علمی پژوهشی

اثر اگزالیک‌اسید بر ویژگی‌های کیفی و بیوشیمیایی میوه ازگیل‌ژاپنی (*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 پژوهشکده مرکبات و میوه های نیمه گرمسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹۷ /۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰٦/۱۱)

چکیده

اسیداگزالیک به‌عنوان یک پادأکسنده طبیعی رسیدن و پیری میوه را به‌تأخیر می‌اندازد. در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف اسیداگزالیک (۰، ۲، ٤، ٦ و ۸ میلی‌مولار) بر قابلیت انبارمانی و کیفیت پس از برداشت میوه ازگیل‌ژاپنی طی ۲۸ روز انبارداری در دمای ۵ درجه‌سانتی‌گراد و رطوبت‌نسبی ۵±۹۰ 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، ١٤، 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 ($p<0.05$)، درحالی‌که میزان سفتی بافت میوه، TA، اسیدآسکوربیک، فنل و فلاونوئید کل و ظرفیت پادأکسندگی میوه کاهش یافت ($p<0.05$). کاربرد اسیداگزالیک میزان شاخص قهوه‌ای‌شدن و فعالیت آنزیم‌های مسئول قهوه‌ای‌شدن میوه (PPO و POD) را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش داد ($p<0.05$). در پایان مدت انبارداری میوه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسیداگزالیک بافت سفت‌تر و میزان اسیدآسکوربیک، فنل و فلاونوئید کل و ظرفیت پادأکسندگی بیشتری در مقایسه با میوه‌های گروه شاهد داشتند ($p<0.05$). در کل، کاربرد اسیداگزالیک 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 پادأکسندگی، قهوه‌ای‌شدن.

*مسئول مکاتبات: hmeighani@ujiroft.ac.ir

۱- مقدمه

ازگیل‌ژاپنی 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 ازگیل‌ژاپنی 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 ۳۳٤ 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].

ازگیل‌ژاپنی 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 نئوکلروژنیک، اسید هیدروکسی بنزوئیک و اسید فرولیل‌کوئینیک است [۱]. این ترکیب‌ها دارای خاصیت پاداُکسندگی 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 ازگیل‌ژاپنی از لحاظ ظاهری تقریباً گرد است، در زمان رسیدن تغییر رنـگ 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 ازگیل‌ژاپنی استان گرگان نشان داد که وزن میوه‌ها از ۱۲/۸۷تا ۲۳/۸۰ گرم، میزان اسیدآسکوربیک از ۱۲/۵۸ تا ۳۸/۱۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم و TSS از ۸/۵۳ تا ۱۷/۷۳ درصد متغیر است [٤]. همچنین میزان فنل و فلاونوئید کل ژنوتیپ‌های فوق به ترتیب بین ۳۱٦/۵۵-۱۳۱/۹۵ و ۸۷/۹۱-۳/٤۵ میکروگرم بر گرم وزن تر بود [۵].

میوه ازگیل‌ژاپنی 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]. ازگیل‌ژاپنی جزو میوه‌های نافرازگرا[1] 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 [٦]. 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 ازگیل‌ژاپنی به همراه خوشه و بسته‌بندی مناسب می‌تواند ماندگاری آن را افزایش دهد [۸]. دما در افزایش عمرانبـاری و حفظ کیفیت میوه‌ها و سبزی‌هـا نقـش اساسی دارد. دمای پایین با کاهش تنفس و تولید اتیلن عمر انباری میوه‌ها را افزایش می‌دهد، اما نمی‌تواند به طور کامل از پوسیدگی یـا کـاهش وزن آن جلوگیری کند [۹]. با این حال ازگیل‌ژاپنی 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 ازگیل‌ژاپنی پس از ۳۹ روز انبارداری در دمای ۵ درجه‌سانتی‌گراد دارای کیفیت بهتری در مقایسه با دمای صفر درجه است [۱۰]. ازگیل‌ژاپنی در مدت کوتاهی پس از برداشت دچار عارضه قهوه‌ای‌شدن می‌شود که یکی از عوامل محدودکننده عمرانبارداری این میوه می‌باشد. قهوه‌ای‌شدن نتیجه خسارت غشای‌سلولی همراه با اکسیدآسیون 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[2] (POD) نیز دارای فعالیتی مشابه آنزیم PPO هستند که ممکن است در فرآیندهای کند مانند قهوه‌ای‌شدن درونی دخالت داشته باشند [۹].

در سال‌های اخیر اسیداگزالیک به عنوان ترکیبی مناسب برای نگهداری پس از برداشت میوه‌ها توجه زیادی را به خود جلب کرده است. اسیداگزالیک 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

1. Non-Climactric

2. Peroxidase (POD)

است. کاربرد اسیداگزالیک نرخ تنفس و مقدار اتیلن را در میوه موز کاهش و نرم شدن بافت میوه را به‌تأخیر انداخت. در پایان دوره انبارداری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز[1] (SOD) و ظرفیت پاداُکسندگی در میوه‌های موز تیمار شده بیشتر و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) کمتر از میوه‌های شاهد بود [۹]. در پژوهشی دیگر کاربرد غلظت‌های ۲ و ٤ میلی‌مولار اسیداگزالیک در میوه لیچی منجر به کاهش وقوع پدیده قهوه‌ای‌شدن درون‌بر به دلیل حفظ تمامیت غشای‌سلولی، جلوگیری از تجزیه آنتوسیانین، کاهش اکسیدآسیون و حفظ فعالیت نسبتاً پایین آنزیم POD طی مدت انباری در مقایسه با شاهد شد [۱۳].

با توجه به حساسیت ازگیل‌ژاپنی به قهوه‌ای‌شدن و عمر انباری کم، ارائه راه‌کارهای مناسب برای حفظ کیفیت میوه در شرایط پس از برداشت به‌نحوی که قابل پذیرش برای مصرف‌کننده نیز باشد، امری ضروری به‌نظر می‌رسد. از طرفی گزارش منتشر شده‌ای در مورد اثر اسیداگزالیک بر انبارمانی میوه ازگیل‌ژاپنی در ایران وجود ندارد. لذا هدف این پژوهش، مطالعه اثر اسیداگزالیک بر قهوه‌ای‌شدن، عمر انباری و کیفیت میوه ازگیل‌ژاپنی طی مدت نگهداری در انبار سرد می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

میوه‌های ازگیل‌ژاپنی 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 میوه‌های معیوب، زخمی و آسیب‌دیده جدا شدند. سپس میوه‌های سالم به ۵ گروه تقسیم شدند.

۲-۱- اعمال تیمار

میوه‌ها در دمای ۲۰ درجه‌سانتی‌گراد به روش غوطه‌وری[2] و به مدت ۱۵ دقیقه در غلظت‌های مختلف اسیداگزالیک غوطه‌ور شدند. برای میوه‌های گروه شاهد (غلظت صفر) از آب مقطر استفاده شد [۷]. سپس میوه‌ها در دمای اتاق قرار گرفتند تا خشک شوند. شمار ۱۲ میوه از هر تیمار درون ظروف پلاستیکی درب‌دار قرار گرفت. برای هر تیمار ۱۲ عدد ظرف جهت ٤ مرحله نمونه‌برداری پس از انبار کردن درنظر گرفته شد. سپس میوه‌ها به سردخانه‌ای با دمای ۵ درجه‌سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۹۰ درصد به مدت ۲۸ روز منتقل شدند. صفات زیر در زمان برداشت و قبل از اعمال تیمار (به‌عنوان روز صفر) و به فاصله ۷ روز پس از شروع انبارداری اندازه‌گیری شدند.

۲-۲- ارزیابی صفات

سفتی بافت میوه با استفاده از دستگاه بافت‌سنج (Texture Analyzer, H5KS, UK) مجهز به پروب استوانه‌ای با قطر ۵ میلی‌متر و میزان نفوذ ٤ میلی‌متر اندازه‌گیری و بر حسب نیوتن بیان شد. سرعت نفوذ پروب یک میلی‌متر بر ثانیه بود [۱۰].

میزان TSS با استفاده از دستگاه رفراکتومتر دیجیتالی (Euromex RD 635, Holland)، TA به روش تیتراسیون با استفاده از هیدروکسیدسدیم یک‌دهم نرمال تا رسیدن به pH برابر۸/۲ و اسیدآسکوربیک به روش تیتراسیون با استفاده از ۲و٦- دی‌کلروفنل‌ایندوفنل[3] اندازه‌گیری شد [١٤]. نسبت TSS/TA که شاخص بلوغ یا طعم میوه نیز نامیده می‌شود با تقسیم مقدار TSS بر TA محاسبه شد. اندازه‌گیری میزان فنل کل میوه با استفاده از معرف فولین‌سیوکالچو مطابق روش سینگلتون و همکاران (۱۹۹۹) انجام شد [۱۵]. میزان جذب نمونه‌ها و استاندارد اسیدگالیک در طول موج ۷٦۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل PG Instruments $T80^+$ خوانده شد. در نهایت میزان فنل کل بر حسب میلی‌گرم معادل اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم بافت میوه بیان شد. اندازه‌گیری فلاونوئید کل با استفاده از کلریدآلومینیوم و استات‌پتاسیم مطابق روش دو و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد [١٦]. میزان جذب نمونه‌ها و استاندارد کاتچین توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰٦ نانومتر خوانده شد و در نهایت میزان فلاونوئید کل بر حسب میلی‌گرم معادل کاتچین در ۱۰۰ گرم بافت میوه بیان شد.

برای سنجش میزان ظرفیت پاداُکسندگی از معرف ۲و ۲- دی‌فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل[4] (DPPH) استفاده شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد و بر مبنای میزان احیاء رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره میوه، ظرفیت پاداُکسندگی بر حسب درصد بازدارندگی (%DPPHsc) از رابطه زیر به‌دست آمد [۱۷].

1. Superoxide dismutase (SOD)
2. Dipping
3. 2,6-dichlorophenolindophenol (DCPIP)
4. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

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

شاخص قهوه‌ای‌شدن میوه از طریق بصری و اندازه‌گیری سطح قهوه‌ای‌شده با استفاده از مقیاس نمره‌دهی ٤-٠ [٠: میوه سالم (بدون قهوه‌ای‌شدن)؛ ١: قهوه‌ای‌شدن کمتر از ٢٥٪ سطح میوه؛ ٢: قهوه‌ای‌شدن بین ٢٥٪ تا ٥٠٪ سطح میوه؛ ٣: قهوه‌ای‌شدن بین ٥٠٪ تا ٧٥٪ سطح میوه؛ ٤: قهوه‌ای‌شدن بیش از ٧٥٪ سطح میوه] روی ١٢ عدد میوه از هر تیمار و تکرار در هر مرحله نمونه‌برداری انجام گرفت و میزان قهوه‌ای‌شدن به صورت درصد از فرمول زیر محاسبه شد [٧].

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

n، تعداد میوه‌های قهوه‌ای‌شده در هر مقیاس نمره‌دهی و N، تعداد کل میوه‌های هر تکرار (در این پژوهش ١٢)

٢-٣- سنجش فعالیت آنزیم‌ها

برای استخراج عصاره آنزیمی مقدار ٢ گرم از بافت فریزشده میوه در هاون‌چینی در حضور نیتروژن مایع خرد و با ١٠ میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم (٥٠ میلی‌مولار با pH=7) حاوی ٠/٢ گرم پلی‌وینیل پلی‌پیرولیدون[1] هموژنیزه شد. مخلوط حاصل به مدت ٢٠ دقیقه با سرعت ١٤٠٠٠ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه‌سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس محلول روشناور جدا و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم PPO و POD مورد استفاده قرار گرفت [١٨].

سنجش فعالیت آنزیم POD بر اساس اکسیدآسیون گایاکول توسط آب‌اکسیژنه در طول موج ٤٧٠ نانومتر به روش ژی و همکاران (٢٠١٧) با اندکی تغییر انجام گرفت [١٩]. مخلوط واکنش شامل ١٠٠ میکرولیتر گایاکول ٤ درصد، ١٠٠ میکرولیتر آب‌اکسیژنه ٤٦ درصد، ٢/٧٥ میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم (٥٠ میلی‌مولار با pH=7) و ٥٠ 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 [١٩]. فعالیت آنزیم PPO مطابق روش ویدن و همکاران (٢٠١٠) با اندکی تغییر در طول موج ٤٢٠ نانومتر اندازه‌گیری شد [٢٠]. مخلوط واکنش حاوی ٣٠٠ میکرولیتر کاتکول ١٠ میلی‌مولار، ٢/٦ میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم (٥٠ میلی‌مولار با pH=7) و ١٠٠ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. 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 اسیداگزالیک (٠، ٢، ٤، ٦ و ٨ میلی‌مولار) و زمان نمونه‌برداری [زمان برداشت(٠)، ٧، ١٤، ٢١ و ٢٨ روز پس از شروع انبارداری] 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.

٣- نتایج و بحث

٣-١- سفتی میوه

میزان سفتی بافت میوه ازگیل‌ژاپنی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسیداگزالیک و مدت انبارداری قرارگرفت. با افزایش مدت انبارداری میزان سفتی بافت میوه افزایش یافت به نحوی که میزان سفتی از ٣/٦٤ نیوتن در زمان برداشت به ٥/٠١ نیوتن در پایان مدت انبارداری رسید (شکل ١-A). همانطور که در شکل ١-B نشان داده شده است با افزایش غلظت اسیداگزالیک میزان سفتی بافت میوه کمتر شد. در پایان دوره انبارداری کمترین و بیشترین میزان سفتی بافت به ترتیب با میانگین ٤/٠٩ و ٤/٨٠ نیوتن از میوه‌های گروه شاهد و غلظت ٨ میلی‌مولار اسیداگزالیک به‌دست آمد هر چند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ٤، ٦ و ٨ 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 دیواره‌سلولی اتفاق می‌افتد که منجر به نرم‌شدن و رسیدن میوه می‌شود [٢١]. میوه‌های رسیده ازگیل‌ژاپنی نرم و آب‌دار هستند اما بر خلاف سایر میوه‌ها که پس از رسیدن به تدریج نرم‌تر می‌شوند، میزان سفتی بافت میوه ازگیل‌ژاپنی افزایش می‌یابد [٣]. به‌طورکلی سفتی بالاتر بافت میوه نشان‌دهنده طراوت و تازگی بیشتر میوه رسیده است اما این موضوع در مورد ازگیل‌ژاپنی صدق نمی‌کند [٧]. علت افزایش سفتی بافت میوه ازگیل‌ژاپنی در شرایط پس از برداشت، تشکیل لیگنین و چوبی شدن بافت میوه ذکر شده است [١ و ١٠]. در پژوهشی میزان سفتی و محتوی لیگنین میوه

1. Polyvinylpolypyrrolidone

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

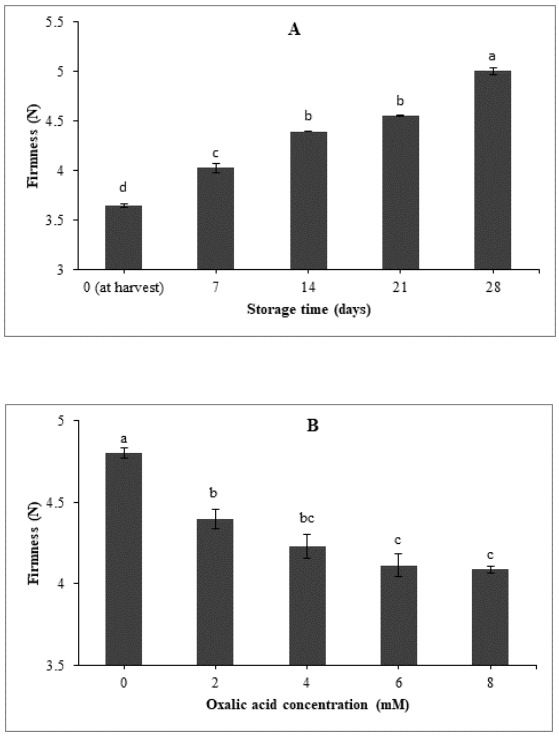

Fig 1 The effect of storage time (A) and oxalic acid (B) on firmness of loquat fruit during cold storage at 5□. Data (mean ± SE) with different letters are significantly different ($p<0.05$).

در پژوهش حاضر با کاربرد اسیداگزالیک 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 آمونیالیاز[1] (PAL) و سینامیل‌الکل‌دهیدروژناز[2] (CAD) دو آنزیم مهم در مسیر بیوسنتز لیگنین هستند و آنزیم POD در پلی‌مریزاسیون لیگنین‌ها نقش دارد [۱۰]. اسیداگزالیک 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 اسیداگزالیک افزایش یافت. در طول مدت انبارداری بیشترین افزایش TSS و نسبت TSS/TA به ترتیب با ۲۶ و ۲۰۵ درصد مربوط به میوه‌های گروه شاهد بود. تغییر میزان TSS و نسبت TSS/TA در میوه‌های تیمار شده با اسیداگزالیک به‌طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود ($p<0.05$). در پایان مدت انبارداری کمترین میزان TSS با میانگین ۱۲/۷۸ درجه-بریکس از تیمار ٦ میلی‌مولار اسیداگزالیک و نسبت TSS/TA با میانگین ۱۷/۰۱ از تیمار ۸ میلی‌مولار اسیداگزالیک 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 تیمارشده با اسیداگزالیک 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 گرووه شاهد و تیمار ٦ و ۸ میلی‌مولار اسیداگزالیک 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 تعیین کننده 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 [۲٤] بنابراین با افزایش این شاخص در طول مدت انبارداری، کیفیت خوراکی میوه‌ها به‌تدریج کاهش می‌یابد.

میزان TA نشاندهنده‌ی 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 فرآیند تنفس می‌باشد [۲۲]. با کاربرد اسیداگزالیک میزان تغییرات

1. Phenylalanine ammonia lyase (PAL)
2. Cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD)

شاخص‌های کیفی فوق در مقایسه با شاهد کمتر بود که احتمالاً می‌تواند به دلیل نقش اسیداگزالیک 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 میوه‌های موز تیمار شده با اسیداگزالیک به‌طورمحسوسی طی مدت انبارداری در مقایسه با میوه‌های گروه شاهد کاهش یافت [۹] لذا کاهش تنفس در نتیجه کاربرد اسیداگزالیک می‌تواند یکی دیگر از دلایل تغییر کمتر ویژگی‌های 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□

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 قهوه‌ای‌شدن

قهوه‌ای‌شدن پوست و گوشت یکی از مشکلات جدی انبارداری و فرآوری میوه ازگیل‌ژاپنی است. میزان شاخص قهوه‌ای‌شدن تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسیداگزالیک قرار گرفت. در میوه‌های گروه شاهد ۷ روز پس از شروع انبارداری علائم قهوه‌ای‌شدن مشاهده شد که شاخص قهوه‌ای‌شدن در این مرحله ٤ درصد بود. شاخص قهوه‌ای‌شدن در میوه‌های گروه شاهد به‌تدریج افزایش یافت و در پایان دوره انبارداری به حدود ۲۷ درصد رسید. گرچه ۷ روز پس از شروع انبارداری علائم قهوه‌ای‌شدن در تیمارهای ۲ و ٤ میلی‌مولار اسیداگزالیک مشاهده شد اما از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با شروع انبارداری نداشت ($p<0.05$).

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

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.

همچنین در میوه‌های تیمار شده با غلظت‌های ٦ و ٨ میلی‌مولار اسیداگزالیک تا ٢١ 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 ٨ میلی‌مولار اسیداگزالیک با میانگین ٤/٧ درصد به‌دست آمد گرچه از نظر آماری با تیمار٤ و ٦ میلی‌مولار اسیداگزالیک با میانگین ٧/٣ درصد اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ٢).

قهوه‌ای‌شدن عمدتاً نتیجه اکسیدآسیون 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. اسیداگزالیک به‌عنوان یک ترکیب ضدقهوه‌ای‌شدن با کاهش pH محیط، فعالیت آنزیم PPO را کاهش داده و میزان قهوه‌ای‌شدن را به حداقل می‌رساند [٢٦]. شاخص قهوه‌ای‌شدن در میوه‌های موز تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسیداگزالیک طی ٢٤ روز انبارداری به میزان قابل توجهی در مقایسه با شاهد کاهش یافت [٩] که با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد. نتایج مشابهی از کاربرد اسیداگزالیک در ازگیل‌ژاپنی رقم 'هفیف'[1] [٧] موز [١٢] و لیچی [١٣] گزارش شده است. به‌طور کلی کاهش قهوه‌ای‌شدن میوه با کاربرد اسیداگزالیک در شرایط پس از برداشت می‌تواند به‌دلیل مهار فعالیت آنزیم‌های POD و PPO و حفظ ترکیب‌های زیست‌فعال در طول مدت انبارداری باشد [١٣].

٣-٤- اسیدآسکوربیک

میزان اسیدآسکوربیک تحت تأثیر تیمار اسیداگزالیک 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 اسیداگزالیک بود ($p<0.05$). در زمان برداشت (شروع انبارداری) میزان اسیدآسکوربیک میوه‌ها ١٧/٣١ میلی‌گرم در ١٠٠ گرم بود که تا ٧ روز پس از شروع انبارداری از نظر آماری تغییر معنی‌داری در میزان اسیدآسکوربیک میوه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسیداگزالیک مشاهده نشد ($p<0.05$). در پایان دوره انبارداری، میوه‌های گروه شاهد با ٥٩ درصد کاهش بیشترین و میوه‌های تیمار شده با ٦ میلی‌مولار اسیداگزالیک با ٢٨ درصد کاهش کمترین تغییر را در مدت ٢٨ روز انبارداری در دمای ٥ درجه‌سانتی‌گراد نشان دادند. در تمام مراحل نمونه‌برداری تغییر معنی‌داری بین غلظت‌های ٦ و ٨ میلی‌مولار اسیداگزالیک مشاهده نشد (جدول ٢).

اسیدآسکوربیک اهمیت زیادی در ارزش غذایی میوه‌ها دارد اما به تجزیه ناشی از اکسیدآسیون بسیار حساس است و تغییرات آن در مقایسه با سایر ترکیب‌های دارای ارزش غذایی بیشتر مورد توجه است [٨]. کاهش اسیدآسکوربیک در طول مدت انبارداری در سایر میوه‌ها نیز گزارش شده است. در ازگیل‌ژاپنی انبار شده در دمای ٤ درجه سلیوس میزان اسیدآسکوربیک از ٣١/٤ میلی‌گرم در شروع انبارداری به ٨/١ میلی‌گرم پس از ٤٢ روز انبارداری رسید [٢٥] که روند تغییرات با نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر مطابقت دارد. نتایج مشابهی از تغییر اسیدآسکوربیک طی انبارداری میوه گیلاس [٢٣] و لیچی [٢٧] نیز گزارش شده است. اسیدآسکوربیک به‌عنوان ترکیبی با خاصیت پادأکسندگی، با ROS تولید شده در اندامک‌های مختلف سلول ترکیب و از پراکسیدآسیون ساختار و ترکیب غشای‌سلولی 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 [٩]. اسیداگزالیک احتمالاً با کندکردن فرآیند رسیدن و پیری میوه و کاهش تولید ROS در حفظ اسیدآسکوربیک مؤثر می‌باشد.

٣-٥- ترکیب‌های بیوشیمیایی

نتایج به‌دست آمده نشان دهنده اثر معنی‌دار غلظت‌های مختلف اسیداگزالیک بر میزان فنل و فلاونوئید کل میوه‌های ازگیل‌ژاپنی طی مدت انبارداری است. مقدار فنل کل در میوه‌های گروه شاهد و تیمار شده با اسیداگزالیک تا ١٤ 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 تیمارشده 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 به‌طورقابل‌توجهی بیشتر از میوه‌های تیمار شده بود. در پایان

1. Hafif Çukurgöbek

دوره انبارداری بیشترین کاهش در مقایسه با زمان برداشت به میزان ٤٨ درصد از میوه‌های شاهد و کمترین کاهش با ١٨ درصد از میوه‌های تیمار شده با غلظت ٨ میلی‌مولار اسیداگزالیک به‌دست آمد (جدول ٣).

میزان فلاونوئید کل میوه‌های ازگیل‌ژاپنی تا ٧ روز پس از شروع انبارداری روند افزایشی نشان داد گرچه این افزایش در میوه‌های تیمار شده با اسیداگزالیک از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p<0.05$). امّا با افزایش مدت انبارداری مقدار فلاونوئید کل به‌تدریج کاهش یافت و در پایان دوره انبارداری به حداقل رسید. بالاترین مقدار فلاونوئید کل با میانگین ٥٥/١ میلی‌گرم در ١٠٠ گرم ٧ روز پس از شروع انبارداری از میوه‌های گروه شاهد به‌دست آمد. اما در پایان دوره انبارداری بیشترین و کمترین میزان با میانگین ٣٥/٩ و ١٧/١ میلی‌گرم به ترتیب از میوه‌های گروه شاهد و تیمار ٦ میلی‌مولار اسیداگزالیک به‌دست آمد که در مقایسه با زمان برداشت به ترتیب ٢٢ و ٦٣ درصد کاهش داشت (جدول ٣).

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

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±48 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 [٢٣]. عمده‌ترین ترکیب‌های فنلی موجود در میوه رسیده ازگیل‌ژاپنی شامل اسیدکلروژنیک، اسید نئوکلروژنیک، اسید هیدروکسی‌بنزوئیک و اسید فوریل‌کوئینیک است [١]. آنزیم PAL اولین آنزیم کلیدی و تعیین‌کننده در ابتدای مسیر تولید فنیل‌پروپانوئیدها است و در واکنش به دمای پایین میزان فعالیت آن افزایش می‌یابد [٢٢ و ٢٨]. 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 ٦ رقم ازگیل‌ژاپنی مطابقت دارد [٢٣]. ازگیل‌ژاپنی به قهوه‌ای‌شدن آنزیمی حساس است و همبستگی مثبتی بین کاهش فنل کل و افزایش قهوه‌ای‌شدن گزارش شده است [٧]. لذا کاهش میزان فنل و فلاونوئید کل در زمان انبارداری می‌تواند به دلیل افزایش اکسیدآسیون آنزیمی ترکیب‌های فوق باشد [٢٢]. 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 [٩]. اسیداگزالیک 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 [٩].

٣-٦- فعالیت پادُکسندگی

میزان فعالیت پادُکسندگی میوه ازگیل‌ژاپنی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسیداگزالیک و مدت انبارداری قرار گرفت. به‌طوری‌که تا ٧ روز پس از شروع انبارداری میزان فعالیت

پاداُکسندگی 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 تیمارشده با اسیداگزالیک وجود نداشت. سپس تا پایان مدت انبارداری میزان فعالیت پاداُکسندگی میوه روند کاهشی داشت که میزان کاهش در میوه‌های تیمار شده با اسیداگزالیک کمتر از میوه‌های گروه شاهد بود ($p<0.05$). فعالیت پاداُکسندگی میوه‌ها در زمان برداشت (شروع انبارداری) ٦٧/٢ درصد بود که در پایان دوره انبارداری در میوه‌های گروه شاهد به میانگین ٢١/٧ درصد و در میوه‌های تیمار شده با ٨ میلی‌مولار اسیداگزالیک به ٤٤ درصد رسید. در تمام مراحل نمونه‌برداری تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ٤، ٦ و ٨ میلی‌مولار اسیداگزالیک مشاهده نشد (جدول ٣).

میوه ازگیل‌ژاپنی منبع نسبتاً خوبی از پاداُکسنده‌های طبیعی مثل پلی‌فنل‌ها، اسیدآسکوربیک، کارتنوئیدها و فلاونوئیدها است. مقدار ترکیب‌های زیست‌فعال و فعالیت پاداُکسندگی بسته به رقم و شرایط نگهداری پس از برداشت میوه متفاوت است [٢٣]. در این پژوهش میزان فعالیت پاداُکسندگی میوه ازگیل‌ژاپنی در طول دوره انبارداری کاهش یافت که با نتایج گزارش شده توسط سایر محققان مطابقت دارد [٨ و ٢٣]. همبستگی مثبتی بین ترکیب‌های زیست‌فعال و فعالیت پاداُکسندگی میوه ازگیل‌ژاپنی گزارش شده است [٢٢ و ٢٣]. در پژوهش حاضر نیز همگام با نوسان ترکیب‌های زیست‌فعال، میزان فعالیت پاداُکسندگی نیز تغییر کرد که نشان‌دهنده‌ی همبستگی این مواد با فعالیت پاداُکسندگی میوه ازگیل‌ژاپنی است. میزان فعالیت پاداُکسندگی میوه‌های تیمار شده با اسیداگزالیک بیشتر بود که می‌تواند به دلیل نقش مؤثر اسیداگزالیک در حفظ ترکیب‌های زیست‌فعال در طول دوره انبارداری باشد [٩].

٣-٧- فعالیت آنزیم‌های POD و PPO

فعالیت آنزیم‌های POD و PPO تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسیداگزالیک و مدت انبارداری قرار گرفت. میزان فعالیت آنزیم POD در طول مدت انبارداری روند افزایشی داشت و ٢١ روز پس از شرع 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 اسیداگزالیک کمتر از میوه‌های گروه شاهد بود. بیشترین تغییر در میزان فعالیت آنزیم POD با ١٢٨ درصد افزایش از میوه‌های گروه شاهد پس از ٢١ روز انبارداری به‌دست آمد. در پایان دوره انبارداری کمترین فعالیت آنزیمی با میانگین ٤/٣١ واحد آنزیمی بر گرم بافت تازه در دقیقه از غلظت ٤ میلی‌مولار اسیداگزالیک به‌دست آمد (جدول ٤).

فعالیت آنزیم PPO تا ٧ 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 ٦ و ٨ میلی‌مولار مشاهده نشد ($p<0.05$). بیشترین میزان تغییرات فعالیت آنزیم PPO در طول مدت انبارداری با ١٦٣ درصد افزایش مربوط به میوه‌های گروه شاهد و کمترین تغییر با ٣٤ درصد افزایش از تیمار ٦ میلی‌مولار اسیداگزالیک به‌دست آمد (جدول ٤).

آنزیم POD به عنوان یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های پاداُکسنده موجود در گیاهان عالی، H_2O_2 تولید شده در بافت‌های گیاهی را با اکسیدآسیون ترکیب‌های فنلی به آب و هیدروژن، تجزیه می‌کند [٢١]. در این پژوهش فعالیت آنزیم POD بافت میوه‌ها در زمان انبارداری افزایش یافت که با نتایج گزارش شده در ازگیل‌ژاپنی [٢١]، لیچی [١٣] و انبه [٢٤] مطابقت دارد. در میوه لیچی [١٣] و خرمالو [١١] کاربرد پس از برداشت اسیداگزالیک فعالیت آنزیم POD را در مقایسه با شاهد کاهش داد که با نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر بر روی ازگیل‌ژاپنی مطابقت دارد. مکانیسم عمل اسیداگزالیک 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 [٢٦]. در پژوهشی که بر روی موز انجام شد میزان فعالیت آنزیم PPO در طول مدت انبارداری افزایش یافت [١٢]. نتایج مشابهی از افزایش فعالیت آنزیم PPO در آناناس [٢٨] و خرمالو [١١] 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□

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.

آنزیم PPO در pHهای کمتر از ٤ فعالیت کمی دارد. بنابراین هر عاملی که در حفظ اسیدهای آلی میوه مؤثر باشد می‌تواند از افزایش فعالیت آنزیم PPO جلوگیری کند [٢٦]. در این پژوهش با کاربرد اسیداگزالیک میزان تغییر فعالیت آنزیم PPO در طول مدت انبارداری کمتر از میوه‌های شاهد بود که می‌تواند به‌واسطه نقش اسیداگزالیک در حفظ pH میوه [٢٦] و اتصال، کلاته‌کردن و یا حذف اتم‌های مس از جایگاه فعال آنزیم PPO باشد [٩].

٤- 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 اسیداگزالیک به‌ویژه غلظت ٦ و ٨ میلی‌مولار، با کاهش فعالیت آنزیم‌های PPO و POD، 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.

٥- 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.

[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-methylcylopropene (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 e□ects 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]

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-Ranventos, 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