

تأثیر اسیدآسکوربیک، کلرید کلسیم و پراکسید هیدروژن بر ماندگاری قارچ تکمه‌ای (*Agaricus bisporus*)

فهیمة سرلک^۱، اورنگ خادمی^۲ و جواد عرفانی مقدم^{۳*}

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱/۳۰)

چکیده

قارچ تکمه‌ای دارای عمر انبارمانی کم بوده و قهوه‌ای شدن، کاهش وزن و آلودگی میکروبی از تغییرات عمده‌ای است که پس از برداشت قارچ تکمه‌ای رخ می‌دهد و باعث کاهش ارزش اقتصادی آن می‌شود. بنابراین، در این پژوهش، اثر برخی از تیمارهای پس از برداشت از جمله کلرید کلسیم (۰/۳ و ۰/۴۵ درصد)، اسید آسکوربیک (۱، ۲ و ۳ میلی‌مولار)، و پراکسید هیدروژن یک درصد بر افزایش ماندگاری قارچ تکمه‌ای بررسی شد. قارچ‌ها به مدت دو دقیقه در تیمارهای فوق غوطه‌ور شده و پس از خشک شدن در دمای آزمایشگاه، در درون ظروف پلی‌اتیلنی با استفاده از پوشش سلوفان بسته‌بندی و به دمای چهار درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. برخی صفات کیفی و کمی در زمان‌های هشت و ۱۶ روز انبارداری مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد غوطه‌ور کردن در کلرید کلسیم ۰/۴۵ درصد، اسید آسکوربیک دو و سه میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن یک درصد به‌طور قابل توجهی، کیفیت بازاریابی قارچ خوراکی تکمه‌ای را حفظ و از باز شدن کلاهک آن ممانعت نمودند. تیمار کلرید کلسیم با کنترل کاهش وزن، حفظ سفتی، کاهش نشت یونی و کاهش جمعیت باکتری تیماری مؤثر در حفظ کیفیت پس از برداشت قارچ خوراکی بود. اسید آسکوربیک نیز در ممانعت از کاهش وزن تیماری بسیار مؤثر بوده و در حفظ سفتی، کاهش نشت یونی و کاهش جمعیت باکتری مؤثر نشان داد، ولی تیمار پراکسید هیدروژن تنها با کاهش شدید جمعیت باکتری به حفظ کیفیت پس از برداشت قارچ تکمه‌ای کمک کرد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی باکتریایی، پس از برداشت، سفتی، کاهش وزن، قهوه‌ای شدن

۱ و ۳. به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه ایلام، ایلام

۲. استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه شاهد، تهران

*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: j.erfani@ilam.ac.ir

مقدمه

قارچ تکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) یکی از مطلوب‌ترین انواع قارچ‌های خوراکی در بازارهای جهانی و محصولی با ارزش اقتصادی و غذایی بالا می‌باشد که تولید آن در تمام طول سال امکان‌پذیر است (۱۷). کیفیت ظاهری در پس از برداشت عامل اصلی تعیین‌کننده میزان فروش و قیمت محصول می‌باشد (۱). منتهی قارچ خوراکی به دلیل سرعت تنفس و تبخیر بالا سریعاً کیفیت پس از برداشت خود را از دست می‌دهد. کیفیت در قارچ از نظر مصرف‌کننده شامل رنگ سفید، کلاهک بسته، پایه کوتاه، تردی، سفتی و بوی مطبوع می‌باشد (۱، ۶ و ۲۵). قهوه‌ای شدن در قارچ خوراکی بسیار سریع رخ می‌دهد که یک مشکل بزرگ در صنعت تولید و نگهداری این محصول می‌باشد. در مقایسه با سایر میوه‌ها و سبزیجات، اندام قارچ ظرف چند ساعت پس از آسیب مکانیکی و یا در مدت کوتاهی در طول انبارداری، قهوه‌ای می‌شود (۱۵). قهوه‌ای شدن در قارچ عمدتاً طی دو مکانیسم شامل فعالیت آنزیم تیروزیناز از خانواده پلی‌فنل اکسیداز و فعالیت باکتری *Pesudomphnas tolasii* رخ می‌دهد (۹ و ۱۸). باکتری *P. tolaasii* با ایجاد بیماری لکه قهوه‌ای در قارچ موجب کاهش شدید ارزش اقتصادی قارچ خوراکی در بستر کشت و در طول انبارداری می‌شود (۱۸). بنابراین برای حفظ ارزش اقتصادی قارچ خوراکی ممانعت از قهوه‌ای شدن آنزیمی و کنترل عوامل باکتریایی امری ضروری می‌باشد.

اسید آسکوربیک در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی در موجودات زنده نقش دارد. اسید آسکوربیک یک اسید آلی ضعیف و جزء طبیعی بافت بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات تازه بوده و تا حدود زیادی برای سلامتی انسان مفید می‌باشد. از اسیدهای آلی به‌عنوان یک کاهنده فعالیت باکتریایی در برنامه‌های غذایی استفاده می‌شود که بیشتر به دلیل کاهش pH مناسب فعالیت باکتری‌ها در سطح سلول می‌باشد (۱۲، ۲۶ و ۲۷). هم‌چنین مشخص شده است که اسید آسکوربیک دارای نقش آنتی‌اکسیدانی بوده و موجب تحریک برخی واکنش‌های

بیوشیمیایی می‌شود (۸). به‌عنوان مثال اسید آسکوربیک موجب بازگشت کوئینون به دی‌فنل در طی فرایند قهوه‌ای شدن آنزیمی می‌گردد. بنابراین از تجمع رنگدانه قهوه‌ای ملانین در بافت و به‌دنبال آن از قهوه‌ای شدن جلوگیری می‌کند. اثر اسید آسکوربیک بر کاهش قهوه‌ای شدن در سیب و آناناس برش خورده گزارش شده است (۲۶).

مطالعات نشان داده است که کاهش کیفیت محصول در پس از برداشت، رابطه مستقیم با کاهش غلظت یون کلسیم سلول دارد. کلسیم در سلول موجب استحکام دیواره سلولی و تنظیم تراوایی غشای سلولی می‌گردد. نقش کلسیم در به تأخیر انداختن پیری و رسیدن در پس از برداشت تا حد زیادی به افزایش ثبات غشای سلولی مرتبط است (۲۱). کمبود کلسیم در بافت موجب افزایش میزان قهوه‌ای شدن می‌شود. با کاهش یون کلسیم، غشای سلولی نفوذپذیری انتخابی کمتری داشته و ترکیبات فنلی به اندامک‌های سلولی وارد و طی فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز به ترکیبات قهوه‌ای تبدیل می‌شوند. نقش کلسیم در ممانعت از واکنش قهوه‌ای شدن آنزیمی علاوه از حفظ ساختار غشا به دلیل کلاته نمودن فنل و جلوگیری از اکسیداسیون آن می‌باشد (۲۰). در پژوهشی، کوکورا و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند استفاده از تیمار کلرید کلسیم در آب آبیاری قارچ تکمه‌ای عمر پس از برداشت آن را افزایش و به‌طور قابل توجهی میزان قهوه‌ای شدن را کاهش داد (۱۳). گزارش دیگر نشان داده است که تیمار یک درصد کلرید کلسیم با القا مقاومت به بیماری قارچ بوتریتیس و تأخیر در رسیدن میوه توت‌فرنگی موجب افزایش عمر انبارمانی آن تا ۱۰ روز شده است (۱۴). اثر تیمار کلرید کلسیم در افزایش عمر پس از برداشت کیوی نیز گزارش شده است (۷).

پراکسید هیدروژن یکی از ترکیبات شیمیایی ضد میکروارگانسیم‌های موجود در سطوح خارجی میوه‌ها و سبزیجات است. تیمار پراکسید هیدروژن در غلظت پایین به‌عنوان کشنده و یا کاهنده میکروارگانسیم‌های عمل می‌کند (۱۰). اثر ضد میکروبی پراکسید هیدروژن به تولید رادیکال‌های

سانتی گراد منتقل شدند. در زمان‌های هشت و ۱۶ روز پس از انبارداری تعداد سه واحد آزمایشی از هر تیمار (به‌عنوان سه تکرار) از انبار سرد خارج و مورد ارزیابی قرار گرفتند. کاهش وزن، درجه بازارپسندی، درجه بسته بودن کلاهک، سفتی بافت، مقدار مواد جامد محلول، درصد اسید قابل تیترا، نسبت قند به اسید، نشت یونی و تعداد واحد تشکیل کلونی باکتریایی شاخص‌های مورد بررسی در این آزمایش بودند. کاهش وزن نمونه‌ها با اندازه‌گیری وزن هر نمونه قبل و پس از دوره انبارداری و با استفاده از روش زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد کاهش وزن محصول} = \frac{\text{وزن محصول در پایان انبارداری} - \text{وزن محصول در ابتدای انبارداری}}{\text{وزن محصول در ابتدای انبارداری}} \times 100$$

درجه قهوه‌ای شدن به صورت ظاهری توسط پنج نفر و در محدوده یک الی پنج نمره دهی شد. ۱: بیشترین درجه قهوه‌ای شدن و کمترین بازارپسندی، ۵: کمترین درجه قهوه‌ای شدن و بیشترین بازارپسندی.

درجه بسته بودن کلاهک در محدوده یک الی سه نمره دهی شد. ۱: باز شدن کامل کلاهک، ۲: نیمه‌باز بودن کلاهک و ۳: بسته بودن کامل کلاهک.

سفتی بافت به وسیله سفتی‌سنج دستی (مدل FT-011) با قطر پیستون چهار میلی‌متر اندازه‌گیری و براساس نیوتن محاسبه گردید. به منظور تعیین میزان باکتری‌های موجود در سطح قارچ، یک گرم نمونه به‌طور تصادفی از سطح قارچ‌ها برداشته شده و درون هاون چینی دارای ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به خوبی همگن گردید. سپس یک میلی‌لیتر از این عصاره برداشته شده و با آب مقطر استریل به حجم ۱۰۰۰ رسید، رقیق‌سازی مجدد صورت گرفت، بدین شکل که یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون با آب استریل به حجم صد میلی‌لیتر رسانیده شد و سپس یک قطره از سوسپانسیون تهیه شده درون محیط کشت نوترینت آگار (۲/۸ درصد) به‌طور همگن پخش شده و پتری‌های کشت شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵°C در اتاقک رشد نگهداری و سپس تعداد کلونی‌های تشکیل شده شمارش شدند.

هیدروکسیل و اکسیژن‌های فعال، نسبت داده می‌شود (۱۲). اثر مثبت تیمار پراکسید هیدروژن در کاهش جمعیت باکتریایی، قارچ خوراکی برش خورده و در پی آن ممانعت از قهوه‌ای شدن گزارش شده است (۲۴). در پژوهش صورت گرفته روی انگور آلوده به قارچ بوتریتیس نشان داده شده است، تیمار پراکسید هیدروژن سه درصد، به‌طور قابل توجهی میزان آلودگی قارچی را کاهش داده است (۲۷). در مطالعه روی میوه طالبی نیز، بخار پراکسید هیدروژن در کاهش محتوای میکروبی و کاهش نشت یونی در طول انبارداری، مؤثر گزارش شده است (۲۳). قارچ تکمهای دارای طعم و مزه مطبوع بوده و هم‌چنین به‌علت ارزش غذایی و دارویی تولید آن در حال افزایش است. منتهی به‌دلیل حمله عوامل باکتریایی و بروز قهوه‌ای شدن آنزیمی عمر پس از برداشت قارچ خوراکی محدود می‌باشد، بنابراین هدف از این مطالعه حفظ کیفیت قارچ تکمهای در طول دوره انبارداری با استفاده از تیمارهای ضد قهوه‌ای شدن و ضد باکتری؛ اسید آسکوربیک، کلرید کلسیم و پراکسید هیدروژن بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های قارچ تکمهای با کلاهک بسته و قطر متوسط ۴۰ میلی‌متر از شرکت قارچ ایران زمین واقع در شهرستان کرج تهیه و تحت دمای زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه ایلام منتقل شد. تیمارهای اعمال شده شامل بدون اعمال تیمار (شاهد خشک)، تیمار با آب مقطر (شاهد تر)، اسید آسکوربیک در غلظت‌های یک، دو و سه میلی‌مولار، کلرید کلسیم در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۴۵ درصد و پراکسید هیدروژن یک درصد بود. برای تهیه محلول‌ها، از آب مقطر استریل شده استفاده گردید. در هر تیمار تعداد ۶۰ عدد قارچ، در قالب شش واحد آزمایشی (هریک دارای ده قارچ) در نظر گرفته شد. قارچ‌ها در محلول‌های تهیه شده به مدت دو دقیقه غوطه‌ور و سپس در دمای آزمایشگاه خشک و درون ظروف پلی‌اتیلنی با استفاده از پوشش سلوفان بسته‌بندی و به دمای چهار درجه

دارای کمترین مقدار کاهش وزن بوده، ولی اسید آسکوربیک یک میلی مولار اختلاف معنی داری با شاهد از نظر درصد کاهش وزن نشان نداد. همین طور تیمار کلرید کلسیم در غلظت ۰/۴۵ درصد دارای درصد کاهش وزن کمتری در مقایسه با شاهد بود، ولی بین تیمار کلرید کلسیم ۰/۳ درصد و شاهد اختلاف معنی داری از نظر درصد کاهش وزن مشاهده نشد. تیمار پراکسید هیدروژن اختلاف معنی داری با شاهد های خشک و تر از نظر درصد کاهش وزن نشان نداد (جدول ۲). کاهش وزن تمامی نمونه ها در زمان بررسی ۱۶ روزه بیشتر از زمان بررسی هشت روزه بود (جدول ۳).

با توجه به نبود پوشش مناسب از دست دادن آب یکی از مهم ترین عارضه های پس از برداشت قارچ تکمه ای می باشد که عمر قفسه ای آن را محدود می سازد و بنابراین کنترل کاهش وزن می تواند راه کاری مناسب در افزایش عمر پس از برداشت قارچ تکمه ای باشد (۱۱ و ۲۴). از دست دان آب حتی در صورت عدم پژمردگی موجب تغییرات قابل توجهی در ترکیبات و سوخت و ساز سلول می شود. یکی از دلایل کاهش وزن ناشی از خسارت وارده به غشای سلولی است (۲۳). اسید آسکوربیک به علت داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی بالا موجب مهار رادیکال های آزاد، کاهش اکسیداسیون و جلوگیری از آسیب به غشای سلولی واکوئل شده و موجب کنترل کاهش وزن می شود (۲۷). هم چنین اثر کلسیم در کاهش وزن به علت ورود کلسیم به ماتریکس دیواره سلولی و غشاء بوده که موجب افزایش پایداری غشاء سلولی و حفظ فشار تورژسانس و کاهش از دست دادن آب می شود (۱۱). تیمار پراکسید هیدروژن معمولاً خاصیت ضد باکتری در پس از برداشت قارچ تکمه ای دارد و چندان در ممانعت از کاهش وزن مؤثر نمی باشد (۵).

درجه قهوه ای شدن

نتایج تجزیه واریانس نتایج نشان داد، اثر تیمار و زمان در سطح احتمال یک درصد بر درجه قهوه ای شدن معنی دار ولی اثر برهمکنش بین آنها غیر معنی دار بود (جدول ۱). با گذشت زمان

برای اندازه گیری نشت یونی از روش لوتوس و همکاران (۱۹۹۶) استفاده شد (۱۶). برای این منظور با استفاده از پانچ دستی از قسمت میانی قارچ ها تعداد پنج قطعه یکنواخت تهیه و درون لوله های آزمایش حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت هم زدن با شیکر با سرعت ۱۳۰ دور در دقیقه هدایت الکتریکی اولیه محلول اندازه گیری گردید. سپس محلول در حمام بن ماری به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شده و پس از سرد شدن نمونه ها، هدایت الکتریکی ثانویه محلول اندازه گیری و درصد نشت یونی با استفاده از روش زیر محاسبه شد.

$$\text{هدایت الکتریکی اولیه} \times 100 = \frac{\text{هدایت الکتریکی ثانویه}}{\text{درصد نشت یونی}}$$

پس از عصاره گیری نمونه ها، مقدار مواد جامد محلول با استفاده از دستگاه رفرکتومتر دستی (ATAGO مدل ATC-1e) و درصد اسید قابل تیتراسیون عصاره با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به $\text{pH} = 8/2$ اندازه گیری شد. این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل تیمارهای اعمال شده و زمان بررسی بودند. تجزیه داده ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۲) صورت گرفته و برای مقایسه اختلاف بین میانگین ها از حداقل تفاوت معنی دار ($\text{LSD} = 0.05$) استفاده گردید.

نتایج و بحث

کاهش وزن

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد، اثر اصلی تیمار و زمان در سطح احتمال یک درصد بر کاهش وزن معنی دار ولی برهمکنش بین آنها غیر معنی دار بود (جدول ۱). براساس مقایسه اختلاف میانگین ها بیشترین مقدار کاهش وزن در نمونه های شاهد خشک و شاهد تر مشاهده شد، ولی اثر تیمارهای استفاده شده بر درصد کاهش وزن به غلظت آنها بستگی داشت، به طوری که اسید آسکوربیک دو و سه میلی مولار

تأثیر اسیدآسکوربیک، کلرید کلسیم و پراکسید هیدروژن بر ماندگاری قارچ تکمهای ...

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر تیمار، زمان و بر همکنش تیمار در زمان بر برخی صفات کیفی و فیزیولوژیکی قارچ تکمهای

میانگین مربعات									
منابع تغییرات	df	کاهش وزن	درجه قهوه‌ای شدن	درجه باز شدن کلاهک	سفتی بافت	میزان تشکیل کلونی باکتری	نشت یونی	مواد جامد محلول	اسید قابل تیتر
زمان	۱	۵۸/۶۶**	۲۰/۲۳**	۰/۲۸ ^{ns}	۴۹/۹۲**	۹۸۵/۰۷ ^{ns}	۸۸۷/۰۰**	۲۱/۳**	۰/۲۹**
تیمار	۷	۰/۶۲**	۳/۶۷**	۱/۰۳**	۱۳۶/۵۰**	۸۵۴۵۶/۲۲**	۹۵/۳۵**	۲/۹۰**	۰/۱**
زمان × تیمار	۷	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۸۹ ^{ns}	۸۸۵/۱۴ ^{ns}	۹/۶۷**	۱/۹۲**	۰/۰۲ ^{ns}
خطا	۳۲	۰/۱۵	۰/۰۸	۰/۱۳	۳/۸۵	۴۴/۹۵	۱/۷۳	۰/۲۰	۰/۰۰۱
%CV		۸/۵۷	۱۰/۲۳	۱۴/۵۰	۱۰/۰۴	۵/۰۸	۱/۵۵	۷/۱۲	۸/۷۹

* و ** به ترتیب معنی داری در سطح آماری ۰/۰۵ و ۰/۰۱ درصد و ns عدم معنی داری را نشان می‌دهد.

جدول ۲. اثر اسید آسکوربیک، کلرید کلسیم و پراکسید هیدروژن بر برخی صفات کیفی و کمی قارچ تکمهای

تیمار	کاهش وزن (%)	درجه قهوه‌ای شدن	درجه باز شدن کلاهک	سفتی بافت (نیوتن)	تشکیل کلونی باکتری (۱۰ ^۶ x)	اسید قابل تیتر (%)
شاهد خشک	۴/۹۴ ^a	۲/۵۸ ^a	۱/۸۵ ^d	۱۵/۵ ^d	۴۰۰ ^a	۰/۲۷ ^c
شاهد تر	۴/۷۹ ^{ab}	۲/۵۹ ^a	۱/۹۲ ^{cd}	۱۴/۶۹ ^d	۴۰۰ ^a	۰/۲۷ ^c
اسید آسکوربیک ۱ mM	۴/۷۸ ^{ab}	۲/۱۵ ^{bc}	۲/۸۳ ^a	۱۶/۶۹ ^{cd}	۱۱۶ ^b	۰/۳ ^c
اسید آسکوربیک ۲ mM	۴/۰۴ ^d	۱/۹۴ ^{bc}	۲/۸۷ ^a	۱۸/۵۵ ^{bc}	۵۱ ^c	۰/۳۶ ^{ab}
اسید آسکوربیک ۳ mM	۴/۴۴ ^{bcd}	۲/۲۱ ^b	۲/۸۱ ^a	۲۰/۸۴ ^b	۴۰ ^c	۰/۳۸ ^a
کلرید کلسیم ۰/۳ %	۴/۶۵ ^{ab}	۲/۲۱ ^b	۲/۳۳ ^{bc}	۲۵/۷۴ ^a	۲۱/۵ ^d	۰/۳۷ ^{ab}
کلرید کلسیم ۰/۴۵ %	۴/۱۲ ^{cd}	۱/۸۳ ^c	۲/۷۸ ^a	۲۷/۵۲ ^a	۱۶ ^d	۰/۳۵ ^{ab}
پراکسید هیدروژن ۱/۱ %	۴/۵۶ ^{abc}	۱/۸۳ ^c	۲/۵۱ ^{ab}	۱۶/۶۹ ^{cd}	۳۳/۱ ^d	۰/۳۴ ^b

میانگین‌های (n = ۶) با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار نسبت به یکدیگر در سطح پنج درصد آزمون LSD می‌باشند.

جدول ۳. اثر گذشت زمان بر صفات کیفی و کمی قارچ تکمهای

زمان	کاهش وزن (%)	درجه قهوه‌ای شدن	درجه باز شدن کلاهک	سفتی بافت (نیوتن)	تشکیل کلونی باکتری (۱۰ ^۶ x)	اسید قابل تیتر (%)
۸ روزه	۳/۴۳ ^b	۱/۵۳ ^b	۲/۵۶ ^a	۲۰/۵۸ ^a	۳۳/۷ ^b	۰/۴ ^a
۱۶ روزه	۵/۶۵ ^a	۲/۸۲ ^a	۲/۴۱ ^a	۱۸/۵۴ ^b	۱۰۱ ^a	۰/۲۵ ^b

میانگین‌های (n = ۲۴) با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار نسبت به یکدیگر در سطح پنج درصد آزمون LSD می‌باشند.

نقش دارد. با کاهش pH بافت موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های خانواده پلی‌فنل اکسیداز و کاهش جمعیت باکتری می‌شود (۸). از طرفی به علت داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی از فرایندهای اکسیداسیونی جلوگیری و مانع اکسیداسیون فنل‌ها شده و قهوه‌ای شدن را به تأخیر می‌اندازد (۸ و ۲۶). کمبود کلسیم در بافت موجب افزایش میزان قهوه‌ای شدن می‌شود، چرا که نفوذپذیری انتخابی غشاء سلولی کاهش و ترکیبات فنلی به اندامک‌های سلولی وارد می‌شود و طی فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز به کینون تبدیل که به دنبال آن بافت قهوه‌ای می‌شود. با اضافه شدن کلسیم به بافت علاوه از پایداری غشاء فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نیز کاهش می‌یابد و بدین طریق قهوه‌ای شدن کاهش می‌یابد. استحکام ساختار سلولی از نفوذ عوامل باکتریایی به درون بافت قارچ نیز ممانعت می‌کند (۲۰). اثر عمده پراکسید هیدروژن در کاهش قهوه‌ای شدن آنزیمی ممانعت از حمله عوامل باکتریایی و بدین طریق به تعویق انداختن پیری و حفظ صلابت غشاءهای سلولی می‌باشد، ولی علاوه بر آن اثر این تیمار در ممانعت مستقیم از فعالیت آنزیم‌های خانواده پلی فنل اکسیداز نیز گزارش شده است (۵).

درجه باز شدن کلاهِک

براساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر تیمار بر درجه باز شدن کلاهِک معنی‌دار می‌باشد ولی اثر زمان و برهمکنش بین تیمار و زمان بر آن غیر معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین تیمارها نشان داد تمامی تیمارهای اعمال شده دارای درجه بسته بودن کلاهِک بیشتری در مقایسه با شاهد خشک و شاهد تر بودند. اسید آسکوربیک در هر سه غلظت یک، دو و سه میلی‌مولار و کلرید کلسیم در غلظت ۰/۴۵ درصد بدون اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر دارای بیشترین درجه بسته بودن کلاهِک بودند که البته با پراکسید هیدروژن نیز اختلاف معنی‌دار نشان ندادند. تیمار کلرید کلسیم ۰/۳ درصد درجه بسته بودن کلاهِک متوسطی داشته و

انبارداری میزان قهوه‌ای شدن قارچ‌ها افزایش یافت (جدول ۳) منتهی براساس اثر تیمار، تمامی تیمارهای مورد استفاده در این پژوهش نسبت به شاهد خشک و شاهد تر از درجه قهوه‌ای شدن کمتری برخوردار بودند (شکل ۱). در این بین تیمار کلرید کلسیم ۰/۴۵ درصد و پراکسید هیدروژن دارای کمترین درجه قهوه‌ای شدن بودند که البته با تیمارهای اسید آسکوربیک یک و دو میلی‌مولار اختلاف آماری معنی‌داری نشان ندادند. تیمارهای اسید آسکوربیک سه میلی‌مولار و کلرید کلسیم ۰/۳ درصد بدون اختلاف معنی‌داری با تیمارهای اسید آسکوربیک یک و دو میلی‌مولار قهوه‌ای شدن متوسطی داشته و بیشترین قهوه‌ای شدن نیز در شاهد‌های خشک و تر مشاهده شد (جدول ۲).

رنگ سفید مهم‌ترین شاخص کیفی از نظر مصرف کننده در قارچ خوراکی است. قهوه‌ای شدن پس از برداشت پدیده عمومی در قارچ خوراکی می‌باشد که ارزش اقتصادی آن را کاهش می‌دهد. حمله باکتریایی عامل اصلی آغازش بد رنگ شدن در قارچ خوراکی است. براساس نظر تولید کنندگان قارچ خوراکی بدترین عامل نقصان اقتصادی در قارچ بیماری لکه قهوه‌ای می‌باشد که می‌تواند قبل از برداشت در سالن‌های تولید و یا در پس از برداشت در سردخانه نیز رخ دهد. باکتری *P. tolaasii* عامل اصلی قهوه‌ای شدن قارچ خوراکی محسوب می‌گردد. این باکتری یک نوع سم به نام تولوزین (Tolaasin) را ترشح می‌نماید که این سم در غشاء نفوذ کرده و با تخریب غشاء منجر به بروز عارضه قهوه‌ای شدن آنزیمی در بافت قارچ می‌گردد. در حالت طبیعی آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و سوبسترای فنلی در مکان‌های سلولی مجزا قرار دارند و وقتی غشاء سلول تخریب می‌گردد در مجاورت هم قرار می‌گیرند و در نتیجه قهوه‌ای شدن آنزیمی اتفاق می‌افتد. بنابراین با کنترل عامل باکتری از قهوه‌ای شدن قارچ ممانعت شده و ظاهر مطلوب آن حفظ می‌شود (۵، ۲۳ و ۲۵).

اسید آسکوربیک به چند روش در کنترل قهوه‌ای شدن



(کلرید کلسیم ۰/۴۵ درصد)



(پراکسید هیدروژن ۱ درصد)



(شاهد آب)



(آسکوربیک اسید ۲ میلی‌مولار)



(شاهد خشک)

شکل ۱. کیفیت ظاهری و بازاری پسندی قارچ تکمه‌ای، ۱۶ روز بعد از انبارمانی (تیمارها شامل پراکسید هیدروژن ۱٪، کلرید کلسیم ۰/۴۵٪، اسید آسکوربیک ۲ میلی‌مولار، شاهد خشک و شاهد آب) (رنگی در نسخه الکترونیکی)

مرتبط می‌باشد. کاهش وزن موجب کاهش حجم، اندازه و آماس سلول شده که به دنبال آن کلاهک باز می‌شود (۳). هم‌چنین کاهش در محتوای فسفولیپید و سیالیت غشای سلولی در باز شدن کلاهک مؤثر است (۴). نقش اسید آسکوربیک به عنوان آنتی‌اکسیدان قوی در حفظ سیالیت غشای سلولی و

کمترین درجه بسته بودن کلاهک (بیشترین تعداد کلاهک باز) در قارچ‌های شاهد مشاهده شد (جدول ۲). یکی از علائم پیری و زوال قارچ تکمه‌ای باز شدن کلاهک می‌باشد که موجب کاهش کیفیت می‌شود (۴). مهم‌ترین عامل باز شدن کلاهک قارچ کاهش وزن است که به آماس سلولی

مولکولی بین مولکول‌های پکتین و گروه کربوکسیل آزاد از پلیمرهای اسید پکتیک، می‌گردد. از طرفی با حفظ ثبات غشاء و استحکام دیواره موجب حفظ فشار تورگری و آماس سلول می‌شود (۲۸). کاهش سفتی در طی انبارداری با تجزیه ساختارهای دیواره سلولی و تیغه میانی همبستگی دارد و ناشی از شروع فرایند پیری در نتیجه افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد. اسید آسکوربیک به‌عنوان ترکیبی آنتی‌اکسیدان بوده و نقش مهمی در حذف رادیکال‌های آزاد و به تأخیر انداختن پیری ایفا می‌کند و از پراکسیداسیون غشای سلولی جلوگیری می‌کند (۲۹). تیمار پراکسید هیدروژن برخلاف تیمارهای اسید آسکوربیک و کلرید کلسیم نقش آنتی‌اکسیدانی ندارد و در ساختار دیواره سلولی نیز وارد نمی‌شود و بنابراین در حفظ سفتی بافت قارچ خوراکی تأثیری نداشته است.

میزان تشکیل کلونی باکتری

براساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر اصلی تیمار و اثر اصلی زمان بر تعداد کلونی باکتری معنی‌دار ولی اثر برهمکنش بین تیمار و زمان بر تعداد کلونی باکتری غیر معنی‌دار بود. براساس مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها بیشترین جمعیت باکتری در نمونه‌های شاهد تر و شاهد خشک مشاهده شد. تمامی تیمارهای اعمال شده دارای جمعیت باکتری کمتری در مقایسه با نمونه‌های شاهد بودند. در این بین تیمارهای پراکسید هیدروژن و کلرید کلسیم در هر دو غلظت ۰/۳ و ۰/۴۵ درصد بدون اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر دارای جمعیت باکتری کمتری در مقایسه با تیمارهای اسید آسکوربیک بودند. در بین غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک، با افزایش غلظت جمعیت باکتری کاهش بیشتری یافت (جدول ۲).

هر اندازه دیواره سلولی از استحکام بیشتری برخوردار باشد، میزان مقاومت به آلودگی باکتری افزایش می‌یابد. تیمار کلسیم در افزایش استحکام دیواره سلولی نقش دارد و به‌طور

تأخیر در واکنش‌های مرتبط با پیری به اثبات رسیده است. بنابراین تیمار اسیدآسکوربیک در ممانعت از باز شدن کلاهک از طریق حفظ صلابت سلول مؤثر بوده است (۲۹). هم‌چنین مطابق نتایج کاهش وزن، اسیدآسکوربیک در کنترل کاهش وزن مؤثر بوده و بدین طریق از باز شدن کلاهک ممانعت نموده است. تیمار کلسیم تیماری مؤثر در حفظ سیالیت غشاء است و بدین طریق افت وزن و پیری را به تأخیر انداخته و باز شدن کلاهک را به تعویق انداخته است (۱۱). در واقع کلسیم از طریق کاهش سرعت تنفس سلولی موجب کاهش سرعت کاتابولیسم و تأخیر در افزایش تخریب غشاء می‌شود (۲۸). تیمار پراکسید هیدروژن اثر مثبتی در ممانعت از کاهش وزن نشان نداد و بنابراین اثر آن در ممانعت از باز شدن کلاهک قارچ به دلیل به تعویق انداختن پیری در اثر کاهش جمعیت عوامل باکتریایی بوده است (۵).

سفتی بافت

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار و اثر زمان در سطح احتمال یک درصد بر سفتی بافت معنی‌دار ولی اثر برهمکنش بین آنها بر سفتی بافت غیر معنی‌دار بود (جدول ۱). قارچ‌های تمامی تیمارها در زمان هشت روز دارای سفتی بافت بیشتری در مقایسه با زمان ۱۶ روز بودند (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که نمونه‌های تیمار شده با کلرید کلسیم در هر دو غلظت نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌دار از سفتی بافت بیشتری برخوردار بودند. پس از کلرید کلسیم، تیمارهای اسید آسکوربیک به‌خصوص در غلظت‌های بالاتر دارای سفتی بافت بیشتری در مقایسه با تیمار پراکسید هیدروژن و شاهد خشک و تر بودند، اما تیمار پراکسید هیدروژن بر میزان سفتی بافت اثر معنی‌داری نشان نداد. تیمار کلسیم از طریق تشکیل پکتات کلسیم باعث حفظ سفتی بافت می‌گردد. کلسیم در غشای میانی و دیواره سلولی نفوذ می‌کند و موجب افزایش مقاومت به آنزیم‌های پکتین متیل استراز و پلی‌گالاکتروناز می‌شود. یون کلسیم نیز موجب تشکیل پل

دو میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن در سطح مشابه آماری قرار گرفت (شکل ۲).

بخش عمده اختلالات فیزیولوژیکی محصولات تازه در زمان انبارداری به غشای سلولی مرتبط می‌شود. واکنش‌های اکسیداسیون و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء موجب افزایش نشت یونی می‌شود. افزایش کلسیم بافت از پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی جلوگیری نموده و با کاهش نشت یونی ماندگاری را بالا می‌برد (۲۸). اسید آسکوربیک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در کاهش فعالیت‌های اکسیداسیونی و پراکسیداسیونی لیپیدهای درون سلولی نقش مؤثری داشته و تمامیت غشاء در طول انبار سرد را حفظ می‌کند (۷ و ۲۸). اثر مؤثر تیمار پراکسید هیدروژن در کاهش نشت یونی میوه طالبی در طول انبارداری، گزارش شده است و به نظر می‌رسد این تیمار با کاهش جمعیت عوامل پاتوژنی و به تعویق انداختن پیری بافت موجب حفظ پایداری غشاء می‌گردد (۲۳).

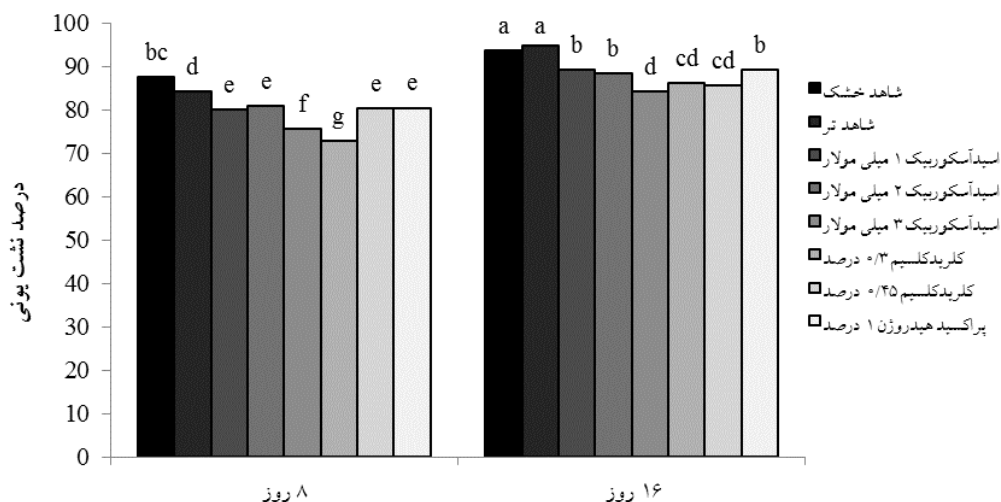
مواد جامد محلول و اسید قابل تیترا

مقدار مواد جامد محلول تحت تأثیر تیمار، زمان و برهمکنش بین آنها قرار گرفت (جدول ۱). در زمان بررسی هشت روز نمونه‌های شاهد خشک، شاهد تر و پراکسید هیدروژن به‌طور معنی‌داری دارای مقدار مواد جامد محلول بیشتری در مقایسه با نمونه‌های اسید آسکوربیک و کلرید کلسیم بودند. در این زمان کمترین مقدار مواد جامد محلول در نمونه‌های تیمار شده اسیدآسکوربیک سه میلی‌مولار مشاهده شد. در تمامی نمونه‌ها در زمان بررسی ۱۶ روز مقدار مواد جامد محلول در مقایسه با زمان هشت روز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در این زمان بررسی الگوی چندان مشخصی در مقدار مواد جامد محلول نمونه‌ها مشاهده نگردید، ولی بیشترین مقدار آن در نمونه‌های شاهد خشک و پراکسید هیدروژن و کمترین مقدار نیز در تیمار اسید آسکوربیک دو میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۳).

غیر مستقیم از پیشرفت آلودگی باکتریایی جلوگیری می‌کند (۲۰). نقش کلسیم در افزایش مقاومت به بیماری در میوه توت‌فرنگی نیز گزارش شده است (۲). از اسیدهای آلی به‌عنوان کاهنده فعالیت باکتریایی در برنامه‌های غذایی استفاده می‌شود (۲۶). اسیدآسکوربیک به‌عنوان اسید آلی ضعیف سبب کاهش pH سطح سلول می‌شود. فعالیت باکتری نیز مرتبط با pH بافت بوده و در pH های اسیدی فعالیت آن متوقف می‌گردد (۸). اثر پراکسید هیدروژن در افزایش انبارداری محصولات کشاورزی بیشتر به خاصیت ضد میکروبی آن نسبت داده می‌شود (۱۰). پراکسید هیدروژن با تولید گروه‌های هیدروکسیل و اکسیژن فعال به‌طور مستقیم موجب از بین رفتن باکتری می‌شود (۱۲). اثر مثبت تیمار پراکسید هیدروژن در کاهش جمعیت باکتری میوه طالبی گزارش شده است (۲۲).

نشت یونی

درصد نشت یونی تحت تأثیر تیمار، زمان و برهمکنش بین آنها قرار گرفت (جدول ۱). نشت یونی تمامی نمونه‌ها با گذشت زمان به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. در هر دو زمان بررسی درصد نشت یونی نمونه‌های شاهدهای خشک و تر آزمایش به‌طور معنی‌داری بیشتر از درصد نشت یونی نمونه‌های تیمارها بود. در زمان بررسی هشت روز کمترین درصد نشت یونی در تیمار کلرید کلسیم ۰/۳ درصد و به‌دنبال آن در تیمار اسید آسکوربیک سه میلی‌مولار مشاهده شد. تیمارهای اسید آسکوربیک یک و دو میلی‌مولار و کلرید کلسیم ۰/۴۵ درصد و پراکسید هیدروژن نشت یونی متوسطی نشان داده و اختلاف معنی‌داری نسبت به هم نداشتند. در زمان بررسی ۱۶ روز تیمارهای اسید آسکوربیک سه میلی‌مولار، کلرید کلسیم ۰/۳ و ۰/۴۵ درصد بدون اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر دارای نشت یونی کمتری در مقایسه با تیمارهای اسید آسکوربیک یک و دو میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن بودند. نشت یونی تیمارهای اسید آسکوربیک یک و



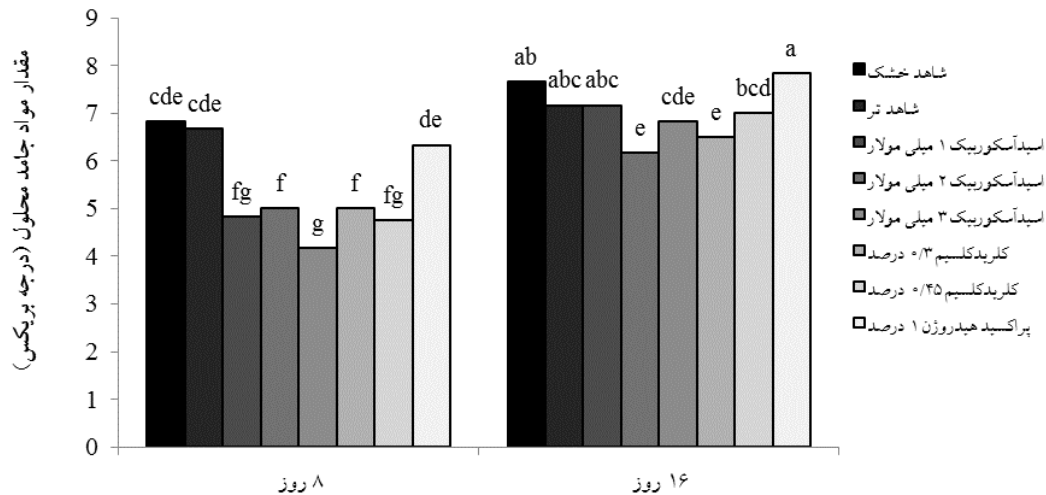
شکل ۲. برهمکنش بین تیمارهای اسید آسکوربیک، کلرید کلسیم و پراکسید هیدروژن و زمان بر درصد نشت یونی قارچ خوراکی تکمه‌ای، میانگین‌های ($n = 3$) با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر در سطح پنج درصد آزمون LSD می‌باشند.

پراکسید هیدروژن که کاهش وزن بیشتری داشتند مشاهده شد. البته ترکیب پراکسید هیدروژن به‌عنوان تیماری اکسیداسیونی بوده و با افزایش تخریب پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی نیز می‌تواند منجر به افزایش مقدار مواد جامد محلول گردد (۱۹). این امر از آنجا بیشتر مشهود می‌گردد که سفتی بافت نمونه‌های تیمار پراکسید هیدروژن نیز پایین می‌باشد. تیمار کلسیم در درجه اول با کنترل کاهش وزن افزایش مقدار مواد جامد محلول را به تأخیر انداخت (۱۱). کلسیم به‌صورت غیر مستقیم نیز با کاهش واکنش‌های اکسیداسیونی موجب تأخیر در افزایش مقدار مواد جامد محلول گردید (۲۸). تیمار اسید آسکوربیک به‌عنوان تیماری آنتی‌اکسیدان با کاهش واکنش‌های اکسیداسیونی و با کنترل کاهش وزن تر سلولی افزایش در مقدار مواد جامد محلول را کنترل نمود (۸).

واکنش‌های اکسیداسیونی و متابولیسم سلولی با مصرف و کاهش اسیدهای آلی همراه هستند (۲۹). حفظ بهتر اسیدهای آلی توسط تیمارهای کلرید کلسیم، پراکسید هیدروژن و اسید آسکوربیک به‌دلیل کاهش متابولیسم سلولی و به تعویق انداختن فرایند پیری در قارچ خوراکی بوده است (۱۹، ۲۸ و ۲۹).

براساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر اصلی تیمار و اثر اصلی زمان بر درصد اسید قابل تیتر معنی‌دار ولی اثر برهمکنش بین تیمار و زمان بر آن غیر معنی‌دار بود. براساس نتایج مقایسه میانگین نمونه‌های شاهد خشک، شاهد تر و اسیدآسکوربیک یک میلی‌مولار بدون اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر دارای درصد اسید قابل تیتر کمتری در مقایسه با سایر تیمارها بودند (شکل ۳). بیشترین مقدار اسید قابل تیتر در تیمار اسید آسکوربیک سه میلی‌مولار مشاهده شد که البته با تیمارهای اسید آسکوربیک دو میلی‌مولار و کلرید کلسیم ۰/۳ و ۰/۴۵ درصد اختلاف معنی‌داری از نظر درصد اسید قابل تیتر نشان نداد (جدول ۲). به‌گذشت زمان آزمایش درصد اسید قابل تیتر تمامی نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۳).

کاهش وزن در پس از برداشت با تلغیظ سلولی بر افزایش مقدار مواد جامد محلول نقش مؤثری دارد. از طرفی واکنش‌های اکسیداسیون سلولی با دپلمریزاسیون و تجزیه پلی‌ساکاریدها موجب افزایش مقدار مواد جامد محلول می‌شوند (۲۹). در این آزمایش بیشترین مقدار افزایش مواد جامد محلول در نمونه‌های شاهد‌های آزمایش و تیمار



شکل ۳. برهمکنش بین تیمارهای اسید آسکوربیک، کلرید کلسیم و پراکسید هیدروژن و زمان بر مقدار مواد جامد محلول قارچ خوراکی تکمه‌ای، میانگین‌های (n = 3) با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار نسبت به یکدیگر در سطح پنج درصد آزمون LSD می‌باشند.

انداخت. مکانیزم عمل تیمار کلسیم شامل: حفظ ساختار غشاء، حفظ سفتی و کاهش بار میکروبی، مکانیزم عمل تیمار اسید آسکوربیک شامل: کنترل از دست دادن رطوبت، حفظ متوسط سفتی و حفظ ساختار غشاء و مکانیزم اثر تیمار پراکسید هیدروژن، کاهش بار میکروبی در این آزمایش بود.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد تیمار کلرید کلسیم، اسید آسکوربیک و پراکسید هیدروژن به‌طور معنی‌داری ضایعات پس از برداشت قارچ تکمه‌ای را از طریق به تأخیر انداختن فرایند پیری که شامل تغییراتی مانند قهوه‌ای شدن، باز شدن کلاهک، مصرف اسید قابل تیترو و افزایش مقدار مواد جامد محلول می‌باشد به تأخیر

منابع مورد استفاده

- Ajlouni, S., R. Beelman, D. Thompson and J. Mau. 1995. Changes in soluble sugars in various tissues of cultivated mushrooms, *Agaricus bisporus* during postharvest storage. *Developments in Food Science* 37: 1865-1880.
- Akhtar, A., N. Akhtar-Abbasi and A. Hussain. 2010. Effect of calcium chloride treatments on quality characteristics of loquat fruit during storage. *Pakistan journal of Botany* 42: 181-188.
- Beecher, T. M., N. Magan and K. S. Burton. 2001. Water potentials and soluble carbohydrate concentrations in tissues of freshly harvested and stored mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Postharvest Biology and Technology* 22: 121-131.
- Braaksma, A., D. J. Schaap, J. W. Donkers and C. M. A. Schipper. 2001. Effect of cytokinin on cap opening in *Agaricus bisporus* during storage. *Postharvest Biology and Technology* 23: 171-173.
- Brennan, M., G. LePort and R. Gormley. 2000. Post-harvest treatment with citric acid or hydrogen peroxide to extend the shelf life of fresh sliced mushrooms. *LWT- Food Science and Technology* 33: 285-289.
- Burton, K. S. and R. Noble. 1993. The influence of flush number, bruising and storage temperature on mushroom quality. *Postharvest Biology and Technology* 3: 39-47.
- Dimitrios, G. and D. D. Pavlina. 2005. Summer-pruning and preharvest calcium chloride sprays affect storability and low temperature breakdown incidence in kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology* 36: 303-308.
- Golan-Goldhirsh, A. and J. Whitaker. 1984. Effect of ascorbic acid, sodium bisulfite, and thiol compounds on mushroom polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 32: 1003-1009.
- Haghbeena, K. and E. W. Tan. 2003. Direct spectrophotometric assay of monooxygenase and oxidase activities of mushroom tyrosinase in the presence of synthetic and natural substrates. *Analytical Biochemistry* 312: 23-32.

10. Isaac, O. and B. K. Maalekuu. 2013. Effect of some postharvest treatments on the quality and shelf life of three cultivars of carrot (*Daucus carota* L.) during storage at room temperature. *American Journal of Food and Nutrition* 3: 64-72.
11. Khan, Z. U., G. Aisikaer, R. U. Khan, J. Bu, Z. Jiang, Z. Ni and T. Ying. 2014. Effects of composite chemical pretreatment on maintaining quality in button mushrooms (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology* 95: 36-41.
12. Kniel, K. E., S. S. Sumner, D. S. Lindsay, C. R. Hackney, M. D. Pierson, A. M. Zajac, D. Golden and R. Fayer. 2003. Effect of organic acids and hydrogen peroxide on *cryptosporidium parvum* viability in fruit juices. *Journal of Food Protection* 9: 1650-1657.
13. Kukura, J. L., R. B. Beelman, M. Peiffer and R. Walsh. 1998. Calcium chloride added to irrigation water of mushrooms (*Agaricus bisporus*) reduces postharvest browning. *Journal of Food Science* 63: 454-457.
14. Lara, I., P. García and M. Vendrell. 2004. Modifications in cell wall composition after cold storage of calcium-treated strawberry (*Fragaria×ananassa* Duch.) fruit. *Postharvest Biology and Technology* 34: 331-339.
15. Li, N., W. Cai, Q. Jin, Q. Qin and F. Ran. 2011. Molecular cloning and expression of polyphenoloxidase genes from the mushroom (*Agaricus bisporus*). *Agricultural Sciences in China* 10: 185-194.
16. Lutts, S., J. M. Kinet and J. Bouharmont. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany* 78: 389-398.
17. Mcgarry, A. and K. Burton. 1994. Mechanical properties of the mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mycological Research* 98: 241-245.
18. Munsch, P., K. Johnstone and T. Alatosava. 2002. Evidence for genotypic differences between the two siderovars of *Pseudomonas tolaasii*, cause of brown blotch disease of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. *Microbiological Research* 157: 93-102.
19. Ozkan, M., A. Kirca and B. Cemeroglu. 2004. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. *Food Chemistry* 88: 591-597.
20. Penter, M. G. and P. J. C. Stassen. 2000. The effect of pre- and postharvest calcium applications on the postharvest quality of Pinkerton avocados. *South African Avocado Growers' Association Yearbook* 23: 1-7.
21. Picchioni, G. A., A. E. Watada, B. D. Whitaker and A. Reyes. 1996. Calcium delays senescence-related membrane lipid changes and increases net synthesis of membrane lipid components in shredded carrots. *Postharvest Biology and Technology* 9: 235-245.
22. Rizzini, F. M., C. Bonghia and P. Tonutti. 2009. Postharvest water loss induces marked changes in transcript profiling in skins of wine grape berries. *Postharvest Biology and Technology* 52: 247-253.
23. Sapers, G. and G. Simmons. 1998. Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology* 52: 48-52.
24. Simó, A., E. González-Fandos and M. Vázquez. 2010. Effect of washing with citric acid and packaging in modified atmosphere on the sensory and microbiological quality of sliced mushrooms (*Agaricus bisporus* L.). *Food Control* 2: 851-856.
25. Soler-Rivas, C., S. Jolivet, N. Arpin, J. M. Olivier and H. J. Wichers. 1999. Biochemical and physiological aspects of brown blotch disease of *Agaricus bisporus*. *FEMS Microbiology Reviews* 23: 591-614.
26. Suttirak, W. and S. Manurakchinakorn. 2010. Potential application of ascorbic acid, citric acid and oxalic acid for browning inhibition in fresh-cut fruits and vegetables. *Walailak Journal of Science and Technology* 7: 5-14.
27. Toledo, M. E. A., Y. Ued, Y. Imahori and M. Ayaki. 2003. L-ascorbic acid metabolism in spinach (*Spinacia oleracea* L.) during postharvest storage in light and dark. *Postharvest Biology and Technology* 28: 47-57.
28. Wanga, Y., X. Xie and L. E. Long. 2014. The effect of postharvest calcium application in hydro-cooling water on tissue calcium content, biochemical changes and quality attributes of sweet cherry fruit. *Food Chemistry* 160: 22-30.
29. Yang, S., X. Su, K. N. Prasad, B. Yang, C. Guiping, Y. Chen, E. Yang and Y. Jiang. 2008. Oxidation and peroxidation of postharvest banana fruit during softening. *Pakistan Journal of Botany* 40: 2023-2029.