

ارزیابی اثر نانو کامپوزیت ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان بر کیفیت پس از برداشت میوه خرمالو رقم کرج در شرایط انبار سرد

بهناز سلیمانی^{۱*}، ولی ربیع^۱، فرهنگ رضوی^۱، غلامرضا مهدوی نیا^۲، فهیمه نصر^۱

^۱ گروه باغبانی، زنجان، دانشکده کشاورزی، زنجان، ایران.

^۲ گروه شیمی، مراغه، دانشکده شیمی، مراغه، ایران.

*نویسنده مسئول: soleimanibeh5@gmail.com

چکیده

خرمالو (*Diospyros kaki* Thunb) از میوه‌های نیمه‌گرمسیری فسادپذیر با عمر انبارمانی کوتاه می‌باشد، زیرا نرم شدن بافت، تغییر در ترکیبات شیمیایی و قهوه‌ای شدن در آن سریع‌تر بوده که منجر به ضایعات بیشتر محصول در دوره پس از برداشت می‌شود. بنابراین استفاده از پوشش‌های خوراکی به همراه ترکیبات طبیعی جهت افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت آن ضروری به نظر می‌رسد. در پژوهش حاضر تیمارهای کیتوزان ۰/۲٪، ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار و نانو کامپوزیت ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان ۰/۲ درصد و شاهد (آب مقطر) و زمان‌های انبارمانی (۱۵، ۳۰ و ۴۵) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بر میوه خرمالو رقم کرج اعمال شدند و صفاتی مانند درصد کاهش وزن، مواد جامد محلول کل، اسید قابل تیتراسیون، شاخص طعم، مالون‌دی‌آلدهید، پراکسید هیدروژن، ظرفیت آنتی اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز) ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که در پایان دوره انبارمانی میوه‌های تیمار شده با نانو کامپوزیت ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان کاهش وزن کمتری نسبت به شاهد داشتند. تجمع مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن در این تیمار بدلیل بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی نسبت به شاهد کاهش یافت و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز) نسبت به شاهد افزایش یافت. نانو کامپوزیت ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان ۰/۲ درصد با کنترل فعالیت آنزیم پراکسیداز، قهوه‌ای شدن میوه‌های تیمار شده نسبت به شاهد را کاهش داد. در این پژوهش نانو کامپوزیت ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان بخوبی توانست کیفیت خوراکی و ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه خرمالو را طی دوره انبار سرد حفظ نماید.

کلمات کلیدی: آنتی اکسیدان، پوشش خوراکی، خرمالو، نانوذرات ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان

مقدمه

خرمالو با نام علمی (*Diospyros kaki* Thunb.) متعلق به خانواده آبنوس (Ebenaceae) می‌باشد (۱۱). از میوه‌های مهم و اقتصادی مناطق نیمه گرمسیری جهان است که ایران جز ده کشور برتر تولیدکننده آن محسوب می‌شود (۱۳). از مهمترین مشکلات میوه خرمالو در دوره پس از برداشت می‌توان به نرم شدن سریع، چروکیدگی سطحی، تغییر رنگ، پوسیدگی و از دست دادن خصوصیات خوراکی اشاره کرد، لذا به منظور افزایش عمر انبارمانی و حفظ کیفیت میوه، کاهش سرعت رسیدن ضروری می‌باشد (۲۹). مطالعات اخیر تاثیر مثبت پوشش‌های خوراکی را بر خصوصیات بیوشیمیایی و کاهش آلودگی میکروبی و افزایش ماندگاری میوه‌های مختلف نشان داده‌اند (۲۱، ۳۲). کیتوزان از بهترین پوشش‌های خوراکی است که جهت حفظ کیفیت پس از برداشت محصولات باغبانی توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است. این ترکیب یک پلی‌ساکارید از واحدهای گلوکز آمین و ان‌استیل گلوکز آمین (با اتصالات بتا ۱ و ۴) که از استیل‌زدایی کیتین تولید می‌شود. کیتین از فراوان‌ترین پلیمرهای طبیعی و از پوست سخت پوستانی مانند خرچنگ، میگو و یا دیواره سلولی قارچهای زیگوماست بدست می‌آید (۳۶). کیتوزان دارای وزن مولکولی بالا، قابل حل در اسیدهای آلی بوده و به عنوان پوشش محافظ برای میوه‌ها استفاده می‌شود (۴۰). فعالیت ضد میکروبی این پوشش را می‌توان به تغییرات ایجاد شده در قابلیت نفوذپذیری سلول‌ها به وسیله تقابل بین گروه‌های آمینی کیتوزان و بارهای منفی روی سطح سلول نسبت داد که منجر به نشت اجزاء پروتئینی و سایر اجزاء درون سلولی میکروارگانیسم‌ها می‌شود (۱۰). این پوشش باعث فعال شدن آنزیم‌های دفاعی در بافت‌های گیاهی نیز می‌گردد (۳). امروزه کیتوزان هم به عنوان یک افزودنی سالم به محصولات فراوری شده و هم به عنوان فیلم (پوشش) در میوه‌ها و سبزی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴). چنین فیلم‌هایی ویژگی‌های مکانیکی و نفوذپذیری مناسبی در برابر گازها دارند. تاثیر کیتوزان به منظور کنترل سرعت تنفس محصول (با تنظیم نفوذپذیری گازهای اکسیژن و دی‌اکسید کربن)، کنترل نابسامانی‌های فیزیولوژیکی، کاهش رشد میکروب‌ها و از همه مهمتر جلوگیری از دست‌دهی آب در مطالعات مختلف اثبات شده است (۵). پوشش خوراکی کیتوزان برای افزایش عمر انبارمانی محصولات باغبانی مانند آریل‌های انار (۱۷)، میوه گواوا (۶)، خربزه درختی (۴)، انبه (۱) و خرمالو (۳۳) استفاده شده است. در سالهای اخیر کاربرد خارجی ملاتونین به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد جهت افزایش ماندگاری محصولات باغبانی مورد توجه قرار گرفته است (۹). ملاتونین (N-استیل-۵-متوکسی تریپتامین) ایندول آمینی طبیعی مشتق شده از تریپتوفان است که هم در جانوران و بعدها به عنوان فیتوهورمون در گونه‌های گیاهی (جو، برنج، گندم، ذرت، یولاف) شناسایی شده است (۳۵). این تنظیم‌کننده رشد نقش مهمی در فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی دارد و باعث تغییر بیان ژن‌ها در چندین مکانیسم فیزیولوژیکی می‌شود (۱۵). ملاتونین نقش مهمی در تحریک سیستم دفاعی گیاهان در برابر شرایط تنش‌زا با تنظیم بیان ژن‌های بیوسنتزکننده متابولیت‌های خاص، ایفا می‌کند (۲۷). کاربرد خارجی آن باعث کاهش گونه‌های واکنشگر اکسیژن و خسارت سلولی ناشی از تنش‌های زنده و غیرزنده را از طریق ترمیم میتوکندری می‌شود (۳۵). استفاده خارجی ملاتونین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش نابسامانی‌های فیزیولوژیکی و حذف گونه‌های واکنشگر اکسیژن گردید (۳۷) و در میوه کیوی (۱۶) و گیلاس (۴۴) سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در دوره پس‌از برداشت شد. اخیراً از نانوتکنولوژی و پوشش‌های خوراکی نانوکیتوزان برای حفظ کیفیت و افزایش عمر انباری میوه‌های مختلف استفاده می‌شود (۳۱، ۱۹). استفاده از نانوپوشش‌های ترکیبی بدلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی باعث کنترل پوسیدگی‌ها و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۲۰). در پژوهشی تیمار ترکیبی ۱/۲ درصد کیتوزان، ۰/۸ درصد کربوکسی متیل سلولز و ۵۰ میلی گرم در لیتر ملاتونین در میوه‌های برش یافته (خیار، خربزه و کلم بروکلی) مانع از تجزیه کلروفیل و افزایش کیفیت میوه‌ها در پس از برداشت گردید (۴۵). در مطالعه‌ای

دیگر اثر نانو پوشش ملاتونین در میوه بالغ انار به کار رفت و بهترین تیمار جهت بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش عمر قفسه‌ای تیمار کیتوزان ۰/۸ و ۱ میلی مولار ملاتونین بود (۲۸). استفاده از نانوذرات کیتوزان با پرولین در غلظت ۱ و ۵ میلی مولار با ۰/۱ درصد کیتوزان در مدت ۱۲ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در توت‌فرنگی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پوسیدگی میوه‌ها شد (۷). کاربرد پس از برداشت نانوگلاسیسین بتائین با غلظت ۰/۵ درصد در میوه آلو و نگهداری آن در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ روز به کاهش تجمع مالون‌دی‌الدهید و پراکسید هیدروژن کمک کرده و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد (۲۶). از آنجاییکه مطالعه‌ای در مورد تاثیر نانوکیتوزان ملاتونین بر حفظ کیفیت پس از برداشت میوه خرمالو در ایران و جهان صورت نگرفته است، بنابراین هدف از این پژوهش بررسی اثر ملاتونین، کیتوزان، نانوکیتوزان ملاتونین (نانوکامپوزیت) بر افزایش ماندگاری خرمالو از طریق افزایش فعالیت آنزیمی و بهبود کیفیت میوه در طول انبار سرد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه میوه‌ها: میوه‌ها در مرحله بلوغ (ابتدای تشکیل رنگ نارنجی) از باغ تجاری واقع در اطراف شهرستان کرج با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۵ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۱۴۰ متر از سطح دریا برداشت شدند (۲۹). پس از حذف میوه‌های صدمه دیده و زخمی، میوه‌های سالم و هم اندازه به آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت گروه علوم باغبانی دانشگاه زنجان منتقل شدند.

آماده سازی نانو کامپوزیت کیتوزان - ملاتونین: تیمارها شامل کامپوزیت ملاتونین پوشش داده شده با کیتوزان ۰/۲ درصد وزنی، کیتوزان ۰/۲ درصد وزنی، ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار و شاهد (آب مقطر) بود. تهیه نانو کامپوزیت ملاتونین پوشش دار شده با کیتوزان در دانشگاه مراغه و به صورت زیر تهیه شد: مواد اولیه برای این پروژه کاملاً طبیعی بوده و از شرکت نوین شیمیاری تهیه شدند. کیتوزان، ملاتونین و تری‌پلی فسفات عمده مواد مصرفی هستند. ابتدا ۲ گرم کیتوزان به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر محلول اسیداستیک ۱ درصد وزنی اضافه شد تا یک محلول هموژن در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد بدست آید. پس از انحلال کامل کیتوزان، ۰/۲۳ گرم ملاتونین در ۵ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد حجمی حل شده و به کیتوزان اضافه شد و سه ساعت نگهداری شد. سپس ۰/۲ گرم هیدروکسی متیل سلولز در ۲۵ سی سی آب مقطر حل شده و قطره قطره به مخلوط کیتوزان و ملاتونین اضافه شد و از طریق متد ژل شدن یونی محلول با تری‌پلی فسفات به عنوان یک اتصال دهنده متقاطع یونی تیمار شد و بعد از یک شب با آب مقطر جهت حذف مواد غیر واکنشی شستشو و سپس تحت فرآیند انجماد خشک منجر به تهیه پودر آن شد. برای این منظور، ۰/۴ گرم از تری‌پلی فسفات در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر حل شده و به محلول کیتوزان/ملاتونین اضافه گردید (۱۷).

اعمال تیمارها

بعد از شست و شوی میوه‌ها در آب مقطر و خشک شدن، تیمارهای مورد نظر اعمال شدند. هر یک از تیمارها در سه تکرار و در هر تکرار در هر مرحله نمونه برداری پنج میوه مورد مطالعه قرار گرفت. میوه‌ها بعد از ۲۰ دقیقه غوطه‌وری در محلول کیتوزان (۰/۲٪)، ملاتونین (۱۰۰ μM)، نانوذرات ملاتونین پوشش داده شده با کیتوزان (۰/۲ درصد) در دمای اتاق خشک شدند. سپس میوه‌ها (۵ عدد) داخل ظروف پلی‌اتیلنی قرار داده شد و در سردخانه با دمای ۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰-۸۵ درصد به مدت ۴۵ روز نگهداری شدند. هر ۱۵ روز سه تکرار از هر تیمار از سردخانه خارج و پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ارزیابی صفات انجام شد.

صفات اندازه‌گیری شده

درصد کاهش وزن

کاهش وزن میوه‌ها به وسیله ترازوی دیجیتالی مدل (CANDGL300) اندازه‌گیری شد. میوه‌ها قبل از ورود به سردخانه و پس از بیرون آوردن وزن شدند (۱۰).

مواد جامد محلول کل (TSS)، اسید قابل تیتراسیون (TA) و شاخص طعم (TSS/TA)

برای اندازه‌گیری درصد مواد جامد محلول کل از رفراکتومتر دیجیتالی مدل ATago-ATC-20(E) استفاده شد. اندازه‌گیری اسید قابل تیتراسیون با استفاده از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH ۸/۲ انجام گرفت. درصد اسید قابل تیتراسیون بر اساس اسید غالب یعنی اسید مالیک و بر طبق رابطه (۱) زیر محاسبه شد. اکی والان اسید مالیک برابر ۰/۰۶۸ می‌باشد.

رابطه (۱) $100 \times \text{حجم نمونه تیترشده} / \text{حجم سود مصرفی} \times \text{نرمالیت سود مصرفی} \times 0.068 = \text{درصد اسید قابل تیتراسیون}$ و شاخص طعم نیز از تقسیم TSS بر TA بدست آمد (۳۰).

محتوی مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن

مالون‌دی‌آلدهید بر اساس روش تیوباربیتوئیک توصیف شده توسط Zhai و همکاران (۲۰۱۸) انجام شد (۴۱). برای محاسبه مالون‌دی‌آلدهید از ضریب خاموشی معادل $155 \text{ mmol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ طبق رابطه (۲) استفاده شد.

رابطه (۲)

$$\text{MDA} = [\text{A}_{532} - \text{A}_{600}/155] \times 1000$$

و نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری بر حسب نانو مول بر گرم وزن تر محاسبه شد. محتوی پراکسید هیدروژن به روش Aider (۲۰۱۰) اندازه‌گیری شد (۳). جذب در 390 nm نانومتر قرائت شد. محلول‌های پراکسید هیدروژن در غلظت‌های بین ۲ تا ۱۰ میلی‌مولار تهیه شده و منحنی استاندارد رسم گردید. نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری بر حسب نانو مول بر گرم وزن تر محاسبه شد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH در طول موج 517 nm نانومتر بر طبق رابطه (۳) بدست آمد (۸).

$$\text{RSA} : \text{RSA \%} = 100 (\text{Ac} - \text{As}) / \text{Ac} \quad \text{رابطه (۳)}$$

AS: جذب نمونه حاوی عصاره، AC: جذب شاهد

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز)

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز) به روش Zhang و همکاران (۲۰۱۸) اندازه‌گیری شد (۴۳). میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، با اندازه‌گیری ممانعت آن از احیای نیتروبلوتترازولیوم وابسته به رادیکال سوپراکسید تعیین شد. بدین منظور، از مقایسه افزایش جذب مربوط به تولید فرمازان (Formazan) در اثر احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم در طول موج ۵۶۰ نانومتر بین حالت‌های وجود و عدم وجود عصاره‌ی آنزیمی استفاده شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، با اندازه‌گیری کاهش جذب مربوط به مصرف پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر تعیین شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با اندازه‌گیری کاهش جذب مربوط به اکسیدشدن و مصرف آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر بر اساس روش Zhang و همکاران (۲۰۱۸) تعیین شد (۴۳). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، به صورت واحد بر گرم وزن تر بیان گردید.

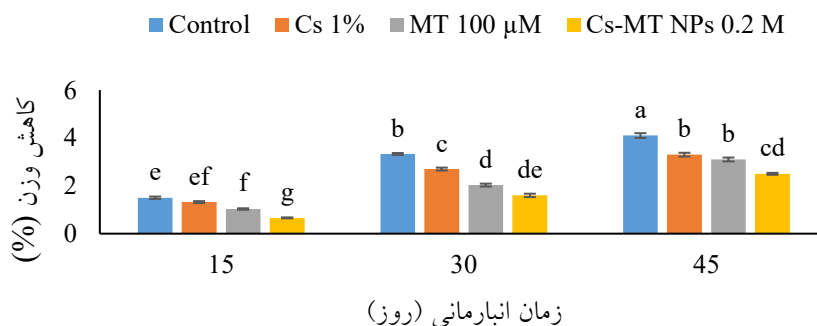
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج

درصد کاهش وزن

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تیمار پس از برداشت کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان ملاتونین، مدت زمان انبارمانی و همچنین اثر برهمکنش بین تیمار و مدت زمان انبارمانی بر درصد کاهش وزن میوه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). با گذشت زمان انبارمانی درصد کاهش وزن میوه‌ها در تمامی تیمارها افزایش یافت. با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها بیشترین درصد کاهش وزن میوه‌ها در طول انبارمانی در تیمار شاهد (۴/۱٪) مشاهده شد. کمترین درصد کاهش وزن در طی ۴۵ روز انبارمانی در تیمار کامپوزیت ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان (۲/۵٪) مشاهده شد. اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین تیمار کیتوزان و ملاتونین در پایان دوره انبارمانی مشاهده نشد. بطور کلی تیمار نانو کامپوزیت ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان تاثیر مثبتی بر کاهش وزن میوه خرمالو داشته و کاهش وزن را به تاخیر انداخت و ۲/۵ درصد کاهش وزن کمتر از شاهد را به خود اختصاص داد (شکل ۱).



شکل ۱- اثر تیمارهای کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان ملاتونین بر درصد کاهش وزن میوه خرمالو در مدت زمان انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (DMRT, $p \leq 0.05$).

مواد جامد محلول، اسید قابل تیتراسیون و شاخص طعم

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر تیمار و اثر متقابل زمان و تیمار بر میزان مواد جامد محلول کل در سطح احتمال پنج درصد و اثر زمان بررسی در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). در حالی که، اثر تیمار، زمان انبارمانی و اثر متقابل زمان و تیمار بر میزان اسید قابل تیتراسیون و شاخص طعم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مقدار اولیه مواد جامد محلول کل در زمان برداشت ۱۲/۷۵ درصد بود که در طی ۴۵ روز انبارمانی میزان آن در تمامی نمونه‌ها افزایش یافت. در پایان انبارمانی بیشترین مقدار مواد جامد محلول در شاهد و کمترین میزان مواد جامد محلول کل در میوه‌های تیمار شده با نانو کامپوزیت ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان به دست آمد. تیمارهای نانو کامپوزیت ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان، کیتوزان و ملاتونین در زمان انبارمانی ۴۵ روز به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل ۲). میزان اسید قابل تیتراسیون در زمان برداشت ۰/۴۸ درصد بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان‌دهنده روند نزولی میزان اسید قابل تیتراسیون در تمام میوه‌ها طی دوره انبارمانی بود. اما در میوه‌های شاهد شیب کاهش تندتر بوده و برعکس در میوه‌های تیمار شده میزان اسید قابل تیتراسیون در سطح بالاتری حفظ شده است (شکل ۳). اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین تیمارها و شاهد از نظر اسید قابل تیتراسیون در طی ۱۵ روز انبارمانی مشاهده شد. بیشترین میزان اسید قابل تیتراسیون در میوه‌های تیمار شده با نانو کامپوزیت ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان و کمترین میزان آن در میوه‌های شاهد در طی ۱۵ روز انبارمانی مشاهده شد. تیمارهای نانو کیتوزان - ملاتونین در طول ۴۵ روز انبارمانی از کاهش میزان اسید قابل تیتراسیون خرمالو نسبت به سایر تیمارها جلوگیری کرد و بین کیتوزان و ملاتونین به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳). نسبت مواد جامد محلول به اسید قابل تیتراسیون در طی دوره انبارمانی افزایش یافت. بیشترین میزان نسبت مواد جامد محلول کل به اسید کل در پایان دوره انبارمانی در شاهد ۱۳۰ و کمترین میزان نسبت قند به اسید کل در تیمار نانو کیتوزان ملاتونین ۷۳/۳ مشاهده شد (شکل ۴).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارهای کیتوزان، ملاتونین، نانو کیتوزان ملاتونین بر صفات کیفی و عمر ماندگاری میوه خرمالو

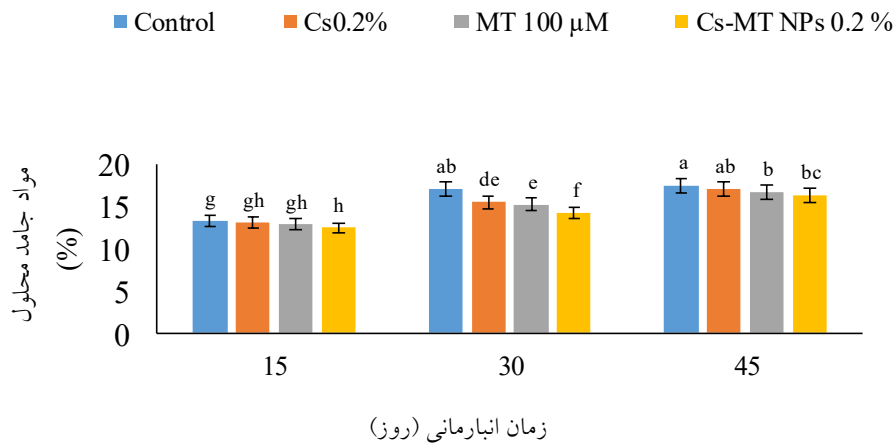
میانگین مربعات صفات							
منابع تغییرات	درجه آزادی	کاهش وزن	مالون دی آلدئید	پراکسید هیدروژن	مواد جامد محلول	اسید قابل تیتراسیون	شاخص طعم
تیمار	۳	4.61**	12.45**	86.93**	4.46*	0.014**	1908.15**
زمان انبارمانی	۲	13.03**	37.94**	27.87**	44.43**	0.107**	9681.33**
تیمار × زمان انبارمانی	۶	0.401**	1.52**	11.37**	0.52*	0.001**	366.56**
خطا	۲۴	0.060	0.37	2.49	0.13	0.001	67.62
ضریب تغییرات (%)		2.75	8.76	4.28	5.17	1.36	5.33

ns، * و ** به ترتیب نبود تفاوت معنی‌دار و تفاوت معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد

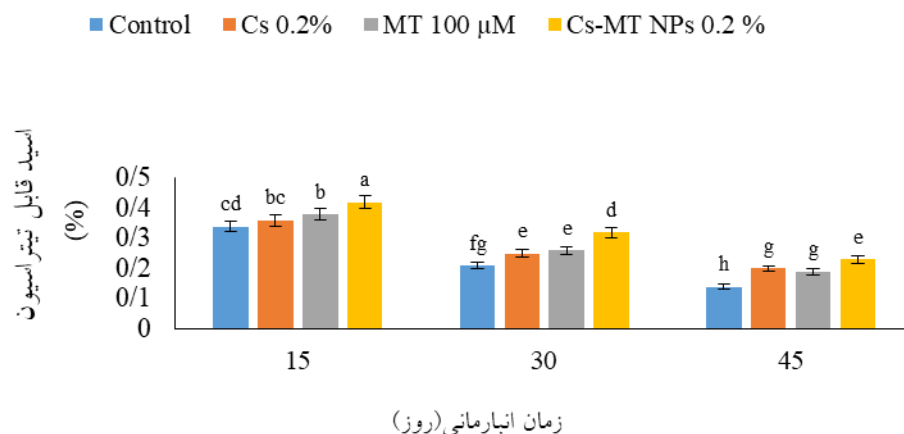
ادامه جدول-۱: تجزیه واریانس اثر تیمارهای کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان ملاتونین بر صفات کیفی و عمر ماندگاری میوه خرمالو

میانگین مربعات صفات						منابع تغییرات
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل	پراکسیداز	آسکوربات اکسیداز	کاتالاز	سوپراکسیددسموتاز	درجه آزادی	
189.90**	29.61**	909.96**	86.75**	120.84**	3	تیمار
1234.39**	73.93**	2503.58**	94.97**	242.55**	2	زمان انبارمانی
18.19 ^{ns}	0.81*	184.43*	1.69**	4.92**	6	تیمار×زمان انبارمانی
29.50	0.36	20.55	0.422	1.32	24	خطا
1.35	7.38	7.65	13.15	10.77		ضریب
						تغییرات (/.)

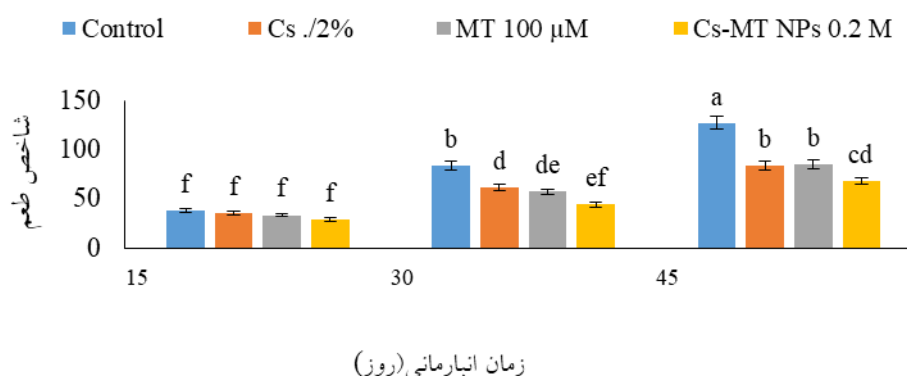
ns، * و ** به ترتیب نبود تفاوت معنی دار و تفاوت معنی دار در سطح پنج و یک درصد



شکل-۲: اثر تیمارهای کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان ملاتونین بر مواد جامد محلول میوه خرمالو در مدت زمان انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (DMRT, $p \leq 0.05$).



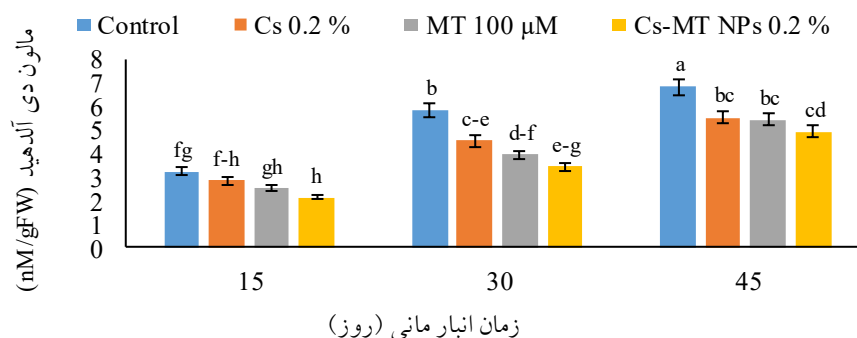
شکل ۳: اثر تیمارهای کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان ملاتونین بر اسیدقابل تیتراسیون میوه خرمالو در مدت زمان انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها ($DMRT, p \leq 0.05$).



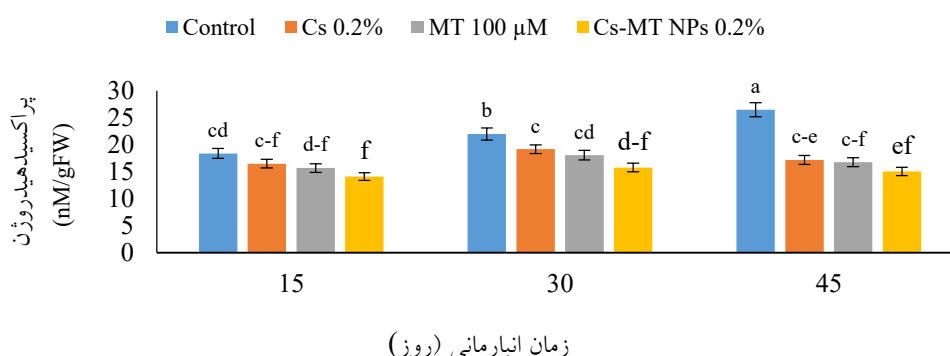
شکل ۴: اثر تیمارهای کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان ملاتونین بر شاخص طعم میوه خرمالو در مدت زمان انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها ($DMRT, p \leq 0.05$).

مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن

میزان مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن در طی انبارمانی در میوه‌های تیمار شده و شاهد افزایش یافت. اثر تیمار، مدت زمان انبارمانی و اثر متقابل تیمار و مدت زمان در سطح احتمال یک درصد بر میزان مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد در مدت زمان انبارمانی ۳۰ و ۴۵ روز اختلاف معنی‌داری بین تیمارها و شاهد از نظر میزان مالون‌دی‌آلدهید مشاهده شد ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد (شکل ۵). در زمان بررسی ۳۰ و ۴۵ روز میزان پراکسید هیدروژن افزایش یافت و بیشترین مقدار در شاهد بدست آمد و نانو کامپوزیت ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان به طور مؤثری موجب جلوگیری از افزایش پراکسید هیدروژن شد و در پایان دوره انبارمانی تفاوت معنی‌داری بین تیمار نانو کامپوزیت ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان، ملاتونین و کیتوزان مشاهده نشد. (شکل ۶).



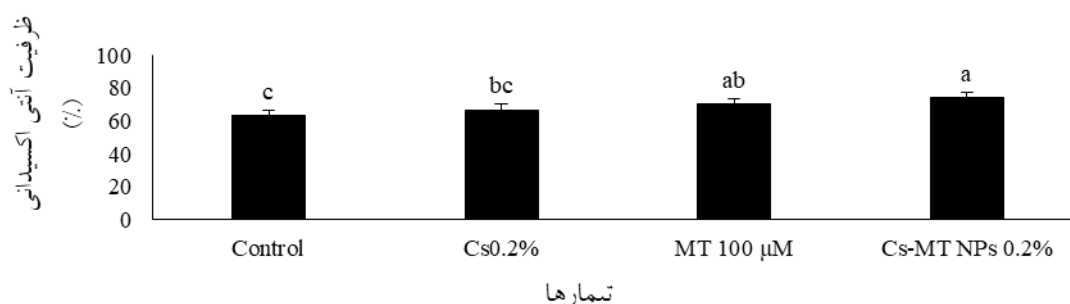
شکل-۵: اثر تیمارهای کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان ملاتونین بر مالون دی آلدئید میوه خرمالو در مدت زمان انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (DMRT, $p \leq 0.05$).



شکل-۶: اثر تیمارهای کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان ملاتونین بر پراکسید هیدروژن میوه خرمالو در مدت زمان انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (DMRT, $p \leq 0.05$).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

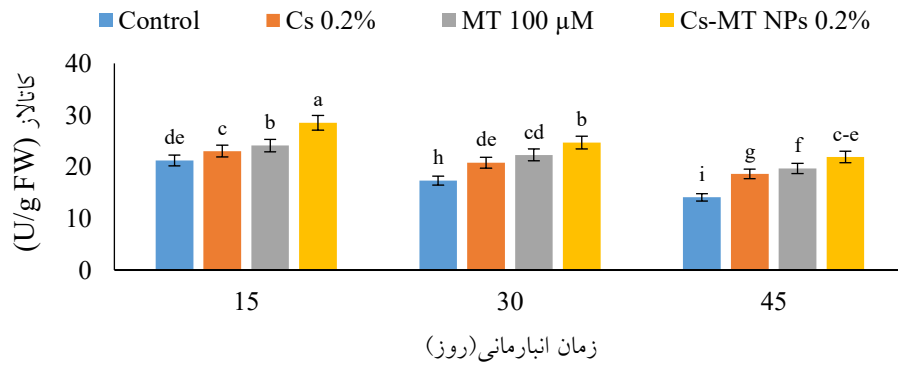
بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمار و زمان بررسی بر میزان آنتی‌اکسیدان کل در سطح یک درصد معنی‌دار بود ولی اثرات متقابل بین آنها معنی‌دار نبود (جدول، ۱). نتایج نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در زمان برداشت ۸۱ درصد بود که در طی انبارمانی در همه نمونه‌ها کاهش یافت. تیمار نانوکیتوزان ملاتونین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را در حد ۷۲ درصد در طی ۴۵ روز حفظ کرد که به لحاظ آماری با تیمار ملاتونین تفاوت نداشت. کمترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های شاهد مشاهده شد. همه تیمارها در جلوگیری از کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در طی انبارمانی مؤثر بودند اما بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در میوه‌های تیمار شده با نانوکیتوزان ملاتونین مشاهده شد (شکل ۷).



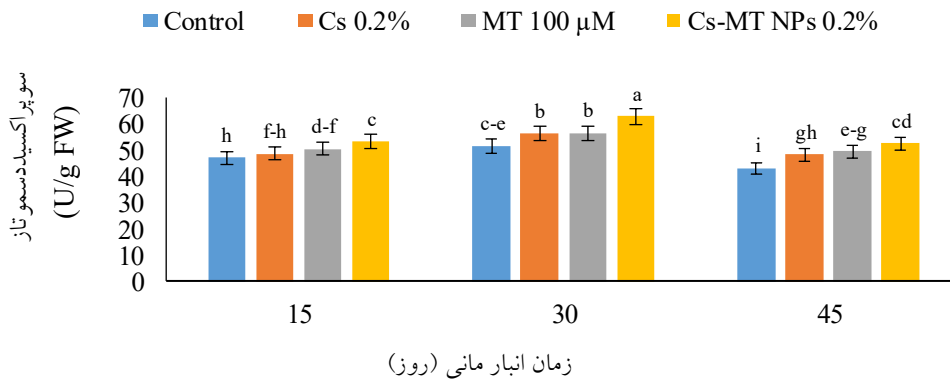
شکل-۷: اثر ساده تیمارهای کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان ملاتونین بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل میوه خرمالو در مدت زمان انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (DMRT, $p \leq 0.05$).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز)

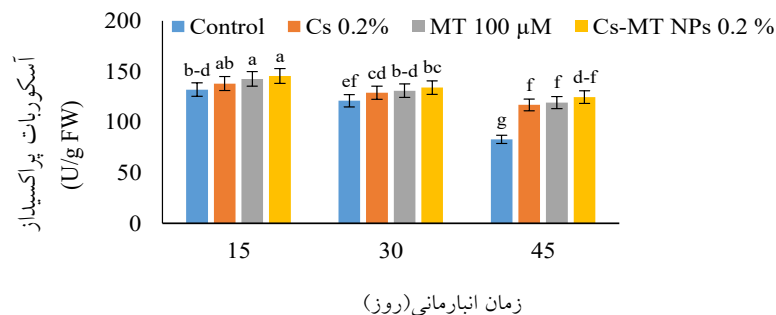
نتایج تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده نشان‌دهنده این است که اثر تیمار، زمان بررسی و اثر متقابل تیمار و زمان بررسی در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود. همچنین اثر تیمار و زمان بررسی در سطح یک درصد و اثر متقابل تیمار و زمان بررسی در سطح پنج درصد بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار بود (جدول ۱). فعالیت کاتالاز در طی ۱۵ روز انبارمانی افزایش یافت و سپس تا پایان زمان انبارمانی کاهش یافت. بیشترین میزان فعالیت کاتالاز در میوه‌های تیمار شده مشاهده شد. تیمار نانوکیتوزان ملاتونین از کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز جلوگیری کردند. کمترین فعالیت کاتالاز در میوه‌های شاهد در پایان زمان انبارمانی مشاهده شد. تیمارهای کیتوزان و ملاتونین نیز از کاهش فعالیت کاتالاز در مقایسه با میوه‌های شاهد جلوگیری کردند که در مدت ۳۰ روز انبارمانی اثرات مشابهی داشتند (شکل ۸). در طی انبارمانی سرد، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز تا ۳۰ روز انبارمانی افزایش یافته و سپس تا پایان انبارمانی کاهش یافت. نانوکیتوزان ملاتونین به طور قابل توجهی از کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در حین انبارمانی جلوگیری کرد. همه تیمارها در جلوگیری از کاهش بیش از حد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مؤثر بودند و کیتوزان و ملاتونین اثرات مشابهی داشتند اما تیمار نانوکامپوزیت ملاتونین بیشترین تأثیر را در جلوگیری از کاهش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز داشت. کمترین میزان فعالیت این آنزیم در میوه‌های شاهد ($33/3 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$) در طی مدت ۴۵ روز انبارمانی مشاهده شد (شکل ۹). حداقل فعالیت آسکوربات پراکسیداز در میوه‌های شاهد در زمان نگهداری ۴۵ روز مشاهده شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز تا ۳۰ روز انبارمانی افزایش یافت و سپس کاهش یافت. اگرچه فعالیت‌های آسکوربات پراکسیداز در همه میوه‌های خرمالو تیمار شده و میوه‌های شاهد پس از ۴۵ روز کاهش یافت، اما نمونه‌های تیمار شده در مقایسه با میوه‌های شاهد، فعالیت آسکوربات پراکسیداز بالاتری داشتند. نانوکیتوزان ملاتونین از کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در میوه‌های خرمالو جلوگیری کرد. کیتوزان و ملاتونین نیز از کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در طی ۴۵ روز انبارمانی جلوگیری کردند و اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین آن‌ها مشاهده نشد و در تمامی زمان‌های انبارمانی ۱۵، ۳۰ و ۴۵ به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین تیمارها (نانوکیتوزان ملاتونین، کیتوزان و ملاتونین) دیده نشد (شکل ۱۰).



شکل-۸: اثر تیمارهای کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان ملاتونین برفعالیت آنزیم کاتالاز میوه خرمالو در مدت زمان انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (DMRT, $p \leq 0.05$).



شکل-۹: اثر تیمارهای کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان ملاتونین برفعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز میوه خرمالو در مدت زمان انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (DMRT, $p \leq 0.05$).



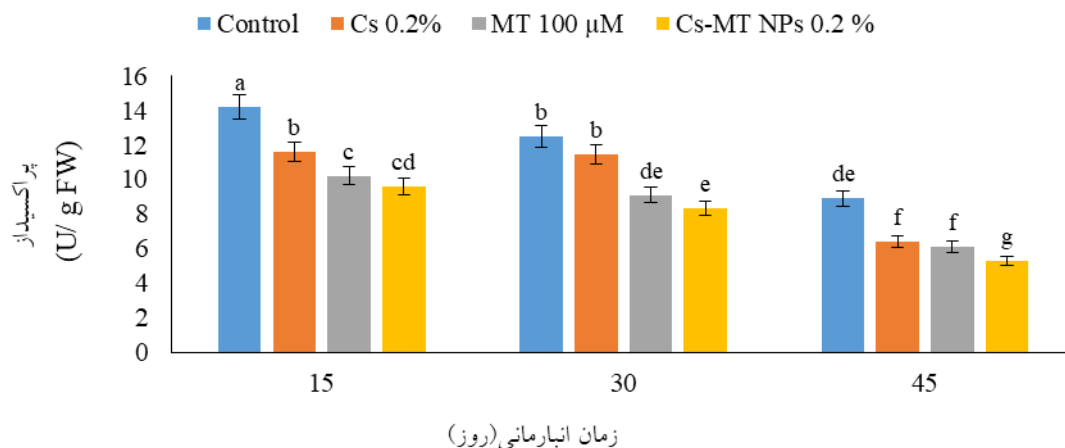
شکل-۱۰: اثر تیمارهای کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان ملاتونین برفعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز میوه خرمالو در مدت زمان انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها (DMRT, $p \leq 0.05$).

با توجه به نتایج تجزیه واریانس مشخص شد که اثر تیمارها بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح یک درصد معنی‌دار شد و اثر زمان بررسی و اثر متقابل تیمار و زمان

بررسی بر میزان آنزیم پراکسیداز در سطح پنج درصد معنی‌دار بود جدول (۱).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول انبارمانی ۳۰ روز افزایش یافت و بعد در طول ۴۵ روز از فعالیت آن کاسته شد که اثر تیمارهای استفاده شده در کاهش آن هم مؤثر بود. بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در شاهد ($14/32 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$) و کمترین میزان آنزیم در تیمار کیتوزان ملاتونین ($6/85 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$) مشاهده شد.

در طی ۴۵ روز انبارمانی همه تیمارها در جلوگیری از افزایش بیش از حد فعالیت آنزیم پراکسیداز مؤثر بودند ولی تیمار کیتوزان ملاتونین به طور مؤثری موجب جلوگیری از فعالیت آنزیم پراکسیداز شدند که در طول ۳۰ روز انبارمانی به لحاظ آماری با تیمار ملاتونین تفاوتی نداشت و در طول ۴۵ روز انبارمانی بین تیمار ملاتونین و کیتوزان تفاوتی معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱۱).



شکل ۱۱- اثر تیمارهای کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان ملاتونین بر فعالیت آنزیم پراکسیداز میوه خرمالو در مدت زمان انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد و حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها ($DMRT, p \leq 0.05$).

بحث

وزن میوه از معیارهای مهم کیفیت میوه است که با توجه به شرایط نگهداری کاهش می‌یابد. در دوره پس از برداشت دو عامل مهم باعث هدرروی آب و کاهش وزن محصول می‌شود. اول قطع ارتباط از گیاه مادری و دوم افزایش تعرق از سطح میوه که یک فرایند فیزیولوژیکی است (۳۸). گزارش شده غلظت $100 \mu\text{M}$ ملاتونین در گلابی (۴۱) و توت‌فرنگی (۲) و غلظت $200 \mu\text{M}$ ملاتونین در میوه خربزه از طریق بهبود محتوی پرولین و اسید اسکوربیک به جلوگیری از کاهش وزن و افزایش عمر انبارمانی کمک کرد (۴۵). پوشش نانوکامپوزیت کیتوزان، لایه‌ای نیمه شفاف در سطح پوست میوه ایجاد می‌کند که به عنوان یک مانع در برابر تبادل گازها و رطوبت، تنفس را کاهش داده و از افزایش میزان تعرق در میوه جلوگیری می‌کنند (۳۰). گزارش Aghdam و همکاران (۲۰۱۷) نشان داده که اثر ترکیبی کیتوزان و ملاتونین از طریق بیوسنتز آنتی‌اکسیدان‌ها، فعالیت آنزیم‌های مربوط به پیری را مهار کرده و موجب جلوگیری از کاهش وزن میوه‌ها می‌شود (۲). در این مطالعه، پوشش نانو کامپوزیت ملاتونین پوشش‌دار شده با کیتوزان در جلوگیری از کاهش وزن میوه خرمالو

نسبت به سایر تیمارها مؤثرتر بود که با نتایج گزارش شده توسط Zhao و همکاران (۲۰۲۰) در مورد اثر مثبت نانوکیتوزان ملاتونین در جلوگیری از کاهش وزن میوه خیار، کلم بروکلی و خربزه (۴۵) و آریل‌های میوه انار (۲۸) مطابقت داشت. هنگام رسیدن میوه، افزایش شدت تنفس و افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی منجر به تجزیه کربوهیدرات‌های پلیمری در دیواره سلولی و افزایش مواد جامد محلول کل می‌شود (۲۳). پوشش نانوکامپوزیت و کیتوزان یک لایه نیمه تراوا ایجاد می‌کند که باعث کاهش تعرق، تنفس و جلوگیری از افزایش مواد جامد محلول کل می‌شود (۱۴). اطلاعات متفاوتی از تأثیر کیتوزان و نانوکامپوزیت بر میزان مواد جامد محلول در دسترس است. این اختلاف تأثیر کیتوزان و نانوکامپوزیت بر مواد جامد محلول کل به نوع میوه، مرحله رسیدن، شرایط انبارمانی و غلظت پوشش بستگی دارد (۳۰). تحقیقات نشان داده است که محلول پاشی ملاتونین سبب بیان ژن‌های ملاتونین درونی شده و در نتیجه موجب حفظ کیفیت محصول و افزایش میزان قند در میوه توت فرنگی در طی دوره انبارمانی شده است (۲). نتایج پژوهش حاضر با نتایج Cao و همکاران (۲۰۱۸) در میوه هلو مطابقت دارد (۱۲). مقدار اسید قابل تیتراسیون ارتباط مستقیمی با میزان اسیدهای آلی موجود در میوه دارد که هنگام رسیدن میوه به دلیل مصرف شدن در تنفس و تبدیل به قندها کاهش می‌یابند و کاهش آنها رابطه مستقیم با فعالیت‌های متابولیکی دارد (۴۵). در دوره پس از برداشت میوه‌ها، میزان اسید قابل تیتراسیون تغییر می‌کند و معمولاً در میوه‌ها کاهش می‌یابد (۳۹). پوشش‌ها با کند کردن فرآیندهای مرتبط با رسیدن میوه، باعث کندتر شدن سرعت کاهش اسیدهای آلی می‌شوند. بنابراین میزان اسیدهای آلی، به دلیل عدم مصرف و یا عدم تبدیل به قندهای ساده در میوه حفظ شده و سیر نزولی آن نسبت به شاهد کمتر می‌شود (۱۸). نتایج این پژوهش با نتایج بدست آمده در میوه گلابی و لیچی تیمار شده با کیتوزان مطابقت دارد (۴۱ و ۴۲) و همچنین با نتایج Mwelase و همکاران (۲۰۲۲) در تأثیر نانوکیتوزان ملاتونین در میوه انار مطابقت دارد (۲۸). مواد جامد محلول کل و اسید قابل تیتراسیون صفات مهمی هستند که در طعم، عطر و مزه میوه خرمالو تأثیر زیادی دارند. کاهش اسید قابل تیتراسیون و افزایش مواد جامد محلول کل به دلیل تجزیه اکسیداتیو و افزایش شدت تنفس در پس از برداشت صورت می‌گیرد. نتایج این پژوهش با نتایج Zhao و همکاران (۲۰۲۰) در میوه خربزه تیمار شده با نانوکیتوزان ملاتونین مطابقت دارد (۴۵). مالون‌دی‌آلدهید شاخصی از پراکسیداسیون چربی‌های غشاء سلولی و محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع غشا است که باعث آسیب غشایی می‌شود. نانوکیتوزان ملاتونین به عنوان یک پوشش تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش و بر جلوگیری از تخریب غشا و کاهش مالون‌دی‌آلدهید تأثیر مثبت دارد. نتایج این آزمایش با گزارش Liu و همکاران (۲۰۲۴) در تأثیر مثبت ضد پیری ملاتونین در گلابی (۲۵)، خرمالو (۲۱) و قارچ تکمه‌ای (۲۲) و انبه (۲۳) مطابقت داشت. در مورد محتوی پراکسید هیدروژن بر اساس مقایسه میانگین‌ها، بیشترین رادیکال پراکسید هیدروژن در طی انبارمانی در تیمار شاهد مشاهده شد. رادیکال‌های آزاد از جمله پراکسید هیدروژن در گیاهان دارای نقش دوگانه هستند. در غلظت کم به عنوان مولکول انتقال دهنده سیگنال در سیستم دفاعی در برابر تنش شناخته شده‌اند (۱۵) و حتی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سبب بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود و در غلظت‌های بالا برای گیاه مضر بوده تا جایی که سیستم آنتی‌اکسیدانی به زدودن رادیکال‌های اضافه اقدام می‌کند (۳۴). افزایش میزان H_2O_2 درونی موجب القاء پیری و پراکسیداسیون چربی غشاء در گیاهان می‌گردد. Liao و همکاران (۲۰۲۴) اعلام کردند که گونه‌های فعال اکسیژن به ویژه سوپراکسید و پراکسید هیدروژن با فرآیندهای بیوشیمیایی گیاه مرتبط می‌باشند (۲۴). کیتوزان موجب کاهش پراکسید هیدروژن در گلابی و کیوی در پس از برداشت شده است (۸ و ۱۶). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر موجب افزایش عمر پس از برداشت محصولات باغبانی می‌شود اما تنش اکسیداتیو از جمله سرمازدگی، باعث افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در طی دوره پس از برداشت می‌شود (۳). تیمارهایی مانند کیتوزان، ملاتونین و نانوکیتوزان ملاتونین با کاهش تنفس و پیری، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها را در حین نگهداری حفظ می‌کنند (۲۸). گزارش شده است که محلول کیتوزان با حذف و جلوگیری از فعالیت رادیکال‌های آزاد منجر به

افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی در بسیاری از میوه‌ها می‌شود (۳). گزارش Hu و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که کاربرد ملاتونین در موز ظرفیت آنتی اکسیدانی را افزایش و اثرات سوء تنش را کاهش داد (۱۸). نتایج این آزمایش با گزارش Mwelase و همکاران (۲۰۲۲) در مورد تاثیر نانوکیتوزان ملاتونین بر افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی در آریل‌های انار مطابقت دارد (۲۸). آنزیم کاتالاز یک آنتی اکسیدان قدرتمند است که فرایندهای اکسیداتیو که توسط رادیکال‌های آزاد صورت می‌گیرد را به تأخیر می‌اندازد و با انتقال یک اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد اکسیژن، آن‌ها را خنثی می‌کند در نتیجه از فرایندهای اکسیداتیو جلوگیری می‌کند (۵). پوشش کیتوزان فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش می‌دهد و در نهایت منجر به حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول‌های میوه‌ها و سبزی‌ها می‌گردد (۱۴). تنش دمای پایین باعث تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند رادیکال‌های سوپراکسید می‌شود. این رادیکال‌ها به عنوان سیگنال عمل می‌کنند که باعث فعال شدن آنزیم SOD می‌شوند. SOD یک سیگنال ثانویه است و آنزیم‌های آنتی اکسیدان را فعال می‌کند (۱۵). SOD نقش اصلی را در مکانیسم دفاعی آنتی اکسیدانی دارد. رادیکال‌های سوپراکسید با فعالیت SOD به پراکسید هیدروژن و پراکسید هیدروژن توسط فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به آب و اکسیژن کمک می‌کنند (۱۲). تحریک فعالیت SOD باعث تحریک فعالیت آسکوربات پراکسیداز می‌شود. افزایش فعالیت SOD، CAT و APX منجر به کاهش تجمع ROS و کاهش علائم سرمازدگی در میوه خیار می‌شود (۳۷). مطالعات نشان داده که ملاتونین نه تنها رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برد، بلکه به عنوان یک مولکول پیام‌رسان در سطح آنزیم‌های سلول‌ها عمل کرده و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را افزایش می‌دهد. محققین یکی از محل‌های بیوسنتز ملاتونین را میتوکندری بیان کرده‌اند و لذا در افزایش کارایی زنجیره انتقال الکترون در میتوکندری نقش دارد. همچنین می‌تواند تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد که این کار به نوبه خود از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در برابر تنش اکسایشی حفاظت می‌کند (۳۴). گزارش Bao و همکاران (۲۰۲۴) نشان داد که تیمار ملاتونین فعالیت آنزیم‌های CAT، APX، POD را افزایش می‌دهد (۸). مطالعات Zhao و همکاران (۲۰۱۷) تیمار نانوکیتوزان ملاتونین را بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان SOD، CAT که جمع کننده رادیکال آزاد هستند موثر گزارش کرده‌اند (۴۴) و همچنین Zhang و همکاران (۲۰۱۸) تیمار ملاتونین را بر بهبود فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT در در میوه لیچی موثر عنوان نموده است (۴۲). اظهارات Bhardwaj و همکاران (۲۰۲۴) تیمار ملاتونین را موثر در فعالیت SOD، CAT به لحاظ افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی و کاهش میزان مالون دی‌آلدئید بیان نمود (۹). گزارش Mwelase و همکاران (۲۰۲۲) نانوکیتوزان ملاتونین را در آریل‌های انار در افزایش فعالیت SOD، CAT موثر دانست (۲۸). به نظر می‌رسد که کیتوزان و ملاتونین با خاصیت آنتی اکسیدانی ذاتی خود سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی شدند. پژوهش ما منطبق با گزارشات در کاربرد ملاتونین در میوه گیلاس (۳۸)، میوه انگور (۲۷) و میوه هلو (۱۲) بود. آنزیم پراکسیداز در اکسیداسیون ترکیبات فنولی، گلوکاتیون و اسیداسکوربیک نقش دارد که افزایش فعالیت این آنزیم باعث افزایش ترکیبات کینون شده و قهوه‌ای شدن بافت را به دنبال دارد و در نتیجه موجب کاهش کیفیت محصول می‌شود (۴۴). قهوه‌ای شدن آنزیمی بافت میوه و سبزی می‌تواند باعث تغییرات کیفی نامطلوب در آن‌ها شود. این واکنش توسط آنزیم پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز کاتالیز می‌شود (۳۴). نقش آنزیم پراکسیداز در قهوه‌ای شدن مشروط به دسترس بودن هیدروژن پراکسید می‌باشد و صدمات مکانیکی و اتیلن می‌تواند متابولیسم ترکیبات فنولی را در میوه تحریک کند. به طور کلی گزارش شده است که پوشش‌های نانوکامپوزیت و کیتوزان به علت اینکه به گازها نیمه نفوذپذیر هستند با تعدیل CO₂ و O₂ داخل میوه و کاهش سطح اتیلن و تأخیر در رسیدن موجب جلوگیری از افزایش فعالیت پراکسیداز می‌شوند (۴۰). گزارش‌های متفاوتی از تأثیر تیمار نانوکیتوزان و کیتوزان بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در دسترس می‌باشد (۳۱، ۳۰ و ۳۲). تیمار نانوذرات دی اکسید روی در جلوگیری از افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز بیشتر از کیتوزان و شاهد در طی ۲۰ روز انبارمانی در میوه گواوا مؤثر بوده است (۶). در گزارشی دیگر کیتوزان

موجب جلوگیری از افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در میوه لیمو در پس از برداشت شده است (۱۴). نتایج پژوهش حاضر منطبق با نتایج Mwelase در میوه موز (۱۸) و هلو (۱۲) بوده است.

نتیجه گیری

استفاده از تیمارهای سالم مانند کیتوزان، ملاتونین، نانوکیتوزان پوشش داده شده با ملاتونین، بر افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت میوه خرمالو در دوره انبارمانی سرد کمک می‌کنند. تیمار نانوکمپوزیت کیتوزان ملاتونین به طور معنی‌داری موجب حفظ سفتی بافت میوه، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌اکسیدان کل در مقایسه با شاهد و تیمارهای ملاتونین و کیتوزان در طی انبارمانی شد. نتایج نشان داد تمام تیمارها نسبت به شاهد اثر معنی‌داری را نشان دادند ولی تیمارها نسبت به همدیگر اغلب معنی‌دار نبودند. تیمار نانوذرات ملاتونین پوشش داده شده با کیتوزان ۰/۲٪، در حفظ کیفیت و افزایش عمر انبارمانی میوه خرمالو مؤثرتر بود و موجب حفظ سفتی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز در طی ۴۵ روز انبارمانی نسبت به شاهد گردید. نتایج این پژوهش نشان داد که میوه‌های شاهد پس از ۴۵ روز انبارمانی از نظر اکثر شاخص‌های کیفی مورد بررسی، افت قابل توجهی داشتند، در حالی که میوه‌های تیمار شده بعد از ۴۵ روز انبارمانی قابل عرضه به بازار بودند. بر اساس نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، چنین به نظر می‌رسد که کاربرد این تیمارها به صورت تجاری برای افزایش عمر انبارمانی میوه خرمالو قابل توصیه باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش به عنوان بخشی از رساله دکتری با حمایت مالی دانشگاه زنجان انجام شده است، بدینوسیله نویسندگان از آن دانشگاه تقدیر و تشکر می‌نمایند.

فهرست منابع

- 1-Abbasi, N. A., Zafar, I., and Mehdi, M., (2009). Postharvest quality of mango (*Mangifera indica* L.) fruit as affected by chitosan coating. *Pakistan Journal of Botany*, 41, 343-357.
- 2-Aghdam, M. S., and Fard, J. R. (2017). Melatonin treatment attenuates postharvest decay and maintains nutritional quality of strawberry fruits (*Fragaria × ananassa* cv. Selva) by enhancing GABA shunt activity. *Food Chemistry*, 221, 1650–1657. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.12>.
- 3-Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT Food Science and Technology*, 43(6), 8842. 8842.
- 4-Ali, A., Muhammad, M.T.M., Sijam, K and Siddiqui, Y. (2011). Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika Papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. *Food Chemistry*. 124, 620–626.
- 5-Ardakani, M.D., Mostofi, Y. and Hedayatnegad, R. (2010). Study on the effect of chitosan in preserving some qualitative factors of table Grape (*Vitis vinifera* "shahrودي"). *Acta Horticulturae*. 877:739–742.
- 6-Arroyo, B.J., Bezerra, A. C., Oliveira, L., Arroyo, S., Melo, E.A., and Santos, A.M. (2020). Antimicrobial active edible coating of alginate and chitosan add ZnO nanoparticles applied in guavas (*Psidium guajava* L.). *Food Chemistry*. 309, 125566.
- 7-Bahmani, R., Razavi, F., Mortazavi, N., Gohari, G. and Maldonado, A. (2022). Evaluation of Proline-coated chitosan nanoparticles on decay control and quality preservation of strawberry fruit (cv. Camarosa) during cold storage. *Horticulturae*, 8: 648–654.

- 8-Bao, Z., Zhou, Q., Yu, Y., Chen, W., Yang, Z., Cao, S., and Shi, L. (2024). Melatonin treatment induces DNA methylation to alleviate chilling induced-browning in cold stored peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 208, 112686. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2023.112686>.
- 9-Bhardwaj, R., Sati, H., Oberoi, H. S., and Pareek, S. (2024). The mechanisms of melatonin in low temperature stress tolerance in postharvest fruits and vegetables. *Future Postharvest and Food*, 1–18. <https://doi.org/10.1002/fpf2.12013>.
- 10-Bautista-Ban, O.S., Hernandez-Lauzardo, S., Velazquez-del, S. Valle, M. and Bosquez-Molina, E. (2006). Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection*. 25:108–118.
- 11-Butt, M.S., Sultan, M.T., Aziz, M., Naz, W. and Ahmed, N. K. (2015). Persimmon (*Diospyros kaki*) fruit: Hidden phytochemicals and health claims *Excli Journal*, 14: 542-561.
- 12-Cao, S., Shao, J., Shi, L., Xu, L., Shen, Z., Chen, W. and Yang, Z. (2018). Melatonin increases chilling tolerance in postharvest peach fruit by alleviating oxidative damage. *Scientific Reports*, 8: 1-14
- 13- FAO, 2022.FAOSTAT Database. <http://faostat.fao.org/>.
- 14-Fernández-Saiz, P., Sánchez, G., Soler, C., Lagaron, J. M., and Ocio, M. J. (2013). Chitosan films for the microbiological preservation of refrigerated sole and hake fillets. *Food Control*, 34(1), 61–68.
- 15-Galano, A., Tan, D. X. and Reiter, R. J. (2011). Melatonin as a natural ally against oxidative stress a physicochemical examination. *Journal of Pineal Research*. 51: 1–16
- 16-Jiao, J., Jin, M., Liu, H., Suo, J., Yin, X., Zhu, Q., and Rao, J. (2022). Application of melatonin in kiwifruit (*Actinidia chinensis*) alleviated chilling injury during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 296, 110876. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.110876>.
- 17-Gohari, Gh., Farhadi, H., Panahirad, S., Zareei, S. and, Labib, C. (2023). Mitigation of salinity impact in spearmint plants through the application of engineered chitosan-melatonin nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. 224, 893–907 2023.
- 18-Hu, W., Yang, H., Tie, W., Yan, Y., Ding, Z., Liu, Y., Wu, C., Wang, J., Reiter, R.J. and Tan, D.-X. (2017). Natural variation in banana varieties highlights the role of melatonin in postharvest ripening and quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65: 9987-9994.
- 19-Jayasekhar, P., Sibyala Saranya, B., and Rajasekha, A. (2022). Nanobiotechnology-mediated sustainable agriculture and postharvest management. *Current Research in Biotechnology* .4 :. 326-336
- 20-Kalia, A. and Parshad, V. R. (2015). Novel trends to revolutionize preservation and packaging of fruits/fruit products: microbiological and nanotechnological perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 55:159-82.
- 21-Kingwascharapong, P., Arisa, K. and Tanaka, F. (2020). Effect of gelatin-based coating containing frog skin oil on the quality of persimmon and its characteristics. *Scientia Horticulturae* 260: 108864.
- 22-Li, L., Kitazawa, H., Zhang, X. and Yu, S. (2021). Melatonin retards senescence via regulation of the electron leakage of postharvest white mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food Chemistry* 340: 127833.
- 23-Liu S., Huang H., Huber D. J., Pan Y., Shi X., and Zhang Z. (2020). Delay of ripening and softening in 'Guifei' mango fruit by postharvest application of melatonin. *Postharvest Biology and Technology* 163: 111136.
- 24-Liao, L., Li, J., Lan, X., Li, Y., Li, Y., Huang, Z., Jin, Z., Yang, Y., Wang, X., Zhang, M., Sun, G., Zhang, X., Xiong, B., and Wang, Z. (2024). Exogenous melatonin and interstock treatments confer chilling tolerance in citrus fruit during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 327, 112802. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112802>.
- 25-Liu, L., Huang, A., Wang, B., Zhang, H., Zheng, Y., and Wang, L. (2024). Melatonin mobilizes the metabolism of sugars, ascorbic acid and amino acids to cope with chilling injury in postharvest pear fruit. *Scientia Horticulturae*, 323, 112548. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112548>
- 26-Mahmoudi, R., Farhang, R., Rabiei, V., Gohari, Gh. and Palou, L. (2022). Application of glycine betaine coated chitosan nanoparticles alleviate chilling injury and maintain quality of plum (*Prunus domestica* L.) fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*. 207: 965–977

- 27-Meng, J. F., Xu, T. F., Wang, Z., Fang, Y., Xi, Z., and Zhang, Z. (2014). The ameliorative effects of exogenous melatonin on grape cuttings under water-deficient stress: Antioxidant metabolites, leaf anatomy, and chloroplast morphology. *Journal of Pineal Research*, 57:68-84
- 28-Mwelase, S., Opara, U. L., Fawole, O. A., Linus, U. and. Fawole, O. (2022). Effect of chitosan-based melatonin composite coating on the quality of minimally processed pomegranate aril-sacs during cold storage. *Institute of Food Science and Technology*. 6: 32-39
- 29-Nasr, F., Rabiei, V., Razavi, F., Formanek, S., Gohari, G. and Lorenzo, G. (2021). Chitosan-phenylalanine nanoparticles (Cs-Phe Nps) extend the postharvest life of persimmon (*Diospyros kaki*) fruits under chilling stress. *Coatings*. 11: 819-827.
- 30-Nguyen, D.H. and Nguyen, H.V. (2020). Effects of nano-chitosan and chitosan coating on the quality, polyphenol oxidase activity, malondialdehyde content of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch. *Journal of Horticulture and Postharvest Research*. 3:11-24.
- 31-Odetayo, T., Tesfay, S., Ziphorah, N. and Ngobese, S. (2022). Nanotechnology-enhanced edible coating application on climacteric fruits. *Food Science and Nutrition*. 10:2149–2167.
- 32-Quddus, A.M. and Mardina, L. F. (2020). local Garut commodities using carboxy methyl cellulose (CMC) as a penstables during cold storage. *Earth and Environmental Science*.3: 1283-1297.
- 33-Rios, A.D.O. and Bohorquez, N.V. (2017). Effect of chitosan coatings on the quality of persimmon under commercial storage conditions. *Brazilian Journal of Food Research, Campo Mourão*, 8: 91-104
- 34-Sati, H., Khandelwal, A., and Pareek, S. (2023). Effect of exogenous melatonin in fruit postharvest, cross talk with hormones, and defense mechanism for oxidative stress mechanism. *Food Frontiers*, 1–29. <https://doi.org/10.1002/fft2.180>.
- 35-Sharif, R., Xie, Ch., Zhang, H., Arnao, M. B. Muhammad, I., Shalmani, A., Nawaz, M.A., Peng Chen, P. and Yuhong, L. (2018). Melatonin and its effects on plant systems. *Molecules*. 14:23-35
- 36-Sharif, R.; Mujtaba, M.; Ur Rahman, A.; Ahmad, H.; Anwar, T.; Tianchan, D.; and Wang, X. (2018). The Multifunctional Role of Chitosan in Horticultural Crops; A Review. *Molecules*, 23, 872.
- 37-Sun, Y., Liu, Z., Lan, G., Jiao, C., and Sun, Y. 2019. Effect of exogenous melatonin on resistance of cucumber to downy mildew. *Scientia Horticulturae*, 255, 23-41.
- 38-Xia H., Shen Y., Shen T., Wang X., Zhang X., Hu P., and Wang J. (2020). Melatonin accumulation in sweet cherry and its influence on fruit quality and antioxidant properties. *Molecules* 25(3): 753.
- 39-Xue, J., Huang, L., Zhang, Sh., Sun, H and Gao, T. (2020). Study on the evaluation of carboxymethyl-chitosan concentration and temperature treatment on the quality of “Niuxin” persimmon during cold storage. *Journal of Food Processing and Preservation*. 145. 1-17.
- 40-Youwei, Y. and Yinzhe, R. (2013). Effect of chitosan coating on preserving character of post-harvest fruit and vegetable: A Review”. *Food Process and Technology*. 4:1-9.
- 41-Zhai R., Liu J., Liu F., Zhao Y., Liu L., Fang C., Wang H., Li X., Wang Z., Ma F., and Xu L. (2018). Melatonin limited ethylene production, softening and reduced physiology disorder in pear (*Pyrus communis* L.) fruit during senescence. *Postharvest Biology and Technology* 139: 38-46. <https://doi.org/10.3390/j.postharvbio>.
- 42-Zhang Y.Y., Huber D.J., Hu M.J., Jiang G.X., Gao Z.Y., Xu X.B., Jiang Y.M., and Zhang Z.K. (2018). Melatonin delays postharvest browning in litchi fruit by enhancing anti oxidative processes and oxidation repair. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 10: 10-21.
- 43-Zhang, Y., and Zhang, M. (2015). Postharvest chitosan-g-salicylic acid application alleviates chilling injury and preserves cucumber fruit quality during cold storage. *Food Chemistry* 174: 558–563
- 44-Zhao Y., Tan D.X. and Lei Q. (2013). Melatonin and its potential biological functions in the fruits of sweet cherry. *Journal of Pineal Research* 55:79-88.
- 45-Zhao, H., Wang, L. and Belwa, F. Y. (2020). Chitosan-based melatonin bilayer coating for maintaining quality of fresh-cut products. *Carbohydrate Polymers* .235:115-218.

Evaluation the effect of Chitosan-Coated Melatonin Nanocomposites on Postharvest Quality of Persimmons in Cold Storage Conditions

Behnaz soleimani¹, Vali rabiei¹, Farhange razavi¹, Gholamreza mahdavineya², Fahime nasr¹

¹ Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

² Department of Chemistry, University of Maragheh, Maragheh, Iran.

*Corresponding author: soleimanibeh5@gmail.com

Abstract:

Persimmon (*Diospyros kaki* Thunb) is one of the semi-tropical perishable fruits with a short shelf life, because the softening of the texture, change in chemical compositions and browning in it is faster, which leads to more waste of the product in the postharvest period. Enhancing its shelf life and maintaining quality through the use of edible coatings and natural preservatives is essential. In this study, we evaluated the effects of various treatments on the postharvest quality of persimmon fruit (Karaj variety) during cold storage. The treatments included 0.2% chitosan, 100 μ M melatonin, 0.2% chitosan-coated melatonin nanocomposites, and a control (distilled water). The study was conducted in a factorial experiment based on completely random design with three replications for each treatment and storage duration (15, 30, 45 days). Parameters such as weight loss percentage, soluble solids content, titratable acidity, flavor index, malondialdehyde accumulation, hydrogen peroxide content, total antioxidant capacity, and the activity of antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase, and ascorbate) were evaluated. The results indicated that fruits treated with chitosan-coated melatonin nanocomposites exhibited significantly less weight loss compared to the control at the end of storage time. The accumulation of malondialdehyde and hydrogen peroxide in this treatment decreased due to the improvement of the antioxidant capacity compared to the control and the activity of antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase and ascorbate peroxidase) increased compared to the control. Peroxidase activity in treated fruits with melatonin nanocomposite coated with 0.2% chitosan was lower than the control, which resulted in fruit health and prevention of browning. In this study, melatonin nanocomposite coated with chitosan was able to maintain the edible quality and antioxidant capacity of persimmon fruit during cold storage.

Key words: Total antioxidant, Edible coatings, Persimmon, Nano chitosan Melatonin.