

## Improving Quality and Antioxidant Characteristics of Pulp and Peel of Citrus During Storage by Pre-Harvest Spray of Calcium Chloride on Fruit

Javad Fatahi Moghadam<sup>1\*</sup>, Abuzar Hashempour<sup>2</sup> and Reza Fifaei<sup>3</sup>

- 1- **\*Corresponding Author:** Research Associate, Department of Post-harvest Physiology and Technology, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Iranian Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran (j.fattahi@areeo.ac.ir)
- 2- Research Assistant, Department of Post-harvest Physiology and Technology, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Iranian Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran
- 3- Research Assistant, Department of Genetic and Breeding, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Iranian Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research ,Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran

Received: 1 July, 2017

Accepted: 25 April, 2018

### Abstract

#### Background and Objectives

Calcium is a key plant nutrient with significant functions including reducing fruit senescence; calcium deficiency has been involved in several physiological disorders in fruits. Pre-harvest foliar application of calcium chloride (CaCl<sub>2</sub>) is an efficient and safe strategy to maintain or improve the fruit quality during storage. Also, calcium significantly increases the membrane and cell wall density and reduces the physiological disorders of the fruit. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of pre-harvest CaCl<sub>2</sub> sprays of citrus trees at three fruit development stages on improving fruit quality and antioxidant capacity during storage.

#### Materials and Methods

To conduct this research, citrus trees of three different varieties ('Thomson', 'Moro' and 'Page') were sprayed with different concentrations of CaCl<sub>2</sub> (0, 1, 2 and 4%) at three fruit development stages (120, 140 and 160 days after full bloom). After harvesting, citrus fruits were stored at 5°C and 85% relative humidity for 60 days. Then, weight loss and juice percentage, total carotenoids, superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) activity, and total antioxidant capacity (IC<sub>50</sub> content) of the fruits peel and pulp were determined on 0 (harvesting time), 30 and 60 days. Data were analyzed using SAS (Ver.9.1) and significance of the differences between the means was computed using Tukey test.

#### Results

Results showed that weight loss percentage in fruit treated with CaCl<sub>2</sub> (especially in 2 and 4% treatments) of all three cultivars was significantly less than control during storage. Total carotenoid of pulp of Thomson and Moro cultivars increased with increasing of CaCl<sub>2</sub> concentrations compared to control during storage. In Page mandarin, the carotenoid content of pulp was not affected by calcium chloride treatment. Results also showed that SOD activity in peel and pulp of treated fruits was higher than control at harvest time. At the time of harvesting, the peel APX activity of Thomson and Moro cultivars (control) was higher than those treated by

calcium. Antioxidant capacity (based on  $IC_{50}$  content) of peel and pulp varied depending on the cultivar and the treatment. That is, the highest antioxidant capacity was determined in 'Thomson' at harvest time and in treated fruits with high level of  $CaCl_2$ .

### **Discussion**

In the present study, the  $CaCl_2$  pre-treatment was sprayed on the citrus trees and the results indicated that pre-harvest calcium chloride significantly decreases weight loss percentage and increases antioxidant capacity, SOD activity and total carotenoid contents in citrus fruits during storage. It seems that the accessibility of sufficient  $CaCl_2$  during plant growth has a strong influence on concentrations of bioactive compounds and overall antioxidant properties of citrus fruits. Overall, it is suggested that an appropriate  $CaCl_2$  pre-treatment of citrus tree can help improve or maintain pulp and peel quality during storage. It is further suggested, using chlorine-free calcium sources in southern Iran with alkaline soils.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Calcium, Fruit quality, Shelf life

## بهبود ویژگی‌های کیفی و آنتی‌اکسیدانی گوشت و پوست میوه مرکبات در مدت انبارداری با محلول پاشی قبل از برداشت میوه‌ها با کلراید کلسیم

جواد فتاحی مقدم<sup>۱\*</sup>، ابوذر هاشم‌پور<sup>۲</sup> و رضا فیفایی<sup>۳</sup>

۱- \*نویسنده مسئول: دانشیار پژوهشی، گروه فیزیولوژی و فناوری پس از برداشت، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، مؤسسه تحقیقات

علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران (j.fattahi@areeo.ac.ir)

۲- استادیار پژوهشی، گروه فیزیولوژی و فناوری پس از برداشت، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی،

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران

۳- استادیار پژوهشی، گروه ژنتیک و به‌نژادی، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات،

آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۲/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۱۰

### چکیده

محلول پاشی قبل از برداشت درختان با کلراید کلسیم یکی از شیوه‌های کارا و بی‌خطر برای حفظ و بهبود کیفیت میوه‌ها در مدت انبارداری است. بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی تأثیر محلول پاشی میوه‌های مرکبات (ارقام پرتقال تامسون، مورو و نارنگی رقم پیچ) مدت سه مرحله (۱۲۰، ۱۴۰ و ۱۶۰ روز پس از تمام گل مدت تابستان سال ۹۰) با غلظت‌های مختلف کلراید کلسیم (صفر، ۱، ۲ و ۴ درصد) بر بهبود خواص کیفی و آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها در مدت نگهداری بود. میوه‌ها پس از برداشت در دمای ۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۵ درصد به مدت ۶۰ روز نگهداری شدند. در مدت انبارداری (روزهای صفر، ۳۰ و ۶۰) برخی از خصوصیات فیزیکی-شیمیایی پوست و گوشت میوه اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که درصد کاهش وزن میوه‌های محلول پاشی شده با کلراید کلسیم در مدت انبارداری به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود. میزان کاروتنوئید گوشت میوه هر سه رقم نیز با افزایش غلظت کلراید کلسیم در مقایسه با شاهد در مدت نگهداری افزایش نشان داد. همچنین نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم SOD در زمان برداشت در بافت گوشت و پوست میوه‌های محلول پاشی شده در هر سه رقم نسبت به شاهد بیشتر بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی (میزان IC<sub>50</sub>) بافت گوشت و پوست بسته به رقم و تیمار متفاوت بود؛ به‌طوری‌که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به رقم تامسون در زمان برداشت و در میوه‌های تیمار شده با غلظت بالای کلراید کلسیم بود. در مجموع می‌توان گفت که محلول پاشی قبل از برداشت درختان مرکبات با کلراید کلسیم می‌تواند موجب بهبود و یا حفظ ویژگی‌های کیفی گوشت و پوست میوه در مدت انبارداری گردد.

کلیدواژه‌ها: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، عمر انباری، کلسیم، کیفیت میوه

### مقدمه

در سال‌های اخیر توجه بسیار زیادی به جنبه‌های مختلف تغذیه‌ای و سلامت محصولات باغی شده است (Fatahi Moghadam *et al.*, 2018). میوه‌ها و سبزی‌ها حاوی سطوح بالایی از ترکیبات زیست‌فعال (Bioactive compounds) هستند که فواید سلامتی آن‌ها فراتر از

تغذیه است (Yahia, 2010). همچنین میوه مرکبات منبع مهمی از آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، کاروتنوئیدها، آسکوربیک اسید می‌باشد (Rapisarda *et al.*, 2008) که این ترکیبات اثر حفاظتی در برابر بیماری‌های مختلف چون سرطان و بیماری‌های قلبی و عروقی دارند (Jang *et al.*, 2010).

سلولی مانند پلی‌گالاکتروناس و بتا‌گالاکتوزاید گردید (Dong *et al.*, 2009). همچنین محلول‌پاشی درختان نارنگی رقم فورچون با کلسیم موجب کاهش عارضه‌های فیزیولوژی در بافت پوست میوه گردید (El-Hilali *et al.*, 2004). علاوه بر این، جلوگیری از کاهش وزن میوه‌های لیموی مکزیکی تیمار شده با کلراید کلسیم نیز گزارش شده است (Obeed and Harhash, 2006). در سایر درختان میوه نیز کاربرد محلول‌پاشی کلسیم موجب افزایش انبارمانی میوه‌های کیوی، پاپایا، گلابی آسیایی، سیب و انبه در مراحل پس از برداشت گردید (Joyce *et al.*, 2001; Khalaj *et al.*, 2017; Madani *et al.*, 2016; Nazari *et al.*, 2016; Sepahvand *et al.*, 2016; Shiri *et al.*, 2015).

به تأخیر انداختن رسیدن و پیری میوه‌ها و سبزی‌ها از تأثیرات سودمند کلسیم است (Holb *et al.*, 2012). هر چند پیری یک فرایند طبیعی در اندام‌ها است ولی این امر موجب زوال بافت و در نتیجه کاهش ارزش غذایی آن‌ها می‌شود. افزایش زوال بافت در مدت انبارداری که با پیری بافت همراه است با تغییرات پروتئینی و تنش‌های اکسیداتیو مرتبط است (Li *et al.*, 2012). حین پیری، سلول‌های گیاهی مقادیر فراوانی از رادیکال‌های آزاد از جمله هیدروژن پراکسید و سوپراکسید تولید می‌کنند. وقتی که سطح تجمع این نوع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) درون سلول به شدت بالا رود می‌تواند به اجزای سلولی گوناگون آسیب برساند (Orozco-Cardenas *et al.*, 2001). سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD) و آسکوربات پراکسیداز (APX) جز آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مهم در سلول‌های گیاهی به منظور سمیت‌زدایی از رادیکال‌های آزاد هستند که به وسیله تعدادی از پیام‌ها (signals) فعال می‌شوند و وظیفه تنظیم و حفظ سطوح ROS در مقادیر غیر آسیب‌زا را بر عهده دارند (Asensio *et al.*, 2012; Kou *et al.*, 2014). پیشنهاد شده است که افزایش در فعالیت این نوع آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی عموماً پیامد توانایی سیستم برای به تأخیر انداختن پیری است (Supapvanich *et al.*, 2012). علاوه بر گوشت میوه، سلامت پوست آن نیز در

بعلاوه، آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی میوه با خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، پیری و مرگ سلول گیاهی را به تأخیر می‌اندازد. اخیراً توجه بسیاری به بررسی نقش آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در ارتباط با عمر انباری و کیفیت میوه‌ها و سبزی‌ها در مدت انبارداری شده است. با این وجود بیشتر آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی میوه به تدریج پس از برداشت و در مدت انبارداری کاهش می‌یابد.

اهمیت کلراید کلسیم در حفظ کیفیت قبل و بعد از برداشت انواع میوه‌ها در دهه‌های اخیر مورد توجه پژوهشگران بوده است (Dong *et al.*, 2009; Khalaj *et al.*, 2017). یون‌های کلسیم برای تنظیم چندین فرآیند فیزیولوژی کلیدی مرتبط با رسیدن مورد نیاز است (Wong *et al.*, 1994). از جمله این فرآیندها می‌توان به تغییرات ساختار دیواره سلولی، انسجام و کارایی غشا، فعالیت آنزیم‌های ویژه و انتقال پیام اشاره کرد (Guimaraes *et al.*, 2011).

کاربرد قبل و پس از برداشت کلسیم ضمن به تأخیر انداختن پیری و افزایش بازارپسندی، ماندگاری میوه را نیز بهبود می‌بخشد. با این وجود، به دلیل این که جذب کلسیم از خاک و انتقال آن به اندام‌های هوایی محدود است، بنابراین کاربرد محلول‌پاشی مستقیم روی تاج درختان ترجیح داده می‌شود که این امر اجازه می‌دهد تا میزان کلسیم در میوه به‌طور مؤثری افزایش یابد (Ferguson and Boyd, 2002). از سوی دیگر تنش رطوبتی و تحریک رشد رویشی می‌تواند منجر به کاهش مقدار کلسیم در میوه و یا حتی برگشت کلسیم از میوه به برگ‌ها شود. بنابراین محلول‌پاشی کلسیم روی میوه به‌طور معنی‌داری موجب استحکام تراکم غشا و دیواره سلولی و کاهش اختلالات فیزیولوژی شده و کیفیت میوه را افزایش می‌دهد (Malakouti *et al.*, 1999). بر همین اساس، کاربرد محلول‌پاشی پیش از برداشت کلسیم روی درختان پرتقال رقم کاراکارا (Cara Cara) باعث بهبود انسجام غشا، کاهش سطح فعالیت آنزیم‌های نرم‌کننده دیواره

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی

این پژوهش در باغ تحقیقاتی پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری (رامسر) در سال ۹۰ اجرا گردید. در این پژوهش از سه رقم مرکبات شامل پرتقال‌های تامسون ناول، خونی مورو و نارنگی رقم پیچ استفاده شد. این‌ها درختان بارور پیوندشده روی پایه نارنج بودند.

### محلول پاشی کلراید کلسیم

بر اساس آزمایش مقدماتی علاوه بر غلظت‌های مختلف، دفعات مختلف محلول پاشی نیز (سه مرحله) در نظر گرفته شد (داده‌ها ارائه نشده است). نتایج اولیه نشان داد که تأثیر این ترکیبات با سه نوبت محلول پاشی بیشتر است. بنابراین، در سال دوم اقدام به سه نوبت محلول پاشی با هر یک از ترکیبات روی میوه‌ها و برگ‌های اطراف میوه شد. به‌طور خلاصه، ابتدا غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ درصد کلراید کلسیم با استفاده از آب مقطر تهیه شد. قبلاً برای هر غلظت سه درخت (تکرار)، روی هر درخت سه شاخه مشخص و جهت محلول پاشی علامت‌گذاری شد. با استفاده از یک محلول پاش دستی سه مرتبه (۱۲۰، ۱۴۰، ۱۶۰ روز پس از تمام گل) عمل محلول پاشی میوه‌ها انجام شد. زمان‌های محلول پاشی بر اساس تعداد روزهای پس از تمام گل بسته به رقم مورد مطالعه متفاوت بود. در تیمار شاهد میوه‌ها فقط با محلول حاوی آب مقطر محلول پاشی شدند.

### نمونه‌گیری

میوه‌های هر تکرار به‌طور جداگانه (اواخر آبان جهت نارنگی پیچ، نیمه آذر جهت پرتقال‌های تامسون و مورو) برداشت شدند. بدین منظور، تعداد ۳۰ عدد میوه از هر درخت (۱۰ عدد میوه از هر شاخه محلول پاشی در هر درخت) برداشت و با هم مخلوط شدند. میوه‌های برداشت‌شده از هر تکرار در سبدهای جداگانه قرار داده شدند و بلافاصله به سردخانه با دمای ۵ درجه سلسیوس و رطوبت ۸۵ درصد به مدت ۶۰ روز منتقل شدند. علاوه بر نمونه‌برداری در زمان برداشت، در روزهای ۳۰ و ۶۰ نگهداری نیز جهت ارزیابی تغییرات کیفی میوه در مدت انبارداری نمونه‌برداری انجام شد.

مرحله پس از برداشت نقش تعیین‌کننده‌ای در کیفیت میوه دارد. پوست میوه به دلیل ارتباط با محیط اطراف تحت تأثیر تنش‌های گوناگون زیستی و غیرزیستی قرار می‌گیرد که این امر منجر به آسیب‌های سطحی یا درونی میوه می‌گردد (Lliso et al., 2007). بنابراین حفظ و یا افزایش آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در بافت پوست جهت کاهش این آسیب‌ها و یا پیری بافت ضروری است. پژوهش‌ها نشان داده است که کلسیم موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی می‌شود و نقش مهمی در تعادل رادیکال‌های آزاد در گیاهان ایفا می‌کند (Lin et al., 2008). در ارتباط با تأثیر محلول پاشی درختان با کلراید کلسیم بر سیستم مهار ROS در میوه مرکبات در مدت انبارداری اطلاعات بسیار محدودی در دسترس است. در پژوهشی در همین ارتباط، El-Hilali et al. (2004) گزارش کردند که محلول پاشی درختان نارنگی با کلسیم موجب کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز میوه می‌گردد. در سایر میوه‌ها از جمله میوه سیب، کاربرد کلراید کلسیم به همراه تیمار آب گرم موجب افزایش سفتی میوه و فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در مقایسه با تیمار شاهد گردید (Rabiei et al., 2011).

در حال حاضر ارقام پرتقال تامسون، مورو و نارنگی رقم پیچ از جمله ارقام تجاری مهم مورد مصرف در ایران هستند که دارای ارزش غذایی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند. تمایل زیادی وجود دارد که بتوان کیفیت میوه را مدت مراحل پس از برداشت حفظ نمود. با توجه به پژوهش‌های محققین در گذشته، ترکیباتی چون کلراید کلسیم این قابلیت را دارند. اطلاعات بسیار محدودی در ارتباط با تأثیر کاربرد قبل از برداشت کلراید کلسیم روی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی در کشور جود دارد. بنابراین هدف از این پژوهش، بررسی اثر محلول پاشی شاخه‌ها (ترجیحاً میوه) با غلظت‌های مختلف کلراید کلسیم بر خصوصیات کیفی و حفظ ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گوشت و پوست ارقام پرتقال تامسون، مورو و نارنگی رقم پیچ در مدت انبارداری بود.

## صفات مورد ارزیابی

### کاهش وزن میوه و درصد آب میوه

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

$$100 \times (\text{وزن اولیه/وزن ثانویه} - \text{وزن اولیه}) = \text{کاهش وزن (درصد)}$$

آب میوه نیز با استفاده از آب میوه گیر دستی استخراج و حجم آن با استفاده از استوانه مدرج اندازه گیری شد. با محاسبه درصد نسبت حجم آب میوه به وزن میوه، درصد آب میوه در مقایسه با تفاله محاسبه شد.

### کاروتنوئید کل

#### استخراج کاروتنوئید کل

سنجش میزان کاروتنوئید کل از روش تغییر یافته Lichtenthaler (1987) با استفاده حلال استون انجام شد. نمونه‌ها مجاورت نیتروژن مایع آسیاب شدند و پس از آن به مدت ۱/۵ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس به منظور حل شدن رنگ‌دانه‌ها در حلال استون سرد ذخیره و سپس ورتکس شدند. پس از آن به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سلسیوس با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار (مدل Hettich-Mikro 200R ساخت آلمان) سه دفعه سانتریفیوژ شدند. در هر مرحله قسمت روشناور نمونه‌ها به آرامی با سمپلر برداشته و به تیوب‌های درب‌دار منتقل و در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

#### اندازه گیری کاروتنوئید کل

با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ (مدل ND-1000 ساخت آمریکا) میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر قرائت شد. در این حالت از محلول متانول به عنوان بلانک استفاده شد. میزان کاروتنوئید کل بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تازه بر اساس فرمول زیر محاسبه شد.

$$C_{x+c} (\text{mg/g}) = (1000A_{470} - 1.8 \text{Ch}_a - 85.02 \text{Ch}_b) / 198$$

## استخراج عصاره آنزیمی

مقدار ۰/۵ گرم از بافت آسیاب شده در هاون چینی در حضور نیتروژن مایع با یک میلی لیتر حلال بافر فسفات پتاسیم (۷ pH) ترکیب گردید. پس از هموژنایز کردن (توسط هموژنایزر مدل IKA-T8، ساخت آلمان)، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس و با دور ۱۴۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول رویی به آرامی برداشته شد و با ریختن در تیوب بلافاصله به دمای ۸۰- سلسیوس تا زمان اندازه گیری فعالیت منتقل شد.

### فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

فعالیت APX با استفاده از روش Nakano and Asada (1981) اندازه گیری شد. یک میلی لیتر مخلوط واکنش شامل ۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۳۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم و ۶۶۵ میکرولیتر آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی مولار و یک میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۱ میلی مولار بود. فعالیت این آنزیم در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت دو دقیقه سنجش شد. فعالیت این آنزیم بر حسب یک واحد آنزیمی در میلی گرم وزن تازه (U/g FW min) گوشت و یا پوست محاسبه شد.

### سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

فعالیت SOD به روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از روش Giannopolitis and Ries (1977) با کمی تغییر اندازه گیری شد. محلول واکنش شامل EDTA ۰/۱ میلی مولار، بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (۷ pH)، متیونین ۱۳ میلی مولار و NBT ۷۵ میکرومولار و ریبوفلاوین ۲ میکرومولار (مجموعاً به اندازه یک میلی لیتر) و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تیوب‌های حاوی محلول واکنش به مدت ۱۵ دقیقه در حالی که به آرامی شیک می شدند در معرض نور فلورسانس و دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. واکنش با انتقال تیوب‌ها به شرایط تاریکی متوقف شد و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم علاوه بر کووت‌های نمونه و بلانک از کووت شاهد نیز استفاده شد، که محتوای واکنشی نمونه بلانک و شاهد مشابه نمونه اصلی است با این تفاوت که هر دو نمونه

مختلف و رسم خط رگرسیون، مقدار  $IC_{50}$  از روی معادله خط هر نمونه محاسبه شد.

### تجزیه آماری داده‌ها

پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه واریانس داده‌ها به صورت آزمایش فاکتوریل دو عامله (غلظت ماده تیماری و مدت زمان نگهداری) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی و در سطح احتمال متناظر انجام شد.

### نتایج و بحث

#### اثر کلراید کلسیم بر کاهش وزن و میزان آب میوه

بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، درصد کاهش وزن میوه به تدریج با طولانی شدن در مدت انبارداری در هر سه رقم افزایش یافت (جدول ۱). با این وجود، میزان کاهش وزن در رقم پیچ بیشتر از سایر ارقام بود. این کاهش وزن در میوه‌های شاهد رقم پیچ چشمگیرتر بود. نتایج نشان داد که میوه‌های تیمار شده با کلراید کلسیم نسبت به شاهد آب از دست‌دهی کمتری در انبار نشان دادند.

مذکور فاقد آنزیم بودند. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت این آنزیم به صورت واحد آنزیم در گرم وزن تازه (U/g FW) بیان شد.

#### ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار رادیکال‌های DPPH

از روش Brand-Williams *et al.* (1995) با کمی تغییرات استفاده شد. قدرت مهار رادیکال ۲ و ۲-دی فیل-۱-پیکریل هیدرازیل توسط عصاره نمونه با استفاده از اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعیین شد. به طور خلاصه، ابتدا نسبت‌های متفاوتی از نمونه: DPPH شامل ۶:۴۴، ۱۲:۳۸، ۱۸:۳۲ و ۲۵:۲۵ آماده و ورتکس شد. واکنش عصاره و DPPH بعد از ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در غیاب نور اندازه‌گیری شد و سپس فعالیت مهار رادیکال DPPH با استفاده از فرمول  $(A_s/A_c) \times 100$  - (۱) = درصد بازداری محاسبه شد. در این معادله  $A_c$  جذب رادیکال DPPH بدون عصاره به‌عنوان کنترل،  $A_s$  جذب DPPH به‌علاوه نمونه و از متانول به‌عنوان بلانک استفاده شد. با داشتن درصد بازدارندگی مربوط به چهار غلظت

جدول ۱- اثر محلول پاشی درختان مرکبات با غلظت‌های مختلف کلراید کلسیم بر درصد کاهش وزن و آب میوه در مدت انبارداری

Table 1. Effect of citrus trees spray with different  $CaCl_2$  concentrations on weight loss and juice percentage of fruits during storage

آب میوه کل (درصد) Total juice (%)			کاهش وزن (درصد) Weight loss (%)			کلراید کلسیم (درصد) Calcium Chloride (%)	مدت انبارداری (روز) Storage duration (day)
پیچ Page	مورو Moro	تامسون Thomson	پیچ Page	مورو Moro	تامسون Thomson		
42.59 <sup>a</sup>	45.7 <sup>ab</sup>	31.1 <sup>b</sup>	0 <sup>e</sup>	0 <sup>f</sup>	0 <sup>d</sup>	0	0
47.09 <sup>a</sup>	46.9 <sup>ab</sup>	45.7 <sup>a</sup>	0 <sup>e</sup>	0 <sup>f</sup>	0 <sup>d</sup>	1	
42.73 <sup>a</sup>	45.6 <sup>ab</sup>	38.1 <sup>ab</sup>	0 <sup>e</sup>	0 <sup>f</sup>	0 <sup>d</sup>	2	
43.08 <sup>a</sup>	45.8 <sup>ab</sup>	33.9 <sup>ab</sup>	0 <sup>e</sup>	0 <sup>f</sup>	0 <sup>d</sup>	4	
36.75 <sup>ab</sup>	35.8 <sup>b</sup>	27.2 <sup>bc</sup>	7.5 <sup>bc</sup>	5.2 <sup>bc</sup>	5 <sup>a</sup>	0	30
36.14 <sup>ab</sup>	40.3 <sup>ab</sup>	22.8 <sup>c</sup>	7.3 <sup>bc</sup>	3.7 <sup>de</sup>	2.1 <sup>c</sup>	1	
39.36 <sup>ab</sup>	36.9 <sup>b</sup>	30.6 <sup>bc</sup>	6.7 <sup>c</sup>	4.8 <sup>c</sup>	2.2 <sup>c</sup>	2	
33.79 <sup>ab</sup>	38.2 <sup>ab</sup>	29.9 <sup>bc</sup>	5.2 <sup>d</sup>	3 <sup>e</sup>	2.4 <sup>bc</sup>	4	
32.49 <sup>ab</sup>	36.2 <sup>b</sup>	21.9 <sup>c</sup>	11.5 <sup>a</sup>	4.7 <sup>cd</sup>	4.3 <sup>a</sup>	0	60
36.58 <sup>ab</sup>	35.1 <sup>b</sup>	23.7 <sup>c</sup>	8 <sup>b</sup>	5.9 <sup>ab</sup>	4.4 <sup>a</sup>	1	
38.53 <sup>ab</sup>	42.4 <sup>ab</sup>	32.8 <sup>ab</sup>	7 <sup>c</sup>	6.4 <sup>a</sup>	3.2 <sup>b</sup>	2	
26.20 <sup>b</sup>	49.8 <sup>a</sup>	32.3 <sup>ab</sup>	8 <sup>b</sup>	4.6 <sup>cd</sup>	2.5 <sup>bc</sup>	4	
14.11	9.96	14.74	8.95	9.39	10.31		C.V. (%)

\* در هر ستون و برای هر رقم، میانگین‌های دارای حروف متفاوت در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

\* Mean in each column and for each cultivar with the same letter is not significantly different at 1% of probability level.

محلول پاشی کلراید کلسیم بر میزان آب میوه نارنگی وجود دارد (El-Hilali *et al.*, 2004). با توجه به نتایج این آزمایش، کلسیم احتمالاً با حفظ انسجام غشا مانع آب از دست‌دهی بیشتر میوه‌های تیمار شده در مقایسه با شاهد شده است. در همین راستا میوه‌هایی که کاهش وزن کمتری داشتند از درصد آب بیشتری نیز برخوردار بودند.

### اثر کلراید کلسیم بر میزان کاروتنوئید کل گوشت و پوست میوه

میزان کاروتنوئید گوشت میوه در ارقام تامسون و مورو با افزایش غلظت کلراید کلسیم در مدت انبارداری بالاتر از شاهد بود (جدول ۲). در نارنگی رقم پیچ، میزان کاروتنوئید گوشت تحت تیمارهای کلراید کلسیم قرار نگرفت. در رقم مورو تنها میوه‌های تیمار شده با غلظت‌های یک و دو درصد از نظر میزان کاروتنوئید تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان دادند. حداکثر تجمع کاروتنوئیدی در پوست ارقام تامسون و مورو تنها پس از ۳۰ روز نگهداری در انبار و در غلظت‌های ۱ و ۲ درصد مشاهده شد (جدول ۲).

درصد آب میوه‌های تیمار شده با کلراید کلسیم به‌خصوص غلظت‌های ۲ و ۴ درصد نیز در ارقام تامسون، مورو در مدت انبارداری به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد بیشتر بود (جدول ۱). در نارنگی رقم پیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارها و شاهد مشاهده نشد ولی در مدت انبارداری تأثیر معنی‌داری بر این صفت داشت؛ بدین صورت که درصد آب میوه در روزهای ۳۰ و ۶۰ نسبت به زمان برداشت کاهش یافت. ارقام پیچ، مورو نسبت به رقم تامسون پوست نازک‌تری دارند؛ بخصوص رقم پیچ به کاهش وزن حساس‌تر است. جلوگیری از کاهش وزن میوه‌های تیمار شده با کلراید کلسیم در میوه‌هایی چون لیموی مکزیکی (Obeed and Harhash, 2006) و انبه (Joyce *et al.*, 2001) گزارش شده است. همچنین کلسیم با بهبود انسجام غشای سلولی و جلوگیری از تخریب دیواره سلولی و در نتیجه پیری می‌تواند باعث کاهش آب از دست‌دهی شود (Moraga *et al.*, 2009). هر چند که گزارش‌هایی نیز مبنی بر بی‌تأثیر بودن

### جدول ۲- اثر محلول پاشی درختان مرکبات با غلظت‌های مختلف کلراید کلسیم بر میزان کاروتنوئید کل گوشت و پوست در مدت انبارداری

Table 2. Effect of citrus trees spray with different  $\text{CaCl}_2$  concentrations on total carotenoids of fruits peel and pulp during storage

پوست (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Peel (mg. g <sup>-1</sup> FW)			گوشت (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Pulp (mg. g <sup>-1</sup> FW)			کلراید کلسیم (درصد) Calcium Chloride (%)	مدت انبارداری (روز) Storage duration (day)
پیچ Page	مورو Moro	تامسون Thomson	پیچ Page	مورو Moro	تامسون Thomson		
0.12 <sup>a</sup>	0.32 <sup>ab</sup>	0.14 <sup>b</sup>	0.1 <sup>a</sup>	0.26 <sup>d</sup>	0.13 <sup>c</sup>	0	0
0.05 <sup>a</sup>	0.12 <sup>b</sup>	0.76 <sup>a</sup>	0.1 <sup>a</sup>	0.25 <sup>d</sup>	0.26 <sup>c</sup>	1	
0.04 <sup>a</sup>	0.1 <sup>b</sup>	0.99 <sup>a</sup>	0.2 <sup>a</sup>	0.13 <sup>e</sup>	0.36 <sup>bc</sup>	2	
0.01 <sup>a</sup>	0.03 <sup>b</sup>	0.1 <sup>b</sup>	0.3 <sup>a</sup>	0.16 <sup>e</sup>	0.6 <sup>b</sup>	4	
0.05 <sup>a</sup>	0.05 <sup>b</sup>	0.01 <sup>b</sup>	0.1 <sup>a</sup>	0.08 <sup>e</sup>	0.05 <sup>d</sup>	0	30
0.08 <sup>a</sup>	1.07 <sup>a</sup>	0.89 <sup>a</sup>	0.1 <sup>a</sup>	1.64 <sup>a</sup>	0.04 <sup>d</sup>	1	
0.06 <sup>a</sup>	0.51 <sup>a</sup>	0.54 <sup>a</sup>	0.2 <sup>a</sup>	1.15 <sup>ab</sup>	0.2 <sup>c</sup>	2	
0.01 <sup>a</sup>	0.11 <sup>b</sup>	0.08 <sup>ab</sup>	0.4 <sup>a</sup>	0.94 <sup>b</sup>	1.34 <sup>a</sup>	4	
0.06 <sup>a</sup>	0.01 <sup>b</sup>	0.13 <sup>b</sup>	0.1 <sup>a</sup>	0.18 <sup>e</sup>	0.04 <sup>d</sup>	0	60
0.11 <sup>a</sup>	0.05 <sup>b</sup>	0.09 <sup>b</sup>	0.1 <sup>a</sup>	0.24 <sup>d</sup>	0.05 <sup>d</sup>	1	
0.12 <sup>a</sup>	0.09 <sup>b</sup>	0.19 <sup>ab</sup>	0.2 <sup>a</sup>	0.42 <sup>c</sup>	0.07 <sup>c</sup>	2	
0.05 <sup>a</sup>	0.12 <sup>b</sup>	0.03 <sup>b</sup>	0.3 <sup>a</sup>	0.86 <sup>b</sup>	0.1 <sup>c</sup>	4	
52.54	45.15	16.43	19.44	42.23	19.2		C.V. (%)

\* در هر ستون و برای هر رقم، میانگین‌های دارای حروف متفاوت در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

\* Mean in each column and for each cultivar with the same letter is not significantly different at 1% of probability level.



کاهش نشان داد (Pila et al., 2010).

### اثر کلراید کلسیم بر فعالیت آنتی اکسیدان‌های آنزیمی گوشت و پوست میوه سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

در این آزمایش، فعالیت آنزیم SOD بافت گوشت و پوست در زمان برداشت و پایان انبارداری اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که میزان فعالیت SOD در گوشت ارقام تامسون و مورو در پایان انبارداری کاهش یافت، ولی این کاهش در میوه‌های تیمار شده با کلراید کلسیم به مراتب کم‌تر بود (جدول ۳). در کلیه ارقام، فعالیت SOD در بافت گوشت و پوست میوه‌های محلول‌پاشی شده نسبت به شاهد افزایش نشان داد. هر چند در پایان انبارداری تفاوت معنی‌داری بین اثر غلظت‌های مختلف محلول‌پاشی روی فعالیت SOD در هر دو بافت گوشت و پوست مشاهده نشد.

کاروتنوئیدها به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان مهم شناخته می‌شوند و نقش مهمی در سلامتی انسان ایفا می‌کنند. در آزمایش حاضر تیمار کلراید کلسیم موجب حفظ و یا افزایش میزان کاروتنوئید گوشت و پوست میوه در مقایسه با شاهد شد. این تأثیر کلراید کلسیم در جلوگیری از کاهش کاروتنوئید در مدت انبارداری احتمالاً می‌تواند ناشی از به تأخیر انداختن پیری و به حداقل رساندن فعالیت آنزیم‌های مانند پلی‌گالاکتروناز و پلی‌فنل‌اکسیداز باشد که این آنزیم‌ها می‌توانند موجب تخریب کاروتنوئید در مدت انبارداری شوند (Singh et al., 2011). (Gupta et al., 2011). (1993) نیز گزارش کردند که کاربرد پیش از برداشت کلراید کلسیم موجب افزایش کاروتنوئید کل در میوه‌های انبه گردید. در میوه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با کلراید کلسیم نیز میزان کاروتنوئید در اواخر دوره نگهداری

جدول ۳- اثر محلول‌پاشی درختان مرکبات با غلظت‌های مختلف کلراید کلسیم بر فعالیت آنزیم SOD گوشت و پوست در زمان برداشت و پایان انبارداری میوه

Table 3. Effect of citrus trees spray with different CaCl<sub>2</sub> concentrations on SOD activity of peel and pulp of fruits at the beginning and the end of storage

فعالیت SOD پوست (یونیت/گرم وزن تر در دقیقه) SOD activity of peel (U/gFW)		فعالیت SOD گوشت (یونیت/گرم وزن تر در دقیقه) SOD activity of pulp (U/gFW)		کلراید کلسیم (درصد) Calcium Chloride (%)	رقم Variety
پایان انبارداری End of storage	شروع انبارداری Beginning of storage	پایان انبارداری End of storage	شروع انبارداری Beginning of storage		
7.9 <sup>ab</sup>	1.8 <sup>f</sup>	1.1 <sup>c</sup>	7.3 <sup>cd*</sup>	0	
11.8 <sup>a</sup>	4.4 <sup>ef</sup>	2.6 <sup>bc</sup>	7.9 <sup>cd</sup>	1	تامسون
8.1 <sup>ab</sup>	8.3 <sup>bc</sup>	8.8 <sup>a</sup>	8.3 <sup>bcd</sup>	2	Thomson
10.9 <sup>a</sup>	5.5 <sup>de</sup>	11.3 <sup>a</sup>	10.7 <sup>ab</sup>	4	
20.9	15.87	24.39	16.79		C.V. (%)
2.3 <sup>b</sup>	5.9 <sup>cd</sup>	1.5 <sup>c</sup>	10.3 <sup>ab</sup>	0	
2.2 <sup>b</sup>	7.3 <sup>cd</sup>	2 <sup>bc</sup>	13.4 <sup>ab</sup>	1	مورو
11.5 <sup>a</sup>	8.5 <sup>ab</sup>	8.5 <sup>a</sup>	15.5 <sup>a</sup>	2	Moro
11.1 <sup>a</sup>	9.1 <sup>ab</sup>	11.1 <sup>a</sup>	13.4 <sup>ab</sup>	4	
25.3	13.46	30.2	18.29		C.V. (%)
8.2 <sup>ab</sup>	5.1 <sup>def</sup>	7.2 <sup>ab</sup>	13.5 <sup>d</sup>	0	
10.7 <sup>a</sup>	12.9 <sup>a</sup>	8.4 <sup>a</sup>	7.1 <sup>cd</sup>	1	پیج
10.8 <sup>a</sup>	10.1 <sup>ab</sup>	11.7 <sup>a</sup>	10.3 <sup>ab</sup>	2	Page
12.1 <sup>a</sup>	12.3 <sup>a</sup>	9.5 <sup>a</sup>	8 <sup>cd</sup>	4	
15.58	17.05	27.58	31.3		C.V. (%)

\* در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

\* Mean in each column with the same letter is not significantly different at 1% of probability level.

مرحله سبز تا قبل از بلوغ سبز و سپس کاهش تارنگ‌گیری کامل و رسیدن بود.

#### آسکوربات پراکسیداز (APX)

نتایج سنجش فعالیت آنزیم APX بافت گوشت و پوست در زمان برداشت و پایان انبارداری در جدول (۴) آمده است. در زمان برداشت فعالیت این آنزیم در میوه‌های شاهد گوشت رقم تامسون و پوست رقم مورو بالاتر از میوه‌های تیمار شده با کلسیم بود. در سایر ارقام فعالیت این آنزیم تحت تیمارها افزایش یافت و بیشتر از شاهد بود، ولی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد. همچنین با این که در پوست دامنه فعالیت آنزیم در پایان انبارداری در ارقام پرتقال تامسون، مورو و نارنگی رقم پیچ به ترتیب از ۱/۳ تا ۲/۱، ۰/۹ تا ۱/۸ و ۱/۳ تا ۳/۶ واحد بر گرم وزن تازه بود، ولی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند.

رسیدن و پیری میوه‌ها با واکنش‌های اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد همراه است که حفظ سطوح بالای آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی اهمیت زیادی در به تأخیر انداختن پیری بافت میوه دارد (Jimenez *et al.*, 2002). در این پژوهش کاربرد کلراید کلسیم موجب بالا بردن میزان فعالیت SOD در مدت انبارداری شد. اثر کلراید کلسیم روی فعالیت آنزیم SOD در مرکبات کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. در سایر میوه‌ها از جمله میوه سیب رقم رد دلشس، کاربرد کلراید کلسیم ۴ درصد به همراه تیمار آب گرم موجب افزایش سفتی میوه و فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT در مقایسه با تیمار شاهد گردید (Rabiei *et al.*, 2011). این که در میوه‌های شاهد، فعالیت SOD مدت رسیدن تا رسیدگی کامل میوه در انبار کاهش یافته است، مطابق با یافته‌های Zushi *et al.* (2009) مبنی بر افزایش فعالیت SOD در پوست و گوشت گیاه گوجه‌فرنگی از

جدول ۴- اثر محلول پاشی درختان مرکبات با غلظت‌های مختلف کلراید کلسیم بر فعالیت آنزیم APX گوشت و پوست در زمان برداشت و پایان انبارداری میوه

Table 4. Effect of citrus trees spray with different CaCl<sub>2</sub> concentrations on APX activity of peel and pulp of fruits at the beginning and the end of storage

فعالیت APX پوست (یونیت/گرم وزن تر در دقیقه) APX activity of peel (U/gFW min <sup>-1</sup> )		فعالیت APX گوشت (یونیت/گرم وزن تر در دقیقه) APX activity of pulp (U/gFW min <sup>-1</sup> )		کلراید کلسیم (درصد) Calcium Chloride (%)	رقم Variety
پایان انبارداری End of storage	شروع انبارداری Beginning of storage	پایان انبارداری End of storage	شروع انبارداری Beginning of storage		
1.3 <sup>a</sup>	0.2 <sup>a</sup>	1.6 <sup>a</sup>	0.7 <sup>ab*</sup>	0	تامسون Thomson
1.5 <sup>a</sup>	0.6 <sup>a</sup>	1.5 <sup>a</sup>	0.4 <sup>ab</sup>	1	
1.4 <sup>a</sup>	0.5 <sup>a</sup>	2.6 <sup>a</sup>	0.5 <sup>ab</sup>	2	
2.1 <sup>a</sup>	0.7 <sup>a</sup>	3.2 <sup>a</sup>	0.5 <sup>ab</sup>	4	
30.6	31.81	28.5	26.59		C.V. (%)
0.9 <sup>a</sup>	0.8 <sup>a</sup>	2.2 <sup>a</sup>	0.2 <sup>b</sup>	0	مورو Moro
1.4 <sup>a</sup>	0.6 <sup>a</sup>	1.6 <sup>a</sup>	0.5 <sup>ab</sup>	1	
1.5 <sup>a</sup>	0.6 <sup>a</sup>	1.5 <sup>a</sup>	0.6 <sup>ab</sup>	2	
1.8 <sup>a</sup>	0.6 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>	0.6 <sup>ab</sup>	4	
27.8	32.43	35.13	30.2		C.V. (%)
2 <sup>a</sup>	0.4 <sup>a</sup>	1.5 <sup>a</sup>	0.4 <sup>ab</sup>	0	پیچ Page
1.4 <sup>a</sup>	0.6 <sup>a</sup>	1.3 <sup>a</sup>	0.6 <sup>ab</sup>	1	
1.3 <sup>a</sup>	0.6 <sup>a</sup>	3.1 <sup>a</sup>	0.9 <sup>a</sup>	2	
3.6 <sup>a</sup>	0.7 <sup>a</sup>	2.3 <sup>a</sup>	0.8 <sup>ab</sup>	4	
28.99	40.47	57.73	35.97		C.V. (%)

\* در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

\* Mean in each column with the same letter is not significantly different at 1% of probability level.

مدت انبارداری در هر دو بافت ارقام مورد مطالعه افزایش چشمگیری داشته است (فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهش یافته است)، ولی در هر مرحله  $IC_{50}$  در میوه‌های شاهد بیشتر بود (جدول ۵). بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به رقم تامسون در زمان برداشت و در میوه‌های تیمار شده با غلظت بالای کلراید کلسیم بود. با این وجود، در مدت انبارداری تفاوت معنی‌داری با سایر غلظت‌های بکار رفته نداشت. کم‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پایان انبارداری و در گوشت میوه‌های رقم تامسون و پوست رقم مورو دیده شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوشت و پوست میوه رقم پیچ به مراتب کمتر از سایر ارقام بود و در مدت انبارداری تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت، ولی در ارقام پرتقال تامسون و مورو تیمار کلراید کلسیم فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در سطح بالایی حفظ نمود.

گزارش شده است که بالا بودن فعالیت آنزیم APX نقش مهمی در حذف و یا خنثی کردن رادیکال پراکسید هیدروژن دارد (Harinasut *et al.*, 2003). همچنین در گزارشی مشخص شد که فعالیت APX در تمام گیاهان تحت تیمار کلراید کلسیم بالا بود و در حالتی که در تلفیق با سدیم کلراید استفاده شد افزایش بیشتری را نشان داد (Abdul Jaleel *et al.*, 2007). به نظر می‌رسد فعالیت آنزیم در پایان انبارداری و با پیر شدن میوه افزایش یافته است که بیانگر نقاط اوج تولید رادیکال سوپراکسید در میوه است. افزایش فعالیت آنزیم در حقیقت پاسخ دفاعی موقتی به تنش اکسیداتیو شدیدتر است. در این حالت میوه برای جلوگیری از آسیب مکانیزم دفاعی خودش را افزایش می‌دهد (Hornero-Mendez *et al.*, 2002).

#### اثر کلراید کلسیم بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوشت و پوست میوه

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقدار  $IC_{50}$  در

جدول ۵- اثر محلول پاشی درختان مرکبات با غلظت‌های مختلف کلراید کلسیم بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوشت و پوست میوه در مدت انبارداری

Table 5. Effect of citrus trees spray with different  $CaCl_2$  concentrations on  $IC_{50}$  content of peel and pulp in fruits during storage

میزان $IC_{50}$ پوست (میلی‌گرم)			میزان $IC_{50}$ گوشت (میلی‌گرم)			کلراید کلسیم (درصد)	مدت انبارداری (روز)
$IC_{50}$ content of peel (mg)			$IC_{50}$ content of pulp (mg)				
پیچ	مورو	تامسون	پیچ	مورو	تامسون		
Page	Moro	Thomson	Page	Moro	Thomson		
9.13 <sup>d</sup>	8.91 <sup>fg</sup>	9.18 <sup>cd</sup>	9.02 <sup>d</sup>	8.88 <sup>de</sup>	10.77 <sup>de*</sup>	0	0
8.95 <sup>d</sup>	9.01 <sup>fg</sup>	2.8 <sup>d</sup>	9.25 <sup>d</sup>	6.86 <sup>ef</sup>	7.95 <sup>e</sup>	1	
8.99 <sup>d</sup>	8.79 <sup>g</sup>	9.04 <sup>cd</sup>	9.73 <sup>d</sup>	5.78 <sup>ef</sup>	10.2 <sup>de</sup>	2	
3.17 <sup>e</sup>	8 <sup>g</sup>	3.46 <sup>c</sup>	3.54 <sup>e</sup>	5.53 <sup>f</sup>	0.25 <sup>f</sup>	4	
18.36 <sup>abc</sup>	21.49 <sup>b</sup>	22.67 <sup>a</sup>	15.18 <sup>c</sup>	21.49 <sup>a</sup>	26.28 <sup>b</sup>	0	30
19.31 <sup>a</sup>	12.88 <sup>d</sup>	11.54 <sup>b</sup>	21.78 <sup>a</sup>	12.88 <sup>c</sup>	12.37 <sup>cd</sup>	1	
17.9 <sup>abc</sup>	12.43 <sup>d</sup>	12.03 <sup>b</sup>	20.96 <sup>ab</sup>	12.43 <sup>c</sup>	12.57 <sup>cd</sup>	2	
17.8 <sup>abc</sup>	11.59 <sup>ef</sup>	12.13 <sup>b</sup>	21.64 <sup>ab</sup>	11.59 <sup>cd</sup>	12.46 <sup>cd</sup>	4	
18.56 <sup>ab</sup>	31.81 <sup>a</sup>	20.66 <sup>a</sup>	21 <sup>ab</sup>	18.34 <sup>ab</sup>	32.48 <sup>a</sup>	0	60
16.39 <sup>c</sup>	14.72 <sup>cd</sup>	13.04 <sup>b</sup>	19.67 <sup>ab</sup>	16.09 <sup>b</sup>	14.56 <sup>c</sup>	1	
16.91 <sup>bc</sup>	15.61 <sup>c</sup>	12.42 <sup>b</sup>	18.78 <sup>b</sup>	17.16 <sup>b</sup>	12.91 <sup>cd</sup>	2	
17.76 <sup>abc</sup>	15.21 <sup>cd</sup>	12.66 <sup>b</sup>	21.34 <sup>ab</sup>	16.32 <sup>b</sup>	14.2 <sup>c</sup>	4	
4.86	6.59	9.93	6.26	8.39	6.82		C.V. (%)

\* در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

\* Mean in each column with the same letter is not significantly different at 1% of probability level.

گزارش‌های قبلی نیز به بالا بودن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پوست و گوشت در ارقام مختلف مرکبات (پرتقال ناول، لمون، گریپ‌فروت، پرتقال والنسیا و بکرایی) اشاره نموده‌اند (Alicia *et al.*, 2005). کلسیم با به تأخیر انداختن رسیدن و پیری میوه‌ها نقش مهمی در حفظ آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی از جمله ترکیبات فنلی، کاروتنوئیدها و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی دارد. این ترکیبات نقش مهمی در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل ایفا می‌کنند. در آزمایش حاضر به نظر می‌رسد کلراید کلسیم با حفظ و یا افزایش آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پوست و گوشت میوه‌ها شده است. محلول پاشی سایر درختان میوه از جمله سیب و پاپایا با کلراید کلسیم نیز موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌های درختان تیمار شده در مقایسه با میوه‌های درختان شاهد در پایان انبارداری گردید (Madani *et al.*, 2016; Sepahvand *et al.*, 2016).

به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود. میزان کاروتنوئید گوشت میوه هر سه رقم با افزایش غلظت کلراید کلسیم در مدت انبارداری از شاهد بالاتر بود. فعالیت آنزیم SOD نیز در بافت گوشت و پوست میوه‌های محلول پاشی شده در زمان برداشت در هر سه رقم نسبت به شاهد بیشتر بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی (بر اساس مقدار IC<sub>50</sub>) بافت گوشت و پوست بسته به رقم و تیمار متفاوت بود. به‌طوری‌که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به رقم تامسون در زمان برداشت و در میوه‌های تیمار شده با غلظت بالای کلراید کلسیم بود. در مجموع، کلراید کلسیم به ویژه در غلظت‌های ۲ و ۴ درصد اثر بیشتری روی حفظ ترکیبات مفید میوه پرتقال‌های تامسون و مورو نسبت به نارنگی رقم پیچ داشت. استفاده از این ماده که از نوع کلردار است در جنوب ایران با خاک‌های قلیایی و شور توصیه نمی‌شود و بهتر است از منابع کلسیم بدون کلر استفاده شود.

### سپاس‌گزاری

این مقاله بخشی از پروژه تحقیقاتی با شماره مصوب ۸۸۰۱۳-۱۷-۱۷-۲ پژوهش‌گروه مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری (رامسر) است که از حمایت مالی آن واحد سپاس‌گزاری می‌شود.

### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که درصد کاهش وزن میوه‌های درختان هر سه رقم محلول پاشی شده با کلراید کلسیم در مدت انبارداری (به‌ویژه غلظت‌های ۲ و ۴ درصد)

### References

- Abdul Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. (2007). Water deficit stress mitigation by calcium chloride in *Catharanthus roseus*: Effects on oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60(1), 110-116.
- Alicia, M. R., Marina, V. A. and Fanny, C. P. (2005). The chemical composition and bioactive compounds of flour of orange (*Citrus sinensis*), tangerine (*Citrus reticulata*) and grapefruit (*Citrus paradisi*) peels cultivated in Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 55(3), 305-310.
- Asensio, A. C., Gil-Monreal, M., Pires, L., Gogorcena, Y., Aparicio-Tejo, P. M. and Moran, J. F. (2012). Two Fe-superoxide dismutase families respond differently to stress and senescence in legumes. *Journal of Plant Physiology*, 169(13), 1253-1260.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebens Wissen and Technology*, 28(1), 25-30.
- Donga, T., Xia, R., Xiao, Z., Wang, P. and Song, W. (2009). Effect of pre-harvest application of calcium and boron on dietary fibre, hydrolases and ultrastructure in 'Cara Cara' navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) fruit. *Scientia Horticulturae*, 121(3), 272-277.
- El-Hilali, F., Ait-Oubahou, A., Remah, A. and Akhayat, O. (2004). Effect of preharvest sprays of Ca and K on quality, peel pitting and peroxidases activity of 'Fortune' mandarin fruit in low temperature storage. *Acta Horticulturae*, 632(40), 309-315.

- Fatahi Moghadam, J., Seyed Ghasemi, S. E. and Najafi, K. (2018). Evaluation of fruit physico-chemical characteristics of new mandarins Noushin (*Citrus reticulata* cv. Noushin) and Shahin (*Citrus reticulata* cv. Shahin) during different harvesting times. *Plant Productions*, 40(4), 1-8. [In Farsi]
- Ferguson I.B. and Boyd L.M. (2002). Inorganic nutrients and fruit quality. In: Knee, M. (Ed.), *Fruit quality and its biological basis* (pp. 17-45). UK: Sheffield Academic Press.
- Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59(2), 309-314.
- Guimaraes, F. V. A., De Lacerda, C. F., Marques, E. C., De Miranda, M. R. A., De Abreu, C. E. B., Prisco, J. T. and Gomes, E. (2011). Calcium can moderate changes on membrane structure and lipid composition in cowpea plants under salt stress. *Plant Growth Regulation*, 65(1), 55-63
- Gupta, N., Jawandha, S. K. and Singh Gill, P. (2011). Effect of calcium on cold storage and post-storage quality of peach. *Journal of Food Science and Technology*, 48(2), 225-229.
- Harinasut, P., Poon Sopa, D., Roengmongkol, K. and Charoensataporn, R. (2003). Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar. *Science Asia*, 29, 109-113.
- Holb, I. J., Balla, B., Vamos, A. and Gall, J. M. (2012). Influence of preharvest calcium applications, fruit injury, and storage atmospheres on postharvest brown rot of apple. *Postharvest Biology and Technology*, 67(5), 29-36.
- Hornero-Mendez, D., Gallardo-Guerrero, L., Jaren-Galan, M. and Minguez-Mosquera, M. I. (2002). Differences in the activity of superoxide dismutase, polyphenol oxidase and Cu-Zn content in the fruits of gordal and manzanilla olive varieties. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(1-2), 113-120.
- Jang, H. D., Chang, T. C. and Hsu, C. L. (2010). Antioxidant potentials of buntan pumelo (*Citrus grandis* Osbeck) and its ethanolic and acetified fermentation products. *Food Chemistry*, 118(3), 554-558.
- Jimenez, A., CressenKular, G., Firmin, B. J., Robinson, S., Verhoeyen, M. and Mullineaux, P. (2002). Changes in oxidative process and components of the antioxidant system during tomato fruit ripening. *Planta*, 214(5), 751-758.
- Joyce, D. C., Shorter, A. J. and Hockings, P. D. (2001). Mango fruit calcium levels and the effect of postharvest calcium infiltration at different maturities. *Scientia Horticulturae*, 91(1-2), 81-99.
- Khalaj, K., Ahmadi, N. and Souri, M. K. (2017). Improvement of postharvest quality of Asian pear fruits by foliar application of boron and calcium. *Horticulturae*, 3(1), 1-8.
- Kou, L., Yang, T., Luo, Y., Liu, X., Huang, L. and Codling, E. (2014). Pre-harvest calcium application increases biomass and delays senescence of broccoli microgreens. *Postharvest Biology and Technology*, 87(1), 70-78.
- Li, Z. H., Peng, J. Y., Wen, X. and Guo, H. W. (2012). Gene network analysis and functional studies of senescence-associated genes reveal novel regulators of Arabidopsis leaf senescence. *International Journal of Plant Biology*, 54(8), 526-539.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
- Lin, K. H., Chiou, Y. K., Hwang, S. Y., Chen, L. F. O. and Lo, H. F. (2008). Calcium chloride enhances the antioxidative system of sweet potato (*Ipomoea batatas*) under flooding stress. *Annals of Applied Biology*, 152(2), 157-168.
- Lliso, I., Tadeo, F. R., Phinney, B. S., Wilkerson, C. G. and Talon, M. (2007). Protein changes in the albedo of citrus fruits on post-harvesting storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 55(22), 9047-9053.
- Madani, B., Mirshekari, A. and Yahia, E. (2016). Effect of calcium chloride treatments on calcium content, anthracnose severity and antioxidant activity in papaya fruit during ambient storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(9), 2963-2968.

- Malakouti, M. J., Tabatabaei, S. J., Shahabi, A. and Fallahi, E. (1999). Effects of calcium chloride on apple fruit quality of trees grown in calcareous soil. *Journal of Plant Nutrition*, 22(9), 1451-1454
- Moraga, M. L., Moraga GFitto, P. J. and Martinez-Navarrete, N. (2009). Effect of vacuum impregnation with calcium lactate on the osmotic dehydration kinetics and quality of osmodehydrated grapefruit. *Journal of Food Engineering*, 90(3), 372-379.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.
- Nazari, Z., Hemmati K. H., Rabiei, V., Alizadeh, M. and Khazayipol, Y.G. (2016). Summer-pruning and pre-harvest calcium chloride sprays affect storability in Kiwifruit cv. Hayward. *Plant Productions*, 39(3), 77-90. [In Farsi]
- Obeed, R. S. and Harhash, M. M. (2006). Impact of postharvest treatments on storage life and quality of "Mexican" lime. *Journal of Advance Agricultural Research*, 11(3), 533-549.
- Orozco-Cardenas, M. L., Narvaez-Vasquez, J. and Ryan, C. A. (2001). Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate. *Plant Cell*, 13(1), 179-191.
- Pila, N., Gol, N. B. and Ramana Rao, T. V. (2010). Effect of postharvest treatments on physicochemical characteristics and shelf life of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Fruits during Storage. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 9(5), 470-479.
- Rabiei V., Ehaghi, S., Aazami, M. A. and Sharafi, Y. (2011). Combined effects of hot air and calcium chloride on quality and antioxidant enzymes activity in 'red delicious' apple fruits. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(19), 4954-4961
- Rapisarda, P., Bianco, M., Pannuzzo, P. and Timpanaro, N. (2008). Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Postharvest Biology and Technology*, 49(3), 348-354.
- Sepahvand, E., Ghasemnejad, M., Fatahi Moghadam, M. R., Talaie, A. R. and Ali Askari Sarcheshmeh, M. (2016). Effect of training system and calcium chloride foliar spray on storability of apple fruit cvs. 'Gala' and 'Delbarestival'. *Journal of Crops Improvement*, 18(3), 553-555. [In Farsi]
- Shiri, M. A., Ghasemnezhad, M., Fatahi Moghadam, J. and Ebrahimi, R. (2015). Effect of CaCl<sub>2</sub> sprays at different fruit development stages on postharvest keeping quality of "Hayward" Kiwifruit. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(4), 624-635.
- Singh, B. P., Tandon, D. K. and Kalra, S. K. (1993). Changes in postharvest quality of mangoes affected by preharvest application of calcium salts. *Scientia Horticulturae*, 54(3), 211-219.
- Supapvanich, S., Arkajak, R. and Yalai, K., (2012). Maintenance of postharvest quality and bioactive compounds of fresh-cut sweet leaf bush (*Sauropus androgynus* L. Merr.) through hot CaCl<sub>2</sub> dips. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(12), 2662-2670.
- Wong, D. W. S., Camirand, M. W. and Pavlath, A. E. (1994). Development of edible coatings for minimally processed fruits and vegetables. In Krochta, J. M., Baldwin E. A. and Nisperos-Carriedo, M.O. (Eds.), *Edible coatings and films to improve food quality* (pp. 65-88). Lancaster, NH, USA: Technomic Publishing Co.
- Yahia, E. M. (2010). *The contribution of fruit and vegetable consumption to human health phytochemicals: Chemistry, nutritional and stability*. New York: Wiley.
- Zushi, K., Matsuzoe, N. and Kitano, M. (2009). Developmental and tissue-specific changes in oxidative parameters and antioxidant systems in tomato fruits grown under salt stress. *Scientia Horticulturae*, 122(3), 362-368.

