مقاله آماده انتشار می باشد

بهینه‌سازی غلظت ملاتونین و زمان نگهداری بر ویژگی‌های کیفی پسته بادامی با استفاده از روش سطح پاسخ

تیمار پسته با ملاتونین

علی اسدیان اردکانی[۱]، عبدالمجید میرزاعلیان دستجردی[۲*]، احمد شاکر اردکانی[۳]، منصوره شمیلی[۲]

۱- دانشجوی دکترای تخصصی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

۲- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

۳- دانشیار، پژوهشکده پسته، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رفسنجان، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: mirzaalian@hormozgan.ac.ir

(تاریخ دریافت: // تاریخ پذیرش: //)

چکیده

پسته تازه بسیار فسادپذیر است و عمر ماندگاری محدودی دارد. در این تحقیق، پسته تازه رقم بادامی با استفاده از روش آماری سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی تحت تیمار با ملاتونین (۰/۶-۰ درصد) قرار گرفت و به مدت ۴۰ روز در دمای محیط نگه‌داری شد. ضرایب تبیین بالا، ارزش p معنی‌دار و عدم برازش غیرمعنی‌دار برای پاسخ‌های مورد بررسی نشان‌دهنده برازش خوب مدل‌ها بود. نتایج نشان داد که تیمار ملاتونین به‌طور مؤثری میزان افت وزنی را در پسته کاهش داد و سفتی مغز پسته را حفظ کرد. اگرچه میزان پوسیدگی میوه پسته با افزایش دوره انباری افزایش یافت ولی تیمار ملاتونین باعث کاهش این شاخص گردید. با افزایش ملاتونین، میزان فنل کل مغز پسته افزایش یافت. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به افزایش ترکیبات فنلی بود و اثر متقابل ملاتونین× زمان انباری اثر سینرژیستی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان پسته داشت. تیمار ملاتونین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز را افزایش داد. با افزایش دوره انبارمانی میزان پراکسید و آلودگی میکروبی پسته افزایش یافت، اگرچه این افزایش تحت تأثیر ملاتونین کمتر بود ($p<0.05$). کمترین میزان آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی و بیشترین پوسیدگی، رشد باکتری و عدد پراکسید در تیمار ۱۳ یا شاهد (ملاتونین: زمان ۰: ۴۰) ثبت شد. این نتایج تأثیر تیمار ملاتونین را بر حفظ ویژگی‌های کیفی و افزایش انبارمانی پسته تأیید کرد. نمونه بهینه با ۰/۵ درصد ملاتونین و ۲۲ روز انبارمانی و میزان مطلوبیت ۰/۵۷ معرفی شد. ازآنجاکه مقادیر تجربی به مقادیر پیش‌بینی‌شده نزدیک بودند ($p>0.05$)، اعتبارسنجی مدل مورد تأیید قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی، پسته بادامی، روش سطح پاسخ، ملاتونین.

مقدمه

پسته (*Pistacia vera* L.) متعلق به خانواده Anacardiaceae است. ایالات‌متحده پیشروترین تولیدکننده پسته در جهان است که در سال ۲۰۲۰ تقریباً ۴۷ درصد از تولید جهانی را به خود اختصاص داده است و پس از آن ترکیه (۳۰ درصد) و ایران (۱۹ درصد) قرار دارند. از معروف‌ترین انواع پسته در ایران می‌توان به کله قوچی، اکبری، ممتاز، بادامی زرند، پسته سفید نوق، احمد آقایی، اوحدی، خنجری دامغان، شاه‌پسند دامغانی و پسته قزوینی اشاره کرد (Mandalari *et al*., 2022).

پسته دارای چربی بالایی است که عمدتاً از اسیدهای چرب تک و چند غیراشباع و همچنین مقادیر کمتری اسیدهای چرب اشباع تشکیل‌شده است. پسته منبع مهمی از پروتئین، فیبر، مس، منگنز، تیامین، پتاسیم، فسفر، کروم، منیزیم، آهن، روی و سلنیوم ویتامین‌های ویتامین B_6، E، K، ریبوفلاوین و فولات است. پروفایل مغذی پسته و ویژگی‌های زیست-فعال به کیفیت رژیم غذایی کمک می‌کند و می‌تواند خطر ابتلا به بیماری‌های مرتبط با رژیم‌های غذایی را کاهش دهند (Mandalari *et al*., 2022).

بیشترین مصرف پسته به‌صورت خشک است. پسته تازه پس از برداشت، فسادپذیری بالا و ماندگاری کمی دارد و نمی-توان آن را برای مدت طولانی نگه‌داری کرد (Hashemi *et al*., 2018; Shakerardekani *et al*., 2021). پسته در مراحل قبل و بعد از برداشت در معرض آلودگی میکروبی و فساد شیمیایی است. مقادیر بالای روغن و اسیدهای چرب غیراشباع، پسته را مستعد اکسیداسیون می‌کند. بررسی‌های میکروبی نشان می‌دهد که پسته بیشتر مورد تهاجم کپک‌ها و سموم آفلاتوکسین قرار می‌گیرد (Arjeh *et al*., 2021). لذا بررسی روش‌های افزایش انبارمانی پسته تازه برای عرضه به بازار یکی از اهداف تولیدکنندگان این محصول است. استفاده از ترکیبات شیمیایی به دلیل اثرات مضر بر سلامت مورد استقبال مصرف‌کنندگان قرار نمی‌گیرد. بنابراین بسته‌بندی مناسب و یا اعمال پوشش می‌تواند یکی از راهکارهای حفظ کیفیت و افزایش بازارپسندی این محصول باشد (Rafieidolatabadi *et al*., 2020).

ملاتونین (N-acetyl-5-methoxytriptamine) یک آمین بیوژنیک و یک ترکیب هتروسیکلیک ایندول مشتق شده از تریپتوفان است که در گیاهان، حیوانات و در پستانداران توسط غده صنوبری در هنگام تاریکی ترشح می‌شود (Salehi *et al*., 2019; Chuffa *et al*., 2021). ملاتونین دارای عملکردهای فیزیولوژیکی مختلفی ازجمله تنظیم خواب، ریتم شبانه‌روزی، خلق‌وخو، تعدیل‌کننده سیستم ایمنی، اثرات محافظت‌کننده عصبی، رشد استخوان، تنظیم هورمونی، سرکوب تومور، دفاع در برابر استرس اکسیداتیو و فعالیت ضدالتهابی است. همچنین ممکن است یک جایگزین درمانی برای مبارزه با عفونت‌های باکتریایی، ویروسی و انگلی در نظر گرفته شود. ملاتونین سمی نیست و بی‌خطر است. حتی در دوزهای شدید، عوارض جانبی خفیفی مانند سرگیجه، سردرد، حالت تهوع و خواب‌آلودگی در تعداد کمی از افراد گزارش‌شده است (Meng *et al*., 2017; Salehi *et al*., 2019). ملاتونین علاوه بر این که به‌عنوان جاروبگر رادیکال-های آزاد، آنتی‌اکسیدان و عامل ضدتومور عمل می‌کند، به‌طور موثر غشاهای سلولی را تثبیت می‌کند، فعالیت آنزیم‌ها را تعدیل می‌کند و در عین حال عملکرد سلولی را بهبود می‌بخشد. اگرچه ملاتونین کاربردهای زیادی دارد، اما به‌دلیل ویژگی‌های فارماکوکینتیک کمتر مطلوب آن، استفاده از آن در حال حاضر محدود است. استفاده از ملاتونین نانوفرمول

شده نیز اخیراً به‌عنوان یک درمان بالقوه کووید-۱۹ پیشنهاد شده است که در آن استرس اکسیداتیو نقش کلیدی دارد (Chuffa *et al.*, 2021).

تحقیقات نشان می‌دهد ملاتونین در میوه‌ها با غلظت نانوگرم در گرم وجود دارد. نقش ملاتونین در تولید میوه و نگه‌داری آن پس از برداشت اثبات شده است. ملاتونین یک سیگنال بیولوژیکی همه‌کاره است که در تعدادی از فرآیندهای گیاهی از جمله جوانه‌زنی، نمو، گلدهی، فتوسنتز و دفاع نقش دارد. ملاتونین در پیری و رسیدن پس از برداشت نقش دارد. تاخیر پیری به توانایی آنتی‌اکسیدانی ملاتونین نسبت داده شد. ملاتونین می‌تواند از طریق کاهش غلظت آب اکسیژنه درون سلولی از پیری میوه جلوگیری کند، اما نحوه تأثیر ملاتونین بر رسیدن میوه و بیوسنتز اتیلن که مسئول رسیدن سریع میوه است پس از برداشت میوه نیاز به کاوش بیشتری دارد. ملاتونین برای افزایش عمر مفید میوه پس از برداشت و بهبود کیفیت میوه مورد بررسی قرار گرفته است. آنچه مطالعات ملاتونین در گیاهان را جالب می‌سازد نقش ملاتونین در بهبود پاسخ‌های گیاه به تنش‌هایی چون خشکی، شوری، سرما، حمله پاتوژن‌ها و محافظت در برابر علفکش‌ها و نقش اکسیداتیو آن است (Wang *et al.*, 2020). شواهد نشان می‌دهد که ملاتونین یک فاکتور چند عملکردی در گیاهان است و نقش مهمی در ذخیره‌سازی پس از برداشت دارد. ملاتونین می‌تواند به رسیدن برخی از میوه‌ها و همچنین بهبود کیفیت میوه کمک کند. ملاتونین مقاومت گیاه را در برابر پاتوژن‌های باکتریایی و قارچی در برگ یا ریشه تنظیم می‌کند. بنابراین، به‌عنوان یک چشم‌انداز عالی برای افزایش عمر پس از برداشت میوه و سبزیجات در نظر گرفته می‌شود (Lin *et al.*, 2019).

با توجه به ارزش بالای اقتصادی و غذایی، همچنین تقاضای زیاد برای تازه‌خوری پسته، اجرای تحقیقاتی در جهت افزایش انبارمانی و کیفیت پسته تازه ضرورت دارد. لذا در این تحقیق سعی شد تا عمر ماندگاری پسته بادامی با استفاده از ملاتونین افزایش داده شود و پارامترهای موثر بر کیفیت پسته بهینه‌سازی گردد.

مواد و روش‌ها

-طراحی آزمایش

پسته‌های تازه رقم بادامی در زمان بلوغ از یک باغ تجاری واقع در شهرستان اردکان در شهریور ۱۴۰۱ برداشت و بلافاصله به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه هرمزگان منتقل شدند. ابتدا پسته‌های سالم و یکنواخت انتخاب شدند و پس از اعمال تیمار به‌روش غوطه‌وری ملاتونین در غلظت‌های مختلف، در نهایت میوه‌ها در دمای محیط خشک شدند و در ظروف یکبار قرار گرفته و به سردخانه با دمای ۱±۳ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۸۵ درصد منتقل شدند. تیماردهی پسته براساس تیمارهای تعریف شده از نرم افزار مینی‌تب (نسخه ۲۲) و با روش سطح پاسخ (Response Surface Methodology; RSM) و طرح مرکب مرکزی (Central Composite Design; CCD) انجام شد. دو پارامتر ملاتونین (۰/۸-۰٪) و زمان نگه‌داری (۴۰- ۰ روز) به‌عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شد. ۱۳ نمونه طبق طراحی با نرم افزار تولید شد (جدول ۱).

آزمون‌های پسته

- کاهش وزن

پسته‌های تازه در ابتدا و انتهای مدت زمان مشخص انبارمانی وزن شدند و با استفاده از رابطه (۱)، شاخص درصد کاهش وزن اندازه‌گیری شد (Hashemi *et al*., 2018; Shakerardekani *et al*., 2021; Zibaei-Rad *et al*., 2024):

$$\text{درصد کاهش وزن} = \frac{\text{وزن اولیه} - \text{وزن ثانویه}}{\text{وزن اولیه}} \times ۱۰۰ \quad (۱)$$

- سفتی مغز

برای تعیین سفتی مغز پسته تازه از دستگاه پنترومتر (Turoni, 53205, Italy) مجهز به پروب مسطح با قطر ۷/۸ میلی‌متر استفاده شد (Shakerardekani *et al*., 2021).

- پوسیدگی

شاخص پوسیدگی در سطح پسته تازه (پوسته) به‌صورت بصری در طول نگه‌داری با استفاده از شدت علائم مرتبط با فساد باکتریایی و قارچی با استفاده از رابطه (۲) گزارش شد (Afrashteh *et al*., 2023; Taghipour *et al*., 2024).

$$\text{پوسیدگی} = \frac{\text{میوه پوسیده}}{\text{کل میوه ها}} \times ۱۰۰ \quad (۲)$$

- فنل کل مغز پسته

ترکیبات فنلی پسته با استفاده از روش رنگ سنجی فولین‌سیو کالتیو تعیین گردید. برای تهیه عصاره، ۰/۵ گرم از بافت گیاهی در ۳ میلی‌لیتر محلول متانول ۸۵٪ ساییده شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. ۰/۲۵ میلی‌لیتر از فاز رویی، ۱۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۲۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۱۰٪ با ۰/۷۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲٪ مخلوط شدند. محلول به‌مدت ۲ ساعت در تاریکی روی شیکر قرار گرفت. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شد (Hashemi *et al*., 2021a; Zibaei-Rad *et al*., 2024).

- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با استفاده از مهار رادیکال DPPH (۲،۲-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) تعیین شد. پس از آماده‌سازی عصاره گیاهی، ۰/۱ میلی‌لیتر از فاز رویی با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۰/۱ میلی‌مولار) ترکیب و محلول به‌شدت همزده شد. نمونه‌ها در تاریکی به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس جذب آنها در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت شد. درصد مهار رادیکال با استفاده از رابطه (۳) محاسبه شد (Hashemi *et al*., 2021b):

$$\text{درصد مهار رادیکال} = \frac{\text{جذب نمونه کنترل} - \text{جذب نمونه}}{\text{جذب نمونه کنترل}} \times ۱۰۰ \quad (۳)$$

- فعالیت آنزیمی

برای سنجش کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، پالپ میوه با وزن ۲ تا ۳ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار (pH =۷/۸) و ۰/۸ گرم اتیلن دی‌آمین‌تتراستیک اسید همگن شد. سپس در ۱۲۰۰۰ دور به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴

درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. برای تعیین کاتالاز، مخلوط واکنش شامل ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم (۵۰ میلی‌مولار، pH =۷)، ۰/۵ میلی‌لیتر آب اکسیژنه (۴۰ میلی‌مولار) و ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب در ۲۴۰ نانومتر و ۲۵ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد (Molamohammadi *et al.*, 2020).

برای تعیین سوپراکسید دیسموتاز، مخلوط واکنش (۳ میلی‌لیتر) حاوی ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات سدیم (pH =۷/۸)، متیونین، ۷۵ میلی‌مولار نیتروبلو تترازولیوم، اتیلن دی‌آمین‌تتراستیک اسید، ریبوفلاوین و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیم بود. جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر و دمای ۲۵ درجه سلسیوس تعیین شد. حجم آنزیم مربوط به مهار ۵۰ درصدی کاهش نیتروبلو تترازولیوم به‌عنوان واحد آنزیمی در نظر گرفته شد (Molamohammadi *et al.*, 2020).

برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۵ مولار، ۰/۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه (۰/۳ درصد) و ۰/۲ میلی‌لیتر آسکوربات ۵۰ میکرومولار در حمام یخ مخلوط و بلافاصله ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به آن افزوده شد. جذب در طول موج ۲۶۵ نانومتر خوانده شد و فعالیت آنزیمی بر حسب تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن تر پسته محاسبه شد (Molamohammadi *et al.*, 2020).

- عدد پراکسید

برای استخراج روغن پسته، پودر مغز خشک شده پسته با انهگزان مخلوط و بعد از ۲۴ ساعت از صافی عبور داده شد. ۵ گرم روغن استخراج شده با ۲۵ میلی‌لیتر مخلوط اسید استیک و کلروفرم به نسبت ۳ به ۲ مخلوط و بعد از ۵ دقیقه ۱ میلی‌لیتر محلول یدور پتاسیم اشباع به آن اضافه گردید. مخلوط به‌مدت ۱ دقیقه در جای تاریک قرار داده شد. سپس، ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر و چند قطره معرف نشاسته ۱٪ به آن اضافه شد و تیتراسیون با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال تا ازبین رفتن رنگ آبی محلول ادامه یافت. عدد پراکسید از رابطه (۴) محاسبه شد (Zibaei-Rad *et al.*, 2024; Hashemi *et al.*, 2021a):

عدد پراکسید=۱۰۰۰×نرمالیته تیوسولفات سدیم × میلی لیتر مصرفی تیوسولفات سدیم (۴)

- شمارش میکروبی

از محیط کشت پلیت‌کانت‌آگار (Plate Count Agar, Merck, Germany) و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت برای تعیین تعداد باکتری‌های مزوفیل هوازی استفاده شد (Shakerardekani *et al.*, 2021; Hashemi *et al.*, 2021b).

- تجزیه و تحلیل آماری

از نرم‌افزار مینی‌تب (نسخه ۲۲) و روش آماری سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی با دو متغیر مستقل ملاتونین (۶٪-۰) و زمان نگه‌داری (۴۰ روز) جهت بررسی تاثیر شرایط فرآیند بر پسته و بهینه سازی فرآیند استفاده شد. در مجموع ۱۳ تیمار با شش تکرار در نقطه مرکزی به‌منظور تعیین خطای خالص و تکرارپذیری همه داده‌ها به‌دست آمد. رابطه (۵) برای برازش پاسخ‌های اندازه‌گیری شده (yi) استفاده شد:

$$yi = \beta_0 + \beta_{ix1} + \beta_{ijxixj} + \beta_{iixi}^2 + ei \quad (۵)$$

yi پاسخ است، β_0، βi، βij ضرایب رگرسیون، و xij پارامتر مستقل است. کفایت و کیفیت برازش معادلات ارزیابی شده برای متغیرهای وابسته با استفاده از تحلیل واریانس (ANOVA) و آزمون دانکن در سطح معناداری ۰/۰۵ مورد آزمایش قرار گرفت. بر اساس نتایج و جداول آنالیز واریانس، تعیین نمونه بهینه انجام شد. برای به‌دست آوردن نقطه بهینه، اهداف مورد نظر برای هر متغیر و پاسخ انتخاب شد. همه متغیرهای مستقل در محدوده نگه داشته شدند در حالی که پاسخ‌ها با توجه به ویژگی‌ها و کاربردهای مورد نظر به حداقل، حداکثر و در محدوده تنظیم شدند.

یافته‌ها

- برازش مدل با روش سطح پاسخ (RSM)

مقادیر واقعی پاسخ‌های پسته در جدول (۱)گزارش شده است. در جدول (۲) پارامترهای مختلفی شامل ضریب تبیین (R^2)، ضریب تبیین تعدیل‌شده ($Adj\text{-}R^2$)، عدم برازش (Lack of fit)، F value و *p* value برای ارزیابی کفایت مدل استفاده شد. $p\leq$۰/۰۵ نشان می‌دهد که مدل برازش شده معنی‌دار است. عدم برازش غیرمعنی‌دار نشان می‌دهد مدل‌ها به‌طور رضایت‌بخشی به داده‌های تجربی برازش می‌کنند و می‌توان از آنها برای اهداف پیش‌بینی استفاده کرد.

ضریب تبیین که با R^2 نشان داده می‌شود، به‌عنوان نسبت واریانس و تغییرات توضیح داده‌شده به تغییرات کل پاسخ‌ها تعریف می‌شود و اندازه‌گیری درجه تناسب است که توسط مدل رگرسیون توضیح داده شده است و کیفیت برازش را تعیین می‌کند. R^2 می‌تواند از ۰ تا ۱۰۰ درصد متغیر باشد. برای یک برازش خوب مدل، R^2 نباید کمتر از ۸۰ درصد باشد. مدل‌های با مقادیر R^2 بیشتر از ۰/۸۰ می‌توانند بیش از ۸۰ درصد از تغییرپذیری پاسخ‌ها را تشکیل دهند. هنگامی‌که R^2 به ۱۰۰ درصد نزدیک می‌شود، نشان‌دهنده مناسب بودن برازش مدل تجربی با داده‌های واقعی است. به‌عبارت دیگر، مدل رگرسیون متغیرهای پاسخ را به اندازه کافی پیش‌بینی و تغییرپذیری در متغیرهای پاسخ را به اندازه کافی توضیح می‌دهد. مقدار کمتر R^2 نشان‌دهنده نامناسب بودن مدل برای توضیح رابطه بین متغیرها است. یک مدل پیش‌بینی‌کننده خوب باید $R^2 \geq$۰/۸۰ و $p<0.05$ داشته باشد (Terefe et *al.*, 2022).

برای گسترش مدل‌های سطح پاسخ، همه اصطلاحات غیرمعنادار ($p>$۰/۰۵) حذف شدند و معادلات رگرسیون نهایی برای توضیح اثر ملاتونین بر متغیرهای پاسخ بر اساس ANOVA توسعه یافتند (معادلات ۵ تا ۱۴). ضرایب تک فاکتوری (X_1 و X_2) اثر مستقل یک متغیر خاص را نشان می‌دهند، درحالی‌که ضرایب دارای دو فاکتور (X_1X_2) و ضرایب با شرایط مرتبه دوم (X_1^2 و X_2^2) به‌ترتیب نشان‌دهنده اثر متقابل بین دو فاکتور و اثرات درجه دوم است. علامت مثبت در مقابل عبارت رگرسیون نشاندهنده رابطه سینرژیستی است، در حالی که علامت منفی نشان‌دهنده یک رابطه آنتاگونیستی است.

جدول (۱)- مقادیر متغیرهای مستقل و وابسته پسته تیمار شده با ملاتونین

ملاتونین (٪)	زمان (روز)	افت وزنی (٪)	سفتی (کیلوگرم نیرو)	پوسیدگی (٪)	فنل کل (میلی‌گرم بر صد	آنتی-اکسیدان (٪)	کاتالاز (میلی‌گرم بر دقیقه)	سوپراکسیددیسموتاز (میلی‌گرم بر دقیقه)	آسکوربات پراکسیداز (میلی‌گرم بر	عدد پراکسید (میلی‌اکی والان بر کیلوگرم)	شمارش میکروبی (log CFU/g)

					گرم)					دقیقه)	
۰/۵	۰	۰/۷۶	۳/۴	۵	۴۸	۳۵	۰/۲۴	۴/۱	۰/۳۳	۰/۲	۱
۰	۲۰	۰/۶۵	۲	۹	۳۲	۳۰	۰/۳	۴/۳	۰/۴۶	۰/۵	۴
۰/۲۵	۲۰	۰/۷۲	۲/۵۶	۷	۳۸	۳۲	۰/۳۲	۴/۴	۰/۵	۰/۳۲	۲
۰/۵	۴۰	۰/۶۸	۲/۴۱	۱۲	۳۳	۲۸	۰/۲۵	۴/۱	۰/۷	۰/۴۱	۶
۰/۲۵	۲۰	۰/۶۶	۲/۶۶	۸	۳۸	۳۲	۰/۳۵	۴/۵	۰/۵۷	۰/۳۴	۳
۰/۲۵	۲۰	۰/۶۷	۲/۶۶	۸	۴۲	۳۱	۰/۳۴	۴/۴	۰/۶	۰/۳۳	۴
۰	۰	۰/۷۷	۳/۲	۱	۴۷	۳۳	۰/۴۵	۵/۸	۰/۳۲	۰/۲۸	۱
۰/۶۰	۲۰	۰/۶۶	۲/۴۱	۷	۳۸	۳۰	۰/۴۲	۴/۹	۰/۴۹	۰/۳	۳
۰/۲۵	۲۰	۰/۶۵	۲/۶۶	۱۱	۴۵	۲۵	۰/۳۱	۴/۳	۰/۴۷	۰/۳۳	۳
۰/۲۵	۴۰	۰/۵۹	۲/۴	۶	۴۶	۲۰	۰/۲۹	۴/۲	۰/۵۵	۰/۵۸	۷
۰/۲۵	۰	۰/۷۸	۳/۳	۱	۳۸	۳۳	۰/۳۹	۵/۱	۰/۳۴	۰/۱۸	۴
۰/۲۵	۲۰	۰/۶۵	۲/۷	۷	۴۴	۳۰	۰/۲۵	¼	۰/۶	۰/۳۴	۴
۰	۴۰	۰/۶۱	۲/۰۵	۱۴	۲۷	۲۰	۰/۱۹	۳/۵	۰/۴	۰/۶۶	۹

جدول (۲)- تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) برای تعیین برازش مدل، ضریب رگرسیون (β) مدل‌های چند جمله‌ای مرتبه دوم پیش‌بینی‌شده برای پاسخ‌های پسته

فاکتور	ضریب رگرسیون (β)									
	افت وزنی	سفتی	پوسیدگی	فنل کل	آنتی‌اکسیدان	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	آسکوربات پراکسیداز	پراکسید	شمارش میکروبی
Intercept	۰/۷۶۱۸	۲/۹۷۰	۲/۰۹	۴۰/۹۰	۰/۵۴۸۵	۰/۴۳۲۰	۵/۵۵۳	۰/۳۸۳۸	۰/۲۷۸۳۹	۲/۲
خطی										
X_1	−۰/۰۵۳	*۱/۷۰۷	۱/۸۹	۲۷/۸	−۰/۰۶۸	−۰/۳۰۶	−۲/۹۷	۰/۲۲۳	** −۰/۴۰۳۴	۰/۰۹
X_2	**−۰/۰۰۵۸۰	−۰/۰۳۹۳۷ **	*۰/۴۲۳	−۰/۲۴۷	** −۰/۰۰۴۰۶	۰/۰۰۵۶۰ −	* ۰/۰۶۰۳ −	*۰/۰۰۶۷۶	**۰/۰۰۷۰۱۱ ۰	*/۰۳۶۵ ۰
متقابل X_1X_2	۰/۰۰۴۰۰	۰/۰۰۸۰	−۰/۳۰۰	۰/۲۵۰	۰/۰۰۴۵۰	۰/۰۱۳۵۰	* ۰/۱۱۵۰	*۰/۰۱۴۵۰	** −۰/۰۰۸۵۰۰	−۰/۱۵۰
درجه دوم										
X_1^2	۰/۰۲۰	−۲/۵۹*	۷/۴ −	−۵۰/۲	۰/۱۱۴	۰/۰۹۲	۱/۰۸	−۰/۶۷۴	**۰/۵۳۴۰	۱/۴۰
X_2^2	۰/۰۰۰۰۴۱	*۰/۰۰۰۴۰۱	۰/۰۰۴۴۷	۰/۰۰۰۹۱	۰/۰۰۰۰۲۰	۰/۰۰۰۰۰۷ −۰	۰/۰۰۰۲۳۱	* −۰/۰۰۰۱۴۳	** ۰/۰۰۰۰۵۸	/۰۰۲۷۲ ۰
R^2	۰/۸۵	۰/۹۰	۰/۷۳	۰/۳۶	۰/۸۹	۰/۵۶	۰/۷۸	۰/۸۳	۰/۹۹	۰/۷۹
Adj. R^2	۰/۷۵	۰/۸۳	۰/۵۵	۰/۰۰	۰/۸۲	۰/۲۵	۰/۶۳	۰/۷۱	۰/۹۹	۰/۶۵

F-value	۸/۲۲	۱۳/۱۲	۳/۹۵	۰/۸۰	۱۲/۴۷	۱/۸۲	۵/۱۱	۷/۰۹	۵۰۲/۸۲	۵/۴۷
P-value	۰/۰۰۸*	۰/۰۰۲*	۰/۰۵۱*	۰/۵۸۱ *ns*	۰/۰۰۲*	۰/۲۲۸ *ns*	* ۰/۰۲۷	۰/۰۱۲*	۰/۰۰۰**	۰/۰۲۳*
عدم برازش	۱/۱۰ *ns*	۲۵/۳۵ *ns*	۴/۱۹ *ns*	۸/۲۹ *ns*	۲۵/۶۶ *ns*	۵/۱۳ *ns*	*ns* ۱۰/۶۰	۱/۲۰ *ns*	۱/۷۴ *ns*	*ns* ۴/۷۷
مدل										

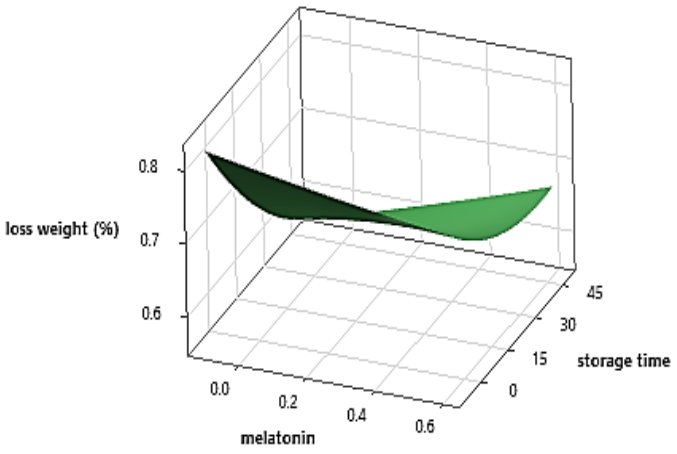
* تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد ($p<0.05$)، ** تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۱ درصد ($p<0.001$)، *ns*: تفاوت غیر معنی دار

- کاهش وزن

جدول (۱) کاهش وزن پسته را نشان می‌دهد. مقادیر کاهش وزن پسته از ۰/۵۹ تا ۰/۷۷ درصد متغیر بود. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که مدل دارای R^2 بالا (۰/۸۵) بود. R^2 بالا نشان‌دهنده تعامل بین پارامترهای انتخاب شده بود. بنابراین دقت و پایایی خوبی برای آزمایش وجود دارد. مدل برازش شده برای این پاسخ معنی‌دار ($p<0.05$) و عدم برازش غیرمعنی‌دار است. این پاسخ به‌صورت خطی، متقابل و درجه دوم تحت‌تاثیر متغیرهای مستقل قرار گرفت (جدول ۲). مدل درجه دوم توسعه‌یافته به شکل کدگذاری شده متغیرهای فرآیند به شرح زیر است (رابطه ۵):

$$\textbf{Loss weight (\%):}\ y = 0.7618 - 0.053\ X_1 - 0.00580\ X_2 + 0.00400\ X_1X_2 + 0.020\ X_1^2 + 0.000041\ X_2^2 \quad (۵)$$

معادله رگرسیون نشان می‌دهد ملاتونین تاثیر خطی منفی غیرمعنی‌دار و زمان نگه‌داری تأثیر خطی منفی معنی‌دار ($p<0.001$) بر کاهش وزن پسته دارد. بنابراین افت وزنی پسته تحت تاثیر ملاتونین و با گذشت زمان نگه‌داری کاهش می‌یابد (نمودار ۱). ضرایب مدل پیشنهادی نشان می‌دهد که این پاسخ به‌ترتیب ملاتونین> زمان نگه‌داری، تحت تأثیر قرار گرفت. به عبارت دیگر، ضریب بالای X_1 نشان می‌دهد که سهم ملاتونین در مهار کاهش وزن در مقایسه با زمان انبارمانی بیشتر است. ضرایب مثبت از اثرات مقابل X_1X_2 نشان می دهد که اثرات مقابل آنها مسئول افزایش افت وزنی پسته است. ضریب مثبت برای اثرات درجه دوم تاثیر قوی متغیرهای مستقل را بر این پاسخ نشان می‌دهد.



نمودار (۱)- نمودار سطح پاسخ اثرات متغیرهای فرآیند بر میزان کاهش وزن پسته

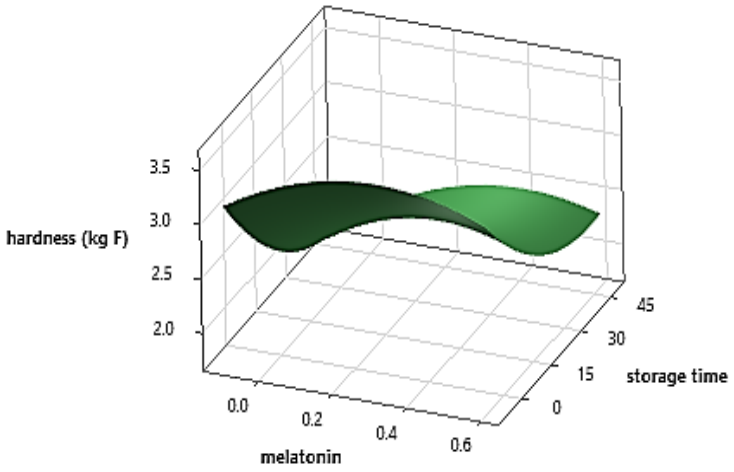
- سفتی

مقادیر میانگین سفتی مغز پسته از ۲ تا ۳/۴ کیلوگرم نیرو متغیر بود (جدول ۱). مدل‌های پیش‌بینی برای کفایت و برازش با استفاده از آنالیز واریانس مورد آزمایش قرار گرفتند. R^2 مدل برای سفتی پسته ۰/۹۰ بود که نشان می‌دهد مدل توانسته است بیش از ۹۰٪ از کل تغییرات در دامنه مقادیر مورد مطالعه را توضیح دهد. مدل برازش شده برای این پاسخ معنی‌دار ($p<0.05$) و عدم برازش آن غیرمعنی‌دار بود. با توجه به $R^2 \geq ۰/۸۰$ و سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ می‌توان گفت یک مدل پیش‌بینی‌کننده خوب است و می‌توان از آن برای اهداف پیش‌بینی استفاده کرد (جدول ۲).

روابط بین ملاتونین و زمان نگه‌داری توسط رابطه (۶) نشان داده شد.

Hardness (kg F): $y = 2.970 + 1.707\ X_1 - 0.03937\ X_2 + 0.0080\ X_1X_2 - 2.59\ X_1^2 + 0.000401\ X_2^2$ (۶)

تجزیه و تحلیل رگرسیون، ضرایب خطی مثبت معنی‌دار ($p<0.05$) را برای ملاتونین و ضرایب خطی منفی معنی‌دار ($p<0.001$) را برای زمان نگه‌داری نشان داد. مدل پیشنهادی و نمودارهای سطح پاسخ (نمودار ۲) نشان می‌دهد سفتی با افزایش ملاتونین افزایش و با گذشت زمان کاهش می‌یابد. همچنین اثر متقابل متغیرها غیرمعنی‌دار و اثرات درجه دوم آنها در $p<0.05$ معنی‌دار می‌باشد. ضرایب مثبت اثرات متقابل X_1X_2 نشان داد که اثر متقابل آنها باعث افزایش سختی پسته می‌شود. ضریب مثبت X_2^2 تاثیر قوی زمان نگه‌داری را بر پاسخ سفتی نشان می‌دهد.



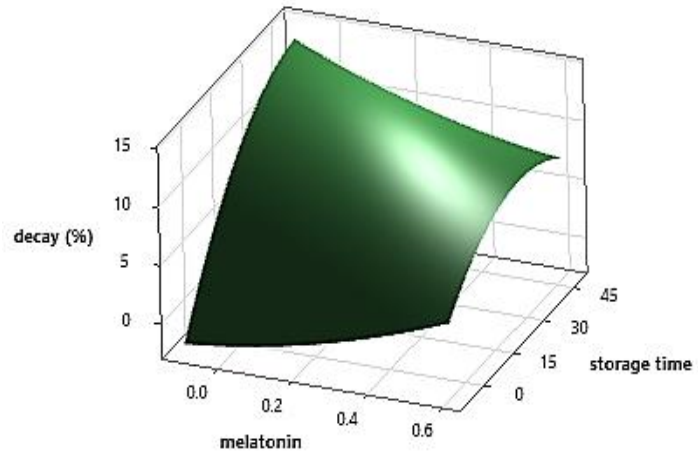
نمودار (۲)- نمودار سطح پاسخ اثرات متغیرهای فرآیند بر میزان سفتی پسته

- پوسیدگی

در این تحقیق، میزان پوسیدگی پسته از ۱ تا ۱۴ درصد متغیر بود (جدول ۱). نتایج آنوا نشان داد که ضریب R^2 مدل ۰/۷۳، مدل برازش شده معنی‌دار ($p<0.05$) و عدم برازش غیرمعنی‌دار بود. اثر خطی زمان نگه‌داری بر میزان پوسیدگی پسته معنی‌دار بود ($p<0.05$) (جدول ۲).

براساس مدل پیشنهادی (رابطه ۷) و نمودار سطح پاسخ (نمودار ۳)، پوسیدگی پسته بـا زمـان انبارمـانی افـزایش یافـت. اثرات متقابل ملاتونین و زمان نگه‌داری موجب کاهش پوسیدگی پسته شد. ضریب مثبـت بـرای اثـرات درجـه دوم X_1^2 تاثیر قوی ملاتونین را بر پوسیدگی پسته نشان می‌دهد.

Decay (%): $y = 2.09 + 1.89\ X_1 + 0.423\ X_2 - 0.300\ X_1X_2 + 7.4\ X_1^2 - 0.00447\ X_2^2$ (۷)



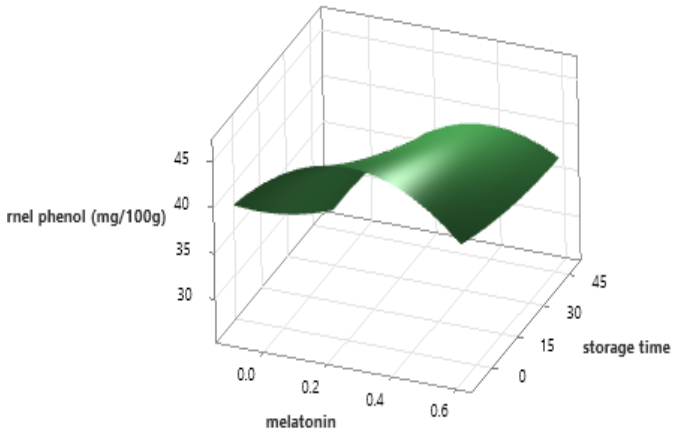
نمودار (۳)- نمودار سطح پاسخ اثرات متغیرهای فرآیند بر میزان پوسیدگی پسته

- فنل کل مغز پسته

مقادیر فنل مغز پسته ۴۸-۲۷ میلی‌گرم بر صد گرم می‌باشد (جدول ۱). طبـق جـدول (۲)، مقـادیر R^2 بـرای ایـن پاسـخ ۰/۳۶، مدل برازش‌شده و عدم برازش مدل غیرمعنی‌دار بود.

در مدل رگرسیون برازش شده (رابطه ۸) مشاهده شد که ملاتونین اثر خطی مثبت و زمان نگه‌داری اثر خطـی منفـی بـر میزان فنل دارند. بنابراین فنل پسته با افزایش ملاتونین افزایش و در طی زمان انبارمانی کاهش یافت. ضریب مثبـت X_2^2 تاثیر قوی زمان نگه‌داری را بر فنل مغز نشان می‌دهد. اثرات متقابل ملاتونین و زمان نگه‌داری بـر مغـز اثـر سینرژیسـت داشتند (نمودار ۴).

Kernel phenol (mg/100g): $y = 40.90 + 27.8\ X_1 - 0.247\ X_2 + 0.250\ X_1X_2 - 50.2\ X_1^2 + 0.00091\ X_2^2$ (۸)



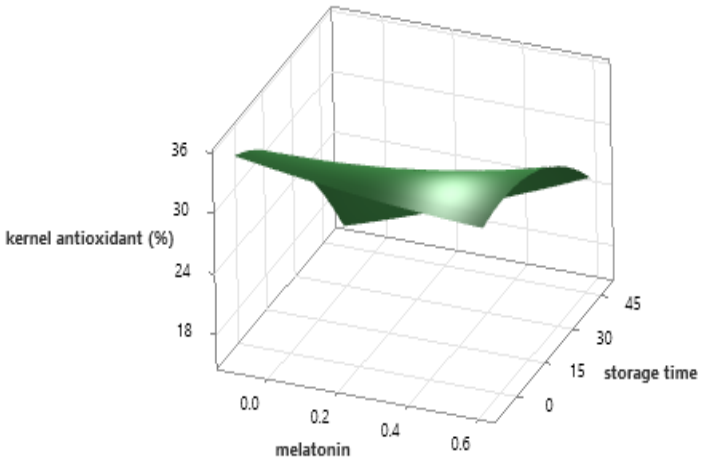
نمودار (۴)- نمودار سطح پاسخ اثرات متغیرهای فرآیند بر میزان فنل مغز پسته

- آنتی‌اکسیدان مغز پسته

مقادیر آنتی‌اکسیدان‌های مغز پسته ۳۵-۲۰ درصد گزارش شد (جدول ۱). در مدل برازش شده، مقادیر R^2 برابر با ۰/۸۲ بود که نشان‌دهنده برازش خوب مدل برای پاسخ‌ها است. مدل برازش شده معنی‌دار ($p<0.05$) و عدم برازش آنها غیرمعنی‌دار بود. اثرات خطی زمان نگه‌داری معنی‌دار ($p<0.001$) ولی اثرات خطی ملاتونین و اثرات متقابل و درجه دوم غیرمعنی‌دار بود (جدول ۲).

بر طبق معادله رگرسیون (رابطه ۹)، اثر درجه دوم ملاتونین مثبت و اثر درجه دوم زمان نگه‌داری منفی بود. زمان انبارمانی باعث کاهش میزان آنتی‌اکسیدان پسته گردید ولی اثر متقابل ملاتونین×زمان نگه‌داری اثر سینرژیست بر میزان آنتی‌اکسیدان مغز پسته داشت (نمودار ۵).

Kernel antioxidant (%): $y = 33.67 - 2.5\ X_1 - 0.159\ X_2 + 0.300\ X_1X_2 + 3.0\ X_1^2 - 0.00391\ X_2^2$ (۹)



نمودار (۵)- نمودار سطح پاسخ اثرات متغیرهای فرآیند بر میزان آنتی‌اکسیدان پسته

- فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

در این تحقیق، آنزیم کاتالاز از ۰/۱۹ تا ۰/۴۵ میلی‌گرم بر دقیقه، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از ۳/۵ تا ۵/۸ میلی‌گرم بر دقیقه و آنزیم آسکوربات پراکسیداز پسته از ۰/۳۳ تا ۰/۶ میلی‌گرم بر دقیقه متغیر بود (جدول ۱).

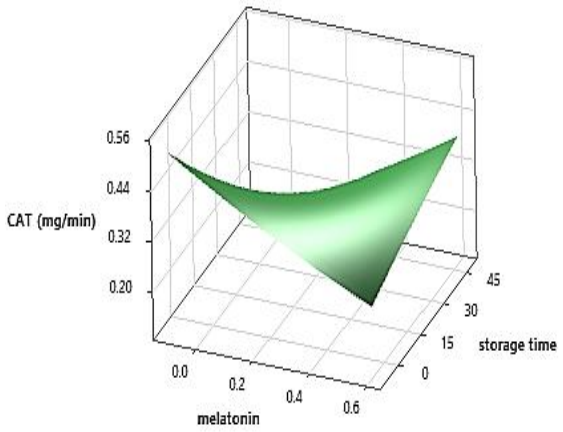
ضریب تبیین مدل به‌ترتیب ۰/۵۶، ۰/۷۸ و ۰/۸۳ بود که نشان داد دقت و پایایی خوبی برای آزمایش سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز وجود دارد. مدل برازش شده مربوط به پاسخ پراکسیداز ($p<0.001$) و سوپراکسید دیسموتاز ($p<0.05$) و آسکوربات پراکسیداز ($p<0.05$) معنی‌دار و عدم برازش آنها غیرمعنی‌دار است. مدل برازش شده مربوط به پاسخ کاتالاز و عدم برازش آن غیرمعنی‌دار بود. ضرایب خطی منفی معنی‌دار ($p<0.05$) برای زمان نگه‌داری و ضرایب خطی منفی غیرمعنی‌دار برای ملاتونین برای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان داده شد. اثر متقابل متغیرهای مستقل نیز معنی‌دار ($p<0.05$) ولی اثرات درجه دوم آنها غیرمعنی‌دار است. اثرات خطی و درجه دوم زمان نگه‌داری در $p<0.05$ و اثرات متقابل در $p<0.05$ بر آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار است ولی اثرات خطی و درجه دوم ملاتونین غیرمعنی‌دار است (جدول ۲).

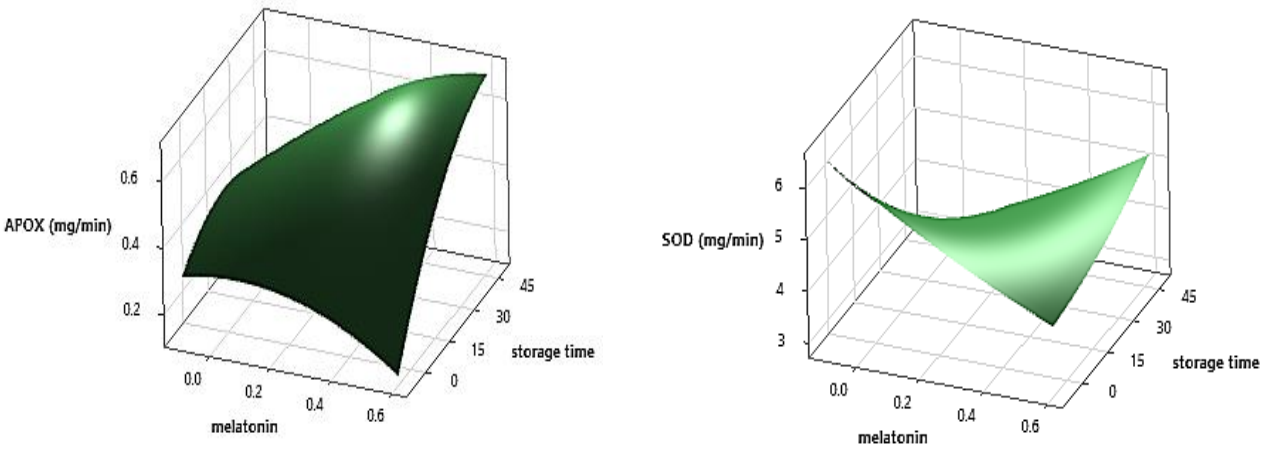
بر اساس مدل‌های پیشنهادی (رابطه ۱۰– ۱۲)، مشهود است که زمان نگه‌داری دارای ضریب خطی منفی بر تمامی آنزیم‌ها به جز آسکوربات پراکسیداز است. ملاتونین دارای ضریب خطی مثبت بر آسکوربات پراکسیداز است. ضریب مثبت اثرات متقابل X_1X_2 نشاندهنده اثرات سینرژیستی آنها در افزایش آنزیم‌ها است (نمودار ۶). ضریب مثبت برای X_1^2 تاثیر قوی ملاتونین را بر آنزیم کاتالاز و ضریب مثبت برای X_1^2 و X_2^2 تاثیر قوی ملاتونین و زمان نگه‌داری را بر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان می‌دهد.

CAT (mg/min): $y = 0.4320 - 0.306\ X_1 - 0.00560\ X_2 + 0.01350\ X_1X_2 + 0.092\ X_1^2 - 0.000007\ X_2^2$ (۱۰)

SOD (mg/min): $y = 5.553 - 2.97\ X_1 - 0.0603\ X_2 + 0.1150\ X_1X_2 + 1.08\ X_1^2 + 0.000231\ X_2^2$ (۱۱)

APX (mg/min): $y = 0.3838 + 0.223\ X_1 + 0.00676\ X_2 + 0.01450\ X_1X_2 - 0.674\ X_1^2 - 0.000143\ X_2^2$ (۱۲)





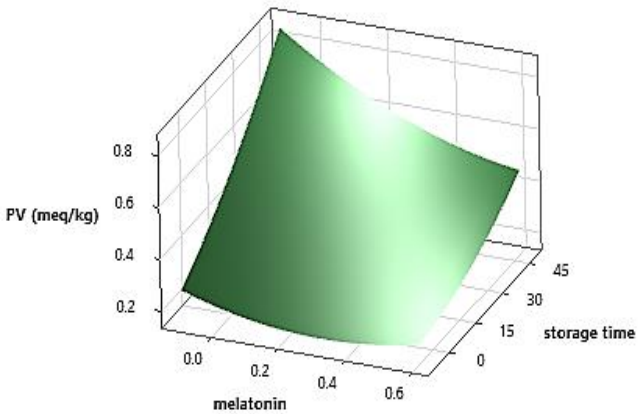
نمودار (۶)- نمودار سطح پاسخ اثرات متغیرهای فرآیند بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی پسته

- عدد پراکسید

نتایج این تحقیق نشان داد عدد پراکسید پسته از ۰/۱۸ تا ۰/۶۶ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم متغیر بود (جدول ۱). ضریب تبیین مدل بسیار بالا (۰/۹۹) بود که نشان‌دهنده دقت و پایایی خوب مدل است. مدل برازش شده برای این پاسخ معنی-دار ($p<0.05$) و عدم برازش آن غیرمعنی‌دار است. این پاسخ به‌صورت خطی، متقابل و درجه دوم تحت‌تاثیر ملاتونین و زمان نگه‌داری قرار گرفت ($p<0.001$) (جدول ۲).

براساس مدل پیشنهادی (رابطه ۱۳)، ملاتونین تأثیر منفی و زمان نگه‌داری تاثیر مثبت بر عدد پراکسید داشت. بنابراین ملاتونین، عدد پراکسید را در پسته کاهش می‌دهد. ضریب مثبت برای اثرات درجه دوم تاثیر قوی متغیرهای مستقل را بر عدد پراکسید نشان می‌دهد. ضرایب منفی از اثرات مقابل آنها نشان می دهد که اثرات مقابل آنها مسئول کاهش عدد پراکسید پسته است (نمودار ۷).

$$\textbf{PV (meq O}_2\textbf{/kg):}\ y = 0.27839 - 0.4034\ X_1 + 0.007011\ X_2 - 0.008500\ X_1X_2 + 0.5340\ X_1^2 + 0.000058\ X_2^2 \quad (۱۳)$$



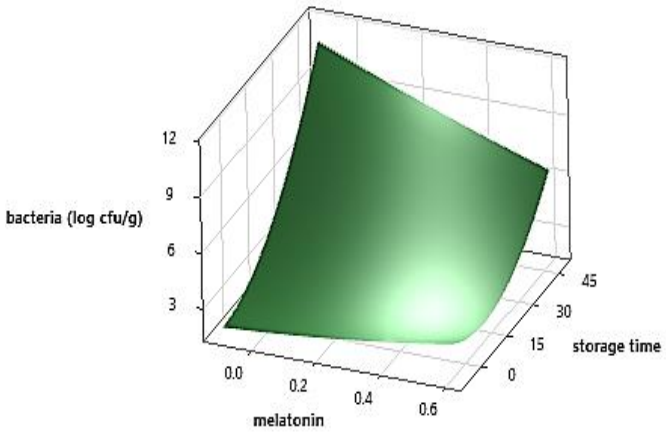
نمودار (۷)- نمودار سطح پاسخ اثرات متغیرهای فرآیند بر عدد پراکسید پسته

- شمارش کلی باکتری‌ها

در این تحقیق، بار میکروبی کلی پسته تحت تیمار ملاتونین از ۱ تا ۹ log CFU/g متغیر بود (جدول ۱). نتایج آنالیز واریانس نشان داد که R^2 مدل ۰/۷۹، مدل برازش شده معنی‌دار ($p<0.05$) و عدم برازش غیر معنی‌دار بود. اثر خطی زمان نگه‌داری بر تعداد باکتری معنی‌دار بود ($p<0.05$) (جدول ۲).

بر اساس مدل پیشنهادی (رابطه ۱۴) و نمودارهای سطح پاسخ (نمودار ۸)، آلودگی باکتریایی در پسته با گذشت زمان نگه‌داری افزایش یافت. ضریب مثبت برای اثرات درجه دوم X_1^2 تاثیر قوی ملاتونین را بر آلودگی باکتریایی در پسته نشان می‌دهد. اثرات مقابل X_1X_2 شمارش باکتری را در پسته کاهش داد.

Bacteria (log CFU/g): $y = 2.02 + 0.09\ X_1 + 0.0365\ X_2 - 0.150\ X_1X_2 + 1.40\ X_1^2 + 0.00272\ X_2^2$ (۱۴)



نمودار (۸)- نمودار سطح پاسخ اثرات متغیرهای فرآیند بر شمارش میکروبی پسته

- بهینه‌سازی و اعتبارسنجی مدل

روش تابع مطلوبیت (Desirability Function Method) در RSM برای تعیین ترکیبی از متغیرها برای بهینه‌سازی پاسخ‌های متعدد و ارائه مطلوب‌ترین پاسخ‌ها استفاده می‌شود. براساس حداکثر فنل، آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی و حداقل افت وزنی، عدد پراکسید، رشد باکتری و همچنین براساس سختی مغز پسته در محدوده، نمونه بهینه با میزان مطلوبیت ۰/۵۷ برای پسته معرفی شد. آزمون‌های انطباق با همان شرایط تجربی برای بررسی صحت همبستگی‌های مدل ریاضی انجام شد. نقطه بهینه پسته با ۰/۵ درصد ملاتونین و ۲۲ روز انبارمانی جهت رسیدن به ویژگی‌های کیفی مورد نظر پیشنهاد گردید.

نتایج به‌دست‌آمده در دو بخش پیش‌بینی و آزمایشگاهی جهت اعتبارسنجی مدل مورد آنالیز قرار گرفت آزمایش‌های انجام‌شده نشان داد که مقادیر تجربی به‌طور منطقی به مقادیر پیش‌بینی‌شده نزدیک بودند و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ($p>۰/۰۵$). بنابراین اعتبارسنجی مدل مورد تایید قرار گرفت (جدول ۳).

جدول (۳)- مقادیر واقعی و پیش بینی شده فاکتورهای هدف جهت اعتبارسنجی مدل

مقادیر	افت وزنی (٪)	سفتی (کیلوگرم نیرو)	پوسیدگی (٪)	فنل کل (میلی‌گرم بر صد گرم)	آنتی-اکسیدان (٪)	کاتالاز (میلی‌گرم بر دقیقه)	سوپراکسیددیسموتاز (میلی‌گرم بر دقیقه)	آسکوربات پراکسیداز (میلی‌گرم بر دقیقه)	عدد پراکسید (میلی‌اکی والان بر کیلوگرم)	شمارش میکروبی (لگاریتم واهد تشکیل‌دهنده کلونی بر گرم)
واقعی	۰/۷۲	۳/۰۸	۴/۴۵	۴۳/۹۶	۳۲/۸۰	۰/۳۵	۴/۷۴	۰/۴۳	۰/۲۳	۲/۱۷
پیش‌بینی	۰/۷۱	۳/۰۸	۴/۱۵	۴۳/۰۵	۳۲/۲۰	۰/۳۲	۴/۱۵	۰/۴۲	۰/۲۰	۲/۶۱

بحث و نتیجه‌گیری

کاهش وزن یکی از مهم‌ترین تغییراتی است که در میوه‌ها و سبزی‌ها پس از برداشت و در طی فرآوری و نگـه‌داری رخ می‌دهد و با کاهش کیفیـت و ضـررهای اقتصـادی همـراه اسـت (Rezaiyan Attar *et al*., 2023; Moosapoor *et al*., 2021). مکانیسم کاهش وزن محصولات تازه، ناشی از تفاوت‌های فشار بخار در مکان‌های مختلف است که می‌توانـد بـا واکنش‌های متابولیکی منجر به نرم‌شدن گوشت، رسیدن میوه‌ها و پیری شود. روند تـنفس نیـز باعـث کـاهش وزن میـوه می‌شود (Moosapoor *et al*., 2021; Rezaiyan Attar *et al*., 2023; Taghipour *et al*., 2024).

هر گونه عاملی که به‌عنوان یک پوشش و سدکننده اعمال گردد سبب تاخیر در کاهش وزن نمونه‌ها می‌گـردد. پوشـش-های خوراکی به‌عنوان یک سد نیمه‌نفوذپذیر در برابر رطوبت، اکسیژن و دی‌اکسیدکربن، شـدت تـنفس و اتـلاف آب را کاهش می‌دهند (Rezaiyan Attar *et al*., 2023).

ملاتونین در گیاهان باعث افزایش عملکرد محصول، افزایش وزن و تغییر ترکیب میوه مـی‌شـود (Wang *et al*., 2020). ملاتونین در تحقیقات بسیاری برای افزایش عمر مفید میوه پس از برداشت و بهبود کیفیت میوه مورد بررسی قرار گرفته است. به‌عنوان مثال، کاهش وزن هلو (Gao *et al*., 2016)، توت فرنگی (Liu *et al*., 2018) و گیلاس شـیرین (Wang *et al*., 2019a) پس از تیمار با ملاتونین در طول ذخیره‌سازی به‌تعویق افتاد ولی در نمونه‌های تیمارنشده میـزان کـاهش وزن افزایش یافت.

بافت میوه‌جات و سبزیجات از خصوصیات مهم کیفی آن‌ها شناخته می‌شود. سفتی بافت مغز پسته پارامتر مهمـی اسـت که لازم است در طول دوره انباری کنترل شود (Shakerardekani *et al*., 2021; Taghipour *et al*., 2024).

کاهش سفتی در طول دوره انباری، یکی از فاکتورهای اصلی کاهش کیفیت محصولات تازه است. نرمـی بافـت در نتیجـه فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده دیواره سلولی نظیر پلی‌گالاکتوروناز، پکتین متیل‌استراز و بتاگلوکوزیداز و یا از بین رفتن فیبرها اتفاق می‌افتد. علاوه بر این، افـزایش اکسیداسـیون در طـول دوره انبـاری و واکـنش محصـولات اکسیداسـیون بـا ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها، می‌تواند سفتی نامطلوبی ایجاد کنند. بنابراین تغییر در سفتی نمونه‌های پسـته طـی

دوره انباری ممکن است با ازدست‌دادن آب و واکنش‌های اکسیداسیون رابطه داشته باشد (Moosapoor *et al*., 2021; Shakerardekani *et al*., 2021).

ملاتونین با کنترل میزان از دستدهی آب و کاهش واکنش‌های اکسیداسیون در حفظ سفتی مغز مؤثر است. در توافق با نتایج این تحقیق، ملاتونین کاهش سختی کیوی (Wang *et al*., 2019b) و توت‌فرنگی (Liu *et a*l., 2018) را به‌تعویق انداخت و سفتی هلو (Gao *et al*., 2016) را در طول ذخیره سازی حفظ کرد. در مقابل، یافته‌های مطالعه‌ای نشان داد که استفاده از ملاتونین نرم شدن گوجه‌فرنگی بالغ را به‌طور قابل توجهی تسریع می‌کند (Sun *et al*., 2015). تفاوت پاسخ‌ها به تیمار ملاتونین در مطالعات مختلف ممکن است به‌دلیل مراحل مختلف رسیدن باشد (Liu *et al*., 2018). تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و رشد میکروبی در پسته تازه می‌تواند ماندگاری آن را کاهش دهد (Afrashteh *et al*., 2023).

ملاتونین به‌دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی، پوسیدگی میوه را در دماهای پایین به تاخیر می‌اندازد (Wang *et al*., 2020). کاهش پوسیدگی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهارکننده گونه‌های اکسیژن فعال (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات‌پراکسیداز) و حفظ یکپارچگی غشاء همراه است که در برابر آسیب سرما پس از برداشت و پاتوژن‌ها در طول ذخیره‌سازی مقاوم است (Afrashteh *et al*., 2023; Jannatizadeh, 2019). پوسیدگی کمتر در پسته تیمار شده با ملاتونین به فعالیت بالاتر آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز نیز نسبت داده می‌شود (Aghdam and Fard, 2017). به‌طور مشابه، پوسیدگی در هلو (Gao *et al*., 2016)، گیلاس (Wang *et al*., 2019a)، توت‌فرنگی (Liu *et al*., 2018; Aghdam and Fard, 2017) و انار (Jannatizadeh, 2019) پس از تیمار با ملاتونین به‌تعویق افتاد.

پسته منبع غنی از ترکیبات فنلی است و به‌عنوان غذای فراسودمند در نظر گرفته شده است (Arjeh *et al*., 2020). گروه اصلی ترکیبات فنلی پسته شامل فلاونوئیدها می‌باشد که بسته به واریته آن به ۱۶ تا ۷۰ میلی‌گرم بر صد گرم می‌رسد. در میان آجیل‌ها، پسته غنی‌ترین منبع ایزوفلاون‌ها با مقادیر حدود ۳/۶۳ میلی‌گرم بر صد گرم است. توزیع فلاونوئیدها بین پوست و مغز متفاوت است (Mandalari *et al*., 2022).

یکی از دلایل عمده کاهش ترکیبات فنلی، فعالیت آنزیمی می‌باشد. برخی از آنزیم‌ها برای مقابله با دمای پایین انبار از ترکیبات فنلی به‌عنوان یک ترکیب حدواسط برای کاهش رادیکال‌های آزاد استفاده می‌کنند که این امر سبب کاهش مقدار ترکیبات فنلی می‌گردد (Zibaei-Rad *et al*., 2024; Moosapoor *et al*., 2021).

آنزیم فنیل آلانین آمونیالاز در تشکیل ترکیبات فنلی نقش اساسی داشته و تغییر در فعل و انفعالات آنزیم‌های سنتزکننده و تجزیه‌کننده ترکیبات فنلی طی دوره انباری تحت تأثیر تنفس قرار می‌گیرد، به‌طوریکه با افزایش تنفس، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالاز کاهش و فعالیت سایر آنزیم‌های تجزیه‌کننده افزایش پیدا می‌کند (Hashemi *et al*., 2021 a).

ATP برای تجمع فنل‌ها مورد نیاز است. بنابراین تجمع بیشتر فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها در میوه‌های تیمار شده با ملاتونین با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر همراه است (Aghdam and Fard, 2017).

کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در طول دوره انباری ممکن است به‌دلیل اکسیداسیون ترکیبات فنلی و تخریب ساختار سلول همزمان با پیری میوه باشد. این عوامل باعث آزاد شدن آنزیم‌های اکسیداتیو و هیدرولیتیک می شوند که ممکن است آنتی‌اکسیدان‌ها را از بین ببرند (Zibaei-Rad *et al*., 2024).

از مهم‌ترین ترکیباتی که در مغز پسته دارای فعالیت ضداکسیدان هستند می‌توان به ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، کاروتنوئیدها، لوتئین، کلروفیل و فئوفیتین اشاره کرد (Zibaei-Rad *et al*., 2024; Moosapoor *et al*., 2021). بنابراین، پسته یک غذای کامل حاوی مجموعه‌ای از ترکیبات فعال زیستی است و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن به احتمال زیاد به‌دلیل اثر سینرژیستی بسیاری از اجزا است (Mandalari *et al*., 2022).

رابطه پلی‌فنل‌ها و اثرات آنتی‌اکسیدانی پسته توسط بسیاری از محققین گزارش شده است (Hashemi *et al*., 2021 a, b; Grace *et al*., 2016). افزایش محتوای فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در انار (Jannatizadeh, 2019)، مرکبات (Lin *et al*., 2019)، هلو (Gao *et al*., 2016)، توت‌فرنگی (Liu *et al*., 2018; Aghdam and Fard, 2017)، لیچی (Zhang *et al*., 2018)، گلابی (Zheng *et al*., 2019) پس از تیمار با ملاتونین گزارش شده است.

ملاتونین یک مولکول آنتی‌اکسیدان است (Salehi *et al*., 2019; Meng *et al*., 2017) که علاوه بر ظرفیت مهار گونه-های اکسیژن فعال، توانایی تقویت فعالیت سیستم‌های مهارکننده گونه‌های اکسیژن فعال را با تحریک ژن‌های مهارکننده گونه‌های اکسیژن فعال نشان می‌دهد. تیمار با ملاتونین با کاهش تجمع اکسیژن و پراکسید هیدروژن، پیری میوه را پس از برداشت به تاخیر می اندازد که دلیل آن بهبود فعالیت آنزیم‌های مهارکننده گونه‌های اکسیژن فعال است که با کاهش تولید گونه‌های اکسیژن فعال و یکپارچگی بالاتر غشاء همراه است (Jannatizadeh, 2019).

گونه‌های اکسیژن فعال که باعث آسیب اکسیداتیو و از بین‌رفتن یکپارچگی غشای اندام گیاهی و در نهایت پیری میوه می‌شوند، می‌تواند توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی حذف شود (Molamohammadi *et al*., 2020).

سوپراکسید دیسموتاز تاثیر مهمی در به‌تاخیر انداختن پیری میوه ایفا می‌کند. این آنزیم رادیکال‌های سوپراکسید ($O_2^{\bullet}$) را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند که توسط کاتالاز و پراکسیداز تجزیه می شود. کاتالاز، پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند، درحالی‌که پراکسیداز، پراکسید هیدروژن را با اکسیداسیون سوبسترای‌های مشترک مانند ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان‌ها تجزیه می‌کند. بهبود فعالیت کاتالاز نقش مهمی در مقاومت در برابر اکسیداسیون دارد. پراکسیداز نیز در فرآیندهای ساخت دیواره سلولی مانند اکسیداسیون ترکیبات فنلی، سابریزاسیون و لیگنیکاسیون نقش دارد که می‌تواند منجر به تقویت دیواره سلولی و در نتیجه تشکیل موانع برای نفوذ میکروارگانیسم‌ها شود (Molamohammadi *et al*., 2020; Taghipour *et al*., 2023).

افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز می‌تواند در اجتناب یا تاخیر در تجمع رادیکال‌های سوپراکسید در طول انبارمانی و سپس کاهش آسیب به بافت میوه‌های تیمار شده نقش داشته باشد (Taghipour *et al*., 2023).

این نتایج نشان می‌دهد که ملاتونین با حفظ تعادل گونه‌های اکسیژن فعال از طریق تنظیم بیان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، افزایش فعالیت آن‌ها و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، می‌تواند پیری را به‌تاخیر بیاندازد. آنتی-اکسیدان‌های غیرآنزیمی نیز نقش مهمی در دفاع در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال در طول پیری

ایفا کرده‌اند و مسئول حذف مستقیم گونه‌های اکسیژن فعال هستند و می‌تواند باعث تاخیر در پیری میوه شـوند (Wang *et al*., 2019; Gao *et al*., 2016).

به‌طور مشابه، ملاتونین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسـیدانی را در انـار (Jannatizadeh, 2019)، گوجـه‌فرنگـی (Li *et al*., 2019)، هلو (Gao *et al*., 2016; Zheng *et al*., 2007)، توت فرنگی (Aghdam and Fard, 2017; Liu *et al*., 2018)، گیلاس (Wang *et al*., 2019a)، گلابی (Zhai *et al*., 2018; Zheng *et al*., 2019)، لیچی (Zhang *et al*., 2018)، کلـم (Zhang *et al*., 2016) و بادمجان (Wu *et al*., 2017) افزایش داده است.

پسته مانند تمام مغزها دارای چربی بالا (۴۰ تا ۶۳ درصد) و سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع است کـه حضـور آنهـا پسته را به اکسیداسیون حساس‌تر می‌نماید. مهم‌ترین واکنش تخریبی پسته که در طول دوره انبارمانی منجر به افت کیفیت محصول می‌شود، اکسیداسیون است (Hashemi *et al*., 2021a, b). رنسیدیتی اکسیداتیو در آجیل نـه‌تنها کیفیـت حسـی آن را مختل می‌کند، بلکه می‌تواند منجر کاهش مـواد مغـذی و مشـکلات سـلامتی شـود زیـرا تعـدادی از محصـولات اکسیداسیون هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در داخل بدن سمی هستند. بنابراین، اکسیداسیون در پسته نیاز به نظـارت مستمر دارد (Rezaiyan Attar *et al*., 2023).

همان‌طور که گفته شد، پسته حاوی آنتی اکسیدان‌های مختلف مانند فنل‌ها است که نقش حیـاتی در پایـداری اکسـیداتیو پسـته دارنـد (Zibaei-Rad *et al*., 2024; Moosapoor *et al*., 2021). ملاتـونین نیـز یـک مولکـول آنتـی اکسـیدانی آمفی‌فیلیک است که به‌دلیل اندازه کوچک و حلالیت خوب در آب و لیپیدها قادر به نفوذ به تمام بخـش‌هـای سـلول و کاهش عدد پراکسید است. آنچه ملاتونین را در گیاهان جالب می‌سازد نقش آنتی‌اکسـیدانی آن اسـت کـه در بسـیاری از تحقیقات تایید شده‌است (Yang *et al*., 2018). خواص آنتی‌اکسیدانی ملاتونین عمدتاً شـامل مهـار مسـتقیم گونـه‌هـای اکسیژن فعال و نیتروژن فعال است. یک مولکول ملاتونین می‌تواند تا ۱۰ مولکول اکسـیژن فعـال و نیتـروژن فعـال را از بین ببرد. تسریع فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محافظت در برابر آسیب اکسیداتیو، اثرات سینرژیسـتی بـا سـایر آنتـی اکسیدان‌ها، بهبود کارایی انتقال الکترون در زنجیره تنفسی میتوکندری و محدود کردن تولیـد بـیش از حـد رادیکال‌هـای آزاد از طریق کاهش نشت الکترون از موارد دیگر مکانیسم آنتی‌اکسیدانی ملاتونین است (Meng *et al*., 2017).

طبق استاندارد ملی ایران شماره ۲۱۸، حد مجاز عدد پراکسید پسته ۱ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم است که با نتایج تحقیـق حاضر منطبق است. بنابراین روغن پسته در این تحقیق پایداری اکسیداتیو بالایی نشان داد (ISIRI, 218/2013).

پسته تازه ماندگاری کوتاهی دارد (Taghipour *et al*., 2024). بنابراین، مطالعات گسترده‌ای برای ایـن حـوزه ضـروری است. ملاتونین در شرایط آزمایشگاهی فعالیت‌های ضدمیکروبی علیه پاتوژن‌های مختلف میوه مانند گوجه‌فرنگی (Li *et al*., 2019; Liu *et al*., 2018)، خیار و هندوانه (Mandal *et al*., 2018)، مرکبات (Lin *et al*., 2019) و گلابی (Zheng *et al*., 2019) نشان داده است.

مطالعات نشان داده‌اند که ملاتونین قادر به افزایش مقاومت در برابر بیماری‌های ذاتی در میـوه پـس از برداشـت اسـت. تیمار میوه با ملاتونین پس از برداشت باعث القای فنلیک‌های بیوسنتز و تنظـیم مثبـت سـیگنال‌هـای دفـاعی مـی‌شـود.

ملاتونین همچنین قادر به القای مسیر فنیل پروپانوئید است که یک مسیر میانی برای سنتز فنلیک‌های مرتبط با مقاومت به بیماری مانند لیگنین است (Wang *et al*., 2020).

طبق استاندارد ملی ایران شماره ۲۱۸، حد مجاز شمارش کل میکروبی پسته با ۳ log CFU/g است. بنابراین تیمارهای پسته در تحقیق حاضر در سطوح مجاز استاندارد قرار داشتند (ISIRI, 218/2013).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار ملاتونین به‌طور موثری میزان افت وزنی پسته را کاهش و سفتی مغز پسته را حفظ نمود. تیمار ملاتونین همچنین میزان فنل و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی و آنزیمی را افزایش داد و از آلودگی میکروبی جلوگیری کرد. بیشترین تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و میکروبی در تیمار شاهد (بدون ملاتونین) مشاهده شد.

ضرایب R^2 برای پاسخ‌های پسته نشان‌دهنده برازش خوب مدل است که نشان داد مدل برازش شده توانسته بیش از نیمی از کل تغییرات را توضیح دهد. عدم برازش تمامی پاسخ‌ها غیرمعنی‌دار بود که نشان می‌دهد می‌توان از مدل‌ها برای اهداف پیش‌بینی استفاده کرد. غلظت ۰/۵ درصد ملاتونین و ۲۲ روز انبارمانی به‌عنوان نقاط بهینه پیشنهاد شد.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود واجب می‌دانند از مسئولین آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان مراتب سپاسگزاری را به عمل آورند.

تضاد منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Afrashteh, S., Nazoori, F. and Mirdehghan, S.H. (2023). Improving fresh pistachio quality by postharvest application of edible coating during cold storage. Journal of Plant Physiology and Breeding. , 13(1): 1-16.
- Aghdam, M. S. and Fard, J. R. (2017). Melatonin treatment attenuates postharvest decay and maintains nutritional quality of strawberry fruits (Fragaria x anannasa cv. Selva) by enhancing GABA shunt activity. Food Chemistry, 221: 1650–1657.
- Arjeh, E., Akhavan, H., Barzegar, M. and Carbonell-Barrachina, A. (2020). Bio-active compounds and functional properties of pistachio hull: A review. Trends in Food Science & Technology, 97: 55–64.
- Arjeh, E., Masoumi, A., Barzegar, M. and Akhavan, H.R. (2021). Strategies to reduce microbial contaminations and increase the shelf life of pistachio fruit: A review. Food & Health, 4(1): 24-37.
- Chuffa, L., Seiva, F., Novais, A., Simão, V., Giménez, V., Manucha, W., Zuccari, D. and Reiter, R. (2021). Melatonin-Loaded Nanocarriers: New Horizons for Therapeutic Applications. Molecules, 26, 3562.

- Gao, H., Zhang, Z. K., Chai, H. K., Cheng, N., Yang, Y., Wang, D. N., Yang, T. and Cao, W. (2016). Melatonin treatment delays postharvest senescence and regulates reactive oxygen species metabolism in peach fruit. Postharvest Biology and Technology, 118: 103-110.
- Grace, M.H., Esposito, D., Timmers, M.A., Xiong, J., Yousef, G., Komarnytsky, S. and Lila, M.A. (2016). In vitro lipolytic, antioxidant and anti-inflammatory activities of roasted pistachio kernel and skin constituents. Food Funct, 7: 4285–4298.
- Hashemi, M., Mirzaaleian Dastjerdi, A., Shakerardekani, A. and Mirdehghand, S.H. (2018). Effect of carboxymethyl cellulose edible coating enriched with Zataria multiflora essential oil on the quality and shelf-life of fresh pistachio (Pistacia vera L.) fruit. PHJ, 1(1): 6-12.
- Hashemi, M., Dastjerdi, A. M., Mirdehghan, S. H., Shakerardekani, A., and Golding, J. B. (2021a). Incorporation of Zataria multiflora Boiss essential oil into gum Arabic edible coating to maintain the quality properties of fresh in-hull pistachio (*Pistacia vera* L.*)*. Food Packaging and Shelf life, 30, 100724.
- Hashemi, M., Dastjerdi, A. M., Shakerardekani, A., and Mirdehghan, S. H. (2021b). Effect of alginate coating enriched with Shirazi thyme essential oil on quality of the fresh pistachio (*Pistacia vera L.*). Journal of Food Science and Technology, 58(1): 34-43.
- Iranian National Standardization Organization. (2013). Pistachio kernel Specifications and test methods. INSO. 218. 5th. Revision. [in Persian]
- Jannatizadeh, A. (2019). Exogenous melatonin applying confers chilling tolerance in pomegranate fruit during cold storage. Scientia Horticulturae, 246: 544–549.
- Jannatizadeh, A., Aghdam, M. S., Luo, Z. S. and Razavi, F. (2019). Impact of exogenous melatonin application on chilling injury in tomato fruits during cold storage. Food and Bioprocess Technology, 12(5): 741–750.
- Li, S. G., Xu, Y. H., Bi, Y., Zhang, B., Shen, S. L., Jiang, T. J. and Zheng, X. L. (2019). Melatonin treatment inhibits gray mold and induces disease resistance in cherry tomato fruit during postharvest. Postharvest Biology and Technology, 157, 110962.
- Lin, Y., Fan, L., Xia, X., Wang, Z., Yin, Y., Cheng, Y. and Li, Z. (2019). Melatonin decreases resistance to postharvest green mold on citrus fruit by scavenging defense-related reactive oxygen species. Postharvest Biology and Technology, 153: 21–30.
- Liu, C., Zheng, H., Sheng, K., Liu, W. and Zheng, L. (2018). Effects of melatonin treatment on the postharvest quality of strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology, 139: 47–55.
- Liu, C. X., Chen, L. L., Zhao, R. R., Li, R., Zhang, S. J., Yu, W. Q. and Shen, L. (2019). Melatonin induces disease resistance to Botrytis cinerea in tomato fruit by activating jasmonic acid signaling pathway. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 67(22): 6116–6124.
- Mandal, M. K., Suren, H., Ward, B., Boroujerdi, A. and Kousik, C. (2018). Differential roles of melatonin in plant-host resistance and pathogen suppression in cucurbits. Journal of Pineal Research, 65(3): e12505.
- Mandalari, G., Barreca, D., Gervasi, T., Roussell, M., Klein, B. Feeney, M.J. and Carughi A. (2022). Pistachio Nuts (Pistacia vera L.): Production, Nutrients, Bioactives and Novel Health Effects. Plants, 11(18): 1-10.
- Meng, X., Li, Y., Li, S., Zhou, Y., Gan, R.Y., Xu, D.P. and Li, H.B. (2017). Dietary Sources and Bioactivities of Melatonin. Nutrients, 9, 367.
- Molamohammadi, H., Pakkish, Z., Akhavan, HR. (2020). Effect of Salicylic Acid Incorporated Chitosan Coating on Shelf Life Extension of Fresh In-Hull Pistachio Fruit. Food Bioprocess Technol, 13: 121–131.
- Moosapoor, F., Nazoori, F., Pirmoradi, M. and Mirdehghan H. (2021). Investigation of the effect of combined treatment of clove plant essential oil (Syzygium aromaticum) with carboxymethylcellulose on storage of fresh pistachio. FSCT, 18 (111) :279-294. [in Persain]

- Rafieidolatabadi, A., Afrousheh, M., Tajabadipour, A. and Esmaeiliranjbar, A. (2020). Investigation of Effects of Different Coatings on the Storage of Fresh Fruit in Pistachio Commercial Cultivars. Pistachio and Health Journal, 3 (2): 52-65.
- Rezaiyan Attar, F., Sedaghat, N., Pasban, A., Yeganehzad, S. and Hesarinejad, MA. (2023). Modifed atmosphere packaging with chitosan coating to prevent deterioration of fresh in-hull Badami's pistachio fruit. Biological Technology in Agricultur, 10:16-26.
- Salehi, B., Sharopov, F., Fokou, P., Kobylinska, A., de Jonge, L., Tadio, K., Sharifi-Rad, J., Posmyk, M., Martorell, M. and Martins, N. (2019). Melatonin in Medicinal and Food Plants: Occurrence, Bioavailability, and Health Potential for Humans. Cells, 8, 681.
- Shakerardekani, A., Hashemi, M., Shahedi, M. and Mirzaalian Dastjerdi, A. (2021). Enhancing the quality of fresh pistachio fruit using sodium alginate enriched with thyme essential oil. Journal of Agricultural Science and Technology, 23(1): 65-82.
- Sun, Q. Q., Zhang, N., Wang, J. F., Zhang, H. J., Li, D. B., Shi, J., Guo, Y. D. (2015). Melatonin promotes ripening and improves quality of tomato fruit during postharvest life. Journal of Experimental Botany, 66(3): 657–668.
- Taghipour, S., Ehtesham Nia, A. and Hokmabadi , H. (2023). Pre-harvest application of chitosan and nano-chitosan on enzymatic activities, quality and sensory indicators of fresh pistachios (Pistacia vera L. cv 'Ahmad Aghaei. Plant Productions., 46 (1): 51-63.
- Taghipour, S., Ehtesham Nia, A., Hokmabadi, H. and Martínez-Gómez, P. (2024). Physicochemical and quality characters of fresh pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars in response to chitosan/ZnO nanocomposite coating. Food Chemistry, 435 (1): 137136.
- Terefe, Z., Omwamba, M. and Nduko, J. (2022). Optimization of Extrusion Cooking Variables for Production of Protein Enriched Maize-Cassava Leaf Composite Instant Porridge Flour. International Journal of Food Science and Agriculture, 6(1): 93-106.
- Yang, X., Xu H., Li D., Gao X., Li T.L. and Wang R., (2018). Effect of melatonin priming on photosynthetic capacity of tomato leaves underlow-temperature stress, Photosynthetica, 56(3): 884–892.
- Wang, S.Y., Shi, X.C., Wang, R., Wang, H.L., Liu, F. and Laborda P. (2020). Melatonin in fruit production and postharvest preservation: A review. Food Chemistry, 320: 126642
- Wang, F., Zhang, X., Yang, Q. and Zhao, Q. (2019a). Exogenous melatonin delays postharvest fruit senescence and maintains the quality of sweet cherries. Food Chemistry, 301, 125311.
- Wang, X., Liang, D., Xie, Y., Lv, X. L., Wang, J. and Xia, H. (2019b). Melatonin application increases accumulation of phenol substances in kiwifruit during storage. Emirates Journal of Food and Agriculture, 31(5): 361–367.
- Wu, X. X., Zhu, Z. W., Zhang, A. D., Xu, S., Yao, J. and Zha, D. S. (2017). Effects of exogenous melatonin on the growth photosynthesis and antioxidant system in eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings under low temperature stress. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 37(12): 2427–2434.
- Zhai, R., Liu, J. L., Liu, F. X., Zhao, Y. X., Liu, L. L. and Fang, C. (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.
- Zhang, Y. Y., Huber, D. J., Hu, M. J., Jiang, G. X., Gao, Z. Y., Xu, X. B. and Zhang, Z. K. (2018). Delay of postharvest browning in litchi fruit by melatonin via the enhancing of antioxidative processes and oxidation repair. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 66(28): 7475–7484.
- Zhang, N., Sun, Q., Li, H., Li, X., Cao, Y., Zhang, H. and Guo, Y. D. (2016). Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage. Frontiers in Plant Science, 7: 197.
- Zheng, X. L., Tian, S. P., Meng, X. H. and Li, B. Q. (2007). Physiological and biochemical responses in peach fruit to oxalic acid treatment during storage at room temperature. Food Chemistry, 104: 156–162.

- Zheng, H. H., Liu, W., Liu, S., Liu, C. H. and Zheng, L. (2019). Effects of melatonin treatment on the enzymatic browning and nutritional quality of fresh-cut pear fruit. Food Chemistry, 299: 125116.
- Zibaei-Rad, A., Rahmati-Joneidabad, M., Alizadeh Behbahani, B. and Taki, M. (2024). Probiotic-loaded seed mucilage-based edible coatings for fresh pistachio fruit preservation: an experimental and modeling study. Scientific Reports, 14:509.

Optimization of melatonin concentrations and storage time on qualitative properties of Badami pistachio using response surface methodology

Pistachio treatment with melatonin

Asadian Ardakani, A. [1], Mirzaalian Dastjerdi, A. [2*], Shaker Ardakani, A.[3], Shamili, M.[2]

1. PhD student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
2. Associated Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.
3. Associated Professor, Pistachio Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rafsanjan, Iran.
*Corresponding Author: mirzaalian@hormozgan.ac.ir
(Received: //Accepted: //)

Abstract

Fresh pistachio is a highly perishable food. In this study, fresh pistachios (Badami variety) were treated with melatonin (0-0.6%) using the response surface methodology (RAM) by a central composite design (CCD) and stored at room temperature for 40 days. High coefficients of determination, significant p-value, and non-significant lack of fit for the responses indicated good fitness. The results showed that melatonin effectively reduced weight loss and maintained the hardness of pistachio kernels. The increase in antioxidant activity was dependent on the increase in phenolic compounds, and the interaction of melatonin × storage time had a synergistic effect on the antioxidant activity. Although the decay rate increased during storage, melatonin treatment reduced the decay rate. Melatonin also increases the phenol content of the pistachio kernels and the activity of antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase, and ascorbate peroxidase). Over time, peroxide value and microbial contamination increased, although this increase was less in the treated pistachios (p<0.05). The lowest enzymatic and non-enzymatic antioxidants and the highest decay, bacterial growth, and peroxide value were observed in the control treatment (melatonin: time 0:40). These results confirmed the effect of melatonin treatment on maintaining the quality characteristics of pistachios. The optimal sample was introduced with 0.5% melatonin for 22 days of storage and a desirability of 0.57. Since the experimental values had no significant differences with the predicted values (p>0.05), the model validation was confirmed.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Enzymatic Antioxidants, Melatonin, Pistachio, Response surface methodology.