نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۸ شماره ۲/ سال ۱۳۹۷/ صفحات ۱۴۹ تا ۱۵۹

ارزیابی اثرات محلول پاشی اسید سالسیلیک بر فعالیت برخی ترکیبات آنتی اکسیدانی انگور رقم شاهانی (*Vitis Vinifera* L. cv Shahani)

غلامرضا گوهری[1*]، فاطمه صفایی[2]، فرزاد رسولی[1] ، محمدعلی اعظمی[1] و حبیب دواتی کاظم نیا[3]

تاریخ دریافت: ۹۶/۸/۳ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۶

[1] استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

[2] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

[3] مربی گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[*] مسئول مکاتبه: Email: gholamreza.gohari@gmail.com

چکیده

انگورهای بنفش رنگ هم‌چون رقم شاهانی به علت غنی بودن از ترکیبات آنتی‌اکسیدان و تولید مقادیر زیادی آنتوسیانین از ارزش غذایی بالایی برخوردار هستند، همچنین اسید سالیسیلیک به عنوان یک تنظیم کننده‌ی رشد گیاهی با افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی باعث افزایش محتوای ترکیبات ضد سرطان در بافت‌های گیاهی می‌شود. به منظور بررسی تاثیر سطوح مختلف محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک بر ویژگی‌های کیفی و فعالیت برخی ترکیبات آنتی اکسیدانی انگور، بوته‌های انگور رقم شاهانی از یک باغ مناسب در اطراف مراغه انتخاب و برای هر تیمار پنج گیاه انگور تقریبا یکنواخت علامت‌گذاری شد. این آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و با سه تکرار در چهار سطح تیماری (صفر، نیم، یک و دو میلی مولار) اسید اسید سالیسیلیک انجام گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که در طول دوره‌ی محلول‌پاشی با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از صفر به دو میلی مولار، محتوای فنل برگ و میوه، ویتامین ث، اسیدیته قابل تیتراسیون و آنتوسیانین کل افزایش یافتند. در عین حال بیشترین مقدار آنتی اکسیدان کل در غلظت دو میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۱۸درصد افزایش نشان داد. اسید سالیسیلیک به صورت معنی‌داری سبب کاهش قند محلول کل شد ($P\leq ۰/۰۵$)، در حالی‌که هیچ اثرمعنی‌داری برفلاونویید میوه و کاروتنویید کل نداشت ($P\leq ۰/۰۵$). در مجموع کاربرد اسید سالیسیلیک یک روش مناسب برای افزایش جنبه‌های مختلف کیفی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه انگور است که با تحریک سیستم‌های دفاعی موجب افزایش ترکیبات ضد سرطان هم‌چون آنتوسیانین در بافت میوه انگور شده که از دیدگاه تغذیه‌ای و سلامت بسیار حایز اهمیت می‌باشد.

واژگان کلیدی: انگور، شاهانی، اسید سالیسیلیک، کیفیت میوه، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

انگور(*Vitis vinifera*) گیاهی چندساله از تیره Vitaceaeمی‌باشد که از زمان‌های بسیار قدیم مورد استفاده‌ی بشر قرار گرفته است و از نظر میزان تولید و سطح زیر کشت، یکی از مهم‌ترین میوه‌های دنیا و ایران است بطوری‌که ایران در رتبه هفتم تولید انگور دنیا قرار

دارد (فائو ۲۰۱۶). در این میان انگورهای بنفش رنگ هم‌چون رقم شاهانی به علت غنی بودن از ترکیبات آنتی-اکسیدان و تولید مقادیر زیادی آنتوسیانین از ارزش غذایی بالاتری برخوردار هستند زیرا این ترکیبات جزو مواد شناخته شده و مهم در زمینه پیش‌گیری از انواع سرطان هستند (ایشمایل ۲۰۱۲). آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیب-هایی هستند که به‌طور مؤثر می‌توانند از اکسایش ماکرو مولکول‌هایی نظیر لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک جلوگیری نمایند. عمل فوق از طریق مهار مرحله شروع یا مرحله گسترش واکنش‌های زنجیره‌ای اکسایش یا تولید رادیکال‌های آزاد صورت می‌گیرد (شارما و همکاران ۲۰۱۲). اسید سالیسیلیک یکی از هورمون‌های گیاهی و جزء ترکیبات فنلی است که در همه اندام‌های گیاهی وجود دارد و هنگامی‌که گیاه با تنش-های زیستی و غیرزیستی مواجه می‌شود، غلظت این هورمون افزایش یافته ومنجر به افزایش مقاومت در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌گردد (حیات و احمد ۲۰۰۷). هوانگ و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که اسید سالیسیلیک برخی از سیستم‌های دفاعی را تحریک می‌کند و بیوسنتز ترکیبات تغذیه‌ای نظیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد و تجمع ترکیبات فعال بیولوژیکی نظیر میزان فنول کل و فلاونوئید کل، اسید آسکوربیک و گلوتاتیون را موجب می‌شود. اسید سالیسیلیک به طور وابسته به غلظت باعث کاهش سرعت تنفس و تأخیر در بروز اوج فرازگرایی در میوه‌ها می‌گردد. به‌طور کلی سالیسیلات‌ها با کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره سلولی مانند پلی گالاکتروناز و پکتین متیل استراز موجب افزایش سفتی میوه و با کاهش تنفس میوه موجب به حداقل رسیدن کاهش وزن و با کاهش فعالیت آنزیم-های دخیل در بیوسنتز اتیلن موجب کاهش اتیلن و در حالت کلی موجب به تاخیر انداختن رسیدن میوه و افزایش عمر انبارمانی آن می‌گردد (اصغری و اقدم، ۲۰۱۰). هم‌چنین کاربرد اسید سالیسیلیک نقشی اساسی و ضروری در کنترل کیفیت حبه‌های انگور مثل رنگ، طعم، گسی و شیرینی داشته (چامخا و همکاران ۲۰۰۳) و سبب افزایش اندازه، وزن و سفتی حبه‌ها می‌گردد (شفیعی و همکاران ۲۰۱۰). علاوه بر این اسید سالیسیلیک ضمن افزایش آنتوسیانین باعث تجمع مقادیر فراوانی از سایر ترکیبات فنلی در میوه‌های انگور می‌شود و خواص آنتی‌اکسیدانی میوه را افزایش می‌دهد (روبلاکیس و کلیور، ۱۹۸۶). کاربرد پس از برداشت اسید سالیسیلیک موجب تجمع پروتئین‌های آنتی اکسیدانی و تجمع ترکیبات فعال بیولوژیکی نظیر میزان فنل کل و فلاونوئید کل، اسید اسکوربیک و گلوتاتیون را در انگورموجب می‌شود (رنجبران و همکاران ۲۰۱۱). از این رو پژوهش حاضر جهت بررسی اثرات مثبت اسید سالیسیلیک بر ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی و ویژگی‌های کیفی انگور رقم شاهانی در طول دوره‌ی محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور انجام آزمایش از درختان استاندارد انگور رقم شاهانی (۸ ساله) با هدایت داربستی و روسیمی از یک باغ مناسب در اطراف شهرستان مراغه استفاده گردید. از درختان موجود در باغ، ۶ ردیف درخت به تعداد ۲۴ بوته انتخاب شد، به طوریکه برای هر تیمار با سه تکرار ۶ بوته انگور یکنواخت علامت گذاری شد. گیاهان انتخاب شده جهت اعمال تیمارها اتیکت‌زنی شدند و در ابتدای مرحله رنگ‌گیری حبه‌ها و به فاصله ۷ روز محلول‌پاشی با غلظت‌های صفر، نیم، یک و دو میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در سه مرحله انجام شد. از ترکیب خیساننده تجاری توین ۲۰ پلی سوربات شرکت مرک آلمان نیز جهت افزایش جذب ترکیبات به کار رفته بر روی میوه‌ها استفاده شد. برای اندازه گیری صفات مورد مطالعه در طرح از هر تیمار آزمایشی به طور تصادفی نمونه برداری انجام شد به طوری که برای هر تیمار سه تکرار برداشت شد.

اسید کل

برای اندازه گیری اسید کل از روش تیتراسیون بامحلول ۰/۱نرمال$NaOH$ تا رسیدن به pH ۸/۲ استفاده شد و نتایج بر حسب گرم اسید تارتاریک (اسید غالب انگور) در ۱۰۰ گرم بیان شد (چمراوغلو، ۱۹۹۲).

ویتامین ث

جهت اندازه گیری مقدار ویتامین ث از روش یدومتری استفاده شد و مقدار ویتامین ث برحسب میلی گرم اسید اسکوربیک در ۴۷۷ گرم نمونه اندازه‌گیری شد (سی یوری ۲۰۰۷).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

این روش بر اساس توانایی عصاره انگور در دادن الکترون یا هیدروژن به رادیکال آزاد DPPH و در نتیجه مهار رادیکال آزاد DPPH استوار است که بر اساس روش دهقان و خوشکام (۲۰۱۲) انجام گرفت. ابتدا محلول ۰/۱ میلی مولار از DPPH تهیه شد، به این ترتیب که ۳۹/۳۴ میلی گرم DPPH در ۱۰۰ میلی لیتر متانول مطلق حل شد. سپس چهار حجم مختلف از عصاره‌ها (۳۰، ۵۰، ۷۰ و ۱۰۰ میکرولیتر) به محلول DPPH اضافه شد به طوری که حجم نهایی یک میلی لیتر شد. جذب آن بعد از ۱۰ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانو متر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Specord 210 شرکت Analytik Jena، ساخت آمریکا قرائت گردید. برای مقایسه جذب نمونه‌ها از محلول DPPH استفاده گردید. محلول DPPH بدون عصاره در این مدت بدون تغییر رنگ باقی می‌ماند ولی رنگ محلول DPPH حاوی عصاره گیاهی به مرور زمان کم شده و مقدار جذب آن در مقایسه با محلول DPPH کاهش می‌یابد. هر چقدر قدرت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها بیشتر باشد کاهش رنگ نیز بیشتر خواهد بود. فعالیت جمع‌آوری رادیکال DPPH بر اساس درصد رادیکال جمع‌آوری شده [۲](RSA) با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید:

$$RSA\ \% = \frac{100\ (A_C - A_S)}{A_C}$$

AS: جذب نمونه حاوی عصاره AC : جذب کنترل

مواد جامد محلول کل[۳](TSS)

جهت اندازه گیری میزان مواد جامد محلول کل از عصاره صاف شده میوه‌ها استفاده شد. میزان مواد جامد محلول (بریکس) با دستگاه رفراکتومتر[۴]مدل PAL-1 محصول شرکت Atago ژاپن اندازه گیری گردید. دستگاه ابتدا با آب مقطر کالیبره شد و سپس چند قطره از عصاره میوه در عدسی دستگاه قرار داده شد و میزان مواد جامد محلول آن بر حسب درجه بریکس تعیین گردید.

محتوی فنل کل

محتوای فنل کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتو (Folin–Ciocalteau's) (سینگلتون و روسی ۱۹۶۵) اندازه‌گیری گردید. برای این منظور ۰/۱ میلی لیتر از نمونه‌های رقیق شده همراه ۲ میلی لیتر (2% W/V) در لوله آزمایش ریخته شد و به مدت دو دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شد. سپس ۰/۱ میلی لیتر از واکنش‌گر فولین سیوکالتو (۵۰ درصد) به آن اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی نگه‌داری شد و سپس میزان جذب آن در طول موج ۷۲۰ نانو متر خوانده شد. برای به دست آوردن منحنی کالیبراسیون از اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده شد به طوری که غلظت های مختلف آن به جای نمونه ها ریخته و میزان جذب آن ها در طول موج ۷۲۰ نانو مترخوانده شد و منحنی بر اساس میزان جذب در غلظت های مشخص رسم گردید.

محتوای فلاونوئید کل

محتوای فلاونوئید کل[۵](TFC) عصاره‌ها با روش ارائه شده توسط کاجیو و همکاران (۲۰۰۶) اندازه گیری شد. برای این منظور، بر روی ۰/۲۵ میلی لیتر از نمونه‌ها با رقت مناسب، ۷۵ میکرو لیتر $NaNO_2$ (۵٪ W/V) و ۰/۱۵ میلی‌لیتر $AlCl_3$ (۱۰٪ جرمی/حجمی) و ۰/۵ میلی لیتر NaOH (یک مولار) اضافه شد و با افزودن آب مقطر حجم نهایی به ۲/۵ میلی‌لیتر رسید. جذب محلول پس از ۵ دقیقه در طول موج ۵۰۷ نانو مترخوانده شد. جهت به دست آوردن منحنی کالیبراسیون از کرستین[۶] به عنوان استاندارد استفاده شد. به طوری که غلظت های مختلف آن (۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵، و ۱ میلی‌مولار) به جای نمونه

۱ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

۲- Radical scavenging activity

3- Total Soluble Solid

4- Refractometer

۵ Total flavonoid content

۶ Quercetin

ها ریخته و میزان جذب آن ها در طول موج ۵۰۷ نانو مترخوانده شد و منحنی بر اساس میزان جذب در غلظت-های مشخص رسم گردید.

آنالیز آماری

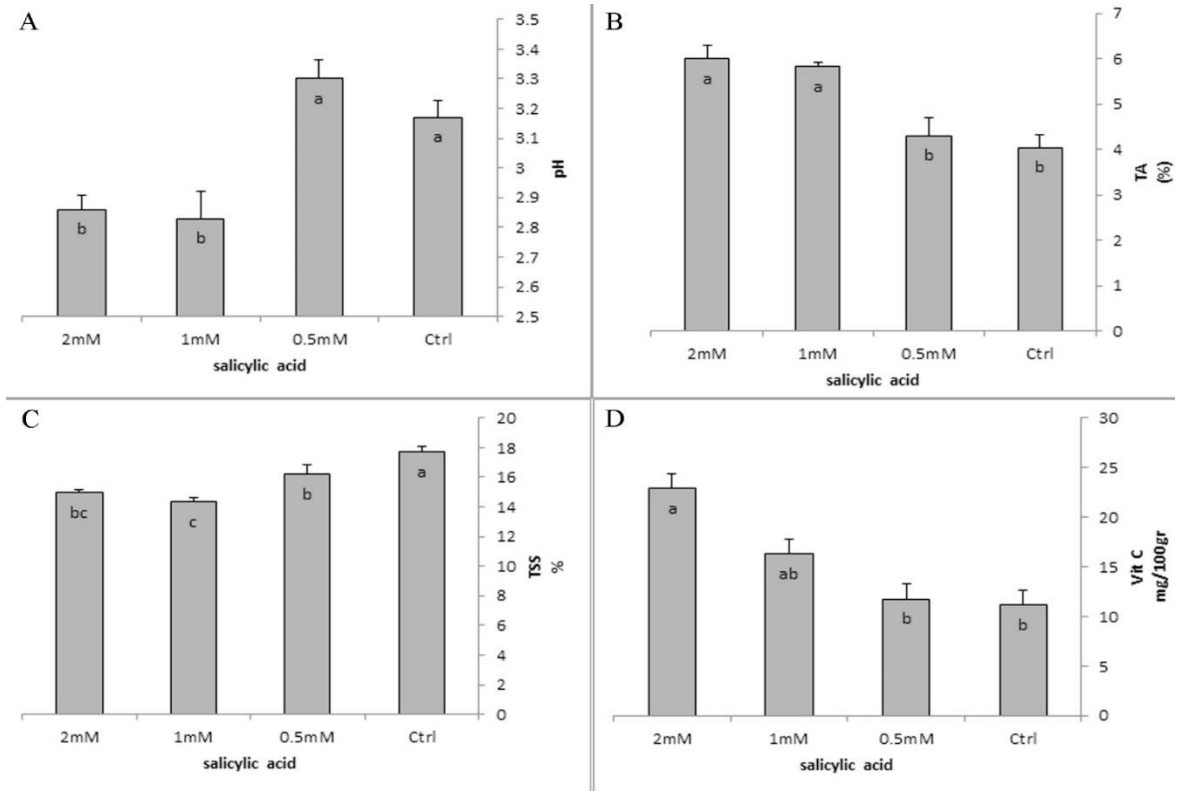
طرح آزمایشی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و با سه تکرارانجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها پس از کنترل مفروضات تجزیه واریانس، شامل نرمال بودن توزیع خطای آزمایشی با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (Ver, 20) انجام شده و مقایسه بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

نتایج وبحث

صفات مربوط به کیفیت میوه

pH:

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مذکور نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر تغییراتpH حبه‌های انگور در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود، به طوری‌که تیمار با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بیشترین pH را داشت که اختلاف معنی‌داری با سطح شاهد نداشت و تیمار یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک دارای کمترین pH که اختلاف معنی-داری با سطح دو میلی مولار نشان نداد (شکل۱-A).



شکل۱- تاثیر غلظت‌های مختلف اسید سالسیلیک بر pH (A)، اسید کل TA (B)، محتوای مواد جامد محلول TSS (C) و میزان ویتامین ث (D) حبه‌های انگور رقم شاهانی

(حروف مختلف نشان‌دهنده درجه معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد).

اسید کل (TA)

براساس نتایج بدست آمده اثر غلظت‌های اسید سالیسیلیک بر تغییرات اسیدیته کل معنی‌داری بود

($P\leq$۰/۰۵). اسیدیته کل روند مشخصی را طی کرده به طوری‌که کمترین میزان اسیدیته کل به ترتیب در تیمارهای شاهد و ۰/۵میلی مولار مشاهده گردید، با این حال اختلاف معنی‌داری بین این دو تیمار مشاهده نگردید. هم‌چنین بیشترین میزان اسیدیته کل در میوه‌های تیمار شده با ۱و۲میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت (شکل۱-B). اسیدیته کل میوه‌ها با میزان اسیدهای آلی آن‌ها ارتباط مستقی‌می‌دارد و به طور معمول اسیدیته کل میوه‌ها در طول فرآیند رسیدگی کاهش می‌یابد. کاظمی و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که تیمار میوه‌های کیوی که با اسید سالیسیلیک تیمار شده بودند اسیدیته بیشتری را نسبت به شاهد حفظ کردند. به طور مشابه تیمار قبل و پس از برداشت با اسید سالیسیلیک در آناناس اسیدیته بیشتری را نسبت به شاهد حفظ کرد (لو و همکاران ۲۰۱۱). علاوه بر این اسیدهای آلی در طی فرآیند رسیدگی به عنوان سوبسترای تنفسی مصرف شده و مقدار آن کاهش می‌یابد. بنابراین هر عاملی که سبب کاهش تنفس گردد از کاهش میزان اسیدیته کل جلوگیری می‌کند. اسید سالیسیلیک میزان تنفس را در بافت میوه-های موز و هلوکاهش داده و بروز نقطه اوج فرازگرایی را به تاخیر می‌اندازد (سیرواستاوا و دیویدی ۲۰۰۰). بنابراین مصرف اسیدهای آلی به عنوان سوبسترای تنفسی در میوه‌های تیمار شده با اسید سالیسیلیک کاهش می‌یابد، در نتیجه میوه‌های تیمار شده اسیدیته کل بالاتری را نشان می‌دهند. ژنگ و ژانگ (۲۰۰۴) و والرو و همکاران (۲۰۱۱) نیز نقش اسید سالیسیلیک را در جلوگیری از کاهش اسیدیته کل موثر گزارش کردند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت می‌کند.

مواد جآمد قابل حل در آب (TSS)

براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر تغییرات TSS اثر معنی داری در سطح ۵ درصد داشت و با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک روند نزولی ایجاد گردید، به طوریکه بیشترین مقدارTSS در تیمار شاهد مشاهده شد، هم‌چنین اختلاف معنی‌داری میان سه سطح دیگر مشاهده نگردید (شکل۱-C). TSS و قندهای محلول به خاطر فعالیت آنزیم ساکارز فسفات سینتاز (آنزیم کلیدی در بیوسنتز ساکارز) در طول رسیدگی میوه افزایش می‌یابد (هوبارد ۱۹۹۱). تیمار محصولات برداشت شده با سالیسیلات باعث به تاخیر انداختن فرآیند رسیدن میوه‌ها می‌گردد به این صورت که سرعت متابولیسم محصول برداشت شده را کاهش می-دهد. تیمار محصول برداشت شده با متیل سالیسیلات (MeSA) باعث کاهش روند افزایشی TSS در طول دوره انبارمانی می‌گردد که احتمالاً به دلیل کاهش بیوسنتز اتیلن و بازداری از فعالیت آنزیم ساکارز فسفات سینتاز می‌باشد. علاوه بر این دیواره سلولی حاوی مقدار زیادی از پلی‌ساکاریدها مخصوصاً پکتین و سلولز می‌باشد که در اثر فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره سلولی تجزیه شده و منجر به افزایش مقدار TSS می‌گردد، بنابراین هر عاملی که از فعالیت این آنزیم‌ها جلوگیری کند منجر به جلوگیری از افزایش TSS می‌گردد (اصغری و اقدم ۲۰۱۰). نقش اسید سالیسیلیک در جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره نظیر پلی گالاکتوروناز، سلولاز و پکتین متیل استراز در چندین تحقیق گزارش شده‌است (سیرواستاوا و دیویدی ۲۰۰۰). مو و همکاران (۲۰۰۸) در سیب شکری اثر غلظت ۰/۸ و ۱/۲ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک را در جلوگیری از افزایش TSS موثرتر بیان کردند. این محققان جلوگیری از افزایش TSS را به جلوگیری از تجزیه نشاسته توسط اسید سالیسیلیک نسبت دادند.

ویتامین ث

نتایج حاکی از آن است که غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک برتغییرات ویتامین ث اثرمعنی‌داری داشت ($P\leq$۰/۰۵). در روند افزایشی شکل (۱-D) بیشترین محتوای ویتامین ث درتیمار۲ میلی مول اسید سالیسیلیک مشاهده شد. هم‌چنین اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در دو غلظت ۰/۵ و یک میلی مول اسید سالیسیلیک معنی-دار نبود. غلظت ROSها در طی فرآیند رسیدن میوه‌ها در اثر افزایش متابولیسم اکسیداتیو افزایش می‌یابد و می-تواند موجب ایجاد خسارت به غشاهای زیستی گردد. برای جلوگیری از ایجاد خسارت توسطROS ها گیاهان

و یا میوه‌ها از استراتژی توسعه سیستم آنتی اکسیدانی بهره می‌گیرند (اسپیناردی ۲۰۰۵). اسید اسکوربیک (AA) با کاهش پراکسید هیدروژن، سلول را از صدمات گونه-های فعال اکسیژن حفاظت می‌کند (داوی و همکاران ۲۰۰۰). بدن انسان قادر به سنتز اسید اسکوربیک نمی-باشد اما میوه‌ها و سبزی‌ها منبع اصلی تامین اسید اسکوربیک برای انسان می‌باشند. علاوه بر این، آنزیم آنتی اکسیدان آسکوربات پراکسیداز [۱] (APX) برای واکنش کاتالیزی خود از اسید اسکوربیک به عنوان کوفاکتور استفاده می‌کند (نیشیکاوا و همکاران ۲۰۰۳). رائو و همکاران (۲۰۱۱) افزایش تدریجی فعالیت آنزیم اسیداسکوربیک اکسیداز را در طول دوره انبارداری فلفل نشان دادند. این محققان جلوگیری از فعالیت آنزیم اسید اسکوربیک اکسیداز را پس از تیمار با اسید سالیسیلیک (مخصوصاً غلظت ۱ میلی‌مولار) گزارش کردند ولی با افزایش مدت انبارمانی تاثیر بازدارندگی اسید سالیسیلیک بر آنزیم AAO [۲] کاهش می‌یابد. بنابراین جلوگیری از کاهش ویتامین ث پس از تیمار با اسید سالیسیلیک را می‌توان به نقش اسید سالیسیلیک در جلوگیری از فعالیت این آنزیم نسبت داد. هوانگ و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که سطوح اسید اسکوربیک در گوشت میوه پرتقال ناول تیمار شده با اسید سالیسیلیک بالاتر از شاهد می-باشد آن‌ها پیشنهاد کردند که تیمار اسید سالیسیلیک موجب انتقال Ca^{2+} از واکوئل و فضای بین سلولی به سیتوزول شده و غلظت Ca^{2+} سیتوزولی را افزایش می-دهد. افزایش Ca^{2+} سیتوزولی از طریق بالا بردن فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز [۳] (GR) می‌تواند فعالیت سیستم GR/APX [۴] را افزایش داده و منجر به افزایش نسبت AA/DHAA و GSH/GSSG [۶] در میوه‌های تیمار شده با اسید سالیسیلیک می‌گردد.

محتوای فنل میوه و برگ

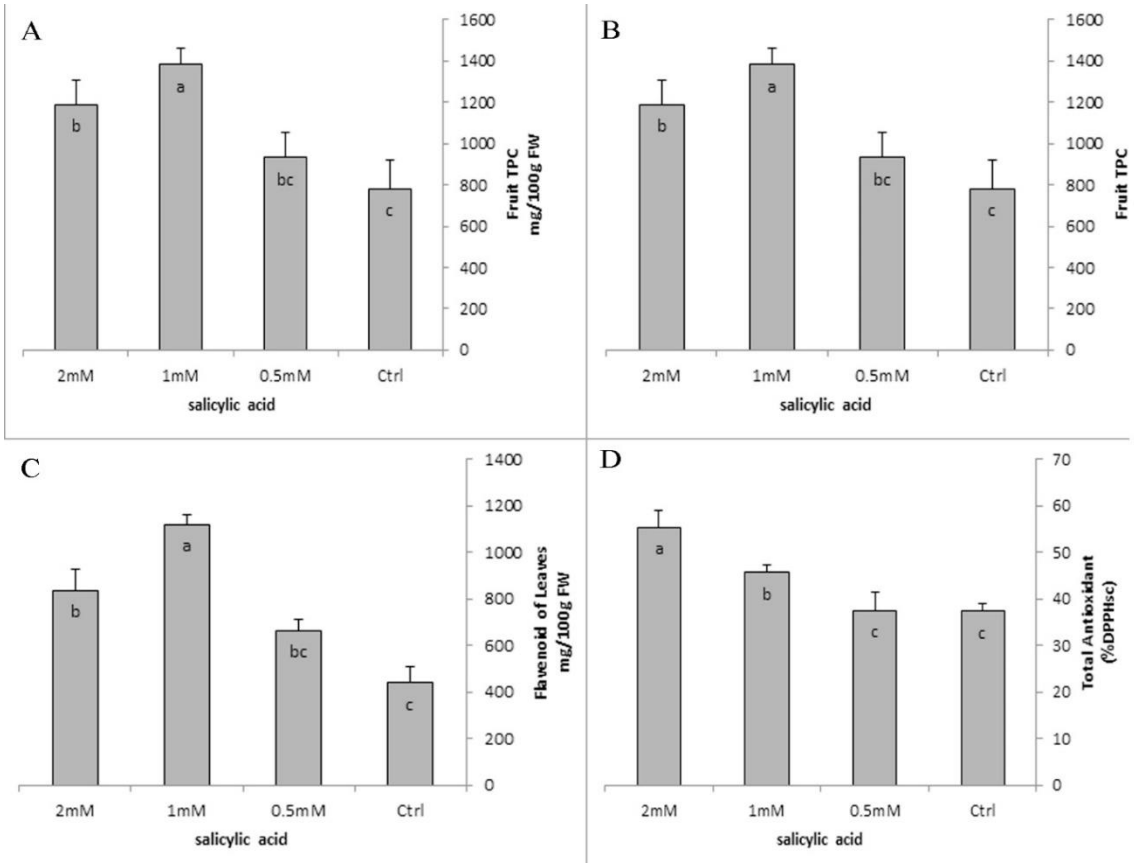
نتایج نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک برتغییرات فنل میوه در سطح ۵ درصد معنی دار بود. هم‌چنین فنل میوه روند مشخصی را طی نکرده است، به طوریکه بیشترین فنل میوه در غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد و کمترین میزان آن در تیمار شاهد یافت شد که اختلاف معنی‌داری با سطح ۰/۵ میلی مولار اسید سالیسیلیک نداشت. طبق نتایج بدست آمده اثر اسید سالیسیلیک برمحتوای فنل برگ‌های انگورمعنی دار بود ($P\leq$۰/۰۵). بیشترین فنل برگ مربوط به غلظت یک میلی مولار اسید سالیسیلیک بود. سپس با افزایش سطح تیمار تا غلظت ۲میلی مولار محتوای فنل برگ کاهش یافته و اختلاف ان با تیمار ۰/۵میلی مولار معنی‌دار نبود (شکل۲-A و B).

محتوای فلاونوئید میوه و برگ

مقایسه میانگین نتایج بدست آمده از محتوای فلاونوئید حبه‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود ندارد لذا چنین به نظر می‌رسد که محلول‌پاشی گیاهان با اسید سالیسیلیک با غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ می‌مولار) تغییر معنی‌داری در سطوح فلاونوئید حبه‌ها ندارد. نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که تاثیر کاربرد اسید سالیسیلیک در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان فلاونویید برگ معنی‌دار بود. با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک میزان فلاونویید برگ به طور معنی‌داری افزایش یافت، به طوری‌که کمترین میزان کاهش فلاونویید برگ در میوه‌های تیمار شده با غلظت۱میلی مولار اسید سالیسیلیک و بیشترین میزان کاهش فلاونویید برگ در میوه‌های شاهد مشاهده شد (شکل۲-C). افزایش معنی-دار فلاونوئیدها در طول ۱۰۵ روز دوره انبارداری در پوست و گوشت پرتقال ناول توسط هووانگ و همکاران (۲۰۰۸) گزارش شده است. با توجه به این که فلاونوئیدها بیشتر در داخل واکوئل سلول‌ها تجمع می‌یابند و با پیر شدن میوه‌ها قابلیت نفوذ پذیری غشاءها و فعالیت آنزیم-های متصل به غشاء دچار تغییر اساسی می‌گردد که این عمل موجب تجمع مواد س‌می‌حد واسط در داخل سلول‌ها شده که در اثر آن سلول‌های گیاهی با تنش‌های فیزیولوژیک مواجه می‌گردد و سطوح و فعالیت PAL بالا رفته و منجر به تولید فلاونوئیدها می‌گردد در نتیجه

۱- Ascorbate Peroxidase
2- Ascorbic acid oxidase
3- Glutathione reductase
4- Ascorbate peroxidase
5- Reduced glutathione
6- Oxidized glutathione

سطوح فلاونوئیدها در طول دوره انبارداری بالا می‌رود (هووانگ و همکاران ۲۰۰۸). چن و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که اسید سالیسیلیک می‌تواند با افزایش تجمع mRNA ی PAL و با سنتز پروتئین جدید PAL سبب فعال سازی هرچه بیشتر PAL و در نتیجه سبب افزایش تولید فنل‌ها و فلاونوئیدها می‌گردد.



شکل۲- تاثیر غلظت‌های مختلف اسید سالسیلیک بر فنل کل میوه (A)، فنل کل برگ (B)، فلاونوئید برگ (C) و محتوای آنتی اکسیدانت کل (D) حبه‌های انگور رقم شاهانی

(حروف مختلف نشان‌دهنده درجه معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد).

محتوای ترکیبات آنتی اکسیدان کل

نتایج حاصل ازاین تحقیق نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی ناشی از اثر اسید سالیسیلیک در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار ۲ میلی مولار و کمترین در تیمارهای شاهد و ۰/۵ میلی مولار مشاهده گردید (شکل۲-D). این در حالی است که اختلاف معنی‌داری میان شاهد و غلظت ۰/۵ میلی مولار اسید سالیسیلیک وجود نداشت. گزارش‌های مختلفی نقش اسید سالیسیلیک را در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در میوه-هایی نظیر موز، سیب دارچینی و انبه به اثبات رسانده است (مو و همکاران ۲۰۰۸) که می‌تواند سبب افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها گردد. در به ژاپنی[1] و کیوی کاربرد استیل سالیسیلیک اسید افزایش فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز را به تاخیر می‌اندازد و منجر به کاهش تولید رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید گردید در نتیجه تخریب آنتی‌اکسیدان‌ها توسط این رادیکال‌ها کاهش یافته و سطح مواد آنتی‌اکسیدانی در سطح بالایی حفظ گردید (کای و همکاران ۲۰۰۶). دخانیه و همکاران

1- Ioquat

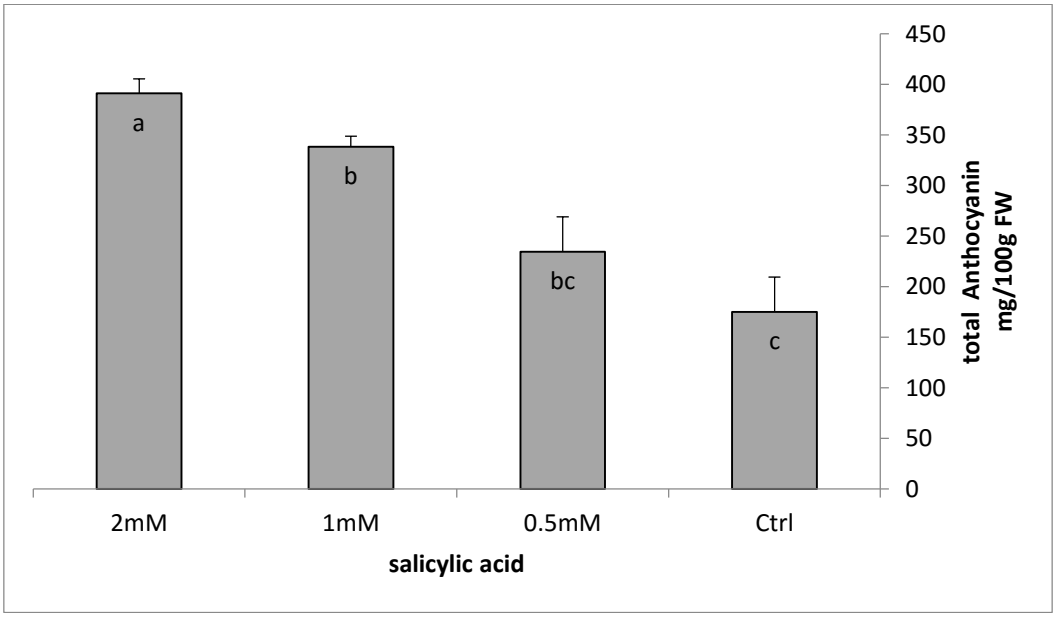
(۲۰۱۳) نیز نقش اسید سالیسیلیک ۱ میلی مولار را در افزایش قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH موثرتر از ۲ میلی مولار بیان کردند. این محققان نشان دادند که تیمار اسید سالیسیلیک افزایش معنی‌دار محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین و اسید آسکوربیک را موجب شده در نتیجه افزایش قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نیز به خاطر افزایش مواد آنتی‌اکسیدانی در اثر تیمار اسید سالیسیلیک می‌باشد.

کارتنوئید کل

مقایسه میانگین نتایج بدست آمده از محتوای کارتنوئید کل درحبه‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود ندارد لذا چنین به نظر می‌رسد که محلول‌پاشی گیاهان با SA با غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی مولار) تغییر معنی‌داری در سطوح کارتنوئید کل حبه‌ها ندارد.

محتوای آنتوسیانین کل میوه

نتایج نشان داد که کاربرداسید سالیسیلیک در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان آنتوسیانین کل معنی‌دار بود، به طوری‌که بیشترین و کمترین میزان آنتوسیانین به ترتیب در تیمار شاهد و میوه‌های تیمار شده با غلظت۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد. هم‌چنین بین میوه‌های تیمار شده با غلظت ۰/۵ و ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش می‌توان گفت که تیمار اسید سالیسیلیک اثرات مثبتی بر میزان آنتوسیانین کل و در نتیجه روند رنگ‌گیری حبه‌های انگور دارد (شکل ۳). اسید سالیسیلیک ضمن افزایش آنتوسیانین باعث تجمع مقادیر فراوانی از سایر ترکیبات فنلی در میوه‌های انگور می‌شود و خواص آنتی‌اکسیدانی میوه را افزایش می‌دهد (روبلاکیس و کلیور، ۱۹۸۶).



شکل۳- تاثیر غلظت‌های مختلف اسید سالسیلیک بر آنتوسیانین کل حبه‌های انگور رقم شاهانی

(حروف مختلف نشان دهنده درجه معنی داری در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد).

نتیجه گیری کلی

نتایج آزمایش نشان داد که در طول دوره‌ی محلول‌پاشی با افزایش غلظت اسیدسالیسیلیک، محتوای فنل برگ و میوه، ویتامین ث، اسیدیته قابل تیتراسیون و میزان آنتوسیانین کل افزایش یافتند. در عین حال بیشترین مقدار آنتی اکسیدان کل درغلظت ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد (صفر میلی مولاراسید سالیسیلیک) ۱۸درصد افزایش نشان داد. محلول‌پاشیاسید سالیسیلیک به‌صورت معنی‌داری سبب کاهش قند محلول کل شد ($P\leq ۰/۰۵$)، در حالی‌که هیچ

اثرمعنی‌داری برفلاونویید میوه و کاروتنویید کل نداشت ($P\leq ۰/۰۵$). با توجه به نتایج پژوهش حاضر، کاربرد اسید سالیسیلیک یک روش مناسب برای افزایش جنبه‌های مختلف کیفی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه انگور است که سبب تحریک سیستم‌های دفاعی گشته و عملکرد بیولوژیکی نظیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری و مساعدت‌های مدیریت پژوهش و فناوری دانشگاه مراغه در تامین هزینه‌های انجام این طرح، صمیمانه قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

Asghari M and Aghdam MS, 2010. Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. Trends in Food Science and Technology 21: 502–509.

Cai C, Li X and Chen KS, 2006. Acetylsalicylic acid alleviates chilling injury of postharvest loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit. European Food Research and Technology 223: 533–539.

Chamkha M, Cathala B, Cheynier V and Douillard R, 2003. Phenolic composition of champagnes from Chardonnay and Pinot Noir vintages. Journal of Agriculture and Food Chemistry 51:3179-3185.

Cemeroglu B, 1992. Basic analysis methods in fruit and vegetable processing industry. Biltav University Books Series. Ankara, pp. 381.Chen THH and Murata N, 2002. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. Current Opinion in Plant Biology 5: 250-257.

Cioroi M, 2006. Analytical Chemistry, Gravimetry and Volumetry. Ars Docenti: Bucharest. pp 23-41.

Dehghan G and Khoshkam Z, 2012. Tin(II)-quercetin complex synthesis spectral characterization and antioxidant activity. Food Chemistry 131: 422-427.

Dokhanieh AY, Aghdam MS, Rezapour JF and Hassanpour H, 2013. Postharvest salicylic acid treatment enhances antioxidant potential of cornelian cherry fruit. Scientia Horticultura 154: 31–36.

FAOSTAT, 2016. FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved from http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/ download/Q/QC/E

Hayat S and Ahmad A, 2007. Salicylic acid a plant hormone. Department of Botany Aliga Muslim University. Springer, India.

Huang R, Xia R, Lu Y, Hu L and Xu Y, 2008. Effect of pre-harvest salicylic acid spray treatment on post-harvest antioxidant in the pulp and peel of ‘Cara cara’ navel orange (*Citrus sinenisis* L. Osbeck). Journal of the Science of Food and Agriculture 88: 229–236.

Hubbard NL, Pharr DM and Huber SC, 1991. Sucrose phosphate synthase and other sucrose metabolizing enzymes in fruit of various species. Plant Physiology 82: 191–196.

Ishmael SM, Soltan SSA, Selim Ak and Ahmed MH, 2012. Phenolic compounds and antioxidant activity of white, red, black grape skin and white grape seeds. Life Science Journal 9: 3464-3474.

Kaijv M, Sheng L and Chao C, 2006. Antioxidatioan of flavonoids of green rhizome. Food Science 27: 110-115.

Kazemi M, Aran M and Zamani S, 2011. Effect of calcium chloride and salicylic acid treatment on quality characteristics of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward) during storage. American Journal of Plant Physiology 6: 183–189.

Lu X, Sun D, Li Y, Shi W and Sun G, 2011. Pre and postharvest salicylic acid treatments alleviate internal browning and maintain quality of winter pineapple fruit. Scientia Horticultura 130: 97–101.

Mo Y, Gong D, Liang G, Han R, Xie J and Li W, 2008. Enhanced preservation effects of sugar apple fruits by salicylic acid treatment during post-harvest storage. Journal of the Science of Food and Agriculture 88: 2693–2699.

Nishikawa F, Kato M, Hyodo H, Ikoma Y, Sugiura M and Yano M, 2003. Ascorbate metabolism in harvested broccoli. Journal of Experimental Botany 54: 2439-2448.

Ranjbaran E, Sarikhani H, Wakana A and Bakhshi D, 2011. Effect of salicylic acid on storage life and postharvest quality of grape (*Vitis vinifera* L. cv. Bidaneh Sefid). Journal Faculty of Agriculture Kyushu University 56:263-274.

Rao TVR, Gol NB and Shah KK, 2011. Effect of postharvest treatments and storage temperatures on the quality and shelf life of sweet pepper (*Capsicum annum* L). Scientia Horticaltura, 132: 18–26.

Roubelakis-Angelakis KA and Kliewer WM, 1986. Effects of exogenous factors on phenylalanine ammonia-lyase activity and accumulation of anthocyanins and total phenolics in grape berries. American journal of enology and Viticulture 37: 275-280.

Shafiee M, Taghavi TS and Babalar M, 2010. Addition of salicylic acid to nutrient solution combined with postharvest treatments (hot water, salicylic acid, and calcium dipping) improved postharvest fruit quality of strawberry. Scientia Horticultura 124:40-52.

Sharma p, Bhushan Jha A, Shanker Dubey R and Pessarakli M, 20112. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany 10: 21-47.

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

Spinardi AM, 2005. Effect of harvest date and storage on antioxidant systems in pears. Acta Horticultura 682: 655-662.

Srivastava MK and Dwivedi UN, 2000. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. Plant Science 158: 87–96.

Valero D, Diaz-Mula HM, Zapata PJ, Castillo S, Guillen F, Martinez-Romero D and Serrano M, 2011. Postharvest treatments with salicylic acid acetylsalicylic acid or oxalic acid delayed ripening and enhanced bioactive compounds and antioxidant capacity in sweet cherry. Journal of Agriculture and Food Chemistry 59: 5483–5489.

Zheng Y and Zhang Q, 2004. Effect of polyamines and salicylic acid on postharvest storage of ‘Ponkan’ mandarin. Acta Horticultura 632: 317–320.

Effects of salicylic acid on some antioxidant content activity in grape (*Vitis vinifera* L. cv. Shahan)

GR Gohari[1]*, F Safai[2], F Rasouli[1], MA Azami[1] and H Davati-Kazemnia[3]

Received: October 25, 2017 Accepted: January 26, 2018
[1]Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
[2]MSc Student. Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
[3]Lecturer, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[*]Corresponding author: E mail: gholamreza.gohari@gmail.com

Abstract
Salicylic acid (SA) an endogenous plant growth regulator, has been found to generate a wide range of metabolic and physiological responses in plants thereby affecting their growth and development. The aim of this study was evaluation the effect of different levels of Salicylic acid foliar application on quality and some antioxidant activity of *Vitis vinifera* L. cv. Shahani. The grape wines variety of Shahani is selected from one suitable garden in Maragheh and for every treatment is marked 5 grape plant. This experiment performed in frame completely randomize block design whit three replications in (0, 0.5, 1 and 2 mM) levels of SA treatments. The result showed that in foliar application of Salicylic acid with high concentrations (2 mM) increased of leaves and fruits phenol content, vitamin C, TA and total anthocyanin compound. Finally, maximum amount of total antioxidant has been stablished in 2mM SA concentration that demonstrated 18% increase in compare with control. SA foliar application caused to decrease of total soluble solid (TSS) content but had not any significant effects on flavonoid and total carotenoid of grape berries. These results further indicated that the effects of Salicylic acid in grape is associated with induce defensive systems and increase biological performance such as antioxidant activity and different quality fields in grape.

Keywords: Antioxidant content, Fruit quality, Foliar application, Salicylic acid, *Vitis vinifera*.