



تاثیر L-آرژنین بر کیفیت، فعالیت پاداکسندگی و عمر انبارمانی میوه انار 'ملس ساوه'

سیدمحمد حسینی ملا^۱، سمیه رستگار^۱، ولی‌اله قاسمی عمران^{۲*}، اورنگ خادمی^۳

۱-گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه هرمزگان، بندر عباس.

۲- پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

۳- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۵	در سال‌های اخیر، استفاده از ترکیبات طبیعی و سالم به‌عنوان روشی جدید برای کنترل سرمازدگی و حفظ کیفیت پس از برداشت محصولات باغی در نظر گرفته شده است. در این پژوهش، برای اولین بار، میوه‌های انار در محلول L-آرژنین با غلظت‌های ۰، ۱ و ۲ میلی‌مولار غوطه‌وری شدند و اثرات آن بر کیفیت میوه‌های انار رقم ملس ساوه، که در منطقه ساری پرورش یافته، به مدت ۲۰ روز انبار سرد مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج به‌دست آمده، اعمال تیمار به‌طور قابل توجهی سبب افزایش میزان فنل کل و ظرفیت پاداکسندگی میوه‌ها در مقایسه با شاهد شد. میوه‌های تیمار شده با L-آرژنین ۱ میلی‌مولار در مقایسه با شاهد، ظرفیت پاداکسندگی بیشتری را نشان دادند. علاوه بر این فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (SOD، CAT و APX) و همچنین آنزیم PAL بر اساس آن افزایش یافت. در حالی که تجمع H_2O_2 و فعالیت آنزیم PPO در میوه‌های تیمار شده با L-آرژنین ۱ میلی‌مولار بطور معنی‌داری کاهش یافت. بر اساس نتایج ما، تیمار L-آرژنین را می‌توان به‌عنوان یک روش سودمند و کاربردی، به‌دلیل ایمنی و اثربخشی جهت حفظ کیفیت تغذیه‌ای و افزایش انبارمانی میوه انار استفاده نمود.
کلمات کلیدی:	
انار، آسیب سرمازدگی، آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز، پاداکسندگی، کاتالاز.	
DOI: 10.22034/FSCT.19.125.345	
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.3.2	
* مسئول مکاتبات: ghasemiomran@yahoo.com	

۱- مقدمه

ایران یکی از مناطق عمده پیدایش و گسترش ژنتیکی انار (*Punica granatum L.*) در دنیا است [۱]. در سال‌های اخیر، به دلیل ارزش غذایی بالای میوه انار، که سرشار از ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان [۲] و جایگاه ارزشمند آن برای سلامتی، تولید و مصرف این فرآورده باغی با اقبال عمومی در سطح جهان روبه رو شده است [۳]. تکنیک‌های انبارماندیر دمای پایین، به طور گسترده‌ای برای بهبود ماندگاری و حفظ کیفیت میوه‌ها و سبزیجات استفاده شده است. انبارمانی در دمای پایین نه تنها میزان تنفس محصولات ذخیره شده را کاهش می‌دهد بلکه احتمال توسعه بیماری‌های قارچی را نیز کاهش می‌دهد [۴]. با این حال، یک مسئله مهم توسعه آسیب‌سرمازدگی، در محصولات گرمسیری و نیمه گرمسیری تحت انبارمانی دمای پایین برای مدت طولانی است، که ممکن است منجر به تغییرات فیزیولوژیکی و افت کیفیت محصول شود [۵].

در سال‌های اخیر، جهت جلوگیری از خطرات زیست محیطی و تضمین سلامت مصرف‌کنندگان، استفاده از ترکیبات طبیعی و سالم راهی جدید برای کنترل پوسیدگی و صدمات سرمازدگی پس از برداشت محصولات باغی و مقابله با تهدیدهای آن متداول شده است. در میان آن‌ها، آرژنین^۱ به دلیل ایمنی و اثربخشی توجه زیادی را به خود جلب کرده است [۶]. L-آرژنینیک اسید آمینه متابولیکی با نسبت نیتروژن به کربن بالا و پیش ماده تولید بسیاری از مولکول‌های سیگنالینگ مانند پلی‌آمین‌ها (اسپریمین، اسپرمیدین، پوتوسین)، اکسیدنیتریک (NO)، گلوتامات، اسید آمینوبوتیریک و پرولین است [۷، ۸ و ۹]. تولید پلی‌آمین‌ها یک استراتژی انطباقی توسط گیاهان پیشرفته در برابر تنش سرما است [۱۰ و ۱۱]. اخیراً، نقش مثبت L-آرژنین در واکنش‌های استرس گیاهان توجه زیادی را برانگیخته است. گزارش‌های پیشین نشان داده‌اند که L-آرژنین یکی از موثرترین عوامل در برابر حفظ کیفیت پس از برداشت محصول و کاهش آسیب سرمایی در محصولات مانند توت‌فرنگی [۶]، خیار [۱۳]، مارچوبه [۱۴] و گوجه‌فرنگی [۱۵] بود. کاربرد آرژنین بیرونی، به طور فعال متابولیسم آرژنین درون‌زا را فعال کرده و با حفظ کیفیت و ماندگاری قارچ‌های دکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) را طولانی می‌کند [۱۲]. تیمار آرژنین برون‌زا می‌تواند به طور قابل

توجهی پوسیدگی پس از برداشت محصول ناشی از *Botrytis cinerea* در میوه گوجه‌فرنگی را مهار کند و نشان داد که مسیر نیتریک اکساید سنتاز (NOS) تاحدی به مکانیسم مقاومت کمک می‌کند [۱۶]. اما، همان‌طور که مشخص شده است گیاهان مختلف ممکن است مکانیسم‌های متفاوتی را برای دفاع از خود در برابر عوامل بیماری‌زا ایجاد کنند [۱۷]. اخیراً در میوه‌های انار تحت تیمار سه بار محلول پاشی با تیمار آرژنین روی درخت به فاصله ۲۰ روز تا مرحله رسیدن به همراه کاربرد بعد از برداشت روی همان میوه‌ها مشخص نمود این روش تیماری علاوه بر افزایش فعالیت آنزیم‌های حاوی ROS و در نتیجه تجمع پراکسید هیدروژن (H_2O_2) کمتر، سبب کاهش نشت یونی، افزایش فعالیت آنزیم PAL، تجمع فنل‌های بالاتر و ظرفیت بالاتر جاروبگری DPPH می‌شود، بدین طریق باعث مناسب‌تر شدن تحمل سرمازدگی در شرایط انبارمانی می‌گردد [۱۸]. استفاده از L-آرژنین به دلیل وضعیتی که به‌طور کلی به عنوان بی‌خطر و ایمن (GRAS) تلقی می‌شود، می‌تواند به‌عنوان راهبرد تجاری جهت کاهش سرمازدگی در صنعت میوه‌وسبزیجات همراه با افزایش خواص نیتروژنتیک و سلامتی باشد که توسط سازمان‌های نظارتی نیز قابل قبول است [۱۳]. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی اثر بالقوه L-آرژنین برای افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت آریل میوه انار کشت شده در منطقه ساری انجام شده است. عقیده بر این است با دستیابی به اثرهای مدنظر بتوان به برداشتن گام‌های اولیه جهت بهبود سلامت عمومی جامعه و ترفیع جایگاه ایران در بازار صادرات میوه انار کمک نمود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه میوه و تیمارها

میوه‌های انار رقم ملس ساوه در مرحله بلوغ فیزیولوژیکی (باتوجه به تجارب) از باغی تجاری (شرکت تعاونی گل انار صاحبی خاکزاد) واقع در حوالی دشت ناز شهرستان ساری برداشت شد. میوه‌ها تقریباً یک شکل و بدون نقایصی مانند خراشیدگی، ترک خوردگی و آفتاب سوختگی انتخاب شده، با آب شیر شسته شدند تا آلودگی‌های سطح آن‌ها رفع شود. طبق برنامه تحقیق، ۱۰۸ میوه‌ها به‌طور تصادفی در سه گروه با سه تکرار تفکیک و در محلول‌های آبی غلظت‌های مختلف L-

1. Arginine

۱۰۰ گرم وزن تازه ($\text{mg TAE g}^{-1} \text{FW}$) محاسبه و گزارش شد [۲۰].

۲-۴-آزمون حسی

به روش آلد^۴ و همکاران با اندکی تغییر آزمون حسی بر روی سه سطح تیمار ذکر شده در روز پایانی آزمایش انجام گرفت که هدف از آن تعیین کیفیت و بازارپسندی از دیدگاه مصرف کننده بوده است. ویژگی‌های مورد ارزیابی شامل عطر و طعم^۵، رنگ^۶، براقیت و درخشندگی ظاهر آریل^۷ و تمایل به خرید^۸ بودند. برای این منظور با استفاده از آزمون امتیازدهی ۵ نقطه‌ای (نقاط شامل ۵ (عالی)، ۴ (بسیار خوب)، ۳ (خوب)، ۲ (بد) و ۱ (بسیار بد))، توسط ۶ نفر پنلیست نظرخواهی انجام شد. آزمون در مکانی انجام شد که هیچ گونه بوی خاصی نداشت و تنظیم نور اتاق در حالت معمولی بود [۲۱].

۲-۵- میزان پراکسید هیدروژن آریل

برای اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن آریل‌ها انار از روش ولیکووا^۹ و همکاران استفاده شد. میزان جذب محتویات درون لوله‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. میزان پراکسید هیدروژن موجود در بافت آریل بر پایه نمودار استاندارد تهیه و مقدار پراکسید هیدروژن تخمین زده شد [۲۲].

۲-۶- سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی آریل

مقدار پروتئین با روش آبی [۲۳] و فعالیت آنزیم CAT آریل‌ها با اندازه‌گیری میزان اولیه از بین رفتن H_2O_2 بر اساس روش Chance و Maehly (۱۹۹۵) و کمی تغییر تعیین شد. فعالیت CAT با افزودن ۷۵ میکرولیتر عصاره آنزیم خام به محیط واکنش حاوی ۱۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH = ۷) و ۹۱۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۳۰ درصد بود. تجزیه H_2O_2 با ثبت مقدار جذب در ۲۴۰ نانومتر در ۱ دقیقه به فواصل ۲۰ ثانیه‌ای تعیین شد. یک واحد فعالیت آنزیمی به عنوان ۰/۱ تغییر جذب در دقیقه و بصورت U/mg.protein تعریف شد [۲۴].

آرژنین^{۱۰} (شاهد)، ۱ و ۲ میلی‌مولار به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد غوطه‌ور شدند [۱۸] پس از استفاده از تیمارهای L-آرژنین، میوه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق خشک شدند. نمونه‌ها در جعبه‌های یک ردیفه روباز قرار گرفتند و به سردخانه چندمنظوره شرکتبهن ساری با دمای $1 \pm 4^\circ\text{C}$ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۸۵-۸۰ درصد به مدت ۱۲۰ روز منتقل شد. ارزیابی صفات مد نظر در پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان انجام گرفت. نمونه‌گیری هر ۴۰ روز و در هر مرحله، پس از خروج از سردخانه به مدت ۳ روز در دمای اتاق، به‌عنوان عمر قفسه‌ای انجام شد. بر اساس نتایج ظرفیت پاداکسندگی، میزان فنل کل و آزمون حسی غلظت بهینه انتخاب و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی با نمونه شاهد مقایسه و بررسی شد.

۲-۲- فعالیت پاداکسندگی

ظرفیت پاداکسندگی (فعالیت آنتی‌اکسیدانی) عصاره‌های بخش آریل با خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد ۲،۲ دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازین^۱ تعیین شد. برای این منظور مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره متانولی تهیه شده به دو میلی‌لیتر محلول DPPH یک میلی‌مولار اضافه شد. محلول به‌دست آمده به سرعت به هم زده شد و به مدت ۴۰ دقیقه در تاریکی به منظور رسیدن محلول به حالت یکنواخت قرار گرفت. سپس میزان جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری (مدل Perkin Elmer, Lambda Ez 201) تعیین شد و ظرفیت پاداکسندگی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH بر اساس فرمول زیر محاسبه شد [۱۹].

$$\text{DPPH} = \text{درصد بازدارندگی}$$

$$= 100 \times (\text{میزان جذب شاهد} / \text{میزان جذب نمونه} - \text{میزان جذب شاهد})$$

۲-۳- محتوای فنل کل

تجمع محتوی فنل کل آریل‌ها بر اساس روش سیاری^۲ و همکاران با استفاده از معرف فولین سیوکالتو^۳ مورد سنجش قرار گرفت و میزان جذب هر نمونه در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شده و در نهایت میزان ترکیبات فنلی آریل با استفاده از استاندارد تانیک اسید بر حسب میلی‌گرم معادل تانیک اسید در

4. Allende
5. Taste and aroma
6. Color
7. Appearance shininess
8. Purchase intention
9. Velikova
10. Aebi

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
2. Sayyari
3. Folin-Ciocalteu

سیانامیک تخمین زده شد. در نهایت میزان فعالیت آنزیم PAL به عنوان mg cia/h.g.FW بیان شد [27].

۲-۸- میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز آریل

فعالیت PPO آریل با اندازه گیری اکسیداسیون کاتکول به عنوان پیش ماده آنزیم و روش توصیف شده توسط خادمی^۴ و همکاران [28]، با برخی تغییرات تعیین شد. مخلوط واکنش حاوی ۳۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH = ۷) = ۵۰ میکرولیتر محلول پیروگالول (۱۰۰ میلی مولار) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیم بود. افزایش جذب در ۴۲۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت شد. فعالیت ویژه آنزیم PPO آریل انار به صورت U/gr.protein بیان شد. یک واحد فعالیت آنزیمی PPO به عنوان میزان آنزیمی که باعث افزایش OD₄₂₀ در دقیقه تحت شرایط سنجش می شود، تعریف شد [28].

۲-۹- طرح آزمایش و واکاوی آماری

آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح به طور کامل تصادفی با ۳ تکرار و ۳ عدد میوه در هر تکرار به ازای هر تیمار بود. فاکتورهای آزمایشی عبارت بودند از: اعمال فروری با تیمار L-آرژنین (در سه سطح: شاهد، ۱ و ۲ میلی مولار) و زمان اندازه گیری (روز صفر و پس از ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ روز انبارداری سرد). تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS (V.9.1.3 service pack 4) و مقایسه میانگین توسط آزمون چند دامنه ای دانکن ($P \leq 0.05$) در نظر گرفته شد و نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل ترسیم شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- فعالیت پاداکسندگی آریل

شکل ۱ A نشان دهنده مقایسه میانگین اثر متقابل بین L-آرژنین و زمان نگهداری بر میزان پاداکسندگی آریل میوه است که مطابق آن فعالیت پاداکسندگی تا روز ۸۰ روند افزایشی داشته و بعد آن تا پایان مدت زمان انبارداری نسبت به روز اول مقدار این پارامتر کمی کاهش یافت اما در تمامی زمان های

فعالیت APX آریل ها با استفاده از روش رانیر^۱ و همکاران (۲۰۰۳) با کمی تغییر تعیین شد. برای تعیین APX، مخلوط واکنش حاوی ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیم خام در ۱۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH = ۷)، ۱۱۰۰ میکرومول اسید اسکوربیک ۰/۱ میلی مولار، ۶۰۰ میکرولیتر از EDTA ۰/۱ میلی مولار و ۵۰۰ میکرولیتر ۰/۱ میلی مولار H₂O₂ بود. فعالیت APX با اندازه گیری میزان جذب در ۲۹۰ نانومتر پس از یک دقیقه واکنش ارزیابی شد. یک واحد فعالیت آنزیمی APX به عنوان فعالیت آنزیم که یک میکرومول آسکوربات را در دقیقه اکسید می کند، تعریف شد. فعالیت ویژه APX به عنوان پروتئین U/mg.protein تعریف شد [25].

فعالیت آنزیمی SOD آریل با استفاده از روش توصیف شده توسط بیچامپ و فردیویچ^۲ ارزیابی شد. مخلوط واکنش (۳ میلی لیتر) حاوی ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیم خام در ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم (pH = ۸/۷)، به همراه ۱ میلی مولار نیتروبلو ترازولیوم (NBT)، ۲۰ میلی مول متینین، ۰/۱ میلی مول EDTA و ۰/۲ میلی مول ریوفلاوین بود و با استفاده از یک لامپ فلورسنت (۱۵ وات) به مدت ۱۰ دقیقه روشن شد. در دمای محیط میزان جذب در ۵۶۰ نانومتر اندازه گیری شد. یک واحد فعالیت SOD به عنوان مقدار آنزیمی که باعث کاهش ۵۰ درصدی NBT شد، محاسبه شد و فعالیت ویژه SOD به عنوان U/gr.protein تعیین شد [26].

۲-۷- میزان فعالیت آنزیم

فنیل آلانین آمونیا لیا ز آریل

سنجش فعالیت PAL با توجه به روش آسیس^۳ و همکاران با کمی تغییر، مورد سنجش قرار گرفت. مخلوط واکنش (۳ میلی لیتر)، حاوی عصاره آنزیم (۰/۵ میلی لیتر) با بافر بورات سدیم ۵۰ میلی مولار (pH = ۸/۸) و ۵۰۰ میکرولیتر لیتر فنیل آلانین ۲۰ میکرومولار به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. واکنش اضافه کردن با ۱۰۰ میکرولیتر HCl (۶ نرمال) متوقف شد. و جذب در ۲۹۰ نانومتر اندازه گیری شد. فعالیت آنزیمی ویژه به عنوان میلی گرم اسید سیانامیک تولید شده در ساعت با رسم منحنی استاندارد

1. Ranieri
2. Beauchamp and Fridovich
3. Assis

4. Khademi

آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی می‌باشد. این رادیکال DPPH با گرفتن هیدروژن از آنتی‌اکسیدانت‌ها، بحالت DPPH-H جارب‌گری می‌شود [۳۰]. بابالار و همکاران [۱۸] گزارش کردند میزان بالای فعالیت پاداکسندگی آریل تحت تاثیر تیمار قبل و پس از برداشت آرژنین بدلیل میزان انباشت بیشتر آنتوسیانین و دیگر ترکیبات فنلی به‌همراه میزان فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و فعالیت بیشتر آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالی از در میوه انار بود. در تحقیق حاضر به‌نظر می‌رسد بیشتر بودن ظرفیت پاداکسندگی به میزان فنل‌ها و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با آن باشد که برای مقابله با برابری‌های برابرگونه‌های اکسیژن‌واکنش (ROS) ضروری است و در میوه‌های انار تیمار شده با L-آرژنین برای مقابله با آسیب سرمازدگی طی دوره انبارمانی موثر واقع گردید. گفته می‌شود دلایل افزایش مقاومت به سرمازدگی میوه با تیمار آرژنین در نتیجه تجمع نیتریک اکسید، پوترسین، پرولین و تحریک شدن مسیرهایی مختلف کاتابولیسیم آرژنین می‌باشد [۱۵]. که تجمع پلی‌آمین‌ها و نیتریک اکسید به مقاومت بیشتر در برابر سرما در میوه‌ها و سبزیجات مختلف مربوط می‌شود.

مورد بررسی کمترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد و روند تغییرات آن در شاهد به‌صورت نزولی بوده است. بیشترین تاثیر مربوط به تیمار ۱ میلی‌مولار روز ۸۰ مشاهده گردید. کمترین مقدار پاداکسندگی در تیمار شاهد در روز آخر دیده شد. در این زمان بین تیمار ۱ و ۲ میلی‌مولار تفاوت آماری معنی‌داری دیده نشد. این نتایج تا روز ۸۰ با تحقیقات پیشین از جمله سیاری و همکارانکه بیان داشتند پاداکسندگی محلول در آب میوه انار در طول دوره انبارداری روندی افزایشی داشته و طی روزهای پایانی انبارمانی کاهش می‌یابد، مطابقت داشت [۲۹]. ترکیبات موجود در عصاره میوه انار از توانایی آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردار می‌باشد و ترکیبات فنلی در آن به‌وفور یافت می‌شود [۲]. همسو با نتایج تحقیق حاضر مزایای کاربرد اسیدآمین آرژنین در کاهش سرمازدگی و افزایش ظرفیت پاداکسندگی در محصولات نظیر میوه گوجه‌فرنگی [۱۱ و ۳۱] و انار [۱۸] به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت داده می‌شود و بدیهی است که آنتی‌اکسیدان موجود در میوه، بافت را در مقابل تنش و بیماری‌ها محفوظ نگه می‌دارد [۴]. فعالیت جارب‌گری رادیکال DPPH معیاری نسبی از فعالیت

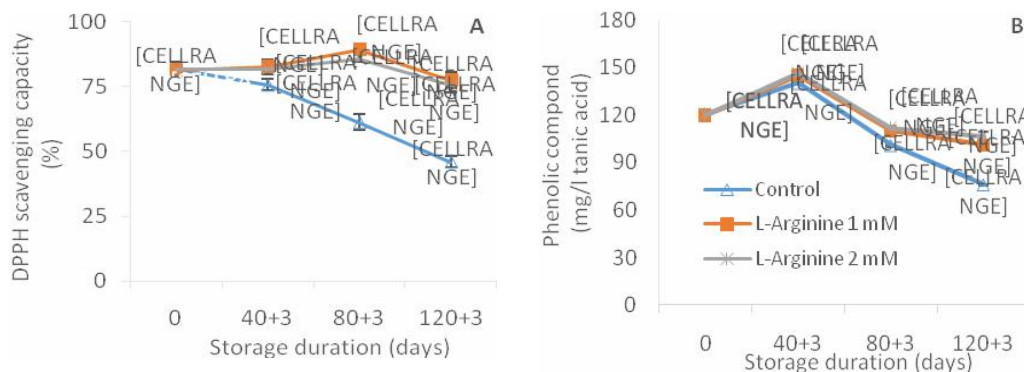


Fig 1 The interaction effect of L-arginine treatment and time of storage on DPPH scavenging capacity (A) and phenols accumulation (B) of pomegranate fruit arils stored at 4 ± 1 °C and 80 - 85% RH for 120 days plus 3 days at 20 °C. Data represent mean values of $n=3$ and the error bars represent standard errors (SE) of the means. Statistical analysis was performed using Duncan test at $P = 0.01$ level.

(شکل ۱ B, $P < 0.01$). میزان فنل کل در پایان مدت انبارمانی

میوه‌های تیمار شده با غلظت ۱ و ۲ میلی‌مولار L-آرژنین بترتیب ۲۵/۲۶٪ و ۲۸/۶۶٪ بیشتر از میوه تیمار شاهد بود.

ترکیبات فنلی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قوی نقش زیادی در کیفیت غذاهای گیاهی دارند و با فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود سبب جذب رادیکال آزاد شده بدین طریق توانایی جلوگیری از صدمات سرمازدگی میوه را دارند [۱ و ۳]. فنل در طول نگهداری بدلیل اینکه سوبسترای آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز هستند

۲-۳- محتوای فنل کل آریل

بررسی تغییرات ترکیبات فنلی نشان داد که غوطه‌وری L-آرژنین اثر مثبتی روی افزایش مقدار فنل موجود در میوه انار داشت. بدین معنی که مقدار فنل در تمامی تیمارها تا روز ۴۰ دارای روند افزایشی بود و بعد از آن تا پایان مدت نگهداری (روز ۱۲۰) از میزان فنل کاسته شده منتهی در تمامی دوره‌های مورد بررسی کمترین مقدار این محتوی فنل در تیمار شاهد بود

می‌شود [۳۵]. این موارد دلایلی بر افزایش فنل تحت تاثیر مدت زمان انبارمانی و تیمار بکار رفته را ثابت می‌کند.

۳-۳- آنالیز حسی

نتایج مربوط به پارامترهای آنالیز حسی شامل شامل عطر و طعم، رنگ، براقیت و درخشندگی ظاهر آریل و تمایل به خرید نشان می‌دهد که در تمامی پارامترهای حسی مورد بررسی، نمونه تحت تیمار ۱ میلی مولار L-آرژنین بیشترین امتیاز را دریافت نمود (در شکل ۲، $P < 0.05$). بر اساس این نتایج، تمایل به خرید برای تمامی سطوح ۱ و ۲ میلی مولار امتیاز یکسانی دریافت کردند. طعم و مزه سطح ۲ میلی مولار و شاهد امتیاز یکسانی داشتند. نتایج آنالیز حسی در توافق با نتایج تغییرات میزان پاداکسندگی و فنل بود که نمونه ۱ میلی مولار بیشترین تاثیر مثبت را در حفظ آن‌ها داشته است. این نتایج هم‌راستا با گزارشات شو [۶]، حسن و همکاران [۱۳] و ژانگ و همکاران [۱۵ و ۱۶] بود که گزارش کردند تیمار آرژنین طی مدت انبارمانی سبب حفظ کیفیت شد.

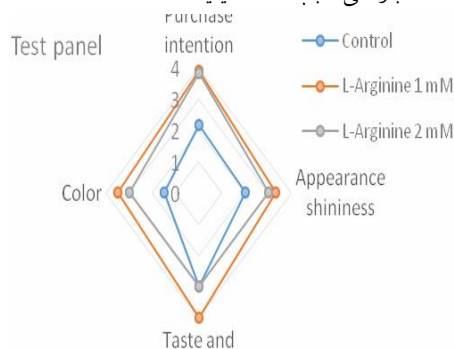


Fig 2 Spider diagram of the scores given by the judges for the sensory parameters of the pomegranate samples treated with L-Arginine and controls after 120+3 days of storage.

بر اساس نتایج ظرفیت پاداکسندگی، میزان فنل کل و آزمون حسی غلظت بهینه یعنی ۱ میلی مولار L-آرژنین در مقایسه با شاهد تعیین شد. بنابراین صفات آنزیمی بین غلظت بهینه (سطح ۱ میلی مولار) و شاهد برای تجزیه و تحلیل بیشتر مقایسه شد.

۳-۴- فعالیت سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی (CAT، SOD و APX) و میزان پراکسید

هیدروژن آریل‌ها

بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۳ A) میزان فعالیت آنزیم CAT آریل به مرور زمان و پس از ۱۲۰ روز انبارمانی کاهش نشان داد. در میوه‌های تیمار شده با ۱ میلی مولار L-

تحت تاثیر آن قرار می‌گیرند. نتایج به‌دست آمده در این پژوهش با نتایج آزمایش‌های سیاری و همکاران [۵ و ۲۹] و احتشامی^۱ و همکاران [۳۳] روی انار مطابقت داشت. ژانگ^۲ و همکاران گزارش کردند پاداکسندگی بیشتر و میزان فنل بالاتر در میوه گوجه‌فرنگی تحت تیمار با آرژنین ممکن است توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بالاتر ایجاد شود، که منجر به کاهش آسیب اکسیداتیو غشاء و نشت الکترولیت پایین از طریق کاهش تجمع ROS می‌شود [۳۱] که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. در پژوهش حاضر تجمع فنل میوه تیمار شاهد، پایین‌تر از میوه تیمار شده با آرژنین در طول انبارمانی به‌خصوص روز پایانی انبارمانی بود. بالاتر بودن میزان ترکیبات فنلی در نمونه تیمار شده ممکن است مربوط به کاهش سرعت تنفس که منجر به کاهش تجزیه این ترکیبات باشد. از انجایی که گیاهان اجزای مختلف دفاعی را برای محافظت از خود در برابر تنش‌های خارجی تولید می‌کنند در تحقیق حاضر به‌نظر می‌رسد بیشتر بودن میزان فنل‌ها از سویی دیگر مرتبط با افزایش میزان آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیاژی از در آریل میوه‌های انار تحت تیمار با L-آرژنین بود که افزایش در فعالیت این آنزیم مکانیسمی جهت مقابله با آسیب سرمازدگی می‌باشد. همان‌طور که وانگ^۳ و همکاران [۱۴] دریافتند، تیمار پس از برداشت با L-آرژنین ظرفیت آنتی‌اکسیدان و میزان فنل کل را افزایش داد که با نتایج تحقیق مطابقت دارد. همچنین، این نتایج با نتایج تحقیق شو^۴ و همکاران [۶] روی توت‌فرنگی، حسن و همکاران [۱۳] روی خیار، ژانگ و همکاران [۱۶] روی گوجه‌فرنگی و بابالار^۵ و همکاران [۱۸] روی میوه انار مطابقت دارد. اما با نتایج تحقیقی اثر تیمار با آرژنین برونزا روی میزان تجمع فنل قطعات تازه بریده کلم قرمز مغایرت داشت [۳۴]. میزان فنل میوه‌ها و سبزی‌ها پس از برداشتمی‌تواند کاهش یا افزایش یابد که این امر بستگی زیادی به شرایط انبارداری و تیمار دارد [۳۲]. از انجایی که افزایش PPO در میوه باعث اکسیداسیون پلی‌فنول‌ها می‌شود پس ترکیبات فنلی و آنتوسیانین‌ها میوه انار ممکن است توسط پلی‌فنل اکسیداز (PPO) تحت دمای سرد اکسیده شوند و باعث قهوه‌ای شدن پوسته شوند [۵]. با توجه به نتایج تحقیقات مشخص شده که سنتز ترکیبات فنلی پس از وجود زخم یا تحت تنش سرمایی روی میوه و در نتیجه افزایش ترکیبات فنلی به‌عنوان نشانه‌ای از مکانیسم دفاعی آغاز

1. Ehteshami
2. Zhang
3. Wang
4. Shu
5. Babalar

نشان داد. ولی فعالیت آن در آریل میوه تحت تیمار L-آرژنین تقریباً $3/892 \text{ U/mg Protein}$ بود که $60/89$ ٪ نسبت به شروع زمان انبارداری کاهش یافت (شکل ۳ A، $P < 0/01$). میزان فعالیت آنزیم APX آریل طی مدت زمان نگهداری از روند کاهشی برخوردار بود (شکل ۳ B) در تمامی دوره‌های مورد بررسی بیشترین مقدار فعالیت این آنزیم در آریل میوه‌های تیمار شده سطح ۱ میلی‌مولار L-آرژنین نشان داده شد.

آرژنین، روند کاهشی در میزان فعالیت آنزیم CAT آریل از ابتدا تا روز $40+3$ انبارمانی سریع ولی از روز $40+3$ تا $80+3$ این روند بصورت خیلی آهسته، کاهش یافت ولی در آخرین زمان نمونه‌برداری (پایان انبارمانی) این روند با شدت بیشتری کاهش یافته است. در حالیکه روند کاهشی این آنزیم در میوه شاهد در هر سه زمان بررسی از شدت بیشتری برخوردار بود. بطوری‌که در پایان دوره انبارداری فعالیت آنزیم کاتالاز آریل میوه‌های شاهد $4/518 \text{ U/mg Protein}$ بود و نسبت به روز شروع انبارداری ($13/554 \text{ U/mg Protein}$) $82/74$ ٪ کاهش

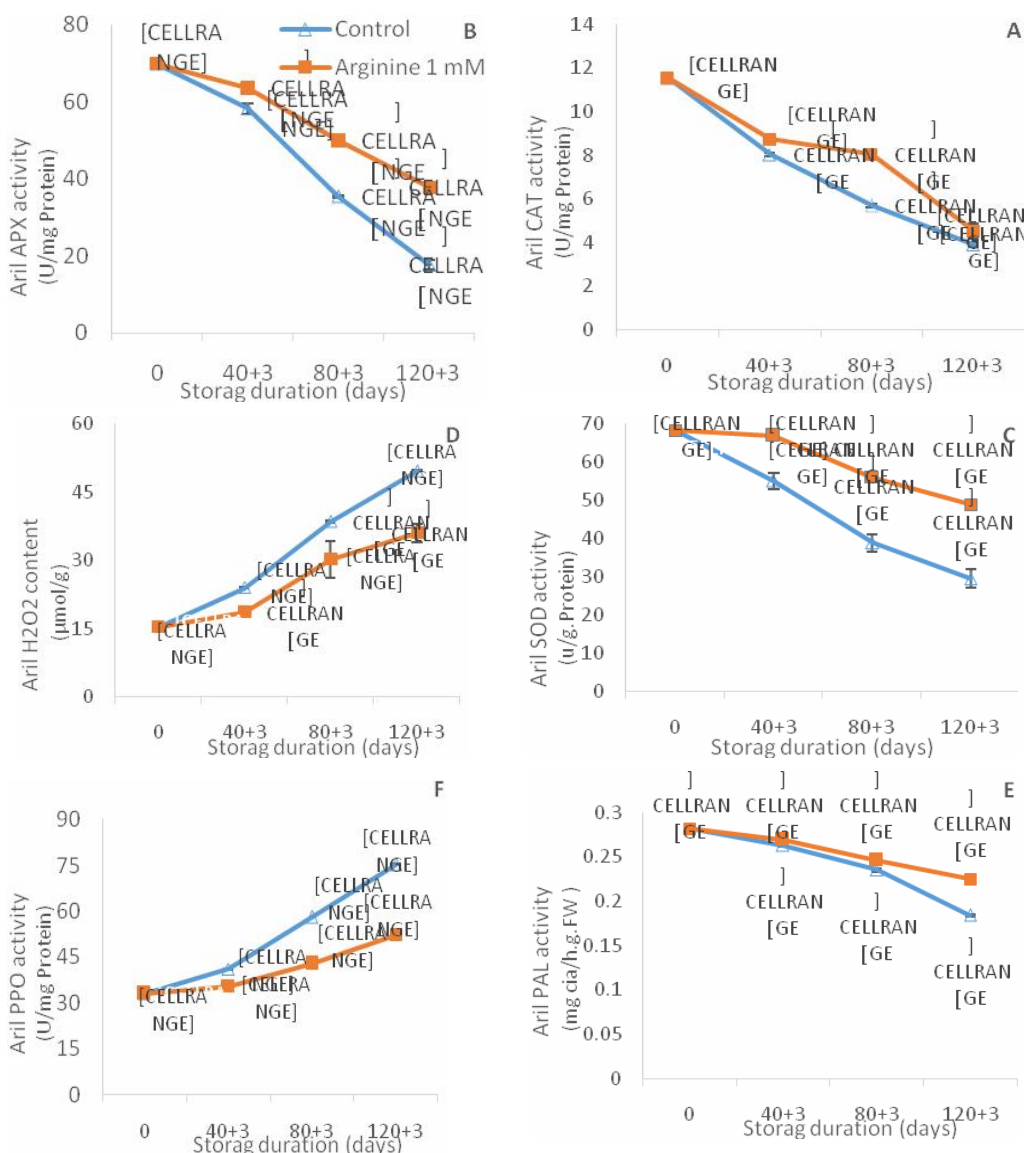


Fig 2 The interaction effect of L-arginine treatment and time of storage on fruit arils H_2O_2 content (A) and CAT (B), APX (C) and SOD activity (D) and fruit arils PAL (E) and PPO enzymes activity (F) of pomegranate fruits stored at $4 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ and 80 - 85% RH for 120 days plus 3 days at $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Data represent mean values of $n=3$ and the error bars represent standard errors (SE) of the means. Statistical analysis was performed using Duncan test at $P = 0.01$ level.

در پایان دوره نگهداری بیشترین میزان فعالیت APX آریل مربوط به میوه‌های تیمار شده با L-آرژنین (با میانگین U/mg Protein $37/77$) و کمترین آن با میانگین U/mg Protein $17/71$ مربوط به تیمار شاهد بود ($P < 0/01$). همچنین، با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۳ C) در میوه‌های تیمار شده با L-آرژنین میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز آریل نشان می‌دهد تا $40+3$ روز انبارمانی، میزان SOD آریل‌ها نسبت به روز شروع آزمایش بطور جزئی بیشتر شده است و بعد از آن تا پایان زمان نگهداری بطور یکنواخت کاهش یافت (شکل 3C). با این حال، فعالیت آنزیم SOD آریل میوه‌های شاهد بطور مداوم در طی زمان نگهداری کاهش نشان داد و بطور قابل ملاحظه‌ای در هر دوره فعالیت این آنزیم در میوه‌های شاهد بسیار کمتر از میوه‌های تحت تیمار ۱ میلی مولار L-آرژنین بود ($P < 0/01$). میزان هیدروژن پراکسید آریل در زمان شروع انبارداری $15/349 \mu mol/gr$ بود که در طول مدت نگهداری ۱۲۰ روزه میزان تجمع آن افزایش یافت، اما این افزایش در میوه‌های شاهد طی تمامی مراحل مورد بررسی، به طور معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۲ D). در پایان دوره انبارداری (۱۲۰ روز) میوه‌های غوطه‌ور شده در تیمار ۱ میلی مولار L-آرژنین (با میانگین $36/93 \mu mol/gr$) کاهش $27/64$ درصدی در میزان هیدروژن پراکسید آریل نسبت به شاهد (با میانگین $49/66 \mu mol/gr$) را نشان دادند (شکل 2D، $P < 0/01$).

بیوستز و تجمع H_2O_2 ممکن است به شیوع آسیب سرمزدگی در دمای پایین کمک کند. سیستم آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX) در جذب رادیکال‌های آزاد و کاهش H_2O_2 نقش موثری دارند [۳۸]. در این تحقیق انباشت H_2O_2 پایین‌تر آریل میوه تحت تاثیر تیمار L-آرژنین ناشی از فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، فعالیت‌های CAT، APX و SOD بود. نتایج حاصل از محتوای فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی با یافته‌های بابالار^۱ و همکاران [۱۸] مطابقت داشت. مطابق با این نتایج شو و همکاران [۶] نیز، گزارش دادند تیمار ۱ میلی مولار L-آرژنین سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (CAT، SOD، POD، APX) و کاهش تجمع H_2O_2 گردید از طرفی دیگر آنزیم‌های مقاومت در برابر

بیماری (GLU، CHI و PAL) در پاسخ به ۱ میلی مولار تیمار L-آرژنین افزایش یافت. همان‌طور که قبلاً گفته شد کاربرد آرژنین سطح برخی از ترکیبات موثر در مقاومت به سرمزدگی را در سلول از جمله پلی‌آمین‌ها، نیتریک اکساید، پرولین اسید آمینوبوتیریک و آگماتین بالا می‌برد [۸]. اسیدهای آمینه آرژنین از پیش ماده تولید نیتریک اکسید (NO) و پلی‌آمین‌ها درون‌زا در طبیعت شناخته شده‌اند. در میوه موز تحت تیمار نیتریک اکساید، آسیب سرمزدگی کاهش یافت که همراه با تجمع کمتر O_2 و H_2O_2 به همراه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بالاتر و فعالیت بالای APX و GR بود که آن‌ها با تجمع فنل‌های بالاتر حاصل از فعالیت آنزیم PAL منجر به ظرفیت بالاتر پاداکسندگی می‌شود [۳۶]. بنابراین در این تحقیق ممکن است آرژنین با تاثیر بر میزان تولید نیتریک اکساید سبب تغییراتی گردید. همسو با نتایج این آزمایش در تحقیقات پیشین نشان داد که فعالیت‌های بیشتر آنزیم CAT، APX و SOD بافت می‌تواند انباشت H_2O_2 را کاهش دهد و سبب حفظ کیفیت باشد [۳۷]. ژانگ^۲ و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که میوه گوجه‌فرنگی در پاسخ به تیمار آرژنین، تحمل سرمزدگی بیشتری را نشان می‌دهد که ممکن است ناشی از فعالیت آنتی‌اکسیدان بالاتر همراه با فعالیت‌های SOD، CAT و APX بالاتر است، که سبب کاهش آسیب اکسیداتیو غشایی همراه با کاهش انباشت ROS شد [۳۳]. این نتایج نشان می‌دهد که تیمار خارجی L-آرژنین با حفظ تعادل ROS از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند کیفیت میوه را پس از برداشت محصول بهبود بخشد.

۳-۵- میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز و

پلی فنل اکسیداز آریل

میانگین نتایج مربوط به افزایش میزان فعالیت PAL بخش آریل در نمونه‌های تیمار شده در شکل ۳ E نشان داده شده است. بر اساس این نتایج، با افزایش زمان نگهداری، تمامی نمونه‌ها به‌طور پیوسته کاهش فعالیت آنزیم PAL را داشتند (شکل ۳ E). بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تمامی روزهای آزمون مربوط به نمونه غوطه‌ور شده در محلول L-آرژنین بود ($P < 0/01$).

1. Babalar

2. Zhang

در پایان دوره نگهداری فعالیت آنزیم PAL آریل میوه‌های شاهد $0.184 \text{ mg cia/h.g.FW}$ بود که نسبت به روز شروع انبارداری $34/51\%$ کاهش نشان داد. در حالیکه فعالیت آنزیم PAL آریل میوه تحت تیمار ۱ میلی مولار آرژنین $0.22 \text{ mg cia/h.g.FW}$ بود که $19/92\%$ نسبت به شروع زمان نگهداری کاهش یافت.

با توجه به آنچه در شکل F ۳ مشاهده می‌شود، میزان فعالیت آنزیم PPO با گذشت زمان انبارمانی در همه تیمارها افزایش یافته است. ولی این افزایش در میوه‌های انار تیمار شاهد به‌طور معنی‌دار بیشتر از میوه‌های تیمار شده با سطح ۱ میلی مولار L-آرژنین بود. بدین صورت که در روز ۴۰ نمونه بردای میزان PPO آریل میوه شاهد $24/50\%$ افزایش یافت، در حالیکه این افزایش فعالیت در آریل‌های میوه تحت تیمار ۱ میلی مولار L-آرژنین به میزان $7/59\%$ نسبت به روز اول نمونه برداری بود.

در ادامه مدت انبارداری این روند افزایش در میزان فعالیت PPO آریل نمونه شاهد با سرعت بیشتری ادامه یافت و از روز ۸۰ نمونه برداری به بعد اختلاف میان فعالیت این آنزیم برای میوه‌های شاهد و میوه‌های تیمار شده بیشتر شد و این اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.01$) بود. در پایان زمان نگهداری در انبار با دمای سرد، میزان فعالیت آنزیم PPO قسمت آریل برای میوه‌های شاهد به $75/30 \text{ U/mg Protein}$ رسید. در حالی در آریل میوه‌های تیمار شده $52/31 \text{ U/mg Protein}$ بود. یکی از آنزیمی‌های اصلی در متابولیسم مرتبط با مسیر فنیل پروپانوئید آنزیم PAL است که فعالیت PAL نقش مهمی در سنتز ترکیبات فنلی دارد که در درجه اول از محصولات مسیر شیکیمیک سنتز می‌شوند. مسیر شیکیمیک اسید در بیوسنتز اکثر ترکیبات فنلی گیاهی شرکت می‌کند [۳۹]. ترکیبات فنلی بستری برای آنزیم‌های اکسیداتیو مانند PPO هستند که واکنش قهوه‌ای شدن را کاتالیز می‌کنند. بدیهی است که افزایش پلی فنل اکسیداز (PPO) در میوه باعث اکسیداسیون پلی فنول‌ها می‌شود [۴۰]. در دماهای سرد، تجمع فنول‌ها و آنتوسیانین‌ها با فعالیت آنزیم PAL از طریق مسیر فنیل پروپانوئیدی بوجود می‌آیند. اما با توجه به پراکسیداسیون اسید چرب غیر اشباع (unSFA) غشاء توسط LOX یا ROS، سیالیت (یکپارگی تمامیت) غشاء کاهش می‌یابد. با کاهش یکپارچگی غشاء، و اختلال در جداسازی سلول‌ها، منجر به تماس (در کنار هم قرار گرفتن) فنول‌ها و آنتوسیانین‌ها با

PPO به‌عنوان آنزیم مسئول قهوه‌ای شدن در تنش سرمازدگی می‌شود [۴۱]. بنابراین، هر عاملی که اثرات مهاری بر PPO داشته باشد، می‌تواند محتوای پلی فنول‌ها را افزایش دهد. در مطالعه حاضر، تیمار آرژنین تا حدودی فعالیت آنزیم PAL را طی مدت زمان و شرایط نگهداری، افزایش داد و از شدت فعالیت PPO کاسته است که این می‌تواند موجب افزایش تجمع ترکیبات فنلی گردد. مطابق نتایج تحقیق حاضر Zheng و همکاران گزارش دادند که تیمار قبل از برداشت آرژنین با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۵ میلی مولار سبب افزایش فعالیت آنزیم PAL در میوه گوجه‌فرنگی طی پس از برداشت شد [۱۱]. در تحقیق حاضر تیمار غوطه‌وری سبب تاخیر در افزایش آنزیم PPO آریل همراه با افزایش آنزیم PAL آریل و دیگر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به تیمار شاهد گردید و محتوی ترکیبات فنلی بیشتر از شاهد بود که در تطابق با نتایج بابالار و همکاران [۱۸] روی انار، لی و همکاران روی قارچ خوراکی [۱۲] و حسن و همکاران روی خیار [۱۳] می‌باشد. اخیراً ای‌پراباساری و [۳۵] گزارش دادند کاربرد L-آرژنین از سنتز ترکیباتی که سبب قهوه‌ای شدن آنزیمی میوه مار (سالاکا) می‌گردد، جلوگیری می‌نماید. گزارش‌های منتشر شده با آرژنین، سیستئینو متیونین به عنوان یک تیمار پس از برداشت، نقش آن‌ها را در حفظ رنگ سبز، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسید کننده پلی فنل اکسیداز (PPO) نشان داده است [۴۴]. این یافته‌ها حاکی از آن است که تیمار L-آرژنین می‌تواند در غلظت مناسب به منظور بهبود کیفیت پس از برداشت میوه انار مفید باشد.

مطالعات قبلی حاکی از آن بود که آرژنین پیش ساز فوری نیتریک اکسید و پلی آمین است، که در پاسخ گیاهان مانند بهبود مقاومت گیاه، مهار پیری، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش فعالیت PPO نقش مهمی ایفاء می‌کند [۱۴]. ثابت شده که تیمار L-آرژنین با ترویج مسیر نیتریک اکسید سنتز، پوسیدگی پس از برداشت را کاهش داده و کیفیت میوه توت‌فرنگی را حفظ می‌کند [۶]. بنابراین چنین نتایجی روی انار ممکن است در ارتباط با اثر آرژنین بر زیر ساخت نیتریک اکسید باشد. همچنین، دوخانیچه و همکاران بیان داشتند که آریل‌های میوه انار تیمار شده با اسید سالیسیلیک، میزان فعالیت PPO کمتر و PAL بیشتری در مقایسه با شاهد داشتند

افزایش مقدار فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی بخش آریل به‌همراه حفظ میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی شده است در حالی که از افزایش H_2O_2 جلوگیری کرد. از این رو استفاده از این استراتژی ایمن جهت حفظ کیفیت و افزایش دوره انبارمانی میوه انار پیشنهاد می‌گردد.

۵- سپاس‌گزاری

بدین‌وسیله از پژوهش‌کننده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان ساری و شرکت گل انار صاحبی (جناب عسکری خاکزاد) و دکتر کامران قاسمی، عمار افخمی و مهندس حامد شکری حیدری و محمد معصومی جهت حمایت‌های بی‌دریغ‌شان از این پژوهش تشکر می‌شود.

۶- منابع

- [1] Pareek, S., Valero, D. and Serrano, M. 2015. Postharvest biology and technology of pomegranate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(12): 2360-2379.
- [2] Valero, D., Mirdehghan, S.H., Sayyari, M. and Serrano, M. 2015. Vapor treatments, chilling, storage, and antioxidants in pomegranates. In *Processing and Impact on Active Components in Food*, 189-196. Academic Press.
- [3] Taghipour, L., Rahemi, M. and Assar, p. 2020. Reducing frost damage and increasing the shelf life of pomegranate fruit of Robab Neyriz cultivar by applying heat pretreatment. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 21 (2): 183-194. [In Persian]
- [4] Aghdam, M.S. and Bodbodak, S. 2013. Physiological and biochemical mechanisms regulating chilling tolerance in fruits and vegetables under postharvest salicylates and jasmonates treatments. *Scientia Horticulturae*, 156:73-85.
- [5] Sayyari, M., Aghdam, M. S., Salehi, F. and Ghanbari, F. 2016. Salicyloyl chitosan alleviates chilling injury and maintains antioxidant capacity of pomegranate fruits during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 211: 110-117.
- [6] Shu, P., Min, D., Ai, W., Li, J., Zhou, J., Li, Z., Zhang, X., Shi, Z., Sun, Y., Jiang, Y. and Li, F. 2020. L-Arginine treatment attenuates postharvest decay and maintains

که سبب کاهش در میزان قهوه‌ای شدن و افزایش ظرفیت جاروب‌کنندگی $DPPH^+$ شد که هم‌راستا با نتایج این پژوهش می‌باشد [۱۳]. در میوه‌های گوجه‌فرنگی تحت تیمار با آرژنین، علاوه بر فعالیت بالاتر آنزیم‌های حاوی ROS و در نتیجه تجمع H_2O_2 کمتر، فعالیت PAL بالاتر نیز منجر به فنل‌های بالاتر و تجمع فلاونوئیدها می‌گردد که مجموع این عوامل سبب ظرفیت بالاتر جاروب‌گری $DPPH^+$ می‌شود، که می‌تواند در کاهش صدمات سرمزدگی دخیل باشند [۱۱]. در مطالعه حاضر، تیمار آرژنین تا حدودی فعالیت آنزیم PAL را افزایش داد و موجب افزایش تجمع فنول کل بالاتر شد از سویی دیگر فعالیت آنزیم PAL / PPO در میوه ممکن است در تحمل به سرمزدگی شرکت داشته باشد، که بواسطه کمتر قهوه‌ای شدن پوست نشان داده می‌شود [۱۸ و ۶]. برخلاف نتیجه مانیل پاراپروک [۳۴] گزارش داد تیمار با آرژنین برونزا روی قطعات تازه برید کلم قرمز سبب کاهش میزان تجمع فنل همراه با کاهش میزان آنزیم PAL و PPO قطعات تازه بریده کلم قرمز بود. کاهش علائم قهوه‌ای شدن کلم قرمز تازه بریده شده با آرژنین در مقایسه با شاهد به دلیل ارتباط قهوه‌ای شدن آنزیمی با کاهش فنل و فعالیت PPO است [۳۴] که با نتایج ما مغایرت دارد. اما در تحقیقی دیگر این تیمار سبب کاهش قهوه‌ای شدن سیب و کاهو گزارش شد [۴۲] و جهت مهار پیری کل مبروکلی در پس از برداشت موثر بود و گزارش شده که این اسید آمینه فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهند و تولید اتیلن و فعالیت آنزیم PAL در کلم بروکلی را کاهش می‌دهند [۴۴]. این اختلافات ممکن است به دلیل وجود ارقام مختلف و شرایط تیمار (غلظت و زمان غوطه‌وری) باشد.

۴- نتیجه‌گیری کلی

انار به‌دلیل وجود ترکیبات فنلی و فعالیت پاداکسندگی مناسب نقش مهمی در سبب کالاهای غذایی انسان ایفا می‌کند. تحقیقات محدودی در مورد کاربرد این اسید آمینه برای افزایش عمر پس از برداشت محصولات باغی وجود دارد. در این پژوهش نشان داده شد که تیمار L-آرژنین بصورت غوطه‌وری پس از برداشت می‌تواند منجر به حفظ بهتر کیفیت میوه انار نسبت به شاهد طی ۱۲۰ روز در انبار سرد شود. غلظت ۱ میلی‌مولار L-آرژنین باعث کاهش محتوای پراکسید هیدروژن و فعالیت‌های PPO آریل شد. این تیمار سبب

- [15] Zhang, X., Shen, L., Li, F., Meng, D. and Sheng, J. 2013. Amelioration of chilling stress by arginine in tomato fruit: Changes in endogenous arginine catabolism. *Postharvest biology and technology*, 76:106-111.
- [16] Zhang, X., Min, D., Li, F., Ji, N., Meng, D. and Li, L. 2017. Synergistic effects of L-arginine and methyl salicylate on alleviating postharvest disease caused by *Botrytis cinerea* in tomato fruit. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(24): 4890-4896.
- [17] Singh, R., Tiwari, J.K., Sharma, V., Singh, B.P. and Rawat, S., 2014. Role of pathogen related protein families in defence mechanism with potential role in applied biotechnology. *International Journal of Advanced Research in Biologic sciences*. 2: 210-226.
- [18] Babalar, M., Pirzad, F., Sarcheshmeh, M.A.A., Talaei, A. and Lessani, H. 2018. Arginine treatment attenuates chilling injury of pomegranate fruit during cold storage by enhancing antioxidant system activity. *Postharvest Biology and Technology*, 137:31-37.
- [19] Eberhardt, M. V., Lee, C. Y. and Liu, R. H. 2000. Nutrition: Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 405: 903-904.
- [20] Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Serrano, M., Valero, D. 2009. Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*, 53: 152-154.
- [21] Allende, A., Aguayo, E. and Artés, F. 2004. Microbial and sensory quality of commercial fresh processed red lettuce throughout the production chain and shelf life. *International Journal of Food Microbiology*, 91(2):109-117.
- [22] Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant science*, 151(1): 59-66.
- [23] Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. In *Methods in enzymology*, 105: 121-126. Academic Press.
- [24] Chance, B. and Maehly, A.C. 1955. Assay of catalases and peroxidases. *Methods Enzymol* 2:764-775.
- [25] Ranieri, A., Castagna, A., Pacini, J., Baldan, B., Mensuali Sodi, A. and Soldatini, G.F. 2003. Early production and scavenging of hydrogen peroxide in the apoplast of quality of strawberry fruit by promoting nitric oxide synthase pathway. *Postharvest Biology and Technology*, 168:111253.
- [7] Chen, H., McCaig, B.C., Melotto, M., He, S.Y. and Howe, G.A. 2004. Regulation of plant arginase by wounding, jasmonate, and the phytotoxin coronatine. *Journal of Biological Chemistry*, 279(44): 45998-46007.
- [8] Jubault, M., Hamon, C., Gravot, A., Lariagon, C., Delourme, R., Bouchereau, A. and Manzaneres-Dauleux, M.J. 2008. Differential regulation of root arginine catabolism and polyamine metabolism in clubroot-susceptible and partially resistant *Arabidopsis* genotypes. *Plant Physiology*, 146(4).
- [9] Gao, H.J., Yang, H.Q. and Wang, J.X. 2009. Arginine metabolism in roots and leaves of apple (*Malus domestica* Borkh.): the tissue-specific formation of both nitric oxide and polyamines. *Scientia Horticulturae*, 119(2):147-152.
- [10] Nasibi, F., Yaghoobi, M.M. and Kalantari, K.M. 2011. Effect of exogenous arginine on alleviation of oxidative damage in tomato plant underwater stress. *Journal of Plant Interactions*, 6(4): 291-296.
- [11] Zheng, Y., Sheng, J., Zhao, R., Zhang, J., Lv, S., Liu, L. and Shen, L. 2011. Preharvest L-arginine treatment induced postharvest disease resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruits. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(12): 6543-6549.
- [12] Li, B., Ding, Y., Tang, X., Wang, G., Wu, S., Li, X., Huang, X., Qu, T., Chen, J. and Tang, X. 2019. Effect of L-arginine on maintaining storage quality of the white button mushroom (*agaricus bisporus*). *Food and Bioprocess Technology*, 12(4): 563-574.
- [13] Hasan, M.U., Rehman, R.N.U., Malik, A.U., Haider, M.W., Ahmed, Z., Khan, A.S. and Anwar, R. 2019. Pre-storage application of L-arginine alleviates chilling injury and maintains postharvest quality of cucumber (*Cucumis sativus*). *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 2: 102-108.
- [14] Wang, X., Gu, S., Chen, B., Huang, J. and Xing, J. 2017. Effect of postharvest L-arginine or cholesterol treatment on the quality of green asparagus (*Asparagus officinalis* L.) spears during low temperature storage. *Scientia Horticulturae*, 225:788-794.

- [35] Prbasari, I., Utama, N.A., Wijayanti, E.P., Hasanah, N.A.U., Riyadi, S. and Hariadi, T.K. 2020. L-Arginine to inhibit browning on fresh-cut salacca (*Salacca edulis* Reinw). In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 458(1): 012027. IOP Publishing.
- [36] Wang, Y., Luo, Z., Du, R., Liu, Y., Ying, T. and Mao, L., 2013. Effect of nitric oxide on antioxidative response and proline metabolism in banana during cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61: 8880–8887.
- [37] Foyer, C.H., Noctor, G. 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant. Cell Environ*, 28: 1056–1071.
- [38] Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant science*. 7: 405–410.
- [39] Nadernejad N, Ahmadimoghadam A, Hosseinifard J, Pourseyedi S. 2012. Phenylalanin ammonia-lyase activity, total phenolic and flavonoid content in flowers, leaves, hulls and kernels of three pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars. *Am-Eurasian Journal Agricultuer Environ science*, 12(6):807-814.
- [40] Tzin, V. and Galili, G. 2010. The biosynthetic pathways for shikimate and aromatic amino acids in *Arabidopsis thaliana*. *The Arabidopsis book/American Society of Plant Biologists*, 8: 1-18
- [41] Aghdam, M.S., Sevillano, L., Flores, F.B. and Bodbodak, S. 2013. Heat shock proteins as biochemical markers for postharvest chilling stress in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 160: 54–64.
- [42] Wills, R.B.H. and Li, Y., 2016. Use of arginine to inhibit browning on fresh cut apple and lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 113: 66-68.
- [43] Dokhanieh, A.Y., Aghdam, M.S. and Sarcheshmeh, M.A.A. 2016. Impact of postharvest hot salicylic acid treatment on aril browning and nutritional quality in fresh-cut pomegranate. *Horticulture, Environment and Biotechnology*, 57(4):378-384.
- [44] Sohail, M., Wills, R.B.H., Bowyer, M.C. and Pristijono, P. 2021. Beneficial impact of exogenous arginine, cysteine and methionine on postharvest senescence of broccoli. *Food Chemistry*, 338:128055.
- sunflower plants exposed to ozone. *Journal of Experimental Botany*, 54(392):2529-2540.
- [26] Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44(1):276-287.
- [27] Assis, J. S., Maldonado, R., Muñoz, T., Escribano, M. I., and Merodio, C. 2001. Effect of high carbon dioxide concentration on PAL activity and phenolic contents in ripening chirimoya fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 23(1): 33-39.
- [28] Khademi, O., Salvador, A., Zamani, Z., and Besada, C. 2013. Effects of hot water treatments on antioxidant enzymatic system in reducing flesh browning of persimmon. *Food and bioprocess technology*, 6(11):3038-3046.
- [29] Sayyari, M., Salvador, C., Daniel, V., Huertas, M.D. and María, S. 2011. Acetyl salicylic acid alleviates chilling injury and maintains nutritive and bioactive compounds and antioxidant activity during postharvest storage of pomegranates. *Postharvest Biology and Technology*, 60.2: 136-142.
- [30] Król, A., Amarowicz, R. and Weidner, S. 2014. Changes in the composition of phenolic compounds and antioxidant properties of grapevine roots and leaves (*Vitis vinifera* L.) under continuous of long-term drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36(6):1491-1499.
- [31] Zhang, X., Shen, L., Li, F., Zhang, Y., Meng, D. and Sheng, J. 2010. Up-regulating arginase contributes to amelioration of chilling stress and the antioxidant system in cherry tomato fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(13):2195-2202.
- [32] Kalt W. 2005. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants, *Food Science and Nutrition*, 70: 11-19.
- [33] Ehteshami, S., Abdollahi, F., Ramezani, A., Dastjerdi, A. M., and Rahimzadeh, M. 2019. Enhanced chilling tolerance of pomegranate fruit by edible coatings combined with malic and oxalic acid treatments. *International Journal of Horticultural Science*, 250:388-398.
- [34] Nilprapruck, P. 2020. Exogenous arginine treatment for inhibiting browning symptom and improving the quality of fresh-cut red cabbage. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology*, 25 (02).



The effect of L-arginine on quality, antioxidant activity and storability of pomegranate fruit 'Malas-e-Saveh'

Hosseini Molla, S. M. ¹, Rastegar, S. ¹, Ghasemi Omran, V. ^{2*}, Khademi, O. ³

1. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

2. Genetic and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan. Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran,

3. Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article History:</p> <p>Received 2021/ 04/ 146 Accepted 2021/ 07/ 26</p> <hr/> <p>Keywords:</p> <p>Pomegranate, Chilling injury, Polyphenol oxidase enzyme, Antioxidant, Catalase.</p> <hr/> <p>DOI: 10.22034/FSCT.19.125.345 DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.3.2</p> <hr/> <p>*Corresponding Author E-Mail: ghasemiomran@yahoo.com</p>	<p>In recent years, the use of natural and healthy compounds has been considered as a new method to control chilling and maintain postharvest quality of horticultural products. In this study, for the first time, pomegranate fruits were immersed in L-arginine solution at concentrations of 0, 1 and 2 mM and its effects on the quality of pomegranate fruits 'Malas-e-Saveh' grown in Sari region was evaluated during 120 days in cold storage. Based on the obtained results, the treatment significantly increased the total phenol and antioxidant properties of the fruit compared to the control. Fruits treated with 1 mM L-arginine showed more antioxidant activity compared to the control. Moreover, the activity of antioxidant enzymes (CAT, SOD, APX) as well as PAL enzyme increased accordingly. Whereas, H₂O₂ accumulation and PPO enzyme activity in fruits treated with 1 mM L-arginine were significantly reduced. Based on our results, L-arginine treatment can be used as a useful and practical method to maintain nutritional quality and increase the pomegranate storability due to its safety and effectiveness.</p>