



تأثیر غلظت‌های مختلف چیتوسان بر عمر انبارداری و کیفیت پس از برداشت میوه زغال اخته (*Cornus mass L.*)

مریم اسمعیلی^۱، اصغر ابراهیم‌زاده^{۲*}، حمید حسن‌پور^۳ و محمد باقر حسن‌پور اقدم^۲

تاریخ دریافت: ۹۷/۹/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۱۹

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

^۲به‌ترتیب استادیار و دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

^۳دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

*مسئول مکاتبه: Email: acebrahimzadeh@gmail.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: امروزه کنترل ضایعات پس از برداشت و اولویت دادن به استفاده از روش‌های سالم نسبت به استفاده از سموم شیمیایی در پرورش محصولات باغبانی ضروری است. در سال‌های اخیر، استفاده از پوشش‌های خوراکی مانند چیتوسان به منظور کاهش ضایعات پس از برداشت، کاهش سرعت متبولیسیم محصول، افزایش عمر انبارداری و کنترل رشد میکروبی در انواع میوه‌ها رواج پیدا کرده است. **هدف:** هدف از پژوهش حاضر، تشخیص مناسب‌ترین غلظت چیتوسان در راستای حفظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی محصول زغال اخته، شاخص‌های کمی، کیفی و ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی پس از برداشت میوه‌ها بود. **روش کار:** میوه‌های سالم و یکنواخت زغال اخته پس از برداشت با غلظت‌های مختلف چیتوسان (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) بمدت ۱ دقیقه تیمار شده و سپس در دمای 4 ± 1 درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۱ روز انبار شدند. نمونه‌برداری جهت مطالعات مختلف بعدی در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ صورت گرفت. **نتایج:** نتایج آزمایش نشان داد که اثر متقابل زمان و غلظت چیتوسان بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز معنی‌دار نیست. با این حال تیمار چیتوسان در حفظ میزان اسیدیته قابل تیتراسیون، آنتوسیانین کل، فنل کل، فلاونوئید کل، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم کاتالاز بیشترین تأثیر را داشت. همچنین فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل‌اکسیداز و فنیل آلانین آمونیا لیاز در غلظت صفر درصد بیشتر بود. **نتیجه گیری نهایی:** با توجه به نتایج کلی آزمایش، معلوم شد که تیمار ۱ درصد چیتوسان نسبت به سایر غلظت‌های آن در حفظ صفات فیزیکی شیمیایی میوه‌های زغال اخته بهتر عمل نمود.

واژگان کلیدی: ارزش غذایی، چیتوسان، زغال اخته، صفات کمی و کیفی

مقدمه

از گونه‌ها برای مصارف خوراکی و یا در تهیه فرآورده‌هایی همچون کمپوت، سس، شیرینی، ژله، مربا و نوشیدنی‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند (میلسپائوف ۱۹۷۴ و اسداو ۱۹۹۰). برخی از گونه‌های زغال اخته نیز به منظور استفاده از خواص دارویی آن

زغال اخته با نام علمی *Cornus mas L.* و از تیره Cornaceae (یلماز و همکاران ۲۰۰۹)، جنس *Cornus*، شامل انواع مختلف از نوع بوته‌ای و درختچه‌ای می‌باشد که بیشتر برای اهداف زینتی استفاده می‌شود. فقط برخی

کارآیی چیتوسان در حفظ کیفیت پس از برداشت محصولات را بیشتر می‌کند (جیانگ و شائوینگ ۲۰۱۳). طی سال‌های اخیر مطالعات زیادی در مورد تأثیر پوشش چیتوسان بر عمر پس از برداشت بسیاری از محصولات صورت گرفته است اما، اطلاعات راجع به تأثیر تیمار چیتوسان روی میوه زغال اخته در مدت زمان انبارداری اندک می‌باشد. لذا هدف از انجام این آزمایش بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف چیتوسان روی افزایش عمر پس از برداشت میوه و حفظ خصوصیات کمی و کیفی میوه زغال اخته در طول دوره نگهداری بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

برداشت میوه‌های زغال اخته (*Cornus mas* L.) صبح زود از باغی در شهرستان هوراند در شمال غرب ایران (مشخصات جغرافیایی ۴۷ درجه و ۳۷ دقیقه طول شرقی و ۲۸ درجه و ۸ دقیقه عرض شمالی) صورت گرفت. میوه‌های سالم و یکنواخت از نظر رنگ، اندازه و شکل انتخاب شده و به آزمایشگاه انتقال یافتند. تیمار نمونه‌ها در آب مقطر به عنوان شاهد، چیتوسان ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد صورت گرفته و غوطه‌وری به مدت ۱ دقیقه برای هر تیمار انجام گرفت. بعد از اتمام تیمار، نمونه‌ها در دمای اتاق قرار گرفتند تا کاملاً خشک شوند و سپس در دمای 4 ± 1 درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۱ روز انبار شدند. نمونه‌برداری در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ صورت گرفت و نمونه‌ها هر بار پس از خروج از سردخانه و جهت انجام آزمایش بلافاصله در نیتروژن مایع فریز می‌شدند و برای انجام آنالیزهای بعدی در دمای منفی ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند.

TSS و TA، pH

آب میوه‌ها پس از عصاره‌گیری برای اندازه‌گیری pH، TA و TSS مورد استفاده قرار گرفت. میزان pH آب میوه‌ها با استفاده از دستگاه pH meter (AZ-8601، China) جهت اندازه‌گیری TA از

پرورش داده می‌شوند (بیجلیک و همکاران ۲۰۱۱) چرا که بخش‌های مختلف این گیاه غنی از اسیدآسکوربیک (ویتامین ث)، اسیدهای آلی، قند، فنل، فلاونوئید، تانن و سایر ترکیبات زیست فعال می‌باشند (مولداوان و همکاران ۲۰۱۶) که می‌توان در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی از آن استفاده کرد (ممدآو و کراکر ۲۰۰۲). برگ، پوست و میوه‌های زغال اخته فعالیت ضد میکروبی در برابر استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کولای، پروتئوس ولگاریس و سودوموناس آئروژینوزا دارد (اسدو ۱۹۹۰). به علت خواص بی‌شمار و خصوصاً آنتی-باکتریایی، آنتی‌هیستامینی، آنتی‌میکروبی و آنتی-مالاریایی که زغال اخته دارد، توجه زیادی به ویژگی‌های کیفی میوه‌های زغال اخته شده است (مولداوان و همکاران ۲۰۱۶).

کاربرد تکنیک‌ها و روش‌هایی برای حفظ کیفیت میوه‌ها پس از برداشت از قدیمی‌ترین کارها در طول زندگی انسان‌ها بوده است (پالیاث و همکاران ۲۰۰۹)، چرا که مشتری پسند بودن محصولات باغبانی بر اساس کیفیت و ظاهر محصول صورت می‌گیرد و ارتقاء کیفیت همراه با کاهش هزینه و افزایش تجارت از جمله مهم‌ترین کارهایی است که باید صورت بگیرد (مونتوچرمی ۲۰۰۷). دانشمندان و متخصصان رشته فیزیولوژی پس از برداشت استفاده از پوشش‌های خوراکی مانند چیتوسان را یکی از بهترین تکنیک‌ها جهت افزایش عمر پس از برداشت محصول و حفظ کیفیت محصولات باغی می‌دانند (جیانگ و شائوینگ ۲۰۱۳). چیتوسان پلی‌مر خطی آلفا (۱-۴) می‌باشد که به ۲- آمینو - ۲- دئوکسی - D-β - گلوکوپیرانوز متصل شده است (رینادو ۲۰۰۶). خاصیت ضد قارچی (آلان و هادویگر ۱۹۷۹)، کاهش تنفس، ایجاد تأخیر در روند رشد میکروبی، ایجاد یک لایه‌ی نیمه‌تراوا که فرآیند رسیدن میوه را با تغییر در میزان دی‌اکسیدکربن، اکسیژن و اتیلن را به تأخیر می‌اندازد، از مزایای استفاده از پوشش دهنده‌های خوراکی می‌باشد (ال غائوث و همکاران ۱۹۹۱). دمای پایین

۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر محاسبه شد. به منظور سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از ضریب خاموشی ($36,6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های (GPX)، (PPO) و (PAL)

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز از روش آپادهیای و همکاران (۱۹۸۵)، به صورت افزایشی در طی ۱ دقیقه و در طول موج ۴۹۰ نانومتر محاسبه گردید. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز به صورت افزایشی در ۳ دقیقه و در طول موج ۳۳۴ نانومتر محاسبه شد (سینگ و همکاران ۱۹۹۹). همچنین سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاایاز (PAL) بر اساس تشکیل سینامیک اسید و در طول موج ۲۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید و واحد فعالیت این آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی سینامیک اسید ($9630 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) بر حسب واحد $\text{nmol trans-cinamic acid mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$ محاسبه گردید (کارتکیان و میچل ۲۰۰۶).

تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام گردید. داده‌های حاصل از این آزمایش با نرم افزار SAS نسخه ۹/۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای رسم نمودارها از Excell 2013 و برای مقایسه میانگین نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید.

نتایج و بحث

TSS و TA، pH

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل مدت زمان انبارداری و غلظت چیتوسان بر میزان pH، اسیدیته قابل تیتراسیون و میزان مواد جامد محلول نمونه‌ها زغال اخته در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. با گذشت زمان و در هفته آخر مدت زمان انبارداری میزان pH در نمونه‌های تیمار شده زغال اخته افزایش یافت به طوری که بیشترین

تیتراسیون با محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال استفاده شد. برای اندازه‌گیری مقدار مواد جامد محلول نیز از دستگاه رفاکتومتر دستی مدل ATAGO استفاده گردید.

اندازه‌گیری محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل

ارزیابی فنل کل با استفاده از معرف فولین - سیوکالتو و استاندارد اسید گالیک انجام شد. در این اندازه‌گیری که بر اساس روش سینگلتون و روسی (۱۹۶۵) صورت گرفت، میزان فنل کل بر اساس میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن تر میوه بیان شد. اندازه‌گیری فلاونوئید کل بر اساس روش شین و همکاران (۲۰۰۸) صورت گرفت و بر حسب میلی‌گرم کاتچین در گرم وزن تر بیان گردید. جهت اندازه‌گیری آنتوسیانین کل نیز از روش اختلاف جذب در pHهای مختلف استفاده شد (گیوستی و رولاستد ۲۰۰۱). برای تهیه بافر یک (pH=1) از محلول پایه حاوی کلرید پتاسیم ۰/۲ مولار و برای تهیه بافر دو (pH=4/5) نیز از محلول پایه حاوی اسید استیک ۰/۲ مولار استفاده شده و قرائت آنتوسیانین کل در دو طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر صورت گرفت. میزان آنتوسیانین کل نیز بر اساس استاندارد سیانیدین ۳- گلوکوزید و طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$(A) = (A_{520 \text{ pH}1} - A_{700 \text{ pH}1}) - (A_{520 \text{ pH}4.5} - A_{700 \text{ pH}4.5})$$

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل (DPPH)

برای اندازه‌گیری توانایی عصاره‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH) جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردیده (چیو و همکاران ۲۰۰۷) و بر اساس معادله زیر درصد مهار کنندگی محاسبه گردید:

$$\%DPPH = \frac{\text{Abs control} - \text{Abs sample}}{\text{Abs control}} \times 100$$

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

سنجش آنزیم کاتالاز با استفاده از روش ابی (۱۹۸۴) انجام گرفت. فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش طی

با چیتوسان توانست سفتی میوه و میزان مواد جامد محلول کل را تحت تاثیر مثبت خود قرار دهد (رستگار و لشکری ۱۳۹۶). در این پژوهش میزان مواد جامد محلول طی مدت زمان انبارداری افزایش پیدا نمود که بیشترین میزان افزایش نیز مربوط به نمونه‌های شاهد بود. با افزایش غلظت چیتوسان، روند افزایشی در میزان TSS میوه کندتر می‌شود که احتمالاً باید با تغییرات هیدرولیکی در مقدار نشاسته و میزان از دست دهی آب محصول در طول دوره پس از برداشت در ارتباط باشد (کایز ۱۹۹۷). از جمله دیگر دلایل مؤثر در افزایش میزان مواد جامد محلول می‌توان به کاهش آب میوه و یا تجزیه قندهای ساده به قندهای مرکب مانند پلی‌ساکاریدها اشاره کرد (راحی، ۱۳۸۹). همچنین مرحله بلوغ زغال اخته تأثیر قابل توجهی بر میزان TSS داشت به طوری که همزمان با رسیدن محصول، میزان آن افزایش پیدا کرد (گوندوز و همکاران ۲۰۱۳).

میزان pH در هفته سوم و متعلق به تیمار چیتوسان ۰/۵ درصد بود. تیمار پوششی چیتوسان با تشکیل اتمسفر تغییر یافته‌ی درونی یا به عبارت دیگر تغییر غلظت O₂ و CO₂ درونی، روند تغییر در میزان pH و اسیدیته‌ی قابل تیتراسیون را در میوه کندتر می‌کند و از این طریق به طور مؤثری روند پیری آن را به تأخیر می‌اندازد (بای و همکاران ۱۹۸۸ و لووینگ و کاتس ۱۹۸۲). میزان اسیدیته-ی قابل تیتراسیون نیز با گذشت زمان و طی مدت زمان انبارداری کاهش چشم‌گیری پیدا کرد و در آخر دوره انبارداری بیشترین میزان آن مربوط به تیمار ۱/۵ درصد چیتوسان بود (جدول ۱). معمولاً در طی فرآیند رسیدن، اسیدهای آلی میوه در اثر تنفس و یا تبدیل به قندها کاهش می‌یابند که کاهش آن‌ها رابطه مستقیمی با فعالیت‌های متابولیسمی دارد (راحی ۱۳۸۹). طی پژوهشی معلوم شد که میزان اسیدیته قابل تیتراسیون در اثر تیمار میوه-های تمشک با ژل آلوه‌ورا طی مدت زمان انبارداری کاهش می‌یابد (حسن‌پور ۲۰۱۵). پوشش دهی میوه کنار

جدول ۱- اثر تیمار پوششی غلظت‌های مختلف چیتوسان بر pH، اسیدیته قابل تیتراسیون و مواد جامد محلول زغال اخته در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد

Table 1- Effect of different concentration of chitosan coating treatment on pH, TA and TSS in cornelian cherries stored in 5°C

Treatment	Day	pH	TA	TSS
Control	0	3.15 ^g	3.15 ^a	13 ^f
	7	3.27 ^{ef}	1.32 ^e	14.5 ^e
	14	3.29 ^e	1.26 ^{de}	21.5 ^a
	21	3.5 ^{bc}	0.48 ⁱ	21.66 ^a
0.5%	0	3.15 ^g	3.15 ^a	13 ^f
	7	3.19 ^{fg}	1.72 ^c	12.33 ^f
	14	3.3 ^e	1.5 ^b	15 ^{de}
	21	3.86 ^a	0.47 ⁱ	20 ^b
1%	0	3.15 ^g	3.15 ^a	13 ^f
	7	3.27 ^{de}	1.31 ^{de}	12.66 ^f
	14	3.43 ^{cd}	1.32 ^{de}	15.16 ^{de}
	21	3.41 ^{cd}	0.58 ^h	16.16 ^{cd}
1.5%	0	3.15 ^g	3.15 ^a	13 ^f
	7	3.4 ^d	1.36 ^d	11 ^g
	14	3.28 ^{ef}	1.16 ^f	16 ^{cd}
	21	3.54 ^b	0.75 ^g	17 ^c

Different letter(s) in the column shows significant difference based on Duncan's multiple range test.

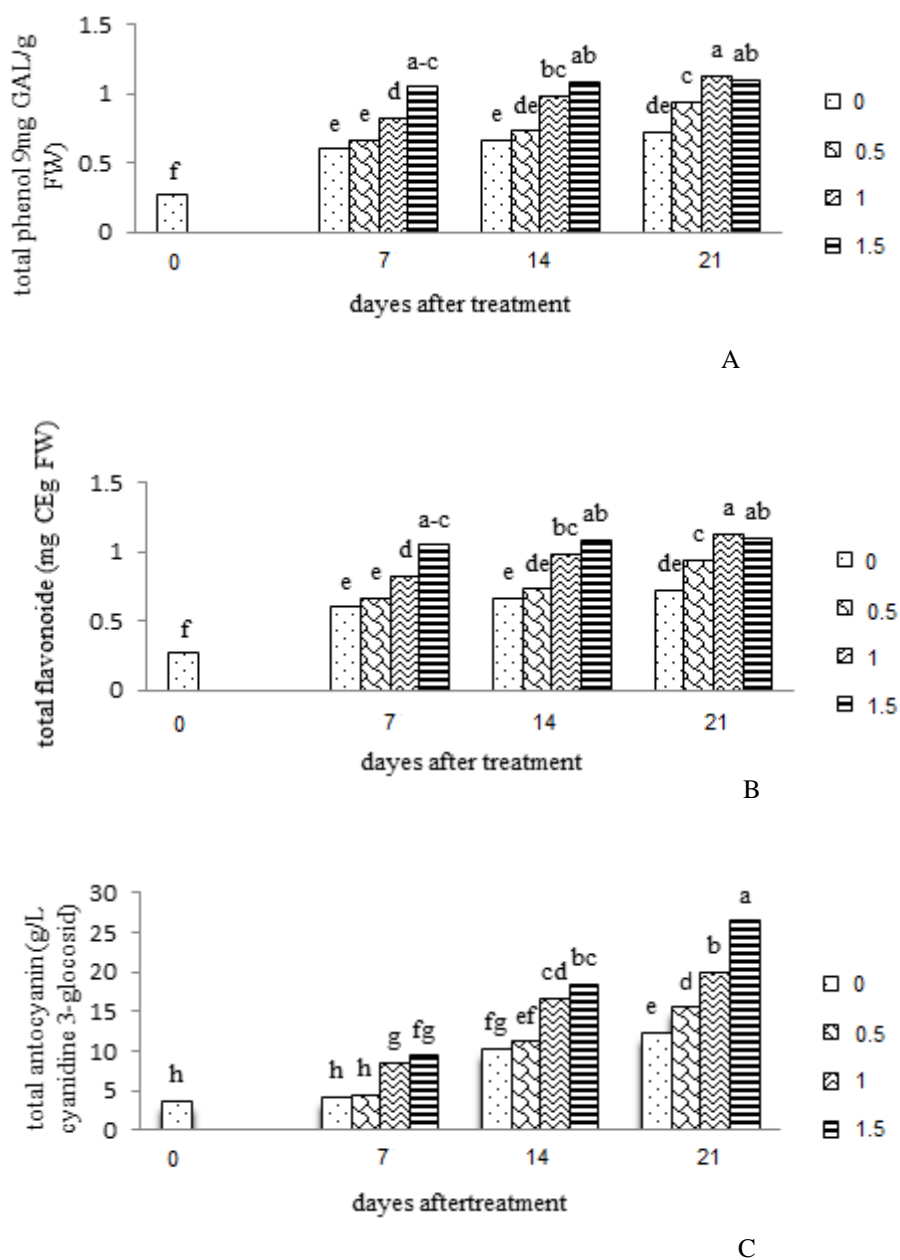
چیتوسان ۱/۵ درصد بود. در بررسی انجام شده توسط سلیمانی اقدم و همکاران (۲۰۱۳) مشخص شد که تیمار میوه‌های زغال اخته با کلرید کلسیم باعث افزایش قابل توجهی در مقدار فنل کل، فلاونوئید کل و مقدار آنتوسیانین کل گردید. تیمار میوه‌های زغال اخته با اسید سالسیلیک نیز موجب افزایش معنی‌دار در میزان آنتوسیانین کل گردید که احتمالاً به دلیل افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز بوده است در نتیجه میزان آنتوسیانین کل و فنل کل نیز افزایش یافتند (دخانیه و همکاران ۲۰۱۳).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل (DPPH)

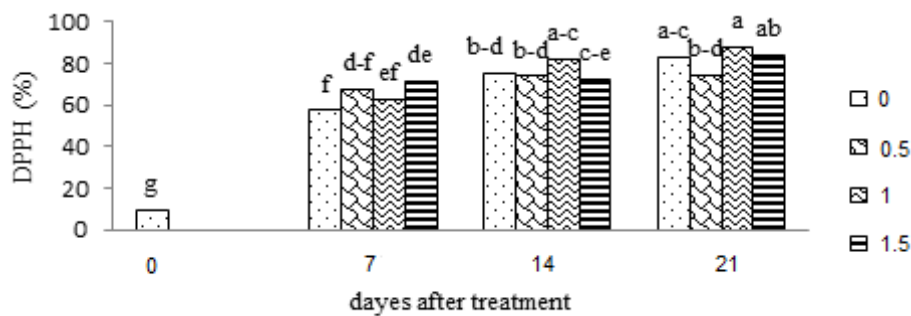
اثر متقابل بین غلظت چیتوسان و مدت زمان انبارداری روی در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطح معنی‌دار ۵ درصد در میوه‌های زغال اخته را نشان داد. با توجه به نتایج مقایسه میانگین (شکل ۲) میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی طی مدت زمان انبارداری افزایش یافت که غلظت‌های بالاتر چیتوسان اثر مثبتی بر حفظ و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌های زغال اخته داشت. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میزان فنل کل، فلاونوئید و میزان آنتوسیانین رابطه مستقیمی دارد و در پژوهش حاضر نیز افزایش در میزان پارامترهای نام برده شده باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل می‌گردد. طی مطالعات جداگانه انجام شده توسط سلیمانی اقدم و همکاران (۲۰۱۳) و همچنین دخانیه و همکاران (۲۰۱۳) در میوه‌های زغال اخته به ترتیب پوشش کلرید کلسیم و اسید سالسیلیک توانست میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به صورت مؤثری طی مدت زمان انبارداری افزایش دهد. تیمار میوه‌های تمشک با ژل آلوه ورا نیز توانست پتانسیل آنتی‌اکسیدانی را در طی مدت زمان انبارداری افزایش دهد (حسن‌پور ۲۰۱۴).

اندازه‌گیری فنل کل، فلاونوئید کل، محتوای آنتوسیانین کل و آنتی‌اکسیدان کل

اثر متقابل مدت زمان انبارداری و غلظت چیتوسان روی میزان فنل کل، فلاونوئید کل، محتوای آنتوسیانین کل نمونه‌های میوه زغال اخته تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد نشان داد. تیمار با چیتوسان و افزایش میزان غلظت آن موجب افزایش میزان فنل کل (شکل ۱- A) شد به طوری که بیشترین میزان فنل کل در طی دوره انبارداری متعلق به تیمار ۱/۵ درصد چیتوسان بود و این امر احتمالاً به واسطه‌ی کاهش میزان تنفس ناشی از کاهش نفوذ پذیری به گاز دی‌اکسید کربن طی مدت زمان انبارداری صورت گرفته که در نتیجه از اکسیداسیون فنل‌ها ممانعت به عمل آمده است. از طرفی معلوم شده است که تیمار پوششی چیتوسان با فعال کردن آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز که آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز فنل‌ها می‌باشد، باعث افزایش میزان پلی‌فنل‌ها می‌گردد (رومانازی ۲۰۱۷). میزان فنل کل در میوه‌های زغال اخته تیمار شده با کلرید کلسیم (سلیمانی اقدم و همکاران ۲۰۱۳) و همچنین در میوه‌های توت فرنگی تیمار شده با چیتوسان در طی انبارداری روند افزایشی داشت (وانگ و گائو ۲۰۱۳). همانند فنل کل، فلاونوئید کل نیز در طی مدت زمان انبارداری روند افزایشی داشت و در آخر دوره انبارداری، تیمار پوششی چیتوسان ۱ درصد با افزایش ۲٫۳ برابری بیشترین میزان فلاونوئید را به خود اختصاص داد (شکل ۱-B). ترکیبات فلاونوئیدی آنتی-اکسیدان‌های مهمی می‌باشد که در اثر تیمار با اسید سالسیلیک در میوه‌های زغال اخته در طی مدت زمان انبارداری افزایش یافتند (دخانیه و همکاران ۲۰۱۳). با توجه به شکل ۱-C، میزان آنتوسیانین کل طی دوره انبارداری و با افزایش غلظت چیتوسان در میوه‌های زغال اخته نیز افزایش پیدا کرد و بیشترین مقدار آن با افزایش ۷/۱۴ برابری نسبت به روز اول مربوط به تیمار



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف تیمار چیتوسان بر فنل کل A، فلاونوئید کل B و آنتوسیانین کل C میوه‌های زغال اخته
Figure 1- Effect of chitosan different concentrations on total phenolics (A), total flavonoids (B), and anthocyanin content in cornelian cherry fruits
 Different letter(s) shows significant difference based on Duncan's multiple range test.



شکل ۲- ظرفیت آنتی‌اکسیدان نمونه‌های زغال اخته تیمار شده با غلظت‌های مختلف چیتوسان

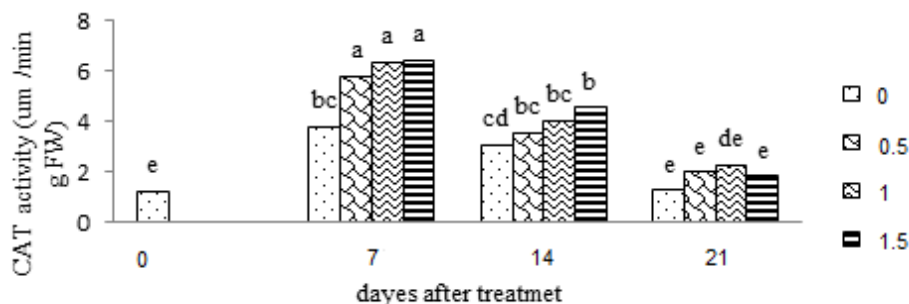
Figure 2- Effects of different levels chitosan treatment (0, 0.5, 1 and 1.5 %) on antioxidant capacity of cornelian cherry

Different letter(s) in the column shows significant difference based on Duncan's multiple range test.

کننده باعث به حداقل رسیدن آسیب توسط رادیکال‌های آزاد می‌شوند و آنزیم کاتالاز نیز یکی از این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (وانگ و گائو ۲۰۱۳). چیتوسان با بهبود فعالیت کاتالاز نقش بسیار مهمی در برابر اکسیداسیون ایفا می‌کند. در مطالعه‌ای تأثیر چیتوسان بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در طول دوره‌ی انبارداری مشخص شد که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز طی مدت انبارداری کاهش می‌یابد که میزان این کاهش در میوه‌های تیمار یافته با چیتوسان ۱ و ۲ درصد نسبت به میوه‌های شاهد کمتر بود (پتريکيون و همکاران ۲۰۱۵).

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

نتایج تجزیه واریانس بیانگر تفاوت معنی‌دار میزان آنزیم کاتالاز در میوه‌های زغال اخته تیمار شده با غلظت‌های مختلف چیتوسان در زمان‌های مختلف و در سطح احتمال ۵ درصد بود. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز طی مدت زمان انبارداری کاهش یافت اما در بین غلظت‌های مختلف ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد چیتوسان تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. با این حال در روز ۲۱ انبارداری غلظت ۱ درصد چیتوسان با مقدار ۲/۲۴ $\mu\text{m}/\text{min g FW}$ بیشترین میزان فعالیت را داشت (شکل ۳). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از مهم‌ترین بخش‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه هستند که با کاهش انرژی رادیکال‌های آزاد، توقف تولید رادیکال‌های آزاد و یا گسیخته شدن واکنش‌های زنجیره‌ای اکسید



شکل ۳- میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در نمونه‌های زغال اخته تیمار شده با غلظت‌های مختلف چیتوسان

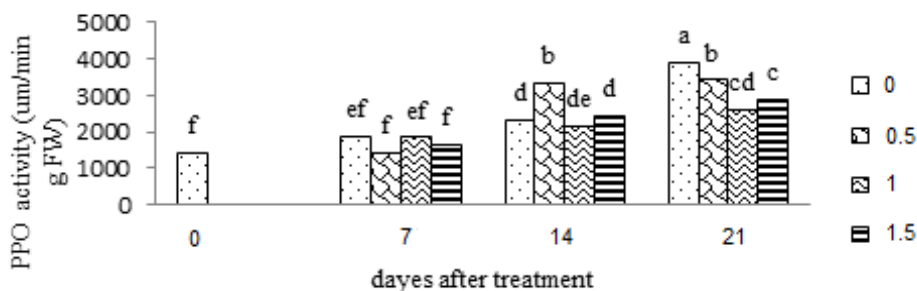
Figure 3- CAT activity rate in cornelian cherry fruits under different concentrations of chitosan

Different letter(s) in the column shows significant difference based on Duncan's multiple range test.

اکسیداسیونی فنل‌ها می‌گردد. افزایش میزان دی‌اکسید کربن و یا بالعکس کاهش میزان اکسیژن موجب کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز می‌گردد (دووان و همکاران ۲۰۰۷). آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز عامل اصلی در قهوه‌ای شدن آنزیمی و اکسید شدن ترکیبات فنلی است که باعث تبدیل شدن آن‌ها به اورتوکینون‌ها می‌گردد. بر اساس مطالعه‌ای که در سیب گلاب کهنز صورت گرفت، میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در نمونه‌های پوشش‌دار و بدون پوشش با چیتوسان روند صعودی داشت (صحرائی خوش‌گردش و همکاران، ۱۳۹۳).

فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز

تجزیه واریانس بیانگر تفاوت معنی‌دار میزان آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در میوه‌های زغال‌اخته تیمار شده با غلظت‌های مختلف چیتوسان در سطح احتمال ۱ درصد بود. میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز طی مدت زمان انبارداری افزایش یافت با این حال میزان این افزایش در نمونه‌های پوشش‌دار با چیتوسان کمتر بود (شکل ۴) چرا که پوشش‌های خوراکی با تغییر اتمسفر، نفوذپذیری انتخابی در برابر عبور اکسیژن و دی‌اکسید کربن ایجاد کرده و باعث حفظ دی‌اکسید کربن بیشتر از حد طبیعی شده در نتیجه باعث کاهش تنفس و واکنش‌های



شکل ۴- میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در نمونه‌های زغال‌اخته تیمار شده با غلظت‌های مختلف چیتوسان

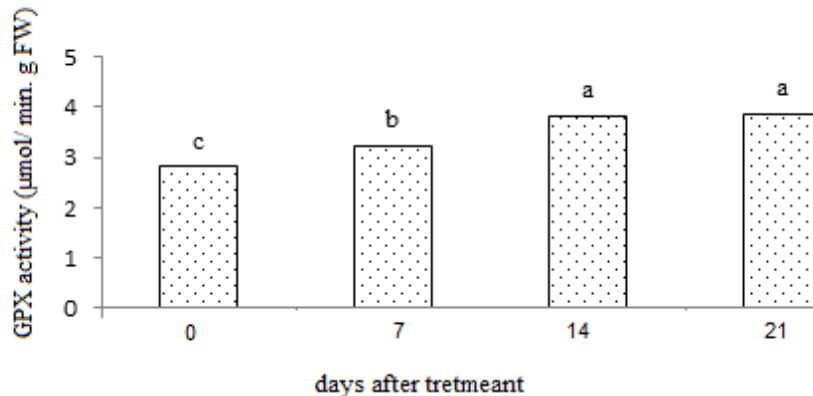
Figure 4- PPO activity rate in cornelian cherry fruits under different concentrations of chitosan treatment

Different letter(s) in the column shows significant difference based on Duncan's multiple range test.

به نمونه‌های روز ۲۱ بود. در مطالعه‌ای که بر روی نمونه‌های توت‌فرنگی صورت گرفت نیز مشخص گردید که میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در نمونه‌های مورد آزمایش افزایش پیدا کرد اما، تیمار با چیتوسان از فعالیت بالای این آنزیم ممانعت به عمل آورد (پتريکيون و همکاران ۲۰۱۵).

فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز

اثر متقابل زمان و غلظت چیتوسان بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز معنی‌دار نبود و فقط اثر ساده زمان معنی‌دار بود. در این مطالعه فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز طی مدت زمان انبارداری روند افزایشی داشته و بیشترین میزان فعالیت این آنزیم متعلق



شکل ۵- میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در نمونه‌های زغال اخته تیمار شده با غلظت‌های مختلف چیتوسان

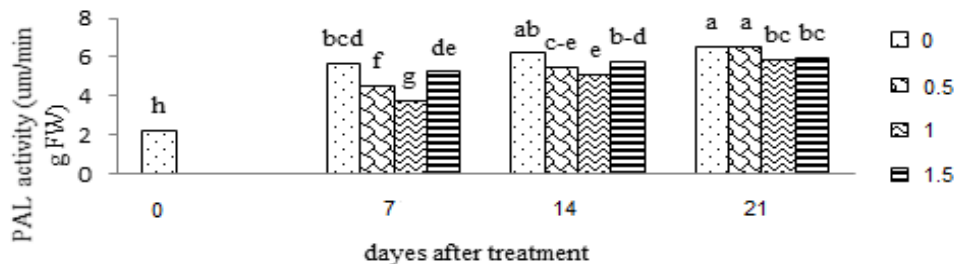
Figure 5- GPX activity rate in cornelian cherry fruits under different concentrations of chitosan treatment

Different letter(s) in the column shows significant difference based on Duncan's multiple range

مثال تجمع ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از گیاهان در برابر اشعه UV-B محافظت می‌کند (سلیمانی اقدم و همکاران ۲۰۱۳). در مطالعه‌ای فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز در میوه‌های زغال اخته تیمار شده با کلرید کلسیم و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد (سلیمانی اقدم و همکاران ۲۰۱۳). در پژوهشی دیگر که توسط دخانیه و همکاران (۲۰۱۳) صورت گرفت، در میوه‌های زغال اخته تیمار شده با اسید سالسیلیک و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و طی مدت ۲۱ روز صورت گرفت میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز افزایش پیدا کرد.

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز

تفاوت معنی‌دار فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز در نمونه‌های میوه‌های زغال اخته تیمار شده با غلظت‌های مختلف چیتوسان در زمان‌های مختلف در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. طی مدت زمان انبارداری میزان فعالیت آنزیم PAL روند افزایشی داشته و بیشترین میزان فعالیت آن مربوط به نمونه‌های شاهد بود. متابولیت‌های ثانویه گیاهی عموماً پاسخ دفاعی گیاهان در برابر پاتوژن‌ها و عوامل اکولوژیکی هستند (تسای و همکاران ۲۰۰۶). بیوسنتز این ترکیبات راهی مؤثر و آسان در برابر فاکتورهای محیطی می‌باشد. به عنوان



شکل ۶- میزان فعالیت آنزیم PAL در میوه‌های زغال اخته تیمار شده با غلظت‌های مختلف چیتوسان

Figure 6- PAL activity in cornelian cherry fruits under different concentrations of chitosan treatment

Different letter(s) in the column shows significant difference based on Duncan's multiple range

نتیجه‌گیری

میوه زغال اخته سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فنل‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و اسید آسکوربیک می‌باشد اما، همانند سایر میوه‌ها در طول دوره پس از برداشت ارزش غذایی و ظاهری این میوه نیز کاهش می‌یابد که استفاده از چیتوسان به عنوان یک ماده با ماهیت طبیعت دوست و غیر شیمیایی تا حد زیادی می‌تواند از کاهش ارزش غذایی میوه جلوگیری کنند. در حالت کلی

همانطور که در این آزمایش نیز مشخص شد میوه‌های تیمار شده با چیتوسان نسبت به میوه‌های شاهد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنزیمی بیشتری داشتند. تیمار پس از برداشت چیتوسان با تأثیر مثبت بر میزان فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، میزان DPPH، افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، و ممانعت از فعالیت آنزیم PPO و PAL در حفظ کیفیت و افزایش عمر پس از برداشت میوه زغال اخته مؤثر بود.

منابع مورد استفاده

- صحرایی خوش‌گردش ع، بدیعی ف و یاسینی اردکانی ع، ۱۳۹۳. تأثیر پوشش نانو امولسیون حاوی کیتوزان بر افزایش ماندگاری سیب گلاب رقم گلاب کهنز در مدت انبارداری، مهندسی بیوسیستم ایران، ۴۵(۲)، ۱۲۰-۱۱۳.
- راحی م، ۱۳۸۹. فیزیولوژی پس از برداشت. مرکز نشر دانشگاه شیراز.
- رستگار س و شکری م، ۱۳۹۶. تأثیر چیتوسان و کلرید کلسیم بر روند تغییرات برخی ویژگی‌های کمی و کیفی میوه کنار در مدت نگهداری، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۳۷(۲)، ۱۷۳-۱۶۳.
- Aebi H, 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105: 121-126.
- Allan C R and Hadwiger L A, 1979. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Experimental mycology* 3(3): 285-287.
- Asadov S, 1990. Zoghal (*Cornus mas* L.) (in Turkish). Elm Baku.
- Bai R K, Huang M Y and Jiang Y Y, 1988. Selective permeabilities of chitosan-acetic acid complex membrane and chitosan-polymer complex membranes for oxygen and carbon dioxide. *Polymer bulletin* 20(1): 83-88.
- Bijelić S, Gološin, B, Todorović J N and Cerović S, 2011. Morphological characteristics of best Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes selected in Serbia. *Genetic resources and crop evolution* 58(5): 689-695.
- Bounous G and Zanini E, 1987. The variability of some components and biometric characteristic of the fruit of six tree and shrub species. In Lampone, Mirtillo, Altri Picolli Frutti (Eds.), *Attri convegno* (pp. 189-197). 4-5 Giugni, Rome, Italy: Trente. cherry (*Cornus mas* L.) genotypes selected in Serbia. *Genetic resources and crop evolution* 58: 689-695.
- Dai Q, Borenstein A R, Wu Y, Jackson J C and Larson E B, 2006. Fruit and vegetable juices and Alzheimer's disease: The Kame Project. *The American journal of medicine* 119(9): 751-759.
- Dokhanieh A Y, Aghdam M S, Fard J R and Hassanpour H, 2013. Postharvest salicylic acid treatment enhances antioxidant potential of cornelian cherry fruit. *Sciatica Horticulture* 154: 31-36.
- Duan X, Su, X, You Y, Qu H, Li Y and Jiang, Y, 2007. Effect of nitric oxide on pericarp browning of harvested longan fruit in relation to phenolic metabolism. *Food Chemistry* 104(2): 571-576.
- Duthie G G, Gardner P T and Kyle J A, 2003. Plant polyphenols: are they the new magic bullet. *Proceedings of the Nutrition Society* 62(3): 599-603.
- EL Ghaouth A, Arul J, Ponnampalam R and Boulet M, 1991. Use of chitosan coating to reduce water loss and maintain quality of cucumber and bell pepper fruits. *Journal of Food Processing and Preservation*, 15(5): 359-368.

- Giusti M M and Wrolstad R E, 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry* 1-13.
- Gunduz K, Saracoglu O, Özgen M and Serce S, 2013. Antioxidant, physical and chemical characteristics of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) at different stages of ripeness. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* 12(4): 59-66.
- Hassanpour H, 2015. Effect of Aloe vera gel coating on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activities and decay in *raspberry* fruit. *LWT-Food Science and Technology* 60(1): 495-501.
- Jianglian D and Shaoying Z, 2013. Application of chitosan based coating in fruit and vegetable preservation: a review. *Journal of Food Processing and Technology* 4(5): 227-230.
- Karthikeyan K G and Micheal T, 2006. Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA. *Science of total environment* (1-3): 196-207.
- Kays S J, 1997. *Postharvest Physiology of Perishable Plant Products*. Van Nostrand Rein Hold Book, AVI Publishing Co. New York 149-316 pp.
- Lowings P H and D F, 1982. The preservation of fresh fruit and vegetables. *Proc. Institute Food Science and Technology, Ann. Symp.*, Nottingham, UK. Kays S J, 1997. *Postharvest Physiology of Perishable Plant Products*. Van Nostrand Rein Hold Book AVI Publishing Co. New York 149-316 pp.
- Mamedov N and Craker L E, 2002. Cornelian cherry: a prospective source for phytomedicine. In XXVI International Horticultural Congress: The Future for Medicinal and Aromatic Plants 629: 83-86.
- Moldovans B, Popa A and David L, 2016. Effects of storage temperature on the total phenolic content of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) fruits extracts. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 89.
- Montgomery D C, 2007. *Introduction to statistical quality control*.
- Paliyath G, Murr D P, Handa A K and Lurie S, 2009. *Postharvest biology and technology of fruits, vegetables, and flowers*. John Wiley and Sons 19-50.
- Petriccione M, Mastrobuoni F, Pasquariello M S, Zampella L, Nobis E, Capriolo G and Scortichini M, 2015. Effect of Chitosan Coating on the postharvest quality and antioxidant Enzyme system response of Strawberry fruit during cold storage. *Foods* 4: 501-523.
- Rinaudo M, 2006. Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in polymer science*, 31(7): 603-632.
- Romanazzi G, Feliziani E, Baños S B and Sivakumar D, 2017. Shelf life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment. *Critical reviews in food science and nutrition* 57(3): 579-601.
- Shin Y, Ryu J A, Liu R H, Nock J F and Watkins C B, 2008. Harvest maturity, storage temperature and relative humidity affect fruit quality, antioxidant contents and activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology* 49(2): 201-209.
- Shui G and Leong L P, 2006. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chemistry* 97(2): 277-284.
- Singh P, Garg A, Rama M and Agrawal D, 1999. Effect of replacing barley grain with wheat bran on intake and utilization of nutrients in adult sheep. *Small ruminant research the official journal of the international goat association* 31(3): 215-219.
- Singleton V L and Rossi J A, 1965. Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144-158.
- Soleimani-Aghdam M, Yousefpour-Dokhanieh A, Hassanpour H and Pezapour-Fard J, 2013. Enhancement of antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) fruit by postharvest calcium treatment. *Scientia Horticulturae*, 161: 160-164.

- Updhyaya A, Sankhla D, Davis T D, Sankhla N and Smidth B N, 1985. Effect of paclobotrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology* 121: 453-461.
- Wandel M and Bugget A, 1997. Environmental concern in consumer evaluation of food quality. *Food Quality and Preference* 8(1):19-26.
- Wang S Y and Gao H, 2013. Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries (*Fragaria x aranassa* Duch.). *LWT-Food Science and Technology* 52(2): 71-79.
- Yilmaz K U, Ercisli S, Zengin Y, Sengul M and Kafkas E Y, 2009. Preliminary characterisation of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes for their physico-chemical properties. *Food Chemistry* 114(2): 408-412.
- Zhang M, Dong J, Jin H, Sun L and Xu M, 2011. Ultraviolet-B-induced flavonoids accumulation in *Betula pendula* leaves is dependent upon nitrate reductasemediated nitric oxide signaling. *Tree Physiology* 31: 798-807.

Journal of Food Researches/vol.29 No.4/ 2020/pp 139-152
<https://foodresearch.tabrizu.ac.ir>

The effects of different chitosan concentrations on storage life and postharvest quality of cornelian cherry (*Cornus mass L.*)

M Esmaili¹, A Ebrahimzadeh^{2*}, H Hassanpour³ and MB Hassanpour Aghdam²

Received: December 12, 2018 Accepted: May 9, 2019

¹MSc student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Maragheh University, Maragheh, Iran

²Assistant Professor and Associate Professor, respectively, Department of Horticultural Science, Maragheh University, Maragheh, Iran

³Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

*Corresponding Autho : Email: acebrahimzadeh@gmail.com

Introduction: Controlling the postharvest losses and the utilization of safe methods versus chemical compounds is a remarkable priority in the production of horticultural produce. Using techniques to preserve agricultural produce quality dates back to many decades ago (Paliath et al., 2009). This is essential to keep the visual characteristic and quality of products. In some ways, the procedures employed improve the quality and organoleptic properties of the crops. This is end goes to the reduced production charges and the higher incomes (Duan et al., 2007). Postharvest scientists are attempting to employ the materials to cover the fruits and to keep the harvest time quality or even to improve the quality and visual attributes. During the recent years, the application of edible coatings such as chitosan has been increased to reduce the postharvest loses, lowering the respiration rate, shelf life improvement, firmness keeping and for the control of microbial growth rates in fruit crops. Chitosan is an aliphatic organic polymer with a characterized antifungal (Allan and Hadwiger, 1979) property. Furthermore, chitosan coating lowers the respiration rate, prevents microbial growth and delays the fruit ripening by the control of CO₂, O₂ and ethylene exchange balance (EL Ghaouth et al., 1991). Moreover, low temperature storage intensifies the chitosan keeping qualities on stored fruits. Cornelian cherry fruits contain high amounts of ascorbic acid (vitamin C), organic acids, phenolics, taninns and some other bioactive compounds. Hence, the fruits have considerable nutritional and medicinal benefits effects (Moldovans et al., 2016). Furthermore, the fruits have precious antimicrobial properties (Asadov, 1990).

In the present study, we tried to evaluate the effects of different chitosan concentration to keep the antioxidant potential of cornelian cherry and of the quality attributes during postharvest period.

Material and methods: *Cornus mass L.* fruits were harvested from an orchard from northwest of Iran (Hourand country). In advance, the fruits were homogenized for the size, color and shape and were transferred to the Lab. The fruits were treated with 0.5, 1 and 1.5 % chitosan solution and distilled water as control for 1 minute. The fruits let too dry at ambient temperature and were stored at 4±1 °C for 21 days. TSS, TA and pH were evaluated in fruit juice soon after. Samples were taken during the first, 7, 14 and 21th days after treatment. The fruits were kept at cold storage and immediately the common measurements like pH, TSS and TA were conducted. Then after the fruits were freezed in liquid nitrogen and kept in - 40 °C for further studies. Total phenolics, Flavonoids and anthocyanin were measured by folin- ciocaltea (Gallic acid as standard), flavonoids based on catechin and total anthocyanin by the absorbance difference in divers pH ratios, respectively. DPPH method was employed for the antioxidant potential of fruits. Besides CAT, GPX, PPO and PAL enzymes were quantified as well. The data were analyzed by SAS (ver.9.2) software as CRD with three replications.

Excel 2013 was employed for the tables figuration and the means were compared by the Duncan's multiple range test.

Results and discussion: ANOVA results revealed that interaction of storage time \times chitosan concentration meaningfully ($P < 0.01$) influenced pH, TA and TSS of fruits. The top pH was acquired by 0.5% chitosan at the third week. Chitosan modifies fruit surface atmosphere and hence by the variations in CO_2 and O_2 alters the TA and pH values. Maturity stage influences TSS values and with ripening progress, TSS was increased (Gunduz et al., 2012). In a similar experiment, with chitosan concentration adding up, TSS increase was slowed down seemingly due to the hydrolytic changes in the starch content and water loss during the storage period (Kays, 1997). Interaction of time and chitosan concentration was statistically influenced ($P < 0.01$) total phenolics, flavonoids and total anthocyanin content. Total phenolics had the highest amount with 1.5% chitosan seemingly due to CO_2 barrier induced by chitosan which reduces the phenolics oxidation.

Moreover, chitosan coating activates PAL enzyme in phenolics biosynthesis (Romanazzi et al., 2017). Total flavonoids were increased by storage time, and by 1% of chitosan treatment. Flavonoids are crucial antioxidants and besides phenolics were increased in the fruits during the storage time and with SA treatment (Dokhanieh et al., 2013). Total anthocyanins followed the same pattern as well. Antioxidant potential of fruits was also impacted by storage time and chitosan as well ($P < 0.05$). Antioxidant potential is directly related to phenolics, flavonoids and anthocyanins content of fruits and vegetables. So that, the increased total amounts of the mentioned metabolites resulted in improved DPPH activity. There is evidence that other coatings such $CaCl_2$ and SA improved the metabolites and antioxidant potential (Dokhanieh et al., 2013; Soleimani-Aghdam et al., 2013). CAT, PPO, GPX and PAL were influenced by the time \times chitosan interaction as well. CAT activity was declined during the storage period. But, there was no significant difference between 0, 1 and 1.5% chitosan treatments. Chitosan application improves the selective permeability of membrane for CO_2 and O_2 exchange and hence reduce the phenolics oxidation. These all reduce the PPO activation and function (Duan et al., 2007). GPX activity was increased during the storage, So, that the highest GPX activity was belonged to the sampling at 21th days. PAL activity was responsive to the interaction of time \times chitosan concentration and the enzyme activity was increased in time dependent pattern during the storage. The top data was recorded for the untreated fruits.

Conclusions: Cornelian cherry fruits are rich in antioxidant compounds like phenolics, flavonoids, anthocyanins and ascorbic acid. During the storage period and like other horticultural products (fruits and vegetables), the nutritional and visual quality of cornelian cherry fruits reduces dramatically. Chitosan as an environment-friendly and non-chemical compound preserves the quality attributes of fruits. Over all, in the present experiment, chitosan treated fruits had more antioxidant potential and enzymatic activity than untreated ones.

Moreover, chitosan improved the total quantities for phenolics, flavonoids and anthocyanins. DPPH antioxidant potential was improved by chitosan application. Furthermore, CAT, PPO and PAL were correspondingly responded to chitosan treatment in favor of fruits quality.

In short, chitosan has a considerable potential to be considered as a good edible coating to improve the postharvest life and quality attributes of cornelian cherry fruits.

Keywords: edible coatings, chitosan, cornelian cherry, antioxidant, quality attributes