

تأثیر دمای انبار و نیتریک اکسید بر کیفیت و انبارمانی آریل‌های انار نادری

مریم ماندگاری^۱، عبدالمجید میرزاعلیان دستجردی^{۲*}، لاله مشرف^۳، مریم تاتاری^۴

۱- دانشجوی دکتری، فیزیولوژی و فناوری پس‌از برداشت، گروه علوم باغبانی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

۲- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

۳- استادیار، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران.

۴- استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی-باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۰۲)

چکیده

مهمترین مشکلات آریل انار طی انبارمانی، نرم شدن، قهوه‌ای شدن آنزیمی و آلودگی میکروبی است. برای رفع این مشکلات تیمار پس از برداشت نیتریک اکسید و انبار سرد بر آریل انار بررسی شد. بنابراین به‌منظور، ارزیابی اثر دمای انبار و غلظت‌های مختلف نیتریک اکسید بر خصوصیات کیفی و انبارمانی آریل انار آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. در این مطالعه، نیتریک اکسید در غلظت‌های صفر، ۵ و ۱۰ میکرومول در لیتر استفاده شد. آریل‌ها به‌مدت ۱۵ ثانیه در تیمار نیتریک اکسید غوطه‌ور شده و پس از خشک شدن در دمای آزمایشگاه، درون ظروف پلی‌اتیلنی بسته‌بندی و به دماهای ۲، ۴ و ۸ درجه سلسیوس منتقل شدند. برخی صفات کیفی، کمی و بیوشیمیایی نمونه‌ها در طی زمان‌های (صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز) انبار مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف نیتریک اکسید و دماهای انبارمانی در اکثر صفات مورد ارزیابی وجود داشت. پس از ۲۱ روز انبارمانی، آریل‌های تیمار شده با نیتریک اکسید در غلظت ۱۰ میکرومولار و نگهداری در دمای ۸ درجه سلسیوس در مقایسه با شاهد در دمای ۲ درجه سلسیوس دارای ۵۰٪ کاهش وزن کمتر و ۲۱٪ نشت یونی کمتری بوده و دارای ارزیابی حسی، مقدار آنتوسیانین، ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مطلوبی بودند. در مجموع آریل‌های تیمار شده با ۱۰ میکرومول در لیتر نیتریک اکسید در دمای ۸ درجه سلسیوس بالاترین کیفیت ظاهری و انبارمانی را داشتند.

کلید واژگان: آریل انار، آنتوسیانین، انبارمانی، فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی.

*مسئول مکاتبات: majiddastjerdy@gmail.com

۱- مقدمه

انار (*Punica granatum* L.) متعلق به خانواده پونیکاسه^۱ و یکی از قدیمی‌ترین میوه‌های خوراکی شناخته شده در جهان می‌باشد. انار بومی ناحیه ایران و شمال هند بوده و به‌طور وسیعی در کشورهای مدیترانه‌ای، چین، ژاپن و روسیه کشت و کار می‌شود [۱]. بخش خوراکی میوه، آریل‌های گوشتی هستند که نسبت آن‌ها حدود ۷۰-۵۰ درصد میوه است [۲]. آریل‌های آبدار، غنی از آنتوسیانین و ترکیبات فنلی می‌باشند [۳]. مصرف انار به‌علت کندن پوست سخت آن برای رسیدن به دانه، محدود است. از سوی دیگر، پوست آن بسیار حساس به آفتاب سوختگی، ترک خوردگی، برش یا کبودگی و همچنین حساس به سرما است. این نقص‌های خارجی مانع بازاریابی این میوه شده است [۴]. امروزه عرضه انار به‌صورت آریل و آماده مصرف، راهکاری مناسب برای دستیابی به بهره‌وری اقتصادی و سود تجاری از میوه انار به‌ویژه انواعی که ظاهر آن‌ها دچار صدمه شده است می‌باشد [۵]. در سال‌های اخیر در بیشتر کشورها، دانه‌های انار آماده مصرف به‌علت سهولت مصرف، ارزش تغذیه‌ای بالا و خصوصیات حسی منحصر به فرد آن به‌صورت عامه پسند شده‌اند. بنابراین، در انارهایی که پوست خارجی آن‌ها آسیب دیده است و بازاریابی مطلوبی ندارند، استفاده از آریل می‌تواند یک روش راحت برای به‌دست آوردن سود تجاری باشد [۶ و ۵]. به‌طور کلی، مشکلات عمده پس از برداشت آریل‌های انار شامل از دست دادن رنگ، قهوه‌ای شدن آنزیمی، آلودگی میکروبی و کاهش ارزش غذایی می‌باشد که باید توسط روش‌های مناسب رفع شوند [۷]. حساسیت به سرمازدگی میوه‌های انار مهمترین عامل محدود کننده نگهداری طولانی مدت در دمای پایین انبار است. مهمترین نشانه

سرمازدگی در انار قهوه‌ای شدن پوست و غشاهای جدا کننده آریل‌ها است. وجود این ناهنجاری کیفیت میوه‌های انبار شده را کاهش داده و سالیانه ضررهای اقتصادی فراوانی به‌جای می‌گذارد [۸].

نیتروژن مونوکسید یا نیتریک اکسید^۲ یک تنظیم کننده رشد فعال زیستی است که برای اولین بار در پستانداران شناسایی شده است [۹]. در گیاهان نیتریک اکسید مولکولی با عملکرد فیزیولوژیکی و بیولوژیکی مختلف در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه بوده و نیز در واکنش به تنش‌ها نقش به‌سزایی دارند [۹]. این ترکیب اخیراً توجه برخی محققان را برای استفاده در عمل‌آوری پس از برداشت محصولات باغی به‌خود جلب کرده است و کاربرد غلظت‌های کم گاز نیتریک اکسید به‌منظور افزایش عمر انباری برخی از میوه‌ها و سبزی‌ها مؤثر گزارش شده است [۱۰]. یتریک اکسید با گونه‌های فعال اکسیژن، گروه‌های تیول‌ها و پروتئین‌ها واکنش می‌دهد. آن می‌تواند با توجه به غلظت و محل اثر بر روی سلول‌ها اثر حفاظتی یا سمی داشته باشد [۱۱]. استفاده از محلول سدیم نیتروپروساید بهتر از شکل گازی آن است. شکل گازی این محصول برای انسان مضر است و در واکنش، سیانید تولید می‌کند [۱۱]. بنابراین استفاده از غلظت مناسب و کم این ماده و شکل محلول آن نسبت به شکل گازی می‌تواند بدون عوارض جانبی برای انسان، سبب افزایش عمر انباری برخی از محصولات باغبانی شود. همچنین از این ماده در سیستم قلبی عروقی یک فاکتور شل‌کننده عروق بوده و باعث ترشح، جذب و تنظیم حرکات دستگاه گوارش انسان می‌شود [۱۲]. در تحقیقی که روی میوه کیوی انجام شد، تاثیر نیتریک اکسید در کاهش تجمع مالون دی‌آلدهید، پراکسید هیدروژن و نیز حفظ ویتامین ث و درصد مواد

۲- مواد و روش‌ها

در این پژوهش میوه‌های انار رقم نادری از یک باغ تجاری واقع در شهرستان نطنز اصفهان در بخش بادرود تهیه شدند. مواد آزمایشگاهی شامل اسید گالیک، پتاسیم استات، فولین سیوکالچنو، کربنات سدیم، ۲ و ۶ - دی کلروفنل ایندوفنل، اسید کلریدریک، سدیم نیتروپروساید از شرکت مرک آلمان، فنل فتالین، بافر سدیم فسفات، که همگی با درجه خلوص بالای ۹۹٪ هستند، از شرکت سیگما - آدریج^۳ کشور آلمان خریداری شده‌اند. ۲،۲- دی فنیل-۱-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH)^۴ از شرکت سیگما آمریکا تهیه شد. سدیم هیدروکسید، اسید سیتریک، متانول از شرکت مرک آلمان تهیه شدند و استاندارد سیانیدین-۳- مونوگلوکوزید از شرکت اکستراسینتس^۵ کشور فرانسه تهیه شد

میوه انار رقم نادری در مرحله رسیدگی کامل برداشت شده و به آزمایشگاه صنایع غذایی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان منتقل شدند. ابتدا میوه‌های سالم و عاری از ناهنجاری‌های فیزیولوژیک، انتخاب شده و سپس آریل‌های آن‌ها از پوست جداسازی شدند و تیمارهای مختلف روی آن‌ها اعمال شد. تیمارهای اعمال شده (جدول ۱)، شامل آب مقطر به‌عنوان شاهد، نیتریک اکسید در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومول در لیتر بودند. در هر تکرار مقدار ۱۵۰ گرم آریل در مدت ۱۵ ثانیه در تیمارهای مذکور غوطه‌ور گردید و پس از خشک شدن به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق، در ظروف پلی‌اتیلنی در دماهای ۲، ۴ و ۸ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۹۵٪ و در زمان‌های صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ (روز) نگهداری شدند.

جامد محلول و جلوگیری از فعالیت لیپواکسیژناز و پراکسیداز و افزایش فعالیت سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز به اثبات رسید [۱۳]. گزارش شده که تیمار اسلایس‌های سیب گرانی اسمیت با نیتریک اکسید باعث کاهش سرعت تنفس، کاهش ترکیبات فنلی، کاهش فعالیت پلی‌فنل اکسیداز و تاخیر در قهوه‌ای شدن سطحی در طول انبار می‌شود [۱۴]. زوا و همکاران [۱۵] در بررسی اثر نیتریک اکسید در میوه هلو گزارش کردند که نیتریک اکسید در غلظت ۵ و ۱۰ میکرومول در لیتر، نقش به-سزایی در کاهش فعالیت آنزیم‌های آ-سی-سی اکسیداز^۱، لیپوکسیژناز^۲ و میزان تولید اتیلن دارد. امروزه عرضه میوه‌ها به-صورت آماده مصرف از ارزش اقتصادی بالایی برخوردار می-باشد، ولی میوه برش خورده معمولاً پس از برداشت و زمان نگهداری دچار قهوه‌ای شدن آنزیمی شده و با حمله عوامل بیماری‌زا مواجه می‌شوند. با این حال در بیشتر کشورهای توسعه یافته محصولات مهم میوه‌ای به‌صورت آماده مصرف عرضه می‌شود، در ایران عرضه محصول به‌صورت بریده شده چندان رایج نیست اما گسترش عرضه این محصولات آماده مصرف و استفاده از بسته‌بندی مناسب، می‌تواند ارزش صادرات این محصولات را افزایش دهد [۱۶]. از آنجایی‌که تاکنون پژوهشی روی تعیین بهترین دمای نگهداری انار رقم نادری که از ارقام صادراتی کشور می‌باشد، نشده است لذا استفاده از تیمارهای مختلف دمایی و تعیین دمای مناسب جهت نگهداری آریل و نیز کاربرد نیتریک اکسید به‌منظور حفظ کیفیت و کاهش عوامل میکروبی، ممانعت از قهوه‌ای شدن آنزیمی و در نتیجه کاهش ضایعات و به‌تعویق انداختن پیری محصول، اثر دماهای مختلف انبار و غلظت‌های نیتریک اکسید بر افزایش انبارمندی آریل انار مورد بررسی قرار گرفت.

3. Sigma-Aldrich
4. 2, 2-Diphenyl -1-Picrylhydrazil
5. Extrasynthese

1. ACC- Oxidase
2. Lypoxigenase

Table 1 Preservative material treatment and temperature used on studied traits in pomegranate aril

Symbol	Name treatment	Number of treatments
LT1	Control at temperature 2° C	A1B1
LT2	Control at temperature 4° C	A1B2
LT3	Control at temperature 8° C	A1B3
Ni1T1	5µm nitric oxide at 2 ° C	A2B1
Ni1T2	5 µm nitric oxide at 4 ° C	A2B2
Ni1T3	5 µm nitric oxide at 8 ° C	A2B3
Ni2T1	10µm nitric oxide at 2 ° C	A3B1
Ni2T2	10µm nitric oxide at 4 ° C	A3B2
Ni2T3	10µm nitric oxide at 8 ° C	A3B3

۳- شاخص‌های اندازه‌گیری شده

کاهش وزن: به‌منظور اندازه‌گیری شاخص درصد کاهش وزن، ابتدا آریل‌های بسته‌بندی شده را در ابتدا و انتهای مدت انبارمانی با استفاده از ترازوی دیجیتال (مدل ام ال ۳۰۰۲، ملتر تولدو، سوئیس) با دقت ۰/۰۱ گرم، توزین و با استفاده از رابطه ی زیر درصد کاهش وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد [۱۸].

رابطه (۱)

وزن اولیه / (وزن اولیه - وزن ثانویه) = درصد کاهش وزن
 ارزیابی حسی: به‌منظور ارزیابی صفات طعم و ظاهر میوه، از آزمون هدونیک پنج نقطه‌ای استفاده شد به این صورت که نمره یک برای آریل بسیار بد، نمره سه برای آریل‌های بد، نمره پنج برای آریل دارای کیفیت متوسط، نمره هفت برای آریل‌های خوب و نمره نه برای آریل‌های خیلی خوب در نظر گرفته شد. همچنین نظرخواهی از حداقل پنج پانلیست زن آموزش دیده صورت گرفت [۱۹].

بعد از عصاره‌گیری آب میوه (آب آریل انار با استفاده از آب میوه‌گیری دستی و عبور از صافی تهیه شدند) مواد جامد محلول توسط دستگاه رفراکتومتر دستی (مدل پال ۳، آتاگو^۲

کشور ژاپن) و اسید قابل تیتراسیون نیز با تیتراسیون (۵ میلی-لیتر) آب میوه با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH=۸/۱ اندازه‌گیری شدند [۲۰]. شاخص طعم با نسبت درصد مواد جامد محلول به اسید قابل تیتراسیون به دست آمد.

آنتوسیانین کل با استفاده از روش اختلاف pH بین دو سیستم بافری براساس روش (۲۱) اندازه‌گیری شد. دو سیستم بافر، پتاسیم کلرید (۰/۲۵ مولار) با pH=۱ و استات سدیم (۰/۴ مولار) با pH=۴/۵ استفاده شد. به‌طور خلاصه در این روش، ۴۰۰ میکرولیتر از محلول عصاره با ۳/۶ میلی‌لیتر از هر یک از بافرها به‌طور جداگانه مخلوط شد و هر یک در دو طول موج ۴۳۳ و ۷۳۳ نانومتر خوانده شد و نتایج برحسب میلی‌گرم در لیتر معادل سیانیدین -۳- گلیکوزید در عصاره براساس فرمول زیر بیان گردید. لازم به ذکر است که در نمونه کنترل، به‌جای عصاره آب میوه آب مقطر جایگزین شد.

رابطه (۲)

$$\Delta A = (A_{510} - A_{700})_{pH_1} - (A_{510} - A_{700})_{pH_2}$$

رابطه (۳)

$$\Delta A = MA \times 3333 / df \times MW \times \Delta A$$

1. ML3002.E, Mettler Toledo
 2. Atago

گردید. به جای عصاره متانولی، از متانول خالص برای شاهد استفاده شد.

برای اندازه‌گیری میزان نشت یونی ۱۰ تا آریل از هر تکرار وزن شدند سپس دوبار با آب مقطر شسته شدند و سپس آن‌ها در ۱۰۰ میلی لیتر آب دی‌یونیزه به مدت یک ساعت قرار گرفتند و نشت یونی اولیه این محلول توسط دستگاه هدایت سنج مدل جنوی^۱ ۴۵۰ اندازه‌گیری گردید. سپس هر یک از ظروف حاوی بافت میوه در دمای اتاق روی دستگاه تکان‌دهنده قرار گرفتند و پس از ۱۰ ثانیه نشت یونی مجدداً اندازه‌گیری و با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید [۲۴].

رابطه (۵)

$$\text{نشت یونی} = \left(\frac{EC_2 - EC_1}{FW \text{ of } 10 \text{ arils}} \right) \times 100$$

EC2: نشت یونی اولیه، EC1: نشت یونی ثانویه، FW: وزن

تر ۱۰ آریل

آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۲) صورت گرفت. برای مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد و رسم نمودارها نیز به وسیله نرم افزار اکسل صورت پذیرفت.

۴- نتایج و بحث

نتایج این بررسی نشان داد که برهمکنش بین نیتریک اکسید، دما و زمان بر تعدادی از صفات از قبیل درصد کاهش وزن، مواد جامد محلول، نشت یونی، پلی فنل کل و ارزیابی حسی معنی دار شدند ولی بر مقدار آنتوسیانین، شاخص طعم و اسید قابل تیتراسیون اثر معنی داری نشان ندادند (جدول ۲).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره با روش DPPH و ارزیابی فعالیت خشتی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد، اندازه‌گیری شد. برای این منظور یک گرم از بافت میوه به وسیله نیتروژن مایع در داخل هاون چینی پودر و سپس توسط ۱۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شده و سپس ۷۵ میکرولیتر عصاره متانولی به ۲۹۲۵ میکرولیتر DPPH ۰/۱ میلی‌مولار (۲/۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصد) اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (کری 333، واریان، آمریکا) با طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. لازم به ذکر است که در نمونه بلانک، به جای عصاره متانولی، متانول جایگزین شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق رابطه زیر محاسبه شد [۲۲].

رابطه (۴)

$$\text{فعالیت آنتی‌اکسیدان (\%)} = (At_0 - At_{30}) \times 100 / At_0$$

که در آن At_0 جذب نمونه در زمان صفر و At_{30} جذب نمونه پس از گذشت ۱۳ دقیقه است.

فنل کل براساس روش شوی و لونگ [۲۳] اندازه‌گیری شد. برای استخراج فنل یک گرم آریل با ۵ میلی لیتر متانول اسیدی سرد هموزن گردید و محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ گردید. محلول رویی جمع‌آوری و مقدار فنل با استفاده از معرف سیوکالچئو و براساس منحنی استاندارد حاصل از اسید گالیگ محاسبه شد. میزان جذب نمونه در طول موج ۷۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (کری 333، واریان، آمریکا) اندازه‌گیری شده و میزان ترکیبات فنلی تیمارها به صورت میلی‌گرم اسید گالیگ در ۱۰۰ گرم بافت میوه بیان

Table 2 Analysis of variance of qualitative and quantitative traits of pomegranate aril

S.O.V	df	Mean Square								
		Weight Loss	TSS	TA	Anthocyanin	Antioxidant	TSS/TA	Ion leakage	Total phenol	Marketability
Nitric oxide	2	3.58**	0.35**	0.014**	46.58**	684.04**	3.16**	151.15**	29749.43**	11.57**
Temperature	2	0.80**	0.08**	0.001*	18.59**	59.56**	0.25**	54.43**	227.67**	1.30**
Time	3	19.72**	2.29**	0.05**	689.41**	2406.54**	12.54**	1451.75**	111971.99**	12.98**
Nitric oxide × Temperature	4	0.19**	0.03**	0.00 ^{ns}	3.61**	36.78**	0.05 ^{ns}	1.40**	390.85**	0.22**
Nitric oxide × Time	6	0.62**	0.08**	0.000**	5.99**	141.62**	0.67**	25.21**	3768.12**	2.26**
Temperature × Time	6	0.11**	0.02**	0.00 ^{ns}	3.02**	8.02**	0.04 ^{ns}	8.36**	58.2**	0.27**
Nitric oxide × temperature × Time	12	0.07**	0.01**	0.00 ^{ns}	1.16 ^{ns}	5.50**	0.05 ^{ns}	1.53**	65.18**	0.18**
Error	72	0.003	0.000	0.00	1.06	1.04	0.04	0.23	4/44	0.01

ns, * and **: Not significant, significant at 5% and 1% levels of probability, respectively

می‌گیرد [۲۵]. افزون بر تشدید نشت یون‌ها در میوه‌های خسارت دیده در اثر دمای پایین افزایش، درصد اتلاف آب سلول‌ها نیز در این میوه‌ها گزارش شده است [۲۵]. علت افزایش در کاهش وزن را می‌توان به شکاف‌های ناشی از سرمازدگی که روی آریل انار ایجاد می‌شود، نسبت داد. تیمار نیتریک اکسید از کاهش وزن میوه‌های مختلف طی انبارمانی جلوگیری می‌کند. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق با نتایج برخی محققان مطابقت داشت. به‌طوری‌که تیمار نیتریک اکسید باعث کاهش تنفس، تولید اتیلن و متابولیسم سلولی شده و از اتلاف آب جلوگیری و سبب کندی سرعت کاهش وزن می‌شود [۲۶]. لی و همکاران [۲۷] نشان دادند که نیتریک اکسید نقش موثری در جلوگیری از کاهش وزن میوه پاپایا دارد. دلیل تغییر وزن اندک در آریل‌های تیمار شده با ۱۰ میکرومول در لیتر نیتریک اکسید در دمای ۸ درجه سلسیوس می‌توان به نقش این ماده در جلوگیری از تنفس، نشت یونی، کاهش صدمات سرما به غشاء نسبت داد. این حقیقت که بسیاری از علائم سرمازدگی نظیر فرورفتگی سطحی، قهوه‌ای شدن، آب‌گز شدن، کاهش وزن بیشتر و افزایش نشت یونی عموماً در بافت‌های سرمازده مشاهده می‌شود، بیانگر عدم توانایی غشاء در حفظ ساختار سلولی است [۲۶].

درصد کاهش وزن همزمان با افزایش مدت نگهداری به‌تدریج افزایش یافت. براساس نتایج آزمایش، نمونه‌های شاهد در دمای ۲ درجه سلسیوس به‌طور معنی‌داری درصد کاهش وزن بیشتری را در مقایسه با سایر تیمارها نشان دادند. همچنین تیمار نیتریک اکسید با غلظت ۱۰ میکرومول در لیتر در دمای ۸ درجه سلسیوس باعث حفظ معنی‌دار کاهش وزن آریل نسبت به دیگر تیمارها شده است (جدول ۳). اثرات ساده دما بر درصد کاهش وزن میوه نیز به‌طور چشمگیری قابل ملاحظه بود. به‌گونه‌ای که در دمای ۸ درجه سلسیوس تا پایان انبارمانی کاهش وزن روند کاهشی کمتری داشت و در نتیجه طول دوره انبارمانی آریل انار افزایش پیدا کرد. روند کاهش وزن میوه در دمای ۴ درجه سلسیوس، کمتر از دمای ۲ درجه سلسیوس بود. کاهش وزن میوه‌ها در طول دوره نگهداری در نتیجه تبخیر آب از سطح میوه‌ها و مصرف ذخایر میوه در نتیجه تنفس می‌باشد [۲۵] در این آزمایش کمترین کاهش وزن مربوط به آریل‌های تیمار شده با ۱۰ میکرومول نیتریک اکسید و همچنین دمای ۸ درجه سلسیوس بود. با افزایش دما سرعت واکنش‌ها افزایش یافته و سوخت و ساز مواد ذخیره‌ای سلول افزایش می‌یابد و کاهش وزن بیشتر می‌شود. دمای پایین‌تر از ۵ درجه سلسیوس در انار باعث صدمه به غشا و افزایش نفوذپذیری آن‌ها به یون می‌باشد. با گذشت مدت سرمادهی و ایجاد خسارت دائمی، افزایش چشمگیری در شدت و میزان نشت یون صورت

Table 3 Mean comparison of effects of a nitric oxide and temperature on qualitative and quantitative traits of pomegranate aril during storage

Treatment	Time (day)	Weight Loss (%)	Total Phenol(mg galic avid/100g FW)	TSS (%)	Antioxidant (%)	Ion leakage(μ s/100g FW)
LT1	0	0P	612.80 \pm 0.00a	15.25 \pm 0.015t	78.37 \pm 0.61a	31.54 \pm 0.14s
	7	0.91 \pm 0.0001k	531.50 \pm 1.07k	15.57 \pm 0.003jk	64.08 \pm 0.25i	39.05 \pm 1.01l
	14	1.93 \pm 0.03e	438.76 \pm 1.02s	15.81 \pm 0.003f	56.80 \pm 0.52k	49.00 \pm 0.02c
	21	2.76 \pm 0.014a	419.79 \pm 1.047	16.28 \pm 0.003a	44.44 \pm 0.39m	55.91 \pm 0.29a
LT2	0	0p	612.80 \pm 0.00a	15.25 \pm 0.015t	78.37 \pm 0.61a	31.54 \pm 0.14s
	7	0.86 \pm 0.017kl	533.87 \pm 0.51jk	15.56 \pm 0.003k-m	64.51 \pm 0.84hi	39.37 \pm 0.24ef
	14	1.77 \pm 0.038f	442.90 \pm 0.59r	15.76 \pm 0.003g	56.85 \pm 1.43k	46.46 \pm 0.30b
	21	2.66 \pm 0.019b	425.42 \pm 0.87u	16.18 \pm 0.003b	44.17 \pm 0.89m	53.06 \pm 0.03b
LT3	0	0p	612.80 \pm 0.00a	15.25 \pm 0.015t	78.37 \pm 0.61a	31.54 \pm 0.14s
	7	0.83 \pm 0.002k-m	544.37 \pm 2.59jk	15.52 \pm 0.003no	66.07 \pm 0.1gh	37.99 \pm 0.05mn
	14	1.74 \pm 0.023fg	464.70 \pm 0.52q	15.72 \pm 0.003h	58.68 \pm 0.43j	44.47 \pm 0.29gh
	21	2.53 \pm 0.008c	434.01 \pm 4.93t	16.1 \pm 0.00c	46.39 \pm 0.33l	49.13c \pm 0.08c
Ni1T1	0	0p	612.80 \pm 0.00a	15.25 \pm 0.015t	78.37 \pm 0.61a	31.54 \pm 0.14s
	7	0.59 \pm 0.01n	572.62 \pm 1.24f	15.51 \pm 0.003op	69.20 \pm 0.14de	37.48 \pm 0.19no
	14	1.33 \pm 0.01oj	498.90 \pm 0.78n	15.61 \pm 0.003i	64.46 \pm 0.14hi	42.82 \pm 0.02ij
	21	2.28 \pm 0.005d	481.13 \pm 0.78p	15.99 \pm 0.003d	59.2j \pm 0.28j	48.39 \pm 0.43c
Ni2T2	0	0p	612.80 \pm 0.00a	0.015t \pm 15.25	78.37 \pm 0.61a	31.54 \pm 0.14s
	7	0.61 \pm 0.001n	564.38 \pm 1.57g	5.51 \pm 0.003op	75.19 \pm 0.54b	37.03 \pm 0.06op
	14	1.30 \pm 0.023j	499.50 \pm 0.78n	15.54 \pm 0.003l-n	70.01 \pm 0.29cd	43.22 \pm 0.23i
	21	1.72 \pm 0.031fg	480.83 \pm 0.30p	15.94 \pm 0.003e	65.97 \pm 0.51gh	47.32 \pm 0.03d
Ni1T3	0	0p	612.80 \pm 0.00a	0.015t \pm 15.25	78.37 \pm 0.61a	31.54 \pm 0.14s
	7	0.33 \pm 0.002o	576.74 \pm 2.04e	15.39 \pm 0.00r	66.56 \pm 0.71fg	35.83 \pm 0.04q
	14	0.76 \pm 0.05m	505.85 \pm 1.61m	15.49 \pm 0.003p	63.75 \pm 0.49i	40.51 \pm 0.37k
	21	1/31 \pm 0/01ij	488.53 \pm 1.02o	15.72 \pm 0.003h	59.12 \pm 0.27j	45.17 \pm 0.09g
Ni2T1	0	0p	612.80 \pm 0.00a	0.015t \pm 15.25	78.37 \pm 0.61a	31.54 \pm 0.14s
	7	0.34 \pm 0.01o	593.01 \pm 3.79c	15.51 \pm 0.00op	70.3 \pm 0.54cd	37.28 \pm 0.17no
	14	0.87 \pm 0.033kl	535.85 \pm 0.74j	15.56 \pm 0.003kl	64.99 \pm 0.29g-i	42.28 \pm 0.03j
	21	1.48 \pm 0.01h	504.77 \pm 2.41m	15.79 \pm 0.00f	54.55 \pm 0.28j	47.02 \pm 0.44de
Ni2T2	0	0p	612.80 \pm 0.00a	0.015t \pm 15.25	78.37 \pm 0.61a	31.54 \pm 0.14s
	7	0.81 \pm 0.014lm	583.94 \pm 0.30d	15.50 \pm 0.003u	70.87 \pm 0.93 c	36.42 \pm 0.16pq
	14	1.40 \pm 0.005hu	532.89 \pm 0.64jk	15.54 \pm 0.33mn	67.80 \pm 0.25ef	41.28 \pm 0.21k
	21	1.67 \pm 0.04g	505.63 \pm 1.01 m	15.94 \pm 0.003e	64.83 \pm 0.11 hi	46.10 \pm 0.46f
Ni2T3	0	0P	612.80 \pm 0.00a	0.015t \pm 15.25	78.37 \pm 0.61a	31.54 \pm 0.14s
	7	0.27 \pm 0.003o	602.49 \pm 0.35b	15.36 \pm 0.003s	68.72 \pm 0.35de	34.44 \pm 0.22r
	14	0.64 \pm 0.021n	539.56 \pm 1.11i	15.47 \pm 0.003q	64.83 \pm 0.78hi	38.70 \pm 0.13lm
	21	1.38 \pm 0.16ij	518.81 \pm 0.97l	15.59 \pm 0.003ij	59.76 \pm 0.33j	44.17 \pm 0.50h

Means with similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level of Duncan test

انبارمانی به میزان ۶/۴ درصد درحالی که در غلظت ۱۰ میکرومول در لیتر نیتریک اکسید در دمای ۸ درجه سلسیوس این افزایش ۲/۲ درصد بوده است (جدول ۳). اثرات ساده دما روی مواد جامد محلول آریل نیز معنی دار شد (جدول ۲). در دمای ۸ درجه سلسیوس میزان مواد جامد محلول روند افزایشی

میزان مواد جامد محلول در در طول دوره انبار روند افزایشی را نشان داد. بیشترین و کمترین میزان این شاخص به ترتیب در تیمار شاهد با دمای ۲ درجه سلسیوس و تیمار ۱۰ میکرومولار نیتریک اکسید با دمای ۸ درجه سلسیوس مشاهده گردید. این افزایش در تیمار شاهد در دمای ۲ درجه سلسیوس در طول

براساس نتایج جدول ۲، اثرات متقابل نیتریک اکسید و زمان بر میزان اسید قابل تیتر معنی‌دار بود ولی برهمکنش بین نیتریک اکسید، دما و زمان معنی‌دار نبود. غوطه‌وری نیتریک اکسید در هر یک از غلظت‌ها تاثیر معنی‌داری بر میزان اسید قابل تیتر داشت. در حالی‌که اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بین غلظت ۵ و ۱۰ میکرو مول نیتریک اکسید در روز ۲۱ بعد از انبارمانی از نظر اسید قابل تیتر مشاهده نشد (شکل ۲). معمولاً اسیدهای آلی به‌هنگام رسیدن میوه به‌دلیل مصرف‌شدن در تنفس و تبدیل به قندها کاهش می‌یابند و کاهش آن‌ها رابطه مستقیم با فعالیت‌های متابولیکی دارد [۳۲]. مطالعات حاکی از آن است که نیتریک اکسید باعث کاهش تنفس و تولید اتیلن می‌شوند به‌واسطه کاهش مصرف قندها، از کاهش اسیدهای آلی و افزایش مواد جامد محلول جلوگیری می‌کنند [۳۳]. در آغاز فرآیند رشد و نمو میوه، به‌دلیل مقدار قند کم و مقدار اسید بالای میوه، نسبت قند به اسید کم است که این باعث مزه ترش میوه می‌شود. با توجه به نتایج تجزیه واریانس اثرات متقابل دما و زمان بر میزان اسید قابل تیتر اثر معنی‌داری نداشت درحالی‌که اثر دما به‌تنهایی بر این شاخص در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). دمای ۸ درجه سلسیوس انبار نسبت به دمای ۲ و ۴ درجه سلسیوس تاثیر به‌سزایی در حفظ میزان اسید قابل تیتر داشت، به‌طوری‌که بیشترین و کمترین میزان این شاخص در دمای ۸ درجه سلسیوس و دمای ۲ درجه سلسیوس مشاهده شد (شکل ۲). بین دمای ۲ و ۴ درجه سلسیوس و همچنین بین ۴ و ۸ درجه سلسیوس اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۳). بالا بودن مقدار اسید قابل تیتر در تیمار اسپرمیدین به‌دلیل کاهش آبکافت اسیدهای آلی و متعاقب آن تجمع اسیدهای آلی در بافت میوه باشد که در اثر کم شدن تنفس اتفاق می‌افتد. کاهش اسید قابل تیتر در تیمارهای نگهداری ممکن است به‌دلیل مصرف اسیدهای آلی در چرخه (دکربوکسیلاسیون پیروات) در طی رسیدن میوه باشد. دمای ۲ درجه سلسیوس نسبت به دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس رطوبت بیشتری را از دست می‌دهد و از این طریق سبب تجمع قند و کاهش اسید قابل تیتر آریل انار می‌شود. همچنین دمای پایین

کمتری نسبت به دمای ۲ و ۴ درجه سلسیوس داشت. همچنین تمامی این تغییرات در دمای ۲ درجه سلسیوس بیشتر از ۴ و ۸ درجه سلسیوس بود (شکل ۱). قسمت اعظم مواد جامد محلول در میوه شامل قندها و درصد کمی نیز شامل اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌باشد. میزان مواد جامد محلول با رسیدن میوه افزایش می‌یابد. افزایش مواد جامد محلول در طی انبارمانی در نتیجه کاهش آب میوه و تجزیه قندهای مرکب به قندهای ساده اتفاق می‌افتد. هر چه میزان و سرعت هیدرولیز بیشتر باشد، میوه زودتر نرم شده و به علاوه در برابر عوامل بیماری‌زای انباری آسیب‌پذیرتر می‌شوند و عمر انباری آن نیز کاهش می‌یابد [۲۸]. نیتریک اکسید باعث کاهش فعالیت‌های متابولیکی سلول و حفظ غشاهای دیواره‌های سلولی می‌گردد که نتیجه آن جلوگیری از افزایش غیر-عادی مواد جامد محلول می‌باشد [۲۹]. کمتر بودن میزان کل مواد جامد محلول در تیمارهای نیتریک اکسید بیانگر این است که تیمار ذکر شده از هیدرولیز قندها در میوه جلوگیری کرده‌اند. همچنین مالیک و همکاران [۳۰] بیان کردند که از دست دادن رطوبت میوه در افزایش این شاخص نقش به‌سزایی دارد. بنابراین کاهش دمای انبار باعث افزایش نشت یونی و ازدست دادن آب از طریق منافذ به‌وجود آمده در غشاء شده و از این طریق سبب افزایش مواد جامد محلول می‌گردد. دینگ و همکاران [۳۱] بیان کردند هیچ تفاوت معنی‌داری در مقدار مواد جامد محلول میوه‌های انبه تیمار شده با اسید سالیسیلیک به میزان ۲ میلی‌مولار طی ذخیره در دمای سرد، مشاهده نشد، که با پژوهش ما مغایرت داشت.

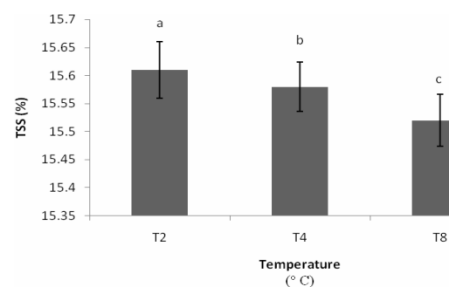


Fig 1 Effect of effect temperature on TSS arils of pomegranate
T2: at temperature 2° C , T4: at temperature 4° C and T8 at temperature 8° C

شاخص طعم در دمای ۸ درجه سلسیوس و دمای ۲ درجه سلسیوس مشاهده گردید (شکل ۴). اختلاف معنی‌داری بین دمای ۴ و ۸ درجه سلسیوس از نظر این شاخص مشاهده نشد. نتایج این مطالعه با نتایج فهمیده و همکاران [۳۵] مطابقت داشت. این محققین بیان کردند که نمونه شاهد میوه چیکو و نگهداری آن در دمای ۱۲ درجه سلسیوس بالاترین مقدار قند احیا را در طول مدت انبارمانی نسبت به میوه‌های تیمار شده با کلرید کلسیم در دمای ۲۷ نشان دادند، که دلیل آن را به تجزیه نشاسته و تبدیل شدن آن به قندهای احیا کننده نسبت دادند. آنزیم‌های میوه فرآیند تولید قند احیا را تسریع می‌کنند.

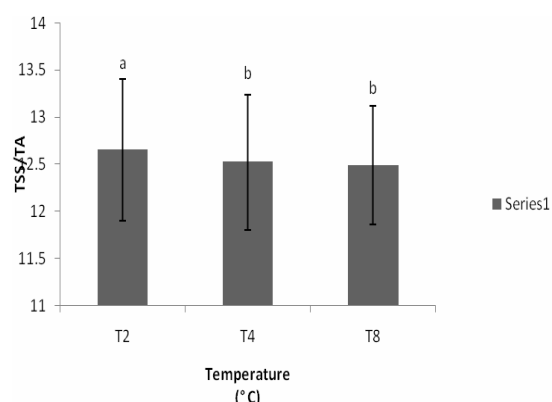


Fig 4 Effect of temperature of storage on TSS/TA arils of pomegranate
T2: at temperature 2° C, T4: at temperature 4° C and T8 at temperature 8° C

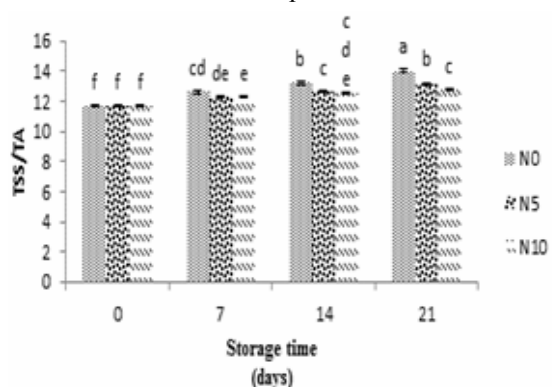


Fig 5 Effect of effect nitric and time of storage on TSS/TA arils of pomegranate
N0 : control , N2: 5 µm nitric oxide, N3 10 µm nitric oxide

نتایج مطالعه حاضر نشان داده است که تیمار نیتریک اکسید با غلظت ۱۰ میکرومول در لیتر در دمای ۴ درجه سلسیوس به‌طور مؤثری میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را در طول انبارمانی نسبت به سایر تیمارها حفظ کرده است. میزان کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در طول انبارمانی در این تیمار ۱۷/۲۷٪ و در تیمار شاهد در دمای ۲ درجه سلسیوس ۴۳/۲۳٪ بوده است.

باعث تجمع رادیکال‌های آزاد، اکسیداسیون و از این طریق سبب مصرف شدن قندها می‌شود.

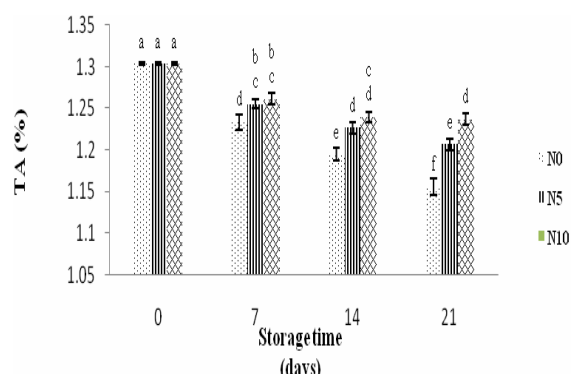


Fig 2 Effect of effect nitric and time of storage on TA arils of pomegranate
N0 : control , N2: 5 µm nitric oxide, N3 10 µm nitric oxide

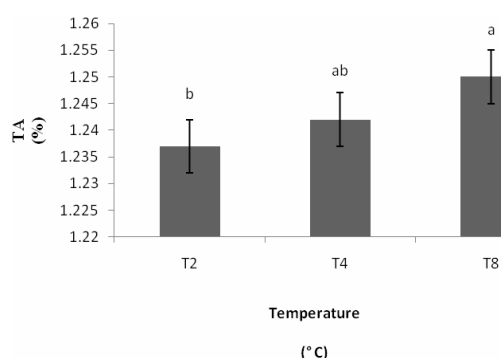


Fig 3 Effect of effect temperature on TA arils of pomegranate

T2: at temperature 2° C , T4: at temperature 4° C and T8 at temperature 8° C

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثرات متقابل بین زمان و تیمارهای استفاده شده بر شاخص طعم (TSS/TA) معنی‌دار نشد (جدول ۲). بیشترین و کمترین میزان شاخص طعم به ترتیب در شاهد و غلظت ۱۰ میکرومولار نیتریک اکسید مشاهده شد. شاخص طعم طی نگهداری آریل انار به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۵). در طول فرآیند رسیدن، اسیدهای میوه‌ها تخریب شده، مقدار قند نیز افزایش می‌یابد در نتیجه نسبت قند به اسید، بالاتر می‌رود. افزایش نسبت قند به اسید را می‌توان عمدتاً به‌خاطر افزایش میزان قند محلول از طریق تجزیه قند ساکارز به گلوکز و فروکتوز در مراحل مختلف رسیدن نسبت داد [۳۴]. در تیمار شاهد، تغییرات زیاد شاخص طعم، نشان دهنده تغییر زیاد در طعم میوه و در واقع دور شدن از طعم مطلوب اولیه میوه در ابتدای پژوهش می‌باشد. با توجه به نتایج جدول ۲، تیمار دما اثر معنی‌داری بر شاخص طعم داشت، به طوری‌که کمترین و بیشترین میزان

می‌گیرد [۴۱]. تیمار نیتریک اکسید اثر معنی‌داری بر حفظ آنتوسیانین‌ها دارد (شکل ۵). نیتریک اکسید مانع کاهش میزان آنتوسیانین در طول انبارمانی می‌شود. دو آن و همکاران [۴۲] گزارش کردند که نیتریک اکسید از طریق کاهش از دست دادن آب و کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو باعث حفظ آنتوسیانین در میوه بادمجان می‌شود. به نظر می‌رسد که نیتریک اکسید از طریق افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌تواند گیاه را در برابر فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز، پراکسیداز و هیدروژن پراکسید محافظت کند. این ترکیبات نقش ویژه‌ای در تخریب آنتوسیانین دارند [۴۳]. پلی‌فنل اکسیداز یا تیروزین‌ها آنزیم‌های کاهش‌دهنده آنتوسیانین می‌باشند. نیتریک اکسید در گیاه تنباکو باعث القای بیان ژن فنیل‌آلانین آمونیلایز می‌شود [۴۴]. این آنزیم نقش کلیدی در سنتز رنگیزه آنتوسیانین دارد [۴۵]. دمای انبار نیز اثر معنی‌داری بر میزان آنتوسیانین‌ها داشت. کمترین و بیشترین میزان آنتوسیانین در انتهای زمان انبارمانی به ترتیب در دمای ۲ درجه سلسیوس و دمای ۸ درجه سلسیوس مشاهده شد (شکل ۷). نتایج نشان داد که با گذشت زمان قهوه-ای شدن افزایش یافت. لین و پانگ [۴۶] گزارش کردند که علت قهوه‌ای شدن میوه انار، سرما، اتلاف آب و اختلالات فیزیولوژیکی در طول ذخیره در انبار است که ترکیبات کینون به‌همراه اکسیژن با پلی‌فنل اکسیداز ترکیب شده و رنگیزه‌های قهوه‌ای تشکیل می‌شود. قهوه‌ای شدن آریل انار در دما پایین انبار را می‌توان به تولید رادیکال‌های آزاد، تولید اکسیژن و فعال شدن آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نسبت داد چنین نتیجه‌گیری می‌شود که نیتریک اکسید می‌تواند فعالیت آنزیم‌های مسئول تیرگی بافت و روند قهوه‌ای شدن را کاهش دهد، و از این طریق سبب حفظ آنتوسیانین میوه می‌شود.

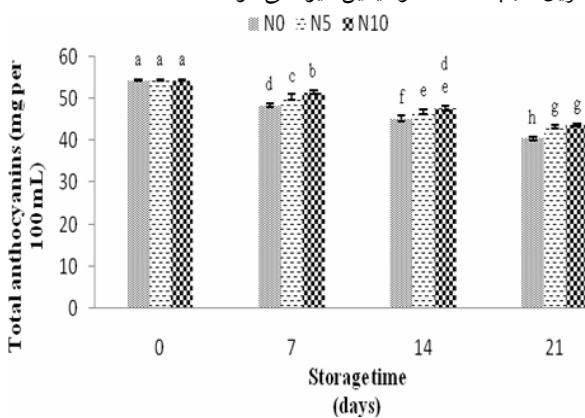


Fig 6 Effect of effect nitric oxide and time of storage on total anthocyanin arils of pomegrante
 NO : control , N2: 5 μ m nitric oxide, N3 10 μ m nitric oxide

تمامی تیمارهای اعمال شده دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در مقایسه با نمونه‌های شاهد بودند. با گذشت زمان آزمایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها کاهش معنی‌داری نشان دادند (جدول ۳). همچنین آریل‌های نگهداری شده در دمای ۸ درجه سلسیوس فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به آریل‌های نگهداری شده در دمای ۲ و ۴ درجه سلسیوس داشتند (جدول ۳). بین آریل‌های شاهد در دمای ۲ و ۴ درجه سلسیوس تفاوت معنی‌داری در روز ۲۱ انبارمانی از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده نشد. دمای پایین باعث تولید شدن رادیکال‌های آزاد و افزایش تنفس سلولی و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آریل انار شده است، اما نیتریک اکسید بر فعالیت‌های میتوکندری در سلول‌های گیاهی تأثیر می‌گذارد و تنفس سلولی را به دلیل اثر مهار بر روی سیتوکروم، کاهش می‌دهد [۲۹] در میوه توت‌فرنگی تیمار نیتریک اکسید به دلیل افزایش یکپارچگی غشا مانع تخریب آنتوسیانین و کاهش اکسیداسیون می‌شود. به نظر می‌رسد، نیتریک اکسید در میوه موز [۳۶]، کیوی [۳۷] و لیچی [۳۸] باعث حفظ سفتی بافت، تنفس پایین‌تر و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه تیمار شده نسبت به شاهد شده است. بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش رادیکال‌های آزاد، کاهش آسیب‌های اکسیداتیو و افزایش انبارمانی محصولات باغبانی شد [۳۹]. تیمار نیتریک اکسید، دما و زمان بر میزان آنتوسیانین تأثیری نداشتند (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تیمارهای نیتریک اکسید در هر یک از غلظت‌ها پس از ۲۱ روز انبارمانی مقدار آنتوسیانین بیشتری در مقایسه با شاهد داشتند (شکل ۶). اختلاف معنی‌داری بین غلظت ۵ و ۱۰ میکرومول نیتریک اکسید از نظر مقدار آنتوسیانین مشاهده نشد. تغییر در آنتوسیانین‌ها و دیگر ترکیبات فنلی ممکن است منجر به قهوه-ای شدن بافت شود که از لحاظ ارزش غذایی و همچنین کیفیت ظاهری مطلوب نیست تغییرات مقدار رنگ می‌تواند تحت تأثیر شرایط محیطی هم قرار گیرد از جمله اکسیژن که از طریق مکانیسم مستقیم اکسایش و یا از طریق اکسایش‌های غیرمستقیم اجزای اکسید شونده‌ی محیط، باعث تشکیل ترکیبات بی‌رنگ قهوه‌ای می‌شود [۴۱]. قهوه‌ای شدن ممکن است به دلیل تخریب سلول و قرارگیری سوبسترا و آنزیم در کنار هم شود. تغییر در محتوای آنتوسیانین‌ها یکی دیگر از علل قهوه‌ای شدن پریکارپ لیچی است [۴۰]. کاهش آنتوسیانین‌ها در نتیجه اکسیداسیون در حضور دیگر ترکیبات فنلی صورت

گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب به غشای سلولی می‌گردد اما تیمار نیتریک اکسید با حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تجمع متابولیت‌های ثانویه باعث کاهش خسارت سرمازدگی می‌گردد. کاربرد نیتریک اکسید باعث کنترل نشت یون‌ها و کاهش خسارت سرمازدگی در موز [۴۸] و هلو [۴۹] در طول انبارمانی در دمای پایین شده است.

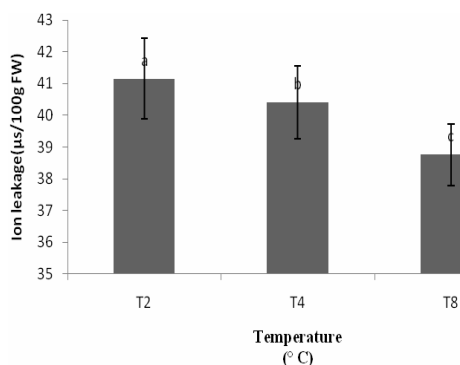


Fig 8 Effect of effect temperature and time of storage on ion leakage arils of pomegranate T2: at temperature 2° C, T4: at temperature 4° C and T8 at temperature 8° C

تغییرات پلی‌فنل آریل‌های مورد پژوهش هم از روندی مشابه به روند تغییرات آنتی‌اکسیدانی پیروی کرد. بررسی نتایج نشان داد که حداکثر میزان فنل در نمونه‌های نیتریک اکسید در غلظت ۱۰ میکرومول در لیتر در دمای ۸ درجه سلسیوس مشاهده گردید. میزان کاهش ترکیبات فنلی در تیمار شاهد در طول انبارمانی ۳۱/۵٪ و در نمونه‌های تیمار شده با ۱۰ میکرومول نیتریک اکسید در دمای ۸ درجه سلسیوس ۱۵/۳۴٪ بوده است. با گذشت زمان آزمایش میزان فنل کاهش یافت (جدول ۳). با این حال نیتریک اکسید به‌طور مناسبی می‌تواند مانع از کاهش آن شود. نیتریک اکسید در غلظت‌های کم تأثیر بازدارندگی بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و فنیل‌آلانیل آمونیلایز در شرایط درون شیشه‌ای دارد [۵۰]. همچنین گزارش شده تیمار میوه‌های عناب با ۱۰ و ۲۰ میلی‌لیتر در لیتر محلول نیتریک اکسید از افزایش رنگ قرمز جلوگیری کرده، محتوای آنتوسیانین کل را کاهش داده، فعالیت پلی‌فنل اکسیداز و فنیل‌آلانیل آمونیلایز را کاهش و محتوای فنل کل را در طول انبارمانی افزایش داده است [۵۱]. دیگر مطالعات نیز نشان دادند که نیتریک اکسید باعث کاهش ترکیبات فنلی در طول انبار در میوه انگور می‌شود [۵۲]، که با نتایج ما همخوانی ندارد. کاهش در ترکیبات فنلی ممکن است به‌علت تخریب سلول‌ها و پیر شدن بافت میوه در طول انبارمانی باشد [۵۲].

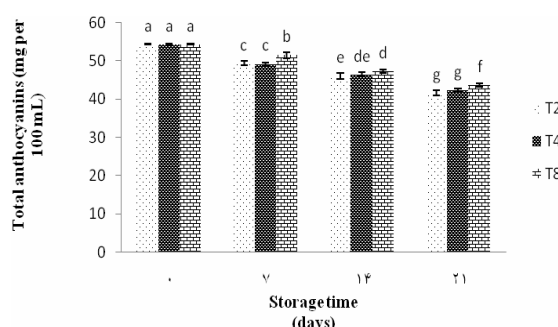


Fig 7 Effect of effect temperature and time of storage on total anthocyanin arils of pomegranate T2: at temperature 2° C, T4: at temperature 4° C and T8 at temperature 8° C

نیتریک اکسید تأثیر معنی‌داری بر نشت یونی داشت. در مدت انبارمانی نشت یونی روند افزایشی داشت و نشت یونی در انارهای تیمار شده با نیتریک اکسید به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. حداقل و حداکثر نشت یونی به‌ترتیب در تیمار ۱۰ میکرومول نیتریک اکسید در دمای ۸ درجه سلسیوس و تیمار شاهد در دمای ۲ درجه سلسیوس بود (جدول ۳). با توجه به نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده دما بر میزان نشت یونی نیز اثر معنی‌داری داشت (جدول ۲). دمای ۸ درجه سلسیوس انبار نسبت به دمای ۲ و ۴ درجه سلسیوس تأثیر به‌سزایی در حفظ میزان نشت یونی داشت، به‌طوری‌که بیشترین و کمترین میزان این شاخص در دمای ۲ درجه سلسیوس و دمای ۸ درجه سلسیوس مشاهده شد (شکل ۲). بین دمای ۲ و ۴ درجه سلسیوس و همچنین بین ۴ و ۸ درجه سلسیوس اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید (شکل ۸). میزان نشت یونی در تیمار شاهد در دمای ۲ درجه سلسیوس نسبت به تیمار شاهد در دمای ۴ و ۸ درجه به‌ترتیب ۱/۱۳ و ۱/۰۵ برابر بود و با افزایش مدت انبارمانی سرمازدگی و نشت یونی افزایش یافت (جدول ۳). نیتریک اکسید در کاهش خسارت سرمازدگی و نشت یونی تأثیر معنی‌داری داشت. سرما در بافت‌های گیاهی باعث کاهش سیالیت غشای سلولی و بروز سرمازدگی در غشای سلولی آسیب دیده می‌شود که منجر به افزایش نشت یونی از غشای سلول‌ها می‌گردد. به‌نظر می‌رسد نیتریک اکسید با تأثیر در حفظ سیالیت ساختار غشای پلاسمایی و اندامک داخلی از جمله تونوپلاست در دمای پایین مانع از هم‌پاشیده آن‌ها شده و در نتیجه باعث کنترل نشت یون‌ها و مواد موجود در واکوئل به سیتوزول و فضای سیتوپلاسمی شده است [۴۷]. در حالت کلی نگهداری انار در دمای ۴ درجه سلسیوس باعث افزایش

جلوگیری کند، باعث حفظ وضعیت ظاهری و ارزیابی حسی محصول خواهد شد [۴۰ و ۱۶]. مطالعات نشان دادند که شاخص ارزیابی حسی در آریل‌های تیمارشده با نور ماوراء بنفش و پوشش‌های خوراکی در طول انبارمانی از ۹/۸۳ به (۷/۲۵) رسید درحالی‌که این کاهش در آریل‌های شاهد (۴/۵) بود [۵۳]. دمای ۲ درجه سلسیوس انبار به دلیل سرمازدگی، قهوه‌ای شدن بافت، نرم شدگی و پوسیدگی، بافت‌های آریل وضعیت ظاهری خود را ازدست داده و کمترین نمره را از نظر این شاخص نسبت به سایر تیمارها کسب نموده است.

طبق جدول ۴، آریل‌های تیمار شده با نیتریک اکسید بعد از ۲۱ روز انبارمانی بیشترین اثر را در حفظ ارزیابی حسی داشته است. که بیشترین درصد ارزیابی حسی مربوط به تیمار ۱۰ میکرومول در لیتر نیتریک اکسید در دمای ۸ درجه سلسیوس می‌باشد. با توجه به اینکه وضعیت ظاهری محصول مهمترین شاخص ارزیابی حسی مربوط به بازارپسندی محصول است و وجود هرگونه علائم آلودگی و پوسیدگی و نرم شدن میوه باعث کاهش بازارپسندی محصول می‌شود، بنابراین هر عاملی که سرعت پیری را کاهش دهد و از رشد علائم پوسیدگی

Table 4 Mean comparison of effects of a nitric oxide and temperature on sensory evaluation of pomegranate aril

Treatment	Time (day)	Sensory evolution
LT1	0	9.00±0.07a
	7	7.47±0.07h-j
	14	5.60±0.07l
	21	4.53±0.07n
LT2	0	9.00±0.00a
	7	7.73±0.07f-h
	14	6.73±0.12k
	21	4.53±0.07m
LT3	0	9.00±0.00a
	7	8.66±0.18b
	14	7.87±0.07d-f
	21	6.73±0.13k
NI1T1	0	9.00±0.00a
	7	8.2±0.07c
	14	7.53±0.18g-j
	21	6.80±0.07k
NiT2	0	9.00±0.00a
	7	8.93±0.12ab
	14	8.13±0.07cd
	21	7.67±0.11f-h
Ni1T3	0	9.00±0.0a
	7	8.87±0.07ab
	14	8.07±0.24ce
	21	7.33±0.07ij
Ni2T1	0	9.00±0.0a
	7	8.80±0.07ab
	14	7.80±0.07e-g
	21	7.27±0.07j
Ni2T2	0	9.00±0.0a
	7	8.93±.12ab
	14	8.33±0.02c
	21	7.87±0.07d-f
Ni2T3	0	9.00±0.0a
	7	8.93±.12ab
	14	8.33±0.02c
	21	7.87±0.07d-f

Means with similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level of Duncan test

آلودگی میکروبی، قهوه‌ای شدن آنزیمی و نرم شدن از مهمترین مشکلات پس از برداشت آریل انار طی انبارمانی

۵- نتیجه گیری

- [5] Lopez-Rubira, V., Conesa, A., Allende, A. and Artes, A. 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.
- [6] Khazaei, J., Ekrami-Rad, N., Safa, M. and Nosrati, S.Z. 2008. Effect of air-jet impingement parameters on the extraction of pomegranate arils. *Biosystem Engineering*. 100: 214–226.
- [7] Gil, M.I., Martí, J.A. and Artés, F. 1996. Minimally processed pomegranate seeds. *LWT-Food Science and Technology*. 29: 708-713.
- [8] Mirdehghan M. S.H., Rahemi, M., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Valverde, J. M., Zapata, P. J., Serrano, M. and Valero, D. 2007. Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatment: Role of polyamines. *Postharvest Biology and Technology*. 44: 19-25. (In persian with english abstract).
- [9] Hayat, S., Hasan, S.A., Mori, M., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. 2010. Nitric oxide: chemistry, biosynthesis, and physiological role. *Nitric Oxide in Plant Physiology*. p. 1-15.
- [10] Wills, R.B.H., Pristijono, P. and Golding, J.B. 2008. Browning on the surface of cut lettuce slices inhibited by short term exposure to nitric oxide (NO). *Food Chemistry*. 107: 1387–1392.
- [11] Linh, T., Jitareerat, P., Sa Aimla-or, S., rilaong, V., Boonyaritthongchai, P. and Uthairatanakij, AP. 2015. Applying of sodium nitroprusside (SNP) on postharvest 'Nam Dok Mai No.4' mango fruits delay ripening and maintain quality. *African Journal of Agricultural Research*. 10 (31):3067-3072.
- [12] Mirzai, F. and Khazaei, M. 2016. The role of nitric oxide in biological systems: a systematic review. *J Mazandran Univ. Med. Sci*. 27 (15) 192-222.
- [13] Zhu, S., Sun, L., Liu, M. and Zhou, J. 2008. Effect of nitric oxide on reactive oxygen species and antioxidant enzymes in kiwifruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88: 2324–2331.
- [14] Huque, R., Wils, R.B.H., Pristijono, P. and Golding, J.B. 2013. Effect of nitric oxide (NO) and associated control treatments on the metabolism of fresh-cut apple slices in relation to development of surface browning.

است. استفاده از تیمارهای افزایش دهنده عمر انباری از جمله نیتریک اکسید در غلظت مناسب و نگهداری در انبار سرد، می‌تواند منجر به حفظ کاهش مشکلات پس از برداشت و حفظ خصوصیات کیفی و به تاخیر انداختن تغییرات فیزیولوژیکی رسیدن میوه شود. از سویی دیگر نیتریک اکسید با حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه منجر به افزایش مقاومت به آسیب‌های ناشی از انبار سرد، دارای توانایی القاء مقاومت به سلول است که می‌تواند با تاثیر بر غشاء پلاسمایی میزان سرمازدگی و نشت یونی را در جهت حفظ سلامت آریل تغییر دهد. با توجه به آزمایش انجام شده مشخص شد که تیمار ۱۰ میکرومولار نیتریک اکسید بدون داشتن اثرات نامطلوب بر کیفیت محصول، نقش مؤثرتری نسبت به سایر تیمارها در حفظ ترکیبات فنلی، آنتوسیانین و نیز کیفیت ظاهری آریل داشت، لذا توصیه می‌شود کاربرد تجاری نیتریک اکسید در غلظت مناسب روی این محصول و نیز سایر محصولات تازه مورد استفاده قرار گیرد.

آریل‌های نگهداری شده در دمای ۸ درجه سلسیوس نسبت به آریل‌های نگهداری شده دمای ۲ و ۴ درجه سلسیوس کیفیت ظاهری و نیز در بیشتر صفات کیفی ارزیابی شده، در وضعیت بهتری بودند. بنابراین مطلوبترین دما در حفظ خصوصیات کیفی و بازاری پسنندی آریل انار رقم نادری، دمای ۸ درجه سلسیوس می‌باشد.

۶- منابع

- [1] Singh, D and Singh, R.K. 2004. Processed products of pomegranate. *Nat Prod Radiance*. 3: 66–68.
- [2] Safa, M. and Khazaei, J. 2003. Determining and modeling some physical properties of pomegranate fruits of Saveh, Iran, related to peeling and packaging. *Proc. Int. Congr. on Information Technology in Agriculture, Food and Environment*, 331–337.
- [3] Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M. and Kader, A.A. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agric Food Chem*. 10: 4581–4589.
- [4] Artes, F., Tudela, J.A. and Villaescusa, R. 2000. Thermal postharvest treatments for improving pomegranate quality and shelf life. *Postharvest Biology and Technology*. 18: 245–251.

- Zapata, P. J., Serrano, M. & Valero, D. 2007. Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatment: Role of polyamines. *Postharvest Biology and Technology*, 44, 19-25.
- [26] Shui, G. and Leong, L.P. 2002. Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*. 977(1): 89-96.
- [27] Li, X.P., Wu, B., Guo, Q., Wang, J.D., Zhang, P. and Chen, W.X. 2014. Effects of nitric oxide on postharvest quality and soluble sugar content in papaya fruit during ripening. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38: 591-599.
- [28] Jalili, Marandi R. 2004. Post-harvest physiology. Uromia University Jihad Publications, Uromia. 276 p. (In persian)
- [29] Zaharah, S.S. and Singh, Z. 2011. Postharvest nitric oxide fumigation alleviates chilling injury delays fruit ripening and maintains quality in cold-stored 'Kensington Pride' mango. *Biosystem Engineering*. 60:202-210
- [30] Malik, M.T., Dasti, A.A. and Khan, S.M. 2005. Mango decline disorders prevailing in Pakistan, *Proceedings of International Conference on Mango and Date: Culture and Export*, University of Agriculture. Faisalabad, Pakistan. pp. 20-23.
- [31] Ding, C.K., Wang, C.Y., Gross, K.C. and Smith, D.L. 2001. Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock proteins in tomato fruit by methyl jasmonate and methyl salicylate *Plant Science* 161 1153-1159.
- [32] Rahimi, M. 1384. Post-harvest physiology. Third edition. Shiraz University Press. 437 p. (In persian).
- [33] Hong, K., Gong, D., Xu, H., Wang, S., Jia, Z., Chen, J. and Zhang, L. 2014. Effects of salicylic acid and nitric oxide pretreatment on the expression of genes involved in the ethylene signalling pathway and the quality of postharvest mango fruit. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 42:205-216.
- [34] Cheng, G., Yang, E., Lu, W., Jia, Y., Jiang, Y. and Duan, X. 2009. Effect of nitric oxide on ethylene synthesis and softening of banana fruit slice during ripening. *J. Agric. Food Chem.* 57:5799-5804.
- Postharvest Biology and Technology*. 78:16-23.
- [15] Zhu, S., Liu, M. and Zhou, J. 2006. Inhibition by nitric oxide of ethylene biosynthesis and lipoxygenase activity in peach fruit during storage. *Postharvest Biology and Technology*. 42: 41-48.
- [16] Dushni Ashrami, M. and Zakaye Khosroshahi, M. 2008. *Physiology and post-harvest technology*, Hamadan University Press, Hamedan. 658 pages.
- [17] Ghasemnezhad M., Sherafati M. and Payvast A. 2011. Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *J Funct Foods* 3:44-49.
- [18] Ayala-Zavala, J.F., Wang, S.Y, Wang, C.Y. and Gonzalez-Aguilar, G.A. 2007. High oxygen treatment increases antioxidant capacity and postharvest life of strawberry fruit. *Food Technology and Biotechnology*. 45:166-173.
- [19] Mercado, S.E., Rubatazky. and Contwell, M.I. 1998. Variation in chilling susceptibility of jicama roots. *Acta Hort.* 467: 357-362.
- [20] Saltveit, M.E. 2005. Postharvest biology and handling, pp. 305-324. In: HEUVELINK E. (ed.) *Tomatoes*. CABI Wallingford, UK, pp. 352.
- [21] Muand, F.N., Souliman, R., Diop, B. and Dicko, A. 2011. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stev reia boudiana* Bertoni leaves. *LWT - Food Science and Technology*. 44: 1865-72.
- [22] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, CL.WT. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1): 25-30.
- [23] Shui, G. and Leong, L.P. 2002. Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*. 977(1) :89-96.
- [24] Kulkarni, A. P., Aradhya. S.M. and Divakar. S. 2004. Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit. *Food Chemistry*. 87: 551-557.
- [25] Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Valverde, J. M.,

- [45] Boss, P.K., Davies, C. and Robinson, S. P. 1996. Analysis of the Expression of Anthocyanin Pathway Genes in Developing *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz Grape Berries and the Implications for Pathway Regulation. *Plant Physiology*. 111(4): 1059-1066.
- [46] Lin, Z.Y. and pangm, Z.R. 2008. Study on the Mechanism of Browning of Pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Ganesh) Peel in Different Storage Conditions. *Agricultural Sciences in China*. 7 (1): 65-73.
- [47] Vela, G., Leon, DM., Garcia, H.S. and Cruz, J.D. 2003. Polyphenoloxidase activity during ripening and chilling stress in 'Manila' mangoes. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 78: 104-107.
- [48] Wu, B., Guo, Q., Li, Q., Ha, Y., Li, X. and Chen, W. 2014. Impact of Postharvest Nitric Oxide Treatment on Antioxidant Enzymes and Related Genes in Banana in Response to Chilling Tolerance. *Postharvest Biology and Technology*. 92: 157-163.
- [49] Zhu, S., Liu, M. and Zhou, J. 2006. Inhibition by Nitric Oxide of Ethylene Biosynthesis and Lipoxygenase Activity in Peach Fruit During Storage. *Postharvest Biology and Technology*. 42(1): 41-48.
- [50] Zhu, L.Q., Zhou, J., Zhu, S.H. and Guo, L.H. 2009a. Inhibition of browning on the surface of peach slices by short-term exposure to nitric oxide and ascorbic acid. *Food Chemistry*. 114:174-179.
- [51] Zhu, S., Sun, L. and Zhou, J. 2009b. Effects of nitric oxide fumigation on phenolic metabolism of postharvest winter jujube (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. Dongzao) in relation to fruit quality. *LWT - Food Science and Technology* 42:1009-1014.
- [52] Asghari, M.R. and Khamiri Sani, M. 2010. The Effect of Post-harvest Putresin and Nitric Oxide on Phenolic Consumption grape grated white seed. *Journal of Food Industry Research*. 2:61-72. (In persian).
- [53] El-Dien Salama, M., Ayaad, H.M., Aboul-Anean, H.E. and Fahmy, H.M. 2012. Effect of edible coating as a carrier of essential oils and ultraviolet light (UV-C) on improving quality of minimally processed Manfalouty pomegranate. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 8(2): 315-324.
- [35] Fahmideh, L., Tavakoli, M., Omranipour, S. and Amir Rajabi, A. 2018. Effect of treatment post-harvest t of spermidine, calcium chloride and temperature on qualitative characteristics Chico fruit (*Manilkara zapota*) Minab city. *Iranian journal of nutrition and food technology*. 2:89-98. (In Persian).
- [36] Cheng, G., Yang, E., Lu, W, Jia, Y., Jiang, Y. and Duan, X. 2009. Effect of nitric oxide on ethylene synthesis and softening of banana slice during ripening. *Journal of Agriculture and Food Chem*. 57:5799-5804.
- [37] Saadatian, M., Ahmadiyan, S., Akbari, M. and Balouchi, Z. 2012. Effects of Nitric oxide on Kiwifruit at Low Temperature. *Adv. Environ. Biol*. 1902-1909.
- [38] Barman, K., M.W. Siddiqui, V. Patel, and Prasad, M. 2014. Nitric oxide Reduces Pericarp Browning and Preserves Bioactive Antioxidant in Litchi. *Sci. Hor*. 171: 71-77.
- [39] Wu, B., Guo, Q., Li, Q., Ha, Y., Li, X. and Chen, W. 2014. Impact of Postharvest Nitric Oxide Treatment on Antioxidant Enzymes and Related Genes in Banana in Response to Chilling Tolerance. *Postharvest Biology and Technology*. 92: 157-163.
- [40] Zheng, X., Tian S., Gidley, M.J., Yue, H. and Li, B. 2006. Effects of oxalic acid on control of postharvest browning of litchi fruit. *Food Chemistry*. 96: 519-523.
- [41] Khodaei, M., Nahandi, F.Z., Motallebi-Azar, A. and Dadpour, M. 2015. Effect of Salycilic Acid and Sodium Nitro Proside on the Pomegranate Aril Browning Disorder. *Biological Forum, Research Trend*.
- [42] Duan, X., Su, X., You, Y., Qu, H., Li, Y. and Jiang, Y. 2007. Effect of nitric oxide on pericarp browning of harvested longan fruit innrelation to phenolic metabolism. *Food Chemistry*. 104: 571-576.
- [43] Khodaei, M., Nahandi, F.Z., Motallebi-Azar, A. and Dadpour, M. 2015. Effect of Salycilic Acid and Sodium Nitro Proside on the Pomegranate Aril Browning Disorder. *Biological Forum, Research Trend*.
- [44] Durner, J., Wendehenne, D. and Klessig, D.F. 1998. Defense Gene Induction in Tobacco By Nitric oxide, Cyclic GMP, and Cyclic ADP-ribose. *P. Natl. Acad. Ssi*. 95(17): 10328-1033

Effects of storage temperature and nitric oxide on quality and storage life of Naderi pomegranate arils

Mandegari, M.¹, Mirzaalian Dastjerdi, A.^{2*}, Mosharraf, L.³, Tatari, M.⁴

1. Ph.D. student, post-harvest physiology and technology, Department of Horticulture, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Horticulture, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
3. Assistant Professor, Agricultural Engineering Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran.
4. Assistant Professor, Horticulture Crops Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran.

(Received: 2019/01/06 Accepted:2019/06/23)

Softening, enzymatic browning and microbial activity are the most common problems of pomegranate arils during storage. In order to improve these problems, postharvest treatments of nitric oxide and cold storage were studied on pomegranate arils. Therefore, In order to evaluate the effect of temperature and different concentrations of nitric oxide on pomegranate arils, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with three replications. In this study, nitric oxide was used at concentrations of 0, 5 and 10 $\mu\text{M/L}$ as liquid solutions. The arils were dipped in solution for fifteen seconds and were packed by polyethylene containers after drying at room temperature. They were stored at cold temperatures (2, 4 and 8°C). The qualitative, quantitative and biochemical parameters were measured on days 0, 7, 14 and 21 of the storage period. The ANOVA results showed that the different concentrations of nitric oxide and storage temperatures caused significant differences among most of the evaluated parameters. The exposure of arils to nitric oxide at concentration of 10 $\mu\text{M/L}$ and storage at 8°C caused them lower 50% weight loss and less 21% ion leakage, as well as higher marketability, anthocyanin content, total phenolic and antioxidant activity compared to arils of the control group storage at 2°C after 21 days. In general, arils treated with 10 $\mu\text{M/L}$ of nitric oxide at 8°C showed the best apparent quality and storage life of pomegranate arils.

Key words: Antioxidant activity, Anthocyanin, Pomegranate arils, Storage, Total phenolic.

* Corresponding Author E-Mail Address: majiddastjerdy@gmail.com