

## تغییر خواص کیفی میوه‌ی سیب رقم رد دلشیز در پاسخ به کاربرد پس از برداشت اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک

### Changes in Quality of Apple Fruit (cv. Red Delicious) in Response to Postharvest Salicylic acid and Nitric Oxide Treatments

محمد رضا اصغری<sup>۱</sup>، هاجر غفاری بکتاش<sup>۲\*</sup> و علیرضا فرخزاد<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۹/۰۶

#### چکیده

تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک در غلظت‌های مختلف بر خواص کیفی میوه‌های سیب رقم دلشیز بررسی شد. میوه‌ها با سدیم نیتروپروساید (ماده آزادکننده اکسید نیتریک) در غلظت‌های (صفر، ۳، ۵ و ۷ میکرومولار) و اسید سالیسیلیک در غلظت‌های (صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار) و ترکیب‌های مختلف آنها تیمار شدند و در دمای ۱-۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵-۸۵٪ و به مدت ۲ و ۵ ماه نگهداری شدند. صفاتی چون ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت آنزیم کاتالاز، محتوای فنل کل، pH، اسیدیته، مواد جامد محلول و شاخص بازارپسندی کل اندازه‌گیری شدند. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌های تیمار شده در مقایسه با میوه‌های شاهد بالاتر بود، بالاترین میزان آنتی‌اکسیدان کل مربوط به تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک ۲ میلی‌مولار و اکسید نیتریک ۷ میکرومولار بود. در همه تیمارها میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتر از شاهد بود. بالاترین میزان فنل کل مربوط به تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار و اکسید نیتریک ۳ میکرومولار بود. همه تیمارها از افزایش pH جلوگیری کردند. بالاترین میزان اسیدیته مربوط به تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مولار و اکسید نیتریک ۷ میکرومولار بود. مواد جامد محلول با گذشت زمان افزایش یافت و تیمارهای اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک از افزایش مواد جامد محلول جلوگیری کردند. تیمارها و اثرات متقابل آنها تأثیر معنی‌داری بر وضعیت ظاهری و بازارپسندی میوه‌ها داشتند، بیش‌ترین درصد بازارپسندی مربوط به تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک ۲ میلی‌مولار و اکسید نیتریک ۳ میکرومولار می‌باشد. کاربرد تیمارهای اکسید نیتریک و اسید سالیسیلیک می‌تواند جایگزین مناسبی برای مواد شیمیایی در تکنولوژی پس از برداشت سیب باشند.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، ماندگاری، فنل کل، کاتالاز

۱، ۲ و ۳. به ترتیب دانشیار، دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد و استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

Email: hajarghafari24@yahoo.com

\*: نویسنده مسئول

## مقدمه

متأسفانه هر سال بخش زیادی از میوه‌ها و سبزی‌های تولید شده به شکل ضایعات از بین می‌روند که این امر باعث کاهش دسترسی اقشار مختلف به مواد غذایی به‌ویژه میوه‌ها و افزایش هزینه‌های تولید می‌گردد. یکی از مؤثرترین راه‌ها برای کنترل ضایعات استفاده از مواد شیمیایی است که این مواد علی‌رغم تأثیر مثبت در کنترل ضایعات مضرات زیادی برای سلامتی انسان و محیط‌زیست دارند و امروزه با توجه به مضرات استفاده از سموم شیمیایی برای انسان و محیط‌زیست رویکردهای جدید در استفاده از موادی که اثرات سوء و زیان‌آوری در انسان و محیط به همراه نداشته باشند حائز اهمیت می‌باشد. مکانیسم جلوگیری از پوسیدگی توسط تیمارهای غیرشیمیایی از طریق بازدارندگی مستقیم از رشد قارچ و یا افزایش مقاومت میزبان است (کادیر و هاشیناگا<sup>۱</sup>، 2001). امروزه سالم بودن مواد غذایی بعنوان اولین شاخص مهم در ارزیابی آنها مورد توجه قرار می‌گیرد، به‌طوری‌که محصولات تولید شده باید فاقد عوامل بیماری‌زا و علائم بیماری و آفت باشند. همچنین وجود هرگونه باقی‌مانده شیمیایی در آنها قابل‌قبول نیست و استفاده از ترکیبات شیمیایی مضر برای طبیعت و سلامتی انسان با علامت سؤال جدی روبه‌روست. از این‌رو تولید محصولات ارگانیک باغبانی باید در اولویت کار تولیدکنندگان قرار بگیرد و در تکنولوژی پس از برداشت نیز از مواد شیمیایی مضر برای سلامتی انسان استفاده نشود (کادر<sup>۲</sup>، 2003). از این‌رو یکی از زمینه‌های مهم کشاورزی و باغبانی ارگانیک که توجه زیادی را به خود جلب کرده است استفاده از ترکیبات طبیعی و سازگار با گیاه، طبیعت و انسان در تولید و نگهداری محصول است که به این ترتیب نه تنها محصول بدون استفاده از مواد شیمیایی خطرناک و مضر تولید می‌شود، بلکه دارای ارزش غذایی و دارویی بالاتری خواهد بود (صغری، ۱۳۸۵).

اخیراً توجه زیادی به نقش میوه‌ها و سبزیجات در سلامت انسان و جلوگیری از بیماری‌ها شده است. ویژگی حفاظتی میوه‌ها به ویژگی فنل‌هایی مثل اسید گالیک، اسید کلروژنیک و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها وابسته است (خانداکر<sup>۳</sup> و همکاران، 2011). تولید گونه‌های فعال اکسیژن مثل رادیکال‌های سوپر اکسید، هیدروژن پراکسید، پراکسیل، آکوآکسیل و رادیکال‌های هیدروکسیل باعث آسیب اکسیداتیو به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و نوکلئوتیک اسیدها می‌شود (دورنر<sup>۴</sup> و همکاران،

1998). آنتی‌اکسیدان‌ها با حذف رادیکال‌های آزاد باعث کاهش بیماری‌هایی مثل درد مفاصل، سرطان، بیماری‌های قلبی و کند ذهنی می‌شوند (آشچریو<sup>۵</sup> و همکاران، 1992). ترکیبات فنلی و آسکوربیک اسید که بیش‌ترین مقدار آنتی‌اکسیدان‌ها را در سیب شامل می‌شوند باعث حفاظت لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئوتیک اسیدها در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (سیلو<sup>۶</sup> و همکاران، 2008). آنتی‌اکسیدان‌ها علاوه‌بر این‌که در سلامت انسان اثر می‌گذارند در کیفیت میوه‌ها هم اثر دارند، در حقیقت آنتی‌اکسیدان‌ها به‌وسیله‌ی سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن میوه‌ها را از ناهنجاری‌ها محافظت می‌کنند (سیلو<sup>۷</sup> و همکاران، 2008). گزارش شده که آنتی‌اکسیدان‌های سیب به‌صورت غیرمستقیم از تکثیر سلول‌ها و ایجاد تومور به‌وسیله‌ی تولید هیدروژن پراکسید جلوگیری می‌کنند (بویر و لیو<sup>۸</sup>، 2004). غلظت ترکیبات فنلی مثل آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سیب بسته به رقم، مرحله‌ی بلوغ، شرایط محیطی و قسمت‌های مختلف میوه فرق می‌کند. رنگ قرمز ارقام سیب و قرمزی پوست آن مربوط به آنتوسیانین سیانیدین ۳- گالاکتوساید است که نسبت به دیگر آنتوسیانین‌ها دارای بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی است (وایر<sup>۹</sup> و همکاران، 2009).

اکسید نیتریک یک مولکول هشداردهنده مهم و بسیار واکنش‌پذیر با عمر کوتاه است که توسط گروهی از آنزیم‌های شناخته شده بنام اکسید نیتریک سنتتاز تولید می‌شود که L- آرژنین را به L- سیترولین و اکسید نیتریک تبدیل می‌کنند (سمیموف<sup>۱۰</sup>، 1995). اکسید نیتریک به‌عنوان یک عامل ضدپیری است و اثر مثبتی در پاسخ به استرس اکسیداتیو مربوط به پیری میوه‌ها دارد (هانگ و کائو<sup>۱۱</sup>، 2004). وظایف دوگانه‌ی اکسید نیتریک به‌عنوان یک اکسیدکننده‌ی قوی یا اثرات آنتی‌اکسیدان به غلظت و موقعیت آن وابسته است (کائو<sup>۱۱</sup> و همکاران، 2006). در سیستم‌هایی که سمیت رادیکال‌های آزاد ایجاد شده است، اکسید نیتریک می‌تواند رادیکال‌های آزاد را خنثی کند و از آسیب جلوگیری کند (مادرید و اجا<sup>۱۲</sup>، 2008). اکسید نیتریک به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم، نسخه‌برداری از ژن‌های خاص که در رسیدن و پیری دخالت می‌کنند را نیز تعدیل می‌کند (سیلو<sup>۷</sup> و همکاران،

5. Ascherio
6. Silva
7. Boyer and Liu
8. Vieira
9. Smimoff
10. Hung and Kao
11. Cao
12. Madrid and Egea

1. Qadir and Hashinaga
2. Kader
3. Khandaker
4. Durner

### مواد و روش‌ها

میوه‌های سیب رقم رد دلشیز با رنگ و اندازه یکسان در مرحله بلوغ تجاری و هنگامی که میزان مواد جامد محلول حدود ۱۱ درجه بریکس بود و به اندازه کامل خود رسیده بودند و براساس رنگ زمینه میوه‌ها از یکی از باغات نازلو در ارومیه برداشت شدند. میوه‌های دارای شکل غیرطبیعی و عوارض فیزیکی حذف شده و میوه‌های سالم و یکنواخت انتخاب شده و جهت انجام تیمارها و آزمایشات بعدی به آزمایشگاه گروه باغبانی دانشگاه ارومیه انتقال داده شدند و در آزمایشگاه تحت تیمارهای مختلف سدیم نیتروپروساید (ماده آزادکننده نیتریک اکسید) و اسید سالیسیلیک و ترکیب‌های مختلف این تیمارها قرار گرفتند. فاکتورهای آزمایش شامل؛ غلظت‌های اسید سالیسیلیک، غلظت‌های اسید نیتریک و دو زمان بررسی بود. فاکتور اسید سالیسیلیک در ۳ سطح شامل (صفر، ۱ و ۲ میلی‌مول بر لیتر) و فاکتور اسید نیتریک در ۴ سطح شامل صفر، ۳، ۵ و ۷ میکرومول بر لیتر به کار رفتند. اسید سالیسیلیک لازم را پس از توزین در آب حل و به دلیل حل شدن سخت اسید سالیسیلیک، دمای محلول به ۴۸ درجه سانتی‌گراد رسانده شد و پس از خنک شدن محلول در دمای اتاق، غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار آماده شد. سپس میوه‌ها به مدت ۲ دقیقه در داخل محلول اسید سالیسیلیک غوطه‌ور گردیدند. به منظور تهیه محلول‌های ۳، ۵ و ۷ میکرومولار سدیم نیتروپروساید با وزن مولکولی ۲۹۸ گرم بر مول، بعد از توزین مقدار مورد نیاز برای هر محلول حجم آنها با آب مقطر به ۱ لیتر رسیده و محلول‌ها در زمان تیمار میوه‌ها تهیه شدند. سپس میوه‌ها به مدت ۲ دقیقه با غلظت‌های مختلف اسید نیتریک تیمار شدند. برای تهیه محلول حاوی نیتریک اکسید و اسید سالیسیلیک غلظت‌های مورد نیاز را به نسبت مساوی با هم حل کردیم و میوه‌های شاهد با آب مقطر تیمار شدند. بعد از خشک شدن، میوه‌ها به ظروف پلاستیکی منتقل و به سردخانه دمای ۰-۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵-۹۵٪ منتقل شدند. اسیدیته، فعالیت آنزیم کاتالاز، محتوای فنل کل، مواد جامد محلول، pH، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و بازاریپسندی پس از ۲ و ۵ ماه نگهداری در سردخانه مورد بررسی قرار گرفتند.

### اندازه‌گیری محتوای آنتی‌اکسیدان کل

برای تعیین میزان آنتی‌اکسیدان کل براساس احیاء آهن<sup>۸</sup> استفاده شد. به منظور تهیه محلول استوک ۳/۱ گرم استات

۲۰۰۸). واکنش گیاهان به تنش‌های زنده و غیرزنده از طریق مکانیسم‌های دفاعی پیچیده صورت می‌گیرد. از جمله این مکانیسم‌ها مسیر نیتریک اکسید است که برای توسعه مقاومت در برابر حمله پاتوژن‌ها ضروری می‌باشد. بسیاری از پاسخ‌های دفاعی به وسیله نیتریک اکسید تحریک می‌شوند و سطوح این رادیکال آزاد به دنبال حمله پاتوژن‌ها، افزایش پیدا می‌کند (بنزی و استرین<sup>۱</sup>، ۱۹۹۶). اسید نیتریک به عنوان خنثی‌کننده فعالیت سمی میکروارگانیسم‌ها هم عمل می‌کند و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان با لیپید پراکسیداز واکنش می‌دهد (ثورنهام<sup>۲</sup>، ۱۹۹۰). اسید نیتریک می‌تواند باعث بیان ژن‌های فنیل آلانین آمونیا لیز شود، فنیل آلانین آمونیا لیز یک آنزیم کلیدی در مسیر سنتزی فنیل پروپانوئیدی است و در سنتز اسید سالیسیلیک درگیر است (دورنر و همکاران، ۱۹۹۸).

اسید سالیسیلیک جزء گروهی از فنل‌های گیاهی است که به طور وسیعی در گیاهان توزیع می‌شود و امروزه به عنوان یک ماده‌ی شبه هورمونی شناخته می‌شود و نقش مهمی در رشد و توسعه گیاهان بازی می‌کند (سریواستاوا و دیویودی<sup>۳</sup>، ۲۰۰۰). ثابت شده است که اسید سالیسیلیک از فعالیت آنزیم لیبوکسیژناز در قاش‌های تازه بریده‌ی<sup>۴</sup> میوه سیب جلوگیری می‌کند که در نتیجه آن تولید رادیکال‌های آزاد و بیوسنتز اتیلن کاهش می‌یابد (هان<sup>۵</sup> و همکاران، ۲۰۰۳). اسید سالیسیلیک باعث بیان ژن‌های فرعی<sup>۶</sup> در تنفس می‌شود و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد. کاربرد اسید سالیسیلیک در میوه‌ی گیلاس سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تحریک می‌کند و باعث بیان ژن‌های فنیل آلانین آمونیا لیز می‌شود و پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش می‌دهد و هم‌چنین باعث بیان ژن‌های پروتئین‌های شوک گرمایی می‌شود و مقاومت به سرما را افزایش می‌دهد (صغری و سلیمانی‌قدم<sup>۷</sup>، ۲۰۱۰). بیش از ۴۰ درصد محصول برداشت شده به صورت ضایعات از دست می‌رود، در چند سال قبل از سموم شیمیایی برای کاهش ضایعات استفاده می‌شد که سلامت انسان را به خطر می‌انداخت. در این تحقیق اثر تیمارهای مختلف اسید نیتریک و اسید سالیسیلیک به عنوان ترکیبات سالم، در افزایش ماندگاری و حفظ خواص کیفی میوه سیب رقم رد دلشیز مورد بررسی قرار گرفت.

1. Benzie and Strain
2. Thurnham
3. Srivastava and Dwivedi
4. Fresh Cut
5. Han
6. Alternative Respiratory Pathway
7. Asghari and Soleimaniagdam

به آن اضافه شد، به دنبال آن ۵ میلی لیتر واکنشگر فولین سیوکالتو با مخلوط مورد نظر مخلوط گردید و به مدت ۳ تا ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد سپس ۱۵ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد به آن اضافه شد و با آب به حجم ۱۰۰ میلی لیتری رسانده شد و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. چهار میلی لیتر محلول تهیه شده در دستگاه اسپکتروفتومتر (Pharmacia LKB. Novaspec II) با طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید و میزان فنل از معادله ی به دست آمده از منحنی استاندارد تعیین شد ( $y = 0.0478x + 0.0284$ ,  $r^2 = 0.9967$ ) و به صورت معادل اسید گالیک بیان شد (ویلز<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۰).

#### اندازه گیری pH آب میوه

pH آب میوه با دستگاه pH متر دیجیتالی مدل (pH-Meter CG 824) کالیبره شده با بافرهای ۴ و ۷ اندازه گیری شد (جلیلی مرندی، ۱۳۸۳).

#### اندازه گیری مواد جامد محلول و اسیدهای آلی

مواد جامد محلول با استفاده از دستگاه رفاکتومتر دستی مدل (Atago Manual) در دمای اتاق برحسب درجه بریکس قرائت گردید. برای اندازه گیری اسیدیته قابل تیتراسیون میوه از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال استفاده شد و اسیدیته قابل تیتراسیون برحسب گرم در ۱۰۰ میلی لیتر اسید مالیک بیان شد برای این منظور ۱۰ میلی لیتر آب میوه با ۲۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و سپس تیتر شد (آیالا زاولا<sup>۳</sup>، ۲۰۰۷).

#### وضعیت ظاهری و بازاری پسنده میوه

برای ارزیابی شاخص بازاری پسنده میوه ها از روش نمره دهی استفاده شد. میوه ها در ۵ دسته طبقه بندی شده و نمرات ۱ تا ۵ به آن ها اختصاص داده شد: ۱. غیر قابل فروش، ۲. ضعیف، ۳. قابل قبول، ۴. خوب و ۵. عالی (آیالا زاولا<sup>۳</sup>، ۲۰۰۷).

#### تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تکرار و در هر تکرار ۵ میوه انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل؛ غلظت های اسید سالیسیلیک، غلظت های اکسید نیتریک و دو زمان بررسی بود. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از

سدیم و ۱۶ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال در یک لیتر آب مقطر حل شد و pH محلول در حدود ۳/۶ تنظیم شد سپس ۳۱ میلی گرم تری پریدیدیل-اس-تریازین<sup>۱</sup> در ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۴۰ میلی مولار حل شد و به منظور تهیه محلول ۲۰ میلی مولار کلرید آهن، ۵/۴۱ گرم کلرید آهن در یک لیتر آب مقطر حل شد. به منظور تهیه محلول استاندارد از سولفات آهن استفاده شد که ۰/۲۷۸ گرم سولفات آهن در یک لیتر آب مقطر حل شد و در نهایت محلول های استاندارد ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار تهیه شد. محلول نهایی با مخلوط کردن ۲۵ میلی لیتر بافر، ۲/۵ میلی لیتر تری پریدیدیل-اس-تریازین و ۲/۵ میلی لیتر کلرید آهن آماده شد سپس ۲۵۰ میکرولیتر از محلول کار داخل ظروف پلت ریخته شد و به آن ۱۰ میکرولیتر از عصاره میوه اضافه شد سپس نمونه ها داخل دستگاه اسپکتروفتومتر (Pharmacia LKB. Novaspec II) قرار داده شدند و در طول موج ۵۹۳ نانومتر میزان جذب خوانده شد و با رسم منحنی استاندارد میزان آنتی اکسیدان کل بر حسب معادل آهن به دست آمد و بر حسب معادل میلی مول آهن در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان می شود (بنزی و/استرین، ۱۹۹۶).

#### اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز با اندازه گیری سرعت حذف پراکسید هیدروژن صورت پذیرفت. در ابتدا پس از گرفتن آب میوه ۰/۵ میلی لیتر آب میوه داخل میکروتیوب ریخته شد و سپس ۱/۵ میلی لیتر بافر فسفات به آن اضافه شد و مخلوط فوق در دستگاه سانتیفریوژ قابل تنظیم در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتیفریوژ گردید. بعد از انجام عمل سانتیفریوژ ۵۰ میکرولیتر از قسمت عصاره شفاف جدا و مجدداً ۲/۵ میکرولیتر بافر فسفات به آن اضافه شد و در داخل دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد و بعد از چند ثانیه ۲۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن نیز اضافه نموده و دوباره داخل دستگاه قرار داده شد و کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در طول مدت ۳ دقیقه اندازه گیری شد (اسچریو و همکاران، ۱۹۹۲).

#### اندازه گیری محتوای فنل کل

فنل کل توسط معرف فولین سیوکالتو اندازه گیری شد. ابتدا آب میوه سیب به نسبت یک به ده با آب مقطر رقیق و از کاغذ صافی عبور داده شد و سپس مورد استفاده قرار گرفت. یک میلی لیتر آب میوه سیب و مقادیر مختلف استاندارد اسید گالیک در بشر ۱۰۰ میلی لیتری ریخته شد و ۷۰ میلی لیتر آب

2. Wills  
3. Ayala-Zavala

1. Tripyridyl-s-triazine (TPTZ)

آنتی‌اکسیدانی کل میوه معنی‌دار بوده است (جدول ۱). در میوه‌های تیمار شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به شاهد بیشتر بوده است. بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در کاربرد توأم اسید سالیسیلیک با غلظت ۲ میلی‌مول در لیتر با اکسید نیتریک در غلظت ۷ میکرومول در لیتر و نیز کاربرد توأم اسید سالیسیلیک با غلظت ۲ میلی‌مول در لیتر با اکسید نیتریک در غلظت ۵ میکرومول در لیتر مشاهده شد. کم‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل مربوط به شاهد و تیمارهای اکسید نیتریک ۳ میکرومول در لیتر و اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مول در لیتر می‌باشد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های تیمار شده و شاهد با گذشت زمان کاهش یافت و این کاهش در شاهد در مقایسه با میوه‌های تیمار شده بیشتر بود (شکل ۱).

نرم‌افزار SAS و مقایسات میانگین‌ها در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد.

## نتایج

### ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

اثر ساده اسید سالیسیلیک، اکسید نیتریک و زمان نگهداری و همچنین اثرات متقابل اسید سالیسیلیک با اکسید نیتریک و اسید سالیسیلیک با زمان در سطح احتمال ۱ درصد بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل میوه در طول دوره نگهداری معنی‌دار بوده است ولی اثر متقابل اکسید نیتریک با زمان معنی‌دار نبوده است. همچنین اثر متقابل اسید سالیسیلیک، اکسید نیتریک و زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد بر محتوای فعالیت

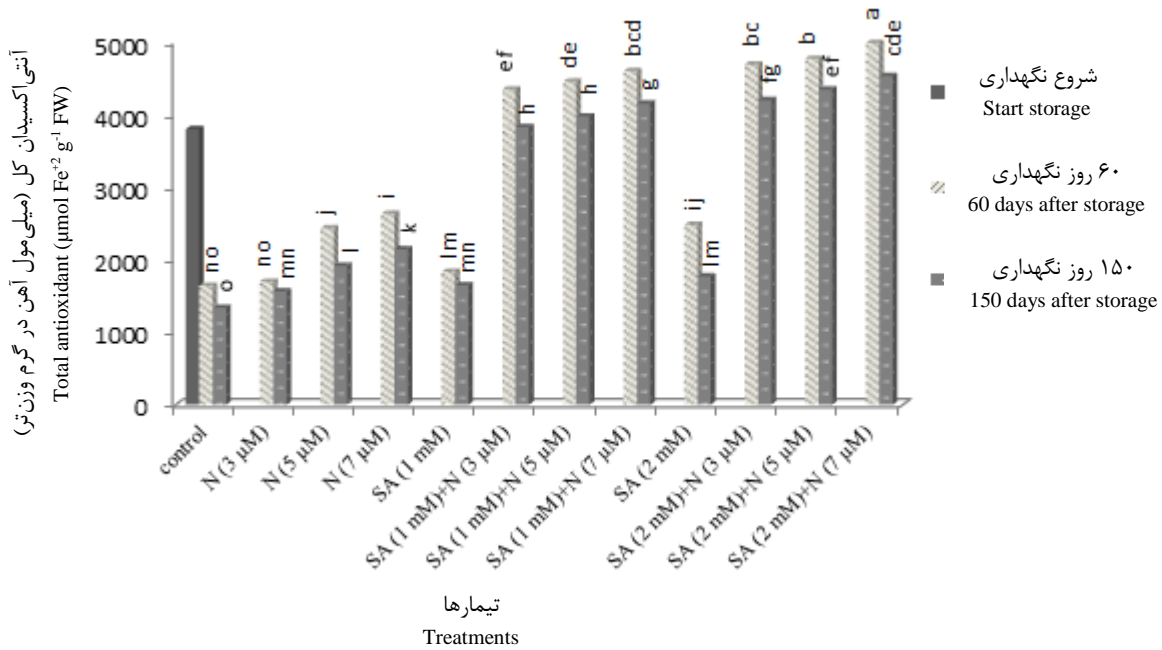
جدول ۱: تجزیه واریانس تأثیر کاربرد اکسید نیتریک، اسید سالیسیلیک و زمان بر صفات اندازه‌گیری‌شده در سیب رقم رد دلشیز

Table 1: ANOVA of the effect of salicylic acid, nitric oxide and time on measured traits in Red Delicious apple cultivar

میانگین مربعات Mean squares							درجه آزادی df	منابع تغییرات Sources of variations
بازارپسندی Markability	اسیدیته کل Total acidity	مواد جامد محلول Total soluble solids	اسیدیته pH	فنل Phenol	کاتالاز Catalase	آنتی‌اکسیدان Antioxidant		
16.5**	0.01**	0.03 <sup>ns</sup>	0.4**	65.6**	672.5**	57529534**	2	سالیسیلیک اسید Salicylic acid
16.1**	0.01**	0.6*	0.4**	45.1**	586**	31825007**	3	اکسید نیتریک Nitric oxide
6.3**	0.003**	78**	7.5**	46.4**	10.4**	6115469**	1	زمان نگهداری Time
5.7**	0.02**	0.1**	0.45**	1.9**	43.8**	3768642**	6	اکسید نیتریک × اسید سالیسیلیک Salicylic acid × Nitric oxide
0.3**	0.001**	0.02 <sup>ns</sup>	0.2*	2.2**	0.5 <sup>ns</sup>	134078**	2	زمان نگهداری × اسید سالیسیلیک Salicylic acid × Time
0.19**	0.0001**	0.6*	0.003 <sup>ns</sup>	0.9 <sup>ns</sup>	0.5 <sup>ns</sup>	40250 <sup>ns</sup>	3	زمان نگهداری × اکسید نیتریک Nitric oxide × Time
0.004 <sup>ns</sup>	0.003 <sup>ns</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	0.0008 <sup>ns</sup>	0.3 <sup>ns</sup>	45 <sup>ns</sup>	11389**	6	زمان × اکسید نیتریک × اسید سالیسیلیک Salicylic acid × Nitric oxide × Time
0.05	0.00004	0.25	0.005	0.57	1.1	23644	120	خطای آزمایش Error
6.3	2.6	4	1.8	7.6	7.1	4.8		ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

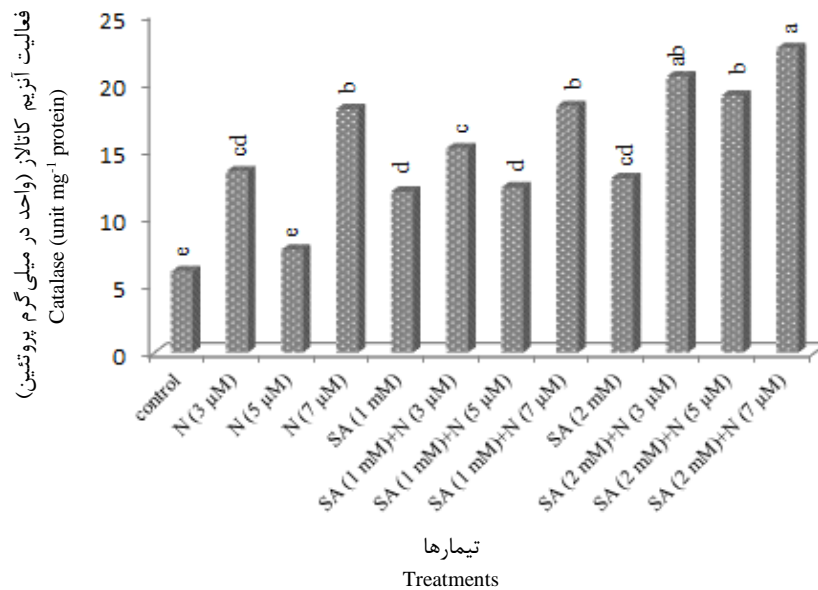
\*\*، \* و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱، ۰/۰۵ و عدم معنی‌دار

\*\*، \* and ns: significant at 0.01, 0.05 and not significant, respectively



شکل ۱: اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک، اکسید نیتریک و زمان بر میزان آنتی‌اکسیدان کل میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد. SA: مخفف تیمار اسید سالیسیلیک، N: مخفف تیمار اکسید نیتریک و M: مخفف مولار می‌باشد

Fig. 1: Interaction effect of different concentration of salicylic acid, nitric oxide and time on fruit total antioxidant in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference at the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test. SA: Salicylic acid, N: Nitric oxide, M: Molar



شکل ۲: اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک بر فعالیت آنزیم کاتالاز میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد

Fig. 2: Interaction effect of different concentration of salicylic acid and nitric oxide on fruit catalase activity in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference at the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test

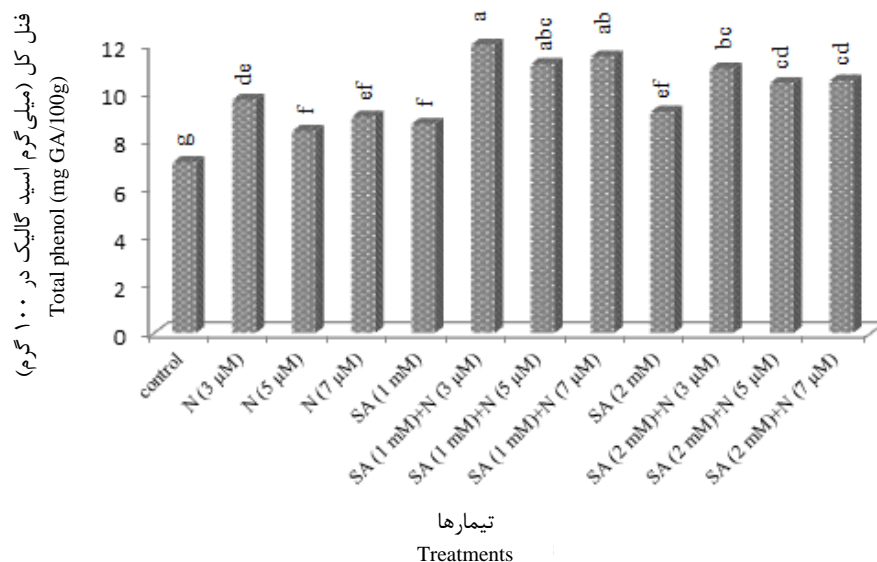
## کاتالاز

نیتریک در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل اسید سالیسیلیک در زمان در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان فنل کل معنی دار بوده است ولی اثرات متقابل اکسید نیتریک با زمان و اسید سالیسیلیک با اکسید نیتریک و زمان نگهداری بر میزان فنل کل معنی دار نبوده است (جدول ۱). همه تیمارهای اعمال شده میزان فنل بالاتری نسبت به شاهد داشتند. بیشترین میزان فنل در تیمار ترکیبی اسیدسالیسیلیک ۱ میلی مولار با اکسید نیتریک ۳ میکرومولار و اسید سالیسیلیک ۱ میلی مول در لیتر با اکسید نیتریک ۷ میکرومولار در لیتر مشاهده شد و این دو تیمار با تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک ۱ میلی مولار با اکسید نیتریک ۵ میکرومولار نیز اختلاف معنی داری ندارد. تیمارهای ترکیبی دارای فنل بیشتری در مقایسه با تیمارهای منفرد غیرترکیبی می باشند. اختلاف معنی داری بین تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک ۲ میلی مولار با اکسید نیتریک ۳ میکرومولار و اسید سالیسیلیک ۲ میلی مولار با اکسید نیتریک ۵ میکرومولار و اسید سالیسیلیک ۲ میلی مولار با اکسید نیتریک ۳ میکرومولار مشاهده نشد (شکل ۳). با گذشت زمان میزان فنل کاهش یافت، اسید سالیسیلیک ۱ میلی مول در لیتر در مقایسه با اسید سالیسیلیک ۲ میلی مول در لیتر و شاهد، فنل کل بالاتری نشان داد (شکل ۴).

اثرات ساده اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک و زمان نگهداری و اثر متقابل اسید سالیسیلیک با اکسید نیتریک در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز معنی دار بوده است. اثرات متقابل اسید سالیسیلیک با زمان، اکسید نیتریک با زمان و هم چنین اسید سالیسیلیک با اکسید نیتریک و زمان بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز معنی دار نبوده است (جدول ۱). کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شاهد و اکسید نیتریک ۵ میکرومول در لیتر مشاهده می گردد. در همه تیمارها میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در کاربرد توأم اسید سالیسیلیک با غلظت ۲ میلی مول در لیتر با اکسید نیتریک در غلظت ۷ میکرومول در لیتر و نیز کاربرد توأم اسید سالیسیلیک با غلظت ۲ میلی مول در لیتر با اکسید نیتریک در غلظت ۳ میکرومول در لیتر مشاهده شد. تفاوت معنی داری از نظر آماری بین تیمارهای ترکیبی اسید سالیسیلیک ۲ میلی مول در لیتر با اکسید نیتریک ۵ میکرومول در لیتر و اسید سالیسیلیک ۱ میلی مول در لیتر با اکسید نیتریک ۷ میکرومول در لیتر مشاهده نشد (شکل ۲).

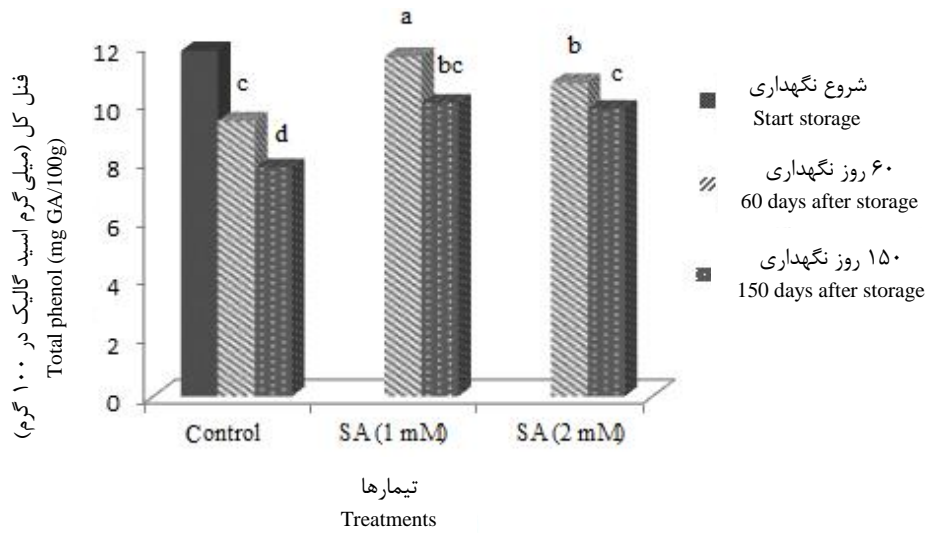
## محتوای فنل کل

اثر ساده اسید سالیسیلیک و نیز اثر ساده اکسید نیتریک و زمان نگهداری و هم چنین اثر متقابل اسید سالیسیلیک با اکسید



شکل ۳: اثر متقابل غلظت های مختلف اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک بر محتوای فنل کل میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ در آزمون دانکن می باشد

Fig. 3: Interaction effect of different concentration of salicylic acid and nitric oxide on fruit total phenolic content in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference at the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test



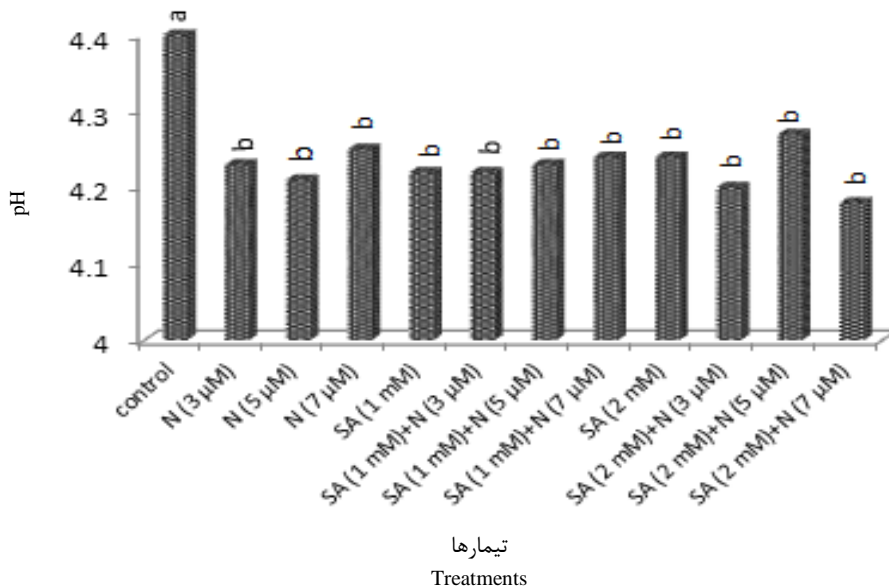
شکل ۴: اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و زمان بر محتوای فنل کل میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد

Fig. 4: Interaction effect of different concentration of salicylic acid and time on fruit total phenolic content in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference at the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test

#### pH آب میوه

زمان نگهداری بر pH معنی‌دار نبوده است (جدول ۱). میزان pH در شاهد بالاتر از میوه‌های تیمار شده با اکسید نیتریک و اسید سالیسیلیک بود و تفاوت معنی‌داری بین میوه‌های تیمار شده نبوده است (شکل ۵). افزایش میزان pH با گذشت در شاهد در مقایسه با غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بیشتر بوده است (شکل ۶).

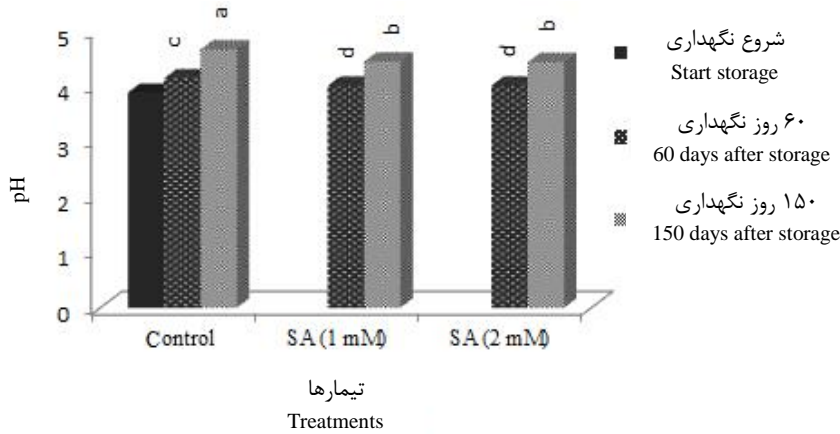
اثر ساده اکسید نیتریک و اسید سالیسیلیک و همچنین اثرات متقابل اکسید نیتریک با اسید سالیسیلیک در سطح احتمال ۱ درصد بر pH معنی‌دار بوده است و اثر متقابل اسید سالیسیلیک با زمان نگهداری در سطح احتمال ۵ درصد بر pH معنی‌دار بوده است. اثر متقابل اکسید نیتریک با زمان نگهداری و همچنین اثرات متقابل اکسید نیتریک و اسید سالیسیلیک و



شکل ۵: اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک بر میزان pH میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد

Fig. 5: Interaction effect of different concentration of salicylic acid and nitric oxide on fruit pH in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference at the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test





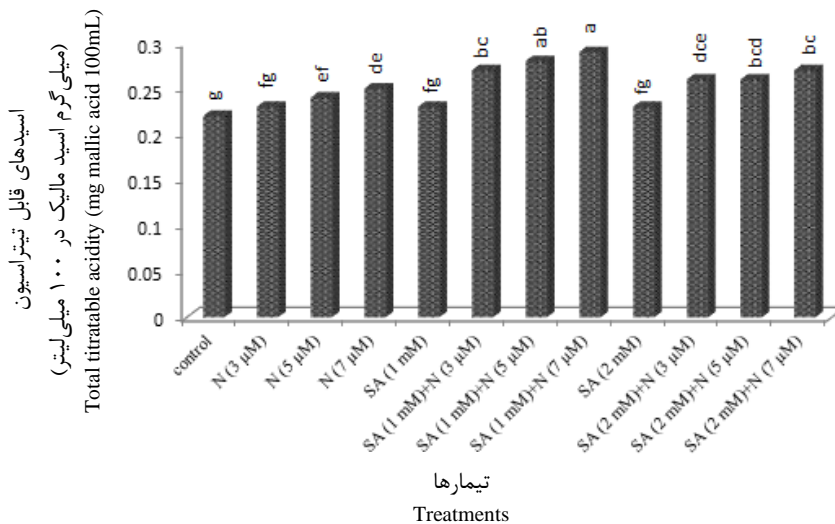
شکل ۶: اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و زمان بر میزان pH میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد

Fig. 6: Interaction effect of different concentration of salicylic acid and time on fruit pH in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference at the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test

و اختلاف معنی‌داری با اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مول در لیتر و اسید سالیسیلیک ۲ میلی‌مول در لیتر نداشته‌اند. تیمار ترکیبی ۱ میلی‌مول در لیتر اسید سالیسیلیک با ۷ میکرومول در لیتر اکسید نیتریک بیش‌ترین مقدار اسید آلی را نشان داد (شکل ۷). اسیدیته میوه با گذشت زمان کاهش یافت. اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مول در لیتر کم‌ترین کاهش را نشان داد (شکل ۸). غلظت ۷ میکرومول در لیتر اسیدیته بالاتری در مقایسه با غلظت‌های دیگر اکسید نیتریک و شاهد نشان داد (شکل ۹).

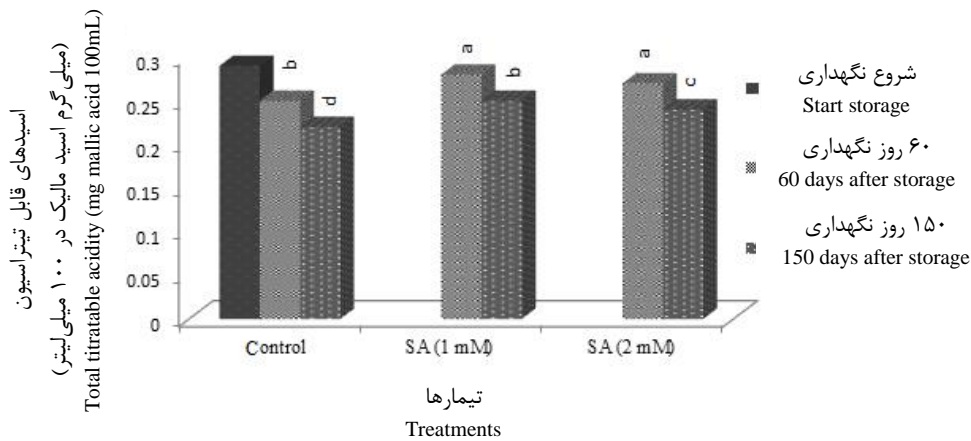
### میزان اسیدهای آلی

اثرات ساده نیتریک اکسید، اسید سالیسیلیک و زمان نگهداری و همچنین اثرات متقابل اکسید نیتریک با اسید سالیسیلیک و اسید سالیسیلیک با زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد بر اسیدیته میوه معنی‌دار بوده است. اثر متقابل اکسید نیتریک و زمان نگهداری در سطح احتمال ۵ درصد بر اسیدیته میوه معنی‌دار بوده است. اثرات متقابل اکسید نیتریک و اسید سالیسیلیک و زمان نگهداری بر اسیدیته میوه معنی‌دار نبوده است (جدول ۱). میوه‌های تیمار شده با ۳ میکرومول در لیتر اکسید نیتریک و شاهد کم‌ترین مقدار اسیدهای آلی را داشته‌اند



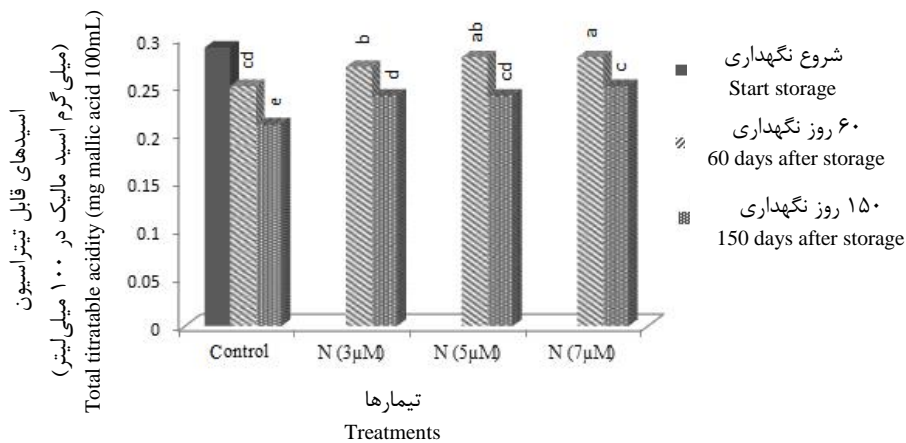
شکل ۷: اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک بر میزان اسیدیته قابل تیتراسیون میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد

Fig. 7: Interaction effect of different concentration of salicylic acid and nitric oxide on fruit TA in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference at the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test



شکل ۸: اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و زمان بر میزان اسیدیته قابل تیتراسیون میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد

Fig. 8: Interaction effect of different concentration of salicylic acid and time on fruit TA in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference of the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test



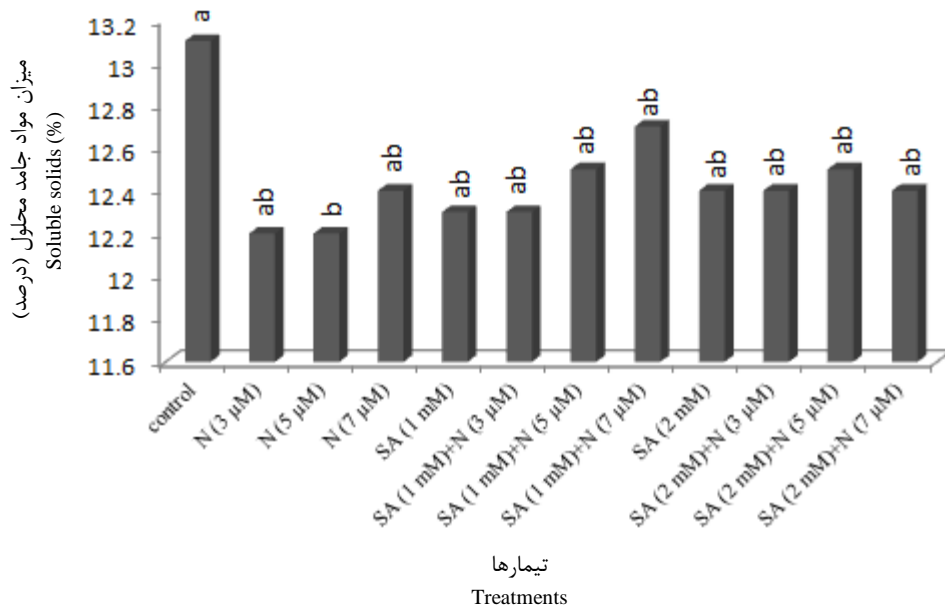
شکل ۹: اثر متقابل غلظت‌های مختلف اکسید نیتریک و زمان بر میزان اسیدیته قابل تیتراسیون میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد

Fig. 9: Interaction effect of different concentration of nitric oxide and time on fruit TA in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference at the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test

جامد محلول در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بوده است (جدول ۱). اکسید نیتریک در غلظت ۵ میکرومول در لیتر باعث کاهش مواد جامد محلول نسبت به شاهد شد و بالاترین مقدار مواد جامد محلول مربوط به شاهد بود (شکل ۱۰). با گذشت زمان مواد جامد محلول افزایش یافت و افزایش مواد جامد محلول در شاهد بیشتر از غلظت‌های مختلف اکسید نیتریک بوده است (شکل ۱۱).

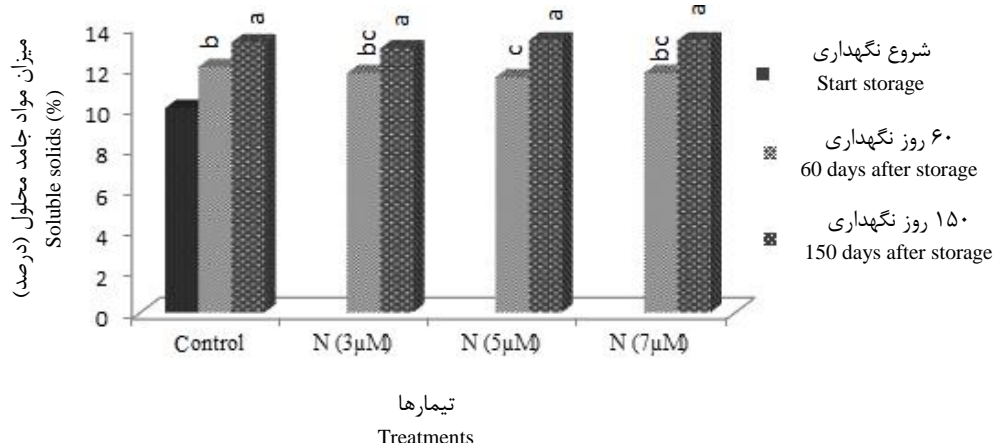
### مواد جامد محلول

اثر زمان نگهداری و اثر متقابل اکسید نیتریک با اسید سالیسیلیک بر میزان مواد جامد محلول در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بوده است ولی اثر ساده اسید سالیسیلیک و اثرات متقابل نیتریک اکسید، اسید سالیسیلیک و زمان نگهداری بر میزان مواد جامد محلول معنی‌دار نبود. اثر ساده اکسید نیتریک و اثر متقابل اکسید نیتریک با زمان نگهداری بر میزان مواد



شکل ۱۰: اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک بر میزان مواد جامد محلول میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد

Fig. 10: Interaction effect of different concentration of salicylic acid and nitric oxide on fruit TSS in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference at the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test



شکل ۱۱: اثر متقابل غلظت‌های مختلف اکسید نیتریک و زمان بر میزان مواد جامد محلول میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد

Fig. 9: Interaction effect of different concentration of nitric oxide and time on fruit TSS in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference at the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test

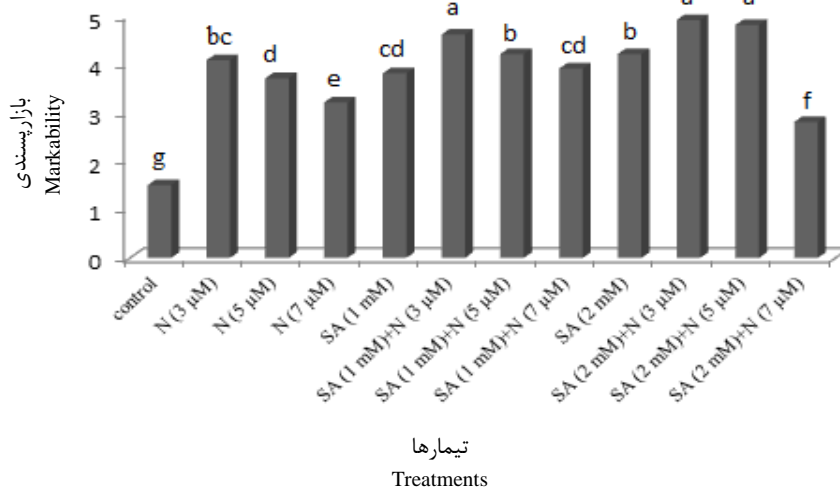
بازارپسندی نسبت به شاهد شدند ولی تیمارهای ترکیبی تأثیری بیشتری بر این صفت داشتند. کاربرد توأم اسید سالیسیلیک با غلظت ۱ میلی‌مول در لیتر با اکسید نیتریک در غلظت ۳ میکرومول در لیتر و نیز کاربرد توأم اسید سالیسیلیک با غلظت ۲ میلی‌مول در لیتر با اکسید نیتریک در غلظت ۳ میکرومول در لیتر بیش‌ترین اثر را در حفظ میزان بازارپسندی میوه‌ها نسبت به شاهد داشت (شکل ۱۲).

## بازارپسندی

اثرات ساده اسید سالیسیلیک و نیتریک اکسید و زمان نگهداری و هم‌چنین اثرات متقابل اسید سالیسیلیک با نیتریک اکسید، اسید سالیسیلیک با زمان نگهداری و نیتریک اکسید با زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد بر وضعیت ظاهری و بازارپسندی معنی‌دار بوده است. اثرات متقابل سه‌گانه اسید سالیسیلیک، نیتریک اکسید و زمان بر وضعیت ظاهری و بازارپسندی معنی‌دار نبوده است (جدول ۱).

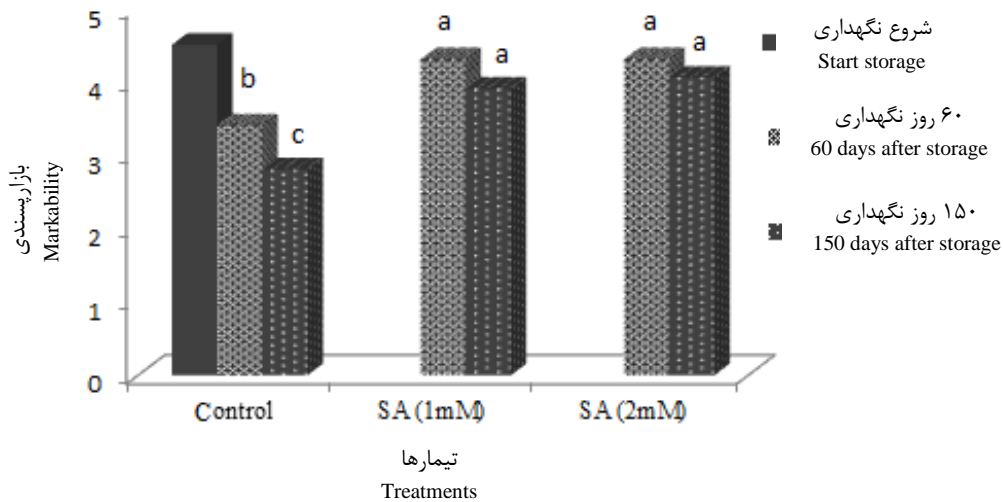
در مقایسه با غلظت‌های دیگر اکسید نیتریک و شاهد نشان داد (شکل ۱۴).

تیمار اسید سالیسیلیک بیش‌ترین بازارپسندی را نشان داد (شکل ۱۳). غلظت ۳ میکرومول در لیتر بازارپسندی بیشتری



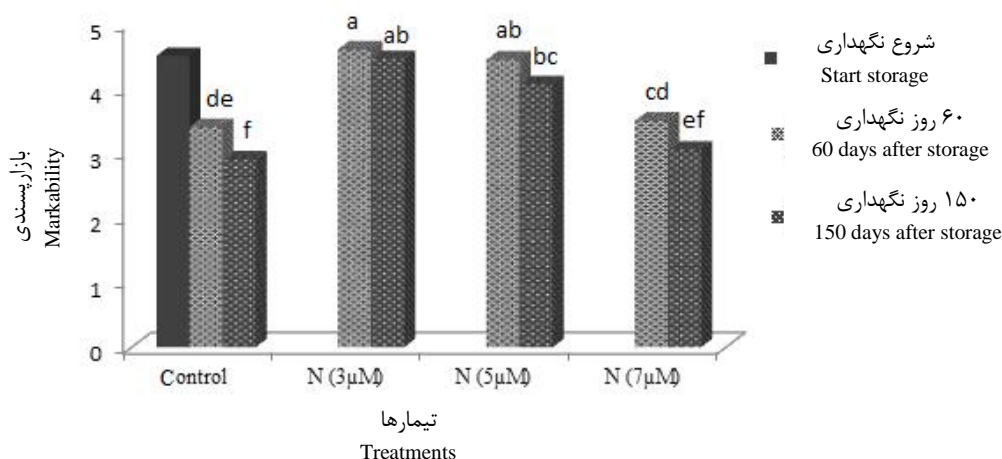
شکل ۱۲: اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک بر بازارپسندی میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد

Fig. 12: Interaction effect of different concentration of salicylic acid and nitric oxide on fruit markability in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference at the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test



شکل ۱۳: اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و زمان بر بازارپسندی میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در آزمون دانکن می‌باشد

Fig. 13: Interaction effect of different concentration of salicylic acid and time on fruit markability in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference at the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test



شکل ۱۴: اثر متقابل غلظت‌های مختلف اکسید نیتریک و زمان بر بازارپسندی میوه سیب رقم رد دلشیز. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰.۰۵ در آزمون دانکن می‌باشد

Fig. 14: Interaction effect of different concentration of nitric oxide and time on fruit markability in Red Delicious apple cultivar. Means having various letters show significant difference at the level 5% based on the Duncan Multiple Range Test

#### بحث

ترمیم سلول‌های آسیب دیده می‌شوند (هاگ<sup>۳</sup>، ۱۹۹۳). سیستم آنتی‌اکسیدانی شامل آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند گلوتاتیون، توکوفرول، فنل‌ها، فلاونوئیدها، کاتکین، آسکوربیک اسید و کاروتنوئیدها می‌باشد (تورنهام، ۱۹۹۰). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در دفاع آنتی‌اکسیدانی در طول پروسه‌های رسیدگی میوه‌ها دارند، فعالیت بالای سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز پروسه‌های پیری را در میوه‌ها به تأخیر می‌اندازد. تیمار میوه‌های هلو با ۱ میلی‌مولار اکسید نیتریک باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز نسبت به میوه‌های شاهد شد (اسباهی<sup>۴</sup> و همکاران، ۲۰۱۲). نیتریک اکسید باعث بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز در کشت سلولی آراییدوپسیس شده است. تیمار میوه‌های گوجه‌فرنگی با نیتریک اکسید باعث بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود و از این طریق باعث تأخیر در پیری میوه‌ها می‌شود و ماندگاری میوه‌ها را افزایش می‌دهد علاوه بر این هم اسید سالیسیلیک و هم نیتریک اکسید در غلظت‌های کم، اثر آنتی‌اکسیدانی دارند و باعث حذف مستقیم رادیکال‌های آزاد هم می‌شوند (دانگ<sup>۵</sup> و همکاران، ۲۰۱۲). ROS در غلظت‌های بالا باعث ایجاد آسیب اکسیداتیو به‌وسیله پراکسیداسیون لیپیدها و تجزیه پروتئین‌ها می‌شود بنابراین باعث مرگ سلولی و پیری می‌شود. در طول پروسه‌های رسیدگی اتیلن و  $O_2^-$  تولید شده و باعث رسیدگی میوه‌ها

تیمار میوه‌ها با اکسید نیتریک و اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به شاهد شد. بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در کاربرد توأم اسید سالیسیلیک با غلظت ۲ میلی‌مول در لیتر با اکسید نیتریک در غلظت ۷ میکرومول در لیتر و نیز کاربرد توأم اسید سالیسیلیک با غلظت ۲ میلی‌مول در لیتر با اکسید نیتریک در غلظت ۵ میکرومول در لیتر مشاهده شد.

ثابت شده است که اکسید نیتریک می‌تواند به‌صورت یک آنتی‌اکسیدان در بافت گیاهی عمل کند. یک تعادل درون سلولی مناسب بین تولید گونه‌های اکسیژن فعال و آنتی‌اکسیدان‌ها در همه‌ی سلول‌ها وجود دارد. از طرفی رادیکال‌های آزاد در طی فرآیندهای متابولیکی تولید می‌شوند و از طرف دیگر این رادیکال‌های آزاد باید توسط آنتی‌اکسیدان‌ها حذف شوند (دورنر و همکاران، ۱۹۹۸). گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند به‌عنوان سیگنال‌ها و پیام‌های ثانویه برای فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی سلول‌ها در مقابل شرایط نامساعد و بیماری‌ها عمل کنند اما تجمع زیاد آن‌ها می‌تواند باعث تورم اکسیداتیو در مولکول‌های زیستی و در نهایت موجب مرگ سلول‌ها شود (شوفا<sup>۱</sup>، ۲۰۰۸). گونه‌های اکسیژن فعال باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌شوند که نتیجه‌اش تخریب غشا است (اسکاند/لوس<sup>۲</sup>، ۱۹۹۳). آنتی‌اکسیدان‌ها آسیب رادیکال‌های آزاد به سلول‌ها را به حداقل می‌رسانند و باعث

3. Hogg  
4. Asbahi  
5. Dong

1. Shuhua  
2. Scandalios

سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تحریک می‌کند و باعث بیان ژن‌های فنیل آلانین آمونیلایز می‌شود و پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش می‌دهد (صغری و سلیمانی/قدم، 2010). فعالیت کاتالاز در میوه‌های گیلان تیمار شده با اسید سالیسیلیک بالاتر از میوه‌های شاهد بود (اسباهی و همکاران، 2012). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های گلایی تیمار شده با اسید سالیسیلیک افزایش یافت (کائو و همکاران، 2006).

ترکیبات فنلی دارای اثرات بیولوژیکی چندگانه‌ای هستند که از جمله این اثرات می‌توان به فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها اشاره کرد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی به دلیل داشتن خصوصیات اکسایش-کاهش آنها می‌باشد (زنک<sup>۴</sup> و همکاران، 2007). گزارش شده که نیتریک اکسید از افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز جلوگیری کرده و می‌تواند با فلزات انتقالی مانند آهن، مس و روی و آنزیم‌های دارای گروه تیول اثر متقابل داشته باشد (صغری و سلیمانی/قدم، 2010).

در این بررسی محتوای فنل کل در میوه‌های تیمار شده با اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک و ترکیبات مختلف آن‌ها بیشتر از میوه‌های شاهد بود. بیش‌ترین میزان فنل در تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مول در لیتر با اکسید نیتریک ۳ میکرومول در لیتر و اسید سالیسیلیک ۱ میلی‌مول در لیتر با اکسید نیتریک ۷ میکرومول در لیتر مشاهده شد. تیمار میوه‌های عناب با ۱۰ و ۲۰ میلی‌لیتر در لیتر محلول نیتریک اکسید فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز را کاهش و محتوای فنل کل را در طول مدت نگهداری افزایش داده است. گونه‌های فعال اکسید نیتروژن به‌واسطه واکنش دادن با ترکیبات فنلی، می‌توانند پیش‌ماده پلی‌فنل‌اکسیداز را کاهش دهند (زو و زویو، 2007). نشان دادند که نیتریک اکسید هم‌چنین از فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز و پراکسیداز جلوگیری کرده و سطوح فنل کل را در طول دوره نگهداری در حد نسبتاً بالایی نگه می‌دارد. سایت فعال PPO شامل دو اتم مس بوده بیان شده است که نیتریک اکسید در غلظت‌های کم می‌تواند با Cu(B) از PPO به فرم کمپلکس مس-نیتروزیل (NO-Cu(B) - PPO) واکنش بدهد که می‌تواند ساختار معمولی سایت فعال PPO را تغییر داده و بنابراین فعالیت PPO را کاهش بدهد (زنک و همکاران، 2007). اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک هر دو فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز و پراکسیداز را کاهش می‌دهند چون اسید سالیسیلیک و اکسید نیتریک هر دو با کاهش تنفس و تولید اتیلن سرعت پیری را کاهش می‌دهند که نتیجه آن کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و حفظ فنل می‌باشد که برای

می‌شوند. در میوه‌های تیمار شده با اسید سالیسیلیک تولید اتیلن،  $O_2^-$  و میزان تنفس به‌وسیله افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد (لای<sup>۱</sup> و همکاران، 2011). کاهش سطوح  $O_2^-$  و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث جلوگیری از آسیب غشا سلولی شده و باعث استحکام بیش‌تر غشا و جلوگیری از اکسید شدن لیپیدها می‌شود. اسید سالیسیلیک با حفظ استحکام غشا باعث تأخیر در پروسه‌های رسیدگی می‌شود (مو<sup>۲</sup> و همکاران، 2008).

فعالیت کاتالاز و میزان آنتی‌اکسیدان کل در طول نگهداری در میوه‌های تیمار شده و شاهد کاهش یافت، همه تیمارها در این تحقیق محتوای آنتی‌اکسیدان بالاتری در مقایسه با شاهد داشتند و در همه تیمارها میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بیش‌تر از شاهد بود. بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای ترکیبی اسید سالیسیلیک ۲ میلی‌مول در لیتر با اکسید نیتریک ۷ میکرومول در لیتر و اسید سالیسیلیک ۲ میلی‌مول در لیتر با اکسید نیتریک ۳ میکرومول در لیتر مشاهده شد. اکسید نیتریک به‌طور مؤثر باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌شود، سطوح ROS را کاهش می‌دهد و از پراکسیداسیون لیپیدها و آسیب به غشای سلول‌ها جلوگیری می‌کند، اکسید نیتریک به‌عنوان یک مولکول سیگنالی باعث فعال شدن آنزیم کاتالاز می‌شود (هانگ و کائو، 2004). اکسید نیتریک اثر مفیدی در تعادل اکسیداسیون و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌های هلو دارد (مادرید و اجا، 2008). و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های برنج نشان داده است (هانگ و کائو، 2004). اکسید نیتریک به‌عنوان خنثی‌کننده‌ی فعالیت سمی میکروارگانسیم‌ها هم عمل می‌کند و به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان با لیپید پراکسیداز واکنش می‌دهد و از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری می‌کند (تورنهام، 1990). اسید سالیسیلیک اثر فیزیولوژیکی مستقیم بر تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دارد و باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و برخی مواد متابولیکی دیگر می‌شود که در حفظ ارزش غذایی میوه‌ها و سبزیجات اهمیت دارند (رنهوا<sup>۳</sup> و همکاران، 2008). سیستم دفاعی گیاهان در مقابل آسیب اکسیداتیو شامل دو گروه‌اند که گروه اول شامل اکسیداز جایگزین و گروه دوم ژن‌های مربوط به تصفیه‌کننده‌های گونه‌های اکسیژن فعال مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، چرخه‌ی آسکوربات - گلوکاتایون است. اسید سالیسیلیک باعث بیان ژن‌های اکسیداز جایگزین می‌شود و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد. کاربرد اسید سالیسیلیک در میوه‌ی گیلان

1. Lai
2. Mo
3. Renhua

4. Zheng
5. Zhu and Zhou

در میوه‌های برداشت شده اسید سالیسیلیک عامل کاهش تنفس و تولید اتیلن می‌باشد که نتیجه‌ی آن کاهش مصرف قندها و حفظ مواد جامد قابل حل می‌باشد. از طرف دیگر با افزایش پتانسیل آنتی‌اکسیدانی محصول از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری می‌کند. اسید سالیسیلیک میزان تنفس را در میوه‌های موز، هلو، سیب کاهش می‌دهد (هان و همکاران، 2003).

مهم‌ترین شاخص بازارپسندی برای محصولات باغی وضع ظاهری محصول می‌باشد و مصرف‌کنندگان اغلب با ارزیابی ظاهری نسبت به انتخاب محصول مناسب اقدام می‌کنند (اصغری، ۱۳۸۵). میوه‌های تیمار شده با نیتریک اکسید در بعد از ۵ ماه نگهداری دارای بیش‌ترین بازارپسندی بودند و که بیش‌ترین درصد بازارپسندی مربوط به تیمار ترکیبی اسید سالیسیلیک ۲ میلی‌مولار و اکسید نیتریک ۳ میکرومولار بود. با توجه به این‌که وضعیت ظاهری محصول مهم‌ترین شاخص ارزیابی بازارپسندی محصول است و وجود هرگونه علائم آلودگی و پوسیدگی و نرم شدن میوه باعث کاهش بازارپسندی محصول می‌شود، بنابراین هر عاملی که سرعت پیری را کاهش بدهد و از رشد علائم پوسیدگی جلوگیری کند باعث حفظ وضعیت ظاهری و بازارپسندی محصول خواهد شد (د/نگ و همکاران، 2012). سطوح بیش از حد رادیکال‌های آزاد می‌تواند منجر به از بین رفتن یکپارچگی غشا و در نهایت باعث راه اندازی پیری شود. از این رو حفظ رادیکال‌های آزاد در حد اپتیمم در سطح سلولی برای حفظ کیفیت میوه‌ها لازم است. شواهد بسیار زیادی مبتنی بر نقش حیاتی اکسید نیتریک در بلوکه کردن مولکول‌های رادیکال‌های آزاد وجود دارد (چن و همکاران، 2006). احتمالاً این یکی از روش‌هایی است که از قهوه‌ای شدن میوه‌های برداشت شده و پیری آن‌ها جلوگیری می‌کند. نیتریک اکسید و اسید سالیسیلیک با جلوگیری از رشد قارچ‌ها و عوامل بیماری‌زا به‌طور موثری سبب حفظ بازارپسندی محصول شد.

#### نتیجه‌گیری نهایی

تیمارهای اکسید نیتریک و اسید سالیسیلیک اثرات مثبتی بر صفات اندازه‌گیری شده داشتند و فرایند رسیدن و پیری را به تأخیر انداختند و در نتیجه منتج به حفظ کیفیت درونی میوه‌ی سیب شدند. استفاده از اکسید نیتریک و اسید سالیسیلیک با جلوگیری از افزایش pH و مواد جامد محلول و نیز با جلوگیری از کاهش میزان اسیدیته قابل تیتراسیون باعث حفظ بازارپسندی و ماندگاری بهتر میوه شدند. همه تیمارهای اعمال شده میزان فنل بالاتری نسبت به شاهد داشتند. در میوه‌های

خنثی کردن رادیکال‌های آزاد ضروری‌اند. هم‌چنین باعث کاهش مصرف اسیدهای آلی شده و در نتیجه pH عصاره‌ی سلولی را در حد پایین نگه می‌دارند که پلی‌فنل‌اکسیدازها در pH پایین غیرفعال بوده و نمی‌توانند فنل‌ها را اکسید نمایند (دورزر و همکاران، 1998).

معمولاً اسیدهای آلی به هنگام رسیدن میوه در اثر تنفس و یا تبدیل به قندها کاهش می‌یابند و کاهش آن‌ها رابطه مستقیم با فعالیت‌های متابولیکی دارد. در واقع اسیدها به‌عنوان یک منبع اندوخته انرژی میوه می‌باشند که در هنگام رسیدن با افزایش سوخت‌وساز مصرف می‌شوند. محتوای اسیدهای آلی طی دوران نگهداری کاهش می‌یابد. این پدیده در میوه‌ها و سبزی‌های دیگر نیز گزارش شده است (چن<sup>۱</sup> و همکاران، 2006).

در این بررسی تیمار ترکیبی ۱ میلی‌مول در لیتر اسید سالیسیلیک و ۷ میکرومول در لیتر اکسید نیتریک بالاترین میزان اسیدهای آلی را نشان دادند. در میوه‌های شاهد میزان تنفس و تولید اتیلن افزایش یافته و در نتیجه منجر به مصرف اسیدهای آلی به‌عنوان سوسترای تنفسی می‌شود و هم‌چنین pH میوه‌های تیمار شده کمتر از شاهد بود. تیمار میوه‌های آلی ژاپنی با نیتریک اکسید به‌طور معنی‌داری کاهش در اسید آلی کل را به تأخیر انداخت. ثابت شده است که اسید سالیسیلیک میزان تنفس را در بافت‌های میوه‌های موز، هلو، کیوی و سیب کاهش داده و از کاهش اسیدهای آلی جلوگیری کرده است (خانداکر و همکاران، 2011). تیمار میوه‌های توت‌فرنگی با اکسید نیتریک به‌دلیل کاهش تولید اتیلن، کاهش تنفس و جلوگیری از پیری میوه‌ها از افزایش مواد جامد محلول و کاهش اسیدیته جلوگیری کرد (آسچریو و همکاران، 1992).

در این آزمایش کاربرد نیتریک اکسید و اسید سالیسیلیک تأثیر معنی‌داری بر میزان مواد جامد محلول داشت. اکسید نیتریک در غلظت ۵ میکرومول در لیتر باعث کاهش مواد جامد محلول نسبت به شاهد شد. به‌طوری‌که میزان مواد جامد محلول میوه‌های شاهد بیشتر از تیمارها بود زیرا در میوه‌های شاهد به‌دلیل پیشرفت فرایند پیری دیواره‌های سلولی هضم شده و به دلیل حل شدن پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی و نیز غشاء سلولی مواد جامد محلول افزایش یافته است درحالی‌که تیمار نیتریک اکسید باعث کاهش فعالیت‌های متابولیکی سلول از جمله تنفس و تولید اتیلن شده و در نتیجه باعث حفظ غشاها و دیواره‌های سلولی می‌گردند که نتیجه آن جلوگیری از افزایش غیرعادی مواد جامد محلول می‌باشد (پیلای<sup>۲</sup> و همکاران، 2010).

تیمار شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد بیشتر بوده است. تیمارهای ترکیبی ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با ۳ میکرومولار اکسید نیتریک و ۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با ۵ میکرومولار اکسید نیتریک نتایج برتری را داشتند که برای استفاده در پس از برداشت سیب توصیه می‌شوند.

## منابع

- اصغری، م. ۱۳۸۶. تعیین اثر اسید سالیسیلیک بر محتوای آنتی‌اکسیدان کل، تولید اتیلن و برخی خواص کمی و کیفی میوه توت‌فرنگی رقم سلوا. رساله دکتری، دانشگاه تهران، ۱۷۰ صفحه.
- جلیلی‌مردی، ر. ۱۳۸۳. فیزیولوژی بعد از برداشت (جابجایی و نگهداری میوه، سبزی و گیاهان زینتی). انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه، ۲۷۶ صفحه.
- Asbahi, S., Mostofi, Y., Boojari, M. M. A. and Khalighi, A. 2012. Effect of nitric oxide on ethylene biosynthesis and antioxidant enzymes on Iranian peach (*Prunus persica* cv. Anjiri). *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 10: 125-129.
- Ascherio, A., Rimm, E. B., Giovannucci, E. L., Colditz, G. A., Rosner, B., Willett, W. C., Sacks, F. and Stampfer, M. J. 1992. A prospective study of nutritional factors and hypertension among US men. *Circulation Research Journal*, 86: 1475-1484.
- Ashgari, M. R. and Soleimaniagdam, M. 2010. Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. *Trends in Food Science and Technology*, 21: 502-509.
- Ayala-Zavala, J. F., Wang, S. H. Y., Wang, C. Y. and González-Aguilar, G. A. 2007. High oxygen treatment. *Journal of Small Fruits*, 2: 1-14.
- Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70-76.
- Boyer, J. and Liu, R. H. 2004. Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal*, 10: 3-5.
- Cao, J., Zeng, K. and Jiang, W. 2006. Enhancement of postharvest disease resistance in Ya Li pear (*Pyrus bretschneideri*) fruit by salicylic acid sprays on the trees during fruit growth. *European Journal of Plant Pathology*, 114: 363-370.
- Chen, J. Y., Wen, P. F., Kon, W. F., Pan, Q. H., Zhan, J. H., Li, J. M., Wan, S. B. and Huang, W. D. 2006. Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries. *Postharvest Biology and Technology*, 40: 64-72.
- Dong, J., Yu, Q., Lu, L. and Xu, M. 2012. Effect of yeast saccharide treatment on nitric oxide accumulation and chilling injury in cucumber fruit during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 68: 1-7.
- Durner, J., Wendehenne, D. and Klessig, D. F. 1998. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose. *Plant Biology*, 95: 10328-10333.
- Lai, T., Wang, Y., Li, B., Qina, G. and Tian, S. 2011. Defense responses of tomato fruit to exogenous nitric oxide during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 62: 127-132.
- Madrid, M. C. and Egea, M. I. 2008. Effects of a pretreatment with nitric oxide on peach (*Prunus persica* L.) storage at room temperature. *European Food Research Technology*, 227: 1599-1611.
- Mo, Y., Gong, D., Liang, G., Han, R., Xie, G. and Li, W. 2008. Enhanced preservation effects of sugar apple fruits by salicylic acid treatment during post-harvest storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 2693-2699.
- Pila, N., Gol, N. B. and Ramana Rao, T. V. 2010. Effect of post harvest treatments on physicochemical characteristics and shelf Life of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits during storage. *American-Eurasian Journal Agricultural and Environ Sciences*, 9: 470-479.
- Han, T., Wang, Y., Li, L. and Gey, X. 2003. Effect of exogenous salicylic acid on postharvest physiology of peaches. *Acta Horticulture*, 40: 64-72.
- Hogg, N., Kalyanaraman, B., Joseph, J., Struck, A. and Parthasarathy, S. 1993. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by nitric oxide Postharvest. *Biology and Technology*, 334: 170-174.
- Hung, K. T. and Kao, C. H. 2004. Nitric oxide is involved in methyl jasmonate-induced defense responses and secondary metabolism activities of *Taxus* cells. *Journal Plant Physiology*, 161: 43-52.
- Kader, A. 2003. A perspective on postharvest horticulture. *Hortscience*, 38: 1004-1008.
- Khandaker, L., Masum Akond, A. and Oba, S. 2011. Foliar application of salicylic acid improved the growth, yield and leaf's bioactive compounds in red Amaranth (*Amaranthus Tricolor* L.). *Vegetable Crops Research Bulletin*, 74: 77-86.
- Qadir, A. and Hashinaga, F. 2001. Inhibition of postharvest decay of fruits by nitrous oxide. *Postharvest Biology and Technology*, 22: 279-283.
- Renhua, R., Xia, R., Lu, Y., Hu, L. and Xu, Y. 2008. Effect of pre-harvest salicylic acid spray treatment on post-harvest antioxidant in the pulp and peel of 'Cara cara' navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 229-236.



- Scandalios, J. G. 1993. Effect of nitric oxide on ethylene production in strawberry fruit during storage. *Plant Physiology*, 101: 7-12.
- Shuhua, Z., Lina, S., Mengchen, L. and Jie, Z. 2008. Effect of nitric oxide on reactive oxygen species and antioxidant enzymes in kiwifruit during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 13: 2324-233.
- Silva, F. J. P., Gomes, M. H., Fidalgo, F., Rodrigues, J. and Almeida, D. S. F. 2008. Antioxidant properties and fruit quality during long-term storage of Rocha pear: effects of maturity and storage conditions. *Journal of Food Quality*, 33: 1-20.
- Smimoff, N. 1995. Antioxidant system and Plant response to the environment. in: Smimoff, N. (Ed). *Environment and plant Metabolism*, Bios Scientific Publisher, Oxford, United Kingdom, 22: 217-234.
- Srivastava, M. K. and Dwivedi, U. N. 2000. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 158: 87-96.
- Thurnham, D. I. 1990. Antioxidants and pro-oxidants in malnourished populations. *Proceedings of the Nutrition Society*, 48: 247-259.
- Vieira, F. G. K., Borges, G. S. C., Copetti, C., Gonzaga, L. W., Nunes, E. C. and Fett, R. 2009. Activity and contents of polyphenolic antioxidants in the whole fruit, flesh and peel of three apple cultivars. *Archivos Latinoamericanos De Nutricion*, 59: 825-835.
- Wills, R. B. H., Ku, V. V. and Leshem, Y. Y. 2000. Fumigation with nitric oxide to extend the postharvest life of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 18: 75-79.
- Zheng, X., Tian, S. H., Meng, X. and Li, B. 2007. Physiological and biochemical responses in peach fruit to oxalic acid treatment during storage at room temperature. *Food Chemistry*, 59: 156-162.
- Zhu, S. and Zhou, J. 2007. Effect of nitric oxide on ethylene production in strawberry fruit during storage. *Food Chemistry*, 100: 1517-1522.

## Changes in Quality of Apple Fruit (cv. Red Delicious) in Response to Postharvest Salicylic acid and Nitric Oxide Treatments

Asghari<sup>1</sup>, M., Ghafari Baktash<sup>2\*</sup>, H. and Farokhzad<sup>3</sup>, A.

### Abstract

Effects of salicylic acid and nitric oxide on quality of apple fruit (cv. Red Delicious) were investigated. Fruits were treated with nitric oxide (at 0, 3, 5 and 7  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) and salicylic acid (at 0, 1 and 2  $\text{mmol L}^{-1}$ ) and stored at 0-1°C with 85-95% RH for 2 and 5 months. Fruit quality characteristics including markability, total acidity, Catalase, phenolics contain, total soluble solids, pH and total antioxidant were evaluated. The antioxidant capacity of treated fruits was found relatively in highest range as compared with controls. Fruit treated with 7  $\mu\text{mol L}^{-1}$  nitric oxide and 2  $\text{mmol L}^{-1}$  SA  $\text{L}^{-1}$  salicylic acid had higher antioxidant capacity. Catalase activity of apple fruit treated with salicylic acid and nitric oxide were higher than that of control. Fruit treated with combination of 3  $\mu\text{mol L}^{-1}$  nitric oxide and 1  $\text{mmol L}^{-1}$  salicylic acid had higher phenole. All treatments decreased the rate of pH elevation. The highest titrable acidity was recorded in combination 1  $\text{mmol L}^{-1}$  salicylic acid and 7  $\mu\text{mol L}^{-1}$  nitric oxide. Total soluble solids was increased during storage and treatment with salicylic acid and nitric oxide effectively decreased the total soluble solids elevation. The treatments and their interactions had highly significant effect on markability. Fruit treated with 3  $\mu\text{mol L}^{-1}$  nitric oxide and 2  $\text{mmol L}^{-1}$  salicylic acid had higher markability. It was concluded that postharvest treatment of apple with the combination of nitric oxide and salicylic acid is a good alternative instead of chemical materials for postharvest technology of apple.

**Keywords:** Antioxidant, Postharvest life, Total phenol, Catalase

---

1, 2 and 3. Associate Professor, MSc Graduated Student and Assistant Professor, Respectively, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

\*: Corresponding author

Email: hajarghafari24@yahoo.com