

## تغییرهای فیزیوشیمیایی و ترکیب‌های زیست‌فعال میوه پرتقال خونی رقم

### سانگین در دوره رسیدن<sup>۱</sup>

## Changes in Physicochemical and Bioactive Compounds of Blood Orange Fruit 'Sanguine' During Ripening

فریبرز حبیبی و اصغر رمضانیان<sup>۲\*</sup>

### چکیده

رنگ قرمز ناشی از آنتوسیانین باعث بهبود ویژگی‌های کیفی میوه‌های پرتقال خونی می‌شود. شناخت تغییرهای فیزیوشیمیایی و ترکیب‌های زیست‌فعال میوه پرتقال خونی مانند آنتوسیانین در دوره رسیدن می‌تواند امکان تعیین بهترین زمان برداشت با بیشترین کیفیت میوه را فراهم آورد. به‌منظور بررسی تغییرهای فیزیوشیمیایی و ترکیب‌های زیست‌فعال میوه پرتقال خونی رقم سانگین در دوره رسیدن میوه، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه زمان برداشت (۲۵۵، ۲۸۵ و ۳۱۵ روز بعد از مرحله تمام گل) با چهار تکرار انجام شد. نتیجه‌ها نشان داد مقدار سفتی میوه در زمان سوم نمونه‌برداری کاهش یافت که تفاوت معنی‌داری با مرحله دوم نمونه‌برداری (۲۸۵ روز بعد از تمام گل) نداشت. مقدار آنتوسیانین کل در دوره آزمایش ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت که نشان دهنده شروع تجزیه شدن آنتوسیانین در میوه‌های روی درخت بود، به‌طوری‌که در ۳۱۵ روز بعد از مرحله تمام گل، مقدار آنتوسیانین کل نسبت به زمان دوم نمونه‌برداری ۳۷٪ کاهش یافت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مقدار فنول کل و آسکوربیک‌اسید میوه در سه مرحله نمونه‌برداری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طور کلی، با افزایش زمان ماندگاری میوه‌ها روی درخت ممکن است آنتوسیانین تجزیه شده و کیفیت میوه‌ها کاهش یابد. بنابراین برای برداشت میوه‌های پرتقال خونی رقم سانگین با بیشترین کیفیت لازم است افزون بر در نظر گرفتن شاخص طعم به دیگر ویژگی‌های فیزیوشیمیایی و ترکیب‌های زیست‌فعال به‌ویژه آنتوسیانین توجه کرد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربیک‌اسید، آنتوسیانین، سفتی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنول کل.

### مقدمه

پرتقال‌های خونی (*Citrus sinensis* L. Osbeck) از مهم‌ترین رقم‌های مرکبات بوده و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیب‌های زیست‌فعال به‌ویژه آنتوسیانین، آسکوربیک‌اسید، فلاونوئید و هیدروسیانامیک اسید می‌باشند (۱۴). پرتقال‌های خونی از جهش جوانه به‌وجود آمده‌اند و رقم‌های مورو، تاراگو و سانگینلو سه رقم قدیمی پرتقال خونی هستند (۱۲). پرتقال خونی رقم سانگین، جز رقم‌های میان‌رس بوده و دارای میوه کشیده و پوست کلفت است و پوست میوه در زمان رسیدن قرمز می‌شود (۱).

وجود آنتوسیانین در پرتقال‌های خونی شاخص کیفیت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه است. ارزش غذایی و دارویی این میوه‌ها به‌واسطه وجود این ترکیب‌ها است (۸). آنتوسیانین‌ها، رنگیزه‌های محلول در آب بوده و به

شکل گلیکوزید یعنی ترکیب آنتوسیانیدین با یک یا دو مولکول قند ساده می‌باشند. آنتوسیانین‌ها افزون بر گوشت، باعث ایجاد رنگ قرمز در پوست میوه پرتقال خونی می‌شوند (۶). فنیل‌آلانین‌آمونیا لایز (PAL)، چالکون‌سینتاز (CHS)، چالکون‌ایزومراز (CHI)، دی‌هیدروفلاونول-۴-ردوکتاز (DFR)، آنتوسیانین‌سینتاز (ASN) و UDP-گلوزک فلانونوئید گلوکوزیل ترانسفراز (UFGT) از آنزیم‌های اصلی زیست‌ساخت آنتوسیانین هستند (۱۲). مقدار آنتوسیانین در پرتقال‌های خونی به ژنتیک و رقم، شرایط اقلیمی، منطقه کشت، مرحله رسیدن، زمان برداشت و عملیات کشت بستگی دارد. پرتقال خونی به روزهای گرم و شب‌های خنک برای به بیشینه رسیدن مقدار آنتوسیانین نیاز دارد (۱۲).

شاخص بلوغ تجاری میوه‌های مرکبات، نسبت ماده‌های جامد محلول (TSS) به اسیدیته کل (TA) بوده که تعیین زمان برداشت میوه‌های مرکبات براساس آن انجام می‌شود (۱۱). در ایران، میوه پرتقال خونی در زمان بلوغ تجاری با دشواری‌هایی مانند رنگ‌گیری کم و کیفیت پایین میوه روبه‌رو است (۸). مقدار آنتوسیانین در میوه پرتقال خونی مهم‌ترین شاخص کیفیت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه می‌باشد. افزون بر مقدار آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، بسیاری از ویژگی‌های کیفی میوه از جمله TSS، TA، آسکوربیک‌اسید و فنول کل نیز زیر تاثیر بلوغ و زمان برداشت هستند (۱). با توجه به دشواری‌های یاد شده باغداران از معیار دقیقی برای برداشت میوه‌های خود استفاده نمی‌کنند و برداشت این میوه‌ها در یک بازه زمانی از دی‌ماه تا اسفندماه انجام می‌شود. شناخت تغییرات ترکیب‌های زیست‌فعال میوه در دوره بلوغ و پس از آن و بررسی همبستگی بین ویژگی‌ها می‌تواند امکان تعیین بهترین زمان برداشت میوه‌ها به گونه‌ای که از بیشترین کیفیت خوراکی و تغذیه‌ای برخوردار باشند را فراهم آورد. همچنین تخمین بهترین تاریخ برداشت میوه می‌تواند در کاهش تناوب باردهی درختان نیز موثر باشد (۱۶). تاکنون گزارشی در ارتباط با تغییرات فیزیوشیمیایی و ترکیب‌های زیست‌فعال میوه پرتقال خونی رقم سانگین در دوره رسیدن میوه روی درخت ارائه نشده است. بنابراین هدف از انجام این پژوهش تعیین بهترین زمان برداشت میوه‌های پرتقال خونی رقم سانگین بر اساس شاخص‌های کیفی، فیزیوشیمیایی و ترکیب‌های زیست‌فعال در زمان بلوغ تجاری و رسیدن میوه بوده است.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش، در سال ۱۳۹۵ روی درختان ۷ ساله پرتقال خونی رقم سانگین (*Citrus sinensis* L. Osbeck cv. Sanguine) پیوند شده روی پایه لیموترش (*C. aurantifolia*) کشت شده در خاک لومی-شنی در یک باغ تجاری مرکبات در شهرستان جهرم استان فارس انجام شد. فاصله کاشت درختان ۷×۷ متر و سیستم آبیاری به‌صورت قطره‌ای بود. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار (بلوک) و سه مشاهده (درخت) در هر تکرار انجام شد. به‌منظور انجام این پژوهش و بررسی روند تغییرات فیزیوشیمیایی و ترکیب‌های زیست‌فعال، نمونه‌برداری در سه مرحله و در هر مرحله از ۱۲ درخت نشانه‌گذاری شده انجام شد. در شرایط اقلیمی منطقه، مرحله تمام گل ۳۱ فروردین بود. نمونه‌برداری اول بر اساس شاخص TSS/TA در روز ۲۵۵ بعد از تمام گل (۱۳۹۵/۱۰/۱۰) صورت گرفت. نمونه‌برداری دوم در روز ۲۸۵ بعد از تمام گل (۱۳۹۵/۱۱/۱۰) و نمونه‌برداری سوم در روز ۳۱۵ بعد از تمام گل (۱۳۹۵/۱۲/۱۰) انجام شد. برای هر مرحله نمونه‌برداری، از چهار جهت هر درخت (تکرار) به تعداد ۲۰ میوه برداشت و بی‌درنگ به آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت منتقل شدند.

در این پژوهش تغییرات سفتی بافت میوه، ماده‌های جامد محلول (TSS)، اسیدیته کل (TA)، شاخص طعم میوه (TSS/TA)، pH آب‌میوه، مقدار آنتوسیانین کل، فنول کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آسکوربیک‌اسید اندازه‌گیری شدند.

مقدار سفیدی بافت میوه با دستگاه بافت‌سنج<sup>۱</sup> (TA-XT2, UK) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری سفیدی از پروب ۳۵ میلی‌متری و نیروی فشردگی ۱۰ گرم استفاده شد. نیروی لازم بر حسب نیوتن (N) برای فشردن تا ۱۰٪ قطر میوه‌ها گزارش شد (۱۵).

برای اندازه‌گیری TSS از دستگاه انکسارسنج دستی<sup>۲</sup> (TI-RBX0032A, Singapore) استفاده شد و مقدار TSS بر حسب درصد بیان شد (۱۷).

اسیدیته کل (TA) به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال اندازه‌گیری شد. برای این منظور از میوه‌های هر تیمار، ۵ میلی‌لیتر آب میوه در یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و به آن محلول سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH ۸/۲ به تدریج افزوده شد. مقدار سود مصرفی یادداشت شد. برای محاسبه TA از فرمول زیر استفاده شد (۲۱).

$$\text{میلی الکی والانت اسید سیتریک} \times \text{نرمالیه سود} \times \text{مقدار سود مصرفی} = \frac{\text{اسیدیته کل}}{\text{میلی لیتر نمونه}} \times 100$$

شاخص طعم (TSS/TA) میوه با تقسیم کردن TSS بر TA به دست آمد (۲۰).

pH عصاره میوه پس از عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه پی‌اچ‌سنج اندازه‌گیری شد (۸).

اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین کل با استفاده از روش تفاوت pH با روش اسپکتروفتومتری انجام شد. مقدار جذب هر نمونه (Abs) با استفاده از دستگاه میکروپلیتریدر (Epoch, USA) در طول موج ۵۱۰ نانومتر برای هریک از بافرهای کلرید پتاسیم با pH=۱ و استات سدیم با pH=۴/۵ اندازه‌گیری شد. مقدار آنتوسیانین کل برحسب میلی‌گرم سیانیدین-۳-گلوکوزاید در لیتر با رابطه زیر محاسبه شد (۱۸).

$$\text{آنتوسیانین کل (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{(\text{Abs}_{\text{pH}1} - \text{Abs}_{\text{pH}4.5}) \times 484 / 82 \times 1000}{24825 \times \text{سازای}}$$

فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از دستگاه میکروپلیتریدر (Epoch, USA) اندازه‌گیری شد. به‌طور چکیده، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره میوه با یک میلی‌لیتر DPPH<sup>۳</sup> (۰/۱ میلی‌مولار) و یک میلی‌لیتر تریس ۰/۱ مولار (pH=۷/۵) مخلوط شد و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی در دمای اتاق، جذب مخلوط واکنش توسط دستگاه میکروپلیتریدر (Epoch, USA) در طول موج ۵۱۷ نانومتر (A) اندازه‌گیری شد و با استفاده از فرمول زیر درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی محاسبه شد (۵).

$$\text{فعالیت آنتی اکسیدانی (\%)} = \left[ 1 - \frac{A_{\text{Sample (517 nm)}}}{A_{\text{Control (517 nm)}}} \right] \times 100$$

مقدار فنول کل با روش فولین-سیوکالتیو<sup>۴</sup> با دستگاه میکروپلیتریدر (Epoch, USA) در طول موج ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۳۲ میکرولیتر آب میوه را با ۷۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲٪ آمیخته و پس از ۳ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، ۱۸۰ میکرولیتر فولین ۵۰٪ به آن افزوده شد. نمونه‌ها ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند و سپس جذب آمیخته واکنش خوانده شد. مقدار فنول کل با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف گالیک اسید محاسبه شد (۱۳).

مقدار آسکوربیک اسید با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Dynamica, UK) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره میوه با ۱۰ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۱٪ آمیخته شد و با تکان‌دهنده انگشتی یکنواخت شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از آن با ۹ میلی‌لیتر دی‌کلرواندوفنول با غلظت ۵۰ میکرولیتر در لیتر مخلوط شد و با تکان‌دهنده انگشتی به شدت تکان داده و در نهایت جذب آمیخته واکنش در طول موج ۵۱۵ نانومتر خوانده شد. غلظت

۴-Folin-Ciocalteu

۳-2,2-Diphenyl picryl hydrazyl

۲-Refractometer

۱-Texture analyzer

آسکوربیک اسید با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف ال-آسکوربیک اسید محاسبه شد (۳).

در این پژوهش واکاوی داده‌های به‌دست آمده و ضریب همبستگی پیرسون توسط نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

## نتایج

### تغییرهای سفتی بافت میوه

بر اساس نتیجه‌های به‌دست آمده، زمان برداشت بر مقدار سفتی بافت میوه پرتقال خونی رقم سانگین اثر معنی‌داری داشت. مقدار سفتی بافت میوه در روز ۲۵۵ بعد از مرحله تمام گل ۳۵/۸۵ نیوتن بود و با گذشت زمان به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. به‌طوری‌که بیشترین مقدار سفتی (۳۹/۹۱ نیوتن) در زمان دوم نمونه‌برداری (روز ۲۸۵ بعد از مرحله تمام گل) به مقدار ۱۱٪ بیشتر از زمان برداشت اول (روز ۲۵۵ بعد از مرحله تمام گل) بود. در زمان سوم نمونه‌برداری مقدار سفتی بافت میوه کاهش یافت که تفاوت معنی‌داری با مرحله دوم نمونه‌برداری (روز ۲۸۵ بعد از تمام گل) نداشت (شکل ۱).

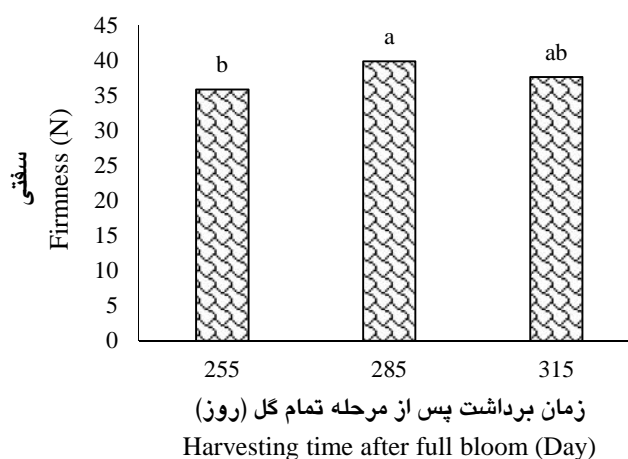


Fig. 1. Fruit firmness of 'Sanguine' blood orange at different harvesting times. Means in each column with similar letters are not significantly different at 5% level of probability using Duncan's multiple range test.

شکل ۱- سفتی میوه پرتقال خونی رقم سانگین در زمان‌های مختلف برداشت. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشابه هستند، در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

### تغییرهای TSS، TA، شاخص طعم میوه (TSS/TA) و pH

زمان برداشت بر مقدار TSS میوه پرتقال خونی رقم سانگین اثر معنی‌داری داشت. مقدار TSS مرحله دوم نمونه‌برداری به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد که نسبت به مرحله اول نمونه‌برداری ۲۱٪ افزایش داشت. در زمان سوم نمونه‌برداری مقدار TSS کاهش یافت که تفاوت معنی‌داری با مرحله اول نمونه‌برداری (۲۵۵ روز بعد از تمام گل) نداشت (شکل ۲- الف).

بر اساس نتیجه‌های به‌دست آمده، زمان برداشت بر مقدار TA اثر معنی‌داری داشت. همان‌طور که در شکل ۲- ب مشاهده می‌شود با گذشت زمان مقدار TA به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. بیشترین مقدار TA (۱/۲۹٪) در روز ۲۵۵ بعد از مرحله تمام گل وجود داشت. در روز ۲۸۵ بعد از مرحله تمام گل مقدار TA نسبت به زمان اول نمونه‌برداری ۲۴٪ کاهش یافت که تفاوت معنی‌داری با مرحله اول نمونه‌برداری (۲۵۵ روز بعد از تمام گل)

داشت. کمترین مقدار TA میوه با کاهش ۴۰ درصدی نسبت به زمان برداشت اول در روز ۳۱۵ از مرحله تمام گل (شکل ۲-ب). (۰/۷۷٪) به دست آمد.

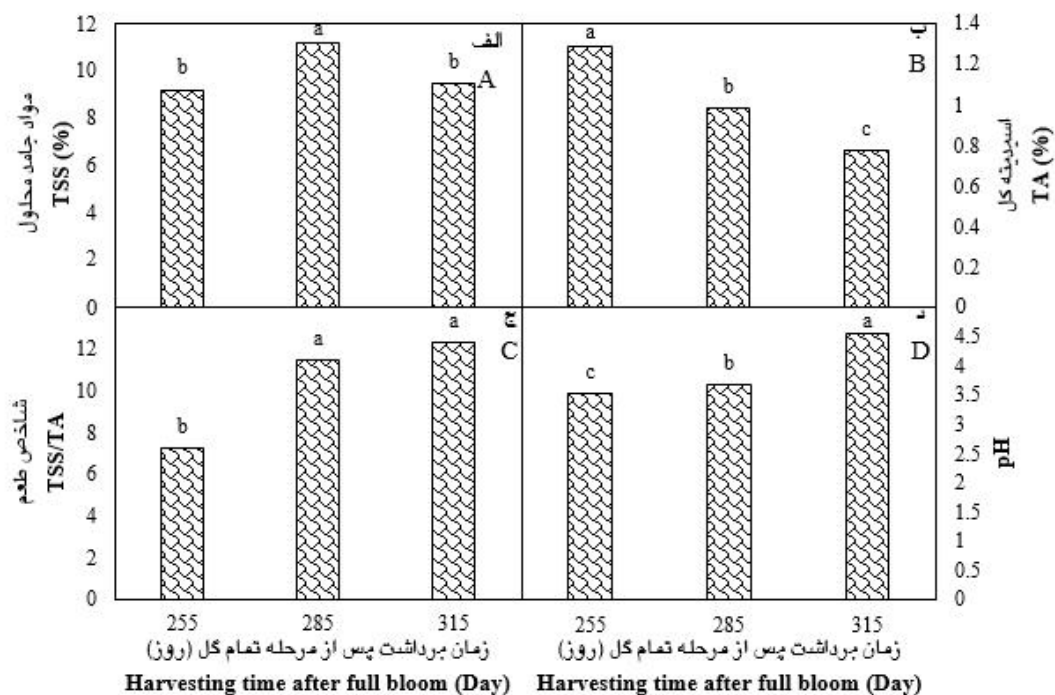


Fig. 2. Total soluble solids content (A), Titratable acidity content (B), Flavor index (TSS/TA) (C), and Juice pH (D) of 'Sanguine' blood orange fruit at different harvesting times. Means in each column with similar letters are not significantly different at 5% level of probability using Duncan's multiple range test.

شکل ۲- مقدار ماده‌های جامد محلول (الف)، اسیدیته قابل تیتراسیون (ب)، شاخص طعم (ج) و pH آب میوه (د) میوه پرتقال خونی رقم سانگین در زمان‌های مختلف برداشت. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشابه هستند، در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

زمان برداشت بر شاخص طعم (TSS/TA) میوه پرتقال خونی رقم سانگین اثر معنی‌داری داشت. شاخص طعم میوه (TSS/TA) با گذشت زمان افزایش پیدا کرد (شکل ۲-ج). کمترین و بیشترین شاخص طعم میوه به ترتیب در روزهای ۲۵۵ بعد از مرحله تمام گل (۷/۲) و ۳۱۵ بعد از مرحله تمام گل (۱۲/۲۸) بود. شاخص طعم میوه در روز ۳۱۵ بعد از مرحله تمام گل نسبت به زمان اول نمونه‌برداری ۴۱٪ افزایش یافت و تفاوت معنی‌داری با مرحله دوم نمونه‌برداری (TSS/TA=۱۱/۴۵) نداشت (شکل ۲-ج).

زمان برداشت بر مقدار pH آب میوه پرتقال خونی رقم سانگین اثر معنی‌داری داشت. pH آب میوه در روز ۲۵۵ بعد از مرحله تمام گل ۳/۵۲ بود که با گذشت زمان به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. بیشترین مقدار pH با افزایش ۲۲ درصدی نسبت به زمان برداشت اول در روز ۳۱۵ بعد از مرحله تمام گل ۴/۵۵ بود (شکل ۲-د).

### تغییرهای ترکیب‌های زیست‌فعال

بر اساس نتیجه‌های به دست آمده، زمان برداشت بر مقدار آنتوسیانین کل میوه پرتقال خونی رقم سانگین اثر معنی‌داری داشت. مقدار آنتوسیانین کل تا دومین مرحله برداشت افزایش پیدا کرد و در آخرین مرحله برداشت کاهش یافت (شکل ۳-الف). مقدار آنتوسیانین کل میوه پرتقال خونی رقم سانگین در روز ۲۵۵ بعد از مرحله تمام گل ۴/۶۴ میلی‌گرم در لیتر بود. در مرحله دوم نمونه‌برداری مقدار آنتوسیانین کل نسبت به زمان اول نمونه‌برداری

۶۸٪ افزایش یافت. همچنین در روز ۳۱۵ بعد از مرحله تمام گل مقدار آنتوسیانین کل نسبت به زمان دوم نمونه برداری ۳۷٪ کاهش یافت (شکل ۳- الف).

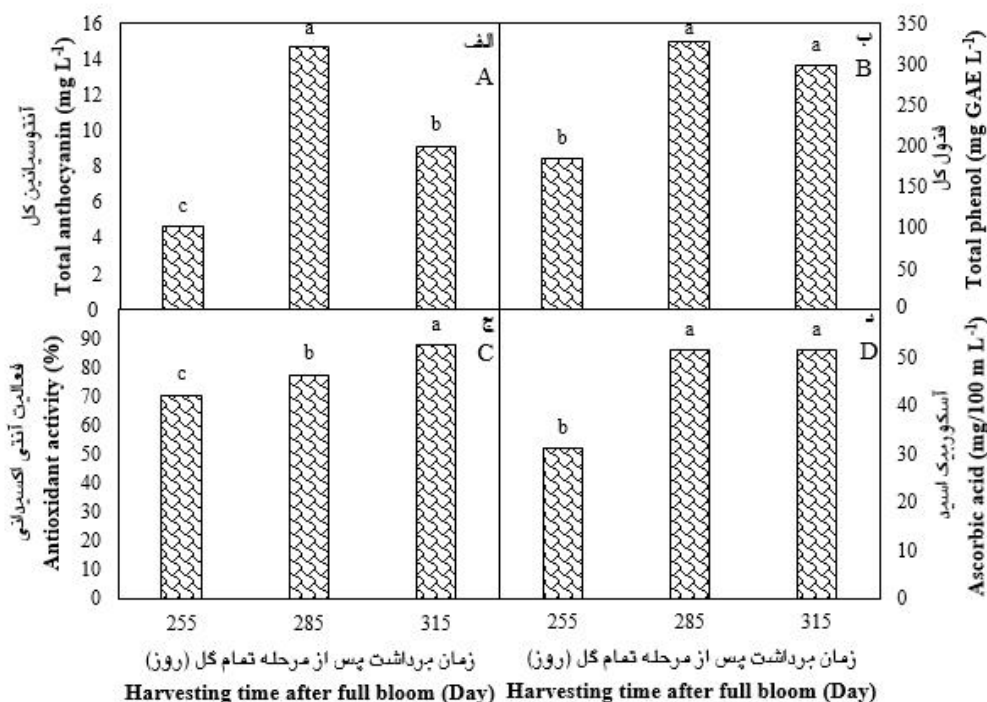


Fig. 3. Total anthocyanin content (A), total phenol content (B), antioxidant activity (C), and ascorbic acid content (D) of 'Sanguine' blood orange fruit at different harvesting times. Means in each column with similar letters are not significantly different at 5% level of probability using Duncan's multiple range test.

شکل ۳- مقدار آنتوسیانین کل (الف)، فنول کل (ب)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (ج) و آسکوربیک‌اسید (د) میوه پرتقال خونی رقم سانگین در زمان‌های مختلف برداشت. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشابه هستند، در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

زمان برداشت بر مقدار فنول کل میوه پرتقال خونی رقم سانگین اثر معنی‌داری داشت. مقدار فنول کل میوه پرتقال خونی رقم سانگین در روز ۲۵۵ بعد از مرحله تمام گل معادل ۱۸۴/۶ میلی‌گرم اسید گالیک در لیتر بود. در مرحله دوم نمونه‌برداری مقدار فنول کل نسبت به زمان اول نمونه‌برداری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که بیشترین مقدار فنول کل در روز ۲۸۵ بعد از تمام گل بود که نسبت به مرحله اول ۴۳٪ افزایش یافت. مقدار فنول کل در روز ۳۱۵ بعد از مرحله تمام گل، نسبت به زمان دوم نمونه‌برداری تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۳- ب).

زمان برداشت بر مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه پرتقال خونی رقم سانگین اثر معنی‌داری داشت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه در سه مرحله نمونه‌برداری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روز ۲۵۵ بعد از مرحله تمام گل ۷۰/۴۷٪ بود. بیشترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ۳۱۵ روز بعد از مرحله تمام گل بود که نسبت به زمان اول نمونه‌برداری ۱۹٪ افزایش یافت (شکل ۳- ج).

بر اساس نتیجه‌های به‌دست آمده، زمان برداشت بر مقدار آسکوربیک‌اسید میوه پرتقال خونی رقم سانگین اثر معنی‌داری داشت. مقدار آسکوربیک‌اسید میوه پرتقال خونی رقم سانگین در روز ۲۵۵ بعد از مرحله تمام گل، ۳۱/۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر بود. در مرحله دوم نمونه‌برداری مقدار آسکوربیک‌اسید نسبت به زمان اول نمونه‌برداری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین مقدار آسکوربیک‌اسید در روز ۲۸۵ بعد از تمام

جدول ۱- ضریب‌های همبستگی بین پارامترهای اندازه‌گیری شده.

Table 1. Correlation coefficients between measured parameters.

	سفتی Firmness	ماده‌های جامد محلول Total soluble solids	اسیدیته قابل تیتراسیون Titratable acidity	شاخص طعم Flavor index	pH	آنتوسیانین کل Total anthocyanin	فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity	فنول کل Total phenol	آسکوربیک‌اسید Ascorbic acid
سفتی Firmness	1								
ماده‌های جامد محلول Total soluble solids	0.78437**	1							
اسیدیته قابل تیتراسیون Titratable acidity	-0.34686	-0.19130	1						
شاخص طعم Flavor index	0.56838	0.46995	-0.94237**	1					
pH	0.07791	-0.23849	-0.80397**	0.68233*	1				
آنتوسیانین کل Total anthocyanin	0.82502**	0.87685**	-0.40109	0.59394*	-0.04494	1			
فعالیت آنتی‌اکسیدانی Antioxidant activity	0.72467**	0.83448**	-0.32781	0.53682	0.03792	0.89695**	1		
فنول کل Total phenol	0.72595**	0.64204*	-0.66942*	0.76053**	0.40791	0.80635**	0.81215**	1	
آسکوربیک‌اسید Ascorbic acid	0.56569	0.51500	-0.80637**	0.88380**	0.58644*	0.70422*	0.69309*	0.82544**	1

\*\* : Correlation at 1% level of probability \* : Correlation at 5% level of probability.

\*\*\*: همبستگی در سطح احتمال ۱٪، \*\*: همبستگی در سطح احتمال ۵٪.

گل بود که نسبت به مرحله اول ۴۰٪ افزایش یافت. در مرحله سوم مقدار آسکوربیک اسید تفاوت معنی‌داری با مرحله دوم نمونه‌برداری نداشت (شکل ۳-د).

### ضریب‌های همبستگی بین ویژگی‌های اندازه‌گیری شده

ضریب‌های همبستگی نشان می‌دهد مقدار آنتوسیانین کل با فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنول کل، آسکوربیک اسید، TSS و سفتی در سطح احتمال یک درصد و با شاخص طعم در سطح احتمال ۵٪ همبستگی مثبت و معنی‌داری داشته است (جدول ۱). TA با شاخص طعم، pH آب‌میوه و فنول کل همبستگی منفی و معنی‌داری داشته است. TSS با سفتی، آنتوسیانین کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنول کل و آسکوربیک اسید همبستگی مثبت و معنی‌داری داشته است. سفتی با TSS، آنتوسیانین کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فنول کل همبستگی مثبت و معنی‌داری داشته است. شاخص طعم با آنتوسیانین کل، فنول کل، آسکوربیک اسید و pH همبستگی مثبت و معنی‌داری داشته و با TA همبستگی منفی و معنی‌داری داشت.

### بحث

نتیجه‌های این پژوهش نشان داد زمان برداشت تأثیر معنی‌داری بر کیفیت درونی میوه پرتقال خونی و ترکیب‌های زیست‌فعال دارد. مقدار سفتی در مرحله دوم برداشت میوه به مقدار ۱۱٪ نسبت به زمان برداشت اول افزایش یافت و سپس کاهش پیدا کرد. سفتی میوه، یکی از شاخص‌های بسیار مهم در تعیین قابلیت پذیرش محصول است (۸). ترکیب‌های پکتیکی، پلی‌ساکاریدهای ساختاری می‌باشند که مسئول سفتی بافت میوه‌ها هستند و نرم شدن میوه زمانی رخ می‌دهد که اتصال این پلی‌مرهای پکتیکی به دیواره یاخته‌ای در مرحله‌های رسیدگی سست‌تر می‌شود (۷). یکی از دلایل اصلی کاهش سفتی بافت میوه، دپلمیریزاسیون پکتین وابسته به فعالیت آنزیم‌های پکتین استراز، پکتین لیاز و پلی‌گالاکتروناز می‌باشد. به‌طوری‌که فعال شدن آنزیم پلی‌گالاکتروناز باعث تبدیل ترکیب‌های پکتینی نامحلول به ترکیب‌های محلول می‌گردد (۲). در پژوهشی کاهش سفتی میوه هلو (*Prunus persica L.*) در مرحله رسیدن به دلیل فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره یاخته‌ای گزارش شد (۷). کاهش TSS و TA و افزایش شاخص طعم (TSS/TA) و pH در دوره رسیدن میوه و در آخرین زمان برداشت میوه مشاهده شد، به‌طوری‌که مقدار TA نسبت به زمان برداشت اول ۴۰٪ کاهش داشت. شاخص طعم و pH در آخرین مرحله نمونه‌برداری (۳۱۵ روز بعد از مرحله تمام گل) به ترتیب ۴۱ و ۲۲٪ افزایش پیدا کرد. اسیدهای آلی به عنوان یک ذخیره انرژی میوه می‌باشند. اسیدهای آلی میوه، ماده‌های اولیه تنفس هستند. کاهش اسیدهای آلی در دوره رسیدن میوه به دلیل کاتابولیسم اسید سیتریک است که اسید غالب میوه‌های مرکبات محسوب می‌شود (۱۰). در نیمه اول فاز دوم رشد، میوه‌های در حال رشد مقدار قابل توجهی از اسیدهای آلی را در واکوئل یاخته‌های کیسه آب انباشته می‌کنند و کاتابولیزه شدن آن در مرحله سوم رشد میوه صورت می‌گیرد و باعث کاهش اسیدهای آلی در دوره رسیدن میوه می‌شود (۹). همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، TA با شاخص طعم همبستگی منفی و معنی‌داری داشت. بنابراین برداشت دیر هنگام میوه باعث کاهش اسیدهای آلی میوه می‌گردد. در این پژوهش، کاهش اسیدهای آلی باعث افزایش شاخص طعم شد. در واقع به دلیل کاهش TA، شاخص طعم در روز ۲۸۵ پس از مرحله تمام گل افزایش یافت (شکل ۲-ب). نتیجه‌های این پژوهش با نتیجه‌های گزارش شده در مورد میوه گریپ فروت رقم Star Ruby همسو می‌باشد (۱۶).

بیش از ۸۵٪ مقدار TSS در میوه‌های مرکبات قندها هستند. بنابراین مقدار TSS یک شاخص عالی برای مقدار قند میوه مرکبات است (۱۱). در این پژوهش TSS تا زمان دوم نمونه‌برداری افزایش یافت. در میوه‌های فرازگرا

افزایش ماده‌های جامد محلول بیشتر به دلیل تبدیل نشاسته به قندهای محلول رخ می‌دهد. تجزیه نشاسته پیش از بلوغ میوه، منبع عمده قندهای میوه (ساکارز، گلوکز و فروکتوز) می‌باشد که سبب شیرین شدن میوه می‌شود. میوه مرکبات نافرانگرا بوده و افزایش ماده‌های جامد محلول در آن‌ها نمی‌تواند به دلیل تبدیل نشاسته باشد (۱۹). افزایش TSS میوه ممکن است به علت فعالیت متابولیکی میوه باشد. همچنین، pH کم میوه می‌تواند باعث افزایش قدرت مخزن (میوه) و تسهیل انباشت قندها شود (۱۰). افزون بر این، تخریب پکتین، سلولز و همی‌سلولز دیواره یاخته‌ای بخش‌های میوه، ممکن است منجر به آزادسازی ماده‌های محلول شود که می‌تواند بر مقدار TSS اثر مستقیم داشته باشد. مقدار TSS میوه مرکبات با بلوغ افزایش می‌یابد و وقتی میوه به بلوغ بیش از حد می‌رسد مقدار TSS کاهش می‌یابد (۱۰) که این مورد می‌تواند یکی از دلایل کاهش TSS در روز ۳۱۵ بعد از مرحله تمام گل باشد. افزایش pH به علت فعالیت‌های بیوشیمیایی داخل میوه است که سبب می‌شود اسیدهای آلی میوه به ماده‌های قندی تبدیل شوند. مقدار اسید سیتریک مرکبات که به همراه قندها به‌ویژه گلوکز در فرایند تنفس مصرف می‌شود، کاهش یافته و سبب افزایش pH میوه می‌شود (۱۹). در این پژوهش مقدار آنتوسیانین تا مرحله دوم برداشت افزایش پیدا کرد، به طوری که در این مرحله نمونه‌برداری ۶۸٪ نسبت به مرحله اول افزایش یافت و در آخرین مرحله برداشت تجزیه شدن آنتوسیانین در میوه‌های روی درخت مشاهده شد که مقدار آنتوسیانین کل نسبت به زمان دوم نمونه‌برداری ۳۷٪ کاهش یافت (شکل ۳-الف). به عبارت دیگر انبارمانی میوه روی درخت نه تنها باعث روند افزایشی آنتوسیانین میوه نشد، بلکه تجزیه آنتوسیانین کل نیز رخ داد. مقدار آنتوسیانین در پرتقال‌های خونی شاخص کیفیت میوه محسوب می‌شود (۸). میزان آنتوسیانین موجود در پرتقال‌های خونی و ساخت آن به فعالیت آنزیم‌هایی چون فنیل‌آلانین‌آمونیا لیاز (PAL) ارتباط دارد. گزارش شده است فعالیت PAL همبستگی مثبتی با ساخت آنتوسیانین در میوه‌های پرتقال‌های خونی دارد (۱۵). آنتوسیانین در میوه پرتقال خونی توسط دیگر فلاونوئیدها یا اسیدهای فنولیک و pH پایین حفظ می‌شود (۴). از سوی دیگر، سیستم‌های آنزیمی موجود در میوه پرتقال خونی مانند آنتوسیاناز ( - گلوکزیداز) و پلی‌فنول اکسیداز (PPO) می‌تواند نقش مهمی در تخریب آنتوسیانین‌ها داشته باشند. این آنزیم‌ها با افزایش سن میوه و پیری فعال می‌شوند و به ترتیب باعث هیدرولیز کردن و اکسایش مولکول آنتوسیانین می‌شوند (۱۵). یکی از دلایل کاهش مقدار آنتوسیانین کل در روز ۳۱۵ پس از مرحله تمام گل می‌تواند به دلیل فعال شدن آنزیم‌های دخیل در تجزیه آنتوسیانین با افزایش انبارمانی و سن میوه روی درخت باشد (۱۵).

در این پژوهش، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آسکوربیک اسید میوه در دوره سه مرحله نمونه‌برداری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با فنول کل و آسکوربیک اسید و مقدار آنتوسیانین میوه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت (جدول ۱). در کل، بین تمام ترکیب‌های زیست‌فعال مورد بررسی در این پژوهش، همبستگی مثبت وجود داشت. میوه‌های مرکبات نافرانگرا هستند و در دوره رسیدن، رشد فعال میوه کاهش می‌یابد و سوخت و ساز یاخته‌ای به سمت انباشت ترکیب‌های زیست‌فعال و فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی تغییر می‌یابد (۱۰). از آنجا که میوه‌های مرکبات از نظر ژنتیکی دارای رشد سریع هستند با افزایش رشد، مقدار ترکیب‌های زیست‌فعال به‌ویژه در مرحله رشد سریع (فاز لگاریتمی) افزایش می‌یابد (۹). با این حال مقدار آسکوربیک اسید و فنول کل در روزهای ۲۸۵ و ۳۱۵ پس از مرحله تمام گل تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (شکل ۳-د).

### نتیجه‌گیری

بررسی تغییرهای فیزیوشیمیایی و ترکیب‌های زیست‌فعال پرتقال خونی رقم سانگین نشان داد که زمان‌های برداشت روی پارامترهای اندازه‌گیری شده اثر معنی‌داری داشت. با انبارمانی میوه‌ها روی درخت، مقدار سفیدی به کمترین مقدار در روز ۳۱۵ پس از تمام گل رسید. مقدار TA با گذشت زمان به‌طور معنی‌داری کاهش و شاخص

طعم (TSS/TA) میوه افزایش پیدا کرد. برای جلوگیری از اثر منفی مقادیرهای پایین TA در شاخص طعم، میوه‌ها باید با TA بالاتر (بیشتر از یک) برداشت شوند. آنتوسیانین کل میوه نیز در دوره انبارمانی روی درخت در مرحله سوم نمونه‌برداری تجزیه شد و با توجه به اینکه مقدار آنتوسیانین شاخص کیفی میوه پرتقال خونی محسوب می‌شود باید از برداشت دیر هنگام میوه‌ها دوری نمود. به طور کلی، در این پژوهش مناسب‌ترین زمان برداشت میوه پرتقال خونی رقم سانگین در روز ۲۸۵ بعد از مرحله تمام گل بود.

## References

## منابع

۱. فتوحی قزوینی، ر. و ج. فتاحی مقدم. ۱۳۸۵. پرورش مرکبات در ایران. انتشارات دانشگاه گیلان. ۳۰۵ صفحه.
۲. کوشش‌صبا، م. و ا. رمضانیان. ۱۳۹۴. زیست‌شناسی و فن‌آوری پس از برداشت برای حفظ کیفیت میوه‌ها. چاپ اول. انتشارات دانشگاه کردستان. ۳۰۶ صفحه.
3. AOAC. 2000. Vitamins and other nutrients, official methods of analysis (17th ed.). Washington, D.C. AOAC International, pp. 16-20.
4. Barbagallo, R.N., R. Palmeri, S. Fabiano, P. Rapisarda and G. Spagna. 2007. Characteristic of  $\alpha$ -glucosidase from Sicilian blood oranges in relation to anthocyanin degradation. *Enzyme Microb. Technol.* 41(5):570-575.
5. Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier and C.L.W.T. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebenson Wiss Technol.* 28(1):25-30.
6. Crifo, T., G. Petrone, L. Lo Cicero and A.R. Lo Piero. 2011. Short cold storage enhances the anthocyanin contents and level of transcripts related to their biosynthesis in blood oranges. *J. Agr. Food Chem.* 60(1):476-481.
7. Fishman, M.L., B. Levaj, D. Gillespie and R. Scorza. 1993. Changes in the physico-chemical properties of peach fruit pectin during on-tree ripening and storage. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118(3):343-349.
8. Habibi, F. and A. Ramezani. 2017. Vacuum infiltration of putrescine enhances bioactive compounds and maintains quality of blood orange during cold storage. *Food Chem.* 227:1-8.
9. Hockema, B.R. and E. Etxeberria. 2001. Metabolic contributors to drought-enhanced accumulation of sugars and acids in oranges. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 126(5):599-605.
10. Iglesias, D.J., M. Cercós, J.M. Colmenero-Flores, M.A. Naranjo, G. Ríos, E. Carrera, O. Ruiz-Rivero, I. Lliso, R. Morillon, F.R. Tadeo and M. Talon. 2007. Physiology of citrus fruiting. *Brazil. J. Plant Physiol.* 19(4):333-362.

11. Lado, J., M.J. Rodrigo and L. Zaccarías. 2014. Maturity indicators and citrus fruit quality. *Stewart Postharvest Rev.* 10(2):1-6.
12. Lo Piero, A.R. 2015. The state of the art in biosynthesis of anthocyanins and its regulation in pigmented sweet oranges [(*Citrus sinensis*) L. Osbeck]. *J. Agr. Food Chem.* 63(16):4031-4041.
13. Meyers, K.J., C.B. Watkins, M.P. Pritts and R.H. Liu. 2003. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *J. Agric. Food Chem.* 51(23):6887-6892.
14. Molinu, M.G., A. Dore, A. Palma, S. D'Aquino, E. Azara, V. Rodov and G. D'hallewin. 2016. Effect of superatmospheric oxygen storage on the content of phytonutrients in 'Sanguinello Comune' blood orange. *Postharvest Biol. Technol.* 112:24-30.
15. Njombolwana, N. S., A. Erasmus, J.G. Van Zyl, W. Du Plooy, P.J. Cronje and P.H. Fourie. 2013. Effects of citrus wax coating and brush type on imazalil residue loading, green mould control and fruit quality retention of sweet oranges. *Postharvest Biol. Technol.* 86:362-371.
16. Pailly, O., G. Tison and A. Amouroux. 2004. Harvest time and storage conditions of 'Star Ruby' grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) for short distance summer consumption. *Postharvest Biol. Technol.* 34(1):65-73.
17. Ramezani, A., M. Rahemi, M. Maftoun, K. Bahman, S. Eshghi, M.R. Safizadeh and V. Tavallali. 2010. The ameliorative effects of spermidine and calcium chloride on chilling injury in pomegranate fruits after long-term storage. *Fruits*, 65(3):169-178.
18. Rapisarda, P., F. Fanella and E. Maccarone. 2000. Reliability of analytical methods for determining anthocyanins in blood orange juices. *J. Agr. Food Chem.* 48(6):2249-2252.
19. Rapisarda, P., M.L. Bianco, P. Pannuzzo and N. Timpanaro. 2008. Effect of cold storage on vitamin C, phenolics and antioxidant activity of five orange genotypes [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Postharvest Biol. Technol.* 49(3):348-354.
20. Razzaq, K., A.S. Khan, A.U. Malik, M. Shahid and S. Ullah. 2014. Role of putrescine in regulating fruit softening and antioxidative enzyme systems in 'Samar Bahisht Chaunsa' mango. *Postharvest Biol. Technol.* 96:23-32.

21. Varasteh, F., K. Arzani, M. Barzegar and Z. Zamani. 2012. Changes in anthocyanins in arils of chitosan-coated pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Rabbab-e-Neyriz) fruit during cold storage. Food Chem.130(2):267-272.

## Changes in Physicochemical and Bioactive Compounds of Blood Orange Fruit 'Sanguine' during Ripening

F. Habibi and A. Ramezani<sup>1\*</sup>

The red color due to anthocyanin improves the quality attributes of blood orange fruit. Monitoring of physicochemical and physiological changes such as anthocyanin content during blood orange fruit ripening can help to predict the best harvest time with the best quality. In order to investigate the changes of physicochemical and bioactive compounds in blood orange fruit 'Sanguine' during fruit ripening, a randomized complete block design with four replications was conducted at three harvesting times (255, 285 and 315 days after full bloom). The results showed that fruit firmness decreased at the third stage of sampling, which did not have a significant difference with the second stage of sampling (285 days after full bloom). Total anthocyanin content increased during experiment, and then decreased, indicating the onset of anthocyanin degradation in fruit stored on tree so that the total anthocyanin concentration decreased 37% at third stage compared to the second stage. Antioxidant activity, total phenol and ascorbic acid content of fruit increased significantly during three stages of sampling. Overall, by extending the maintenance of fruit on the tree, anthocyanin may degrade and decrease the fruit quality. Therefore, for harvesting blood orange fruit 'Sanguine' with the highest quality, it is necessary to consider physicochemical attributes and bioactive compounds especially anthocyanin other than flavor index.

**Keywords:** Anthocyanin, Antioxidant activity, Ascorbic acid, Firmness, Total phenol.

---

1. Ph.D. Student and Associate Professor of Horticulture Science, Department of Horticulture, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

\* Corresponding author, Email: (ramezani@shirazu.ac.ir).