Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 52, No 1, Spring 2021 (257-268)
DOI: 10.22059/ijhs.2020.286410.1691

علوم باغبانی ایران
دورۀ ۵۲، شمارۀ ۱، بهار ۱۴۰۰ (ص ۲۶۸-۲۵۷)

اثر سدیم نیترو پروساید بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و پاداکسندگی میوه ازگیل (*Mespilus germanica* L.) طی انبارمانی

بشیر ایوب نژادگان[1*] و حمید حسن‌پور[2]
۱ و ۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۶/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۹)

چکیده

از رویشگاه‌های طبیعی ازگیل در ایران، استان آذربایجان شرقی منطقه ارسباران می‌باشد. به منظور بررسی تأثیر سدیم نیترو پروساید در ٤ غلظت صفر، ۳، ۵ و ۸ میکرومولار بر صفات کمی و کیفی میوه ازگیل طی ۵ زمان (صفر، ۱۵، ۳۰، ٤۵ و ٦۰ روز) نگهداری در انبار سرد با دمای ۱±۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵-۸۵ درصد، پژوهشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. بر اساس نتایج بیشترین و کمترین درصد کاهش وزن میوه در طول دوره انبارداری به ترتیب در شاهد (۲/۲٤ درصد) و ۵ میکرومولار (۱/۳٦درصد) به‌دست آمد. شاخص‌های مرتبط با رنگ میوه شامل L^*, Hue, Chroma و میزان سفتی میوه در غلظت ۵ میکرومولار سدیم نیترو پروساید نسبت به شاهد بهتر حفظ شدند. سدیم نیترو پروساید در غلظت ۳ میکرومولار توانست میزان فنل کل، فلاونوئید کل، تانن کل را در حد بالایی حفظ کند و از افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز(PPO) در طول دوره انبارداری نسبت به شاهد جلوگیری کند. همچنین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل به روش دی پی پی اچ (DPPH) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (CAT) و گایاگول پراکسیداز (GPX) در غلظت ۸ میکرومولار سدیم نیترو پروساید نسبت به شاهد بیشتر بود. بنابراین به نظر می‌رسد سدیم نیترو پروساید با حفظ تمامیت غشاء، حفظ ترکیبات فنلی و کاهش فعالیت آنزیم PPO باعث افزایش کیفیت پس از برداشت میوه ازگیل شده است. بطور کلی می‌توان گفت که غلظت ۳ میکرومولار سدیم نیترو پروساید در طی انبادارى توانست از کاهش بیش از حد صفات مرتبط با کیفیت میوه ازگیل جلوگیری کند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تانن، ترکیبات فنلی، رنگ میوه.

Effect of sodium nitroprusside on biochemical and antioxidant properties of medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit during storage period

Bashir Ayobnezhadghan[1*] and Hamid Hassanpour[2]
1, 2. Graduate M.Sc. and Associate Professor, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
(Received: Sept. 01, 2019- Accepted: Feb. 18, 2020)

ABSTRACT

Medlar (*Mespilus germanica* L.) is grown wildly in the East Azerbaijan province (Arasbaran). To evaluate the effect of different concentrations of sodium nitroprusside (SNP)(0, 3, 5 and 8 µM /L) on quantitative and qualitative parameters of medlar fruits during cold storage (1±1°C and 85-95% relative humidity) at five storage times (0, 15, 30, 45 and 60 days), a study was conducted in a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications. According to the results, the highest and lowest percentage of fruit weight loss were obtained at control (2.24 %) and 5 µM/L SNP (1.36 %) during storage, respectively. Fruit color parameters such as L*, hue, chroma and firmness of fruit were maintained at 5 µM/L SNP compared to control. The SNP at 3 µM/L was able to maintain total phenol, total flavonoid, total tannin at high levels and prevent increased polyphenol oxidase (PPO) activity during storage compared to the control. Also, total antioxidant capacity based on DPPH method and activity of antioxidant enzymes such as catalase (CAT) and guaiacol peroxidase (GPX) at 8 µM/L SNP were higher than control. Therefore, SNP seems to increase the postharvest quality of medlar fruit via maintaining the membrane integrity, maintaining phenolic compounds, and reducing the activity of PPO enzyme. In general, it can be concluded that the SNP at 3 µM/L could prevent the excessive reduction of fruit compounds during the storage period.

Keywords: Antioxidant enzymes, fruit color, phenolic compounds, tannin.

* Corresponding author E-mail: ha.hassanpour@urmia.ac.ir

مقدمه

ازگیل با نام علمی *Mespilus germanica* L. از تیره Rosaceae، درختچه‌ای خاردار به ارتفاع ۳ تا ۵ متر با شاخه‌های قهوه‌ای رنگ محکم می‌باشد که در ایران کنس و کندس نیز نامیده می‌شود و گسترش آن عمدتاً در استرالیا، فرانسه و قفقاز شمالی بوده و مقدار عملکرد ازگیل در این مناطق از ۱ تا ۶ تن در هکتار گزارش شده است (Khoshbakht & Hammer, 2005). میوه این گیاه در ابتدای رشد و قبل از رسیدن سفت است و به میزان زیادی نیز تانن دارد. رویشگاه‌های اصلی آن در دنیا: ایران، جنوب و جنوب شرقی اروپا، آناتولی، قفقاز، عراق و ترکمنستان است (Mouzaffariyan, 2004). براساس آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی در سال ۹۶ سطح زیر کشت این میوه در ایران در حدود ۷۳۵/۱ هکتار و میزان تولید آن ۵۷۷۶ تن می‌باشد.

در نیمکره شمالی میوه ازگیل در مهر و آبان ماه برداشت می‌شود که معمولا در مهر ماه میوه‌های سفت برداشت شده و در مکان‌های خنک، تاریک و تهویه‌دار انبار می‌شوند. با این وجود بخش زیادی از محصول روی درخت رها گردیده و زمانی که میوه‌ها شروع به نرم شدن کردند، برداشت می‌شوند. میوه ازگیل اغلب در بازارهای محلی فروخته شده یا مصرف محلی دارد. میوه ازگیل رفتار فرازگرایی ویژه‌ای نشان داده و بعد از برداشت خصوصیات کیفی آنها سریعا تغییر می‌کند. رسیدن، نرم شدن میوه ازگیل را تحریک کرده و منجر به افزایش محتوی TSS و کاهش TA می‌گردد. میوه ازگیل حساس به قهوه ای شدن پوست وگوشت میوه، نرم شدن سریع و ار دست دهی آب بعد از برداشت می‌باشد که اینها به مقدار زیادی ارزش تجاری و غذایی آن را تحت تاثیر قرار می‌دهند. به عبارتی دیگر سفتی گوشت میوه در مدت کوتاهی پس از برداشت شروع به زوال می‌کند. بطور کلی کیفیت میوه ازگیل بطور قابل توجهی در دمای اتاق در حدود ۳-۵ روز بعد از برداشت کاهش می یابد (Ayaz *et al*., 2002; Selcuk & Erkan, 2015). بنابراین در طول انبارداری جهت حفظ کیفیت و افزایش عمر پس از برداشت آن باید از نرم شدن آن جلوگیری گردد. از طرفی با توجه به وفور ترکیبات فنلی و آنزیمی موجود در میوه آن سریعا تحت تأثیر قهوه‌ای شدن آنزیمی قرار می‌گیرد. بنابراین اگر هدف، انبارداری این محصول برای مدت زمان خاصی باشد، استفاده از ترکیبات بی‌خطری همچون سدیم نیترو پرو ساید جهت افزایش عمر انباری آن مفید به‌نظر می‌رسد. سدیم نیترو پروساید بعنوان یک ترکیب آزاد کننده نیتریک اکسید (NO) نقش مهمی در حفظ کیفیت و عمر انباری محصولات دارد (Mostofi *et al*., 2011).

نیتریک اکسید، یک رادیکال گازی به نسبت پایدار است که توسط آنزیم نیتریک اکسید سنتاز (NOS) از ال- آرژینین تولید می‌شود. گزارش شده است که NO با تبدیل سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن این آنیون را از سلول حذف می‌کند و از طرف دیگر با القای آنزیم‌های پاداکسندگی مثل آسکوربات پراکسیداز (APX)، سمیت آب اکسیژنه را نیز کاهش می‌دهد. نیتریک اکسید در غلظت‌های بالا می‌تواند با O^-_2 ترکیب شده، رادیکال پراکسی نیتریت را تولید کند. بنابراین باور بر این است که NO دارای دو نقش سمی یا حفاظتی می‌باشد و این بستگی به غلظت آن، نوع گیاه، بافت گیاهی، سن گیاه و نوع تنش وارده به گیاه دارد (Nasibi, 2011).

در مطالعات قبلی، تاثیر سدیم نیترو پروساید در افزایش عمر پس از برداشت میوه توت فرنگی رقم سلوا (Abd Elahi *et al*., 2010)، انگور رقم سفید بی‌دانه (Asghari & Khomeyri Sani, 2010)، هلو Zhua *et al*., (2006)، کیوی فروت (Shuhua *et al*., 2008) و لیمو آب (Hedayati & Sadeghi, 2021) گزارش شده است. نتایج مطالعه انجام‌شده توسط Singh *et al*. (2009) روی میوه آلوی ژاپنی طی انبارداری نشان داد که نیتریک اکسید در دو غلظت ۱۰ و ۲۰ میکرولیتر بر لیتر باعث تأخیر در کاهش میزان TA و افزایش میزان TSS گردیده و در محدود کردن شاخص‌های مربوط به رسیدن میوه آلو از قبیل توسعه رنگ پوست و سفتی بافت مؤثر بود. مطالعه دیگر انجام شده روی پرتقال واشنگتن ناول مشخص کرد که کاربرد ۰/۵۰ میلی‌مولار نیتریک اکسید به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی پراکسیداز و کاتالاز را افزایش داده و میزان pH، TSS و اسید آسکوربیک میوه‌های تیمار شده و شاهد در طی دوره انبارداری روند افزایشی و میزان اسیدهای آلی روند

کاهشی داشتند (Ghorbani & Pakkish, 2017). با توجه به اینکه در سالهای اخیر ارزش و اهمیت تجاری میوه ازگیل در تغذیه انسان رو به افزایش بوده است. لذا کنترل رسیدن میوه می‌تواند در حفظ ارزش دارویی و غذایی آن بسیار موثر واقع شود. داده‌ها نشان می‌دهند که سدیم نیترو پروساید، پتاسیل کنترل تجاری رسیدن میوه و نرم شدن آن را دارد. با وجود این، اطلاعات محدودی در مورد اثر سدیم نیترو پروساید بر افزایش عمر انباری و حفظ خواص کیفی میوه ازگیل در دست است. لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر غلظت‌های متفاوت سدیم نیترو پروساید (ماده آزادکننده نیتریک اکسید) بر خواص کیفی، ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی میوه ازگیل طی انبارداری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

نمونه‌های میوه ازگیل، آبان ماه ۱۳۹۴ در مرحله بلوغ تجاری از جنگل‌های ارسباران استان آذربایجان شرقی (شهرستان کلیبر، روستای مکیدی) جمع‌آوری گردید. بعد از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه، میوه‌های دارای شکل غیر طبیعی و معایب فیزیکی حذف شده و میوه‌های سالم و یکنواخت انتخاب گردیدند. پس از اعمال تیمار به صورت غوطه‌وری به مدت دو دقیقه با غلظت‌های (۰، ۳، ۵ و ۸ میکرومولار) سدیم نیترو پروساید، سطح نمونه‌ها در دمای اتاق خشک گردید و در ظروف پلاستیکی یک‌بار مصرف درب‌دار قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها به سردخانه با دمای ۱±۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵-۸۵ درصد انتقال داده شدند. خواص کیفی میوه‌ها، ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی نمونه‌ها در فواصل زمانی صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز نگهداری در انبار سرد اندازه‌گیری شدند.

صفات ارزیابی‌شده

میزان pH، اسیدیته قابل تیتر (TA) و مواد جامد محلول (TSS)

به منظور تهیه عصاره، ۴ گرم از نمونه میوه وزن شد و با آب مقطر به حجم ۱۶ میلی‌لیتر رسانده شد. نمونه‌ها به مدت ۲ الی ۳ دقیقه کاملاً ورتکس شده و سپس با سرعت ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس از قسمت روشناور عصاره، ۱۰ میلی‌لیتر برداشته و با آب مقطر به حجم ۴۰ میلی‌لیتر رسانده شد و برای تعیین میزان pH، TA و TSS مورد استفاده قرار گرفت (Erkan & Selcuk, 2015). pH عصاره میوه با دستگاه pH متر دیجیتالی مدل pH-Meter CG 824، TA با روش عیارسنجی توسط هیدروکسید سدیم (NaOH) ۰/۱ نرمال (۴ گرم در لیتر) تا pH=8.1 و TSS با رفراکتومتر دستی مدل ATAGO Brixo-32% اندازه‌گیری شدند (Parvaneh, 1992).

سفتی و درصد کاهش وزن میوه

سنجش سفتی بافت میوه با استفاده از دستگاه سفتی‌سنج دستی مدل GY-2 با سطح مقطع ۶ میلی‌متر و بر حسب کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع انجام شد که در هر تکرار ۷ میوه مورد سنجش قرار گرفت. همچنین برای اندازه‌گیری وزن میوه‌ها از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم استفاده شد. برای این منظور کاهش وزن میوه‌ها در پایان هر دوره انبارداری با استفاده از رابطه (۱) محاسبه گردید (Meng *et al.*, 2007).

رابطه ۱)

$$\text{درصد کاهش وزن} = \frac{(\text{وزن اولیه} - \text{وزن ثانویه})}{\text{وزن اولیه}} \times ۱۰۰$$

پارامترهای رنگ میوه L^*, Hue, Chroma

ارزیابی رنگ میوه‌ها با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج هانتر لب (CR-400 Minolta, Japan) انجام شد. قبل از اندازه‌گیری رنگ هر نمونه، دستگاه با استفاده از سطح سفید استانداردی (L=100) کالیبره شد. مدل رنگی Lab شامل مولفه L^* (روشنی) با محدوده صفر (سیاه) تا ۱۰۰ (سفید)، مولفه a^* (قرمزی) نامحدود با طیف رنگی سبز (مقادیر منفی) تا قرمز (مقادیر مثبت) و مولفه b^* (زردی) نامحدود با طیف رنگی آبی (مقادیر منفی) تا زرد (مقادیر مثبت) می‌باشد. برای محاسبه شاخص هیو از رابطه (Hue= arctan b/a) استفاده شد

که اختلافات جزئی رنگ را بیان می‌کند، اعداد به این صورت است: °۰ قرمز بنفش، °۹۰ زرد، °۱۸۰ سبز-آبی، °۲۷۰ آبی. برای محاسبه کروما نیز از رابطه $Chroma=(a^2+b^2)^{0.5}$ استفاده شد که خلوص یا اشباعی رنگ را مشخص می‌کند (Atares *et al*., 2011).

تعیین میزان فنل کل، فلاونوئید کل، تانن کل و ظرفیت پاداکسندگی کل به روش DPPH

عصاره‌گیری بدین صورت انجام شد که ۱ گرم از نمونه میوه پودر شده با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد (حاوی ۰/۲ میلی‌لیتر اسید فرمیک) مخلوط و به مدت ۲ دقیقه ورتکس شد. بعد از نگهداری نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس قسمت روشناور نمونه‌ها به آرامی برداشته و برای سنجش میزان فنل کل، فلاونوئید کل، تانن کل و ظرفیت پاداکسندگی کل به روش DPPH مورد استفاده قرار گرفت (Zheng *et al*., 2003).

برای اندازه‌گیری میزان فنل کل از روش Du *et al*. (2009) با کمی تغییر استفاده شد. ابتدا ۳۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده به داخل ویال ریخته شد و بعد ۹۰ میکرولیتر آب مقطر، ۶۰۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد اضافه گردید و بعد از گذشت ۶ دقیقه ۴۸۰ میکرولیتر کربنات سدیم به آن اضافه شد که در نهایت حجم نهایی ۱۲۰۰ میکرولیتر می‌شود. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۲۰ دقیقه در محل تاریکی در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Unico, S 2100 SUV) قرائت گردید. مقدار فنل کل با رسم منحنی استاندارد اسید گالیک و براساس میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم معادل اسید گالیک بیان گردید.

برای اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل از روش Shin *et al*. (2014) با کمی تغییر استفاده شد. ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر عصاره تهیه شده را با ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵ درصد مخلوط کرده و بعد از ۵ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به آن اضافه شد و بعد از طی ۵ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر سود ۱ مولار اضافه گردید و در نهایت حجم محلول با آب مقطر به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد و جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Unico, S 2100 SUV) در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید. مقدار فلاونوئید کل برحسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر معادل کاتچین بیان شد.

برای اندازه‌گیری میزان تانن کل از روش Broadhurst & Jones (1978) استفاده شد. ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده به ۳ میلی‌لیتر وانیلین ۴ درصد اضافه شد و کاملاً با هم مخلوط گردید. سپس به محلول حاصله ۱/۵ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک اضافه گردید و به مدت ۲ دقیقه ورتکس شد. محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شد سپس در طول موج ۵۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Unico, S 2100 SUV) قرائت گردید. مقدار تانن کل برحسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر معادل کاتچین بیان شد.

اندازه‌گیری توانایی عصاره‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH) به این صورت انجام شد که ۵۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده را با ۹۵۰ میکرولیتر DPPH (5×10^{-5} mol/L) مخلوط کرده و بعد از قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Unico, S 2100 SUV) در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت و بر پایه رابطه (۲) درصد بازدارندگی محاسبه شد (Nakajima *et al*., 2004).

رابطه ۲) $\text{بازدارندگی DPPH (٪)} = Ac\text{-}As/Ac\times100$

در این رابطه Ac و As به ترتیب جذب شاهد و جذب نمونه است.

سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (GPX) و پلی فنل اکسیداز (PPO)

برای تهیه عصاره جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاگول پراکسیداز از روشKang & Saltiveit (2002) استفاده شد که ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه وزن شده و در داخل هاون سرد توسط ۳ میلی‌لیتر محلول بافر تریس با pH=7.5 شامل (اسید کلریدریک ۰/۰۵ مولار، کلرید منیزیم ۳ میلی‌مولار و EDTA ۱ میلی‌مولار) به خوبی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در

دور ۱۴۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد که از قسمت روشناور محلول برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی استفاده گردید. برای تهیه محلول بافر تریس از ۶/۰۵۵ گرم تریس، ۰/۳۷۲ گرم EDTA و ۰/۶۹۹ گرم کلرید منیزیم در ۱ لیتر آب مقطر استفاده شد و pH محلول بر روی ۷/۵ تنظیم شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Aebi (1984) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=7، ۲۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱ درصد و ۳۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با اضافه کردن عصاره به محیط واکنش تجزیه H_2O_2 توسط آنزیم شروع شد. سپس فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر مدل (Unico, S 2100 SUV) قرائت شد. برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از رابطه (۳) با ضریب خاموشی (۴۳/۶) استفاده شد.

رابطه ۳)

$$\left(\frac{\mu m}{min/g\ FW}\right) = \frac{doD/min(slope) \times Vol.\ of\ assay\ (0.0003)}{Extinction\ Coefficient\ (43.6)}$$

doD/min (slope) و Vol. of assay به ترتیب ضریب خاموشی، (Units Extinction Coefficient) شیب تغییرات آنزیم طی ۱ دقیقه و مقدار عصاره در نمونه می‌باشد.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش Updhyaya *et al.* (1985) انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل ۱ میلی‌لیتر گایاکول ۱ درصد، ۱ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۱ درصد، ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با (pH=7) و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره استخراجی بود. سپس فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به صورت افزایش جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Unico, S 2100 SUV) قرائت شد. برای سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز از رابطه (۴) با ضریب خاموشی (۲۶/۶) استفاده شد.

رابطه ۴)

$$\left(\frac{\mu m}{min/g\ FW}\right) = \frac{doD/min(slope) \times Vol.\ of\ assay\ (0.0001)}{Extinction\ Coefficient\ (26.6)}$$

doD/min (slope) و Vol. of assay به ترتیب ضریب خاموشی، (Units Extinction Coefficient) شیب تغییرات آنزیم طی ۱ دقیقه و مقدار عصاره در نمونه می‌باشد.

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز با استفاده از روش Pizzarocaro (1983) و براساس اکسیداسیون کاتکول اندازه‌گیری شد. در ابتدا حدود ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره استخراجی با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH= 6.4) مخلوط شد. از نمونه حاضر حدود ۰/۵ میلی‌لیتر به ۲/۵ میلی‌لیتر ماده بافری شامل (بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار با pH= 6.4 و ۵۰ میلی‌مولار کاتکول) اضافه می‌گردد و منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری می‌شود. یک واحد آنزیمی عبارت بود از: میزان تغییر PPO به مقدار ۰/۰۰۱ در دقیقه در یک میلی‌لیتر از عصاره آنزیم.

تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه‌ی طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل غلظت‌های مختلف سدیم نیترو پروساید (۰، ۳، ۵ و ۸ میکرومولار) و فاکتور دوم شامل زمان انبار داری (۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز) بود. داده‌های پژوهش با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد صورت گرفت و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2010 استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که تفاوت آماری معنی‌داری در اثر غلظت، زمان و اثر متقابل بین غلظت و زمان در تمام صفات مورد ارزیابی در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت (جدول ۱).

کاهش وزن و سفتی میوه

کاهش وزن میوه‌ها در طول دوره نگهداری در نتیجه تبخیر آب از سطح میوه‌ها و مصرف ذخایر میوه در نتیجه تنفس می‌باشد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین (۲/۲۴ درصد) و کمترین (۰/۱۷درصد) کاهش وزن میوه به ترتیب مربوط به

تیمار شاهد در روز ۶۰ انبارداری و میوه‌های تیمار شده با نیتریک اکسید با غلظت ۵ میکرومولار در روز ۱۵ام می‌باشند (جدول ۲). تیمار با نیتریک اکسید باعث جلوگیری از تولید اتیلن و کاهش تنفس شده و متابولیسم سلولی را کاهش داده و از اتلاف آب جلوگیری می‌کند و در نتیجه مانع کاهش وزن می‌شود (Shuhua *et al*., 2008). در این پژوهش، سفتی بافت نمونه‌ها در طول دوره انبارداری به مرور زمان کاهش یافت اما میزان سفتی بافت در تیمار ۵ میکرومولار نیتریک اکسید در مقایسه با سایر تیمارها و میوه‌های شاهد بیشتر بود. نتایج این پژوهش با نتایج گزارش شده در انگور سفید بی‌دانه (Asghari & Khomeyri Sani, 2010) و توت‌فرنگی رقم گاویتا (Bahamir & Mohammad Khani, 2014) هم‌خوانی دارد.

پارامترهای رنگ میوه

رنگ میوه از مهم‌ترین شاخص‌های میوه از نظر پذیرش مصرفکننده است، بنابراین حفظ رنگ میوه در نگهداری آن اهمیت زیادی دارد. نتایج مقایسه میانگین اثر تیمارهای متفاوت سدیم نیترو پروساید بر شاخص‌های رنگ میوه در طول مدت نگهداری در انبار در جدول ۲ نشان داده شده است. بالاترین مقادیر شاخص‌های L^* (۵۴/۰۵)، Hue (۲۰/۶۸) و Chroma (۲۷/۰۶) در روز اول و قبل از انبارداری مشاهده شد. در حالی که پایین‌ترین شاخص‌های L^* (۴۲/۱۶)، Hue (۱۰/۵۳) و Chroma (۱۶/۴۷) در روز ۶۰ انبارداری و میوه‌های تیمار نشده دیده شد. شاخص‌های روشنایی رنگ L^*، زاویه فام رنگ Hue و خلوص رنگ Chroma با افزایش غلظت سدیم نیترو پروساید از ۳ به ۵ میکرومولار اثر افزایشی معنی‌داری نسبت به شاهد نشان دادند و با رسیدن به غلظت ۸ میکرومولار از اثر افزایشی آن کاسته شد. با توجه به اینکه تغییرات رنگ میوه ازگیل در طی مدت رسیدن با کاهش روشنایی، زاویه فام و خلوص رنگ همراه می‌باشد. بنابراین افزایش غلظت در تیمار سدیم نیترو پروساید به مقدار ۵ میکرومولار دارای اثر مثبت بر میزان شاخص‌های رنگ میوه بوده است. کاربرد پس از برداشت سدیم نیترو پروساید در به تأخیر انداختن رسیدن و حفظ کیفیت میوه انبه توسط Lineh *et al*. (2015) مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج به‌دست آمده در تیمار ۱ میلی‌مولار سدیم نیترو پروساید بالاترین میزان صفات سفتی، TA، L^* و Hue نسبت به شاهد مشاهده شد. در پژوهشی دیگر، از بین ۵ غلظت صفر، ۳۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومول اکسید نیتریک اعمال شده بر روی میوه انار، بیشترین میزان شاخص L^* و Chroma به ترتیب به میزان ۲۶/۱۷۵ و ۳۶/۱۱۲ در غلظت ۱۰۰۰ میکرومول نیتریک اکسید به‌دست آمد (Moradinezhad *et al*., 2016).

میزان (pH)، اسیدیته قابل تیتر (TA) و مواد جامد محلول (TSS)

نتایج نشان داد که در این پژوهش، کاربرد نیتریک اکسید تأثیر معنی‌داری بر میزان pH، TA و TSS داشت. غلظت‌های متفاوت سدیم نیترو پروساید منجر به تأخیر در افزایش میزان pH و TSS نسبت به شاهد در طول دوره انبارداری گردید و میزان TA را نیز در حد بالایی حفظ نمود. بعد از ۶۰ روز انباری داری، کمترین میزان pH (۴/۳۳)، بیشترین میزان TA (۰/۷درصد) و کمترین میزان TSS (۱۵/۹۴ درصد) در غلظت ۸ میکرومولار سدیم نیترو پروساید مشاهده گردید. همچنین در همه زمان‌های اندازه گیری شده در طول انبارداری، همین غلظت ۸ میکرومولار بود که کمترین میزان pH و TSS و بیشترین میزان TA را داشت (جدول ۲). احتمال دارد که در میوه‌های شاهد به دلیل پیشرفت فرآیند پیری دیواره‌های سلولی هضم شده و به دلیل حل شدن پلی ساکاریدهای دیواره سلولی و نیز غشاء سلولی مواد جامد محلول افزایش یافته باشد. مطالعات نشان داده است که تیمار با نیتریک اکسید می‌تواند باعث جلوگیری از تولید اتیلن، کاهش تنفس و کاهش سرعت شکسته شدن پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی گردد و در نتیجه منجر به تأخیر در افزایش مواد جامد محلول شود (Shuhua *et al*., 2008). نتایج مطالعات قبلی نشان داده که نیتریک اکسید بطور معنی‌داری کاهش میزان TA میوه‌ها را طی انبارداری به تأخیر می‌اندازد (Singh *et al*., 2009; Abd Elahi *et al*., 2010) که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد.

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر سدیم نیتروپروساید و دوره انبار مانی بر برخی صفات ازگیل.

Table 1. Results of variance analysis effect of SNP and storage period on some traits of medlar.

Source of variation	d.f.	Means of squares							
		pH	TA	TSS	L*	Hue	Chroma	Fruit weight loss	Fruit firmness
SNP	3	0.211**	0.060**	0.163**	3.371**	7.393**	14.285**	0.515**	0.512**
Storage period	4	5.099**	0.717**	7.240**	241.96**	150.31**	139.37**	6.305**	53.942**
SNP x storage period	12	0.052**	0.016**	0.032**	0.614**	1.144**	1.123**	0.059**	0.122**
Error	40	0.0002	0.0001	0.0004	0.0018	0.0007	0.0011	0.0002	0.0004
C. V (%)	-	0.42	1.31	0.13	0.8	0.15	0.14	1.60	0.82

**: تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

**: Significantly difference at 1% probability level.

ادامه جدول ۱. نتایج تجزیه اثر سدیم نیتروپروساید و دوره انبار مانی بر برخی صفات ازگیل.

Continued table 1. Results of variance analysis effect of SNP and storage period on some traits of medlar.

Source of variation	d.f.	Means of squares						
		Total phenol	Total flavonoid	Total tannin	DPPH	CAT	GPX	PPO
SNP	3	20101.12**	14008.51**	17010.22**	150.34**	1.817**	1.469**	199231.07**
Storage period	4	545884.92**	317260.61**	1718488.18**	10756.09**	68.010**	68.137**	1260160.00**
SNP × storage period	12	3103.55**	2074.34**	2923.42**	10.308**	0.161**	0.125**	13844.20**
Error	40	7.520	1.428	1.965	0.419	0.0019	0.0014	3.322
C.V (%)	-	0.92	0.49	0.29	1.09	1.36	1.27	0.17

**: تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

**: Significantly difference at 1% of probability level.

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و دوره انبار مانی بر برخی صفات ازگیل.

Table 2. Mean comparison interaction effect of SNP and storage period on some traits of medlar.

Storage period (days)	Sodium nitroprusside (µM)	pH	TA (%)	TSS (%)	L*	Hue	Chroma	Fruit weight loss (%)	Fruit firmness (Kg/cm^2)
Day 0	0(Control)	3.01^{m}	1.13^{a}	14.14^{k}	54.05^{a}	20.68^{a}	27.06^{a}	-	5.45^{a}
	3	3.01^{m}	1.13^{a}	14.14^{k}	54.05^{a}	20.68^{a}	27.06^{a}	-	5.45^{a}
	5	3.01^{m}	1.13^{a}	14.14^{k}	54.05^{a}	20.68^{a}	27.06^{a}	-	5.45^{a}
	8	3.01^{m}	1.13^{a}	14.14^{k}	54.05^{a}	20.68^{a}	27.06^{a}	_	5.45^{a}
Day 15	0(Control)	3.16^{k}	1.10^{b}	15.03^{i}	52.26^{de}	19.60^{e}	24.53^{e}	0.52^{k}	3.74^{e}
	3	3.16^{k}	1.07^{c}	15.02^{i}	52.33^{d}	19.72^{d}	25.33^{d}	0.24^{n}	4.03^{d}
	5	3.14^{k}	1.10^{b}	15.02^{i}	52.79^{b}	20.06^{b}	26.94^{b}	0.17^{o}	4.82^{b}
	8	3.05^{l}	1.12^{ab}	14.98^{j}	52.45^{c}	19.90^{c}	26.02^{c}	0.37^{m}	4.23^{c}
Day 30	0(Control)	3.39^{i}	0.87^{g}	15.60^{f}	51.45^{g}	17.64^{i}	21.31^{l}	0.92^{h}	1.23^{i}
	3	3.38^{i}	0.91^{f}	15.50^{g}	52.12^{f}	18.02^{h}	23.05^{h}	0.69^{j}	1.71^{h}
	5	3.33^{j}	0.96^{e}	15.52^{g}	52.21^{e}	19.19^{f}	24.43^{f}	0.48^{l}	1.93^{f}
	8	3.16^{k}	1.00^{d}	15.35^{h}	52.13^{f}	18.83^{g}	23.88^{g}	0.82^{i}	1.75^{g}
Day 45	0(Control)	3.77^{e}	0.65^{j}	16.00^{c}	45.15^{k}	14.14^{m}	19.67^{n}	1.42^{d}	0.95^{k}
	3	3.68^{f}	0.87^{g}	15.81^{e}	46.23^{j}	15.22^{l}	21.43^{k}	1.23^{g}	0.96^{k}
	5	3.60^{g}	0.82^{h}	15.83^{e}	47.39^{h}	17.43^{j}	22.15^{i}	0.92^{h}	1.00^{j}
	8	3.47^{h}	0.92^{f}	15.57^{f}	46.82^{i}	16.43^{k}	21.82^{j}	1.31^{f}	0.98^{jk}
Day 60	0(Control)	5.05^{a}	0.38^{m}	16.47^{a}	42.16^{o}	10.53^{q}	16.47^{q}	2.24^{a}	0.50^{o}
	3	4.73^{b}	0.41^{l}	16.03^{c}	43.87^{n}	11.60^{p}	18.84^{p}	1.70^{c}	0.55^{n}
	5	4.41^{c}	0.62^{k}	16.11^{b}	44.13^{l}	13.35^{n}	19.88^{m}	1.36^{e}	0.87^{l}
	8	4.33^{d}	0.70^{i}	15.94^{d}	43.96^{m}	12.23^{o}	19.03^{o}	2.01^{b}	0.75^{m}

در هر ستون میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

In each column means followed by at least common letter, are not significantly difference at 1% probability level.

محتوی فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل

در این پژوهش، تأثیر تیمار سدیم نیترو پروساید بر میزان ترکیبات فنلی در سطح احتمال ۱ درصد نسبت به شاهد معنی‌دار بود (جدول ۱). بر اساس نتایج حاصل از مقایسات میانگین مشخص شد که بالاترین محتوی فنل کل (۵۶۹/۳۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر)، فلاونوئید کل (۴۴۵/۰۵ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) و تانن کل (۹۰۱/۰۸ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) در روز صفر قبل از انبارداری مشاهده گردید. درحالی که پایین‌ترین محتوی فنل کل (۳۴/۹۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر)، فلاونوئید کل (۲۹/۳۹ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) و تانن کل (۲۴/۱۴

میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) در میوه‌های تیمار نشده در روز ۶۰ انبارداری دیده شد. بطور کلی محتویات فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل میوه‌های تحت تیمار در طول دوره نگهداری نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (جدول ۳). میزان ترکیبات فنلی (فنل، فلاونوئید و تانن کل) میوه‌های تیمار شده در طول دوره انبارداری در غلظت ۳ میکرومولار سدیم نیترو پروساید بیشتر حفظ شد و با افزایش غلظت سدیم نیترو پروساید به ۵ و ۸ میکرومولار تأثیر مثبتی در حفظ محتوای ترکیبات فنلی مشاهده نشد. محتوی فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل نمونه‌های تحت تیمار با گذشت زمان نگهداری در انبار رو به کاهش نهاد و این میزان کاهش در نمونه‌های شاهد بیشتر بود. میوه ازگیل دارای مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی است که این ترکیبات دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی می‌باشند (Gulcin *et al*., 2011).

میزان تانن کل به عوامل مختلفی از جمله شرایط آب و هوایی، شرایط تغذیه‌ای، گونه، رقم و روش استخراج بستگی دارد. شواهد نشان می‌دهد که تانن‌ها و پلی‌فنل‌ها دارای اثرات ضد دیابتی، ضد موتاژنی و پاداکسندگی هستند (Xueqing, 2005). با استفاده از تکنیک‌های مختلف می‌توان کاهش این متابولیت‌های مهم در طول دوره نگهداری را به حداقل رساند. در پژوهشی که بر روی تیمارهای پس از برداشت اسید سالیسیلیک و نیتریک اکسید در حفظ کیفیت میوه سیب رقم لبنانی قرمز توسط Asghari *et al*. (2014) صورت گرفت، بیشترین میزان فنل کل در تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار با نیتریک اکسید ۳ میکرومولار در لیتر مشاهده شد.

براساس گزارش‌های Zhu *et al*. (2009) تیمار میوه‌های عناب با غلظت ۱۰ و ۲۰ میلی‌لیتر در لیتر محلول نیتریک اکسید از افزایش رنگ قرمز جلوگیری کرده، محتوی آنتوسیانین کل را کاهش داده، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیاز را کاهش و محتوی فنل کل را در طول انبارداری افزایش داده است. ولی در مطالعه حاضر افزایشی در فنل کل در طول انبارداری مشاهده نشد که شاید دلیل آن گونه متفاوت گیاهی استفاده شده در دو مطالعه باشد.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و دوره انبار مانی بر برخی صفات ازگیل.

Table 3. Mean comparison interaction effect of SNP and storage period on some traits of medlar.

Storage period (days)	Sodium nitroprusside (µM)	Total phenol (mg GAE/100g FW)	Total flavonoid (mg CE/100g FW)	Total tannin (mg CE/100g FW)	CAT (µm/min/g FW)	GPX (µm/min/g FW)
Day 0	0(Control)	569.30^{a}	445.05^{a}	901.08^{a}	6.32^{a}	6.15^{a}
	3	569.30^{a}	445.05^{a}	901.08^{a}	6.32^{a}	6.15^{a}
	5	569.30^{a}	445.05^{a}	901.08^{a}	6.32^{a}	6.15^{a}
	8	569.30^{a}	445.05^{a}	901.08^{a}	6.32^{a}	6.15^{a}
Day 15	0(Control)	345.66^{f}	301.97^{f}	640.25^{f}	4.12^{e}	4.03^{d}
	3	501.04^{b}	400.42^{b}	820.60^{b}	4.79^{d}	4.22^{c}
	5	470.53^{c}	391.65^{c}	790.14^{c}	5.00^{c}	4.93^{b}
	8	452.71^{d}	364.46^{d}	773.77^{d}	5.32^{b}	4.98^{b}
Day 30	0(Control)	220.70^{i}	197.81^{i}	563.27^{i}	2.21^{i}	2.13^{h}
	3	392.06^{e}	315.69^{e}	665.62^{e}	2.74^{h}	2.32^{g}
	5	300.77^{g}	206.95^{g}	600.42^{g}	2.97^{g}	2.52^{f}
	8	293.71^{h}	200.22^{h}	597.83^{h}	3.18^{f}	2.99^{e}
Day 45	0(Control)	95.54^{m}	95.91^{m}	100.76^{m}	0.99^{m}	0.83^{l}
	3	158.47^{j}	191.45^{j}	174.92^{j}	1.12^{l}	0.89^{k}
	5	120.93^{k}	135.54^{k}	153.35^{k}	1.75^{k}	1.28^{j}
	8	100.29^{l}	110.89^{l}	116.83^{l}	2.13^{j}	1.76^{i}
Day 60	0(Control)	34.90^{q}	29.39^{q}	24.14^{q}	0.15^{q}	0.07^{p}
	3	89.24^{n}	75.67^{n}	80.91^{n}	0.35^{p}	0.16^{o}
	5	70.02^{o}	51.95^{o}	50.65^{o}	0.64^{o}	0.52^{n}
	8	56.67^{p}	35.45^{p}	38.46^{p}	0.87^{n}	0.75^{m}

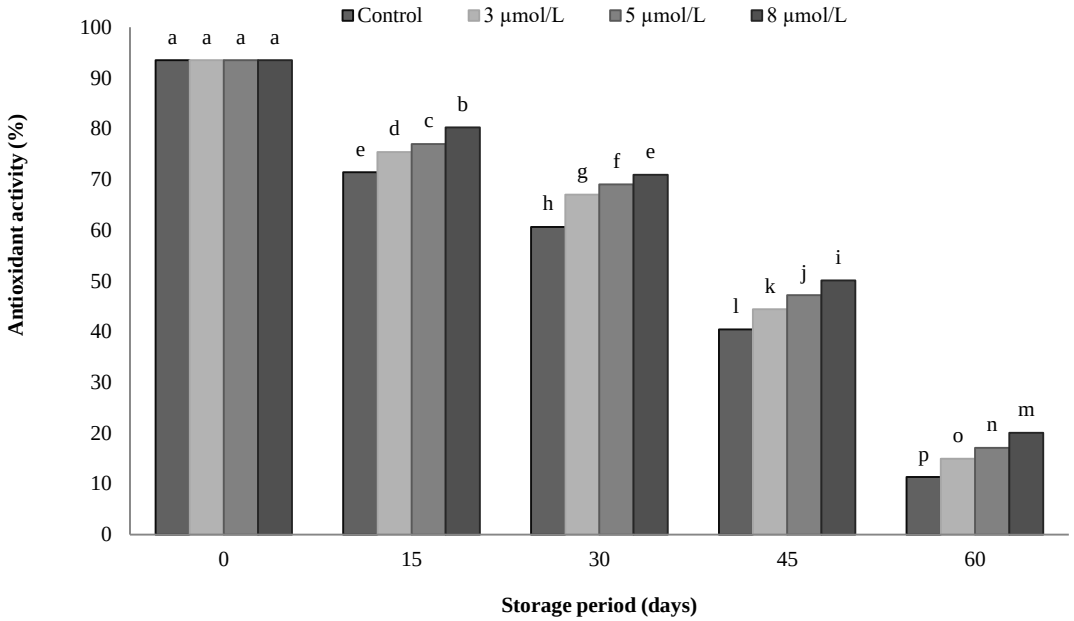
در هر ستون میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

In each column means followed by at least common letter, are not significantly difference at 1% probability level.

پژوهشی دیگر، تأثیر اکسید نیتریک و پوتریسین بر خواص کیفی و عمر پس از برداشت میوه توت‌فرنگی رقم سلوا توسط Abd Elahi *et al.* (2010) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن‌ها نشان داد که محتوی ترکیبات فنلی در تمام تیمارها در پایان انبارداری کاهش یافت که این کاهش در میوه‌های تیمار شده با اکسید نیتریک کمتر دیده شد. در پژوهشی که بر روی تیمارهای پس از برداشت اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک در حفظ کیفیت میوه سیب رقم لبنانی قرمز توسط Asghari *et al.* (2014) صورت گرفت، بیشترین میزان فنل کل در تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار با نیتریک اکسید ۳ میلی مولار مشاهده شد. نیتریک اکسید از طریق بازدارندگی فعالیت آنزیم های پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز باعث حفظ ترکیات فنلی در سطوح بالا در طول انبارداری می‌شود (Zhu *et al*., 2009).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل به روش DPPH

در حال حاضر توجه بسیار زیادی بر روی میوه ازگیل به‌عنوان یکی از منابع اصلی تأمین‌کننده آنتی‌اکسیدان‌ها معطوف شده است (Gulcin *et al*., 2011). در این پژوهش، بیشترین (۹۳/۵۰ درصد) و کمترین (۱۱/۳۲ درصد) میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل به روش DPPH در طول دوره انبارداری به ترتیب در روز صفر و میوه‌های تیمار نشده روز ۶۰ انبارداری به‌دست آمد (شکل ۱). ظرفیت پاداکسندگی نمونه‌ها متأثر از غلظت سدیم نیترو پروساید به کار رفته در طول دوره انبارداری بود، به‌طوری‌که با افزایش غلظت سدیم نیترو پروساید از میزان صفر در تیمار شاهد به میزان ۳، ۵ و ۸ میکرومولار در سایر تیمارها، ظرفیت پاداکسندگی نمونه‌ها در طول دوره نگهداری بیشتر حفظ گردید. محصولاتی با فعالیت پاداکسندگی بالا معمولاً مقاومت به تنش، کیفیت تغذیه‌ای و خصوصیات انباری بهتری نیز دارند. در پژوهشی Moradinezhad *et al.* (2016) نشان دادند که میزان ظرفیت پاداکسندگی به روش DPPH با افزایش غلظت نیتریک اکسید از صفر به ۳۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومول افزایش می‌یابد، به‌طوری که بعد از ۹۰ روز نگهداری میوه انار در انبار، کمترین و بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب در غلظت صفر ۲۱/۹۰ درصد و ۱۰۰۰ میکرومول نیتریک اکسید ۴۸/۵۶ درصد به‌دست آمد که با نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر مطابقت دارد.



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و دوره انبار مانی بر ظرفیت پاداکسندگی کل میوه ازگیل.

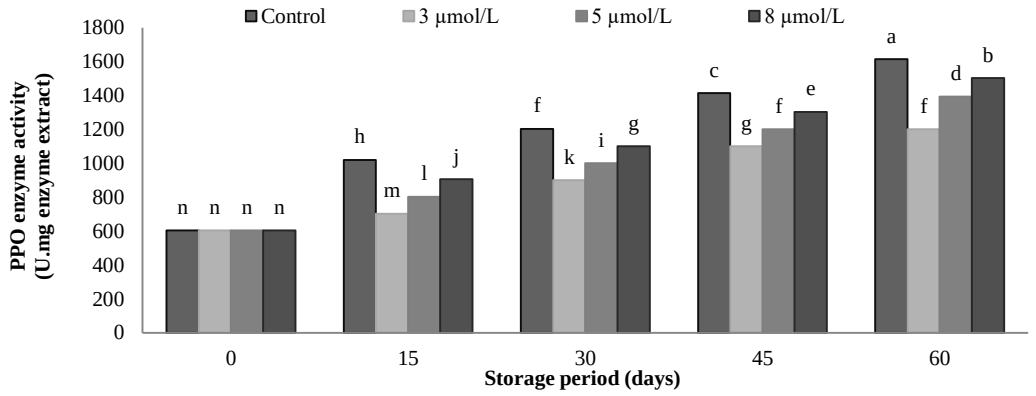
Figure 1. Mean comparison interaction effect of SNP and storage period on total antioxidant capacity of medlar fruit.

آنزیم‌های کاتالاز (CAT) و گایاکول پراکسیداز (GPX)

نتایج حاصله نشان داد که بالاترین فعالیت آنزیم CAT (۶/۳۲ میکرو مول بر دقیقه بر گرم) و فعالیت آنزیم GPX (۶/۱۵ میکرو مول بر دقیقه بر گرم) مربوط به میوه‌های روز صفر قبل از انبارداری بود، درحالیکه پایین‌ترین فعالیت آنزیم CAT (۰/۱۵ میکرو مول بر دقیقه بر گرم) و فعالیت آنزیم GPX (۰/۰۷ میکرو مول بر دقیقه بر گرم) در میوه‌های تیمار نشده در روز ۶۰ انبارداری مشاهده شد. همچنین مشخص شد که تیمار میوه‌های ازگیل با سدیم نیترو پروساید باعث افزایش فعالیت هر دو آنزیم در مقایسه با میوه‌های شاهد گردید که در مورد فعالیت آنزیم‌های مذکور نیز اثر سدیم نیترو پروساید ۸ میکرومول بر لیتر بیشتر از سدیم نیترو پروساید ۵ و ۳ میکرومول بر لیتر بود (جدول ۳). اثر نیتریک اکسید وابسته به غلظت بوده و در غلظت‌های بالاتر NO، تنش نیتروزاتیو می‌تواند به‌صورت همکاری با تنش اکسیداتیو خسارت‌های بیشتری را ایجاد نماید. گزارش شده است که اکسید نیتریک با مهار فعالیت ACC اکسیداز و جلوگیری از تولید اتیلن، واکنش با گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش پراکسیداسیون لیپدهای غشایی و القاء بیان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های پاداکسندگی باعث تأخیر در فرآیند پیری می‌گردد (Huang & Kao, 2005). اثر پیش تیمار نیتریک اکسید با غلظت ۵ میکرولیتر بر لیتر در طول ۱۴ روز انبارداری میوه هلو در دمای اتاق فعالیت آنزیم PPO را تحت تأثیر قرار داد و باعث تحریک فعالیت آنزیم‌های CAT، POX و SOD در پایان دوره انبارداری گردید (Flores *et al*., 2008). در پژوهشی دیگر، تیمار ۱ میکرومول بر لیتر نیتریک اکسید به‌طور قابل توجهی تجمع سوپر اکسید و پروکسید هیدروژن را کاهش داده و با حفظ محتوی TSS و تأخیر در کاهش میزان ویتامین‌های E و C و مهار فعالیت لیپوکسی‌ژناز و پروکسیداز باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و CAT در میوه کیوی‌فروت شده است (Shuhua *et al*., 2008). در این پژوهش، به نظر می‌رسد که سدیم نیترو پروساید با افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی باعث افزایش عمر پس از برداشت میوه ازگیل گردیده است.

آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO)

اثر غلظت، زمان و اثرات متقابل بین غلظت و زمان بر میزان فعالیت آنزیم PPO در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). میزان فعالیت آنزیم PPO نمونه‌های شاهد در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های متفاوت سدیم نیترو پروساید بیشتر بود (شکل ۲). سدیم نیترو پروساید در غلظت ۳ میکرومولار توانست به طور قابل توجهی از افزایش فعالیت این آنزیم در طول دوره نگهداری در انبار بکاهد و از طرفی با حفظ ترکیبات فنلی (فنل کل، فلاونوئید کل و تانن کل) در بالاترین حد، کیفیت میوه ازگیل را بهبود بخشد. در پژوهشی نیتریک اکسید از افزایش فعالیت آنزیم PPO در طول انبارداری میوه هلو نسبت به شاهد جلوگیری کرده و باعث تحریک فعالیت آنزیم‌های CAT، POX و SOD در پایان دوره انبارداری می‌گردد (Flores *et al*., 2008).



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و دوره انبار مانی بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز میوه ازگیل.

Figure 2. Mean comparison interaction effect of SNP and storage period on PPO enzyme activity of medlar fruit.

نتیجه‌گیری کلی

تیمار سدیم نیترو پروساید (ماده آزاد کننده نیتریک اکسید) اثرات مثبتی بر حفظ صفات اندازه‌گیری شده داشت و فرآیند رسیدن و پیری را به تأخیر انداخت و در نتیجه منجر به حفظ کیفیت درونی میوه ازگیل گردید. نیتریک اکسید فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی را در سطح بالاتری حفظ نمود. بنابراین نیتریک اکسید احتمالاً با کاهش گونه‌های فعال اکسیژن، بیان ژن‌های آنزیم‌های پاداکسندگی، کاهش تولید اتیلن و کاهش پوسیدگی باعث حفظ کیفیت میوه‌های ازگیل و افزایش بازارپسندی آن‌ها گردید. همچنین تاثیر نیتریک اکسید روی فعالیت آنزیم PPO باعث شده است که این ترکیب نقش مهمی در حفظ کیفیت میوه ازگیل در طول انبارداری داشته باشد. با توجه به نتایج این پژوهش به نظر می‌رسد که کاربرد نیتریک اکسید در غلظت ۳ میکرومولار می‌تواند به عنوان یک روش سالم و مطلوب در تیمار پس از برداشت میوه ازگیل مطرح باشد.

REFERENCES

1. Abd Elahi, R., Asghari, M.R. & Esmailli, M. (2010). Effect of nitric oxide and putrescine on quality properties and postharvest life of strawberry fruits (cv. Selva). *Journal of Food Industry Research*, 20(1), 177-190. (In Farsi).
2. Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
3. Asghari, M.R., Ghafari Baktash, H., Rasmi, Y. & Farokhzad, A.R. (2014). Study of the interaction of salicylic acid and nitric oxide after harvesting in preserving the quality and increasing the marketability of apple fruit (cv. Red delicious). *Journal of Production and Processing of Crop and Gardening*, 4(13), 51-61. (In Farsi).
4. Asghari, M.R. & Khomeyri Sani, M. (2010). Effect of postharvest putrescine and nitric oxide application on some quality attributes and total content phenolics on table grape (cv. Sefide bidane). *Journal of Food Industry Research*, 3(2), 61-72. (In Farsi).
5. Atares, L., Perez Masia, R. & Chiralt, A. (2011). The role of some antioxidants in the HPMC film properties and lipid protection in coated toasted almonds. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 649-659.
6. Bahamir, S. & Mohammad Khani, A. (2014). Effect of nitric oxide on qualitative properties and after harvesting of strawberry fruit (cv. Gaviyata). First Iranian National Technology Congress, 1-9. (In Farsi).
7. Broadhurst, R.B. & Jones, W.T. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29, 788-794.
8. Du, G., Li, M., Ma, F. & Liang, D. (2009). Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in *Actinidia* fruits. *Food Chemistry*, 113, 557-562.
9. Erkan, M. & Selcuk, N. (2015). The effects of 1-MCP treatment on fruit quality of medlar fruit (*Mespilus germanica* L. cv. Istanbul) during long term storage in the palliflex storage system. *Postharvest Biology and Technology*, 100, 81–90.
10. Flores, F.B., Sanchez-Bel, P., Valdengro, M., Romojaro Maria, F., Martinez-Madrid, C. & Isabel Egea, M. (2008). Effects of a pretreatment with nitric oxide on peach (*Prunus persica* L.) storage at room temperature. *European Food Research and Technology*, 227, 1599-1611.
11. Ghorbani, B. & PakKish, Z. (2017). Effect of nitric oxide on reducing the adverse effects of cold on orange fruit (*Citrus sinensis* L. cv. Washington Navel) during storage. *Journal of Horticulture*, 31(3), 492-504. (In Farsi).
12. Gulcin, I., Topal, F., Sarikaya, S.B., Bursal, E., Bilsel, G. & Goren, A.C. (2011). Polyphenol contents and antioxidant properties of medlar (*Mespilus germanica* L.). *Records of Natural Products*, 5(3), 158-175.
13. Hedayati, G.H. & Sadeghi, F. (2021). Effects of sodium nitroprusside (SNP) on marketability and qualitative properties of Mexican lime fruit (*Citrus aurantifolia* L.) at storage. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51(4), 913-923. (In Farsi).
14. Huang, K.T. & Kao, C.H. (2005). Nitric oxide counteracts the senescence of rice leaves induced by hydrogen peroxide. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 46, 21-28.
15. kang, H.M. & Saltveit, M.E. (2002). Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots and differentially affected by salicylic acid. *Plant Physiology*, 115, 571-576.
16. Khoshbakht, K. & Hammer, K. (2005). Notes on neglected and underutilized crops. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52, 249-265.
17. Lineh, T.T.T., Jitareerat, P., Aimla-or, S., Srilaong, V., Boonyaritthongchai, P. & Uthairatanakij, A. (2015). Applying of sodium nitroprusside (SNP) on postharvest mango fruits delay ripening and maintain quality. *African Journal of Agricultural Research*, 10(31), 3067-3072

18. Meng, X., Libliu, J. & Tian, S. (2007). Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan perharvest spray and postharvest coating during storage. *Food Chemistry*, 106, 501-508.
19. Moradinezhad, F., Ranjbari, F. & Khayyat, M. (2016). Effect of nitric oxide on biochemical and antioxidant properties of pomegranate fruit cv. Shishe-kab during cold storage. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 3(2), 211-219.
20. Mostofi, Y., Rasouli, P., Naderi, R., Bagheri Marandi, G. & Shafiei, M.R. (2011). Effect of nitric oxide and thidiazuron on vase life and some qualitative characteristics of cut carnation flowers (*Dianthus caryophyllus* cv. Nelson). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 41(4), 301-308. (In Farsi).
21. Mouzafariyan, V. (2004). Iran trees and Shrubs. *Tehran Contemporary Culture*, 1003 pages. (In Farsi).
22. Nakajima, J.I., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M. & Saito, K. (2004). LC/PDA/ESI- MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 5, 241–247.
23. Nasibi, F. (2011). Effect of different sodium nitroproside concentrations on reduction of oxidative damage caused by drought stress in Tomato plant. *Journal of Plant Biology*, 3(9), 63-74. (In Farsi).
24. Parvaneh, V. (1992). Food Quality Control and Chemistry Analysis. *University of Tehran Publication*, 322. (In Farsi).
25. Pizzocaro, F., Torreggiani, D. & Gilardi, G. (1993). Inhibition of apple polyphenoloxidase (PPO) by ascorbicacid, citric acid and sodium chloride. *Journal of Food Processing and Preservation*, 17, 21-30.
26. Shin, Y., Liu, R.H., Nock, J.F., Holliday, D. & Watkins, C.B. (2007). Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 45, 349-357.
27. Shuhua, Z., Lina, S., Mengchen, L. & Jie, Z. (2008). Effect of nitric oxide on reactive oxygen species and antioxidant enzymes in kiwifruit during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 2324-2331.
28. Singh, S.P., Singh, Z. & Swinny, E.E. (2009). Postharvest nitric oxide fumigation delays fruit ripening and alleviates chilling injury during cold storage of Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell). *Postharvest Biology and Technology*, 53, 101-108.
29. Updhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. & Smidth, B.N. (1985). Effect of paclobotrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*, 121, 453-461.
30. Xueqing, L., Jae kyung, K., Yunsheng, L. & Fang Liu, X.Ch. (2005). Tannic acid stimulates Glucose Transport and Inhibits Adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells. *Journal of Nutrition*, 135(2), 165-171.
31. Zheng, Y., Wang, C.Y., Wang, S.Y. & Zheng, W. (2003). Effect of high-oxygen atmospheres on blueberry phenolic, anthocyanins, and antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 7162-7169.
32. Zhu, S., Sun, L. & Zhou, J. (2009). Effects of nitric oxide fumigation on phenolic metabolism of postharvest chinese winter jujube *(Zizyphus jujube Mill*. cv. Dongzao) in relation to fruit quality. *Food Science and Technology*, 42, 1009-1014.
33. Zhua, S., Liu, M. & 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.