

# تأثیر غلظت‌های مختلف اسید آمینه فنیل آلانین بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گلابی رقم "درگری" در طی دوره انبارمانی

## چکیده

عمر انبارمانی گلابی به دلیل حساس بودن به صدمات حین حمل و نقل، کاهش رطوبت و فساد پذیر بودن بسیار حائز اهمیت است. لذا در پژوهش حاضر تأثیر اسید آمینه‌ی فنیل آلانین در غلظت‌های مختلف بر عمر پس از برداشت و کیفیت میوه گلابی رقم "درگری" در طول دوره نگهداری در انبار سرد با دمای  $\pm 0^\circ\text{C}$  ۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد بررسی شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۲ فاکتور اسید آمینه فنیل آلانین (۳ و ۶ میلی‌مولار) و زمان نمونه‌برداری (۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز) و با سه تکرار انجام شد. صفاتی از قبیل سفتی میوه، کاهش وزن، اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)، pH آب میوه، محتوی اسید آسکوربیک، محتوی مواد جامد کل (TSS)، فنل، فلاونوئید کل، پراکسیداسون لیپید، نشت یونی، فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، فنیل آلانین آمونیلایز، گلوکاتایون ردوکتاز، پلی‌فنل اکسیداز مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار اسید آمینه‌ی فنیل آلانین ۶ میلی‌مولار بهتر از سایر تیمارها عمل کرده و کیفیت میوه گلابی رقم "درگری" را طی دوره انبارمانی سرد حفظ نمود. در اثر کاربرد تیمار فوق میزان سفتی، ۱۴/۵ درصد افزایش در مقایسه با تیمار شاهد را نشان داد. همچنین در اثر کاربرد اسید آمینه فنیل آلانین ۶ میلی‌مولار سطح مالون‌دی‌آلدئید (۶۹/۸ درصد) و نشت یونی (۱۶/۶ درصد) کاهش را در مقایسه با شاهد نشان دادند. علاوه بر این نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تیمار اسید آمینه‌ی فنیل آلانین ۶ میلی‌مولار منجر به افزایش قابل توجهی در میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۲۳/۰۹ درصد)، گلوکاتایون ردوکتاز (۳۷/۷۴ درصد) و فنیل آلانین آمونیلایز (۳۰/۳۵ درصد) در مقایسه با شاهد شد. در مجموع، این یافته‌ها نشان می‌دهند که تیمارهای مذکور در طول نگهداری انبار سرد تا حدی در افزایش محتوی آنتی‌اکسیدانی و فعالیت‌های آنزیمی اثرگذار بوده و توانسته‌اند با مهار رادیکال‌های آزاد و کاهش سطح پراکسیداسیون لیپید غشاء به میزان ۶۹/۸ درصد صدمات حاصله طی انبارمانی را به حداقل رسانده و سیستم دفاعی میوه را فعال نگه دارند.

کلید واژه‌ها: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، اسید آمینه، پراکسیداسیون لیپید غشاء، انبارمانی، میوه گلابی

## مقدمه

گلابی با نام علمی *Pyrus communis* از خانواده Rosaceae می‌باشد. این میوه بعد از سیب، مهم‌ترین میوه دانه‌دار در سطح جهان می‌باشد (Abdullahi, 2008). میوه گلابی بخاطر طعم و مزه و همچنین قابلیت هضم بالا دارای محبوبیت بسیار زیادی در بین مصرف کنندگان می‌باشد (Ahmed & Anjum, 2010). تولید میوه گلابی در سال‌های اخیر افزایش چشم‌گیری در سطح جهان داشته و در مناطق معتدله بعد از انگور و سیب دارای رتبه سوم بازار پستندی می‌باشد (FAO, 2018). گلابی دارای ارقام زیادی بوده که خصوصیات متفاوتی دارند. رقم درگری گلابی از لحاظ رنگ، زرد طلایی با گونه قرمز، کمی ریگدار و درشت بوده و شکل درخت آن هرمی شکل و بسیار پر محصول می‌باشد (Nosrati et al., 2009). ولی متأسفانه در طول نگهداری در انبار دچار ناهنجاری‌های مختلف انباری شده و کیفیت میوه آن پایین می‌آید.

طی سال‌های گذشته، طیف وسیعی از ترکیبات بوسیله پژوهشگران زیادی مورد مطالعه قرار گرفته و با مهار رسیدن و یا پیری، عمر محصولات پس از برداشت محصولات باغی را افزایش دادند. با این حال، با وجود این که چنین ترکیباتی عموماً در محیط آزمایشگاهی موثرتر هستند، اما تعداد کمی از آن‌ها به دلیل مسائل ایمنی و نظارتی به صورت تجاری مورد استفاده قرار گرفته‌اند. از این ترکیبات می‌توان به اسیدهای آمینه مانند فنیل آلانین اشاره نمود (Hancock, 2017).

اسید آمینه فنیل آلانین یکی از ۲۰ اسید آمینه ضروری بوده و یک آلفا آمینواسید معطر می‌باشد (Portu et al., 2015). علاوه بر اینکه یک جزء ضروری برای سنتز پروتئین می‌باشد، همچنین به عنوان پیش ساز برای بیوسنتز طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، از جمله فنیل پروپانویدها، فلاونوئیدها، لیگنین، آنتوسیانین‌ها و تعداد زیادی متابولیت‌های دیگر مطرح است (Tzin & Galili, 2010). اخیراً، کاربرد خارجی فنیل آلانین از طریق تحریک تجمع ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها برای از بین بردن

رادیکال‌های آزاد بسیار مورد توجه قرار گرفته است و به عنوان روشی مفید به منظور افزایش کیفیت در میوه‌ها و سبزی‌ها مطرح است (Portu et al., 2015). در طی دوره پس از برداشت، کاربرد فنیل‌آلانین به صورت خارجی منجر به تحریک فعالیت مسیر فنیل پروپانویید شده و در نتیجه منجر به تحمل تنش سرمازدگی و کاهش پوسیدگی قارچی، تاخیر پیری و حفظ کیفیت محصول می‌شود (Aghdam et al., 2019).

### پیشینه پژوهش

در طی پژوهشی تاثیر اسیدآمین‌های فنیل‌آلانین روی انار (*Punica granatum* L.) برداشت شده، منجر به افزایش ویتامین ث، اسیدتیئیک قابل تیتراسیون و محتوای فلاونوئید شد (Keshavarz Afshar, 2017). همچنین در پژوهشی دیگر تاثیر فنیل‌آلانین در غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی‌مولار به صورت غوطه‌وری روی کیفیت و انبارمانی بادنجان (*Solanum melongena*) انجام شد که نتایج بیانگر حفظ ویتامین ث، آنتوسیانین کل و سفتی بافت بادنجان بود و از کاهش وزن میوه جلوگیری نموده و باعث حفظ مواد جامد محلول و کاهش شاخص سرمازدگی نیز شد (Najafi et al., 2020).

در مطالعه‌ای دیگر، کاربرد فنیل‌آلانین در غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی‌مولار به صورت غوطه‌وری بر کاهش صدمات سرمازدگی در مرحله پس از برداشت در میوه آلو (*Prunus domestica*) بررسی شد و نتایج به دست آمده نشان داد که تیمار فنیل‌آلانین به طور چشمگیری میزان صدمه ناشی از سرمازدگی را در میوه آلو از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیلایز (PAL) کاهش داد. همچنین میوه‌های تیمار شده با فنیل‌آلانین میزان بیشتری از اسیدآسکوربیک، آنتوسیانین، فلاونوئید و فنل‌ها را در مقایسه با شاهد داشتند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و پرولین در اثر کاربرد فنیل‌آلانین در غلظت ۷/۵ میلی‌مولار افزایش یافتند. این در حالی است که میزان پراکسید هیدروژن کاهش یافت. علاوه بر این گزارش شد که کاربرد فنیل‌آلانین از طریق حفظ تمامیت غشاء باعث کاهش نشت الکترولیت و تجمع مالون‌دی‌آلدئید شد (Sogvar et al., 2020a).

در مطالعه‌ای تاثیر تیمار پس از برداشت فنیل‌آلانین (در غلظت‌های ۲، ۴ و ۶ میلی‌مولار) بر برخی خصوصیات فیزیکیوشیمیایی میوه زغال اخته (*Cornus mas*) در طی انبارمانی سرد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که کاربرد فنیل‌آلانین تاثیر مثبتی در حفظ صفات کیفی میوه زغال اخته در دوره انبارمانی (۲۱ روز) داشت. همچنین تیمارهای ۴ و ۶ میلی‌مولار فنیل‌آلانین در افزایش میزان آنتوسیانین، فنل و فلاونوئید کل، و همچنین سفتی بافت میوه و محتوای پرولین تاثیر بیشتری داشتند (Ahmadkhani et al., 2021).

بنابراین با توجه به موارد اشاره شده در فوق و نظر به اینکه میوه‌های گل‌ابی برداشت شده نسبت به قهوه‌ای شدن بسیار حساس و آسیب‌پذیر هستند و میزان بازارپسندی آنها کاهش می‌یابد و همچنین برای مدت محدودی قابلیت نگهداری دارند. لذا در این پژوهش تاثیر اسیدآمین‌های فنیل‌آلانین بر افزایش ماندگاری و حفظ کیفی گل‌ابی رقم "درگزی" مورد مطالعه قرار گرفت تا مشخص شود تا چه اندازه این تیمارها بر حفظ خصوصیات کیفی و افزایش عمر انبارمانی میوه گل‌ابی مؤثر خواهند بود.

### روش‌شناسی پژوهش

مطالعه حاضر به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه و سردخانه گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل سطوح مختلف فنیل‌آلانین (صفر، ۳ و ۶ میلی‌مولار) و زمان نمونه‌برداری (۳۰، ۶۰ و ۹۰) بود. نگهداری میوه‌ها در سردخانه با شرایط دمای  $0 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد به مدت ۳ ماه انجام گرفت. میوه‌های گل‌ابی رقم "درگزی" مورد آزمایش بر اساس شاخص سفتی میوه (۷/۹۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) و مواد جامد محلول کل (۱۴/۸۳)

درصد) از یک باغ تجاری در شهرستان ارومیه برداشت شدند. صفات مربوط به کیفیت ظاهری میوه مورد مطالعه شامل سفتی میوه توسط دستگاه سفتی سنج مدل TA.XT Plus Stable Micro System با پروپ ۶ (Vargas *et al.*, 2006) و بازارپسندی میوه به روش تست پنل، میزان کاهش وزن میوه توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند که در واقع ناشی از کاهش رطوبت میوه‌ها می‌باشد و طریق از فرمول زیر محاسبه گردید (Ali *et al.*, 2011).

$$100 \times \text{وزن اولیه} / (\text{وزن ثانویه} - \text{وزن اولیه}) = \text{درصد کاهش وزن}$$

برای اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون از روش تیتراسیون با محلول ۰/۱ نرمال NaOH استفاده شد و نتایج بر حسب گرم اسید مالیک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$A = \frac{S \times N \times F \times E}{C} \times 100$$

در این فرمول: A = مقدار اسیدهای آلی موجود در عصاره میوه (۱۰۰ ml/g)، S = مقدار NaOH مصرف شده (ml)، N = نرمالیت NaOH، F = فاکتور NaOH، C = مقدار عصاره میوه (ml)، E = اکوی والان اسید مورد نظر (اسید مالیک) می‌باشد (Ayala-Zavala *et al.*, 2007). همچنین برای اندازه‌گیری pH آب میوه از دستگاه pH متر دیجیتالی مدل (pH-Meter CG824) و برای تعیین میزان مواد جامد محلول کل نیاز رفراکتومتر دستی مدل (ATAGO) استفاده گردید (Jalili Marandi, 2008).

روش تیوباربیتوریک اسید (TBA) برای اندازه‌گیری محتوای مالون دی آلدئید (MDA) استفاده شد. میزان جذب نمونه‌ها به ترتیب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر به روش اسپکتروفوتومتری قرائت شد. مقدار مالون دی آلدئید بر حسب میکرومولار بر گرم وزن تر بیان شد (Heath & Packer., 1985).

$$MDA = \frac{A_{532} - A_{600}}{155} \times 1000$$

A = اعداد خوانده شده در دستگاه در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و  $155 \text{ Mm}^{-1}\text{Cm}^{-1}$  = ضریب خاموشی

برای اندازه‌گیری شاخص پایداری غشا از روش (Lutts *et al.*, 1995) استفاده شد. ابتدا ۰/۱ گرم از بافت میوه به قطعات مساوی کوچک‌تر تقسیم و در لوله‌ای کوچک در پوشدار قرار داده شدند و در ادامه به هر کدام ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردیده و به مدت ۲۴ ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند، پس از آن هدایت الکتریکی محلول حاصله با دستگاه EC متر مدل Metrhom (ساخت سوئیس) اندازه‌گیری شد (EC<sub>1</sub>). در مرحله بعد نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت فریز شده (دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد) و ۲۴ ساعت دیگر در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند و مجدد هدایت الکتریکی محلول حاصله اندازه‌گیری شد (EC<sub>2</sub>). در پایان میزان نشت یونی با استفاده از فرمول  $EC_1/EC_2 \times 100$  بر حسب درصد محاسبه گردید.

همچنین برای اندازه‌گیری محتوای اسید اسکوربیک نیز از روش پتاسیم یدید استفاده شد (Omaye *et al.*, 1979). برای محاسبه محتوای اسید اسکوربیک نیز از فرمول زیر بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر استفاده شد:

$$F = A/B \times N \times 88.1$$

F = فاکتور مخلوط ید و N = نرمالیت مخلوط ید، A = مقدار اسید اسکوربیک خالص (میلی‌گرم)، B = مقدار مخلوط ید مصرف شده (میلی‌گرم)

در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH، از روش (Chiou *et al.*, 2007) استفاده شد. ابتدا ۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی را با ۹۵۰ میکرولیتر DPPH مخلوط کرده و بعد از ۱۵-۳۰ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت و بر اساس رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد بازدارندگی} = \frac{\text{Abs control} - \text{Abs sample}}{\text{Abs control}} \times 100$$

که در این فرمول، Abs sample: میزان جذب نمونه و Abs control: میزان جذب کنترل می‌باشد.

تعیین محتوی فنل کل با استفاده از روش فولین سیوکالتیو انجام شد. بدین منظور ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره را برداشته و روی آن سه میلی‌لیتر آب مقطر و به دنبال آن ۰/۵ میلی‌لیتر واکنش‌گر فولین سیوکالتیو ۱۰ درصد اضافه شد و پس از قرار دادن به مدت سه تا پنج دقیقه در دمای اتاق، ۱/۵ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم به آن اضافه شد و به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. سپس جذب نمونه‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Pharmacia LKB. Novapec II) در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد (Ebrahimzadeh *et al.*, 2008). مقدار فنل کل در هر یک از نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر معادل اسید گالیک گزارش شد.

برای ارزیابی فلاونوئید کل از روش (Shin *et al.*, 2003) استفاده شد. ۵۰۰ میکرولیتر عصاره تهیه شده را با ۱۵۰ میکرولیتر نیتريت سدیم ۵ درصد مخلوط کرده و بعد از ۵ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰٪ به آن اضافه شد و سپس بعد از ۵ دقیقه یک میلی‌لیتر سود ۱ مولار اضافه شد و در نهایت حجم نهایی را به ۵ میلی‌لیتر رسانده و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید. مقدار فلاونوئید کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر معادل کاتچین بدست آمد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها ابتدا باید عصاره پروتئین تهیه نمود. برای تهیه عصاره پروتئین ابتدا ۱ گرم بافت گیاهی را در هاون حاوی ۵ میلی‌لیتر بافر تریس-HCl ۰/۰۵ مولار با pH=۷/۵ سائیده تا محلول همگنی بدست آید. سپس محلول را به لوله سانتریفیوژ منتقل نموده و بعد از ۱۰ دقیقه مخلوط حاصل به مدت ۲۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار، سانتریفیوژ نموده، سپس محلول رویی را در لوله آزمایش ریخته و عصاره پروتئینی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفت (Bradford, 1992). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز براساس اکسیداسیون اسیدآسوربیک و کاهش جذب در ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای سنجش فعالیت آنزیم ۳۰۰ میکرولیتر از بافر فسفات سدیم (pH=۷) حاوی ۰/۲ میلی‌مولار EDTA، ۲۰۰ میکرولیتر اسیدآسکوربیک با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار، ۲۰۰ میکرولیتر آلبومین سرم گاوی (BSA) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی با هم مخلوط شد و واکنش بوسیله افزودن ۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن با غلظت ۲۵۰ میلی‌مولار آغاز گردید. تغییرات جذب به مدت سه دقیقه توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی اسید آسکوربیک (۱ cm<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup>) برحسب واحد μM ascorbic acid mg<sup>-1</sup> protein min<sup>-1</sup> محاسبه شد (Nakano & Asada, 1981).

سنجش فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز با روش (Foyer *et al.*, 1994) انجام شد. اساس سنجش، کاهش جذب نمونه‌ها طی ۱ دقیقه در طول موج ۳۴۰ نانومتر به علت اکسیداسیون NADPH بود. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، کلرید منیزیم ۵/۵ میلی‌مولار NADPH ۰/۲ میلی‌مولار، GSSG ۵/۵ میلی‌مولار و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره‌ی استخراجی بود. فعالیت آنزیم نیز بر حسب نانومول بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه محاسبه گردید.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نیز ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات نمکی با  $\text{pH} = 6.8$ ، ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالول ۰.۰۲ مولار، ۰.۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی با هم مخلوط و بعد از ۵ دقیقه در بن ماری ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده و جذب در ۴۲۰ نانومتر قرائت شد (Luh & Phithakpol, 1972). فعالیت آنزیم نیز بر حسب واحد در دقیقه در ۱۰۰ گرم وزن تر میوه محاسبه گردید.

برای سنجش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانیل‌آمونیلایز از روش (Ke & Saltveit., 1986) با کمی تغییر استفاده شد. نیم گرم از بافت تازه میوه را با استفاده از ۱/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج (بافر بورات ۰.۱/۱ مولار، ۰.۱ درصد پلی‌وینیل‌پیرولیدون و ۱/۴ میلی‌مولار مرکاپتو اتانول با  $\text{pH} = 7$ ) ساییده شد سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس عصاره رویی برای سنجش آنزیم استفاده شد. محتوی نمونه برای سنجش آنزیم حاوی ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۱ میلی‌لیتر بافر سنجش (بافر بورات ۰.۱/۱ مولار، ۰.۱ درصد پلی‌وینیل‌پیرولیدون ۱/۴ میلی‌مولار مرکاپتواتانول  $\text{pH} = 8.8$  و ۱ میلی‌لیتر L-فنیل‌آلانیل ۱۲ میلی‌مولار بود که به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و جذب در طول موج ۲۹۰nm با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. فعالیت آنزیم نیز بر حسب نانو مول معادل اسید سینامیک بر ۱۰۰ گرم وزن تر میوه محاسبه گردید.

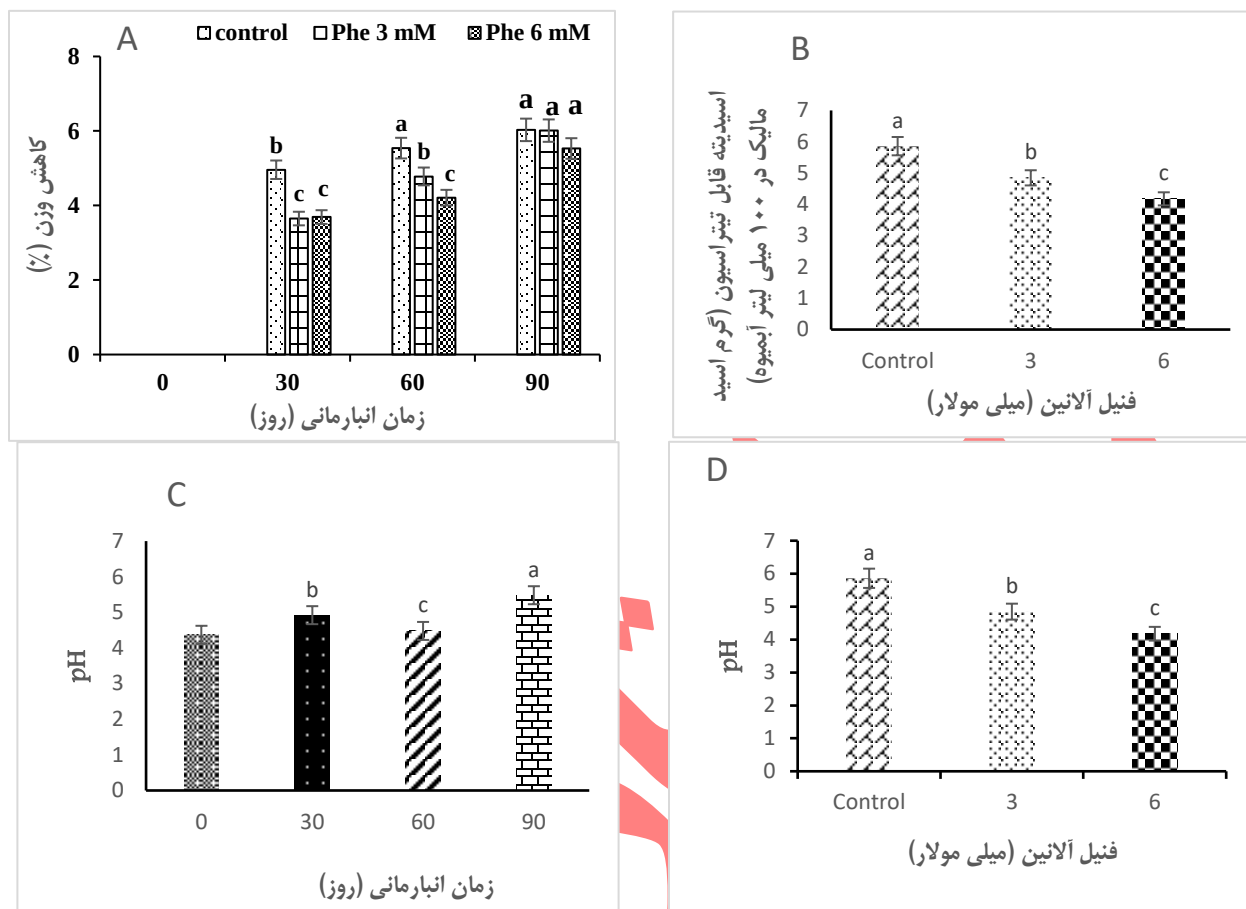
جهت ارزیابی حسی میوه‌ها، از هر ژنوتیپ ۳ عدد میوه انتخاب و توسط افراد مختلف جهت تعیین کیفیت ظاهری و عطر و طعم بر اساس نمره یک تا پنج به ترتیب ذیل به طور تصادفی تست شدند. ۱- نامناسب، ۲- متوسط، ۳- خوب، ۴- خیلی خوب، ۵- عالی در پایان نمرات داده شده توسط هر فرد، جمع‌آوری و با توجه به آن وضعیت میوه به صورت‌های نامناسب، متوسط، خوب، خیلی خوب و عالی تعیین گردید و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (Martin Romero *et al.*, 2007). میوه‌ها مورد تست همگی تا حدودی ظاهر مناسب داشتند. میوه‌های قهوه‌ای قابل تست نبوده و فقط به صورت میوه کل محاسبه شده‌اند.

در نهایت داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS (۹/۴) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای مقایسه‌ی میانگین‌ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

## نتایج و بحث

### کاهش وزن میوه

طبق نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر، بیشترین میزان کاهش وزن میوه طی دوره انبارمانی در میوه‌های شاهد زمان ۹۰ روز مشاهده گردید و کمترین میزان آن در تیمار ۳ میلی‌مولار فنیل‌آلانیل در روز ۳۰ انبارمانی مشاهده شد (شکل ۱ A).

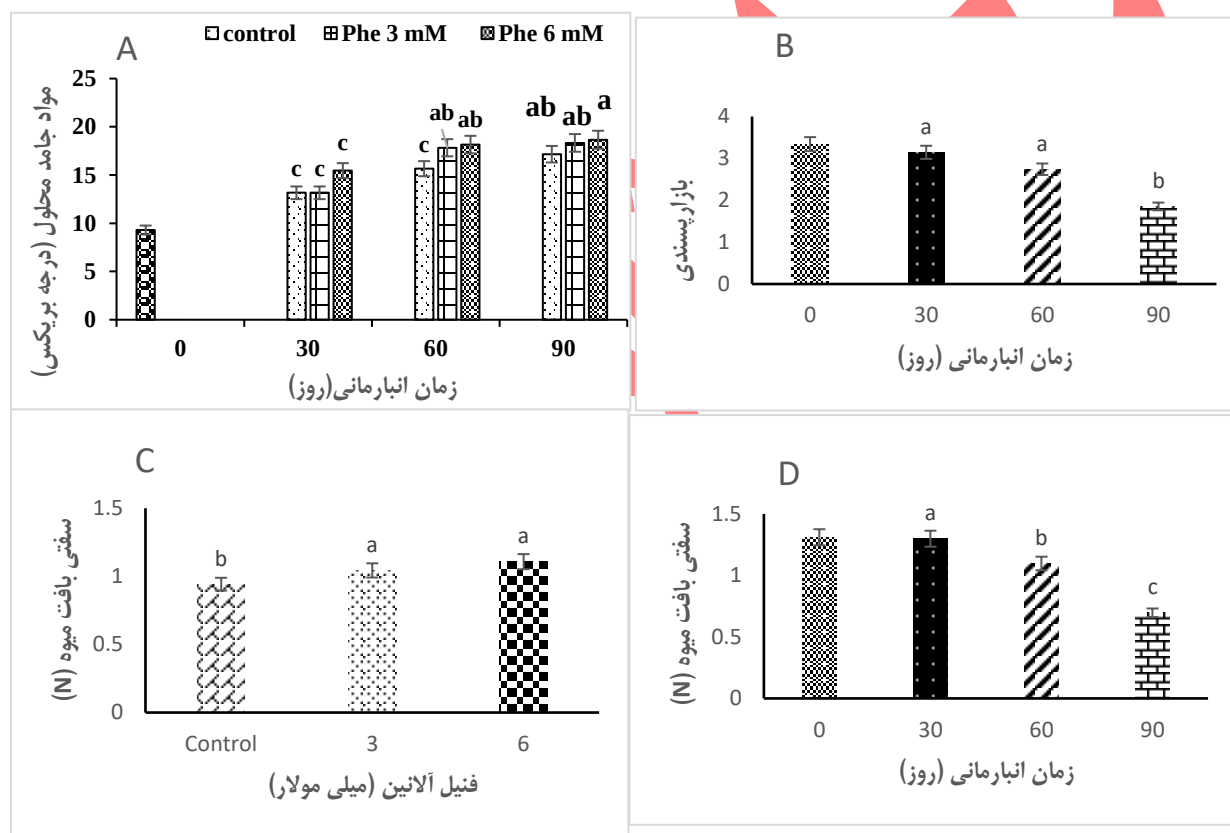


**شکل ۱-** اثر متقابل تیمار فنیل آلانین و زمان انبارمانی بر میزان کاهش وزن (A)، اثر تیمار فنیل آلانین بر اسیدیته قابل تیتراسیون (B) و اثرات تیمار فنیل آلانین (C) و زمان انبارمانی (D) بر pH میوه گلابی رقم درگزی در طی انبارمانی. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری می باشد.

کاهش وزن میوه در طی دوره انبار به دلیل تبخیر آب از سطح میوه می باشد. در دوره پس از برداشت دو عامل مهم باعث از دست رفتن آب و کاهش وزن محصول می شود. اولی، قطع شدن رابطه آبی میوه با گیاه مادری و دومی، افزایش تعرق در سطح میوه یا سبزی که یک فرآیند فیزیکی است و منجر به از دست رفتن رطوبت و در نتیجه کاهش وزن محصول می شود (Zhang *et al.*, 2017). همچنین افزایش شدت تنفس باعث تسریع فرآیندهای رسیدگی و پیری شده و به سبب آن مصرف مواد غذایی میوه افزایش پیدا می کند (Gao *et al.*, 2014) که این باعث کاهش وزن میوه طی انبارمانی می گردد (Pathare & Al-Dairi, 2022). گزارش شده است که فنیل آلانین باعث جلوگیری از کاهش وزن میوه توت فرنگی در انبار سرد می گردد (Manda-Hakki and Hassanpour., 2024). همچنین نتایج مطالعه انجام شده توسط Keshavarz Afshar (2017) نشان داد که فنیل آلانین باعث ممانعت از کاهش وزن میوه انار در شرایط انبارمانی می گردد که نتایج مطالعه حاضر نیز هم راستا با نتایج این مطالعات می باشد.

**pH و اسیدیته قابل تیتراسیون**

طبق نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر مشخص گردید که کمترین میزان اسیدیته قابل تیتراسیون طی دوره انبارمانی در میوه‌های شاهد مشاهده گردید به طوری که میوه‌های تیمار شده با اسیدآمینه فنیل آلانین ۶ میلی‌مولار میزان اسیدیته قابل تیتراسیون بیشتری را طی ۹۰ روز انبارمانی نشان دادند (شکل ۱ B). همچنین میوه‌های تیمار شده با فنیل آلانین دارای pH کمتری بودند (شکل ۱ C)، این در حالی است که افزایش دوره انبارمانی منجر به افزایش pH شد (شکل ۱ D). افزایش قندها و کاهش اسیدهای آلی در طول دوره نگهداری در برخی از میوه‌ها منجر به افزایش اسیدیته می‌شود ولی این افزایش در میوه‌های مختلف متفاوت است چون علاوه بر اسیدها، سایر مواد موجود در میوه‌ها نظیر قندها نیز امکان تاثیر بر اسیدیته را دارند (Perkins-Vaezie, 2007). گزارش شده است که کاربرد اسیدآمینه‌ها از قبیل ال-سیستئین ۰/۵ درصد قادر است با بهبود اسیدیته میوه هلو، کیفیت میوه را طی انبارمانی حفظ نماید (Ommol Banin et al., 2020) که نتایج این مطالعه با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.



**شکل ۲-** اثر متقابل تیمار فنیل آلانین و زمان انبارمانی بر میزان مواد جامد محلول (A)، اثر زمان انبارمانی بر بازارپسندی (B)، و اثرات تیمار فنیل آلانین (C) و زمان انبارمانی (D) بر سفتی بافت میوه گلابی رقم درگری در طی انبارمانی. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری می‌باشد.

## مواد جامد محلول

طبق نتایج بدست آمده کمترین میزان مواد جامد محلول طی دوره انبارمانی در میوه‌های شاهد و بیشترین میزان مواد جامد محلول در میوه‌های تیمار شده با اسیدآمینه فنیل آلانین ۶ میلی‌مولار پس از ۹۰ روز انبار سرد مشاهده گردید (شکل ۲ A). میزان مواد جامد محلول،



اسیدتیة قابل تیتراسیون و قندها به عنوان ویژگی‌های مهم به منظور کمک به کیفیت کلی میوه‌ها و سبزیجات شناخته می‌شوند (Fallik & Ilıc, 2018). تغییر مواد جامد محلول در زمان انبارمانی به شرایط نگهداری، رقم، شرایط اقلیمی منطقه رشد درخت و بلوغ میوه در زمان برداشت بستگی دارد (Kader, 2006). مطالعات قبلی انجام شده نشان داده است که در طول مدت زمان انبارمانی در میوه انار رقم ملس ساوه، مواد جامد محلول میوه افزایش یافت، در حالیکه تیمار فنیل‌آلانین و سولفید هیدروژن باعث حفظ مواد جامد محلول میوه شده است (Keshavarz Afshar, 2017؛ Wang *et al.*, 2023) که نتایج پژوهش حاضر نیز با نتایج این مطالعه مطابقت دارد.

### بازار پسندی

با توجه به (شکل ۲ B) فقط زمان انبارمانی اثر معنی داری بر بازارپسندی میوه گلابی داشت. میوه‌های نگهداری شده در روز ۹۰ دوره انبارمانی دارای کمترین میزان بازار پسندی بودند و میوه‌های روز ۳۰ دوره انبارمانی نیز دارای بیشترین بازارپسندی بودند. به طور کلی گذشت زمان منجر به کاهش قابل ملاحظه‌ی بازار پسندی میوه گلابی شد. کنترل قهوه‌ای شدن آنزیمی به دلیل ایجاد اثرات نامطلوبی که روی خواص ظاهری، بازارپسندی و کیفیت محصول می‌گذارد، همیشه به عنوان یک چالش مطرح بوده است. تخریب‌های آنزیمی در اثر گذشت زمان در انبار اجتناب‌ناپذیر بوده و کاربرد ترکیبات مختلف تنها می‌تواند تا حدودی سرعت تخریب را مدیریت نماید (Oliveira *et al.*, 2011). در مطالعه حاضر نیز نتایج نشان داد که افزایش دوره نگهداری میوه در انبار منجر به کاهش بازار پسندی آن گردیده است. قبلاً در مطالعه‌ی گزارش شده که نگهداری میوه آلو در انبار سرد منجر به افزایش قهوه‌ای شدن و کاهش بازارپسندی می‌شود (Sogvar *et al.*, 2020b) که یافته‌های مطالعه حاضر نیز در همین راستا می‌باشد.

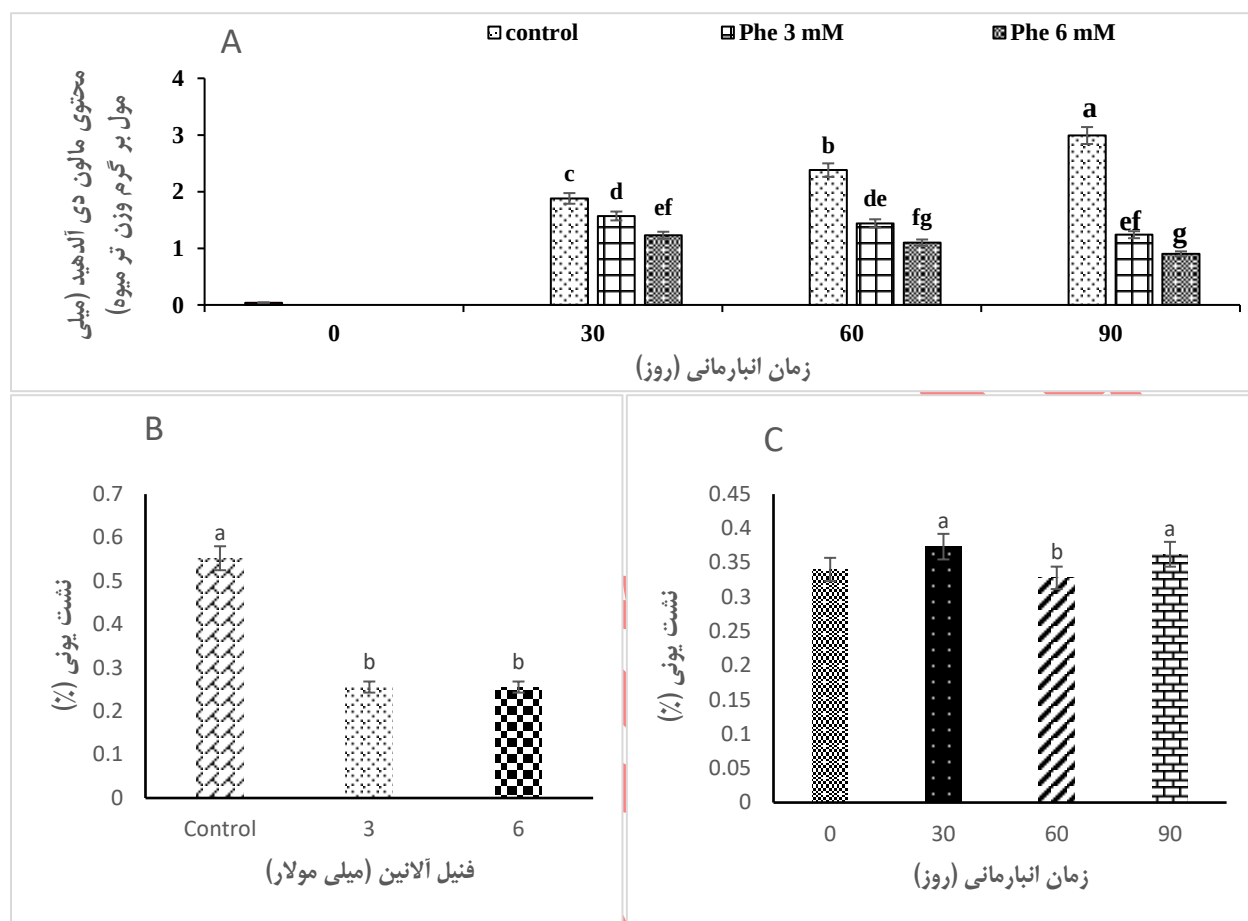
### سفتی بافت میوه

طبق نتایج بدست آمده تمامی تیمارها کاهش سفتی را در طول انبارمانی نشان دادند، اما میوه‌های تیمار نشده با فنیل‌آلانین کاهش سفتی بیشتری داشتند. بر اساس شکل ۲ C، کمترین میزان سفتی بافت میوه در گروه شاهد و بیشترین میزان آن در تیمار ۶ میلی‌مولار فنیل‌آلانین مشاهده شد. همچنین کمترین میزان کاهش سفتی در روز ۳۰ انبارمانی و بیشترین میزان کاهش آن نیز در روز ۹۰ انبارمانی مشاهده گردید (شکل ۲ D). نرم شدن میوه یک فرآیند برگشت‌ناپذیر است که با افزایش حل شدن پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی همراه است و سفتی میوه، شاخص پیچیده‌ای است که با ضخامت دیواره سلولی، فشردگی بافت و ضخامت کوتیکول مرتبط می‌باشد (Lara *et al.*, 2014). روند نرم شدن در اثر فعالیت رادیکال‌های آزاد طی انبارمانی افزایش می‌یابد و به دنبال آن سرعت تنفس و تولید اتیلن نیز افزایش می‌یابد (Wang *et al.*, 2015). به نظر می‌رسد تیمار فنیل‌آلانین می‌تواند روشی کارآمد برای افزایش کیفیت میوه گلابی در طی نگهداری در انبار سرد باشد. حفظ سفتی بافت میوه در دوره انبار در اثر تیمار با فنیل‌آلانین توسط (Sogvar *et al.*, 2020b) در آلو نیز گزارش شده است. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های ذکر شده سایر پژوهشگران در بالا در یک راستا می‌باشد.

### محتوی مالون دی‌آلدهید و نشت یونی

براساس شکل ۳ A، کمترین میزان مالون دی‌آلدهید در تیمار ۶ میلی‌مولار فنیل‌آلانین در روز ۳۰ انبارمانی و بیشترین میزان آن در گروه شاهد روز ۹۰ انبارمانی مشاهده شد. همچنین بر اساس شکل ۳ B، بیشترین میزان نشت یونی در گروه شاهد و کمترین میزان آن در هردو تیمار ۳ و ۶ میلی‌مولار فنیل‌آلانین مشاهده شد. همچنین کمترین میزان نشت یونی در روز ۶۰ انبارمانی و بیشترین میزان آن در روز ۳۰ انبارمانی دیده شد (شکل ۳ C).



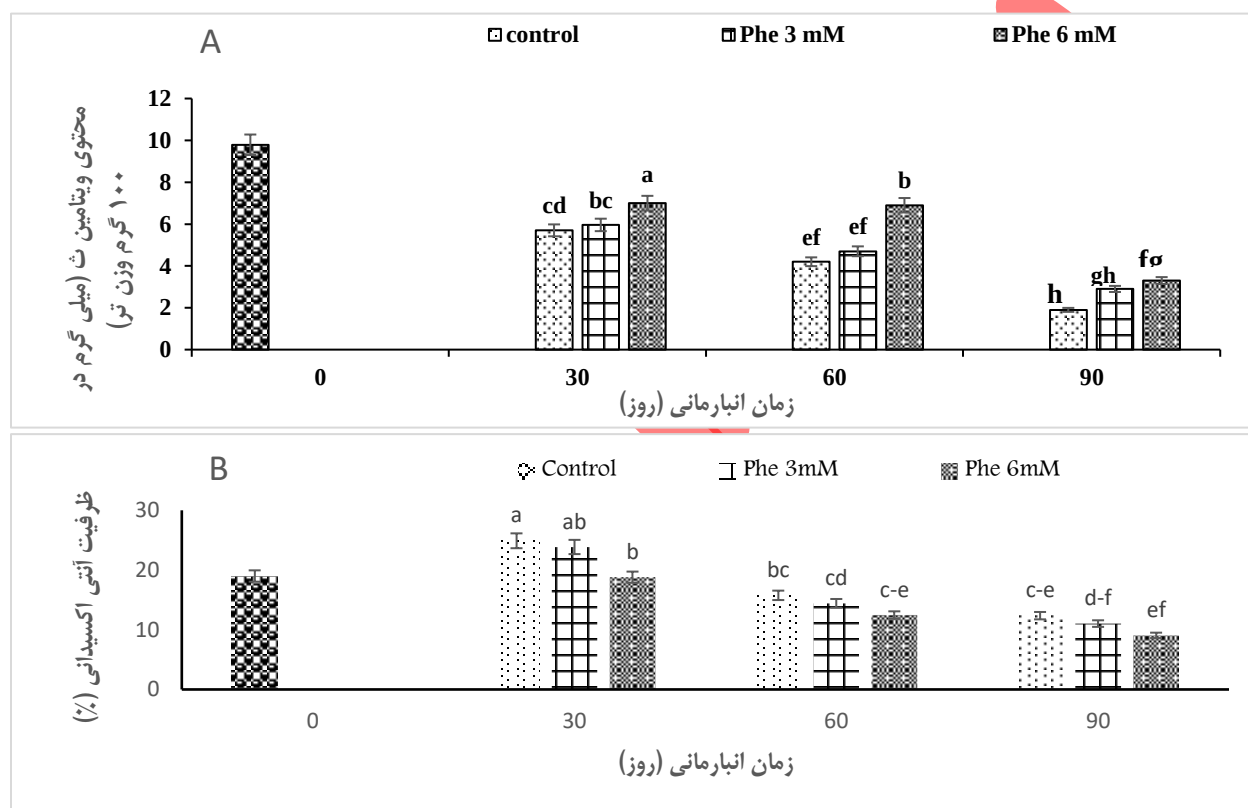


**شکل ۳-** اثر متقابل تیمار فنیل آلانین و زمان انبارمانی بر محتوی مالون دی آلدئید (A) و اثرات تیمار فنیل آلانین (B) و زمان انبارمانی (C) بر نشت یونی میوه گلابی رقم درگری در طی انبارمانی. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری می باشد.

نشت الکترولیت یک شاخص قابل اعتماد برای آسیب غشای سلولی است و به طور گسترده‌ای برای ارزیابی آسیب ناشی از سرما در طول دوره انبار در میوه‌ها استفاده می‌شود (Kumari *et al.*, 2023). پراکسیداسیون لیپیدها می‌تواند ساختار غشای سلولی را تغییر دهد. در طول نگهداری میوه در انبار سرد، پراکسیداسیون غشای سلولی رخ داده و مالون دی آلدئید تولید می‌شود که به غشای سلول میوه آسیب می‌زند. وجود اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع در غشای سلولی ممکن است نشت یونی و تجمع مالون دی آلدئید را کاهش دهند و در نتیجه از پراکسیداسیون لیپید غشاء و آسیب سلولی جلوگیری کنند. گزارش شده است که استفاده از غلظت ۷/۵ میلی مولار فنیل آلانین، مقاومت بافت را در برابر آسیب سرمایی در انبار افزایش می‌دهد و یکپارچگی غشای سلولی را در مقایسه با میوه‌های شاهد حفظ می‌کند (Sogvar *et al.*, 2020a). در طی مطالعه‌ی بر میوه توت فرنگی در طی دوره انبارمانی مشاهده شد که تیمار فنیل آلانین باعث کاهش سطوح مالون دی آلدئید شده و از پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری می‌نماید (Manda-Hakki and Hassanpour., 2024) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

**محتوی ویتامین ث (اسید اسکوربیک)**

بر اساس شکل ۴ A، بیشترین میزان محتوی ویتامین ث در روز صفر و کمترین میزان آن در روز ۹۰ و در تیمار شاهد مشاهده شد، در تمامی تیمارها ویتامین ث کاهش یافت اما در میوه‌های تیمار شده با فنیل‌آلانین این کاهش کمتر بود. اسید آسکوربیک که به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی برای خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن شناخته می‌شود، در طول انبارمانی میوه دمای پایین وارد عمل می‌شود و به همین دلیل مقدار آن کاهش پیدا می‌کند (Naser *et al.*, 2018). در طی مطالعه‌ای بر توت‌فرنگی مشاهده شد که فنیل‌آلانین باعث جلوگیری از کاهش اسید اسکوربیک میوه‌ها در طی دوره انبارمانی شد (Manda-Hakki and Hassanpour., 2024) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.



شکل ۴- اثر متقابل تیمار فنیل‌آلانین و زمان انبارمانی بر محتوی ویتامین ث (A) و اثر متقابل تیمار فنیل‌آلانین و زمان انبارمانی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (B) میوه گلابی رقم درگزی در طی انبارمانی. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری می‌باشد.

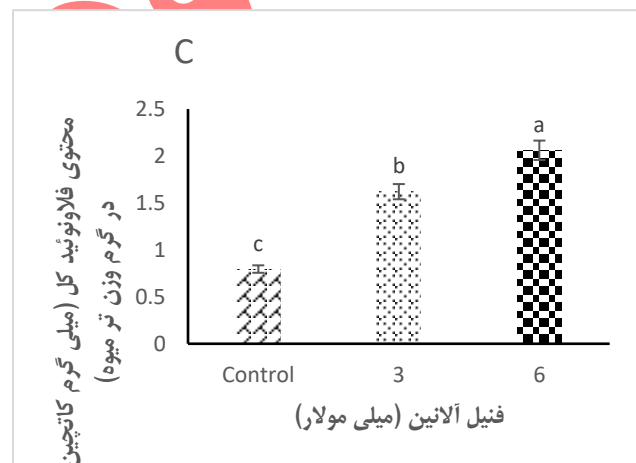
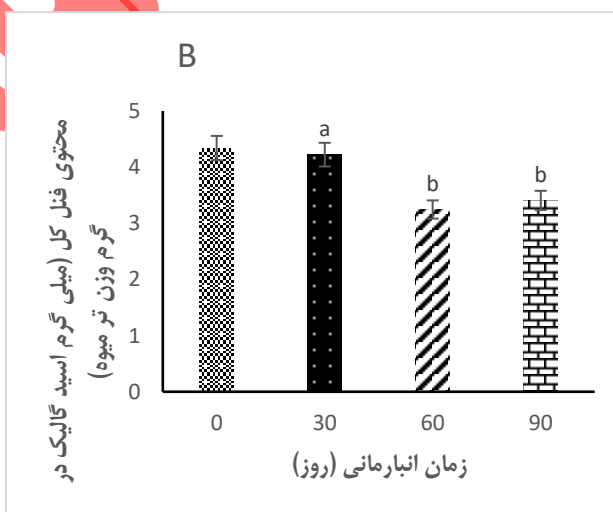
#### ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گروه شاهد و در روز ۳۰ انبارمانی مشاهده شد و کمترین میزان آن نیز در تیمار ۶ میلی‌مولار فنیل‌آلانین و در روز ۹۰ انبارمانی مشاهده گردید (شکل ۴ B). آنتی‌اکسیدان‌ها به ترکیباتی گفته می‌شود که با دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد باعث تأخیر و یا مانع اکسیداسیون مولکول‌های زیستی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و دی‌اکسید ریبونوکلیک اسید می‌شوند (Wang, 2013). به‌طور کلی افزایش ظرفیت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارتباط مستقیمی با افزایش مدت زمان انبارمانی دارد (Sowmyashree *et al.*, 2021; Sayyari & Gharibi, 2016). مشخص شده است که تیمار فنیل‌آلانین با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی باعث ماندگاری بیشتر میوه توت‌فرنگی در انبار سرد می‌شود (منداحکی و حسن‌پور، ۱۴۰۳).

### محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و آنزیم فنیل آلانین آمونیالاز (PAL)

بر اساس شکل ۵ A، بیشترین میزان محتوی فنل کل در تیمار ۶ میلی مولار فنیل آلانین و کمترین میزان آن در گروه شاهد مشاهده شد، همچنین بیشترین میزان محتوی فنل کل در روز صفر انبارمانی و کمترین آن در روز ۶۰ انبارمانی مشاهده شد (شکل ۵ B). بر اساس شکل ۵ C، بیشترین میزان محتوی فلاونوئید کل در تیمار ۶ میلی مولار فنیل آلانین و کمترین میزان آن در گروه شاهد مشاهده شد و بالاترین میزان محتوی فلاونوئید کل در روز ۹۰ انبارمانی و کمترین آن در روز ۶۰ انبارمانی مشاهده گردید (شکل ۵ D). همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم PAL در تیمار ۳ میلی مولار فنیل آلانین در روز ۹۰ انبارمانی و کمترین میزان آن نیز در گروه شاهد روز ۳۰ انبارمانی مشاهده شد (شکل ۶).

از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه که از مسیر شیکمیک اسید سنتز می‌شوند، ترکیبات فنلی هستند که نقش مهمی در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد تولید شده طی تنش را بر عهده دارند. علاوه بر این ترکیبات فنلی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که بصورت مستقیم از طریق مسیر فنیل پروپانوییدی و آنزیم کلیدی فنیل آلانین آمونیالاز (PAL) بوجود می‌آیند (Asghari, 2019). از جمله اجزای سیستم آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئیدها می‌باشند که نقش ویژه‌ای در خنثی‌سازی اثر رادیکال‌های آزاد و کاهش اثر تنش‌ها را دارند. مطالعات نشان داده است که تولید و تجمع ترکیبات فلاونوئیدی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی مانند دمای پایین انبار افزایش می‌یابد (Akhond *et al.*, 2022). خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی به ساختار شیمیایی آن‌ها مربوط می‌شود که می‌توانند به عنوان دهنده الکترون یا پروتون عمل کنند. در واقع آنزیم PAL یکی از مهم‌ترین آنزیم‌هایی است که مسیر فنیل پروپانویید را فعال می‌کند (Asghari & Zahedipour, 2016). بنابراین، به نظر می‌رسد که فعالیت PAL در مسیر فنیل پروپانویید در میوه‌های گلابی تیمار شده با اسید آمینه فنیل آلانین افزایش یافته و منجر به تجمع بیشتر ترکیبات فنلی گردیده است. نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های (Sogvar *et al.*, 2020b) مبنی بر تاثیر فنیل آلانین در حفظ ترکیبات فنلی و افزایش فعالیت آنزیم PAL مطابقت داشت.



همچنین در مطالعه‌ی روی میوه انبه مشاهده شد که فنیل آلانین باعث افزایش محتوای فنل کل، فلاونوئید و فعالیت آنزیم فنیل-آلانین آمونیالاز می‌گردد (Patel *et al.*, 2023). در طی پژوهشی دیگر مشاهده شد که فنیل آلانین باعث افزایش محتوای فنل کل، فلاونوئید و فعالیت آنزیم PAL در میوه توت فرنگی در طی دوره انبارمانی می‌گردد (Manda-Hakki and Hassanpour, 2024). نتایج بدست آمده از این مطالعه با نتایج مطالعات ذکر شده در بالا مطابقت دارد.



### فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

بر اساس شکل ۷ A، بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار ۶ میلی مولار فنیل آلانین و کمترین میزان آن در گروه شاهد مشاهده شد. همچنین بر اساس شکل ۷ B، بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در روز ۹۰ انبارمانی و کمترین آن در روز ۶۰ انبارمانی مشاهده گردید. آسکوربات در همکاری با توکوفرول، رادیکال های پراکسیل لیپید را از بین برده و مانع از گسترش پراکسیداسیون لیپید در غشا می گردد (Nath *et al.*, 2014). پراکسیدازها آنزیم هایی هستند که در تمام پیکره گیاهان، سیتوسول، واکوئل، کلروپلاست و فضای آپوپلاست وجود دارند و دارای نقش مهمی در سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی می باشند (Poddar *et al.*, 2018). پراکسیدازها در حضور ترکیبات فنلی و آسکوربیک اسید احیا می توانند به عنوان از بین برنده موثر رادیکال های آزاد در آپوپلاست و واکوئل عمل کنند (Wilhite *et al.*, 2000). در مطالعه حاضر مشاهده شد که فنیل آلانین باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز گردید که با نتایج (Manda-Hakki and Hassanpour., 2024) مطابقت دارد که آنها نیز دریافتند فنیل آلانین باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در میوه های توت فرنگی در طی سردخانه می شود.

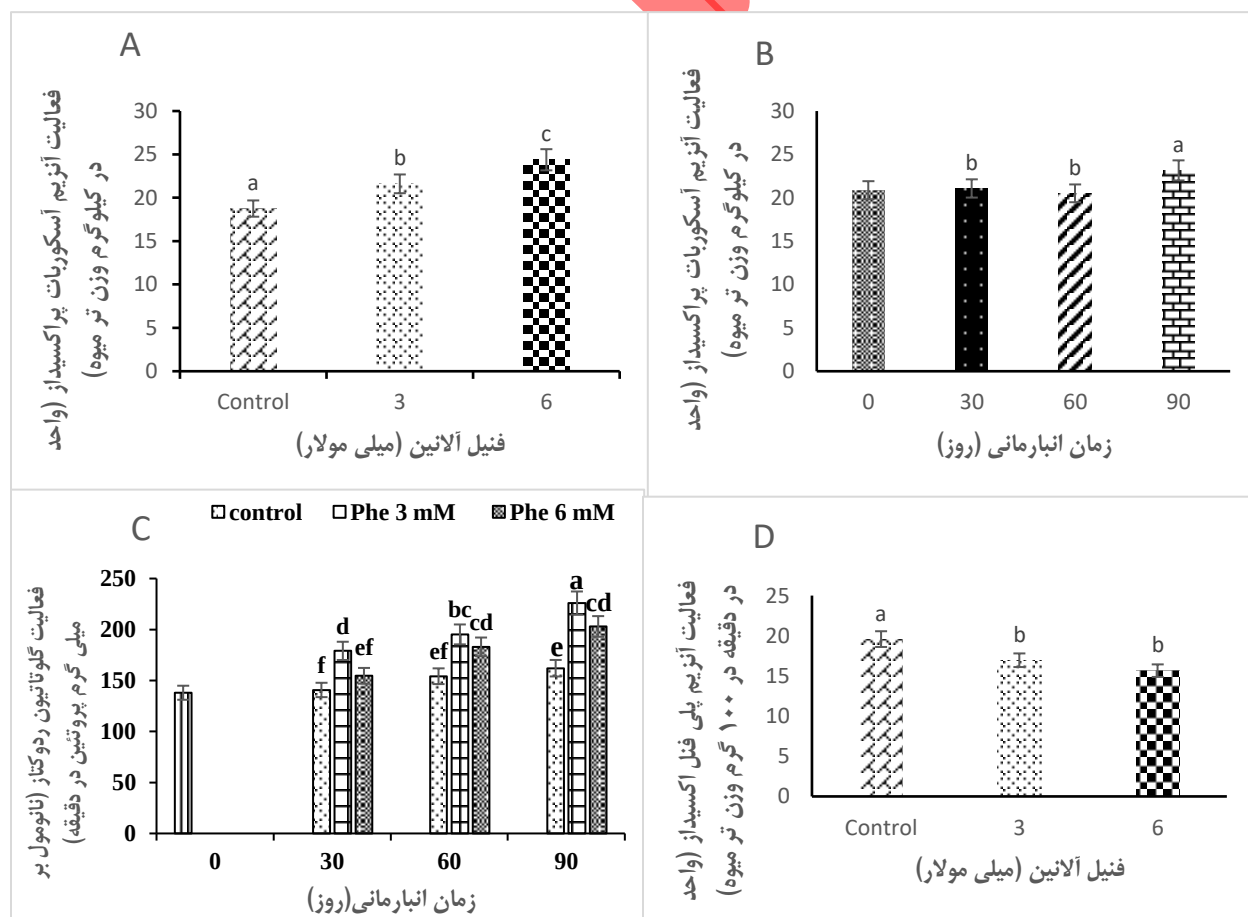
### آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز

نتایج نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز در تیمار ۳ میلی مولار فنیل آلانین روز ۹۰ انبارمانی و کمترین میزان فعالیت آن نیز در گروه شاهد روز ۳۰ انبارمانی مشاهده گردید (شکل ۷ C). گلوکاتایون یکی از ترکیباتی است که نقش بسیار مهمی در سلول دارد و می تواند به صورت مستقیم به عنوان آنتی اکسیدان عمل کند. گلوکاتایون یک تری پتید ( $\alpha$ -گلوتامیل سیستئینیل گلیسین)

است که در تمام قسمت‌های سلول مثل سیتوسول، کلروپلاست شبکه آندوپلاسمی، واکوئل و میتوکندری دیده شده است (Millar *et al.*, 2003). برخی محققان گزارش کرده‌اند که گلوکاتایون احیا از طریق واکنش با اکسیژن یکتایی و رادیکال هیدروکسیل گروه‌های تیول پروتئین‌ها را از آسیب محافظت می‌کند (Dahal *et al.*, 2012). در طی مطالعه‌ی بر میوه انبه در انبار مشاهده گردید که فنیل آلانین باعث افزایش فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز شد (Patel *et al.*, 2023) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

#### پلی فنل اکسیداز (PPO)

بر اساس نتایج بدست آمده کمترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در تیمار ۶ میلی مولار فنیل آلانین و بیشترین میزان فعالیت آن در گروه شاهد مشاهده گردید (شکل ۷ D). آنزیم پلی فنل اکسیداز باعث نشت ترکیبات فنلی از واکوئل بعد از تنش می‌شود (Nilprapruck *et al.*, 2008). فعالیت این آنزیم توسط میزان تنفس، غلظت عناصر غذایی، استحکام بافت میوه و آنتی اکسیدان‌ها تنظیم می‌شود و عواملی نظیر زمان برداشت و دما، ترکیب گازی اتمسفر و شرایط محیطی نیز در فعالیت آن موثر می‌باشند (Khoshghalb *et al.*, 2007). در این مطالعه، فعالیت PPO در میوه گلایی تیمار شده با فنیل آلانین کاهش یافت. بنابراین، به نظر می‌رسد که فعالیت کم PPO در میوه‌های تیمار شده با فنیل آلانین با وقوع افزایش ماندگاری مرتبط باشد. در مطالعه‌ی یک همبستگی بین محتوای فنل و فعالیت PPO در میوه‌های برداشت شده در طول دوره پس از برداشت به دست آمد و مشخص شد که اسکوربیک اسید یک عامل ضد قهوه‌ای است که به عنوان یک مهار کننده فعالیت PPO عمل می‌کند (Nasr *et al.*, 2021).



شکل ۷- اثرات تیمار فنیل آلانین (A) و زمان انبارمانی (B) بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، اثر متقابل تیمار فنیل آلانین و زمان انبارمانی (C) بر فعالیت آنزیم گلوکاتیون ردوکتاز و اثر تیمار فنیل آلانین بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (D) میوه گلابی رقم درگزی در طی انبارمانی. حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی داری می باشد.

## نتیجه گیری کلی

توجه به مسائل پس از برداشت در میوه های گلابی ضروری است و با رعایت نکات فنی می توان از ایجاد ضایعات در محصولات جلوگیری نموده و یا آن را به حداقل ممکن رساند. سالانه میزان زیادی از محصولات باغی در کشور، بر اثر عدم توجه صحیح به نکات انبارمانی از بین می روند. اگر اصول صحیح انبارمانی رعایت نشود نه تنها کیفیت محصول حفظ نمی شود، بلکه خسارت هایی نظیر سرمازدگی و حمله عوامل بیماری زا، افزایش می یابد که به دنبال آن، ضرر زیادی متوجه باغدار می گردد. دمای پایین باعث تغییرات در ساختار فیزیکی غشا می شود و منجر به تولید رادیکال های آزادی مانند پروکسید هیدروژن می گردد که رادیکال های آزاد منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می شوند و در نتیجه پایداری و استحکام غشا از بین می رود. طبق نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر تیمار میوه گلابی با اسید آمینه فنیل آلانین برای افزایش عمر انبارمانی گلابی مناسب تشخیص داده شد زیرا تیمار بکار برده شده، صدمه ی ناشی از سرما، پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی را کاهش داد. فعالیت آنتی اکسیدان های مانند ترکیبات فنلی، فلاونوئید و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی افزایش پیدا کرد. به طور کلی، تیمارهای بکار برده شده در پژوهش حاضر باعث افزایش عمر انبارمانی و کیفیت میوه گلابی شدند. بنابراین، بر اساس نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر، تیمار اسید آمینه فنیل آلانین ۶ میلی مولار تاثیر گذاری بیشتری نسبت به بقیه تیمارها نشان داد.

## منابع

- احمدخانی، سهیلا؛ سلیمانی، علی؛ رضوی، فرهنگ و خیری، عزیزاله. (۱۳۹۸). تاثیر تیمار پس از برداشت سولفید هیدروژن و فنیل آلانین بر خصوصیات فیزیک و شیمیایی میوه زغال اخته در طی انبار سرد. *مجله علوم و فنون باغبانی ایران*، ۴۲(۴)، ۴۳۶-۴۲۵.
- جلیلی مرندی، رسول (۱۳۸۹). *پرورش میوه های مناطق معتدله*. انتشارات جهاد دانشگاهی واحد آذربایجان غربی، ۳۶۲ صفحه.
- عبدللهی، حمید. (۱۳۸۹). *اصول تغذیه معدنی گیاهان*. انتشارات دانشگاه تبریز. ۳۶۸ صفحه.
- کشاوری افشار، فاطمه (۱۳۹۷). تاثیر پس از برداشت فنیل آلانین و سولفید هیدروژن بر خصوصیات بیوشیمیایی و آنتی اکسیدانی میوه انار رقم ملس ساوه در طول انبار سرد. *پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان*. ۹۰ ص.
- منداحکی، کریم؛ حسن پور، حمید. (۱۴۰۳). کاربرد پس از برداشت ال-فنیل آلانین بر ماندگاری و ویژگی های فیزیکیوشیمیایی توت فرنگی رقم 'سپرینا' در طی نگهداری در سردخانه. *نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)*، ۳۸ (۳): ۶۲۵-۶۱۱.
- نجفی، رضا؛ برزگر، طاخر؛ رضوی، فرهنگ و قهرمانی، زهرا. (۱۳۹۹). اثر تیمارهای پس از برداشت فنیل آلانین و سولفید هیدروژن بر حفظ کیفیت و افزایش عمر انبارمانی میوه بادنگان (*Solanum melongena* L.). *نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)*، ۳۴ (۴): ۷۱۷-۷۰۵.
- نصرتی، سید ضیاء؛ ذبیح اله، زمانی؛ و بابالار، مصباح. (۱۳۸۸). ریزازدیدی چهار رقم گلابی (*Pyrus communis* L.) (درگزی، نطنزی، شاه میوه و ویلیامز). *مجله علوم باغبانی ایران*، ۴۰ (۲): ۸۳-۹۱.

- Aghdam, M. S., Moradi, M., Razavi, F., & Rabiei, V. (2019). Exogenous phenylalanine application promotes chilling tolerance in tomato fruits during cold storage by ensuring supply of NADPH for activation of ROS scavenging systems. *Scientia Horticulturae*, 246, 818-825.
- Ahmadkhani, S., Soleimani, A., Razavi, F., & Kheiry A. (2021). Hydrogen Sulfide Postharvest Application Impacts on Physicochemical Attributes of Cornus mas Fruits during Cold Storage. *Journal of Horticultural Science and Technology*, 22 (4), 425-436. (In Persian)
- Ahmed, M., & Anjum, M.A. (2010). In vitro storage of some pear genotypes with the minimal growth technique. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 34, 25-32.
- Akhond, M., Heidarizadeh, F. & Kolahi, M. (2022). Comparative study of qualitative and chemical characteristics of Camarosa and Parus strawberry cultivars during 15 days of storage. *Developmental Biology*, 14(2), 43-52.
- Ali, A., Abrar, M., Sultan, M.T., Din, A., & Niaz, B. (2011). Postharvest physicochemical changes in full ripe strawberries during cold storage. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 21(1), 38-41.
- Ali, S., Khan, A.S., & Malik, A.U. (2016). Postharvest L-cysteine application delayed pericarp browning, suppressed lipid peroxidation and maintained antioxidative activities of litchi fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 121, 135-142.
- Asghari, M. & Zahedipour, P. (2016). 24-Epibrassinolide Acts as a Growth-Promoting and Resistance-Mediating Factor in Strawberry Plants. *Journal Plant Growth Regulation*, 220-228.
- Asghari, M. (2019). Lmpact of jasmonates on safety, productivity and physiology of food crops. *Trends in Food Science & Technology*, 45:16-23.
- Ayala-Zavala, J.F., Wang, S.H.Y., Wang, C.Y., & Gonzalez-Aguilar, G.A. (2007). High oxygen treatment increases antioxidant capacity and postharvest life of strawberry fruit. *Food Technology and Biotechnology*, 425,166-173.
- Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, 91(2), 179-194.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248- 254.
- Chiou, A., Karathanos, V.T., Mylona, A., Salta, F.N., Preventi, F., & Andrikopoulos, N.K. (2007). Currants (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolics and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 102, 516-522.
- Dahal, K., Kane, K., Gadapati, W., Webb, E., Savitch, L.V., Singh, J., Sharma, P., Sarhan, F., Longstaffe, F.J., & Grodzinski, B. (2012). The effects of phenotypic plasticity on photosynthetic performance in winter rye, winter wheat and Brassica napus. *Plant Physiology*, 144, 169-188.
- Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J., Hamidinia, A., & Jafari, M. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activity of Feijoa sallowiana fruits peel and leaves. *Journal of Pharmacol-online*, 1, 7-14.
- Fallik, E., & Ilic, Z. (2018). Pre-and postharvest treatments affecting flavor quality of fruits and vegetables. In: Siddiqui, M.W. (Ed.), *Preharvest Modulation of Postharvest Fruit and Vegetable Quality*. Academic Press pp. 139–168.



FAO. (2018). FAOSTAT - Agricultural Data. <http://faostat.fao.org/>.

Foyer, C.H., Lelandais, C., Galap, M., & Kunert, K.J. (1994). Effect of elevated cytosolic glutathione reductase activity on the cellular glutathione pool and photosynthesis in leaves under normal and stress conditions. *Plant Physiology*, 97, 863-872.

Gao-Sheng, H.U., Jing-Ming, J.I.A., & Kim, D.H. (2014). Effects of feeding tyrosine and phenylalanine on the accumulation of phenylethanoid glycosides to *Cistanche deserticola* cell suspension culture. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12(5), 367-372.

Hancock, J.T. (2017). Harnessing evolutionary toxins for signaling: Reactive oxygen species, nitric oxide and hydrogen sulfide in plant cell regulation. *Frontiers of Plant Science*, 8, 189-198.

Heath, R.L., & Packer, L. (1985). Photo peroxidation in isolated chloroplast, I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.

Jalili Marandi, R. (2008). Cultivation of fruits of temperate regions. Academic Jihad Publications, West Azerbaijan Branch, 362 pages. (In Persian)

Kader, A.A. (2006). Postharvest Biology and Technology of Pomegranates. pp. 211-220. In: Seeram, N. P.

Ke, D. and saltveit, M.E. (1986). Effects of calcium and auxin on russet spotting and phenilalanina ammonia lyase activity in iceberg lettuce. *Hort Science*, 21, 1169-1171.

Keshavarz Afshar, F. 2017. Post-harvest effect of phenylalanine and hydrogen sulfide on biochemical and antioxidant properties of Meles Saveh pomegranate fruit during cold storage. Master thesis of Zanjan University Faculty of Agriculture. 90 p. (in Persian)

Khoshghalb, H., Arzani, K., Malakouti, M.J., & Barzegar, M. (2007). The relationship between antioxidant level and internal browning disorder in some Asian pear (*Pyrus serotina* Rehd.) fruit genotypes. 10th International symposium on pear, 22-26 May Portugal. Pp. 90 (Abst.).

Kumari, A., Kumar, V., Ovadia, R., & Oren-Shamir, M. (2023). Phenylalanine in motion: A tale of an essential molecule with many faces. *Biotechnology Advances*, 108246.

Lara, I., Belge, B., & Goulao, L.F. (2014). The fruit cuticle as a modulator of postharvest quality. *Postharvest Biology and Technology*, 87, 103-112.

Luh, B.S., & Phithakpol, B. (1972). Characteristics of poly phenoloxidase related to browning in chilling peaches. *Journal Food Science*, 37, 246-268.

Lurie, S., & Crisosto, C. H. (2005). Chilling injury in peach and nectarine. *Postharvest biology and technology*, 37(3), 195-208.

Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. (1995). Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experiment Botany*, 46(12), 1843-1852.

Manda-Hakki, K, Hassanpour, H. (1403). Post-harvest application of L-phenylalanine on shelf life and physicochemical characteristics of 'Sabrina' strawberries during cold storage. *Journal of Horticultural Sciences (Agricultural Sciences and Industries)*, 38 (3): 625-611  
Manda-Hakki, K. Hassanpour, H. (2024). Changes in Postharvest Quality and Physiological Attributes of Strawberry Fruits Influenced by L-Phenylalanine, *Food Science & Nutrition*, 0,1-13.

- Martin-Romero, D., Guillen, F., Valverde, J.M., Bailen, G., Zapata, P.J., & Serrano, M. (2007). Influence of carvacrol on survival of *Botrytis cinerea* inoculated in table grapes. *International Journal of Food Microbiology*, 115, 144-148.
- Millar, A.H., Mittova, V., & Kiddle, G. (2003). Control of ascorbate synthesis by respiration and its implications for stress responses. *Plant Physiology*, 133, 443-447.
- Najafi, R., Barzegar, T., Razavi, F., & Ghahremani, Z. (2020). Effect of Postharvest Treatments 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. (In Persian)
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22, 867-880.
- Nasr, F., Pateiro, M., Rabiei, V., Razavi, F., Formanek, S., Gohari, G., & Lorenzo, J. M. (2021). Chitosan-phenylalanine nanoparticles (Cs-Phe Nps) extend the postharvest life of persimmon (*Diospyros kaki*) fruits under chilling stress. *Coatings*, 11(7), 819.
- Nath, P., Bouzayen, M., Mattoo, A.K., & Claudu pech, j.(Eds). (2014). Fruit ripening: physiology, signaling and genomics. CABI.478p.
- Nilprapruck, P., Authanithe, F., & Keebjan, P. (2008). Effect of exogenous methyl-jasmonate on chilling injury and quality of pineapple. *Silpakorn University Science and Technology*, 2, 33-42.
- Nosrati, S.Z., Zabih-o-lah Z., & Babalar, M. (2009). Micropropagation of Four Cultivars (Dargazi, Natanzi, Shahmiveh and Williams) of Pear (*Pyrus communis* L.). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 40(2), 83-91. (In Persian)
- Oliveira, C.M., Ferreira, A.C.S., & Freitas, V. (2011). Oxidation mechanisms occurring in wines. *Food Research International*, 44, 1115-1126.
- Omaye, S.T., Turnbull, J.D., & Sauberlich, H.E. (1979). Selected Methods for the determination of Ascorbic acid in Animal Cells, Tissues and Fluids, in: *Methods in Enzymology*, 62, 3-11.
- Ommol, B., Sogvar, L., Farhang, R., Vali, R., & Gholamreza G. (2020). Postharvest application of L-cysteine to prevent enzymatic browning of “Stanley” plum fruit during cold storage. *Horticulture*, 12, 36-45.
- Patel, M.K., Fanyuk, M., Feynberg, O., Maurer, D., Sela, N., Ovadia, R., Orenshamir, M. & Alkan, N. (2023). Phenylalanine induces mango fruit resistance against chilling injuries during storage at suboptimal temperature. *Food Chemistry*. 405, 134909.
- Pathare, P. B., & Al-Dairi, M. (2022). Effect of mechanical damage on the quality characteristics of banana fruits during short-term storage. *Discover Food*, 2(1), 4.
- Perkins-Vaezie, P. (2007). Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. *Postharvest biology AND Technology*, 10, 1005-1016.
- Poddar, H., DeVilliers, M., Jandre, Z., & Zhang, J. (2018). Structural basis for the catalytic mechanism of ethylenediamine-N, N'-disuccinic acid lyase, a carbon-nitrogen bond-forming enzyme with broad substrate scope. In: *Biochemistry*, 57, 3752-3763.

- 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.
- Sayyari, M., & Gharibi, R. (2016). Effects of Lavender Essential Oil and Methyl Salicylate on Gray Mold Control and Postharvest Quality of Strawberry. *Journal of Horticultural Science*, 29(4), 662-670.
- Sh., Keyhani, E., & Keyhani, J. (2007). Polyphenol oxidase activity in dormant saffron (*Crocus sativus* L.) corm. *Original Paper*, 29, 463-471.
- Shin, D., Cho, S., Heu, S., & Ryu, N. (2003). Selective regulation of ptsG expression by Fis. Formation of either activating or repressing nucleoprotein complex in response to glucose. *The Journal of Biological Chemistry*, 278, 14776-14781.
- Sogvar, O.B., Rabiei, V., Razavi, F., & Gohari, Gh. (2020 a). 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.
- Sogvar, O.B., Razavi, F., Rabiei, V., & Gohari, G. (2020 b). Postharvest application of L-cysteine to prevent enzymatic browning of “Stanley” plum fruit during cold storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1-12.
- Sowmyashree, A., Sharma, R., Rudra, S.G., & Grover, M. (2021). Layer-by-Layer coating of hydrocolloids and mixed plant extract reduces fruit decay and improves postharvest life of nectarine fruits during cold storage. *Acta Physiologiae Plantarum*, 43(8), 112.
- Tzin, V., and Galili, G. (2010). New insights into the shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants. *Molecular Plant*, 3(6), 956-972.
- Vargas, M., Albors, A., Chiralt, A., & Gonzalez-Martinez, C. (2006). Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 164-71.
- Veltman, R. H., Kho, R. M., Van Schaik, A. C. R., Sanders, M. G., & Oosterhaven, J. (2000). Ascorbic acid and tissue browning in pears (*Pyrus communis* L. cvs Rocha and Conference) under controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 19(2), 129-137.
- Wang, L., Jin, P., Wang, J., Gong, H., Zhang, S., & Zheng, Y. (2015). Hot air treatment induces resistance against blue mold decay caused by *penicillium expansum* in sweet cherry (*prunus cerasus* L.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 189, 74-80.
- Wang, M., Li, C., Liu, J., Zhang, S., Guo, Y., Jin, Y., & Ge, Y. (2023). Phenylalanine maintains the postharvest quality of ‘Jinfeng’ pear fruit by modulating the tricarboxylic acid cycle and chlorophyll catabolism. *Postharvest Biology and Technology*, 204, 112479.
- Wang, Y.Q., Luo, W.H., & Zhao, Y.J. (2013). Effect of epibrassinosteroids on growth and fruit quality of watermelon. *Zhiwu Shenglix Tonglixun*, 30: 423-425.
- Wilhite, S.E., Elden, T.C., Brzin, J., & Smigocki, A.C. (2000). Inhibition of cysteine and aspartyl proteinases in the alfalfa weevil midgut with biochemical and plant-derived proteinase inhibitors. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30, 1181-1188.

Zhang, S., Lin, H., Lin, Y., Lin, Y., Hung, Y.C., & Chen, Y. (2017). Energy status regulates disease development and respiratory metabolism of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. and Maubl.-infected longan fruit. *Food Chemistry*, 231, 238-246.

Zhao, P., Deng, S., Ding, Y., & Lyu, F. (2015). Optimization of additive combination based on L-Cysteine for inhibition of nonenzymatic browning in cooked rice during storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39,488-494.

## **The Effect of Different Concentrations of Phenylalanine on Some Physiological and Biochemical Characteristics of "Dargazy" Pears During the Storage Period.**

### **ABSTRACT**

The storage life of pears is very important due to their sensitivity to damage during transportation, moisture loss and perishability. Therefore, in the current study, the effect of phenylalanine amino acid in different concentrations on the post-harvest life and fruit quality of pear variety "Dargazi" during the storage period in cold storage with a temperature of  $0 \pm 1^\circ\text{C}$  and a relative humidity of 90-95% was investigated. This experiment was done factorially based on a completely random design with 2 factors, the first factor of amino acid phenylalanine (3 and 6 mM) and the second factor of sampling time (30, 60 and 90 days) and with three repetitions. Traits such as fruit firmness, weight loss, titratable acidity (TA), fruit juice pH, ascorbic acid content, total solids content (TSS), phenol, total flavonoids, lipid peroxidase, ion leakage, ascorbate peroxidase enzyme activity, Phenylalanine ammonialyase, glutathione reductase, polyphenol oxidase were measured. The results of this research showed that 6 mM phenylalanine amino acid treatment worked better than other treatments and maintained the quality of "Dargazy" pear fruit during cold storage. As a result of the application of the above treatment, the degree of stiffness increased by 14.5% compared to the control treatment. Also, as a result of the application of 6 mM phenylalanine amino acid, the level of malondialdehyde (69.8%) and ion leakage (16.6%) showed a decrease compared to the control. In addition, the results of this research showed that 6 mM phenylalanine amino acid treatment led to a significant increase in the activity of ascorbate peroxidase (23.09%), glutathione reductase (37.74%) and phenylalanine ammonialyase (30.35%) compared to the control. In total, these findings show that the mentioned treatments during cold storage were effective to some extent in increasing the antioxidant content and enzyme activities and were able to inhibit free radicals and reduce the level of membrane lipid peroxidation. 69.8 percent of damage caused during storage is minimized and the defense system of the fruit is kept active.

**Keywords:** total antioxidant activity, amino acid, membrane lipid peroxidation, storage, pear fruit

**Introduction:** Pear fruit is very important because of its good taste, attractive appearance and high antioxidant capacity. Mechanical injuries during moving and before storage of fruits are very common and cause irreversible changes in shape, external damage and loss of fruit texture. The storage life of pears is very important due to their sensitivity to damage during transportation, moisture loss and perishability. A wide range of compounds have been studied by many researchers over the past years and by inhibiting ripening or aging, they increased the life of garden products after harvesting. However, although such compounds are generally effective in the laboratory environment, few of them have been used commercially due to safety and regulatory issues. Examples of these compounds are: amino acids, which can be mentioned as phenylalanine.

**Materials and methods:** In the present study, the effect of phenylalanine amino acid in different concentrations on the post-harvest life and fruit quality of pear variety "Dargazi" during the storage period in cold storage with a temperature of  $0 \pm 1^\circ\text{C}$  and a relative humidity of 90-95 the percentage was checked. This experiment was done factorially based on a completely random design with 2 factors, the first factor of amino acid phenylalanine (3 and 6 mM) and the second factor of storage time (30, 60 and 90 days) and with three repetitions. Traits such as fruit firmness, weight loss, titratable acidity (TA), fruit juice pH, ascorbic acid content, total solids content (TSS), phenol, total flavonoids, lipid peroxidase, ion leakage, ascorbate peroxidase enzyme activity, Phenylalanine ammonialyase, glutathione reductase, polyphenol oxidase were measured.

**Results:** The results of this research showed that the 6 mM phenylalanine amino acid treatment worked better than other treatments and maintained the quality of "Dargazy" pear fruit during cold storage. As a result of the application of the above treatment, the degree of stiffness increased by 14.5% compared to the control treatment. Also, as a result of the application of 6 mM phenylalanine amino acid, the level of malondialdehyde (69.8%) and ion leakage (16.6%) showed a decrease compared to the control. In addition, the results of this research showed that 6 mM phenylalanine amino acid treatment led to a significant increase in the activity of ascorbate peroxidase (23.09 %), glutathione reductase (37.74 %), and phenylalanine ammonialyase (35.35 %). 30 % compared to the control. In total, these findings show that the mentioned treatments during cold storage were effective to some extent in increasing the antioxidant content and enzyme activities and were able to inhibit free radicals and reduce the level of membrane lipid peroxidation. 69.8 % of damage caused during storage is minimized and the defense system of the fruit is kept active.

**conclusion:** According to the results obtained from the study, the treatment of pear fruit with the amino acid phenylalanine was found to be suitable for increasing the storage life of pears because the treatment used reduced the damage caused by cold, lipid peroxidation and ion leakage. Also, the activity of antioxidants such as phenolic compounds, flavonoids and the activity of antioxidant enzymes increased. In general, 6 mM phenylalanine amino acid treatment was more effective than other treatments.

فصل استادی  
نشان