مجله علوم باغباني ايران
دوره ۳۹، شماره ۱، ۱۳۸۷ (۲۸-۱۸)

# تاثير بسته‌بندي در اتمسفر تعديل يافته بر روي كيفيت و عمر انباري براكلي

فريبا خليلي[۱]، يونس مستوفي*[۲]، مريم شكرچي[۳] و سيد محمدعلي ابراهيم زاده موسوي[۴]
۱، دانشجوي كارشناسي ارشد، دانشگاه آزاد اسلامي، واحد علوم و تحقيقات
۲، ۴، دانشياران، پرديس كشاورزي و منابع طبيعي دانشگاه تهران
۳، استاديار، وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشكي
(تاريخ دريافت: ۸۶/۹/۲۰- تاريخ تصويب: ۸۷/۴/۱۲)

## چكيده

گلچه هاي كلم براكلي رقم پرميوم كراپ با استفاده از دو نوع پوشش پليمري (پلي اتيلن با دانسيته كم و پلي پروپيلن) بسته بندي شده و به منظور مطالعه اثرات **MAP** فعال (با تركيب گازي $CO_2$ ۷/۵%+ $O_2$ ۱/۵%) و غير فعال (بدون تركيب گازي) بر روي حفظ كيفيت و ارزش غذايي براكلي در مقايسه با گلچه هاي شاهد در دماي ۱ درجه سانتيگراد براي ۱۸ روز انبار شدند. در طول مدت نگهداري در فواصل زماني معين پارامترهايي از قبيل درصد افت وزن، ميزان توليد اتيلن، كيفيت، توليدات تخميري (اتانول، استالدهيد و اتيل استات)، ويتامين **C**، كلروفيل، **pH** و اسيديته قابل تيتراسيون مورد اندازه گيري قرار گرفتند. نتايج نشان داد كه در گلچه هاي شاهد كيفيت به سرعت افت پيدا كرد. از مهم ترين علائم كاهش كيفيت مي توان به افت وزن و سفتي، تخريب كلروفيل و زرد شدن گلچه ها اشاره كرد. بر عكس بسته بندي گلچه هاي براكلي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته به ويژه با استفاده از پوشش پلي پروپيلن ميزان توليد اتيلن و كليه تغييرات مرتبط با افت كيفيت را به طور معني داري كاهش و همراه با حفظ ويتامين **C**، ارزش غذايي و ساير خصوصيات كيفي عمر انباري محصول را به بيش از ۱۸ روز افزايش داد. همچنين در پايان اين دوره در نتيجه توليد و تجمع تركيبات نامطبوع الكلي همچون استالدهيد و اتانول در بافت براكلي، مقدار كم اما مشخص اين تركيبات به مشام رسيد.

واژه هاي كليدي: بسته‌بندي در اتمسفر تعديل يافته، براكلي رقم پرميوم كراپ، اتيلن، ويتامين**C**.

## مقدمه

براكلي در كشور ما تقريبا محصول جديدي بوده و تا كنون بدون در نظر گرفتن تيمارهاي انباري لازم براي حفظ كيفيت تا زمان مصرف تنها اقدام به توليد آن شده است. از عمده مسائلي كه در مورد براكلي مطرح است كوتاه بودن طول دوره ماندگاري آن (به طور متوسط ۳ روز) مي باشد (۱۲). ارقام مختلف براكلي عمر انباري متفاوتي داشته و بارزترين نشانه پيري پس از برداشت آنها از دست دادن آب سطحي و زرد شدن كاسبرگ‌ها در نتيجه تخريب كلروفيل مي باشد (۲۰). تخريب كلروفيل عمدتا با افزايش شدت تنفس و توليد اتيلن و فرايندهاي پراكسيداسيون ليپيدها همراه مي باشد(۲۵). شدت تنفس و توليد اتيلن در بعضي ارقام براكلي از يك الگوي فراز گرا[1] پيروي مي‌كنند(۱۵،۱۲) و همراه با افزايش توليد اتيلن و دي اكسيد كربن علائم زردي در كاسبرگ ها ظاهر مي شوند(۱۷). در مراحل بعدي

1. Climacteric

* نويسنده مسئول: يونس مستوفی تلفن: ۰۹۱۲-۵۰۱۰۴۹۵ E-mail: ymostofi@ut.ac.ir

كاهش قندها و آسكوربيك اسيد، تخريب پروتئين ها و تجمع اسيدهاي آمينه آزاد در طول دوره پس از برداشت رخ مي‌دهد(۲۵). براكلي همچون ساير سبزي‌هاي خانواده كلم‌ها سرشار از تركيبات مؤثر در سلامتي انسان مثل گلوكوزينولاتها، فلاونوئيدها و ويتامين هاي C, A و E بوده، به همين دليل از خاصيت آنتي اكسيداني بالا با قابليت مهاركنندگي راديكال‌هاي آزاد برخوردار است (۲۱). اين تركيبات نقش مهمي در جلوگيري از بيماري‌هاي قلبي-عروقي و سرطان داشته به همين دليل در سالهاي اخير بسيار مورد توجه قرار گرفته اند. كاهش آنها در طول مراحل پس از برداشت در براكلي گزارش شده است(۲۱). خنك كردن اوليه محصول نخستين گام براي حفظ كيفيت پس از برداشت براكلي شناخته شده كه منجر به كاهش شدت تنفس و حفظ تردي بافت مي گردد(۱۸). پس از آن بسته بندي گلچه‌هاي براكلي با استفاده از پوشش هاي پلاستيكي مناسب با قابليت ايجاد يك اتمسفر تعديل يافته (MAP)[1] مطلوب در اطراف محصول مي تواند ابزاري مناسب براي حفظ كيفيت و ارزش غذايي براكلي باشد. بسته بندي در اتمسفر تعديل يافته تكنيكي براي كنترل اتمسفر داخل بسته بوده كه بتدريج به وسيله تنفس محصول و انتشار گازها از داخل پوشش به طور طبيعي ايجاد مي شود. هماهنگي اين دو فرايند منجر به افزايش $CO_2$ و كاهش $O_2$ در فضاي اطراف محصول مي گردد. بنابراين انتخاب يك پوشش مناسب عاملي كليدي براي تعديل مناسب اتمسفر و جلوگيري از ايجاد سطوح بحراني $CO_2$و $O_2$ مي باشد، به اين ترتيب مانع از متابوليسم بي هوازي و توليد تركيبات نامطبوع شده و خطر تكثير ميكروارگانيسم هاي بي هوازي را به حداقل مي رساند(۳). بسته بندي براكلي همچون ديگر ميوه ها و سبزي ها تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته شدت تنفس و توليد اتيلن را كاهش داده و همراه با حفظ خصوصيات كيفي اصلي عمر انباري آن را افزايش مي دهد (۱۹،۱۸). با اين وجود منابع كمي درباره تغييرات ويژگيهاي كيفي اصلي در طول دوره انباري و همچنين اثريابي آنها تحت شرايط MAP در دسترس مي باشند. به علاوه نقش $CO_2$ و $O_2$ در تنظيم بيوسنتز اتيلن در براكلي خيلي كم مطالعه شده است (۱۲). بارت و همكاران بيان كردند كه با بسته بندي براكلي در شرايط اتمسفر تعديل يافته ميزان ويتامين C، رطوبت، كلروفيل و رنگ ظاهري در مقايسه با نمونه هاي نگهداري شده در هوا بهتر حفظ شدند. آنها MAP را به عنوان روشي براي حفظ سطوح تركيبات شيميايي مفيد در گياهان[2] مثل كاروتنوئيدها و ويتامين C در گلچه هاي براكلي معرفي كردند (۲). دي ال و تواي ونن با كاربرد دو نوع پوشش PD-941 , PD-961EZ براي بسته بندي گلچه هاي براكلي و نگهداري آنها در دماي ۱ درجه سانتي گراد به اين نتيجه رسيدند كه بعد از ۲۸ روز انبارداري گلچه هاي موجود در هر دو بسته وضعيت ظاهري مشابه و كاهش وزن يكساني داشتند.با اين وجود براكلي‌هاي نگهداري شده در PD- 961 EZ مقدار اتانول، استالدهيد و اتيل استات بيشتري توليد كردند و پارامترهاي فلورسانس كلروفيلي در آنها كمتر بودند(۴). ژاكوبسن و همكاران نشان دادند كه عمر انباري كلم براكلي با استفاده از MAP تا ۱۴ روز افزايش پيدا مي‌كند(۸). همچنين آنها ثابت كردند كه بهترين كيفيت براكلي زماني به دست آمد كه اتمسفر درون بسته ها داراي ۲-۱ درصد $O_2$ و ۱۰-۵ درصد CO2 بوده است (۷). سرانو و همكاران بيان كردند كه براكلي‌هاي بسته بندي شده در شرايط اتمسفر تعديل يافته، وزن كمتري از دست داده و رنگ بهتري داشتند، همچنين اين نمونه ها سفتي خود را نسبت به براكلي‌هاي شاهد بهتر حفظ كردند. فعاليت آنتي اكسيداني كل، اسيد آسكوربيك و تركيبات فنولي كل در طي ۲۸ روز انبارداري تقريبا بدون تغيير باقي ماندند (۱۶). مخلوف و همكاران بيان كردند كه نگهداري گلچه هاي براكلي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته ميزان توليد اتيلن را كاهش داده و تخريب كلروفيل را به تاخير مي اندازد (۱۲).

در اين مقاله، تاثير دو نوع اتمسفر تعديل يافته مختلف (فعال و غير فعال) به همراه دو نوع پوشش پليمري متفاوت بر روي صفات كيفي و ارزش غذايي براكلي در طول ۱۸ روز انبارداري در دماي پايين مورد مطالعه قرار گرفته است.

1. Modified Atmosphere Packaging

2 . Phytochemicals

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در تابستان ۸۵ به منظور بررسي تاثير بسته‌بندي در اتمسفر تعديل يافته بر روي خصوصيات فيزيكوشيميايي و عمر انباري براكلي در بخش تحقيق و توسعه آزمايشگاه كنترل غذا و دارو وابسته به وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشكي كشور انجام شد. گلچه‌هاي براكلي رقم پرميوم كراپ از يك توليدكننده محلي در منطقه اسلامشهر تهران، روستاي علي آباد تپانچه با در نظر گرفتن شاخص هاي بلوغ و چارت رنگي دانشگاه ديويس تهيه و پس از ۲۴ ساعت خنك كردن اوليه در دماي ۴ درجه سانتي گراد بلافاصله جهت انجام بسته بندي به گروه مهندسي علوم و صنايع غذايي دانشگاه تهران منتقل شدند. گلچه‌ها با اندازه (بطور ميانگين ۱۰۰ گرم) و رنگ يكنواخت و بدون نقص ظاهري انتخاب شدند. پوشش هاي پلي اتيلن با دانسيته كم و پلي پروپيلن براي بسته بندي در اتمسفر تعديل يافته مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۱).

جدول ۱- ويژگيهاي نفوذ پذيري به گازها و بخار آب انواع پليمرهاي مورد استفاده

| نوع پوشش | نفوذپذيري به $O_2$ ($cm^3.m^{-2}.d^{-1}.atm^{-1}$) | نفوذپذيري به $CO_2$ ($cm^3.m^{-2}.d^{-1}.atm^{-1}$) | نفوذپذيري به بخار آب ($g.m^{-2}.day^{-1}.atm^{-1}$) | ضخامت µm |
|---|---|---|---|---|
| پلي اتيلن | ۷۸۰۰ | ٤۲۰۰۰ | ۱۸ | ۹۰ |
| پلي پروپيلن | ۳۷۰۰ | ۱۰۰۰۰ | ۱۰-۱۲ | ٤۰ |

پس از قرار دادن يك گلچه ۱۰۰ گرمي در هر پوشش، بسته ها با استفاده از دستگاه وكيوم[1] غذايي مدل هنكلمن[2] $A_{۲۰۰}$ ساخت هلند با تركيب گازي معين (در دو سطح ۰ و $\%۱/۵O_2$ +$\%۷/۵$ $CO_2$) بسته‌بندي شدند. سپس بسته هاي حاوي كلم در سرد خانه ۱±۰/۵ درجه سانتي گراد انبار شدند. گلچه هاي شاهد نيز بدون پوشش و بدون تركيب گازي در شرايط دمايي يكسان قرار داده شدند. اين آزمايش بصورت فاكتوريل در قالب طرح كاملا تصادفي در ۳ تكرار اجرا گرديد. تيمارها شامل پوشش پليمري در دو سطح (پلي اتيلن و پلي پروپيلن) و تركيب گازي در دو سطح (۰ و $\%۱/۵O_2$ +$\%۷/۵$ $CO_2$) بودند. به اين ترتيب ۴ تركيب تيماري و ۱ تيمار شاهد هر يك با ۳ تكرار در قالب ۱۵ واحد آزمايشي در نظر گرفته شد و در هر واحد آزمايشي ۶ بسته قرار داده شد. سپس با فاصله زماني ۳، ٦، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ روز انبارداري از هر يك از ٤ تركيب تيماري ۳ كيسه بصورت تصادفي و به منظور ارزيابي افت وزن، كيفيت، توليد اتيلن،كلروفيل، ميزان ويتامين C و توليدات تخميري مورد استفاده قرار گرفتند.

درصد افت وزن: وزن گلچه هاي متمايز در روز برداشت و بعد از نمونه برداري هاي مختلف ثبت شد و درصد افت وزن از رابطه زير محاسبه گرديد:

$$\frac{M_{۱} - M_{۲}}{M_{۱}} \times ۱۰۰$$

$M_1$= وزن اوليه ، $M_2$= وزن روز آزمايش

ميزان توليد اتيلن: براي اندازه گيري ميزان توليد اتيلن همه نمونه موجود در داخل هر بسته پس از اندازه گيري وزن در داخل ظرفهاي پلاستيكي مخصوص و مجهز به سپتوم قرار گرفته و در ظرف بسته شد و به مدت ۳۰ دقيقه در دماي ۲۰ درجه سانتي گراد انكوبه شدند. پس از گذشت ۳۰ دقيقه يك ميلي ليتر از گاز موجود در فضاي بالاي ظرف پلاستيكي به وسيله سرنگ مخصوص گاز (Gas tight) نمونه گيري و به دستگاه كروماتوگراف گازي (GC) مدل واريان[3] (CP-3800) تزريق شد. غلظت هاي اتيلن با آشكارساز FID (Flame Ionization Detector) و با استفاده از ستون CP sil 5 ارزيابي شدند. از گاز نيتروژن به عنوان گاز حامل استفاده شد. دماي آشكارساز، محفظه تزريق و ستون به ترتيب ۲۵۰، ۲۵۰ و ۴۰-۷۰°C بود. ميزان توليد اتيلن بر اساس $nL\ g^{-1}\ h^{-1}$ گزارش شد(۱۵).

ارزيابي كيفيت: براي ارزيابي كيفيت ظاهري از يك مقياس ۵-۱ استفاده شد، ۵ = عالي (حفظ ظاهر زمان برداشت)، ۳ = متوسط (سبز روشن تر و فشردگي كم هد و كمي نقص جزئي)، ۱ = غير قابل فروش (زرد، گلچه هاي

1. Vaccum
2. Henkelman
3. Varian

شل و داراي نقص عمده). به منظور ارزيابي سفتي نيز از يك مقياس ۵-۱ استفاده شد، ۵ = خيلي سفت و سخت، ٤ = سخت، ۳ = كمي شل اما قابل قبول، ۲ = شل، ۱ = خيلي شل و له. همچنين براي ارزيابي تركيبات نا مطبوع نيز از چنين مقياسي استفاده شد كه در آن: ۵ = بدون تركيبات بد بو، ۳ = مقدار كم اما مشخص اين تركيبات ، ۱= تركيبات نامطبوع قوي (۱۹).

ارزيابي استالدهيد، اتانول و اتيل استات: براي اندازه-گيري ميزان توليد اتيل استات ، استالدئيد و اتانول ۵ گرم از بافت گلچه موجود در هر كيسه در ۱۰ ميلي‌ليتر از اسيدكلريدريك ۰/۱ مولار له شد. ۵ ميلي‌ليتر از ماده حاصله در يك ظرف ۲۵ ميلي ليتري مخصوص به منظور استفاده از سرفضاي[1] آن براي تزريق به دستگاه گاز كروماتوگرافي، قرار داده شد. ويال‌ها با يك Serum Stopper همراه با يك در فلزي كاملا مهر و موم شدند و در يك حمام آب گرم ٤۰ درجه سانتي گراد به مدت ۱ ساعت نگهداري شدند. پس از آن يك ميلي ليتر از گاز تجمع يافته در فضاي بالاي ظرف توسط سرنگ مخصوص گاز (Gas tight) نمونه گيري و به دستگاه كروماتوگراف گازي (GC) مدل Varian تزريق شد (۱۹). آشكارساز مورد استفاده از نوع FID (Flame Ionization Detector) بوده و دماي آن روي ۲۵۰ درجه سانتي گراد و دماي محفظه تزريق (Injector) روي ۱۵۰ درجه سانتي گراد تنظيم شد. سرعت حركت جريان گاز (Flow) ۲ ميلي ليتر بر دقيقه تنظيم شد. ستون مورد استفاده CP sil 5 بوده كه براي تنظيم دماي ستون از يك برنامه گراديانت استفاده شد كه در طي آن دماي آون از ۱۸۰-٤۸ درجه سانتي گراد تنظيم گرديد و از گاز نيتروژن به عنوان گاز حامل استفاده شد. استانداردها با استفاده از حل كردن مقادير مشخص و خالص از اين تركيبات در اسيد كلريدريك ۰/۱ مولار و مهر و موم كردن ظرف‌هاي شيشه‌اي و نگهداري آنها تحت شرايطي كه در بالا ذكر شد تهيه شدند.

اندازه‌گيري ويتامين**C**: به منظور ارزيابي ميزان ويتامين C، مقداري از بافت گلچه موجود در هر كيسه با استفاده از نيتروژن مايع و دستگاه مخلوط كن كاملا پودر شد. سپس ۰/۵گرم از بافت حاصله با ۱۰ميلي ليتر محلول آبي استخراج (در دماي پايين نگهداري شود) درون ظرف‌هاي فويل پيچي شده مخلوط شدند تا عمل استخراج صورت گيرد. اين مراحل بر روي يخ انجام شد. محلول استخراج همانطور كه در AOAC(1990) پيشنهاد شده است تركيبي از ۱۰ درصد اسيداستيك، ۵ درصد متافسفريك اسيد، اسيد سولفوريك ۰/۳ نرمال و اتيلن دي نيترو استيك اسيد (EDTA) ۱ ميلي‌مولار مي باشد. مخلوط حاصله در دستگاه سانتريفوژ يخچال دار به مدت ۲۰ دقيقه با دور ۱۲۰۰۰ در دماي ٤ درجه سانتيگراد سانتريفوژ شد. سپس مايع رويي با يك صافي ميلي پور كوچك با قطر منافذ ۰/٤۵ ميكرون صاف و ۱ ميلي ليتر از آن توسط سرنگ هاميلتون به دستگاه HPLC مدل Knaver با پمپ K-1001 تزريق شد. به منظور ارزيابي ميزان ويتامين C از ستون كروماتوگرافي (Lichrocaut) $C_8$ و فاز متحرك دي هيدروژن فسفات پتاسيم ۵۰ ميلي مولار با pH ۲/۵ استفاده شد. سرعت عبور حلال ۰/۵ ميلي ليتر بر دقيقه بود. آشكارساز مورد استفاده از نوع جذب ماوراء بنفش – مرئي (UV-Detector) با طول موج ۲۵۰ ميلي ولت بود(٦).

كلروفيل كل، **a** و **b**: براي اندازه گيري ميزان كلروفيل كل، a و b ، مقداري از بافت گلچه موجود در هر كيسه با استفاده از نيتروژن مايع و دستگاه مخلوط كن كاملا پودر شد. سپس ۰/۵ گرم از بافت گلچه با ۵ ميلي ليتر استون ۸۰ درصد در صفر درجه سانتي گراد به صورت همگن درآمد. آنگاه نمونه ها به مدت ۱۵ دقيقه با دور ۹۰۰۰ در دماي ٤ درجه سانتي گراد سانتريفيوژ گرديدند. مايع رويي جهت تعيين ميزان كلروفيل با استفاده از دستگاه اسپكتروفوتومتر استفاده شد. ميزان جذب در ۲ طول موج ٦٦۳/۲ و ٦٤٦/۸ نانومتر خوانده شد و با كاربرد ۳ فرمول زير غلظت كلروفيل كل، a و b اندازه گيري شد (۱۱).

$$C_a = 12.25A_{663/2} - 2.79A_{646/8}$$
$$C_b = 21.50A_{646/8} - 5.10A_{663/2}$$
$$C_{a+b} = 7.15A_{663/2} + 18.71A_{646/8}$$

اسيديته‌قابل‌تيتراسيون:براي‌اندازه‌گيري‌ميزان اسيديته، ۱۰ سي‌سي از عصاره صاف شده سبزي با ۹۰ سي‌سي آب ديونيزه رقيق گرديد. سپس با هيدروكسيد سديم ۰/۱ نرمال تا رسيدن به pH= ۸/۲ تيتر و ميزان سود مصرفي ثبت شد.

1 . Head Space

اسیدیته با استفاده از فرمول زیر محاسبه و بر حسب درصد بیان مي شود (۱۳).

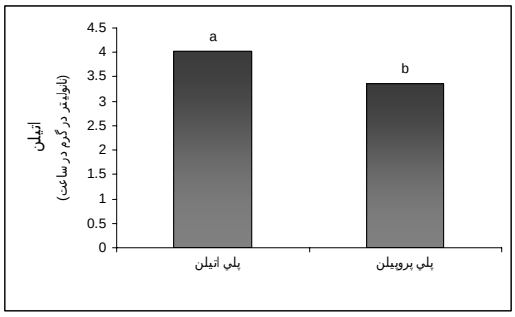
$$\text{درصداسیدیته} = \frac{\text{میزان سود مصرفي} \times \text{اکي والان اسید غالب} \times \text{نرمالیته سود}}{\text{حجم آب میوه} \times 1000} \times 100$$

اسید غالب براکلي اسید مالیك بوده و وزن اکي والان آن ۶۷ مي باشد. میزان pH عصاره سبزي با استفاده از دستگاه pH متر اندازه گیري شد (۱۳).

تجزیه آماري داده‌ها پس از نرمال کردن در صورت نیاز، با استفاده از نرم افزارهاي SAS و MSTATC و مقایسه میانگین آنها به روش آزمون چند دامنه اي دانکن انجام گرفت.

## نتایج و بحث

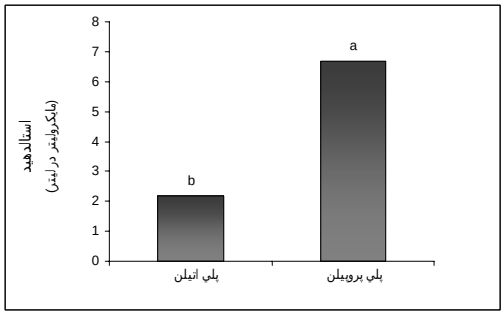
اتیلن: نتایج پژوهش هاي انجام شده گوياي آن است که پوشش پلي پروپیلن با نفوذپذیري کمتر در مقابل گازها نسبت به نوع پلي اتیلن (جدول۱) پوشش مناسب تري براي ایجاد یك اتمسفر تعدیل یافته در اطراف محصول و کاهش تولید اتیلن بوده است($P<0/01$)، (شکل۱).




شکل ۱- تاثیر نوع پوشش بر میزان تولید اتیلن
حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معني دار در سطح ۱ درصد مي باشد.

نفوذپذیري مناسب پوشش مورد استفاده در کنار تنفس محصول، با کاهش غلظت $O_2$ و افزایش غلظت $CO_2$ نسبت به اتمسفر اطراف خواهد توانست فضایي مناسب به منظور کاهش تنفس، تولید اتیلن و تاخیر در فرایند پیري فراهم کند(۱۶). همچنین مقایسه تیمارهاي مختلف MAP با شاهد نشان داد که بسته بندي براکلي در اتمسفر تعدیل یافته به ویژه با کاربرد پوشش پلي پروپیلن میزان تولید اتیلن را در مقایسه با نمونه‌هاي شاهد به طور معني‌داري کاهش داده است ($P<0/01$)، (جدول۲). به نظر مي‌رسد بسته بندي براکلي تحت شرایط اتمسفر تعدیل یافته از طریق کاهش غلظت $O_2$ و افزایش غلظت $CO_2$ با تاثیر بر متابولیسم تنفسي و دخالت در فعالیت آنزیم هاي مؤثر در مسیر بیوسنتز اتیلن (ACC اکسیداز) موجب کاهش تولید اتیلن نسبت به نمونه‌هاي شاهد شده است (۱۲). یانگ و هافمن گزارش کردند که غلظت پایین $O_2$ با کاهش فعالیت EFE (Ethylene Forming Enzyme) بیوسنتز اتیلن را کاهش مي‌دهد (۲۴). تغییرات تولید اتیلن در طول دوره نگهداري از یك الگوي شبه فرازگرا پیروي کرد ($P<0/01$)، (جدول۳). تولید اتیلن همه نمونه ها در ابتدا حدود ۳/۵ نانولیتر در گرم در ساعت بود و میزان آن تا ظهور اوج[1] در روز ۱۲ افزایش یافته و پس از آن کاهش نشان داد. این نتایج با نتایج به دست آمده از پژوهش‌هاي مخلوف و همکاران و همچنین راشینگ مطابقت دارد (۱۲، ۱۵).

تولیدات تخمیري (اتانول، استالدهید و اتیل استات): نگهداري گلچه هاي براکلي تحت شرایط MAP با کاهش غلظت $O_2$ منجر به تنفس بي‌هوازي و تولید ترکیبات نامطبوع الکلي مي گردد. ترکیب اتمسفري درون بسته ها به نفوذپذیري پوشش مورد استفاده بستگي دارد. در صورت کاربرد پوشش هایي با نفوذپذیري کمتر غلظت اکسیژن موجود درفضاي بسته سریع تر به نقطه موازنه بي هوازي رسیده، در این شرایط اسید پایروویك تبدیل به استالدهید و اتانول شده، به این ترتیب بوي نامطبوعي از براکلي بسته بندي شده به مشام مي رسد. استفاده از پوشش پلي پروپیلن با نفوذپذیري کمتر در مقابل گازها نسبت به نوع پلي اتیلن (جدول۱) براي بسته‌بندي گلچه‌ها افزایش معني‌داري در میزان این ترکیبات ایجاد کرد ($P<0/01$)، (شکل ۲ و ۳).




شکل ۲- تاثیر نوع پوشش بر میزان تولید استالدهید
حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معني دار در سطح ۱ درصد مي باشد.

1 . Peak

جدول ۲- مقايسه ميانگين تيمارهاي مختلف با شاهد از نظر ميزان توليد اتيلن، توليدات تخميري، ويتامين C، كلروفيل، pH، اسيديته قابل تيتراسيون(TA)، كيفيت ظاهري و سفتي

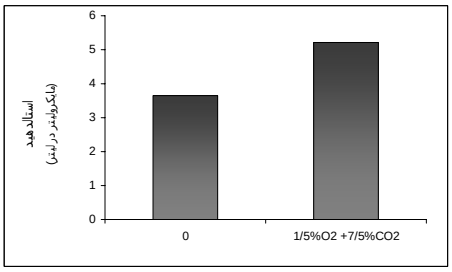
| تيمارها | توليد اتيلن ($nL.g^{-1}.h^{-1}$) | اتانول ($\mu L.L^{-1}$) | استالدهيد ($\mu L.L^{-1}$) | ويتامين C ($mg.100\ g^{-1}F$) | كلروفيل كل ($mg.\ g^{-1}FW$) | كلروفيل a ($mg.\ g^{-1}FW$) | pH | TA (%) | كيفيت ظاهري | سفتي |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $P_1G$ | ۴/۱۷ b | ۲۲/۱۳ b | ۳/۲۹C | ۴۰/۷۶ab | ۰/۱۰a | ۰/۰۷a | ۶/۸۰ab | ۰/۱۶ a | ۴/۴۲a | ۴/۶۲b |
| $P_1$ | ۳/۹۰c | ۱۲/۴۵d | ۱/۱۱d | ۴۰/۴۷ab | ۰/۰۸ab | ۰/۰۶ab | ۶/۷۲c | ۰/۱۶ a | ۴/۴۷a | ۴/۵۳c |
| $P_2G$ | ۳/۲۹d | ۳۳/۱۷a | ۷/۱۶a | ۳۹/۴۲b | ۰/۰۷b | ۰/۰۵b | ۶/۷۳c | ۰/۱۶ a | ۴/۷۰b | ۴/۷۳a |
| $P_2$ | ۳/۴۲d | ۱۹/۸۱c | ۶/۲۲b | ۴۶/۰۸a | ۰/۰۹ab | ۰/۰۶ab | ۶/۷۴bc | ۰/۱۶ a | ۴/۶۷b | ۴/۶۷ab |
| Control | ۴/۴۴a | ۰e | ۰e | ۳۲/۲۷C | ۰/۰۴c | ۰/۰۳c | ۶/۸۲a | ۰/۱۱ b | ۳/۲۵c | ۲/۷۱d |

ميانگين هاي داراي حروف مشترك در هر ستون، از نظر آماري در سطح ۱% بر اساس آزمون دانكن اختلاف معني دار ندارند.

جدول ۳- اثر زمان انبارداري بر اتيلن، توليدات تخميري (اتانول و استالدهيد)، ويتامين C، كلروفيل، pH، اسيديته قابل تيتراسيون(TA)، كيفيت ظاهري، سفتي و تركيبات نامطبوع

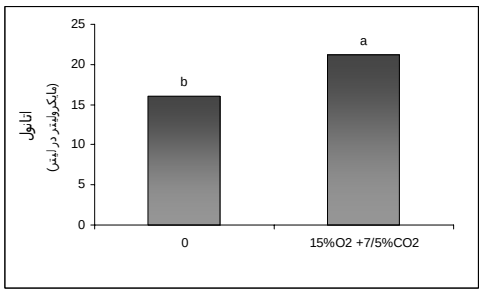
| زمان (روز) | توليد اتيلن ($nL.g^{-1}.h^{-1}$) | اتانول ($\mu L.L^{-1}$) | استالدهيد ($\mu L.L^{-1}$) | ويتامين C ($mg.100\ g^{-1}F$) | كلروفيل كل ($mg.\ g^{-1}FW$) | pH | TA (%) | كيفيت ظاهري | سفتي | تركيبات نامطبوع |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۳ | ۳/۷۸ bc | ۵/۰۴ f | ۱/۸۴ f | ۳۷/۷۱ c | ۰/۱۴a | ۶/۷۵ b | ۰/۱۸ a | ۵ a | ۵a | ۵a |
| ۶ | ۳/۷۴ bc | ۱۰/۲۳ e | ۲/۸۷ e | ۱۳۹/۰۹ bc | ۰/۱۲a | ۶/۷۴ b | ۰/۱۷a | ۴/۸۶ b | ۵ a | ۵a |
| ۹ | ۲/۹۶ d | ۱۶/۶۲ d | ۳/۹۷ d | ۳۷/۷۸ c | ۰/۰۸b | ۶/۶۴ c | ۰/۱۶b | ۴/۳۶ c | ۵ a | ۵ a |
| ۱۲ | ۴/۴۱ a | ۲۰/۷۳ c | ۵/۰۸ c | ۴۵/۶۸ ab | ۰/۰۶bc | ۶/۵۶ c | ۰/۱۵c | ۴/۳۲ c | ۴/۴۵ b | ۳/۹ bc |
| ۱۵ | ۳/۴۵ c | ۲۴/۷۱ b | ۵/۸۶ b | ۴۷/۲۰ a | ۰/۰۵c | ۶/۸۲ b | ۰/۱۴d | ۴/۰۷ d | ۴/۴۵ b | ۴/۲ b |
| ۱۸ | ۳/۸۲ c | ۳۴/۲۹ a | ۷/۰۲a | ۴۲/۶۶ abc | ۰/۰۵c | ۶/۹۶ a | ۰/۱۲e | ۳/۵۸ e | ۴/۱۸ c | ۳/۴۵ c |

ميانگين‌هاي داراي حروف مشترك در هر ستون، از نظر آماري در سطح ۱% بر اساس آزمون دانكن اختلاف معني دار ندارند.




شكل ۳- تاثير نوع پوشش بر ميزان توليد اتانول

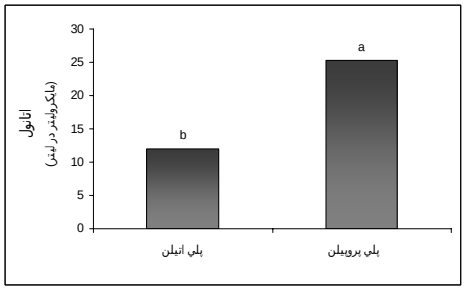
حروف مشابه بيانگر عدم اختلاف معني دار در سطح ۱ درصد مي باشد.




شكل ۵- تاثير تركيب گازي بر ميزان توليد اتانول

حروف مشابه بيانگر عدم اختلاف معني دار در سطح ۱ درصد مي باشد.

بعلاوه‌كاربردتركيب گازي حاوي $CO_2$ ۷/۵%+ $O_2$ ۱/۵% به مرور بر اثر تنفس و مصرف اكسيژن توليد اين تركيبات را تحريك كرد($P<0/01$)، (شكل ۴ و ۵).




شكل ۴- تاثير تركيب گازي بر ميزان توليد استالدهيد

حروف مشابه بيانگر عدم اختلاف معني دار در سطح ۱ درصد مي باشد

طوري‌كه براكلي‌هاي بسته‌بندي شده با پوشش پلي-پروپيلن همراه با تركيب گازي اوليه بالاترين ميزان اين تركيبات را نشان دادند($P<0/01$)، (جدول۲). مخلوف و همكاران توليد تركيبات نامطبوع الكلي در براكلي‌هاي نگهداري شده در ۱۰ يا ۱۵% $CO_2$ و ۲/۵% $O_2$ در طول ۴ هفته انبارداري در دماي ۱ درجه سانتي گراد را گزارش كردند (۱۲). ثابت شده است كه غلظت هاي $O_2$ كه توليد اين تركيبات را القا مي‌كنند توسط غلظت هاي $CO_2$ موجود تحت تاثير قرار مي‌گيرند (۷). بررسي نتايج حاصل از اندازه گيري توليدات تخميري در طول آزمايش نشان داد كه بين

زمان هاي مختلف اندازه گيري اختلاف معني داري در سطح ۱% وجود داشت به طوريكه در طول ۱۸ روز انبارداري براكلي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته در دماي ۱ درجه سانتي گراد ميزان اتانول و استالدهيد در بافت همه نمونه ها افزايش يافت (P<۰/۰۱)، (جدول۳). در اين دوره هيچ مقدار قابل شناسايي از اتيل استات توليد نشد. تواي ونن و دي ال نيز به نتايج مشابهي دست يافتند(۱۹).

ويتامين **C**: مقايسه تيمارهاي مختلف MAP با شاهد نشان‌دادكه‌بسته‌بندي گلچه‌هاي براكلي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته به ويژه با كاربرد پوشش پلي پروپيلن در مقايسه با نمونه هاي شاهد ميزان ويتامين C را به طور معني‌داري حفظ كرد. اما كاربرد تركيب گازي حاوي ۷/۵%$CO_2$ در كنار تنفس محصول و نفوذپذيري كم اين نوع پوشش در مقابل گاز $CO_2$ با فراهم آوردن اتمسفري حاوي غلظت بالا از اين گاز در حد خسارت زا براي محصول، باعث افت ويتامين C شد(P<۰/۰۱)، (جدول۲). بسته بندي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته با ايجاد فضايي حاوي سطوح پايين $O_2$ و سطوح بالاي $CO_2$ به علت كاهش فعاليت آنزيم‌هايي با ميل تركيبي بالا براي اكسيژن مثل آسكوربيك اسيد اكسيداز و پر اكسيداز منجر به كاهش متابوليسم تنفسي مي‌گردد (۱). اين آنزيم ها به عنوان عوامل اصلي تخريب آنزيمي آسكوربيك اسيد شناخته شده‌اند (۲۳). نتايج بارت و همكاران نشان داد كه بسته بندي براكلي تحت شرايط اتمسفر تعديل شده منجر به حفظ آسكوربيك اسيد مي گردد. وي در پژوهش هاي خود تفاوت معني داري در فعاليت آسكوربات اكسيداز در پاسخ به شرايط بسته مشاهده نكرد و رطوبت بالاتر درون بسته ها را عامل حفظ ويتامين C دانست (۲).

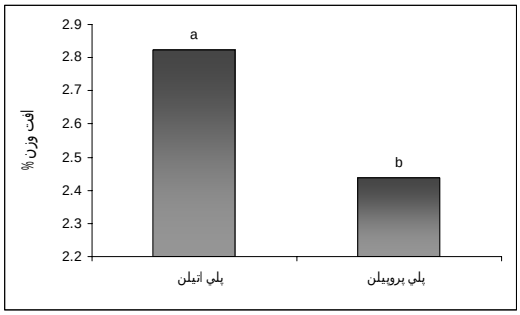
چنين به نظر مي رسد كه پوشش پلي پروپيلن با نفوذپذيري كمتر نسبت به بخار آب و گازها، با فراهم آوردن تركيب اتمسفري مناسب و همينطور رطوبت بالاتر در فضاي اطراف محصول در حفظ بهتر ويتامين C نتيجه داده است(۱). سرانو و همكاران ثابت كردند كه كاربرد پوشش‌هايي با منافذ كوچک و همچنين پوشش هاي بدون منفذ نسبت به پوشش هايي با منافذ درشت تنها كاهش جزئي در ميزان ويتامين C به وجود مي‌آورند(۱۶). كاربرد تركيب گازي حاوي سطوح بالاي $CO_2$ در اتمسفر تعديل يافته در نتيجه تحريك اكسيداسيون آسكوربيك اسيد و جلوگيري از احياء دهيدروآسكوربيك اسيد باعث تخريب ويتامين C مي‌شود (۱۰). احتمالا كاربرد اين تركيب در كنار تنفس محصول و نفوذپذيري كم پوشش پلي پروپيلن در مقابل گاز $CO_2$، اتمسفري حاوي غلظت بالا از اين گاز در حد خسارت زا براي محصول فراهم آورده است. نشان داده شده است اين شرايط باعث افزايش فعاليت آسكوربات پراكسيداز مي‌گردد (۱۰). تاثير $CO_2$ بالا روي ميزان ويتامين C بسته به نوع محصول متفاوت بوده و به مقدار $CO_2$، دما و طول دوره انباري وابسته مي باشد (۲۳). بسته بندي گلچه هاي براكلي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته كاهش ويتامين C را در طول دوره نگهداري به حداقل رسانده، تا پايان ۱۸ روز انبارداري ميزان آن را تقريبا بدون تغيير حفظ كرد (P<۰/۰۱)، (جدول۳).

كلروفيل: مقايسه تيمارهاي مختلف MAP با شاهد نشان داد كه بسته‌بندي گلچه‌هاي براكلي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته در همه تركيب هاي تيماري منجر به حفظ بهتر كلروفيل كل و a در مقايسه با شاهد شده است (P<۰/۰۱)، (جدول۲). كلروفيل b از ابتدا نيز در بافتها كم بوده و بسته بندي اختلاف معني داري در ميزان آن ايجاد نكرد. احتمالا قابليت MAP در كاهش توليد اتيلن و همچنين حفظ ويتامين C به عنوان يك تركيب آنتي اكسيدان (كه مانع از اكسيداسيون تركيبات كلروپلاست ها و از آن جمله كلروفيل مي شود) ميزان افت كلروفيل را در مقايسه با شاهد به حداقل رسانده است. پرين و همكاران (۱۱) به نقش رطوبت در جلوگيري از تخريب كلروفيل پي بردند بنابراين چنين تصور مي شود كه بسته‌بندي گلچه‌هاي براكلي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته با حفظ رطوبت و ممانعت از افت وزن تخريب كلروفيل را كاهش داده است. با اين وجود تواي ونن (۲۰) كاهش كلروفيل را در دو رقم براكلي با كاهش وزن يكسان گزارش كرد و تاثير MAP در جلوگيري از تخريب كلروفيل را به دخالت در فعاليت آنزيم هاي پراكسيداز و سوپراكسيد ديس موتاز و پراكسيداسيون ليپيد نسبت داد. نشان داده شده است كه بسته بندي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته از طريق افزايش غلظت $CO_2$ در اطراف محصول منجر به استحكام غشا (البته مكانيسم

عمل سطوح بالاي $CO_2$ بر روي غشا ناشناخته است) و حفظ كلروفيل مي‌گردد (۲). كاهش كلروفيل از نشانه هاي اصلي پيري براكلي مي باشد كه بر طبق مشاهدات مخلوف و همكاران (۱۲) يك روز بعد از انبارداري در معرض هوا شروع شده و تقريبا ظرف ۳ روز كامل مي گردد. همانطور كه در جدول ۳ مشاهده مي شود بسته بندي گلچه هاي براكلي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته كاهش كلروفيل كل را تا ۶ روز بعد از انبارداري به طور معني داري به تاخير مي‌اندازد ($P<۰/۰۱$). با توجه به نتايج حاصل از اندازه گيري اتيلن (شكل۱) و مقايسه آن با تغييرات كلروفيل در طول دوره انباري (شكل۷) چنين به نظر مي رسد كه همزمان با اوج گرفتن اتيلن در روز ۱۲ ميزان كلروفيل روند رو به كاهشي را پيموده و همراه با كاهش يافتن ميزان توليد اتيلن تا پايان دوره انباري تقريبا ثابت مانده است. مخلوف و همكاران به نتايج مشابهي دست يافتند (۱۲). كلروفيل a كه بخش اصلي كلروفيل كل را تشكيل مي دهد، روند مشابهي را طي كرد (داده ها نشان داده نشده است).

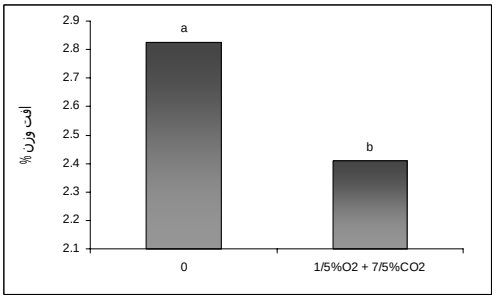
**pH** و اسيديته قابل تيتراسيون: مقايسه تيمارهاي مختلف MAP با شاهد نشان داد كه بسته بندي گلچه هاي براكلي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته در همه تركيبهاي تيماري منجر به حفظ بهتر pH و اسيديته در مقايسه با شاهد شده است ($P<۰/۰۱$)، (جدول۲). به نظر مي رسد كه بسته بندي در اتمسفر تعديل يافته با قابليت كاهش شدت تنفس و در نتيجه حلاليت گاز $CO_2$ در بافت محصول و تشكيل اسيد كربنيك مانع از كاهش اسيديته و افزايش pH شده و در نهايت مقادير آنها در حدود مقادير اوليه حفظ شده است. بررسي نتايج حاصل از اندازه گيري pH در طول آزمايش نشان داد كه بين زمانهاي مختلف اندازه گيري اختلاف معني داري وجود داشت. به طوريكه مقدار آن از ۶/۷ در روز سوم بعد از ۱۸ روز انبارداري به ۶/۹ افزايش يافته است كه مقدار قابل توجهي نمي‌باشد ($P<۰/۰۱$)، (جدول۳). همچنين مطابق با جدول ۳ ميزان اسيديته تا ۶ روز انبارداري بدون تغيير باقي ماند و پس از آن تا پايان دوره روند رو به كاهشي را پيمود. به طوريكه مقدار آن از ۰/۱۸ در شروع آزمايش به ۰/۱۳ در پايان آزمايش و پس از ۱۸ روز رسيد.

افت وزن: يكي از مشكلات عمده انبارداري براكلي افت وزن بالا مي‌باشد كه بازاريسندي آن را تحت تاثير قرار مي-دهد. بسته‌بندي گلچه هاي براكلي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته تاثير قابل توجهي بر كاهش ميزان اتلاف آب از محصول داشته و با ايجاد يك ميكرواتمسفر اشباع از رطوبت و همچنين كاهش سرعت جريان هوا از سطح محصول سبب كاهش اختلاف فشار بخار آب بين محيط اطراف محصول و بافت آن شده، از شدت تعرق و تلفات آبي مي كاهد. پوشش پلي پروپيلن با نفوذپذيري كمتر در مقابل بخار آب نسبت به نوع پلي اتيلن (جدول۱) قابليت بالايي در جلوگيري از افت وزن گلچه‌هاي بسته‌بندي‌شده‌نشان‌داد($P<۰/۰۱$)، (شكل۶).




شكل ۶- تاثير نوع پوشش بر ميزان افت وزن
حروف مشابه بيانگر عدم اختلاف معني دار در سطح ۱ درصد مي باشد.

همچنين به نظر مي‌رسد كاربرد تركيب گازي $\%۷/۵CO_2 + \%۱/۵O_2$ با جلوگيري از تجزيه مواد در فعاليتهاي كند تنفسي عامل مؤثري در كاهش افت وزن مي‌باشد ($P<۰/۰۱$)، (شكل۷). ون دن برگ با بسته بندي تره فرنگي و كدو تحت شرايط اتمسفر تعديل شده به نتايج مشابهي دست يافتند(۲۲). در طول ۱۸ روز انبارداري با استفاده از MAP هيچ تغيير معني داري در ميزان افت وزن مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$).




شكل ۷- تاثير تركيب گازي بر ميزان افت وزن
حروف مشابه بيانگر عدم اختلاف معني دار در سطح ۱ درصد مي باشد.

کیفیت براکلي: مقايسه تيمارهاي مختلف MAP با شاهد نشان داد كه بسته بندي گلچه هاي براكلي به ويژه با استفاده از پوشش پلي پروپيلن با قابليت حفظ كلروفيل و جلوگيري از افت وزن برتري معني داري در حفظ كيفيت ظاهري در طول ۱۸ روز انبارداري ايجاد مي كند($P<۰/۰۱$)، (جدول۲). به نظر مي رسد كه تاثير نوع پوشش بيش از تاثير تركيب گازي بوده است. بررسي نتايج حاصل از ارزيابي كيفيت ظاهري در طول آزمايش نشان داد كه بين زمان‌هاي مختلف اندازه گيري اختلاف معني داري در سطح ۱% وجود داشت. به طوري كه طي مدت زمان نگهداري گلچه‌هاي براكلي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته، كيفيت ظاهري كاهش جزئي يافته و در پايان ۱۸ روز انبارداري از كيفيت خوبي برخوردار بودند، (جدول۳). همچنين سفتي گلچه ها مشخصه حفظ كيفيت براكلي بوده و كاهش وزن نقش كليدي در بافت آن دارد. مقايسه تيمارهاي مختلف با شاهد نشان داد كه در براكلي هاي بسته بندي شده با استفاده از پوشش هاي پلي اتيلني و به ويژه پلي پروپيلني وجود يك اتمسفر اشباع از رطوبت در اطراف محصول باعث حفظ سفتي و تازگي بافت شد ($P<۰/۰۱$)، (جدول۲). بر عكس در نمونه هاي شاهد از دست دادن رطوبت باعث افزايش الاستيسيته بافت شد. اين نتيجه با نتايج به دست آمده از پژوهش‌هاي تو اي ونن و دي ال مطابقت داشت (۱۹). همچنين بررسي نتايج حاصل از اندازه گيري سفتي در طول آزمايش نشان داد كه بين زمانهاي مختلف اندازه گيري اختلاف معني داري در سطح ۱% وجود داشت. همانطور كه در جدول ۳ مشاهده مي شود سفتي به مدت ۹ روز در حد عالي حفظ شد و پس از آن در اثر تعرق و تلفات آبي تا پايان دوره كاهش جزئي يافت. در پايان ۱۸ روز انبارداري گلچه هاي براكلي از سفتي خوبي برخوردار بودند. بسته-بندي براكلي تحت شرايط اتمسفر تعديل يافته با ايجاد شرايط بي هوازي و توليد متابوليت هاي حاصل از تخمير نظير اتانول و استالدهيد باعث به مشام رسيدن بوي نامطبوعي مي‌گردد. بررسي نتايج حاصل از آزمون بويايي گروه پانل حاكي از آن است كه تا ۹ روز انبارداري هيچ نوع تركيب نامطبوعي به مشام نرسيد و پس از آن در طول دوره انباري به ميزان جزئي توليد شده و در روز ۱۸ ام مقدار كم اما مشخص اين تركيبات احساس شد($P<۰/۰۱$)، (جدول۳).

تركيب هاي تيماري عبارتند از:

P1: پلي اتيلن

P2: پلي پروپيلن

$P_1G$: پوشش پلي اتيلن همراه با تركيب گازي $\%۱/۵O_2 + \%۷/۵CO_2$

$P_2G$: پوشش پلي پروپيلن همراه با تركيب گازي $\%۱/۵O_2 + \%۷/۵CO_2$

Control: شاهد

## سپاسگزاري

نويسندگان، مراتب تشكر و قدرداني خود را از معاونت محترم آزمايشگاه كنترل غذا و دارو وابسته به وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشكي كشور و مديريت بخش تحقيق و توسعه به خاطر تدارك امكانات فني و مالي اين پروژه ابراز مي دارند.

## REFERENCES

1. Barth, M.M., Kerbel, E.L., Broussard, S. and Schmidt, S.J., 1993. Modified atmosphere packaging protects market quality in broccoli spears under ambient temperature storage. J. Food Sci. 58, 1070-1072.
2. Barth, M.M., Kerbel, E.L., Perry, A.K., Schmidt, S.J., 1993. Modified atmosphere packaging affects ascorbic acid, enzyme activity and market quality of broccoli. J. Food Sci. 58, 140-143.
3. Beaudry, R.M., 2000. Responses of horticultural commodities to low oxygen: limit to the expanded use of modified atmosphere packaging. Hort. Technol. 10, 491-500.
4. DeEll, J.R., Toivonen. P.M.A., 2000. Chlorophyll fluorescence as a nondestructive indicator of broccoli quality during storage in modified atmosphere packaging. J. Hort. Sci. 35, 256-259.
5. Forney, C.F., Mattheis, J.P., Austin, R.K., 1991. Volatile compounds produced by broccoli under anaerobic conditions. J. Agric. Food Chem. 39, 2257-2259.

6. Franke, A.A., Custer, L.J., Arakaki, C.,Murphy, S.P., 2004. Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. J. Food. Com. Anal. 17, 1-35.
7. Jacobsson, A., Nielsen, T., Sjoholm, I., 2004. Influence of temperature, modified atmosphere packaging, and heat treatment on aroma compounds in broccoli. J. Agric. Food Chem. 52, 1607-1614.
8. Jacobsson, A., Nielsen, T., Sjöholm, I., Wendin, K., 2003. Influence of packaging material and storage condition on the sensory quality of broccoli. J. Food Technol. 2003.
9. Kader, A.A. and Morris, L.L. 1977. Relative tolerance of fruits and vegetables to elevated $CO_2$ and reduced $O_2$ levels, pp. 260-265.In controlled atmospheres for the Storage and Transport of Horticultural Crops. Dewey, D.H. (ed.).Department of Horticulture. Michigan state University, East Lansing, MI.
10. Lee, S.K., Kader, A.A., 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticulture crops. J. Postharvest Biol. Technol. 20 (2000): 207-220.
11. Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophyll and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol. 148, 350-382.
12. Makhlouf, J., Willemot, C., Arul, J., Castaigne, F. and Emond, J. 1989. Regulation of ethylene biosynthesis in broccoli flower buds in controlled atmospheres. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114:955-958.
13. Mostofi, Y., & F. Najafi. 2006. Laboratory Manual of Analytical Techniques in Horticulture. Tehran University Press.
14. Perrin, P.W. & Gaye, M.M., 1986. Effects of simulated retail display and overnight storage treatments on quality maintenance in fresh broccoli. J. Food Sci. 51: 146.
15. Rushing, J.W., 1990. Cytokinins affect respiration, ethylene production, and chlorophyll retention of pachaged broccoli florets. J. Hort. Sci. 25, 88-90.
16. Serrano, M., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Castillo, S., Valero, D., 2006. Maintenance of broccoli quality and functional properties during cold storage as affected by modified atmosphere packaging. J. Postharvest Biol. Technol. 39, 61-68.
17. Tian, M.S., Downs, C.G., Lill, R.E. and King, G.A., 1994. A role for ethylene in the yellowing of broccoli after harvest. J. Am. Soc. Hortic. Sci., 119, 276-281.
18. Toivonen, P.M.A., 1997. The effects of storage temperature, storage duration, hydro-cooling, and micro-perforated wrap on shelf life of broccoli (Brassica oleracea L., Italica Group). Postharvest Biol. Technol. 10, 59-65.
19. Toivonen, P.M.A., DeEll, J.R., 2001. Chlorophyll fluorescence, fermentation product accumulation, and quality of stored broccoli in modified atmosphere packaging and subsequent air storage. J. Postharvest Biol. Technol. 23, 61-69.
20. Toivonen, P.M.A., Sweeny, M., 1998. Differences in chlorophyll loss at 13°C for two broccoli (*Brassica oleracea* L.) cultivars associated with antioxidant enzyme activities. J. Agric. Food Chem. 46, 20-24.
21. Vallejo, F., Barberan, F.T., Viguera, C.G., 2003. Health-Promoting compounds in broccoli as influenced by refrigerated transport and retail sale period. J. Food Chem. 51, 3029-3034.
22. Van den burg, L. 1981. The role of humidity, temperature, and atmospheric composition in maintaining vegetable quality during storage, p. 95-107. In: R. Teranishi and H. Barrera-Benitez (eds). Quality of selected fruits and vegetables of North America. ACS Symp. Ser.
23. Weichman, J., 1986. The effect of controlled atmosphere storage on the sensory and nutritional quality of fruits and vegetables. Hort. Rev. 8, 101.
24. Yang, S.F. and Hoffman, N.E., 1984. Ethylene biosyntesis and its regulation in higher plants. Annu. Rev. Plant. Physiol. 35, 155-189.
25. Zhuang, H., Hidebrand, D.F., Barth, M.M., 1995. Senescence of broccoli buds is related to changes in lipid peroxidation. J. Agric. Food Chem. 43, 2585-2591.