

**مطالعه تغییرات قهوه‌ای‌شدن میوه سیب (*Malus domestica* cv. Fuji) و عوامل مؤثر بر آن طی دوره انبارمانی**

مینا محبی<sup>۱</sup>، مصباح بابالار<sup>۲\*</sup>، محمد علی عسکری سرچشمه<sup>۳</sup> و علی رضا طلایی<sup>۲</sup>  
 ۱، ۲ و ۳. دانشجوی دکتری، استاد و دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران  
 (تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۸/۱۳)

**چکیده**

قهوه‌ای‌شدن آنزیمی یکی از واکنش‌های مهم است که در میوه و سبزی‌های زیادی منجر به کاهش کیفیت پس از برداشت آنها می‌گردد. به منظور مطالعه نقش احتمالی برخی ترکیبات مهم در این ناهنجاری و نحوه تغییرات آنها طی انبارمانی، آزمایشی در قالب طرح تصادفی در گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی دانشگاه تهران روی میوه سیب رقم فوجی اجرا شد. در این تحقیق سرعت قهوه‌ای‌شدن بافت میوه، فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، محتوای فنول‌ها و میزان پراکسیده شدن لیپیدهای غشاء در طی ۱۸۰ روز انبارمانی در ۵ زمان مورد آزمایش قرار گرفت. بر اساس نتایج، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در طی ۹۰ روز انبارمانی تغییر معنی‌داری نداشتند، اما پس از ۱۳۵ روز به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند. در پایان ۱۸۰ روز انبارمانی، کمترین فعالیت این آنزیم ثبت شد. محتوای فنول‌ها در طی انبارمانی تغییر محسوسی نشان نداد. مقدار پراکسیده شدن لیپیدها پس از ۹۰ روز انبارمانی، افزایش معنی‌داری یافت. قهوه‌ای‌شدن بافت میوه با قدری کاهش در اواسط انبارمانی، در ۱۳۵ روز افزایش معنی‌داری نشان داد و تا انتهای انبارمانی این مقدار را حفظ نمود. بنابراین می‌توان پیش‌بینی نمود که در رقم فوجی، محتوای فنول‌ها در قهوه‌ای‌شدن بافت میوه همانند فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز اهمیت بالایی دارد و علاوه بر این، فاکتور پراکسیده‌شدن لیپیدها نیز در این فرایند حایز اهمیت می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** آنتی‌اکسیدان‌ها، آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز، انبارمانی، سیب فوجی، غشای سلولی، قهوه‌ای‌شدن بافت.

**Study the apple fruit (*Malus domestica* cv. Fuji) browning factors, during storage**

Mina Mohebi<sup>1</sup>, Mesbah Babalar<sup>2\*</sup>, Mohammad Ali Askary Sarcheshme<sup>3</sup> and Alireza Talaei<sup>2</sup>

1, 2, 3. Ph. D. Candidate, Professor and Associate Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: March 01, 2017- Accepted: Nov. 04, 2017)

**ABSTRACT**

Enzymatic browning is one of the most important reactions that occur in fruits and vegetables, and usually resulting in negative effects on postharvest quality. In order to study the role of some important compounds on apple fruit browning and their changes during the storage, a completely randomized experimental design was conducted in Horticulture Research Center of Tehran University, on Fuji apple trees. In this study, changes of fruit browning, polyphenol oxidase activity, total antioxidant capacity, total phenolic content and the degree of membrane lipid peroxidation during 180 days of storage in 5 time intervals were analyzed. According to the results, total antioxidant capacity and polyphenol oxidase activity did not have significant changes during the first 90 days of storage, but both decreased significantly after 135 days. At the end of 180 days of storage, the lowest enzyme activity was recorded. Total phenolic contents in throughout the storage showed no significant changes. Lipids peroxidation after 90 days of storage increased significantly. Fruit tissue browning in the mid-storage decreased, but after 135 days increased significantly. It can be stated that possibly in the Fuji apple browning, total phenolic content as the enzyme activity is important and in addition to these two factors, lipid peroxidation index is very important in this process too.

**Keywords:** Antioxidants, cell membrane, Fuji apple, fresh tissue browning, polyphenol oxidase activity, storage.

\* Corresponding author E-mail: mbabalar@ut.ac.ir

## مقدمه

قهوه‌ای‌شدن آنزیمی یکی از مهمترین فرایندهای اکسایشی در بافت میوه است که منجر به تغییرات رنگ، عطر، مزه و کاهش عناصر بافت می‌گردد (Nicolas *et al.*, 1993). ترکیبات فنولی موجود در میوه سالم، در صورت آسیب سلولی و قرارگیری در معرض اکسیژن، به اورتو-کوئینون‌ها (Ortho-quinones) اکسید شده (توسط آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز) و آثار این اکسیده شدن به شکل ایجاد رنگ قهوه‌ای و تیره در بافت نمایان می‌گردد (Begic Akagic *et al.*, 2011). امروزه گفته می‌شود که سرعت فرایند قهوه‌ای‌شدن آنزیمی بستگی به فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز و غلظت پلی‌فنول‌های موجود در بافت دارد (Coseteng & Lee, 1987). از طریق تعیین مقادیر این دو ترکیب در میوه‌ها میزان حساسیت بافت به قهوه‌ای‌شدن تعیین می‌شود (Milani & Hamedi, 2005). فعالیت این آنزیم، غلظت پلی‌فنول‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها، در طی فصل رشد، رسیدن و انبارمانی، بسته به رقم دچار تغییراتی می‌گردد (Lata, 2008). لذا تعیین مقادیر این ترکیبات و تلاش برای مدیریت آن‌ها در بافت به نحوی که منجر به افزایش انبارمانی و ارزش غذایی محصول گردد دارای سابقه طولانی است. سیب (*Malus domestica* Borkh.) یکی از محبوب‌ترین و مهمترین میوه‌ها در سطح جهان می‌باشد که با حدود ۸۴ میلیون تن تولید سالیانه در رتبه‌ی سوم جهان قرار دارد (FAOSTAT, 2014; Mohebi *et al.*, 2018). این محصول به شکل تازه و فرآوری نشده مورد استفاده قرار می‌گیرد. مزه و بافت مناسب میوه سیب پس از انبارمانی اهمیت بسزایی دارد زیرا دسترسی مطلوب به این محصول با انبارمانی بالای آن فراهم می‌گردد که بایستی سعی شود کیفیت مناسب در طی این دوره حفظ گردد (Sugiura *et al.*, 2013). عمده محصولات و مواد غذایی را نمی‌توان در تمام مدت سال به شکل تازه در اختیار داشت و یا در منطقه‌ای بنا به شرایط اقلیمی و جغرافیایی نمی‌توان نوع خاصی از ماده غذایی را تولید کرد و یا در برخی از فصول، تولید بیشتر از مصرف است. لذا باید مواد غذایی را به نحوی نگهداری نمود تا

بتوان در زمان لازم آن را مصرف کرد (Zomorodi, 2006). در طی انبارمانی عوامل بیرونی و درونی متعددی کیفیت محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهند. غشای سلولی یکی از اولین اجزای پاسخ‌دهنده به این تنش‌ها می‌باشد (Marangoni *et al.*, 1996). نظریه‌های متعددی در این زمینه مطرح شده‌است. یکی از این نظریات که امروزه نیز دارای اعتبار است مربوط به تغییر ماهیت فیزیکی غشای سلولی در شرایط تنش است که گفته می‌شود به‌عنوان شروع واکنش سلولی عمل می‌نماید (Shewfelt, 1992). با پیشرفت‌های اخیر در این زمینه، پیشنهاد گردیده است که راه حل‌های آرایه شده برای جلوگیری از این تخریب و کاهش کیفیت باید در جهت شناسایی و آرایه‌ی تیمارهایی در زمینه مدیریت تغییرات غشای سلولی باشد تا از وقوع رخدادهای متعاقب آن جلوگیری شود. اکسید شدن لیپیدهای غشا با راه‌اندازی مسیر مقاومت، منجر به تولید ترکیبات حدواسط و تخریب بافت شده و از کیفیت محصول می‌کاهد. در مورد محصولات تازه، آنتی‌اکسیدان‌ها با ممانعت از اکسید شدن لیپیدها از این تخریب جلوگیری می‌نمایند (Shewfelt, 1992). در مورد مواد خوراکی فرایند شده، انجام عملیاتی مثل گرمادهی، خشک‌کردن و انجماد می‌تواند فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده را به حداقل برساند، ولی در مورد محصولاتی که به صورت فرایند نشده مصرف می‌شوند همانند میوه سیب، نمی‌توان از این عملیات استفاده کرد (Shewfelt, 1992). با توجه به اثبات نقش این دو عامل در کاهش کیفیت میوه سیب، بررسی‌های انجام‌شده نشان می‌دهد در رقم‌های مختلف سیب میزان حساسیت و درصد نقش هر یک از محتوای فنولی و فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در این فرایند متفاوت است (Amiot *et al.*, 1992). Holderbaum *et al.* (2010) در تحقیق خود روی رقم‌های مختلف سیب نشان دادند که تأثیر آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز و محتوای فنولی روی قهوه‌ای‌شدن بافت وابستگی زیادی به رقم دارد و میزان تأثیر هریک از این دو عامل در رقم‌های مختلف سیب متفاوت است. در برخی از مقالات دیگر نیز بر دخیل بودن کاهش

گل) به طور تصادفی از همه شاخه‌های درختان منتخب، میوه‌های سالم و فاقد آثار آفتاب سوختگی برداشت گردید. تعداد بیش از ۱۳۵ میوه سالم و یکنواخت با متوسط وزن ۲۰۰ گرم در سردخانه با دمای  $5 \pm 0$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی  $95 \pm 5$  درصد تا پایان انبارمانی (۱۸۰ روز) نگهداری شد. در زمان برداشت و طی مدت انبارمانی به فاصله‌ی ۴۵ روز و در پنج مرحله، اندازه‌گیری میزان پراکسیده شدن لیپیدهای غشای سلولی، فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز، محتوای فنولیکی، فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و میزان قهوه‌ای شدن بافت میوه سیب رقم فوجی انجام شد. برای اندازه‌گیری هر شاخص در هر دوره از ۲۷ میوه استفاده شد (۹ واحد آزمایشی و ۳ تکرار).

تعیین پراکسیده شدن لیپیدهای غشای سلول با استفاده از اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (Malondialdehyde) به‌عنوان فرآورده‌ی نهایی این واکنش انجام شد و میزان جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با ضریب خاموشی (ε)  $155 \text{ mM/cm}$  توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (SHIMADZU, model UV-1700, Japan) ثبت شده و بر حسب نانومول بر گرم وزن تر، محاسبه شد (De Vos et al., 1991). سنجش پروتئین کل نمونه‌ها، با استفاده از روش برادفورد انجام شد و میلی‌گرم پروتئین کل در هر میلی‌لیتر نمونه با استفاده از منحنی آل‌بومین محاسبه گردید (Bradford, 1976). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز، عصاره تهیه شده پس از صاف کردن (توسط کاغذ صافی و دستگاه سانتریفیوژ) با کاتکول ۰/۱ مولار درون کووت ریخته شد و تغییر جذب نوری به مدت ۳ دقیقه به فاصله‌های ۱۰ ثانیه در برابر شاهد (طول موج ۴۲۰ نانومتر) خوانده شد و سپس فعالیت آنزیمی با استفاده از میزان پروتئین اندازه‌گیری شده به صورت واحد فعالیت آنزیم در هر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بر اساس رابطه (۱) محاسبه گردید (Coseteng et al., 1987).

(۱)

$$\text{Unit/mg protein min} = \frac{(A2-A1) \times T}{1 \times 0.2} / \text{mg protein}$$

که در آن A2 جذب در پایان ۳ دقیقه، A1 جذب

محتوای آنتی‌اکسیدان‌ها، طی انبارمانی طولانی مدت بر حساسیت بافت به قهوه‌ای شدن تأکید شده است که مستلزم تحقیقات بیشتر است (Patthamakanokporn et al., 2010). لذا هدف از اجرای این تحقیق، مطالعه نحوه تغییر این ترکیبات در طی انبارمانی سیب رقم فوجی و تأثیرات آن‌ها بر قهوه‌ای شدن بافت میوه و تعیین اهمیت هریک در حساسیت این رقم بود.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در ایستگاه تحقیقات، آزمایشگاه‌ها و سردخانه‌ی گروه علوم باغبانی و فضای سبز پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در شهر کرج در سال ۱۳۹۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای انجام این تحقیق از درختان هشت ساله سیب رقم فوجی پیوند شده روی پایه کوتاه کننده مالینگ ۹ که رشد و تغذیه کاملاً یکسان و کنترل شده داشتند، استفاده شد. شهر کرج دارای مختصات جغرافیایی ۵۱ درجه طول شرقی، ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه‌ی عرض شمالی و دارای ارتفاع از سطح دریای ۱۲۹۷ متر است، که بر اساس تقسیم بندی گوسن دارای میزان تقریبی ۲۸۹۹ ساعت آفتابی و دارای میانگین بارش ۲۵۰ میلی‌متر در سال می‌باشد. میانگین دمای منطقه طی فروردین تا شهریور ماه سال تحقیق  $22/5$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳۸ درصد بود. در فروردین ماه ابتدای تحقیق، درختان یکنواخت ۸ ساله رقم فوجی که روی پایه کوتاه‌کننده M9 پیوند شده و دارای سیستم کشت Y در جهت شمال به جنوب (سطح بدون شیب) با فواصل کشت  $3 \times 1$  متر بود برای اجرای آزمایش انتخاب گردید. آبیاری درختان مذکور به شکل قطره‌ای در طی فصل رشد انجام شد. تنک، هرس و مبارزه با آفات به شکل یکنواخت برای همه درختان طبق استاندارد منطقه انجام شد. برداشت میوه‌ها در زمان مناسب طبق آزمون‌های محتوای نشاسته میوه، تغییر رنگ بذر و قدرت مورد نیاز برای جدا شدن میوه از شاخه که طی چند نوبت اندازه‌گیری شدند، انجام شد (شاخص نشاسته در زمان برداشت محصول  $3/5$  بود) (Plotto et al., 1997). در ۱۸ شهریور ۹۲ (۱۲۷ روز پس از تمام

متقابل تیمارها از نرم‌افزار ام اس تی سی ( Michigan State University, USA) استفاده شد. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار اکسل (Excel) رسم گردید.

### نتایج و بحث

براساس نتایج تجزیه واریانس، مدت انبارمانی در سطح ۱ درصد بر درصد آنتی‌اکسیدان‌های کل میوه اثر معنی‌داری داشت. محتوای آنتی‌اکسیدان‌های کل در نمونه‌ها طی مدت انبارمانی کاهش معنی‌داری نشان داد (شکل ۱). این افت از ۹۰ روز انبارمانی به بعد ملموس‌تر بود. در تحقیق مشابه روی میوه‌های مختلف نیز نتیجه‌ی مشابهی طی انبارمانی مشاهده شده است (Patthamakanokporn *et al.*, 2008). نتایج تحقیقات انجام‌شده در تأثیر انبارمانی بر محتوای آنتی‌اکسیدان‌های کل ارقام سیب متفاوت بوده و در برخی گزارش‌ها نشان داده شده است که طی دو ماه اول انبارمانی میزان این ترکیبات افزایش یافته است، اما بسته به رقم و زمان برداشت نتایج متفاوتی نیز ثبت شده است (Chaparzade *et al.*, 2013). در مقاله‌های مختلف به تغییر فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های کل طی انبارمانی تحت تأثیر شرایط نگهداری از قبیل دما و رطوبت پرداخته شده است. در بررسی محصولات مختلف نشان داده شده است که در شرایط دمای بالای انبارمانی محتوای آنتی‌اکسیدان‌ها به شدت کاهش یافته است. اما در دمای نگهداری پایین طی ۶ ماه (دمای صفر تا دو درجه سانتی‌گراد)، تغییرات این ترکیب معنی‌دار نبوده است (Ana Jiménez-Zamora *et al.*, 2015).

محتوای فنول‌های میوه در طی انبارمانی می‌تواند کاهش یا افزایش یابد که بستگی به شرایط انبارمانی دارد (Sadat Moosavi *et al.*, 2014; Mansouri *et al.*, 2017). بالا بودن محتوای فنول‌ها در طی انبارمانی، نشان‌دهنده مقاومت بالای بافت در برابر بسیاری از عوامل بیماری‌زا می‌باشد که معمولاً در میوه‌های نارس مشاهده می‌شود (Treutter, 2006). تغییرات محتوای فنول‌ها طی انبارمانی، در رقم‌های مختلفی از سیب مورد بررسی قرار گرفته و نتایج به دست آمده از رفتار رقم‌های مختلف، متفاوت بود. در برخی از تحقیقات،

در ابتدای ۳ دقیقه، T حجم کل واکنش و ۰/۲×۱ حجم نهایی آنزیم خوانده‌شده فواصل زمانی خوانده‌شده می‌باشد. طبق رابطه بالا یک واحد فعالیت آنزیمی عبارت بود از ۰/۰۰۱ تغییر در میزان جذب در دقیقه در ۱ ml عصاره آنزیم.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها، عصاره متانولی استخراج‌شده پس از سانتریفیوژ با ۳۴۰۰ میکرولیتر محلول دی‌پی‌پی‌اچ (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) مخلوط شده تا DPPH توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره خنثی گردد. سپس میزان جذب نوری آن در ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Faniadis *et al.*, 2010). درصد فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های نمونه طبق رابطه (۲) محاسبه گردید:

$$\% \text{ Antioxidants} = (A_{520} / A_{\text{BLANK}}) \times 10 \quad (2)$$

در این فرمول،  $A_{520}$  جذب نمونه مورد نظر و  $A_{\text{BLANK}}$  جذب نمونه شاهد (برای تهیه نمونه شاهد، از همهی ترکیبات به جز عصاره میوه استفاده شد) می‌باشد.

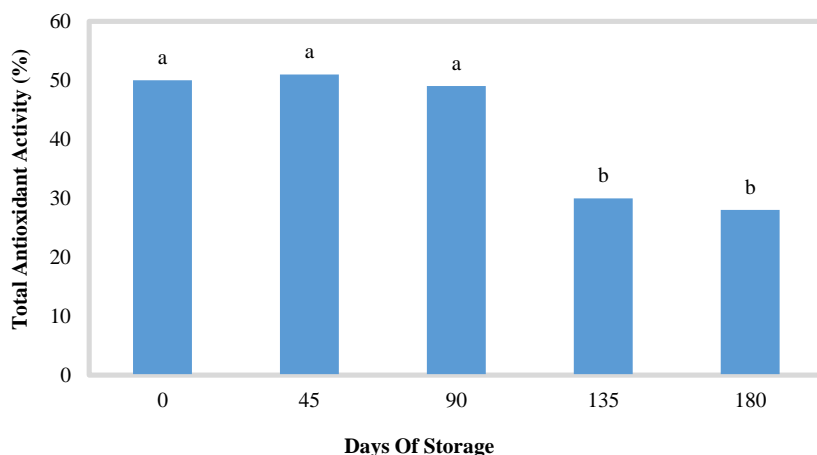
برای اندازه‌گیری شاخص قهوه‌ای شدن گوشت میوه، نیم گرم گوشت میوه همگن شده در ۱ سی سی آب مقطر را به ۱۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ اضافه کرده و در ۸۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ نمودیم. میزان جذب نوری مایع رویی در طول موج ۴۴۰ نانومتر در اسپکتروفتومتر نشان‌دهنده سرعت قهوه‌ای شدن نمونه می‌باشد (Coseteng *et al.*, 1987). برای اندازه‌گیری محتوای فنولی گوشت میوه، عصاره اتانولی میوه با یک میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷٪ و نیم میلی‌لیتر فولین مخلوط شد. پس از طی شدن مدت زمان لازم (۹۰ دقیقه در تاریکی)، میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شده و سپس با استفاده از نمودار اسید گالیک، میلی‌گرم گالیک اسید در صد گرم وزن تر بدست آمد (Ough & Amerine, 1988).

داده‌های حاصل از این اندازه‌گیری‌ها توسط نرم‌افزار آماری سس (Statistical Analysis System) مورد تجزیه قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با روش آزمون دانکن (Duncan) انجام شد. برای مطالعه اثر

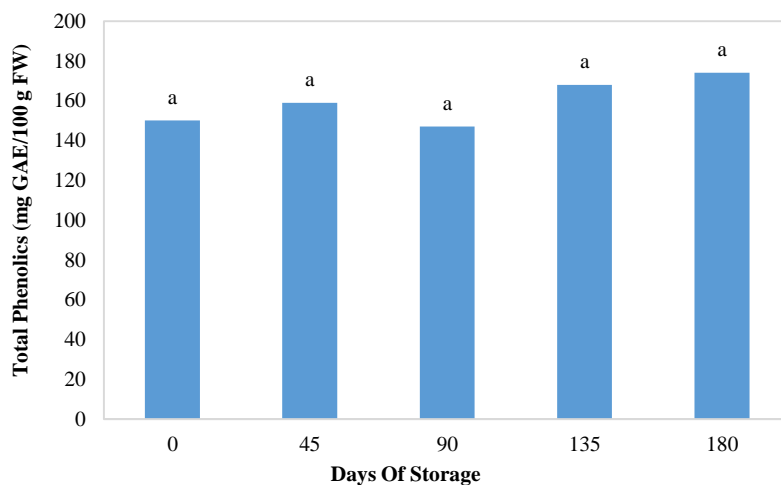
شده در رقم های سیب مک اینتاش (Macintosh)، رد دلیشز (Red Delicious)، جاناگولد (Jonagold)، امپایر (Empire) و گلدن دلیشز (Golden Delicious)، محتوای فنولها طی سه ماه انبارمانی ثابت ماند (Coseteng & Lee, 1987; Rocha & Morais, 2002; Napolitano *et al.*, 2004).

فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز پس از ۱۳۵ و ۱۸۰ روز از انبارمانی کاهش معنی داری را نشان داد (شکل ۳). در برابر این تغییر فعالیت آنزیمی، قهوه ای شدن بافت برش یافته در طی ۱۳۵ روز تا اواخر انبارمانی با افزایش مواجه گردید (شکل ۴).

تفاوتی در محتوای ترکیبات فنولها طی انبارمانی دیده نشده است (Barrett *et al.*, 1991). در برخی تحقیقات نیز این ترکیب طی انبارمانی تغییرات زیادی را نشان داده است که گفته می شود قهوه ای شدن بافت و فعالیت آنزیمهای مربوطه را تحت تأثیر قرار داده است (Burda *et al.*, 1990; Vamos-Vigyazo *et al.*, 1976). در این تحقیق، محتوای فنولها در طی انبارمانی قدری افزایش نشان داد که البته در هیچ یک از زمانهای اندازه گیری این تغییر معنی دار نبود (شکل ۲) و با تحقیق مشابه انجام شده در سیب نیز مطابقت داشت (Ada & Morais, 2002). در تحقیقات انجام



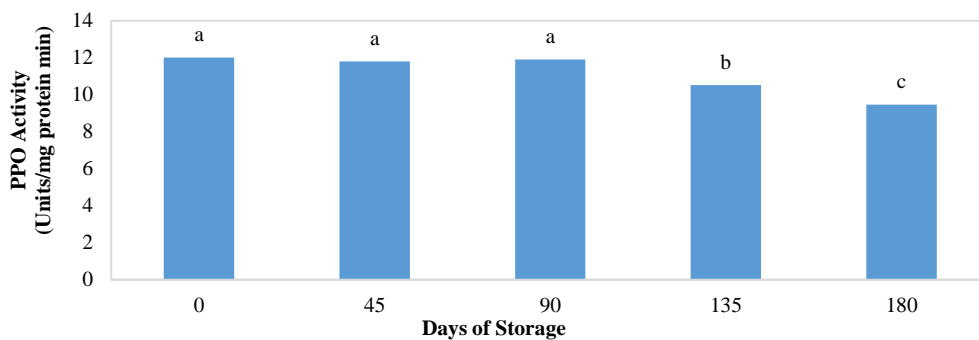
شکل ۱. روند تغییر ظرفیت آنتی اکسیدانی کل میوه سیب رقم فوجی طی ۱۸۰ روز انبارمانی در دمای صفر درجه سانتی گراد.  
Figure 1. Changing procedure of total antioxidant activity in Fuji apple fruit, during 180 days storage at 0 °C.



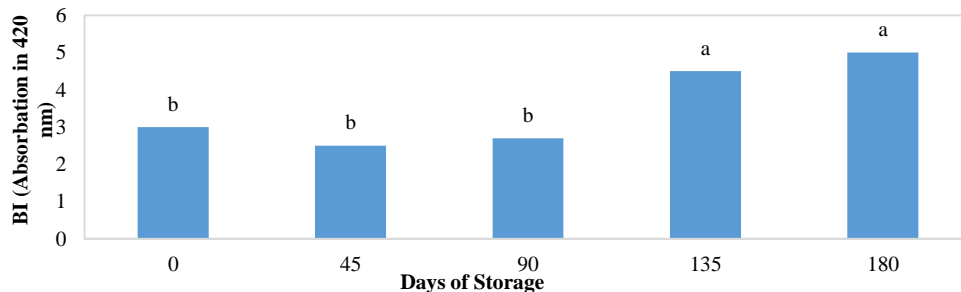
شکل ۲. روند تغییر محتوای فنول کل میوه سیب رقم فوجی طی ۱۸۰ روز انبارمانی در دمای صفر درجه سانتی گراد.  
Figure 2. Changing procedure of total phenolic content in Fuji apple fruit, during 180 days storage at 0 °C.

محتوای مالون‌دی‌آلدئید در زمان قرار دادن میوه‌ها در انبار (دوره اول اندازه‌گیری) پایین‌تر بود و پس از گذشت ۹۰ روز از انبارمانی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۵). مالون دی‌آلدئید که از اکسیدشدن اسیدهای چرب غشای سلولی حاصل می‌شود منجر به افزایش رادیکال‌های آزاد و تسریع پیری می‌شود (Voisine *et al.*, 1993). این شاخص نشان‌دهنده میزان انسجام و کارایی غشای بیولوژیکی سلول است (Bailly *et al.*, 1996).

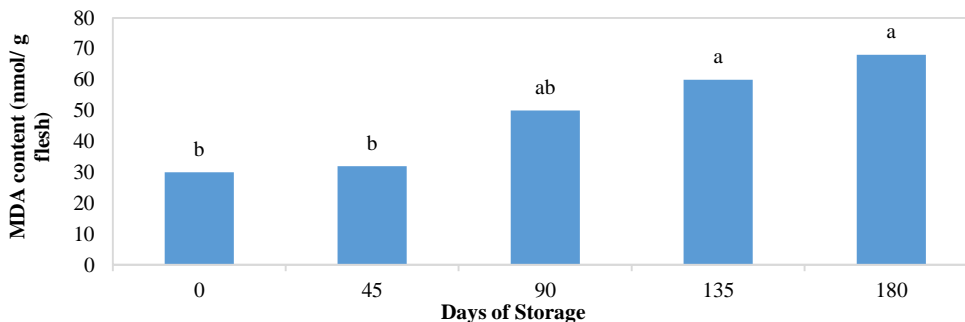
در مطالعات متعددی نشان داده شده است که در برخی از رقم‌های سیب فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز، و در برخی رقم‌های دیگر، ترکیبات فنولی روی قهوه‌ای‌شدن میوه تأثیر دارد (Coseteng & Lee 1987; Milani & Hamed, 2005). قهوه‌ای‌شدن بافت میوه سیب بستگی زیادی به زمان برداشت میوه نیز دارد، زیرا که میوه‌های نارس به واسطه‌ی داشتن فعالیت آنزیمی بالاتر (آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز)، قهوه‌ای‌شدن بیشتری را نشان می‌دهند (Valentines *et al.*, 2005).



شکل ۳. روند تغییر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز میوه سیب رقم فوجی طی ۱۸۰ روز انبارمانی در دمای صفر درجه سانتی‌گراد.  
Figure 3. Changing procedure of poly phenol oxidase (PPO) in Fuji apple fruit, during 180 days storage at 0 °C.



شکل ۴. روند تغییر قهوه‌ای‌شدن میوه سیب رقم فوجی طی ۱۸۰ روز انبارمانی در دمای صفر درجه سانتی‌گراد.  
Figure 4. Changing procedure of Fuji apple fruit browning during 180 days storage at 0 °C.



شکل ۵. روند تغییر در تجمع مالون دی‌آلدئید به‌عنوان فراورده تنش اکسایشی در میوه سیب رقم فوجی طی ۱۸۰ روز انبارمانی در دمای صفر درجه سانتی‌گراد.

Figure 5. Changing procedure of malondialdehyde accumulation as products of oxidative stress in Fuji apple fruit, during 180 days storage at 0 °C.

## نتیجه‌گیری کلی

کارایی می‌تواند منجر به در کنار هم قرارگیری آنزیم و سوبسترا شده و واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی را افزایش دهد (Supapvanich *et al.*, 2012)، و همانطور که در مورد شاخص قهوه‌ای شدن گوشت میوه مشاهده گردید، افزایش آن، هم زمان با افزایش پراکسیده شدن لیپیدها در بافت بود. اگرچه در این زمان، فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز که عامل اصلی قهوه‌ای شدن بافت سیب شناخته می‌شود، پایین بود (Rocha & Morais, 2002). بنابراین محتوای فنولی کل و فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز تنها عوامل اصلی این عارضه طی انبارمانی نبوده و هر شرایطی که پیری بافت را تحریک نماید و انسجام سلولی را بر هم بزند، می‌تواند این حساسیت را افزایش دهد.

نتایج این تحقیق نشان داد مقدار فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز تنها عامل اصلی حساسیت سیب رقم فوجی به قهوه‌ای شدن آنزیمی طی انبارمانی نیست. همچنین نتایج نشان داد افزایش ناچیز ترکیبات فنولی طی انبارمانی با وجود کاهش فعالیت آنزیم، منجر به افزایش حساسیت بافت به قهوه‌ای شدن گردیده و به نوعی می‌توان حساسیت بافت به غلظت ترکیبات فنولی را بسیار بالا دانست. با افزایش پراکسیده شدن لیپیدها از ۹۰ روز انبارمانی به بعد (دور سوم اندازه‌گیری)، می‌توان فرض کرد که غشای سلولی نتواند کارایی و انسجام خود را حفظ نماید و این عدم

## REFERENCES

1. Ada, R. & Morais, A. (2002). Polyphenol oxidase activity and total phenolic content as related to browning of minimally processed 'Jonagored' apple. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 120-126.
2. Amiot, M., Tacchini, J. M., Aubert, S. & Nicolas, J. (1992). Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *Journal of Food Science*, 57 (4), 958-962.
3. Ana, J., Silvia, Z. P. & Jose, A.R. (2015). Revalorization of coffee by-products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. *Food Science and Technology*, 61 (1), 101-122.
4. Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F. & Côme, D. (1996). Changes in malon-dialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated ageing. *Journal of Plant Physiology*, 97 (1), 104-110.
5. Barrett, D.M., Lee, C. Y. & Liu, F. W. (1991). Changes in "Delicious" apple browning and softening during controlled atmosphere storage. *Journal of Food Quality*, 14, 443-445.
6. Begic-Akagic, A., Spaho, N., Orucevic, S., Drkenda, P., Kurtovic, M., Gasi, F., Kopjar, M. & Pilizota, V. (2011). Influence of cultivar, storage time, and processing on the phenol content of cloudy apple juice. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 3 (2), 1-8.
7. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
8. Burda, S., Oleszek, W. & Lee, C.Y. (1990). Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 39, 945-948.
9. Chaparzadeh, N. & Yavari, B. (2013). Antioxidant responses of Golden delicious apple under cold storage conditions. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 4 (1), 907-915. (In Farsi).
10. Coseteng, M. Y. & Lee, C. Y. (1987). Changes in apple polyphenol oxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning. *Journal of Food Science*, 52, 985-989.
11. De Vos, C., Schat, H., De Waal, M., Vooijs, R. & Ernst, W. (1991). Increased to copper-induced damage of the root plasma membrane in copper tolerant *Silene cucubalus*. *Journal of Plant Physiology*, 82, 523-528.
12. Eberhardt, M.V., Lee, C. Y. & Liu, R.H. (2000). Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 405, 903-904.
13. Faniadis, D., Drogoudi, P. & Vasilakakis, M. (2010). Effects of cultivar, orchard elevation, and storage on fruit quality characters of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Scientia Horticulturae*, 125(3), 301-304.
14. Food and Agriculture Organization. (2014). *Food Production in FAO*. Retrieved September 23, 2014, from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
15. Holderbaum, D. M., Kon, T., Kudo, T. & Guerra, M. P. (2010). Enzymatic browning, polyphenol oxidase activity, and polyphenols in four apple cultivars: Dynamics during Fruit development. *Hortscience*, 45(8), 1150-1154.
16. Kevers, C., Pincemails, J., Tabart, J., Defraigne, J.O. & Dommes, J. (2011). Influence of cultivar, harvest time, storage conditions, and peeling on the antioxidant capacity and phenolic and ascorbic acid contents of apples and pears. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (11), 6165-6171.

17. Lata, B. (2008). Apple peel antioxidant status in relation to genotype, storage type and time. *Scientia Horticulturae*, 117 (1), 45-52.
18. Mansouri, S., Babalar, M., Kalantari, S. & Askary Sarcheshme, M. A. (2017). Effect of the foliar spraying of iron and soil application of the ammonium nitrate, on postharvest quality of apple 'Delbar stival'. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 48 (3), 503-515. (in Farsi)
19. Marandi, R. (2009). *Postharvest physiology (Handling and storage of fruits, vegetables, ornamental plants and medicinal herbs)*. (First ed.). Jahad Daneshgahi Azarbaijan Gharbi. (in Farsi)
20. Marangoni, A.G., Palma, T. & Stanley, D.W. (1996). Membrane effects in postharvest physiology. *Postharvest Biology and Technology*, 7, 193-217.
21. Milani, J. & Hamed, M. (2005). Susceptibility of five apple cultivars to enzymatic browning. *Acta Horticulturae*, 682 (3), 2221-2226.
22. Mohebi, M., Babalar, M., Askary Sarcheshme, M. A., & Talaee, A. (2018). Effects of Iron and Nitrogen nutrition on apple fruit (*Malus domestica* cv. Fuji) quality during storage and on mineral contents in fruits and leaves. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 48 (4), 733- 742. (In Farsi).
23. Napolitano, A., Cascone, A., Graziani, G., Ferracane, R., Scalfi, L., Di Vaio, C., Ritieni, A. & Fogliano, V. (2004). Influence of variety and storage on the polyphenol composition of apple flesh. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6526-6531.
24. Ough, C. & Amerine, M. (1988). *Phenolic compounds. Methods for analysis of musts and wine* (2<sup>nd</sup> ed.). John Wiley & Sons, Inc.
25. Patthamakanokporn, O., Puwastien, P., Nitithamyong, A. & Sirichakwal, P. P. (2008). Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(3), 241-248.
26. Plotto, A. A., Azarenko, N., McDaniel, M. R., Crockett, P. W. & Mattheis, J. P. (1997). Eating quality of 'Gala' and 'Fuji' Apples from multiple harvests and storage durations. *HortScience*, 32 (5), 903-908.
27. Rocha, A. M. C. N. & Morais, A. M. M. B. (2002). Polyphenol oxidase activity and total phenolic content as related to browning of minimally processed 'Jonagored' apple. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 120-126.
28. Sadat Moosavi, K. H., Dehghan, G., Hosseini, S. & Jahanban. A. (2014). Effect of five years storage on total phenolic content and antioxidant capacity of almond (*Amygdalus communis* L.) hull and shell from different genotypes. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 5, 24-33.
29. Shewfelt, R.L. (1992). *Response of plant membranes to chilling and freezing*, p.192-219. In: Y.Y. Leshem (ed.). *The plant membrane: A biophysical approach*. Kluwer, Dordrecht, the Netherlands.
30. Supapvanich, S., Prathan, P. & Tepsorn, R. (2012). Browning inhibition in fresh-cut rose apple fruit cv. Taaptimjaan using konjac glucomannan coating incorporated with pineapple fruit extract. *Postharvest Biology and Technology*, 73, 46-49.
31. Sugiura, T., Ogawa, H., Fukuda, N. & Moriguchi, T. (2013). Changes in the taste and textural attributes of apples in response to climate change. *Scientific Reports-Nature*, 3 (7), 2418 -2418.
32. Treutter, D. (2006). Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Environmental Chemistry Letters*, 4, 147-157.
33. Valentines, M., Vilaplana, C. R., Torres, R., Usall, J. & Larrigaudiere, C. (2005). Specific roles of enzymatic browning and lignification in apple disease resistance. *Postharvest Biology and Technology*, 36, 227-234.
34. Vamos-Vigyazo, L., Nadudvari-Markus, V., Mihalyi, I., V. K., Nadudvari, Gajzago, I. & Nadudvari-Markus, V. (1976). Studies into the enzymic browning and polyphenol-polyphenol oxidase complex of apple cultivars. *Confructa*, 21- 24.
35. Voisine, R., Vezina, L.P. & Willemot, C. (1993). Modification of phospholipids catabolism in microsomal membranes of irradiated cauliflower (*Brassica oleracea* L.). *Journal of Plant Physiology*, 102, 213-218.
36. Wills, R. B. H. T., Lee, H., Graham, D., McGlasson, W. B. & Hall, E. G. (1998). *Postharvest: An introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables*. Springer Press.
37. Zomorodi, S. H. (2005). Effect of packing and potassium permanganate on quality and shelf life of apples in cold storage. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 27 (6), 143 -156.