

نشریه پژوهشی:

تأثیر تیمار پس از برداشت فنیل آلانین بر خصوصیات فیزیوشیمیایی میوه زغال اخته طی انبارمانی سرد

سهیلا احمدخانی^۱، علی سلیمانی^{۲*}، فرهنگ رضوی^۲ و عزیزاله خیری^۳

۱، ۲ و ۳. کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱/۸)

چکیده

میوه زغال اخته منبع مهمی از ویتامین‌ها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بوده و حفظ ارزش غذایی، کیفیت ظاهری و سفتی بافت میوه در شرایط پس از برداشت از اهمیت زیادی برخوردار است. در این پژوهش اثر تیمار پس از برداشت فنیل آلانین (صفر، ۲، ۴، ۶ میلی‌مولار) و زمان انبارمانی (۷، ۱۴ و ۲۱ روز) بر خصوصیات فیزیوشیمیایی میوه زغال اخته طی مدت انبارمانی بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. میوه‌ها بلافاصله پس از تیمار در سردخانه‌ای با دمای 2 ± 1 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 85 ± 5 درصد قرار گرفتند. براساس نتایج، بالاترین محتوی آنتوسیانین ($2.6 \text{ mg CYN-3-GLU}/100\text{g FW}$)، فلاونوئید ($13.16 \text{ mg QE}/100\text{g FW}$)، فنل کل ($371.8 \text{ mg GAE}/100\text{g FW}$)، مواد جامد محلول (17.66 درصد) در هفته سوم و همچنین بیشترین میزان آسکوربیک‌اسید ($26.89 \text{ mg}/100\text{g FW}$) در تیمار ۲ میلی‌مولار فنیل آلانین مشاهده شد. کمترین میزان پراکسید هیدروژن ($0.36 \text{ } \mu\text{mol}/100\text{g FW}$) و سرمازدگی و بیشترین میزان پرولین (0.36 mg/g FW) در هفته سوم در تیمار ۶ میلی‌مولار فنیل آلانین مشاهده شد. بطور کلی نتایج نشان داد برای نیل به هدف مهم انبارمانی زغال اخته در سردخانه که حفظ شاخص‌های فیزیکی و شیمیایی مطلوب این میوه و ماندگاری بیشتر نسبت به نگهداری در دمای معمولی می‌باشد، تیمار ۲ میلی‌مولار فنیل آلانین می‌تواند مناسب‌ترین تیمار باشد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، دوره انبارمانی، زغال اخته، سرمازدگی.

The effect of postharvest phenylalanine treatment on physicochemical attributes of cornelian cherry fruits during cold storage

Soheilla Ahmadkhani¹, Ali Soleimani^{2*}, Farhang Razavi² and Azizollah Kheiry³

1, 2, 3. M. Sc., Associate Professor and Assistant Professor, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

(Received: Jul. 28, 2021- Accepted: Mar. 28, 2022)

ABSTRACT

Cornelian cherry fruit is an important source of vitamins and antioxidant compounds, and the prevention of the reduction of fruit nutritional value, appearance quality and firmness during the post-harvest period is one of the important issue in this fruit. The effect of phenylalanine postharvest treatment (0, 2, 4, 6 mmol), and different storage times (7, 14 and 21 days) on maintaining the physicochemical properties of cornelian cherry fruit during storage as a factorial experiment based on completely randomized design with three replications was investigated in current research. Immediately after treatment, the fruits were placed in a cold storage at 2 ± 1 °C and relative humidity of $85 \pm 5\%$. Based on the results, the maximum content of anthocyanin ($2.6 \text{ mg CYN-3-GLU}/100\text{g FW}$), flavonoids ($13.16 \text{ mg QE}/100\text{g FW}$), total phenol ($371.8 \text{ mg GAE}/100\text{g FW}$), soluble solids (17.66 %) in the third week and maximum content of ascorbic acid ($26.89 \text{ mg}/100\text{g FW}$) were accompanied by 2 mmol phenylalanine. The lowest amount of H_2O_2 ($0.36 \text{ } \mu\text{mol}/100\text{g FW}$) and the percentage of frostbite, and also the highest amount of proline (0.36 mg/g FW) were observed with 6 mmol phenylalanine treatment in the third week. The results showed in order to achieve the important goal of storage cornelian cherry in the cold storage, which maintains the desired physical and chemical characteristics of this fruit and has a longer shelf than storage at normal temperature, 2 mmol phenylalanine can be the most appropriate treatment.

Keywords: Chilling, cornelian cherry, proline, storage period.

* Corresponding author E-mail: asoleimani@znu.ac.ir

مقدمه

محصولات باغی بویژه میوه‌ها بدلیل بالا بودن درصد رطوبت و ماهیت فیزیولوژیکی خاصی که دارند، دارای ضایعات پس از برداشت قابل توجهی هستند. عوامل متعدد و متفاوت زیادی در دوره قبل و پس از برداشت میوه در شدت بروز این پدیده موثرند که نوع میوه، مدیریت تغذیه باغ و استفاده از تیمارهای پس از برداشت از جمله این عوامل می‌باشند (Hashemi Dezfuli & Maidani, 1997). زغال‌اخته با نام علمی *Cornus mas* متعلق به خانواده *Cornaceae* و زیررده جداگلبرگان است. بیشتر گونه‌های *Cornus* زینتی هستند، فقط چند گونه خوراکی دارند که مهم‌ترین آن‌ها *Cornelian* (*Cornus mas*) است. میوه زغال‌اخته از نوع شفت و فرازگرا بوده و در اردیبهشت ماه تشکیل می‌شود. زمان برداشت میوه اواخر تابستان می‌باشد. این میوه حاوی مقادیر زیادی آهن، کلسیم، فولیک‌اسید، ویتامین‌های C، B و E و فلاونوئیدها است (Gillani et al., 2017; Hassanpour, 2017). زغال‌اخته حاوی بیش از ده درصد تانن، قند، پکتین، اسیدهای آلی، رنگدانه و فیبر بوده و در میوه آن گلوکز، ساکارز و گلی‌اکسالیک‌اسید (Glyoxalic acid) و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فراوانی نیز وجود دارد که موجب افزایش ارزش غذایی آن شده است (Pashaei et al., 2017).

فنیل آلانین با نام شیمیایی 2-Amino-3-phenylpropanoic acid جزو اسیدآمین‌های ضروری، آروماتیک و غیرقطبی است که یک آلفا آمینواسید با فرمول شیمیایی $C_9H_{11}NO_2$ می‌باشد (Portu et al., 2015). اسیدهای آمینه واحدهای تشکیل‌دهنده پروتئین بوده و در ایجاد مقاومت به آفات و بیماری‌ها، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی گیاهان نقش مهمی را ایفا می‌کنند. فنیل‌استیک‌اسید اولین حدواسط برای سنتز ترکیبات فنلی، آنتوسیانین، فلاونوئیدها، تانن و لیگنین می‌باشد و اسید آمینه فنیل آلانین ماده اصلی تشکیل‌دهنده این ملکول مهم زیستی است (Garde-Cerdan et al., 2014).

نتایج حاصل از کاربرد فنیل آلانین در انگور نشان داد که فنیل آلانین سبب افزایش محتوی آنتوسیانین میوه و حفظ رنگ در حبه‌های انگور شد (Hattori et al., 2019).

(al., 2019). در پژوهشی تأثیر محلول‌پاشی برگ‌ها با پرولین، فنیل آلانین و اوره بر ترکیبات معطره انگور نشان داد که نمونه‌های تیمار شده با فنیل آلانین دارای بیشترین ترکیبات بنزوئیدی بوده و عطر و طعم بالایی داشتند (Garde-Cerdan et al., 2014). همچنین کاربرد فنیل آلانین در آلو باعث افزایش محتوی آنتوسیانین، فنل و فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی شده و همچنین باعث حفظ یکپارچگی غشا و جلوگیری از آسیب تنش سرمایی در این میوه شد (Sogvar et al., 2020). با توجه به اهمیت تغذیه‌ای زغال‌اخته و عمر انباری کم آن، نیاز به استفاده از روش‌هایی برای طولانی کردن دوره ماندگاری و حفظ خصوصیات بیوشیمیایی این میوه ضروری می‌باشد. علی‌رغم این که فنیل آلانین قابلیت بالایی در حفظ کیفیت و افزایش عمر انباری میوه‌ها و سبزی‌ها دارد، تا کنون گزارش علمی در خصوص کاربرد این ترکیب و اثرات آن در فیزیولوژی پس از برداشت میوه زغال‌اخته ارائه نشده است. بنابراین هدف از این پژوهش ارزیابی تأثیر کاربرد پس از برداشت فنیل آلانین بر ماندگاری و حفظ ویژگی‌های مهم بیوشیمیایی و کیفی میوه زغال‌اخته می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای انجام آزمایش در شهریور ماه ۱۳۹۸ میوه‌های سالم و یکدست در مرحله بلوغ فیزیولوژیکی (بر اساس سهولت جدا شدن میوه از شاخه و شاخص رنگ معمول میوه که مرحله قرمزی رنگ می‌باشد) بطور تصادفی از باغی واقع در روستای یوزباشچای در منطقه طارم سفلی و از توابع شهر سیردان که در ۵۵ کیلومتری استان قزوین کنار جاده قزوین-رشت قرار دارد، برداشت و در جعبه‌های مخصوص به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان منتقل شدند. تیمار فنیل آلانین در سه سطح (۲، ۴، ۶ میلی‌مولار) به همراه شاهد (آب مقطر) اعمال شد. ابتدا میوه‌ها شسته شده و روی پارچه‌ی تمیزی پهن شدند و پس از خشک شدن، نمونه‌های شاهد به مدت ده دقیقه در آب مقطر و مابقی میوه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول‌های تهیه شده از فنیل آلانین غوطه‌ور

کلروفنل ایندوفنل استفاده شد (Herotiz, 2005) برای این منظور ۱۰ گرم زغال‌اخته بدون هسته به همراه ۱۰ میلی‌لیتر متافسفربیک‌اسید ۳ درصد در هاون کاملاً ساییده شد و حجم مخلوط با متافسفربیک‌اسید به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. بعد از عبور دادن از صافی، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول باقی مانده برداشته و با رنگ دی کلروایندوفنل ۰/۰۴ درصد تیتراشد. وقتی رنگ ارغوانی کم رنگ مشاهده شد تیتراسیون پایان یافته و حجم مصرفی دی کلروایندوفنل یادداشت گردید. میزان ماده رنگی مصرفی در تیتراسیون بیانگر میزان آسکوربیک‌اسید می‌باشد. میزان آسکوربیک‌اسید براساس فرمول زیر و بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر محاسبه شد (Mostofi & Najafi, 2005).

= میزان آسکوربیک‌اسید (mg/100 gr)

(حجم رنگ مصرفی × آکی والان رنگ ÷ درجه رقت × 100)

وزن نمونه میوه

فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH (دی‌فنیل‌پیکریل هیدرازیل) اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۰/۵ گرم از میوه همراه ۳ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری گردید و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس ۵۰ میکرولیتر از عصاره صاف شده برداشته و ۱۹۵۰ میکرولیتر محلول DPPH به آن اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در جای تاریک نگاه‌داری گردید. میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Spicort250, Germany) قرائت و درصد بازدارندگی طبق رابطه زیر محاسبه گردید (Dehghan et al., 2012).

$$\text{DPPH (\%)} = \frac{(A_{\text{cont}} - A_{\text{samp}})}{A_{\text{cont}}} \times 100$$

DPPH درصد بازدارندگی، A_{cont} میزان جذب

DPPH و A_{samp} میزان جذب مخلوط (نمونه و DPPH) می‌باشد.

میزان فنل کل با استفاده از معرف فولین‌سیوکالتو (Singleton & Folin-ciocalteus) اندازه‌گیری شد (Rossi, 1965). برای این منظور ۱۰۰ میکرولیتر عصاره میوه زغال‌اخته استخراج شده با متانول همراه ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات (۲ درصد W/V) در لوله آزمایش

شدند. پس از اعمال تیمار و خشک شدن میوه‌ها در دمای اتاق، میوه‌ها در ظروف پلاستیکی یکبار مصرف درب‌دار بسته‌بندی و به سردخانه‌ای با دمای 1 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 5 ± 85 درصد منتقل شدند (Mohebbi et al., 2015) و در طی سه مرحله با فاصله هفت روز در یک دوره ۲۱ روزه از سردخانه خارج و متغیرهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند.

درصد سرمازدگی میوه بر اساس میزان قهوه‌ای شدن سطح میوه، که مهمترین علامت سرمازدگی است، مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد خسارت سرمازدگی بر اساس میزان سطحی از میوه که علامت قهوه‌ای شدن را نشان می‌دهد، به صورت سطح میوه قهوه‌ای نشده (امتیاز صفر)، سطح قهوه‌ای کمتر از ۲۵ درصد (امتیاز ۱)، سطح قهوه‌ای ۵۰-۲۶ درصد (امتیاز ۲)، سطح قهوه‌ای شده بیش از ۵۰ درصد (امتیاز ۳) نمره‌دهی و با فرمول زیر محاسبه شد (Wang et al., 2006).

= شاخص سرمازدگی

سطح سرمازدگی × تعداد میوه دارای علامت سرمازدگی

تعداد کل میوه × بالاترین سطح سرمازدگی

برای اندازه‌گیری درصد کاهش وزن، میوه‌های هر واحد آزمایشی به طور جداگانه با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم در ابتدای آزمایش و قبل از انبارمانی وزن شدند. در ادامه وزن تر در طول انبارمانی اندازه‌گیری شد و تغییرات آن بصورت درصد کاهش وزن با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Meng et al., 2007).

= درصد کاهش وزن

$$100 \times \frac{\text{وزن میوه پس از انبار کردن} - \text{وزن میوه قبل از انبار کردن}}{\text{وزن میوه قبل از انبار کردن}}$$

وزن میوه قبل از انبار کردن

سفتی بافت میوه با استفاده از دستگاه پنترومتر (مدل OSK 1618 Japan) با پروب به قطر ۲ میلی‌متر روی ده عدد میوه انجام گرفت و نتایج برحسب کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع بیان شد (Jalili Marandi, 2013).

میزان مواد جامد محلول با دستگاه رفاکتومتر مدل ATC ساخت کشور ژاپن اندازه‌گیری شد و نتایج برحسب درجه بریکس تعیین گردید (Jalili Marandi, 2013). برای اندازه‌گیری مقدار آسکوربیک‌اسید میوه‌ها از روش تیتراسیون عصاره میوه با ۲ و ۶ دی

سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا با اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدی انجام شد (Heath & Packer, 1968). بدین منظور ۱ گرم بافت میوه با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید ۱۰ درصد سابیده شد و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. سپس میزان ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ با ۲ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید یک درصد حاوی تیوباربیوتیک‌اسید ۰/۶ درصد مخلوط گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد بن ماری قرار داده شد. سپس از بن ماری خارج و سریعاً خنک گردید و مجدداً سانتریفیوژ انجام گرفت و جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Spicort250, Germany) در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت شد و در نهایت غلظت مالون‌دی‌آلدئید نمونه‌ها برحسب نانومول بر گرم وزن تر بیان شد.

$$MDA = \frac{(A_{532} - A_{600}) \times W \times V}{155} \times 100$$

A؛ میزان جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر، W؛ حجم نمونه عصاره‌گیری شده، V؛ حجم محلول مورد استفاده در عصاره‌گیری.

برای اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن ۱ گرم بافت میوه همراه ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) ۱ درصد سابیده شد. عصاره به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد در مرحله بعد ۷/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی عصاره با ۷/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار و ۱/۵ میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار مخلوط گردید و میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت گردید (Hosseini, 2007).

برای اندازه‌گیری پرولین از روش ناین‌هیدرین استفاده شد (Bates et al., 1973). ابتدا ۱ گرم از نمونه گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیک‌اسید ۳ درصد مخلوط و سابیده شد و با کاغذ صافی صاف گردید. ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده برداشته شد و در یک لوله آزمایش ریخته و سپس به هر لوله ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک‌اسید اضافه شد. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در بن ماری با

ریخته شد و به مدت دو دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر واکنشگر فولین سیوکالتو ۵۰ درصد به آن اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری شد سپس جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Spicort250, Germany) در طول موج ۷۲۰ نانومتر قرائت و نتایج برحسب میلی‌گرم معادل گالیک‌اسید در ۱۰۰ گرم وزن تر میوه بیان شد. برای بدست آوردن منحنی کالیبراسیون از گالیک‌اسید به‌عنوان استاندارد استفاده شد.

میزان فلاونوئید کل نمونه‌ها به روش Kaijv et al. (2006) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۲۵۰ میکرولیتر عصاره میوه استخراج شده با متانول ۸۰ درصد، ۷۵ میکرولیتر NaNO₂ (۵ درصد W/V) و ۱۵۰ میکرولیتر ALCL₃ (۱۰ درصد W/V) و ۵۰۰ میکرولیتر NaOH (یک مولار) بود که با افزودن آب مقطر به حجم ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب محلول پس از ۵ دقیقه در طول موج ۵۰۷ نانومتر خوانده شد. جهت بدست آوردن منحنی کالیبراسیون از کوئرستین (Quercetin) به‌عنوان استاندارد استفاده شد. فلاونوئید کل برحسب میلی‌گرم معادل کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن تر میوه بیان شد.

میزان آنتوسیانین به روش اختلاف جذب در pHهای مختلف با استفاده از بافر کلریدپتاسیم ۰/۲ نرمال (pH ۱) و بافر استات سدیم (pH ۴/۵) اندازه‌گیری شد. یک گرم بافت میوه با ۴ میلی‌لیتر متانول اسیدی سابیده شد و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. سپس یک میلی‌لیتر از نمونه عصاره‌گیری شده با ۲ میلی‌لیتر از محلول‌های بافر بطور جداگانه ترکیب شد و جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۵۱۰ و ۷۰۰ نانومتر قرائت شد و با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Popovic et al., 2012).

$$A = (A_{510} - A_{700})pH 1 - (A_{510} - A_{700})pH 4/5$$

و غلظت آنتوسیانین کل (mg/100g FW) برابر است با:

$$TA = \frac{A \times MW \times DF \times 100}{\epsilon \times l}$$

MW=۴۴۹/۲ وزن مولکولی سیانیدین ۳-گلوکوزید، ε=۲۶۹۰۰ برابر با ضریب مولی سیانیدین ۳-گلوکوزید و DF فاکتور رقیق‌سازی می باشند.

استفاده از نرم افزار آماری SAS. 9. 1 و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD انجام گرفت. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم گردید.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به تجزیه واریانس صفات نشان داد که تیمار فنیل‌آلانین و زمان انبارمانی بر میزان پراکسید هیدروژن، پرولین، آنتوسیانین، کاهش وزن، درصد سرمازدگی و فیل و فلاونوئید کل تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال آماری یک درصد داشته و همچنین مشاهده شد که تیمارها اثر معنی‌داری بر میزان مواد جامد محلول، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مالون‌دی‌آلدئید نداشتند (جدول ۱). مقادیر این صفات در زمان برداشت، صفر انبارداری، در جدول ۲ آورده شده است.

دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند، پس از یک ساعت لوله‌ها از بن ماری خارج و سریع خنک گردیدند و به هر لوله آزمایش ۲ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و چند ثانیه هم زده شدند و پس از تشکیل دو فاز مجزا، قسمت رنگی برداشته شد و میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و غلظت پرولین برحسب mg/g FW با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{غلظت پرولین} = \frac{\text{حجم اولیه} \times \text{عدد حاصل از قرائت} \times 0.001}{\text{وزن تر گیاهی} \times 2}$$

پژوهش بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و تعداد ۲۰ میوه در هر تکرار در هر مرحله نمونه‌برداری انجام شد. فاکتور اول غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین در چهار سطح ۶ و ۴، ۲، ۰ میلی‌مولار و فاکتور دوم زمان انبارمانی در سه سطح ۷، ۱۴ و ۲۱ روز بود. تجزیه آماری داده‌ها با

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر کاربرد پس‌از برداشت فنیل‌آلانین بر خصوصیات فیزیکیوشیمیایی زغال‌اخته در طول نگهداری در سردخانه.

Table 1. Results of variance analysis effect of phenylalanin postharvest application impacts on physicochemical attributes of cornelian cherry fruits during cold storage.

Source of variation	df	Means of squares					
		Wight loss	Tissue Weight firmness	TSS	Ascorbic acid	Chilling injury	Antioxidant capacity
Phenylalanin	3	0.105**	0.033*	3.66 ^{ns}	18.81*	877.35**	25.59 ^{ns}
Storage time	2	0.506**	0.385**	64.05**	101.18**	13934.23**	127.75**
Phenylalanin×storage time	6	0.008 ^{ns}	0.004 ^{ns}	4.37*	8.82 ^{ns}	411.93**	14.46 ^{ns}
Error	24	0.010	0.013	2.04	5.07	97.52	20.60
C.V (%)	-	19.68	11.91	9.91	9.09	17.20	5.65

ns, *, **: Non-significantly difference and significantly difference at 5 and 1% of probability levels, respectively.

ادامه جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر پس‌از برداشت فنیل‌آلانین بر خصوصیات فیزیکیوشیمیایی زغال‌اخته در طول نگهداری در سردخانه.

Continued table 1. Results of variance analysis effect of phenylalanin postharvest application impacts on physicochemical attributes of cornelian cherry fruits during cold storage.

Source of variation	df	Means of squares					
		Flavenoid	Total phenol	Anthocyanin	MDA	Proline	Hydrogen prooxide
Phenylalanin	3	93.30**	4296.13**	0.46**	0.063 ^{ns}	0.0102**	0.105**
Storage time	2	55.25**	28678.70**	2.81**	0.69**	0.005**	0.262**
Phenylalanin×storage time	6	6.40**	3183.75**	0.30**	0.021 ^{ns}	0.0012**	0.048**
Error	24	0.53	617.84	0.042	0.111	0.00026	0.0079
C.V (%)	-	8.85	8.52	11.09	16.92	10.29	18.24

ns, *, **: Non-significantly difference and significantly difference at 5 and 1% of probability levels, respectively.

جدول ۲. صفات کیفی میوه زغال‌اخته در زمان برداشت.

Table 2. Qualitative traits of cornelian cherry fruit at harvest time.

Traits									
Tissue weight firmness (Kg/cm)	TSS (%)	Ascorbic acid (mg/100g FW)	Antioxidant capacity DPPH (%)	Flavenoid (mg QE/100g FW)	Total phenol (mg GAE/100g FW)	Anthocyanin (mg CYN-3-GLU/100g FW)	MDA (nmol/g FW)	Proline (mg/g FW)	Hydrogen prooxide (μmol/100g FW)
2.96	9.93	28.78	78.22	7.49	265.50	1.02	1.57	0.05	0.20

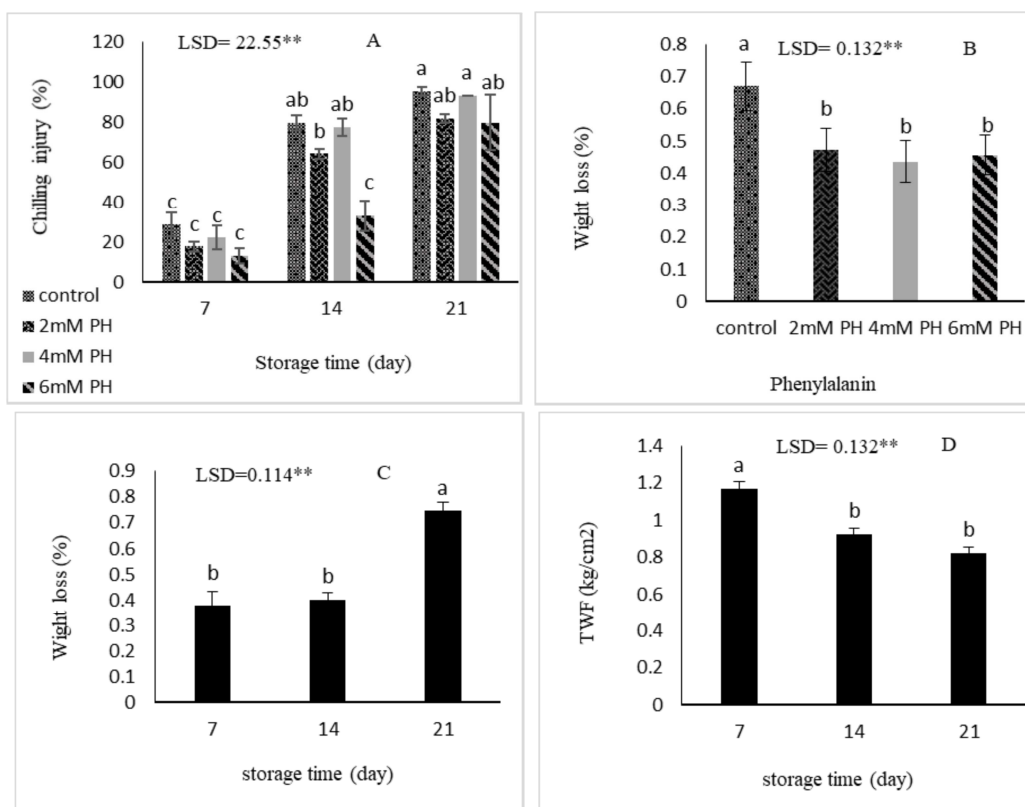
دوره سرمازدگی می‌باشند. به نظر می‌رسد تیمار فنیل آلانین با کاهش فعالیت این آنزیم‌ها تحمل به سرمازدگی را در میوه زغال‌اخته افزایش می‌دهد و این عامل منجر به کاهش میزان تولید مالون‌دی‌آلدئید می‌شود. تصویری از بروز علائم سرمازدگی در میوه‌های نگهداری شده در انبار خنک بعد از دو هفته نشان داده شده است (شکل ۲).

نتایج این پژوهش با پژوهش *Sogvar et al.* (2020) در مورد تأثیر تیمار فنیل آلانین در کاهش سرمازدگی آلوهای ذخیره شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مطابقت دارد. افزایش فنیل آلانین و افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسیدانی در اثر کاربرد تیمار سالیسیلیک‌اسید در میوه‌های خیار نیز گزارش شده است که منجر به افزایش تحمل به سرمازدگی می‌شود (*Cao et al.*, 2009).

ویژگی‌های فیزیکی و فیزیولوژیکی میوه

بر اساس نتایج، تیمار پس از برداشت فنیل آلانین و مدت زمان انبارمانی و همچنین برهمکنش بین تیمار و مدت زمان انبارمانی بر شاخص سرمازدگی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در مدت ۲۱ روز انبارمانی، میوه‌های شاهد دارای درصد سرمازدگی بالاتری نسبت به نمونه‌های تیمار شده بودند و کمترین درصد سرمازدگی در تمام طول دوره نگهداری، در تیمار ۶ میلی‌مولار فنیل آلانین مشاهده شد به‌طوری‌که میوه‌های شاهد در پایان هفته سوم ۹۵/۵ درصد و میوه‌های تیمار شده با ۶ میلی‌مولار فنیل آلانین ۷۹/۹ درصد علائم سرمازدگی نشان دادند (شکل ۱- A).

آنزیم‌های لیپولیتیک غشایی مانند فسفولیپاز D و لیپوکسیژناز با پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع غشایی عامل اصلی تخریب غشا در طول



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل فنیل آلانین و زمان انبارمانی بر شاخص سرمازدگی (A)، مقایسه میانگین اثر فنیل آلانین بر کاهش وزن (B) و مقایسه میانگین اثر زمان انبارمانی بر کاهش وزن (C) و سفتی بافت (D) میوه زغال‌اخته در طول ۲۱ روز انبارمانی در دمای ۲±۱ درجه سلسیوس. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد می‌باشند.

Figure 1. Mean comparison interaction effect of phenylalanine and storage time on chilling injury (A), Mean comparison effect of phenylalanine on weight loss (B) and Mean comparison effect of storage time on weight loss (C) and firmness (D) of cornelian cherry fruits during storage at 2±1 °C for 21 days. ** Values are the mean ±SE.

بر سانتی‌متر مربع بود (جدول ۲) و با افزایش دوره انبارمانی استحکام و سفتی همه میوه‌ها کاهش پیدا کرد (شکل ۱-D). در بین تیمارهای به کار رفته هم تیمار ۶ میلی‌مول فنیل‌آلانین بیشترین میزان سفتی بافت (۱/۰۵۷ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) را نشان داد (شکل ۳-A). نرم شدن میوه به دلیل فروپاشی دیواره سلولی ناشی از فعالیت آنزیمی، حلالیت پکتین و کاهش مقاومت مکانیکی دیواره‌های یاخته‌ای است که باعث کاهش سفتی میوه می‌شوند (Wei *et al.*, 2010). در پژوهش حاضر، کاربرد فنیل‌آلانین ۶ میلی‌مولار باعث کاهش سرعت نرم شدن بافت میوه در مقایسه با میوه‌های شاهد شد که ممکن است به دلیل کندتر شدن فعالیت آنزیمهای پلی‌گالاکتورناز و پکتین متیل استراز باشد که وظیفه هیدرولیز پکتین در دیواره سلولی را انجام می‌دهند (Lurie, 2003). در پژوهشی نتایج نشان داد که تیمار میوه زغال‌اخته با کلریدکلسیم ۸۰ میلی‌مولار سفتی بافت میوه را نسبت به شاهد در پایان دوره انبارمانی حفظ کرده و باعث جلوگیری از نرمی و فساد میوه شد (Zeinali Rad *et al.*, 2012).

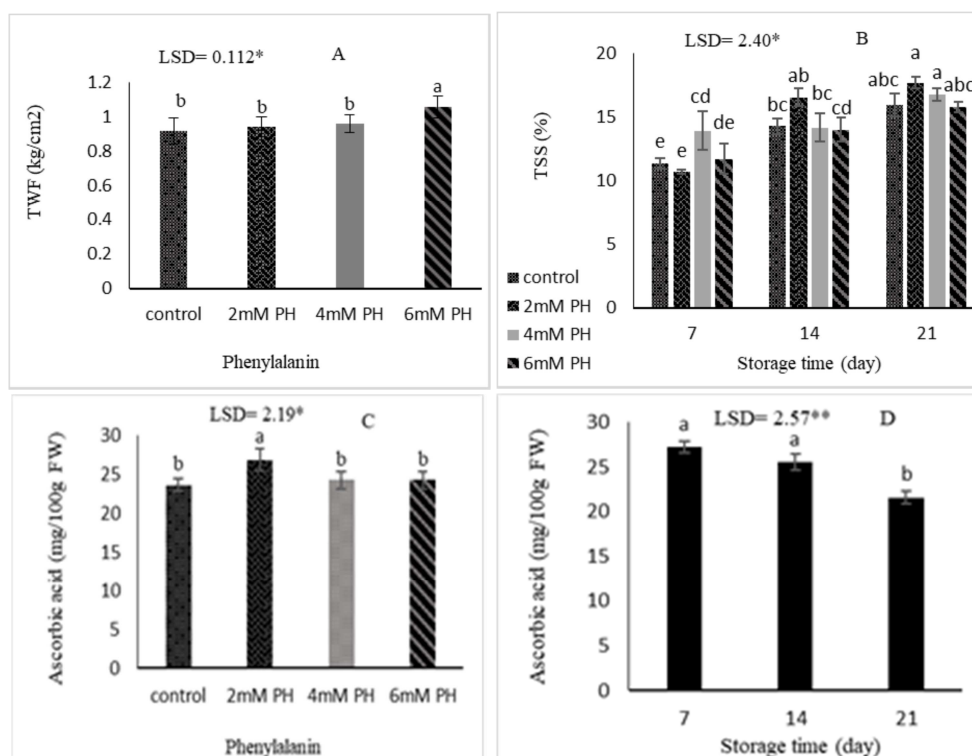
نتایج نشان داد طی زمان انبارمانی میزان مواد جامد محلول تغییر معنی‌داری داشت، به گونه‌ای که از هفته اول تا هفته سوم انبارمانی افزایش نشان داد. حداکثر مواد جامد محلول (۱۷/۶۶ درصد) در هفته سوم در تیمار ۲ میلی‌مولار فنیل‌آلانین مشاهده شد (شکل ۳-B). افزایش TSS در میوه‌های تیمار شده با فنیل‌آلانین با شدت بیشتری اتفاق افتاد. مواد جامد محلول از شاخص‌های مهم کیفی است که رابطه بالایی با ساختار میوه دارد. میوه حاوی نشاسته و قندهایی مانند گلوکز، فروکتوز و ساکارز است که مقادیر این قندها در دوره رسیدن میوه به دلیل هیدرولیز نشاسته افزایش می‌یابد (Davaranah *et al.*, 2013). دیواره سلولی حاوی مقدار زیادی از پلی‌ساکاریدها مخصوصاً پکتین و سلولز می‌باشد که در اثر فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی تجزیه شده و منجر به افزایش مقدار مواد جامد محلول می‌گردد (Santamaria *et al.*, 2015). محلول‌پاشی توت‌فرنگی با ۱۰۰ میکرومولار فنیل‌آلانین موجب افزایش مواد جامد محلول در این میوه شد (Mohseni *et al.*, 2015).



شکل ۲. بروز علائم سرمازدگی در میوه زغال‌اخته پس از دو هفته انبارمانی در دمای 2 ± 1 درجه سلسیوس.
Figure 2. Appearance of chilling injury symptoms in cornelian cherry fruit after storage at 2 ± 1 °C for two weeks.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تیمار فنیل‌آلانین و مدت زمان انبارمانی بر درصد کاهش وزن میوه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۱). بیشترین کاهش وزن مربوط به شاهد (۰/۶۷) و کمترین کاهش وزن در تیمار ۴ میلی‌مولار فنیل‌آلانین (۰/۴۳) مشاهده شد اما اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین وجود نداشت (شکل ۱-B). از نظر زمان انبارمانی نیز با افزایش مدت انبارمانی درصد کاهش وزن نیز افزایش یافت (شکل ۱-C). نتایج این آزمایش با نتایج به‌دست آمده در مورد تیمار میوه بادنجان با فنیل‌آلانین و سولفیدهدیروژن مطابقت دارد (Najafi *et al.*, 2020). وزن میوه یکی از معیارهای مهم کیفیت میوه است که به مرور زمان کاهش می‌یابد. در دوره پس‌از برداشت به دلیل قطع رابطه آبی میوه با گیاه مادری و افزایش تعرق رطوبت محصول از دست رفته و کاهش وزن اتفاق می‌افتد (Treviño Garza, 2015). با توجه به اینکه زغال‌اخته فرازگرا می‌باشد لذا پس از برداشت و حین رسیدن پس از برداشت، تنفس و همچنین تولید اتیلن افزایش یافته و در نتیجه آب از دست‌دهی اتفاق می‌افتد که باعث کاهش وزن می‌شود لکن به نظر می‌رسد فنیل‌آلانین با کاهش تولید اتیلن از این پدیده پیشگیری می‌کند.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، مدت زمان انبارمانی در سطح احتمال یک درصد و تیمارها در سطح احتمال پنج درصد اثر معنی‌داری بر سفتی بافت میوه زغال‌اخته داشتند (جدول ۱) در زمان شروع انبارمانی میزان سفتی میوه ۲/۹۶ کیلوگرم



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر فنیل آلانین بر سفتی بافت (A) و آسکوربیک اسید (C)، مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار فنیل آلانین و زمان انبارمانی بر مواد جامد محلول (B) و مقایسه میانگین اثر زمان انبارمانی بر آسکوربیک اسید (D) میوه زغال اخته در طول ۲۱ روز انبارمانی در دمای 2 ± 1 درجه سلسیوس. ** خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد می‌باشند.

Figure 3. Mean comparison of phenylalanine on the firmness (A) and ascorbic acid (C), Mean comparison interaction effect of phenylalanine treatment and storage time on total soluble solids (TSS) (B) and Mean comparison of storage time on ascorbic acid (D) in of Cornelian cherry fruits during storage at $2 \pm 1^\circ\text{C}$ for 21 days. ** Values are the mean \pm SE.

مطابقت دارد (Zeinali *et al.*, 2012). آسکوربیک اسید یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی است که می‌تواند سلول‌ها را در برابر گونه‌های فعال اکسیژن به ویژه پراکسید-هیدروژن که در حین رسیدن میوه‌ها در اثر افزایش متابولیسم اکسیداتیو تولید می‌شوند محافظت کند (Oyetade *et al.*, 2012; Spinardi, 2004). در طول دوره انبارمانی که میوه‌ها با تنش‌های پس از برداشت مواجه هستند آنزیم آسکوربات پراکسیداز برای واکنش کاتالیزوری خود از آسکوربیک اسید به عنوان کوفاکتور استفاده می‌کند و منجر به تبدیل آسکوربیک اسید به دی‌هیدروآسکوربیک اسید و در نتیجه کاهش این ویتامین در محصولات انباری می‌شود (Lee & Kader, 2000). دلیل بالا بودن میزان آسکوربیک اسید در میوه‌های تیمار شده نسبت به میوه‌های شاهد ممکن است به دلیل کاهش اثر تنش سرمایی و کاهش تنفس میوه در اثر

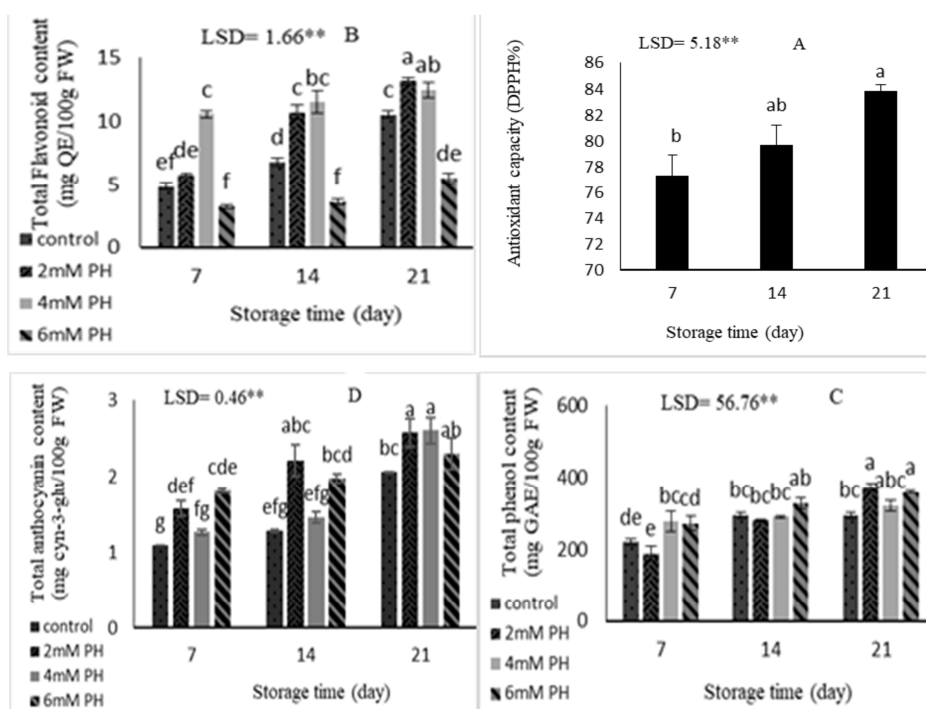
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده تیمار فنیل آلانین در سطح احتمال پنج درصد و اثرات زمان انبارمانی بر میزان آسکوربیک اسید میوه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). میزان آسکوربیک اسید در زمان برداشت $28/78$ میلی‌گرم در 100 گرم وزن تر میوه بود (جدول ۲) که با گذشت مدت زمان انبارمانی این مقدار کاهش یافت و در هفته سوم انبارمانی، کمترین میزان ویتامین ث ($21/55$ میلی‌گرم در 100 گرم وزن تر میوه) مشاهده شد (شکل D-۳). تیمار فنیل آلانین از کاهش آسکوربیک اسید میوه‌ها نسبت به شاهد جلوگیری کرد به طوری که بیشترین میزان آسکوربیک اسید در تیمار 2 میلی‌مول فنیل آلانین ($26/89$ میلی‌گرم در 100 گرم وزن تر میوه) مشاهده شد (شکل C-۳). نتایج این آزمایش با نتایج حاصل از تیمار میوه زغال اخته با کلرید کلسیم 30 میلی‌مولار

مهم بافتی که در اثر قرار گرفتن گیاهان در معرض تنش‌ها رخ می‌دهد، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است (Schutzenduble *et al.*, 2001). تجمع بیش از حد رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌تواند سیالیت غشا، انتقال یونی، فعالیت آنزیمی و سنتز پروتئین‌ها را کاهش داده و باعث تخریب DNA هسته‌ای و میتوکندریایی و در نهایت مرگ سلولی شود (Ranjbar Malidarreh *et al.*, 2019). وجود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در گیاهان می‌تواند این اثرات منفی را خنثی کند. با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش، می‌توان به این نتیجه رسید که روند تغییرات فنل، فلاونوئید و فعالیت فنیل‌آلانیل‌آمین‌آز (FAL) مرتبط با یکدیگر بودند و با توجه به ارتباط مثبت این ترکیبات با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، افزایش این ترکیبات، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل میوه را افزایش داد که با نتایج حاصل از تأثیر فنیل‌آلانیل با غلظت ۲۰۰ میکرومولار در انگور مطابقت دارد (Gohari *et al.*, 2020).

تیمار فنیل‌آلانیل و در نتیجه کاهش مصرف آسکوربیک‌اسید به‌عنوان کوفاکتور باشد. همچنین بالا بودن آسکوربیک‌اسید را می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم آسکوربیک‌اسید سینتتاز توسط فنیل‌آلانیل و در نتیجه بهبود ویتامین ث نسبت داد (Taiz & Zeiger, 2006).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه

نتایج نشان داد تیمارها اثر معنی‌داری در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها نداشتند لیکن زمان انبارمانی اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ۱). طی هفته اول انبارمانی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش یافت (در زمان برداشت میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ۷۸/۲۲ درصد بود که در پایان هفته اول به ۷۶/۷۰ درصد کاهش یافت)، سپس دوباره با افزایش مدت زمان انبارمانی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت، به‌طوری‌که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در هفته سوم مشاهده شد (۸۳/۸ درصد) (شکل ۴-۴). یکی از آسیب‌های



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر زمان انبارمانی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (A)، مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار فنیل‌آلانیل و زمان انبارمانی بر فلاونوئید کل (B)، فنل کل (C) و آنتوسیانین کل (D) میوه‌زغال‌اخته در طول ۲۱ روز انبارمانی در دمای ۱ ± ۲ درجه سلسیوس. میانگین داده‌ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد می‌باشند.

Figure 4. Mean comparison of storage time on antioxidant capacity (A), Mean comparison interaction effect of phenylalanine treatment and storage time on total flavonoid content (B), total phenol content (C) and total anthocyanin content (D) in of comelian cherry fruits during storage at 2 ± 1 °C for 21 days. **showing significant level at P ≤ 0.01. Values are the mean ± SE

میزان فلاونوئید کل میوه در طول مدت نگهداری طی هفته اول تا سوم افزایش پیدا کرد. تیمار فنیل آلانین موجب حفظ محتوی فلاونوئید کل میوه در طول دوره انباری شد، به طوری که بیشترین میزان فلاونوئید در طول هفته اول و دوم نگهداری در تیمار ۴ میلی مولار فنیل آلانین (به ترتیب برابر $mg\ QE/100g$ FW ۱۰/۵۶ و ۱۱/۵۰) مشاهده شد (شکل ۴- B). گزارش شده است که استفاده از غلظت ۱ میلی مولار فنیل آلانین باعث افزایش میزان فلاونوئید در میوه هندوانه می شود (Akbari et al., 2020). افزایش میزان فلاونوئید کل در میوه های تیمار شده با فنیل آلانین در پژوهش حاضر احتمالاً به دلیل تحریک فعالیت فنیل-آلانین آمونیلایز و مسیر فنیل پروپانویید که مسیر سنتز ترکیبات فنلی است، می باشد. ترکیب هایی مانند فنل ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین ها از جمله عامل های تعیین کننده ظرفیت آنتی اکسیدانی و ارزش کیفی میوه می باشند که از مسیر فنیل پروپانویید در اثر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز تولید می شوند و با افزایش فعالیت این آنزیم تجمع فلاونوئیدها نیز بیشتر می شود (Huang et al., 2008).

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثرات متقابل تیمار و زمان انبارمانی بر میزان فنل کل میوه زغال اخته در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). در هفته سوم انبارمانی بیشترین میزان فنل کل ($372\ mg\ GAE/100g\ FW$) در تیمار ۲ میلی مولار فنیل آلانین و کمترین مقدار این متغیر در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۴- C). در تطابق با نتایج حاضر، مطالعه تأثیر کاربرد تیمار فنیل آلانین در آلو هم نشان داد که میوه های تیمار شده با فنیل آلانین $7/5$ میلی مولار پس از ۴۰ روز انبارمانی دارای بیشترین تجمع فنل کل بودند (Sogvar et al., 2020). فنل ترکیبی ساده با خواص مختلف می باشد که به طور طبیعی توسط گیاهان تولید می شود. گیاهان ترکیبات فنلی را در پاسخ به برخی ترکیبات پیام رسان که نقش دفاعی مهمی دارند، آزاد میکنند. مطالعات نشان میدهد که رابطه مثبتی بین میزان فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی آنها وجود دارد.

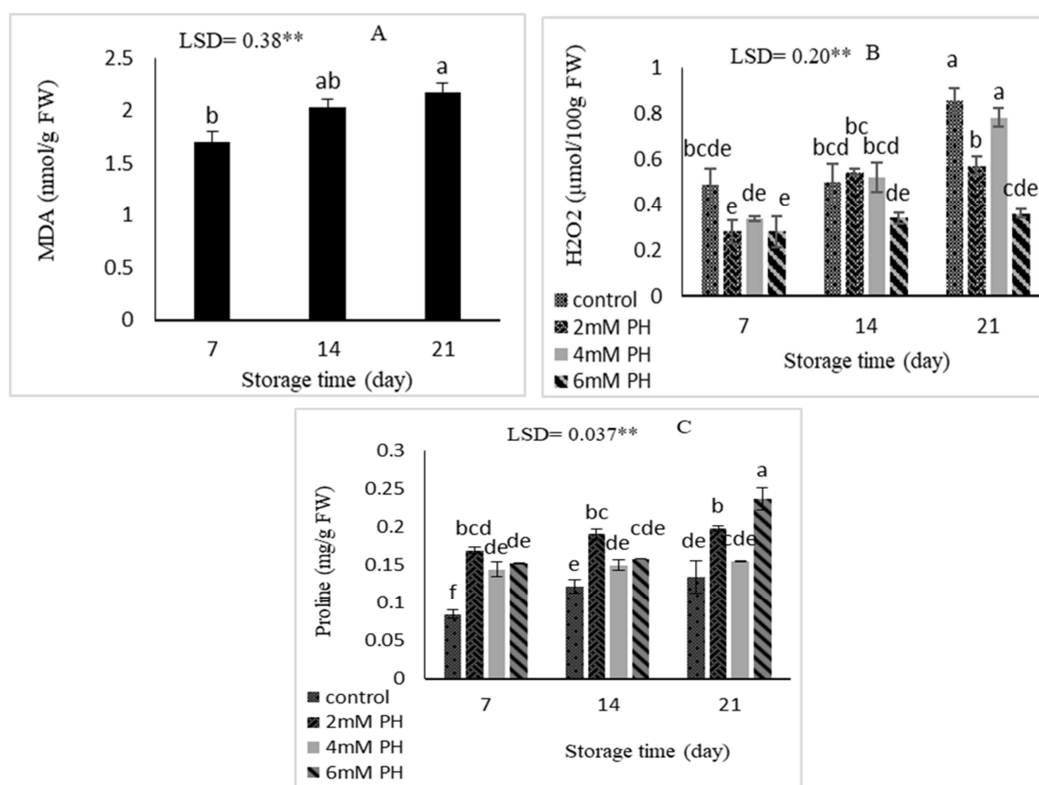
طبق نتایج، اثر ساده تیمار فنیل آلانین و اثرات متقابل تیمار و زمان بر میزان مالون دی آلدئید معنی دار نبود لکن اثر ساده زمان انبارمانی بر میزان مالون دی آلدئید در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). در شروع پژوهش مقدار مالون دی آلدئید

(Ghasemzadeh et al., 2011). فنل ها در مکانیسم های دفاعی گیاه در مقابله با گونه های فعال اکسیژن به منظور بقاء و جلوگیری از صدمات مولکولی و صدمات میکروارگانیزم ها، حشرات و گیاه خواران نقش دارند (Vaya et al., 1997). به نظر می رسد در این پژوهش نیز تحت تنش سرمای فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز افزایش یافته و باعث تولید مواد فنلی می گردد (Dadkhan Aghdash et al., 2019). بکارگیری فنیل آلانین میزان آنتوسیانین میوه را در طی دوران انبارمانی افزایش داد به طوری که بیشترین میزان آنتوسیانین در تیمار ۲ میلی مولار طی هفته دوم و سوم (به ترتیب برابر $2/21$ و $2/57\ mg/g\ FW$) و کمترین میزان ($1/09\ mg/g\ FW$) آن در هفته اول در شاهد مشاهده شد (شکل ۴- D). افزایش محتوای آنتوسیانین کل در میوه زغال اخته ممکن است به دلیل فعالیت بیشتر آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز باشد. همچنین افزایش آنتوسیانین در میوه های تیمار شده با فنیل آلانین می تواند به محتوای کربوهیدرات های بیشتر به عنوان پیش سازهای آنتوسیانین مربوط باشد. از آنجا که آنتوسیانین ها به شکل ساختار قندی هستند بنابراین نوسانات محتوای کربوهیدرات ها به طور مستقیم غلظت آن را تحت تأثیر قرار می دهند (Hopkins, 1999). در صورتی که پیش سازهای موجود در میوه برای سنتز آنتوسیانین کافی نباشد، مصرف فنیل آلانین خارجی می تواند واکنش لازم برای تولید این پیش سازها را کاتالیز کند. نشان داده شده است که فعالیت فنیل آلانین ارتباط مستقیمی با سنتز آنتوسیانین دارد، به عنوان مثال در انگور (Hrazdina et al., 1984; Kataoka et al., 1988)، توت فرنگی (Given et al., 1988) و سیب (Faragher & chalmers, 1977) گزارش های مشابهی با نتایج مطالعه حاضر وجود دارد.

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثرات متقابل تیمار و زمان انبارمانی بر میزان فنل کل میوه زغال اخته در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). در هفته سوم انبارمانی بیشترین میزان فنل کل ($372\ mg\ GAE/100g\ FW$) در تیمار ۲ میلی مولار فنیل آلانین و کمترین مقدار این متغیر در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۴- C). در تطابق با نتایج حاضر، مطالعه تأثیر کاربرد تیمار فنیل آلانین در آلو هم نشان داد که میوه های تیمار شده با فنیل آلانین $7/5$ میلی مولار پس از ۴۰ روز انبارمانی دارای بیشترین تجمع فنل کل بودند (Sogvar et al., 2020). فنل ترکیبی ساده با خواص مختلف می باشد که به طور طبیعی توسط گیاهان تولید می شود. گیاهان ترکیبات فنلی را در پاسخ به برخی ترکیبات پیام رسان که نقش دفاعی مهمی دارند، آزاد میکنند. مطالعات نشان میدهد که رابطه مثبتی بین میزان فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی آنها وجود دارد.

کمترین میزان (۰/۸۵ $\mu\text{mol}/100\text{g FW}$ در هفته سوم) و بیشترین میزان (۰/۳۶ $\mu\text{mol}/100\text{g FW}$ در هفته سوم) در تیمار ۶ میلی مولار فنیل آلانین مشاهده شد. به عبارتی این تیمار نقش موثرتری در خنثی سازی رادیکال های آزاد داشته است (شکل B-۵) میزان پراکسید هیدروژن در زمان برداشت (۰/۲۰ $\mu\text{mol}/100\text{g FW}$) بوده و در میوه های تیمار شده میزان پراکسید هیدروژن تجمعی در پایان دوره انبارمانی بسیار پایین تر از میوه های شاهد می باشد که با نتایج مطالعه صورت گرفته در مورد نتایج حاصل از پژوهش در مورد کاربرد تیمار پس از برداشت ۵ میلی مولار آمینوبوتیریک اسید و ۵۰۰ میکرومول نیتریک اکسید در انبارمانی زغال اخته مطابقت دارد (Rabiei *et al.*, 2019). گیاهان در برابر تنش های محیطی، گونه های فعال اکسیژن از جمله رادیکال های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن تولید می کنند.

برابر (۱/۵۷ $\text{nm}/\text{g FW}$) بود (جدول ۲) که با افزایش مدت انبارمانی افزایش یافت و بیشترین مقدار مالون دی آلدئید (۲/۱۷ nm/gFW) در هفته سوم مشاهده شد (شکل A-۵). محتوی MDA به عنوان شاخص آسیب غشایی محسوب شده و می تواند کاهش انسجام غشای سلولی و وقوع آسیب سرمازدگی را در محصولات باغبانی نشان دهد (Shewfelt *et al.*, 1995). در این مطالعه فنیل آلانین باعث کاهش مقدار مالون دی آلدئید شد که می تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم های آنتی-اکسیدان باشد. نتایج پژوهش حاضر با آزمایش صورت گرفته در مورد تأثیر ژل اولونئورا بر حفظ کیفیت انبارمانی انار از طریق کاهش نشت یونی و میزان مالون دی آلدئید مطابقت دارد (Molaie *et al.*, 2020). با توجه به نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین ها، بیشترین مقدار پراکسید هیدروژن در شاهد



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر زمان انبارمانی بر میزان مالون دی آلدئید (A)، مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار فنیل آلانین و زمان انبارمانی بر پراکسید هیدروژن (B) و پرولین (C) میوه زغال اخته در طول انبارمانی در دمای 1 ± 2 درجه سلسیوس به مدت ۲۱ روز. میانگین داده ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار می باشد. خطوط عمودی بیانگر خطای استاندارد می باشند

Figure 5. Mean comparison of storage time on the amount of malondialdehyde (MDA) (A), Mean comparison interaction effect of phenylalanine treatment and storage time on hydrogen peroxide (H_2O_2) (B) and proline (C) in of cornelian cherry fruits during storage at 2 ± 1 °C for 21 days. **showing significant level at $P \leq 0.01$. Values are the mean \pm SE.

به‌عنوان یک ماده محلول سبب تنظیم فشار اسمزی، کاهش هدررفت آب از سلول، پایداری شکل طبیعی پروتئین‌ها و حفاظت غشاها می‌شود (Barker *et al.*, 1993).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که تیمار فنیل آلانین تأثیر مثبتی در حفظ صفات کیفی میوه زغال‌اخته طی دوره ۲۱ روزه انبارمانی داشت به‌طوری‌که باعث افزایش محتوی آنتوسیانین، فلاونوئید کل، فنل کل، مواد جامد محلول شده و از کاهش محتوی آسکوربیک‌اسید جلوگیری کرد، همچنین باعث حفظ یکپارچگی غشا از طریق کاهش میزان پراکسید هیدروژن و درصد سرمازدگی و افزایش محتوی پرولین شد که این امر تأثیر مستقیمی در میزان افت وزن طی انبارمانی داشت. این پژوهش نشان داد که کاربرد فنیل آلانین از طریق تجمع ترکیبات فنولی، آنتوسیانین‌ها و کاهش اثر ROSها بوسیله تحریک مسیر فعال فنیل‌پروپانویید و فعالیت بالای آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز می‌تواند به‌عنوان یک روش مفید برای حفظ کیفیت خوراکی میوه‌ها و سبزی‌ها طی انبارمانی در سردخانه مورد استفاده قرار گیرد.

این گونه‌های فعال اکسیژن توانایی صدمه‌زدن به همه ترکیبات سلول از جمله لیپیدهای غشا و پروتئین‌ها را دارند که تخریب غشا سلول و متعاقباً نشت یونی را ایجاد می‌کنند (Khan & Panda, 2002). تیمار فنیل آلانین با افزایش آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز باعث کاهش درصد H_2O_2 در طی دوره انبارمانی شده و پایداری غشای پلاسما را سبب می‌شود.

با توجه به نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها، به کاربرد فنیل آلانین باعث افزایش میزان پرولین میوه شد، به‌طوری‌که بیشترین مقدار پرولین ($0/24 \text{ mg/g FW}$) در تیمار ۶ میلی‌مولار فنیل آلانین در هفته سوم و کمترین مقدار ($0/13 \text{ mg/g FW}$) در شاهد مشاهده شد (شکل C-۵). میزان پرولین میوه در زمان برداشت ($0/054 \text{ mg/g FW}$) بود که طی انبارمانی افزایش یافت. در مورد تأثیر فنیل آلانین در انبارمانی آلو نیز تیمار ۷/۵ میلی‌مولار فنیل آلانین باعث افزایش پرولین در طی ۴۰ روز انبارمانی میوه‌های آلو در سردخانه شد (Sogvar *et al.*, 2020). زمانی که گیاه در معرض تنش قرار می‌گیرد، پروتئین‌ها تجزیه و در نتیجه آمینواسیدها افزایش می‌یابند. یکی از این آمینواسیدها پرولین است. پرولین

REFERENCES

1. Akbari, A., Sanikhani, M. & Kheiry, A. (2020). Effect of phenylalanine and tryptophan on morphological and physiological characteristics in colocynth (*Citrullus colocynthis* L.). *Journal of Plant Proceedings Functional*, 9 (35), 317-328. (In Farsi).
2. Barker, D.J., Sullivan, C.Y. & Moser, L.E. (1993). Water deficit effects on osmotic potential, cell wall elasticity and proline in five forage grasses. *Agronomy Journal*, 85, 270-275.
3. Bates, I.S., Waldern, R.P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
4. Cao, S.F., Hu, Z.C. & Wang, H.O. (2009). Effect of salicylic acid on the activities of antioxidant enzymes and phenylalanine ammonia-lyase in cucumber fruit in relation to chilling injury. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84(2), 125-130.
5. Dadkhah Aghdash, K., Daem Saacidabad, M. & Falahati, M. (2019). The Total phenolic content, total flavonoids and the antioxidant capacity in two wild species of raspberry, *Rubus persicus* and *R. caesius*, at different maturity stages of fruits. *Plant Productions*, 42(3), 295-306. (In Farsi).
6. Dehghan, G. & Khoshkam, Z. (2012). Tin (II)-quercetin complex: Synthesis, spectral characterization and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 131, 422-427.
7. Faragher, J.D. & Chalmers, D.J. (1977). Regulation of anthocyanin synthesis in apple skin III. Involvement of phenylalanine ammonia-lyase. *Austrian Journal of Plant Physiology*, 4, 133-141.
8. Garde-Cerdan, T., Santamaría, P., Rubio-Breton, P., Gonzalez-Arenzana, L., Lopez-Alfaro, I. & Lopez, R. (2014). Foliar application of proline, phenylalanine, and urea to tempranillo vines: Effect on grape volatile composition and comparison with the use of commercial nitrogen fertilizers. *LWT-Food Science and Technology*, 60, 684-689.

9. Ghasemnezhad, M., Nezhad, M. A. & Gerailoo, S. (2011). Changes in postharvest quality of loquat (*Eriobotrya japonica*) fruits influenced by chitosan. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 52(1), 40-45.
10. Gillani, F., Raftani, A. Z. & Esmailzadeh kenari, R. (2017). The effect of different solvents and ultrasound on antioxidant properties of extract of *Cornus mas* L. fruit. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 13(4), 517-527. (In Farsi).
11. Given, N.K., Venis, M.A. & Grierson, D. (1988). Phenylalanine ammonia-lyase activity and anthocyanin synthesis in ripening strawberry. *Journal of Plant Physiology*, 133, 25-30.
12. Gohari, G., Fereydoni, S., Panahirad, S., Sepehri, N. & Dadpour, M.R. (2020). Foliar application of Phenylalanine on nutritional value in *Vitis vinifera* var. Hosseini. *Journal of Food Researches*, 30(4), 109-121.
13. Hashemi Dezfuli, A. & Maidani, J. (1997). *Postharvest physiology*. Agricultural Education of Jihad Agriculture. 408 P. (in farsi).
14. Hassanpour, H. (2017). Cornelian cherry germplasm resource and physicochemical characterization of its fruit in Iran. *Journal of Horticulture Science (Agricultural Sciences and Technology)*, 30(4), 624-633. (In Farsi).
15. Hattori, T., Chen, Y., Enoki, Sh., Igarashi, D. & Suzuki, Sh. (2019). Exogenous isoleucine and phenylalanine interact with abscisic acid-mediated anthocyanin accumulation in grape. *Folia Horticulturae*, 31(1), 147-157.
16. Heath, R. L. & Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
17. Hopkins, W.G. (1999). *Introduction to plant physiology*. John Wiley and Sons, 528.
18. Hosseini, P. (2007). *Physiological study of the effect of cold stress on seedling stage of different rice genotypes*. Ph.D. Thesis. University of Ahwaz. (In Farsi).
19. Hrazdina, G., Parsons, G.F. & Mattick, L.R. (1984). Physiological and biochemical events during development and maturation of grape berries. *American Journal of Enology Viticulture*, 35, 220-227.
20. Huang, R.H., Liu, J.H., Lu, Y.M. & Xia, R.X. (2008). Effect of salicylic acid on the antioxidant system in the Pulp of "Cara cara" navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) at different storage temperatures. *Postharvest Technology*, 47, 168-175.
21. Jalili Marandi, R. (2013). *Postharvest Physiology (handling and storage of fruits, vegetables, ornamental plants and medicinal plants)*. 4th Ed., Jihad University Press, West Azerbaijan Branch, 624 P. (In Farsi).
22. Kajiv, M., Shen, L. & Chao, C. (2006). Antioxidation of flavonoids of Green Rhizome. *Food science*, 27, 110-115.
23. karima, M., Gamal, El-din. & Abd el-w ahed, M.S.A. (2005). Effect of some amino acids on growth and essential oil content of chamomile plant. *International Journal of Agriculture and Biology*, 3, 376-380.
24. Kataoka, I., Kubo, Y., Sugiura, A. & Tomana, T. (1983). Changes in L-phenylalanine ammonia-lyase activity and anthocyanin synthesis during berry ripening of three grape cultivars. *Journal of Japanese Society for Horticultural Science*, 52, 273-279.
25. Keshavarz, F. (2018). *Effect of postharvest phenylalanine and hydrogen sulfide treatments on biochemical and antioxidant properties of pomegranate fruit cultivar Malas Saveh during cold storage*. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran. (In Farsi).
26. Khan, M.H. & Panda, S.K. (2002). Induction of oxidative stress in roots of *Oryza sativa* L in response to salt stress. *Biology Plant*, 45, 625-627.
27. KostECKA, M., Szot, L., Czernecki, T. & Szot, P. (2017). Vitamin c content of new ecotypes of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) determined by various analytical methods. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 16(4), 53-61.
28. Lee, S.K. & Kader, A.A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20, 207-220.
29. Meng, X., Li, B., Liu, J. & Tina, S. (2007). Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. *Food Chemistry*, 106, 501-508.
30. Mohebbi, Sh., Mostofi, Y. & Zamani, Z. (2015). Quality maintenance and storability extension of cornelian cherry fruit by modified atmosphere packaging. *Journal of Crop Production and Processing*, 5(15), 155-165 (In Farsi).
31. Mohseni, F., Pakkish, Z. & Panahi, B. (2015). *The role of foliar application of amino acids on vegetative and reproductive characteristics of strawberry (Fragaria × ananassa) cultivar Parous*. M.Sc. Thesis. Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran. (In Farsi).
32. Molaei, S., Rabiei, V., Soleimani, A. & Razavi, F. (2020). Effect of *Aloe vera* gel on chilling injury, decay and nutritional quality of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit during cold storage. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 52(3), 565-580. (In Farsi).

33. Mostofi, Y. & Najafi, F. (2005). *Analytical laboratory methods in horticultural sciences*. (1st Ed.), University of Tehran. 136 P. (In Farsi).
34. Najafi, R., Barzegar, T., Razavi, F. & Ghahremani, Z. (2020). Effect of postharvest pretreatments of phenylalanine and hydrogen sulfide on maintaining quality and enhancing shelf life of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Journal of Horticultural Science*, 34(4), 705-717.
35. Oyetade, O.A., oyeleke, G.O., Adegoke, B.M. & Akintunde, A.O. (2012). Stability studies on ascorbic acid (Vitamin C) from different sources. *Journal of Applied Chemistry*, 2, 20-24.
36. Pashaei, R., Azadmard Damirchi, S., Hesari, J., Peighambardoust, S.H., Bodbodak, S. & Farmani, B. (2017). Changes of bioactive compounds and physico-chemical properties of cornelian cherry fruit during storage at ambient temperature (25°C). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 13(5), 759-770. (In Farsi).
37. Popovic, M.B., Stajner, D., Slavko, K. & Sandra, B. (2012). Antioxidant capacity of *cornelian cherry* comparison between permanganate reducing antioxidant capacity and other antioxidant methods. *Food Chemistry*, 134, 734-741
38. Portu, J., López-Alfaro, I., Gómez-Alonso, S., López, R. & Garde-Cerdán, T. (2015). Changes on grape phenolic composition induced by grapevine foliar applications of phenylalanine and urea. *Food Chemistry*, 180, 171-180.
39. Rabiei, V., Kakavand, F., Zaare-Nahandi, F., Razavi, F. & Soleimani Aghdam, M. (2019). Nitric oxide and γ -aminobutyric acid treatments delay senescence of cornelian cherry fruits during postharvest cold storage by enhancing antioxidant system activity. *Scientia Horticulturae*, 243, 268-273.
40. Ranjbar Malidarreh, T., Askari Sarcheshmeh, M. A., Babalar, M., Shokri Heydari, H. & Ahmadi, A. (2019). Changes in some physiological and biochemical characteristics of plum (*Prunus salicina* cv. Flavor supreme pluot) affected by salicylic acid and iron pretreatment during storage with two different temperatures. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 55(3), 525-539. (In Farsi).
41. Santamaria, P., Lopez, R., Portu, J., Gonzalez-Arenzana, L., Lopez-Alfaro, I. & Garde-cerdan, T. (2015). Role of phenylalanine in viticulture and enology, in: phenylalanine: Dietary Sources, function and effects. M-L-Warner, *Nova Science Publisher*, 51-88.
42. Schutzenhubel, A., Schwanz, P., Teichmann, T., Gross, K., Langenfeld, R., Douglas, L. & Polle, A. (2001). Cadmium-induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in Scots pine roots. *Plant Physiology*, 127, 887-898.
43. Shewfelt, R.L. & Purvis, A.C. (1995). Toward a comprehensive model for lipid peroxidation in plant tissue. *Hortscience*, 30, 213-218
44. Singleton, V.L. & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
45. Sogvar, OB., Rabiei, V., Razavi, F. & Gohari, G. (2020). Phenylalanine alleviates postharvest chilling injury of plum fruit by modulating antioxidant system and enhancing the accumulation of phenolic compounds. *Food Technology and Biotechnology*, 58(4), 433-444.
46. Spinardi, A. (2004). Effect of harvest date and storage on antioxidant systems in pears. *V International Postharvest Symposium*, 682, 25-34.
47. Taiz, L. & Zeiger, E. (2006). Secondary metabolites and plant defense. *Plant physiology*, 4, 315-344.
48. Treviño Garza, M. Z., García, S., Del Socorro Flores González, M. & Arévalo Niño, K. (2015). Edible active coatings based on pectin, pullulan, and chitosan increase quality and shelf life of strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of Food Sciences*, 80(8), 1823-1830.
49. Vaya, J., Belinky, P.A. & Aviram, M. (1997). Antioxidant constituents from licorice roots: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. *Free Radical Biology and Medicine*. 23(2), 302-313.
50. Wang, L.J., Chen, SH., Kong, W., Li, S.H. & Archbold, D.D. (2006). Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affect the antioxidant system and shock proteins of peach during coldstorage. *Postharvest Biology and Technology*, 91, 244- 251.
51. Wei, J., Shi, S., Zhu, X. & Yuan, J. (2010). Changes and postharvest regulation of activity and gene expression of enzymes related to cell wall degradation in ripening apple fruit. *Journal of Postharvest Biology and Technology*, 56, 147-154
52. Zeinali Rad, S., Dehghan, GH. & Haghilou, J. (2012). *Physiological and biochemical changes of cornelian cherry fruits during storage*. M.Sc. Thesis. Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Iran. (In Farsi).
53. Zhang, C-S., Lu, Q. & Verma, D. P. S. (1997). Characterization of Δ -1- pyrroline-5- carboxylate synthetase gene promoter in transgenic *Arabidopsis thaliana* subjected to water stress. *Plant Science*. 129, 81-89.