Effect of Foliar Spray With Ferulic acid and Nano-chitosan on Some Quality Attributes, Phytochemical Compounds of Apple Fruit cv Red Delicious.

Introduction

Apple (*Malus domestica*) is considered one of the important members of the Rosaceae family and is among the most consumed fruits in the world. One of the biggest challenges for agricultural researchers is to increase the quantity and quality of food to feed the growing population, without negatively affecting the health of the soil and agricultural ecosystems. Due to the adverse effects of chemicals on human health and environmental safety, the production of organic products has been considered as one of the most important issues in food production systems. It is utilized in various forms, including fresh fruit or processed as industrial products. Based on the respiratory and ethylene production pattern, apples are classified as climacteric fruits. Metabolic activities and ripening continue after harvest, so apples have the potential to transform into highly perishable products after harvest. Post-harvest treatments are certainly not the most suitable method for preserving the shelf life and quality of fruits during the post-harvest period. Therefore, employing new and effective methods to enhance quality, control decay, and consequently extend the post-harvest life of apples appears to be essential. Organic farming, as an agricultural system to protect human health and the environment, can improve product quality and shelf life.

Materials and Methods

This study was conducted on an apple orchard (*Malus domestica*) in Zarabad area of Khoy city located in the northwest of Iran (with the same management and growth conditions) in 2018-2019. The experiment was conducted as a factorial in the form of a completely randomized block design in 4 replications. The experimental factors included spraying fruit trees with nano-chitosan in 3 concentrations (zero, 5 and 10 ml) and ferulic acid in 3 concentrations (zero, 0.5 and 1 mM). Apple trees in three times, the first stage in the hazelnut time. Fruit drop, the second stage 20 days after the first stage and the third stage 20 days after the second stage spraying, were sprayed in the afternoon using a Cross mark PB20 manual sprayer. The harvested fruits were sprayed according to the treatments were packed and labeled and transferred to the central laboratory of horticultural sciences of Urmia University. after 24 hours of storage at the laboratory temperature, the measurement of the studied traits started on the fruits, the control treatment in this experiment was distilled water with Tween 80 (0.1/v/v).

Results and Discussion

According to the comparison of the means, In general, the firmness of the fruit after harvest increased significantly in fruits treated with chitosan and ferulic acid compared to the control. However, fruits treated with 10 milliliters of nano-chitosan and 1 millimolar ferulic acid showed higher fruit firmness compared to other treatments. As a result, the combined treatment of chitosan and ferulic acid can delay the aging process by reducing the activity of enzymes involved in cell wall degradation and maintain firmness in apples, contributing to a positive effect. According to the obtained results, fruits treated with nano-chitosan and ferulic acid showed a higher soluble solid content compared to the control fruits, and this amount increased with the higher concentrations of nano-chitosan and ferulic

acid. The minimum level of TA was observed in the control treatment, and the highest level was observed in the treatment with 10 milliliters of chitosan and 1 millimolar ferulic acid. The treatment with 1 millimolar ferulic acid and 10 milliliters of chitosan showed the highest percentage of TA content compared to the control. The combination of nano-chitosan and ferulic acid treatment led to a reduction in fruit juice pH, with the lowest pH observed in the treatment with 1 millimolar ferulic acid and 10 milliliters of chitosan, and the highest pH observed in the control treatment. Vitamin C is the primary water-soluble antioxidant that directly reduces damage caused by free radicals. According to the obtained results, the maximum content of vitamin C was observed in the treatment with 1 millimolar ferulic acid and 10 milliliters of chitosan. According to the obtained results, the maximum PAL enzyme activity was observed in the treatment with 1 millimolar ferulic acid and 10 milliliters of chitosan.

Conclusions

In general, the findings of the current study showed that pre-harvest treatment with nano-chitosan and ferulic acid had a positive effect on the post-harvest quality of apple fruits. The fruits treated with the highest concentration of nano-chitosan and ferulic acid exhibited the highest fruit firmness, titratable acidity, vitamin C content, PAL enzyme activity, and the lowest pH compared to the control fruits. These results indicate that nano-chitosan and ferulic acid treatment can be proposed as a promising and healthy method for improving the post-harvest quality of apple fruits.

Keywords: Totatl-Acidity, Pal, Ferulic acid, Nano-chitosan, Pre-Harvest

نسخه پیش انتشار

تأثیر محلول پاشی قبل از برداشت اسید فرولیک و نانوکیتوسان برخصوصیات کیفی و فیتوشیمیایی میوه سیب رقم رد دلیشز (*Malus domestica* cv. Red Delicious)

سجاد مصطفایی- محمد رضا اصغری*

sajjad.m8597@gmail.com-*

چکیده

سیب (*Malus domestica*) یکی از میوه‌های تجاری مهم می‌باشد که به دلیل الگوی تنفسی فرازگرا در پس‌ازبرداشت فسادپذیری بالایی دارد. یکی از بزرگترین چالش‌های محققان کشاورزی افزایش کمیت و کیفیت مواد غذایی است و به دلیل اثرات نامطلوب مواد شیمیایی بر سلامت انسان و ایمنی محیط زیست، تولید محصولات ارگانیک به عنوان یکی از مهمترین مسائل در سیستم‌های تولید موادغذایی مورد توجه قرار گرفته است. استفاده از تیمار های نانوکیتوسان و اسیدفرولیک به عنوان ترکیبات سالم و طبیعی در فرایند تولید محصولات باغی می‌تواند تاثیرات بسیار مطلوبی در فرایند تولید داشته باشد. در این آزمایش که در سال ۱۳۹۸ در باغ سیب رددلیشز در منطقه زرآباد شهرستان خوی واقع در شمال غرب استان آذربایجان غربی به منظور بهبود کیفیت میوها در زمان برداشت انجام گرفت، درختان سیب در ۳ مرحله با محلول نانوکیتوسان در ۳ غلظت (۰ ، ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر) و اسیدفرولیک در ۳ غلظت (۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در چهار تکرار مورد بررسی قرار گرفت و خصوصیات کیفی و بیوشیمیایی میوه‌ها در زمان برداشت بررسی شدند. نتایج نشان داد که تیمار با نانوکیتوسان و اسیدفرولیک تاثیر معنی‌داری بر صفات اندازه‌گیری شده داشت، بیشترین میزان سفتی بافت میوه در زمان برداشت در تیمار نانوکیتوسان ۱۰ میلی‌لیتر و اسیدفرولیک ۱ میلی‌مولار ،کمترین میزان اسیدیته قابل تیتراسیون در تیمار شاهد، بیشترین میزان ویتامین ث و آنزیم PAL در تیمار نانوکیتوسان ۱۰ میلی‌لیتر و اسیدفرولیک ۱ میلی‌مولار و بیشترین میزان pH و کمترین میزان مواد جامد محلول در تیمار شاهد مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: اسیدیته کل، فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز، اسیدفرولیک، نانوکیتوسان، قبل‌ازبرداشت

مقدمه

سیب (*Malus domestica*) یکی از اعضای مهم خانواده Rosaceae از پرمصرف‌ترین میوه‌ها در جهان به شمار می‌رود. بطوریکه به اشکال مختلف از جمله میوه تازه یا به صورت محصولات فرآوری شده صنعتی مصرف می‌شود (Wang *et al*., 2007) براساس الگوی تنفسی و تولید اتیلن، سیب به عنوان یک میوه کلیماکتریک طبقه‌بندی شده و فعالیت‌های متابولیک و رسیدن آن پس‌از برداشت نیز ادامه می‌یابد، بنابراین، میوه‌های سیب بعدازبرداشت قابلیت تبدیل شدن به محصولات بسیار فاسدشدنی را دارند (Sahraei *et al*., 2016). امروزه تقاضای زیادی برای تولید مواد غذایی سالم، سازگار با محیط زیست با کیفیت بالا و ماندگاری طولانی‌تر و بدون هیچ گونه مواد نگهدارنده شیمیایی وجود دارد (Saavedra *et al*., 2016). تیمارهای پس‌ازبرداشت قطعاً

مناسب‌ترین روش برای حفظ ماندگاری و کیفیت میوه در دوره پس‌از برداشت نیستند (Ehtesham Nia *et al*., 2021). بنابراین، بکارگیری روش‌های جدید و مؤثر برای افزایش کیفیت، کنترل پوسیدگی و در نتیجه عمر پس از برداشت میوه‌های سیب ضروری بنظر می‌رسد. تحقیقات زیادی در زمینه بهبود کیفیت میوهٔ سیب در پس از برداشت انجام گرفته است، ولی از آنجا که مسئله کیفیت میوه فرآیندی بسیار پیچیده‌ای است، بنابراین نیازمند تحقیقات بیشتر است. در این راستا کاربرد تیمارهای قبل‌از برداشت می‌تواند به عنوان یک جایگزین مهم برای حل مشکلات ذکرشده در نظر گرفته شود.

کیتوسان[1]، به عنوان یک پلی‌ساکارید کاتیونی، دارای خواص غیرسمی، زیست فعال و ضد قارچی بوده که می‌تواند بصورت یک مانع نیمه‌تراوا روی سطح میوه عمل کرده و اتمسفر آن را تغییر دهد و بلوغ و پیری را در طیف وسیعی از محصولات باغبانی به تعویق بیندازد(Baswal *et al*., 2020) . با توجه به فعالیت‌های بیولوژیکی و نحوه عملکرد کیتوسان به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی نیز در نظر گرفته می‌شود و می‌تواند علیه میکروارگانیسم‌ها عمل کرده و به عنوان القاکننده مکانیسم‌های دفاعی گیاه مورد استفاده قرار گیرد (Xing *et al*., 2020; Sofy *et al*., 2020). از این نظر، محلول‌پاشی قبل و بعد از برداشت میوه‌ها با کیتوسان ممکن است باعث حفظ کیفیت میوه‌ها و تأخیر در پیری آن‌ها شده بدون اینکه تأثیر مضر بر پذیرش مصرف‌کننده داشته باشد(Reddy *et al*., 2000). در این راستا ژانگ[2] و همکاران (Zhang *et al*., 2019) گزارش کردند محلول‌پاشی کیتوسان بر روی میوه‌های کیوی[3]، باعث بهبود عملکرد و کیفیت میوه، افزایش محتوای کلسیم و سفتی، رسیدن و نرم شدن میوه شده و پوسیدگی را به تأخیر انداخته و قابلیت نگهداری را افزایش می‌دهد. همچنین گزارش شده محلول‌پاشی کیتوسان باعث بهبود وزن و اندازه میوه در انبه[4](Zagzog *et al*., 2017) و طول عمر نگهداری انگور[5](Ehtesham Nia *et al*., 2021) گردیده است.

اسیدفرولیک[6] در گیاهان از هیدروکسی سینامیک‌اسید مشتق شده و یک محصول واسطه‌ای در مسیر فنیل‌پروپانوئید است و فواید بی‌شمار آن برای سلامت انسان نشان داده شده است (Navarrete *et al*., 2015; Ma *et al*., 2010). اسیدفرولیک، بعنوان یک اسیدفنولیک طبیعی در گیاهان به وفور یافت می‌شود، معمولاً در دیواره‌های سلولی متصل به پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌های اسکلت‌سلولی یافت می‌شود (Mathew and Abraham, 2006). به دلیل عملکردهای بیولوژیکی خود که شامل فعالیت‌های ضداشعه ماوراء بنفش، ضداکسیداتیو و ضدسرطان و از بین بردن رادیکال‌های آزاد است در محصولات بهداشتی، آرایشی و بهداشتی و پزشکی استفاده می‌شود (Lillioja *et al*., 2013; Vinayagam *et al*, 2016). در مطالعه فروز[7] و همکاران (Ferruz *et al*.,2016) روی گونه‌های قارچ فوزاریوم در محیط آزمایشگاهی نشان داد تیمار با اسیدفرولیک به طور قابل توجهی رشد پاتوژن را مهار کرده و بیوسنتز سم را کاهش می‌دهد. اثر مشابهی توسط فروکیو[8] و همکاران (Ferrochio *et al*.,2013) مشاهده شد و یافته‌های او در ذرت تأیید کرد که اسیدفرولیک می‌تواند به طور موثری رشد پاتوژن را مهار کرده و تولید سم را کاهش دهد. با این حال، اطلاعات در مورد استفاده و تأثیر محلول‌پاشی قبل‌ازبرداشت اسیدفرولیک بر کیفیت میوه تولیدی هنوز به طور قابل توجهی گزارش نشده است. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر کاربرد قبل‌از برداشت نانوکیتوسان و اسیدفرولیک بطور جداگانه و به صورت ترکیبی در چند مرحله بر خصوصیات کیفی و بیوشیمیایی میوه سیب در زمان برداشت انجام گرفت.

---

1. Chitosan
2. Zhang
3. *Actinidia deliciosa* cv. ‘Guichang
4. *Mangifera indica* L.
5. *Vitis vinifera* L. cv. Yaghouti’
6. Ferulic Acid
7. Ferruz
8. Ferrochio

مواد و روش

مواد گیاهی و تیمارهای آزمایشی

این مطالعه بر روی باغ سیب (*Malus domestica*) در منطقه زرآباد شهرستان خوی واقع در شمال غرب ایران (با شرایط مدیریتی و رشدی یکسان) در سال‌های ۱۳۹۸-۱۳۹۹ انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۴ تکرار انجام گرفت. فاکتورهای آزمایشی شامل محلول‌پاشی درختان میوه با نانوکیتوسان در ۳ غلظت (صفر، ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر) و اسیدفرولیک در ۳ غلظت (صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) بود. درختان سیب در سه زمان، مرحله اول در زمان فندقی شدن قطرمیوه، مرحله دوم ۲۰ روز پس از مرحله اول و مرحله سوم ۲۰ روز بعد از محلول‌پاشی مرحله دوم، در ساعات بعد از ظهر با استفاده از سمپاش دستی مدل کراس مارک PB20 محلول‌پاشی شدند. میوه‌های برداشت شده با توجه به تیمارهای انجام شده بسته‌بندی و اتیکت‌زنی شده و به آزمایشگاه مرکزی علوم باغبانی دانشگاه ارومیه منتقل شدند و پس از ۲۴ ساعت نگه‌داری در دمای آزمایشگاه اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه بر روی میوه‌ها شروع شد، تیمار شاهد در این آزمایش آب مقطر همراه با (۰/۱v/v) Tween 80 بود.

اندازه‌گیری خصوصیات کیفی و بیوشیمیایی

به منظور تعیین سفتی بافت میوه از دستگاه اندازه‌گیری سفتی (Model Fruit Texture Analyzer, USA) با پروپ با قطر ۶میلی‌متر استفاده شد. جهت اندازه‌گیری مواد جامد محلول (TSS)، ۵۰ میکرولیتر از عصاره نمونه با استفاده از دستگاه رفراکتومتر دستی مدل (AZ 8601) در دمای آزمایشگاه اندازه‌گیری شد، برای کالیبره کردن این دستگاه از آب مقطر استفاده گردید (Magne *et al*., 2006). برای اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون(TA) از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال استفاده شد و مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون از رابطه زیر محاسبه گردید (Bellincontro *et al*., 2004).

$$TA=S\times N\times F\times E/C\times 100$$

TA: مقدار اسیدیته بر اساس میلی‌گرم اسیدمالیک در ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره نمونه، S: مقدار NaOH مصرف شده (میلی‌لیتر)، N: نرمالیته NaOH، F: فاکتور NaOH، E: اکی‌والان اسید مورد نظر (ایزوسیتریک) و C: مقدار عصاره میوه (میلی‌لیتر) می‌باشد و در نهایت برای اندازه‌گیری pH آب‌میوه از یک pH متر (pH-Meter CG 824، SCHOTT، Hofheim، آلمان) استفاده شد.

ویتامین ث

برای اندازه‌گیری ویتامین ث عصاره میوه از روش تیتراسیون با محلول ان -بروموسوکسینامید استفاده شد. مقدار ۵ میلی‌لیتر عصاره میوه، به همراه ۵ میلی‌لیتر محلول پایدارکننده TCA (Trichloroacetic acid) و ۶ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم ۴ درصد و ۰/۳ میلی‌لیتر اسیداستیک ۱۰ درصد و ۰/۴ میلی‌لیتر معرف نشاسته ۱ درصد به وسیلهٔ محلول NBS با غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر تا رسیدن به رنگ آبی تیتر شد و ویتامین‌ث عصاره برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌گرم گزارش شد (Egan *et al*., 1981).

فعالیت آنزیم PAL

مقدار ۲ گرم بافت میوه با ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج (۵۰ میلی‌مولار Tris-HCl با اسیدیته ۸/۵) حاوی ۱۵ میلی‌مولار بتا-مرکاپتو اتانول همگن شد. سپس به مدت ۵ دقیقه با نیروی ۴۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. در نهایت، برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم PAL از محلول رویی به عنوان عصاره‌آنزیمی استفاده شد. برای تخمین فعالیت آنزیم ۱ میلی‌لیتر محلول واکنش شامل بافر واکنش (۵۰۰ میکرومولار Tris-HCl با اسیدیته ۸) حاوی ۶ میکرومول فنیل‌آلانین و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در حجم نهایی ۱ میلی‌لیتر تهیه شد. سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در نهایت به این

محلول مقدار ۵۰ میکرولیتر اسیدکلریدریک با غلظت ۵ نرمال اضافه شد تا واکنش تولید سینامیک‌اسید از فنیل‌آلانین متوقف شود. در پایان، فعالیت آنزیم در طول موج ۲۹۰ نانومتر بر اساس میزان تولید سینامیک‌اسید بر حسب میکرومول بر دقیقه گزارش گردید (Beaudoin-Eagan and Thorpe, 1985).

آنالیز آماری

داده‌های بدست آمده از سنجش پارامترهای مختلف با ۴ تکرار به صورت آزمایش فاکتوریل و بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی، توسط نرم‌افزار SAS, version (9.2) و آزمون چنددامنه‌ای دانکن مورد بررسی قرار گرفتند. تجزیه واریانس‌ها نیز با ضریب اطمینان ۹۵ درصد ($P\leq0.05$) انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نسخه پیش انتشار

نتایج و بحث

جدول ۱: تجزیه واریانس خصوصیات فیتوشیمیایی و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده تحت تاثیر تیمار نانوکیتوسان و اسید فرولیک در سیب رقم رد دلیشز

Variance analysis of the phytochemical and biochemical properties measured under the influence of chitosan nanoparticle and ferulic acid treatment in Red Delicious apple cultivar.

		میانگین مربعات						
		Mean squares						
منابع تغییرات	درجه آزادی	سفتی	قند محلول	اسیدیته کل	ویتامین ث	اسیدیته	فعالیت آنزیم PAL
S.o.v	**df**	**firmnes**	**Tss**	**TA**	**C Vitamin**	**PH**	**PAL Enzayme Activity**

بلوک block	3	/143ns	42/185ns	/137 ns	2/142 ns	/112 ns	6/080ns
نانوکیتوسان (a) Nano chitosan	2	947/0*	1067/111*	10/508*	730/971*	3/237*	253/959*
فرولیک اسید (b) FerulicAcid	2	0/727*	453/777*	0/921*	58/685*	4/507*	149/478**
b ×a	4	0/602*	99/611 ns	0/366*	40/758*	2/073*	86/857*
خطای آزمایش experimental error	24	0/069	66/768	0/076	1/085	0/085	3/691
ضریب تغییرات (٪) C.V (%)		3/45	7/37	10/12	4/04	8/62	11/03

ns ، * و **: به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد.

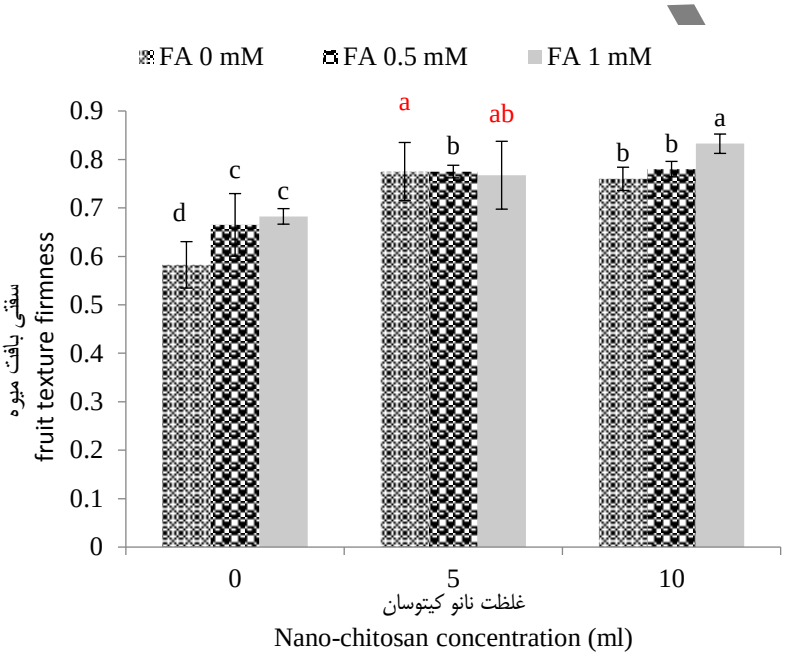
ns, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively

۱-سفتی میوه

سفتی میوه یکی از مهمترین فاکتور ها در تعیین کیفیت و عمر پس از برداشت آن می‌باشد(Kirmani *et al*., 2013). به طور کلی، سفتی میوه پس از برداشت در میوه‌های تیمار شده با کیتوسان و اسیدفرولیک در مقایسه با شاهد به طور قابل توجهی افزایش یافت. با این حال، میوه‌های تیمارشده با نانوکیتوسان ۱۰ میلی‌لیتر و اسیدفرولیک ۱ میلی‌مولار سفتی میوه بالاتری نسبت به بقیه تیمارها نشان دادند (شکل ۱). میزان نرم شدن میوه به طور مستقیم با سرعت شکسته شدن ترکیبات پکتینی از طریق فعالیت آنزیم‌های پکتین‌متیل‌استراز (PME) و پلی‌گالاکتوروناز (PG) در طول رسیدن مرتبط است (Paniagua *et al*., 2014). تأثیر مثبت کیتوسان قبل‌از برداشت بر استحکام میوه می‌تواند به دلیل تشکیل یک لایه کیتوسان بر روی میوه باشد که به عنوان مانعی برای جذب O_2 عمل کرده و در نتیجه فعالیت متابولیک از جمله فعالیت آنزیم‌های تخریب‌کننده دیواره‌سلولی را کاهش داده و فرآیند رسیدن را کاهش دهد (Reddy *et al*., 2000). در راستای نتایج این تحقیق کاسمه سیلوا[1] و همکاران (Cosme

[1]. Cosme Silva

Silva *et al.*,2017) در انبه و لی و یو[1] (Yu *and* Li, 2000) در هلو افزایش استحکام میوه را پس از محلول‌پاشی با کیتوسان گزارش کردند. علاوه بر این، ردی و همکاران (Reddy *et al.*, 2000) اثر مفید اسپری قبل‌ازبرداشت کیتوسان را بر سفتی گوشت توت‌فرنگی گزارش کردند. علاوه بر این، آنها دریافتند که سفتی میوه با افزایش غلظت کیتوسان ارتباط دارد. مطابق با همین رفتار کیتوسان، افزایش سفتی میوه در اثر تیمار با اسید فرولیک در ذغال اخته (Xu & Liu, 2017) و میوهای تازه برش سیب (Alves *et al.*, 2017) گزارش شده است. در نتیجه، تیمار ترکیبی کیتوسان و اسیدفرولیک می‌توانند با کاهش فعالیت آنزیم‌هایی که در تخریب دیواره‌سلولی نقش دارند، روند پیری را به تأخیر انداخته و با حفظ سفتی در سیب تأثیر مثبت بگذارند.



شکل ۱: مقایسه میانگین اثر متقابل نانوکیتوسان و اسیدفرولیک بر میزان سفتی میوه. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

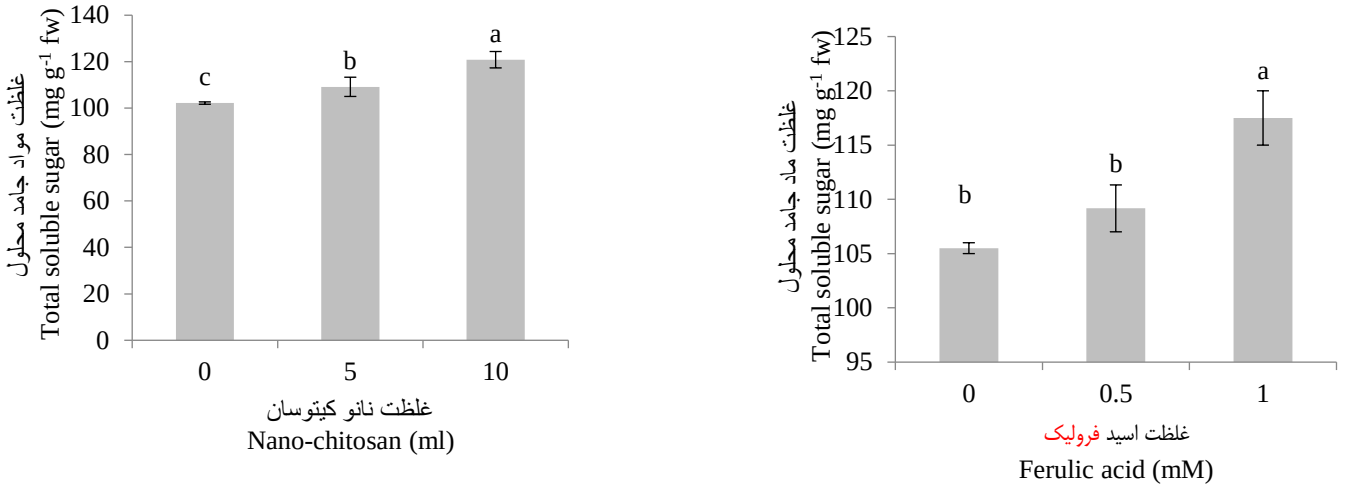
Figure 1: Comparison of the mean interactive effect of chitosan nanoparticle and ferulic acid on fruit firmness. Similar letters indicate no significant difference at the 5% probability level, based on Duncan's test.

۲-مواد جامد محلول

طبق نتایج بدست آمده میوه‌های تیمار شده با نانوکیتوسان و اسیدفرولیک محتوای مواد جامد محلول بالاتری را نسبت به میوه‌های شاهد نشان دادند بطوریکه این میزان با افزایش غلظت نانوکیتوسان و اسیدفرولیک بیشتر بود. همچنین در تیمار قبل‌ازبرداشت میوه‌ها با اسیدفرولیک بین تیمار نیم میلی‌مولار اسیدفرولیک و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲). گزارش شده است که کاربرد قبل‌ازبرداشت کیتوسان، با کاهش روند پیری از طریق کاهش تولید و اثر اتیلن، کاهش تنفس باعث حفظ دیواره‌سلولی شده که در نهایت منجر به حفظ بهتر قندهای محلول می‌شود (Ehtesham Nia *et al.*, 2021). افزایش درصد قندهای‌محلول در طول دوره نگهداری احتمالاً به‌دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های مسئول هیدرولیز نشاسته به قندهای‌محلول است و می‌تواند ناشی از کاهش میزان کربوهیدرات‌ها، پکتین‌ها، هیدرولیز نسبی پروتئین و تجزیه گلیکوزیدها به زیر واحدها در طول

[1]. Li and Yu

تنفس باشد (Abbasi *et al.*, 2009; Aranzana *et al.*, 2011). که و وانگمتا[1] (Ke and Wongmetha, 2012) گزارش کردند که کیتوسان هیچ تأثیری بر مقدار قندهای‌محلول میوه‌های انبه ندارد. پاسخ مشابهی نیز در توت‌فرنگی[2] گزارش شده است (Hernández-Muñoz *et al.*, 2008). در انبه و موز تیمار شده با کیتوسان (Kittur *et al.* 2001) محتوای قند محلول در مقایسه با میوه‌های شاهد کمتر بود در حالی که مقادیر بالاتری برای هلوهای تیمار شده مشاهده شد(Srinivasa *et al.* 2002).



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل نانوکیتوسان و اسیدفرولیک بر میزان مواد جامد محلول. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

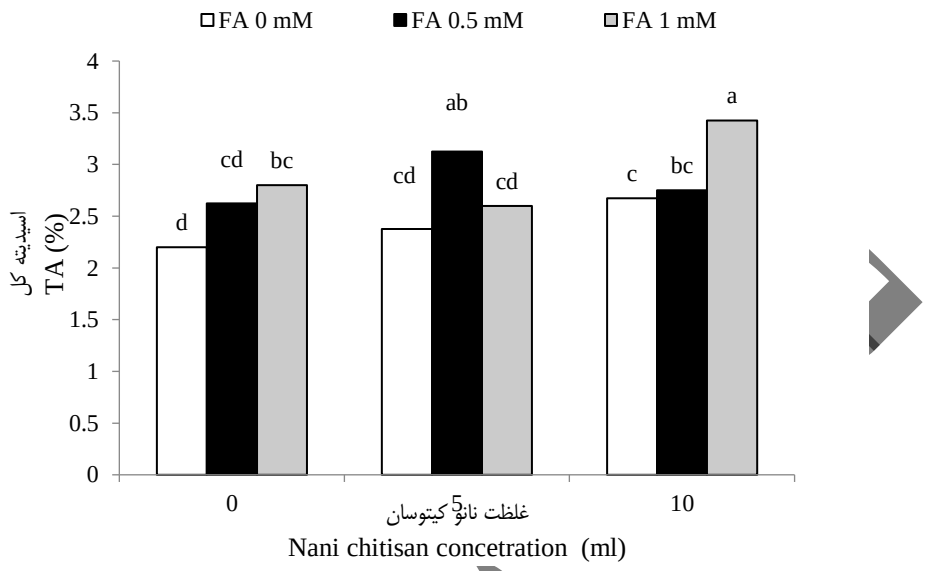
Figure 2: Comparison of the mean interactive effect of chitosan nanoparticle and ferulic acid on fruit Total soluble sugar. Similar letters indicate no significant difference at the 5% probability level, based on Duncan's test.

۳-اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)

طبق نتایج بدست آمده حداقل میزان TA در تیمار شاهد و بیشترین میزان در تیمار کیتوسان ۱۰ میلی‌لیتر و اسیدفرولیک ۱ میلی‌مولار مشاهده شد. تیمار ۱ میلی‌مولار اسیدفرولیک و ۱۰ میلی‌لیتر کیتوسان بالاترین درصد محتوای TA را در مقایسه با شاهد نشان داد که اختلاف معنی‌داری با تیمار نیم میلی‌مولار اسیدفرولیک و ۵ میلی‌لیتر کیتوسان نداشت (شکل ۳). در فرآیند پس‌ازبرداشت، از قندها و اسیدهای‌آلی به عنوان سوبسترای اصلی در فرآیند متابولیک استفاده می‌شود. بطوریکه TA معمولاً در طول نگهداری کاهش می‌یابد و حداکثر کاهش نشان‌دهنده پیری می‌باشد. پوشش‌های خوراکی یک لایه نازک بر روی سطوح میوه تشکیل می‌دهند که می‌تواند تبادل گاز و سرعت تنفس میوه را کاهش دهد (Cosme Silva *et al.*, 2017). نتایج مشاهده شده در این مطالعه می‌تواند به‌دلیل کاهش تغییرات متابولیک اسیدهای‌آلی به دی‌اکسیدکربن و آب، کاهش سرعت تنفس و در نتیجه حفظ میزان بالاتر اسیدها باشد. تنفس یک فرآیند آنزیمی است و آنزیم‌های دخیل در تنفس از اسیدهای‌آلی به عنوان

[1]. Wongmetha and Ke
[2]. *Fragaria× ananassa*

سوبسترا استفاده می‌کنند (Yaman & Bayoındırlı, 2002). نتایج گزارش شده در این مطالعه با نتایج بدست آمده توسط گوتام[1] و همکاران (Goutam *et al.*,2010) در مورد گواوا مطابقت دارد.



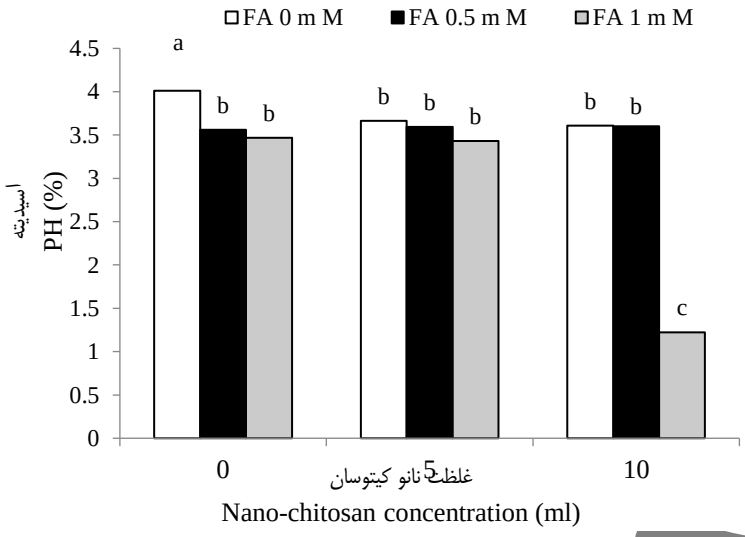
شکل ۳: مقایسه میانگین اثر متقابل نانوکیتوسان و اسیدفرولیک بر میزان اسیدیته قابل تیتراسیون. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 3: Comparison of the mean interactive effect of chitosan nanoparticle and ferulic acid on titratable acidity. Similar letters indicate no significant difference at the 5% probability level, based on Duncan's test.

pH-۴

طبق نتایج اثر متقابل غلظت‌های مختلف نانوکیتوسان و اسیدفرولیک بر pH آب‌میوه معنی‌دار بود. ترکیب تیمار نانوکیتوسان و اسیدفرولیک باعث کاهش pH آب‌میوه گردید بطوریکه کمترین pH در تیمار ۱ میلی‌مولار اسیدفرولیک و ۱۰ میلی‌لیتر کیتوسان و بیشترین آن در تیمار شاهد مشاهده گردید. همچنین به جز تیمار ۱ میلی‌مولار اسیدفرولیک و ۱۰ میلی‌لیتر کیتوسان با شاهد، اختلاف بقیه تیمارها معنی‌دار نبود (شکل ۴). pH آب‌میوه یکی از مهمترین پارامترهای کیفی است بطوریکه با اسیدیته قابل تیتراسیون و اسیداسکوربیک رابطه غیرمستقیم دارد. افزایش اسیدیته قابل تیتراسیون میوه‌ها باعث کاهش pH همان میوه می‌شود. شرایط بیوشیمیایی میوه با استفاده از کیتوسان تغییر می‌کند و با ایجاد مانعی برای عبور اکسیژن، سرعت تنفس و فرآیندهای متابولیک را کاهش می‌دهد که دلیلی واقعی برای تغییر pH است (Shaik *et al.*, 2017). از طرف دیگر اسیدفرولیک یکی از فراوان‌ترین اسیدهای‌فنولیک در گیاهان است که به عنوان یک عامل اتصال‌دهنده دیواره‌سلولی عمل می‌کند (He *et al.*, 2019). یافته‌های امران[2] و همکاران (Imran *et al.*, 2000) نیز نتایج ما را تأیید می‌کند که جلوگیری از هیدرولیز پکتین و افزایش اسیدهای‌آزاد منجر به کاهش pH می‌شود. علاوه بر این، دلیل افزایش pH میوه در زمان نگهداری، افزایش سرعت تنفس و به دنبال آن افزایش فرآیندهای کاتابولیک مختلف گزارش شده است که منجر به تجزیه اسیدهای‌آلی می‌شود (Kelebek *et al.*,2008).

[1]. Goutam
[2]. Imran



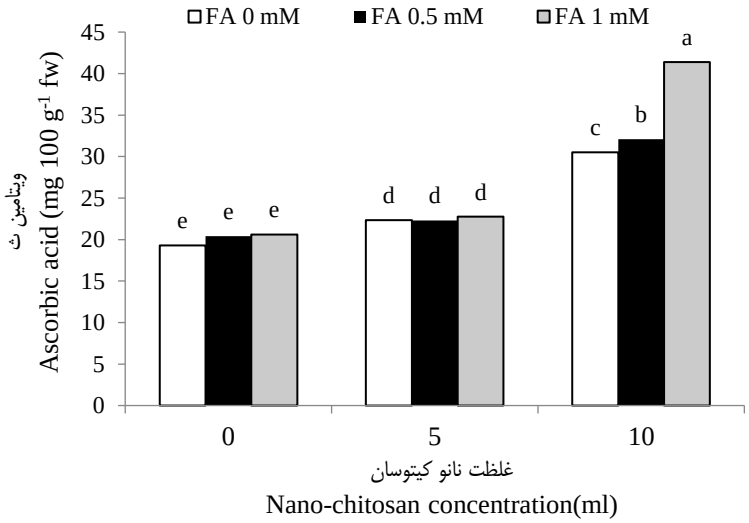
شکل ٤: مقایسه میانگین اثر متقابل نانوکیتوسان و اسیدفرولیک بر میزان pH میوه. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 4: Comparison of the mean interactive effect of chitosan nanoparticle and ferulic acid on fruit pH. Similar letters indicate no significant difference at the 5% probability level, based on Duncan's test.

۵- ویتامین ث

ویتامین ث اصلی‌ترین آنتی‌اکسیدان محلول در آب است که به طور مستقیم آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد. بر اساس نتایج بدست آمده حداکثر محتوای ویتامین ث در تیمار ۱ میلی‌مولار اسیدفرولیک و ۱۰ میلی‌لیتر کیتوسان مشاهده شد، در حالی که کمترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای نیم میلی‌مولار اسیدفرولیک و یک میلی‌مولار اسیدفرولیک نداشت (شکل ۵). اسیداسکوربیک رابطه مستقیمی با اسیدیته دارد در حالی که نسبت به سطح pH رابطه آن معکوس است. سطح اسیداسکوربیک (ویتامین ث) با رسیدن میوه به دلیل اثر مستقیم آنزیم اسکوربیک‌اسیداکسیداز (آسکوربیناز)، اکسیداسیون و به دنبال آن تبدیل اسیداسکوربیک به ۲، ۳-دی‌کتوگولونیک اسید کاهش می‌یابد (Chitarra, *2005*) و ساجید[1] و همکاران (Sajid *et al.*, 2020) تخریب تأخیری ویتامین ث را در میوه های هلو (*L.* *Prunus persica*) تیمار شده با کیتوسان را گزارش کردند. عبور پایین سطح اکسیژن منجر به کاهش فعالیت آسکوربیناز شده است که از اکسیداسیون اسیداسکوربیک جلوگیری می‌کند(Dang *et al.*, 2010). مطابق با نتایج ما، سطح بالایی از اسیداسکوربیک در نتیجه کاربرد کیتوسان در توت‌فرنگی یافت شد (Wang and Gao, 2013). نتایج این مطالعه نشان داد که محتوای ویتامین ث زمانی افزایش می‌یابد که تیمارهایی ترکیب نانوکیتوسان و اسیدفرولیک در غلظت‌های بالا بکار برده شوند که احتمالاً به دلیل استحکام دیواره‌سلولی و القای اتمسفر تغییریافته در نتیجه کاربرد این دو ترکیب باشد.

[1]. Sajid



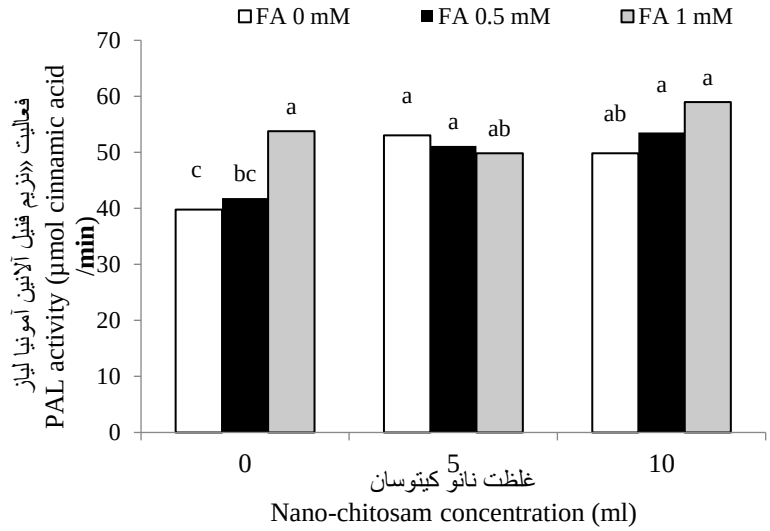
شکل ۵: مقایسه میانگین اثر متقابل نانوکیتوسان و اسیدفرولیک بر میزان ویتامین ث. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 5: Comparison of the mean interactive effect of chitosan nanoparticle and ferulic acid on vitamin C content. Similar letters indicate no significant difference at the 5% probability level, based on Duncan's test.

۶- فعالیت آنزیم PAL

بر اساس نتایج بدست آمده حداکثر فعالیت آنزیم PAL در تیمار ۱ میلی‌مولار اسیدفرولیک و ۱۰ میلی‌لیتر کیتوسان مشاهده شد و به جز تیمار شاهد و اسیدفرولیک نیم میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری با بقیه تیمارها نداشت (شکل ۶). مطالعات کمی در مورد تأثیر کاربرد بیرونی اسیدفرولیک بر فعالیت آنزیم PAL انجام شده است و نتایج متناقض هستند. ساتو[1] و همکاران (Sato *et al.*, 1982) نشان داد که کاربرداسیدفرولیک در برابر فعالیت PAL در سیب‌زمینی شیرین بی‌اثر است. در واقع، کیتوسان به عنوان یک محرک، می‌تواند فعالیت آنزیم‌های PAL را که در بیوسنتز پلی‌فنل‌ها و کوتیکول نقش دارند، فعال کند(Orzali *et al.*, 2014) در مطالعه حاضر، فعالیت آنزیم PAL به طور قابل توجهی با افزایش غلظت نانوکیتوسان و اسیدفرولیک افزایش نشان داد.

[1]. Sato



شکل ٦: مقایسه میانگین اثر متقابل نانوکیتوسان واسیدفرولیک بر میزان فعالیت آنزیم PAL. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٥ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 6: Comparison of the mean interactive effect of chitosan nanoparticle and ferulic acid on PAL enzyme activity. Similar letters indicate no significant difference at the 5% probability level, based on Duncan's test.

نتیجه‌گیری کلی

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که تیمار قبل‌ازبرداشت نانوکیتوسان و اسیدفرولیک بر کیفیت میوه‌های سیب در زمان برداشت تأثیر مثبتی داشتند. میوه‌های تیمار شده با بالاترین غلظت نانوکیتوسان و اسیدفرولیک، بیشترین سفتی میوه، اسیدیته قابل تیتراسیون، ویتامین ث، فعالیت آنزیم PAL و کمترین میزان pH را در مقایسه با میوه شاهد در زمان برداشت را نشان دادند. این نتایج نشان می‌دهد که تیمار نانوکیتوسان و اسیدفرولیک می‌تواند به‌عنوان روشی سالم و امیدوارکننده جهت بهبود کیفیت میوه‌های سیب در زمان برداشت میوه پیشنهاد شود.

منابع:

Abbasi, N.A., Iqbal, Z., Maqbool, M. and Hafiz, I.A., (2009). Postharvest quality of mango (*Mangifera indica L.*) fruit as affected by chitosan coating. *Pakistan Journal of Botany*, 41(1), pp.343-357.

Alves, M.M., Gonçalves, M.P. and Rocha, C.M., (2017). Effect of ferulic acid on the performance of soy protein isolate-based edible coatings applied to fresh-cut apples. *Food Science and Technology*, 80, pp.409-415.

Aranzana, M.J., Abbassi, E.K., Howad, W. and Arús, P., (2010). Genetic variation, population structure and linkage disequilibrium in peach commercial varieties. *BMC genetics*, 11, pp.1-11.

Baswal, A.K., Dhaliwal, H.S., Singh, Z., Mahajan, B.V.C., Kalia, A. and Gill, K.S., (2020). Influence of carboxy methylcellulose, chitosan and beeswax coatings on cold storage life and quality of Kinnow mandarin fruit. *Scientia Horticulturae*, 260, p.108-887.

Beaudoin-Eagan, L.D. and Thorpe, T.A., (1985). Tyrosine and phenylalanine ammonialyase activities during shoot initiation in tobacco callus cultures. *Plant Physiology*, 78(3), pp.438-441.

Bellincontro, A., De Santis, D., Botondi, R., Villa, I. and Mencarelli, F., (2004). Different postharvest dehydration rates affect quality characteristics and volatile compounds of Malvasia, Trebbiano and

Sangiovese grapes for wine production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(13), pp.1791-1800.

Chitarra, M.I.F. and Chitarra, A.B., (2005). Post-harvest of fruits and vegetables, Physiology and Handling. 2nd Edition, FAEPE, Lavras, Lavras, 785 p.

Cosme Silva, G. M. C., Silva, W. B., Medeiros, D. B., Salvador, A. R., Cordeiro, M. H. M., da Silva, N. M. and Mizobutsi, G. P. (2017). The chitosan affects severely the carbon metabolism in mango *(Mangifera indica* L. cv. Palmer) fruit during storage. *Food Chemistry*, 237, 372-378.

Dang, Q.F., Yan, J.Q., Li, Y., Cheng, X.J., Liu, C.S. and Chen, X.G., (2010). Chitosan acetate as an active coating material and its effects on the storing of *Prunus avium* L. *Journal Food Science*, 75(2), pp.S125-S131.

Sahraei Khosh Gardesh, A.S.K., Badii, F., Hashemi, M., Ardakani, A.Y., Maftoonazad, N. and Gorji, A.M., (2016). Effect of nanochitosan based coating on climacteric behavior and postharvest shelf-life extension of apple cv. Golab Kohanz. *Food Science and Technology*, 70, pp.33-40.

Shazly SM, Eisa AM, Moatamed AMH, Kotb HRM, (2013). Effect of some agrochemical pre harvest foliar application on yield and Physiology Molecular Biology Plants (May–June 2018) 24(3):433–440 439 quality of Swelling peach trees. *Alexander Journal of Agriculture Research*, 58(3), 219–229.

Egan, H., Kirk, R.S. and Sawyer, R. (1981). Pearson's chemical analysis of food 8th Edt. Churchill Livingstone, Medical division of Longman group Ltd. *Great Britain*, 591.

Ferrochio, L., Cendoya, E., Farnochi, M.C., Massad, W. and Ramirez, M.L., (2013). Evaluation of ability of ferulic acid to control growth and fumonisin production of *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* on maize based media. *International Journal of Food Microbiology*, 167(2), pp.215-220.

Ferruz, E., Atanasova-Pénichon, V., Bonnin-Verdal, M.N., Marchegay, G., Pinson-Gadais, L., Ducos, C., Lorán, S., Ariño, A., Barreau, C. and Richard-Forget, F., (2016). Effects of phenolic acids on the growth and production of T-2 and HT-2 toxins by *Fusarium langsethiae* and F. sporotrichioides. Molecules, 21(4), p.449.

Goutam, M., Dhaliwal, H.S. and Mahajan, B., (2010). Effect of pre-harvest calcium sprays on post-harvest life of winter guava (Psidium guajava L.). *Journal of Food Science and Technology*, 47, pp.501-506.

He, J., Ma, L., Wang, D., Zhang, M. and Zhou, H., (2019). Ferulic acid treatment reinforces the resistance of postharvest apple fruit during gray mold infection. *Journal of Plant Pathology*, 101, pp.503-511.

Hernandez-Munoz, P., Almenar, E., Del Valle, V., Velez, D. and Gavara, R., (2008). Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria*× *ananassa*) quality during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 110(2), pp.428-435.

Imran, A., Rafiullah, K., & Muhammad, A. (2000). Effect of added sugar at various concentration on the storage stability of guava pulp. *Sarhad Journal of Agriculture*, 16(1), 89-93.

Kelebek, H., Canbas, A. and Selli, S., (2008). Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of blood orange juices obtained from cvs. Moro and Sanguinello (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) grown in Turkey. *Food Chemistry*, 107(4), pp.1710-1716.

Kirmani, S.N., Wani, G.M., Wani, M.S., Ghani, M.Y., Abid, M., Muzamil, S., Raja, H. and Malik, A.R., (2013). Effect of preharvest application of calcium chloride (CaCl 2), gibberlic acid (GA 3) and napthelenic acetic acid (NAA) on storage of plum (*Prunus salicina* L.), cv. Santa Rosa, under ambient storage conditions. *African Journal of Agricultural Research*, 8(9), pp.812-818.

Kittur, F. S., Saroja, N., & Tharanathan, R. (2001). Polysaccharide-based composite coating formulations for shelf-life extension of fresh banana and mango. *European Food Research and Technology*, 213(4), 306-311.

Lillioja, S., Neal, A.L., Tapsell, L. and Jacobs Jr, D.R., (2013). Whole grains, type 2 diabetes, coronary heart disease, and hypertension: links to the aleurone preferred over indigestible fiber. Biofactors, 39(3), pp.242-258.

Li, H., & Yu, T. (2001). Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(2), 269-274.

Ma, Z.C., Hong, Q., Wang, Y.G., Tan, H.L., Xiao, C.R., Liang, Q.D., Cai, S.H. and Gao, Y., (2010). Ferulic acid attenuates adhesion molecule expression in gamma-radiated human umbilical vascular endothelial cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 33(5), pp.752-758.

Magné, C., Saladin, G. and Clément, C., (2006). Transient effect of the herbicide flazasulfuron on carbohydrate physiology in Vitis vinifera L. Chemosphere, 62(4), pp.650-657.

Mathew, S. and Abraham, T.E., (2006). Bioconversions of ferulic acid, an hydroxycinnamic acid. *Critical Reviews in Microbiology*, 32(3), pp.115-125.

Navarrete, S., Alarcón, M. and Palomo, I., (2015). Aqueous extract of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and ferulic acid reduce the expression of TNF-α and IL-1β in LPS-activated macrophages. *Molecules*, 20(8), pp.15319-15329.

Nia, A.E., Taghipour, S. and Siahmansour, S., (2021). Pre-harvest application of chitosan and postharvest Aloe vera gel coating enhances quality of table grape (*Vitis vinifera* L. cv.'Yaghouti') during postharvest period. *Food Chemistry*, 347, p.129012.

Orzali, L., Forni, C.I.N.Z.I.A. and Riccioni, L., (2014). Effect of chitosan seed treatment as elicitor of resistance to Fusarium graminearum in wheat. *Seed Science and Technology*, 42(2), pp.132-149.

Paniagua, C., Posé, S., Morris, V.J., Kirby, A.R., Quesada, M.A. and Mercado, J.A., (2014). Fruit softening and pectin disassembly: an overview of nano structural pectin modifications assessed by atomic force microscopy. *Annals of Botany*, 114(6), pp.1375-1383.

Reddy, M.B., Belkacemi, K., Corcuff, R., Castaigne, F. and Arul, J., (2000). Effect of pre-harvest chitosan sprays on post-harvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 20(1), pp.39-51.

Saavedra, G.M., Figueroa, N.E., Poblete, L.A., Cherian, S. and Figueroa, C.R., (2016). Effects of preharvest applications of methyl jasmonate and chitosan on postharvest decay, quality and chemical attributes of *Fragaria chiloensis* fruit. *Food Chemistry*, 190, pp.448-453.

Sajid, M., Basit, A., Ullah, Z., Shah, S.T., Ullah, I., Mohamed, H.I. and Ullah, I., (2020). Chitosan-based foliar application modulated the yield and biochemical attributes of peach (*Prunus persica* L.) cv. Early Grand. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1), pp.1-11.

Shiekh, R.A., Malik, M. A., Al-Thabaiti, S.A. and Shiekh, M.A. (2013). Chitosan as a novel edible coating for fresh fruits. *Food Science and Technology Research*, 19 (2),139–155.

Sofy, A.R., Dawoud, R.A., Sofy, M.R., Mohamed, H.I., Hmed, A.A. and El-Dougdoug, N.K., (2020). Improving regulation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants and stress-related gene stimulation in Cucumber mosaic cucumovirus-infected cucumber plants treated with glycine betaine, chitosan and combination. *Molecules*, 25(10), p.2341.

Srinivasa, P., Baskaran, R., Ramesh, M., Harish Prashanth, K. and Tharanathan, R., (2002). Storage studies of mango packed using biodegradable chitosan film. *European Food Research and Technology*, 215, pp.504-508.

Vinayagam, R., Jayachandran, M. and Xu, B., (2016). Antidiabetic effects of simple phenolic acids: A comprehensive review. *Phytotherapy Research*, 30(2), pp.184-199.

Wang, L.Z., Liu, L., Holmes, J., Kerry, J.F. and Kerry, J.P., (2007). Assessment of film-forming potential and properties of protein and polysaccharide-based biopolymer films. *International Journal of Food Science and Technology*, 42(9), pp.1128-1138.

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 *ananassa Duch*.). LWT-*Food Science and Technology*, 52(2), pp.71-79.

Wongmetha, O. and Ke, L.S., (2012). The quality maintenance and extending storage life of mango fruit after postharvest treatments. *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*, 6(9), pp.798-803.

Xing, Y., Yang, H., Guo, X., Bi, X., Liu, X., Xu, Q., Wang, Q., Li, W., Li, X., Shui, Y. and Chen, C., (2020). Effect of chitosan/Nano-TiO2 composite coatings on the postharvest quality and physicochemical characteristics of mango fruits. *Scientia Horticulturae*, 263, p.109135.

Xu, F. and Liu, S., (2017). Control of postharvest quality in blueberry fruit by combined 1-methylcyclopropene (1-MCP) and UV-C irradiation. *Food and Bioprocess Technology*, 10, pp.1695-1703.

Yaman, Ö. and Bayoındırlı, L., (2002). Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries. LWT-*Food Science and Technology*, 35(2), pp.146-150.

Zagzog, O.A., Gad, M.M. and Hafez, N.K., (2017). Effect of nano-chitosan on vegetative growth, fruiting and resistance of malformation of mango. *Trends in Horticultural Research*, 67, pp.673-681.

Zhang, C., Long, Y.H., Wang, Q.P., Li, J.H., Wu, X.M. and Li, M., (2019). The effect of pre harvest 28.6% chitosan composite film sprays for controlling the soft rot on kiwifruit. *Horticultural Science*, 46(4), pp.180-194.