

اثر کلروژنیک اسید بر حفظ کیفیت پس از برداشت خرمالو رقم کرج در طی دوره انبارمانی سرد

بهناز سلیمانی^۱، ولی ربیعی^{۱*}، فرهنگ رضوی^۱، غلامرضا مهدوی نیا^۲، فهیمه نصر^۱

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

^۲ گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۶/۱۹)

چکیده

مشکل اصلی پس از برداشت خرمالو نرم شدن شدید و بروز بیماری در میوه‌ها در زمان نگهداری است. بکارگیری ترکیبات غیرشیمیایی با هدف افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت میوه خرمالو یکی از مهمترین موارد در صنعت میوه خرمالو است. با توجه به اثرات مفید کلروژنیک اسید در حفظ کیفیت و افزایش عمر انبارمانی، در این پژوهش تأثیر تیمار کلروژنیک اسید بر ویژگی‌های کیفی و خواص بیوشیمیایی میوه خرمالو بررسی شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور کلروژنیک اسید در چهار سطح صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار و فاکتور دوم زمان انبارمانی (۱۵، ۳۰ و ۴۵) روز بود که میوه‌های تیمار شده در دمای یک درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰-۸۵ درصد به مدت ۴۵ روز نگهداری شدند. نتایج نشان داد که کلروژنیک اسید ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار غلظت بهینه برای افزایش عمر انباری میوه هستند. بیشترین میزان سفتی، فنول کل، فلاونوئید کل و تانن‌های محلول، آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (۲۵ یونیت بر میلی‌گرم وزن تر) و ویتامین ث (۲۴/۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) در تیمار کلروژنیک اسید ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد داشتند. تیمارهای کلروژنیک اسید ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار (۶۴/۵ درصد) نسبت به شاهد موجب جلوگیری از کاهش اسید آسکوربیک میوه خرمالو در پایان دوره انبارمانی شدند. تیمار میوه‌ها با کلروژنیک اسید ۱۰۰ میکرومولار به طور معنی‌داری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را نسبت به شاهد افزایش داد. با توجه به اثرات مثبت تیمار کلروژنیک اسید بر حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری میوه خرمالو در طی ۴۵ روز انبارمانی چنین به نظر می‌رسد که کاربرد کلروژنیک اسید ۵۰ میکرومولار در مقیاس وسیع به عنوان راهکار مناسب جهت افزایش کیفیت میوه خرمالو قابل توصیه باشد.

واژگان کلیدی: آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز، تانن‌های محلول، خرمالو، کلروژنیک اسید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

برداشت خرمالو نرم شدن شدید و بروز بیماری در میوه‌ها در زمان نگهداری است. بکارگیری کشت و کار خرمالو در طی سال‌های گذشته با گسترش زیادی روبرو شده است و به گزینه مناسبی برای جایگزینی سایر محصولات میوه‌ای در منطقه

خرمالو (*Diospyros kaki* L.) یکی از میوه‌های مغذی است که به علت طعم خوب و ارزش تغذیه‌ای بالا روز به روز تقاضا برای تازه‌خوری آن در حال افزایش است. مشکل اصلی پس از

* نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: rabiei@znu.ac.ir

2013; Santana- Galvez *et al.*, 2017; Kaushik, 2020; Simsek *et al.*, 2023). بیوستز کلروژنیک اسید وابسته به سه آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز/ شیمیک اسید/کوئینیک اسید هیدروکسیل سینامیک ترنسفرز و کوئینیک اسید سینامیک هیدروکسیل ترنسفرز است که افزایش این سه آنزیم کلروژنیک اسید را افزایش می‌دهد (Wang *et al.*, 2022). ترکیبات فنولی مانند کلروژنیک اسید می‌توانند میزان تنفس و کاهش وزن میوه را با بستن روزنه‌ها کاهش دهند (Xi *et al.*, 2016). علاوه بر این، مطالعات نشان می‌دهد که کلروژنیک اسید می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز نقش مهمی در مقابله با سمیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن داشته باشد (Xi *et al.*, 2017b). کاربرد کلروژنیک اسید با کاهش رادیکال‌های آزاد پیری را به تأخیر انداخته و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را در میوه شلیل بهبود بخشیده است (Xi *et al.*, 2017a). در مطالعه دیگر کلروژنیک اسید کیفیت پس از برداشت میوه شلیل را از طریق بهبود سفتی حفظ کرد، به‌طوری‌که غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر کلروژنیک اسید در طی هشت روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد کیفیت میوه را بهبود بخشید (Xi *et al.*, 2017b). تیمار ترکیبی کیتوسان- کلروژنیک اسید (Chitosan-chlorogenic acid conjugate) به عنوان یک پوشش خوراکی کیفیت پس از برداشت هلو را از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، حفظ سفتی، جلوگیری از کاهش وزن میوه بهبود بخشید (Jiao *et al.*, 2019). مطالعه Zhang و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که کلروژنیک اسید با جلوگیری از جوانه‌زنی اسپور قارچ باعث مهار رشد میسلیم و باعث کنترل بیماری‌های قارچی از طریق فعالیت مسیر سیگنالی کلسیم/ کالمودلین در سلول‌های قارچی در کیوی شد. اثر بازدارندگی کلروژنیک اسید در کنترل کپک خاکستری در توت‌فرنگی از طریق آزادسازی کلسیم از آندوپلاسمیک رتیکولوم به میتوکندری و خسارات اکسیداتیو مکرر قابلیت زیستی سلول را کاهش داد (Zhang *et al.*, 2023a). اثرات ضدقارچی و ضد میکروبی کلروژنیک اسید علیه

مدیرانه تبدیل شده است. به این ترتیب، از سال ۲۰۰۳ تا ۲۰۲۳، تولید خرمالو نزدیک به ۱۵۰ درصد افزایش یافته است (FAO, 2023). براساس آمار منتشرشده توسط سازمان جهانی فائو، ایران با سطح زیرکشت حدود ۱۹۷۸ هکتار و تولید حدود ۳۰ هزار تن رتبه دهم را در تولید این محصول به خود اختصاص داده است و از کشورهای پیشرو در تولید خرمالو در منطقه به حساب می‌آید (FAO, 2023).

خرمالو منبع خوبی از ترکیبات زیستی فعال است (Li *et al.*, 2010) و دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالا و خواص درمانی است که برای سلامتی مفید می‌باشد (Vazquez-Hernandez *et al.*, 2010). خرمالو از میوه‌های فرازگرا است که رسیدگی سریع و کاهش سفتی از مهمترین مشکلات آن در دوره پس از برداشت است که منجر به افزایش حساسیت به آسیب‌های مکانیکی، پوسیدگی و کوتاهی عمر میوه خرمالو می‌شود (Khademi *et al.*, 2015). از مهمترین اهداف محققین حفظ سفتی و تأخیر در رسیدگی و کاهش ضایعات و افزایش عمر پس از برداشت میوه‌ها با استفاده از ترکیبات و روش‌های امن برای سلامتی انسان و حفظ محیط‌زیست در مقایسه با روش‌های شیمیایی است (Zhang *et al.*, 2023a; Miao and Xiang, 2020; Shuang *et al.*, 2022). کلروژنیک اسید ($C_{16}H_{18}O_9$)، فراوان‌ترین ترکیب فنولی است که در تعدادی از گیاهان از جمله گوجه‌فرنگی، سیب، آناناس، زغال اخته و قهوه تولید می‌شود. کلروژنیک اسید دارای طیف وسیعی از خواص از جمله فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضدسرطانی و ضد دیابتی است که نقش مفیدی در سلامتی انسان دارد. کلروژنیک اسید به طور کامل از جوانه‌زنی هاگ و رشد میسلیم چندین قارچ بیماری‌زای گیاهی در محصولات زراعی و باغی با برهم‌زدن نفوذپذیری غشاهای قارچی جلوگیری می‌کند، بنابراین پتانسیل کلروژنیک اسید به عنوان یک قارچ کش زیستی را می‌توان برجسته کرد (Zheng *et al.*, 2020). کلروژنیک اسید یک ترکیب فنولی اصلی در گوشت میوه است و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی است که ارتباط مثبتی با توانایی مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارد (Upadhyay and Mohan,

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تیمارها: میوه‌ها در مرحله بلوغ (ابتدای تشکیل رنگ نارنجی) از باغ تجاری واقع در اطراف شهرستان کرج با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۵ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۱۴۰ متر از سطح دریا برداشت شدند (Nasr et al., 2022). پس از حذف میوه‌های صدمه‌دیده و زخمی، میوه‌های سالم و هم اندازه به آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت دانشگاه زنجان منتقل شدند. میوه‌ها بعد از شستشو در آب مقطر و خشک شدن، با غلظت‌های صفر، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ میکرومولار از کلروژنیک اسید (خریداری شده از شرکت سیگما) تیمار شدند (Xi et al., 2017a). میوه‌ها بعد از ۲۰ دقیقه غوطه‌وری در محلول فوق در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) خشک شدند. سپس میوه‌ها (پنج عدد) داخل ظروف پلی‌اتیلنی قرار داده شد و در انبار با دمای ۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰-۸۵ درصد به مدت ۴۵ روز انبار شدند. هر ۱۵ روز سه تکرار از هر تیمارها از انبار خارج و پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی صفات انجام شد.

ارزیابی صفات، سفتی بافت میوه: سفتی بافت میوه توسط دستگاه سفتی‌سنج مدل (OSK 1618) با قطر پروب ۸ میلی‌متری استفاده شد (ATC-20(E) استفاده شد (Li et al., 2016).

میزان اسید آسکوربیک: اندازه‌گیری اسید آسکوربیک با استفاده از روش یدومتريک انجام و بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان شد (Jalilimarandi, 2000).

اندازه‌گیری غلظت فنول کل و محتوی فلاونوئید کل: میزان فنول کل با روش فولین سیکالتو (Folin-Ciocalteu) اندازه‌گیری و میزان جذب در طول موج ۷۲۰ نانومتر بر حسب میلی‌مولار بیان شد (Sharma et al., 2012). محتوی فلاونوئید کل عصاره با روش Kaijv و همکاران (۲۰۰۶) اندازه‌گیری شد و میزان جذب در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده و بر حسب میلی‌مولار بیان شد.

اندازه‌گیری غلظت تانن محلول: اندازه‌گیری غلظت تانن

پاتوزن‌های گیاهی اثبات شده است (Martinez et al., 2017). در پژوهش Wang و همکاران (۲۰۱۴) رابطه بین پاسخ‌های دفاعی در گیاهان با میزان کلروژنیک اسید را در سیب اثبات کردند که مقادیر بالای کلروژنیک اسید سبب مقاومت بالای میوه سیب شد. در پژوهشی Zhang و همکاران (۲۰۲۳b) تیمار کلروژنیک اسید را مؤثر در افزایش محتوی فنل و فلاونوئید، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) و افزایش انبارماني در گلابی‌های زخمی دانستند. در پژوهش Simsek و همکاران (۲۰۲۳) تیمار کلروژنیک اسید از طریق افزایش میزان فنل کل مؤثر در افزایش عمر انبارماني فندق بود. Xi و همکاران (۲۰۱۶) در پژوهشی مکانسیم کلروژنیک اسید را در کنترل انبارماني سیب از طریق اثر بر پروتئین‌های رسیدن و پیری نظیر لیپوکسیژناز، بتاگالاکتوزیداز، آنزیم مالیک ان‌ای‌دی‌پی و فعالیت پیروفسفوریلز گلوکز یودی پی بررسی نمودند و نشان دادند که کاهش فعالیت آنزیم مالیک ان‌ای‌دی‌پی در تیمار کلروژنیک اسید تنفس و تولید اتیلن را کاهش و عمر انبارماني را افزایش داد. در پژوهش دیگری غلظت ۱۵۰-۲۵ میلی‌گرم در لیتر کلروژنیک اسید در کنترل کپک پنیسیلیوم در میوه هلو استفاده شد که از طریق تحریک فعالیت مسیر سیگنالی سالیسیلیک اسید در ایجاد مقاومت به بیماری گیاهی مؤثر بود (Jiao et al., 2018). در مطالعه‌ای تأثیر تیمار کلروژنیک اسید در توت‌فرنگی بررسی شد، نتایج نشان داد که این تیمار از طریق کاهش فعالیت آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز اتیلن و افزایش آدنوزین تری‌فسفات، آدنوزین کلسیم تری‌فسفات، سوکسینیک دهیدروژناز و سیتوکروم C اکسیداز باعث حفظ کیفیت میوه توت‌فرنگی در دوره پس از برداشت شد (Shuang et al., 2022).

با توجه به ارزش غذایی و اهمیت میوه خرمالو که ایران یکی از بزرگترین تولیدکننده آن در منطقه است، حفظ کیفیت و کاهش ضایعات پس از برداشت آن ضروری به نظر می‌رسد. از این‌رو هدف از پژوهش حاضر بررسی نقش تیمار پس از برداشت کلروژنیک اسید بر حفظ کیفیت و خواص بیوشیمیایی میوه خرمالو و افزایش عمر انبارماني آن بود.

میکرومولار)، فاکتور دوم زمان انباری در سه زمان (۱۵، ۳۰، ۴۵) بود. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

سفتی بافت میوه: نتایج نشان داد که اثر تیمار، اثر زمان بررسی و اثر متقابل تیمار و زمان بررسی در سطح احتمال یک درصد بر میزان سفتی بافت میوه معنی‌دار بود (جدول ۲). در زمان برداشت سفتی بافت میوه ۴/۷ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع بود که در طی ۴۵ روز انبارمانی کاهش یافت (جدول ۱). نتایج تجزیه واریانس نشان داد کلروژنیک اسید تأثیر معنی‌داری بر میزان سفتی بافت میوه خرمالو داشت. کاهش سفتی بافت میوه خرمالو در شاهد نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود (شکل ۱). در زمان بررسی ۱۵ روز تفاوتی بین تیمارها از نظر میزان سفتی بافت میوه مشاهده نشد. در زمان بررسی ۳۰ و ۴۵ روز تیمار کلروژنیک اسید ۱۰۰ میکرومولار به طور مؤثری موجب جلوگیری از کاهش سفتی بافت میوه شد و اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین این تیمار با تیمار کلروژنیک اسید ۵۰ میکرومولار نداشت (شکل ۱). بیشترین میزان سفتی بافت میوه در پایان انبارمانی در تیمار کلروژنیک اسید ۱۰۰ میکرومولار (۲/۰۶ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) و کمترین میزان سفتی بافت میوه در پایان انبارمانی در شاهد (۰/۹۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) مشاهده شد. سفتی بافت میوه یکی از ویژگی‌های مهم میوه در پس از برداشت است. میوه‌های نابالغ دارای فعالیت بسیار اندک آنزیم پلی‌گالاکتروناز، پکتین متیل استراز و سلولاز بوده و با رسیده‌تر شدن میوه، فعالیت این آنزیم‌ها به طور چشمگیری افزایش می‌یابد (Goulao et al., 2007). این آنزیم‌ها در کاهش سفتی بافت میوه دخالت دارند (Wang et al., 2022). کلروژنیک اسید از طریق کاهش تولید اتیلن و کاهش فعالیت آنزیم‌های نرم‌کننده دیواره سلولی مانند پلی‌گالاکتروناز، سلولاز و پکتین متیل استراز باعث جلوگیری از نرم شدن بیشتر میوه می‌شود و با افزایش دوره ماندگاری از تخریب سلولی به

محلول نمونه‌ها پس از عصاره‌گیری نمونه‌ها با متانول ۸۰ درصد، بر طبق روش فولین دینیز انجام و بر حسب پی‌پی‌ام (قسمت در میلیون) محاسبه شد (Taira et al., 1997).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH در طول موج ۵۱۷ نانومتر بر طبق رابطه (۱) بدست آمد (Dehghan and khoshkam, 2012).

رابطه (۱)

$$DPPH = (OD \text{ control} - OD \text{ sample}) / OD \text{ control} \times 100$$

OD sample: جذب نمونه حاوی عصاره، OD control: جذب شاهد

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL): ۳۰۰

میلی‌گرم از بافت میوه در ۶/۵ میلی‌لیتر بافر Tris-HCl (50mM) با pH = ۸/۲ روی یخ سائیده تا حالت همگن ایجاد و سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و محلول رویی از رسوب با دقت جدا و بر روی یخ قرار گرفت که حاوی آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز بود. فعالیت آنزیم با اندازه‌گیری میزان جذب محلول در طول موج ۲۹۰ نانومتر تعیین و بر حسب یونیت بر گرم وزن تر میوه U/g FW گزارش شد (Wang et al., 2006).

مقدار کاروتنوئید کل: مقدار کاروتنوئید کل براساس

روش Wang و همکاران (۲۰۰۶) محاسبه و از رابطه (۲) استفاده شد.

رابطه (۲)

$$\text{کاروتنوئید کل} = OD(480nm) \times 4$$

OD(480nm): جذب در طول موج ۴۸۰ نانومتر، ۴: عدد ثابت

میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز: میزان فعالیت آنزیم

پلی‌فنول اکسیداز به روش (Aghdam et al., 2019) و با استفاده از کاتکول به عنوان سوبسترا و افزایش در جذب در طول موج ۴۱۰ نانومتر در چهار دقیقه انجام شد. فعالیت آنزیم براساس واحد در میلی‌گرم وزن تر در دقیقه بیان شد.

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل تیمار کلروژنیک اسید در چهار سطح (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰

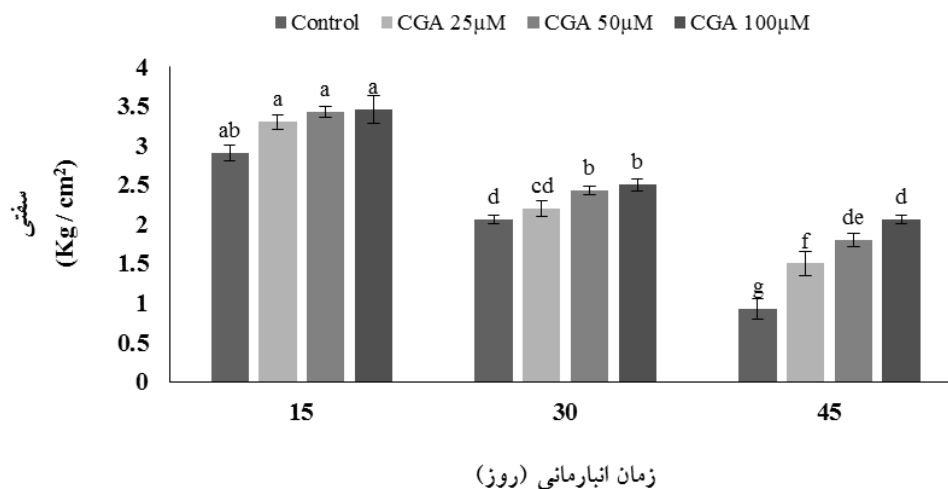
جدول شماره ۱- صفات کیفی و بیوشیمیایی میوه خرمالو رقم کرج در زمان صفر (برداشت)

سفتی	ویتامین ث	کاروتنوئید کل	تانن	فلاونوئید کل	فنول کل	ظرفیت آنتی	فنیل آلانین	پلی فنل
(kg/cm ²)		(mg/100gFw)	(PPM)	(mg/kgFW)	(mg/kgFW)	اکسیدانی کل	آمونیاکسیداز	اکسیداز
						(%)	(U/mgFW)	(U/mgFW)
۴/۷	۲۵/۷	۰/۴۵	۱/۲۰	۶۹۵	۸۴۴۰	۸۸/۵	۲۳/۶	۲۲/۲

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمار کلروژنیک اسید بر صفات کیفی و عمر ماندگاری میوه خرمالو در مدت زمان انبارمانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	سفتی میوه	ویتامین ث	تانن محلول	فلاونوئید کل	فنول کل
تیمار	۳	۰/۶۲**	۲۶/۰۱**	۶۵۳۴۰۲/۷**	۷۴۶۸۳**	۳۷۴۵۵۲/۶**
زمان انبارمانی	۲	۱۰/۵**	۳۱۷/۶۸**	۸۷۴۰۲۰۸/۲**	۵۷۶۸۳/۵**	۴۰۶۸۷۱۷/۶**
تیمار × زمان انبارمانی	۶	۰/۱۸**	۴/۵۲*	۱۰۴۶۵۲/۷**	۱۲۵۹/۹**	۳۷۹۵۳/۳*
خطا	۲۴	۰/۰۴۸	۱/۷۰	۴۴۹۳۳۰/۵	۱۶۲/۳	۱۲۷۰۵/۴
ضریب تغییرات	۳/۱	۳/۱	۱۶/۳	۱۲/۶	۱۸/۶	۱۰/۷

ns, * و ** به ترتیب نبود تفاوت معنی دار و تفاوت معنی دار در سطح پنج و یک درصد



شکل ۱- تأثیر تیمار کلروژنیک اسید بر کاهش سفتی میوه خرمالو در طول انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ روز. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد است.

کلروژنیک اسید با کاهش پروتئین دهیدرین (dehydrin protein) موجب حفظ سفتی بافت میوه سیب شده است (Xi et al., 2016).

آسکوربیک اسید: بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمار، زمان بررسی در سطح یک درصد و اثر متقابل تیمار و زمان

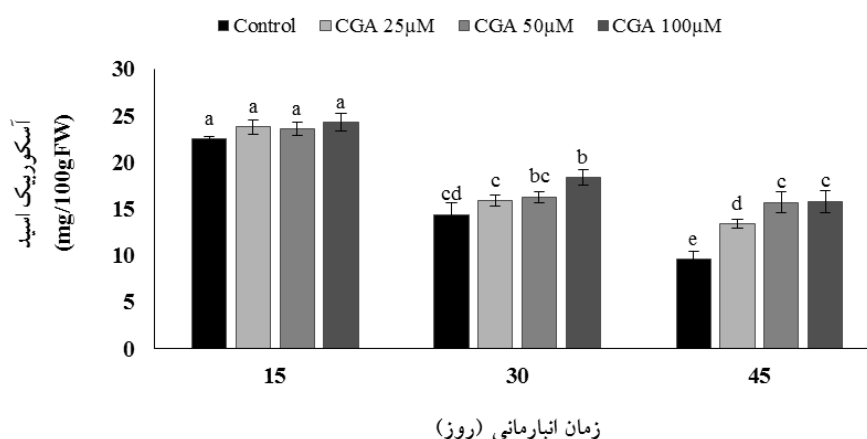
دلیل پیری جلوگیری می کند (Xi et al., 2017a). نتایج این آزمایش با نتایج پژوهش ها مطابقت دارد به طوری که تیمار کلروژنیک اسید به طور معنی داری موجب کاهش فعالیت آنزیم های مؤثر در کاهش سفتی و حفظ استحکام بافت میوه هلو شد (Jiao et al., 2018). همچنین در پژوهشی دیگر تیمار

بررسی در سطح پنج درصد بر اسید آسکوربیک میوه خرمالو معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد میزان اسید آسکوربیک در زمان صفر ۲۷/۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر بود که در طی انبارمانی در همه نمونه‌ها کاهش یافت (جدول ۱). تیمار کلروژنیک اسید از کاهش بیشتر اسید آسکوربیک به‌طور مؤثری جلوگیری کرد. در زمان‌های بررسی ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز بیشترین میزان اسید آسکوربیک در تیمار ۱۰۰ میکرومولار کلروژنیک اسید مشاهده شد و اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین تیمارها از نظر اسید آسکوربیک مشاهده نشد. در زمان بررسی ۳۰ روز بیشترین میزان اسید آسکوربیک در تیمار ۱۰۰ میکرومولار کلروژنیک اسید (۱۸/۵۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) و در پایان انبارمانی کمترین میزان اسید آسکوربیک در شاهد (۹/۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل ۲). تیمارهای کلروژنیک اسید ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار (۶۴/۵ درصد) نسبت به شاهد موجب جلوگیری از کاهش اسید آسکوربیک میوه خرمالو در پایان دوره انبارمانی شدند. اسید آسکوربیک یک ویتامین محلول در آب است که در بسیاری از غذاها به ویژه میوه و سبزی‌ها وجود دارد. اسید آسکوربیک یک آنتی‌اکسیدان قوی است و تأثیرات مثبت بر سلامت پوست و تقویت سیستم ایمنی بدن دارد. این ویتامین در طول مدت نگهداری یا رسیدگی میوه تجزیه شده و مقدار آن کاهش می‌یابد (Jiang et al., 2012). اسید آسکوربیک جزء مواد آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی است که در طی دوره انبارمانی بر اثر افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به سرعت تجزیه شده و مقدار آن کاهش می‌یابد (Jiang et al., 2012). کلروژنیک اسید با تخریب و جلوگیری از تولید گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش آسیب اکسیداتیو موجب حفظ اسید آسکوربیک در پس از برداشت می‌شود (Yaman and Bayoındirli, 2002). کلروژنیک اسید توانایی حذف رادیکال‌های آزاد را دارد (Wang et al., 2014). تیمار کلروژنیک اسید با حذف رادیکال‌های آزاد و تأخیر در رسیدن از طریق تنظیم فعالیت اسید آسکوربیک اکسیداز و فنول اکسیداز در میوه از اکسیداسیون اسید آسکوربیک جلوگیری و

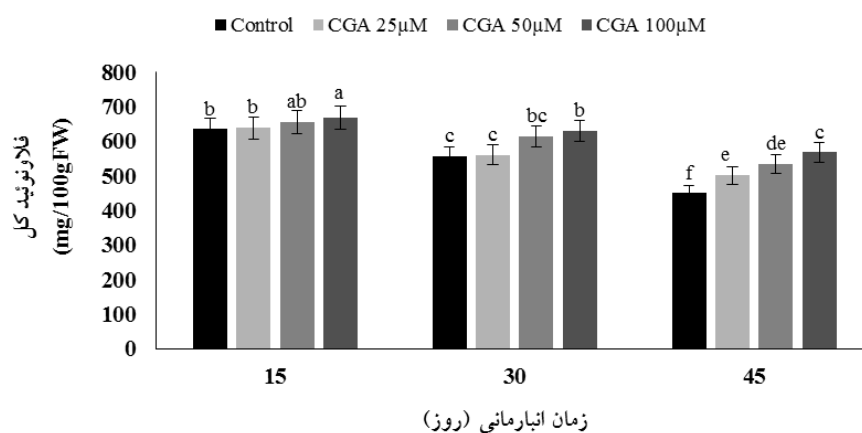
موجب حفظ آسکوربیک اسید در میوه هلو در پس از برداشت شده است (Jiao et al., 2019). نتایج به دست آمده از این مطالعه با نتایج این محققان مطابقت دارد.

میزان فلاونوئید و فنول کل: نتایج نشان داد که اثر تیمار،

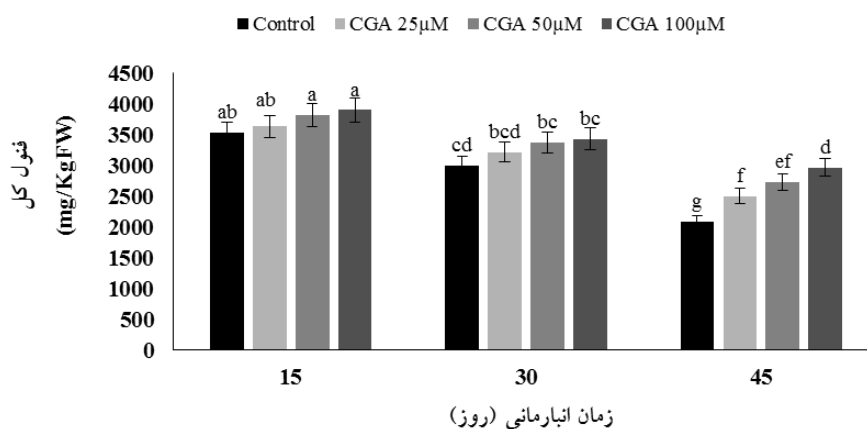
زمان بررسی و اثر متقابل تیمار و زمان بررسی بر میزان فلاونوئید کل در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج حاصل از اندازه‌گیری فلاونوئید کل میوه‌ها نشان داد که با افزایش طول دوره انبارمانی میزان فلاونوئید کل میوه‌ها به صورت جزئی کاهش یافت. اختلاف معنی‌داری بین تیمار کلروژنیک اسید ۱۰۰ و ۵۰ میکرومولار از نظر میزان فلاونوئید کل در ۳۰ و ۴۵ روز انبارمانی مشاهده نشد. در پایان دوره انبارمانی کمترین میزان فلاونوئید کل در شاهد (۴۸۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مشاهده شد (شکل ۳). در پایان دوره انبارمانی تیمارهای کلروژنیک اسید ۱۰۰ و ۵۰ میکرومولار (۲۶/۲۲ و ۱۸/۸ درصد) موجب جلوگیری از کاهش فلاونوئید کل میوه خرمالو نسبت به شاهد شدند (شکل ۴). میزان فنول کل نیز با افزایش طول دوره انبارمانی میوه‌ها کاهش یافت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار و اثر زمان بررسی در سطح یک درصد و اثر متقابل تیمار و زمان بررسی بر میزان فنول کل در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در زمان بررسی ۱۵ روز اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین تیمارها و شاهد از نظر فنول کل مشاهده نشد. در زمان بررسی ۳۰ و ۴۵ روز نمونه‌های تیمار کلروژنیک اسید ۱۰۰ میکرومولار به طور معنی‌داری موجب حفظ فنول کل نسبت به شاهد شد. در پایان دوره انبارمانی تیمار کلروژنیک اسید ۱۰۰ و ۵۰ میکرومولار (۴۲/۳۹ و ۳۱/۲۰ درصد) موجب جلوگیری از کاهش فنول میوه خرمالو نسبت به شاهد شدند (شکل ۴). فنول و فلاونوئید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی هستند که میزان آنها در طی دوره انبارمانی در اثر افزایش رادیکال‌های آزاد و افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز کاهش می‌یابد (Zhang et al., 2013a). از طرفی پدیده تجمع ترکیبات فنولیک با تولید اتیلن میوه‌های فرازگرا به نقش اتیلن در متابولیسم ترکیبات فنولیک نسبت داده می‌شود که زمانی که تولید اتیلن متوقف می‌شود تجمع فنول



شکل ۲- تأثیر تیمار کلروژنیک اسید بر آسکوربیک اسید خرمالو در طول انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ روز. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد است.



شکل ۳- تأثیر تیمار کلروژنیک اسید بر فلاونوئید کل در طول انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ روز. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد است.



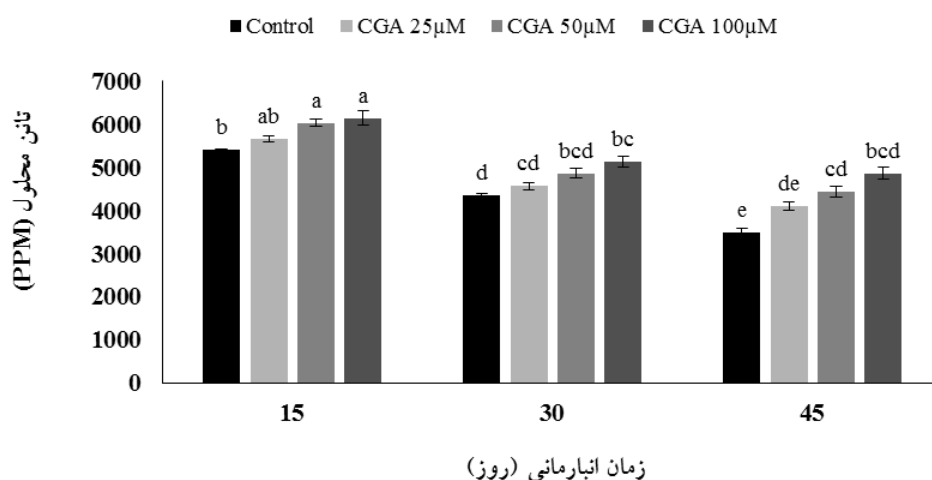
شکل ۴- تأثیر تیمار کلروژنیک اسید بر فنول کل در طول انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ روز. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد است.

محلول و سفتی میوه خرمالو وجود دارد و میوه‌های سفت‌تر دارای تانن محلول بیشتری هستند (Naser et al., 2018). کلروژنیک اسید از طریق افزایش ترکیبات فنولیک موجب حفظ تانن محلول نسبت به شاهد شد (Xi et al., 2016).

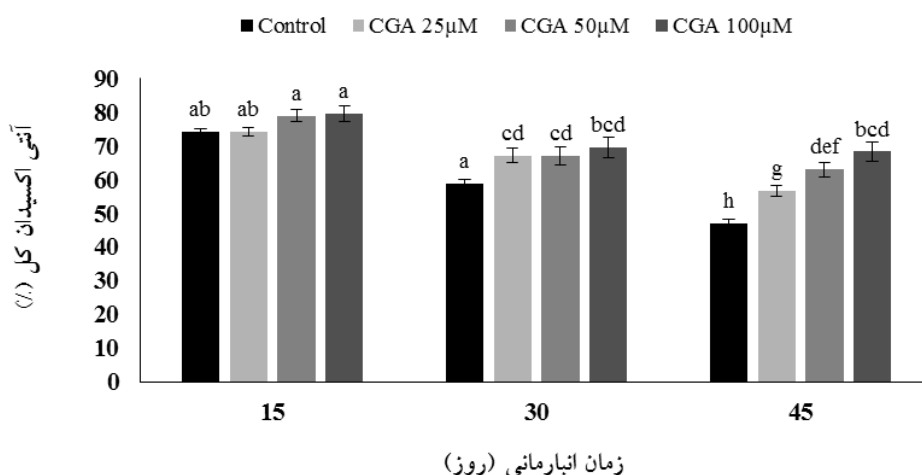
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل: نتایج جدول ۲ نشان داد اثر تیمار، زمان بررسی و اثر متقابل تیمار و زمان بررسی در سطح یک درصد بر میزان آنتی‌اکسیدان کل معنی‌دار شد. با گذشت زمان آزمایش مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی تمامی نمونه‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت. در زمان بررسی ۱۵ روز، تفاوتی به لحاظ آماری بین تیمارها و شاهد مشاهده نشد. در زمان بررسی ۳۰ و ۴۵ روز تیمار کلروژنیک اسید ۵۰ میکرومولار به طور مؤثری موجب حفظ ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه خرمالو شد. در پایان دوره انبارمانی بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار کلروژنیک اسید ۱۰۰ میکرومولار مشاهده شد (شکل ۶). پژوهش‌های پیشین ارتباط مثبتی بین ترکیبات فنولی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ایجاد که بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با بیشترین ترکیبات فنولی همراه است (Shu et al., 2020). کلروژنیک اسید یک مکانیسم کامل آنتی‌اکسیدانی دارد (Duarte et al., 2010). ساختار پلی‌هیدروکسیل آن جمع‌کننده رادیکال‌های آزاد است و مسیر سیگنالی آنتی‌اکسیدانی فعال، بیان ژن‌های مربوطه و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را بالا برده و فعالیت سیستم‌های اکسیداز درونی را همراه با پروتئین‌ها تنظیم می‌کنند (Wang et al., 2022). یافته‌های Xi و همکاران (۲۰۱۷b) مؤید نقش کلروژنیک اسید در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه شلیل بود. طی مطالعه‌ای Zhang و همکاران (۲۰۲۰) تأثیر کلروژنیک اسید در حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی کیوی را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که کلروژنیک اسید از طریق مسیر سیگنالی $Ca^{2+}/calmodulin$ و حذف رادیکال‌های آزاد موجب حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه می‌شود. پژوهش دیگر هم نقش کلروژنیک اسید را در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش رادیکال‌های آزاد در گوجه گیلاسی مؤثر دانست (Kai et al., 2021).

کل به تأخیر افتاد (Liu et al., 2015). کلروژنیک اسید جز ترکیبات فنولی است که با افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیز و کاهش رادیکال‌های آزاد و افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیز موجب جلوگیری از کاهش فنول و فلاونوئید کل در پس از برداشت توت‌فرنگی (Zhang et al., 2023a)، میوه شلیل (Xi et al., 2017b) و سیب (Xi et al., 2016) شده است که نتایج ما منطبق با پژوهش‌های ذکرشده است.

تانن محلول کل: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار، زمان بررسی و اثر متقابل تیمار و زمان بررسی در سطح یک درصد بر میزان تانن محلول معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج نشان داد که میزان تانن محلول در زمان برداشت ۶۲۳۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که در طی انبارمانی در تمامی نمونه‌ها کاهش یافت. در زمان بررسی ۱۵ روز اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین تیمارها از نظر تانن محلول مشاهده نشد. در زمان بررسی ۳۰ و ۴۵ روز بیشترین میزان تانن محلول در تیمار کلروژنیک اسید ۱۰۰ میکرومولار مشاهده شد که به طور مؤثری مانع از کاهش تانن محلول در میوه‌های خرمالو شد. کمترین میزان تانن محلول در شاهد در پایان انبارمانی مشاهده شد (شکل ۵). تیمار کلروژنیک اسید ۱۰۰ میکرومولار (۳۹/۰۲ درصد) و تیمار کلروژنیک اسید ۵۰ میکرومولار (۲۶/۶ درصد) نسبت به شاهد موجب جلوگیری از افزایش تانن محلول خرمالو در طی ۴۵ روز انبارمانی شدند (شکل ۵). تانن‌ها از گروه ترکیبات فنولی هستند که جزء ترکیبات اصلی میوه خرمالو است (Taira et al., 1997). در خرمالوهای گس منجمله رقم کرج تانن‌ها به صورت محلول هستند که در زمان نرم‌شدن و رسیدن میوه، پلی‌ساکاریدها و پکتین‌های محلول به تانن‌ها متصل و آن‌ها را به صورت تانن نامحلول تبدیل می‌کنند (Khademi et al., 2015). میزان تانن محلول از مشخصه‌های اصلی در ارتباط با کیفیت میوه خرمالو رسیده است (Ramin and Tabatabaie, 2003). میزان تانن محلول در طول ذخیره‌سازی به طور مداوم کاهش می‌یابد که به علت تشکیل کمپلکس بین پکتین آزاد شده از دیواره سلولی و تانن است. همبستگی مثبتی بین تانن



شکل ۵- تأثیر تیمار کلروژنیک اسید بر تانن محلول در طول انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ روز. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد است.



شکل ۶- تأثیر تیمار کلروژنیک اسید بر ظرفیت آنتی اکسیدان کل طول انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ روز. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد است.

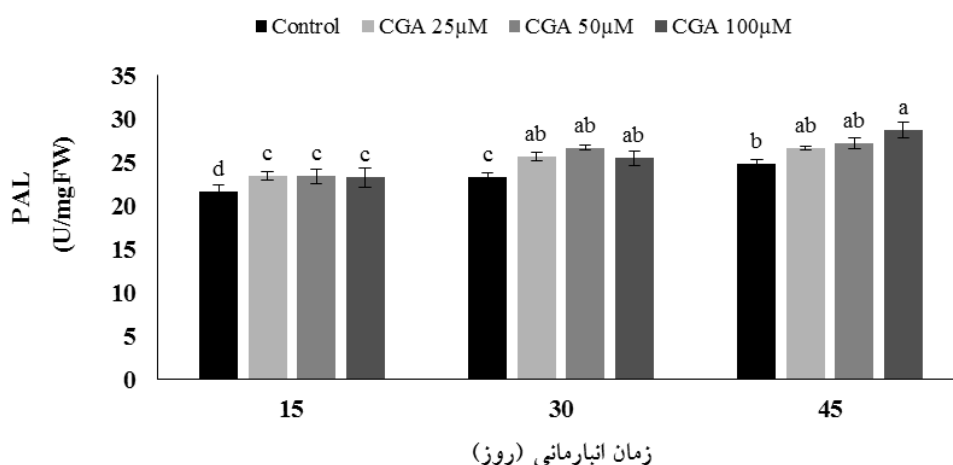
روز انبارمانی اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین تیمارهای کلروژنیک اسید از نظر میزان فعالیت آنزیم مشاهده نشد. همه تیمارها در افزایش میزان فعالیت آنزیم نسبت به شاهد در طی دوره انبارمانی مؤثر بودند. در پایان دوره انبارمانی کمترین میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلیاز در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۷). میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلیاز با مقدار فنول کل به دست آمده نوعی هماهنگی نشان داد. بنابراین با افزایش فعالیت این آنزیم سنتز و تجمع ترکیبات فنلی افزایش

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلیاز (PAL): نتایج جدول ۳ نشان داد اثر تیمار، زمان بررسی و اثر متقابل تیمار و زمان بررسی در سطح یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلیاز معنی‌دار شد. نتایج پژوهش نشان داد میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلیاز در طی دوره انبارمانی افزایش یافت ولی تیمار کلروژنیک اسید ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ میکرومولار به طور معنی‌داری موجب جلوگیری (۳۲، ۲۸ و ۲۷ درصدی) نسبت به شاهد در پایان دوره انبارمانی شد. در زمان ۱۵، ۳۰ و ۴۵

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمار کلروژنیک اسید بر صفات کیفی و عمر ماندگاری میوه خرمالو در مدت زمان انبارمانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		فنیل آلانین آمونیالیاز	کاروتنوئید کل	پلی فنول اکسیداز	آنتی اکسیدان کل
تیمار	۳	۲۲/۳**	۰/۰۱۰ ^{ns}	۵/۰۶ ^{ns}	۲۲۰/۷**
زمان انبارمانی	۲	۲۵/۶**	۰/۰۳۲*	۳/۲۲*	۹۹۶/۰۲**
تیمار × زمان انبارمانی	۶	۶/۹۰**	۰/۰۰۲ ^{ns}	۱/۹۱ ^{ns}	۵۶/۵۰**
خطا	۲۴	۱/۴۵	۰/۰۰۹	۱۱/۴۷	۱۱/۹۱
ضریب تغییرات		۵/۲	۱/۸	۸/۲	۵/۸

^{ns}، * و ** به ترتیب نبود تفاوت معنی دار و تفاوت معنی دار در سطح پنج و یک درصد

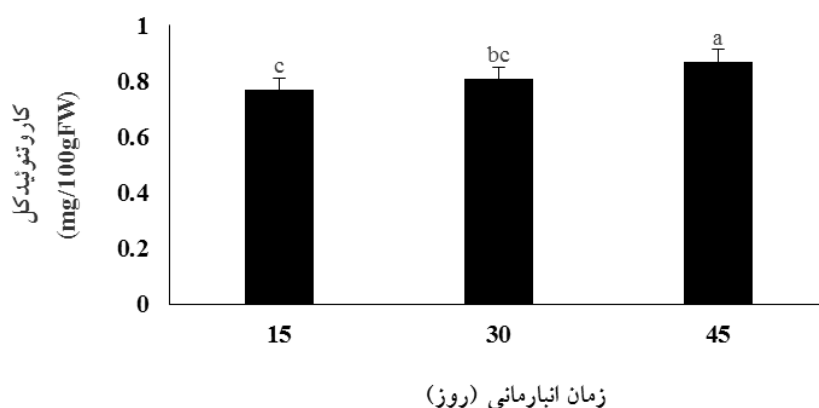


شکل ۷- تأثیر تیمار کلروژنیک اسید بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز طول انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ روز. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد است.

پژوهش حاضر منطبق با آن است (Zhang *et al.*, 2023a). کلروژنیک اسید موجب تحریک فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در هلو (Jiao *et al.*, 2018) و کیوی شده است (Zhang *et al.*, 2020) که نتایج ما منطبق با نتایج این پژوهش‌ها است.

کاروتنوئید کل: بر اساس جدول ۳ اثر زمان بررسی بر میزان کاروتنوئید کل محلول در سطح پنج درصد معنی دار شد ولی اثر تیمار و اثر متقابل تیمار و زمان بررسی معنی دار نشد. میزان کاروتنوئید کل در زمان صفر ۰/۴۵ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر بود که میزان آن در طی انبارمانی افزایش یافت و میزان آن در طی ۱۵ روز انبارمانی به ۰/۷۲ میلی گرم در ۱۰۰ گرم

یافته و در نهایت ترکیبات فنولی با خواص آنتی اکسیدانی بالا، باعث افزایش مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده می‌شود (Eraslan *et al.*, 2007). آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز به عنوان آنزیم کلیدی در متابولیسم فنیل پروپانوئیدی تبدیل فنیل آلانین به ترانس سینامیک اسید را کاتالیز می‌نماید که اولین مرحله در بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها بوده و منجر به تولید متابولیت‌های ثانویه مانند لیگنین، فیتوالکسین‌ها و فلاونوئیدها می‌گردد (Bagal *et al.*, 2012). فنیل آلانین آمونیالیاز یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز ترکیبات فنولی مانند کلروژنیک اسید است و در پاسخ دفاعی در گیاهان نقش دارد و فعالیت PAL در تیمار کلروژنیک اسید در توت‌فرنگی نیز افزایش یافت که یافته‌های

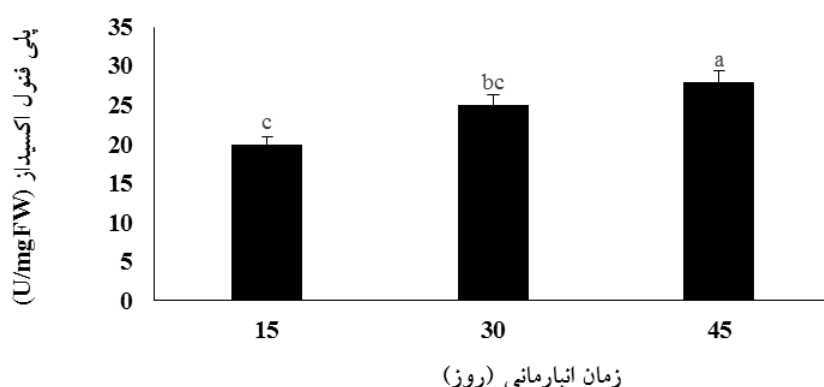


شکل ۸- تأثیر تیمار کلروژنیک اسید بر کاروتنوئید کل طول انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ روز. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد است.

از افزایش آن جلوگیری کرد ولی بین تیمار شاهد و تیمارهای کلروژنیک اسید تفاوت معنی داری به لحاظ آماری مشاهده نشد (شکل ۹). قهوه‌ای شدن آنزیمی میوه‌ها در اثر اکسیداسیون ترکیبات فنلی مربوط به کینون‌ها است. این واکنش توسط آنزیم پلی فنل اکسیداز در حضور اکسیژن صورت می‌گیرد و باعث به وجود آمدن رنگیزه‌های قهوه‌ای می‌شود (Tosovic et al., 2017). این تغییر رنگ قهوه‌ای شدن منجر به تغییرات ارگانولپتیک و تغذیه‌ای در بافت گیاهی شده و از این رو باعث تغییرات کیفی و ظاهری نامطلوب در محصولات می‌شود (Zhang et al., 2015). آنزیم پلی فنل اکسیداز تقریباً قادر تمامی بافت‌های گیاهی دیده می‌شود (Ngadze et al., 2012). سوبسترای این آنزیم ترکیبات فنلی حاوی یک حلقه آروماتیک با داشتن یک یا چند گروه هیدروکسیل مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانیدین‌ها، تیروزین و سینامیک اسید می‌باشد (Unal et al., 2011). فعالیت این آنزیم توسط میزان تنفس، غلظت عناصر غذایی، استحکام بافت میوه و آنتی‌اکسیدان‌ها تنظیم می‌شود و عواملی نظیر زمان برداشت و دما، ترکیب گازی اتمسفر و شرایط محیطی نیز بر فعالیت آن مؤثر است (Khoshghalb et al., 2008). تعدادی ترکیبات مهارکننده فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز از جمله اسید آسکوربیک، سیتریک اسید و ترکیبات دیگر حاوی گروه تیول مانند سیستئین، گلوتاتیون و پپتیدها گزارش شده است (Holzwarth et al., 2013). Jiao و همکاران (۲۰۱۸) طی مطالعه‌ای در هلو تیمار کلروژنیک اسید

وزن تر، در زمان بررسی ۳۰ روزه به ۰/۸۱ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر و در پایان انبارمانی به ۰/۸۸ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر رسید. اختلاف معنی داری بین تیمارها و شاهد از نظر کاروتنوئید کل وجود نداشت و تیمارها در جلوگیری از تغییرات کاروتنوئید کل در این آزمایش تأثیری نداشتند (شکل ۸). خرمالو سرشار از کاروتنوئیدها به خصوص بتاکاروتن است که به کریپتوسانتین می‌تواند تبدیل شود (Kumazawa et al., 2002). در کلروپلاست‌ها کاروتنوئیدها به عنوان رنگیزه کمکی عمل می‌کنند ولی نقش مهم‌تر آنها نقش آنتی‌اکسیدانی آن است. شروع سنتز کاروتنوئیدها در مراحل اولیه نمو میوه منجر به تجمع و افزایش کاروتنوئیدها در مرحله رسیدن در گوشت میوه می‌شود (Alquezar et al., 2008). نتایج این پژوهش در مورد کاروتنوئیدها مغایر با Nasr و همکاران (۲۰۲۲) در میوه خرمالو بود. همچنین Xi و همکاران (۲۰۱۷b) کلروژنیک اسید را مؤثر در افزایش بتاکاروتن شلیل تا رسیدن به پیک و سپس در طول ذخیره کاهش یافت که یافته ما منطبق با آن نبود.

پلی فنل کسیداز: بر اساس جدول ۳ اثر زمان بررسی بر میزان کاروتنوئید کل محلول در سطح پنج درصد معنی دار شد ولی اثر تیمار و اثر متقابل تیمار و زمان بررسی معنی دار نشد. نتایج بدست آمده نشان‌دهنده روند افزایشی فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز طی نگهداری میوه خرمالو در دمای ۱ درجه سانتی‌گراد در طول انبارمانی در تمام میوه‌ها اعم از تیمار شده با کلروژنیک اسید و تیمار شاهد شد اما تیمار کلروژنیک اسید



شکل ۹- تأثیر تیمار کلروژنیک اسید بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز طول انبارمانی در دمای ۱ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ روز. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد است.

همچنین میوه‌های تیمارشده با کلروژنیک اسید ۱۰۰ و ۵۰ میکرومولار بیشترین میزان فنول کل، فلاونوئید کل و درصد سفتی بافت میوه را در پایان دوره انبارمانی نشان دادند. تیمار کلروژنیک اسید ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار در حفظ کیفیت و افزایش عمر انبارمانی میوه خرمالو مؤثرتر بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که میوه‌های شاهد پس از ۴۵ روز انبارمانی از نظر اکثر شاخص‌های کیفی مورد بررسی، افت قابل توجهی داشتند، درحالی‌که میوه‌های تیمارشده با کلروژنیک اسید بعد از ۴۵ روز انبارمانی قابل عرضه به بازار بودند. بر اساس نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، چنین به نظر می‌رسد که کاربرد کلروژنیک اسید ۵۰ میکرومولار به صورت تجاری برای افزایش عمر انبارمانی میوه خرمالو قابل توصیه است.

را مؤثر در فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز دانست که نتایج ما با آن مطابقت ندارد. همچنین Zhang و همکاران (۲۰۲۳b) تیمار کلروژنیک اسید را مؤثر در افزایش آنزیم مذکور دانستند که فعالیت مسیر فنیل پروپانویید منجر به افزایش فنول و فلاونوئیدها و آنزیم پلی فنل اکسیداز در گلابی گردید که نتایج ما با آن مطابقت ندارد.

نتیجه‌گیری

استفاده از تیمارهای سالم و بدون عوارض جانبی برای سلامت انسان مانند کلروژنیک اسید بر افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت میوه خرمالو در دوره انبارمانی سرد کمک می‌کنند. تیمار کلروژنیک اسید به طور معنی‌داری موجب حفظ سفتی، میزان فنول و فلاونوئید کل، اسید آسکوربیک، تانن محلول و آنتی‌اکسیدان کل در مقایسه با شاهد در طی انبارمانی شد.

منابع

- Aghdam, M. S., Moradi, M., Razavi, F., & Rabiei, V. (2019). Exogenous phenylalanine application promotes chilling tolerance in tomato fruits during cold storage by ensuring supply of NADPH for activation of ROS scavenging systems. *Scientia Horticulturae*, 246, 818-825.
- Alquezar, B., Rodrigo, M. J. L., & Zacarias, L. (2008). Regulation of carotenoid biosynthesis during fruit maturation in the red-fleshed orange mutant Cara. *Phytochemistry*, 69, 1997-2007.
- Bagal, U. R., Leebens mack, J. H., Walter Lorenz, W., & Dean, J. F. D. (2012). The phenylalanine ammonia lyase (PAL) gene family shows a gymnosperm specific line age. *BMC Genoms*, 13(3), 51-62.
- Dehghan, G., & Khoshkam, Z. (2012). Tin (II)-quercetin complex synthesis, spectral characterization and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 131, 422-427. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.074>
- Duarte, G., Pereira, A. A., & Farah, A. (2010). Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. *Food Chemistry*, 118(3), 851-855.
- Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A., & Alpaslan, M. (2007). Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae*, 113, 120-128.

- FAO, (2023). FAOSTAT Database. <http://faostat.fao.org/>
- Goulao, L. F., Santos, J., Sousa, I. D., & Oliveira, C. M. (2007). Patterns of enzymatic activity of cell wall-modifying enzymes during growth and ripening of apples. *Postharvest Biology and Technology*, 43, 307-318.
- Holzwarth, M., Wittig, J., Carle, R., & Kammerer, D. R. (2013). Influence of putative polyphenoloxidase (PPO) inhibitors on strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) PPO, anthocyanin and color stability of stored purees. *LWT-Food Science and Technology*, 52(2), 116-122.
- Jalilimarandi, R. (2000). Postharvest Physiology (Handling and storage of fruits, vegetables and ornamental plants). 2nd Ed. Publishers Jihad Urmia University.
- Jiang, T., Feng, L., & Li, J. (2012). Changes in microbial and postharvest quality of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) treated with chitosan-glucose complex coating under cold storage. *Food Chemistry*, 131(3), 780-786.
- Jiao, W., Li, X., Wang, X., Cao, J., & Jiang, W. (2018). Chlorogenic acid induces resistance against *Penicillium expansum* in peach fruit by activating the salicylic acid signaling pathway. *Food Chemistry*, 260, 274-282.
- Jiao, W., Shua, C., Lia, X., Cao, J., Fanb, X., & Jianga, W. (2019). Preparation of a chitosan-chlorogenic acid conjugate and its application as edible coating in postharvest preservation of peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 154, 129-136.
- Kai, K., Wang, R., Wanling, B., Wei, S., & Yingwang, Y. (2021). Chlorogenic acid induces ROS-dependent apoptosis in *Fusarium fujikuroi* and decreases the postharvest rot of cherry tomato. *Microbiology and Biotechnology*, 37, 112-124.
- Kaijy, M., Sheng, L., & Chao, C. (2006). Antioxidation of flavonoids of Green Rhizome. *Food Science and Technology*, 27, 110-115.
- Kaushik, P. (2020). Transcriptome analysis of the eggplant fruits overexpressing a gene of chlorogenic acid pathway. *International license*, 10, 101-111.
- Khademi, O., Zamani, Z., Mostofi, Y., Kalantari, S., & Ahmadi, A. (2015). Extending storability of persimmon fruit cv. Karaj by postharvest application of salicylic acid. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14, 1067-1074.
- Khoshghalb, H., Arzani, K., Tavakoli, A., Malakouti, M. J., & Barzegar, M. (2008). Quality of some Asian pear (*Pyrus serotina* Rehd.) fruit in relation to pre-harvest CaCl₂, Zn and B sprays, harvest time, ripening and storage conditions. *Acta Horticulturae*, 800, 1027-1034.
- Kumazawa, S., Taniguchi, M., Suzuki, Y., Shimura, M., Kwon, M. S., & Nakayama, T. (2002). Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 373-377.
- Li, C. R., Leverage, J. D., Trombley, S., Xu, J., Yang, Y., Tian, H., & Hagerman, A. E. (2010). High molecular weight persimmon (*Diospyros kaki* L.) proanthocyanidin: A highly galloylated, a-linked tannin with an unusual flavonol terminal unit, myricetin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 9033-9042.
- Li, Y., Lu, H., Cheng, Q., Li, R., He, Sh., & Li, B. (2016). Changes of reactive oxygen species and scavenging enzymes of persimmon fruit treated with CO₂ deastringency and the effect of hydroxyl radicals on breakdown of cell wall polysaccharides in vitro. *Scientia Horticulturae*, 199, 81-87.
- Liu, S., Hou, Y., Liu, W., Lu, C., Wang, W., & Sun, S. (2015). Components of the calcium-calcineurin signaling pathway in fungal cells and their potential as antifungal targets. *Eukaryotic Cell*, 14(4), 324-338. <https://doi.org/10.1128/EC.00271-14>
- Martinez, G., Regente, M., Jacobi, S., Del Rio, M., Pinedo, M., & de la Canal, L. (2017). Chlorogenic acid is a fungicide active against phytopathogenic fungi. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 140, 30-35. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.05.012>
- Miao, M., & Xiang, L. (2020). Pharmacological action and potential targets of chlorogenic acid. *Advances in Pharmacology*, 87, 71-88. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2019.12.002>
- Naser, F., Rabiei, V., Razavi, F., & Khademi, O. (2018). Effect of calcium lactate in combination with hot water treatment on the nutritional quality of persimmon fruit during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 233, 114-123.
- Nasr, F., Razavi, F., Rabiei, V., Gohari, G., & Christophe, H. (2022). Attenuation of chilling injury and improving antioxidant capacity of persimmon fruit by arginine application. *Foods*, 11, 2419-2425.
- Ngadze, E., Icishahayo, D., Coutinho, T. A., & van der Waals, J. E. (2012). Role of polyphenol oxidase, peroxidase, phenylalanine ammonia lyase, chlorogenic acid, and total soluble phenols in resistance of potatoes to soft rot. *Plant Disease*, 96, 186-192.
- Ramin, A. A., & Tabatabaie, F. (2003). Effect of various maturity stages at harvest on storability of persimmon fruits (*Diospyros kaki* L.). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 5, 113-123.
- Santana-Galvez, J., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velazquez, D. A. (2017). Chlorogenic acid: Recent advances on its dual role as a food additive and a nutraceutical against metabolic syndrome. *Molecules*, 22, 343-358. <https://doi.org/10.3390/molecules22030358>
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 34, 1-26.

- Shu, C., Zhang, W., Zhao, H., Cao, J., & Jiang, W. (2020). Chlorogenic acid treatment alleviates the adverse physiological responses of vibration injury in apple fruit through the regulation of energy metabolism. *Postharvest Biology and Technology*, 159, Article 110997.
- Shuang, F. F., Zong, C. M., Wang, C. C., Hu, R. Z., Shen, Y. S., Ju, Y. X., Yao, X. H., Chen, T., Zhao, W. G., & Zhang, D. Y. (2022). Chlorogenic acid and cellulose nanocrystal-assisted crosslinking preparation of a silk-based film to extend the shelf life of strawberries. *LWT - Food Science and Technology*, 172, 114-128. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114218>
- Simsek, A., Burcin, C., & Emre, T. (2023). The effect of chlorogenic acid from green coffee as a natural antioxidant on the shelf life and composition of hazelnut paste. *European Food Research and Technology*, 249, 2077-2086.
- Taira, S., Ono, M., & Matsumoto, N. (1997). Reduction of persimmon astringency by complex formation between pectin and tannin. *Postharvest Biology and Technology*, 12, 265-271. <https://www.cabi.org/isc/abstract/19980301673>
- Tosovic, J., Markovic, S., Jasmina, M., & Markovic, D. (2017). Antioxidative mechanisms in chlorogenic acid. *Food Chemistry*, 237, 390-398.
- Unal, U. M., Yabaci, S. N., & Sener, A. (2011). Extraction, partial purification and characterization of polyphenol oxidase from tea leaf (*Camellia sinensis*). *GIDA*, 36, 137-144.
- Upadhyay, R., & Mohan Rao, L. J. (2013). An outlook on chlorogenic acids-occurrence, chemistry, technology, and biological activities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(9), 968-984.
- Vazquez-Hernandez, M. C., Parola-Contreras, I., Montoya-Gomez, L. M., Torres-Pacheco, I., Schwarz, D., Guevara Veberic, R. J., Jurhar, M., Mikulic-Petkovsek, F., Stampar, & Schmitzer, V. (2010). Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.). *Food Chemistry*, 119, 477-483.
- Wang, L. J., Li, J. H., Gao, J. J., Feng, X. X., Shi, Z. X., Gao, F. Y., & Yang, L. Y. (2014). Inhibitory effect of chlorogenic acid on fruit russetting in 'Golden Delicious' apple. *Scientia Horticulturae*, 178(178), 14-22.
- Wang, L., Chen, S., Kong, W., Li, S., & Archbold, D. D. (2006). Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affects the antioxidant system and heat shock protein of peaches during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 224-251.
- Wang, L., Pan, X., Jiang, L., Chu, Y., Gao, S., Jiang, X., Zhang, Y., Chen, Y., Luo, S., & Peng, C. (2022). The biological activity mechanism of chlorogenic acid and its applications in food industry: A review. *Frontiers in Nutrition*, 9, 943911. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.943911>
- Xi, Y., Cheng, D., Zeng, X., Cao, J., & Jiang, W. (2016). Evidences for chlorogenic acid-a major endogenous polyphenol involved in regulation of ripening and senescence of apple fruit. *Plos One*, 11, e146940.
- Xi, Y., Fan, X., Zhao, H., Li, X., Cao, J., & Jiang, W. (2017a). Effects of chlorogenic acid on capacity of free radicals scavenging and proteomic changes in postharvest fruit of nectarine. *Plos One*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182494> August 3
- Xi, Y., Fan, X., Zhao, H., Li, X., Cao, J., & Jiang, W. (2017b). Postharvest fruit quality and antioxidants of nectarine fruit as influenced by chlorogenic acid. *LWT-Food Science and Technology*, 75, 537-544. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.10.004>
- Yaman, O., & Bayındır, L. (2002). Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries. *Food Science and Technology*, 35(2), 146-150.
- Zheng, Y., Yin, X., Kong, X., Chen, S., Xu, E., Liu, D., Ogawa, Y., & Tian, G. (2020). Introduction of chlorogenic acid during extrusion affects the physicochemical properties and enzymatic hydrolysis of rice flour. *Food Hydrocolloids*, 116, 106652.
- Zhang, Z., Huber, D. J., Qu, H., Yun, Z., Wang, H., & Huang, Z. (2015). Enzymatic browning and antioxidant activities in harvested litchi fruit as influenced by apple polyphenols. *Food Chemistry*, 171, 191-199.
- Zhang, D., Bi, W., Kai, K., Ye, Y., & Liu, J. (2020). Effect of chlorogenic acid on controlling kiwifruit postharvest decay caused by *Diaporthe* sp. *LWT - Food Science and Technology*, 132. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109805>
- Zhang, D., Ma, Z., Kai, K. A., Hu, T., Bi, W., & Yang, Y. (2023a). Chlorogenic acid induces endoplasmic reticulum stress in *Botrytis cinerea* and inhibits gray mold on strawberry. *Scientia Horticulturae*, 318, 11220-1131.
- Zhang, Y., Zhang, Y., Wang, H., & Cao, J. (2023b). The combination treatment of chlorogenic acid and sodium alginate coating could accelerate the wound healing of pear fruit by promoting the metabolic pathway of phenylpropane. *Food Chemistry*, 414, 135689.
- Zhang, Z., Huber, D. J., & Rao, J. (2013). Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, 76, 58e64.

The impact of chlorogenic acid treatment on postharvest quality preservation of persimmon fruit during cold storage

Behnaz Soleimani¹, Vali Rabiei^{1*}, Farhang Razavi¹, Gholam Reza Mahdavinia² and Fahimeh Nasr¹

¹ Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

² Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, University of Maragheh, Maragheh, Iran

(Received: 2024/04/16, Accepted: 2024/09/09)

Abstract

The main postharvest problems of persimmon are severe softening and disease incidence on the fruits during storage. Developing postharvest protocols, incorporating nonchemical compounds with the aim of extending persimmon fruit shelf life and maintaining quality, is one of the major issues regarding the persimmon fruit industry. Given the documented benefits of chlorogenic acid in maintaining fruit quality and extending shelf life, this study investigates its effects on the quality attributes and antioxidant properties of persimmons. This study was performed as a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with three replications. The first factor was chlorogenic acid concentrations of 0, 25, 50, and 100 μ M treatments, and the second factor was storage time (15, 30 and 45 days), then treatments fruits were stored at 1 °C and 85-90% relative humidity for 45 days. Results indicated that concentrations of 50 and 100 μ M chlorogenic acid yielded optimal outcomes in extending persimmon shelf life. Significant enhancements in firmness, total phenol content, total flavonoid content, soluble tannin, phenylalanine ammonia lyase (25 U/mgFW) and ascorbic acid (24.2 mg/100 gFW) were observed in fruits treated with 50 and 100 μ M chlorogenic acid, chlorogenic acid 50 and 100 μ M prevented the decrease of ascorbic acid (64.5%) compared to control. Moreover, treatment with 100 mM chlorogenic acid markedly increased total antioxidant capacity compared to the control. In conclusion, the application of chlorogenic acid 50 μ M emerges as a recommended strategy for mitigating losses, preserving quality, and extending the shelf life of persimmon fruits during postharvest handling.

Keywords: Chlorogenic acid, Phenylalanine ammonia-lyase enzyme, Persimmon fruits, Soluble tannin, Total antioxidant capacity

Corresponding author, Email: rabiei@znu.ac.ir