوم نسبت به زمان دوم ثبت شد. پس از سه ماه انبارمانی، اولین تغییر معنی‌دار به صورت کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در پوست میوه‌های تیمار آب گرم مشاهده شد. در دو زمان اول و دوم، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در میوه‌های تیمارهای آب گرم و قارچ‌کش به صورت معنی‌دار بیش‌تر از شاهد بود و البته در ماه دوم، تفاوت‌های موجود بین خود آن‌ها نیز معنی‌دار و بیش‌ترین مقدار متعلق به میوه‌های تیمار قارچ‌کش بود. پس از سه ماه انبارمانی، با تداوم افزایش فعالیت آنزیم در پوست میوه‌های شاهد و کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم در پوست میوه‌های تیمار قارچ‌کش تفاوتی بین سطح فعالیت آنزیمی آن‌ها وجود نداشت و البته به صورت معنی‌داری بیش از مقدار متناظر در میوه‌های تیمار آب گرم بود (شکل ۳).

با گذشت زمان انبارمانی، میزان فعالیت آنزیم APX پوست میوه‌های تیمار غوطه‌وری در آب گرم و شاهد به ترتیب با کاهش و افزایش معنی‌دار همراه بود. در مورد میوه‌های تیمار قارچ‌کش کاربندازیم، افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم در زمان دوم نسبت به زمان اول و به دنبال آن کاهش معنی‌دار در زمان سوم نسبت به زمان دوم ثبت شد. پس از یک ماه انبارمانی، بیش‌ترین میزان این شاخص در میوه‌های گرمادیده ثبت شد که به صورت معنی‌دار بیش‌تر از مقادیر موجود در پوست میوه‌های تیمار شاهد و قارچ‌کش بود و تفاوتی بین دو مورد اخیر وجود نداشت. پس از دو ماه انبارمانی تفاوت معنی‌داری بین سطح فعالیت آنزیمی پوست میوه‌های تیمارها وجود نداشت. پس از سه ماه انبارمانی، بیش‌ترین فعالیت آنزیمی مربوط به میوه‌های شاهد بود و میوه‌های تیمارهای قارچ‌کش و آب گرم به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار داشتند و تمام تفاوت‌های موجود معنی‌دار بود (شکل ۳).

با گذشت زمان انبارمانی، میزان فعالیت آنزیم GPX پوست میوه‌های تیمارهای غوطه‌وری در آب گرم و قارچ‌کش کاربندازیم به صورت معنی‌دار کاهش یافت، اما روند تغییر این شاخص در میوه‌های شاهد عکس روند بیان شده بود. پس از یک

ماه انبارمانی، بیشترین فعالیت آنزیمی مربوط به میوه‌های تیمار آب گرم بود و میوه‌های تیمارهای قارچ‌کش و شاهد به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار داشتند و تمام تفاوت‌های موجود معنی‌دار بود. پس از دو و سه ماه انبارمانی، سطح فعالیت آنزیمی پوست میوه‌های تیمارهای آب گرم و قارچ‌کش مشابه بود و البته سطح فعالیت آنزیم میوه‌های شاهد نسبت به آن‌ها در ماه دوم و سوم به ترتیب به صورت معنی‌داری کم‌تر و بیش‌تر بود (شکل ۳).

برداشت میوه و نگهداری طولانی مدت آن در شرایط انباری به همراه توسعه فرایند پیری می‌تواند تولید و انباشت گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) و رادیکال‌های آزاد را افزایش دهد (۱۴). آنزیم‌های پاداکسنده از جمله SOD، CAT، APX و GPX نقش مهمی در کاهش ROS و محافظت از غشای یاخته‌ای و درشت‌مولکول‌های حیاتی دارند.

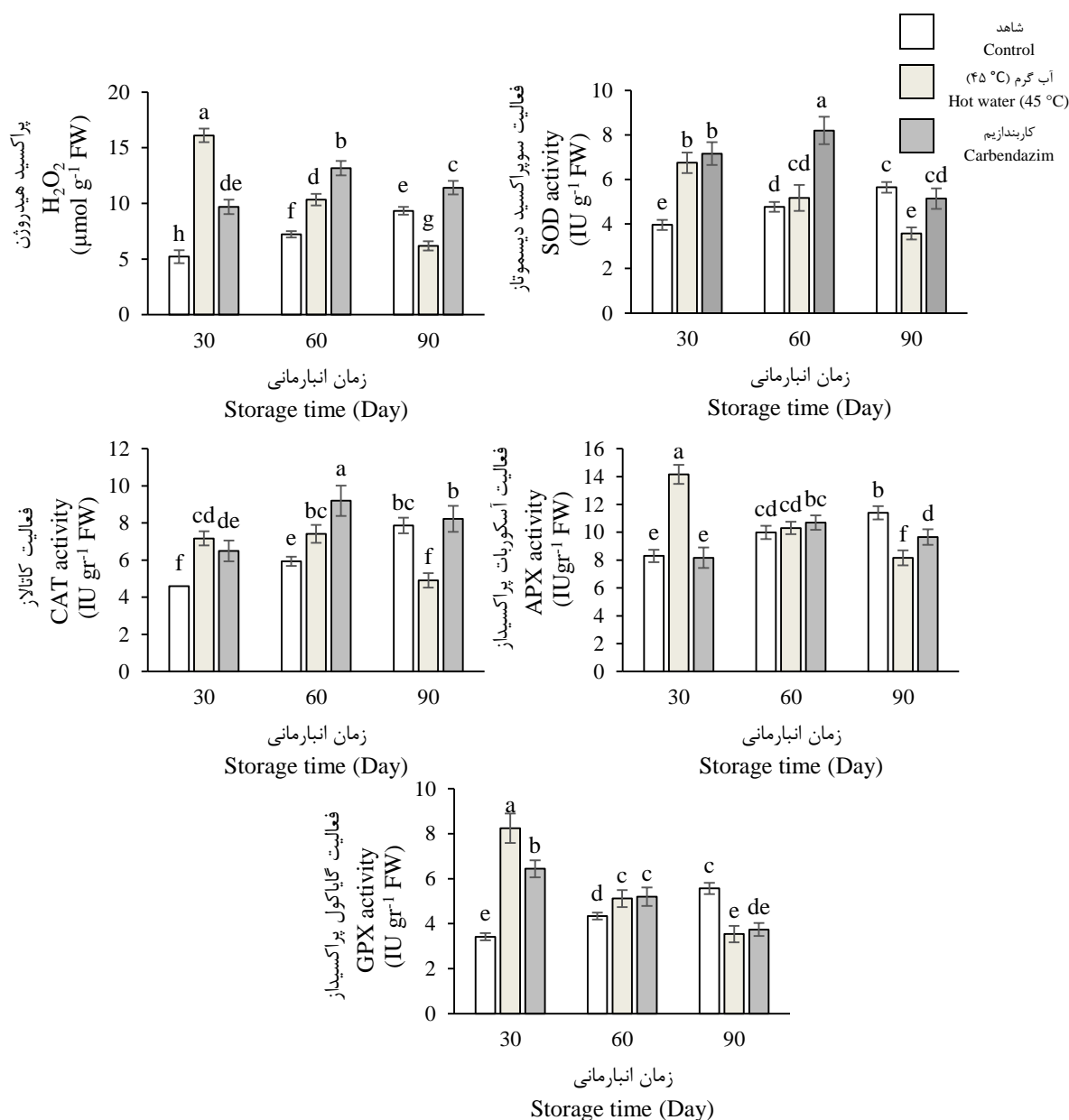


Fig. 3. H₂O₂ content and activity of SOD, CAT, APX, and GPX enzymes in the peel of control, hot water, and fungicide-treated fruits during storage at 10 °C and 85% RH. Means with the same letter are not significantly different using LSD test at P ≤ 0.05.

شکل ۳- محتوای پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) پوست میوه‌های تیمار شاهد، آب گرم و قارچ‌کش در دوره انبارمانی در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵ درصد. بر اساس آزمون کمینه اختلاف معنی‌دار، میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد تفاوت‌های معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

آنزیم SOD خط اول سیستم دفاعی است و آنیون سوپراکسید را به H_2O_2 کاتالیز می‌کند و از تشکیل رادیکال مخرب هیدروکسیل جلوگیری می‌کند. آنزیم‌های CAT، APX و GPX نیز با تبدیل H_2O_2 به آب و اکسیژن، آن را تجزیه می‌کنند (۳۸). در طی تنش اکسایشی، افزایش فعالیت آنزیم SOD و سپس افزایش در غلظت پراکسید هیدروژن می‌تواند به عنوان محرک پاسخ‌های دفاعی و نیز افزایش فعالیت سایر آنزیم‌های پاداکسنده مانند CAT، APX و GPX به عنوان مهارکننده غلظت پراکسید هیدروژن عمل نماید. آنزیم CAT به عنوان مهم‌ترین آنزیم در تجزیه پراکسید هیدروژن شناخته می‌شود. البته، در شرایط تنش شدید و یا تشدید تنش به میزان بیش از توان مقابله سازوکار پاداکسنده بافت زیر تاثیر، میزان پراکسید هیدروژن در حد آسیب‌زا و غیر قابل مهار افزایش می‌یابد که خود سبب افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد مخرب و آسیب به انواع ماکرومولکول‌های حیاتی یاخته‌ها می‌شود (۳۸).

با گذشت زمان انبارمانی و افزایش سن میوه‌ها، روند افزایشی تغییر میزان H_2O_2 و فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده پوست میوه‌های شاهد دال بر تشدید شرایط تنش اکسایشی و تلاش سازوکار پاداکسنده آنزیمی در مهار غلظت H_2O_2 در طول دوره نگهداری میوه‌ها است (۳۳). با در نظر گرفتن وضعیت مطلوب‌تر میوه‌های تیمار آب گرم نسبت به شاهد بر حسب ارزیابی شاخص‌های گوناگون کیفی و حسی، بالاتر بودن میزان H_2O_2 و سطح فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده پوست میوه‌های تیمار آب گرم نسبت به شاهد در دو زمان اول نمونه‌برداری را می‌توان با خوگیری میوه‌های گرم‌دیده با شرایط انبارمانی در پاسخ به تیمار مرتبط دانست (۳۷). اعمال تیمارهای گرمایی به صورت تنش خفیف و زیر حد آسیب‌زا، می‌تواند به صورت موثری سبب افزایش کارایی سازوکار پاداکسنده بافت‌های میوه‌ها و سبزی‌ها شوند. به عبارت دیگر، در پاسخ به تیمارهای گرمایی محرک، در ابتدا و در مرحله نخست، تنشی به بافت زیر تاثیر وارد می‌شود که محرک افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده مانند SOD، CAT، APX و GPX، ساخت پاداکسنده‌های غیر آنزیمی مانند اسکوربیک اسید و ترکیب‌های فنولی، افزایش پروتئین‌های شوک حرارتی و تجمع پلی‌آمین‌ها و در نتیجه بروز مرحله ثبات فیزیولوژیکی با افزایش تحمل و سازگاری به تنش اکسایشی و حفظ بهتر سلامت ساختارها و ماکرومولکول‌های حیاتی یاخته‌های بافت زیر تاثیر می‌باشد. البته، با تداوم شرایط تنش اکسایشی ناشی از انبارمانی، کارایی سازوکار تحریکی نامبرده به تدریج کاهش می‌یابد و در نهایت فاز سوم که فاز پیری و مرگ بافت است فرا خواهد رسید. الگوی سه مرحله‌ای کسب سازگاری بافت‌ها در پاسخ به تنش‌های ملایم، سندروم خوگیری کلی (General Adaptation Syndrome-GAS) نامیده می‌شود (۳۷). به صورت مشابه با پژوهش حاضر و با کاربرد پیش‌تیمار غوطه‌وری در آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۴ دقیقه، تحریک سازوکار پاداکسنده آنزیمی در پوست میوه‌های انار در طول دوره انبارمانی گزارش شده است (۳۵). بنابراین، پس از سه ماه انبارمانی، مقادیر کم‌تر پراکسید هیدروژن در پوست میوه‌های تیمار آب گرم نسبت به تیمار شاهد ناشی از کارایی مناسب و مطلوب‌تر سازوکار پاداکسنده پوست میوه‌های گرم‌دیده نسبت به شاهد در طول دوره انبارمانی است (۳۷).

روند تغییر میزان H_2O_2 و سطح فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و APX در پوست میوه‌های تیمار قارچ‌کش کاربن‌دازیم مشابه با هم و با روند کاهشی مربوط به فعالیت GPX متفاوت بود. این مشاهده می‌تواند دال بر اهمیت کم‌تر نقش فعالیت آنزیم GPX در سازوکارهای پاداکسنده رویارویی با تنش در میوه‌های زیر تیمار قارچ‌کش باشد. پس از ۳ ماه انبارمانی، بیش‌تر بودن میزان پراکسید هیدروژن پوست میوه‌های تیمار قارچ‌کش نسبت به شاهد، تشابه سطح فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در میوه‌های هر دو تیمار و مقادیر کم‌تر سطح فعالیت آنزیم‌های APX و GPX در میوه‌های تیمار قارچ‌کش نسبت به شاهد می‌تواند به نوعی نمایان‌گر تحمیل شرایط تنش و آسیب اکسایشی بیش‌تر به میوه‌های تیمار قارچ‌کش نسبت به شاهد در این زمان باشد. افزون بر آن، بررسی شاخص‌های مرتبط با تنش اکسایشی نشان داد که در طول دوره انبارمانی همواره کارایی سازوکار پاداکسنده آنزیمی پوست میوه‌های تیمار گرمایی نسبت به قارچ‌کش بهتر بود. به عبارت دیگر، در مورد میوه‌های تیمار قارچ‌کش، با وجود افزایش معنی‌دار سطح فعالیت آنزیم‌های CAT و APX پوست در ماه دوم نسبت به ماه اول، سطح فعالیت آنزیم APX و میزان H_2O_2 آن‌ها در ماه دوم به ترتیب مشابه و به صورت معنی‌داری بیش از مقادیر متناظر در پوست میوه‌های تیمار آب گرم بود. پس از یک ماه انبارمانی، در حالی که سطح فعالیت آنزیم SOD در میوه‌های تیمار آب گرم و قارچ‌کش مشابه بود، میزان H_2O_2 پوست میوه‌های تیمار آب گرم به صورت معنی‌داری بیش‌تر از میوه‌های تیمار قارچ‌کش بود که دال بر

امکان تولید پراکسید هیدروژن از مسیرهای دیگر افزون بر فعالیت آنزیم SOD است (۱۱) و می‌تواند با تحریک ناشی از گرمادهی و خوگیری احتمالی مرتبط باشد. بدیهی است پیش‌نیاز پذیرفتن احتمال بیان‌شده این است که در پی تولید مقادیر بیش‌تر پراکسید هیدروژن در پوست میوه‌های زیر تیمار آب گرم، سازوکار پاداکسایشی کارآ جهت خنثی‌سازی و کاهش سطح آن به کم‌تر از حد بحرانی و آسیب‌زا وجود داشته باشد (۳۸) که وجود چنین سازوکاری با توجه به سطح فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده از همان ماه اول نگهداری میوه‌های گرمادیده مشهود بود و تا پایان دوره انبارمانی نیز ادامه یافت.

بر اساس نتیجه‌های تجزیه واریانس (نشان داده نشده است)، اثر هر کدام از فاکتورهای آزمایشی و برهمکنش اثر آن‌ها بر میزان اسکوربیک اسید آب میوه، فنول کل و کاروتنوئید پوست میوه معنی‌دار بود.

با گذشت زمان انبارمانی، میزان اسکوربیک اسید آب میوه‌های تمام تیمارهای غوطه‌وری به صورت معنی‌دار کاهش یافت و بیش‌ترین و کم‌ترین میزان آن در تمام زمان‌ها به ترتیب مربوط به تیمارهای آب گرم و شاهد بود. البته، پس از دو ماه انبارمانی و تا انتهای زمان نگهداری، بین میزان اسکوربیک اسید آب میوه‌های تیمار قارچ‌کش کاربندازیم و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۴). با گذشت زمان انبارمانی، میزان فنول کل پوست میوه‌های تیمارهای غوطه‌وری در آب گرم و شاهد به صورت معنی‌دار کاهش یافت، اما روند تغییر این شاخص در میوه‌های تیمار قارچ‌کش کاربندازیم برعکس بود. پس از ۳۰ روز انبارمانی، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فنول کل پوست در میوه‌های تیمار آب گرم و شاهد بود. پس از ۶۰ روز انبارمانی، تفاوت معنی‌داری بین میوه‌های تیمارهای آب گرم و قارچ‌کش وجود نداشت و کم‌ترین میزان فنول مربوط به میوه‌های شاهد بود. پس از ۹۰ روز انبارمانی و با تداوم روند افزایش میزان فنول در پوست میوه‌های تیمار شده با قارچ‌کش، بیش‌ترین میزان فنول پوست در میوه‌های این تیمار بود و پس از آن میوه‌های گرمادیده و شاهد در رتبه‌های بعدی قرار داشتند (شکل ۴). با گذشت زمان انبارمانی، میزان کاروتنوئید پوست میوه‌های تیمارهای غوطه‌وری در قارچ‌کش کاربندازیم و شاهد به ترتیب به صورت معنی‌داری کاهش و افزایش یافت. مقدار این شاخص در میوه‌های تیمار آب گرم در ماه دوم نسبت به ماه اول به صورت معنی‌دار افزایش یافت و پس از آن ثابت ماند. پس از ۳۰ روز انبارمانی، بیش‌ترین میزان کاروتنوئید پوست مربوط به میوه‌های تیمار قارچ‌کش و به صورت معنی‌داری بیش از میوه‌های تیمار شده با آب گرم و شاهد بود و میزان کاروتنوئید پوست موارد اخیر مشابه بود. پس از ۶۰ و ۹۰ روز انبارمانی، با تداوم روند تغییر میزان کاروتنوئید، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان این شاخص در هر دو زمان مربوط به میوه‌های شاهد و تیمار قارچ‌کش بود (شکل ۴).

اسکوربیک اسید یک پاداکسنده غیر آنزیمی مهم در آب میوه مرکبات است که در رویارویی با تنش اکسایشی توانایی حذف رادیکال‌های آزاد را دارد (۱۳). با پیشرفت زمان انبارمانی، توسعه فرایند پیری و پیرو تشدید تنش اکسایشی، از میزان اسکوربیک اسید کاسته می‌شود (۳۳). بنابراین، شدت کاهش میزان اسکوربیک اسید در دوره انبارمانی میوه‌ها و سبزی‌ها معرف شدت وقوع تنش اکسایشی است (۳۶). به احتمال، کارایی تیمار گرمایی در ممانعت از تولید رادیکال‌های آزاد باعث حفظ بهتر اسکوربیک اسید در دوره انبارمانی می‌شود (۳۹). گزارش شده است که تیمار گرمایی باعث حفظ اسکوربیک اسید در پرتقال رقم والنسیا (۹) و لیموترش (۲) شد. ترکیب‌های فنولی نیز به عنوان پاداکسنده‌های غیر آنزیمی و دهنده الکترون در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد نقش دارند. محتمل است افزایش اکسایش آنزیمی ترکیب‌های فنولی در طول دوره انبارمانی لیموشیرین سبب کاهش معنی‌دار مقدار آن در طول دوره نگهداری محصول باشد (۱۳). انتظار می‌رود حفظ بهتر میزان فنول کل در پوست میوه‌های تیمار آب گرم نسبت به شاهد از سازوکاری مشابه با آنچه در مورد اسکوربیک اسید بیان شد پیروی نماید. سطح بالاتر میزان فنول در پوست میوه‌های گرمادیده نسبت به شاهد در طول دوره انبارمانی، به ویژه در ماه‌های اول و دوم، می‌تواند با سازوکار خوگیری میوه‌ها در پاسخ به تیمار گرمایی که پیش‌تر اشاره شد، مرتبط باشد (۳۷). به عبارت دیگر، تیمار گرمایی می‌تواند سبب فعال‌شدن و هم‌افزایی سازوکار پاداکسنده آنزیمی و غیرآنزیمی در میوه‌های زیر تیمار شده باشد. همخوان با آنچه از ارزیابی شاخص‌های مربوط به تنش اکسایشی برداشت شد، محتمل است سطح بالاتر میزان فنول کل در پوست میوه‌های تیمار قارچ‌کش کاربندازیم نسبت به شاهد و حتی میوه‌های گرمادیده در ماه سوم انبارمانی با درک میوه‌های تیمار قارچ‌کش از شدت بالاتر تنش در این زمان و سازوکار غیرآنزیمی تحمل آن مرتبط باشد. گزارش شده است که توان پاداکسنده ترکیب‌های فنولی نسبت به اسکوربیک اسید چندین برابر بیش‌تر است و این امکان وجود دارد که در شرایط تنش و با تحریک ژن‌های مسؤل زیست‌ساخت بر مقدار آن‌ها افزوده شود (۳۳).

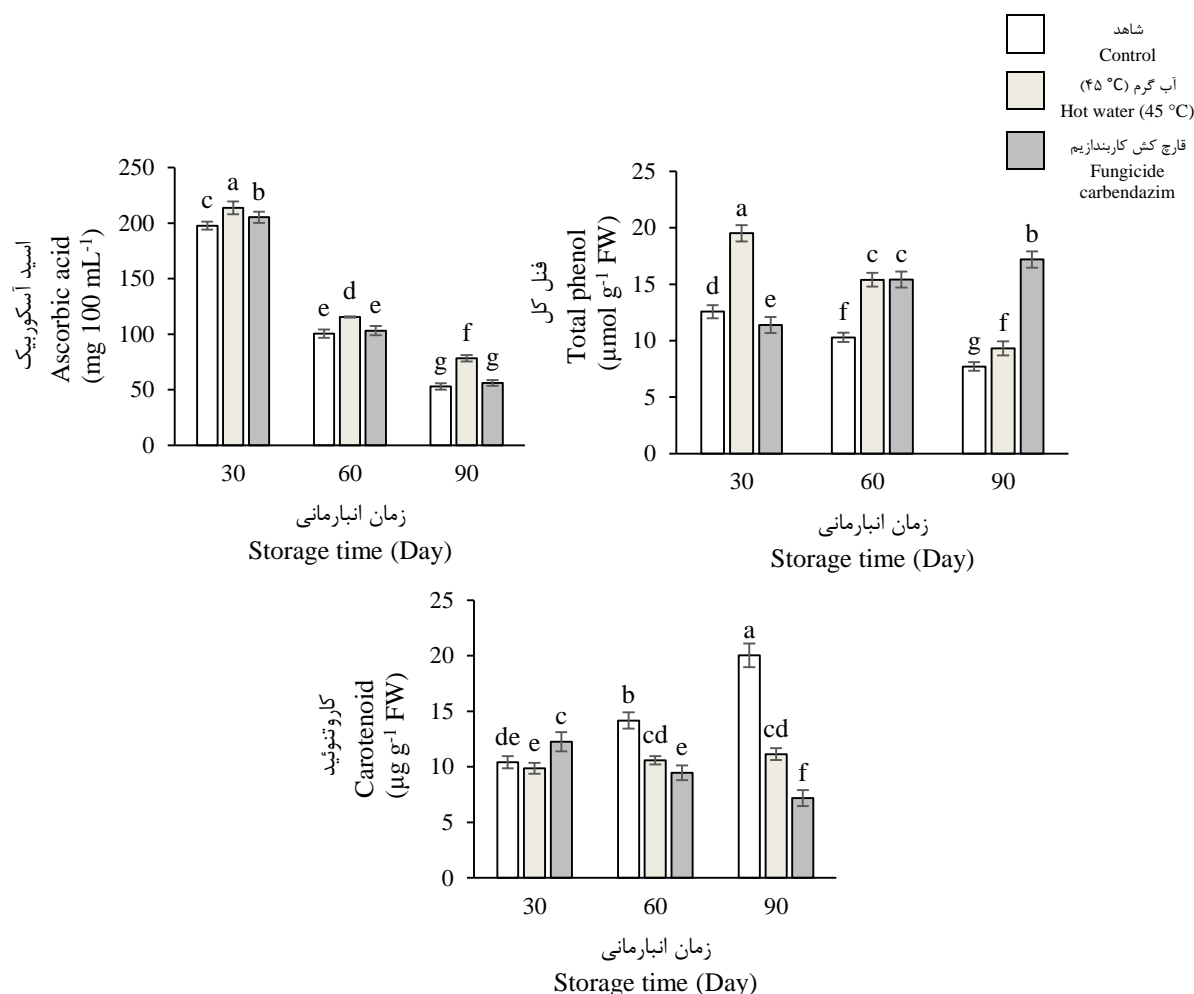


Fig. 4. Ascorbic acid content in the juice and total phenol and carotenoid content in the peel of control, hot water, and fungicide-treated fruits during storage at 10 °C and 85% RH. Means with the same letter are not significantly different using LSD test at $P \leq 0.05$.

شکل ۴- محتوای اسکوربیک اسید آب میوه و محتوای فنول کل و کاروتنوئید پوست میوه‌های تیمار شاهد، آب گرم و قارچ‌کش در دوره انبارمانی در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵ درصد. بر اساس آزمون کمینه اختلاف معنی‌دار، میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد تفاوت‌های معنی‌دار آماری در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

رنگ پوست، یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های کیفی مرکبات و از فاکتورهای مهم تعیین‌کننده میزان رضایت و پذیرش مصرف‌کننده است. شیوه بروز سه گروه رنگدانه اصلی شامل کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها و آنتوسیانین‌ها در پوست گونه‌ها و رقم‌های مرکبات تعیین‌کننده کیفیت رنگ آن‌ها است. اگرچه میوه‌های مرکبات نافرزاگرا هستند و تولید اتیلن ناچیز و سرعت تنفس پایینی در طول بلوغ و رسیدن دارند، تغییر پس از برداشت رنگ پوست می‌تواند در دوره انبارمانی ادامه یابد (۱۳). بر این اساس، با گذشت زمان انبارمانی، میزان کاروتنوئید پوست میوه‌های شاهد به صورت معنی‌دار و بیش از سایر تیمارها افزایش یافت. در مقابل، تغییری در میزان این شاخص در پوست میوه‌های گرمادیده در طول دوره انبارمانی مشاهده نشد، اما میزان کاروتنوئید پوست میوه‌های تیمار قارچ‌کش کاربندازیم با کاهش معنی‌دار همراه بود. کاهش در میزان کاروتنوئیدها می‌تواند با آسیب‌های پراکسیداسیونی این رنگیزه مرتبط باشد (۳۶). تیمار گرمایی با کاهش فعالیت آنزیم‌های تخریب‌کننده رنگدانه مانند کلروفیلاز، پراکسیداز و اکسیداز و با به تاخیر انداختن تشکیل پروتئین‌هایی خاص می‌تواند از اکسایش رنگدانه‌ها و تغییر رنگ میوه مرکبات در دوره انبارمانی ممانعت نماید (۱۷).

گزارش شده است که در طی انبارمانی، کاهش سطح فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده از نظر زمانی با ناتوانی سازوکار پاداکسنده و پایان عمر انبارمانی محصول همزمانی دارد (۳۳). همان‌گونه که پیش‌تر بیان شد، در بازه زمانی ماه دوم و سوم،

روند آماری تغییر فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده در میوه‌های تیمار قارچ‌کش کاربندازیم و شاهد به ترتیب به صورت کاهشی و افزایشی بود. با توجه به تفسیر تغییر شاخص‌های مربوط به تنش اکسایشی و برخی شواهد مانند بدرنگی میوه‌های تیمار قارچ‌کش که در نتیجه‌های ارزیابی حسی (شکل ۵) و نیز مقایسه میانگین میزان کاروتنوئید پوست میوه‌ها قابل مشاهده است محتمل است که میوه‌های زیر تیمار قارچ‌کش ظرفیت انبارمانی به مدت بیش از ۳ ماه را نداشته باشند. به عبارت دیگر، با تمدید مدت انبارمانی، میوه‌های شاهد می‌توانند همچنان امکان تداوم بهره‌مندی از سازوکارهای پاداکسنده رویارویی با تنش را داشته باشند، اما در مقابل، کاهش بیش‌تر کارایی این سازوکار را در میوه‌های تیمار قارچ‌کش شاهد باشیم. در نتیجه، به نظر می‌رسد تیمار قارچ‌کش کاربندازیم با وجود کنترل بهینه آلودگی‌های میکروبی و پوسیدگی، می‌تواند با تاثیر سوء بر فرایندهای زیست‌شیمیایی و کیفیت نهایی میوه‌های لیموشیرین (با سازوکاری که تاحدودی کیفیت آن نامشخص است) عمر بهینه انبارمانی محصول را کاهش دهد. می‌توان با تکرار آزمون در شرایط انبارمانی به مدت بیش از ۳ ماه، فرضیه مطرح شده را راستی‌آزمایی نمود.

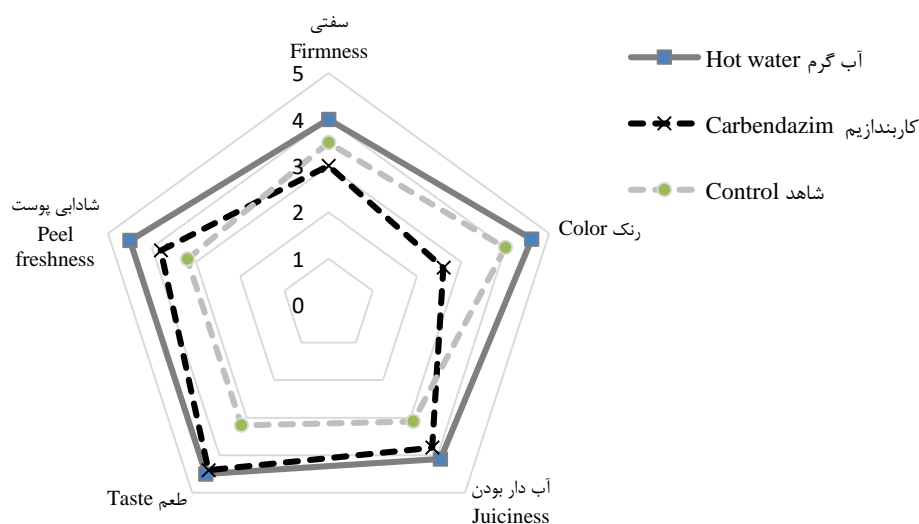


Fig. 5. Sensory evaluation of firmness, color, peel freshness, taste, and juiciness of control, hot water, and fungicide-treated fruits after 90 days storage at 10 °C and 85% RH.

شکل ۵- ارزیابی حسی سفتی، رنگ، شادابی پوست، طعم و آبدار بودن میوه‌های تیمار شاهد، آب گرم و کاربندازیم پس از ۹۰ روز انبارمانی در دمای ۱۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵ درصد.

نتیجه‌های ارزیابی ویژگی‌های حسی (تست پانل) پس از سه ماه انبارمانی، شامل ارزیابی سفتی، رنگ، شادابی پوست، طعم و آبدار بودن میوه‌ها بیان‌گر تاثیرپذیری این شاخص‌ها از تیمارهای مورد استفاده بود (شکل ۵). بر اساس امتیازدهی انجام شده، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان شادابی پوست میوه‌ها به ترتیب مربوط به میوه‌های تیمار شاهد و غوطه‌وری در آب گرم بود و وضعیت میوه‌های تیمار قارچ‌کش کاربندازیم حدواسط وضعیت میوه‌های تیمارهای دیگر بود. میوه‌های تیمار شده با قارچ‌کش، نامطلوب‌ترین و میوه‌های گرمادیده، مطلوب‌ترین سفتی بافت و رنگ ظاهری را داشتند. همچنین، از نظر طعم و میزان آبدار بودن، کم‌ترین و بهترین کیفیت میوه‌ها به ترتیب در میوه‌های شاهد و گرمادیده به دست آمد.

با وجود طبیعت نافرازگرا و فعالیت متابولیکی کم میوه‌های مرکبات در دوره پس از برداشت، تغییرهای بیوشیمیایی میوه‌ها در دوره انبارمانی تأثیر زیادی بر کیفیت آن‌ها دارد (۱۹). کیفیت طعم میوه به تغییر میزان اسیدهای آلی، قندها و نسبت آن‌ها بستگی دارد. تیمار آب گرم به دلیل کارایی بهتر در حفظ اسیدهای آلی و جلوگیری از افزایش TSS آب میوه‌ها سبب درک حس بهتر از طعم میوه نسبت به سایر تیمارها شد. همچنین، میوه‌های گرمادیده کم‌ترین میزان هدررفت آب و کاهش وزن را درآوردند و از نظر شاخص آبدار بودن و شادابی سطح پوست امتیاز بیشتری به آن‌ها اختصاص یافت. سفتی بیش‌تر بافت میوه‌های گرمادیده و بیش‌ترین امتیازدهی نسبت به سایر تیمارها می‌تواند به دلیل ممانعت یا کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره یاخته‌ای در پاسخ به تیمار گرمایی باشد (۲۴). حفظ بهتر سطح رنگیزه کاروتنوئید پوست میوه‌ها در پاسخ

به تیمار گرمایی می‌تواند دلیل امتیازدهی بیش‌تر به میوه‌های زیر این تیمار نسبت به سایر تیمارها باشد. رنگ پوست میوه‌های هر دو تیمار قارچ‌کش و شاهد نامطلوب به نظر می‌رسید. رنگ میوه‌های شاهد متمایل به تیره و رنگ میوه‌های تیمار قارچ‌کش کم‌رنگ و رنگ پریده به نظر می‌رسید که با روند تغییر میزان رنگیزه کاروتنوئید پوست آن‌ها هماهنگ بود.

نتیجه‌گیری

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد پیش‌تیمار غوطه‌وری در آب گرم ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۴ دقیقه به صورت کارتری از تیمار قارچ‌کش رایج (کاربن‌دازیم) سبب حفظ ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و حسی تعیین‌کننده کیفیت درونی و برونی میوه لیموشیرین در طول دوره انبارمانی شد. بنابراین، کاربرد تیمار آب گرم به‌عنوان روشی سالم و ایمن برای بهبود نگهداری و افزایش عمر انبارمانی میوه‌های لیموشیرین و نیز جایگزینی مناسب برای قارچ‌کش شیمیایی توصیه می‌شود.

References

منابع

1. AOAC. 2000. Vitamins and other nutrients, official methods of analysis (17th ed.). Washington D.C., AOAC International. pp: 16–20.
2. Atrash, S., A. Ramezani, M. Rahemi, R.M. Ghalamfarsa and E. Yahia. 2018. Antifungal effects of savory essential oil, gum arabic, and hot water in Mexican lime fruits. HortScience, 53(4): 524-530.
3. Beauchamp, C. and I. Fridovich. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal. Biochem. 44: 276–287.
4. Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Int. J. Food Microbiol. 94(3): 223-253.
5. Bus, V.G., A.J. Bongers and L.A. Risse. 1991. Occurrence of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* resistant to benomyl, thiabendazole and imazalil on citrus fruit from different geographic origins. Plant Dis. 75(11): 1098-1100.
6. Chance, B. and A.C. Maehly. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods Enzymol. 2: 764–775.
7. de Moraes Barros, H.R., T.A.P. de Castro Ferreira and M.I. Genovese. 2012. Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. Food Chem. 134(4): 1892-1898.
8. Dhindsa, R.S., P. Plumb-Dhindsa and T.A. Thorpe. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. J. Exp. Bot. 32: 93–101.
9. Erkan, M., M. Pekmezci and C.Y. Wang. 2005. Hot water and curing treatments reduce chilling injury and maintain post-harvest quality of 'Valencia' oranges. Int. J. Food Sci. Technol. 40(1): 91-96.
10. García, J.F., M. Olmo and J.M. García. 2016. Decay incidence and quality of different citrus varieties after postharvest heat treatment at laboratory and industrial scale. Postharvest Biol. Technol. 118: 96-102.
11. Giorgio, M., M. Trinei, E. Migliaccio and P.G. Pelicci. 2007. Hydrogen peroxide: a metabolic by-product or a common mediator of ageing signals? Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 8(9): 722-728.
12. Habibi, F., F. Guillén, M. Serrano and D. Valero. 2021. Physicochemical changes, peel colour, and juice attributes of blood orange cultivars stored at different temperatures. Horticulturae, 7(9): 320.
13. Habibi, F., A. Ramezani, F. Guillén, M. Serrano and D. Valero. 2020. Blood oranges maintain bioactive compounds and nutritional quality by postharvest treatments with γ -aminobutyric acid, methyl jasmonate or methyl salicylate during cold storage. Food Chem. 306: 125634.
14. Hodges, D.M., G.E. Lester, K.D. Munro and P.M.A. Toivonen. 2004. Oxidative stress: importance for postharvest quality. HortScience, 39(5): 924-929.
15. Irtwange, S.V. 2006. Hot water treatment: A non-chemical alternative in keeping quality during postharvest handling of citrus fruits. Agr. Eng. Int: CIGR J. 5(8): 1-10.
16. Isman, M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protec. 19(8): 603-608.
17. Kaewsuksaeng, S., Y. Urano, S. Aiama-or, M. Shigyo and N. Yamauchi. 2011. Effect of UV-B irradiation on chlorophyll-degrading enzyme activities and postharvest quality in stored lime (*Citrus latifolia* Tan.) fruit. Postharvest Biol. Technol. 61(2-3): 124-130.
18. Khorram, F. and A. Ramezani. 2021. Cinnamon essential oil incorporated in shellac, a novel bio-product to maintain quality of 'Thomson navel' orange fruit. J. Food Sci. Technol. 58(8): 2963-2972.
19. Khorram, F., A. Ramezani and S.M.H. Hosseini. 2017. Shellac, gelatin and Persian gum as alternative coating for orange fruit. Sci. Hort. 225: 22-28.
20. Lado, J., M.J. Rodrigo and L. Zacarías. 2014. Maturity indicators and citrus fruit quality. Stewart Postharvest Rev. 10(2): 1-6.

21. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22(5): 867-880.
22. Oviasogie, F.E., A.G. Ogofure, A. Beshiru, J.N. Ode and F.I. Omeje. 2015. Assessment of fungal pathogens associated with orange spoilage. *Afr. J. Microbiol. Res.* 9(29): 1758-1763.
23. Ozden, M., U. Demirel and A. Kahraman. 2009. Effects of proline on antioxidant system in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) exposed to oxidative stress by H₂O₂. *Sci. Hort.* 119: 163-168.
24. Paull, R.E. and N.J. Chen. 2000. Heat treatment and fruit ripening. *Postharvest Biol. Technol.* 21(1): 21-37.
25. Pennycooke, J.C., S. Cox and C. Stushnoff. 2005. Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia×hybrida*). *Environm. Exp. Bot.* 53(2): 225-232.
26. Porat, R., A. Daus, B. Weiss, L. Cohen, E. Fallik and S. Droby. 2000. Reduction of postharvest decay in organic citrus fruit by a short hot water brushing treatment. *Postharvest Biol. Technol.* 18(2): 151-157.
27. Rapisarda, P., M.L. Bianco, P. Pannuzzo and N. Timpanaro. 2008. Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Postharvest Biol. Technol.* 49: 348-354.
28. Razmjoo, S. 1997. Manual analysis of fruit and vegetable products (9th ed.). Tata McGraw Hill, New Delhi. p:49.
29. Rodov, V., S. Ben-Yehoshua, R. Albagli and D.Q. Fang. 1995. Reducing chilling injury and decay of stored citrus fruit by hot water dips. *Postharvest Biol. Technol.* 5(1-2): 119-127.
30. Schirra, M., M. Mulas and L. Baghino. 1995. Influence of postharvest hot-dip fungicide treatments on Redblush grapefruit quality during long-term storage. *Food Sci. Technol. Int.* 1(1): 35-40.
31. Schirra, M., M. Mulas, A. Fadda and E. Cauli. 2004. Cold quarantine responses of blood oranges to postharvest hot water and hot air treatments. *Postharvest Biol. Technol.* 31(2): 191-200.
32. Sergiev, I., V. Alexieva and E. Karanov. 1997. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.* 51(3): 121-124.
33. Singh, S.P. 2015. Postharvest oxidative stress in fresh fruits. In: Wills, R.B.H. and J.B. Golding (Eds.). *Advances in postharvest fruit and vegetable technology.* CRC Press, Taylor and Francis, Boca Raton, USA. pp: 237-260.
34. Strano, M.C., G. Altieri, N. Admane, F. Genovese, and G.C. Di Renzo. 2017. Advance in citrus post-harvest management: diseases, cold storage and quality evaluation. In: Gill, H. and H. Garg. (Eds.). *Citrus Pathology.* IntechOpen. pp: 139-159.
35. Taghipour, L., M. Rahemi and P. Assar. 2019. Evaluation of hot water pre-storage treatment efficiency on pomegranate fruit storability at cold temperature - using indices of oxidative damage and changes in physicochemical characteristics. 11th IrHSC. <https://civilica.com/doc/941120>. (In Persian)
36. Toivonen, P.M.A. 2003. Effects of storage conditions and postharvest procedures on oxidative stress in fruits and vegetables. In: Hodges, D.M. (Ed.). *Postharvest oxidative stress in horticultural crops.* The Haworth Press, New York, USA. pp: 69-90.
37. Toivonen, P.M.A. 2003. Postharvest treatments to control oxidative stress in fruits and vegetable. In: Hodges, D.M. (Ed.). *Postharvest oxidative stress in horticultural crops.* The Haworth Press, New York, USA. pp: 225-246.
38. Toivonen, P.M.A. 2004. Postharvest storage procedures and oxidative stress. *HortScience.* 39(5): 938-942.
39. Valero, D. and M. Serrano. 2010. Heat treatments. In: Valero, D. and M. Serrano (Eds.). *Postharvest biology and technology for preserving fruit quality.* CRC Press, Taylor and Francis, Boca Raton, USA. pp: 90-108.
40. Valero, D., D. Martinez-Romero, M. Serrano and F. Riquelme. 1998. Postharvest gibberellin and heat treatment effects on polyamines, abscisic acid and firmness in lemons. *J. Food Sci.* 63(4): 611-615.
41. Yun, Z., H. Gao, P. Liu, S. Liu, T. Luo, S. Jin, Q. Xu, J. Xu, Y. Cheng and X. Deng. 2013. Comparative proteomic and metabolomic profiling of citrus fruit with enhancement of disease resistance by postharvest heat treatment. *BMC Plant Biol.* 13(1): 1-16.

Postharvest Hot Water Treatment as a Non-Chemical Alternative to Fungicide: Physicochemical Changes and Adaptability to Oxidative Stress in Sweet Lime Fruit

L. Taghipour and P. Assar*¹

The effects of postharvest dip treatment in hot water and carbendazim fungicide on sensory, physicochemical, and antioxidant characteristics determining the internal and external quality of sweet lime (*Citrus limettioides* Tan.) fruit were studied. Treatments included a 4 min dip in 45 °C hot water, 0.5 g L⁻¹ carbendazim solution and distilled water (control). Fruits were stored at 10 °C and 85% relative humidity for 90 days, with characteristics being measured at 30-day intervals. Compared to control fruits, treated fruits by hot water had lower weight loss and decay, better taste index, and higher content of total phenol in peel and ascorbic acid in the juice. After one month of the storage, they showed higher levels of enzymatic antioxidant activity (superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase, and guaiacol peroxidase) and more non-enzymatic antioxidants such as total phenol in peel and ascorbic acid in juice when compared to control. Afterwards, peel enzymatic antioxidant activity increased in control fruits while decreasing in hot water-treated fruits. Based on non-enzymatic antioxidants content and sensory evaluation after 3-months storage, hot water-treated fruits possessed the best internal and external quality, while fungicide-treated fruits with a pale appearance had the lowest quality in peel color and firmness. At this time, investigations on the peel content of hydrogen peroxide and enzymatic antioxidant activity revealed that fungicide-treated fruits experienced more stress and oxidative injury than control fruits. As a result, hot water dip treatment was recognized as a safe treatment for improving and extending the storability of sweet lime, as well as a suitable substitute for chemical fungicides.

Keywords: Storability, Decay, Oxidative stress, Warming treatment, Taste index, Fungicide.

1. Assistant Professors of Horticultural Science, Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Jahrom University, PO Box: 74135-111, Jahrom, Iran.

* Corresponding author, Email: (Pedramassar@gmail.com, Pedramassar@jahromu.ac.ir).