Plant Prod., 2023, 46(2), 213-224
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2023.43467.2095
Received: 12 April 2023
Accepted: 28 July 2023

Plant Productions
Research Article

Postharvest quality maintenance and improvement of antioxidant capacity of sour cherry fruits by malic acid treatment

Mahla Sanati[1], Zahra Pakkish[2*], Soheila Mohammadrezakhani[3]

1. Master student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
2. Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
3. Ph.D. Graduate of Horticulture, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Citation: Sanati, M., Pakkish, Z., & Mohammadrezakhani, S. (2023). Postharvest quality maintenance and improvement of antioxidant capacity of sour cherry fruits by malic acid treatment. *Plant Productions,* 46(2), 213-224.

Abstract

Introduction

Fruits are one of the most valuable horticultural products that play an important role in providing of human nutrition and health. This group of agricultural products are perishable due to high content of water, high respiration and transpiration rate, hence, most of them are short life products. In present study, malic acid with different concentrations were used as treatments to protect cell membranes, maintain quality and increase shelf life during the postharvest period in sour cherry fruits.

Materials and Methods

Sour cherry fruits were selected from a commercial orchard in Mahan city of kerman in 2021 years, after treatment with 0, 2 and 4% malic acid and stored at 1°C with 85% relative humidity for 16 days. Traits such as chilling injury, hydrogen peroxide, lipid peroxidation, ion leakage, antioxidant capacity and antioxidant enzymes including peroxidase, catalase, superoxide dismutase, ascorbate peroxidase were measured.

Results and Discussion

The results showed that the application of malic acid with both concentrations of 2 and 4% and in all studied intervals led to a decrease in chilling injury, hydrogen peroxide, lipid peroxidation, and ion leakage compared to the control samples. On the other hand, in fruits treated with malic acid, the antioxidant

* **Corresponding Author:** Zahra Pakkish
E-mail: Zahrapakkish@uk.ac.ir

© 2023 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

capacity and activity of antioxidant enzymes including peroxidase, catalase, superoxide dismutase, and ascorbate peroxidase increased.

Conclusion

As a general conclusion, malic acid with a concentration of 4% in all studied intervals had significant effects at a statistical level of 5% on improving the antioxidant activities of cherry fruits during the storage period.

Keywords: Chilling injury, Free radicals, Treatment

تولیدات گیاهی، ۱۴۰۲، ۴۶(۲)، ۲۱۳-۲۲۴
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2023.43467.2095
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۰۶

تولیدات گیاهی
مقاله پژوهشی

حفظ کیفیت پس از برداشت و بهبود ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه آلبالوی رقم مجارستانی توسط تیمار با اسید مالیک

مهلا صنعتی[۱]، زهرا پاک کیش[۲*]، سهیلا محمدرضاخانی[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، بخش باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
۲. دانشیار، بخش باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.
۳. دانش آموخته دکتری باغبانی، بخش باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

چکیده

در این تحقیق به بررسی اثر اسیدمالیک در طی دوره پس از برداشت در میوه‌های آلبالو رقم مجارستانی پرداخته شده است. میوه‌های آلبالو از یک باغ تجاری در شهر ماهان کرمان در سال ۱۴۰۱ انتخاب و بعد از تیمار با اسیدمالیک ۰، ۲ و ۴ درصد تیمار برداشت و در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۸۵ درصد برای مدت ۱۶ روز ذخیره شدند. صفاتی مانند صدمه سرمازدگی، میزان پراکسید هیدروژن، پراکسیداسیون لیپیدها، نشت یونی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان دادند که کاربرد اسیدمالیک با هر دو غلظت و درتمامی فواصل مورد مطالعه منجر به کاهش میزان خسارت سرمازدگی، پراکسیدهیدروژن، پراکسیداسیون لیپیدها، نشت یونی نسبت به نمونه‌های شاهد گردید. از طرفی، در میوه‌های تیمار شده با اسیدمالیک ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز نیز افزایش یافت. به عنوان نتیجه‌گیری کلی، اسید مالیک با غلظت ۴ درصد در تمامی فواصل مورد مطالعه، اثرات معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد بر بهبود فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی میوه‌های آلبالو در طی دوره انبارمانی داشته است.

کلیدواژه‌ها: تیمار، رادیکال‌های آزاد، سرمازدگی

* **نویسنده مسئول:** زهرا پاک کیش
رایانامه: Zahrapakkish@uk.ac.ir

© 2023 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقدمه

آلبالو (*Prunus cerasus*) از مهم‌ترین میوه‌های مناطق معتدله بوده و بسیار مورد پسند مردم می‌باشد. ایران از مهم-ترین و مستعدترین مناطق تولید آلبالو محسوب می‌گردد. مهم‌ترین مشخصه میوه آلبالو مربوط به رنگ، شیرینی، ترشی و سفتی است. شیرینی آلبالو ناشی از گلوکز و فروکتوز و ترشی آن ناشی از حضور اسیدهای آلی از جمله اسید مالیک است (Ferretti et al., 2010).

ضایعات پس از برداشت میوه‌ها و سبزی‌ها در کشورهای درحال توسعه در هنگام جابه‌جایی، حمل ونقل، نگهداری و فرآوری صورت می‌گیرد. میانگین ضایعات میوه‌ها و سبزی‌ها در کشورهای توسعه یافته بین ۲-۲۰ درصد و در کشورهای در حال توسعه ۲۴-۴۰ درصد گزارش شده است (Michailides and Manganaris, 2009). این بدین معنی است که در کشورهای درحال توسعه نظیر ایران در حدود یک چهارم تا نصف محصول تولیدی هرگز به دست مصرف‌کننده نمی‌رسد. بنابراین، کاهش ضایعات در میوه و سبزی برای تولیدکنندگان و مصرف کنندگان از اهمیت زیادی برخوردار است.

در طی دوره انبارمانی، تنش سرما منجر به تغییر فیزیکی در غشاء از حالت قابل انعطاف (مایع- کریستال) به یک ساختار (ژل – جامد) تبدیل می‌شود و چربی‌های غشاء در یک دمای بحرانی سخت می‌گردند و این تغییر حالت موجب ایجاد شکاف و کانال‌هایی می‌گردد که نفوذپذیری غشاء را افزایش می‌دهد، علاوه بر این، تغییر فاز غشاء موجب افزایش انرژی فعال سیستم‌های آنزیمی متصل به غشاء می‌گردد که این خود موجب آهسته شدن سرعت واکنش و عدم تعادل در سیستم‌های آنزیمی غیرمتصل به غشاء می‌گردد (Saltveit, 2000). تنش دمای پایین روی غشاء یاخته‌ای اثر گذاشته و منجر به پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود، فاکتور تنش واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون را تحریک کرده و منجر به تخریب اسیدهای چرب و یا تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال می‌شود. پراکسیداسیون چربی‌ها یک فرآیند متابولیکی است که در شرایط عادی هم روی می‌دهد (Shewfelt, 1995).

رادیکال‌های آزاد، واکنشگرهای بسیار قوی هستند که در طی تنش افزایش یافته و موجب آسیب به مولکول‌های دیگر شده و یا عملکرد آن‌ها را تغییر می‌دهند. گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از تنش‌های غیرزنده، دارای سیستم دفاعی با کارایی بالایی هستند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی کنند. این سیستم دفاعی شامل آنتی‌اکسیدان‌هایی مولکولی مانند آسکوربات، گلوتاتیون، توکوفرول و کاروتنوئیدها، اسمولیت‌ها، اسیدهای آلی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز می‌باشد (Smirnoff, 2000).

اخیراً استفاده از ترکیبات شیمیایی بمنظور کاهش ضایعات پس از برداشت و افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت در میوه‌ها در طی دوره انبارمانی مورد توجه قرار گرفته است.

اسیدهای آلی در طی دوره پس از برداشت بدلیل تبدیل شدن به قند و سایر پیش ماده‌ها از شدت آن‌ها در میوه‌ها کاسته می‌شود (Zarei et al., 2020). اسیدهای آلی یکی از منابع کربن و انرژی برای سلول‌ها در فرایند تنفس و سایر مسیرهای شیمیایی می‌باشد (da Silva, 2003). اسید مالیک یک اسید آلی شناخته شده است که با کاهش فعالیت ACC-oxidase باعث تاخیر در شروع هیدرولیز اجزای ساختاری سلول، تولید اتیلن و کاهش حساسیت به تنش می‌گردد (Kazemi et al., 2010).

اسید مالیک علاوه بر تاثیر روی متابولیسم نشاسته، افزایش مواد جامد محلول و میزان کلروفیل در طول دوره رشد، همچنین روی تنظیم فرایند بلوغ و پیری در میوه‌ها و گل‌ها نقش دارد (Darandeh and Hadavi, 2011).

کاربرد خارجی اسیدهای آلی مانند اسیدمالیک، اگزالیک و سالیسیلیک منجر به حفظ کیفیت در میوه‌ها و تحریک مقاومت به تنش‌ها می‌شود (Zheng et al., 2011). اسیدهای آلی به واسطه جلوگیری از تجمع اکسیژن وکاهش تولید پراکسید هیدروژن (Huang et al., 2013)، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (Cao et al., 2010) و افزایش در بیان پروتئین‌های مرتبط با پیری یا پروتئین‌های دفاعی (Wang et al., 2009) باعث حفظ کیفیت میوه در طول دوره انبارمانی می شوند.

اسیدهای آلی یک شاخص مفید برای تولید میوه است. زیرا آن‌ها حساسیت کمتری در برابر تغییرات در طی پروسه‌کردن و ذخیره کردن نسبت به ترکیبات دیگر در میوه‌ها دارد. آگاهی از میزان اسیدهای آلی و نسبت آن‌ها برای تعیین درصد آب میوه و همچنین تعیین ناخالصی مفید می‌باشد (Nour et al., 2010; Karadeniz, 2004). اسیدهای آلی در طی فرایند رشد میوه تجمع و در چرخه گلیکولیز و تری

کربوکسیلیک اسید نقش دارند، الگوی تغییرات اسیدهای آلی و اسیدیته با هم تضاد دارند، بطوریکه افزایش یکی همراه با کاهش دیگری است (Sha et al., 2011).

تاکنون گزارشی مبنی بر کاربرد اسید مالیک روی حفظ کیفیت و ماندگاری میوه آلبالو در طول دوره انبارمانی مشاهده نشده است. در مطالعه حاضر، تاثیر اسید مالیک روی افزایش مدت زمان نگهداری و بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های آلبالو بررسی می‌شود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

میوه‌ها از یک باغ تجاری واقع در شهر ماهان کرمان در سال ۱۴۰۱ برداشت شدند شاخص رسیدگی میوه‌ها افزایش رنگ میوه و افزایش مواد جامد محلول در نظر گرفته شد. ابتدا میوه‌ها سالم و عاری از هر گونه بیماری با آب معمولی کاملا شسته تا تمام مواد زایدی که به سطح میوه چسبیده بودند از آن جدا، سپس با آب ۳۵ درجه سانتی‌گراد شستشو تا میوه‌ها از هر نوع عامل بیماری‌زایی سطحی تمیز گردند و در نهایت میوه‌ها به طور کامل خشک و با مواد شیمیایی مورد نظر تیمار شدند. برای انجام تیمار، غلظت‌های ۰، ۲ و ۴ درصد به مدت ۵ دقیقه با روش غوطه‌ور کردن، استفاده شدند. بعد از خشک شدن و جذب شدن کامل مواد مذکور توسط میوه‌ها، آن‌ها به سردخانه منتقل و در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۸۵ درصد به مدت ۱۶ روز نگهداری شدند و به فاصله هر ۴ روز یکبار، تعدادی از میوه‌ها را از سردخانه خارج نموده و برای بررسی عمر انبارمانی و تغییرات بیوشیمیایی میوه پارامترهایی نظیر میزان خسارت سرمازدگی، آنزیم پرکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز، پروکسیدهیدروژن، پراکسیداسیون لیپیدها، نشت یونی وظرفیت آنتی‌اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

اندازه‌گیری خسارت سرمازدگی میوه‌ها

ارزیابی میزان سرمازدگی میوه‌ها هر ۴ روزی یک‌بار به مدت ۱۶ روز نگهداری در دمای پایین صورت گرفت. وجود لکه‌های قهوه‌ای رنگ به همراه فرورفتگی‌های سطح میوه به عنوان علایم سرمازدگی در نظر گرفته شد. خسارت سرمازدگی بدین صورت محاسبه گردید (Mohamadi et al., 2017).

رابطه ۱: خسارت سرمازدگی= ((تعدادکل میوه- تعداد میوه سرمازده)/ تعداد کل میوه) ×۱۰۰ - ۱۰۰

سنجش فعالیت آنزیم‌ها

تهیه عصاره پروتئینی

۰/۵ گرم از بافت تازه گیاه در ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۵) که حاوی پلی وینیل پیرولیدین (PVP) ۱درصد، EDTA ۱میلی‌مولار و PMSF ۱میلی مولار بود سائیده شد. تمام مراحل استخراج در همراهی یخ انجام گرفت. سپس عصاره ها به مدت ۲۰ دقیقه در g×20000 و در دمای ۴c سانتریفوژ شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

سنجش فعالیت کاتالاز براساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت. (Dhindsa *et al.*, 1981). براساس این روش مخلوط واکنش (۳ میلی لیتر) شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، آب اکسیژنه ۱۵ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط، واکنش شروع شد و کاهش در جذب آب اکسیژنه در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری Cary۵۰۰ ساخت شرکت varian اندازه گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیمی مقدار آنزیمی است که یک میلی مول آب اکسیژنه را در مدت یک دقیقه تجزیه کند. چون میزان فعالیت آنزیم براساس غلظت آب اکسیژنه تجزیه شده محاسبه شد، غلظت آب اکسیژنه مصرف شده با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز

در این روش مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی مولار، آب اکسیژنه ۰/۱ میلی مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات براساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب، در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه اندازه‌گیری شد برای محاسبه غلظت آسکوربات اکسید شده از ضریب خاموشی آسکوربات $2/8\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ و فرمول $A=\varepsilon bc$، استفاده شد. یک واحد فعالیت آنزیمی به عنوان مقدار آنزیمی است که ۱ میکرومول آسکوربیک اسید را در مدت ۱ دقیقه اکسید کند (Nakano and Asada, 1981).

آنزیم پراکسیداز

پس از آماده سازی عصاره پروتئینی، برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز به معرف‌های زیر نیاز است:
۲ میلی‌لیتر بافر تریس ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7/5)، ۳۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار، ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالل ۱۰ میلی‌مولار که همگی آن‌ها را در حمام یخ با هم مخلوط نموده و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه نموده و منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Kochba et al., 1977).

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

۳ میلی‌لیتر محلول واکنش شامل ۱۳ میلی‌مول متیونین، ۷۵ میکرومول نیتروبلتترازولیوم کلراید، 2 میکرومول ریبوفلاوین، ۵۰ میلی مول بافر فسفات ۵۰ میکرولیتر آنزیم استخراجی بود. واکنش با روشن کردن لامپ فلورسنت شروع گردید. محلول واکنش به مدت ۱۰ دقیقه زیر دو لامپ فلورسنت ۱۵ وات با ارتفاع ۲۰ سانتیمتر با شدت نور ۱۰۰۰ لوکس قرار داده شد و با خاموش کردن لامپها واکنش خاتمه یافت. جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. به یکی از ظروف آنزیمی اضافه نگردید و در نتیجه حداکثر رنگ ایجاد گردید. یکی از ظروف نیز تحت تابش نور قرار نگرفته و هیچ رنگی ایجاد نشده و به عنوان بلانک در نظر گرفته شد. یک واحد فعالیت SOD به عنوان مقدار آنزیم لازم برای ۵۰ درصد ممانعت از احیاء فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم کلراید در نظر گرفته شد (Giannopolities and Ries, 1977).

پراکسیداسیون لیپیدها

طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت فریزشده گیاه (ساقه و برگ) با ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره ی حاصل با استفاده از سانتریفوژ به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول روئی حاصل از سانتریفوژ، ۴ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد در حمام آبگرم حرارت داده شده سپس بلافاصله در یخ سرد شد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل Varian Cary50 (ساخت آلمان) در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده‌ی مورد نظر برای جذب در این طول موج، کمپلکس قرمز MDA-TBA است. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی درطول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155\ mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب نانومول بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید (Heath and Packer, 1969).

پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

نمونه‌های گیاهی در حمام یخ با تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد سائیده شدند. عصاره در سانتریفوژ یخچال‌دار (Centrifuge 5804R, Germany از شرکت Eppendorf) در ۱۰۰۰۰ g برای ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس ۰/۵ میلی-لیتر از محلول رویی به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفلت پتاسیم ۱۰ میلی مولار (pH ۷)و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار اضافه گردید و جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. مقدار پراکسید هیدروژن در هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی $0/28\ M^{-1}cm^{-1}$ محاسبه شد و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گزارش گردید (Velikova et al., 2000).

اندازه‌گیری میزان نشت یونی

۰/۵ گرم از بافت میوه داخل ۱۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر شده قرار گرفت. بعد از آن نمونه به مدت ۳۰ دقیقه داخل آب ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و میزان هدایت الکتریکی (نشت ابتدایی) هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد. سپس نمونه به مدت ۱۵ دقیقه داخل حمام بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه قرار داده شده و برای بار دوم میزان هدایت الکتریکی (نشت نهایی) اندازه‌گیری و درصد نشت یونی از رابطه ذیل محاسبه شد (Sairam, 1994).
رابطه ۲:

درصد نشت یونی = نشت ابتدایی/ نشت نهایی×۱۰۰

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از سنجش پاکسازی رادیکال آزاد (DPPH) (۲ و ۲- دی فنیل پیکریل هیدرازیل) ارزیابی شد (Kontogiorgis and Hadjipavlou-Litina, 2005). برای این منظور، ۵۰ میکرولیتر از عصاره داخل میکروتیوپ ریخته شد. سپس ۹۵۰ میکرولیتر محلول ۰/۱ نرمال DPPH به آن اضافه شد. شاهد و بلانک نیز به‌ترتیب با یک میلی‌لیتر محلول ۰/۱ نرمال) DPPH در متانول و یک میلی‌لیتر حلال استخراج آماده شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه

در شرایط تاریکی و دمای اتاق، جذب شاهد و نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. با قرار دادن جذب مربوط به شاهد و نمونه در رابطه ذیل، درصد جمع‌آوری رادیکال آزاد به دست آمد.

رابطه ۳: $\%DPPH= (A_{cont} - A_{samp})\backslash A_{cont} \times 100$

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و مقایسه میانگین اثرات متقابل توسط نرم‌افزار MSTATC ا نجام گرفت. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel ترسیم شد.

نتایج و بحث

خسارت سرمازدگی

نتایج حاصل از مقایسه میانگین خسارت سرمازدگی نشان می‌دهد که در میوه‌های شاهد با افزایش مدت زمان انبارمانی خسارت سرمازدگی افزایش پیدا کرده است. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان خسارت سرمازدگی در طی ۱۶ روز از زمان انبارمانی مشاهده گردیده است. اسید مالیک روی درصد سرمازدگی در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار بود. به‌طوری‌که اسید مالیک منجر به کاهش سرمازدگی در میوه‌های آلبالو گردیده است، به‌طوری‌که کم‌ترین میزان سرمازدگی در میوه‌های تیمار شده با اسیدمالیک ۴ درصد در در تمامی فواصل اندازه‌گیری شده، دیده شده است (شکل ۱ با گذشتن ۱۶ روز از شروع انبارمانی کاربرد اسید مالیک ۴ درصد باعث کاهش خسارت سرمازدگی ۱۸ درصدی نسبت به شاهد با خسارت سرمازدگی ۵۰ درصدی شده است.

پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدها

با افزایش مدت زمان انبارمانی تولید گونه‌های فعال اکسیژن از جمله پراکسیدهیدروژن و همچنین پراکسیداسیون لیپیدها افزایش یافته است. در فواصل طی زمان انبارمانی زمانی از شروع انبارمانی کاربرد اسید مالیک با هر دو غلظت منجر به کاهش در میزان پراکسیدهیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدها شده است. به‌طوری‌که کم‌ترین میزان پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدها در میوه های تیمار شده با اسیدمالیک ۴ درصد در ۱۶ روز بعد از انبارمانی دیده شده است (شکل۲ و ۳). میزان پراکسیدهیدروژن در پایان انبارمانی

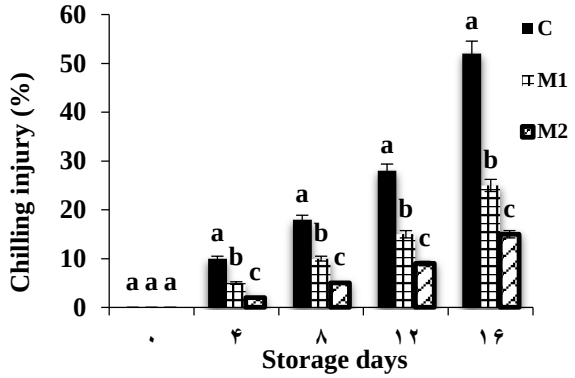

Fig 1. Effect of different concentrations of malic acid on the percent of chilling injury in sour cherry fruit during storage. C: Control, M1: 2% Malic acid, M2: 4% Malic acid

انبارمانی به‌طور معنی داری در سطح آماری ۵ درصد در میوه-های تیمار شده با اسید مالیک ۴ درصد (۱۰ درصد) نسبت به میوه‌های شاهد ۵۰ درصد کاهش یافته است. میزان پراکسیداسیون لیپیدها نسبت به میوه‌های تیمار شده با بیش-ترین غلظت اسید مالیک نیز کاهش ۴۰ درصدی نسبت به میوه های شاهد داشته است.

نشت یونی

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که گذشت زمان در میوه‌های آلبالو رقم مجاری منجر به افزایش در نشت‌یونی شده است. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان نشت یونی در میوه‌های شاهد در روز ۱۶ از انبارمانی بود. این در حالی می‌باشد که کاربرد اسیدمالیک منجر به کاهش در نشت-یونی شده و اسید مالیک ۴ درصد منجر به کم‌ترین میزان نشت یونی در میوه‌ها شده است (شکل ۴).

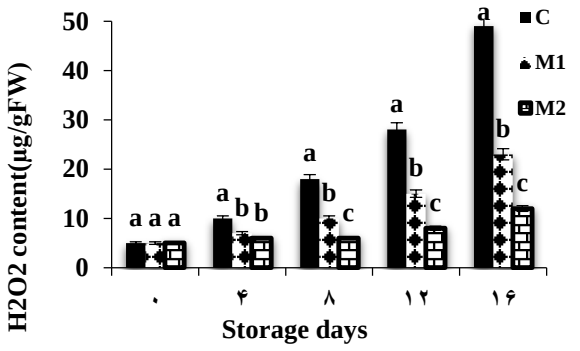

Fig 2. Effect of different concentrations of malic acid on the amount of H_2O_2 in sour cherry fruit during storage. C: Control, M1: 2% Malic acid, M2: 4% Malic acid

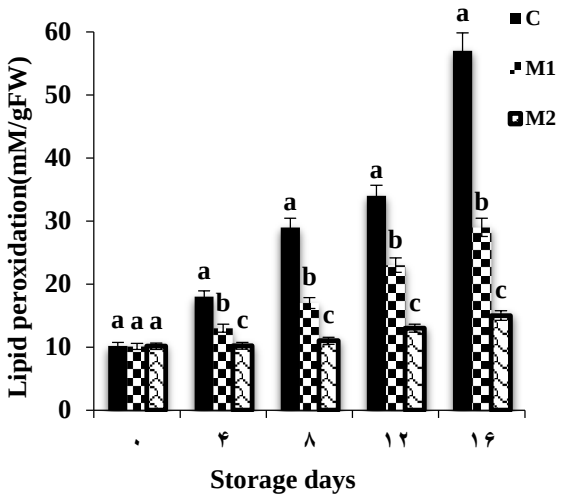

Fig 3. Effect of different concentrations of malic acid on the amount of lipid peroxidation in sour cherry fruit during storage. C: Control, M1: 2% Malic acid, M2: 4% Malic acid

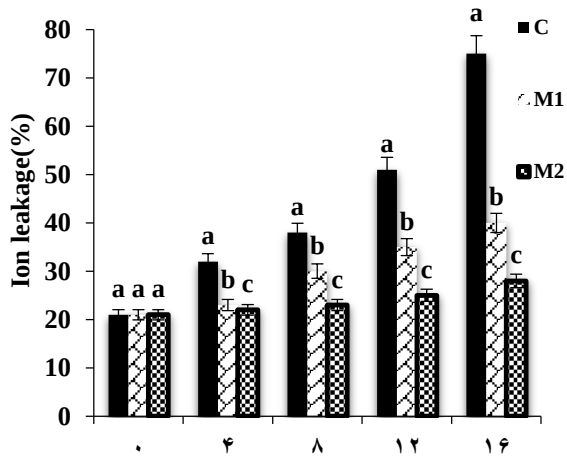

Fig 4. Effect of different concentrations of malic acid on the amount of ion leakage in sour cherry fruit during storage. C: Control, M1: 2% Malic acid, M2: 4% Malic acid

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

مقایسه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل آسکوربات پراکسیداز (شکل ۵)، کاتالاز (شکل ۶)، سوپر اکسیددیسموتاز (شکل ۷) و پراکسیداز (شکل ۸) در میوه‌های آلبالو نشان داد که در زمان شروع انبارمانی تفاوت معنی‌داری بین میوه‌های تیمار شده و نشده وجود ندارد. با گذشت زمان میزان فعالیت این آنزیم‌ها در میوه‌های تیمار شده با اسید مالیک در سطح آماری ۵ درصد افزایش یافته است. به‌طوری‌که در تمامی فواصل زمانی بیش‌ترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها مربوط به اسید مالیک ۴ درصد می باشد.

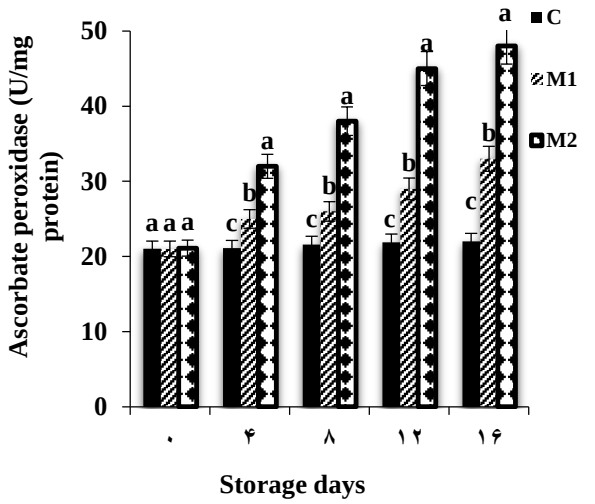

Fig 5. Effect of different concentrations of malic acid on the amount of ascorbate peroxidase in sour cherry fruit during storage. C: Control, M1: 2% Malic acid, M2: 4% Malic acid

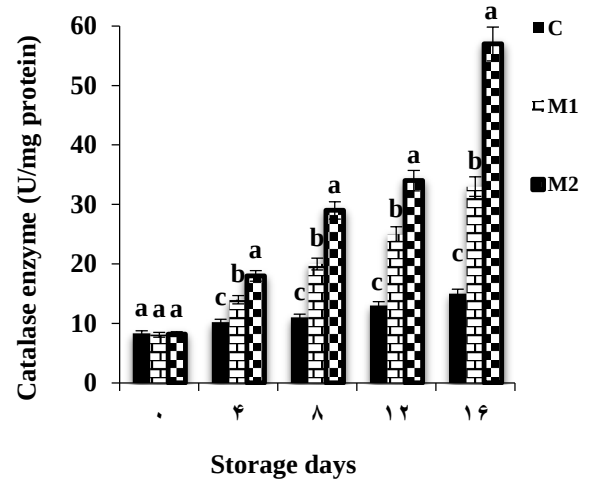

Fig 6. Effect of different concentrations of malic acid on the amount of catalase in sour cherry fruit during storage. C: Control, M1: 2% Malic acid, M2: 4% Malic acid

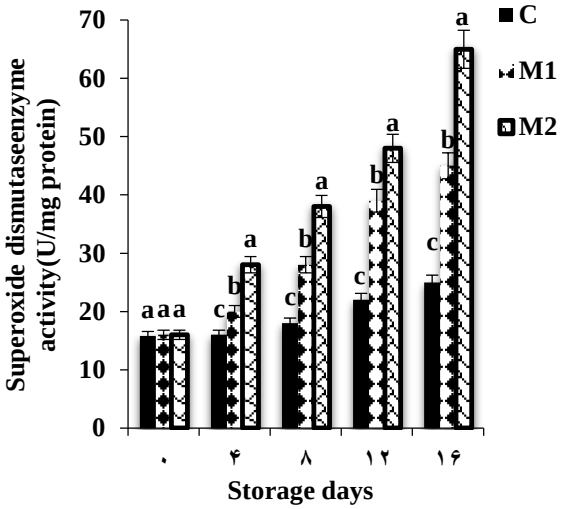

Fig 7. Effect of different concentrations of malic acid on the amount of superoxide dismutase in sour cherry fruit during storage. C: Control, M1: 2% Malic acid, M2: 4% Malic acid

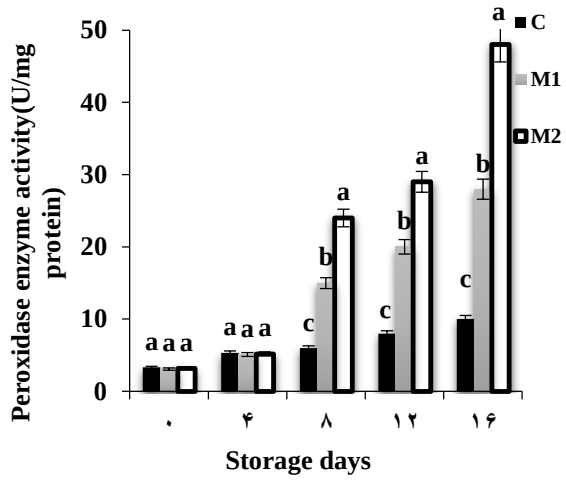

Fig 8. Effect of different concentrations of malic acid on the amount of peroxidase in sour cherry fruit during storage. C: Control, M1: 2% Malic acid, M2: 4% Malic acid

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج حاصل از شکل ۹ نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های تیمار شده با اسیدمالیک نسبت به میوه‌های شاهد افزایش یافته است. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تمامی زمان‌های اندازه‌گیری شده مربوط به میوه‌های تیمار شده با اسید مالیک ۴ درصد در سطح آماری ۵ درصد نسبت به سایر میوه‌ها افزایش یافته است (شکل ۹).

بحث

توجه به مسائل پس از برداشت در میوه‌ها ضروری است و با رعایت نکات فنی، از ایجاد ضایعات در محصولات جلوگیری نموده و یا آن را به حداقل ممکن رساند. سالانه میزان زیادی از محصولات باغی در کشور، بر اثر عدم توجه صحیح به نکات انبارمانی از بین می‌روند. اگر اصول صحیح انبارمانی رعایت نشود نه تنها کیفیت محصول حفظ نمی‌شود، بلکه خسارت‌هایی نظیر سرمازدگی و حمله عوامل بیماری‌زا، افزایش می‌یابد که به دنبال آن، ضرر زیادی متوجه باغدار می‌گردد. در تحقیق حاضر از اسیدمالیک به‌منظور کاهش ضایعات و افزایش کیفیت در پس از برداشت آلبالو رقم مجاری استفاده گردیده است. در طی دوره انبارمانی میزان خسارت سرمازدگی، پراکسیدهیدروژن، پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی افزایش یافته است. این در حالی است که تیمار میوه‌های آلبالو با اسیدمالیک منجر به کاهش در میزان این صفات گردیده است.

گزارش‌ها نشان داد که در میوه‌های موز تیمار شده با اسیدمالیک در طول دوره نگهداری کم‌ترین میزان خسارت سرمازدگی مشاهده شد (Huang et al., 2016) که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. در واقع علت اصلی سرمازدگی آسیب به غشا یاخته‌های گیاهی است و تغییر حالت فیزیکی غشاها منجر به بروز فرآیندهای فیزیولوژیکی می‌شود (Saltveit, 2000).

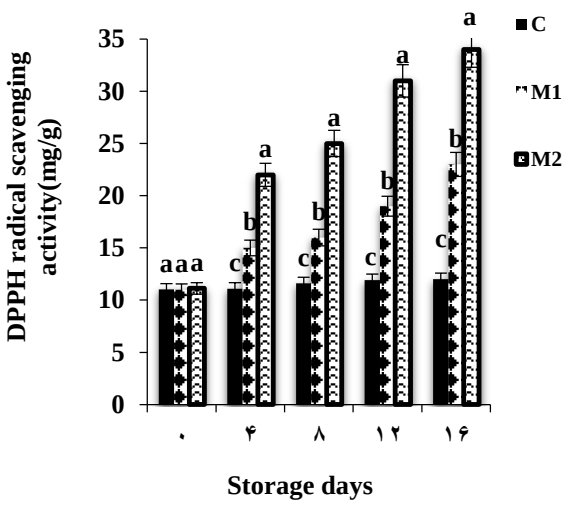

Fig 9. Effect of different concentrations of malic acid on the amount of DPPH in sour cherry fruit during storage. C: Control, M1: 2% Malic acid, M2: 4% Malic acid

تنش اکسیداتیو منجر به افزایش در تولید گونه‌های فعال اکسیژن از جمله پراکسیدهیدروژن می‌شوند. این گونه‌ها باعث خسارت به کلروپلاست، میتوکندری و آپوپلاست در طی تنش دمای پایین می‌شوند (Gill and Tuteja, 2010). میوه‌های تیمار شده با اسیدمالیک به طور معنی‌داری کم‌ترین میزان پراکسیدهیدروژن را نسبت به میوه‌های شاهد دارند و میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا را کاهش می‌دهد (Van Breusegem and Dat, 2006). اسید مالیک می‌تواند بعنوان منبع ذخیره کربن در پاسخ به خسارت‌های فتوسیستمی که توسط دمای پایین ایجاد شده‌اند، باشند (Fu et al., 2009). کاربرد اسید مالیک در هر دو غلظت منجر به افزایش در فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی در آلبالو شده است.

به منظور خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن یک سری از سیستم‌ها در گیاه فعال می شود که در میان آن‌ها می توان به سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی اشاره کرد. بین مقاومت به تنش‌ها و آنتی‌اکسیدان کل در گیاهان ارتباط مستقیمی وجود دارد و در چندین گونه گیاهی شامل گندم و کتان و در برخی از گونه‌های میوه از جمله مرکبات به اثبات رسیده است (Turkam and Demiral, 2009; Dabrowska et al., 2007). آنتی‌اکسیدان‌ها از تخریب مولکول‌های زیستی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها جلوگیری می‌کنند (Hassanpour et al., 2017).

کاربرد ترکیبات شیمیایی می‌تواند منجر به افزایش در ترکیبات درونی و فعالیت‌های آنزیمی در گیاهان شوند. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های آلبالو رقم مجارستانی تیمار شده با اسید مالیک در مقایسه با میوه‌های شاهد افزایش یافته است. اسید مالیک به عنوان یک اسمولیت عمل کرده و منجر به افزایش در میزان و حفظ ترکیبات شیمیایی و فعالیت سیستم‌های دفاعی را در گیاهان افزایش می‌دهد (Keykhosravy et al., 2015). متابولیسم اسیدهای آلی در سلول‌ها منجر به تولید انرژی، تشکیل پیش نیازها برای بیوسنتز آمینو اسیدها و در کل باعث تنظیم تعادل به شرایط محیطی می‌باشند. مالیک و سیتریک اسید در میتوکندری از طریق چرخه کربس یا تری‌کربوکسیلیک اسید سنتز می‌شود. اسیدهای آلی نقش تنظیم اسمزی داشته و باعث تعادل در تجمع بیش از حد آنیون‌های مانند نیترات دارند (Lopez-Bucio et al., 2000).

نتیجه‌گیری

میوه آلبالو به دلیل نافرازگرا بودن، عمر پس از برداشت کمی دارد و همچنین حساس به صدمات مکانیکی می‌باشد. اخیرا استفاده از اسیدهای آلی منجر به بهبود و حفظ صفات شیمیایی و بازار پسندی در میوه‌ها شده است. احتمالاً همین خاصیت محافظ اسمزی در اسید مالیک منجر به حفظ ثبات پروتئین‌ها، ثبات غشاها، منبع ذخیره کربن و نیتروژن برای رشد بعد از رفع تنش، کاهش خطرات حاصل از تولید گونه‌های فعال اکسیژن، جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و افزایش در سیستم‌های دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی نقش دارد.

سپاس‌گزاری

نویسندگان مقاله از همکاران بخش باغبانی دانشگاه شهید باهنر کرمان به دلیل حمایت‌های صورت گرفته تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

Cao, S., Zhen, Y., Wang, K., Rui, H., & Tang, S. (2010). Effect of methyl jasmonate on cell wall modification of loquat fruit in relation to chilling injury after harvest. *Food Chemistry,* 118, 641–647.

Da Silva J.A.T. (2003). The cut flower: postharvest considerations. *Journal of Biological Sciences*, 4, 406–442.

Dąbrowska, G., Kata, A., Goc, A., Szechyńska-Hebda, M., & Skrzypek, E. (2007). Characteristics of the plant ascorbate peroxidase family. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 49, 7–17.

Darandeh, N., & Hadavi, E. (2011). Effect of pre-harvest foliar application of citric acid and malic acid on chlorophyll content and post-harvest vase life of *Lilium* cv. *Brunello. Front. Plant Science,* 2.

Dhindsa, R.A., Plumb-Dhindsa, P., & Thorpe, P.A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased permeability and lipid peroxidation, and decreases levels of Superoxide dismutase and catalase. *The Journal of Experimental Botany,* 126, 93-101.

Ferretti, G., Bacchetti, T., Belleggia, A., & Neri, D. (2010). Cherry Antioxidants: From Farm to Table. *Molecules*, 15, 6993-7005.

Fu, Z.Y., Zhang Z.B., Hu, X.J., Shao, H.B., & Ping, X. (2009). Cloning, identification, expression analysis and phylogenetic relevance of two NADP-dependent malic enzyme genes from hexaploid wheat. *Comptes Rendus Biologies*, 332, 591–60.

Giannopolities, C.N., & Ries, S.K. (1977). Superoxide dismutase. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 59, 309–314

Gill, S.S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology Biochemistry*, 48, 909–930.

Hassanpour, H., Bisti, A., & Nojavan, S. (2017). Effect of Postharvest Treatment of Gamma-Amino Butyric Acid on Some Biochemical and Antioxidant Properties of Sweet Cherry cv. *Tak Daneyeh Mashhad. Plant Production*, 4, 67-78. [In Persian]

Heath, R.L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast I. kinetics and stoichiometry of fatty acids peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198

Huang, H., Jing, G., Guo, L., Zhang, D., Yang, B., Duan, X., Ashraf, M., & Jiang, Y. (2013). Effect of oxalic acid on ripening attributes of banana fruit during storage. *Postharvest Biology Technology*, 84, 22–27.

Huang, H., Jian, Q., Jiang, Y., Duan, X., & Qu, H. (2016). Enhanced chilling tolerance of banana fruit treated with malic acid prior to low-temperature storage. *Postharvest Biology Technology*, 111, 209–213.

Karadeniz, F. (2004). Main organic acid distribution of authentic *citrus* juice in turkey. *The Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 28, 267-271.

Kazemi, M., Hadavi, E., & Hekmati, J. (2012). Effect of salicylic acid, malic acid, citric acid and sucrose on antioxidant activity, membrane stability and ACC-Oxidase activity in relation to vase life of carnation cut flowers. *Journal of Agriculture Technology*, 8(6), 2053-2063.

Keykhosravy, K., Jebelli Javan, A., & Parsaiemehr, M. (2015). Effect of malic acid on bioactive components and antioxidant properties of sliced button mushroom (*Agaricus bisporus*) during storage. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 9, 287-294.

Kochba, J., Lavee, S., & Spiegel-Roy, P. (1977). Differevces in peroxidase activity and isoenzymes in embryogenic and non-embryogenic shamouti orange ovular callus lines. *Plant and Cell Physiology,* 18, 463-497.

Kontogiorgis, C., & Hadjipavlou-Litina, D. (2005). Biological evaluation of several coumarin derivatives designed as possible anti-inflammatory antioxidant agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(20), 6400-6408.

Michailides, T.J., & Manganaris, G.A. (2009). Harvesting and handling effects on postharvest decay. *Stewart Postharvest Review*, 2(3), 1-7.

Mohamadi, H., Pakkish, Z., & Saffari, V.R. (2017). Effect of methyl jasmonate and salicylic acid postharvest treatments to reduce biochemical changes on peach fruit during storage. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 29, 896-907. [In Persian]

Nakano, Y., & Asado, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 22(5), 867-880.

Nour, V., Trandafir, I., & Ionica, M.E. (2010). HPLC Organic acid analysis in different Citrus juice under reversed phase conditions. *Note Botanical and Hortic Agrobotanic*, 38, 44-48.

Sairam, R.K. (1994). Effect of moisture stress on physiological activities of two contrasting wheat genotypes. *Indian Journal of Experimental Biology,* 32, 584-593.

Saltveit, M.E. (2000). Chilling injury is reduced in cucumber and rice seedlings and in tomato pericarp discs by heat-shocks applied after chilling. *Postharvest Biology and Technology,* 21, 169–177.

Sha, S.F., Li, J.C., & Zhang, S.L. (2011). Change in the organic acid content and releted metabolic enzyme activities in developing Xinping pear fruit. *African Journal of Agricultural Research*, 6, 3560-3566.

Shewfelt, R.L., & Purvis, A.C. (1995). To ward a comprehensive model for lipid peroxidation in plant tissue disorders. *Horticulture Science,* 30, 213-218.

Smirnoff, N. (2000). Ascorbic acid: metabolism and function of a multi-facetted molecule. *Current Opinion in Plant Biology,* 3, 229-235.

Turkan, I., & Demiral, T. (2009). Recent developments in understanding salinity tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1), 2-9

Van Breusegem, F., & Dat, J.F. (2006). Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiology*, 141, 384–390.

Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science,* 151, 59-66.

Wang, Q., Lai, T., Qin, G., & Tian, S. (2009). Response of jujube fruits to exogenous oxalic acid treatment based on proteomic analysis. *Plant Cell Physiology,* 50, 230–242

Zheng, X., Ye, L., Jiang, T., Jing, G., & Li, J. (2011). Limiting the deterioration of mango fruit during storage at room temperature by oxalate treatment. *Food Chemistry*, 130, 279–285

Zarei, L., Koushesh Saba, M., & Vafai, Y. (2020). Effect of Gamma-Amino-Butyric Acid (GABA) Foliar Application on Chilling and Postharvest Quality of Tomato (cv. Newton). *Plant Production*, 43, 199-212. [In Persian]