

تأثیر تیمار پس از برداشت گاما آمینو بوتیریک اسید بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی و آنتی اکسیدانی گیلاس رقم تک دانه مشهد

حمید حسن پور^{۱*}، علی بیستی^۲ و سهیلا نوجوان^۳

۱- * نویسنده مسئول: استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (ha.hassanpour@urmia.ac.ir)

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد میوه کاری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد میوه کاری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۹/۱۸

چکیده

به منظور حفظ کیفیت و افزایش عمر انبارماني میوه‌های گیلاس رقم «تک دانه مشهد» تیمار گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا) در چهار غلظت (صفر، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار) روی میوه اعمال و میوه‌ها در دو زمان، ۱۵ و ۳۰ روز بعد از انبارداری نمونه برداری و پارامترهای مورد نظر اندازه گیری شدند. این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. صفات مختلفی از قبیل اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)، مقدار مواد جامد محلول (TSS)، pH، ظرفیت آنتی اکسیدان کل، مقدار فنل کل، فلاوونوئید کل، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که با محلول پاشی گابا مقدار اسیدهای قابل تیتراسیون حفظ شد. تیمار گابا منجر به افزایش فعالیت آنتی اکسیدان کل، فنل کل، فلاوونوئید کل و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز در میوه‌های تیمار شده نسبت به میوه‌های شاهد بعد از ۳۰ روز انبارداری شد. در حالی که مقدار pH در میوه‌های تیمار شده نسبت به میوه‌های تیمار نشده در طول انبارداری کاهش یافت. بنابراین غلظت‌های مختلف تیمار گاما آمینو بوتیریک اسید با توجه به تأثیر بر صفات مطلوب برای افزایش کیفیت پس از برداشت میوه گیلاس رقم «تک دانه مشهد» پیشنهاد می‌گردد.

کلید واژه‌ها: آنزیم، عمر انباری، فلاوونوئید، کیفیت میوه، مواد جامد محلول

مقدمه

آن‌ها می‌باشد، غنی از ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدان‌ها هستند. آنتی اکسیدان‌های موجود در این میوه‌ها جلوی عمل رادیکال‌های آزاد را در بدن می‌گیرند (Ghafar et al., 2010). همچنین آنتی اکسیدان‌ها باعث جلوگیری از اکسیداسیون‌های مولکول‌های زیستی سلول‌ها مانند لیپیدها، پروتئین‌ها، DNA و کربوهیدرات‌ها می‌شوند (Dar et al., 2015). همچنین ترکیبات فنلی که یکی از متابولیت‌های مهم گیاهی هستند و از مسیر اسید شیکیمیک^۲ سنتز می‌شوند، نقش مهمی را در خنثی‌سازی اثر رادیکال‌های آزاد بر عهده دارند (Lattanzio et al., 2012). دلیل اصلی افت کیفیت

گیلاس با نام علمی *Prunus avium* از خانواده Rosaceae یک گونه میوه‌دهنده از فصل بهار تا فصل تابستان است که بیشتر به عنوان میوه تازه مصرف می‌شود و یکی از محصولات مهم و جذاب باغبانی در دنیا می‌باشد. بر اساس آمار سازمان خواروبار جهانی در سال ۲۰۱۳ سطح زیر کشت گیلاس در دنیا ۴۰۵۱۲۹ هکتار و در ایران ۲۹۰۰۰ هکتار می‌باشد. بر اساس همان آمار عملکرد گیلاس در دنیا ۵۱۰۱/۴ کیلوگرم بر هکتار و در ایران ۴۵۲۵/۹ کیلوگرم بر هکتار می‌باشد (FAO, 2013). به طور کلی چری‌ها^۱ که گیلاس نیز یکی از

2- Shikimic acid

1- Cherries



کاهش آسیب‌های سرمازدگی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز، گلوتاتیون-اس-پراکسیداز، مونوهیدروآسکوربات ردوکتاز، دی‌هیدروآسکوربات ردوکتاز و گلوتاتیون ردوکتاز شده است. همچنین افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در میوه‌های گلابی تیمار شده با گابا باعث افزایش مقاومت این محصول به *Penicillium expansum* شده است (Yu et al., 2014). با توجه به این که تاکنون مطالعه در مورد تأثیر گابا روی عمر انبارمانی میوه گیلاس انجام نشده است و افزایش عمر انبارمانی میوه گیلاس به وسیله ترکیبات طبیعی با حفظ کیفیت آن ضروری به نظر می‌رسد و نظر به این که گابا به‌عنوان یک ترکیب طبیعی و سالم و به‌عنوان مکمل غذایی در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد و حتی غذاهای حاوی گابا نیز در صنایع غذایی تولید می‌شوند. بنابراین استفاده از گابا هیچ عوارض جانبی بر بدن نخواهد داشت و حتی در رژیم غذایی ورزشکاران نیز این اسیدآمینو گنجینه می‌شود (Nouvrozi and Esmaili, 2013). لذا این پژوهش با هدف بهبود کیفیت پس از برداشت گیلاس، افزایش ویژگی‌های بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی و بهبود وضعیت ظاهری میوه با استفاده از ترکیب طبیعی گابا انجام گرفت تا امکان جایگزینی آن با مواد شیمیایی مصنوعی بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

به منظور انجام آزمایش میوه‌های گیلاس رقم تک دانه مشهد پس از رسیدن کامل تجاری و هنگامی که ۵۰ تا ۸۰ درصد رنگ گرفته بودند و دارای اندازه مناسب و سفتی خوبی بودند، از یک باغ تجاری در شهرستان ارومیه برداشت شدند و بلافاصله به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انتقال داده شدند و از لحاظ شکل، رنگ، اندازه، عاری بودن

گیلاس در پس از برداشت کاهش وزن، تغییرات رنگ، نرمی، چروکیدگی سطحی، قهوه‌ای شدن و کاهش اسیدیته است (Martinez et al., 2005). میوه گیلاس به خاطر داشتن آب زیاد و سرعت بالای تنفس در دوره پس از برداشت شدیداً در معرض فساد بوده و انبارمانی بسیار کوتاهی دارد (Dever et al., 1996). بنابراین کاهش سرعت رسیدن و به تعویق انداختن مرحله پیری در این میوه به منظور افزایش انبارمانی آن بسیار ضروری به نظر می‌رسد.

گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا) یک اسیدآمینو غیر پروتئینی چهار کربنه بوده که مقدار آن در داخل سلول در حالت طبیعی کم می‌باشد. به‌طور مثال گوجه‌فرنگی در حالت طبیعی فاقد گابا می‌باشد (Malekzadeh et al., 2012). با این حال، این اسیدآمینو می‌تواند به سرعت و به مقدار زیاد در پاسخ به تنش‌های خشکی، شوری و درجه حرارت‌های پایین انباشته شود و در تنظیم وضعیت pH و H^+ سیتوزول نقش دارد (Mazzucotelli et al., 2006; Xing et al., 2007; Sawaki et al., 2009; Yang et al., 2011). در مورد تأثیر گابا بر افزایش عمر انبارمانی میوه‌های مختلف گزارشات متعددی وجود دارد. Wang et al. (2014) بیان کردند که تیمار گابا باعث افزایش مقدار فنل کل در میوه موز شده است. همچنین افزایش مقدار فلاونوئید کل در اثر تیمار با گابا در گل‌های شاخه بریده آنتوریوم نیز گزارش شده است. در رابطه با بررسی مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدان کل، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گل‌های شاخه بریده آنتوریوم در اثر تیمار با گابا گزارش شده است (Soleimani Aghdam et al., 2016). ولی در هر دو مطالعه فوق‌الذکر گابا باعث افزایش عمر انبارمانی میوه‌های تیمار شده گردید.

Yang et al. (2011) نشان دادند که تیمار

میوه‌های هیلو با پنج میلی مولار گابا به مدت ۱۰ دقیقه منجر به

مقدار TA برحسب معادل اسید سیتریک (اسید غالب گیلاس) طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$TA = \left(\frac{S \times N \times F \times E}{C} \right) \times 100$$

TA: مقدار اسیدهای قابل تیتراسیون موجود در عصاره میوه (g/ 100 mL)

S: مقدار NaOH مصرف شده (mL)

N: نرمالته NaOH

F: فاکتور NaOH

C: مقدار عصاره میوه (mL)

E: اکی والان اسید موردنظر (اسید سیتریک)

اندازه گیری مواد جامد محلول (TSS) و pH عصاره میوه

برای اندازه گیری TSS چند قطره از آب میوه در دمای اتاق روی رفرکتومتر دستی مدل ATAGO ساخت کشور ژاپن قرار گرفت و عدد مربوطه از روی ستون مدرج قرائت شد و داده‌ها بر حسب بریکس یادداشت گردیدند (Jalili Marandi., 2009). برای تعیین مقدار pH آب میوه نیز از عصاره صاف شده میوه و با استفاده از دستگاه pH متر مدل CP-411 ساخت کشور لهستان استفاده شد.

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی کل

برای تعیین مقدار فعالیت آنتی اکسیدان کل از روش فرپ^۱ (Tavarini et al., 2008) استفاده شد. در این روش، محلول فرپ با مخلوط کردن ۲۵ میلی لیتر بافر استات، ۲/۵ میلی لیتر TPTZ و ۲/۵ میلی لیتر کلرید آهن آماده شد. در نهایت ۲/۸۵ میلی لیتر از محلول فرپ برداشته شد و با ۱۵۰ میکرولیتر از عصاره میوه مخلوط گردید و بعد از ۱۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در اسپکتروفوتومتر مدل (Unico, S 2100 SUV) در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت گردید. سپس با رسم منحنی استاندارد مقدار فعالیت آنتی اکسیدان کل به دست آمد و بر حسب معادل میلی مول آهن بر ۱۰۰ گرم وزن تر بیان شد.

از آفات و بیماری‌ها و صدمات ظاهری بررسی شدند و پس از تیمار با گابا در ظروف پلاستیکی بسته بندی شدند.

روش اجرای آزمایش

میوه‌های گیلاس بسته بندی تا زمان اتمام آزمایشات لازم در سردخانه با درجه حرارت 1 ± 1 درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۸۵-۹۰ درصد نگهداری شدند و با فاصله زمانی هر ۱۵ روز (۱۵ و ۳۰ روز بعد از انبارداری) صفات موردنظر اندازه گیری شد.

تیمار گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا)

گابا (Sigma-Aldrich, Tehran, Iran) موردنیاز پس از توزین در آب حل شده و در سه غلظت ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار آماده شد. سپس میوه‌ها به مدت پنج دقیقه در داخل محلول مورد نظر غوطه ور گردیدند. میوه‌های شاهد نیز در داخل آب مقطر غوطه ور شدند. میوه‌ها تا زمان خشک شدن کامل (حدود یک ساعت) در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند و پس از آن در داخل ظروف پلاستیکی بسته بندی شده و به سردخانه انتقال داده شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام گرفت. فاکتورها عبارت بودند از: گاما آمینو بوتیریک اسید در چهار سطح (صفر به عنوان شاهد، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار) و زمان نگهداری در دو سطح (۱۵ و ۳۰).

اندازه گیری اسیدهای قابل تیتراسیون (TA)

برای اندازه گیری اسیدهای قابل تیتراسیون از روش تیتراسیون استفاده شد. ابتدا ۱۰ میلی لیتر از عصاره میوه در داخل ارلن مایر ریخته شد و روی آن ۴۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و سپس با قرار دادن الکتروود pH متر دیجیتالی مدل (pH-Meter CG 824) عمل تیتراسیون توسط هیدروکسید سدیم (NaOH) ۰/۱ نرمال تا $pH = 8.2$ صورت گرفت (Ayala-Zavala et al., 2007). بر اساس مقدار هیدروکسید سدیم مصرفی در جریان تیتراسیون مقدار اسید موجود در عصاره میوه به صورت گرم اسید در ۱۰۰ میلی لیتر عصاره میوه محاسبه شد.

اندازه گیری مقدار فنل کل

اندازه گیری مقدار فنل کل با استفاده از روش فولین سیوکالچو^۱ صورت گرفت (Slinkard and Singleton, 1977). ابتدا عصاره میوه گیلاس با آب میوه گیری تهیه شده و از کاغذ صافی عبور داده شد و در میکروتیوب دو میلی لیتر ریخته شد. سپس آب میوه را سانتی فیوژ کرده و محلول رویی درون میکروتیوب دیگری ریخته شد و برای اندازه گیری از این محلول رویی استفاده گردید. جذب نمونه ها در دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Unico, S 2100 SUV) در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده شد و نتایج به صورت میلی گرم اسید گالیک بر لیتر بر اساس وزن تر بیان گردید.

ارزیابی فلاوونوئید کل

برای ارزیابی فلاوونوئید کل ابتدا ۵۰۰ میکرو لیتر عصاره تهیه شده را با ۱۵۰ میکرو لیتر نیتريت سدیم پنج درصد مخلوط کرده و بعد از پنج دقیقه ۳۰۰ میکرو لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد اضافه شد. سپس بعد از پنج دقیقه یک میلی لیتر سود یک مولار اضافه شده و در نهایت حجم نهایی را به پنج سی سی رسانده و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Unico, S 2100 SUV) با طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید. مقدار فلاوونوئید کل بر حسب میلی گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر کاتچین به دست آمد (Shin et al., 2008).

استخراج عصاره آنزیمی

برای تهیه عصاره جهت تعیین مقدار فعالیت آنزیم های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز، ابتدا ۰/۵ گرم از میوه وزن شده و به داخل هاون سرد منتقل شد و توسط سه میلی لیتر محلول بافر تریس با pH= ۷/۵ شامل (اسید کلریدریک ۰/۰۵ مولار، کلرید منیزیم سه میلی مولار و EDTA یک میلی مولار) باهاون خوب ساییده شد. سپس محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰ در

دمای چهار درجه سانتی گراد سانتی فیوژ شد و از قسمت روشنار حاصله برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز و گایاکول پراکسیداز استفاده شد (Kang and Saltveit, 2002).

اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

فعالیت آنزیم کاتالاز با اندازه گیری سرعت حذف پراکسید هیدروژن صورت پذیرفت (Beers and Sizer, 1952). مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی مولار با pH=۷ محتوای ۰/۲ میلی لیتر H₂O₂ یک درصد و ۰/۳ میلی لیتر عصاره استخراجی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش در جذب در طی یک دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر محاسبه شد. یک واحد فعالیت آنزیمی عبارت است از مقدار فعالیتی از آنزیم که یک میکرومول از سوبسترا را در یک میلی لیتر از عصاره آنزیم در مدت یک دقیقه کاتالیز می کند که بر طبق فرمول زیر محاسبه می شود:

$$\text{فعالیت آنزیم کاتالاز} = \frac{\Delta A}{\text{Min}} \times \frac{1}{0/0436} \times \frac{\text{total volum}}{\text{sample volum}} \times df$$

$$\Delta A = \text{اختلاف جذب}$$

$$\text{Min} = \text{دقیقه}$$

$$\text{Total volume} = \text{حجم کل نمونه}$$

$$\text{Sample volume} = \text{مقدار عصاره در نمونه}$$

$$df = \text{فاکتور رقت}$$

اندازه گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (POD)

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به صورت افزایش در جذب گایاکول اکسید شده در طی یک دقیقه در طول موج ۴۹۰ نانومتر محاسبه شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی مولار با pH=۷ محتوای یک میلی لیتر گایاکول یک درصد، یک میلی لیتر H₂O₂ یک درصد و ۰/۱ میلی لیتر عصاره استخراجی بود. یک واحد فعالیت آنزیمی عبارت است از میزان

سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

اسیدهای قابل تیتراسیون (TA)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱) مؤید اثر معنی دار تیمار گابا و اثر متقابل گابا با زمان انبارداری در سطح احتمال یک درصد و اثر زمان انبارداری در سطح احتمال پنج درصد بر مقدار اسیدهای قابل تیتراسیون عصاره آب میوه می‌باشد. با گذشت زمان مقدار TA نسبت به زمان برداشت کاهش داشته است و مقدار آن در میوه‌های تیمار شده تفاوت معنی داری با شاهد نداشت. همچنین میوه‌های تیمار شده با گابا در زمان‌های مختلف انبارداری تفاوت معنی داری با هم داشتند ولی بین غلظت‌های مختلف گابا در روز ۱۵ و در روز ۳۰ تفاوت معنی داری مشاهده نگردید (جدول ۲).

فعالیتی از آنزیم که ۱ میکرومول از سوبسترا را در یک میلی لیتر از عصاره آنزیم در مدت یک دقیقه کاتالیز می‌کند که بر طبق فرمول زیر محاسبه می‌شود (Updhayaya *et al.*, 1985):

$$\text{فعالیت آنزیم} = \frac{\Delta A}{\text{Min}} \times \frac{1}{0.026} \times \frac{\text{Total volum}}{\text{Sample volum}} \times df$$

گایاکول پراکسیداز

ΔA = اختلاف جذب

Min = دقیقه

Total volum = حجم کل نمونه

Sample volum = مقدار عصاره در نمونه

DF = فاکتور رقت

تجزیه آماری داده‌ها

تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در میوه گیلاس تیمار شده با گاما آمینو بوتیریک اسید در طول انبارداری
Table 1. Analysis of Variance of measured traits in sweet cherry fruit treated with gamma-amino butyric acid during storage

میانگین مربعات صفات Mean square of traits									منابع تغییر Sources of variation
گایاکول پراکسیداز Guaiacol peroxidase	کاتالاز Catalase	فلاونوئید کل Total flavonoid	فنل کل Total phenol	آنتی اکسیدان کل Total antioxidant	اسیدیته pH	مواد جامد محلول TSS	اسیدهای قابل تیتراسیون TA	درجه آزادی df	
1.93**	8.51*	43039.82**	28316.61**	7332.24*	1.71**	1.24**	0.04**	3	گاما آمینو بوتیریک اسید GABA
3.43**	11.32*	54369.51**	8836.87*	9954.11*	0.69*	0.82**	0.005*	1	زمان انبارداری Storage Time
2.09**	8.46*	42165.43**	56866.37**	6942.51*	7.41**	2.34**	0.08**	3	گاما آمینو بوتیریک اسید × زمان انبارداری GABA × Storage Time
0.34	2.40	5778.65	2004.79	2197.24	0.13	0.04	0.001	24	خطا Error
15.46	10.20	13.88	8.44	6.57	9.8	9.8	5.4	-	ضریب تغییرات (درصد) C.V. (%)

* و ** به ترتیب معنی داری در سطح پنج و یک درصد.

*, ** significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل گاما آمینو بوتیریک اسید و زمان انبارداری بر صفات اندازه‌گیری شده در میوه گیلاس رقم تک دانه مشهد

Table 2. The mean comparison of the interaction effect of GABA and storage time on the assessed traits of sweet cherry cv. Tak daneyeh mashhad

فعالیت گایاکول پراکسیداز (میکرومول بر گرم بر دقیقه) Guaiacol peroxidase activity ($\mu\text{mol}/\text{min g}$)	فعالیت کاتالاز (میکرومول بر گرم بر دقیقه) Catalase activity ($\mu\text{mol}/\text{min g}$)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم بر صد گرم وزن تر کاتچین) Total flavonoid (mg CAT/100 g FW)	فنل کل (میلی‌گرم اسید گالیک بر لیتر وزن تر) Total phenol (mg GAE/L FW)	آنتی‌اکسیدان کل (میلی‌مول آهن بر صد گرم وزن تر) Total antioxidant (mM Fe+2/100 g FW)	اسیدیته pH	مواد جامد محلول (درصد) TSS (%)	اسیدهای قابل تیتراسیون (میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر) TA (mg/100 ml)	قبل از انبارداری Before storage	زمان انبارداری (روز) Storage Time (day)	گاما آمینو بوتیریک اسید (میلی‌مولار) GABA (Mm)
250	115	57.75	471.66	534.72	3.95	17	0.8	قبل از انبارداری Before storage		
241.38 ^c	118.12 ^{ef}	73.12 ^d	856.99 ^c	593.05 ^c	4.07 ^a	17.75 ^b	0.79 ^a		15	0
224.52 ^c	111.01 ^f	105.75 ^b	976.07 ^{bc}	713.61 ^a	4 ^a	16.75 ^c	0.64 ^b		30	
299.46 ^b	132.57 ^d	72 ^d	770.71 ^d	616.67 ^c	3.77 ^b	16.75 ^c	0.81 ^a		15	5
354.22 ^a	177.58 ^a	122.37 ^a	1259.64 ^a	611.1 ^c	3.88 ^{ab}	16.62 ^d	0.65 ^b		30	
172.64 ^d	125.91 ^{de}	86.62 ^c	668.93 ^e	638.62 ^b	3.92 ^{ab}	18.25 ^a	0.85 ^a		15	10
180.71 ^d	162.44 ^b	113.87 ^{ab}	851.78 ^c	656.7 ^b	3.89 ^{ab}	18 ^a	0.62 ^b		30	
165 ^d	121.56 ^e	81.37 ^{cd}	865.35 ^c	605.55 ^c	3.77 ^b	18.62 ^a	0.81 ^a		15	20
186.77 ^d	140.94 ^c	101.12 ^b	1078.93 ^b	553 ^d	3.46 ^c	17.87 ^a	0.69 ^b		30	

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌داری از نظر آماری می‌باشد.

The same letters in each column indicates statistically none-significant difference.

مواد جامد محلول (TSS)

شاهد در ۳۰ روز بعد از انبارداری بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را داشتند (جدول ۲). ولی در پایان دوره انبارداری مقدار آنتی اکسیدان کل در این غلظت پایین تر از شاهد بود. همچنین نتایج نشان داد که بالاترین مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی در میوه‌های تیمار نشده می‌باشد. البته در بین غلظت‌های گابا، غلظت ۱۰ میلی مولار در ۳۰ روز بعد از انبارداری بیشترین تأثیر را بر افزایش مقدار آنتی اکسیدان کل داشته است (جدول ۲).

مقدار فنل کل

مقدار فنل کل در میوه‌های گیلان در طول ۳۰ روز انبارداری افزایش یافته است. ولی این افزایش در میوه‌های تیمار شده با پنج میلی مولار بیشتر از شاهد بوده است. غلظت‌های مختلف گابا تأثیر متفاوتی روی فنل کل میوه‌ها داشته است. در ۱۵ روز بعد از انبارداری فنل کل میوه‌های تیمار شده روند نزولی پیدا کرده است ولی در غلظت ۲۰ میلی مولار دوباره محتوی فنل کل افزایش پیدا کرده است (جدول ۲).

مقدار فلاوونوئید کل

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر گابا و زمان انبارداری و اثر متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد بر محتوی فلاوونوئید کل معنی دار می‌باشد. مقدار فلاوونوئید کل در طول انبارداری هم در میوه‌های شاهد و هم در میوه‌های تیمار شده با گابا افزایش یافته است. ولی این افزایش در میوه‌های تیمار شده با پنج میلی مولار گابا بیشتر از بقیه بود. با افزایش غلظت گابا از پنج میلی مولار به ۲۰ میلی مولار تأثیر آن در حفظ ترکیباتی فلاوونوئیدی میوه‌ها در پایان انبارداری کمتر شده است (جدول ۲).

مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

اثر تیمار گابا، زمان انبارداری و اثر متقابل آنها روی فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح پنج درصد معنی دار بود (جدول ۱). استفاده از تیمار گابا به طور معنی داری فعالیت آنزیم کاتالاز را در غلظت‌های پایین افزایش داد

بر اساس نتایج حاصله تیمار گابا باعث افزایش TSS در میوه‌های تیمار شده در طول انبارداری نسبت به میوه‌های شاهد شده است. البته غلظت پنج میلی مولار گابا باعث کاهش TSS حتی نسبت به شاهد شده است. می‌توان گفت که غلظت‌های پایین گابا تأثیر در افزایش TSS مانند غلظت بالا ندارد. همچنین نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بیشترین مقدار TSS در تیمار ۲۰ میلی مولار گابا در ۱۵ روز بعد از انبارداری مشاهده شد و کمترین مقدار TSS در میوه‌های تیمار شده با گابای پنج میلی مولار در ۳۰ روز بعد از انبارداری مشاهده گردید (جدول ۲).

اسیدیتته میوه (pH)

همان‌طور که در جدول (۲) نشان داده شده است مقدار pH در میوه‌های شاهد در طول انبارداری کاهش یافته است ولی این کاهش معنی دار نبوده است در حالی که تیمار گابا در غلظت ۲۰ میلی مولار مقدار pH را به طور معنی داری در ۳۰ روز بعد از انبارداری کاهش داده است. بر اساس جدول دو بیشترین مقدار pH در میوه‌های شاهد ۱۵ روز بعد از انبارداری مشاهده شده است. البته بین میوه‌های شاهد بعد از ۱۵ روز انبارداری و میوه‌های تیمار شده با ۵ و ۱۰ میلی مولار گابا بعد از پایان انبارداری تفاوت معنی داری وجود نداشت.

مقدار فعالیت آنتی اکسیدان کل

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) به دست آمده مشخص گردید که تیمار گابا و زمان انبارداری و اثر متقابل آنها بر مقدار فعالیت آنتی اکسیدان کل در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بوده است. مقدار آنتی اکسیدان کل در طول انبارداری تغییرات اندکی داشت. با گذشت زمان مقدار فعالیت آنتی اکسیدان کل نسبت به زمان برداشت افزایش داشته است و مقدار آن در تیمار پنج میلی مولار در ۱۵ روز بعد از انبارداری تفاوت معنی داری با شاهد نداشت در حالی که میوه‌های

گابا بر مقدار مواد جامد محلول در طول انبارداری مطابق یافته‌های، گزارش شده در مورد میوه‌های هلوئی تیمار شده با گابا در طول انبارداری بود (Shang *et al.*, 2011). Soleimani Aghdam *et al.* (2016) نیز در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که تیمار گل‌های شاخه بریده آنتوریوم با گابا منجر به افزایش مقدار مواد جامد محلول در طول دوره نگهداری می‌گردد. تیمار گابا از مصرف بیشتر قندها جلوگیری می‌کند و از این طریق باعث افزایش TSS در طول انبارداری می‌گردد. با توجه به اینکه در طول دوره نگهداری پیش ماده‌های تنفس یعنی قندها و اسیدها کاهش پیدا می‌کنند. این امر باعث تغییرات متفاوتی در pH در طول مدت نگهداری میوه‌ها می‌شود (Zhang *et al.*, 2008). البته واکنش میوه‌های مختلف نیز به تیمار گابا در طول انبارداری متفاوت می‌باشد.

ترکیبات فنلی جزء سیستم آنتی‌اکسیدانی غیرآزیمی بوده که نقش مهمی را در خنثی‌سازی اثرات رادیکال‌های آزاد بازی می‌کنند و در نتیجه باعث کاهش اثرات تنش اکسیداتیو می‌شوند (Zapata *et al.*, 2014). مکانیسم اثر گابا بر افزایش مقدار فنل کل و فلاونوئید کل در طول انبارداری ممکن است به دلیل تحریک تولید آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL) باشد که در واقع باعث به راه‌اندازی مسیر فنیل پروپانوئید می‌شود و مسیر فنیل پروپانوئید باعث سنتز ترکیبات فنلی نظیر ترکیبات فلاونوئیدی می‌شود. نتایج مطالعات قبلی در موز و در گل‌های شاخه بریده آنتوریوم نشان داد که گابا باعث افزایش مقدار آنتی‌اکسیدان کل در طول انبارداری می‌گردد (Soleimani Aghdam *et al.*, 2016)؛ Wang *et al.*, 2014). در مطالعه حاضر نیز آنتی‌اکسیدان کل در اثر استفاده از گابا نسبت به زمان برداشت در طول انبارداری افزایش یافت. همچنین در ۱۵ روز بعد از انبارداری میوه‌های تیمار شده، مقدار آنتی‌اکسیدان کل بیشتری نسبت به شاهد داشتند هر چند که این تفاوت فقط در غلظت ۱۰ گابا معنی‌دار بود. ولی در ۳۰ روز بعد از

به‌طوری‌که در ۳۰ روز بعد از انبارداری مقدار فعالیت این آنزیم در غلظت پنج میلی‌مولار به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافته است. ولی با افزایش غلظت گابا فعالیت این آنزیم روند کاهشی پیدا کرد (جدول ۲).

مقدار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (POD)

میوه‌های تیمار شده با گابا در غلظت ۲۰ میلی‌مولار در ۱۵ روز بعد از انبارداری در دمای 1 ± 1 درجه سانتی‌گراد مقدار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز کمتری داشتند. بیشترین مقدار فعالیت این آنزیم در میوه‌های ۳۰ روز انبار شده با کاربرد گابای پنج میلی‌مولار مشاهده شد. در طول زمان انبارداری روند فعالیت این آنزیم به این شکل بوده که در غلظت پنج میلی‌مولار فعالیت این آنزیم افزایش یافته ولی در غلظت‌های دیگر این روند کاهشی بوده و نسبت به شاهد فعالیت کمتری داشته است. شاید می‌توان نتیجه‌گیری نمود که غلظت پنج میلی‌مولار در افزایش فعالیت این آنزیم آنتی‌اکسیدانی بسیار مؤثر بوده است (جدول ۲).

اسیدهای آلی یک منبع اندوخته انرژی برای میوه می‌باشند که در هنگام رسیدن میوه با افزایش سوخت و ساز، طی اکسایش اسیدها در چرخه کربس مصرف می‌شوند. همچنین محتوای اسیدهای آلی طی دوره نگهداری به دلیل تخمیر و در اثر تنفس میوه‌ها کاهش می‌یابد. بنابراین هر عاملی که باعث کاهش تنفس بشود، باعث کاهش مصرف اسیدهای آلی به‌عنوان سوسترای تنفسی در طول انبارداری میوه‌ها می‌شود (Marsh *et al.*, 2004). علت حفظ و کاهش نیافتن اسیدهای آلی در میوه‌های تیمار شده در طول انبارداری می‌تواند احتمالاً به دلیل نقش گابا در افزایش سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی باشد که در نتیجه باعث جلوگیری از آسیب‌های وارد شده به غشاء شده و کاهش نیاز به مصرف اسیدهای آلی را در پی دارد. نتایج به‌دست آمده از این مطالعه مطابق نتایج انجام شده در هلو می‌باشد که گزارش کرده‌اند تیمار گابا باعث حفظ بیشتر TA در میوه هلو در طول انبارداری می‌شود. نتایج ما در مورد اثر

می‌باشد (Cao et al., 2008; Ma et al., 2013; Zhang et al., 2011). در گزارش‌هایی کاربرد گابا سبب افزایش فعالیت آنزیم گایاگول پراکسیداز در موز و گلابی در طول انبارداری شده است (Wang et al., 2014; Yu et al., 2014). نتایج حاصل از این مطالعه با نتایج مطالعات فوق‌الذکر مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

با توجه به این که به دلیل آگاهی مصرف‌کنندگان، تقاضا برای محصولات ارگانیک روز به روز در حال افزایش بوده و تمایل به استفاده از روش‌هایی که بتوانند جایگزین روش‌های شیمیایی مضر شوند، بیشتر شده است. بنابراین تیمار گابا یکی از راهکارهایی است که می‌تواند برای تحریک مقاومت طبیعی گیاه و افزایش کیفیت پس از برداشت میوه‌های گیلاس رقم تک دانه مشهد به کار رود. همچنین با توجه به این که بیشترین ویژگی‌های بیوشیمیایی در اثر کاربرد تیمار گابای پنج میلی‌مولار ۳۰ روز بعد از انبارداری حاصل شده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که بهترین نتیجه در اثر کاربرد غلظت پنج میلی‌مولار حاصل شده است.

انبارداری مقدار آنتی‌اکسیدان کل شاهد بیشتر از میوه‌های تیمار شده با گابا شده است که احتمالاً دلیل آن این باشد که با طولانی شدن انبارداری تأثیر گابا روی تحریک PAL کمتر شده و باعث کاهش تجمع ترکیبات فنلی، فلاوونوئیدی و آنتوسیانینی شده است و از این طریق باعث کاهش اندک در فعالیت آنتی‌اکسیدانی شده است (Yang et al., 2011).

کاتالاز یکی از آنزیم‌های کلیدی در حفاظت از سلول‌ها به شمار می‌رود و باعث تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شود. به همین دلیل به احتمال زیاد گابا از طریق افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی منجر به جاروب کردن رادیکال‌های آزاد شده و از این طریق گیاه را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند. گزارش‌هایی هماهنگ با نتایج ما مبنی بر تأثیر کاربرد پس از برداشت گابا در افزایش مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز در طول دوره نگهداری روی گندم، هلو و گل‌های شاخه بریده آتوریوم موجود است (Malekzadeh et al., 2012; Yang et al., Soleimani Aghdam et al., 2016). همچنین گایاگول پراکسیداز یکی از آنزیم‌های کلیدی در گیاهان برای مقابله در برابر پاتوژن‌ها

References

- Ayala-Zavala, J. F., Wang, S. Y., Wang, C. Y. and Gonzalez-Aguilar, G. A. (2007). High oxygen treatment increases antioxidant capacity and postharvest life of Strawberry fruit. *Food Technology and Biotechnology*, 45(2), 166-173.
- Beers, R. F. and Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 195(1), 133-140.
- Cao, S. F., Zheng, Y. H., Yang, Z. F., Tang, S. S., Jin, P. and Wang, K. T. (2008). Effect of methyl jasmonate on the inhibition of *Colletotrichum umacutatum* infection in Loquat fruit and the possible mechanisms. *Postharvest Biology and Technology*, 49(2), 301-307.
- Dar, T. A., Uddin, M., Khan, M. M. A., Hakeem, K. R. and Jaleel, H. (2015). Jasmonates counter plant stress: A Review. *Environmental and Experimental Botany*, 115(49), 49-57.
- Dever, M. C., Macdonald, R. A., Cliff, M. A. and Lane, W. D. (1996). Sensory evolution of sweet cherry cultivars. *Hortscience*, 31(1), 150-153.

- FAO STAT. (2013). Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO). Retrieved from <http://www.fao.org>.
- Ghafar, M., Nayendraprasad, K., Weng, K. and Ismail, A. (2010). Flavonoied, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from *citrus* species. *Africa Journal of Biotechnology*, 9(3), 326-330.
- Jalili Marandi, R. (2012). Post-harvest physiology (handling and storage of fruit, vegetables and ornamental plants). Urmia: Urmia Jahad Daneshgahi Press. [In Farsi]
- kang, H. M. and Saltveit, M. E. (2002). Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots and differentially affected by salicylic acid. *Plants Physiology*, 115(4), 571-576.
- Lattanzio, V., Cardinali, A. and Linsalata, V. (2012). Plant phenolics: A biochemical and physiological perspective, In Cheynier, V., Sarni-Manchado, P., Quideau, S. (Eds.), *Recent advances in polyphenol research* (1 ed.). Wiley-Blackwell: John Wiley & Sons, Ltd.
- Ma, Z. X., Yang, L. Y., Yan, H. X., Kennedy, J. F., and Meng, X. H. (2013). Chitosan and oligochitosan enhance the resistance of peach fruit to brown rot. *Carbohydrate Polymers*, 94(1), 272-277.
- Malekzadeh, P., Khara, J. and Heidari, R. (2012). Effect of exogenous Gama-aminobutyric acid on physiological tolerance of wheat seedlings exposed to chilling stress. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 3(1), 611-617.
- Marsh, K., Attanayake, S. Walker, S. Gunson, A., Boldingh, H. and Macrae, E. (2004). Acidity and taste in kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology*, 32(2), 159-168.
- Martinez, R. D., Albuquerque, J. M., Valverde, F., Guillen, S., and Serrano, M. (2005). Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by *Aloe vera* treatment: A new edible coating. *Postharvest Biology and Technology*, 39(1), 93-100.
- Mazzucotelli, E., Tartari, A., Cattivelli, L. and Forlani, G. (2006). Metabolism of γ -aminobutyric acid during cold acclimation and freezing and its relationship to frost tolerance in barley and wheat. *Journal of Experimental Botany*, 57(14), 3755-3766.
- Nouvrozi, N. and Esmaeili, M. (2013). The production of Functional food containing GABA. The twenty-first National Congress of Food Science and Technology, Shiraz University, 320-327. [In Farsi]
- Sawaki, Y., Iuchi, S., Kobayashi, Y., Ikka. T., Sakurai, N., Fujita, M., Shinozaki, K., Shibata, D., Kobayashi, M. and Koyama, H. (2009). STOP1 regulates multiple genes that protect *Arabidopsis* from proton and aluminum toxicities. *Plant Physiology*, 150(1), 281-294.
- Shang, H. T., Cao, S. F., Yang, Z. F., Cai, Y. T. and Zheng, Y. H. (2011). Effect of exogenous γ -aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury

- in peach fruit after long-term cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(4), 1264-1268.
- Shin, Y. J., Jung, A. R., Rui, H. L., Nock, J. F. and Watkins, C. B. (2008). Harvest maturity, storage temperature and relative humidity effect fruit quality, antioxidant contents and activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 49(2), 201-209.
- Slinkard, K. and Singleton, V. L. (1977). Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
- Soleimani Aghdam, M., Naderi, R., Jannatizadeh, A., Askari Sarcheshmeh, M. A. and Babalar, M. (2016). Enhancement of postharvest chilling tolerance of *anthurium* cut flowers by γ -aminobutyric acid (GABA) treatments. *Scientia Horticulturae*, 198, 52-60.
- Tavarini, S., DeglInnocenti, E., Remorini, D., Massai, R. and Guidi, R. (2008). Antioxidant capacity, ascorbic acid, total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage on Hayward kiwifruit. *Food Chemistry*, 107(1), 282-288.
- Updhayaya, A., Sankhla, D., Davis, T. D., Sankhla, N. and Smidth, B. N. (1985). Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*, 121(5), 453-461.
- Wang, Y., Luo, Z., Huang, X., Yang, K., Gao, SH., and Du, R. (2014). Effect of exogenous γ -aminobutyric acid (GABA) treatment on chilling injury and antioxidant capacity in banana peel. *Scientia Horticulturae*, 168, 132-137.
- Xing, S. G., Jun, Y. B., Hau, Z. W. and Liang, L. Y. (2007). Higher accumulation of γ -aminobutyric acid induced by salt stress through stimulating the activity of diamine oxidases in *Glycine max* (L.) Merr. roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(8), 560-566.
- Yang, A., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y. and Zheng, Y. (2011). γ -Aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defence response of peach fruit. *Food Chemistry*, 129(4), 1619-1622.
- Yu, C., Zeng, L., Sheng, K., Chen, F., Zhou, T., Zheng, X. and Yu, T. (2014). γ -Aminobutyric acid induces resistance against *Penicillium expansum* by priming of defence responses in pear fruit. *Food Chemistry*, 159, 29-37.
- Zapata, P. J., Martinez-Espla, A., Guillen, F., Diaz-Mula, H. M., Martinez-Romero, D., Serrano, M. and Valero, D. (2014). Preharvest application of methyl jasmonate (MeJA) in two plum cultivars. 2. Improvement of fruit quality and antioxidant systems during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 98, 115-122.
- Zhang, C. F., Wang, J. M., Zhang, J. G., Hou, C. J. and Wang, G. L. (2011). Effects of β aminobutyric acid on control of postharvest blue mould of apple fruit and its possible mechanisms of action. *Postharvest Biology and Technology*, 61(2), 145-151.

Zhang, H., Ma, L., Wang, L., Jiang, S., Dong, Y., and Zheng, X. (2008). Biocontrol of gray mold decay in peach fruit by integration of antagonistic yeast with salicylic acid and their effects on postharvest quality parameters. *Biological Control*, 47(1), 60-65.

Effect of Postharvest Treatment of Gamma-Amino Butyric Acid on Some Biochemical and Antioxidant Properties of Sweet Cherry cv. Tak Daneyeh Mashhad

H. Hassanpour^{1*}, A. Bisti² and S. Nojavan³

- 1- ***Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran (ha.hassanpour@urmia.ac.ir)
- 2- M.Sc. Student of Pomology, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
- 3- M.Sc. Student of Pomology, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 8 December, 2016

Accepted: 5 July, 2017

Abstract

Background and Objectives

Sweet cherry fruit due to high water content and respiration rate is rotten in post-harvest period and hence has a short storage life. So, reducing of respiration rate and delaying of senescence process are required for increasing of storage life. Gamma amino butyric acid (GABA) is a non-protein amino acid with low content in the cell in normal state. No study has taken into account the effect of GABA on the storage life of sweet cherry fruit and also, increasing of shelf life by natural compounds seems essential to maintain the quality. Therefore, this study was conducted with the aim of improving the post-harvest quality of sweet cherry fruit, increasing biochemical and antioxidant properties and improving fruit appearance using GABA with the purpose of replacing it with synthetic chemicals.

Materials and Methods

Fruits of sweet cherry cv. Tak Daneyeh Mashhad were harvested at commercial maturity from a commercial orchard in Urmia (Iran) and transported to laboratory immediately. GABA was used in three concentrations (5, 10 and 20 mM). Titration method was used for determination of Titratable acid (TA) and pH was determined by pH meter. TSS was determined by refractometer. Total antioxidant capacity was determined by ferric ions reducing antioxidant power assay (FRAP). Total phenolic content was determined by Folin ciocalteu method and total flavonoid content was determined by the aluminum chloride colorimetric method.

Results

The results showed that TA content remains constant with treatment of GABA during storage. GABA treatment leads to an increase in total antioxidant activity, total phenol, total flavonoid and activity of catalase and guaiacol peroxidase enzymes in the treated fruits compared to control fruit after 30 days of storage. The pH value in treated fruits compared to untreated fruits was decreased during storage. Also, GABA at 10 mM level compared with other concentrations had the highest effect on total antioxidant capacity after 30 days of storage.

Discussion

The increasing of organic acids in treating fruits can be probably due to increasing of antioxidant capacity by GABA treatment, hence the damage to membrane was prevented and the organic acids were used less frequently. Treatment of fruits with GABA decreased the pH during storage, which may be due to its role in reducing of respiration rate in harvested fruits. The mechanism of the effect of GABA on increasing of total phenol and flavonoid content may be due to stimulating the production of Phenylalanine ammonia lyase (PAL) which can trigger phenylpropanoid pathway and hereby, syntheses of phenolic compounds such as flavonoids compounds were occurred. Catalase is one of the key enzymes to protect the cells and cause the conversion of hydrogen peroxide to water and oxygen. Therefore, probably the GABA treatment via the increasing the antioxidant system such as catalase leads to scavenge free radicals thereby protecting plants against oxidative stress.

Keywords: *Enzymes, Flavonoid, Fruit quality, Postharvest, Storage life, Total soluble solid*