

بررسی رفتار میکرومکانیکی بافت سیب‌زمینی به وسیله میکروسکوپ الکترونی: تأثیر زمان انبارداری، انرژی ضربه و شعاع انحنای محل ضربه

صفورا یونجی^۱ - ابراهیم احمدی^{۲*} - علی علوی‌نیا^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۱۱

چکیده

در این تحقیق از تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای بررسی رفتار میکرومکانیکی بافت سیب‌زمینی رقم سانتا در مدت زمان انبارداری ۱۶ هفته، با سطوح انرژی ضربه شاهد (صفر)، سطح ۱ (0.031 ± 0.002 ژول) و سطح ۲ (0.320 ± 0.02 ژول) و با شعاع انحنای محل ضربه ۳۵ و ۴۵ میلی‌متر) استفاده شد. پس از گذشت مدت انبارداری در فاصله‌های ۲ هفته‌ای، برای هر کدام از غده‌های سیب‌زمینی آزمون ضربه انجام شد و سپس متغیرهای محتوای رطوبت، فشار ترگر سلول، سطح مقطع سلول، محیط سلول و آسیب ضربه تعیین گردید. محافظت بسیار خوب و قابل قبول از ریزساختار سیب‌زمینی طی فرآیند آماده‌سازی نمونه جهت مشاهده در SEM به دلیل استفاده از هگزا متیل دی سیلازان (HMDS) برای خشک کردن شیمیایی بافت یک دستاورد مهم در پژوهش حاضر می‌باشد. نتایج نشان داد که با گذشت زمان انبارداری یک روند کاهشی معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در محتوای رطوبت و فشار ترگر سلول وجود دارد. همچنین سطح مقطع و محیط سلول طی مدت انبارداری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (سطح احتمال ۵ درصد). به‌طور کلی افزایش شدت ضربه باعث کاهش معنی‌دار محتوای رطوبت، فشار ترگر سلول، سطح مقطع و محیط سلول در سطح احتمال ۵ درصد شد. همچنین اثر متقابل سه‌گانه زمان انبارداری، شدت ضربه و شعاع انحنای محل ضربه بر آسیب ضربه ایجاد شده در بافت سیب‌زمینی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است. بررسی‌ها نشان داد با افزایش زمان انبارداری، ضربه شدیدتر و شعاع انحنای کوچک‌تر در محل برخورد، حجم آسیب وارده به‌طور معنی‌داری بزرگ‌تر خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: آسیب ضربه، انبارداری، رفتار میکرومکانیکی، فشار ترگر سلول، میکروسکوپ الکترونی روبشی

مقدمه

سیب‌زمینی در حین برداشت، جابه‌جایی و حمل‌ونقل باعث تغییر در ساختار سلولی و افت کیفیت مصرف خواهد شد که به شدت ضربه و خواص مکانیکی بافت بستگی دارد (Danila, 2015; Konstantkiewicz et al., 2001a). ضربه‌های مکانیکی که منجر به این صدمات می‌شوند در اثر برخورد غده‌ها با اجزای ثابت و متحرک ماشین‌ها، سنگ، کلوخ و با یکدیگر باعث کاهش ارزش اقتصادی محصول می‌گردد. حساسیت به صدمه، با عوامل متعددی همچون فاصله سقوط محصول، انرژی ضربه، ویژگی فیزیکی محل ضربه روی محصول و میزان رسیدگی محصول در ارتباط می‌باشد. عامل اصلی صدمات وارده به محصول سیب‌زمینی، برداشت مکانیزه و به سرعت در یک محدودیت زمانی خاص از نظر آب و هوایی می‌باشد. غده‌های نارس و بزرگ بسیار آسیب‌پذیر هستند. همچنین میزان صدمه در برداشت مستقیم با ماشین بسیار کمتر از روش بیرون آوردن غده‌ها از خاک و جمع‌آوری بعدی آن‌ها می‌باشد. میزان آسیب سیب‌زمینی در ایالات متحده آمریکا در عملیات برداشت و حمل‌ونقل

سیب‌زمینی یکی از محصولات غده‌ای با محتوای رطوبت بالا و منابع غذایی فراوان از جمله نشاسته، پروتئین، ویتامین C، مواد معدنی، فیبر و آنتی‌اکسیدان می‌باشد (Al-Weshahy et al., 2013). با توجه به تولید سالانه ۳۸۵ و ۵/۵ میلیون تن به ترتیب در جهان و ایران، سیب‌زمینی از نظر اقتصادی یک محصول با اهمیت محسوب می‌شود (FAOSTAT, 2014). سطوح مختلف تنش وارد شده به

۱- دانشجوی دکتری مکانیک ماشین‌های کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲- دانشیار، گروه مهندسی بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۳- استاد، گروه مهندسی مکانیک، دانشکده مهندسی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
(Email: eahmadi@basu.ac.ir)

*- نویسنده مسئول:

می‌گردد. اگر نیروی خارجی اعمال شده به بافت، تنش بیشتر از تنش شکست دیواره سلول داشته باشد، این توزیع گسترده تغییر کرده و شکست دیواره سلولی آغاز خواهد شد. هر گونه تغییر در فشار ترگر باعث تغییر در خواص مکانیکی دیواره سلول و در نتیجه کل بافت خواهد شد. براساس تحقیقات انجام گرفته، در مدت انبارداری، فشار ترگر سلول سیب‌زمینی دچار تغییرات میکرومکانیکی و فیزیولوژیکی می‌شود که بر مقاومت بافت بسیار مؤثر است (Konstankiewicz and Zdunek, 2001; Haman et al., 2000; Alvarez et al., 2000). فشار ترگر سلول سیب‌زمینی با استفاده از غوطه‌ور کردن نمونه بافت در محلول‌های مانیتول^۵ با غلظت‌های مشخص تعیین می‌شود (Konstankiewicz and Zdunek, 2001; Alvarez et al., 2000; Singh et al., 2014; Lin and Pitt, 1986). روش‌های کمی برای مطالعه رفتار میکرومکانیکی و ریزساختار بافت سیب‌زمینی بر اساس تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی مورد بررسی قرار گرفته است (Konstankiewicz et al., 2001a; Mahto and Das, 2014; Gibson, 2012; Singh et al., 2005). میکروسکوپ الکترونی روبشی یک ابزار با دقت بسیار بالا برای بررسی سطوح بافت گیاهی می‌باشد (Pathan et al., 2010). نمونه بافت طی مراحل تثبیت کردن شیمیایی^۶ و خشک کردن^۷ بدون آسیب‌دیدگی ریزساختار برای مشاهده با میکروسکوپ الکترونی روبشی، آماده می‌شود (Karcz et al., 2012). برخی از محققان با استفاده از هگزا متیل دی‌سیلازان (HMDS) به‌عنوان یک روش شیمیایی سریع و اقتصادی برای خشک کردن در حین آماده‌سازی نمونه، به بیشترین محافظت از ساختار سلول گیاهی دست یافتند (Pathan et al., 2010; Maricle et al., 2009; Berger et al., 2016). با این حال هیچ پژوهشی در خصوص کاربرد HMDS برای خشک کردن شیمیایی نمونه سیب‌زمینی جهت مشاهده در میکروسکوپ الکترونی روبشی وجود ندارد. به‌منظور مطالعه تغییرات میکرومکانیکی بافت سیب‌زمینی در اثر ضربه مکانیکی، بررسی تصاویر میکروسکوپی از محل ضربه ضروری به نظر می‌رسد. همچنین تأثیر مدت انبارداری و شعاع انحنای محل ضربه بر آسیب ضربه قابل بررسی می‌باشد و تاکنون درباره ارتباط این عوامل با آسیب ضربه در بافت سیب‌زمینی تحقیقات اندکی صورت گرفته است. هدف از این پژوهش مطالعه رفتار میکرومکانیکی بافت سیب‌زمینی در آزمون ضربه متأثر از زمان انبارداری، انرژی ضربه و شعاع انحنای محل ضربه به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی روبشی می‌باشد.

۸ درصد، پس از برداشت ۱۱ درصد و در مدت انبارداری ۳۷ تا ۵۷ درصد بیان شده است (Bentini et al., 2006; Afshari et al., 2008). برخی محققان برای تعیین سطوح مختلف ضربه در فرآیندهای برداشت، نگهداری، حمل‌ونقل و درجه‌بندی سیب‌زمینی و همچنین شرایط مختلف سقوط غده روی سطوح فولاد و پی‌وی‌سی و حرکت روی نوار نقاله در سرعت‌های مختلف از یک وسیله کروی مجهز به لودسل سه محوره، به‌جای غده سیب‌زمینی استفاده کردند. آن‌ها گزارش کردند که میزان ضربه وارده به محصول در برداشت ۱۱ درصد، حمل‌ونقل و جابه‌جایی ۱۰ درصد، بسته‌بندی ۷۹ درصد و انبارداری صفر درصد می‌باشد (Praeger et al., 2013; Molema et al., 2000). از بین دستگاه‌ها و تجهیزات دینامیکی، میز ضربه و پاندول برای اندازه‌گیری آزمون‌های ضربه در محصولات کشاورزی کاربرد بیشتری دارند. معمولاً پاندول متشکل از یک ضربه‌زن مجهز به شتاب‌سنج و نیروسنج بوده که برای اعمال ضربه به محصول استفاده می‌شود (Bajema and Hyde, 1998; Van Zeebroeck et al., 2003).

سیب‌زمینی دارای بافت پارانشیمی^۱ نرم و آبدار متشکل از سلول‌های پر از مایع، با دیواره نازک و چند وجهی بوده که به‌طور متراکم در کنار هم قرار دارند. به‌طور کلی ساختار سلولی سیب‌زمینی مشابه یک فوم سلول بسته^۲ مهندسی می‌باشد. همچنین هر کدام از سلول‌ها دربردارنده گرانول‌های نشاسته‌ای^۳ می‌باشد (Gibson, 2005; Singh et al., 2012). بافت از اصلی‌ترین عامل‌های کیفی سیب‌زمینی بوده و با مقاومت غده در مقابل بارهای اعمال شده ارتباط دارد، به‌طوری که با اعمال بار ضربه‌ای به قسمتی از بافت، در شبکه‌ای به‌هم پیوسته از سلول‌ها یک شکست یا پارگی در نقطه‌ای با کمترین مقاومت رخ می‌دهد. این نوع از آسیب، اغلب قابل مشاهده روی سطح محصول نیست و به‌صورت شکست اجزاء ساختار سلولی می‌باشد. به‌طور کلی اثر نیروی ضربه، به شکل آسیب‌های میکروسکوپی و ترک‌های داخلی کوچک پدیدار می‌شود (Singh et al., 2005; Konstankiewicz et al., 2001a).

دیواره سلول نسبت به آب و املاح یک غشای نیمه تراوا می‌باشد و براساس خاصیت اسمزی، آب می‌تواند از طریق دیواره سلول به درون سلول حرکت کند. در صورتی که املاح قادر به حرکت نبوده و در داخل سلول باقی خواهد ماند. علاوه بر این، نفوذ آب به درون سلول، باعث ایجاد تورم و فشار ترگر^۴ در داخل دیواره سلول می‌شود (Singh et al., 2014). فشار ترگر یا همان فشار هیدرواستاتیک مایع درون سلولی به‌صورت یک تنش گسترده به داخل دیواره سلول اعمال

5- Mannitol
6- Chemical fixation
7- Drying

1- Parenchyma
2- Closed-cell foam
3- Starch granules
4- Turgor pressure

مواد و روش‌ها

تهیه محصول و نگهداری

رقم سانته^۱ به عنوان یکی از ارقام حساس سیبزمینی از نظر انبارداری مورد مطالعه قرار گرفت. غده‌های هم شکل و هم اندازه سیبزمینی به روش دستی و بدون ضربه مکانیکی از نقاط مختلف یک مزرعه تحقیقاتی در جنوب ایران (۳۲ درجه شمالی و ۴۸ درجه شرقی) برداشت شده و به صورت ردیفی با پوشش فوم در داخل جعبه‌های پلاستیکی چیده شدند. سپس جعبه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه رتولوژی گروه بیوسیستم دانشگاه بوعلی سینا همدان با دمای 20 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد، و بعد از گذشت ۲۴ ساعت به یخچال با دمای 5 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵ درصد به مدت ۱۶ هفته منتقل گردید (Bentini et al., 2009). تعدادی از سیبزمینی‌ها قبل از شروع انبارداری (هفته صفر) مورد آزمون قرار گرفتند و بقیه آن‌ها طی مدت زمان انبارداری در فاصله‌های دو هفته‌ای (۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ هفته) از یخچال خارج شدند و پس از هم دما شدن با محیط آزمایشگاه، آزمون ضربه و بلافاصله پس از آن سایر آزمون‌های تجربی (محتوای رطوبت، فشار ترگر و تصاویر میکروسکوپی) روی هر غده انجام گرفت.

آزمون ضربه

آزمون ضربه با استفاده از دستگاه پاندول انجام شد که شامل بازویی به طول ۰/۵۷۷ متر با یک محفظه آلومینیومی شکافدار برای قرارگیری سنسورها و یک ضربه‌زن محذب شکل از جنس تفلون (با شعاع انحنا ۲۵ میلی‌متر) می‌باشد (Molema et al., 1997a). در تحقیق دیگری به وسیله ضربه‌زن با شعاع انحنای متفاوت (بی‌نهایت، ۱۵ میلی‌متر و ۳۰ میلی‌متر) آزمون ضربه به سیبزمینی را انجام دادند و تفاوت معنی‌داری بین انرژی جذب شده در این سه حالت مشاهده نکردند (Molema et al., 1997b). همچنین یک سنسور نیرو (PCB 208c02, PCB Piezotronics, USA, sensitivity: 10.97 mV/N) و یک سنسور شتاب (PCB 320c33, PCB Piezotronics, USA, sensitivity: 105.2 mV/g) به ضربه‌زن متصل شده‌اند. در محور چرخش بازوی پاندول یک شفت انکودر نوری (Autonics E5058, Resolution 0.018, Korea) نصب شده است. به وسیله دستگاه چهار کاناله پردازش سیگنال (ECON, AVANT Lite, model: MI-6004) نیروی برخورد، جابه‌جایی و نرخ جابه‌جایی ضربه‌زن در مدت زمان اعمال ضربه ثبت شد (Ahmadi and Barikloo, 2016). براساس روش چند ضربه در

یک سطح انرژی (CHMI)^۲ برای تعیین نقطه تسلیم بیولوژیکی از منحنی نیرو-زمان استفاده شد. به این صورت که عدم تغییر در منحنی نیرو-زمان در یک انرژی ثابت با تکرارهای ضربه متوالی در یک نقطه روی محصول، نشان‌دهنده شروع نشدن تغییر شکل پلاستیک یا مشخص نبودن نقطه تسلیم بیولوژیکی می‌باشد. بنابراین با افزایش انرژی ضربه و براساس روش سعی و خطا، انرژی بحرانی ضربه (نقطه تسلیم بیولوژیک) که در آن تغییر شکل پلاستیک آغاز می‌شود، برای سیبزمینی رقم سانته ۰/۴۷۷۸ ژول به دست آمد (Bajema and Hyde, 1998). در تحقیق دیگری برای محصول سیبزمینی طی آزمون ضربه، نقطه تسلیم بیولوژیکی، ۰/۰۶۵ ژول گزارش شده است (Baheri, 1997). انرژی‌های ضربه به کار رفته در جدول ۱ نشان داده شده که عبارت است از شاهد که در آن هیچ ضربه‌ای به غده‌ها وارد نمی‌شود، انرژی ضربه ۱ که ضربه‌ای کمتر از نقطه‌ی تسلیم خواهد داشت و انرژی ضربه ۲ که با توجه به فرآیندهای حمل‌ونقل و جابه‌جایی محصول سیبزمینی در نظر گرفته شد (Noble, 1985; Skrobacki et al., 1989; Molema et al., 1997a; Blahovec, 2005; Van canneyt et al., 2003; Danila, 2015). در هر انرژی ضربه، آزمون ضربه برای ۲۱ غده سیبزمینی تکرار شد. قبل از آزمون ضربه، محل اعمال ضربه بر روی هر غده سیبزمینی توسط مارکر علامت زده شد و به وسیله یک دستگاه شعاع سنج با دقت ± 0.1 میلی‌متر شعاع انحنای محل ضربه اندازه‌گیری گردید (Abedi and Ahmadi, 2014).

محتوای رطوبت

در فاصله‌های دو هفته‌ای از انبارداری، بلافاصله پس از اجرای آزمون ضربه از هر غده سیبزمینی (۳ تکرار برای هر انرژی ضربه) یک نمونه مکعبی (۱۰ × ۱۰ × ۱۵ میلی‌متر) در محل ضربه به فاصله ۱ میلی‌متر زیر پوست بریده و سپس برای تسریع در فرآیند خشک شدن نمونه، مکعب به صورت لایه‌های نازک به ضخامت ۳ میلی‌متر برش داده شد. محتوای رطوبت از طریق خشک کردن لایه‌های نازک بافت سیبزمینی در یک آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به یک جرم ثابت انجام شد. جرم اولیه هر نمونه تقریباً ۱۰ گرم برای هر غده بود (Mohsenin, 1996).

فشار ترگر

فشار ترگر سلول سیبزمینی در محل ضربه روی غده، در هر یک از فاصله‌های دو هفته‌ای پس از آزمون ضربه تعیین شد. از هر غده سیبزمینی (۱۵ تکرار برای هر انرژی ضربه) یک نمونه مکعبی (۱۰ × ۱۰ × ۱۵ میلی‌متر) در محل ضربه به فاصله ۱ میلی‌متر زیر

۶/۸) pH با غلظت ۰/۰۲ مولار برای جلوگیری از نرم شدن بافت سیب‌زمینی در حین غوطه‌وری استفاده گردید (Singh et al., Lin and Pitt, 1986; 2014).

پوست بریده شد (Alvarez et al., 2000). نمونه‌های مکعبی در ۵ محلول مانیتول (۳ تکرار برای هر محلول) با غلظت‌های صفر، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۵ و ۰/۶ مول بر متر مکعب به مدت 24 ± 0.25 ساعت غوطه‌ور شدند. همچنین از بافر دی هیدروژن فسفات پتاسیم

جدول ۱- انرژی‌های مختلف ضربه اعمال شده بر روی غده‌های سیب‌زمینی

Table 1- Different impact energies exerted on potato tubers

	انرژی ضربه (ژول) Impact energy (J)	نیروی برخورد (نیوتن) Contact force (N)
شاهد Control	0	0
انرژی ضربه ۱ Impact energy 1	0.031 ± 0.002	32.58 ± 3.7
انرژی ضربه ۲ Impact energy 2	0.320 ± 0.02	125.15 ± 13.2

یک نمونه مکعبی (۱۰×۱۰×۱۵ میلی‌متر) در محل ضربه بریده شد. نمونه سطحی (۱×۱۰×۱۰ میلی‌متر) بعد از جدا کردن پوست از سطح نمونه مکعبی و نمونه عمقی (۱×۱۰×۱۰ میلی‌متر) در جهت استوایی غده و از عمق نمونه مکعبی با استفاده از یک تیغه کاتر ۳۰ درجه تهیه شد (Singh et al., 2005). به‌منظور آماده‌سازی بافت سیب‌زمینی قبل از مشاهده در میکروسکوپ الکترونی روبشی، نمونه‌های سطحی و عمقی برای تثبیت کردن بلافاصله در گلو تار آلدئید ۲/۵ درصد با بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار در دمای 4 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت غوطه‌ور شدند. سپس هر نمونه سه مرتبه (هر مرتبه به مدت ۱۰ دقیقه) در بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار (pH ۷/۲) شستشو داده شد. آب‌گیری نمونه‌ها با اتانول ۲۵، ۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد هر کدام به مدت ۱۵ دقیقه و اتانول ۱۰۰ درصد سه مرتبه (هر مرتبه به مدت ۱۵ دقیقه) انجام شد (Uwins et al., 1993; Talbot and White, 2013; Mahto and Das, 2014; Parker et al., 2001). در این پژوهش برای اولین بار از HMDS به‌عنوان یک روش خشک کردن شیمیایی نمونه بافت سیب‌زمینی استفاده گردید. به این صورت که در آخرین مرحله از آماده‌سازی نمونه‌ها در مایع HMDS در زیر هود آزمایشگاهی غوطه‌ور شدند (Karcz et al., 2012; Pathan et al., 2010; Maricle et al., 2009; Berger et al., 2016). پس از گذشت ۱۸ ساعت، نمونه خشک شده بر روی یک استاب آلومینیومی نصب و جهت ایجاد رسانایی الکتریکی، سطح نمونه با لایه طلا پوشش داده شد. سپس نمونه در داخل محفظه خلأ میکروسکوپ الکترونی روبشی (Jeol JSM-840A) قرار گرفته و تصاویر در ولتاژ کاری ۱۰ کیلو ولت و فاصله کاری ۳۰ تا ۵۰ میلی‌متر تهیه شد (Singh et al., 2005). تصاویر میکروسکوپی با استفاده از نرم‌افزار آنالیز تصویر (MIP) (نهامین

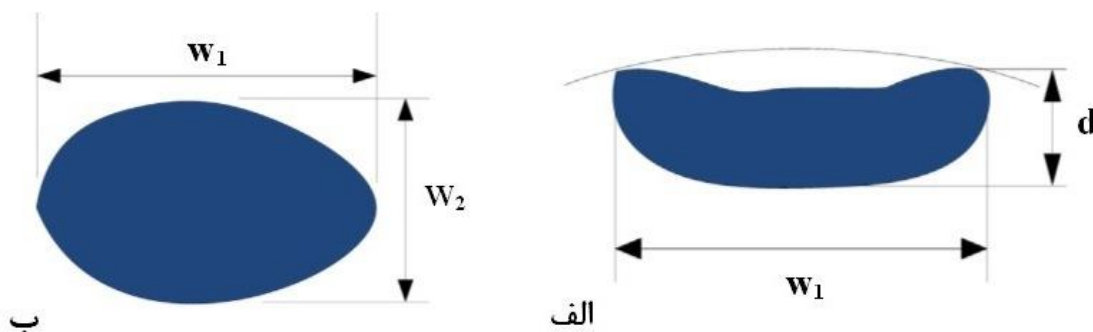
ابعاد نمونه‌های مکعبی قبل و بعد از غوطه‌وری در محلول‌های مانیتول با استفاده از کولیس با دقت ± 0.1 میلی‌متر اندازه‌گیری شد. تغییرات نسبی حجم برای هر نمونه به‌صورت $(V - V_i)/V_i$ محاسبه شد، به‌طوری‌که V و V_i حجم نمونه مکعبی قبل و بعد از غوطه‌وری می‌باشند (Alvarez et al., 2000). پتانسیل آبی سلول سیب‌زمینی بعد از غوطه‌وری با توجه به دما و مولاریته محلول مانیتول و با استفاده از قانون گازهای ایده‌آل تعیین شد. فشار اسمزی محلول مانیتول با توجه به تغییرات حجم نمونه مکعبی قبل و بعد از غوطه‌وری در محلول به‌دست آمد. در نهایت فشار ترگر از تفاضل پتانسیل آبی سلول از فشار اسمزی محلول مانیتول در اطراف سلول تعیین گردید (Lin and Pitt, 1986). مقادیر فشار ترگر سلول سیب‌زمینی در فواصل دوهفته‌ای از طریق رابطه رگرسیونی بین فشار ترگر محلول‌های مانیتول (صفر، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۵، ۰/۶ مولار) و تغییرات نسبی حجم به‌دست آمد. دیواره سلولی یک غشای نیمه تراوا نسبت به محلول مانیتول است. در تغییرات نسبی حجم برابر صفر، بین محلول مانیتول و مایع درون دیواره سلول هیچ‌گونه جذب و یا از دست دادن آب صورت نمی‌گیرد و رفتار آن شبیه رفتار نمونه سیب‌زمینی غوطه‌ور نشده خواهد بود. بنابراین هرگاه تغییرات نسبی حجم برابر صفر باشد فشار ترگر معادل آن، فشار ترگر سلول سیب‌زمینی در نمونه غوطه‌ور نشده می‌باشد (Lin and Pitt, 1986; Alvarez et al., 2000).

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی

برای بررسی تغییرات ریزساختار محل ضربه روی غده سیب‌زمینی، در فاصله‌های دو هفته‌ای آزمون ضربه انجام شد سپس در کمترین زمان ممکن تصاویر میکروسکوپ الکترونی تهیه شد، به‌طوری‌که از هر غده سیب‌زمینی (۶ تکرار برای هر انرژی ضربه)

سلولی، محدوده سلول به صورت دستی مشخص شد. سپس سطح مقطع و محیط سلول توسط نرم افزار محاسبه گردید. همچنین تصاویر SEM از محل ضربه روی غده سیبزمینی به دو صورت برش سطحی و برش عمقی گرفته شد. سپس آسیب ضربه به صورت حجم ریزساختار آسیب دیده در محل ضربه با استفاده از نرم افزار MIP تعیین شد (Lu *et al.*, 2010). ابعاد آسیب ضربه برای برش سطحی شامل عرض اصلی و فرعی (w_1 و w_2) و برای برش عمقی شامل عمق و عرض اصلی (w_1 و d) می باشد (شکل ۱- الف و ب). آسیب ضربه با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد (Mohsenin, 1996):

$$\text{Impact damage} = \frac{\pi d}{24} (3w_1w_2 + 4d^2)$$



شکل ۱- نمای عمقی آسیب ضربه (الف)، نمای سطحی آسیب ضربه (ب)

Fig. 1. Depth view of impact damage (الف), surface view of impact damage (ب)

واریانس، برای آسیب ضربه اثرات اصلی زمان انبارداری، انرژی ضربه و شعاع انحنای محل ضربه و اثرات متقابل دوگانه زمان انبارداری و انرژی ضربه، زمان انبارداری و شعاع انحناء، انرژی ضربه و شعاع انحناء و همچنین اثر متقابل سه گانه زمان انبارداری، انرژی ضربه و شعاع انحناء در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار شد.

بررسی اثر مدت زمان انبارداری بر محتوای رطوبت و فشار ترگر

جدول ۲ نشان می دهد که اثر اصلی زمان انبارداری در سطح احتمال ۵ درصد برای محتوای رطوبت و فشار ترگر سلول معنی دار شد. در صورتی که انرژی ضربه، شعاع انحنای محل ضربه و سایر اثرات متقابل دوگانه و سه گانه بر محتوای رطوبت و فشار ترگر سلول سیبزمینی اثر معنی دار نداشت. همان طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، محتوای رطوبت سیبزمینی در طی زمان انبارداری به جز هفته ۴ به طور معنی داری (سطح احتمال ۵ درصد) کاهش داشت. به طوری که از مقدار بیشینه $76/99 \pm 0/25$ درصد به مقدار کمینه $58/18 \pm 0/17$ درصد رسید (Asmamaw *et al.*, 2010). همچنین فشار ترگر سلول با گذشت زمان انبارداری، روند مشابه محتوای

پردازان آسیا، ایران) برای تعیین ویژگی های ریزساختاری سلولی از جمله سطح مقطع سلول، محیط سلول و همچنین آسیب ضربه مورد تحلیل قرار گرفتند.

آنالیز تصاویر

به منظور تعیین ویژگی های ریزساختاری بافت سیبزمینی، آنالیز تصاویر SEM با استفاده از نرم افزار MIP انجام شد (Konstankiewicz *et al.*, 2001b)، به طوری که در هر تصویر SEM، برای هر سلول در محیط نرم افزار با ترسیم خط روی دیواره

تحلیل آماری

تجزیه واریانس نتایج به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با استفاده از نرم افزار SPSS 23 انجام شد. متغیرهای مستقل شامل دوره های زمانی انبارداری (۹ دوره به فاصله دو هفته)، انرژی های ضربه (شاهد، ۱ و ۲) و شعاع انحنای محل ضربه (شعاع انحنای ۱ و ۲) می باشد. همچنین مقایسه میانگین داده ها از طریق آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد به دست آمد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس اثر عوامل زمان انبارداری، انرژی ضربه و شعاع انحناء بر محتوای رطوبت، فشار ترگر سلول، سطح مقطع و محیط سلول سیبزمینی و آسیب ضربه در جدول ۲ آمده است. براساس این نتایج، برای محتوای رطوبت و فشار ترگر سلول، اثر اصلی زمان انبارداری در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار شد. همچنین برای سطح مقطع و محیط سلول، اثرات اصلی زمان انبارداری و انرژی ضربه در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار شد. با توجه به نتایج تجزیه

سلول بافت سیب‌زمینی طی زمان انبارداری توسط محققان دیگر گزارش شده است (Praeger *et al.*, 2009; Brusewitz *et al.*, 1989; Laza *et al.*, 2001).

بررسی اثر مدت زمان انبارداری و انرژی ضربه بر ویژگی‌های ریزساختاری

شکل ۴ تصویر SEM به‌دست آمده از بافت سیب‌زمینی برای نمونه شاهد می‌باشد و نشان می‌دهد که کاربرد HMDS برای خشک کردن شیمیایی در فرآیند آماده‌سازی نمونه باعث محافظت قابل قبول از ریزساختار (دیواره‌های سلولی) سیب‌زمینی بوده است. همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود ریزساختار سیب‌زمینی شامل سلول‌هایی چندوجهی با شکل متفاوت بوده که عموماً در مقطع، به‌صورت پنج و شش ضلعی می‌باشند. سلول‌های سیب‌زمینی با دیواره نازک و پر از مایع درون سلولی به‌صورت متراکم در کنار هم قرار گرفته‌اند. Singh و همکاران (۲۰۰۵)، پیژوک و همکاران (Pieczywek *et al.*, 2011) و جیسیسون و همکاران (Gibson *et al.*, 2012) با بررسی میکروسکوپی ریز ساختار سیب‌زمینی دریافته‌اند که این محصول دارای یک بافت پارانشیمی نرم و آبدار متشکل از سلول‌های پر از مایع، با دیواره نازک و چند وجهی بوده که به‌طور متراکم در کنار هم قرار دارند.

رطوبت نشان داد (سطح احتمال ۵ درصد). به این صورت که فشار ترگر سلول تا هفته ۲ کاهش و تا هفته ۴ افزایش داشت و پس از آن تا انتهای هفته ۱۶ روند کاهشی نشان داد. بیشترین مقدار فشار ترگر سلول در هفته صفر (قبل از شروع انبارداری) 0.37 ± 0.03 مگاپاسکال و کمترین مقدار آن در هفته ۱۶ 0.24 ± 0.06 مگاپاسکال) مشاهده شد (شکل ۳). آلورز و همکاران (Alvarez *et al.*, 2000) گزارش دادند که فشار ترگر در بافت سیب‌زمینی در ۲ هفته اول انبارداری کاهش یافته ولی در ۲ هفته بعدی افزایش نشان می‌دهد. سپس با یک روند یکنواخت تا هفته ۱۲ کاهش می‌یابد. به‌طور کلی تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیکی بافت سیب‌زمینی در مدت انبارداری باعث ایجاد تغییرات در تنفس و تعرق سلول خواهد شد. در صورتی که میزان سرعت تعرق بیشتر از تنفس باشد، میزان کاهش رطوبت از تولید رطوبت بزرگ‌تر بوده و منجر به افت محتوای رطوبت و فشار ترگر سلول می‌شود. در ۲ هفته اول انبارداری، فشار ترگر به دلیل از دست دادن رطوبت در اثر تخییر و تنش‌آسایی در دیواره سلول بافت سیب‌زمینی می‌باشد. افزایش فشار ترگر تا هفته ۴ در پاسخ به تولید رطوبت در فرآیند تنفسی بوده که بر میزان افت رطوبت طی همین مدت انبارداری برتری دارد. در نهایت به دنبال تعرق‌های بعدی بافت سیب‌زمینی در انبار و تنش‌آسایی بیشتر در دیواره سلول، کاهش فشارترگر تا انتهای زمان انبارداری مشاهده می‌شود. روند کاهشی محتوای رطوبت، همچنین کاهش فشار ترگر

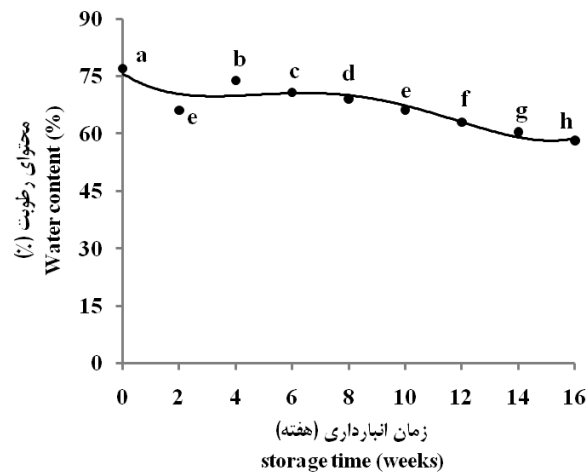
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس محتوای رطوبت، فشار ترگر، سطح مقطع سلول، محیط سلول و آسیب ضربه و شعاع انحنا

Table 2- Analysis of variance (ANOVA) for water content, cell turgor pressure, cell area, cell perimeter and impact damage of potato tissue affected by storage time, impact level and curvature radius of impact location

منابع تغییرات Sources of variations	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square				
		محتوای رطوبت Water content (%)	فشار ترگر Turgor pressure (MPa)	سطح مقطع سلول Cell area (μm^2)	محیط سلول Cell perimeter (μm)	آسیب ضربه Impact damage (μm^3)
زمان انبارداری Storage time	8	398.27*	189.86*	539.12*	485.77*	720.32*
انرژی ضربه Impact level	2	0.00 ^{ns}	0.04 ^{ns}	370.23*	269.00*	14990.78*
شعاع انحنا Curvature radius	1	0.03 ^{ns}	0.52 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.26 ^{ns}	102.82*
زمان انبارداری و انرژی ضربه Storage time × Impact level	16	0.03 ^{ns}	0.04 ^{ns}	1.59 ^{ns}	0.68 ^{ns}	186.65*
زمان انبارداری و شعاع انحنا Storage time × Curvature radius	8	0.07 ^{ns}	1.41 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.02 ^{ns}	5.78*
انرژی ضربه و شعاع انحنا Impact level × Curvature radius	2	0.08 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.04 ^{ns}	28.22*
زمان انبارداری و انرژی ضربه و شعاع انحنا Storage time × Impact level × Curvature radius	16	0.06 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.09 ^{ns}	3.23*

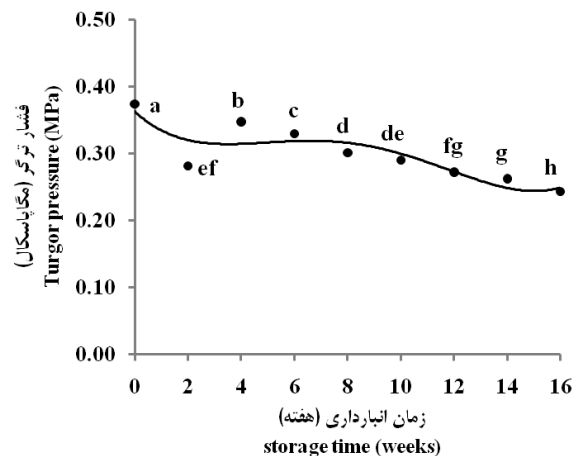
* معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، ns معنی‌دار نیست

* Signinificant at 5%, ns no significant



شکل ۲- مقایسه میانگین محتوای رطوبت بافت سیبزمینی متأثر از زمان انبارداری، بین حروف یکسان تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد وجود ندارد

Fig. 2. Comparison between means of water content of potato tissue during storage. Different letters indicate significant difference ($P < 0.05$)



شکل ۳- مقایسه میانگین فشار ترگر سلول بافت سیبزمینی متأثر از زمان انبارداری، بین حروف یکسان تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد وجود ندارد

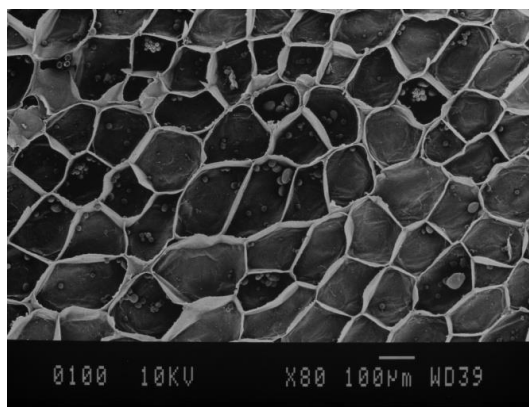
Fig. 3. Comparison between means of cell turgor pressure of potato tissue during storage. Different letters indicate significant difference ($P < 0.05$)

همان طور که در جدول ۲ مشاهده می شود اثرات اصلی زمان انبارداری و انرژی ضربه بر سطح مقطع و محیط سلول در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار است. در صورتی که اثر اصلی شعاع انحنا محل ضربه و سایر اثرات متقابل، اثر معنی داری بر ویژگی های ریزساختاری بافت سیبزمینی نداشته است. در شکل های ۷ و ۸ سطح مقطع و محیط سلول های سیبزمینی نشان داده شده است. با توجه به جدول ۳ با افزایش زمان انبارداری، سطح مقطع و محیط سلول به طور معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد کاهش یافت، به طوری که سطح مقطع و محیط سلول با بیشترین مقادیر در هفته صفر (قبل از شروع انبارداری) $(0.178 \pm 0.002 \times 10^3 \times 23/14)$ میکرومتر مربع و $2/0.08 \pm$

همچنین شکل ۵ نشان می دهد که ساختار سلولی سیبزمینی در اثر انرژی ضربه ۱ به صورت جزئی دچار تغییر شکل شده ولی با وجود له شدگی دیواره های سلول، شکل چند ضلعی و اولیه سلول حفظ شده است. در شکل ۶ ریزساختار آسیب دیده سیبزمینی در اثر انرژی ضربه ۲ نشان داده شده است. سلول ها دچار تغییر شکل شدید شده و در دیواره های سلولی له شدگی و پارگی مشاهده می شود. آسیب های ناشی از ضربه بر بافت سیبزمینی متفاوت هستند. تغییر شکل سلول، ترک های میکروسکوپی و شکست دیواره سلول از جمله صدمات گزارش شده توسط سایر محققان می باشد (Singh et al., 2005; Konstantkiewicz et al., 2001a; Haman et al., 2000).

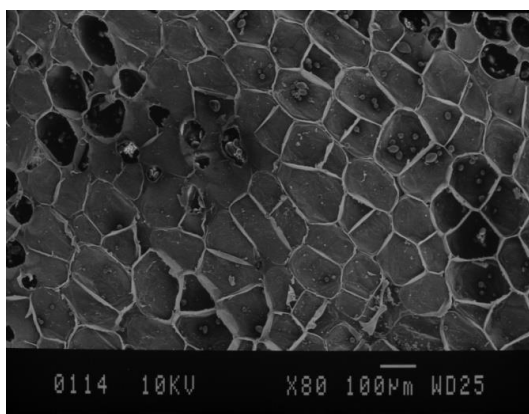
بیشتر از انرژی ضربه ۱ و همچنین انرژی ضربه ۲ بود (جدول ۴). افزایش شدت ضربه منجر به ایجاد شکست و تغییر شکل در دیواره‌های سلولی گردید (شکل ۴). در نتیجه سطح مقطع و محیط سلول در انرژی ضربه ۲ تفاوت معنی‌دار بیشتری نسبت به شاهد و انرژی ضربه ۱ نشان داد. با افزایش انرژی ضربه فشار بیشتری به محصول در محل برخورد وارد می‌شود و در بافت تغییر شکل بیشتری ایجاد می‌شود که این آسیب بر سطح مقطع و محیط سلول مؤثر خواهد بود. به علت آسیب بیشتر در انرژی ضربه بالاتر ریزساختار سلولی متراکم‌تر است. در تصاویر به‌دست آمده توسط کاک و همکاران (Kaack *et al.*, 2002) در آزمون پوست گرفتن سیب‌زمینی، ساختار سلولی در بافت آسیب دیده کاملاً فروریزخته بوده و سطح مقطع سلول‌های له شده کوچک‌تر می‌باشد.

۵۶۴/۹۸ میکرومتر) به ترتیب به میزان ۵۶/۷۴ و ۳۸/۲۶ درصد تا هفته ۱۶ کاهش پیدا کرد. می‌توان این گونه توضیح داد که با تبخیر مایع درون سلولی و کاهش فشار ترگر سلول، دیواره‌های سلولی چروکیده شده و به دنبال آن سطح مقطع و محیط سلول به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (شکل ۸). به‌طور کلی تغییرات در ویژگی‌های ریزساختاری شامل سطح مقطع و محیط سلول در زمان انبارداری به دلیل تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیکی بافت سیب‌زمینی در مدت انبارداری بافت اتفاق می‌افتد (Konstankiewicz and Gancarz, 2007). همکاران (Konstankiewicz, 2007) مقادیر میانگین سطح مقطع و محیط سلول سیب‌زمینی را 90.37 ± 16946 میکرومتر مربع و 168 ± 616 میکرومتر گزارش نمودند. سطح مقطع و محیط سلول سیب‌زمینی در حالت شاهد (بدون ضربه) به‌طور معنی‌داری



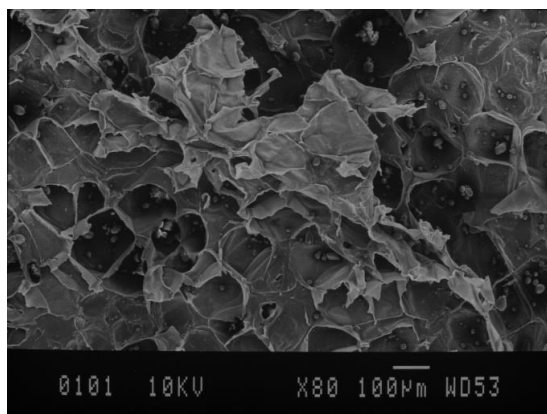
شکل ۴- تصویر SEM از ریزساختار سیب‌زمینی، برش سطحی از نمونه شاهد (انرژی ضربه صفر)

Fig. 4. SEM image of potato microstructure, surface section for control sample

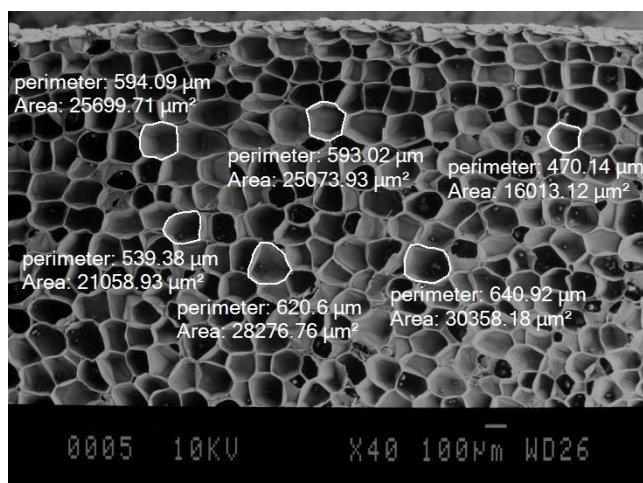


شکل ۵- تصویر SEM از ریزساختار سیب‌زمینی، برش سطحی از نمونه با انرژی ضربه ۱ (۰/۰۳۱ ژول)

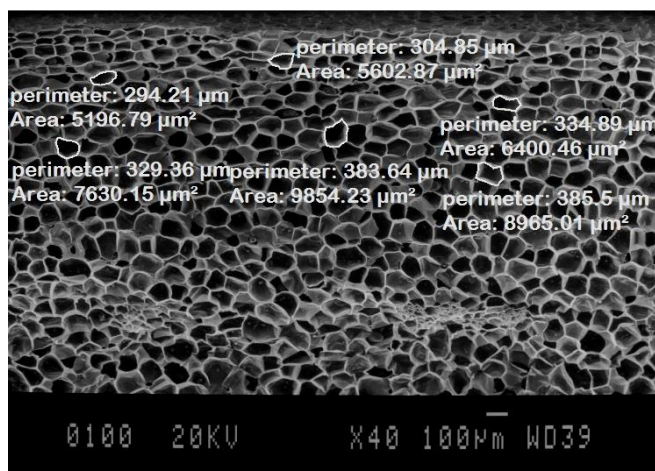
Fig. 5. SEM image of potato microstructure, surface section for impact energy 1 (0.031 J)



شکل ۶- تصویر SEM از ریزساختار سیبزمینی، برش سطحی از نمونه با انرژی ضربه ۲ (۰/۳۲ ژول)
Fig. 6. SEM image of potato microstructure, surface section for impact energy 2 (0.32 J)



شکل ۷- سطح مقطع و محیط محاسبه شده سلول‌های سیبزمینی، برش عمقی از نمونه شاهد (انرژی ضربه صفر) در هفته صفر
Fig. 7. Calculated area and perimeter of potato cells, depth section for control sample at week 0



شکل ۸- سطح مقطع و محیط محاسبه شده سلول‌های سیبزمینی، برش عمقی از نمونه شاهد (انرژی ضربه صفر) در هفته ۱۶
Fig. 8. Calculated area and perimeter of potato cells, depth section for control sample at week 16

جدول ۳- مقایسه میانگین سطح مقطع سلول و محیط سلول برای بافت سیب‌زمینی متأثر از زمان انبارداری

Table 3- Comparison between means for cell area and cell perimeter during storage

زمان انبارداری (هفته) Storage time (weeks)	سطح مقطع سلول Cell area (μm^2)	محیط سلول Cell perimeter (μm)
0	$23.14 \times 10^3 \pm 0.2^a$	564.98 ± 2.0^a
2	$19.26 \times 10^3 \pm 0.1^c$	532.18 ± 2.0^c
4	$19.87 \times 10^3 \pm 0.2^b$	552.54 ± 2.0^b
6	$17.16 \times 10^3 \pm 0.1^d$	530.43 ± 2.0^c
8	$15.12 \times 10^3 \pm 0.2^e$	510.52 ± 2.0^d
10	$14.07 \times 10^3 \pm 0.1^f$	479.73 ± 2.0^e
12	$12.84 \times 10^3 \pm 0.2^g$	444.64 ± 2.0^f
14	$9.58 \times 10^3 \pm 0.1^h$	410.34 ± 2.0^g
16	$7.99 \times 10^3 \pm 0.1^i$	348.80 ± 2.0^h
F value	269.53	243.49

بین حروف یکسان تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد وجود ندارد

Different letters within the same column indicate significant difference ($P < 0.05$)

جدول ۴- مقایسه میانگین سطح مقطع سلول و محیط سلول بافت سیب‌زمینی متأثر از انرژی ضربه

Table 4- Comparison between means of cell area and cell perimeter for impact levels

	سطح مقطع سلول Cell area (μm^2)	محیط سلول Cell perimeter (μm)
شاهد Control	$16.60 \times 10^3 \pm 0.1^a$	496.67 ± 1.1^a
انرژی ضربه ۱ Impact energy 1	$15.84 \times 10^3 \pm 0.1^b$	490.47 ± 1.1^b
انرژی ضربه ۲ Impact energy 2	$13.89 \times 10^3 \pm 0.1^c$	470.93 ± 1.2^c
F value	185.34	131.40

بین حروف یکسان تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد وجود ندارد

Different letters within the same column indicate significant difference ($P < 0.05$)

و شعاع انحناى محل ضربه بر آسیب ضربه در شکل ۱۰ نشان داده شده است. آسیب ضربه طی مدت انبارداری یک روند معکوس نسبت به فشار ترگر (شکل ۳) داشته و به‌طور معنی‌داری (سطح احتمال ۵ درصد) تا هفته ۱۶ افزایش یافت. می‌توان این‌گونه توضیح داد که به دلیل کاهش فشار ترگر طی مدت انبارداری سختی بافت به تدریج کاهش می‌یابد و پس از قرار گرفتن در معرض آزمون ضربه آسیب بیشتری در محل ضربه ایجاد می‌شود. لین و پیت (Lin and Pitt, 1986) و اسکالنن و همکاران (Scanlon *et al.*, 1996) اثبات کردند که با افزایش غلظت محلول مانیتول و به دنبال آن کاهش فشار ترگر، استحکام بافت سیب‌زمینی کاهش می‌یابد. از این گذشته، به دلیل کمترین فشار ترگر در هفته ۱۶، درون سلول‌های سیب‌زمینی نیروی هیدرواستاتیکی برای مقابله با نیروی ضربه وجود ندارد در نتیجه میزان آسیب وارد شده به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر زمان‌های انبارداری خواهد بود (Skrobacki *et al.*, 1989). افزایش شدت ضربه باعث افزایش معنی‌دار آسیب ضربه در سطح احتمال ۵ درصد

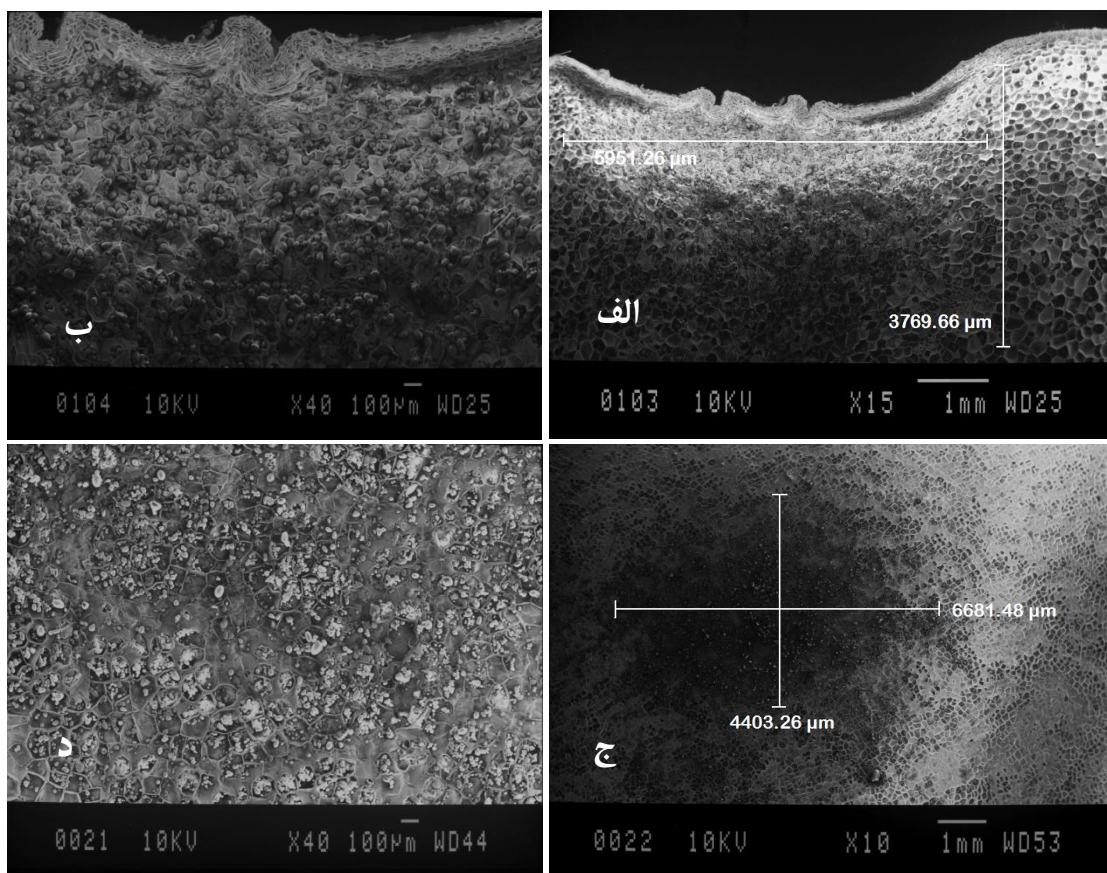
بررسی اثر مدت زمان انبارداری، انرژی ضربه و شعاع

انحناء بر حجم آسیب ضربه

با توجه به جدول ۲ و معنی‌داری اثرات اصلی زمان انبارداری، انرژی ضربه و شعاع انحناى محل ضربه و همچنین اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه این فاکتورها بر آسیب ضربه سیب‌زمینی (سطح احتمال ۵ درصد)، اثر متقابل سه‌گانه بررسی شد. شکل ۹- الف و ج ابعاد محاسبه شده آسیب برای ضربه سطح ۲ در هفته ۱۶ و شعاع انحناى ۱ در برش عمقی و برش سطحی را نشان می‌دهد. در برش عمقی (شکل ۹- الف و ب) مشاهده می‌شد که ساختار سلولی کاملاً فروریخته و در دیواره‌های سلولی شکست و پارگی ایجاد شده است. همچنین در تصاویر SEM مربوط به برش سطحی (شکل ۹- ج و د) له‌شدگی و پارگی شدید در دیواره‌های سلولی قابل تشخیص بوده به طوری که مرز بین سلول‌ها به کلی از بین رفته است (Kaack *et al.*, 2002). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل زمان انبارداری، انرژی ضربه

شد. بیشترین آسیب ضربه با اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد نسبت به سایر تیمارها در نمونه‌های هفته ۱۶، ضربه سطح ۲ و شعاع انحنای ۱ به میزان $812/2 \pm 57/43 \times 10^9$ میکرومتر مکعب به‌دست آمد (شکل ۱۰). مطالعات روی سیب‌زمینی نشان داد که ضربه باعث ایجاد شکست اجزای سلولی و ایجاد میکروتُرک‌ها در ساختار سلولی شده که تا حد زیادی به شدت ضربه وابسته است. در انرژی ضربه بالاتر به بافت فشار بیشتری وارد می‌شود و در نتیجه حجم آسیب بزرگ‌تر خواهد بود (Strehmel *et al.*, 2010; Noble, 2001).

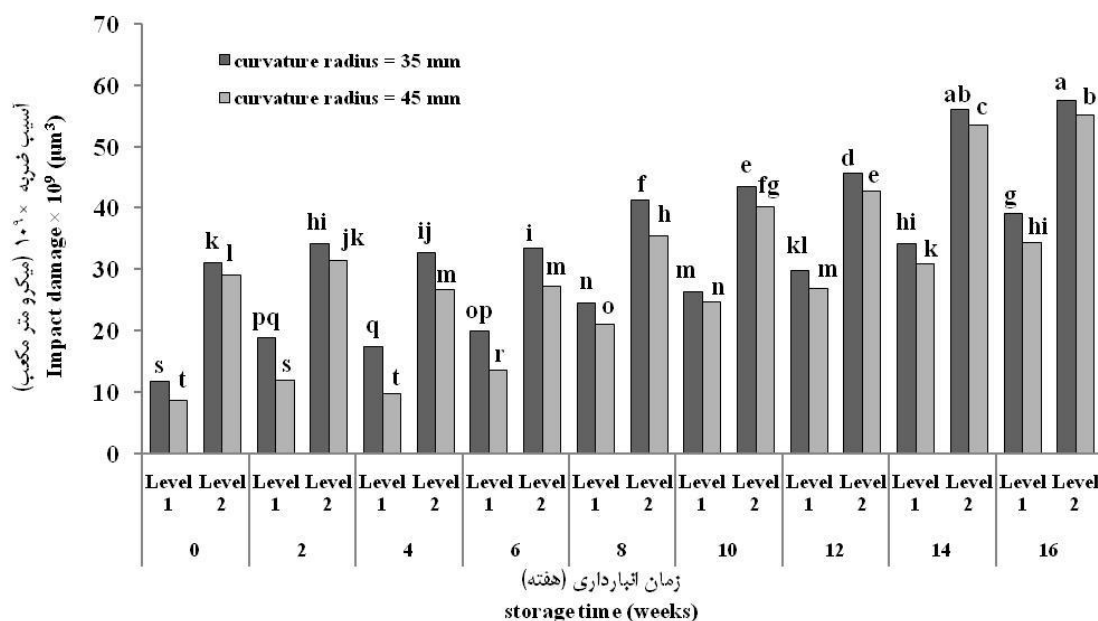
همچنین میزان آسیب ضربه در شعاع انحنای ۱ نسبت به شعاع انحنای ۲ به‌طور معنی‌داری (سطح احتمال ۵ درصد) در همه تیمارها بزرگ‌تر بود. علت این امر کوچک‌تر بودن سطح تماس غده سیب‌زمینی با ضربه‌زن و بالا بودن میزان تنش اعمال شده در شعاع انحنای ۱ است. اثر شعاع انحنای محل ضربه بر میزان آسیب ایجاد شده در محصولات سیب و سیب‌زمینی معنی‌دار بوده است. به‌طوری‌که کمترین شعاع انحناء در محل برخورد، بیشترین آسیب را به دنبال داشت (Abedi and Ahmadi, 2014; Baritelle and Hyde, 2001).



شکل ۹- ابعاد محاسبه شده آسیب ضربه سیب‌زمینی (انرژی ضربه ۲ در هفته ۱۶ و شعاع انحنای ۳۵ میلی‌متر)

در برش عمقی (الف) و برش سطحی (ب)

Fig. 9. Calculated impact damage dimensions in depth (الف) and surface (ب) sections for impact energy 2 at week 16 and curvature radius 35 mm



شکل ۱۰- مقایسه میانگین آسیب ضربه بافت سیب‌زمینی متأثر از زمان انبارداری، انرژی ضربه و شعاع انحنا، بین حروف یکسان تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد وجود ندارد

Fig. 10. Compare between means of impact damage of potato tissue, effect of storage time, impact energy and curvature radius of impact location. Different letters indicate significant difference ($P < 0.05$)

نتیجه‌گیری

سطح مقطع و محیط سلول طی مدت انبارداری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طور کلی افزایش شدت ضربه باعث کاهش معنی‌دار محتوای رطوبت، فشار ترگر سلول، سطح مقطع و محیط سلول شد. با توجه به اهمیت محصول انبارداری و فرآیند پس از برداشت سیب‌زمینی، می‌توان اثر این پارامترها را بر کاهش آسیب ناشی از ضربات احتمالی بررسی نمود و نتایج را جهت طراحی و ساخت تجهیزات درجه‌بندی و حمل‌ونقل این محصول پس از گذشت دوره انبارداری به‌کار برد. باوجود اهمیت فراوان در بررسی آسیب‌های محصولات کشاورزی حین عملیات برداشت، پس از برداشت و طی مدت انبارداری و همچنین جدید بودن روش‌های میکروسکوپی در مطالعه تغییرات ساختار سلولی بافت، پیشنهاد می‌گردد تحقیق حاضر در خصوص ردیابی صدمات در سایر محصولات نیز انجام شود.

نتایج این پژوهش شامل آزمون‌های تجربی و تحلیل تصاویر میکروسکوپ الکترونی روشی نشان داد، عواملی مانند زمان انبارداری، شدت ضربه و شعاع انحنا محل ضربه بر آسیب ضربه ایجاد شده در بافت سیب‌زمینی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است. بررسی‌ها نشان داد با افزایش زمان انبارداری و ضربه شدیدتر حجم آسیب وارده به‌طور معنی‌داری بزرگ‌تر خواهد بود. همچنین برای شعاع انحنا کوچک‌تر در محل برخورد، میزان آسیب ضربه با اختلاف معنی‌داری، بیشتر از شعاع انحنا بزرگ‌تر می‌باشد. در خصوص محتوای رطوبت، فشار ترگر سلول و ویژگی‌های ریزساختاری، فاکتورهای زمان انبارداری و شدت ضربه معنی‌دار می‌باشد. به‌طوری که با گذشت زمان انبارداری و افزایش تبخیر مایع درون سلولی یک روند کاهش معنی‌دار در محتوای رطوبت و فشار ترگر سلول مشاهده شد. همچنین

References

1. Abedi, Gh., and E. Ahmadi. 2014. Bruise susceptibilities of golden delicious apples as affected by mechanical impact and fruit properties. *Journal of Agricultural Science* 152: 439-447.
2. Afshari, H., S. Minaei, M. Almasi, and P. Abdolmaleki. 2008. Evaluation of potato damage under dynamic loading. *Quarterly of Food Science and Technology* 5 (2): 69-76. (In Farsi).
3. Ahmadi, E., and H. Barikloo. 2016. Mechanical property evaluation of apricot fruits under quasi-static and dynamic loading. *Journal of Agricultural Machinery* 6 (1): 139-152. (In Farsi).
4. Alvarez, M. D., D. E. J. Saunders, and J. F. V. Vincent. 2000. Effect of turgor pressure on the cutting

- energy of stored potato tissue. *European Food Research and Technology* 210: 331-339.
5. Al-Weshahy, A., M. El-Nokety, M. Bakhete, and V. Rao. 2013. Effect of storage on antioxidant activity of freeze-dried potato peels. *Food Research International* 50: 507-512.
 6. Asmamaw, Y., T. Tekalign, and T. S. Workneh. 2010. Specific gravity, dry matter concentration, pH, and crisp-making potential of ethiopian potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars as influenced by growing environment and length of storage under ambient conditions. *Potato Research* 53: 95-109.
 7. Baheri, M. 1997. Development of a method for prediction of potato mechanical damage in the chain of mechanized potato production, Ph.D. Thesis Nr. 342, Faculty of Agricultural and Applied Biological Sciences, KU Leuven.
 8. Bajema, R. W., and G. M. Hyde. 1998. Instrumented pendulum for impact characterization of whole fruit and vegetable specimens. *Transactions of the American Society Agricultural Engineers* 41 (5): 1399-1405.
 9. Baritelle, A., and G. Hyde. 2001. Commodity conditioning to reduce impact bruising. *Postharvest Biology and Technology* 21: 331-339.
 10. Bentini, M., C. Caprara, and R. Martelli. 2006. Harvesting damage to potato tubers by analysis of impacts recorded with an instrumented sphere. *Biosystems Engineering* 94 (1): 75-85.
 11. Bentini, M., C. Caprara, and R. Martelli. 2009. Physico-mechanical properties of potato tubers during cold storage. *Biosystems Engineering* 104: 25-32.
 12. Berger, L. R. R., N. P. Stamford, L. G. Willadino, D. Laranjeira, M. A. B. De Lima, S. M. M. Malheiros, W. J. De Oliveira, and T. C. M. Stamford. 2016. Cowpea resistance induced against *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* by crustaceous chitosan and by biomass and chitosan obtained from *Cunninghamella elegans*. *Biological Control* 92: 45-54.
 13. Blahovec, J. 2005. Impact induced mechanical damage of *Agria* potato tubers. *Research in Agricultural Engineering* 51 (2): 39-43.
 14. Brook, R. C. 1993. Impact testing of potato harvesting equipment. *American Potato Journal* 70: 243-256.
 15. Bruswitz, G. H., R. E. Pitt, and Q. Gao. 1989. Effects of storage time and static preloading on the rheology of potato tissue. *Journal of Texture Studies* 20 (3): 267-284.
 16. Danila, D. M. 2015. Assessing the potato impact response using a pendulum controlled and designed by computer. *Bulletin of the Transilvania University of Braşov. Series II: Forestry, Wood Industry, and Agricultural Food Engineering* 8 (57): 65-70.
 17. FAOSTAT. 2014. www.fao.org/faostat/en.
 18. Gancarz, M., and K. Konstankiewicz. 2007. Changes of cellular structure of potato tuber parenchyma tissues during storage. *Research in Agricultural Engineering* 53 (2): 75-78.
 19. Gibson, L. J. 2012. The hierarchical structure and mechanics of plant materials. *Journal of the Royal Society Interface* 9 (76): 1-18.
 20. Haman, J., K. Konstankiewicz, and A. Zdunek. 2000. Influence of water potential on the failure of potato tissue. *International Agrophysics* 14: 181-186.
 21. Kaack, K., L. Kaaber, E. Larsen, and A. K. Thybo. 2002. Microstructural and chemical investigation of subsurface hardened potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Potato Research* 45: 9-15.
 22. Karcz, J., T. Bernas, A. Nowak, E. Talik, and A. Woznica. 2012. Application of lyophilization to prepare the nitrifying bacterial biofilm for imaging with scanning electron microscopy. *Scanning* 34: 26-36.
 23. Konstankiewicz, K., K. Pawlak, and A. Zdunek. 2001a. Influence of structural parameters of potato tuber cells on their mechanical properties. *International Agrophysics* 15: 243-246.
 24. Konstankiewicz, K., K. Pawlak, and A. Zdunek. 2001b. Quantitative method for determining cell structural parameters of plant tissues. *International Agrophysics* 15: 161-164.
 25. Konstankiewicz, K., and A. Zdunek. 2001. Influence of turgor and cell size on the cracking of potato tissue. *International Agrophysics* 15: 27-30.
 26. Laza, M., M. G. Scanlon, and G. Mazza. 2001. The effect of tuber pre-heating temperature and storage time on the mechanical properties of potatoes. *Food Research International* 34: 659-667.

27. Lin, T. T., and R. E. Pitt. 1986. Rheology of apple and potato tissue as affected by cell turgor pressure. *Journal of Texture Studies* 17: 291-313.
28. Lu, F., Y. Ishikawa, H. Kitazawa, and T. Satake. 2010. Measurement of impact pressure and bruising of apple fruit using pressure-sensitive film technique. *Journal of Food Engineering* 96: 614-620.
29. Mahto, R. and M. Das. 2014. Effect of gamma irradiation on the physico-mechanical and chemical properties of potato (*Solanum tuberosum* L.), cv. 'kufriSindhuri', in non-refrigerated storage conditions. *Postharvest Biology and Technology* 92: 37-45.
30. Maricle, B. R., N. K. Koteyeva, E. V. Voznesenskaya, J. R. Thomasson, and G. E. Edwards. 2009. Diversity in leaf anatomy, and stomatal distribution and conductance, between salt marsh and freshwater species in the c4 genus spartina (poaceae). *New Phytologist* 184: 216-233.
31. Mohsenin, N. N. 1996. Physical characteristics: Physical properties of plant and animal materials. New York, Gordon and Breach Science Publishers.
32. Molema, G. J., B. R. Verwijs, J. V. Van Den Berg, and H. Breteler. 1997a. Effect of repetitive impacts on subcutaneous tissue discoloration in potato tubers. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 45: 187-200.
33. Molema, G. J., J. J. Klooster, B. R. Verwijs, M. M. W. B. Hendriks, and H. Breteler. 1997b. Effect of impact body shape on subcutaneous tissue discoloration in potato tubers. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 45: 407-421.
34. Molema, G. J., P. C. Struik, B. R. Verwijs, A. Bouman, and J. J. Klooster. 2000. Impact measured by an instrumented sphere. *Potato Research Journal* 43: 225- 238.
35. Noble, R. 1985. The relationship between impact and internal bruising in potato tubers. *Journal of Agricultural Engineering Research* 32: 111-121.
36. Pathan, A. K., J. Bond, and R. E. Gaskin. 2010. Sample preparation for SEM of plant surfaces. *Materials Today* 12: 32-43.
37. Parker, C. C., M. L. Parker, A. C. Smith, and K. W. Waldron. 2001. Pectin distribution at the surface of potato parenchyma cells in relation to cell-cell adhesion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 4364-4371.
38. Praeger, U., W. B. Herppich, C. Konig, B. Herold, and M. Geyer. 2009. Changes of water status, elastic properties and black spot incidence during storage of potato tubers. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 83: 1-8.
39. Praeger, U., J. Surdilovic, I. Truppel, B. Herold, and M. Geyer. 2013. Comparison of electronic fruits for impact detection on a laboratory scale. *Sensors* 13: 7140-7155.
40. Pieczywek, P. M., A. Zdunek, and M. Umeda. 2011. Study on parameterisation of plant tissue microstructure by confocal microscopy for finite elements modeling. *Computers and Electronics in Agriculture* 78: 98-105.
41. Scanlon, M. G., C. H. Pang, and C. G. Biliaderis. 1996. The effect of osmotic adjustment on the mechanical properties of potato parenchyma. *Food Research International* 29 (5-6): 481-488.
42. Skrobacki, A., J. L. Halderson, J. J. Pavek, and D. L. Corsini. 1989. Determination potato tuber resistance to impact damage. *American Potato Journal* 66: 401-416.
43. Singh, N., L. Kaur, R. Ezekie, and H. S. Guraya. 2005. Microstructural, cooking and texture characteristics of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers in relation to physicochemical and functional properties of their flours. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85: 1275-1284.
44. Singh, F., V. K. Katiyar, and B. P. Singh. 2014. Analytical study of turgor pressure in apple and potato tissues. *Postharvest Biology and Technology* 89: 44-48.
45. Strehmel, N., U. Praeger, C. Konig, I. Fehrle, A. Erban, M. Geyer, J. Kopka, and J. T. Van Dongen. 2010. Time course effects on primary metabolism of potato (*Solanum tuberosum*) tuber tissue after mechanical impact. *Postharvest Biology and Technology* 56: 109-116.
46. Talbot, M. J., and R. G. White. 2013. Methanol fixation of plant tissue for scanning electron microscopy improves preservation of tissue morphology and dimensions. *Plant Methods* 9 (36): 1-7.
47. Uwins, P. J. R., M. Murray, and R. J. Gould. 1993. Effects of four different processing techniques on the microstructure of potatoes: comparison with fresh samples in the ESEM. *Microscopy Research and*

Technique 25: 412-418.

48. Van Zeebroeck, M., E. Tijskens, P. Van Liedekerke, V. Deli, J. De Baerdemaeker, and H. Roman. 2003. Determination of the dynamical behaviour of biological materials during impact using a pendulum device. *Journal of Sound and Vibration* 266: 465-480.
49. Van Canneyt, T., E. Tijskens, H. Ramon, R. Verschoore, and B. Sonck. 2003. Characterisation of a potato-shaped instrumented device. *Biosystems Engineering* 86 (3): 275-285.

Micromechanical Behavior of Potato Tissue by Scanning Electron Microscopy: Effect of Storage Time, Impact Energy and Curvature Radius of Impact Location

S. Yuneji¹ - E. Ahmadi^{2*} - A. Alavi Nia³

Received: 13-02-2017

Accepted: 02-07-2017

Introduction

The mechanical impacts occur mainly during harvesting and post-harvesting operations, lead to the breaking of cell membranes in cellular structure that depends on impact intensity. Furthermore, turgor pressure of potato tissue is influenced by the micromechanical and the physiological changes in the storage duration. Micromechanical changes of potato tissue due to the mechanical impact need to be monitored by microscopic images during storage. Scanning electron microscopy (SEM) is a high-resolution technique used to investigate the micromechanical behavior of potato tissue.

Materials and Methods

Potato samples ('Sante' cultivar), were stored at $5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and 85% relative humidity for 16 weeks. By 2-week intervals, potatoes were removed from the storage and then the impact test was done. Experimental factors were impacted energy at three levels of control (no impact was done), impact energy 1 (0.031 ± 0.002 J) and impact energy 2 (0.320 ± 0.020 J) and the radius of curvature at two levels of (35 and 45 mm). Water content was measured by drying thin slab samples in an oven at 70°C to a constant weight. The cell turgor pressure of potato tissue at 2-week intervals was estimated from the linear regression between turgor values of each mannitol solution (0–0.6 M) and relative volume change. The microstructural changes of impact location on the potato tubers were analyzed by SEM images at 2-week intervals during storage period. The surface and depth sections cutting from the impact location were immediately immersed in 2.5% glutaraldehyde in 0.1 M sodium phosphate buffer (2 h) at $4 \pm 0.5^\circ\text{C}$. The specimens were then rinsed 3×10 min in 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.2), and dehydrated through an ethanol series, 25, 50, 70, 90 and 100% dry, 15 min each step, $2 \times 100\%$. In this study the HMDS as a high-quality chemical drying was investigated. The sample preparation for SEM observation then followed by chemical drying via HMDS, under a laboratory hood overnight. Analysis of variance test based on completely randomized design (CRD) was considered for all of the data using SPSS 23.

Results and Discussion

Superior preservation of potato microstructure was obtained by hexamethyldisilazane (HMDS) drying during sample preparation for SEM observation. The MIP software was used for quantitative analysis of SEM images and the microstructural features of potato tissue at the impact location were determined. So that each cell outline was manually separated by drawing the lines along the visible contours of cell walls. Measurement of the impact damage dimensions was done by MIP software for the surface section (major and minor width, w_1 and w_2) and the depth section (depth, d and major width, w_1). The results indicated the significant differences between water content, cell turgor pressure, cell area and cell perimeter over 16 weeks storage ($P < 0.05$). Generally, by increasing impact intensity the water content, cell turgor pressure, cell area and cell perimeter significantly decreased ($P < 0.05$). Also interaction effect of storage time, impact level and radius of curvature for impact damage of potato tissue was significant ($P < 0.05$).

1- PhD student, Department of Biosystem Engineering, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

2- Associate Professor, Department of Biosystem Engineering, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

3- Professor, Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

(*- Corresponding Author Email: eahmadi@basu.ac.ir)

Conclusions

The cell turgor pressure at the impact location on the potato tubers had the similar trend with the water content. SEM investigation showed that potato parenchyma, which was high preserved by HMDS drying, had consisted of the pentagon and hexagonal thin-wall cells with the average cell area of $23.14 \times 10^3 \pm 0.178 \mu\text{m}^2$, the average cell perimeter of $564.98 \pm 2.008 \mu\text{m}$ at week 0. The higher impact damage was at week 16 of storage, impact level 2 and the radius of curvature of 35 mm compared to the other treatment.

Keywords: Cell turgor pressure, Impact damage, Micromechanical behavior, Scanning electron microscopy (SEM), Storage time

