مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۲ شماره ۳/ سال ۱۴۰۱/ صفحات ۱۱۱ تا ۱۲۸
DOI: 10.22034/FR.2022.46533.1794

تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر کیفیت تغذیه‌ای و عمر انبارمانی فرم تازه بریده قارچ تکمه‌ای

آیدین شکاری[۱]، رحیم نقشیبند حسنی[۲*]، مرتضی سلیمانی‌اقدم[۳]، مهدی رضایی[۴] و عباسعلی جنتی‌زاده[۳]

تاریخ دریافت: ۴۰۰/۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۴۰۰/۱۰/۲۵

[۱] دانشجوی سابق دکتری، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
[۲] استادیار، گروه علوم و و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
[۳] استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین
[۴] استادیار، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج
*مسئول مکاتبه: Email: naghshiband@tabrizu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: قارچ تکمه‌ای (*Agaricus bisporus*) به دلیل طعم خوب و فواید سلامتی آن یکی از محصولات پرمصرف می‌باشد. با این حال عمر نگهداری قارچ تکمه‌ای تازه به دلیل کاهش آب، تغییر رنگ، تغییر بافت، کاهش طعم و ارزش غذایی محدود است، لذا کاربرد تیمارهای پس از برداشت مانند ملاتونین که به عنوان یک آنتی‌اکسیدان کارآمد، ضد پیری و مهارکننده گونه‌های فعال اکسیژن شناخته شده است، می‌تواند منجر به حفظ کیفیت و بهبود عمر نگهداری قارچ تکمه‌ای شود. **هدف:** به همین منظور آزمایشی جهت بررسی اثر تیمار پس از برداشت ملاتونین بر عمر انبارمانی و کیفیت تغذیه‌ای قارچ تکمه‌ای تازه بریده، اجرا گردید. **روش کار:** این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار غلظت ملاتونین (۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) با سه تکرار به همراه تیمار شاهد (آب مقطر) صورت گرفت. پس از غوطه‌وری قارچ‌ها به مدت ۵ دقیقه در محلول تیمارها و خشک کردن در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد)، قارچ‌ها در ظروف بسته‌بندی قرار گرفته و در سردخانه با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۹۰ درصد نگهداری شدند. نمونه‌برداری از قارچ‌ها در روزهای صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ روز پس از تیمار انجام شد. **نتایج:** نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت ۱۰ میکرومولار ملاتونین تاثیر بیشتری در کاهش قهوه‌ای شدن قارچ تکمه‌ای تازه بریده نسبت به سایر غلظت‌های ملاتونین داشت. کاهش نشت یونی و تجمع مالون دی‌آلدهید در قارچ‌های تکمه‌ای تیمار شده با غلظت ۱۰ میکرومولار ملاتونین، مشاهده شد که سبب افزایش پایداری غشا و کاهش از دست‌دهی وزن در این قارچ‌ها شد. فعالیت بالای آنزیم فنیل آلانین‌آمونیالیاز در قارچ‌های تیمار شده با ملاتونین ۱۰ میکرومولار سبب افزایش تجمع ترکیبات فنولی شد که با کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و کاهش قهوه‌ای شدن قارچ همراه بود. افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال DPPH در قارچ‌های تکمه‌ای تازه بریده تیمار شده با ۱۰ میکرومولار ملاتونین مشاهده گردید که همراه با افزایش معنی‌دار تجمع اسید آسکوربیک در این قارچ‌ها بود. **نتیجه‌گیری نهایی:** به طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که بکارگیری ملاتونین در غلظت ۱۰ میکرومولار، به عنوان یک روش ایمن و موثر می‌تواند در افزایش عمر انبارمانی و حفظ کیفیت تغذیه‌ای قارچ تکمه‌ای تازه بریده به صورت پس از برداشت مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: تازه بریده، قارچ تکمه‌ای، انبارمانی سرد، قهوه‌ای شدن، ملاتونین

مقدمه

امروزه محصولات باغی تازه در دنیا به دو شکل محصول کامل و محصول تازه بریده شده در فروشگاه‌ها قابل عرضه هستند که این امر در مورد قارچ‌های خوراکی هم صادق است (بائزا ۲۰۰۷). با توجه به نوع زندگی امروزی، بسیاری از مصرف‌کنندگان مواد خوراکی نیازمند استفاده از فرم‌هایی هستند که زمان کمتری برای آماده‌سازی آنها صرف شود، بنابراین صنعت میوه‌ها و سبزی‌های تازه بریده به سرعت در جهان در حال رشد است که به عنوان پاسخی به تقاضای راحت‌تر شدن زندگی روزانه مصرف‌کنندگان مورد توجه قرار گرفته‌است (برنان و همکاران ۲۰۰۰). قارچ تکمه‌ای سفید (*Agaricus bisporus*) به دلیل ارزش غذایی بالا، خصوصیات دارویی مطلوب، و به واسطه داشتن طعم و مزه مطلوب محبوبیت بالایی بین مصرف‌کنندگان دارد بطوریکه بیشترین قارچ خوراکی کشت شده در دنیا می‌باشد (منگ و همکاران ۲۰۱۲). با این حال، عمر پس از برداشت کوتاهی دارد و در دمای محیط (۱ ± ۲٤) تقریبا ۳ روز می‌باشد که عمدتاً ناشی از عارضه قهوه‌ای شدن، فرایند پیری، تنفس بالا، از دست‌دهی آب و حملات میکروبی می‌باشد (اومس–اولیو و همکاران ۲۰۱۰). قارچ‌های تازه بریده نسبت به قارچ‌های کامل، عمر نگهداری کوتاه‌تری دارند، که این امر به دلیل اثرات بریدن می‌باشد، زیرا فرآیند برش می‌تواند سبب پخش باکتری‌ها در سطوح بریده شده شود و سلول‌های هیف را آسیب دیده کند و با فعال کردن پیش‌ماده‌ها و آنزیم‌ها و تماس آن‌ها با یکدیگر سبب تشکیل رنگدانه‌های قهوه‌ای می‌شود (برنان و همکاران ۲۰۰۰). از طرفی دیگر لامل‌ها و ساقه‌ی قارچ در قارچ‌های تازه بریده بیشتر نمایان خواهد شد و نسبت به قارچ کامل می‌تواند آلودگی میکروبی سریع‌تری نسبت به کلاهک نشان دهد. همچنین به دلیل آب از دست‌دهی سریع، برش های قارچ دچار خمیدگی می‌شوند (اومس–اولیو و همکاران ۲۰۱۰). همه این تغییرات، قابلیت فروش و پذیرش قارچ‌های تازه بریده توسط مصرف‌کننده را محدود می‌کند. استراتژی‌های مختلفی به منظور کاهش قهوه‌ای شدن و افزایش عمر انباری قارچ خوراکی به صورت کامل و تازه بریده، انجام شده است. مکانیسم احتمالی کاهش قهوه‌ای شدن به واسطه کاربرد تیمارهای پس از برداشت، یک یا دو روز ماندگاری بیشتر، مدت زمان انتقال را جبران می‌کند. روزهای اضافی بعدی نگهداری قارچ می‌تواند انعطاف‌پذیری بیشتری به فرآوری‌کنندگان، خرده‌فروشان و مصرف‌کنندگان بدهد. ملاتونین با نام شیمیایی N–استیل ٥–متوکسی تریپتامین در تمامی حیوانات و گیاهان یافت می‌شود (ماریانو و هرناندز ۲۰۱٤). نقش ملاتونین در گیاهان به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است (هو و همکاران ۲۰۱۸؛ آرنائو و هرناندز–ریوز ۲۰۱۷). این مولکول در فرآیندهای بیولوژیکی متنوع گیاه دخیل بوده و به عنوان یک متابولیت مهم گیاه مورد قبول واقع شده است. علاوه بر این، تاثیر ملاتونین در بهبود جوانه‌زنی بذر، رسیدن میوه، فتوسنتز، تولید زیست توده، رشد ریشه، یکپارچگی غشا، پیری برگ، تنظیم اسمزی و تنش‌های غیر زیستی (شوری، خشکی، گرما، اکسیداتیو و فلزات سنگین) و زیستی نیز گزارش شده است (ژانگ و همکاران ۲۰۱٦). نقش اصلی و اولیه ملاتونین به عنوان ترکیب آنتی‌اکسیدان مطرح است زیرا هم در آب و هم در چربی محلول است و آزادانه می‌تواند به بخش‌های مختلف گیاه حرکت کند (تان و همکاران ۲۰۱۳). کاربرد خارجی ملاتونین در پس از برداشت سبزیجات و میوه‌ها که سبب حفظ کیفیت و افزایش عمر انبارمانی محصولات می‌شود، در سال‌های اخیر افزایش یافته است. ملاتونین نقش مهمی در تامین مقاومت به بیماری‌های پس از برداشت و فساد محصولات طی دوره‌ی پس از برداشت دارد (هو و همکاران ۲۰۱۸). کاربرد خارجی ملاتونین در دو غلظت صفر و ۱۰۰ میکرومولار، سبب کاهش فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود (کائو و همکاران ۲۰۱۸). ملاتونین سبب تنظیم

تولید سالیسیلیک اسید، جاسمونیک اسید، نیتریک اکسید و اتیلن می‌شود که یک اقدام مناسب جهت مقاومت در برابر بیماری‌ها ایجاد می‌کند (آرنائو و هرناندز-ریوز ۲۰۱۷). اقدم و رضاپور فرد (۲۰۱۷) و لیو و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که کاربرد پس از برداشت ملاتونین در غلظت‌های صفر، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار در میوه توت‌فرنگی سبب افزایش پتانسیل میوه‌ها در مهار گونه‌های فعال اکسیژن شد که سبب کاهش پوسیدگی و پیری شد. استفاده از ملاتونین در غلظت‌های صفر و ۱۰۰ میکرومولار بر روی کلم بروکلی در پس از برداشت، با تنظیم متابولیسم تنفس و سیستم آنتی‌اکسیدانی عمر انبارمانی آن را افزایش داد (لو و همکاران ۲۰۱۸). افزایش میزان اسید آسکوربیک، ترکیبات فنولیک و ظرفیت آنتی-اکسیدانی در میوه‌های انبه تیمار شده با ملاتونین در غلظت‌های صفر، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار، طی نگهداری در انبار سرد مشاهده شد، همچنین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در اثر کاربرد ملاتونین به طور معنی‌داری کاهش یافت (رستگار و همکاران ۲۰۲۰). کاربرد پس از برداشت ملاتونین در قارچ تکمه‌ای به فرم کامل نیز منجر به حفظ ویژگی‌های کیفی و افزایش طول دوره انبارمانی آن شده است (لی و همکاران ۲۰۲۱).

از آنجاییکه مطالعات زیادی در مورد بررسی عمر پس از برداشت قارچ تکمه‌ای به فرم کامل وجود دارد، ولی مطالعات بسیار اندکی در مورد قارچ تکمه‌ای به فرم تازه بریده انجام شده است، همچنین تا کنون تحقیقی در مورد تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر عمر انبارمانی و کیفیت تغذیه‌ای قارچ تکمه‌ای به فرم تازه بریده صورت نگرفته است، لذا هدف از این تحقیق، بررسی تاثیر کاربرد پس از برداشت ملاتونین بر صفات قهوه‌ای شدن، کاهش وزن، متابولیسم فنول و شاخص نفوذپذیری غشا در قارچ تکمه‌ای تازه بریده می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تیمار قارچ‌ها و انبارمانی

قارچ‌های تکمه‌ای در مرحله بلوغ تجاری از شرکت تولید کننده قارچ تکمه‌ای سادات در تبریز خریداری شد و تحت شرایط محیطی در مدت ۱ ساعت به آزمایشگاه پس از برداشت دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز منتقل شد. قارچ‌های با اندازه یکسان و بدون آسیب دیدگی و قهوه-ای‌شدگی انتخاب شدند. ابتدا قارچ‌ها در اندازه‌های ٤ میلی‌متری با چاقوی تیز بریده شدند، سپس غوطه‌وری قارچ‌ها در غلظت‌های صفر، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار ملاتونین به مدت ٥ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. لازم به ذکر است که انتخاب غلظت-ها بر اساس بررسی منابع انجام شده در قارچ تکمه‌ای (لینگ و همکاران ۲۰۲۱) و سایر محصولات باغبانی (لیو و همکاران ۲۰۱۸؛ رستگار و همکاران ۲۰۲۰) انجام گرفت. پس از غوطه‌وری، قارچ‌ها از محلول ملاتونین خارج شده و به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق خشک شدند. پس از خشک شدن، قارچ‌های هر تکرار در بسته‌های ٥٠٠ گرمی در ظرف‌های پلی‌اتیلنی بسته‌بندی شده و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۹۰-۹۵ درصد به مدت ۱۵ روز نگهداری شدند. در روز صفر و هر ٥ روز طی دوره انبارمانی قارچ‌های هر تکرار به دنبال ۲ ساعت نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری صفات شاخص قهوه‌ای شدن، کاهش وزن و نشت یونی استفاده شدند. همزمان تعداد ۱۰ عدد اسلایس قارچ از هر تکرار نمونه‌گیری، مخلوط و در نیتروژن مایع پودر شدند و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد به منظور اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی نگهداری شدند.

شاخص قهوه‌ای شدن

برای محاسبه شاخص قهوه‌ای شدن (Browning index) عکس‌برداری از نمونه‌های قارچ خوراکی در روزهای نمونه‌برداری انجام و محاسبه L (روشنایی)، a (قرمزی-سبزی) و b (زردی-آبی) در محیط نرم‌افزار فتوشاپ (نسخه ۲۰۱۸) مشخص گردید، سپس شاخص قهوه‌ای

شدن با استفاده از معادلات $X= (a^*+1.75L^*) / (5.645L^*+a^*- 0.3012b^*)$ و $BI=[100 (X-0.31)]/0.172$ تعیین شد (دخانیه و اقدم ۲۰۱۶).

کاهش وزن

برای اندازه‌گیری میزان کاهش وزن ابتدا وزن قارچ‌های خوراکی در زمان صفر (W_1) در تیمارها بدست آمد، سپس وزن ثانویه (W_2) در روزهای پنجم، دهم و پانزدهم اندازه‌گیری شد و میزان درصد کاهش وزن با استفاده از فرمول $(W_1-W_2) / W_1 \times 100 = (\%)$ کاهش وزن، تعیین شد (نصیری و همکاران ۲۰۱۷).

محتوای اسید آسکوربیک

برای این منظور ۱ گرم از بافت قارچ پودر شده با ۱۵ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۵ درصد مخلوط شد. سپس محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی-گراد با دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. ۵ میلی‌لیتر از مخلوط صاف شده را برداشته و در لوله آزمایش ریخته شد و به آن ۰/۵ میلی‌لیتر از ترکیب دی‌نیتروفنیل هیدرازین اضافه شد. سپس نمونه‌ها به دستگاه اسپکتروفتومتر انتقال داده شد و میزان جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت شد و نتایج به صورت میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک بیان شد (ترادا و همکاران ۱۹۷۸).

شاخص نفوذپذیری غشاء

اندازه‌گیری نشت یونی با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی (EC Meter) مطابق روش منگ و همکاران (۲۰۱۲) در روزهای نمونه‌برداری انجام شد. برای اندازه-گیری مالون دی‌آلدهید (MDA) مقدار ۱ گرم از بافت کلاهک قارچ که توسط ازت مایع در هاون چینی پودر شده بود با ۱۵ میلی‌لیتر بافر Tris-HCL (تریس–هیدروکلراید اسید) ۵۰ میلی‌مولار(pH=۷/۸) که در درون ظرف یخ قرار داشت مخلوط شد. سپس در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس ٤ میلی‌لیتر از محلول رویی (سوپرناتانت) حاصل از سانتریفیوژ برداشته شد و با ۰/۲ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۲۰۰ گرم در لیتر و ۳/۸ میلی‌لیتر اسید تیوباربیوتیک (Thiobarbituric acid) ۰/٦ درصد مخلوط شد و به مدت ۲۵ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شدند. سپس محلول حاصل به سرعت سرد شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد، در انتها، نمونه‌ها به دستگاه اسپکتروفتومتر انتقال داده شدند و جذب محلول در طول موج‌های ۵۳۲، ٦۰۰ و ٤۵۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت میزان مالون دی‌آلدهید از طریق فرمول زیر محاسبه و به صورت میکروگرم در کیلوگرم وزن تر ارائه شد (هودگس و همکاران ۱۹۹۹).

$$\text{مالون دی‌آلدهید } (\mu mol\ kg^{-1}) = 6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56 \times A_{450}$$

محتوای فنل کل

اندازه‌گیری محتوای فنل کل طبق روش سینگلتون و روسی (۱۹٦۵) با استفاده از معرف فولین سیوکالتو انجام شد. ۵۰ میلی‌لیتر متانول به ۱ گرم از پودر بافت کلاهک قارچ اضافه و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه با دور ٦۰۰۰ سانتریفیوژ شد. ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۱/۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد، سپس ۱ میلی‌لیتر از معرف فولین سیوکالتو به آن اضافه شد. محلول به دست آمده به مدت ۹۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شد. سپس به دستگاه اسپکتروفتومتر انتقال داده شد و جذب در طول موج ۷۵۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت، میزان فنل کل به صورت معادل میلی‌گرم اسید گالیک در یک گرم بافت تازه بیان شد.

فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و پلی-فنل اکسیداز (PPO)

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)، ۱ گرم از بافت پودر شده کلاهک قارچ را در ۱۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (pH=7.3) حاوی ۱ میلی-مولار EDTA و ۲ میلی‌مولار دی‌تیوتریتول (Dithiothreitol) بر روی یخ مخلوط کرده و به مدت ۱۵

دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. ۰/۸ میلی‌لیتر از محلول رویی و ۵۰ میلی‌مولار ال- فنیل‌آلانین (۱۰ میلی‌مولار) را در بافر سدیم بورات (۲۰۰ میلی‌مولار و pH = ۸/۸) مخلوط کرده و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. محلول حاصل به دستگاه اسپکتروفتومتر انتقال داده شد و میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر قرائت شد و فعالیت آنزیم PAL به صورت واحد در میلی-گرم پروتئین ارائه شد (انگوین و همکاران ۲۰۰۳).

برای سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (PPO) ۱ گرم از بافت کلاهک قارچ پودر شده را برداشته و در ۱۵ میلی-لیتر بافر فسفات پتاسیم (pH= 7.3) حاوی ۱ میلی‌مولار EDTA و ۲ میلی‌مولار دی‌تیوتریتول بر روی یخ مخلوط کرده، سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی-گراد با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی را با ۲/۵ میلی‌لیتر ترکیب بافری که حاوی ۱۰۰ میلی‌مولار فسفات سدیم (pH = ٦/٤) و ۵۰ میلی‌مولار کاتکول بود مخلوط شد. محلول حاصل به دستگاه اسپکتروفتومتر انتقال داده شد و میزان جذب در طول موج ۳۹۸ نانومتر قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم PPO به صورت واحد در میلی‌گرم پروتئین ارائه شد (انگوین و همکاران ۲۰۰۳).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

ظرفیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های مورد آزمایش بر اساس واکنش شیمیایی خنثی کنندگی رادیکال آزاد ۱و۱ دی فنیل ۲-پیکریل هیدرازین (DPPH) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٥۱۷ نانومتر تعیین و به صورت درصد ارائه شد (دخانیه و اقدم ۲۰۱٦).

طرح آماری

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۲) و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($p<0.05$) انجام شد.

نتایج و بحث

شاخص قهوه‌ای شدن

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، اثر تیمار ملاتونین و زمان انبارمانی و برهمکنش آنها در مورد شاخص قهوه-ای شدن قارچ تکمه‌ای تازه بریده در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود ($p< ۰/۰۵$) (جدول ۱). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، با افزایش زمان انبارمانی، شاخص قهوه‌ای شدن قارچ تکمه‌ای در همه‌ی نمونه‌ها به صورت معنی‌داری افزایش یافت، ولی تیمار ملاتونین شاخص قهوه‌ای شدن را نسبت به نمونه‌های شاهد به شکل قابل توجهی کاهش داد (شکل ۱). در بین غلظت‌های ملاتونین، غلظت ۱۰ میکرومولار بیشترین کاهش شاخص قهوه‌ای شدن قارچ تکمه‌ای را نشان داد (شکل ۱)، بنابراین غلظت ۱۰ میکرومولار ملاتونین به عنوان غلظت بهینه ملاتونین به همراه شاهد (آب مقطر) برای انجام سایر مراحل آزمایش انتخاب شد و برای بررسی صفات کاهش وزن، اسید آسکوربیک، نشت یونی، مالون‌دی‌آلدهید، فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیالیاز و پلی‌فنل اکسیداز از غلظت‌های ۰ و ۱۰ میکرومولار ملاتونین برای تیمار قارچ تکمه‌ای تازه بریده استفاده گردید. رنگ کلاهک قارچ تکمه‌ای از ویژگی‌های تاثیرگذار در پذیرش آن توسط مشتری می‌باشد که از طریق شاخص قهوه‌ای شدن ارائه می‌شود (جیانگ ۲۰۱۳). افزایش شاخص قهوه‌ای شدن در قارچ تکمه‌ای طی انبارمانی یک پدیده مورد انتظار است که دلیل آن می‌تواند افزایش جابجایی و انتقال پیش‌ماده‌ها و آنزیم‌ها به دنبال آسیب‌های فیزیکی مثل بریدن و اسلایس‌کردن باشد که به دنبال آن سبب افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل-اکسیداز می‌شود (سوتیراک و مانوراکچیناکورن ۲۰۱۰). به عبارت دیگر وقتی که سلول‌ها شکسته می‌شوند، پیش-ماده‌ها و اکسیدازها در تماس باهم قرار می‌گیرند که این امر منجر به اکسیداسیون ترکیبات و قهوه‌ای شدن آنزیمی می‌شود. کاربرد تیمارهای پس از برداشت می-تواند سبب کاهش میزان قهوه‌ای شدن شود (اقدم و

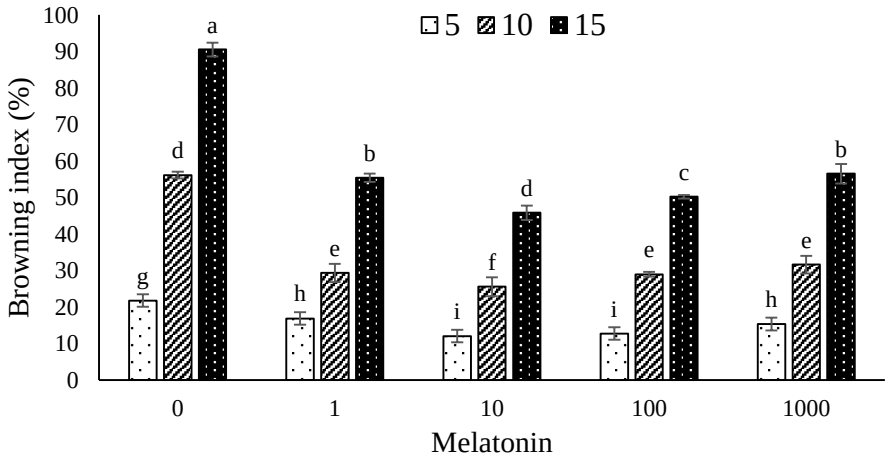
همکاران ۲۰۱۹). کاربرد ملاتونین به دلیل اینکه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است، از فرآیندهای اکسیدانی جلوگیری و مانع اکسیداسیون فنل‌ها و کاهش فعالیت آنزیم‌های موثر در قهوه‌ای شدن شده و قهوه‌ای شدگی را به تاخیر می‌اندازد (ژانگ و همکاران ۲۰۱۸). لیو و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که کاربرد پس از برداشت ملاتونین در میوه‌ی توت‌فرنگی سبب بهبود شاخص‌های L، a و b در میوه‌های تیمار شده شد و سبب تاخیر در توسعه‌ی رنگ این میوه شد. همچنین ژانگ و همکاران (۲۰۱۸) نیز گزارش دادند که کاربرد ملاتونین از قهوه‌ای شدن عصاره سیب جلوگیری کرد که به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی این ماده است که سبب مهار گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود و از قهوه‌ای شدن جلوگیری می‌کند.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمار پس از برداشت ملاتونین و زمان انبارمانی بر شاخص قهوه‌ای شدن فرم تازه بریده قارچ تکمه‌ای

Table 1. Analysis of variance of the effect of melatonin postharvest treatment and storage time on the browning index of fresh cut button mushroom.

Sources of variance	df	Means of Square Browning index
Melatonin	4	1123.49**
Storage time	2	7088.41**
Melatonin × Storage time	8	6.88**
Error	30	31.89
CV (%)	-	12.62

**: Significantly at the 1 % of probability level.



شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف ملاتونین بر شاخص قهوه‌ای شدن فرم تازه بریده قارچ تکمه‌ای

Figure 1– Effect of different melatonin concentrations on the browning index of fresh cut button mushroom

Different letters indicate significant differences among the treatments according to the Duncan's multiple-range test (P<0.05).

کاهش وزن

تجزیه واریانس داده‌های کاهش وزن نشان داد که اثرات ساده ملاتونین و زمان انبارمانی در سطح احتمال ۱ درصد، و برهمکنش این دو عامل در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود ($p< ۰/۰۵$) (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش زمان انبارمانی، درصد کاهش وزن قارچ تکمه‌ای به صورت معنی‌داری افزایش یافت، طوری که بیشترین درصد کاهش وزن در روز ۱۵ انبارمانی در تیمار شاهد به مقدار ۸/۴۸ درصد بدست آمد. کاربرد تیمار ملاتونین درصد کاهش وزن را

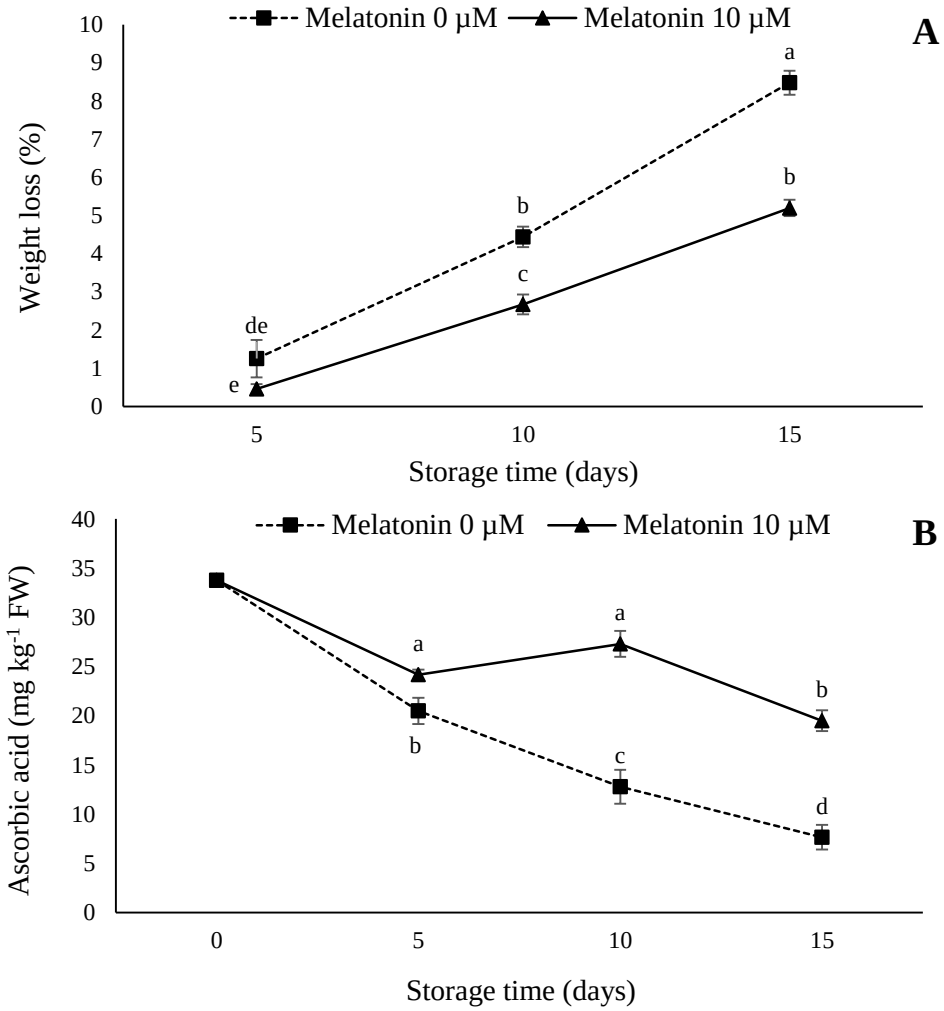
نسبت به نمونه‌های شاهد کاهش داد ولی در زمان‌های ۵ و ۱۰ اختلاف معنی‌داری با نمونه‌های شاهد وجود نداشت (شکل A ۲). با توجه به نبود کوتیکول ضخیم در قارچ‌ها، از دست دادن آب که طی فرآیند تعرق رخ می‌دهد، می‌تواند تبدیل به یکی از مهمترین مشکلات پس از برداشت قارچ شود که انبارمانی این محصول را به شدت پایین می‌آورد (لی و همکاران، ۲۰۲۱). همچنین خسارت وارده به غشای سلولی یکی از دلایل کاهش وزن محصول به شمار می‌رود (خان و همکاران ۲۰۱٤). در محصولات تازه بریده زمانی که محصولات بریده شده یا پوست آن‌ها گرفته می‌شود، بافت‌ها در معرض هوا قرار می‌گیرند و سرعت تبخیر آب افزایش می‌یابد. هر گونه زخم یا برش موجب افزایش تنفس و افزایش سرعت کاهش وزن محصول می‌شود. میوه‌های تازه بریده کاهش وزن بیشتری دارند زیرا این میوه‌ها سلول‌های اپیدرمی محافظتی ندارند (بیزا ۲۰۰۷). کاربرد تیمارهای پس از برداشت سبب کاهش از دست‌دهی وزن در محصولات باغی طی دوره‌ی انبارمانی می‌شود که به دلیل تاثیر این تیمارها در جلوگیری از پیری، آسیب‌غشایی و تنفس می‌باشد. نتایج آزمایش حاضر با نتایج گائو و همکاران (۲۰۱٦) در میوه هلو و لیو و همکاران (۲۰۱۸) در میوه توت‌فرنگی مطابقت دارد که نشان دادند کاربرد ملاتونین با جلوگیری از پیری و افزایش استحکام پوست میوه‌ها، از دست‌دهی وزن را کاهش داده است.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمار پس از برداشت ملاتونین و زمان انبارمانی بر پارامترهای کیفی فرم تازه بریده قارچ تکمه‌ای

Table 2- Analysis of variance of the effect of melatonin postharvest treatment and storage time on the quality characteristics of fresh cut button mushroom

Sources of variance	df	Means of Square							
		Weight loss	Ascorbic acid	Electrolyte leakage	MDA	Total phenol	DPPH	PAL	PPO
Melatonin	1	25.7^{**}	362.52^{**}	2328.8^{**}	156.23^{**}	0.568^{**}	908.37^{**}	2688.8^{**}	71462.16^{**}
Storage time	2	127.49^{**}	208.08^{**}	2018.03^{**}	318.22^{**}	0.844^{**}	23.68^{**}	1736.6^{**}	152761.32^{**}
Melatonin × Storage time	2	5.93^{*}	62.75^{**}	149.05^{*}	27.24^{*}	0.043^{ns}	256.28^{**}	262.37^{**}	16142.87^{**}
Error	12	1.18	3.16	36.33	4.74	0.19	61.01	91.27	10348.37
CV (%)	-	14.94	9.16	16.39	20.17	8. 7	2.96	8.95	15.44

**, *, ns: Significantly differences at the 1 and 5% of probability levels, and ns represent non-significant, respectively.



شکل ۲- تاثیر ملاتونین بر کاهش وزن (A) و اسید آسکوربیک (B) فرم تازه بریده قارچ تکمه‌ای

Figure 2– Effect of melatonin on weight loss (A) and ascorbic acid (B) of fresh cut button mushroom

Different letters indicate significant differences among the treatments according to the Duncan's multiple-range test ($P<0.05$).

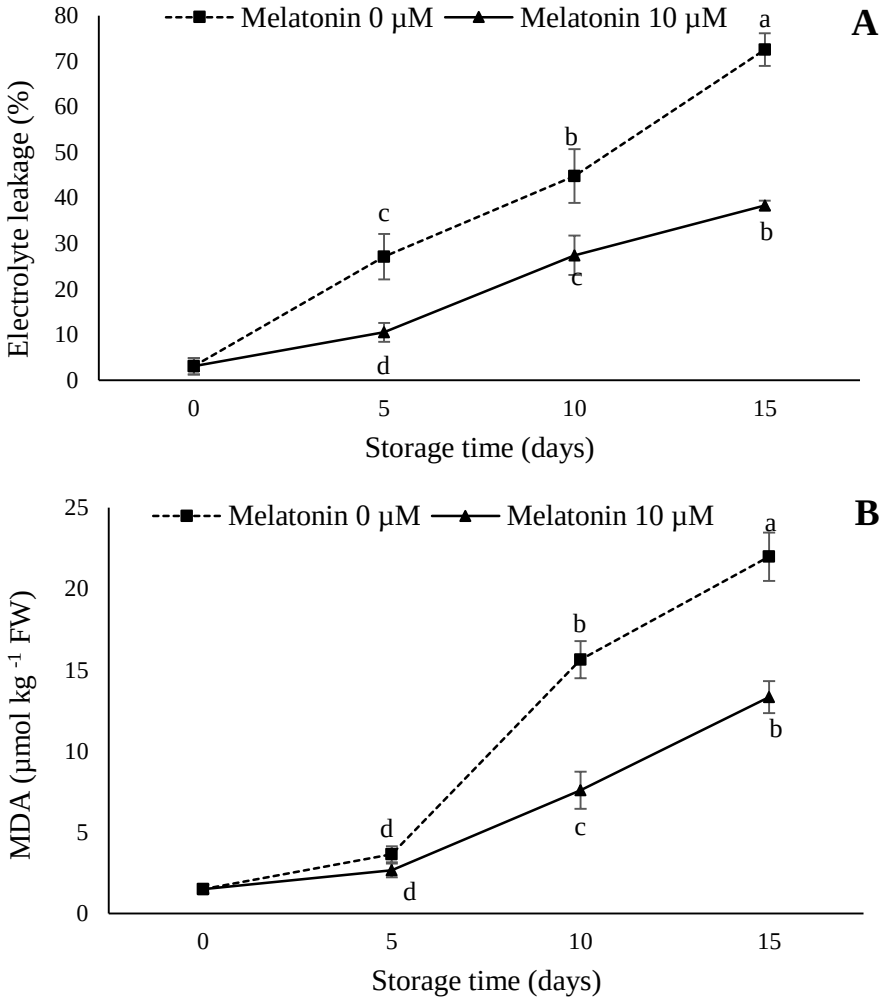
محتوای اسید آسکوربیک

مطابق نتایج تجزیه واریانس، اثرات ساده تیمار ملاتونین و زمان انبارمانی و اثر متقابل این دو عامل در سطح احتمال ۱ درصد بر محتوای اسید آسکوربیک قارچ تکمه‌ای تازه بریده معنی‌دار بود ($p< ۰/۰۵$) (جدول ۲). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، با افزایش زمان انبارمانی میزان اسید آسکوربیک در نمونه‌های تیمار شده تا روز ۵ کاهش یافت، ولی از روز ۵ تا روز ۱۰ افزایش یافت که معنی‌دار نبود، دوباره از روز ۱۰ تا روز ۱۵ روند کاهشی معنی‌داری در پیش گرفت (شکل ۲ B). در نمونه‌های شاهد نیز با افزایش زمان نگهداری میزان اسید آسکوربیک به شکل قابل توجهی کاهش یافت. میزان اسید آسکوربیک در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد در همه‌ی زمان‌های اندازه‌گیری بیشتر بود (شکل ۲ B). اسید آسکوربیک در مجاورت اکسیژن مستقیماً و یا با کمک آنزیم‌هایی مثل آنزیم آسکوربیک اسید اکسیداز اکسیده می‌گردد و در طول دوره انبارمانی کاهش می‌یابد (شریواس و همکاران ۲۰۰۵). کاهش کمتر اسید آسکوربیک در قارچ‌های تازه بریده تیمار شده با ملاتونین را می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی این ماده نسبت داد که سبب کاهش فعالیت‌های فیزیولوژیکی مرتبط با پیری می‌شود. از طرفی دیگر این کاهش اسید آسکوربیک را می‌توان به کاهش وزن و از

دست دادن رطوبت قارچ‌ها نیز نسبت داد. بدین معنا که چون اسیدآسکوربیک محلول در آب است، با از دست دادن رطوبت از بین خواهد رفت و چون از بین رفتن اسید آسکوربیک در نمونه‌های شاهد بسیار مشهود است در نتیجه این تفاوت مشاهده شد (خینگ و همکاران ۲۰۱۱). گائو و همکاران (۲۰۱٦) گزارش دادند که ملاتونین سبب حفظ اسید آسکوربیک در میوه‌های هلو می‌شود. در حالی که لیو و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که میزان اسید آسکوربیک در میوه‌های تیمار شده توت‌فرنگی با ملاتونین کمتر از میوه‌های شاهد بود. با این حال مشخص شده است که ملاتونین سبب افزایش تولید اسید آسکوربیک در گونه‌های مختلف گیاهی تحت شرایط تنش می‌شود (فان و همکاران ۲۰۱۵؛ شی و همکاران ۲۰۱۵).

شاخص‌های نفوذپذیری غشا (نشت یونی و مالون دی-آلدهید (MDA))

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که اثرات ساده ملاتونین و زمان انبارمانی در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل این دو فاکتور در سطح احتمال ٥ درصد بر شاخص‌های نفوذپذیری غشا معنی‌دار شد ($p< ۰/۰٥$). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش زمان انبارمانی، نشت یونی در همه نمونه‌ها به طور معنی‌داری افزایش داشت. نشت یونی در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد در همه‌ی زمان‌های اندازه‌گیری کمتر بود و بیشترین میزان نشت یونی به مقدار ۷۲/٥٦ درصد در روز ۱٥ تیمار شاهد بدست آمد (شکل ۳ A). با افزایش زمان انبارمانی تا روز ٥، میزان مالون دی آلدهید در همه نمونه‌ها به تدریج افزایش داشت، ولی بعد از روز ٥، این افزایش سرعت بیشتری گرفت. میزان مالون دی‌آلدهید در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد در همه‌ی زمان‌های اندازه‌گیری کمتر بود، ولی در زمان ٥ اختلاف معنی‌داری بین شاهد و تیمار ملاتونین از نظر میزان مالون دی‌آلدهید مشاهده نشد (شکل ۳ B). واکنش‌های اکسیداسیون و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا طی دوره انبارمانی و پیری موجب افزایش نشت یونی می‌شود. میزان مالون دی-آلدهید می‌تواند به عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع غشا به عنوان نشانگر زیستی تنش اکسیداتیو استفاده شود که تجمع آن سبب کاهش یکپارچگی غشا می‌شود (ما و همکاران ۲۰۱٦). افزایش نشت یونی و میزان مالون دی‌آلدهید با افزایش زمان انبارمانی نشان می‌دهد که غشای قارچ تحت تاثیر انبار سرد حساسیت بالایی به از دست دادن یکپارچگی غشا دارد (جیانگ و همکاران ۲۰۰٤). افزایش نشت یونی با افزایش زمان انبارمانی سبب افزایش قهوه‌ای شدن قارچ می‌شود. کانتوس و همکاران (۲۰۰۲) پیشنهاد کردند که تمامیت غشا برای وقوع قهوه‌ای شدن غشا در قارچ تعیین کننده است. قهوه‌ای شدن قارچ با از دست رفتن تمامیت غشا همراه است. رابطه قهوه‌ای شدن قارچ و از دست رفتن تمامیت غشا نشان می‌دهد که کاربرد ملاتونین به دلیل کاهش نشت یونی و کاهش غلظت مالون دی آلدهید و جلوگیری از دست رفتن تمامیت غشا عمر نگهداری قارچ را بهبود می‌بخشد. ما و همکاران (۲۰۱٦) نشان دادند که میزان مالون‌دی‌آلدهید در اسلایس‌های سبزی کاساوا که با ملاتونین تیمار شده بودند نسبت به نمونه-های شاهد به طور معنی‌داری کمتر بود. لیو و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که کاربرد ملاتونین سبب کاهش حجم معنی‌دار مالون‌دی‌آلدهید در توت‌فرنگی‌های تیمار شده شد، که علت آن را به اثرات ضد پیری و آنتی-اکسیدانی ملاتونین نسبت دادند. همچنین لی و همکاران (۲۰۲۱) نیز تاثیر ملاتونین بر کاهش نشت یونی قارچ تکمه‌ای طی دوره پس از برداشت را گزارش داده است که با نتایج ما مطابقت دارد.



شکل ۳- تاثیر ملاتونین بر نشت یونی (A) و تجمع مالون دی‌آلدهید (B) فرم تازه بریده قارچ تکمه‌ای

Figure 3– Effect of melatonin on electrolyte leakage (A) and MDA accumulation (B) of fresh cut button mushroom

Different letters indicate significant differences among the treatments according to the Duncan's multiple-range test (P < 0.05).

محتوای فنول کل و فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و پلی‌فنل اکسیداز (PPO)

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که اثرات ساده ملاتونین و زمان انبارمانی بر محتوای فنل کل قارچ تکمه‌ای تازه بریده در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (p< ۰/۰۵)، ولی اثر متقابل این دو عامل معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش زمان انبارمانی، میزان فنول کل در نمونه‌های تیمار شده تا روز ۱۰ افزایش نشان داد، ولی بعد از آن کاهش داشت (جدول ۳). در نمونه‌های شاهد هم با افزایش زمان نگهداری تا روز ۱۰، میزان فنول کل به طور معنی‌داری کاهش یافت ولی بعد از روز ۱۰ افزایش معنی‌داری نشان داد. میزان فنول کل در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد در همه‌ی زمان‌های اندازه‌گیری بیشتر بود (جدول ۳). تجزیه واریانس داده‌های آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیالیاز و پلی‌فنل‌اکسیداز نشان داد که اثرات ساده ملاتونین و زمان انبارمانی و برهمکنش این دو عامل در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (p< ۰/۰۵) (جدول ۲). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، با افزایش زمان انبارمانی، میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در نمونه‌های تیمار

شده تا روز ۱۰ افزایش داشت ولی بعد از آن کاهش نشان داد. در نمونه‌های شاهد هم، با افزایش زمان نگهداری میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت، ولی بین روز ۱۰ و ۱۵ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد در همه‌ی زمان‌های اندازه‌گیری بیشتر بود (جدول ۳). میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز، با افزایش زمان انبارمانی در همه‌ی نمونه‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین میزان آن در روز ۱۵ در نمونه‌های شاهد به مقدار ٤٧٣/٥٤ واحد در میلی‌گرم پروتئین بود. میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد در همه‌ی زمان‌های اندازه‌گیری کمتر بود، ولی در زمان ٥ اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد (جدول ۳).

ترکیبات فنلی ترکیبات آنتی‌اکسیدان هستند که با مکانیسم‌های متعددی از جمله جذب و از بین بردن رادیکال‌های آزاد، قطع کردن واکنش‌های زنجیره‌ای اکسیداسیون و با قرار گرفتن به عنوان سوبسترای آنزیم‌های پراکسیداز نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند. این ترکیبات همچنین با دادن سریع هیدروژن به رادیکال‌های لیپید از ادامه زنجیره پراکسیداسیون جلوگیری کرده و محصولاتی با قدرت اکسیدکنندگی کمتر از ترکیبات اولیه را به وجود می‌آورند و در واقع کاهش آن به دلیل مصرف به عنوان سوبسترای آنزیم‌های اکسیدکننده و شرکت در واکنش‌های پراکسیداسیون می‌باشد و افزایش آن ناشی از افزایش قهوه‌ای شدن و پیری محصول و فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز باشد (سون و همکاران ٢٠١٦). بیوسنتز فنول‌ها در گیاهان از طریق مسیر شیکمیک-فنیل پروپانوئید-فلاونوئید انجام می‌شود (تسای و همکاران ٢٠٠٦). فنیل آلانین آمونیالیاز یک آنزیم کلیدی در مسیر فنیل پروپانوئید است که تبدیل فنیل‌آلانین به ترانس-سینامیک اسید را کاتالیز می‌کند. تجمع فنول در قارچ‌های تیمار شده می‌تواند سبب بالا بردن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شود که در کاهش قهوه‌ای شدن کلاهک قارچ نقش دارد. افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در قارچ‌های تیمار شده از طرفی سبب افزایش فنول کل می‌شود که تجمع فنول برای کیفیت غذایی میوه‌ها و سبزی‌ها ضروری است و به نگهداری سلامت انسان‌ها به طریق مهار فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن کمک می‌کند (ژانگ و همکاران ۲۰۱۸). از طرف دیگر فعالیت بالای این آنزیم در میوه‌ها و سبزیجات از طریق رسوب فنل‌ها و لیگنین در دیواره سلولی و جلوگیری از نفوذ پاتوژن‌ها به سلول منجر به استحکام دیواره سلولی می‌شود. ملاتونین احتمالاً سبب فعال‌سازی مسیرهای فنیل پروپانوئید-فلاونوئید می‌شود که منجر به تجمع فنول می‌شود. سون و همکاران (٢٠١٦) گزارش دادند که تیمار ملاتونین بیان ژن آنزیم‌های مهم درگیر در مسیر فنیل‌پروپانوئید را افزایش می‌دهد که در تجمع فنول کل و فلاونوئید مشارکت دارند. اقدم و فرد (۲۰۱۷) گزارش دادند که کاربرد ملاتونین با غلظت ۱۰۰ میکرومولار سبب افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در میوه‌های توت‌فرنگی تیمار شده نسبت به میوه‌های شاهد شد. در بسیاری از محصولات باغبانی، فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در قهوه‌ای شدن بافت نقش دارد و بازارپسندی محصولات باغبانی را کاهش می‌دهد (توماس-باربرن و اسپین ۲۰۰۱). میزان فعالیت این آنزیم در قارچ‌های تازه بریده بیشتر می‌شود، زیرا زخمی شدن بافت باعث بالا رفتن سرعت تنفس می‌شود که در اثر این امر، تخریب بافت سریع‌تر آغاز می‌شود و تماس بین آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و ترکیبات فنول آزاد شده از واکوئل بیشتر می‌گردد، بنابراین اکسیداسیون آنزیمی فنول‌ها افزایش می‌یابد (جیانگ و همکاران ٢٠٠٤). تیمارهای پس از برداشت باید میزان فعالیت این آنزیم را کاهش دهند، زیرا کنترل فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز جهت جلوگیری از قهوه‌ای شدن قارچ خوراکی و دیگر سبزی‌ها و میوه‌ها اهمیت زیادی دارد. رستگار و همکاران (۲۰۲۰) گزارش دادند که کاربرد پس از برداشت ملاتونین با غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار در میوه انبه سبب

کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز شد. همچنین ژنگ و همکاران (۲۰۱۹) نیز نشان دادند که فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در میوه‌های تازه بریده هلو در اثر کاربرد تیمار ملاتونین با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد.

جدول ۳- تاثیر ملاتونین بر فنل کل (TP)، فعالیت آنزیم‌های فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL)، پلی‌فنل اکسیداز (PPO) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی فرم تازه بریده قارچ تکمه‌ای

Table 3- Effect of melatonin on total phenol, PAL and PPO enzymes activity, and antioxidant capacity of fresh cut button mushroom

Storage time (days)	Melatonin (µM)	PPO (U mg^{-1} protein)	PAL (U mg^{-1} protein)	TP (mg GAE g^{-1} FW)	DPPH (%)
0	-	13.33 ± 1.05	49.23 ± 1.21	1.71 ± 0.04	69.21 ± 0.29
5	0	52.08 ± 12.43 ^{d}	36.53 ± 2.75 ^{b}	1.57 ± 0.15 ^{c}	77.65 ± 2.42 ^{b}
	10	22.74 ± 8.75 ^{d}	53.95 ± 1.46 ^{a}	1.83 ± 0.17 ^{b}	78.06 ± 2.55 ^{b}
10	0	233.65 ± 15.36 ^{b}	13.28 ± 3.06 ^{d}	1.4 ± 0.09 ^{d}	68.28 ± 2.51 ^{c}
	10	120.54 ± 30.05 ^{c}	54.98 ± 3.06 ^{a}	2.02 ± 0.05 ^{a}	84.08 ± 2.56 ^{a}
15	0	473.54 ± 60.16 ^{a}	12.94 ± 1.46 ^{d}	1.53 ± 0.15 ^{c}	60.69 ± 1.82 ^{d}
	10	237.93 ± 13.58 ^{b}	23.15 ± 1.88 ^{c}	1.76 ± 0.07 ^{b}	87.1 ± 1.36 ^{a}

Different letters indicate significant differences among the treatments according to the Duncan's multiple-range test ($P<0.05$).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که اثرات ساده و متقابل ملاتونین و زمان انبارمانی در سطح احتمال ۱ درصد بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قارچ تکمه‌ای تازه بریده معنی‌دار شد (p< ۰/۰۵). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها با افزایش زمان انبارمانی، ظرفیت آنتی-اکسیدانی در نمونه‌های تیمار شده، افزایش نشان داد، ولی در نمونه‌های شاهد تا زمان ۵ افزایش داشت، ولی بعد از آن روند کاهشی به خود گرفت (جدول ۳). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد در همه‌ی زمان‌های اندازه‌گیری بیشتر بود. در روز ۱۰ و ۱۵ اندازه‌گیری بین نمونه‌های تیمار شده از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). اندازه‌گیری DPPH برای ارزیابی ظرفیت آنتی-اکسیدانی استفاده می‌شود، زیرا افزایش مهار DPPH نشان دهنده‌ی ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها می-باشد. افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سبب افزایش مهار گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش شاخص قهوه‌ای شدن می‌شود (لاگنیکا و همکاران ۲۰۱۳)، که ملاتونین به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی میزان مهار DPPH را افزایش می‌دهد. ژنگ و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که کاربرد ملاتونین در میوه‌های تازه بریده هلو با افزایش مهار DPPH میزان فنول کل را بالا می‌برد. گزارش مشابهی توسط اقدم و رضاپور فرد (۲۰۱۷) نیز ارائه شده که نشان می‌دهد کاربرد پس از برداشت ملاتونین سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌های توت‌فرنگی می-شود.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج بدست آمده، کاربرد پس از برداشت ملاتونین در غلظت ۱۰ میکرومولار در قارچ تکمه‌ای تازه بریده سبب تاخیر در قهوه‌ای شدن اسلایس‌های قارچ تکمه‌ای نسبت به قارچ‌های شاهد طی نگهداری به مدت ۱۵ روز در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد شد و نسبت به سایر غلظت‌های ملاتونین نتایج بهتری ارائه داد. نشت یونی و تجمع مالون دی‌آلدهید در قارچ‌های تکمه‌ای تیمار شده با

غلظت ۱۰ میکرومولار ملاتونین نسبت به قارچ‌های تکمه-ای شاهد، کاهش یافت که همراه با کاهش از دست‌دهی وزن در این نمونه‌ها بود. فعالیت بالای مسیر فنیل پروپانوئید با تجمع بالای ترکیبات فنولی در قارچ‌های تکمه‌ای تیمار شده با غلظت ۱۰ میکرومولار ملاتونین همراه بود که ناشی از فعالیت بالای آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز نسبت به آنزیم پلی‌فنل اکسیداز بود که در نهایت منجر به کاهش قهوه‌ای شدن قارچ‌های تازه بریده شد. افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال DPPH در قارچ‌های تازه بریده تیمار شده با غلظت ۱۰ میکرومولار ملاتونین، ناشی از افزایش تجمع ترکیبات فنولی و اسید آسکوربیک در این قارچ‌ها بود. به طور کلی امروزه تمایلات زیادی به استفاده از ترکیبات سالم در فناوری پس از برداشت محصولات باغبانی وجود دارد، که ترکیبات فعال موجود در گیاهان مانند ملاتونین نمونه-ای از این ترکیبات هستند و می‌تواند به عنوان یک روشی موثر و ایمن در کاهش قهوه‌ای شدن قارچ تکمه‌ای تازه بریده و حفظ کیفیت تغذیه‌ای قارچ‌های خوراکی و سایر محصولات باغبانی در طی نگهداری پس از برداشت، استفاده گردد.

منابع مورد استفاده

Aghdam MS and Fard JR, 2017. Melatonin treatment attenuates postharvest decay and maintains nutritional quality of strawberry fruits (*Fragaria* × *anannasa* cv. Selva) by enhancing GABA shunt activity. Food Chemistry 221: 1650–1657.

Aghdam MS, Luo Z, Jannatizadeh A and Farmani B, 2019. Exogenous adenosine triphosphate application retards cap browning in *Agaricus bisporus* during low temperature storage. Food chemistry 293: 285-290.

Arnao MB and Hernández-Ruiz J, 2017. Melatonin and its relationship to plant hormones. Annal Botany 121: 195–207.

Baeza R, 2007. Comparison of thechnologies to control the physiologica, biochemical and nutritional changes of fresh cut fruit. Food Science Graduate Program. College of Agriculture. Pp: 109.

Brennan MH, Le Post G and Gormley TR, 2000. Postharvest treatment with citric acid and hydrogen peroxide to extend the shelf life of fresh sliced mushrooms. Lebensm-Wiss. U Technology 33: 285–289.

Cao S, Shao J, Shi L, Xu L, Shen Z, Chen W and Yang Z, 2018. Melatonin increases chilling tolerance in postharvest peach fruit by alleviating oxidative damage. Scientific Reports 8: 806.

Cantos E, Tudela JA, Gil MI and Espin JC, 2002. Phenol compounds and related enzymes are not rate-limiting in browning development of fresh-cut potatoes. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 3015–3023.

Dokhanieh AY and Aghdam MS, 2016. Postharvest browning alleviation of *Agaricus bisporus* using salicylic acid treatment. Scientia Horticulturae 207: 146–151.

Fan J, Hu Z, Xie Y, Chan Z, Chen K, Amombo E, Chen L and Fu J, 2015. Alleviation of cold damage to photosystem II and metabolisms by melatonin in Bermudagrass. Frontiers in Plant Science 6: 925.

Gao H, Zhang ZK, Chai HK, Cheng N, Yang Y, Wang DN, Yang T and Cao W, 2016. Melatonin treatment delays postharvest senescence and regulates reactive oxygen species metabolism in peach fruit. Postharvest Biology and Technology 118: 103–110.

Hodges DM, DeLong JM, Forney CF and Prange RK, 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. Planta 207: 604–611.

Hu W, Tie W, Ou W, Yan Y, Kong H, Zuo J, Ding X, Ding Z, Liu Y and Wu C, 2018. Crosstalk between calcium and melatonin affects postharvest physiological deterioration and quality loss in cassava. Postharvest Biology and Technology 140: 42–49.

Jiang T, 2013. Effect of alginate coating on physicochemical and sensory qualities of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) under a high oxygen modified atmosphere. Postharvest Biology and Technology 76: 91–97.

Jiang YM, Duan XW, Joyce D, Zhang ZQ and Li JR, 2004. Advances in understanding of enzymatic browning in harvested litchi fruit. Food Chemistry 88: 443–446.

Khan ZU, Aisikaer G, Khan RU, Bu J, Jiang Z, Ni Z and Ying T, 2014. Effects of composite chemical pretreatment on maintaining quality in button mushrooms (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. Postharvest Biology and Technology 95: 36-41.

Lagnika C, Zhang M and Mothibe KJ, 2013. Effects of ultrasound and high pressure argon on physico-chemical properties of white mushrooms (*Agaricus bisporus*) during postharvest storage. Postharvest Biology and Technology 82: 87–94.

Li L, Kitazawa H, Zhang X, Zhang L, Sun Y, Wang X and Yu S, 2021. Melatonin retards senescence via regulation of the electron leakage of postharvest white mushroom (*Agaricus bisporus*). Food Chemistry 340: 127833.

Liu C, Zheng H, Sheng K, Liu W and Zheng L, 2018. Effects of melatonin treatment on the postharvest quality of strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology 139: 47–55.

Luo F, Cai JH, Zhang X, Tao DB, Zhou X, Zhou Q and Ji SJ, 2018. Effects of methyl jasmonate and melatonin treatments on the sensory quality and bioactive compounds of harvested broccoli. RSC advances 8(72): 41422-41431.

Ma Q, Zhang T, Zhang P and Wang ZY, 2016. Melatonin attenuates postharvest physiological deterioration of cassava storage roots. Journal of Pineal Research 60(4): 424–434.

Marino B and Hernandez A, 2014. Melatonin: plant growth regulator and or biostimulator during stress. Journal of Plant Biology 19.

Meng D, Song T, Shen L, Zhang X and Sheng J, 2012. Postharvest application of methyl jasmonate for improving quality retention of *Agaricus bisporus* fruit bodies. Journal of Agriculture of Food Chemistry 60(23): 6056-6062.

Nasiri M, Barzegar M, Sahari MA and Niakousari M, 2017. Tragacanth gum containing *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil as a natural preservative for storage of button mushrooms (*Agaricus bisporus*). Food Hydrocolloids 72 (Supplement C): 202–209.

Nguyen T, Ketsa S and van Doorn WG, 2003. Relationship between browning and the activities of polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. Postharvest Biology and Technology 30(2): 187-193.

Oms-Oliu G, Aguiló-Aguayo I, Martín-Belloso O and Soliva-Fortuny R, 2010. Effects of pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of fresh-cut mushrooms (*Agaricus bisporus*). Postharvest Biology and Technology 56(3): 216-222.

Rastegar S, Khankahdani HH and Rahimzadeh M, 2020. Effects of melatonin treatment on the biochemical changes and antioxidant enzyme activity of mango fruit during storage. Scientia Horticulturae 259: 108835

Shi H, Jiang C, Ye T, Tan DX, Reiter RJ, Zhang H, Liu R and Chan Z, 2015. Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress resistance in Bermuda grass [*Cynodon dactylon* (L). Pers.] By exogenous melatonin. Journal of Experimental Botany 66: 681–694.

Shrivas K, Agrawal K, Patel DK and Kumar A, 2005. A spectrophotometric determination of ascorbic acid. Journal-chinese chemical society Taipei 52: 503.

Singleton VL and Rossi JA, 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of Enology and Viticulture 16(3): 144-158.

Suttirak W and Manurakchinakorn S, 2010. Potential application of ascorbic acid, citric acid and oxalic acid for browning inhibition in fresh-cut fruits and vegetables. Walailak Journal of Science and Technology 7: 5-14.

Sun Q, Zhang N, Wang J, Cao Y, Li X, Zhang H, Zhang LY, Tan DX and Guo Y, 2016. A label-free differential proteomics analysis reveals the effect of melatonin on promoting fruit ripening and anthocyanin accumulation upon postharvest in tomato. Journal of Pineal Research 61: 138–153.

Tan DX, Manchester LC, Liu X, Rosales-Corral SA, Acuna-Castroviejo D and Reiter RJ, 2013. Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: A hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes. Journal of Pineal Research 54: 127–138.

Terada M, Watanabe Y, Kunitomo M and Hayashi E, 1978. Differential rapid analysis of ascorbic acid and ascorbic acid 2-sulfate by dinitrophenylhydrazine method. Analytical Biochemistry 84(2): 604-608.

Tomas-Barberan FA, Gil MI, Cremin P, Waterhouse AL, Hess-Pierce B and Kader AL, 2001. HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49: 4748–4760.

Tsai CJ, Harding SA, Tschaplinshi TJ, Lindroth RL and Yuan Y, 2006. Genome-wide analysis of the structural genes regulating defense phenylpropanoid metabolism in Populus. New Phytol 172: 47–62.

Xing Y, Li X, Xu Q, Yun J, Lu Y and Tang Y, 2011. Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). Food Chemistry 124: 1443-1450.

Zhang N, Sun Q, Li H, Li X, Cao Y, Zhang H, Li S, Zhang L, Qi Y and Ren S, 2016. Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage. Frontiers in Plant Science 7: 197.

Zhang H, Liu X, Chen T, Ji Y, Shi K, Wang L, Zheng X and Kong J, 2018. Melatonin in Apples and Juice: Inhibition of browning and microorganism growth in apple juice. Molecules 23: 521.

Zheng H, Liu W, Liu S, Liu C and Zheng L, 2019. Effects of melatonin treatment on the enzymatic browning and nutritional quality of fresh-cut pear fruit. Food chemistry 299: 125--116.

Journal of Food Research, 2022,32(3):111-128
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)

DOI: 10.22034/FR.2022.46533.1794

Effect of melatonin postharvest application on nutritional quality and shelf life of fresh-cut mushrooms

A Shekari[1], R Naghsiband Hassani[2*], M Soleimani Aghdam[3], M Rezaee[4] and A Jannatizadeh[3]

Received: June 21, 2021 Accepted: January 15, 2022

[1]Former PhD Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
[4]Assistant Professor, Seed and Plant Certification and Registration Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (areeo), Karaj, Iran
[*]Corresponding author: naghshiband@tabrizu.ac.ir

Introduction: Button mushroom (*Agaricus bisporus*) is approved in the global food market, with regards for 30% of total mushroom production in the world, and high content of bioactive constituents including vitamins, minerals, essential amino acids as well as valuable source of polysaccharide (Meng et al., 2012). The market for sliced fresh mushrooms is increasing rapidly due to consumer demand for prepared ready-to-use vegetables and convenience foods. Button mushroom was considered as a highly perishable food due to high respiration rate, and actually no natural physical barrier on its surface to protect it, which leading to texture softening, moisture loss and browning during postharvest (Brennan et al., 2000). For sliced fresh mushrooms, the shelf life is even shorter because of the effects of the washing and cutting processes. Melatonin (N-acetly-5-methoxytryptamine) is an endogenously beneficial indole amine synthesized by all cellular organisms, which can reduce the physiological detrimental effect of abiotic stresses in plants (Zhang et al., 2018). With this regard, melatonin can play prominent roles, as a highly efficient antioxidant, scavenging molecule, and as a signaling molecule in regulating or adjusting ROS scavenging enzyme activities (Zhang et al., 2018). Recently, numerous studies reported that exogenous melatonin treatment besides storage at low temperature has been improved postharvest preservation of several fruit and vegetables (Hu et al., 2018). Since there is no information about the response of fresh-cut button mushrooms to oxidative stress following exogenous melatonin treatment during postharvest cold storage, we evaluated the effects of exogenous melatonin on qualitative attributes of fresh-cut button mushroom with regard to cap browning, weight loss, membrane permeability indicators and phenol metabolism during postharvest low temperature storage.

Material and methods: Button mushrooms were selected on the basis of the uniformity of maturity and size and any mechanical wounded, and were then hand sliced using a sharp knife (4 mm wide). The sliced fresh mushrooms were immersed in 0, 1, 10, 100 and 1000 µmol/L of melatonin solution for 5 minutes at 20 ˚C, then removed from melatonin solution and air dried at room temperature for 1 hr. After that, sliced mushrooms of each replication were packed in 500g pet plastic mushroom box

(40 sliced mushrooms per box) and stored in darkness at 4 °C with 90-95% relative humidity. During storage period (5, 10 and 15 days) sliced mushroom caps per replication of each treatment were used for estimating of traits. The button mushroom weight loss was determined during storage period. To calculate the browning index (BI), photographs of edible mushroom samples were taken on sampling days and L, a and b were calculated in Photoshop software environment. Weight loss was measured according to the method of Nasiri et al (2017). A spectrophotometric procedure described by Terada et al (1978) used for the determination of ascorbic acid content. Total phenolics was measured with using the Folin–Ciocalteu reagent by Singleton and Rossi (1965) method. The texture of the mushroom cap was used to measure electrolyte leakage content and determined essentially as described by Meng et al (2012). Malondialdehyde accumulation was measured with using the thiobarbitoric acid reagent according to the method of Hodges et al (1999). DPPH radical was used to measure of scavenging activity according to the method of Dokhanieh and Aghdam (2016). The extraction and activity of PAL were determined using method described by Nguyen et al (2003). PPO was extracted using acetone according to Nguyen et al. (2003). One-way analysis of variance and Duncan's multiple range test at $P<0.05$ probability were used for multiple mean comparisons with SAS software.

Results and discussion: Our results showed that weight loss and cap browning index of fresh cut mushrooms following exogenous melatonin treatment (10 µM), was significantly declined to lower amount than the control during cold storage at 4 °C for 15 days. According to our results, exogenous melatonin treatment significantly slowed process of senescence in strawberry fruit as exhibited by reduced weight loss and cap browning softening of during storage (Liu et al., 2018). At the end of storage, application of endogenous melatonin at 100 µmol/L led to an increase in total phenol and ascorbic acid in fresh cut button mushrooms. Similar enhancements in total phenol and ascorbic acid along with quality retention have also been reported in exogenous melatonin treated of peach and strawberry fruit during storage time (GAO et al., 2016; Aghdam & Fard, 2017). In this study, exogenous melatonin treatment obviously declined the increasing rate of electrolyte leakage rate as well as MDA contents compared to the control, demonstrating that the effect of melatonin in reduction of membrane oxidative damage might lead to slow down browning and senescence in fresh cut mushrooms. In agreement with this suggestion, suppression of oxidative stress due to retarded senescence and quality deterioration has been described in melatonin treated cassava root and strawberry and pomegranate fruit (Ma et al., 2106; Liu et al., 2018). DPPH scavenging capacity of melatonin treated fresh cut mushrooms steadily remained higher than the control during cold storage. Higher phenylpropanoid pathway activity in response to exogenous melatonin treatment during storage, might lead to accumulation of phenolic compounds which in result provided free radical scavenging capacity up-regulation (Zheng et al., 2019). As shown in this study, higher PAL and lower PPO enzymes activity in fresh cut mushrooms followed by exogenous melatonin treatment, may be associated with molecular signaling of H_2O_2 pool due to enhanced NADPH oxidase enzyme activity, result in triggering phenylpropanoid pathway might lead to higher total phenol content and higher total antioxidant scavenging activity, as well membrane lipids protection from peroxidation which indicated by enhanced PAL/PPO enzymes activity accompanying with lowering cap browning (Rastegar et al., 2020).

Conclusion: In summary, results of this study revealed the functional effects of postharvest exogenous melatonin application at 10 µM in preserving fresh cut mushrooms quality by retarding senescence process in *A.bisporus* as demonstrated by attenuating weight loss and cap browning during cold storage at 4 °C for 15 days. Bioactive constituents such as ascorbic acid and total phenolics notably enhanced in response to exogenous melatonin, which is accompanied with higher PAL and lower PPO activities in melatonin treated fresh cut mushrooms during storage time. Melatonin application maintained cell membrane stability as exhibited by lowering electrolyte leakage, MDA values as well as enhancing total antioxidant activity. In short, our result showed that the exogenous

melatonin treatment can be used as a safe and beneficial method to maintain button mushrooms quality, reduce the cap browning and prolong postharvest life of mushrooms.

Key words: Fresh cut, Button mushroom, Low temperature storage, Browning, Melatonin