ارزیابی برخی شاخص‌های کیفی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی میوه‌ی دو رقم پرتقال خونی تحت تیمار دمایی در مرحله پس از برداشت

جواد فتاحی مقدم[1*]، ابوذر هاشم پور[2]، محمود قاسم نژاد[3]

۱- دانشیار،گروه فیزیولوژی و فناوری پس از برداشت، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران.

۲- استادیار، گروه فیزیولوژی و فناوری پس از برداشت، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران.

۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم باغبانی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹٦/۰۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹٦/۱۰/۱۸)

چکیده

در این پژوهش، اثر تیمار دمایی بر حفظ کیفیت و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گوشت و پوست میوه‌ی دو رقم پرتقال خونی مورو و سانگینلو [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck var. Sanguinello and Moro] در مرحله پس از برداشت بررسی شد. میوه‌ها با دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد (یک هفته)، ۲۰ درجه سانتی‌گراد (۳ روز) و ۳۰ درجه سانتی‌گراد (۲ روز) پیش‌تیمار شدند و به مدت ٦۰ روز در انبار با سردخانه با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۸۵ درصد قرار داده شدند. بعلاوه یک گروه از میوه‌های پیش‌تیمار نشده در همان شرایط دمایی و رطوبتی به‌عنوان شاهد و گروهی دیگر در انبار معمولی قرار داده شدند. سپس درصد کاهش وزن، آب میوه، اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)، مواد جامل محلول کل (TSS)، تغییرات رنگ پوست، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گوشت و پوست میوه‌ها در روزهای صفر، ۳۰ و ٦۰ انبارداری ارزیابی شدند. نتایج نشان داد میزان TSS و رنگ پوست در میوه‌های تیمار دمایی شده تغییری نکرد. در مقابل، درصد کاهش وزن، آب میوه و TA تحت تاثیر تیمارهای دمایی قرار گرفت. فعالیت آنزیم‌های آسکوربات‌پراکسیداز (APX) و کاتالاز (CAT) کمتر تحت تاثیر تیمارهای دمایی قرار گرفت، ولی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (POD) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در میوه‌های تیمار شده افزایش یافت. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت گوشت و پوست هر دو رقم در مقایسه با شاهد ابتدا افزایش یافت و با گذشت زمان کاهش نشان داد. در مجموع، استفاده از تیمار دمایی در میوه‌های ارقام خونی به ویژه دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قبل از شروع انبارداری می‌تواند نقش مهمی در جلوگیری از کاهش وزن و حفظ یا افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه در مرحله پس از برداشت داشته باشد.

کلید واژگان: تیمار دمایی، کیفیت میوه، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مرکبات.

* مسئول مکاتبات: j.fattahi@areeo.ac.ir

۱- مقدمه

به دلیل کاهش کیفیت میوه طی انبارداری، مصرف کننده‌ها بیشتر ترجیح می‌دهند میوه‌ی تازه را مصرف نمایند. با این حال در مورد برخی میوه‌ها چون مرکبات که در یک فصل میوه‌ی با حجم زیاد تولید می‌شود، گزیری از نگهداری بخش مازاد بر مصرف در انبار و عرضه‌ی تدریجی آن به بازار وجود ندارد. به همین دلیل در بیشتر تحقیقات، افزایش عمر پس از برداشت و کاهش ضایعات میوه‌ها، مورد توجه قرار گرفته است [۲-۱]. در این رابطه در دهه‌های گذشته اقدامات مختلفی چون تیمارهای دمایی و انبار با اتمسفر کنترل شده مورد ارزیابی قرار گرفته و نتایج مطلوبی بدست آمده است [۳]. به نظر می‌رسد در میان آن‌ها، تیمار دمایی نقش موثری در به تاخیر انداختن میوه و افزایش انبارمانی، همراه با کاهش علایم آسیب انباری داشته است. در ابتدا تیمار گرمایی بیشتر جهت از بین بردن قارچ‌های سطح میوه استفاده می‌شد ولی در ضمن این عملیات مشاهده شد که مقاومت میوه به دمای پایین افزایش یافت و کیفیت میوه برای مدت طولانی‌تری حفظ شد [٤].

قرار دادن میوه در دمای بالا قبل از انبار یک نوع تیمار موثر جهت تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و به دنبال آن کاهش آسیب‌های پس از برداشت و افزایش عمر انبارداری و کیفیت میوه است. اثرات سودمند چنین تیمارهایی در میوه‌های انبه، هلو، مرکبات، پرتقال، سیب، بادمجان و فلفل مشاهده شده است [۵]. به دلیل اهمیت میوه‌ی مرکبات با هدف مصرف خوراکی و فرآوری، در پژوهش‌های مختلف با استفاده از تیمارهای آب گرم سعی در حفظ خصوصیات کیفی داخلی و ظاهری میوه در شرایط پس از برداشت داشته‌اند. در پژوهشی لایم تاهیتی در شرایط دمای ۵ درجه سانتی‌گراد، دچار ٦۰ درصد سرمازدگی شد، ولی با استفاده از تیمار گرمایی (۳۸ درجه سانتی‌گراد برای ٢٤ ساعت) میزان سرمازدگی پس از هفت روز به ۱۰ تا ۱۲/۵ درصد و پس از ١٤ روز به صفر کاهش یافت. در مقابل، میوه‌ها از میزان از دست دادن آب کمتر و تنفس بیشتر و اسیدیته و عصاره‌ی کل کمتری برخوردار بودند [٦]. در پژوهشی دیگر با غوطه‌وری نارنگی ساتسوما در آب ۵۲ (۲ دقیقه)، ۵۵ (۱ دقیقه) و ٦۰ درجه سانتی‌گراد (۲۰ ثانیه) مشخص شد که تیمار آب گرم تاثیر معنی‌داری روی رنگ پوست، اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)، مواد جامد محلول کل (TSS) و مواد جامد محلول کل به اسیدیته قابل تیتر (TSS/TA) طی انبارداری نداشت [۷]. به طور مشابه چنین نتایجی در گریپ‌فروت، پرتقال خونی و نارنگی فورچون نیز گزارش شده است [۸]. گزارش شده است که تیمار دمایی ممکن است سبب کاهش و یا افزایش آبدهی شود. در نارنگی فورچون و پرتقال‌های خونی تیمار دمایی سبب افزایش و در کامکوآت و گریپ‌فروت مارش سبب کاهش آب‌دهی شد [۹-۸]. تیمار دمایی میوه‌های برداشت شده خرما نیز کاهش وزن، TSS، شاخص‌های رنگ و سفتی میوه‌های خرما را طی انبارداری به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار داد [۲].

علاوه بر کیفیت ظاهری، حفظ ترکیبات مفید میوه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و هم‌چنین افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز مورد توجه‌ی محققان بوده است. گزارش‌های متعددی وجود دارد که در آن تاکید بر اثر شوک دمایی روی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی بافت میوه‌ها و سبزی‌ها شده است [۱۰]. بعلاوه اثر شوک دمایی سرد روی افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز گزارش شده است [۱۱].

از عمده مکانیزم‌هایی که در ایجاد تنش اکسیداتیوی میوه‌های برداشت شده نقش دارد، تجمع گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) است که می‌تواند سبب آسیب اکسیداتیوی، تسریع در چرخه‌ی تخریب بافت و در نهایت پیری سریع بافت میوه شود. جدای از این، به طور طبیعی تجمع ROSها در ضمن پیری و رسیدن میوه نیز رخ می‌دهد. سلول‌ها نیز مجهز به سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی بوده که بیشتر با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی چون SOD، POD، CAT و APX مرتبط هستند. به طورکلی، شوک دمایی ممکن است ROSها را برانگیخته که به دنبال آن تولید مهارکننده‌های آنها چون SOD، POD و CAT رخ می‌دهد [۱۲]. افزایش در فعالیت آنزیم‌های SOD و POD در میوه‌های ساتسوما نیز بعد از تیمار دمایی و طی نگهداری در انبار (۲ درجه برای ۸ هفته) گزارش شده است [۱۳]. یون و همکاران [۱] گزارش کردند که تیمار دمایی میوه‌های نارنگی ساتسوما با آب گرم ۵۲ درجه سانتیگراد برای ۲ دقیقه موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و APX گردید ولی بر میزان فعالیت CAT تاثیر معنی‌داری نداشت. علاوه بر نقش مهم آنزیم‌های

آنتی‌اکسیدانی در فیزیولوژی میوه و مهارکنندگی ROSها، برای سلامتی انسان نیز اهمیت فراوان دارند. لی و لی [١٤] نیز گزارش کردند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار رادیکال ABTS عصاره خرمالو به طور معنی‌داری با افزایش تیمار دمایی و مدت زمان تیمار افزایش نشان دادند.

روند تغییر ترکیبات و آنزیم‌های با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مواجهه با تیمار دمایی در محصولات مختلف و به ویژه انواع مرکبات کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. در پژوهشی مشخص شد که تیمار دمایی ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز در میوه پرتقال نافدار، میزان فعالیت APX و SOD را افزایش داد [۱۵]. آنزیم‌های POD و CAT نیز از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بوده که در شرایط تنش‌زا میزان فعالیت آن اهمیت دارد. روند افزایشی در فعالیت POD در میوه‌های ساتسوما بعد از تیمار دمایی و در طول انبار (۲ درجه سانتی‌گراد برای ۸ هفته) گزارش شده است [۱۳]. افزایش در فعالیت CAT نیز در مواجهه با تیمار شوک دمایی در میوه‌ی شلیل گزارش شده است [۱۱]. تعیین ظرفیت خشی‌کنندگی رادیکال آزاد نیز از جمله شاخص‌های واقعی برای فهم تغییرات فیتوشیمیایی میوه‌ها است.

بر اساس یافته‌های سایر پژوهشگران می‌توان نتیجه‌گیری نمود که استفاده از تیمارهای فیزیکی غیرمضر مانند تیمار دمایی بجای تیمارهای شیمیایی، می‌تواند ضمن افزایش یا حفظ خصوصیات کیفی فیزیکوشیمیایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها، سبب عدم کاهش کیفیت میوه و به تبع آن افزایش عمر انبارداری میوه‌ها شود. به دلیل اینکه تغییرات فیزیولوژی و بیوشیمیایی زیادی با تیمارهای دمایی مرتبط است، بنابراین بررسی اثر تیمارهای دمایی روی ترکیبات سلامت‌بخش چون آنتی‌اکسیدان‌های میوه مرکبات اهمیت دارد. به دلیل اینکه تغییرات فیزیکوشیمیایی ذکر شده در فوق بسته به گیاه و دمای مورد استفاده متغیر است، بنابراین لزوم مطالعه‌ی هر محصول به طور جداگانه ضرورت دارد. از سوی دیگر در حال حاضر استفاده از تیمار دمایی (آب‌گرم) در برخی سورتینگ‌ها مرتبط با مرکبات در مناطق شمالی کشور رایج شده است ولی هنوز دمای بهینه و مدت تیمار مناسب این تیمارها برای همه ارقام مرکبات مشخص نشده است، بنابراین در این پژوهش امکان کاربرد تیمارهای دمایی ملایم روی کیفیت ظاهری و وضعیت ترکیبات و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دو رقم پرتقال خونی مورو و سانگینلو طی انبارداری مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد گیاهی

در این پژوهش میوه‌ی دو رقم پرتقال خونی شامل مورو و سانگینلو [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck var. Sanguinello and Moro] مورد استفاده قرار گرفت. این ارقام درختان بارور پیوند شده روی پایه نارنج واقع در دو ایستگاه تحقیقاتی کترا (رقم سانگینلو) و خرم‌آباد (رقم مورو) وابسته به پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری کشور (رامسر) بودند. در این آزمایش میوه‌ها در فصل تجاری (نیمه‌ی آذر) برداشت و به آزمایشگاه منتقل شدند. میوه‌ها بر اساس یکنواختی در اندازه، رنگ و فقدان هرگونه آسیب انتخاب شد و به طور تصادفی به ازای هر تیمار به سه گروه تقسیم شدند. هر گروه از ۳۰ عدد میوه یکنواخت تشکیل شده بود که معادل یک تکرار واحد آزمایش بود. برای هر تیمار سه تکرار (۹۰ عدد میوه برای هر تیمار) در نظر گرفته شد.

۲-۲- اعمال تیمار

جهت اعمال تیمار دمایی از یک اتاقک با قابلیت کنترل دما و رطوبت استفاده شد. رطوبت نسبی روی ۲ ±۹۰ تنظیم شد. میوه‌های هر رقم در سه تکرار (۳ سبد) درون اتاقک قرار داده شد و دمای مورد نظر تنظیم شد. انتخاب تیمارهای دمایی بر اساس الگوی هر چه دما بیشتر باشد مدت زمان اعمال پیش تیمار دمایی کمتر می‌شود، اعمال گردید. اعمال پیش تیمار دمایی به شرح ذیل انجام شد. ۱- دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته، ۲- دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز، ۳- دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ روز، ٤- فاقد هر گونه پیش تیمار دمایی به عنوان شاهد در سردخانه، ۵- فاقد هر گونه پیش تیمار دمایی و نگهداری در انبار معمولی (کاربرد انبار خنک در شمال ایران متداول است). در سه تیمار اول میوه‌ها بعد از تیمار دمایی به سردخانه با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ٦۰ روز نگهداری شدند. ارزیابی میوه‌ها در ۳ مرحله بعد از تیماردهی

(شروع انبارداری)، ۳۰ و ٦۰ روز پس از انبارداری بسته به نوع صفت مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲-۳- کاهش وزن میوه و درصد عصاره

تعداد سه عدد میوه از هر تکرار شماره گذاری شد و در هر نمونه‌برداری به آزمایشگاه منتقل و پس از اندازه‌گیری وزن آنها به سردخانه منتقل شد. با استفاده از فرمول زیر درصد کاهش وزن و یا میزان آب از دست‌دهی محاسبه شد.

۱۰۰ × (وزن اولیه/وزن ثانویه – وزن اولیه) = (٪) کاهش وزن

عصاره میوه با استفاده از آبمیوه‌گیر دستی استخراج و حجم آن با استفاده از استوانه مدرج اندازه‌گیری شد. با محاسبه درصد نسبت حجم عصاره به وزن میوه، درصد عصاره‌ی میوه در مقایسه با تفاله محاسبه شد [۸].

۲-٤- اسید قابل تیتر (TA) و مواد جامد محلول (TSS)

اندازه‌گیری TA به روش تیتراسیون با سود یک دهم نرمال تا ظهور رنگ صورتی روشن انجام گرفت. میزان TSS بر حسب درصد توسط دستگاه رفرکتومتر چشمی (مدل Atago – ATC-20 ساخت ژاپن)، در دامنه ۲۰ -۰ درصد اندازه‌گیری شد [۷].

۲-۵- رنگ پوست

تغییرات رنگ پوست با استفاده از دستگاه کرومومتر (مدل CR – Minolta 400 ساخت ژاپن) و در سه نقطه‌ی پوست میوه اندازه‌گیری شد. در این روش مقادیر L* (روشنایی)، a^* (سبزی (-) به قرمزی (+) و b^* (آبی (-) به زردی (+)، زاویه رنگ ($Hue\ angle = \arctan(b^*/a^*)$) و کروما ($Chroma = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$) اندازه‌گیری شد.

شاخص رنگ پوست مرکبات به روش خمینز و همکاران [١٦] محاسبه شد. با استفاده از مولفه‌های اصلی بدست آمده از کرومومتر و قرار دادن در فرمول $CCI = 1000\ a^*/L^*.b^*$ شاخص رنگ برون‌بر میوه مرکبات محاسبه شد. منفی بودن مقدار به معنی رنگ سبز تا سبز تیره پوست است. مقدار نزدیک به صفر به معنی رنگ سبز- زرد (متوسط) است. مقادیر کوچک ولی مثبت به معنی رنگ زرد است و مقادیر مثبت بزرگ به معنی رنگ نارنجی – قرمز است.

۲-٦- سنجش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی بافت گوشت و پوست

۲-٦-۱- استخراج عصاره آنزیمی

مقدار ۰/۵ گرم از بافت آسیاب شده در هاون چینی در حضور نیتروژن مایع با یک میلی‌لیتر حلال بافر فسفات پتاسیم ترکیب گردید. پس از هموژنایز کردن، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و با دور ١٤٠٠٠ در دقیقه سانتریفیوژ شدند. از محلول رویی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی استفاده شد [۱۸].

۲-٦-۲- سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

فعالیت SOD به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد [۱۷]. محلول واکنش شامل EDTA ۰/۱ میلی مولار، بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، متیونین۱۳ میلی مولار و NBT ۷۵ میکرومولار و ریبوفلاوین ۲ میکرومولار و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. محلول واکنش به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور فلورسانس قرار گرفتند. واکنش با انتقال به شرایط تاریکی متوقف شد و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ٥٦۰ نانومتر قرائت شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم علاوه بر کووت‌های نمونه و بلانک از کووت شاهد نیز استفاده شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ٥٦۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-1800) خوانده شد. فعالیت این آنزیم به صورت واحد آنزیم در گرم وزن‌تر (U/ g FW) بیان شد.

۲-٦-۳- آنزیم پراکسیداز (POD)

فعالیت آنزیم POD به روش اسپکتروفتومتری سنجش شد [۱۸]. فعالیت POD به مدت ۳ دقیقه در محلول واکنشی حاوی ٤۹۰ میکرولیتر گایاکول ٤٥ میلی‌مولار و ٤۹۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۲۲۵ میلی‌مولار و ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی مورد سنجش قرار گرفت. فعالیت POD در طول موج ٤۷۰ با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت این آنزیم بر حسب یک واحدآنزیمی (میکرومول) در گرم وزن‌تر در دقیقه بیان شد.

۲-٦-٤- آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

فعالیت APX با استفاده از آسادا و ناکانو [۱۹] اندازه‌گیری شد. یک میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل ۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی،

۳۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم و ٦٦٥ میکرولیتر آسکوربیک‌اسید ۰/۵ میلی‌مولار و یک میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۱ میلی‌مولار بود. فعالیت این آنزیم در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت دو دقیقه سنجش شد. فعالیت این آنزیم بر حسب یک واحد آنزیمی در میلی‌گرم وزن‌تر (U/ g FW min) گوشت و یا پوست محاسبه شد.

۲-٦-۵- آنزیم کاتالاز (CAT)

فعالیت CAT به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد [۲۰]. یک میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل ۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۳۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم و ٦٦٥ میکرولیتر آسکوربیک‌اسید ۰/۵ میلی‌مولار و یک میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۱ میلی‌مولار بود. تغیرات جذب در ۲٤۰ نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر سنجش شد. فعالیت این آنزیم بر حسب یک واحدآنزیمی (میکرومول) در گرم وزن‌تر در دقیقه بیان شد.

۲-۷- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار رادیکال‌های ABTS

در این روش، ظرفیت آنتی اکسیدانی با استفاده از عصاره متانولی گوشت میوه برای هضم رادیکال‌های $ABTS^{\bullet+}$ به روش لیانا و پاتیرانا [۲۱] با برخی تغییرات اندازه‌گیری شد. رادیکال $ABTS^{\bullet+}$ با افزودن پتاسیم پرسولفات (۲/٤۵ میلی‌مول) به ABTS (۷ میلی‌مول) و قرار دادن در محیط تاریک به مدت ۱٦ ساعت، تشکیل شد. سپس این محلول پایه با افزودن اتانول تا رسیدن به جذب ۰/۷ در طول موج ۷۳٤ نانومتر رقیق شد. نمونه عصاره و رادیکال به نسبت ۵:۱۰۰ میکرولیتر مخلوط و جذب آن پس از ٦ دقیقه در طول موج ۷۳٤ نانومتر در سه تکرار قرائت شد. درصد بازدارندگی با استفاده از فرمول (A_C −)]= 100 × [A_S/A_C) درصد بازدارندگی) محاسبه شد. در این معادله A_C: جذب رادیکال ABTS بدون عصاره به عنوان کنترل، A_S: جذب ABTS به علاوه نمونه است و از متانول بعنوان بلانک استفاده شد.

۲-۸- تجزیه آماری داده‌ها

داده‌های حاصل از اثر تیمار دمایی روی صفات فوق پس از اطمینان از نرمال بودن، به صورت آزمایش فاکتوریل (فاکتور اول مدت انبارداری و فاکتور دوم سطوح دمایی) در قالب طرح کاملا تصادفی مورد تجزیه قرار گرفت. فقط عامل مدت انبارداری در تجزیه‌ی داده‌های مربوط به فعالیت آنزیمی از دو سطح شروع و پایان انبارداری تشکیل شده بود، در حالی که در سایر صفات شامل سه سطح روزهای صفر، ۳۰ و ٦۰ انبارداری بود. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی و در سطح احتمال متناظر انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- میزان کاهش وزن میوه و عصاره‌ی کل میوه

نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۱) نشان داد که میوه‌های پرتقال خونی رقم سانگینلو نگهداری شده در انبارمعمولی در روزهای ۳۰ و ٦۰ انبارداری به ترتیب با مقادیر ۱۱/٦۲ و ۱۷/۱۸ درصد آب از دست‌دهی بیشترین کاهش وزن را داشتند. در خونی رقم مورو نیز میوه‌های نگهداری شده در انبار معمولی به طور معنی‌داری نسبت به میوه‌های تحت تیمار دمایی و شاهد کاهش وزن بیشتری داشتند. به طورکلی، میوه‌های تیمار دمایی شده بویژه با مدت زمان کمتر، کاهش وزن کمتری طی نگهداری در سردخانه داشتند.

میزان عصاره‌ی کل میوه‌های نگهداری شده در انبار معمولی (هر دو رقم) با اینکه تفاوت معنی‌داری با تیمار شده‌ها نداشت، لیکن درصد عصاره‌ی کل بیشتری داشتند. به نظر می‌رسد با اینکه میوه‌ها در شرایط انبار معمولی کاهش وزن بیشتری داشتند، لیکن میزان آب میوه‌ی آن‌ها نسبت به میوه‌هایی که تیمار دمایی شدند در سطح بالاتری حفظ شده است.

Table 1 Effect of heat treatments on weight loss andand Juice content of two fruit blood orange varieties at post-harvest stage.

Juice content (%)		Weight loss (%)		Heat treatments (°C)	Storage duration (day)
'Sanguinello'	'Moro'	'Sanguinello'	'Moro'		
37.53abc	40.59ab	0i	0g*	12°C (1 week)	0
38.62abc	43.23ab	0i	0g	20°C (3 days)	
34.29bc	39.94ab	0i	0g	30°C (2 days)	
37.60abc	25.60c	0i	0g	control	
38.22abc	43.28ab	0i	0g	common storage	
33.75bc	33.99bc	5.20f	5.60c	12°C (1 week)	30
32.52c	42.73ab	6.05e	4.40d	20°C (3 days)	
30.03c	41.23ab	4.50g	4.35d	30°C (2 days)	
38.73abc	40.03ab	9.45c	5.41c	control	
38.23abc	44.91ab	11.62b	7.30a	common storage	
42.70ab	40.35ab	3.62h	4.10de	12°C (1 week)	60
45.34a	147.7a	4.64g	3.42ef	20°C (3 days)	
35.49bc	37.29abc	3.25h	3.30f	30°C (2 days)	
33.11c	37.87abc	7.64d	5.60c	control	
46.42a	41.84ab	17.18a	6.46b	common storage	

* Mean in each column and for each cultivar with the same letter is not significantly different at 5% of probability level.

در این آزمایش تیمار دمایی میزان کاهش وزن را نسبت به شاهد کاهش داد. در بیشتر منابع گزارش شده است که تیمار دمایی سبب کاهش آبدهی می‌شود. همین‌طور پرتقال‌های والنسیا تیمار غوطه‌وری ٤٥ درجه سانتی‌گراد برای ٤٠ دقیقه کاهش وزن بالایی نشان دادند [٢٢]. ممکن است نوع رقم نیز روی کاهش وزن میوه در پاسخ به تیمار دمایی نقش داشته باشد. در نارنگی فورچون و پرتقال‌های خونی تیمار دمایی سبب افزایش و در کامکوآت و گریپ‌فروت مارش سبب کاهش شد [٨-٩]. این نتایج در مغایرت با نتایج هزباوری و همکاران [٢] است که گزارش کردند با افزایش دما در تیمار دمایی تا ٧٠ درجه سانتیگراد، درصد کاهش وزن در میوه‌های برداشت شده میوه‌های خرما در طول انبارداری افزایش نشان داد. به نظر می‌رسد اختلاف زیاد در تیمار دمایی اعمالی موجب این نتایج متفاوت شده است.

٣-٢- میزان مواد جامد محلول (TSS) و اسید قابل تیتراسیون (TA)

میزان TSS در هر دو رقم و در کلیه‌ی تیمارها تغییر معنی‌داری نداشت. در مقابل میزان TA در میوه‌های رقم مورو قرار داده شده در دمای ١٢ درجه‌سانتی‌گراد به مدت یک هفته نسبت به سایر دماها، شاهد و انبارمعمولی در هر مرحله‌ی نمونه‌گیری بالاتر بود. در رقم سانگینلو میزان TA در میوه‌های تیمار شده با دمای ١٢ درجه‌سانتی‌گراد به مدت یک هفته نسبت به سایر دماها، شاهد و انبارمعمولی کمتر بود. به نظر می‌رسد میزان TA میوه در پاسخ به تیمارهای دمایی بسته به رقم متفاوت بود (جدول ٢).

در گزارشی با تیمار آب‌گرم در نارنگی ساتسوما (٥٢ درجه سانتی‌گراد برای ٢ دقیقه، ٥٥ درجه سانتی‌گراد در ١ دقیقه و ٦٠ درجه سانتی‌گراد برای ٢٠ ثانیه) نیز مشخص شد که کلیه‌ی حالات تیمار دمایی اثر معنی‌داری روی خواص شیمیایی میوه شامل TA، TSS ، TSS /TA طی سه هفته انبارداری نداشت [٧]. در این آزمایش، تغییر غیرمعنی‌دار TSS در کلیه‌ی تیمارها با یافته‌های هونگ و همکاران [٧] مطابقت داشت؛ ولی مغایر با نتایج هزباوی و همکاران [٢] بود که گزارش کردند با افزایش دما در تیمار دمایی، میزان TSS میوه‌های برداشت شده خرما در طول انبارداری افزایش نشان داد.

Table 2 Effect of heat treatments on TSS, TA and TSS/TA of two fruit blood orange varieties at post-harvest stage.

TSS/TA		TA(%)		TSS(%)		Heat treatments (◦C)	Storage duration (day)
'Sanguinello'	'Moro'	'Sanguinello'	'Moro'	'Sanguinello'	'Moro'		
5.25def	4.69def	2.35f	2.72b	12.33ab	12.77ab*	12°C (1 week)	0
5.06def	6.14cde	2.57c	1.95g	13ab	11.97ab	20°C (3 days)	
5.13def	5.94cde	2.86a	2.02e	12.67ab	12ab	30°C (2 days)	
4.87ef	5.75cdef	2.63b	2.15c	12.7ab	12.37ab	control	
4.58f	5.93cde	2.47d	2.08d	13.1ab	12.33ab	common storage	
7.61a	3.71ef	1.48n	2.78a	11.27b	10.3b	12°C (1 week)	30
5.22def	3.16f	2.01i	2.15c	12.57ab	10.47b	20°C (3 days)	
5.62cde	6.85cd	2.41e	1.65j	11.3b	11.3abc	30°C (2 days)	
5.77cde	10.14ab	2.34f	1.38k	13.5ab	14a	control	
5.76cde	8.21bc	2.12g	1.34l	12.2ab	11ab	common storage	
7.64a	7.88bc	1.65m	1.99f	12.3ab	13.87a	12°C (1 week)	60
7.73a	5.72cdef	1.79l	1.76h	13.83a	11.37ab	20°C (3 days)	
5.98cd	7.25cd	1.08h	1.7i	12.43ab	12.33ab	30°C (2 days)	
6.43bc	6.82cd	1.98j	1.66j	12.73ab	11.33ab	control	
7.17ab	10.83a	1.82k	1.05m	13.03ab	11.37ab	common storage	

* Mean in each column and for each cultivar with the same letter is not significantly different at 5% of probability level

در رقم رقم مورو و بخصوص در پایان انبارداری TSS/TA افزایش یافت که موافق با گزارش پرز و همکاران [۲۳] بود. آنها با مطالعه‌ی ترکیبات موثر در طعم و مزه میوه نارنگی در تیمار با دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد دریافتند که در اثر این تیمارها نسبت قند به اسید افزایش یافت. با این‌حال، تیمار دمایی مانع افزایش زیاد TSS /TA تا نیمه‌های انبارداری نسبت به شاهد و انبارمعمولی شد.

۳-۳- رنگ پوست

میزان روشنایی پوست (L^*) رقم مورو پیش تیمار شده با ۱۲ درجه‌سانتی‌گراد به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها و انبار معمولی بود. سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. در رقم سانگینلو کمترین میزان روشنایی پوست در انبار معمولی و بخصوص در روزهای ۳۰ و ٦۰ انبارداری به ترتیب با مقادیر ۵۲/۴۳ و ٤۱/٦۸ مشاهده شد (جدول ۳).

رنگ میوه نقش مهمی در بازاپسندی و شاخص کیفیت میوه‌ها دارد [۲]. به طورکلی، تیمار دمایی و مدت انبارداری تاثیر معنی‌داری روی میزان کروما (C) در هر دو رقم نداشته است. در رقم مورو بخصوص تا نیمه‌های انبارداری میزان کروما در شاهد به طور غیر معنی‌داری بالاتر از تیمارهای دمایی بود. انبار معمولی تاثیر منفی روی میزان کروما‌ی رقم سانگینلو در طول انبارداری و بخصوص در پایان انبارداری داشت، ولی سایر تیمارها مقادیری بین ۵٦/٦۸ تا ۷۱/۴۳ داشتند (جدول ۳).

روند تغییر شاخص زاویه‌ی رنگ پوست (h) در طول انبارداری و تحت تیمارهای اعمالی مشابه میزان روشنایی پوست بود. زاویه‌ی رنگ پوست رقم سانگینلو در طول انبارداری و در تیمارهای مختلف تغییر معنی‌داری نداشت، لیکن پوست رقم مورو تیمار شده با دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته به طور معنی‌داری درجه زاویه‌ی رنگ کوچکتری نسبت به سایر تیمار داشت. در پژوهشی با غوطه‌وری نارنگی ساتسوما در آب گرم (۵۲ درجه سانتی‌گراد (۲ دقیقه)، ۵۵ درجه سانتی‌گراد (۱ دقیقه) و ٦۰ درجه سانتی‌گراد (۲۰ ثانیه) مشخص شد که تیمار آبگرم تاثیر معنی‌داری روی رنگ پوست نداشت [۷]. به طور مشابه چنین نتایجی در گریپ‌فروت، پرتقال خونی و نارنگی فورچون نیز گزارش شده است [۸]. هزباوی و همکاران [۲] نیز گزارش کردند تیمار دمایی میوه‌های برداشت شده بر زوایه رنگ پوست میوه‌های خرما در طول انبارداری تاثیر معنی‌داری نداشت.

Table 3 Effect of heat treatments on peel color indices of two fruit blood orange varieties at post-harvest stage.

h		*C*		*L**		Heat treatments (◦C)	Storage duration (day)
'Sanguinello'	'Moro'	'Sanguinello'	'Moro'	'Sanguinello'	'Moro'		
67.18a	63.89bcd	69.50a	60.98ab	62.64a	56.76bcd*	12°C (1 week)	0
64.35a	69.85ab	63.62a	69.45ab	57.06a	64.28ab	20°C (3 days)	
68.15a	69.81ab	66.81a	70.45ab	61.30a	63.03ab	30°C (2 days)	
74.14a	74.39a	69.28a	72.23a	64.28a	68.05a	control	
65.11a	67.24abcd	62.80a	67.35ab	52.97a	62.26abc	common storage	
66.80a	60.94cd	69.52a	58.21ab	61.14a	53.54cd	12°C (1 week)	30
64.82a	69.30ab	64.69a	69.47ab	56.57a	62.84ab	20°C (3 days)	
66.58a	69.55ab	66.83a	68.51ab	52.59a	60.16abcd	30°C (2 days)	
69.17a	71.56ab	65.29a	71.48a	60.85a	65.66ab	control	
63.04a	66.90abcd	56.68a	67.03ab	52.43ab	60.78abc	common storage	
67.49a	59.80d	71.43a	57.84ab	60.90a	51.82d	12°C (1 week)	60
64.85a	69.50ab	65.57a	70.84ab	56.30a	62.91ab	20°C (3 days)	
66.98a	68.21abc	66.94a	68.77ab	58.33a	60.11abcd	30°C (2 days)	
67.95a	70.52ab	67.38a	71.60a	59.58a	64.01ab	control	
60.77a	67.12abcd	36.96b	65.26ab	41.68b	59.36abcd	common storage	

* Mean in each column and for each cultivar with the same letter is not significantly different at 5% of probability level

٤-٣- فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

بطورکلی، فعالیت آنزیم SOD در بافت‌های هر دو رقم میوه پس از تیمار نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ٤). در این زمان بافت‌های گوشت میوه‌های شاهد ارقام مورو و سانگینلو به ترتیب با ١٤/٧١ و ١١/٨٨ واحد بر میلی‌گرم بالاترین فعالیت آنزیمی را داشتند. در ارزیابی پایان انبارداری مشخص شد که فعالیت SOD هر دو بافت رقم مورو تحت تیمارهای دمایی بویژه ٢٠ درجه سانتی‌گراد (٣ روز) بالاترین بود. در رقم سانگینلو با اینکه در پایان انبارداری فعالیت SOD در گوشت (در تیمارهای دمایی) کمتر از شاهد و انبار معمولی بود، ولی فعالیت SOD پوست در تیمارهای دمایی ١٢ و ٢٠ درجه سانتی‌گراد نسبت به سایر تیمارها بالاترین بود (جدول ٦).

آنزیم SOD در کاهش رادیکال‌های سوپراکسید و حفاظت سلول از آسیب‌ها به دلیل تجمع سریع رادیکال‌ها سهیم است. افزایش فعالیت SOD می تواند در اجتناب یا تاخیر در تجمع رادیکال‌های سوپراکسید در طول انبار و سپس کاهش آسیب به بافت در میوه‌های تیمار شده نقش داشته باشد [١٢]. هر گونه تاخیر در پیری سبب افزایش عمر انبارداری و حفظ کیفیت میوه مرکبات در انبار می‌شود. گزارش های قبلی نشان داد که SOD نقش مهمی در به تاخیر انداختن پیری کلم بروکلی بازی می‌کند [٢٤]. در این آزمایش فعالیت SOD بلافاصله پس تیمار تحت تاثیر قرار گرفت. ویسنت و همکاران [١٢] نیز دریافتند که فعالیت SOD بلافاصله پس از تیمار میوه‌های توت‌فرنگی با هوای گرم (٤٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ٣ ساعت) تحت تاثیر قرار گرفت. در این پژوهش، این تاثیر بیشتر کاهشی بوده است. بطور مشابه در گیاه بنت‌گراس نیز در شوک دمایی بالا فعالیت SOD کاهش یافت [٢٥]. بر خلاف شروع انبارداری، در پایان انبارداری (غالب

تیمارهای دمایی و هم‌چنین میوه‌های نگهداری شده در انبار معمولی) فعالیت SOD افزایش یافت. این یافته‌ها منطبق بر گزارش‌هایی مبنی بر افزایش فعالیت SOD همراه با شوک دمایی میوه‌ی شلیل بود [۱۱]. همچنین یون و همکاران [۱] نیز گزارش کردند که تیمار دمایی میوه‌های نارنگی ساتسوما با آب گرم ۵۲ درجه سانتیگراد برای ۲ دقیقه موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD گردید. علاوه بر این، اعمال تیمار دمایی روی پرتقال ناولینا (۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز) موجب افزایش ۱/٤ برابری میزان فعالیت SOD گردید [۱۵]. در این پژوهش، نیز میوه‌ها در شرایط انبار معمولی تا پایان انبارداری روند افزایشی در فعالیت SOD نشان دادند. افزایش در فعالیت SOD در دمای بالا به دنبال افزایش رادیکال‌های سوپراکسید در این شرایط دمایی است که همانند سیگنال جهت فعال نمودن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی عمل نموده و در نهایت فعالیت SOD تحریک می‌شود [۲٦].

Table 4 Effect of heat treatments on SOD activity (U/ g FW) of peel and pulp of two fruit blood orange varieties at the beginning of storage and end of storage.

‘Sanguinello’		‘Moro’		Heat treatments (◦C)	Sampling time
peel	pulp	peel	pulp		
7.78ab	7.64ab	0.85d	1.42d*	12°C (1 week)	After treatment (at the beginning of storage)
4.95bc	8.91ab	3.82bc	5.37bc	20°C (3 days)	
3.82bc	3.96bc	2.97cd	10.04ab	30°C (2 days)	
7.21ab	11.88a	7.92ab	14.71a	control	
2.97c	1.56d	1.53d	2.69cd	common storage	
13.43a	2.83cd	12.16a	5.09bc	12°C (1 week)	End of storage
14.14a	4.53bc	14.14a	9.19ab	20°C (3 days)	
3.39bc	2.26cd	12.59a	7.21bc	30°C (2 days)	
4.81bc	5.94b	10.46ab	7.35bc	control	
10.32ab	10.46a	9.9abc	10.32ab	common storage	

* Mean in each column and for each cultivar with the same letter is not significantly different at 5% of probability level.

۳-۵- فعالیت آنزیم (POD)

فعالیت آنزیم POD در هر دو مرحله‌ی نمونه‌گیری شامل بعد از تیماردهی و پایان انبارداری در میوه‌های با تیمار دمایی نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول ۵). این افزایش نسبت به دما و نوع بافت متفاوت بود. در گوشت هر دو رقم مورو و سانگینلو میزان فعالیت POD در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد پس از تیمار (به ترتیب ۰/۰۵ و ۰/۰۸ واحد در گرم) و در پایان انبارداری (به ترتیب ۰/۰۵ و ۰/۰٦ واحد در گرم) بالاترین بود. در پوست با اینکه فعالیت POD تحت تیمار دمایی نسبت به شاهد در ابتدا و پایان انبارداری افزایش یافت، لیکن با مقایسه‌ی تیمارهای دمایی مشخص شد که بلافاصله بعد از تیماردهی، با افزایش دما فعالیت POD پوست کاهش یافت. در پایان انبارداری مجددا در پوست هر دو رقم بیشترین فعالیت POD مربوط به دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد بود.

فعالیت POD نیز از جمله آنزیم‌های مسئول مهار هیدروژن پراکسید در بافت‌های گیاهی است. در این آزمایش غالبا فعالیت این آنزیم بخصوص در بافت گوشت میوه تحت تیمار دمایی افزایش یافت. بطورکلی، POD به دماهای بالا مقاوم است [والدراما و کلمنته، ۲۰۰٤]. در این رابطه فعالیت POD در میوه‌های ساتسوما نیز بعد از تیمار دمایی و در طول انبار (۲ درجه برای ۸ هفته) افزایش یافت [۱۳]. گزارش شده است که در شرایط شوک دمایی، آسیب‌های اکسیداتیوی ممکن است از طریق تنظیم فعالیت‌های POD و SOD در گیاهان لوبیا ایجاد شود [۲۷]. چنین آسیب‌های ناشی از افزایش سریع در POD با بروز آسیب پوست ناشی از آسیب سرمایی در نارنگی ساتسوما نیز

گزارش شده است [۱۳]. هر گونه افزایش در فعالیت POD علاوه بر تغییر در واکنش دفاعی میوه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه را نیز ارتقاء می‌دهد [۲۸].

Table 5 Effect of heat treatments on POD activity (U/ g FW min^{-1}) of peel and pulp of two fruit blood orange varieties at the beginning of storage and end of storage.

'Sanguinello'		'Moro'		Heat treatments (◦C)	Sampling time
peel	pulp	peel	pulp		
3.6a	0.02b	3.76ab	0.03d*	12°C (1 week)	After treatment (at the beginning of storage)
2.47bc	0.04b	4.01a	0.02de	20°C (3 days)	
1.44d	0.08a	3.02abc	0.05ab	30°C (2 days)	
0.06e	0.02b	0.49ef	0.01ef	control	
2.96b	0.04b	1.89cde	0.02d	common storage	
2.13c	0.02b	1.53cde	0.04bc	12°C (1 week)	End of storage
1.51d	0.02b	0.69def	0.04c	20°C (3 days)	
2.71bc	0.06ab	2.15bc	0.05a	30°C (2 days)	
0.16e	0.01b	0.08f	0.02de	control	
2.57bc	0.06ab	2.52abc	0.01f	common storage	

* Mean in each column and for each cultivar with the same letter is not significantly different at 5% of probability level.

۳-٦- فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

با بررسی فعالیت آنزیم APX مشخص شد که تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت آن در گوشت هر دو رقم وجود ندارد (جدول ٦). با این‌حال فعالیت APX بلافاصله بعد از تیمار دمایی نسبت به شاهد و دمای انبار معمولی کاهش یافت، ولی در پایان انبارداری فعالیت این آنزیم در تیمارهای دمایی ۳۰ درجه سانتی‌گراد در رقم مورو (۰/۳۵ واحد در میلی‌گرم) و ۲۰ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد (۰/٤٥ و ۰/٤۱ واحد در میلی‌گرم) در رقم سانگینلو بالاتر بود. پوست ارقام مورد مطالعه پاسخ متفاوتی به تیمارهای اعمالی نشان داد. در رقم مورو بلافاصله بعد از تیمار میزان فعالیت APX در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی‌داری یافت، در حالیکه در پوست رقم سانگینلو بجز در تیمار دمایی انبار معمولی (۵/۲ واحد در گرم وزن‌تر) در سایر تیمارهای دمایی کاهش یافت. در پایان انبارداری تفاوت معنی‌داری بین فعالیت APX در تیمارهای مختلف مشاهده نشد (جدول ۸).

APX یکی از آنزیم‌های مسئول مهار پراکسیداز هیدروژن در بافت گیاهی است. گزارش شده که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پوست مرکبات به طور معنی‌داری تحت تاثیر مدت و دمای تیماردهی قرار گرفت [۲۹]. هم‌چنین تیمار دمایی ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز میزان APX را ۱/۲ برابر در پرتقال ناولینا افزایش داد [۱۵]. کاهش فعالیت APX بلافاصله پس از تیمار دمایی با یافته‌های پژوهشی مبنی بر اینکه فعالیت APX بلافاصله پس از تیماردهی تحت تاثیر قرار می‌گیرد مطابقت دارد [۱۲]. همانطور که در این آزمایش نیز مشاهده شد در پایان انبارداری بخصوص در گوشت و پوست میوه رقم مورو، فعالیت APX افزایش یافت. در توت‌فرنگی نیز در پایان ١٤ روز انبارداری فعالیت APX افزایش یافت [۱۲].

همچنین یون و همکاران [۱] نیز گزارش کردند که تیمار دمایی میوه‌های نارنگی ساتسوما با آب گرم ۵۲ درجه سانتیگراد برای ۲ دقیقه موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های APX گردید.

Table 6 Effect of heat treatments on APX activity (U/ g FW min^{-1}) of peel and pulp of two fruit blood orange varieties at the beginning of storage and end of storage.

'Sanguinello'		'Moro'		Heat treatments (◦C)	Sampling time
peel	pulp	peel	pulp		
0.84b	0.22a	0.6abc	0.17a*	12°C (1 week)	After treatment (at the beginning of storage)
0.51b	0.26a	1.22a	0.18a	20°C (3 days)	
0.7b	0.19a	0.18c	0.08a	30°C (2 days)	
1.76ab	0.38a	1.04ab	0.3a	control	
5.2a	0.5a	0.73abc	0.32a	common storage	
0.16b	0.28a	0.21c	0.23a	12°C (1 week)	End of storage
1.26ab	0.45a	0.14c	0.19a	20°C (3 days)	
0.2b	0.41a	0.18c	0.35a	30°C (2 days)	
0.2b	0.15a	0.18c	0.22a	control	
0.45b	0.13a	0.37bc	0.2a	common storage	

* Mean in each column and for each cultivar with the same letter is not significantly different at 5% of probability level.

۳-۷- فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

نتایج نشان داد که که فعالیت آنزیم CAT در ارزیابی بعد از تیمار دمایی در بافت گوشت (دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد) در ارقام مورو و سانگینلو به ترتیب با مقادیر ۰/۱۸ و ۰/۱٤ واحد در گرم در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت (جدول ۷). هرچند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم CAT در بین تیمارهای مختلف در دو مرحله‌ی ارزیابی گوشت رقم مورو و پایان انبارداری رقم سانگینلو مشاهده نشد. در پایان انبارداری فعالیت آنزیم در کلیه‌ی تیمارها نسبت به شاهد کاهش یافت. فعالیت این آنزیم در پوست میوه‌های شاهد نسبت به تیمار شده‌ها در هر دو مرحله‌ی اندازه‌گیری افزایش یافت.

Table 7 Effect of heat treatments on CAT activity (U/ g FW min^{-1}) of peel and pulp of two fruit blood orange varieties at the beginning of storage and end of storage.

'Sanguinello'		'Moro'		Heat treatments (◦C)	Sampling time
peel	pulp	peel	pulp		
0.01b	0.04b	0.04b	0.03ab*	12°C (1 week)	After treatment (at the beginning of storage)
0.14ab	0.02b	0.06b	0.11ab	20°C (3 days)	
0.04b	0.14a	0.01b	0.18a	30°C (2 days)	
0.34a	0.06ab	0.7b	0.07ab	control	
0.05b	0.03b	0.05b	0.03ab	common storage	
0.01b	0.01b	0.01b	0.02b	12°C (1 week)	End of storage
0.02b	0.03b	0.01b	0.01b	20°C (3 days)	
0.02b	0.04b	0.02b	0.02b	30°C (2 days)	
0.19ab	0.04b	0.22a	0.03ab	control	
0.03b	0.01b	0.03b	0.01b	common storage	

* Mean in each column and for each cultivar with the same letter is not significantly different at 5% of probability level.

CAT یکی دیگر از آنزیم های آنتی اکسیدانی است که باعث تجزیه آب اکسیژنه تولید شده در نتیجه فعالیت SOD به آب و اکسیژن می‌شود. یافته‌های فعالیت آنزیمی CAT در بافت گوشت هر دو رقم منطبق بر یافته‌های قاسم‌نژاد و همکاران [۱۳] است که گزارش نمودند فعالیت کاتالاز در میوه‌های ساتسوما بعد از تیمار دمایی و در طول انبار (۲ درجه سانتی‌گراد برای ۸ هفته) افزایش یافت. هم‌چنین با اعمال تیمار دمایی روی پرتقال ناولینا (۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز) میزان فعالیت CAT، ۲/۵ برابر افزایش یافت [۱۵]. در آزمایش حاضر فعالیت آنزیم CAT بافت پوست در دمای بالای ۳۰ درجه سانتی‌گراد کمتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد و بویژه بعد از تیماردهی بود. گرچه در پایان انبارداری تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای دمایی وجود نداشت. به طور مشابه در گوجه فرنگی نیز تحت تیمار هوای گرم ۳٤ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد مشخص شد که فعالیت آنزیم CAT در دمای ۳۸ کمتر از ۳٤ درجه سانتی‌گراد بود [۳۰]. همانند روند کاهش فعالیت CAT در مواجهه با دما که در پوست این آزمایش مشاهده شد در گیاهان گندم نیز در شوک‌های دمایی بالا، فعالیت CAT کاهش یافت [۳۱].

۳-۸- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار رادیکال‌های ABTS

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای میزان مهار رادیکال‌های ABTS در تیمارهای مختلف دمایی در جدول ۸ ارائه شده است. بلافاصله بعد از تیمار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به استثنای گوشت رقم مورو در سایر نمونه‌ها در مقایسه با شاهد افزایش یافت. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گوشت شاهد هر دو رقم تا ۳۰ روز اول انبارداری نسبت به میوه‌های نگهداری شده در ۵ درجه سانتی‌گراد و انبار معمولی کمترین بود.

میزان مهار رادیکال‌های ABTS در پاسخ به تیمارهای دمایی در پوست میوه نیز مشابه گوشت بود با این تفاوت که این میزان بلافاصله پس از تیمار نسبت به شاهد افزایش یافت و تا پایان انبارداری میزان آن در تیمارشده‌ها کمتر از شاهد بود. بین تیمارهای دمایی نیز در آغاز و تا پایان انبارداری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در شرایط انبارمعمولی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پوست هر دو رقم تا نیمه‌های انبارداری کاهش و سپس در پایان انبارداری افزایش یافت.

Table 8 Effect of heat treatments onantioxidant activity (ABTS radical-scavenging activity) of two fruit blood orange varieties at post-harvest stage.

peel		pulp		Heat treatments (◦C)	Storage duration (day)
‘Sanguinello’	‘Moro’	‘Sanguinello’	‘Moro’		
73.13bc	74.4ab	45.4bcd	46.82cd*	12°C (1 week)	0
74.54b	75.96ab	47.95bc	50.35bc	20°C (3 days)	
66.2bcdefg	80.62a	47.1bcd	52.62bc	30°C (2 days)	
62.86defg	64.43cde	39.43cde	37.14efg	control	
72.14bcd	69.87bcd	48.81bc	65.06a	common storage	
57.87gh	50.52fg	38.76de	38.34defg	12°C (1 week)	30
62.64efg	47.89fg	47.61bc	35.11fg	20°C (3 days)	
51.55h	45.79g	48.17b	35.82fg	30°C (2 days)	
75.63b	68.62bcd	31.18e	37.1efg	control	
58.43fgh	56.74ef	47.36bc	44.24cdef	common storage	
66.27bcdefg	61.89de	34.26e	34.4g	12°C (1 week)	60
65.07cdefg	61.36de	47.28bcd	44.09cdef	20°C (3 days)	
67.33bcdef	62.95de	49.8b	40.24defg	30°C (2 days)	
95.09a	72.98abc	59.12a	56.58ab	control	
71.32bcde	69.32bcd	47.28bcd	46.08cde	common storage	

* Mean in each column and for each cultivar with the same letter is not significantly different at 5% of probability level.

در پژوهشی وقتی میوه‌های پرتقال با دمایی بین ۱۰۰- ۵۰ درجه سانتی‌گراد تیمار شدند، مشخص شد که میزان مهار رادیکال‌های ABTS پوست میوه در دماهای پایین‌تر افزایش یافت، ولی در دمای بالاتر کاهش یافت [۳۲]. در این آزمایش، تفاوت معنی‌داری بین دمای بالا و پایین و هم‌چنین مدت تیمار مشاهده نشد. دراین مورد کیم و همکاران [۳۳] نیز دریافتند که میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های انبه تیمار شده با آب ٤٦/١ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۰ ، ۹۰ و ۱۱۰ دقیقه تغییر کمی نسبت به شاهد داشت. هر چند که لی و لی [١٤] گزارش کردند ظرفیت مهارکنندگی رادیکال ABTS عصاره خرمالو به طور معنی‌داری با افزایش تیمار دمایی و مدت زمان تیمار افزایش نشان دادند.

٤- نتیجه‌گیری کلی

به طورکلی، رنگ پوست و هم‌چنین میزان TSS در مواجهه با دما کمتر تغییر نمود. در مقابل درصد کاهش وزن میوه، عصاره‌کل و TA تحت تاثیر تیمارهای دمایی قرار گرفت. فعالیت آنزیم‌های APX و CAT کمتر تحت تاثیر تیمارهای دمایی قرار گرفت ولی آنزیم‌های POD و SOD با تیمار دمایی نسبت به شاهد افزایش یافت و این افزایش تا پایان انبارداری حفظ شد. با بررسی این صفات مشخص شد که شرایط دمایی ملایم باعث تنش جزیی در میوه‌ها شد که نوعی پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی را نیز به همراه داشت. هم‌چنین میوه‌های تیمار شده سطوح بالایی از مکانیزم‌های حفاظتی آنزیمی POD و SOD در مقابل رادیکال‌ها را نشان دادند که ضمن حفظ کیفیت میوه، ارزش غذایی میوه‌ها نیز افزایش یافت. در مجموع، استفاده از تیمار دمایی میوه‌های ارقام خونی به ویژه دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد (۲ روز) در زمان قبل از شروع انبارداری می تواند نقش مهمی در جلوگیری از کاهش وزن و حفظ یا افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه پس از برداشت داشته باشد.

٥- منابع

[1] Yun, Z, Gao, H, Liu, P, Liu, S, Luo, T, Jin, S, Xu, Q, Xu, J, Cheng, Y, Deng, X, 2013, Comparative proteomic and metabolomic profiling of citrus fruit with enhancement of disease resistance by postharvest heat treatment. BMC Plant Biology, 13, 44.

[2] Hazbavi, I, Khoshtaghaza, M.H, Mostaan, A, Banakar, A, 2015, Effect of postharvest hot-water and heat treatment on quality of date palm (cv. Stamaran), Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 14, 153-159.

[3] Ruoyi, K., Zhifang, Y, Zhaoxin, L.Z, 2005, Effect of coating and intermittent warming on enzymes, soluble pectin substances and ascorbic acid of *Prunus persica* (cv. Zhonghuashoutao) during refrigerated storage, Food Research International, 38, 331-336.

[4] Erkan, M, Pekmezci, M, Wang, C.Y, 2005, Hot water and curing treatments reduce chilling injury and maintain post-harvest quality of 'Valencia' oranges, International Journal of Food and Science Technology, 40, 91-96.

[5] Galli, F, Archbold, D.D, 2007, Ripening and postharvest management of pawpaw fruit. Thesis for degree of Doctor of Philosophy in the College of Agriculture at the University of Kentucky.

[6] Kluge, R.A, Jomori, M.L.L, Jacomino, A.P, Vitti, M.C.D, Vitti, D.C.C, 2003, Intermittent warming of 'Tahiti' lime to prevent chilling injury during cold storage, Scientia Agricola, 60,729-734.

[7] Hong, S.I, Lee, H.H, Kim, D, 2007, Effects of hot water treatment on the storage stability of satsuma mandarin as a postharvest decay control, Postharvest Biology and Technology, 43, 271-279.

[8] Schirra, M, Mulas, M, Fadda, A, Cauli, E, 2004, Cold quarantine responses of blood oranges to postharvest hotwater and hot air treatments, Postharvest Biology and Technology, 32, 191-200.

[9] Rodov, V, Ben-Yehoshua, S, Albagli, R, Fang, D.Q, 1995, Reducing chilling injury and decay of stored citrus fruit by hot water dips, Postharvest Biology and Technology, 5, 119-127.

[10] Zhang, J.H, Huang, W.D, Pan, Q.H, Liu, Y, 2005, Improvement of chilling tolerance and accumulation of heat shock proteins in grape berries (*Vitis vinifera* cv Jingxiu) by heat pre-treatment, Postharvest Biology and Technology, 38, 80-90.

[11] Xiong, B, Rui, Y, Zhang, M, Shi, K, Jia, S, Tian, T, Yin, K, Huang, H, Lin, S, Zhao, X, Chen, Y, Chen, Y.G, Lin, S.C, Meng, A, 2006, Tob1 controls dorsal development of zebrafish embryos by antagonizing maternal beta-catenin transcriptional activity, Dev. Cell, 11, 225-238

[12] Vicente, A.R, Martinez, G.A, Chaves, A.R, Civello, P.M, 2006, Effect of heat treatment on strawberry fruit damage and oxidative metabolism during storage, Postharvest Biology and Technology, 40, 116-122.

[13] Ghasemnezhad, M, Marsh, K, Shilton, R, Babalar, M, Woolf, A, 2008, Effect of hot water treatments on chilling injury and heat damage in 'satsuma' mandarins: Antioxidant enzymes and vacuolar ATPase, and pyrophosphatase, Postharvest Biology and Technology, 48, 364-371.

[14] Lee, D.W, Lee, S.C, 2012, Effect of heat treatment condition on the antioxidant and several physiological activities of non-astringent persimmon fruit juice, Food Sci. Biotechnol, 21, 815-822.

[15] Sala, J.M, Lafuente, M.T, 2004, Antioxidant enzymes activities and rindstaining in 'Naveline' oranges as affected by storage relative humidity and ethylene conditioning, Postharvest Biology and Technology, 31, 277-285.

[16] Jimenez, C.M, Cuquerella, J, Martinez-Javaga, J.M, 1981, Determination of Citrus Color Index for Citrus Degreening, Proceedings of the International Society of Citriculture, 2, 750-753.

[17] Giannopolitis, C.N, Ries, S.K, 1977, Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants, Plant Physiology, 59, 309-314.

[18] Hammerschmidt, R.E, Nuckles, E, Kuc, J, 1982, Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium,* Physiol. Plant Pathol, 20,73-82.

[19] Nakano, Y, Asada, K, 1981, Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, Plant and Cell Physiology, 22, 867-880.

[20] Beers, R.F, Sizer, I.W, 1952, A spectrometric method for measuring the break down of the hydrogen peroxide by catalase, The Journal of biological chemistry, 195, 133-140.

[21] Liyana-Pathirana, C.M, Shahidi, F, 2006, Antioxidant properties of commercial soft and hard winter wheats *(Triticum aestivum* L.) and their milling fractions, Journal of the Science of Food and Agriculture, 86, 477-85.

[22] Williams, M.H, Brown, M.A, Vesk, M, Brady, C, 1994, Effect of postharvest heat treatments on fruit quality, surface structure, and fungal disease in Valencia oranges, Aust. J. Exp. Agric, 34, 1183-1190.

[23] Perez, A.G, Luaces, P, Oliva, J, Rıos, J.J, Sanz, C, 2005, Changes in vitamin C and flavour components of mandarin juice due to curing of fruits, Food Chemistry, 91, 19-24.

[24] Zhang, Z, Nakano, K, Maezawa, S, 2009, Comparison of the antioxidant enzymes of broccoli after cold or heat shock treatment at different storage temperatures, Postharvest Biology and Technology, 54, 101–105.

[25] Liu, X.Z, Huang, B.R, 2002, Cytokinin effects on creeping bentgrass response to heat stress: II. Leaf senescence and antioxidant metabolism, Crop Science, 42, 466 -472.

[26] Almeselmani, M, Deshmukh, P.S, Sairam, R.K, Kushwaha, S.R, Singh, T.P, 2006, Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress, Plant Science, 171, 382–388.

[27] Edreva, A., Yordanov, I, Kardjieva, R, Gesheva, E, 1998, Heat shock responses of bean plants: Involvement of free radicals, antioxidants and free readical active oxygen scavenging systems, Biologia Plantarum, 41, 185-191.

[28] Ballester, A.R., Lafuente, M.T, Gonzalez-Candelas, L, 2006, Spatial study of antioxidant enzymes, peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase in the citrus fruit–*Penicillium digitatum* interaction, Postharvest Biology and Technology, 39, 115-124.

[29] Jeong, S, Kim, S, Kim, D, Jo, S, Nam, K, Aha, D, Lee, S, 2004, Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citruc peel, Journal of Agriculture Food Chemistry, 52, 3389-3393.

[30] Yahia, E.M, Soto-Zamora, G, Brecht, J.K, Gardea, A, 2007, Postharvest hot air treatment effects on the antioxidant system in stored

mature-green tomatoes, Postharvest Biology and Technology, 44, 107-115.

[31] Khalil, S.I, El–Bassiouny, H.M.S, Hassanein, R.A. Mostafa, S.A. El–Khawas, A.A. Abd El–Monem H.A, 2009, Antioxidant defense system in heat shocked wheat plants previously treated with arginine or putrescine, Australian J. of Basic and Appl. Sci, 3, 1517-1526.

[32] Chen, M.L, Yang, D.J, Liu, S.C, 2011, Effects of drying temperature on the flavonoid, phenolic acid and antioxidative capacities of the methanol extract of citrus fruit (*Citrus sinensis* L.) Osbeck) peels, International Journal of Food Science and Technology, 46, 1179-1185.

[33] Kim D.G, Burks, T.F, Qin, J, Bulanon D.M, 2009, Classification of grapefruit peel diseases using color texture feature analysis, International journal of agricultural and biological engineering, 3, 41-51.

Evaluation of some quality indices and antioxidant enzymes activity in fruitsof two blood orange veritiesunder heat treatments at post-harvest stage

Fatahi Moghadam, J. [1*], Hashempour, A.[2] , Ghasemnezhad, M. [3]

1. Assistant Professor, Horticultural Science Research Institute, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran
2. Assistant Professor, Horticultural Science Research Institute, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran
3. Associate professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: 2017/10/03 Accepted:2018/01/08)

In this study, two blood orange varieties [‘Sanguinello’ and ‘Moro’ (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck)] were treated with different heat treatments to evaluate the effect of the treatments on quality maintaining and antioxidant enzymes activity of fruit peel and pulp at postharvest stage. The fruits were pre-treated in an incubator at 12°C (1 week), 20°C (3 days) and 30°C (2 days) then were stored in cold storage with 5°C and 85% RH for 60 days. Also, one group of un-treated fruits was placed in cold storage as control and other group was kept in common storage. Then, weight loss, juice percentage, TA, TSS, peel color indices (lightness, hue and chroma), antioxidant capacity and antioxidant enzymes activity (SOD, CAT, POD and AXP) of fruits were evaluated at 0, 30 and 60 days. Result showed that, heat treatments had no significant effect on TSS and peel color indices. In contrast, weight loss, TA and juice percentage were affected by heat treatments. APX and catalase (CAT) activity were slightly affected by thermal treatments. While, peroxidase (POD) and superoxiddismotase (SOD) enzymes activity were significantly increased up to the end of storage. At the beginning of storage, antioxidant capacity of fruit (peel and pulp) of both cultivars was increased by heat treatments and then wasdeclined over time compared to the fruit controls. Overall, the use of heat pre-treatment in fruits of the blood orange varieties, especially the temperature of 30 °C (2 days) before the begening of storage, can play an important role in preventing weight loss and maintaining or increasing the antioxidant capacity of the fruit after harvesting.

Keywords: Heat treatments, Fruit quality, Antioxidant capacity, Citrus.

* Corresponding Author E-Mail Address: j.fattahi@areeo.ac.ir