



DOI: 10.31388/2220-8674-2022-2-18

УДК 663.81:664.8.037.1

О. В. Василичина, к.с.-г.н.

ORCID: 0000-0002-1066-4009

Уманський національний університет садівництва

e-mail: elenamila@i.ua

ФЕРМЕНТАТИВНА АКТИВНІСТЬ ПЛОДІВ ВИШНІ ЗА ОБРОБКИ РОЗЧИНОМ ХІТОЗАНУ

Анотація. Стаття присвячена новим технологіям зберігання плодів вишні за використання попередньої обробки плодів полісахаридними композиціями хітозану та саліцилової кислоти. Застосування попередньої обробки розчинами дозволить подовжити термін зберігання плодів вишні та підвищити рівень антиоксидантних ферментів пероксидази та супероксиддисмутази, які запобігають окислювальному стресу плодів вишні та активують активні форми кисню. Активність ферментів пероксидази протягом зберігання плодів підвищується в 3,0–3,5 раз та супероксиддисмутази на 6,3 та 11,1%. Перспективою подальших досліджень є подальше вивчення механізму дії полісахаридних композицій на антиоксидантну систему плодів впродовж зберігання.

Ключові слова: плоди вишні, пероксидаза, супероксиддисмутаза, антиоксидантна активність.

Постановка проблеми. Вишня – фрукт із значною антиоксидантною активністю яка виявляється в наявності біологічно активних сполук з антиоксидантними властивостями, включаючи поліфеноли, вітаміни, антоціани та каротиноїди. Дослідженнями встановлено, що наявність антиоксидантів в плодах вишні попереджує захворювання, включаючи серцево-судинні, діабетичні та респіраторні.

Фермент каталаза є потужним антиоксидантним ферментом, який каталізує розкладання перекису водню на воду і кисень, тим самим зменшуючи шкідливі впливи, викликані вільними радикалами. У той же час фермент супероксиддисмутаза відіграє важливу роль у захисті клітин від багатьох захворювань, таких як рак, викликаний супероксидними радикалами.

Аналіз останніх досліджень. Виявлено, що активність антиоксидантних ферментів каталази в регіонах Егейського, Середземного моря становить 4,330, 4,077 і 2,663 од/л відповідно, в той



час як активність ферментів супероксиддисмутази складає 5,215, 7,176 і 3,076 од/л. Результати досліджень показали, що антиоксидант ферментативна активність плодів була різною та залежала від регіону вирощування [1].

Антиоксиданти залежно від сфери дії виконують основні функції: поглинають вільні радикали, пригнічують утворення окислювачів, є хелатоутворювачі перехідних металів; сполуки, здатні стимулювати вироблення ендогенних антиоксидантних сполук, за джерелом дії поділяють на екзогенні або ендогенні; механізмом дії – перенесення атома водню, перенесення одного електрона і здатність до хелатування перехідних металів [2].

Результати досліджень показали, що саліцилова кислота і нітрат кальцію відігравали важливу роль у збереженні якості та врожаю плодів зизифусу, оскільки обидві речовини сприяють збереженні щільності плодів, титрованої кислотності, загального вмісту фенолів, антиоксидантної активності, аскорбінової кислоти і ферменту каталази.

Каталаза є одним з важливих ферментів, здатних захищати клітини від окислювальних пошкоджень, шляхом очищення активних форм кисню. Накопичення активних форм кисню призводить до окисної травми, що прискорює старіння і хвороби, пов'язані з розладами [3].

Супероксиддисмутаза і аскорбатпероксидаза позитивно впливають на активність каталази негативно співвідносяться з вмістом малонового діальдегіду, припускаючи, що окислювальний стрес є частково відповідальним за пошкодження мембрани під час зберігання [4].

Каталаза та пероксидаза є найважливішими детоксуючими ферментами, які разом з іншими ферментами утворюють цикл для сприяння очищення активних форм кисню. Каталаза присутня в майже у всіх аеробних клітинах і захищає клітину від перекису водню (H_2O_2), каталізуючи його розкладання на кисень і воду (O_2 і H_2O). Пероксидаза широко поширена у всіх вищих рослинах і захищає клітини від руйнівного впливу перекису водню (H_2O_2) шляхом каталізу його розкладання через окислення фенольних речовин. Саліцилова кислота, є великим компонентом сигнальної системи. Численні результати досліджень показали, що саліцилова кислота і її функціональні аналоги мають інгібуючу дію, каталаза і пероксидаза служать субстратами для пероксидази [5].

Обробка хітозаном посилювала активність деяких антиоксидантних ферментів, включаючи супероксиддисмутазу і аскорбатпероксидазу. Оброблення інгібувало активності ферментів, запобігаючи пом'якшенні і подовженню терміну зберігання плодів черешні. Антиоксидантні ферменти, такі як каталаза, пероксидаза і супероксиддисмутаза важливі активні вільнорадикальні ферменти, що



функціонують в рослинних тканинах [4].

Крім того, активність антиоксидантних ферментів каталази, пероксидази, супероксиддисмутази та аскорбат-пероксидази підвищувалася під час збору плодів сливи, обробленої саліцилатами, порівняно з контрольними необробленими плодами. Активність цих антиоксидантних ферментів також була виявлена на більш високих рівнях в сливах, оброблених саліцилатами, під час зберігання.

Значне збільшення цих антиоксидантних ферментів відбувалося у плодах персика за післязбиральної обробки саліциловою кислотою, що прискорювало очищення супероксидного радикала, що утворюється під час дозрівання плодів, і відповідає за вплив обробки саліциловою кислотою на затримку процесу дозрівання плодів.

Слід відзначити, що обробка саліциловою кислотою призвела до підвищення рівня загального вмісту фенолів і каротиноїдів при збиранні плодів сливи, а також антоціанів, після 50 днів зберігання.

Оброблення підвищували активність антиоксидантних ферментів: пероксидази, каталази, аскорбатпероксидази, супероксиддисмутази, які разом з посиленням антиоксидантних сполук, могли б ефективно сприяти усуненню активних форм кисню і, у свою чергу, затримувати процеси дозрівання та старіння після збору врожаю, подовження терміну зберігання плодів сливи. Таким чином, засоби обробки саліцилатами можуть бути безпечними, екологічно чистими та новими засобами для поліпшення та збереження якості плодів, і особливо вмісту антиоксидантних сполук [5, 6].

Формулювання цілей статті. Метою досліджень було визначення вмісту антиоксидантних ферментів протягом зберігання плодів вишні оброблених розчином саліцилової кислоти та хітозану.

Основна частина. Для проведення досліджень плоди вишні сортів Пам'ять Артеменка та Альфа за день до збирання обприскували водним розчином 1% розчину хітозану та 100 мг/л саліцилової кислоти. Через добу знімали з дерев та чотирьох сторін крони, типові за забарвленням та формою та уклали в ящики № 5 по 5 кг у кожний [7]. За контроль було прийнято необроблені плоди вишні.

Зберігали плоди в холодильній камері кафедри технології зберігання і переробки плодів та овочів за температури $1\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ та відносної вологості повітря $95\pm 1\%$. Підготовку та відбір зразків для аналізу здійснювали за ДСТУ ISO 874-2002 [8]. Критерієм закінчення зберігання плодів служили втрати маси не більше 6% [9].

Протягом зберігання визначали та активність ферментів пероксидази, супероксиддисмутази [10]. Повторність досліді трикратна. Математичну обробку даних проводили на персональному комп'ютері за В. Ф. Мойсейченко (1992) та програмою „Excel 2000” [11].

Пероксидаза – фермент класу оксидоредуктаз, що бере участь у відновленні пероксиду водню до води [12]. Активність антиоксидантного ферменту пероксидази показано на рис. 1.

Так активність пероксидази в плодах вишні сортів Пам'ять Артеменка та Альфа знаходиться на рівні 70–75 мкмоль $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г}\cdot\text{хв}$ і протягом зберігання зменшувалась. При чому, її активність в плодах, оброблених розчином хітозану на 15 добу зберігання, була вищою в 1,8–2,2 (сорт Пам'ять Артеменка) і 1,6–1,9 раз (сорт Альфа), порівняно з контролем. Проте найвищі показники її активності були в плодах вишні, оброблених розчином хітозану та саліцилової кислоти – 3,0–3,5 раз.

Разом із пероксидазою фермент супероксиддисмутаза (СОД) виконує роль первинної ланки захисту клітин від активних форм кисню [12, 13].

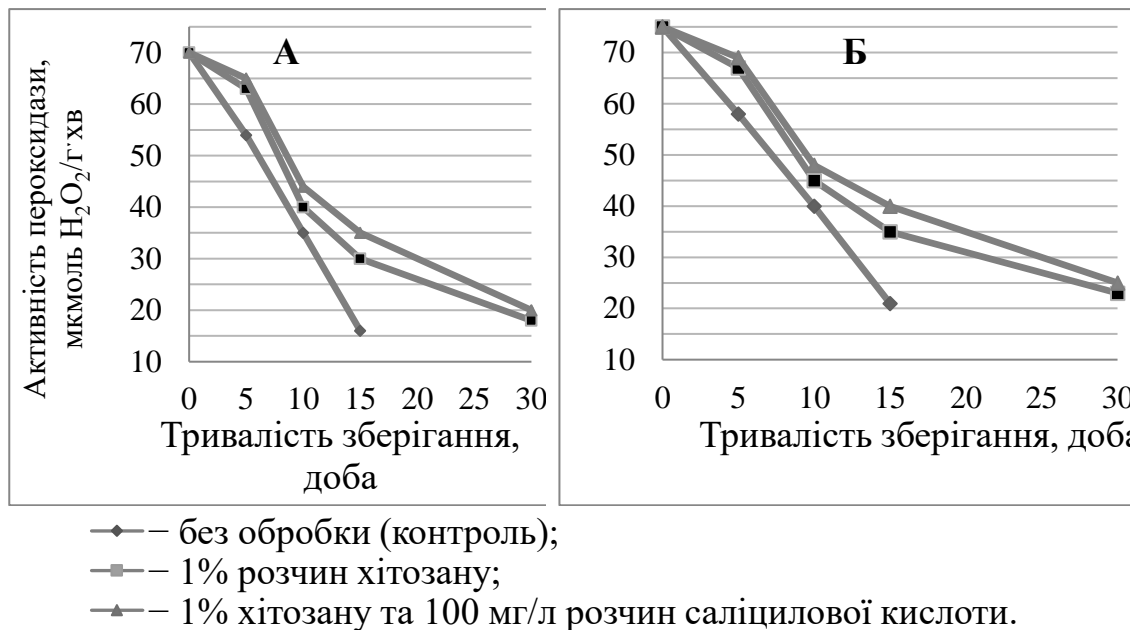
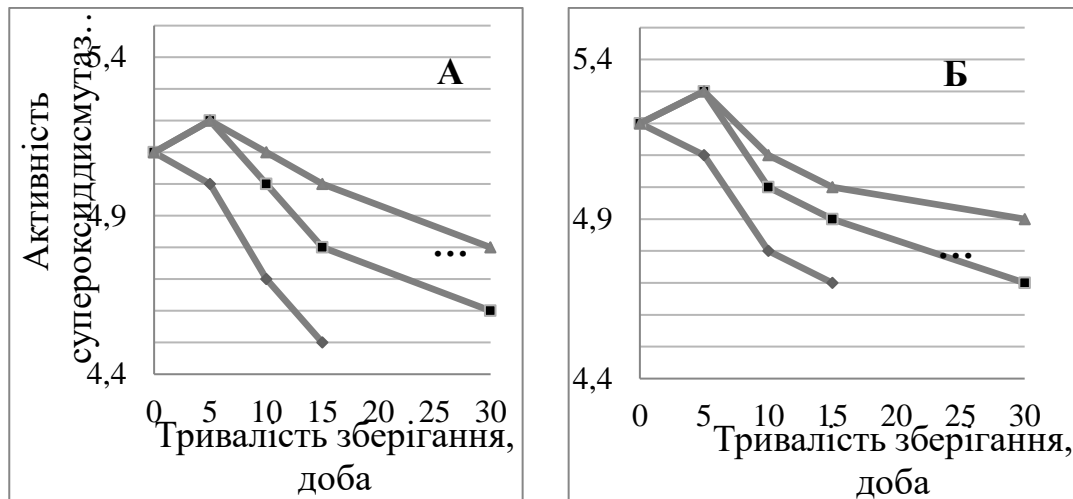


Рисунок 1. Зміна активності ферменту пероксидази в плодах вишні сортів Альфа (А) і Пам'ять Артеменка (Б), оброблених розчином хітозану з саліциловою кислотою перед зберіганням ($HIP_{05} = 1,1$)

З рисунка 2 видно, що протягом перших п'яти діб зберігання плодів активність СОД більш стабільна.



- ◆ – без оброблення (контроль);
- – 1% розчин хітозану;
- ▲ – 1% хітозану та 100 мг/л розчин саліцилової кислоти.

Рисунок 2. Зміна ферменту супероксиддисмутази в плодах вишні сортів Альфа (А) і Пам'ять Артеменка (Б), оброблених розчином хітозану з саліциловою кислотою перед зберіганням ($HIP_{05} = 0,18$):

Після цього періоду та до кінця зберігання в контрольному варіанті вона знижувалась на 9,6–11,7%. При чому в контролі активність СОД зменшилась швидше ніж за використання попередньої обробки плодів (на 4,2–6,3% (сорт Пам'ять Артеменка) та 6,7–11,1% (сорт Альфа)). Подібну цьому найвищу активність СОД мали плоди вишні, оброблені хітозаном із саліциловою кислотою – на 6,3–11,1% вище, порівняно з контролем.

Отже, полісахаридні покриття сповільнюють окислювальний стрес плодів вишні шляхом підтримання високої активності антиоксидантних ферментів у плодах та захищають структуру мембран від перекисного окислення.

Між вмістом антиоксидантних ферментів встановлено сильну кореляційну залежність та виведено відповідні рівняння регресії (рис. 3).

Так, активність супероксиддисмутази (СОД) – із пероксидазою ($r=0,64\pm 0,01$), що вказує на взаємозв'язок діяльності ферментів протягом зберігання.

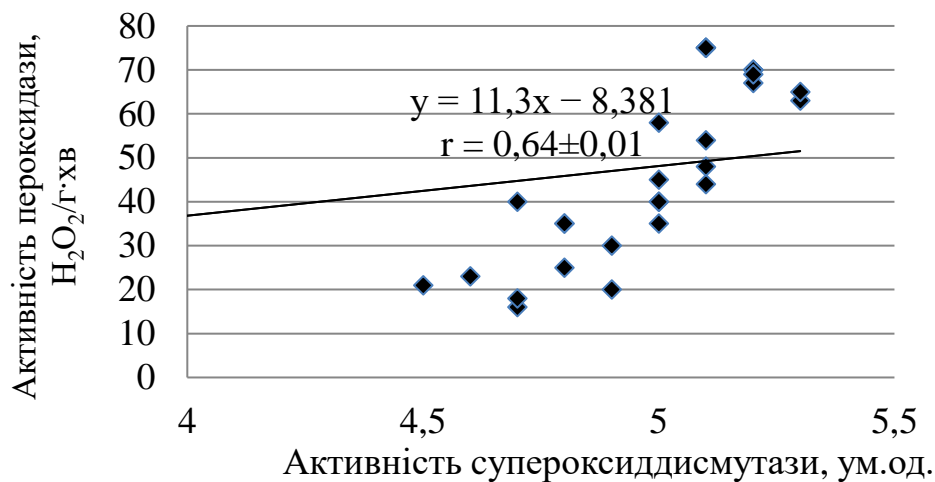


Рисунок 3. Кореляційна залежність активності ферментів

Висновки. Отже, активність антиоксидантних ферментів плодів вишні оброблених розчином саліцилової кислоти з хітозаном значно вища: пероксидази в 3,0–3,5 раз та супероксиддисмутази на 6,3–11,1%, порівняно з необробленими плодами, що сприяє знешкодженні активних форм кисню, які накопичується впродовж зберігання та збереженні якості плодів. Встановлено кореляційну залежність між ферментами та виведено рівняння регресії. Подальші дослідження слід направити на вивчення дії антиоксидантних ферментів плодів впродовж зберігання за обробки полісахаридними композиціями.

Список використаних джерел

1. Gur T., Karahan F., Demir H., Demir C. Investigation of some antioxidant enzyme activities in cherry fruit. *Biosci biotech res Asia*. 2019. Vol.16(4). doi: <http://www.biotech-asia.org/?p=34652>.
2. Stefanucci A., Zengin G., Llorent-Martinez E. J., Dimmito M. P., Valle A. D., Pieretti S., Ak G., Sinan K. I., Mollica A., Chemical characterization, antioxidant properties and enzyme inhibition of Rutabaga root's pulp and peel (*Brassica napus* L.). *Arabian Journal of Chemistry*. 2020. Vol. 13, Issue 9. P. 7078–7086. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.07.013>.
3. Zeraatgar H., Davarynejad G. H., Moradinezhad F., Abedi B. Effect of salicylic acid and calcium nitrate spraying on qualitative properties and storability of fresh jujube fruit (*Ziziphus jujube* Mill.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici*. 2018. Vol. 46(1). P. 138–147. doi:10.15835/nbha46110743.
4. Pasquariello M. S., Patre D. D., Mastrobuoni F., Zampella L., Scortichini M., Petriccione M. Influence of postharvest chitosan treatment on enzymatic browning and antioxidant enzyme activity in sweet cherry fruit. *Postharvest biology and technology*. 2015. Vol. 109. P. 45–56.



doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.06.007.

5 Xu X., Tian S. Salicylic acid alleviated pathogen-induced oxidative stress in harvested sweet cherry fruit. *Postharvest biology and technology*. 2008. Vol. 49. P. 379–385. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.02.003.

6. Martínez-Esplá A., Serrano M., Valero D., Martínez-Romero D., Castillo S., Zapata P.J. Enhancement of antioxidant systems and storability of two plum cultivars by preharvest treatments with salicylates. *International journal of molecular sciences*. 2017. Vol. 18(9). P. 1911. doi:10.3390/ijms18091911.

7. Методические рекомендации по хранению плодов, овощей и винограда. *Организация и проведения исследований*. Под общей ред. С. Ю. Дженева, В. И. Иванченко. Ялта. Институт винограда и вина «Магарач», 1998. 152 с.

8. Фрукти та овочі свіжі. Відбирання проб ДСТУ ISO 874-2002. [Чинний від 2003.10.01].

9. Найченко В. М. Практикум з технології зберігання і переробки плодів та овочів з основами товарознавства: навчальний посібник. Київ: ФАДА ЛТД, 2001. 211 с.

10. Починок Х. Н. Методы биохимического анализа растений. Киев: Наукова думка, 1976. 334 с.

11. Мойсейченко В. Ф. Основи наукових досліджень у плодівництві, овочівництві, виноградарстві та технології зберігання плодоовочевої продукції. Київ: НМК ВО, 1992. 362 с.

12. Игнатенко А. А. Участие антиоксидантной системы в регуляции холодоустойчивости растений пшеницы и огурца салициловой кислотой и метилжасмонатом: дис. кандидата биолог. наук: 03.01.05. Карельский научный центр. Петрозаводск, 2019. 184 с.

13. Василюшина О. В. Оптимізація зберігання плодів вишні з попередньою обробкою розчином хітозану. *Вісник аграрної науки Причорномор'я*. 2019. №3. С.80–87. DOI: 10.31521/2313-092X/2019-3(103) 10.

Стаття надійшла до редакції 24.03.2022 р.

O. Vasylyshyna
Uman National University of Horticulture

ENZYMATIC ACTIVITY OF CHERRY FRUITS TREATMENT WITH CHITOSANE SOLUTION

Summary

The article is devoted to new technologies of cherry fruit storage using pre-treatment of fruits with polysaccharide compositions of chitosan and salicylic acid. The use of pre-treatment with solutions will extend the shelf life of cherry fruits and increase



the level of antioxidant enzymes peroxidase and superoxide dismutase, which prevent oxidative stress of cherry fruits and activate reactive oxygen species.

The aim of the study was to determine the content of antioxidant enzymes peroxidase and superoxide dismutase during storage of cherry fruits pre-treated with a solution of salicylic acid and chitosan. The fruits of cherry Pamyat Artemenko and Alfa varieties were selected for research. The day before harvesting, they were sprayed with an aqueous solution of 1% chitosan solution and 100 mg /l of salicylic acid. A day later, they were removed from the trees, typical in color and shape, and placed in boxes of 5 kg each. Raw fruits were taken for control. The fruits were stored at a temperature of $1 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ and a relative humidity of $95 \pm 1\%$.

During storage, the activity of peroxidase in the fruits of cherries of the varieties Memory Artemenko and Alpha is at the level of 70–75 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 / \text{g min}$. During storage, it decreased in fruits treated with chitosan solution on the 15th day of storage, was 1.8–2.2 times higher in the variety Pamyat Artemenko and 1.6–1.9 times Alpha. Its highest activity was in cherry fruits treated with a solution of chitosan and salicylic acid – 3.0–3.5 times. Superoxide dismutase activity decreased faster than with the use of pre-treatment of fruits by 4.2–6.3 % in the variety Pamyat Artemenko and 6.7–11.1 % in the variety Alpha. Cherry fruits treated with chitosan with salicylic acid had the highest activity – 6.3–11.1 % higher than in the control.

Thus, the activity of peroxidase enzymes during fruit storage increases by 3.0-3.5 times and superoxide dismutase by 6.3 and 11.1 %. The prospect of further research is to further study the mechanism of action of polysaccharide compositions on the antioxidant system of fruits during storage.

Key words: cherry fruits, peroxidase, superoxide dismutase, antioxidant activity.