

اثر اگزالیک اسید بر ویژگی‌های کیفی و بیوشیمیایی میوه از گیل ژاپنی (*Eriobotrya japonica* Lindl.) طی مدت انبارداری

حسین میغانی^{۱*}، ابوذر هاشم‌پور^۲

۱- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران.

۲- استادیار پژوهش پژوهشگاه مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۶/۱۱)

چکیده

اسید اگزالیک به عنوان یک پاداکسنده طبیعی رسیدن و پیری میوه را به تأخیر می‌اندازد. در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف اسید اگزالیک (۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی‌مولار) بر قابلیت انبارداری و کیفیت پس از برداشت میوه از گیل ژاپنی طی ۲۸ روز انبارداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 90 ± 5 درصد مورد بررسی قرار گرفت. صفاتی مانند شاخص قهوه‌ای‌شدن، ویژگی‌های بیوشیمیایی و کیفی و فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز (PPO) و پراکسیداز (POD) میوه در زمان برداشت (۰)، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز پس از شروع انبارداری ارزیابی شد. با افزایش مدت انبارداری میزان شاخص قهوه‌ای‌شدن، مواد جامد محلول (TSS)، نسبت TSS به اسیدیته قابل تیتراسیون (TA) و فعالیت آنزیم‌های PPO و POD در همه تیمارها افزایش یافت ($p < 0.05$). در حالی که میزان سفتی بافت میوه، TA، اسید آسکوربیک، فنل و فلاونوئید کل و ظرفیت پاداکسندگی میوه کاهش یافت ($p < 0.05$). کاربرد اسید اگزالیک میزان شاخص قهوه‌ای‌شدن و فعالیت آنزیم‌های مسئول قهوه‌ای‌شدن میوه (PPO و POD) را به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش داد ($p < 0.05$). در پایان مدت انبارداری میوه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسید اگزالیک بافت سفت‌تر و میزان اسید آسکوربیک، فنل و فلاونوئید کل و ظرفیت پاداکسندگی بیشتری در مقایسه با میوه‌های گروه شاهد داشتند ($p < 0.05$). در کل، کاربرد اسید اگزالیک بطور موثری نرم‌شدن بافت میوه و شاخص قهوه‌ای‌شدن را با کم کردن فعالیت آنزیم‌های PPO و POD در طول مدت انبارداری کاهش داد ($p < 0.05$).

کلید واژگان: پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز، فنل کل، فعالیت پاداکسندگی، قهوه‌ای‌شدن.

۱- مقدمه

ازگیل ژاپنی با نام علمی *Eriobotrya japonica* Lindl. درختی همیشه سبز متعلق به خانواده روزاسه و زیرخانواده مالوئیده است. این میوه بومی جنوب شرقی چین است و در نواحی نیمه‌گرمسیری چین، ژاپن، هند، پاکستان، یونان، قبرس، مصر، ایتالیا، اسپانیا، تونس، ترکیه و برخی از کشورهای دیگر کشت می‌گردد [۱]. در ایران ازگیل ژاپنی در استان‌های مازندران و گیلان و به میزان کمتری در استان زنجان کشت می‌شود. بر اساس آخرین آمار منتشر شده سطح زیر کشت آن در ایران ۳۳۴ هکتار است که از این سطح بیش از ۲۸۰۰ تن محصول برداشت می‌شود و هر ساله بر سطح زیر کشت و تولید آن افزوده می‌شود [۲].

ازگیل ژاپنی علاوه بر طراوت، عطر، طعم و مزه مطلوب، دارای ترکیب‌های شیمیایی فعال مانند فنل‌ها (به‌ویژه فلاونوئیدها)، کارتنوئیدها و اسیدآسکوربیک است که به سلامت افراد کمک می‌کنند. مهمترین ترکیب‌های فنلی موجود در میوهی ازگیل ژاپنی اسید کلروژنیک، اسید ثئوکلوژنیک، اسید هیدروکسی بنزوئیک و اسید فرولیل‌کوئینیک است [۱]. این ترکیب‌ها دارای خاصیت پادآکسندگی و حذف رادیکال‌های آزاد هستند که از وقوع برخی بیماری‌های دژنراتیو مانند سرطان، آرتروز، تصلب شرایین، بیماری‌های قلبی، اختلال عملکرد مغز و تسریع فرآیند پیری جلوگیری می‌کنند [۳]. میوه ازگیل ژاپنی از لحاظ ظاهری تقریباً گرد است، در زمان رسیدن تغییر رنگ داده و به رنگ زرد درمی‌آید. علاوه بر تغییر رنگ، شاخص‌های سفتی گوشت، TSS، TA و نسبت TSS/TA برای ارزیابی زمان بلوغ میوه مورد استفاده قرار می‌گیرد. بررسی میوهی ۲۰ ژنوتیپ ازگیل ژاپنی استان گرگان نشان داد که وزن میوه‌ها از ۱۲/۸۷ تا ۳۸/۸۰ گرم، میزان اسیدآسکوربیک از ۱۲/۵۸ تا ۳۸/۱۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم و TSS از ۸/۵۳ تا ۱۷/۳۳ درصد متغیر است [۴]. همچنین میزان فنل و فلاونوئید کل ژنوتیپ‌های فوق به ترتیب بین ۳۱۶/۵۵-۱۳۱/۹۵ و ۸۷/۹۱-۳/۴۵ میکروگرم بر گرم وزن تر بود [۵].

میوه ازگیل ژاپنی عمدتاً مصرف تازه‌خوری دارد و به دلیل وجود ترکیب‌های فنلی و فعالیت آنزیم PPO برای تولید فرآورده‌هایی مانند مربا، آب میوه، ژله و کنسرو مناسب نیست [۱]. ازگیل ژاپنی جزو میوه‌های نافرازگرا^۱ طبقه‌بندی شده و در

شرایط پس از برداشت نمی‌توان کیفیت به‌دست آمده بر روی درخت را بهبود بخشید اما با کمک روش‌ها و تیمارهای مناسب می‌توان سرعت زوال آن را کاهش داد [۶]. حساسیت به آسیب‌های مکانیکی، قهوه‌ای‌شدن پوست و گوشت، توسعه طعم نامطلوب و همچنین از دست دادن رطوبت، پوسیدگی و حساسیت به سرمازدگی عمر انباری و بازاریابی آن را محدود می‌کند [۷].

برداشت میوه ازگیل ژاپنی به همراه خوشه و بسته‌بندی مناسب می‌تواند ماندگاری آن را افزایش دهد [۸]. دما در افزایش عمر انباری و حفظ کیفیت میوه‌ها و سبزی‌ها نقش اساسی دارد. دمای پایین با کاهش تنفس و تولید اتیلن عمر انباری میوه‌ها را افزایش می‌دهد، اما نمی‌تواند به طور کامل از پوسیدگی یا کاهش وزن آن جلوگیری کند [۹]. با این حال ازگیل ژاپنی مانند بسیاری از میوه‌های نیمه‌گرمسیری به دماهای پایین حساس است و در دمای کمتر از ۵ درجه‌سانتی‌گراد دچار سرمازدگی می‌شود [۱]. گزارش قبلی نشان داد که میوه ازگیل ژاپنی پس از ۳۹ روز انبارداری در دمای ۵ درجه‌سانتی‌گراد دارای کیفیت بهتری در مقایسه با دمای صفر درجه است [۱۰]. ازگیل ژاپنی در مدت کوتاهی پس از برداشت دچار عارضه قهوه‌ای‌شدن می‌شود که یکی از عوامل محدودکننده عمر انبارداری این میوه می‌باشد. قهوه‌ای‌شدن نتیجه خسارت غشای سلولی همراه با اکسیداسیون ترکیب‌های فنلی توسط آنزیم PPO و تبدیل آن‌ها به کوئینون و نهایتاً فرآورده‌های ناهمگون سیاه یا قرمز رنگ به نام ملانین می‌باشد که به‌نظر می‌رسد یکی از دلایل اصلی قهوه‌ای‌شدن بسیاری از میوه‌ها و سبزی‌ها باشد [۹]. پراکسیدازها^۲ (POD) نیز دارای فعالیتی مشابه آنزیم PPO هستند که ممکن است در فرآیندهای کند مانند قهوه‌ای‌شدن درونی دخالت داشته باشند [۹].

در سال‌های اخیر اسید اگزالیک به عنوان ترکیبی مناسب برای نگهداری پس از برداشت میوه‌ها توجه زیادی را به خود جلب کرده است. اسید اگزالیک به عنوان یک اسید آلی به طور گسترده در موجودات مختلف و به صورت ترکیبی طبیعی در تعداد زیادی از گیاهان وجود دارد [۷]. کاربرد آن به عنوان روشی مؤثر جهت جلوگیری از قهوه‌ای‌شدن میوه‌های برداشت شده خرمالو [۱۱]، موز [۹ و ۱۲] و لیچی [۱۳] گزارش شده

2. Peroxidase (POD)

1. Non-Climactric

رطوبت نسبی 90 ± 5 درصد به مدت ۲۸ روز منتقل شدند. صفات زیر در زمان برداشت و قبل از اعمال تیمار (به عنوان روز صفر) و به فاصله ۷ روز پس از شروع انبارداری اندازه گیری شدند.

۲-۲- ارزیابی صفات

سفتی بافت میوه با استفاده از دستگاه بافت سنج (Texture Analyzer, H5KS, UK) مجهز به پروب استوانه ای با قطر ۵ میلی متر و میزان نفوذ ۴ میلی متر اندازه گیری و بر حسب نیوتن بیان شد. سرعت نفوذ پروب یک میلی متر بر ثانیه بود [۱۰].

میزان TSS با استفاده از دستگاه رفاکتومتر دیجیتالی (Euromex RD 635, Holland)، TA به روش تیتراسیون با استفاده از هیدروکسید سدیم یک دهم نرمال تا رسیدن به pH برابر ۸/۲ و اسید آسکوربیک به روش تیتراسیون با استفاده از ۲و۶- دی کلرو فنل ایندوفنل^۳ اندازه گیری شد [۱۴]. نسبت TSS/TA که شاخص بلوغ یا طعم میوه نیز نامیده می شود با تقسیم مقدار TSS بر TA محاسبه شد. اندازه گیری میزان فنل کل میوه با استفاده از معرف فولین سیوکالچو مطابق روش سینگلتون و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد [۱۵]. میزان جذب نمونه ها و استاندارد اسید گالیک در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل PG Instruments T80⁺ خوانده شد. در نهایت میزان فنل کل بر حسب میلی گرم معادل اسید گالیک در ۱۰۰ گرم بافت میوه بیان شد. اندازه گیری فلاونوئید کل با استفاده از کلرید آلومینیوم و استات پتاسیم مطابق روش دو و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد [۱۶]. میزان جذب نمونه ها و استاندارد کاتچین توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۶ نانومتر خوانده شد و در نهایت میزان فلاونوئید کل بر حسب میلی گرم معادل کاتچین در ۱۰۰ گرم بافت میوه بیان شد.

برای سنجش میزان ظرفیت پاد اکسندگی از معرف ۲ و ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل^۴ (DPPH) استفاده شد. میزان جذب نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد و بر مبنای میزان احیاء رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره میوه، ظرفیت پاد اکسندگی بر حسب درصد بازدارندگی (DPPH%) از رابطه زیر به دست آمد [۱۷].

است. کاربرد اسیدازالیک نرخ تنفس و مقدار اتیلن را در میوه موز کاهش و نرم شدن بافت میوه را به تأخیر انداخت. در پایان دوره انبارداری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز^۱ (SOD) و ظرفیت پاد اکسندگی در میوه های موز تیمار شده بیشتر و تولید رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS) کمتر از میوه های شاهد بود [۹]. در پژوهشی دیگر کاربرد غلظت های ۲ و ۴ میلی مولار اسیدازالیک در میوه لیچی منجر به کاهش وقوع پدیده قهوه ای شدن درون بر به دلیل حفظ تمامیت غشای سلولی، جلوگیری از تجزیه آنتوسیانین، کاهش اکسیداسیون و حفظ فعالیت نسبتاً پایین آنزیم POD طی مدت انباری در مقایسه با شاهد شد [۱۳].

با توجه به حساسیت ازگیل ژاپنی به قهوه ای شدن و عمر انباری کم، ارائه راه کارهای مناسب برای حفظ کیفیت میوه در شرایط پس از برداشت به نحوی که قابل پذیرش برای مصرف کننده نیز باشد، امری ضروری به نظر می رسد. از طرفی گزارش منتشر شده ای در مورد اثر اسیدازالیک بر انبارمانی میوه ازگیل ژاپنی در ایران وجود ندارد. لذا هدف این پژوهش، مطالعه اثر اسیدازالیک بر قهوه ای شدن، عمر انباری و کیفیت میوه ازگیل ژاپنی طی مدت نگهداری در انبار سرد می باشد.

۲- مواد و روش ها

میوه های ازگیل ژاپنی در بهار سال ۱۳۹۳ از باغی واقع در شهرستان رامسر در مرحله بلوغ تجاری (تغییر رنگ پوست میوه به زرد) برداشت و بلافاصله به آزمایشگاه علوم باغبانی منتقل شدند. در ابتدا میوه های معیوب، زخمی و آسیب دیده جدا شدند. سپس میوه های سالم به ۵ گروه تقسیم شدند.

۲-۱- اعمال تیمار

میوه ها در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد به روش غوطه وری^۲ و به مدت ۱۵ دقیقه در غلظت های مختلف اسیدازالیک غوطه ور شدند. برای میوه های گروه شاهد (غلظت صفر) از آب مقطر استفاده شد [۷]. سپس میوه ها در دمای اتاق قرار گرفتند تا خشک شوند. شمار ۱۲ میوه از هر تیمار درون ظروف پلاستیکی درب دار قرار گرفت. برای هر تیمار ۱۲ عدد ظرف جهت ۴ مرحله نمونه برداری پس از انبار کردن در نظر گرفته شد. سپس میوه ها به سردخانه ای با دمای ۵ درجه سانتی گراد و

3. 2,6-dichlorophenolindophenol (DCPIP)

4. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

1. Superoxide dismutase (SOD)

2. Dipping

میزان فعالیت این آنزیم بر حسب واحد آنزیم بر گرم وزن تازه بافت در دقیقه (U/g FW. min) بیان شد. آزمایش به صورت فاکتوریل با دو عامل غلظت‌های مختلف اسید اگزالیک (۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی‌مولار) و زمان نمونه‌برداری [زمان برداشت (۰)، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز پس از شروع انباراری] در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (V. 9.1) و از آزمون LSD برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- سفتی میوه

میزان سفتی بافت میوه از گیل‌ژاپنی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسید اگزالیک و مدت انبارداری قرار گرفت. با افزایش مدت انبارداری میزان سفتی بافت میوه افزایش یافت به نحوی که میزان سفتی از ۳/۶۴ نیوتن در زمان برداشت به ۵/۰۱ نیوتن در پایان مدت انبارداری رسید (شکل ۱-۱A). همان‌طور که در شکل ۱-۱B نشان داده شده است با افزایش غلظت اسید اگزالیک میزان سفتی بافت میوه کمتر شد. در پایان دوره انبارداری کمترین و بیشترین میزان سفتی بافت به ترتیب با میانگین ۴/۰۹ و ۴/۸۰ نیوتن از میوه‌های گروه شاهد و غلظت ۸ میلی‌مولار اسید اگزالیک به‌دست آمد هر چند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ۴، ۶ و ۸ میلی‌مولار از این نظر وجود نداشت ($p < 0.05$).

سفتی بافت یکی از معمولی‌ترین مؤلفه‌های فیزیکی مورد استفاده برای ارزیابی نرمی و رسیدن میوه‌ها است. در حین رسیدن تغییراتی در دیواره سلولی اتفاق می‌افتد که منجر به نرم‌شدن و رسیدن میوه می‌شود [۲۱]. میوه‌های رسیده از گیل‌ژاپنی نرم و آب‌دار هستند اما بر خلاف سایر میوه‌ها که پس از رسیدن به تدریج نرم‌تر می‌شوند، میزان سفتی بافت میوه از گیل‌ژاپنی افزایش می‌یابد [۳]. به‌طور کلی سفتی بالاتر بافت میوه نشان‌دهنده طراوت و تازگی بیشتر میوه رسیده است اما این موضوع در مورد از گیل‌ژاپنی صدق نمی‌کند [۷]. علت افزایش سفتی بافت میوه از گیل‌ژاپنی در شرایط پس از برداشت، تشکیل لیگنین و چوبی شدن بافت میوه ذکر شده است [۱ و ۱۰]. در پژوهشی میزان سفتی و محتوی لیگنین میوه

۱۰۰ × [جذب شاهد/ (جذب نمونه - جذب شاهد)] = ظرفیت

پاداکسندگی (%DPPHsc)

شاخص قهوه‌ای‌شدن میوه از طریق بصری و اندازه‌گیری سطح قهوه‌ای‌شدن با استفاده از مقیاس نمره‌دهی ۰-۴ [۰: میوه سالم (بدون قهوه‌ای‌شدن)؛ ۱: قهوه‌ای‌شدن کمتر از ۲۵٪ سطح میوه؛ ۲: قهوه‌ای‌شدن بین ۲۵٪ تا ۵۰٪ سطح میوه؛ ۳: قهوه‌ای‌شدن بین ۵۰٪ تا ۷۵٪ سطح میوه؛ ۴: قهوه‌ای‌شدن بیش از ۷۵٪ سطح میوه] روی ۱۲ عدد میوه از هر تیمار و تکرار در هر مرحله نمونه‌برداری انجام گرفت و میزان قهوه‌ای‌شدن به صورت درصد از فرمول زیر محاسبه شد [۷].

$$= [(1 \times n_1 + 2 \times n_2 + 3 \times n_3 + 4 \times n_4) / (4 \times N)] \times 100$$

n، تعداد میوه‌های قهوه‌ای‌شدن در هر مقیاس نمره‌دهی و N، تعداد کل میوه‌های هر تکرار (در این پژوهش ۱۲)

۳-۲- سنجش فعالیت آنزیم‌ها

برای استخراج عصاره آنزیمی مقدار ۲ گرم از بافت فریزشده میوه در هاون‌چینی در حضور نیتروژن مایع خرد و با ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم (۵۰ میلی‌مولار با pH=7) حاوی ۰/۲ گرم پلی‌وینیل‌پلی‌پیرولیدون^۱ هموژنیزه شد. مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد سانتیفریوژ شد. سپس محلول روشن‌آور جدا و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم POD و PPO مورد استفاده قرار گرفت [۱۸].

سنجش فعالیت آنزیم POD بر اساس اکسیداسیون گایاکول توسط آب‌اکسیژنه در طول موج ۴۷۰ نانومتر به روش ژی و همکاران (۲۰۱۷) با اندکی تغییر انجام گرفت [۱۹]. مخلوط واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۴ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر آب‌اکسیژنه ۴۶ درصد، ۲/۷۵ میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم (۵۰ میلی‌مولار با pH=7) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. میزان فعالیت آنزیم‌ها در نهایت بر حسب واحد آنزیم بر گرم وزن تازه بافت در دقیقه (U/g FW. min) بیان شد [۱۹]. فعالیت آنزیم PPO مطابق روش ویدن و همکاران (۲۰۱۰) با اندکی تغییر در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۲۰]. مخلوط واکنش حاوی ۳۰۰ میکرولیتر کاتکول ۱۰ میلی‌مولار، ۲/۶ میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم (۵۰ میلی‌مولار با pH=7) و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود.

1. Polyvinylpyrrolidone

درصد مربوط به میوه‌های گروه شاهد بود. تغییر میزان TSS و نسبت TSS/TA در میوه‌های تیمار شده با اسیدازگزالیک به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود ($p < 0.05$). در پایان مدت انبارداری کمترین میزان TSS با میانگین ۱۲/۷۸ درجه-بریکس از تیمار ۶ میلی‌مولار اسیدازگزالیک و نسبت TSS/TA با میانگین ۱۷/۰۱ از تیمار ۸ میلی‌مولار اسیدازگزالیک به‌دست آمد (جدول ۱).

میزان TA در زمان برداشت ۰/۹۸ درصد بود اما طی مدت انبارداری روند کاهشی داشت و در پایان مدت انبارداری در همه تیمارها به‌طور معنی‌داری در مقایسه با زمان برداشت کاهش یافت. میزان کاهش TA در میوه‌های تیمار شده با اسیدازگزالیک به‌مراتب کمتر از گروه شاهد بود ($p < 0.05$). بیشترین و کمترین میزان کاهش با میانگین ۵۷ و ۲۳ درصد به ترتیب مربوط به میوه‌های گروه شاهد و تیمار ۶ و ۸ میلی‌مولار اسیدازگزالیک بود (جدول ۱).

میزان TSS یکی از فاکتورهای مهم در ارزیابی کیفی میوه‌ها است. افزایش میزان TSS میوه‌های ازگیل‌ژاپنی در طول مدت انبارداری می‌تواند به‌دلیل هیدرولیز نشاسته و تبدیل نشاسته به قند و همچنین کاهش رطوبت میوه و غلیظ شدن آب میوه باشد [۲۲] که با نتایج گزارش شده در ارقام مختلف ازگیل‌ژاپنی [۲۳] و انبه [۲۱] مطابقت دارد. نسبت TSS/TA به کیفیت میوه مربوط است و تعیین‌کننده طعم و مزه میوه است. با توجه به تغییرات TSS و TA در طول مدت انبارداری مقدار نسبت TSS/TA نیز به‌طور چشم‌گیری افزایش یافت از آنجایی که مقادیر کم آن در میوه‌ها مطلوب‌تر است [۲۴] بنابراین با افزایش این شاخص در طول مدت انبارداری، کیفیت خوراکی میوه‌ها به‌تدریج کاهش می‌یابد.

میزان TA نشان‌دهنده مقدار تقریبی اسیدهای آلی موجود در میوه‌ها است. اسید غالب در ازگیل‌ژاپنی اسیدمالیک است که حدود ۹۰ درصد اسید کل میوه را تشکیل می‌دهد و همچنین مقدار کمی اسیدسیتریک، سوکسینیک و فوماریک نیز وجود دارد [۱]. در این پژوهش مقدار TA در طول مدت انبارداری به‌تدریج کاهش یافت که با نتایج گزارش شده توسط سایر محققان مطابقت دارد [۷، ۲۲، ۲۳ و ۲۵]. کاهش TA در طول مدت انبارداری به دلیل انجام فعالیت‌های متابولیکی در میوه‌ها و استفاده از اسیدهای آلی به‌عنوان پیش‌ماده فرایند تنفس می‌باشد [۲۲]. با کاربرد اسیدازگزالیک میزان تغییرات

ازگیل‌ژاپنی طی ۸ روز انبارداری در دمای ۲۰ درجه‌سانتی‌گراد به ترتیب ۳۰ و ۱۳۵ درصد افزایش یافت [۱۰].

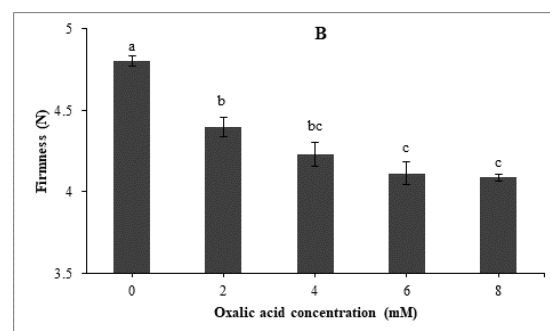
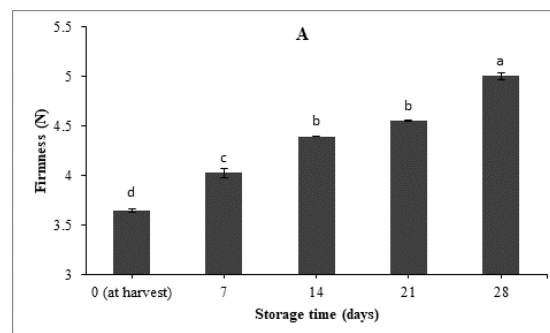


Fig 1 The effect of storage time (A) and oxalic acid (B) on firmness of loquat fruit during cold storage at 5°C. Data (mean ± SE) with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

در پژوهش حاضر با کاربرد اسیدازگزالیک میزان سفتی بافت میوه تغییرات کمتری در مقایسه با شاهد داشت که با نتایج گزارش شده در مورد کاربرد اسیداستیل‌سالیسیلیک [۱۰] و اکسیدنیتریک [۳] بر انبارداری ازگیل‌ژاپنی مطابقت دارد. فنیل‌آلانین آمونیا لایاز (PAL) و سینامیل‌الکل‌دهیدروژناز (CAD) دو آنزیم مهم در مسیر بیوسنتز لیگنین هستند و آنزیم POD در پلی‌مریزاسیون لیگنین‌ها نقش دارد [۱۰]. اسیدازگزالیک احتمالاً با تأثیر بر میزان فعالیت آنزیم‌های فوق از سفت شدن بافت میوه طی مدت نگهداری در انبار سرد جلوگیری کرده است.

۳-۲- ویژگی‌های کیفی میوه

میزان TSS و نسبت TSS/TA طی مدت انبارداری به‌تدریج در میوه‌های گروه شاهد و تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسیدازگزالیک افزایش یافت. در طول مدت انبارداری بیشترین افزایش TSS و نسبت TSS/TA به ترتیب با ۲۶ و ۲۰۵

1. Phenylalanine ammonia lyase (PAL)

2. Cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD)

شاخص های کیفی فوق در مقایسه با شاهد کمتر بود که احتمالاً می تواند به دلیل نقش اسید اگزالیک در کاهش میزان خسارت ایجاد شده توسط ROS و به تبع آن کاهش سرعت فرآیند رسیدن و پیری میوه در شرایط پس از برداشت باشد [۷ و ۹]. در پژوهشی میزان تنفس میوه های موز تیمار شده با اسید اگزالیک به طور محسوسی طی مدت انبارداری در مقایسه با میوه های گروه شاهد کاهش یافت [۹] لذا کاهش تنفس در نتیجه کاربرد اسید اگزالیک می تواند یکی دیگر از دلایل تغییر کمتر ویژگی های کیفی میوه در شرایط پس از برداشت باشد [۲۱].

Table 1 Changes of TSS, TA and TSS/TA of loquat fruit treated with different concentrations of oxalic acid during cold storage at 5°C

Trait	Oxalic acid (mM)	Storage time (days)				
		0 (at harvest)	7	14	21	28
TSS (°Brix)	0	11.57±0.11 e	11.89±0.05 d	12.10±0.08 d	13.57±0.22 b	14.93±0.23 a
	2	11.57±0.11 e	11.67±0.08 e	11.96±0.05 de	11.89±0.19 de	13.45±0.12 b
	4	11.57±0.11 e	11.58±0.07 e	11.62±0.10 e	11.81±0.10 de	13.23±0.14 b
	6	11.57±0.11 e	11.56±0.06 e	11.62±0.05 e	11.77±0.04 de	12.78±0.12 c
	8	11.57±0.11 e	11.57±0.06 e	11.59±0.10 e	11.79±0.11 de	12.81±0.08 c
TA (%)	0	0.98±0.02 a	0.86±0.01 cd	0.73±0.03 f	0.63±0.03 gh	0.42±0.02 i
	2	0.98±0.02 a	0.91±0.02 abc	0.82±0.01 de	0.76±0.04 ef	0.61±0.01 h
	4	0.98±0.02 a	0.97±0.02 a	0.88±0.02 bcd	0.88±0.04 bcd	0.70±0.02 fg
	6	0.98±0.02 a	0.97±0.02 a	0.93±0.02 abc	0.86±0.02 cd	0.75±0.02 ef
	8	0.98±0.02 a	0.95±0.01 ab	0.88±0.03 bcd	0.81±0.01 de	0.75±0.01 ef
TSS/TA	0	11.82±0.16 h	13.79±0.29 fgh	16.58±0.63 de	21.58±1.18 b	36.09±1.70 a
	2	11.82±0.16 h	12.84±0.14 gh	14.54±0.29 efg	15.66±0.64 def	21.97±0.61 b
	4	11.82±0.16 h	11.95±0.26 h	12.45±0.13 h	13.43±0.51 gh	19.06±0.71 c
	6	11.82±0.16 h	11.90±0.32 h	13.17±0.24 gh	13.65±0.26 fgh	17.09±0.56 cd
	8	11.82±0.16 h	12.14±0.15 h	13.10±0.38 gh	13.36±0.10 gh	17.01±0.16 cd

Data (mean ±SE) with different letter(s) in each column and row for each parameter are significantly different at $p<0.05$ level. (TA, Titratable acidity; TSS, total soluble solids).

۳-۳- شاخص قهوه ای شدن

این مرحله ۴ درصد بود. شاخص قهوه ای شدن در میوه های گروه شاهد به تدریج افزایش یافت و در پایان دوره انبارداری به حدود ۲۷ درصد رسید. گرچه ۷ روز پس از شروع انبارداری علائم قهوه ای شدن در تیمارهای ۲ و ۴ میلی مولار اسید اگزالیک مشاهده شد اما از نظر آماری تفاوت معنی داری با شروع انبارداری نداشت ($p<0.05$).

قهوه ای شدن پوست و گوشت یکی از مشکلات جدی انبارداری و فرآوری میوه از گیل ژاپنی است. میزان شاخص قهوه ای شدن تحت تأثیر غلظت های مختلف اسید اگزالیک قرار گرفت. در میوه های گروه شاهد ۷ روز پس از شروع انبارداری علائم قهوه ای شدن مشاهده شد که شاخص قهوه ای شدن در

Table 2 Changes of browning index and ascorbic acid of loquat fruit treated with different concentrations of oxalic acid during cold storage at 5°C

Trait	Oxalic acid (mM)	Storage time (days)				
		0	7	14	21	28
Browning index (%)	0	0.0±0.0 h	4.0±0.94 fg	12.0±0.94 c	20.0±1.89 b	26.7±1.44 a
	2	0.0±0.0 h	2.0±0.00 gh	6.0±0.94 def	8.0±0.94 d	8.7±1.09 d
	4	0.0±0.0 h	2.0±0.94 gh	4.0±0.94 fg	4.0±0.94 fg	7.3±0.54 de
	6	0.0±0.0 h	0.0±0.00 h	0.0±0.00 h	2.0±0.94 gh	7.3±0.54 de
	8	0.0±0.0 h	0.0±0.00 h	0.0±0.00 h	2.0±0.00 gh	4.7±0.54 efg
Ascorbic acid (mg/100 g)	0	17.3±0.07 a	15.4±0.27 bc	12.6±0.18 e	9.3±0.24 i	7.0±0.12 j
	2	17.3±0.07 a	16.9±0.21 a	14.9±0.21 c	12.0±0.30 fg	11.2±0.17 h
	4	17.3±0.07 a	17.3±0.10 a	15.4±0.10 bc	14.0±0.14 d	11.6±0.04 gh
	6	17.3±0.07 a	17.2±0.14 a	16.0±0.08 b	13.5±0.37 d	12.4±0.14 ef
	8	17.3±0.07 a	16.9±0.18 a	15.9±0.22 b	13.8±0.10 d	12.3±0.07 ef

Data (mean ± SE) with different letter(s) in each column and row for each parameter are significantly different at $p<0.05$ level.

($p < 0.05$). در پایان دوره انبارداری، میوه‌های گروه شاهد با ۵۹ درصد کاهش بیشترین و میوه‌های تیمار شده با ۶ میلی‌مولار اسیدآگزالیك با ۲۸ درصد کاهش کمترین تغییر را در مدت ۲۸ روز انبارداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نشان دادند. در تمام مراحل نمونه‌برداری تغییر معنی‌داری بین غلظت‌های ۶ و ۸ میلی‌مولار اسیدآگزالیك مشاهده نشد (جدول ۲).

اسیدآسکوربیک اهمیت زیادی در ارزش غذایی میوه‌ها دارد اما به تجزیه ناشی از اکسیداسیون بسیار حساس است و تغییرات آن در مقایسه با سایر ترکیب‌های دارای ارزش غذایی بیشتر مورد توجه است [۸]. کاهش اسیدآسکوربیک در طول مدت انبارداری در سایر میوه‌ها نیز گزارش شده است. در ازگیل ژاپنی انبار شده در دمای ۴ درجه سلیوس میزان اسیدآسکوربیک از ۳۱/۴ میلی‌گرم در شروع انبارداری به ۸/۱ میلی‌گرم پس از ۴۲ روز انبارداری رسید [۲۵] که روند تغییرات با نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر مطابقت دارد. نتایج مشابهی از تغییر اسیدآسکوربیک طی انبارداری میوه گیلاس [۲۳] و لیچی [۲۷] نیز گزارش شده است. اسیدآسکوربیک به‌عنوان ترکیبی با خاصیت پادآکسندگی، با ROS تولید شده در اندامک‌های مختلف سلول ترکیب و از پراکسیداسیون ساختار و ترکیب غشای سلولی جلوگیری می‌کند. بنابراین هر عاملی که به حفظ تمامیت غشا و ساختار سلول کمک و از تولید ROS جلوگیری کند می‌تواند در حفظ اسیدآسکوربیک مؤثر باشد [۹]. اسیدآگزالیك احتمالاً با کندکردن فرآیند رسیدن و پیری میوه و کاهش تولید ROS در حفظ اسیدآسکوربیک مؤثر می‌باشد.

۳-۵- ترکیب‌های بیوشیمیایی

نتایج به‌دست آمده نشان دهنده اثر معنی‌دار غلظت‌های مختلف اسیدآگزالیك بر میزان فنل و فلاونوئید کل میوه‌های ازگیل ژاپنی طی مدت انبارداری است. مقدار فنل کل در میوه‌های گروه شاهد و تیمار شده با اسیدآگزالیك تا ۱۴ روز پس از شروع انبارداری در مقایسه با زمان برداشت به‌طور معنی‌داری افزایش یافت اما تا این مرحله تفاوت آماری معنی‌داری بین میوه‌های شاهد و تیمار شده از نظر میزان فنل کل وجود نداشت ($p < 0.05$). با افزایش مدت انبارداری میزان فنل کل کاهش یافت که میزان کاهش در میوه‌های گروه شاهد به‌طور قابل‌توجهی بیشتر از میوه‌های تیمار شده بود. در پایان

همچنین در میوه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۶ و ۸ میلی‌مولار اسیدآگزالیك تا ۲۱ روز پس از شروع انبارداری از نظر آماری تغییر معنی‌داری مشاهده نشد ($p < 0.05$). با افزایش مدت انبارداری به‌تدریج علائم قهوه‌ای‌شدن در میوه‌های تیمار شده نیز ظاهر شد. در پایان دوره انبارداری کمترین شاخص قهوه‌ای‌شدن از تیمار ۸ میلی‌مولار اسیدآگزالیك با میانگین ۴/۷ درصد به‌دست آمد گرچه از نظر آماری با تیمار ۴ و ۶ میلی‌مولار اسیدآگزالیك با میانگین ۷/۳ درصد اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

قهوه‌ای‌شدن عمدتاً نتیجه اکسیداسیون ترکیب‌های فنلی بر اثر فعالیت آنزیم PPO است. درجه قهوه‌ای‌شدن به نوع و مقدار ترکیب‌های فنلی و میزان فعالیت آنزیم PPO بستگی دارد. بنابراین با مهار آنزیم و یا سوبسترا می‌توان از قهوه‌ای‌شدن آنزیمی جلوگیری کرد. اسیدآگزالیك به‌عنوان یک ترکیب ضدقهوه‌ای‌شدن با کاهش pH محیط، فعالیت آنزیم PPO را کاهش داده و میزان قهوه‌ای‌شدن را به حداقل می‌رساند [۲۶]. شاخص قهوه‌ای‌شدن در میوه‌های موز تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسیدآگزالیك طی ۲۴ روز انبارداری به میزان قابل‌توجهی در مقایسه با شاهد کاهش یافت [۹] که با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد. نتایج مشابهی از کاربرد اسیدآگزالیك در ازگیل ژاپنی رقم 'هفیف' [۷] موز [۱۲] و لیچی [۱۳] گزارش شده است. به‌طور کلی کاهش قهوه‌ای‌شدن میوه با کاربرد اسیدآگزالیك در شرایط پس از برداشت می‌تواند به‌دلیل مهار فعالیت آنزیم‌های POD و PPO و حفظ ترکیب‌های زیست‌فعال در طول مدت انبارداری باشد [۱۳].

۳-۴- اسیدآسکوربیک

میزان اسیدآسکوربیک تحت تأثیر تیمار اسیدآگزالیك و مدت انبارداری قرار گرفت. با افزایش مدت انبارداری میزان اسیدآسکوربیک روند کاهشی داشت که میزان کاهش در میوه‌های گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر از میوه‌های تیمار شده با اسیدآگزالیك بود ($p < 0.05$). در زمان برداشت (شروع انبارداری) میزان اسیدآسکوربیک میوه‌ها ۱۷/۳۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم بود که تا ۷ روز پس از شروع انبارداری از نظر آماری تغییر معنی‌داری در میزان اسیدآسکوربیک میوه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسیدآگزالیك مشاهده نشد

دوره انبارداری بیشترین کاهش در مقایسه با زمان برداشت به میزان ۴۸ درصد از میوه‌های شاهد و کمترین کاهش با ۱۸ درصد از میوه‌های تیمار شده با غلظت ۸ میلی‌مولار اسید اگزالیک به‌دست آمد (جدول ۳).

میزان فلاونوئید کل میوه‌های ازگیل‌ژاپنی تا ۷ روز پس از شروع انبارداری روند افزایشی نشان داد گرچه این افزایش در میوه‌های تیمار شده با اسید اگزالیک از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p < 0.05$). اما با افزایش مدت انبارداری مقدار فلاونوئید کل

به‌تدریج کاهش یافت و در پایان دوره انبارداری به حداقل رسید. بالاترین مقدار فلاونوئید کل با میانگین ۵۵/۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ۷ روز پس از شروع انبارداری از میوه‌های گروه شاهد به‌دست آمد. اما در پایان دوره انبارداری بیشترین و کمترین میزان با میانگین ۳۵/۹ و ۱۷/۱ میلی‌گرم به ترتیب از میوه‌های گروه شاهد و تیمار ۶ میلی‌مولار اسید اگزالیک به‌دست آمد که در مقایسه با زمان برداشت به ترتیب ۲۲ و ۶۳ درصد کاهش داشت (جدول ۳).

Table 3 Changes of biochemical compound and antioxidant activity of loquat fruit treated with different concentrations of oxalic acid during cold storage at 5°C

Trait	Oxalic acid (mM)	Storage time (days)				
		0	7	14	21	28
Total phenolic content (mg/100g)	0	185.6±6.5 def	211.6±5.1 bc	225.4±8.9 ab	147.6±3.3 gh	97.1±6.7 i
	2	185.6±6.5 def	203.1±3.9 cd	234.6±10.3 ab	183.4±3.4 ef	142.6±4.2 gh
	4	185.6±6.5 def	204.2±3.1 cd	241.2±7.9 a	189.0±3.7 def	130.1±4.2 h
	6	185.6±6.5 def	197.7±3.7 de	227.1±6.7 ab	177.2±4.6 f	150.9±3.3 g
	8	185.6±6.5 def	196.4±1.2 c-f	236.9±7.7 a	200.8±4.8 cde	151.1±5.6 g
Total flavonoid content (mg/100g)	0	45.9±1.0 b-f	55.1±1.4 a	42.5±0.4 efg	29.6±0.7 j	17.1±0.3 k
	2	45.9±1.0 b-f	50.8±2.7 ab	48.9±2.5 bc	38.4±2.0 gh	29.1±0.7 j
	4	45.9±1.0 b-f	50.1±1.5 ab	44.2±0.9 c-f	43.0±0.2 d-g	30.5±0.7 ij
	6	45.9±1.0 b-f	48.3±2.0 bcd	48.8±0.8 bc	42.0±1.4 fg	35.9±1.7 hi
	8	45.9±1.0 b-f	48.6±2.5 bc	48.0±1.9 b-e	38.1±1.7 gh	35.7±2.3 hi
Antioxidant activity (%DPPH Sc.)	0	67.2±1.9 abc	69.0±2.0 ab	50.4±1.1 f	35.4±1.0 hi	21.7±1.1 j
	2	67.2±1.9 abc	70.1±2.0 ab	61.9±2.1 cd	55.6±2.0 ef	34.4±1.1 i
	4	67.2±1.9 abc	70.5±1.6 a	61.2±1.0 de	50.2±1.8 f	43.2±1.2 g
	6	67.2±1.9 abc	71.6±2.2 a	64.6±1.3 bcd	59.3±1.2 de	40.1±1.1 gh
	8	67.2±1.9 abc	70.9±1.8 a	62.4±1.4 cd	59.1±2.0 de	44.0±0.8 g

Data (mean ± SE) with different letter(s) in each column and row for each parameter are significantly different at $p < 0.05$ level.

پلی‌فنل‌ها نقش مهمی در رنگ و طعم میوه‌ها و سبزی‌ها دارند. میوه ازگیل‌ژاپنی منبع غنی از فنل‌ها، فلاونوئیدها و کارتنوئیدها است که برای سلامتی مفید است [۲۳]. عمده‌ترین ترکیب‌های فنلی موجود در میوه رسیده ازگیل‌ژاپنی شامل اسیدکلروژنیک، اسید نئوکلروژنیک، اسید هیدروکسی‌بنزوئیک و اسید فوریل‌کوئینیک است [۱]. آنزیم PAL اولین آنزیم کلیدی و تعیین‌کننده در ابتدای مسیر تولید فنیل‌پروپانوئیدها است و در واکنش به دمای پایین میزان فعالیت آن افزایش می‌یابد [۲۲] و [۲۸]. لذا افزایش اولیه فنل و فلاونوئید کل در این پژوهش می‌تواند به افزایش فعالیت آنزیم PAL و ادامه سنتز ترکیب‌های فنلی در شرایط پس از برداشت نسبت داده شود. در این پژوهش با تداوم مدت انبارداری میزان فنل و فلاونوئید کل در مقایسه با زمان برداشت کاهش یافت که با نتایج گزارش شده بر روی انبارداری ۶ رقم ازگیل‌ژاپنی مطابقت دارد [۲۳]. ازگیل‌ژاپنی به قهوه‌ای‌شدن آنزیمی حساس است و همبستگی

مثبتی بین کاهش فنل کل و افزایش قهوه‌ای‌شدن گزارش شده است [۷]. لذا کاهش میزان فنل و فلاونوئید کل در زمان انبارداری می‌تواند به دلیل افزایش اکسیداسیون آنزیمی ترکیب‌های فوق باشد [۲۲]. از طرفی همگام با پیر شدن میوه تولید ROSها افزایش می‌یابد. فنل‌ها و فلاونوئیدها با احیای ROSها، اکسید می‌شوند که می‌تواند یکی دیگر از دلایل کاهش آنها در طول مدت انبارداری باشد [۹]. اسید اگزالیک روند تغییرات فنل و فلاونوئید کل میوه ازگیل‌ژاپنی را در طول مدت انبارداری آهسته‌تر کرد که احتمالاً به دلیل به‌تأخیرانداختن فرآیند پیری میوه و کاهش فعالیت آنزیم PPO باشد [۹].

۳-۶- فعالیت پاداکسندگی

میزان فعالیت پاداکسندگی میوه ازگیل‌ژاپنی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسید اگزالیک و مدت انبارداری قرار گرفت. به‌طوری‌که تا ۷ روز پس از شروع انبارداری میزان فعالیت

پاداکسندگی در میوه‌های گروه شاهد و تیمار شده افزایش یافت گرچه این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p < 0.05$). در این مرحله تفاوت معنی‌داری بین میوه‌های گروه شاهد و تیمار شده با اسیدازالیک وجود نداشت. سپس تا پایان مدت انبارداری میزان فعالیت پاداکسندگی میوه روند کاهشی داشت که میزان کاهش در میوه‌های تیمار شده با اسیدازالیک کمتر از میوه‌های گروه شاهد بود ($p < 0.05$). فعالیت پاداکسندگی میوه‌ها در زمان برداشت (شروع انبارداری) ۶۷/۲ درصد بود که در پایان دوره انبارداری در میوه‌های گروه شاهد به میانگین ۲۱/۷ درصد و در میوه‌های تیمار شده با ۸ میلی‌مولار اسیدازالیک به ۴۴ درصد رسید. در تمام مراحل نمونه‌برداری تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ۴، ۶ و ۸ میلی‌مولار اسیدازالیک مشاهده نشد (جدول ۳).

میوه از گیل‌ژاپنی منبع نسبتاً خوبی از پاداکسندگی‌های طبیعی مثل پلی‌فنل‌ها، اسیدآسکوربیک، کارتنوئیدها و فلاونوئیدها است. مقدار ترکیب‌های زیست‌فعال و فعالیت پاداکسندگی بسته به رقم و شرایط نگهداری پس از برداشت میوه متفاوت است [۲۳]. در این پژوهش میزان فعالیت پاداکسندگی میوه از گیل‌ژاپنی در طول دوره انبارداری کاهش یافت که با نتایج گزارش شده توسط سایر محققان مطابقت دارد [۸ و ۲۳]. همبستگی مثبتی بین ترکیب‌های زیست‌فعال و فعالیت پاداکسندگی میوه از گیل‌ژاپنی گزارش شده است [۲۲ و ۲۳]. در پژوهش حاضر نیز همگام با نوسان ترکیب‌های زیست‌فعال، میزان فعالیت پاداکسندگی نیز تغییر کرد که نشان‌دهنده‌ی همبستگی این مواد با فعالیت پاداکسندگی میوه از گیل‌ژاپنی است. میزان فعالیت پاداکسندگی میوه‌های تیمار شده با اسیدازالیک بیشتر بود که می‌تواند به دلیل نقش مؤثر اسیدازالیک در حفظ ترکیب‌های زیست‌فعال در طول دوره انبارداری باشد [۹].

۳-۷- فعالیت آنزیم‌های POD و PPO

فعالیت آنزیم‌های POD و PPO تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدازالیک و مدت انبارداری قرار گرفت. میزان فعالیت آنزیم POD در طول مدت انبارداری روند افزایشی داشت و ۲۱ روز پس از شروع انبارداری در میوه‌های گروه شاهد و تیمار شده به حداکثر مقدار خود رسید. سپس روند تغییرات معکوس و تا پایان مدت انبارداری میزان فعالیت آنزیم کاهش یافت. میزان تغییرات فعالیت آنزیم POD در میوه‌های

تیمار شده با اسیدازالیک کمتر از میوه‌های گروه شاهد بود. بیشترین تغییر در میزان فعالیت آنزیم POD با ۱۲۸ درصد افزایش از میوه‌های گروه شاهد پس از ۲۱ روز انبارداری به‌دست آمد. در پایان دوره انبارداری کمترین فعالیت آنزیمی با میانگین ۴/۳۱ واحد آنزیمی بر گرم بافت تازه در دقیقه از غلظت ۴ میلی‌مولار اسیدازالیک به‌دست آمد (جدول ۴).

فعالیت آنزیم PPO تا ۷ روز پس از شروع انبارداری در میوه‌های گروه شاهد و تیمار شده کاهش یافت اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p < 0.05$). با ادامه انبارداری میزان فعالیت آنزیم روند افزایشی نشان داد و در پایان مدت انبارداری به بالاترین مقدار رسید. در تمام مراحل نمونه‌برداری از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم PPO بین میوه‌های تیمار شده با غلظت ۶ و ۸ میلی‌مولار مشاهده نشد ($p < 0.05$). بیشترین میزان تغییرات فعالیت آنزیم PPO در طول مدت انبارداری با ۱۶۳ درصد افزایش مربوط به میوه‌های گروه شاهد و کمترین تغییر با ۳۴ درصد افزایش از تیمار ۶ میلی‌مولار اسیدازالیک به‌دست آمد (جدول ۴).

آنزیم POD به عنوان یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های پاداکسندگی موجود در گیاهان عالی، H_2O_2 تولید شده در بافت‌های گیاهی را با اکسیداسیون ترکیب‌های فنلی به آب و هیدروژن، تجزیه می‌کند [۲۱]. در این پژوهش فعالیت آنزیم POD بافت میوه‌ها در زمان انبارداری افزایش یافت که با نتایج گزارش شده در از گیل‌ژاپنی [۲۱]، لیچی [۱۳] و انبه [۲۴] مطابقت دارد. در میوه لیچی [۱۳] و خرمالو [۱۱] کاربرد پس از برداشت اسیدازالیک فعالیت آنزیم POD را در مقایسه با شاهد کاهش داد که با نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر بر روی از گیل‌ژاپنی مطابقت دارد. مکانیسم عمل اسیدازالیک در تغییر فعالیت آنزیم POD طی انبارداری سرد در میوه‌ها به درستی درک نشده است.

آنزیم PPO با اکسیداسیون پلی‌فنل‌ها موجب تغییر رنگ پوست و گوشت بسیاری از میوه‌ها می‌شود [۲۶]. در پژوهشی که بر روی موز انجام شد میزان فعالیت آنزیم PPO در طول مدت انبارداری افزایش یافت [۱۲]. نتایج مشابهی از افزایش فعالیت آنزیم PPO در آناناس [۲۸] و خرمالو [۱۱] نیز گزارش شده است که با نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر همخوانی دارد.

Table 4 Changes of POD and PPO enzymes activity of loquat fruit treated with different concentrations of oxalic acid during cold storage at 5°C

Trait	Oxalic acid (mM)	Storage time (days)				
		0	7	14	21	28
POD (U/g FW. min)	0	3.79±0.13 h	4.11±0.07 gh	5.92±0.16 b	8.64±0.27 a	8.55±0.21 a
	2	3.79±0.13 h	4.09±0.02 gh	4.78±0.08 def	5.89±0.15 b	5.53±0.25 bc
	4	3.79±0.13 h	4.01±0.03 gh	4.82±0.12 def	5.19±0.15 cd	4.31±0.20 fg
	6	3.79±0.13 h	3.96±0.03 gh	4.41±0.17 efg	4.69±0.12 def	4.72±0.17 def
	8	3.79±0.13 h	3.94±0.06 gh	4.41±0.06 efg	4.87±0.11 de	4.34±0.18 gh
PPO (U/g FW. min)	0	7.17±0.20 g	7.02±0.18 g	8.96±0.35 de	13.36±0.99 b	18.85±0.66 a
	2	7.17±0.20 g	7.02±0.10 g	7.82±0.16 efg	9.87±0.16 cd	12.76±0.28 b
	4	7.17±0.20 g	6.87±0.14 g	7.69±0.22 g	8.93±0.22 de	10.97±0.34 c
	6	7.17±0.20 g	6.91±0.11 g	7.71±0.05 fg	9.03±0.05 de	9.59±0.42 d
	8	7.17±0.20 g	6.89±0.06 g	7.51±0.08 g	8.91±0.08 def	9.68±0.26 d

Data (mean ± SE) with different letter(s) in each column and row for each parameter are significantly different at $p < 0.05$ level.

- [2] Anonymous. 2017. Statistical book of agricultural of Iran. Iranian Statistical Centre, Tehran, Iran. [In Persian]
- [3] Xu, M., Dong, J., Zhang, M., Xu, X. and Sun, L. 2012. Cold-induced endogenous nitric oxide generation plays a role in chilling tolerance of loquat fruit during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 65: 5–12.
- [4] Rahimkhani, R., Varasteh, F. and Seifi, E. 2016. Evaluation of genetic diversity in some loquat genotypes based on pomological characteristics in Golestan province. *Journal of Plant Production Research*, 23(1): 157-177. [In Persian]
- [5] Rahimkhani, R., Varasteh, F. and Seifi, E. 2017. Comparison of fruit biochemical and qualitative attributes of loquat genotypes (*Eriobotrya japonica* L.) of Gorgan. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 48(2): 413-421. [In Persian]
- [6] Oz, A.T. and Ulukanli, Z. 2011. Effects of 1-methylcyclopropene (1-MCP) and modified atmosphere packing (MAP) on postharvest browning and microbial growth of loquat fruit. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 84: 125–133.
- [7] Oz, A.T., Kafkas, E. and Bozdogan, A. 2016. Combined effects of oxalic acid treatment and modified atmosphere packaging on postharvest quality of loquats during storage. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40: 433-440.
- [8] Ashournezhad, M. and Ghasemnezhad, M. 2012. Effects of cellophane-film packaging and cold storage on the keeping quality and storage life of loquat fruit (*Eriobotrya japonica*). *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 7(2): 95-102. [In Persian]

آنزیم PPO در pHهای کمتر از ۴ فعالیت کمی دارد. بنابراین هر عاملی که در حفظ اسیدهای آلی میوه مؤثر باشد می‌تواند از افزایش فعالیت آنزیم PPO جلوگیری کند [۲۶]. در این پژوهش با کاربرد اسیدازگزالیک میزان تغییر فعالیت آنزیم PPO در طول مدت انبارداری کمتر از میوه‌های شاهد بود که می‌تواند به‌واسطه نقش اسیدازگزالیک در حفظ pH میوه [۲۶] و اتصال، کلاته‌کردن و یا حذف اتم‌های مس از جایگاه فعال آنزیم PPO باشد [۹].

۴- نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش همگام با افزایش مدت انبارداری علاوه بر تغییر ویژگی‌های ظاهری میوه ازگیل‌ژاپنی، خواص کیفی و بیوشیمیایی آن نیز تغییر کرد. نتایج نشان داد که کاربرد پس از برداشت اسیدازگزالیک به‌ویژه غلظت ۶ و ۸ میلی‌مولار، با کاهش فعالیت آنزیم‌های POD و PPO، حفظ ترکیب‌های زیست‌فعال و ویژگی‌های کیفی میوه در طول مدت انبارداری می‌تواند به‌عنوان روشی سالم و امیدبخش برای کنترل قهوه‌ای‌شدن و افزایش عمر انبارمانی ازگیل‌ژاپنی مورد استفاده قرار گیرد.

۵- منابع

- [1] Pareek, S., Benkeblia, N., Janick, J., Cao, S. and Yahia, E.M. 2014. Postharvest physiology and technology of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94: 1495–1504.

- Ralstonia solanacearum*. Electronic Journal of Biotechnology, 27: 63–69.
- [20] Vidhan, J., Ara, D. and John, R.P. 2010. Anthocyanins and polyphenol oxidase from dried arils of pomegranate (*Punica granatum* L.). Food Chemistry, 118: 11–16.
- [21] Razzaq, K., Sattar-Khan, A., Ullah-Malik, A., Shahid, M. and Ullah, S. 2015. Effect of oxalic acid application on Samar Bahisht Chaunsa mango during ripening and postharvest. LWT-Food Science and Technology, 63: 152–160.
- [22] Ghasemnezhad, M., Ashour-Nezhad, M. and Gerailoo, S. 2011. Changes in postharvest quality of loquat (*Eriobotrya japonica*) fruits influenced by chitosan. Horticulture, Environment and Biotechnology, 52(1): 40–45.
- [23] Petriccione, M., Pasquariello, M.S., Mastrobuoni, F., Zampella, L., Di-Patre, D. and Scortichini, M. 2015. Influence of a chitosan coating on the quality and nutraceutical traits of loquat fruit during postharvest life. Scientia Horticulturae, 197: 287–296.
- [24] Ding, Z.S., Tiana, S.P., Zhenga, X.L., Zhoua, Z.W. and Xu, Y. 2007. Responses of reactive oxygen metabolism and quality in mango fruit to exogenous oxalic acid or salicylic acid under chilling temperature stress. Physiologia Plantarum, 130: 112–121.
- [25] Wang, Y., Shan, Y., Chen, J., Feng, J., Huang, J., Jiang, F., Zheng, S. and Qin, Q. 2016. Comparison of practical methods for postharvest preservation of loquat fruit. Postharvest Biology and Technology, 120: 121–126.
- [26] Suttirak, W. and Manurakchinakorn, S. 2010. Potential application of ascorbic acid, citric acid and oxalic acid for browning inhibition in fresh-cut fruits and vegetables. Walailak Journal of Science and Technology, 7(1): 5–14.
- [27] Kumari, P., Barman, K., Patel, V.B., Siddiqui, M.W. and Kole, B. 2015. Reducing postharvest pericarp browning and preserving health promoting compounds of litchi fruit by combination treatment of salicylic acid and chitosan. Scientia Horticulturae, 197: 555–563.
- [28] Lu, X., Sun, D., Li, Y., Shi, W. and Sun, G. 2011. Pre- and post-harvest salicylic acid treatments alleviate internal browning and maintain quality of winter pineapple fruit. Scientia Horticulturae, 130: 97–101.
- [9] Huang, H., Zhu, Q., Zhang, Z., Yang, B., Duan, X. and Jiang, Y. 2013. Effect of oxalic acid on antibrowning of banana (*Musa spp.*, AAA group, cv. 'Brazil') fruit during storage. Scientia Horticulturae, 160: 208–212.
- [10] Cai, C., Xu, C.J., Li, X., Ferguson, I. and Chen, K.S. 2006. Accumulation of lignin in relation to change in activities of lignification enzymes in loquat fruit flesh after harvest. Postharvest Biology and Technology, 40: 163–169.
- [11] Li, J., Han, Y., Hu, M., Jin, M. and Rao, J. 2018. Oxalic acid and 1-methylcyclopropene alleviate chilling injury of Youhou sweet persimmon during cold storage. Postharvest Biology and Technology, 137: 134–141.
- [12] Loay, A.A. and Dawood, H.D. 2017. Minimize browning incidence of banana by postharvest active chitosan/PVA Combines with oxalic acid treatment to during shelf-life. Scientia Horticulturae, 226: 208–215.
- [13] Zheng, X. and Tian, S. 2006. Effect of oxalic acid on control of postharvest browning of litchi fruit. Food Chemistry, 96: 519–523.
- [14] AOAC, 2000. Vitamins and other nutrients (Chapter 45). In official methods of analysis (17th ed.), Washington, D.C.
- [15] Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymology, 299: 152–178.
- [16] Du, G., Li, M., Ma, F. and Liang, D. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in Actinidia fruits. Food Chemistry, 113: 557–562.
- [17] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT- Food Science and Technology, 28: 25–30.
- [18] Jung, S.K. and Watkins, C.B., 2011. Involvement of ethylene in browning development of controlled atmosphere-stored 'Empire' apple fruit. Postharvest Biology and Technology, 59: 219–226.
- [19] Xie, J.H., Chai, T.T., Xu, R., Liu, D., Yang, Y.X., Deng, Z.C., Jin, H. and He, H. 2017. Induction of defense-related enzymes in patchouli inoculated with virulent

Effect of oxalic acid on the quality and biochemical characteristics of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit during storage

Meighani, H. ^{1*}, Hashempour, A. ²

1. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran.

2. Research Assistant Professor, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Iranian Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran.

(Received: 2019/01/13 Accepted: 2020/09/01)

Oxalic acid (OA), as a natural antioxidant, delays the ripening and senescence of fruits. In this research, the effect of different concentration of OA (0, 2, 4, 6, and 8 mM) investigated on storage life and postharvest quality of loquat fruit at 5°C and 90±5% relative humidity for 28 days. Traits such as browning index, biochemical and qualitative characteristics and activity of polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) enzymes of fruit at harvest (0), 7, 14, 21 and 28 days after storage were analyzed. With increasing storage time, the level of browning index, total soluble solids (TSS), ratio of TSS/titratable acidity (TA) and the activity of PPO and POD enzymes increased in all treatments, while firmness, ascorbic acid, total phenol and flavonoids content and antioxidant activity decreased ($p<0.05$). OA application significantly reduced the level of browning index and the activity of enzymes responsible for tissue browning (PPO and POD) compared to control ($p<0.05$). At the end of storage, fruits treated with different concentration of OA had a more firmness tissue and higher level of ascorbic acid, total phenol and flavonoids content and antioxidant activity in comparison to the control fruits ($p<0.05$). Overall, OA application effectively reduced fruit softening and browning index with diminished the activity of PPO and POD enzymes during cold storage.

Keywords: Antioxidant activity, Browning, Peroxidase, Polyphenol oxidase, Total phenol.

* Corresponding Author E-Mail Address: hmeighani@ujiroft.ac.ir