

## بررسی میزان ترکیبات فلاونوئیدی در دو مرحله بلوغ و رسیدگی میوه شش رقم مرکبات

جواد فتاحی مقدم<sup>۱\*</sup>، یوسف حمیداوغلی<sup>۲</sup>، رضا فتوحی قزوینی<sup>۲</sup>،

سمانه فتح‌الهی<sup>۲</sup>، محمود قاسم‌نژاد<sup>۲</sup> و داود بخشی<sup>۲</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۴/۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۲۷)

### چکیده

کیفیت میوه مرکبات علاوه بر خواص فیزیکی و شیمیایی، به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی چون آسکوربیک اسید، فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز بستگی دارد. گروه فلاونوئیدها به‌ویژه فلاونوئیدهای گلیکوزیدی در مرکبات غالبیت دارند و بازدارنده بیماری‌های مزمن چون سرطان و عارضه‌های قلبی و عروقی هستند. در این مطالعه میزان فلاونوئیدهای کل و هم‌چنین نارینجین، هسپریدین، نئوهسپریدین، کوئرستین و کاتچین در میوه‌های بالغ و رسیده شش رقم مرکبات (تامسون، سیاوز، مورو، سانگینلو، تاراگو و نارنگی پیچ) با دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که همه ارقام در زمان رسیدن در اوج مقدار فلاونوئیدکل بودند. مقدار نارینجین در زمان بلوغ ارقام تامسون و تاراگو بالاترین (به ترتیب با مقادیر ۴۵۲/۸ و ۴۳۶/۳ میکروگرم در گرم) بود. به‌طورکلی تجمع هسپریدین در ارقام خونی بیشتر از ارقام غیرخونی بود. ارقام سانگینلو و سیاوز از نظر میزان نئوهسپریدین به‌خصوص در حالت رسیده در سطح بالایی قرار داشتند. میزان کاتچین گوشت رقم تاراگو در شهر یور با ۲۴/۳۶ میکروگرم در گرم در بالاترین سطح و بعد از آن رقم سیاوز با مقدار ۱۰/۶ میکروگرم در گرم قرار داشت. میزان کوئرستین در میوه‌های نارس و در ارقام تامسون، سیاوز و تاراگو بالاتر بود. در میان ارقام مورد مطالعه، رقم تاراگو سطوح بالاتری از ترکیبات فلاونوئیدی را در حالت بلوغ و یا رسیده داشتند.

واژه‌های کلیدی: زمان برداشت، مرکبات، رسیدن، بلوغ، فلاونوئیدها و HPLC

۱. استادیار پژوهش بخش تحقیقاتی فنی و مهندسی، مؤسسه تحقیقات مرکبات کشور، رامسر

۲. به‌ترتیب استادیار، استاد، استادیار، دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: jfattahim@yahoo.com

## مقدمه

هرگونه شناخت از تغییرات بیوشیمیایی میوه‌های در حال رشد، به دلیل آگاهی از مراحل متابولیسی بلوغ تا رسیدگی، تغییر کیفیت ظاهری و ارزش غذایی میوه اهمیت زیادی دارد. نتایج حاصل از بررسی‌های مختلف نشان از تغییر در مقدار این ترکیبات در سال‌های مختلف و یا در ارقام مختلف از یک جنس دارد (۳، ۹ و ۱۱). ترکیبات فنلی میوه مرکبات شامل فلاونوئیدها (Flavonoids) و اسیدهای فنلی است و در این میان فلاونوئیدهای گلیکوزیدی (Flavonoid glycosides) در مرکبات غالبیت دارند (۲). هم‌چنین میوه مرکبات حاوی ترکیبات مفید دیگر همچون لیمونوئیدها (Limonoids)، پکتین (Pectin)، کومارین (Cumarin) و آنتی‌اکسیدان‌های معروف چون آسکوربیک‌اسید (Ascorbic acid) و کارتنوئیدها (Carotenoids) است که نقش مهمی در سلامت انسان دارند (۱۸ و ۲۱). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مرکبات، بازدارنده بیماری‌های مزمن چون سرطان، عارضه‌های قلبی و عروقی هستند (۱، ۶ و ۱۲). به‌علاوه، ترکیبات فنلی میوه مرکبات را از خسارت میکروبی، اشعه ماورای بنفش و سایر عوامل تنش‌زا طی رشد، مصون می‌دارند (۱۶).

در مرکبات فلاونوئیدهای گلیکوزیدی در برگ‌ها و میوه‌های جوان و طی مرحله تقسیم سلولی تشکیل می‌شود. بخش‌های چوبی گیاه عمل بیوسنتز ترکیبات فلاونوئیدی را ندارند، چون این ترکیبات در بافت ریشه و ساقه یافت نمی‌شوند. در طول دوره بزرگ شدن سلول‌ها و سپس بلوغ برگ و میوه‌ها، سنتز آنها کاهش می‌یابد. همان‌طور که سلول‌های میوه توسعه یافته و بالغ می‌شوند، غلظت فلاونوئیدها به دلیل اثرات رقیق‌شدگی کاهش می‌یابد. بر این اساس مثلاً میوه گریپ‌فروت در اوایل فصل تلخ‌تر از سایر مواقع فصل است که نشان می‌دهد غلظت فلاونوئیدهای نوع تلخ در مراحل رشد اولیه بالاتر بوده است (۴). ترکیبات فلاونوئیدی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی نیز هستند. در یک مطالعه ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بخش‌های مختلف میوه چهار رقم از مرکبات در زمان رسیدگی میوه

بررسی شد. نتایج نشان داد که در این دو نوع نارنگی و یک پرتقال، هسپریدین (Hesperidin) سهمی حدود ۳۸/۵-۱۸/۵ درصد از فنل کل را دارا بود، درحالی‌که نارینجین (Naringin) با سهم ۵۳/۷ درصدی فقط در رقم هیبرید مشاهده شد (۱). براساس تحقیق زو و همکاران (۲۸) مشخص شد که هم‌زمان با بلوغ میوه‌های پونکن و نوعی گریپ‌فروت (هویو (Huyou)) اسیدهای فنلی موجود در پوست و گوشت نیز کاهش یافت، ولی در نهایت میزان آنها در پوست بیشتر از گوشت بود. هم‌چنین میزان فنل کل در دامنه ۱۸۰ میکروگرم در گرم وزن خشک (در مرحله رسیدگی گوشت میوه رقم گریپ‌فروت) تا ۵۰۶۰ میکروگرم در گرم وزن خشک در پوست میوه نارس پونکن بود. هم‌چنین نتایج این گزارش نشان داد که حداکثر میزان اسیدهای فنلی در مرحله نارس گوشت میوه تشکیل شده بود. با مقایسه ارقام، همواره میزان این ترکیبات در پونکن بیشتر از گریپ‌فروت بود (۲۲).

در یک مطالعه مشخص شد که هسپریدین در پرتقال والنسیا و نارنجین در گریپ‌فروت از جمله ترکیبات فلاونوئیدی اصلی هستند که تحت تأثیر کیفیت تغذیه‌ای درخت قرار گرفتند (۱۴). نارینجین و نئوهسپریدین فلاوانون (Neohesperidin flavanon)، گلیکوزیدهای اصلی در مرکبات گروه ترش و متمایل به طعم تلخ هستند. در این رابطه، پوست لیمو منبع غنی از فلاونوئیدهای گلیکوزیدی است. با مطالعه روی نقش فلاونوئیدها در طعم و مزه مرکبات گزارش شده که در میان نئوهسپریدوزایدها (Neohesperidoside)، نارینجین، نئوهسپریدین و نئواریوسیتترین (Neoeriocitrin) بیشتر در انواع برگاموت، گریپ‌فروت و پرتقال‌های تلخ موجود است. در میان روتینوزایدها (Rutinosides)، می‌توان به هسپریدین، ناریروتین (Narirutin)، و دیدایمین (Didymin) در عصاره برگاموت، پرتقال، نارنگی و لیموترش اشاره نمود (۱۳).

در تحقیقی ساخت ترکیبات فنلی طی نمو میوه ازگیل ژاپنی بررسی شد. در میوه‌های جوان ازگیل ژاپنی، فنل کل هم از نظر غلظت و هم نوع ترکیب بالاترین (۳۵۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم

آنتوسیانین‌ها وابسته به محیط کمی اسیدی است) و جهت پرتقال‌های تامسون و سیاورز و هم‌چنین نارنگی پیچ از متانول به تنهایی استفاده شد. آب میوه به‌صورت دستی تهیه و به نسبت ۱:۳ همراه با حلال در درون لوله فالکون و به‌صورت تمام شب (شرایط تاریک با دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد) قرار داده شد. بعد از گذشت این مدت، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (سانتریفیوژ مدل Mikro 22R ساخت آلمان) شدند. پس از سانتریفیوژ فاز رویی به آرامی برداشته و درون تیوب‌های درب‌دار در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد جهت اندازه‌گیری‌های بعدی نگهداری شدند (۵).

#### تجزیه اسپکتروفتومتریک فلاونوئید کل

میزان فلاونوئید کل با روش کالریمتری آلومینیوم کلراید اندازه‌گیری شد (۵). پنجاه میکرولیتر از عصاره متانولی گوشت و پوست میوه با ۱۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید (۱۰٪)، ۱۰ میکرولیتر پتاسیم استات (۱ مولار)، ۲۸۰ میکرولیتر آب دیونیزه مخلوط شد. نمونه‌ها پس از ورتکس شدن در دمای اتاق به مدت ۴۰ دقیقه نگهداری شدند. هم‌زمان ۶ غلظت مختلف (۰/۱۵، ۰/۰۳، ۰/۰۶، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) از کوئرستین (Quercetin) با هدف تهیه منحنی استاندارد تهیه شد (شکل ۱). جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۱۵ نانومتر در مقابل بلانک شامل آب دیونیزه به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ (مدل ND-1000 ساخت آمریکا) در سه تکرار خوانده شد. میزان فلاونوئید کل براساس منحنی استاندارد کوئرستین تعیین شد. نتایج برحسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن تر گوشت میوه بیان شد.

#### اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی اصلی به روش تجزیه HPLC

مراحل استخراج ترکیبات فلاونوئیدی با هدف تجزیه به روش HPLC مشابه مراحل استخراج فلاونوئید کل بود. تفاوت فقط در نوع حلال متانول و اسید استیک بود که در این آزمایش از متانول با درجه خلوص بسیار بالا و ویژه HPLC استفاده شد.

وزن‌تر) بود ولی به‌طور تدریجی طی رشد میوه تا ۲ تا ۴ هفته قبل از برداشت کاهش یافت. چنین کاهشی در میوه‌های سیب، هلو و انگور نیز گزارش شده است (۸).

هر گونه تغییر در ترکیبات زیست‌فعال در میوه می‌تواند متأثر از عوامل مختلف ژنتیکی و محیطی باشد. چون این ترکیبات دارای ارزش غذایی برای مصرف‌کننده هستند لذا شناخت و ردیابی این خصوصیات در حین رسیدن میوه، به مدیریت کنترل کیفیت میوه کمک شایانی می‌نماید. بنابراین نیاز است که ارقام مختلف مورد آزمایش قرار گرفته تا تفاوت آنها و نقش زمان رسیدن میوه روی این ترکیبات مشخص شود. هدف از این آزمایش مطالعه میزان فلاونوئیدهای اصلی در میوه شش رقم مرکبات در دو مرحله بالغ و رسیده و مقایسه آنها با هم تحت شرایط محیطی شمال کشور بود.

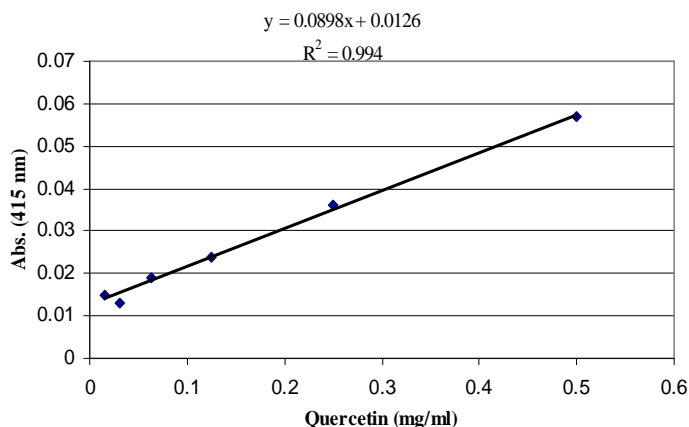
#### مواد و روش‌ها

##### مواد گیاهی

در این پژوهش از میوه شش رقم مرکبات شامل دو رقم پرتقال غیرخونی (تامسون ناول (Thomson navel) و سیاورز (محلی))، سه رقم پرتقال خونی (مورو (Moro)، سانگینلو (Sanguinello) و تاراکو (Tarocco)) و یک رقم نارنگی پیچ (Page) جهت مطالعه استفاده شد. زمان برداشت میوه‌ها روزهای ۱۴۰ (بلوغ فیزیولوژیکی) و ۲۳۰ روز (زمان رسیدن) بعد از تمام گل (Full bloom) بود. بدین منظور درختان بارور پیوند شده روی پایه نارنج واقع در باغ‌های تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات مرکبات کشور انتخاب شدند. میوه‌ها (۳۰ عدد برای هر تکرار) از جهات مختلف درخت و تا حد امکان یکسان تهیه شد و سپس به آزمایشگاه جهت ارزیابی‌های مختلف فیزیوشیمیایی منتقل شدند.

##### استخراج فلاونوئیدها

به‌منظور استخراج فلاونوئیدکل ارقام خونی (سانگینلو تاراکو) از حلال متانول و استیک اسید به نسبت ۱۵:۸۵ درصد (پایداری



شکل ۱. منحنی و معادله خط جذب غلظت‌های مختلف محلول استاندارد کوئرستین

جدول ۱. برنامه گرادیان تعریف شده برای اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی

زمان	سرعت جریان	حلال A (درصد)	حلال B (درصد)
۰	۱	۹۵	۵
۰-۱۰	۱	۹۰	۱۰
۱۰-۳۰	۱	۶۰	۴۰
۳۰-۴۰	۱	۴۵	۵۵
۴۰-۴۵	۱	۲۰	۸۰
۴۵-۵۰	۱	۰	۱۰۰

## نتایج

### فلاونوئید کل

مقایسه میانگین‌های فلاونوئید کل ارقام مختلف مرکبات در شکل ۲ آمده است. کلیه ارقام الگوی معینی از تجمع فلاونوئیدها در مراحل بلوغ تا رسیدگی نشان دادند. بدین صورت که همه ارقام در زمان رسیدن سطح بالایی از فلاونوئیدها را دارا بودند. فلاونوئید کل در پرتقال تاراگو و نارنگی پیچ در زمان رسیدن بالاترین بود. رقم سیاورز نیز در مرحله بلوغ با این که تفاوت معنی‌داری با رقم تاراگو نداشت لیکن نسبت به سایر ارقام در سطح بالاتری قرار داشت. کمترین میزان تجمع فلاونوئیدی به میزان ۱۸٪ میلی‌گرم در گرم در رقم سانگینلو بالغ وجود داشت.

### میزان ترکیبات فلاونوئیدی اصلی

در این آزمایش میزان ترکیبات فلاونوئیدی اصلی موجود در مرکبات شامل نارینجین، هسپریدین، نئوهسپریدین، کاتچین و

نمونه‌ها قبل از تزریق با فیلتر ۰/۰۴۵ میکرون فیلتر شدند. اندازه‌گیری برخی ترکیبات فلاونوئیدی (نارینجین، هسپریدین، نئوهسپریدین، کوئرستین و کاتچین) به وسیله روش HPLC انجام شد. سیستم مورد استفاده مدل Waters 1525 با پمپ از نوع Binary و دتکتور با مشخصات Waters 2487, Dual  $\lambda$  Absorbance بود. ستون این سیستم به طول ۱۵۰ میلی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر با منافذی به اندازه ۵ میکرومتر بود. حلال A شامل آب مقطر و حلال B محلول متانول بود. روش کار به صورت حلال با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه در دو طول موج ۲۸۰ و ۳۵۰ (جهت کوئرستین) نانومتر تعریف شد. حجم تزریقی برابر ۶۰ میکرولیتر بود. به‌طور خلاصه برنامه گرادیان به صورت جدول ۱ تعریف شد.

داده‌های حاصل از این آزمایش براساس طرح بلوک کامل تصادفی مورد تجزیه واریانس قرار گرفت و میانگین‌های حاصل با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شد.



شکل ۲. میزان فلاونوئیدکل در مراحل بلوغ و رسیدن میوه شش رقم مرکبات ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند فاقد تفاوت معنی‌دار براساس آزمون دانکن (۵٪) هستند.



شکل ۳. میزان نارینجین در مراحل بلوغ و رسیدن میوه شش رقم مرکبات ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند فاقد تفاوت معنی‌دار براساس آزمون دانکن (۵٪) هستند.

رسیدن با مقادیر ۱۲/۵۳ و ۱۶/۷۴ میکروگرم در گرم وزن‌تر هسپریدین از جایگاه بالاتری نسبت به سایر ارقام برخوردار بودند. به‌طورکلی به نظر می‌رسد ارقام خونی تجمع هسپریدین بیشتری دارند. ارقام سانگینلو و پیچ از نظر میزان هسپریدین در هر دو مرحله بلوغ و رسیدن تفاوت معنی‌داری نداشتند (شکل ۴).

#### میزان نئوهسپریدین

ارقام سانگینلو و سیاورز با این‌که هسپریدین کمتری داشتند ولی از نظر میزان نئوهسپریدین به‌خصوص در حالت رسیده (گوشت) در سطح بالایی نسبت به سایر ارقام قرار داشتند. به‌طورکلی میزان نئوهسپریدین میوه غالب ارقام در حالت رسیده بیشتر از مرحله بلوغ میوه بود. رقم تامسون نیز در مرحله بلوغ میزان نئوهسپریدین بالاتری نسبت به سایر ارقام داشت هرچند

کوئرتستین در گوشت میوه ارقام مختلف در دو مرحله رشدی بالغ و رسیده اندازه‌گیری شد.

#### میزان نارینجین

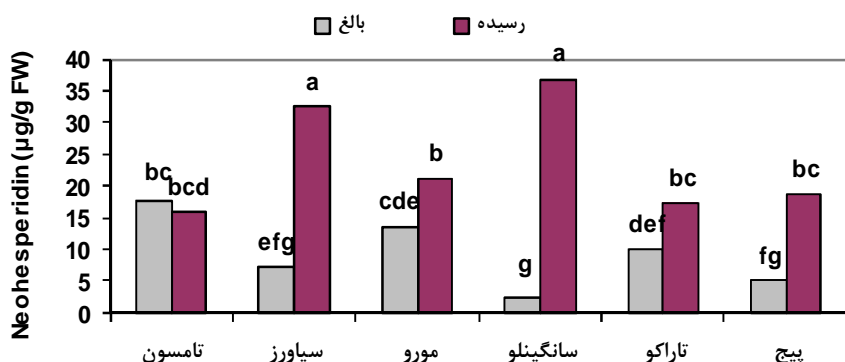
نتایج نشان داد که میزان نارینجین در بین رقم‌های مختلف تفاوت معنی‌داری دارند. بر این اساس نارینجین در زمان بلوغ ارقام تامسون و تاراگو بالاترین (به‌ترتیب با مقادیر ۴۵۲/۸ و ۴۳۶/۳ میکروگرم در گرم) بود. رقم محلی سیاورز نیز از نظر میزان نارینجین تفاوت معنی‌داری با تاراگو نداشت (شکل ۳). در ارقام خونی مورو و سانگینلو و هم‌چنین نارنگی پیچ این ترکیب در زمان رسیدن در مقایسه با مرحله بلوغ میوه به میزان بیشتری در گوشت تجمع یافته است.

#### میزان هسپریدین

میوه رقم تاراگو در مرحله بلوغ و رقم مورو در مرحله



شکل ۴. میزان هسپریدین در مراحل بلوغ و رسیدن میوه شش رقم مرکبات  
ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند فاقد تفاوت معنی‌دار براساس آزمون دانکن (۵٪) هستند.



شکل ۵. میزان نئوهسپریدین در مراحل بلوغ و رسیدن میوه شش رقم مرکبات  
ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند فاقد تفاوت معنی‌دار براساس آزمون دانکن (۵٪) هستند.

با مورو تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۵). ارقام تامسون، سیاورز و تاراگو بود. در مرحله رسیدن تفاوت معنی‌داری بین ارقام مورو، سانگینلو، تاراگو و پیج از نظر میزان کوئرستین وجود نداشت (شکل ۷).

### میزان کاتچین

به‌طورکلی میزان کاتچین در میوه مرکبات به میزان کمتری نسبت به سایر ترکیبات فلاونوئیدی وجود داشت. میوه رقم تاراگو در مرحله بلوغ با ۲۴/۳۶ میکروگرم در گرم در بالاترین سطح و بعد از آن رقم سیاورز با مقدار ۱۰/۶ میکروگرم در گرم کاتچین قرار داشت. در ارقام مورو و سیاورز علاوه بر این که میزان کاتچین در زمان رسیدن در مقایسه با بلوغ افزایش نسبی داشت همچنین در مقایسه با سایر ارقام نیز این برتر بودن مشاهده شد (شکل ۶).

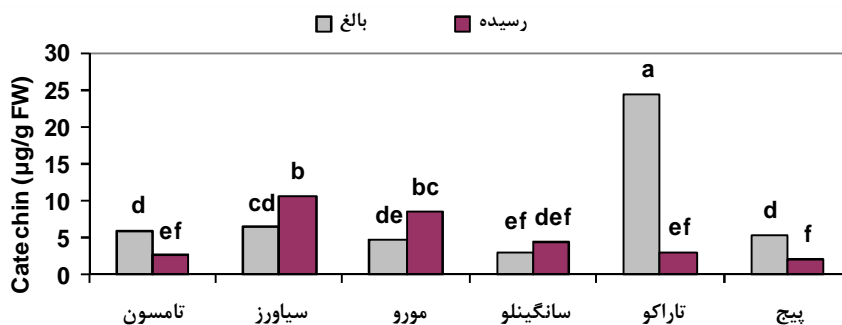
### میزان کوئرستین

در گوشت کلیه ارقام میزان کوئرستین در میوه‌های بالغ (برداشت در ۱۴۰ روز بعد از تمام گل) بالاتر از رسیده (۲۳۰ روز بعد از تمام گل) بود که بیشترین میزان مربوط به

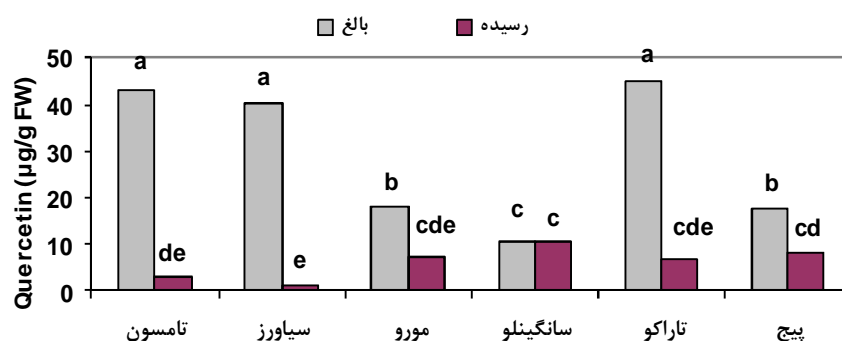
### بحث

#### فلاونوئید کل

برخی از محققین ارزیابی میزان فلاونوئیدکل را به‌خصوص در مرحله رسیدن با هدف بررسی ارزش غذایی و سلامت‌بخشی میوه مرکبات مورد توجه قرار داده‌اند و برحسب اکی‌والان کوئرستین بیان نموده‌اند. در گزارشی میزان فلاونوئید کل عصاره نارنگی انشو و پرتقال تامسون در برداشت فصلی، به‌ترتیب ۰/۴۷ و ۰/۷۸ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر گزارش شد (۱). در مطالعه حاضر، میزان تجمع فلاونوئیدکل در نارنگی پیج در زمان رسیدن کاملاً منطبق بر میزان فلاونوئید انشو در این گزارش بود. سایر ارقام نیز مقادیر نزدیک به نارنگی انشو داشتند. مشخص



شکل ۶. میزان کاتچین در مراحل بلوغ و رسیدن میوه شش رقم مرکبات ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند فاقد تفاوت معنی‌دار براساس آزمون دانکن (۵٪) هستند.



شکل ۷. میزان کوئرستین در مراحل بلوغ و رسیدن میوه شش رقم مرکبات ستون‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند فاقد تفاوت معنی‌دار براساس آزمون دانکن (۵٪) هستند.

فلاونوئیدهای این ارقام در زمان رسیدن مربوط به نارینجین و نئوهسپریدین باشد چراکه براساس نتایج بیان شده در شکل ۱ و ۳، مقدار این ترکیبات در میوه‌های رسیده در سطح بالاتری نسبت به سایر ترکیبات فلاونوئیدی است.

#### تجزیه HPLC فلاونوئیدهای مهم

در مرکبات حدود ۶۰ نوع ترکیب از گروه فلاونوئیدها شناسایی شده‌اند. ترکیباتی چون نارینجین، هسپریدین، نئوهسپریدین، کوئرستین و برخی آنتوسیانین‌ها (پرتقال‌های خونی) از مهم‌ترین فلاونوئیدهای موجود در مرکبات هستند (۱۹). بسیاری از منابع، وجود این ترکیبات در مرکبات را گزارش نموده‌اند. بر این اساس در یک مطالعه که در زمان رسیدن میوه و در پنج رقم مرکبات صورت گرفت وجود و مقدار ترکیبات فلاونوئیدی بررسی شد. نتایج حاکی از شناسایی هفت ترکیب فلاونوئیدی

شده است که رقم انشو از سطح ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بالایی برخوردار بوده و علت مقاومت به سرمای بالای آنرا نیز وجود همین ویژگی ذکر نموده‌اند. بنابراین نزدیک بودن رقم پیچ به انشو علاوه بر دارا بودن سطح ترکیبات زیست‌فعال بالا، از نقطه نظر تحمل سرما در شرایط شمال ایران (وجود سرمای ناگهانی) نیز اهمیت می‌یابد. در گزارشی دیگر میزان فلاونوئید کل در هفت رقم از مرکبات بررسی شد که در این میان دامنه فلاونوئید کل از ۸/۴۱ (کامکوات) تا ۲۱/۶ (نمون) برحسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک متغیر بود (۲۰). گزارشی مبنی بر بررسی روند تولید این ترکیبات طی رسیدن در مرکبات مشاهده نشد لیکن با مقایسه میزان فلاونوئیدهای ارقام مورد مطالعه با نتایج سایر محققین در زمان رسیدن مشخص می‌شود که وضعیت فلاونوئیدی این ارقام به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان با سایر گزارش‌ها برابری می‌کند. از طرفی به نظر می‌رسد غالب

کاهش یافته است. با این حال مقدار آن هر چند محدود در زمان رسیدن میوه می‌تواند از نظر ارزش غذایی میوه اهمیت داشته باشد.

به‌طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که میزان و نوع ترکیبات، بسته به نوع رقم و زمان برداشت می‌تواند متفاوت باشد. در این رابطه طی تحقیقی خصوصیات ترکیبی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوشت ارقام مختلف مرکبات بررسی شد. نتایج نشان داد ارقام نیز از نظر میزان این ترکیبات متفاوت هستند طوری که میوه رقم تاراکو بیشترین میزان هسپریدین را داشت (۱۷). لزوماً آنچه در گوشت وجود دارد، ممکن است در پوست نباشد و یا مقادیر آنها با هم فرق داشته باشد. براساس تحقیقی مشخص شد که با این‌که بذرهاى لمون غنی از اریوسیتترین و هسپریدین بود، ولی پوست غنی از نئواریوسیتترین، نارینجین و نئوهسپریدین بود. به‌علاوه غلظت این ترکیبات در پوست و گوشت و یا بسته به رقم متفاوت بود. با اینکه نارینجین در بذرها و پوست لمون یافت شد ولی در عصاره این میوه‌ها موجود نبود (۱۵).

براساس منابع همه فلاونوئیدهای مرکبات فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند ولی ممکن است بسته به هیدروفیلیک و یا لیپوفیلیک بودن محیط، میزان فعالیت آنها با هم متفاوت باشد. برخی مولکول‌ها چون نئوهسپریدین، هسپریدین و دیدایمین در محیط لیپوفیلیک ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کمتری داشته در حالی‌که ترکیباتی چون نارینجین، نارینجین، نئواریوسیتترین و نارپروتین در این محیط فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری دارند (۱۹). با این حال با این‌که این ترکیبات در مقادیر کم در گونه‌های مرکبات وجود دارند ولی به‌دلیل نقشی که این ترکیبات در مهار رادیکال‌ها در بدن دارند می‌توانند از نظر ارزش غذایی و بهبود سلامت جامعه مورد توجه و قابل توصیه باشند.

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج نشان داد که میوه مرکبات می‌تواند به‌عنوان یک منبع غنی از فلاونوئیدها مطرح باشد چرا که این ترکیبات از نظر

شامل اریوسیتترین (Eriocitrin)، نئواریوسیتترین (Neohesperidin)، نارپروتین (Narirutin)، نارینجین، هسپریدین، نئوهسپریدین و دیدایمین (Didimin) در بافت گوشت مرکبات بود. به‌طور مشابه در این آزمایش نیز ترکیبات نارینجین، هسپریدین و نئوهسپریدین در میوه‌های بالغ و رسیده شناسایی شد. مجموع ترکیبات فلاوانول گلیکوزاید شناسایی شده در دامنه ۷/۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر در نارنگی کلمانتین تا ۵۳/۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر در پرتقال سانگینلو بود. در این آزمایش پرتقال واشنگتن ناول حاوی ۵۶/۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر نارینجین و نارنگی کلمانتین و پرتقال سانگینلو فاقد این ترکیب بودند (۷). در مطالعه حاضر میزان نارینجین در گوشت تامسون ناول نزدیک به نتایج این گزارش بود، ولی سانگینلو با میزان ۳۲۷/۱ میکروگرم در گرم وزن تر نارینجین، وضعیت مغایری با گزارش فوق داشت. هم‌چنین براساس گزارش کاماردا و همکاران (۷) بیشترین هسپریدین با مقدار ۳۰/۸ در سانگینلو و سپس ناول با ۱۶/۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر بود. نارنگی کلمانتین حاوی ۵/۴۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر هسپریدین بود. ترکیب نئوهسپریدین در هیچ‌یک از ارقام مورد مطالعه شناسایی نشد (۷). در این آزمایش، میزان هسپریدین در سانگینلو، تامسون ناول و نارنگی پیچ بسیار کمتر از میزان گزارش فوق بود، ولی مقادیر قابل توجه‌ای از نئوهسپریدین در ارقام مورد مطالعه در این آزمایش مشاهده شد. ممکن است دلیل کاهش هسپریدین، مرحله رشدی میوه باشد. به نظر می‌رسد هسپریدین در مراحل اولیه رشد میوه (فندقه) در سطح بالاتری قرار دارد. در این رابطه، فقیه‌نصیری و همکاران (۱۰) در پژوهش خود بالاترین عملکرد هسپریدین را در دو رقم پرتقال محلی و نارنگی کلمانتین در زمان ۵۰ تا ۶۰ روز بعد از مرحله تمام گل (فندقه بودن میوه) گزارش نمودند. آنها پرتقال محلی را برای استخراج هسپریدین مناسب تشخیص دادند (۱۰). در آزمایش حاضر - در زمان بلوغ که تقریباً ۱۲۰ روز بعد از تمام گل هست و از مرحله فندقه میوه گذشته است - در هر دو رقم پرتقال محلی سیاورز و نارنگی پیچ میزان هسپریدین به شدت نسبت به سایر ارقام



عوامل مختلف متأثر در میزان این ترکیبات مورد بررسی قرار گیرد.

### سپاسگزاری

مواد گیاهی و شیمیایی مورد نیاز در این مطالعه براساس پروژه تحقیقاتی با شماره مصوب ۸۸۰۱۱-۱۷-۱۷-۲ توسط مؤسسه تحقیقات مرکبات کشور فراهم شد که بدین وسیله از این مجموعه قدردانی می‌شود.

خواص دارویی و غذایی اهمیت دارند. از طرفی مقدار و نوع ترکیبات فلاونوئیدی بسته به رقم و مرحله رشدی متفاوت است، طوری که در یک رقم و یا در یک مرحله رشدی ممکن است میزان یک ترکیب کمتر باشد ولی در مقابل سایر ترکیبات مفید بالاتر باشند. بنابراین مقدار کل این ترکیبات را چه در مراحل رشد اولیه میوه با هدف استخراج و استفاده در صنایع دارویی و چه در مرحله رسیدگی با هدف تازه‌خوری میوه باید مد نظر قرار گیرد. پیشنهاد می‌شود که در پژوهش‌های آینده، سایر ترکیبات زیست‌فعال مرکبات چون لیمونوئیدها و تأثیر

### منابع مورد استفاده

1. Abeysinghe, D. C., X. Li, C. D. Sun, W. S. Zhang, C. H. Zhou and K. S. Chen. 2007. Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species. *Food Chemistry* 104: 1338-1344
2. Balasundram, N., K. Sundram and S. Samman. 2006. Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99: 191-203.
3. Bennett, J. O., O. Yu, L. G. Heatherly and H. B. Krishnan. 2004. Accumulation of genistein and daidzein, soybean isoflavones implicated in promoting human health, is significantly elevated by irrigation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 7574-7579.
4. Berhow, M. A. 2000. Effects of early plant growth regulator treatments on flavonoid levels in grapefruit. *Plant Growth Regulation* 30: 225-232
5. Bor, J. Y., H. Y. Chen and G. C. Yen. 2006. Evaluation of antioxidant activity and inhibitory effect on nitric oxide production of some common vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 1680-1686.
6. Calabro, M. L., V. Galtieri, P. Cutroneo, S. Tommasini, P. Ficarra and R. Ficarra. 2004. Study of the extraction procedure by experimental design and validation of a LC method for determination of flavonoids in *Citrus bergamia* juice. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 35: 349-363.
7. Camarda, L., V. D. Stefano, S. F. D. Bosco and D. Schillaci. 2007. Antiproliferative activity of Citrus juices and HPLC evaluation of their flavonoid composition. *Fitoterapia* 78: 426-429
8. Ding C.K., K. Chachin, Y. Ueda, Y. Imahori and C.Y. Wang. 2001. Metabolism of phenolic compounds during Loquat fruit development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 2883-2888
9. Downey, M. O., J. S. Harvey and S. P. Robinson. 2004. The effect of bunch shading on berry development and flavonoid accumulation in Shiraz grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 10: 55-73.
10. FaghihNasiri, M., R. Omidbaigi, Y. Ebrahimi and Z. A. BashiriSadr. 1381. The effect of harvesting time on hesperidin rate of some citrus kinds taken from the north of Iran. *Seedling and Seed* 18: 306-315
11. Giorgi, M., F. Capocasa, J. Scalzo, G. Murri, M. Battino and B. Mezzetti. 2005. The rootstock effects on plant adaptability, production, fruit quality, and nutrition in the peach (cv. 'Suncrest'). *Scientia Horticulturae* 107: 36-42.
12. Hertog, M. G. L., E. J. M. Feskeens, C. H. Holmann, M. B. Katan and D. Kromhout. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen elderly study. *Lancet* 342: 1007-1011.
13. Horowitz, R. M. 1986. Taste effects of flavonoids. *Progress in Clinical and Biological Research* 213: 163-175.
14. Mantheya, J. A., K. Grohmann, M. A. Berhow and Br. Tisserat. 2000. Changes in citrus leaf flavonoid concentrations resulting from blight-induced zinc-deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry* 38: 333-343.
15. Ooghe, W. C. and C. M. Detavernier. 1997. Detection of the addition of *Citrus reticulata* and hybrids to *Citrus sinensis* by flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45: 1633-1637.
16. Parr, A. J. and G. P. Bolwell. 2000. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 985-1012.
17. Protegente, A. R., A. Saija, A. De Pasquale and C. Rice Evans. 2003. The compositional characterisation and antioxidant activity of fresh juices from Sicilian sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) varieties. *Free Radical Research* 37: 681-687.

18. Rapisarda, P., P. Pannuzzo, G. Romano and G. Russo. 2003. Juice components of a new pigmented citrus hybrid *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, *Citrus clementina*. Hort. ExTan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 1611–1616.
19. Tripoli, E., M. L. Guardia, S. Giammanco, D. D. Majo and M. Giammanco. 2007. Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A Review. *Food Chemistry* 104: 466–479.
20. Wang, Y.C., Y.C. Chuang and Y. H. Ku. 2007. Quantitation of bioactive compounds in citrus fruits cultivated in Taiwan. *Food Chemistry* 102: 1163–1171.
21. Xu, G., D. Liu, J. Chen, X. Yea, Y. Ma and J. Shi. 2008a. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. *Food Chemistry* 106: 545–551.
22. Xu, G., X. Ye, D. Liu, Y. Ma and J. Chen. 2008b. Composition and distribution of phenolic acids in Ponkan (*Citrus poonensis* Hort. ex Tanaka) and Huyou (*Citrus paradisi* Macf. Changshanhuoyou) during maturity. *Journal of Food Composition and Analysis* 21: 382–389.