

اثر دما و مدت انبارمانی بر تغییرات بیوشیمیایی و کیفیت پس از برداشت میوه پرتقال خونی (*Citrus sinensis* cv. Moro) مورو

مهسا همدانی^۱، ولی ربیعی^{۲*}، حسین مرادی^۳ و علی قنبری^۴
۱ و ۲، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۳ و ۴، استادیار و مربی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری
(تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۲ - تاریخ تصویب: ۹۱/۹/۱۹)

چکیده

کیفیت و میزان رنگ در گوشت پرتقال‌های خونی پس از برداشت به دما و شرایط نگهداری بستگی دارد. بدین منظور اثر دماهای مختلف (۸، ۱۵ و ۲۲ درجه سانتی‌گراد) و زمان‌های مختلف انبارمانی (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ روز) بر میزان مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون، pH، ویتامین ث، مقدار فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، میزان آنتوسیانین، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیا لایاز (PAL) و پروتئین کل در میوه‌های رسیده پرتقال خونی رقم مورو، براساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۰، بررسی شد. نتایج نشان داد که در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد، مقدار پروتئین کل و فعالیت آنزیم PAL هم‌زمان با تجمع آنتوسیانین کل، پس از ۷۵ روز انبارمانی افزایش یافت، اما مقدار فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش یافت. به علاوه در درجه حرارت‌های دیگر این روند، کاهش یافته است. بیشترین میزان ویتامین ث، اسیدیته قابل تیتراسیون و مواد جامد محلول، قبل از نگهداری میوه در انبار بود که در پایان ۷۵ روز انبارمانی این مقدار به حداقل رسید. به طور کلی، مشخص شد که با افزایش درجه حرارت و مدت انبارمانی کاهش چشمگیری در صفات ارزیابی شده مشاهده می‌شود.

واژه های کلیدی: آنتوسیانین، پرتقال خونی، دوره انبارمانی، فنیل‌آلانین‌آمونیا لایاز.

مقدمه

پرتقال‌های خونی از جمله ارقام مهم مرکبات در جهان و ایران هستند که ترکیبات دارویی و غذایی ارزشمندی دارند و فقط در شرایط آب‌وهوای مدیترانه‌ای کشت می‌شوند (Fotouhi & Fattahi, 2007). آن‌ها رنگ گوشت و پوست منحصر به فردی دارند که ناشی از رنگیزه فنلی متعلق به گروه آنتوسیانین‌ها است (Maccarone & Rapisarda, 1985). وجود این رنگیزه در پرتقال گوشت‌قرمز (خونی) باعث افزایش کیفیت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن، نسبت به ارقام معمولی شده

است (Rapisarda et al., 1999). ترکیبات دیگر پرتقال‌های خونی شامل اسیدآسکوربیک، فلاونوئیدها و هیدروکسی‌سینامیک هستند که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند (Arena et al., 2001). مهم‌ترین ویژگی‌های درمانی آن‌ها، جلوگیری از آلرژی و بیماری‌های التهابی، سرطان، سکت، تصلب شرایین و نیز فعالیت آنتی‌ویروسی است (Ames et al., 1993). آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیا لایاز^۱ نوعی آنزیم کلیدی در مسیر سنتز آنتوسیانین محسوب

1. Phenylalanin ammonia-lyase (PAL)

امروزه، رنگ قرمز صفتی است که در بازارپسندی و جذب مشتری تأثیر فراوانی دارد و به دست آوردن رنگ پایدار و غلیظ میوه، در طول زمان نگهداری و فرایند آماده‌کردن اهمیت خاصی دارد. بنابراین، هدف از این پژوهش، بررسی تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پرتقال‌های خونی به منظور تعیین درجه حرارت مطلوب برای رقم استفاده‌شده طی انبارمانی برای بهبود کیفیت و افزایش بازارپسندی محصول بوده است.

مواد و روش‌ها

میوه‌های پرتقال خونی رقم مورو در زمان بلوغ تجارتي از باغ مهدشت واقع در شهرستان ساری برداشت شده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند پس از ضدعفونی با قارچ‌کش تیاندازول به نسبت ۲ در هزار، ۱۴۴ عدد میوه سالم به طور تصادفی به ۳ گروه ۴۸ عددی در ۳ تکرار (هر تکرار شامل ۴ میوه) تقسیم شدند و به مدت ۷۵ روز در سردخانه‌هایی با دو دمای ۸ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد (رطوبت نسبی ۸۵-۹۰ درصد) و یک سطح در دمای معمول آزمایشگاه (۲۲ درجه سانتی‌گراد)، قرار گرفتند. میوه‌ها به فاصله زمانی هر ۲۵ روز یکبار، ضمن نگهداری در انبار برای اندازه‌گیری صفات کیفی نمونه‌برداری شدند. این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و ۲ تیمار انجام شد. تیمارها شامل دما در ۳ سطح (۸، ۱۵ و ۲۲ درجه سانتی‌گراد) و مدت انبارمانی در ۴ سطح (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ روز) بوده است.

اندازه‌گیری صفات

میزان مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون، pH و ویتامین ث
میزان مواد جامد محلول با استفاده از رفراکتومتر دیجیتالی، pH به وسیله دستگاه pH متر، اسیدیته قابل تیتراسیون (برحسب اسیدسیتریک) با استفاده از تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال و میزان ویتامین ث با روش تیتراسیون با دی کلرو فنل ایندو فنل^۱ تعیین شد (Saini et al., 2001).

می‌شود. در طول سنتز ترکیبات فلاونوئیدی، آنزیم PAL اولین آنزیم این مسیر است که تبدیل اسیدآمینۀ فنیل‌آلانین را به اسیدسینامیک‌ترانس کاتالیز می‌کند (Pettersen et al., 2007) این آنزیم با استرس‌های مختلف زنده (آلودگی با ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و ...) و غیرزنده (دمای بالا و پایین، اشعه فرابنفش، زخم شدن و ...) تحریک می‌شود که نتیجه آن تجمع فنیل‌پروپانویدهایی همچون اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها است (Eraslan et al., 2007). فعالیت آنزیم PAL، ارتباط مثبت با سنتز آنتوسیانین در میوه‌های مختلف نظیر انگور (Kataoka et al., 1983)، توت‌فرنگی (Given et al., 1988) و پرتقال‌های خونی (Rapisarda et al., 2008) دارد. بنابراین، با افزایش فعالیت این آنزیم، سنتز و تجمع ترکیبات فنلی، و درنهایت، ترکیبات فنلی با خواص آنتی‌اکسیدانی، مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده را افزایش می‌یابد (Eraslan et al., 2007). اگرچه میوه مرکبات جزء میوه‌های نافرازگرا است، ترکیبات موجود در آن بسته به دما و مدت نگهداری تغییر می‌کنند؛ یعنی هر چه مدت انبارمانی طولانی‌تر باشد این ترکیبات بیشتر تغییر می‌یابند (Lester & Hodges, 2007).

Arena et al. (2001) گزارش کردند که از میزان ویتامین ث موجود در مرکبات، طی نگهداری طولانی‌مدت در انبار کاسته می‌شود و این کاهش، همراه با کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کیفیت میوه است.

مطالعات نشان می‌دهند که میزان آنتوسیانین موجود در پرتقال‌های خونی در دمای پایین انبار افزایش می‌یابد که سنتز آن‌ها به فعالیت آنزیم‌هایی چون فنیل‌آلانین‌آمونیا لیز ارتباط دارد (Lo Piero et al., 2005). همچنین پرتقال‌های خونی در برابر سرمازدگی بسیار آسیب‌پذیرند و هنگامی که در دمای کمتر از ۷- ۸ درجه سانتی‌گراد انبار شوند، ممکن است دستخوش تغییرات متابولیکی طی مدت طولانی شوند (Pratella et al., 1969). یکی از آثار غیرمستقیم دمای زیاد، جلوگیری از سنتز رنگدانه، کم‌رنگ شدن محصول و تخریب آن است (Pompodakis et al., 2005). بنابراین، انبارمانی ممکن است بر شاخص‌های کیفی و ارزش غذایی میوه تأثیرگذار باشد (Ayala-Zavala et al., 2004).

$$\text{Absorbance (A)} = (A_{520, \text{pH}1} - A_{700, \text{pH}1}) - (A_{250, \text{pH}4.5} - A_{700, \text{pH}4.5})$$

میزان آنتوسیانین = $A \times 449.2 \times 1000 / 26900 \times \text{DF}$
 اعداد $449/2$ و 26900 به ترتیب وزن مولکولی و ضریب جذب مولار مولکول سیانیدین-۳-گلوکوزید هستند. DF نیز عامل رقت محسوب می‌شود.

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمولیاناز
 برای سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز در این تحقیق از عصاره‌هایی که به وسیلهٔ بافر فسفات استخراج شدند، استفاده شد.

سنجش این آنزیم براساس روش & Saunders & McClure (1974) با کمی تغییرات انجام شد. محتویات سنجش آنزیم شامل 50 میکرولیتر عصاره آنزیمی، 450 میکرولیتر بافر بورات سدیم 10 میلی مولار، 250 میکرولیتر آب مقطر به اضافه 250 میکرولیتر بافر سوبسترای فنیل آلانین 50 میلی مولار بود که جذب اولیه و جذب نهایی به ترتیب قبل و بعد از بن ماری در دمای 40 درجهٔ سانتی‌گراد به مدت 1 ساعت و در طول موج 290 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. فعالیت آنزیم براساس $\mu\text{FW} \cdot \text{min} \cdot \text{MOL/g}$ بیان شد. میزان پروتئین کل عصارهٔ آنزیمی نیز به وسیلهٔ روش برادفورد برآورد شد (Bradford, 1976).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS، مقایسهٔ میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن از نرم‌افزار MSTAT-C و همچنین برای ثبت داده‌ها و رسم نمودار از نرم‌افزار EXCEL استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان می‌دهد که سطوح مختلف درجهٔ حرارت و مدت انبارمانی بر میزان مواد جامد محلول، اسیدیته قابل تیتراسیون، pH، ویتامین ث، مقدار فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، میزان آنتوسیانین، فعالیت آنزیم PAL و پروتئین کل میوه‌ها در انبار اثر مثبتی داشته است.

تعیین میزان فنل کل

برای اندازه‌گیری میزان فنل کل از روش فولین-سیو کالچو^۱ استفاده شد (Eberhardt et al., 2000).

50 میکرولیتر عصارهٔ میوه به 450 میکرولیتر آب مقطر و $2/5$ میلی لیتر فولین 10 درصد افزوده شد. سپس به مخلوط حاصل، 2 میلی‌لیتر کرینات سدیم $7/5$ درصد اضافه شد. پس از 2 ساعت نگهداری در دمای محیط، میزان جذب عصاره در طول موج 760 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل Biochrom WPA (Biowave II UV-VIS قرائت شد ($y=0.011x+0.273$, $R^2:0.981$). نتایج به صورت میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره گزارش شد.

تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه‌ها از خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH (۲ و ۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل)^۲ استفاده شد (Du et al., 2009). به این منظور مقادیر مختلف عصاره میوه با DPPH $0/1$ نرمال، مخلوط و بعد از 30 دقیقه، میزان جذب استاندارد و نمونه در طول موج 517 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-VIS خوانده شد. سپس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH محاسبه شد.

$$\% \text{DPPH}_{\text{sc}} = (A_{\text{cont}} - A_{\text{samp}}) / A_{\text{cont}} \times 100$$

که در آن $\% \text{DPPH}_{\text{sc}}$ = درصد بازدارندگی، A_{cont} = میزان جذب DPPH و A_{samp} = میزان جذب نمونه + DPPH است.

تعیین غلظت آنتوسیانین کل

محتوای کل آنتوسیانین در عصاره‌ها با استفاده از روش اختلاف جذب در pH های مختلف صورت گرفت (Wrolstad, 1976). میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج های 520 و 700 نانومتر در دو pH متفاوت (1 و $4/5$) اندازه‌گیری شد و از فرمول زیر برای محاسبهٔ مقدار آنتوسیانین استفاده شد:

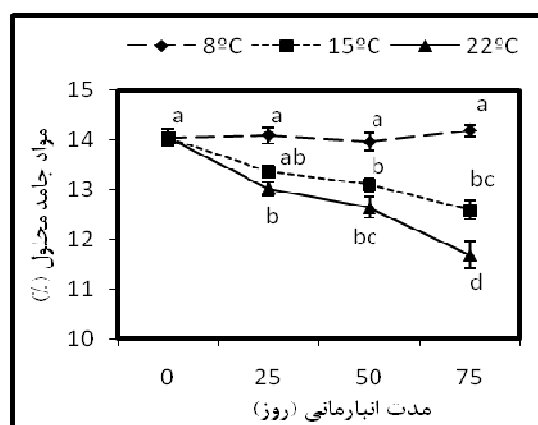
1. Folin-Ciocalteu
 2. 1,1-Diphenyl 2-picrylhydrazyl

این است که با افزایش دوره نگهداری در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد میزان قند افزایش یافته، هر چند که اختلاف بین آن‌ها معنادار نشده است. با افزایش دما در طول مدت نگهداری از میزان مواد جامد محلول تا حد زیادی کاسته شد که کاهش آن به دلیل مصرف آن در تنفس و تأمین انرژی برای فرایندهای انرژی‌خواه است (Lo Piero *et al.*, 2005).

همچنین برهم‌کنش درجه حرارت و مدت انبارمانی برای همه صفات به جز اسیدیته قابل تیتراسیون و ویتامین ث اثر معناداری را نشان داده است.

مواد جامد محلول (TSS)، نسبت مواد جامد محلول به اسید قابل تیتراسیون (TSS/TA)

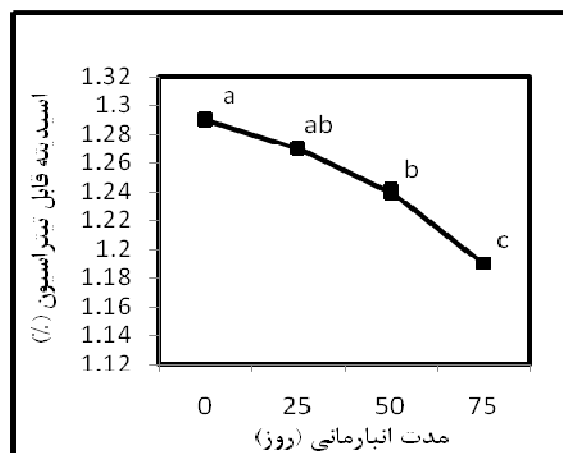
شکل (۱) اثر بر هم‌کنش دما و مدت نگهداری میوه در انبار را بر میزان مواد جامد محلول نشان می‌دهد و بیانگر



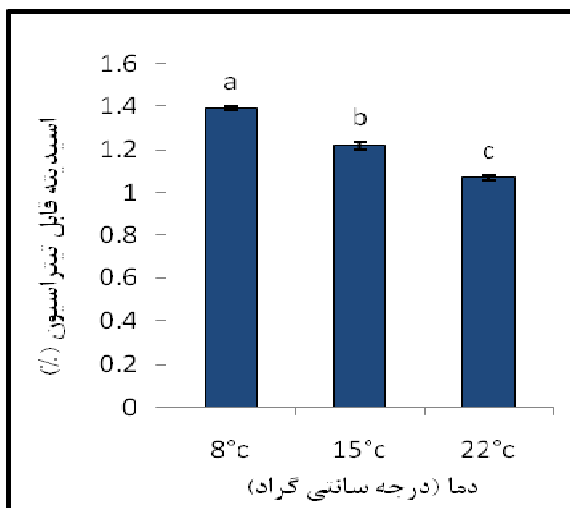
شکل ۱. اثر متقابل دما و مدت انبارمانی بر میزان کل مواد جامد محلول

بنابراین دمای زیاد انبار سبب کاهش بیشتر میزان اسیدیته قابل تیتراسیون می‌شود (Piga *et al.*, 2000). همچنین در پایان دوره انبارمانی نسبت TSS/TA، در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان را در مقایسه با سایر دماها و زمان‌های نگهداری داشت (شکل ۴). در حقیقت افزایش نسبت TSS/TA به دلیل کاهش شدید TA نسبت به TSS است (Lo Scalzo *et al.*, 2004).

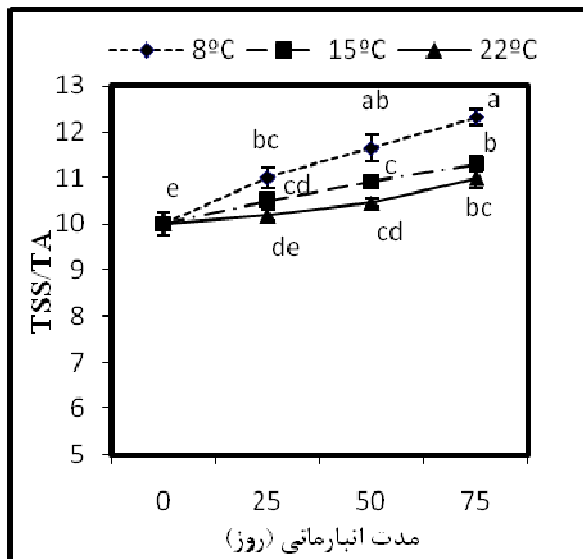
با توجه به نتایج تجزیه آماری و مقایسه میانگین‌ها اگرچه تفاوت معناداری در اسیدیته قابل تیتراسیون میوه‌ها بین اثر متقابل دما و مدت انبارمانی وجود ندارد، اثر مستقل دما و زمان‌های مختلف نمونه‌برداری از انبار، اختلاف معناداری مشاهده شد به گونه‌ای که با افزایش دما و زمان‌های مختلف نگهداری در انبار، میزان اسیدیته قابل تیتراسیون کاهش می‌یابد (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲. اثر مستقل مدت انبارمانی بر TA در رقم مورو



شکل ۳. اثر مستقل دما بر TA در رقم مورو

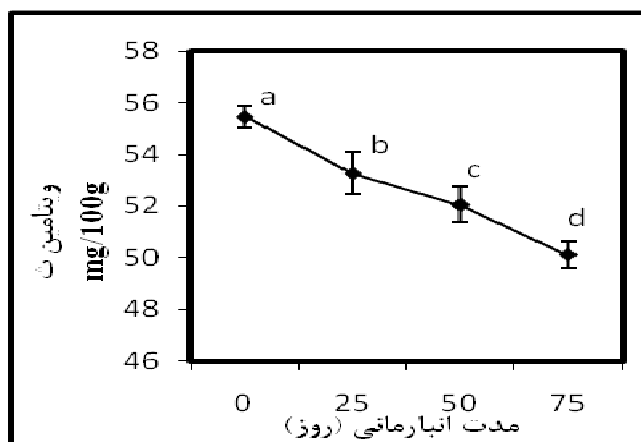


شکل ۴. اثر متقابل دما و مدت انبارمانی بر TSS/TA در رقم مورو

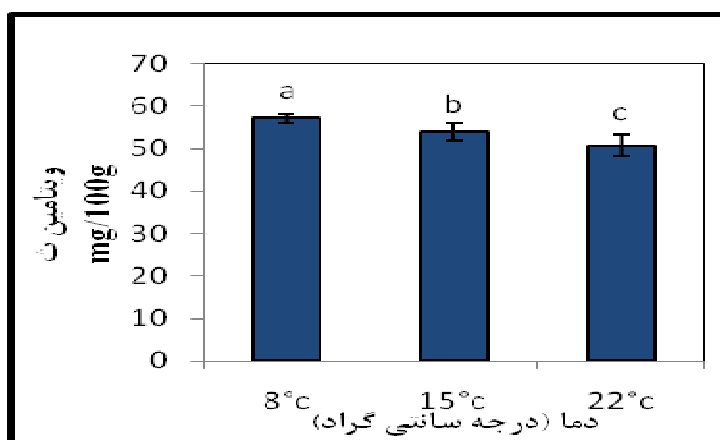
(et al., 2001). بر اساس شکل ۷، بیشترین pH در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد بعد از ۷۵ روز انبارمانی حاصل شد. به عبارتی با افزایش دما و مدت نگهداری در انبار، pH به طور چشمگیری افزایش یافت. با مقایسه افزایش pH و تخریب آنتوسیانین معلوم شد که با بالا رفتن دما و افزایش pH، تخریب آنتوسیانین در میوه‌ها افزایش یافت. بر اساس گزارش‌های موجود نمک‌های فلاویلیوم در آنتوسیانین‌ها در شرایط اسیدی پایدارند و زمانی که تحت تأثیر درجه حرارت زیاد قرار می‌گیرند، پروتون از دست می‌دهند و به باز کوئینودال تبدیل می‌شوند که به شدت ناپایدارند و بلافاصله به ترکیبات بی‌رنگ تبدیل می‌شوند (Rapisarda et al., 2008).

ویتامین ث و میزان pH آب میوه

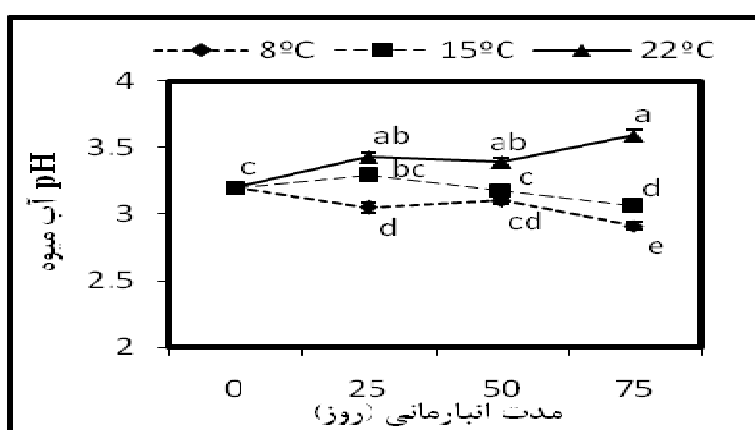
تغییرات ویتامین ث با گذشت زمان نزولی بود و پس از ۷۵ روز انبارمانی بیشترین کاهش را داشت که این کاهش با افزایش دما بیشتر شد (شکل‌های ۵ و ۶). بنابراین انبارمانی میوه‌ها، سبب کاهش معناداری مقدار ویتامین ث آن‌ها شد که این کاهش در شرایط نگهداری طولانی‌مدت، کاملاً طبیعی به نظر می‌رسد، زیرا با افزایش دوره انبارمانی و شروع پدیده پیری میزان ویتامین ث و اسیدها در واکنش تنفس و چرخه کربس مصرف می‌شوند (Lee & Kader, 2000). همچنین کاهش میزان ویتامین ث را می‌توان به کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها طی انبارمانی نسبت داد (Arena



شکل ۵. اثر مستقل مدت انبارماتی بر میزان ویتامین ث در رقم مورو



شکل ۶. اثر مستقل دما بر میزان ویتامین ث در رقم مورو



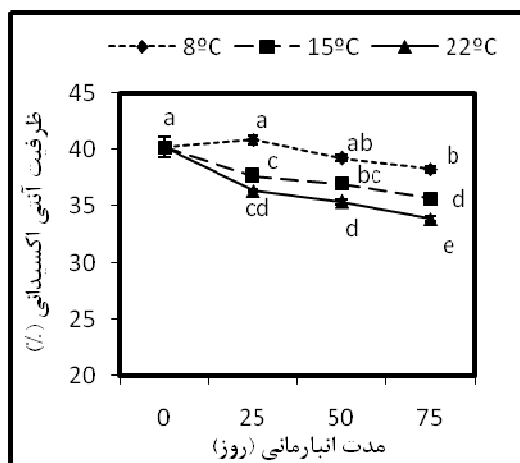
شکل ۷. اثر متقابل دما و مدت انبارماتی بر pH آب میوه در رقم مورو

در همین دما مقدار آن کاهش یافت. در حالی که کمترین میزان فنل کل در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد بعد از ۷۵ روز انبارماتی مشاهده شد (شکل ۸). کاهش ترکیبات فنلی طی انبارماتی را می‌توان به فرایند پیری

فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، بیشترین میزان فنل کل در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد بعد از ۲۵ روز انبارماتی اندازه‌گیری شد ولی در پایان ۷۵ روز نگهداری

غلظت اسیدآسکوربیک میوه‌ها در دمای بالای نگهداری، به سرعت کاهش پیدا می‌کند، ولی در دمای پایین بهتر حفظ می‌شود؛ شاید یکی از عوامل کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در طول دمای بالا، کاهش اسیدآسکوربیک به عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی باشد (Javanmardi & Kubota, 2006)، که نتایج یافته‌های این پژوهش را تأیید می‌کند. کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در دمای بالا و در طول دوره انبارمانی احتمالاً به دلیل مصرف بخش زیادی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در دفاع از رادیکال‌های آزاد است (Gulen. & Eris, 2004). در این پژوهش نیز، در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد بعد از ۷۵ روز انبارمانی احتمالاً با مصرف شدن آنتی‌اکسیدان در مقابله با رادیکال‌های آزاد اکسیژن، مقدار آن پایین آمده است (شکل ۹) که موجب کاهش عمر میوه، به منزله یکی از خسارت‌های مرتبط در مرحله پس از برداشت می‌شود.

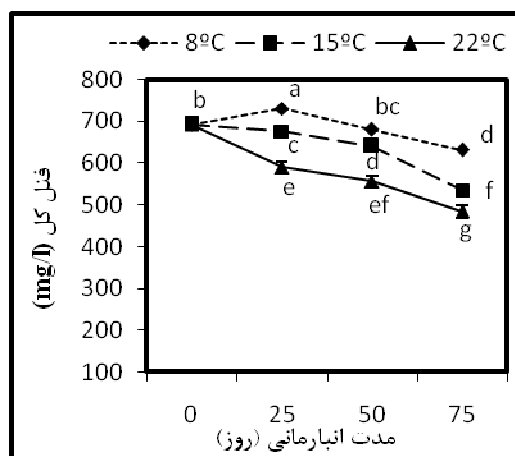


شکل ۹. اثر متقابل دما و مدت انبارمانی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی رقم مورو

داد که هیدرولیز ساختمان سیانیدین-۳-گلوکوزید، در ناپایداری و تخریب آنتوسیانین موثر است. در واقع تغییر رنگ در نتیجه هم‌زمانی کاهش سنتز و افزایش تجزیه آنتوسیانین صورت می‌گیرد. درجه حرارت یکی از عوامل مهم تأثیرگذار بر تجمع آنتوسیانین در گل‌ها و میوه‌ها در مراحل قبل و پس از برداشت است و کاهش دما سبب افزایش سنتز آنتوسیانین در آن‌ها می‌شود (Dela *et al.*, 2003). همچنین افزایش دما سبب کاهش تجمع

نسبت داد. مقدار فنل در رقم مورو به آنتوسیانین زیاد و مقدار فلاونوئیدها نیز بستگی دارد (Lo Scalzo *et al.*, 2004). بنابراین زمان و دمای نگهداری به طور چشمگیری مقدار پلی‌فنل کل را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Klimezak & Malecka, 2006). نتایج نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه در ابتدای دوره نگهداری در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد اندکی افزایش یافت هرچند اختلاف بین آن‌ها معنادار نبود، در پایان مدت انبارمانی در همین دما، مقدار آن کاهش یافت. همچنین مشاهده شد که با افزایش دما و مدت انبارمانی از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تا حد زیادی کاسته شد (شکل ۹).

Lo Scalzo *et al.* (2004) در پژوهشی عنوان کردند که فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های اندازه‌گیری شده طی قرار گرفتن در سردخانه در ارقام پرتقال کاهش می‌یابد و سهم زیادی از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به ترکیبات فنلی و ویتامین ث اختصاص دارد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و



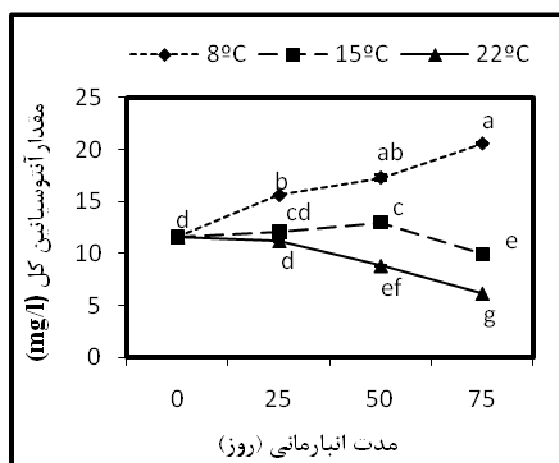
شکل ۸. اثر متقابل دما و مدت انبارمانی بر میزان فنل کل رقم مورو

غلظت آنتوسیانین کل

نتایج حاصل در زمینه اثر دما در طول مدت نگهداری بر مقدار آنتوسیانین در میوه نشان داد میوه‌هایی که در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند بعد از ۷۵ روز انبارمانی، میزان سنتز و تجمع آنتوسیانین بیشتری، در مقایسه با زمان برداشت و قبل از انبارمانی داشتند؛ در مقابل، افزایش تدریجی دما موجب کاهش و تخریب آنتوسیانین در میوه‌ها شد (شکل ۱۰). تحقیقات نشان

آنتوسیانین در میوه حفظ شود و بازاریسندی آن را افزایش دهد. براساس آزمایش‌های Rapisarda *et al.* (2008)، مقدار آنتوسیانین در دمای ۶ درجه سانتی‌گراد و در طول دوره انبارمانی به تدریج افزایش یافت، به گونه‌ای که در پایان انبارمانی بیشترین مقدار آنتوسیانین در پرتقال‌های خونی مشاهده شد. یافته‌های این آزمایش نیز موافق با یافته‌های دیگر گزارش‌هاست. شایان ذکر است که این روند در درجه حرارت‌های دیگر کاهش یافته است.

رنگیزه آنتوسیانین می‌شود (Spayd *et al.*, 2002). به بیان دیگر، افزایش دما در ضمن دوره رشد موجب افزایش تنفس و مصرف کربوهیدرات و کاهش مقدار قند لازم برای تشکیل آنتوسیانین می‌شود. تحقیقات قبلی نشان داد که تولید آنتوسیانین در پرتقال‌های خونی، پس از برداشت به فعالیت آنزیم‌هایی چون فنیل‌آلانین‌آمونیا لایز بستگی دارد (Lo Piero *et al.*, 2005). مقادیر آنتوسیانین در پرتقال‌های خونی نشانه کیفیت آن‌هاست؛ بنابراین، باید درجه حرارت و مدت انبارمانی مطلوب، تشخیص داده شود تا بیشترین مقدار



شکل ۱۰. اثر متقابل دما و مدت انبارمانی بر مقدار آنتوسیانین کل در رقم مورو

(دمای بالا و پایین، اشعه UV، زخم شدن و...) تحریک می‌شود که نتیجه آن تجمع فنیل‌پروپانویدهایی از جمله اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدهاست. در چندین گونه گیاهی، مثل دانه‌های ذرت، آرابیدوپسیس و اطلسی دما تأثیر معناداری بر بیان ژن آنتوسیانین‌ها دارد. دمای کم موجب افزایش چندبرابر ترجمه و بیان ژن‌ها می‌شود که تولید آنزیم کلیدی PAL و دیگر آنزیم‌های کاتالیزکننده واکنش بیوسنتز آنتوسیانین و فلاونوئیدها را در پی دارد. Shaked-sachray *et al.* (2008). فعالیت آنزیم PAL ارتباط مثبت با سنتز آنتوسیانین در میوه‌های مختلف نظیر انگور (Kataoka *et al.*, 1983)، توت‌فرنگی (Given *et al.*, 1988) و پرتقال‌های خونی (Rapisarda *et al.*, 2008) دارد. بنابراین، با افزایش فعالیت این آنزیم، سنتز و تجمع ترکیبات فنلی افزایش می‌یابد و در نهایت ترکیبات فنلی با خواص آنتی‌اکسیدانی، مقاومت به تنش‌های زنده

فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیا لایز

اثر برهم‌کنش دما و مدت انبارمانی بر میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیا لایز معنادار بود و هر دو فاکتور اثر یکدیگر را تقویت کردند. با افزایش دوره نگهداری، فعالیت آنزیم PAL افزایش یافت؛ به گونه‌ای که در دماهای بالاتر فعالیت این آنزیم کاهش و در دمای کمتر هم‌زمان با سنتز آنتوسیانین، فعالیت آن افزایش نشان داد. چنان‌که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد در پایان دوره انبارمانی و کمترین میزان آن بعد از ۷۵ روز انبارمانی در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (شکل ۱۱).

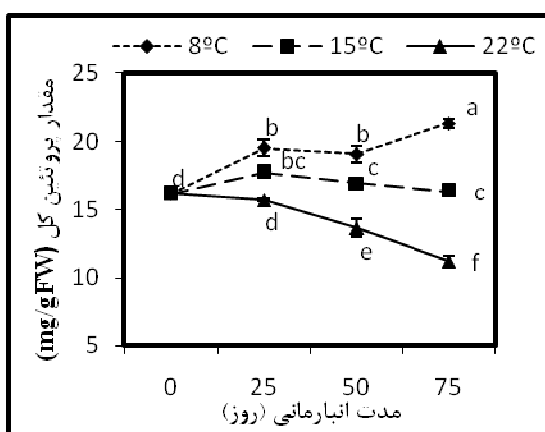
آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیا لایز، یک آنزیم کلیدی در سوخت‌وساز فنیل‌پروپانویدها بوده و تشکیل ترانس سینامیک اسید را از طریق دی‌آمینه کردن فنیل‌آلانین، کاتالیز می‌کند. این آنزیم با تنش‌های مختلف زنده (آلودگی با ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و...) و غیرزنده

فلاونوئیدها به واکوئل، از طریق پروتئین‌های ناقل ویژه‌ای صورت می‌گیرد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد میزان پروتئین کل در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد بعد از ۷۵ روز نگهداری در دمای آزمایشگاه کاهش یافته است و این کاهش پروتئین در طول این مدت می‌تواند دلیلی بر انتقال ناکافی آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها به واکوئل‌ها باشد. انباشته شدن این مواد در سیتوزول، موجب تجزیه و بی‌رنگ شدن محصول می‌شود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که افزایش درجه حرارت علاوه بر اینکه بسیاری از پروتئین‌ها را تخریب می‌کند، در مسیر سنتز آن‌ها اختلال ایجاد می‌کند و سنتز آن‌ها را کاهش می‌دهد؛ همچنین کم‌بودن پروتئین در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد ممکن است نتیجه تجزیه پروتئین‌ها در مقابله با رادیکال‌های آزاد اکسیژن یا ممانعت از سنتز آن‌ها در اثر دمای زیاد باشد (Babar Ali *et al.*, 2005).

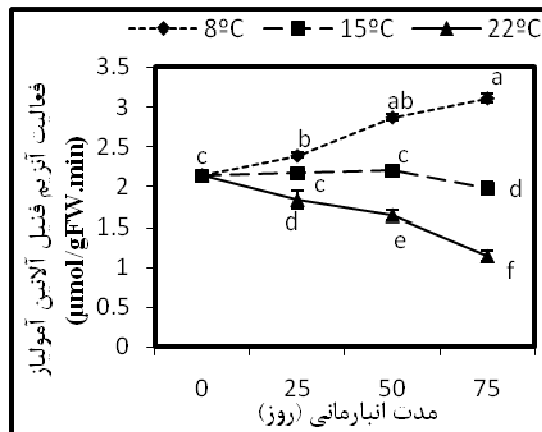
غیرزنده را افزایش می‌دهند (Eraslan *et al.*, 2007). همچنین Dela *et al.*, (2003) گزارش کردند که افزایش دما موجب کاهش فعالیت آنزیم PAL، چالکون سینتاز، و دی‌هیدروفلانول ردوکتاز و کاهش سنتز آنتوسیانین در گل رز می‌شود. آن‌ها همچنین مشاهده کردند که دمای زیاد، افزایش نسبت پلاگونی‌دین به سیانیدین و کاهش غلظت آنتوسیانین کل را در پی دارد.

پروتئین کل

مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که بیشترین مقدار پروتئین کل بعد از ۷۵ روز انبارمانی در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد و کمترین مقدار آن در پایان مدت نگهداری و در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. به عبارتی با افزایش دما و مدت نگهداری میوه‌ها در انبار، مقدار پروتئین به طور چشمگیری کاهش می‌یابد (شکل ۱۲). Solecka (1997) در پژوهشی اظهار داشت که انتقال فعال آنتوسیانین‌ها و



شکل ۱۲. اثر متقابل دما و مدت انبارمانی بر مقدار پروتئین کل



شکل ۱۱. اثر متقابل دما و مدت انبارمانی بر فعالیت آنزیم PAL

در حفظ خصوصیات کیفی و بازاریابی محصول، دمای ۸ درجه سانتی‌گراد بود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله، از مدیریت محترم شرکت باغداری فجر ساری و پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان برای همکاری در انجام‌دادن این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

به‌طورکلی، نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که افزایش دما به کاهش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیلایز منجر و آن نیز خود سبب کاهش سنتز آنتوسیانین و رنگ‌گیری در میوه می‌شود. تأثیر دمای کم در پایان دوره انبارمانی، بیشترین نمود را داشته است، زیرا نه تنها در طول این مدت صفات کیفی میوه پرتقال خونی رقم مورو در حد مطلوب حفظ شد، بلکه کمترین خسارت و ضایعات در میوه مشاهده شد. بنابراین، مطلوب‌ترین دما

REFERENCES

- Ames, B. N., Shigenaga, M. & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90, 7915 - 7922.
- Arena, E., Fallico, A. & Maccarone, E. (2001). Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juice as influenced by constituents concentrate. *Food Chemistry*, 74, 423-427.
- Ayala-Zavala, J. F., Wang, S. Y. & Wang, C. Y. (2004). Effect of storage temperature on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *Food Science and Technology*, 37, 687-695.
- Babar Ali, M., Hahn, E. J. & Paek, K. Y. (2005). Effect of light intensities on antioxidant enzymes and malondialdehyde content during short-term acclimatization on micropropagated *Palaenopsis* plantlet. *Environmental & Experimental Botany*, 54, 109-120.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-252.
- Dela, G., Ovadia, E. O. R., Nissim-Levi, R. A., Weiss, D. & Oren-Shamir, M. (2003). Changes in anthocyanin concentration and composition in 'Jaguar' rose flowers due to transient high temperature conditions. *Plant Science*, 164, 333-340.
- Du, G., Li, M., Ma, F. & Liang, D. (2009). Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in Actinidia fruits. *Food Chemistry*, 113, 557-562.
- Eberhardt, M. V., Lee, C. Y. & Liu, R. H. (2000). Nutrition antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 405, 903-904.
- Eraslan, F., Inal, A., Gunes, A. & Alpaslan, M. (2007). Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae*, 113, 120-128.
- Fotouhi, R. & Fattahi, J. (2007). *Citrus growing in Iran*. University of Guilan press. Iran, 305 p. (In Farsi).
- Given, N. K., Venis, M. A. & Grierson, D. (1988). Phenylalanine ammonia-lyase activity and anthocyanin synthesis in ripening strawberry. *Journal of Plant Physiology*, 133, 25-30.
- Gulen, H. & Eris, A. (2004). Effect of heat stress on peroxidase activity and Total protein content in strawberry plants. *Plant Science*, 166, 739-744.
- Javanmardi, J. & Kubota, C. (2006). Variation of lycopene, antioxidant activity, total soluble solids and weight loss of tomato during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 41, 151-155.
- Kataoka, I., Kubo, Y., Sugiura, A. & Tomana, T. (1983). Changes in L-phenylalanine ammonia-lyase activity and anthocyanin synthesis during berry ripening of three grape cultivars. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 52 (3), 273-279.
- Klimezak, I. & Malecka, M. (2006). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 313-322.
- Lee, S. & Kader, A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of Horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*, 20, 207-220.
- Lester, G. E. & Hodges, D. M. (2007). Antioxidants associated with fruit senescence and human health: Novel orange-fleshed non-netted honey dew melon genotype comparisons following different seasonal production and cold storage durations. *Postharvest Biology and Technology*, 48, 347-354.
- Lo Piero, A. R., Puglisi, I., Rapisarda, P. & Petrone, G. (2005). Anthocyanins accumulation and related gene expression in red orange fruit induced by low temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 9083-9088.
- Lo Scalzo, R., Innocari, T., Summa, C., Morelli, R. & Rapisarda, P. (2004). Effect of thermal treatment on antioxidant and antiradical activity of blood orange juice. *Food Chemistry*, 85, 41-47.
- Maccarone, E., Maccarrone, A. & Rapisarda, P. (1985). Stabilization of anthocyanins of blood orange fruit juice. *Journal of Food Science*, 50, 901-904.
- Petersen, R. I., Moe, R. & Gislerd, H. R. (2007). Growth of pot roses and post-harvest rate of water loss as affected by air humidity and temperature variations during growth under continuous light. *Scientia Horticulturae*, 114, 207- 213.
- Piga, A. D., Aquino, S. & Agabbio, M. (2000). Influence of cold storage and shelf-life on quality of Salustiana orange fruits. *Fruits*, 55, 37-44.
- Pompodakis, N. E., Terry, L. A., Joyce, D. C., Lydakis, D. E. & Papadimitriou, M. D. (2005). Effect of seasonal variation and storage temperature on leaf chlorophyll fluorescence and vase life of cut roses. *Postharvest Biology and Technology*, 36, 1-8.

24. Pratella, G., Tonini, G. & Cessari, A. (1969). Postharvest disease problems of Italian citrus fruit. *In: Proceeding of the first International Citrus Symposium, 3*, 1317-1323.
25. Rapisarda, P., Lo Bianco, M., Pannuzzo, P. & Timpanaro, N. (2008). Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotype (*Citrus sinensis* L. osbeck). *Postharvest Biology and Technology*, 49, 346-354.
26. Rapisarda, P., Tomaino, A., Lo Cascio, R., Bonina, F., De Pasquale, A. & Saija, A. (1999). Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4718-4723.
27. Saini, R. S., Sharma, K. D., Dhankhar, O. P. & Kaushik, R. A. (2001). *Laboratory manual of analytical techniques in Horticulture. Agrobios. Publisher. India*, 135P.
28. Salukhe, D. K., Bolin, H. R. & Reddy, N. K. (1991). Storage, processing and nutritional quality of fruit and vegetables. Second edition. *Vol.1: fresh fruits and Vegetables Boca Raton, FL*. (323 P). CRC Press.
29. Saunders. J. A. & McClure, J. W. (1974). The suitability of the quantitative spectrophotometric assay for phenylalanine ammonia-lyase activity in Barley, Buckwheat and Pea seedlings. *Plant Physiology*, 54, 412-413.
30. Shaked-sachray, L., Weiss, D., Reuveni, M., Nissim-Levi, A. & Oren-shamir, M. (2008). Increased anthocyanin accumulation in aster flowers at elevated temperatures due to magnesium treatment. *Physiologia Plantarum*, 114, 559-565.
31. Solecka, D. (1997). Role of phenylpropanoid compounds in plant responses to different stress factors. *Acta Physiologiae Plantarum*, 3, 257- 268.
32. Spayd, S. E., Tarara, J. M., Mee, D. L. & Feguson, J. C. (2002). Separation of sunlight and temperature effect on the composition of *vitis vinifera*. *Food Science*, 53, 30-37.
33. Wrolstad, R. E. (1976). *Color and pigment analysis in fruit products. Station Bull. 621*. Agricultural Experiment Station. Oregon State University. Corvallis, OR, USA.