Archive of SID

تاثیر اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک بر ماندگاری آریل‌های انار

فاطمه عزیزی[۱]، جواد عرفانی مقدم[۲]، اورنگ خادمی[۳*]، خشنود نورالهی[۴]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه باغبانی دانشگاه ایلام

۲- استادیار گروه باغبانی دانشگاه ایلام

۳- استادیار گروه باغبانی دانشگاه شاهد، تهران

٤- استادیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه ایلام

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۵/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۰٦)

چکیده

به منظور افزایش عمرقفسه‌ای آریل‌های انار از اسید اگزالیک و اسید آسکوربیک با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار استفاده شد. آریل‌ها به مدت پنج دقیقه در تیمارهای فوق غوطه‌ور شده و پس از خشک شدن در دمای آزمایشگاه، در درون ظروف پلی‌اتیلنی با استفاده از پوشش سلوفان بسته‌بندی و به دمای چهار درجه سانتیگراد منتقل شدند. برخی صفات کیفی، کمی و بیوشیمیایی نمونه‌ها، در زمان‌های هفت و ١٤ روز بعد از انبارداری مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد تفاوت معنی‌داری بین تیمارها در اکثر صفات مورد ارزیابی وجود دارد. آریل‌های تیمار شده با اسید اگزالیک و اسید آسکوربیک در مقایسه با شاهد دارای کاهش وزن و درجه سرمازدگی کمتری بوده و دارای کیفیت و بازارپسندی مطلوبی بودند. تیمارهای اسید اگزالیک و اسید آسکوربیک موجب کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و مقدار فنل کل گردید در حالی که مقدار ویتامین ث، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های تیمارها در مقایسه با شاهد بالاتر بود. نتایج کلی نشان داد ترکیبات اسید آلی باعث کاهش تخریب آریل انار در زمان نگه‌داری در سردخانه شده و به عنوان تیمارهایی مناسب برای حفظ کیفیت پس از برداشت آریل انار می‌باشند.

کلید واژگان: آریل، اسید آلی، بازارپسندی، پلی‌فنل اکسیداز، سرمازدگی

*مسئول مکاتبات: o.khademi@shahed.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه

انار (*Punica granatum* L.) متعلق به خانواده Punicaceae و یکی از قدیمی‌ترین میوه‌های خوراکی شناخته شده در جهان می‌باشد. انار بومی ناحیه ایران و شمال هند بوده و به طور وسیعی در کشورهای مدیترانه‌ای، چین، ژاپن و روسیه کشت و کار می‌شود [۱]. امروزه عرضه انار به صورت آریل و آماده مصرف، راهکاری مناسب برای دستیابی به بهره‌وری اقتصادی و سود تجاری از میوه انار بویژه انواعی که ظاهر آنها دچار صدمه شده است می‌باشد. به طور کلی، مشکلات عمده پس از برداشت آریل‌های انار شامل از دست دادن رنگ، قهوه‌ای شدن آنزیمی، آلودگی میکروبی و از دست رفتن خصوصیات خوراکی می‌باشد که می‌بایست توسط روشهای مناسب رفع شوند [۲].

واکنش قهوه‌ای شدن در میوه‌ها و سبزی‌ها توسط فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و با اکسیداسیون ترکیبات فنلی رخ می‌دهد [۲]. ممانعت از واکنش قهوه‌ای شدن بطور قابل توجهی بوسیله مواد شیمیایی مختلف، شامل اسید آسکوروبیک، اسیدهای آلی و سولفیت‌ها صورت می‌گیرد. از میان این ترکیبات، سولفیت‌ها موثرترین بازدارنده واکنش قهوه‌ای شدن هستند ولی از نظر سلامتی، استفاده از آنها مورد تردید می‌باشد و در این زمینه استفاده از اسیدهای آلی از قبیل اسید اگزالیک و اسید سیتریک رو به افزایش است [۳]. اسید اگزالیک به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی نقش مهمی در ممانعت از فعالیت آنزیم‌های اکسید کننده و رشد عوامل میکروبی روی سطح برش خورده محصولات تازه بریده دارد [٤]. در پژوهشی تاثیر کاربرد اسیدهای آلی (سیتریک و اگزالیک) به صورت محلول‌پاشی روی میوه‌های انار مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که اسید سیتریک و اگزالیک باعث افزایش عمر انار و جلوگیری از یخ زدگی آنها در زمان پس از برداشت شد [٥]. اخیرا نیز نشان داده شده است که اسید اگزالیک یک ماده ضد پیری برای انبه و هلو و ضد قهوه‌ای شدن برای میوه لیچی می‌باشد. اگرچه فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها با پیشرفت پیری کاهش می‌یابد ولی سیستم آنتی‌اکسیدانی موثر می‌تواند در تاخیر پیری در میوه‌های برداشت شده سهیم باشد. در گیاهان, کاربرد برخی تیمارهای شیمیایی مانند اسید اگزالیک باعث افزایش در فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌گردد و می‌تواند پیری را به تاخیر اندازد [٤، ٦، ٧]. مطالعات متعددی بر روی غلظت‌های متفاوت اسید اگزالیک به‌عنوان تیمار ضد قهوه‌ای در قطعات برش خورده سیب [۸]، موز [۹] و لیچی [٤] انجام شده است و نتایج همه این تحقیقات نشان داد که اسید اگزالیک بعنوان عامل مهار کننده موثر در قهوه‌ای شدن بکار می‌رود. در پژوهش‌های دیگر اسید اگزالیک در انبه [٦]، هلو [۷]، عناب [۱۰] و موز [۱۱] نیز با ممانعت از توسعه پاتوژن‌ها و بروز واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی سبب حفظ کیفیت ظاهری میوه گردیده است. در پژوهشی دیگر کاربرد اسید اگزالیک به طور معنی‌داری آسیب سرمازدگی در میوه انار را بعد از انبارداری طولانی (۸٤ روز) در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد کاهش داد. نتایج این گزارش نشان داد اثرات ضد پیری و ضد استرس ممکن است در ارتباط با تنظیم سیگنال آنتی‌اکسیدان و اتیلن به‌وسیله اسید اگزالیک باشد [۱۲].

اسید آسکوربیک در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی در موجودات زنده نقش دارد. اسید آسکوربیک یک اسید آلی ضعیف و جزء طبیعی بافت بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات تازه بوده و تا حدود زیادی برای سلامتی انسان مفید می‌باشد. از اسیدهای آلی به عنوان یک کاهنده فعالیت میکروبی در برنامه‌های غذایی استفاده می‌شود که بیشتر به دلیل کاهش pH مناسب فعالیت باکتریها در سطح سلول می‌باشد [۱۲]. همچنین مشخص شده است که اسید آسکوربیک داری نقش آنتی اکسیدانی بوده و موجب تحریک برخی واکنش‌های بیوشیمیایی می‌شود. به عنوان مثال اسید آسکوربیک موجب بازگشت کوئینون به دی‌فنل در طی فرایند قهوه‌ای شدن آنزیمی می‌گردد [۱۳]. در تحقیقی که توسط گیل و همکاران [۱٤] بر روی اسلایس‌های سیب انجام شد، تاثیر اسید آسکوربیک در کاهش قهوه‌ای شدن، تولید اتیلن و سرعت تنفس در برش‌های سیب به اثبات رسید. در این تحقیق افزایش غلظت اسیدهای آلی و به خصوص اسیدآسکوربیک باعث افزایش آنتی اکسیدانت‌های کل گردید و بیانگر این است که اسیدهای آلی هم می‌توانند تشکیل دهنده قسمتی از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها باشند [۱٤]. در پژوهشی، غوطه‌وری آریل انار در محلول اسید آسکوربیک به همراه چیتوزان سبب افزایش معنی‌دار در انبارمانی به مدت ۲۸ روز و جلوگیری از فسادپذیری سریع آریل‌های انار شده است. نتایج این محققین نشان داده پوشش اسید آسکوربیک-چیتوزان از طریق کاهش بار میکروبی و جلوگیری از قهوه‌ای شدن بافت در حفظ کیفیت آریل در طول

www.SID.ir

Archive of SID

دوره نگه‌داری موثر بوده است [۱۵]. نتایج گزارشی دیگر نشان داد اسید آسکوربیک دارای اثرات بازدارندگی در قهوه‌ای شدن قطعات هویج‌های برش خورده می‌باشد [۱٦].

امروزه عرضه میوه‌ها به صورت آماده مصرف (ready to use) از ارزش اقتصادی بالایی برخوردار می‌باشد، ولی میوه برش خورده معمولا در پس از برداشت و زمان نگه‌داری دچار قهوه‌ای شدن آنزیمی شده و با حمله عوامل بیماری‌زا مواجه می‌شوند. با این حال در بیشتر کشورهای توسعه یافته و یا حتی کشورهای در حال توسعه محصولات مهم میوه‌ای به صورت آماده مصرف عرضه می‌شود، در ایران عرضه محصول به صورت بریده شده چندان رواج ندارد ولی گسترش عرضه محصولات به صورت آماده مصرف حداقل به منظور صادرات بر ارزش افزوده محصولات تولید شده خواهد افزود. از این رو با توجه به تاثیر مثبت تیمارهای اسید اگزالیک و اسید آسکوربیک در کاهش عوامل میکروبی، ممانعت از قهوه‌ای شدن آنزیمی و به تعویق انداختن پیری محصولات تازه خوری، اثر این تیمارها روی افزایش عمر قفسه‌ای آریل انار مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد گیاهی و تیمارهای مورد بررسی

در این پژوهش میوه انار رقم'ملس ساوه' از یک باغ تجاری واقع در اطراف شهر ایلام در مرحله رسیدگی کامل برداشت و به آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه ایلام منتقل و آریل‌ها از پوست جداسازی شدند. تیمارهای اعمال شده در این پژوهش، شامل آب مقطر به عنوان شاهد، اسید اگزالیک و اسید آسکوربیک در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار بودند. پس از تهیه غلظت‌های مورد نظر، ۱۸۰۰ گرم آریل در مدت ۵ دقیقه در هر یک از تیمارها غوطه‌ور و پس از آن در دمای اتاق خشک شدند و سپس نمونه‌های هر تیمار به طور مساوی در ٦ ظروف پلی‌اتیلنی تقسیم بندی شده و توسط پوشش سلوفان بسته‌بندی شدند. آریل‌های بسته‌بندی شده در دمای چهار درجه سانتیگراد انبار شده و در زمانهای ۷ و ۱٤ روز پس از انبار تعداد سه بسته از هر تیمار به عنوان سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند.

۲-۲- صفات مورد ارزیابی

در این پژوهش صفات درصد کاهش وزن، درجه سرمازدگی، تعداد کلونی باکتری، آزمون پانل، مقدار مواد جامد محلول، درصد اسید قابل تیتر، شاخص طعم، مقدار فنل کل، مقدار آنتوسیانین، مقدار ویتامین ث، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در پایان هر دوره اندازه‌گیری شدند. درصد کاهش وزن با اندازه گیری وزن هر یک از بسته‌ها بدون پوشش سلوفان قبل و بعد از انبارداری محاسبه شد، درجه سرمازدگی به صورت نمره دهی در محدوده ۱ تا ۵ نمره دهی شد.

برای تعیین میزان باکتری‌های موجود در سطح آریل انار، یک گرم نمونه به طور تصادفی از سطح انار توسط تیغ تیز استریل برداشته شده و درون هاون چینی دارای ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به خوبی همگن گردید. سپس یک میلی‌لیتر از این عصاره با آب مقطر استریل به حجم ۱۰۰۰ سی‌سی رسانده شد. یک قطره از سوسپانسیون تهیه شده درون محیط کشت نوترینت آگار (۲/۸٪) با کمک سوآپ به طور همگن پخش و با پارافیلم درب محیط کشت برای جلوگیری از ورود آلودگی بسته شد. پتری‌های کشت شده به مدت ۲٤ ساعت در دمای C ۲۵° در اتاقک رشد نگهداری شدند. سپس تعداد کلونی موجود در آنها شمارش گردید.

بعد از عصاره گیری آریل، مواد جامد محلول توسط دستگاه رفراکتومتر دستی، اسیدیته قابل تیتراسیون با تیتر نمودن عصاره توسط سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH نهایی ۸/۲ به دست آمد. برای استخراج فنل یک گرم آریل با ۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی سرد هموژن گردید و محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ٤ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ گردید. محلول رویی جمع‌آوری و مقدار فنل با استفاده از معرف سیوکالتوآ و بر اساس منحنی استاندارد حاصل از اسید گالیگ محاسبه شد. میزان جذب نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه طیف سنجی اندازه گیری شده و ترکیبات فنل کل به صورت میلی‌گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم وزن تازه گزارش شد [۱۷].

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت میوه از طریق خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH تعیین شد. برای این منظور یک گرم از بافت میوه بوسیله نیتروژن مایع در داخل هاون چینی پودر و سپس توسط ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره گیری شد. عصاره حاصل در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شده و سپس ۱۰ میکرولیتر عصاره متانولی به ۱۹۰۰ میکرولیتر محلول DPPH یک مولار اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. سپس میزان جذب نمونه‌ها در ۵۱۵ نانومتر قرائت و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH براساس رابطه ۲-۱ محاسبه شد [۱۸].

$$DPPHsc = (1-(Asam/ Acon)) \times 100$$

در این رابطه DPPHsc درصد بازدرندگی، Asam میزان جذب (DPPH+ نمونه) و Acon میزان جذب DPPH می‌باشد.

برای اندازه گیری مقدار آنتوسیانین‌ها در تیمارهای مختلف از روش اختلاف pH استفاده شد [۱۹]. برای اندازه گیری میزان اسید آسکوربیک (ویتامین ث) از روش تیتراسیون با محلول دی‌کلروفنل‌ایندوفنل استفاده شد [۲۰]. فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در این تحقیق اندازه‌گیری شد [۲۱]. برای این منظور یک گرم از از بافت میوه با ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات مخلوط گردید، سپس مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره روشناور با ۲/۵ میکرولیتر بافر فسفات دارای ۵۰ میلی مولار کاتکول مخلوط گردید و منحنی تغییرات جذب در طول موج ٤۲۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه اندازه گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیمی به صورت ۰/۰۱ تغییر در جذب در نظر گرفته شد.

۲-۳- تجزیه آماری

آزمایش بصورت فاکتوریل ۲×۵ بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا گردید. فاکتور اول شامل تیمارهای اعمال شده و فاکتور دوم زمان‌های بررسی (۷ روز و ١٤ روز) در نظر گرفته شد. تجزیه داه‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۲) صورت گرفت. برای مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد.

۳- نتایج

نتایج این بررسی نشان داد که اثر تیمارهای استفاده شده بر تمامی صفات کمی و کیفی مورد بررسی به غیر از شاخص طعم معنی‌دار شد. اثر زمان بررسی نیز بر شاخص‌های کاهش وزن، درجه سرمازدگی، کلونی باکتری، مقدار مواد جامد محلول، اسید قابل تیتر، شاخص طعم، ظرفیت آنتی‌اکسیدان و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز معنی‌دار ولی بر مقدار آنتوسیانین، مقدار فنل و ویتامین ث معنی‌دار نشد (جدول ۱). اثر برهمکنش بین تیمار و زمان بر هیچ یک از شاخص‌های مورد بررسی معنی‌دار نشد. بر اساس نتایج آزمایش، نمونه‌های شاهد به طور معنی‌داری دارای درصد کاهش وزن بیشتری در مقایسه با سایر تیمارها بودند در حالی که بین تیمارهای بررسی شده اختلاف معنی‌داری از نظر کاهش وزن آریل مشاهده نشد (جدول ۲). تیمارهای اسیداگزالیک و اسیدآسکوربیک در هر دو غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌مولار، بدون اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر دارای درجه سرمازدگی کمتری در مقایسه با شاهد بودند و اختلاف معنی‌داری بین آنها با شاهد مشاهده شد (جدول ۲). تعداد کلونی باکتری در تیمار شاهد به مقدار ۳۵۰ عدد حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. در بین تیمارهای اسید اگزالیک و اسید آسکوربیک در هر دو غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری از نظر تعداد کلونی باکتری مشاهده نشد (جدول ۲). با گذشت زمان جمعیت باکتری افزایش یافت، به طوری که در زمان ۷ روز تعداد کلونی ۹۲ بود و در زمان ١٤ روز به ١٦٥ رسید (جدول ۳).

در بین تیمارهای اسیدآسکوربیک و اسیداگزالیک به طور معنی‌دار بیشترین مقدار مواد جامد محلول در تیمار اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار مشاهده شد. تیمار اسیدآسکوربیک ۱۰ میلی‌مولار نیز دارای مقدار مواد جامد محلول بیشتری در مقایسه با تیمار اسید اگزالیک ۱۰ میلی‌مولار بود ولی با تیمار اسیداگزالیک ۵ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری نشان داد. تیمارهای اسیدآسکوربیک ۵ و ۱۰ میلی‌مولار و اسید اگزالیک ۵ میلی‌مولار تفاوتی با شاهد در مقدار مواد جامد محلول نشان ندادند ولی تیمار اسیداگزالیک ۱۰ میلی‌مولار به طور معنی‌داری دارای مقدار مواد جامد محلول کمتری در مقایسه با شاهد بود (جدول ۲). با گذشت زمان آزمایش مقدار مواد جامد محلول به طور معنی‌دار کاهش یافت (جدول ۳).

مقدار اسید قابل تیتر در تیمارهای اسید آسکوربیک ۱۰ میلی-مولار و اسید اگزالیک ۱۰ میلی‌مولار به طور معنی‌داری کمتر از مقدار آن در شاهد و تیمارهای اسید آسکوربیک ۵ میلی‌مولار و اسید اگزالیک ۵ میلی‌مولار بود. اختلاف معنی‌داری بین نمونه-های شاهد و تیمارهای اسیدآسکوربیک ۵ میلی‌مولار و اسید

www.SID.ir

Archive of SID

اگزالیک ۵ میلی‌مولار از نظر درصد اسید قابل تیتر مشاده نشد (جدول ۲). با گذشت زمان آزمایش مقدار اسید قابل تیتر نمونه‌ها کاهش یافت (جدول ۳).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد تیمارهای اسید اگزالیک و اسید آسکوربیک دارای مقدار آنتوسیانین بیشتری در مقایسه با شاهد بودند. در این بین مقدار آنتوسیانین نمونه‌های اسید اگزالیک در هر دو غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌مولار به طور معنی‌داری بیشتر از مقدار آنتوسیانین نمونه‌های اسیدآسکوربیک ۵ و ۱۰ میلی‌مولار بود (جدول ۲).

همچنین تیمارهای اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک دارای مقدار ویتامین ث بیشتری در مقایسه با شاهد بودند. غلظت‌های ۱۰ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک و اسیداگزالیک بدون اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر دارای ویتامین ث بیشتری در مقایسه با غلظت‌های ۵ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک و اسیداگزالیک بودند. بین غلظت‌های ۵ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک و اسیداگزالیک اختلاف معنی‌داری از نظر مقدار ویتامین ث مشاهده نشد (جدول ۲).

نمونه‌های شاهد به طور معنی‌دار دارای مقدار فنل بیشتری در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده با اسیدآسکوربیک و اسید اگزالیک بودند. نمونه‌های تیمار شده با اسیدآسکوربیک ۵ میلی‌مولار دارای مقدار فنل بیشتری در مقایسه با سایر تیمارها بود. کمترین مقدار فنل در تیمار اسیدآسکوربیک ۱۰ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۲).

بیشترین مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار اسیداگزالیک ۱۰ میلی‌مولار مشاهده شد که البته اختلاف معنی‌داری با تیمار اسیدآسکوربیک ۱۰ میلی‌مولار نشان نداد. تیمار اسیداگزالیک ۵ میلی‌مولار دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در مقایسه با تیمار اسیدآسکوربیک ۵ میلی‌مولار بود. تمامی تیمارهای اعمال شده دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در مقایسه با نمونه-های شاهد بودند (جدول ۲). با گذشت زمان آزمایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۳).

بررسی فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیمی در نمونه‌های شاهد مشاهده شد و تیمارهای اسید اگزالیک و اسید آسکوربیک در هر دو غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌مولار دارای فعالیت آنزیمی کمتری در مقایسه با شاهد بودند. در این بین نمونه‌های تیمار اسیداگزالیک ۱۰ میلی‌مولار به طور معنی‌داری دارای فعایت آنزیم کمتری در مقایسه با سایر تیمارها بودند. بین تیمارهای اسید آسکوربیک ۵ و ۱۰ میلی‌مولار و اسیداگزالیک ۵ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری از نظر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز مشاهده نشد (جدول ۲). با گذشت زمان آزمایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز بیشتر افزایش یافت (جدول ۳).

Table 1 Analysis of variance of qualitative and quantitative traits of pomegranate

		Mean Squar									
S.O.V	df	Weight Loss	Chilling injury	Bacteria colonies	TSS	TA	Anthocyanin	Vitamin C	Total phenol	Antioxidant	PPO enzyme
Treatment	4	18.74^{**}	7.07^{**}	180.1^{**}	2.98^{**}	0.10^{*}	26.23^{**}	35.24^{**}	17.15^{**}	119.1^{**}	7.61^{**}
Time	1	15.17^{**}	3.15^{*}	150.1^{**}	0.53^{*}	0.52^{**}	4.18^{ns}	20.23^{ns}	46.62^{ns}	52.1^{*}	32.67^{**}
Tr*Time	4	2.2^{ns}	0.57^{ns}	45.2^{ns}	0.03^{ns}	0.01^{ns}	0.17^{ns}	10.54^{ns}	16.5^{ns}	47.7^{ns}	4.04^{ns}
Error	20	3.82	0.33	120.8	0.63	0.02	0.46	4.69	9.45	16.42	0.1
C.V. (%)	-	15	22	22	5	12	3.62	11.3	8.3	15.9	4.66

ns, * and **: Not significant, significant at 5% and 1% levels of probability, respectively.

Table 2 Mean comparison of effects of ascorbic acid and oxalic acid on qualitative and quantitative traits of pomegranate aril during storage

Treatment	Weight Loss (%)	Chilling injury (Code)	Bacteria coloni (CFU)	TSS (Brix)	TA (%)	Vitamin C (mg/L)	Total phenol (mg/fw)	Antioxidant (mg/L)	PPO enzyme (unit/gFW)
Control	11.21^{a}	$۳/۰^{a}$	350^{a}	14.53^{ab}	1.43^{a}	12.17^{c}	48.01^{a}	17.65^{d}	9.15^{a}
Ascorbic acid (5 mM)	6.01^{b}	1.33^{b}	120^{b}	15.06^{a}	1.45^{a}	18.5^{b}	38.51^{b}	28.12^{c}	6.78^{b}
Ascorbic acid (10 mM)	5.21^{b}	1^{b}	115^{b}	14.46^{b}	1.31^{b}	20.35^{a}	31.5^{c}	37.21^{ab}	6.16^{b}
Oxalic acid (5 mM)	4.60^{b}	1.66^{b}	135^{b}	14.2^{bc}	1.49^{a}	17.35^{b}	34.16^{c}	36.43^{b}	6.58^{b}
Oxalic acid (10 mM)	7.18^{b}	1.66^{b}	125^{b}	12.9^{c}	1.27^{b}	21.64^{a}	26.93^{d}	38.58^{a}	4.51^{c}

Means with similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level of Duncan test

www.SID.ir

Archive of SID

Table 3 Mean comparison of time effect on qualitative and quantitative traits of pomegranate aril during storage

Time	WeightLoss (%)	Chilling injury (Code)	Bacteria coloni (CFU)	TSS (Brix)	TA (%)	Antioxidant (mg/L)	PPO enzyme (unit/gFW)
7 days	4.59[b]	2.57[b]	92[b]	15.96[a]	1.41[a]	35.31[a]	5.51[b]
14 days	7.6[a]	3.57[a]	165[a]	13.3[b]	1.26[b]	28.26[b]	7.76[a]

Means with similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level of Duncan test

٤- بحث

تاکنون پژوهش‌های متعددی در رابطه با تاثیر تیمارهای مختلف بر روی افزایش مقاومت آریل‌های انار صورت گرفته است اما بررسی‌ها نشان می‌دهد تحقیق جامعی بر روی اثر تیمارهای اسید اگزالیک و اسید آسکوربیک بر افزایش عمر پس از برداشت آریل‌های انار صورت نگرفته است. بر اساس نتایج پژوهش و تاثیر ترکیبات اعمال شده روی آریل‌های انار می‌توان بیان داشت که از میان تیمارهای اعمال شده، بهترین نتایج در کیفیت و ظاهر دانه‌های انار در تیمارهای اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک ۱۰ میلی‌مولار مشاهده شد. آنزیم پلی‌فنل اکسیداز از مهمترین عوامل قهوه‌ای شدن و تغییر رنگ در محصولات می‌باشد. واکنش قهوه‌ای شدن باعث ایجاد یک تغییر نامطلوب در بافت می‌شود که بر طعم، ظاهر و کیفیت میوه اثر منفی دارد [۲۲] با این حال اسید اگزالیک و اسید آسکوربیک به طور مناسبی می‌تواند از فعالیت این آنزیم جلوگیری و مانع از تغییر رنگ بافت گردد. نتایج گزارشات قبلی نشان داد همبستگی بالایی بین میزان فنل‌های کل و فعالیت‌های پلی فنل اکسیداز با قهوه‌ای شدن بافت در سیب وجود دارد [۲۲]. نتایج برخی گزارشات نشان داد واکنش قهوه‌ای شدن در تکه‌های برش خورده آناناس یک فرآیند پیچیده است که به عواملی همچون سطوح سوبسترا، فعالیت آنزیمی و حضور بازدارنده‌های قارچی بستگی دارد و کاربرد آسکوربیک اسید، واکنش قهوه‌ای شدن در تکه‌های برش خورده آناناس را به طور معنی‌داری کاهش داده است [۲۳] که می‌توان گفت با نتایج این آزمون نیز مطابقت دارد. البته گورنی و همکاران [٢٤] اذعان داشتند که اسید آسکوربیک به همراه لاکتات کلسیم بر عمر مفید و قهوه‌ای شدن تاثیر بسیار کمی دارند.

نتایج این آزمایش نشان داد استفاده از اسید اگزالیک به طور موثری می‌تواند قهوه‌ای شدن آریل انار را پس از برداشت و در طول دوره انبارداری کنترل کند. در میوه لیچی تیمار اسید اگزالیک به دلیل افزایش یکپارچگی غشا مانع تخریب آنتوسیانین، کاهش اکسیداسیون و کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز می‌شود. به نظر می‌رسد استفاده از اسید اگزالیک به طور موثری می‌تواند قهوه‌ای شدن میوه‌جات در طول دوره انبارداری و پس از برداشت کنترل کند [٤]. اسید اگزالیک در میوه هلو سبب کاهش نشت یونی، حفظ سفتی بافت، تنفس پایین‌تر، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسیداز دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز، پلی فنل اکسیداز و کاهش فعالیت لیپواکسیژناز در نمونه تیمار شده نسبت به شاهد شده است [۷]. شاخص سرمازدگی در تیمار آسکوربیک اسید و اسید اگزالیک تقریبا مشابه بود و باعث حفظ آریل‌ها در برابر سرمازدگی شدند. در پژوهشی که توسط سیاری و همکاران [۵] بر روی میوه انار انجام شده بود, تیمار اسید اگزالیک ٦ میلی مولار به طور معنی‌داری عوامل قهوه‌ای شدن، آسیب و از دست دادن آب از سطح پوست، افزایش تنفس، کاهش وزن و نشت یونی را کنترل کرد. تاثیر این تیمار از طریق مهار آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و افزایش در میزان ویتامین C می‌باشد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در این تحقیق نمونه‌های تیمار شده با اسید اگزالیک، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی داشتند و شاخص قهوه‌ای شدن و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز کاهش پیدا کرد. افزایش میزان ویتامین C با تیمار اسید اگزالیک نیز جالب توجه بود و با افزایش غلظت اسید اگزالیک میزان ویتامین C آریل انار افزایش یافت و در تیمار ۱۰ میلی مولار اسید اگزالیک به بیشترین میزان خود رسید. در پژوهشی گزارش شده که ژنوتیپ‌های مقاوم آفتابگردان که دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند، سطوح اسید اگزالیک درونی آنها بیشتر از ارقام حساس می‌باشند که بیانگر تاثیر مستقیم اسید اگزالیک در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد [۲۵]. در حالت کلی نگهداری انار در دمای ٤ درجه سانتی گراد باعث افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب به غشای سلولی می گردد اما تیمار اسید اگزالیک و اسید آسکوربیک با حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش خسارت سرمازدگی

www.SID.ir

Archive of SID

می‌گردد. نتایج این تحقیق با گزارش کایاشیما و همکاران [۲٦] مطابقت دارد که عنوان کردند اسید اگزالیک در شرایط درون شیشه‌ای از اکسید شدن ویتامین C جلوگیری کرده و خواص آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد. یورک و همکاران [۹ و ۲۷] گزارش کردند که فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز، با کاربرد اسید اگزالیک در سیب و موز کاهش یافته است. کاهش فعالیت پلی‌فنل اکسیداز باعث کاهش قهوه‌ای شدن بافت می‌گردد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

مطالعات متعددی بر روی غلظت‌های متفاوت اسید اگزالیک به‌عنوان تیمار ضد قهوه‌ای در اسلایس‌های سیب، موز و لیچی انجام شد [٤، ۸ و ۹]. نتایج نشان داد اسید اگزالیک در غلظت ۲ میلی‌مولار باعث کنترل قهوه‌ایی شدن در لیچی می‌گردد [٤]. مکانیسم مهار آنزیم پلی‌فنل اکسیداز توسط اسید اگزالیک ممکن است به دلیل اتصال این آنزیم به مس و در نهایت تشکیل کمپلکس غیر فعال باشد [۸ و ۲۷]. قهوه‌ای شدن ممکن است به دلیل تخریب سلول سبب قرارگیری سوبسترا و آنزیم در کنار هم شود. تغییر در محتوای آنتوسیانین‌ها یکی دیگر از علل قهوه ای شدن پریکارپ لیچی است [٤]. کاهش آنتوسیانین‌ها در نتیجه اکسیداسیون در حضور دیگر ترکیبات فنولیکی صورت می‌گیرد [۲۸]. تیمار اسید اگزالیک اثر مثبت و معنی‌داری بر حفظ آنتوسیانین‌ها دارد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

در گزارشی مشخص شد اسید آسکوربیک باعث کاهش میکروارگانیزم‌ها و قهوه‌ای شدن در تکه‌های برش خورده هویج می‌گردد [۱٦]. گیل و همکاران [۱٤] مشاهده کردند اضافه کردن اسید آسکوربیک به فنل باعث احیا کینون می‌شود که مانع از فرایند قهوه‌ای شدن می‌شود. در تحقیقی که بر روی هلو انجام شد، مشخص شد کاهش میزان ویتامین ث به دنبال انجام واکنش قهوه‌ای شدن روی می‌دهد [۷]. استفاده از تیمار اسید آسکوربیک با کاهش واکنش قهوه‌ای شدن و مهار کننده‌های واکنش قهوه‌ای شدن مرتبط است [۲۹]. طبق یافته‌های پیشین یکی از عمومی‌ترین روش‌های مقابله با اکسیداسیون و افزایش ارزش غذایی یک محصول غذایی، غلیظ کردن عصاره میوه‌ها با آسکوربیک اسید است. به نظر می‌رسد که آسکوربیک اسید در پایداری رنگ آنتوسیانین چندین نقش عمده داشته باشد. آسکوربیک اسید و مشتقات آن در بسیاری از غذاها به کار می‌روند. آنها به غذاها به خصوص به عصاره میوه‌ها، جهت بهبود کیفیت غذایی و مهار واکنش‌های قهوه‌ای شدن اضـــافه می‌شوند. آسکوربیک اسید دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه به عنوان یک جمع آوری کننده اکسیژن آزاد است و نتایج نشان داد پایداری آنتوسیانین‌ها در حضور آسکوربیک اسید افزایش می‌یابد و نیز مشخص شد که آنتوسیانین‌ها توسط آسکوربیک اسید از تخریب آنزیمی محافظت می‌شوند [۳، ۳۰ و ۳۱]. نتایج کلی نشان داد استفاده از غلظت‌های مناسب ترکیبات اسید اگزالیک و اسید آسکوربیک می‌توان عمر قفسه‌ای آریل‌های انار را بالا برد.

۵- سپاسگزاری

هزینه‌های این پژوهش از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه ایلام تامین شده است که نگارندگان بدین‌وسیله مراتب قدرانی خود را ابراز می دارند.

٦- منابع

[1] Singh, D. and Singh, R.K. 2004. Processed products of pomegranate. Nat Prod Radiance, 3: 66–68.

[2] Gil, M.I., Martí, J.A. and Artés, F. 1996. Minimally processed pomegranate seeds. LWT-Food Science and Technology, 29: 708-713.

[3] Sapers, G.M. 1993. Browning of foods: control by sulfites, antioxidants, and other means. Scientific status summary. Food Technology, 47: 75-84.

[4] Zheng, X., Tian, S., Gidley, M.J., Yue, H. and Li, B. 2006. Effects of oxalic acid on control of postharvest browning of litchi fruit. Food Chemistry, 96: 519-523.

[5] Sayyari, M., Valero, D., Babalar, M., Kalantari, S., Zapata, P.J. and Serrano, M. 2010. Prestorage oxalic acid treatment maintained visual quality, bioactive compounds, and antioxidant potential of pomegranate after long-term storage at 2 C. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 58: 6804-6808.

[6] Zheng, X., Tian, S., Gidley, M.J., Yue, H. and Li, B. 2007a. Effects of exogenous oxalic acid on ripening and decay incidence in mango fruit during storage at room temperature. Postharvest Biology and Technology, 45: 281-284.

www.SID.ir

Archive of SID

Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299: 152–178.

[18] Sun, T., Powers, J.R. and Tang, J. 2007. Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. Food chemistry, 105: 101-106.

[19] Muanda, F.N., Soulimani, R., Diop, B. and Dicko, A. 2011. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. LWT - Food Science and Technology, 44: 1865-72.

[20] Wall, M.M. 2006. Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa* spp.) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. Journal of Food Composition and Analysis, 19: 434-445.

[21] Pizzocaro, F., Torreggiani, D. and Gilardi, G. 1993. Inhibition of apple polyphenoloxidase (PPO) by ascorbic acid, citric acid and sodium chloride. Journal of Food Processing and Preservation, 17: 21–30.

[22] Cosetang, M. and Lee, C.Y. 1987. Changes in apple polyphenol oxidase and polyphenol concentrations in relations to degree of browning. Journal of Food Science, 52: 985-989.

[23] González-Aguilar, G.A., Ruiz-Cruz, S., Soto-Valdez, H., Vázquez-Ortiz, F., Pacheco-Aguilar, R. and Wang, C.Y. 2005. Biochemical changes of fresh-cut pineapple slices treated with anti-browning agents. International journal of food science and technology, 40: 377-383.

[24] Gorny, J.R., Hess-Pierce, B. and Kader, A.A. 1999. Quality Changes in Fresh cut Peach and Nectarine Slices as Affected by Cultivar, Storage Atmosphere and Chemical Treatments. Journal of Food Science, 64: 429-432.

[25] Malenčić, D.J., Vasić, D., Popović, M. and Dević, D. 2004. Antioxidant systems in sunflower as affected by oxalic acid. Biologia Plantarum, 48: 243-247.

[26] Kayashima, T. and Katayama, T. 2002. Oxalic acid is available as a natural antioxidant in some systems. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1573: 1-3.

[27] Yoruk, R. and Marshall, M.R. 2003. A survey on the potential mode of inhibition for oxalic acid on polyphenol oxidase. Journal of Food Science, 68: 2479-85.

[7] Zheng, X., Tian, S., Meng, X. and Li, B. 2007b. Physiological and biochemical responses in peach fruit to oxalic acid treatment during storage at room temperature. Food Chemistry, 104: 156-162.

[8] Son, S.M., Moon, K.D. and Lee, C.Y. 2001. Inhibitory effects of various antibrowning agents on apple slices. Food Chemistry, 73: 23-30.

[9] Yoruk, R., Balaban, M.O., Marshall, M.R. and Yoruk, S. 2002. The inhibitory effect of oxalic acid on browning of banana slices. In Annual Meeting and Food Expo, Anaheim California, 30-18.

[10] Wang, Q., T. Lai, G. Qin and S. Tian. 2009. Response of jujube fruits to exogenous oxalic acid treatment based on proteomic analysis. Plant Cell Physiology, 50: 230–242.

[11] Huang, H., Jing, G., Guo, L., Zhang, D., Yang, B., Duan, X., Ashraf, M. and Jiang, Y. 2013. Effect of oxalic acid on ripening attributes of banana fruit during storage. Postharvest Biology and Technology, 84: 22-27.

[12] Kniel, K.E., Sumner, S.S., Lindsay, D.S., Hackney, C.R., Pierson, M.D., Zajac, A.M., Golden D. and Fayer. R. 2003. Effect of organic acids and hydrogen peroxide on *cryptosporidium parvum* viability in fruit juices. Journal of Food Protection, 9: 1650-1657.

[13] Golan-Goldhirsh, A. and Whitaker, J. 1984. Effect of ascorbic acid, sodium bisulfite, and thiol compounds on mushroom polyphenol oxidase. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 32: 1003-1009.

[14] Gil, M.I., Gorny, J.R. and Kader, A.A. 1998. Responses of "Fuji" apple slices to ascorbic acid treatments and low-oxygen atmospheres. HortScience, 33: 305-309.

[15] Özdemir, K.S. and Gökmen, V. 2016. Extending the shelf-life of pomegranate arils with chitosan-ascorbic acid coating. LWT-Food Science and Technology. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.10.057, In Peress.

[16] Kasim, R., Kasim, M.U. and Uyar, G.E.O. 2015. Postharvest ascorbic acid treatment on color and sugar changes on fresh-cut carrot. International Journal of Research in Agriculture and Food Sciences, 2: 1-8.

[17] Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-

www.SID.ir

Archive of SID

[28] Kader, F., Halux, J.P., Nicolas, J.P. and Metche, M. 1998. Degradation of cyanidin 3-glucoside by blueberry polyphenol oxidase: Kinetic studies and mechanisms. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46: 3060-3065.

[29] Veltman, R. and Van Schaik, A. 1997. Membrane damage in fruits perhaps the explanation of hollow core and flesh browning. Fruitteelt (Den Haag), 87: 12-13.

[30] Sapers, G.M., Hicks, K.B., Phillips, J.G., Garzarella, L., Pondish, D.L., Matulaitis, R.M., McCormack, T.J., Sondey, S.M., Seib, P.A. and Ei-Atawy, Y.S. 1989. Control of enzymatic browning in apple with ascorbic acid derivatives, polyphenol oxidase inhibitors, and complexing agents. Journal of Food Science, 54: 997-1002.

[31] Sapers, G.M. and Miller, R.L. 1998. Browning inhibition in fresh-cut pears. Journal of Food Science, 63: 342-346.

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of oxalic acid and ascorbic acid on shelf life of pomegranate arils

Azizi, F. [1], Erfani Moghadam, J. [2], Khademi, O. [3*], Nourollahi, Kh. [4]

1. Former M.Sc. Student of Department of Horticulture, Ilam University
2. Assistant Professor of Department of Horticulture, Ilam University
3. Assistant Professor of Department of Horticulture, Shahed University
4. Assistant Professor of Department of Plant Protection, Ilam University

(Received: 2016/07/22 Accepted: 2016/12/26)

In order to increase the shelf life of pomegranate arils, 5 and 10 mM oxalic and ascorbic acids were used. The arils were dipped in the treatments for five minutes, and after drying at room temperature, were packed by cellophane in the polyethylene container and transferred to 4°C. Some qualitative, quantitative and biochemical parameters were measured on 7 and 14 days of storage. The anova results showed that there were significant differences among the treatments in most evaluated parameters. Oxalic and ascorbic acids treated arils as copmpared to control, had lower weight loss and lower chilling injury as well as higher quality and marketability. Oxalic and ascorbic acids treatments also led to decreases in poly phenol oxidase activity and total phenol content, while, the vitamin C content, anthocyanin and antioxidant capacity were significantly higher than that of control. Generally, the results showed that, organic acids compounds caused to reduction of aril degradation during cold storage and are suitable treatments for maintenance postharvest quality of pomegranate arils.

Keywords: Aril, Chilling injury, Marketability, Organic acids, Polyphenoloxidase

* Corresponding Author E-Mail Address: o.khademi@shahed.ac.ir

www.SID.ir