

## بررسی ترکیبات زیست‌فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پرتقال تامسون ناول طی نگهداری در انبار

زهرا محمدحسینی<sup>1</sup>، مریم هاشمی<sup>2</sup>، عبدالرضا محمدی<sup>3</sup>، فوژان بدیعی<sup>4</sup>، سارا عشقی<sup>1</sup>، کریم احمدی صومعه<sup>2</sup>، کیاندرخت فغانی<sup>6</sup>

1- کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

2- نویسنده مسئول: استادیار پژوهشی، بخش تحقیقاتی بیوتکنولوژی میکروبی و ایمنی زیستی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج

پست الکترونیکی: hashemim@abrii.ac.ir

3- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

4- استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی - کرج

5- استادیار پژوهشی، بخش تحقیقاتی بیوتکنولوژی میکروبی و ایمنی زیستی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج

6- استادیار پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - واحد بین‌الملل

تاریخ دریافت: 91/10/11

تاریخ پذیرش: 92/2/21

### چکیده

**سابقه و هدف:** پرتقال تامسون به دلیل مقدار ویتامین C، فولات، فیبر، عناصر معدنی و ترکیبات فیتوشیمیایی شامل انواع فلاونوئیدها، اسیدهای آمینه، تری‌ترپن‌ها، اسید فنلیک و کاروتنوئیدها ارزش تغذیه‌ای و سلامتی‌بخش فراوانی دارد. پس از برداشت میوه‌ی پرتقال به دلیل ادامه داشتن تنفس احتمال تغییر ترکیبات زیست‌فعال مطرح است. در این پژوهش، روند تغییرات ترکیبات زیست‌فعال شامل غلظت اسید اسکوربیک، ترکیبات فلاونوئیدی، کاروتنوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و شدت تنفس پرتقال تامسون ناول طی انبارمانی بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** پرتقال تامسون ناول از مرکز تحقیقات مرکبات کشور (در شهر رامسر) تهیه شد. میوه‌ها پس از برداشت، بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و در انبار سرد با شرایط دمایی °C 4-5 و رطوبت نسبی 85-90% به مدت 56 روز نگهداری شد. تقریباً هر هفته یک‌بار روند تغییرات غلظت ویتامین C، ترکیبات فلاونوئیدی، کاروتنوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و شدت تنفس طی دوره انبارمانی بررسی شد.

**یافته‌ها:** بر اساس نتایج به دست آمده، پس از 56 روز انبارمانی پرتقال تامسون ناول در دمای °C 4-5 و رطوبت نسبی 85-90%، غلظت ترکیبات فلاونوئیدی 36%، کاروتنوئید کل 39%، فعالیت آنتی‌اکسیدانی 19/6% و شدت تنفس 94% افزایش یافت، ولی غلظت ویتامین C 60/5% کاهش نشان داد ( $p \leq 0/05$ ). اثر انبارمانی بر غلظت ترکیبات زیست‌فعال، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و شدت تنفس نیز معنی‌دار بود ( $p \leq 0/05$ ). تغییر غلظت ترکیبات دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و شدت تنفس بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ی پرتقال طی انبارمانی نیز مؤثر بود.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج پژوهش حاضر و با توجه به ارزش تغذیه‌ای و ترکیبات فراسودمند میوه‌ی پرتقال، استفاده از راهکارهای مناسب برای حفظ بهتر ترکیبات زیست‌فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی توصیه می‌شود.

**واژگان کلیدی:** پرتقال تامسون، ترکیبات زیست‌فعال، شدت تنفس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، نگهداری انباری

### • مقدمه

اثرات سلامتی‌بخش انواع میوه و از جمله مرکبات به وجود ترکیبات زیست‌فعال شامل ترکیبات فنلی، ویتامین C و کاروتنوئیدها نسبت داده می‌شود که به وفور در میوه‌ی پرتقال یافت می‌شوند (6). FAO پرتقال را سومین میوه‌ی پرمصرف جهان در سال 2004 معرفی کرد (7).

افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان درباره‌ی تأثیر ترکیبات زیست‌فعال بر ارتقای سلامتی باعث افزایش تقاضای مواد غذایی سرشار از چنین ترکیباتی شده است (1). بر اساس نتایج پژوهش‌های متعدد، مصرف مرکبات مانند پرتقال می‌تواند به کاهش خطر بیماری‌های مزمن از جمله بیماری‌های قلبی و برخی انواع سرطان منجر شود (2-5).

سلامتی بخش این میوه‌ی ارزشمند و پرمصرف انجام شد. علاوه بر این، تغییرات شدت تنفس پرتقال طی انبارمانی نیز به منظور بررسی ارتباط احتمالی با روند تغییرات ترکیبات زیست‌فعال اندازه‌گیری شد.

### • مواد و روش‌ها

**مواد شیمیایی و استانداردها:** اسید آسکوربیک، متانول، آب، استون و اسید استیک (مرک، آلمان)، تری بوتیل هیدروکسی کینون (TBHQ) با درجه‌ی خلوص بالای 97% (سیگما-آلدریج، آمریکا)، اسید کلریدریک، متاسفریک اسید، 2 و 2 دی فنیل 1 و 1 پیکریل هیدرازیل (DPPH)، استونیتریل و هگزان با درجه‌ی خلوص بیش از 99% (سیگما-آلدریج، آلمان) خریداری شد. استانداردهای فلاونوئید (نارنجین، ناریروتین و دیدایمین) و بتاکاروتن (اکسترا سینتیز، فرانسه) تهیه شد.

**تهیه و نگهداری پرتقال تامسون:** پرتقال‌های تامسون ناول پس از برداشت، بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و پس از جدا کردن نمونه‌های سالم در دمای °C 4-5 و رطوبت نسبی 85-90% نگهداری شدند. نگهداری میوه تا زمانی که از نظر ظاهری قابلیت پذیرش داشت، ادامه یافت.

**آماده‌سازی نمونه:** طی دوره‌ی انبارمانی تقریباً هر هفته یک‌بار به منظور بررسی روند تغییرات ترکیبات زیست‌فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پرتقال تامسون 5 پرتقال به صورت تصادفی انتخاب و پوست‌گیری شدند. سپس توسط مخلوط‌کن، مخلوط و کاملاً همگن شدند. مقدار مشخصی از این مخلوط همگن برای هر یک از آزمون‌های اندازه‌گیری اسید آسکوربیک، فلاونوئید، کاروتنوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به کار رفت.

**آزمون شدت تنفس:** شدت تنفس با استفاده از دستگاه تنفس سنج میکرو 5 (نستو، لنزکریج، آلمان) ارزیابی شد. این دستگاه از یک گیرنده‌ی حساس به CO<sub>2</sub> و مجهز به یک کارت حافظه درون یک محفظه‌ی پلاستیکی به ابعاد 10 × 20 × 20 سانتی‌متر و کاملاً محصور ساخته شده است. در پایان، میزان CO<sub>2</sub> تولید شده توسط جرم مشخصی از میوه در مدت یک ساعت تعیین شد. نتایج به صورت mg CO<sub>2</sub>/ kg.hr بیان شد (10).

**آزمون تعیین میزان اسید اسکوربیک:** میزان اسید اسکوربیک با استفاده از دستگاه HPLC تعیین شد (11). یک گرم از نمونه‌ی هموژن شده‌ی پرتقال را به درون یک فالکن انتقال داده و 3 میلی‌لیتر استیک اسید 8% و 3 میلی‌لیتر

بر این اساس و با توجه به تأثیر عوامل مختلف بر کمیت و کیفیت ترکیبات زیست‌فعال، بررسی الگوی تغییرات در انواع پرتقال اهمیت دارد. *Abeyasinghe* و همکاران (3) توانایی آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات زیست‌فعال در بخش‌های مختلف خوراکی 4 گونه میوه‌ی مرکبات را مطالعه و توصیه کردند که همه‌ی قسمت‌های قابل خوردن میوه‌ی مرکبات به دلیل وجود ترکیبات زیست‌فعال و توانایی آنتی‌اکسیدانی مصرف شود. *Paolo* و همکاران (8) اثر انبار سرد روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی 5 واریته‌ی پرتقال شیرین (3 واریته‌ی پرتقال خونی و 2 واریته‌ی غیر خونی) نگهداری شده در دمای °C 6±1 طی 65 روز را بررسی کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که مقدار آنتوسیانین، فلاونون‌ها و اسید هیدروکسی سینامیک طی انبارداری افزایش و مقدار ویتامین C در پرتقال‌های خونی کاهش یافت. در حالی که در 2 واریته‌ی پرتقال‌های غیر خونی میزان فلاونون‌ها کاهش و میزان ویتامین C افزایش نشان داد. بنابراین، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌ی پرتقال خونی و غیر خونی طی نگهداری به ترتیب به سنتز ترکیبات فنلی و افزایش میزان ویتامین C نسبت داده شد.

*Ramful* و همکاران (9) درباره‌ی توانایی آنتی‌اکسیدانی، میزان ویتامین C، فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی حاصل از عصاره‌ی فلاوآدو (بخش نارنجی رنگ پوست مرکبات) در چند نوع میوه‌ی مرکبات رسیده تحقیق کردند. انواع میوه‌ی مرکبات مورد بررسی توانایی حفاظتی خوبی بر DNA نشان دادند. آن‌ها نتیجه گرفتند که میوه‌ی مرکبات فعالیت قابل توجهی برای حفظ سلامتی دارد. *Plaza* و همکاران (6) اثر حداقل فراوری را روی ترکیبات زیست‌فعال و توانایی آنتی‌اکسیدانی پرتقال‌های سالم، پرتقال‌های پوست‌کنده شده با دست و قطعات پرتقال جدا شده با دست، بعد از بسته‌بندی و نگهداری در انبار سرد °C 4 طی 12 روز را بررسی کردند.

میزان کاروتنوئید کل و میزان فلاونوئید (به عنوان پاسخ به استرس سرما) در پرتقال‌های سالم طی انبار سرد افزایش یافت. ترکیبات زیست‌فعال و توانایی آنتی‌اکسیدانی در حداقل فراوری طی انبار سرد حفظ شد، اگر چه مقدار ویتامین C کاهش یافت.

پژوهش حاضر به منظور بررسی روند تغییرات ترکیبات زیست‌فعال و توانایی آنتی‌اکسیدانی پرتقال تامسون ناول (*Navel*) طی نگهداری در شرایط سردخانه با توجه به اثرات

به فاز پایینی 15 میلی لیتر محلول استخراجی هگزان:استن:متانول (25:25:50) افزوده شده و 2 دقیقه هم زده شد. سپس با سرعت 4000 rpm به مدت 20 دقیقه سانتریفوژ شد. فاز بالایی جدا شد. پس از اختلاط دو فاز استخراجی 4 میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی (10%) اضافه شد. سپس درون حمام آب  $60^{\circ}\text{C}$  به مدت یک ساعت قرار داده شد. مخلوط نمونه با سرعت 4000 rpm به مدت 15 دقیقه سانتریفوژ شد. فاز بالایی جدا شد و جذب آن به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل 1100 CECIL شرکت Cambridge، انگلستان) در طول موج 450 nm اندازه گیری شد.

**تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی:** فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس روش DPPH تعیین شد (13). 40 میلی لیتر محلول آب و متانول (1:1) به 2 گرم از نمونه‌ی هموژن شده‌ی پرتقال افزوده شد. مخلوط حاصل تحت 4000 rpm به مدت 20 دقیقه سانتریفوژ و فاز فوقانی جدا شد. 0/1 میلی لیتر از فاز فوقانی به 3/9 میلی لیتر DPPH متانولی (0/03 g/l) اضافه شد. طیف جذبی محلول با اسپکتروفتومتر (مدل 1100 CECIL شرکت Cambridge، انگلستان) در طول موج 515 nm اندازه گیری شد.

**تحلیل آماری:** نوع مطالعه، کاربردی از نوع تجربی آزمایشگاهی بود. جامعه‌ی آماری میوه‌های پرتقال تامسون ناول تهیه شده از مرکز تحقیقات مرکبات کشور (رامسر) بود. نمونه برداری در هر مقطع زمانی به صورت کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. آزمون‌ها نیز در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. داده‌های آزمایشی به روش آنالیز واریانس با استفاده از نرم افزار SPSS16 تجزیه و تحلیل شد. در این پژوهش برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون شفه با حداکثر خطای قابل قبول 5% ( $P \leq 0/05$ ) استفاده شد.

### • یافته‌ها

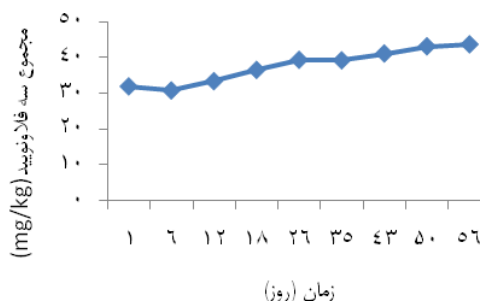
**شدت تنفس:** نتایج حاصل حاکی از افزایش شدت تنفس در طول نگهداری پرتقال تامسون در شرایط سردخانه بود (شکل 1). شدت تنفس پرتقال تامسون ناول طی دوره انبارمانی 56 روزه 94% افزایش یافت. افزایش فعالیت تنفسی پرتقال تامسون در طول انبارداری از نرخ یکسانی برخوردار نبود.

متافسفریک اسید 3% (حاوی 0/1 M تری بوتیل هیدروکسی کینون جهت پایداری ویتامین C) افزوده شد. سپس نمونه توسط مخلوط کن به مدت چهار دقیقه مخلوط و با سرعت 4000 rpm به مدت 10 دقیقه سانتریفوژ شد. فاز فوقانی جدا شد. دوباره 3 میلی لیتر استیک اسید 8% و 3 میلی لیتر متافسفریک اسید 3% به فاز پایینی افزوده شد و پس از سانتریفوژ فاز بالایی جدا شد. دو فاز استخراجی را به هم افزوده و از فیلتر  $0/45 \mu\text{m}$  عبور داده شد. 20 میکرولیتر آن به دستگاه HPLC (مدل 4200 CECIL شرکت Cambridge، انگلستان) تزریق شد. شرایط دستگاه HPLC عبارت بود از: فاز متحرک آب (A) و فاز متانول (B) سرعت جریان 0/5 ml/min، ستون فاز برگشتی ODS ( $\text{C}_{18}$ ) و طول موج جذب آشکارساز 245 nm.

**آزمون تعیین میزان ترکیبات فلاونوئیدی:** استخراج فلاونوئیدها براساس روش *Snchez-Morenoá* و همکاران (12) با اندکی تغییر انجام شد. 5 گرم از نمونه‌ی هموژن شده‌ی پرتقال را درون یک ارلن انتقال داده و 15 میلی لیتر محلول استخراجی 80% آب/متانول به آن اضافه شد. نمونه به وسیله‌ی مخلوط کن به مدت دو دقیقه مخلوط و با سرعت 4000 rpm به مدت 15 دقیقه سانتریفوژ شد. فاز فوقانی را جدا کرده و 2 میلی لیتر از آن با یک میلی لیتر اسید کلریدریک (6 نرمال) در یک ظرف دربسته مخلوط و درون حمام آب  $90^{\circ}\text{C}$  به مدت 30 دقیقه نگهداری شد. مخلوط نمونه تحت 4000 rpm به مدت 15 دقیقه سانتریفوژ شد. فاز بالایی از فیلتر  $0/45 \mu\text{m}$  عبور داده شد و 20 میکرولیتر آن به دستگاه HPLC تزریق شد (12). شرایط دستگاه HPLC عبارت بود از: یک شویش گرادبانی، فاز متحرک آب (A) و فاز استونیتریل و آب (40:60) (B) سرعت جریان 0/8ml/min، ستون فاز برگشتی ODS ( $\text{C}_{18}$ ) و طول موج جذب آشکارساز 280 nm.

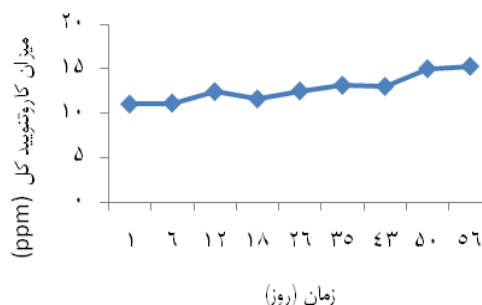
**آزمون تعیین میزان کاروتنوئید کل:** میزان کاروتنوئید کل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد (3). 5 گرم از نمونه‌ی هموژن شده‌ی پرتقال را به درون یک فالکن انتقال داده و 15 میلی لیتر محلول استخراجی هگزان:استن:متانول (25:25:50) به آن اضافه شد. نمونه به وسیله‌ی مخلوط کن به مدت دو دقیقه کاملاً مخلوط شد و با سرعت 4000 rpm به مدت 20 دقیقه سانتریفوژ شد. فاز بالایی جدا شد. دوباره

افزایش شدت تنفس همراه بود، سپس در ادامه‌ی انبارمانی شیب روند تغییرات شدت تنفس و غلظت فلاونوئیدها ملایم‌تر شد، اما در پایان دوره انبارمانی که شدت تنفس افزایش بیشتری داشت، میزان افزایش فلاونوئیدها کاهش یافت.



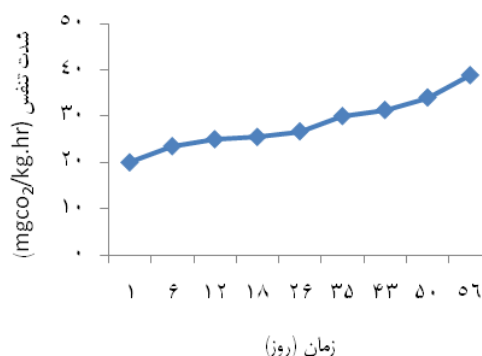
**شکل 3.** تغییرات مجموع غلظت دیدایمین، نارنجین و نارروتین موجود در پرتقال تامسون طی زمان نگهداری انباری

**غلظت کاروتنوئید کل:** میزان کاروتنوئید کل در پرتقال تامسون یک روند افزایشی طی انبارمانی نشان داد. بیشترین غلظت کاروتنوئید کل در اواخر دوره انبارمانی مشاهده شد. میزان کاروتنوئید کل طی دوره‌ی انبارمانی 56 روزه‌ی پرتقال تامسون حدود 39% افزایش نشان داد (شکل 4).



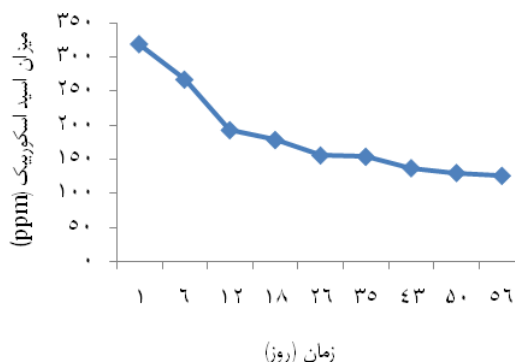
**شکل 4.** تغییرات غلظت کلی کاروتنوئیدها در پرتقال تامسون طی زمان نگهداری انباری

**فعالیت آنتی‌اکسیدانی:** اطلاعات حاصل حاکی از افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی پرتقال تامسون طی انبارمانی بود. طی دوره‌ی انبارمانی پرتقال تامسون، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی 19/6% افزایش یافت. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اواخر دوره‌ی انبارمانی مشاهده شد. اگرچه در دو مقطع زمانی کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی ثبت شد (شکل 5).



**شکل 1.** تغییرات شدت تنفس پرتقال تامسون طی انبارمانی

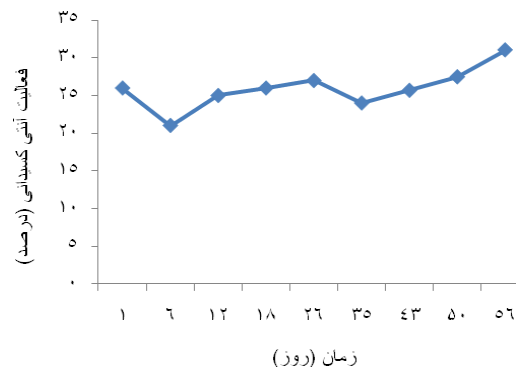
**غلظت اسید اسکوربیک:** نتایج ثبت شده در این پژوهش حاکی از کاهش غلظت اسید اسکوربیک در پرتقال تامسون طی 56 روز انبارمانی بود. طی این دوره، 60/5% میزان اسید اسکوربیک اولیه کاهش یافت. در 12 روز نخست انبارمانی بیشترین کاهش غلظت اسید اسکوربیک مشاهده شد، اما در ادامه‌ی انبارمانی شیب کاهش غلظت اسید اسکوربیک بسیار کندتر و روند تقریباً مشابهی تا پایان دوره انبارمانی حفظ شد (شکل 2).



**غلظت ترکیبات فلاونوئیدی:** در این پژوهش سه فلاونوئید نارنجین (Naringin)، نارروتین (Narirutin) و دیدایمین (Didymin) بررسی شد. نتایج حاکی از روند افزایشی میزان هر سه فلاونوئید در نمونه‌های مورد مطالعه بود. میزان افزایش نارنجین، نارروتین و دیدایمین به ترتیب 28/3، 29/3 و 37/5 درصد طی دوره انبارمانی بود. نتایج به صورت مجموع میزان سه فلاونوئید مورد مطالعه در پرتقال تامسون گزارش شد (شکل 3). مقدار کلی فلاونوئیدها طی دوره انبارمانی روندی افزایشی داشت. ولی تغییرات نوسانی افزایشی و کاهشی نیز طی دوره انبارمانی مشاهده شد. 6 روز اول دوره‌ی انبارمانی کاهش در میزان مجموع فلاونوئیدها با

پراکسیداز و اسکوربات اکسیداز کاهش می‌یابد (17). میزان اسید اسکوربیک به طور معنی‌داری تحت تأثیر دما و مدت انبارمانی است (18). نتایج این مطالعه با نتایج مطالعات قبلی مبنی بر کاهش این ویتامین طی انبارمانی مرکبات سازگار است (6، 8، 19). Plaza و همکاران (6) کاهش 19/6 درصدی میزان ویتامین ث را در پرتقال‌های نگهداری شده در دمای 4°C طی 12 روز گزارش کردند. Paolo و همکاران (8) کاهش غلظت ویتامین ث سه واریته‌ی پرتقال خونی نگهداری شده در دمای 1±6°C طی 65 روز را گزارش کردند. میزان کاهش غلظت ویتامین ث در سه واریته‌ی پرتقال خونی شامل تی‌مسینا، تی‌ملی و مورو به ترتیب 8، 8/2 و 11 درصد بود. کاهش اسید اسکوربیک طی انبارمانی در میوه‌هایی همچون انبه، توت‌فرنگی، تکه‌های خربزه، تکه‌های آناناس و برش‌های کیوی نیز گزارش شده است (20).

**غلظت فلاونوئیدها:** فلاونون‌ها فلاونوئید اصلی واریته‌های پرتقال هستند و مقدار آن‌ها به فصل رشد و موقعیت مکانی منطقه وابسته است (21). در این پژوهش میزان نارنجین، نارپروتین و دیدایمین پرتقال تامسون طی زمان انبارمانی افزایش یافت. شیب تغییرات مشاهده شده طی دوره‌ی انبارمانی احتمالاً به تبدیل انواع فلاونوئید به یکدیگر و ایزومریزاسیون بین آن‌ها مربوط بود (شکل 3). این نتیجه با نتایج مطالعات قبلی سازگار است (6، 8). نگهداری مرکبات در دمای پایین به تجمع ترکیبات فنلی منجر می‌شود (22). بنابراین، می‌توان افزایش غلظت فلاونون‌ها در این مطالعه را به دلیل پاسخ به شرایط سرد طی انبارمانی نسبت داد. علاوه بر این، کاهش اسید سیتریک در مرکبات طی انبارمانی ممکن است اسکلت کربنی برای سنتز ترکیبات فنلی را فراهم کند (23). هم‌چنین، ویژگی‌های ژنتیکی و واریته‌ی مورد مطالعه‌ی غلظت ترکیبات فلاونوئیدی در مرکبات را تحت تأثیر قرار می‌دهد (4). Del Caro و همکاران (19) افزایش معنی‌دار غلظت ترکیبات فلاونون پرتقال Salustiana طی نگهداری در دمای 4°C را گزارش کردند. Paolo و همکاران (8) نیز افزایش غلظت فلاونون‌ها را در سه واریته‌ی پرتقال خونی شامل تی‌مسینا، تی‌ملی و مورو به ترتیب حدود 63، 39 و 52 درصد و کاهش غلظت فلاونون‌ها در دو رقم پرتقال غیرخونی 8 و 32 درصد طی نگهداری در دمای 1±6°C برای 65 روز گزارش کردند.



شکل 5. تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی پرتقال تامسون طی زمان نگهداری انباری

## • بحث

**شدت تنفس:** اگرچه پرتقال یک میوه‌ی غیرفرازگرا (Non climacteric) است (6) ولی پس از برداشت، اکسیژن مصرف و دی‌اکسیدکربن و بخار آب تولید می‌کند (14). به عبارت دیگر، تنفس میوه در طول انبارمانی بعد از برداشت ادامه می‌یابد. عوامل مختلفی بر شدت تنفس میوه طی انبارمانی تأثیر می‌گذارد. علاوه بر شرایط محیطی مانند دما و غلظت اکسیژن می‌توان به رفتار فیزیولوژیکی میوه پس از برداشت نیز اشاره کرد (15). افزایش شدت تنفس مشاهده شده در این پژوهش در طول دوره‌ی نگهداری از نرخ یکسانی برخوردار نبود. تغییرات ایجاد شده در سطح پوست میوه می‌تواند به تغییر قطر منافذ موجود در پوست میوه و در نتیجه نفوذپذیری بیشتر اکسیژن به درون میوه منجر شود. وجود اکسیژن بر غلظت ترکیبات حساس به اکسیداسیون (اسید اسکوربیک و کاروتنوئیدها) اثر می‌گذارد و با افزایش شدت تنفس غلظت این ترکیبات کاهش می‌یابد. هم‌چنین، میزان اکسیژن می‌تواند بر غلظت ترکیبات دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پرتقال مؤثر باشد.

**غلظت اسید اسکوربیک:** مرکبات منبع غنی اسید اسکوربیک (ویتامین ث) هستند (16). میزان اسید اسکوربیک در پرتقال به عوامل مختلفی مانند واریته، املاح خاک، مرحله‌ی رسیدگی و شرایط آب و هوایی بستگی دارد (4). نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از روند کاهش غلظت اسید اسکوربیک طی انبارمانی پرتقال تامسون است. غلظت ویتامین ث پرتقال تامسون ناول طی 56 روز انبارمانی کاهشی معادل 60/5 درصد نشان داد. اسید اسکوربیک ترکیبی ناپایدار است که در طی انبار بسته به شرایط نگهداری مانند دما، اکسیژن، نور و هم‌چنین فعالیت آنزیم‌هایی مانند

(8) افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در 5 واریته‌ی پرتقال طی انبار سرد مشاهده کردند. میزان افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سه واریته‌ی پرتقال خونی شامل تی‌مسینا، تی-ملی و مورو به ترتیب 3/15، 6/9 و 8/11 درصد و در دو رقم غیرخونی 3/16 و 1/17 درصد طی نگهداری در دمای  $6 \pm 1^\circ\text{C}$  برای 65 روز گزارش کردند. Plaza و همکاران (6) گزارش کردند که فعالیت آنتی‌اکسیدان پرتقال Navelina طی انبارمانی با توجه به میزان اولیه حفظ می‌شود. روند تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده طی دوره انبارمانی، احتمالاً به تغییر میزان ترکیبات دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط می‌شود که نتیجه‌ی تغییرات فعالیت‌های متابولیکی و شدت تنفس طی دوره انبارمانی است.

**نتیجه گیری:** با توجه به نتایج این پژوهش، ترکیبات زیست‌فعال و توانایی آنتی‌اکسیدانی پرتقال تامسون ناول منطقه‌ی رامسر طی 56 روز انبارمانی در 4 تا 5 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 85 تا 90 درصد تغییر می‌کنند، همچنین، نتایج حاکی از افزایش شدت تنفس پرتقال بعد از برداشت طی انبارمانی است. نگهداری بعد از برداشت پرتقال تامسون ناول در انبار سرد ( $4-5^\circ\text{C}$ ) و این رطوبت نسبی طی 56 روز منجر به افزایش غلظت ترکیبات فلاونوئیدی (36%)، کاروتنوئید کل (39%)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (19/6%) و شدت تنفس (94%) شد، ولی غلظت ویتامین ث 60/5% کاهش نشان داد. اثر انبارمانی بر غلظت ترکیبات زیست‌فعال، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و شدت تنفس معنی‌دار بود ( $p \leq 0/05$ ). در هفته‌ی نخست دوره‌ی انبارمانی با افزایش شدت تنفس، غلظت فلاونوئیدها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاهش یافت، همچنین، طی این مدت که شدت تنفس افزایش بیشتری نشان داد، شدت افزایش میزان کاروتنوئید کل کاهش و شدت کاهش غلظت اسید اسکوربیک افزایش یافت. بنابراین، می‌توان تغییرات شدت تنفس را بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی پرتقال طی انبارمانی تأثیرگذار دانست.

با توجه به ارزش تغذیه‌ی و محتوی ترکیبات فراسودمند میوه‌ی پرتقال، استفاده از راهکارهای مناسب برای حفظ بهتر ترکیبات زیست‌فعال و توانایی آنتی‌اکسیدانی در راستای ارتقای سلامتی و کاهش برخی بیماری‌های مزمن در سطح جامعه پیشنهاد می‌شود. با کنترل دمای انبار و استفاده از بسته‌بندی‌های مناسب مانند پوشش‌های خوراکی و فعال

**غلظت کاروتنوئید کل:** کاروتنوئیدهای اصلی در پرتقال با توانایی آنتی‌اکسیدانی یا خواص پیش‌ساز ویتامین A شامل آلفا و بتا- کریپتوگزانتین، زی‌گزانتین، لوتئین و آلفا و بتا کاروتن است (6). ارزیابی میزان کاروتنوئیدها در پرتقال به دلیل پروفایل پیچیده‌ی کاروتنوئیدها و ماهیت اسیدی آن مشکل است (24). عوامل متعددی در میزان ترکیبات کاروتنوئیدها مانند مرحله‌ی رسیدگی، واریته و شرایط آب و هوایی مؤثر است (25). انبارداری و فراوری ممکن است به ناپایداری زنجیره‌ی پلی‌ان (Polyene) کاروتنوئیدها منجر شود. این ترکیبات ممکن است تحت فرایند ایزومریزاسیون (ایجاد شده با دما، نور و اسید) و اکسیداسیون (ناشی از نور، دما، فلزات و آنزیم‌ها) تجزیه شوند (1). همان‌طور که در شکل 4 مشهود است، نتایج بیانگر افزایش غلظت کاروتنوئیدها در نمونه‌های پرتقال تامسون طی انبارمانی است. شیب تغییرات مشاهده شده طی دوره‌ی انبارمانی احتمالاً به تبدیل انواع کاروتنوئیدها به یکدیگر و ایزومریزاسیون بین آن‌ها مربوط می‌شود. معمولاً رسیدگی به تجمع کاروتنوئیدها در میوه‌ی مرکبات منجر می‌شود (26). بعد از برداشت تجمع کاروتنوئید در انبار سرد بسته به دمای انبار ادامه می‌یابد (6). Plaza و همکاران (6) افزایش معنی‌داری در میزان کاروتنوئید کل (88%) را در پرتقال طی نگهداری در دمای  $4^\circ\text{C}$  به مدت 12 روز گزارش کردند. Sanchez و همکاران (27) افزایش میزان بتاکاروتن در انبه را طی انبار سرد گزارش کردند.

**فعالیت آنتی‌اکسیدانی:** آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که از واکنش‌های اکسیداسیون ناشی از رادیکال‌های آزاد در بافت سبزی و میوه جلوگیری می‌کنند (28). اطلاعات ناچیزی در مورد فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات زیست‌فعال موجود در میوه‌ی مرکبات وجود دارد (29). در این مطالعه، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده ناشی از افزایش میزان ترکیبات زیست‌فعال (کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها) هم است. میزان این شاخص به اثر انبار بر ترکیبات دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجود در پرتقال بستگی دارد (6). مطالعات مختلف ارتباط معنی‌دار مثبتی را بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پلی‌فنل‌ها نشان می‌دهد (30، 26، 5). تغییر فعالیت آنتی‌اکسیدانی طی انبار به واریته‌ی مورد بررسی نیز بستگی دارد (31). به طوری که Del Caro و همکاران (19) کاهش کمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی پرتقال Salustiana طی نگهداری در دمای  $4^\circ\text{C}$  را گزارش کردند. Paolo و همکاران

شهید بهشتی می‌باشد. مطالعه حاضر در قالب طرح پژوهشی مصوب پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران انجام شد.

می‌توان شدت تنفس مرکبات را در مدت نگهداری کاهش داد و ماندگاری ترکیبات زیست فعال را بهبود بخشید.

**سپاسگزاری:** این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی

## • References

1. Plaza L, Sánchez-Moreno C, De Ancos B, Elez-Martínez P, Marín-Belloso O, Cano MP. Carotenoid and flavanone content during refrigerated storage of orange juice processed by high-pressure, pulsed electric fields and low pasteurization. *LWT - Food Science and Technology* 2011b; 44: 834-39.
2. Vanamala J, Reddivari L, Sun Yoo K, Pike LM, Patil BS. Variation in the content of bioactive flavonoids in different brands of orange and grapefruit juices. *J Food Compos Anal* 2006; 19: 157-66.
3. Abeysinghe DC, Li X, De Sun C, Zhang WS, Zhou C H, Song Chen K. Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species. *Food Chem* 2007; 104, 1338-44.
4. Cano A, Medina A, Bermejo A. Bioactive compounds in different citrus varieties. Discrimination among cultivars. *J Food Compos Anal* 2008; 21, 377-81.
5. Roussos PA. Phytochemicals and antioxidant capacity of orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Salustiana) juice produced under organic and integrated farming system in Greece. *Scientia Horticulturae* 2011; 10: 03-040.
6. Plaza L, Crespo I, de Pascual-Teresa S, De Ancos B, Sánchez-Moreno C, Muñoz M, Cano MP. Impact of minimal processing on orange bioactive compounds during refrigerated storage. *Food Chem* 2011a; 124, 646-51.
7. Jorge EL. Overview of the Fruit Processing Industry. In: *Fruit manufacturing, scientific basis, engineering properties, and deteriorative reactions of technological importance*. New York: Springer ScienceBusiness Media, LLC; 2006.
8. Paolo R, Marisol LB, Paolo P, Nicolina, T. Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Postharvest Biol Technol* 2008; 49: 348-54.
9. Ramful D, Bahorun T, Bourdon E, Tarnus E, Aruoma O. Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology* 2010; 278: 75-87.
10. Maftoonazad N, Ramaswamy HS. Postharvest shelf-life extension of avocados using methyl cellulose-based coating. *LWT - Food Sci Technol* 2005; 38, 617-24.
11. Sánchez-Mata MC, Cámara-Hurtado M, Diez-Marques C, Torija-Isasa ME. Comparison of high-performance liquid chromatography and spectrofluorimetry for vitamin C analysis of green beans (*Phaseolus Vulgaris* L.). *Eur Food Res Technol* 2000; 210: 220-25.
12. Sánchez-Moreno C, Plaza L, De Ancos B, Cano MP. Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial orange juices. *J Sci Food Agri* 2003; 83(5), 430-9.
13. Kelebek H, Selli S, Cambas A, Cabaroglu T. HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. *Microchemical J* 2009;91: 187-92.
14. Geeson J. Packaging to keep produce fresh. *Nutrition and Food Science*; 1990; 90(2), 3-4.
15. Wills RH, Lee TH, Graham D, McGlasson WB, Hall EG. *Postharvest, an introduction to the physiology and handling of fruits and vegetables*. Westport CT: AVI Publishing Co; 1981.
16. Dhuique-Mayer C, Caris-Veyrat C, Ollitrault P, Curk F, Amiot MJ. Varietal and interspecific influence on micronutrient contents in citrus from the Mediterranean area. *J Agri Food Chem* 2005; 53: 2140-5.
17. Plaza L, Sánchez-Moreno C, Elez-Martínez P, De Ancos B, Marín-Belloso O, Cano, MP. Effect of refrigerated storage on vitamin C and antioxidant activity of orange juice processed by high-pressure or pulsed electric fields with regard to low pasteurization. *Eur Food Res Technol* 2006; 223(4): 487-93.

18. Klimczak I, Malecka M, Szlachta M, Gliszczynska S, wiglo A. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *J Food Compos Anal* 2007; 20: 313–22.
19. Del Caro A, Piga A, Vacca V, Agabbio M. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chem* 2004; 84(1): 99–105.
20. Gil MI, Aguayo E, Kader AA. Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage. *J Agri Food Chem* 2006; 54(12): 4284–96.
21. Albach RF, Redman GH, Cruse RR. Annual and seasonal changes in naringin concentration of Ruby Red grapefruit juice. *J Agri Food Che.* 1981; 29: 808–11.
22. Lafuente MT, Zacarías L, Martínez-Téllez MA, Sánchez-Ballesta MT, Granel A. Phenylalanine ammonia-lyase and ethylene in relation to chilling injury as affected by fruit age in citrus. *Postharvest Biol Technol* 2003; 29(3): 308–317.
23. Kalt W, Forney CF, Martin A, Prior R. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J Agri Food Chem* 1999; 47: 4638–44.
24. Antonio J, Melendez-Mart N, Isabel MV, Francisco JH. Review: Analysis of carotenoids in orange juice. *J Food Compos Anal.* 2007; 20: 638–49.
25. Stewart I. Provitamin A and carotenoid content of citrus juices. *J Agr Food Chem* 1977; 25(5): 1132–1137.
26. Kato M, Ikoma Y, Matsumoto H, Sugiura M, Hyodo H, Yano M. Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. *Plant Physiol.* 2004; 134(2), 824–37.
27. Robles-Sánchez RM, Rojas-Graü MA, Odrizola-Serrano I, González-Aguilar GA, Martán-Belloso O. Effect of minimal processing on bioactive compounds and antioxidant activity of fresh-cut ‘Kent’ mango (*Mangifera indica* L.). *Postharvest Biol Technol* 2009; 51(3): 384–90.
28. Sapers GM. Browning of foods: control by sulfates, antioxidants, and other means, *Food Technol.* 1993; 47: 75.
29. Gil-Izquierdo A, Gil MI, Ferreres F, Tom’as-Barber’an FA. In vitro availability of flavonoids and other phenolics in orange juice. *J Agr Food Chem* 2001; 49: 1035–1041.
30. Jayaprakasha K, Patil BS. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food Chem* 2007; 101: 410–18.
31. Sdiri S, Navarro P, Monterde A, Benabda J, Salvador A. Effect of postharvest degreening followed by a cold-quarantine treatment on vitamin C, phenolic compounds and antioxidant activity of early-season citrus fruit. *Postharvest Biol Technol* 2012; 65:13–21.

## Bioactive compounds and antioxidant activity of Thomson navel orange during storage

Mohammad hosseini Z<sup>1</sup>, Hashemi M<sup>\*2</sup>, Mohammadi A<sup>3</sup>, Badie F<sup>4</sup>, Eshghi S<sup>1</sup>, Ahmadi K<sup>5</sup>, Ghanati K<sup>6</sup>

1-M.Sc in Food Science & Technology, Shahid Beheshti University of Medical Science, Iran

2-\*Corresponding author: Assistant Prof. of Microbial Biotechnology & Biosafety Department, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Karaj, Iran. Email:hashemim@abrii.ac.ir

3-Assistant Prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4-Assistant Prof, of Agricultural Engineering Research Institute, Karaj, Iran

5- Assistant Prof. of Microbial Biotechnology & Biosafety Department, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Karaj, Iran

6- Assistant Prof, of International Branch, Shahid Beheshti University of Medical Science, Iran

Received 31 Dec, 2012

Accepted 11 May, 2013

**Background and Objective:** Thomson navel orange has a high nutritional value due to the high concentration of vitamin C, fiber, folate, minerals, and phytochemical compounds such as flavonoids, amino acids, triterpenes, phenolic acids and carotenoids. The postharvest respiration of orange fruit may produce changes in its bioactive compounds. The objective of this study was to investigate changes in the bioactive compounds, including ascorbic acid, flavonoids, and total carotenoid concentrations, as well as antioxidant activity and respiration rate of Thomson navel oranges, during storage.

**Materials and Methods:** Thomson oranges (*Citrus sinensis*) var. navel were purchased from Iran Citrus Research Center (Ramsar) and transported to the laboratory immediately after harvest and kept in cold store at 4-5 °C and 85-90 % relative humidity for 65 days. Changes in the concentrations of vitamin C, flavonoid compounds and total carotenoids, as well as in the antioxidant capacity and respiration rate of the oranges, were measured at 7-day intervals.

**Results:** Analysis of the data obtained showed that after 56 days of storage the concentrations of total flavonoides and total carotenoids, as well as the antioxidant activity and respiration rate of the oranges, increased by 36 %, 39 %, 19.6% and 94%, respectively, while the concentration of ascorbic acid decreased by 60.5% ( $p \leq 0.05$ ). Effects of storage on the bioactive compounds concentrations, antioxidant activity, and respiration rate were significant (0.05). Changes in the concentrations of compounds with an antioxidant activity and the respiration rate affected the antioxidant activity of oranges during storage.

**Conclusion:** Based on our results, and considering the nutritional value and functional compounds of orange fruit, using suitable technology to better protect the bioactive compounds and antioxidant activity of this valuable fruit is recommended.

**Keywords:** Thomson orange, Bioactive compounds, Respiration rate, Antioxidant activity, Storage