حفظ کیفیت پس از برداشت و کنترل پوسیدگی قارچی فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annum* L.) توسط پوشش خوراکی کیتوزان

میثم محمدی[1]، اورنگ خادمی[2*]، مهدی صیدی[1] و مسعود بازگیر[1]

[1] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایران، [2]گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۴/۱۵)

چکیده:

کیتوزان علاوه بر خاصیت ضدمیکروبی امروزه به عنوان یک پوشش خوراکی جهت افزایش ماندگاری انواع میوه‌ها و سبزی‌ها کاربرد دارد. چروکیدگی، از دست دادن رطوبت و آلودگی‌های قارچی ناشی از جنس‌های *Alternaria* و *Botrytis* از مهمترین مشکلات پس از برداشت میوه فلفل دلمه‌ای می‌باشند، بنابراین در این پژوهش اثر کیتوزان در غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد بر حفظ صفات کیفی و کنترل عوامل قارچی میوه فلفل دلمه‌ای در طی انبارداری مورد بررسی قرار گرفت. به همین منظور، میوه‌ها در غلظت‌های مختلف پوشش خوراکی کیتوزان غوطه‌ور شده و پس از خشک شدن به مدت ۲۸ روز در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵ درصد نگهداری شدند. میوه‌ها طی انبار از نظر صفاتی مانند درصد کاهش وزن، شدت بیماری، بازارپسندی، سفتی، مواد جامد محلول، اسید قابل تیتر، نسبت قند به اسید، مقدار اسیدآسکوربیک، وزن خشک، نشت یونی، مقدار فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، مقدار کلروفیل و کاروتنوئید و میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که پس از دوره انبارمانی نمونه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف کیتوزان در مقایسه با شاهد کاهش وزن و بیماری قارچی کمتری نشان دادند و دارای بازارپسندی، سفتی بافت، مقدار فنل کل، درصد اسید قابل تیتر، مقدار مواد جامد محلول و فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتری بودند. اثر مثبت تیمار کیتوزان با افزایش غلظت نیز بیشتر شد. باتوجه به نتایج این پژوهش استفاده از این پوشش خوراکی به عنوان یک برنامه کاربردی جهت افزایش ماندگاری میوه فلفل دلمه‌ای توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: فلفل دلمه‌ای، حفظ کیفیت، انبارمانی، کیتوزان، آنتی‌اکسیدان.

مقدمه:

فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum* L.) حاوی مقادیر زیادی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و مواد ضروری از قبیل ویتامین ث، کاروتنوئیدها، ترکیبات فنولیک و عناصری همانند پتاسیم می باشد. این مواد در مجموع ارزش غذایی بالای میوه فلفل دلمه ای را تشکیل می‌دهند (Bosland and Votava, 2000). مطالعات و بررسی‌ها نشان می‌دهد که ترکیبات و مواد موجود در سبزیجات از قبیل فیبر، پتاسیم و آنتی‌اکسیدان‌ها ارتباط زیادی با کاهش ابتلا به بیماری‌های مختلف در انسان دارند (Rimm *et al*., 1993).

بیشتر محصولات باغبانی به دلیل دارا بودن فعالیت متابولیکی از زمان برداشت تا زمان مصرف از نظر کمی و کیفی ضایعاتی دارند که میزان آن در کشورهای توسعه‌یافته بطور متوسط بین ۵ تا ۲۵ درصد و در کشورهای در حاصل توسعه ۲۵ تا ۵۰ درصد می‌باشد (راحمی، ۱۳۸٤) . کیفیت ظاهری شامل صفاتی از قبیل شکل، رنگ، اندازه، شادابی و طراوت

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: o.khademi@shahed.ac.ir

میوه، نداشتن عوارض فیزیولوژیکی و بیماری‌های میکروبی، نقش بسیار مهمی در بازارپسندی میوه‌ها دارد (Heaney, 2000). بیشتر مواد غذایی از جمله سبزی‌ها و میوه‌های تازه در معرض انواع آلودگی‌های میکروبی قرار دارند، بنابراین همواره نیازمند راهی برای کنترل و جلوگیری از گسترش این آلودگی-ها می‌باشند. یکی از این راهکارها استفاده از پوشش‌های خوراکی ضدمیکروبی همانند کیتوزان (Chitosan) و مشتقات آن می باشد (فینی‌دخت و همکاران، ۱۳۹۱).

کیتوزان یک پلی‌ساکارید کاتیونی است که منابع عمده تولید آن دیواره سلولی قارچ‌ها و پوست خارجی سخت‌پوستان می‌باشد (Shahidi *et al*., 1999). کیتوزان به دلیل مزایا و کاربردهای زیادی که در گستره وسیعی از صنایع دارد در سال-های اخیر مورد توجه زیادی قرار گرفته است. خاصیت ضدمیکروبی کیتوزان طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها که شامل انواع قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها می‌شوند را در بر می‌گیرد. همچنین کیتوزان به عنوان یک پوشش با ممانعت فیزیکی، از نفوذ و انتقال رطوبت و گازها جلوگیری کرده و در نتیجه موجب افزایش ماندگاری و بالا بردن ایمنی محصولات غذایی از جمله میوه‌ها می‌شود (مستوفی و همکاران، ۱۳۹۰). در پژوهشی مشابه Xing و همکاران (۲۰۱۱) اثر کیتوزان همراه با پوشش‌های دیگر در میوه فلفل دلمه‌ای را مورد بررسی قرار داده و گزارش نمودند که پوشش کیتوزان موجب حفظ بهتر بازارپسندی و بهبود خصوصیات کیفی میوه فلفل دلمه‌ای شامل مقدار ویتامین C، مقدار کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در طول دوره انبارداری شد.

اثر کیتوزان بر کنترل بیماری‌های پس از برداشت گوجه فرنگی بررسی و گزارش شده است که پوشش کیتوزان فعالیت قارچ های عامل پوسیدگی خاکستری (*Botrytis cinerea*) و کپک آبی (*Penicillium expansum*) را در طول دوره پس از برداشت کنترل می‌کند. در این بین میسیلیوم قارچ کپک خاکستری به کیتوزان حساسیت بیشتر داشته و رشد این قارچ به طور کامل در غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان ممانعت شد (Liu *et al*., 2006). در گزارشی دیگر Hernandez-Monoz و همکاران (۲۰۰۸) اثر تیمار کیتوزان بر فاکتورهای کیفی و بیماری‌های قارچی میوه توت‌فرنگی را در طی دوره پس از برداشت بررسی نمودند و نتیجه گرفتند که تیمار کیتوزان کاهش سفتی، تغییر رنگ و شیوع آلودگی قارچی در میوه توت‌فرنگی را به تأخیر می‌اندازد. اثر بهبود بخش کیتوزان در کیفیت انبارمانی میوه‌های گیلاس و انگور نیز گزارش شده است (فینی‌دخت و همکاران، ۱۳۹۱ و مستوفی و همکاران، ۱۳۹۰).

میوه فلفل دلمه‌ای حساس به سرمازدگی است و دمای بهینه نگهداری آن دمای ۱۰-۸ درجه‌ی سانتی گراد می‌باشد. منتهی در این دما از دست دادن رطوبت سریع بوده و فعالیت متابولیکی میوه و عوامل بیماری‌زا بالا می‌باشد. به همین دلیل در این دما چروکیدگی و پوسیدگی میوه سریع اتفاق افتاده و عمر پس از برداشت را محدود می‌نماید (Xing *et al*., 2011). بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر غلظت‌های مختلف پوشش خوراکی کیتوزان بر کنترل پوسیدگی ناشی از قارچ‌های *Botrytis* Sp. و *Alternaria* Sp. و حفظ کیفیت میوه فلفل دلمه‌ای در طی دوره انبارمانی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها:

بررسی اثر تیمار کیتوزان روی رشد عوامل قارچی در محیط درون شیشه‌ای: در این آزمایش ابتدا عوامل آلودگی قارچی میوه فلفل دلمه‌ای در انبار که شامل قارچ‌های جنس *Botrytis* Sp. و *Alternaria* Sp. بودند از روی میوه‌های آلوده شده بر اساس مورفولوژی قارچ جداسازی شدند. برای این منظور عوامل آلودگی قارچی فلفل دلمه‌ای بوسیله سوزن استریل از روی میوه‌های آلوده جداسازی و در محیط کشت PDA تکثیر یافتند. ۴۸ ساعت پس از کشت عوامل قارچی در محیط کشت PDA، محتوای قارچی داخل هر پتری‌دیش در داخل آب مقطر حل گردیده و سپس از پارچه نخی جهت جداسازی زوائد و میسیلیوم قارچ عبور داده شد. سوسپانسیون تهیه شده دارای غلظت نامشخصی از اسپورهای قارچ *Alternaria* و *Botrytis* بود که بوسیله لام هموسیتومتر غلظت اسپورها مشخص گردید

و به نسبت لازم رقیق‌سازی انجام گرفت. غلظت نهایی سوسپانسیون ۲×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر تنظیم شد (Edirisinghe *et al*., 2012) . سپس در محیط درون شیشه‌ای *(in vitro)* اثر غلظت‌های صفر، ۰/۵، یک، ۱/۵ و دو درصد وزنی- حجمی کیتوزان بر کنترل این قارچ‌ها در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. غلظت‌های مختلف این پوشش بوسیله حل کردن مقدار لازم از پودر کیتوزان در اسید استیک ۰/۵ درصد با کمی حرارت تهیه گردید. پس از حل شدن کامل کیتوزان و تهیه یک محلول یکنواخت، pH محلول بوسیله سود یک نرمال به ۵/۷ رسانده شد. محلول تهیه شده به مدت ۲٤ ساعت در یک فضای استریل نگهداری شد و سپس جهت اعمال تیمارها مورد استفاده قرار گرفت (Xing *et al*., 2011) .

بررسی اثر تیمار کیتوزان روی رشد عوامل قارچی میوه فلفل: نمونه‌های فلفل دلمه‌ای رقم کالیفرنیا واندر (California wonder) از یک مزرعه تجاری، واقع در دانشگاه ایلام در مرحله بلوغ مناسب برداشت و برای انجام آزمایش به آزمایشگاه باغبانی دانشگاه ایلام منتقل شد. تعداد ۳۰ میوه به عنوان سه تکرار برای اندازه‌گیری شاخص‌ها در زمان برداشت اختصاص یافت. برای این کار، تعداد ۱۵۰ عدد میوه به مدت پنج دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۱ درصد غوطه ور شده و سپس توسط آب مقطر شستشو داده شدند. پس از آن میوه‌های ضدعفونی شده داخل سوسپانسیون قارچی (تهیه شده بر اساس روش ذکر شده) که حاوی اسپور قارچ‌های عامل آلودگی در فلفل دلمه‌ای بودند به مدت یک دقیقه غوطه‌ور گردیده و سپس در دمای اتاق خشک گردیدند. پس از تثبیت اسپورهای قارچی روی میوه‌ها (پس از گذشت ٦ ساعت) تعداد ۳۰ میوه سالم در داخل هر یک از غلظت‌های تهیه شده کیتوزان (صفر، ۰/۵، یک، ۱/۵ و دو درصد وزنی- حجمی) به مدت دو دقیقه غوطه‌ور شدند. میوه‌های پس از تیمار در دمای آزمایشگاه خشک شده و به مدت ۲۸ روز بدون هیچ‌گونه پوشش اضافی در داخل سبدهای پلاستیکی در انبار ۱۰ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۹۵ درصد نگهداری شدند. میوه‌ها پس از ۲۸ روز از انبار خارج شده و به مدت ٤۸ ساعت در دمای معمولی (۲۵ درجه سانتیگراد) و مشابه شرایط خرده-فروشی نگهداری شدند و سپس شاخص‌های کمی و کیفی میوه ارزیابی شد.

صفات مورد ارزیابی: کاهش وزن میوه‌ها بصورت اختلاف وزن میوه‌ها در زمان قبل از انبارمانی و پس از پایان انبارمانی برحسب درصد بوسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱گرم (مدل N0510066) محاسبه گردید. شدت بیماری قارچی میوه‌ها به صورت مشاهده‌ای و در محدوده صفر تا چهار نمره دهی شد (Nyanjage *et al*., 2005). صفر بدون آلودگی قارچی و چهار بیشترین شدت آلودگی را شامل شد. بازارپسندی میوه‌ها نیز به صورت مشاهده‌ای و در محدوده یک تا چهار تعیین شد. مبنای کاهش بازارپسندی میزان تغییر رنگ، نقصان ظاهر میوه و میزان چروکیدگی بافت میوه در نظر گرفته شد. نمره یک به کمترین و نمره چهار به بیشترین بازارپسندی اختصاص یافت.

سفتی بافت میوه با استفاده از دستگاه سفتی‌سنج دستی (مدلFT-011) و بر حسب کیلوگرم بر مترمربع، مقدار مواد جامد محلول با استفاده از دستگاه رفراکتومتر دستی (مدل ATC-1e) در دمای اتاق و برحسب درجه بریکس، درصد اسیدیته قابل تیتراسیون از طریق تیتر نمودن عصاره میوه با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH نهایی ۸/۲ و بر اساس غالبیت اسید سیتریک اندازه‌گیری شد. درصد ماده خشک بوسیله خشک کردن نمونه در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی گراد تا ثابت شدن وزن به دست آمد (شبانی و همکاران، ۱۳۹۰).

برای اندازه‌گیری مقدار اسیدآسکوربیک از روش تیتراسیون با محلول دی‌کلروفنل‌ایندوفنل استفاده شد (Ranganna, 1997). اندازه‌گیری فنل کل به روش معرف فولین سیوکالتیو انجام گرفت (شبانی و همکاران، ۱۳۹۰). برای این منظور یک گرم بافت میوه به کمک نیتروزن مایع پودر شده و ۱۰ میلی‌لیتر متانول خالص برای استخراج ترکیبات فنلی به آن اضافه شد. سپس عصاره‌ها در ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ ۱۲۵ میکرولیتر از محلول رویی با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میکرولیتر رسانیده شده و ۲۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین و پس از گذشت

پنج دقیقه ۲۰۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم اشباع نیز به آن اضافه شد. میزان جذب نمونه‌های حاصل پس از گذشت یک ساعت در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر(مدل S-3100) قرائت شد و میزان فنل کل نمونه‌ها بر اساس استاندارد اسیدگالیک محاسبه گردید.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت میوه از طریق خاصیت خنثی-کنندگی رادیکال آزاد DPPH (Diphenyl-2-picryl hydrazyl) تعیین گردید (Miliauskas *et al*., 2004). برای این منظور ۰/۲ گرم از بافت میوه بوسیله نیتروژن مایع در داخل هاون چینی پودر شد و سپس ۱۰ میلی‌لیتر متانول خالص به آن اضافه گردید و پس از هموژن شدن در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از عصاره متانولی بدست آمده با ۱۹۰۰ میکرولیتر محلول DPPH ۱۰۰ میکرومولار مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی به منظور رسیدن محلول به حالت یکنواخت قرار گرفت. میزان جذب نمونه‌ها در ۵۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر(مدل S-3100) قرائت و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH براساس فرمول زیر محاسبه شد.

$$DPPHsc = (1-(A_{sam}/ A_{con})) \times 100$$

که DPPHsc درصد بازدرندگی، A_{sam} میزان جذب (DPPH+ نمونه) و A_{con} میزان جذب DPPH می‌باشد.

برای اندازه گیری نشت یونی از قسمت های میانی میوه‌ها (بافت برونبر همراه با میانبر) تعداد ۸ دیسک بوسیله پانچ دستی برداشته و در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفتند. پس از ٤ ساعت شیک با سرعت۱۵۰دور در دقیقه هدایت الکتریکی اولیه (EC_1) محلول توسط دستگاه هدایت الکتریکی‌سنج (مدلMW301) قرائت گردید. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در داخل حمام آب گرم بادمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از سرد شدن، هدایت الکتریکی ثانویه (EC_2) نمونه‌ها اندازه‌گیری و با استفاده از فرمول زیر درصد نشت یونی محاسبه گردید (Sakaldas and Kaynas, 2011).

$$EL\% = (EC_1 / EC_2)\times 100$$

برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل a، b و کل و مقدار کاروتنویید میوه، یک گرم از بافت میوه در پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در داخل هاون چینی همگن شده و پس از سانتریفیوژ در ۵۰۰۰ دور به مدت ده دقیقه، جذب عصاره درطول موج‌های ٤۷۰، ٦٤٦ و ٦٦۳ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید و محاسبات با استفاده از فرمول-های زیر انجام شد (Xing *et al*., 2011):

(12/25A663-2/79A646) =کلروفیلa (میلی‌گرم برلیتر)

(21/50A646-5/10A663) = کلروفیلb (میلی‌گرم برلیتر)

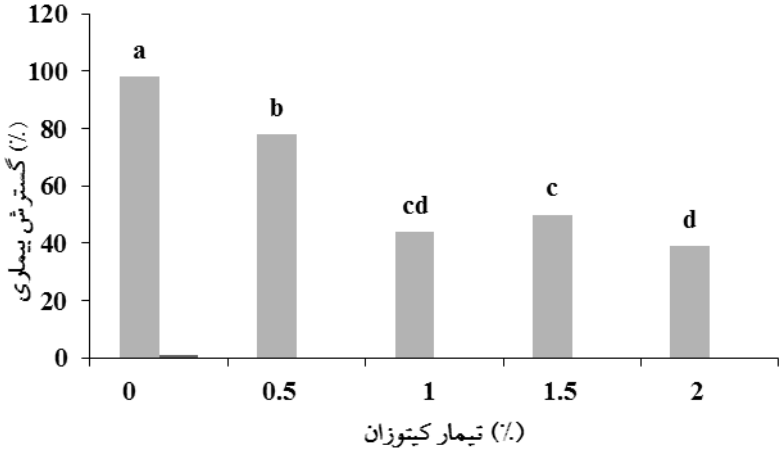
(کلروفیلb + کلروفیلa)=کلروفیل کل (میلی‌گرم برلیتر)

سنجش فعالیت آنزیمی کاتالاز بر اساس اندازه گیری تجزیه H_2O_2 و کاهش جذب در طول موج ۲٤۰ نانومتر با روش Xing و همکاران (۲۰۱۱) صورت گرفت. عصاره گیری آنزیمی با استفاده از دو گرم بافت میوه و توسط بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با pH=۷ انجام شد. مخلوط واکنش برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز شامل ۲/۸۷ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با pH= ۷، ۳۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب در زمان یک دقیقه ثبت و فعالیت آنزیمی بر مبنای ضریب خاموشی پراکسیدهیدروژن (39.4 $mM^{-1}cm^{-1}$) محاسبه شد. یک واحد فعالیت آنزیمی به عنوان مقدار آنزیم لازم برای تجزیه یک میکرومول پراکسیدهیدروژن در گرم وزن تر در مدت یک دقیقه تعریف شد.

تجزیه آماری: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. داده‌ها پس از جمع‌آوری و بررسی نرمال بودن توسط نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۲) تجزیه شده و برای مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری یک درصد استفاده شد.

نتایج:

بر اساس نتایج مطالعه اثر کیتوزان بر رشد عوامل قارچی در محیط درون شیشه‌ای، کمترین میزان رشد قارچ به ترتیب در



شکل۱- اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر کنترل عوامل پوسیدگی قارچی فلفل دلمه‌ای در شرایط کشت درون شیشه (میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند).

جدول ۱- تجزیه واریانس آزمایش اثر تیمار کیتوزان بر حفظ کیفیت پس از برداشت و کنترل پوسیدگی قارچی فلفل دلمه‌ای

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		کاهش وزن	بیماری	بازارپسندی	سفتی	مواد جامد محلول	اسید قابل تیتر	نسبت قند به اسید	وزن خشک	اسیدآسکوربیک
تیمار کیتوزان	۵	٦٤/٨٧**	۱۲/۱٦**	۱/۸۰**	۱/٥۰**	۰/۹۲**	۰/۰٤۷**	۲/٤٦**	۰/۱۹ ns	٤٤٥/۱۲**
خطای آزمایش	۱۲	۰/۲۹	۰/۰۳	۰/۰٤	۰/۰٤	۰/۰۹	۰/۰۳۳	۰/۱۲	۰/۲۰	٤٥/۰۱
ضریب تغییرات	-	٥/۹٥	۱۹/۰۳	۷/۷٤	۹/۲٦	٦/۱٦	٤/۹۷	۷/۷٥	۸/۳۱	۷/۸۳

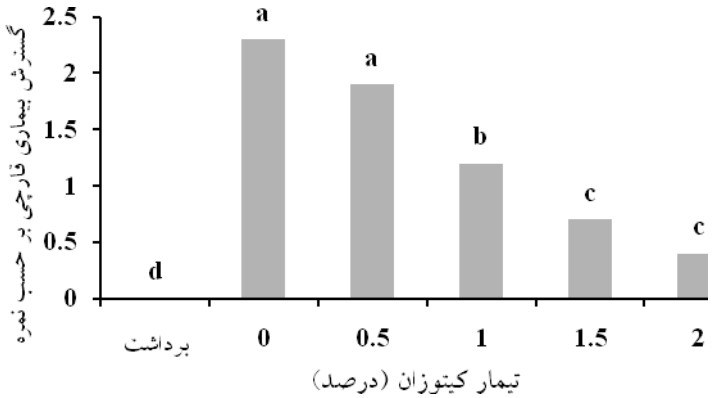
ادامه جدول ۱

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		فنل کل	آنتی‌اکسیدان	نشت یونی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنویید	کاتالاز
تیمار کیتوزان	۵	۹۰/۰۷**	٤٦٥/۷۸*	۲/۲۷**	۰/٦۱ ns	۰/۱۱ ns	۱/۲۲ ns	۰/۰۳ ns	۱۸۷/٦۳**
خطای آزمایش	۱۲	۱۱/٦٥	۹٦/۷٤	۰/٤۳	۱/٤۰	۰/۲٤	۲/۷۸	۰/۰۳	۲/٦۹
ضریب تغییرات	-	۱۲/۰٦	۱۳/۱۰	۱۰/٤۱	۲۸/۸۳	۲۳/۹۹	۲٦/۹٤	۳۱/۰۳	۱۱/۷۱

*** و ** معنی داری در سطح یک و پنج درصد آزمون دانکن و ns عدم معنی‌داری را نشان می‌دهد.**

غلظت‌های دو و یک درصد کیتوزان مشاهده شد که البته تفاوتی نیز بین غلظت‌های یک و ۱/۵ درصد کیتوزان از نظر درصد رشد عوامل قارچی مشاهده نشد. غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان نیز درصد رشد قارچ را در مقایسه با تیمار شاهد کاهش داد (شکل ۱).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار برای صفاتی چون شدت بیماری قارچی، درصد کاهش وزن، درجه بازارپسندی، سفتی بافت، مقدار مواد جامد محلول، درصد اسید قابل تیتر، نسبت قند به اسید، مقدار اسیدآسکوربیک، نشت یونی، مقدار فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدان و فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار ولی بر صفات درصد وزن خشک، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل غیر معنی‌دار بود (جدول ۱).



شکل ۲- اثر تیمار کیتوزان بر شدت بیماری قارچی میوه فلفل دلمه‌ای، پس از ۲۸ روز نگهداری در شرایط پس از برداشت، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین تیمارهای کیتوزان یک، ۱/۵ و دو درصد در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری شدت آلودگی قارچی در میوه فلفل دلمه‌ای را کاهش دادند. در این بین اثر تیمارهای کیتوزان ۱/۵ و دو درصد بیشتر از اثر تیمار کیتوزان یک درصد در کاهش شدت آلودگی قارچی میوه فلفل بود. بین شاهد و تیمار کیتوزان ۰/۵ درصد اختلاف معنی‌داری از نظر شدت بیماری مشاهده نشد (شکل ۲).

بیشترین درصد کاهش وزن در نمونه‌های شاهد مشاهده شد. اعمال تیمارهای کیتوزان در تمامی غلظت‌های استفاده شده منجر به کمتر نمودن نقصان وزن تر نمونه‌ها شد. با افزایش غلظت تیمار کیتوزان کاهش وزن کمتر شد به طوری که کمترین درصد کاهش وزن در تیمار ۲ درصد کیتوزان مشاهده شد (جدول ۲).

میزان بازارپسندی تمامی نمونه‌ها در طی دوره نگهداری در مقایسه با زمان برداشت کاهش یافت. ولی در پایان دوره انبارداری نمونه‌های تیمارهای کیتوزان ۱/۵ و دو درصد دارای بیشترین درجه بازارپسندی بودند. نمونه‌های تیمار کیتوزان یک درصد نیز دارای درجه بازارپسندی بهتری در مقایسه با شاهد بودند ولی بین نمونه‌های تیمار کیتوزان ۰/۵ درصد و شاهد اختلاف معنی‌داری از نظر درجه بازارپسندی مشاهده نشد (جدول ۲).

سفتی بافت تمامی نمونه‌ها در طی دوره انبارداری در مقایسه با زمان برداشت کاهش معنی‌داری نشان داد. منتهی در پایان دوره انبارداری نمونه‌های تیمارهای کیتوزان ۱/۵ و دو درصد به طور معنی‌داری دارای سفتی بافت بیشتری در مقایسه با شاهد بودند، ولی بین نمونه‌های تیمارهای کیتوزان ۰/۵ و یک درصد اختلاف معنی‌داری و شاهد اختلاف معنی‌داری از نظر میزان سفتی بافت مشاهده نشد (جدول ۲).

اسید قابل تیتر پس از ۲۸ روز انبارمانی در تمامی نمونه‌ها در مقایسه با مقدار اولیه کاهش یافت ولی در پایان دوره انبارمانی تیمارهای اعمال شده کیتوزان بدون اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر درصد اسید قابل تیتر را در مقایسه با شاهد بهتر حفظ نموده بودند (جدول ۲). در پایان دوره انبارداری اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های تیمارهای کیتوزان و شاهد از نظر مقدار مواد جامد محلول مشاهده نشد ولی در تمامی نمونه‌ها مقدار مواد جامد محلول در مقایسه با زمان برداشت به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۲). نسبت قند به اسید نیز از الگوی مشابه با درصد اسید قابل تیتر در این آزمایش برخوردار بود و در پایان دوره انبارداری نسبت قند به اسید تیمارهای کیتوزان به طور معنی‌داری بیشتر از نسبت قند به اسید نمونه‌های شاهد بودند.

در پایان دوره انبارداری نمونه‌های تیمار شده با کیتوزان های یک، ۱/۵ و دو درصد به طور معنی‌داری دارای مقدار اسیدآسکوربیک بیشتری در مقایسه با شاهد بودند. ولی در تمامی نمونه‌ها مقدار اسیدآسکوربیک در طول مدت انبارداری در مقایسه با زمان برداشت کاهش یافت. بین تیمارهای کیتوزان اختلاف معنی‌داری از نظر مقدار اسیدآسکوربیک مشاهده نشد.

جدول ۲- اثر تیمار کیتوزان بر خصوصیات کیفی و کمی میوه فلفل دلمه‌ای، پس از ۲۸ روز نگهداری در شرایط پس از برداشت،

شاخص تیمار	بازارپسندی (نمره)	کاهش وزن (٪)	سفتی (kg/m^2)	اسید قابل تیتر (٪)	مواد جامد محلول (Brix)	اسید/ قند
در برداشت	٤^{a}	۰ ^{e}	۳/۷۷^{a}	۱/۳٥^{a}	۳/۹٦^{b}	۲/۹٤^{c}
شاهد(۰)	۱/۸٦^{d}	۱۲/۸۷^{a}	۱/۸۱^{c}	۰/۹٦^{c}	٥/٥۰^{a}	۲/۷۰^{a}
کیتوزان۰/٥٪	۲^{dc}	۱۱/۷۷^{b}	۱/۹٦^{cb}	۱/۰۸^{b}	٥/٤۰^{a}	٤/۹۸^{b}
کیتوزان ۱٪	۲/۳۰^{c}	۱۰/۸۸^{cb}	۲/۱۹^{cb}	۱/۱٦^{b}	٥/۲۳^{a}	٤/٤۹^{b}
کیتوزان ۱/٥٪	۲/۷۰^{b}	۹/۹۳^{dc}	۲/۲٦^{b}	۱/۱۱^{b}	٥/۱۰^{a}	٤/٥۷^{b}
کیتوزان ۲٪	۲/۸۳^{b}	۹/۳٥^{d}	۲/۳۱^{b}	۱/۱۳^{b}	٥/۰٦^{a}	٤/٤۸^{b}

ادامه جدول ۲

شاخص تیمار	اسیدآسکوربیک (mg/100gr)	آنتی اکسیدان (٪)	فنل کل (mg/100gr)	نشت یونی (٪)	کاتالاز ($U.\ g^{-1}$)
در برداشت	۱۰۷/۲٦^{a}	۹۷^{a}	۳٦/٥۰^{a}	٤/۷۳^{b}	۲۸/٤٦^{a}
شاهد(۰)	۷۰/۲۳^{c}	٦۱^{C}	۲۰/۹۰^{d}	۷/۱۷^{a}	٦/۳۳^{d}
کیتوزان۰/٥٪	۸۰/۲٦^{cb}	٦٥/۳۳^{c}	۲۳/۸۰^{dc}	۷/۰٦^{a}	۸/٦٦^{dc}
کیتوزان ۱٪	۸۷/٦۰^{b}	۷٥/۳۰^{b}	۲۸/۲۰^{cb}	٦/۳۳^{a}	۱۰/۳۰^{c}
کیتوزان ۱/٥٪	۸٤/۱۰^{b}	۷٦/٦٦^{b}	۳۰/۸٦^{ba}	٦/٤۱^{a}	۱٥/۲۳^{b}
کیتوزان ۲٪	۸٤/۳۳^{b}	۷٥^{b}	۲۹/٤۳^{cb}	٦/۳۰^{a}	۱٥/۰۱^{b}

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

مقدار فنل کل نیز در طی دوره انبارداری در مقایسه با زمان برداشت کاهش معنی‌داری نشان داد ولی در پایان دوره انبارداری مقدار فنل کل نمونه‌های تیمار شده با کیتوزان بیشتر از مقدار فنل کل نمونه‌های شاهد بود و با افزایش غلظت کیتوزان مقدار فنل کل نیز بیشتر شد. با وجود کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه فلفل دلمه‌ای در طی دوره نگهداری، نمونه های تیمارهای کیتوزان ۱، ۱/۵ و ۲ درصد دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی بیشتری در مقایسه با نمونه‌های شاهد در پایان دوره نگهداری شدند. بین نمونه‌های شاهد و تیمار ۰/۵ درصد کیتوزان اختلاف معنی‌داری از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده نشد (جدول ۲) .

در پایان دوره انبارداری اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های تیمارهای کیتوزان و شاهد از نظر درصد نشت یونی مشاهده نشد ولی درصد نشت یونی تمامی نمونه‌ها بیشتر از درصد نشت یونی در زمان برداشت بود (جدول ۲).

بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که بیشترین فعالیت این آنزیم در زمان برداشت مشاهده شد ولی در طی نگهداری در انبار فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت. در پایان دوره انبارداری فعالیت آنزیم کاتالاز در نمونه‌های تیمارهای کیتوزان ۱/۵ و ۲ درصد به طور معنی‌داری بیشتر از فعالیت این آنزیم در نمونه‌های شاهد و کیتوزان یک و ۰/۵ درصد بود. فعایت آنزیم کاتالاز نمونه‌های کیتوزان یک درصد نیز به طور معنی داری بیشتر از فعالیت آنزیم کاتالاز در نمونه‌های شاهد بود ولی بین نمونه‌های شاهد و کیتوزان ۰/۵ درصد اختلاف معنی داری از نظر فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده نشد (جدول ۲) .

بحث:

از جمله اثرات مهم تیمار کیتوزان در این آزمایش کاهش آلودگی قارچی میوه‌های فلفل دلمه‌ای بود. سازوکار فعالیت ضدمیکروبی کیتوزان هنوز به طور کامل مشخص نشده است ولی از جمله سازوکارهایی که ارایه شده است؛ برهمکنش میان بارهای مثبت کیتوزان و بارهای منفی روی غشاهای سلولی

میکروبی (ناشی از لیپو پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها) که به اتصال تجمعی در سطح غشای میکروبی و در نتیجه کوچک شدن تدریجی غشای سلول منجر شده و در نهایت مرگ سلول به دلیل نشت ترکیبات پروتئینی و دیگر ترکیبات درون سلولی را به دنبال دارد (Fang *et al*., 1994 و Xing *et al*., 2011). دیگر سازوکار پیشنهاد شده عبارت است از تعامل محصولات حاصل از آبکافت با DNA میکروبی که باعث ممانعت از سنتز mRNA و پروتئین در عامل میکروبی و مانع از رشد و گسترش آن می شود (Hadwiger and Loschke 1981 و Xing *et al*., 2011).

مطابق گزارشهای مشابه (فینی‌دخت و همکاران، و ۱۳۹۱مستوفی و همکاران، ۱۳۹۰)، در این پژوهش نیز استفاده از تیمار پوششی کیتوزان کاهش وزن میوه‌های فلفل دلمه‌ای را تعدیل نمود. با افزایش غلظت کیتوزان ممانعت از کاهش وزن در میوه‌ها بیشتر شد که این امر به دلیل افزایش ضخامت پوشش کیتوزان با افزایش غلظت آن بود که مانع از تعرق بیشتر میوه می‌شود. مستوفی و همکاران (۱۳۹۰) کمتر شدن کاهش وزن خوشه‌های انگور تحت تیمار کیتوزان را به خاصیت هیدروسکوپی کیتوزان نسبت دادند که به عنوان سدی بین میوه و محیط اطراف قرار می‌گیرد. کاهش وزن می‌تواند باعث پژمردگی و چروکیدگی در سبزی‌ها شود که این امر منجر به کاهش بازارپسندی آنها می‌شود، در این پژوهش ممانعت از نقصان وزن و کاهش شدت آلودگی قارچی منجر به افزایش بازارپسندی میوه فلفل دلمه‌ای توسط تیمارهای کیتوزان شد.

حفظ بهتر سفتی بافت توسط تیمارهای کیتوزان در میوه فلفل دلمه‌ای می‌تواند به دلیل اثر این تیمارها در کاهش از دست دادن رطوبت و حفظ بهتر تورژسانس سلولی باشد (Entsar-Rabea *et al*., 2003) ولی علاو بر این تیمار کیتوزان در کاهش فعالیت آنزیم‌های بتاگالاکتوزیداز، پلی گالاکتوروناز و پکتین‌متیل‌استراز که مهمترین آنزیم‌های تخریب‌کننده دیواره سلولی هستند و مسئول نرم کردن میوه می‌باشند، نقش دارد (Xing *et al*., 2011 و Xu *et al*., 2007).

کاهش اسید قابل تیتر در میوه پس از ۲۸ روز انبارمانی به مصرف آنها در چرخه کربس ارتباط دارد. کاهش میزان اسید میوه بیانگر رسیدن و زوال آن است. در این آزمایش اسید قابل تیتر توسط تیمارهای کیتوزان در مقایسه با شاهد بهتر حفظ شد. پوشش نیمه تراوای کیتوزان اتمسفر درونی میوه را تغییر داده و میزان اکسیژن را کم و دی‌اکسیدکربن اطراف میوه را افزایش می‌دهد، بنابراین با ایجاد اتمسفر تغییر یافته سرعت تنفس، رسیدن و فرایند پیری میوه را به تعویق می‌اندازد (گودرزی، ۱۳۸۷ و Cong *et al*., 2007, Xing *et al*., 2011). افزایش مواد جامد محلول می‌تواند به دلیل کاهش وزن و تغلیظ این مواد در طی زمان باشد.

کاهش تبادلات گازی از جمله کاهش اکسیژن ورودی به میوه از طریق ایجاد لایه پوششی توسط پوشش کیتوزان منجر به کاهش اکسیداسیون، اسیدها، فنل‌ها و سایر ترکیبات مانند اسیدآسکوربیک می‌گردد (Xing *et al*., 2011). بنابراین حفظ بهتر ترکیبات فنلی و مقدار اسیدآسکوربیک در اثر تیمارهای کیتوزان به کاهش اکسیداسیون سلولی مرتبط می‌باشد. همچنین گزارش شده است که کیتوزان با القای فعالیت آنزیم‌های مرتبط، منجر به افزایش مقدار ترکیبات فنولیک در میوه‌های گوجه‌فرنگی و فلفل دلمه‌ای می‌گردد (Liu *et al*., 2006; Xing *et al*., 2011). اسیدآسکوربیک و ترکیبات فنلی از مهمترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی میوه فلفل دلمه‌ای محسوب می‌شوند و حفظ آن‌ها در طول دوره پس از برداشت منجر به بالا بردن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها و حفظ کیفیت آنها می‌گردد (Sudarshan *et al*., 1992).

در شرایط تنش در گیاه بطور طبیعی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش می‌یابد. این ترکیبات با حذف رادیکال‌های آزاد موجب جلوگیری از خسارت به بافت‌های گیاهی می‌شوند (Jayaprakasha *et al*., 2007; Xu *et al*., 2009). درنتیجه با قطع ارتباط بافت میوه با گیاه مادری و افزایش تنش در طول دوره انبارمانی، میزان مواد ذخیره‌ای و پیش‌ماده‌های آنتی اکسیدانی نیز کاهش می‌یابد، درنتیجه محتوای آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و سایر ترکیبات در بافت میوه همانند پژوهش حاضر در طول دوره انبارمانی نسبت به زمان برداشت کاهش می‌یابد.

در این پژوهش همانند نتایج Xing و همکاران (۲۰۱۱) تیمار کیتوزان باعث کاهش تنش وارده به میوه گردید و باعث حفظ بیشتر آنزیم کاتالاز و سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله اسیدآسکوربیک، فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به شاهد در طول دوره انبارمانی شد.

نتیجه‌گیری کلی:

میوه فلفل دلمه‌ای ارزش غذایی بالایی داشته و سرشار از انواع مواد معدنی و متابولیت‌های متنوع می‌باشد. مصرف این میوه در رژیم غذایی مردم ایران جایگاه ویژه‌ای دارد. ولی به دلیل آلودگی شدید قارچی و کاهش سریع آب محصول دارای عمر پس از برداشت کوتاهی می‌باشند. در این آزمایش نشان داده شد که استفاده از پوشش خوراکی کیتوزان حتی در غلظت‌های کم به طور موثری کاهش وزن و آلودگی قارچی را کنترل و ارزش غذایی و کیفیت میوه‌ها را به خوبی حفظ نموده است. بنابراین استفاده تجاری از این ترکیب می‌تواند عمر انبارمانی و بهره‌وری اقتصادی میوه فلفل را افزایش دهد.

منابع:

شبانی، ط.، پیوست، غ. و الفتی، ج. (۱۳۹۰) بررسی اثر بسترهای کشت بر صفات کمی و کیفی سه رقم فلفل دلمه ای در سیستم کشت بدون خاک، مجله علوم و فنون کشت گلخانه‌ای ۲۵: ۳۷۵-۳۶۹.

فینی‌دخت، س.، اصغری، م. و شیرزاد، ح. (۱۳۹۱) تاثیر کیتوسان و کلرورکلسیم بر کاهش پوسیدگی پس از برداشت و تغییر ویژگی‌های کیفی گیلاس رقم سیاه مشهد، نشریه علوم باغبانی ٤: ۳۸٤-۳۷۸.

گودرزی، ف. (۱۳۸۷) اثر پس از برداشت املاح کلسیم بر کیفیت و ماندگاری توت فرنگی، مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ٤٦: ۲٤۰-۲۳۱.

مستوفی، ی.، دهستانی اردکانی، م. و رضوی، س. (۱۳۹۰) اثر چیتوزان بر افزایش عمر پس از برداشت و ویژگی‌های کیفی انگور رقم شاهرودی، فصلنامه علوم و صنایع غذایی ۳۰: ۱۰۲-۹۳.

ویلس، ر.، مگ گلاسون، ب.، گراهام، د. و جویس، د. (۱۳۸۹) فیزیولوژی پس از برداشت. ترجمه راحمی، م. انتشارات دانشگاه شیراز. شیراز.

Bosland, P. W. and Votova, E. J. (2000) Pepper: vegetable and spice capsicums. CABI Publishing, Walling ford, UK.

Cong, F., Zhang, Y. and Dong, W. (2007) Use of surface coatings with natamycin to improve the storability of Hami melon at ambient temperature. Postharvest Biology and Technology 46: 71-75.

Edirisinghe, M., Ali, A. and Maqbool, M. (2012) Chitosan controls postharvest anthracnose in bell pepper by activating defense-related enzymes. Food Science and Technology 10:1007- 1012.

Fang, S. W., Li, C. F. and Shih, D. Y. C. (1994) Antifungal activity of chitosan and its preservative effect on low-sugar candied Kumquat. Food Protection 54: 136-140.

Hadwiger, L. and Loschke, D. (1981) Molecular communication in host-parasite interaction: hexosamin polymera (chitosan) as regulator compounds in race specific and other interaction. Phytopathology 71: 756-762.

Heaney, R. P. (2000) Calcium, dairy products and osteoporosis. The Journal of the American College of Nutrition 21: 239-244.

Hernandez-Monoz , P., Almenar, E., Delvalle, V., Velez, D. and Gavara, D. (2008) Effect on chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry quality during refrigerated storage. Food chemistry 110: 428- 435.

Jayaprakasha, G. K., Negi, P. S., Jena, B. S. and Rao, L. J. M. (2007) Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis 20: 330–336.

Liu, J., Tian, S., Meng, X. and Xu, Y. (2006) Effect of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. Postharvest Biology and Technology 44: 300-306.

Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. and Van Beek, T. A. (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry 85: 231-237.

Nyanjage, M. O., Nyalala, S. P. O., Illa, A. O., Mugo, W., Limbe, A. E., Vulimu, E. M. (2005) Extending post-harvest life of sweet pepper (*Capsicum annum* L. 'California Wonder') with modified atmosphere packaging and storage temperature. Agriculture Tropical and Subtropical 38: 28-33.

Rabea Entsar, I., Badawy Mohamed, E. T., Christian, V., Guy, S. and Steurbaut, W. (2003) Chitosan as

Sudarshan, N., Hoover, D. and Aknorr, D. (1992) Antibacterial action of chitosan. Food Biotchnology 6: 257-272.

Xing, Y., Li, X., Xu, Q., Yun, J., Lu, Y. and Tang, Y. (2011) Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) Food Chemistry 124:1443-1450.

Xu, W. T., Huang, K. L., Guo, F., Qu, W., Yang, J. J., Liang, Z. H. and Luo, Y. B. (2007) Postharvest grape fruit seed extract and chitosan treatments of table grapes to control *Botrytis cinera*. Phostharvest Biology and Technology 46: 86-94.

Xu, W. T., Peng, X. l., Luo, Y. B., Wang, J., Guo, X. and Huang, K. L. (2009) Physiological and biochemical responses of grape fruit seed extract dip on 'Redglobe' grape. LWT-Food Science and Technology 42: 471–476.

antimicrobial agent: aplication and mode of action., Biomacromolecules 4: 1457-1465.

Ranganna, S. (1997) Manual of analysis of fruit and vegetable products, Tata McGraw Hill Publishing Company, India.

Rimm, E. B., Stampfer, M. J., Ascherio, A., Giovannucci, E., Colditz, G. A. and Willett, W. C. (1993) Vitamin E consumption and the risk of coronary heart disease in men. The New England Journal of Medicine 328: 1450-1456.

Sakaldas, M. and Kaynas, K., (2010) Biochemical and quality parameters changes of green sweet bell peppers as affected by different postharvest treatments. African Journal of Biotechnology 9: 8174-8181.

Shahidi, F., Archchi, J. K. and You-Jin, J. (1999) Food application of chitin and chitosan. Food Science and Ttechnology 10: 37-71.

Postharvest quality preservation and control of fungal decay in sweet pepper using chitosan edible coating

Meysam Mohammadi[1], Orang Khademi*[2], Mehdi Saidi[1] and Masoud Bazgir[1]

[1] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ilam University
[2] Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahed University
(Received: 24 January 2014, Accepted: 6 June 2015)

Abastract:

Chitosan in addition to antimicrobial properties is used as an edible coating for improvement storage life of various fruit and vegetables. Weight loss and fungal rot, are the main limiting factors in sweet pepper postharvest life. Therefore in this study the effects of chitosan at concentration of 0.5, 1, 1.5 and 2% were investigated on the quality preservation and fungal rot controlling of sweet pepper during storage period. For that, fruit were dipped at different chitosan solutions and after drying were stored for 28 days in 10˚C and 95% RH. After storage, fruit traits such as; weight loss, diseases incidence, marketability, firmness, total soluble solids, titratable acidity, ascorbic acid content, dry weight, electrolyte leakage, total phenol content, antioxidant capacity, chlorophyll and carotenoid content and catalase activity were analyzed. Results showed that treated fruits, showed lower weight loss as well as lower fungal disease in comparison to control fruit, however, treated fruit had higher marketability, firmness, total phenol content, titratable acidity, total soluble solid and catalase activity. The positive effects of chitosan improve with increasing its concentration. According to these results, it has been recommended that chitosan ability to extend the storage life of sweet pepper fruit.

Key words: Sweet pepper, Quality maintenance, Storage life, Chitosan, Antioxidant

*corresponding author, Email: o.khademi@shahed.ac.ir