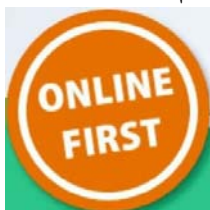


## بررسی الگوی رشد حبه و تغییر برخی ترکیبات فنولی در انگور رقم شاهانی



مهدی میهن، حسن ساری‌خانی\* و منصور غلامی

ایران، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۲۵

### چکیده

انگور یکی از منابع مهم پلی‌فنل‌ها در جیره غذایی است. پژوهش حاضر با هدف بررسی تغییرات کمی و کیفی ترکیبات فنولی در انگور رقم شاهانی در مراحل رشد انجام شد و در پنج مرحله ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ روز پس از گلدهی و رسیدن میوه، ویژگی‌های حبه و همچنین برخی ترکیبات فنولی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد با طی زمان، اندازه حبه، وزن حبه، مواد جامد محلول، پی‌اچ و آنتوسیانین کل افزایش یافت و اسیدیته کاهش یافت. در زمان رسیدن کاهش اندکی در اندازه حبه مشاهده شد. با طی زمان تا ۵۰ روز پس از گلدهی میزان فنل کل در حبه افزایش و پس از آن در زمان ۶۰ روز پس از گلدهی کاهش یافت و دوباره در زمان رسیدن به حداکثر مقدار خود رسید. میزان فلاونوئید در حبه با رشد کاهش یافته و بیشترین میزان آنها در ۳۰ روز پس از گلدهی و کمترین میزان در زمان رسیدن حاصل شد. با طی زمان ظرفیت پاداکسایشی در ۵۰ روز پس از گلدهی افزایش و سپس کاهش پیدا کرد و در زمان رسیدن به کمترین مقدار خود رسید. همچنین با طی زمان مقدار گالیک اسید، کلروژنیک اسید و اپی‌کاتچین در حبه انگور افزایش پیدا کرد و بیشترین مقدار در مرحله رسیدن بود. مقدار کافنیک اسید و فلورزین در ابتدا افزایش و در ۵۰ روز پس از گلدهی کاهش و در مرحله رسیدن به بیشترین مقدار خود رسید. مقدار ترکیب فنولی زمارنیک اسید در مراحل مختلف رسیدن اختلاف معنی‌داری نشان نداد.

واژه‌های کلیدی: انگور شاهانی، فنول، آنتوسیانین، HPLC

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱-۳۴۴۲۵۴۰۰، پست الکترونیکی: sarikhani@basu.ac.ir

### مقدمه

ترکیبات فنولی از مهمترین متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند که بیوسنتز آن‌ها در پوست میوه انگور و سایر بافت‌های گیاهی، از طریق دو مسیر اسید شیکمیک و استات-موالونات تحت تاثیر مرحله نمو گیاه و فاکتورهای بیرونی انجام می‌گیرد (۱۳، ۲۹). به طور کلی ترکیبات فنولی در انگور به دو گروه اصلی تقسیم می‌شوند که عبارتند از غیرفلاونوئیدها (هیدروکسی بنزوئیک اسیدها، هیدروکسی سینامیک اسیدها و استیلبن‌ها) و فلاونوئیدها (آنتوسیانین‌ها، فلاونول‌ها و فلاوانول‌ها). غیرفلاونوئیدها ترکیبات کوچکتری هستند که اغلب به ترکیبات فلاونوئیدی متصل شده و در واکنش قهوه‌ای شدن آب میوه، عطر و تلخی میوه نقش دارند اما اثرات آن‌ها نسبت

انگور یکی از مهمترین محصولات باغبانی در دنیا به شمار می‌آید و منبع مناسبی از مواد معدنی، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها و ترکیبات پاداکسایشی می‌باشد. علاوه بر این انگور یکی از منابع مهم پلی‌فنول‌ها در جیره غذایی بخش بزرگی از جمعیت جهان است و ترکیبات فنولی موجود در آن از لحاظ سلامت و فعالیت‌های بیولوژی دارای اهمیت می‌باشند. همچنین پلی‌فنول‌ها مسئول رنگ در انگور بوده و در طعم آن نیز نقش دارند. نقش مهم ترکیبات فنولی روی کیفیت انگور و محصولات جانبی آن باعث گرایش بیشتر به پژوهش‌هایی شده است که هدف بررسی روش‌ها و مکانیسم‌های افزایش مقدار این ترکیبات در میوه است (۷).

به ترکیبات فلاونوئیدی کمتر است. یکی از ترکیبات فنولی آنتوسیانین‌ها هستند که آنتوسیانین‌های موجود در انگور شامل سیانیدین، دلفینیدین، پئونیدین، مالویدین و پتونیدین می‌باشند که اثرات دارویی متعدد برای آن‌ها گزارش شده است (۶، ۱۹، ۲۰). ترکیبات فنولی در گیاهان دارای فعالیت‌های متعددی، از قبیل تنظیم فعالیت‌های نموی و واکنش‌های دفاعی گیاهان در مقابل عوامل زنده و غیر زنده هستند (۲۱، ۲۹).

منحنی رشد انگور به صورت منحنی سیگموئید دوگانه است که شامل سه مرحله است. مرحله اول در اثر تقسیم سلولی و انبساط سلولی دارای رشد سریع است که در نتیجه بر حجم و وزن آنها به طور محسوسی افزوده می‌شود. در انتهای این مرحله از رشد، حالت غوره‌ای شدن در حبه‌ها آشکار می‌گردد. در این مرحله، حبه‌ها کاملاً سبز رنگ باقی مانده و میزان مواد اسیدی در آنها بسیار زیاد و میزان تنفس آنها بسیار بالا می‌باشد. بسته به رقم، مدت زمان لازم برای سپری شدن این مرحله، معمولاً تا حدود ۴۰ تا ۶۰ روز پس از انجام عمل لقاح است (۴، ۱۲). مرحله دوم، مرحله رشد کند و آرام است و عملاً افزایش حجم یا وزن به طور محسوسی دیده نمی‌شود. در این مرحله، رویان و بخش ذخیره‌ای دانه شروع به رشد سریع کرده و به حداکثر رشد خود رسیده اما رشد پریکارپ کند است. همچنین مواد اسیدی موجود در حبه‌ها، به حداکثر میزان خود رسیده و ذخیره مواد قندی آغاز می‌شود. در پایان مرحله دوم که همزمان با دگرگامی (Veraison) است، حبه‌ها شروع به از دست دادن کلروفیل خود می‌کنند. طول زمان مرحله دوم در ارقام مختلف، متفاوت بوده و به طور معمول از ۷ تا ۴۰ روز بطول می‌انجامد. در مرحله سوم، حبه‌ها مجدداً شروع به رشد سریع کرده و این شدت رشد تا زمان رسیدن حبه‌ها طول می‌کشد. رشد حبه‌ها در این مرحله، تنها مربوط به ازدیاد حجم سلول می‌باشد که با نرم شدن بافت، انباشت قند و کاهش اسید همراه است. طی این دوره، رنگ حبه‌ها، بسته به رقم، از سبز به رنگ زرد،

قرمز یا سیاه در آمده و میزان تنفس حبه‌ها کاهش می‌یابد. این مرحله معمولاً ۳۵ تا ۵۵ روز طول می‌کشد (۱۲، ۱۳، ۲۴). امروزه از طریق شناخت کامل مراحل رشدی میوه (زمان رخ دادن و مدت زمان هر یک از این مراحل) و سایر مراحل فنولوژیکی ارقام تجاری این امکان برای پژوهشگران فراهم شده است تا بتوانند در زمان مناسب نسبت به اعمال روش‌های به‌زراعی مانند هورمون پاشی برای افزایش اندازه حبه در ارقام بیدانه یا تنک حبه در ارقام دانه‌دار (۲۲)، استفاده از اتفن یا اسید آسزیک در زمان مناسب برای رنگ‌گیری بهتر و بهبود مقدار قند حبه (۱۰)، آبیاری تنظیم شده و کم آبیاری برای کنترل رشد و افزایش میزان قند میوه که معمولاً در مرحله سوم رشد حبه انگور رخ می‌دهد (۱۱) توصیه شده است.

در بین ارقام مختلف انگور و همچنین زمان‌های مختلف رسیدن اختلاف بسیار زیادی در محتوای ترکیبات فنولی وجود دارد. بررسی روند تولید و تجمع آن‌ها می‌تواند برای تعیین زمان مناسب بسیاری از تیمارهای دیگر که در جهت افزایش این ترکیبات به کار می‌روند با ارزش باشد. انگور رقم شاهانی یکی از ارقام مهم انگور از لحاظ ارزش تغذیه‌ای می‌باشد. این انگور به رنگ قرمز بوده و دارای مقادیر بالای ترکیبات فنولی است. با توجه به مطالب ذکر شده این پژوهش بر آن است که با آگاهی از روند تغییرات ترکیبات فوق بتوان ویژگی‌های کیفی میوه را در مقیاس عملی با اعمال روش‌های مدیریتی صحیح به زراعی و مدیریت باغ یا در مواردی با اعمال تیمارهای خاص افزایش داد. بنابراین پژوهش حاضر با هدف بررسی تغییرات کمی و کیفی ترکیبات فنولی در انگور رقم شاهانی (شانی) در مراحل مختلف رشد انجام شد.

### مواد و روشها

**محل انجام پژوهش:** این پژوهش روی انگور رقم شاهانی قرمز طی فصل رشداز تیر ماه تا شهریور ۱۳۹۶ در باغ پژوهشی انگور ایستگاه تحقیقات ملایر وابسته به مرکز

نرمال تا رسیدن به پی‌اچ  $8/2 \pm 0/1$  بر اساس درصد اسید مالیک (اسید غالب انگور در زمان رسیدن) اندازه‌گیری شد. **فنل کل:** برای اندازه‌گیری میزان فنل کل، از روش فولین-سیوکالتو استفاده شد (۳۰). برای عصاره‌گیری ۰/۵ گرم از نمونه حبه در ۳ میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصد داخل هاون کوبیده شد و در داخل لوله فالكون به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. عصاره به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید. آنگاه در لوله‌های آزمایش جداگانه مقدار ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های صاف شده ریخته شد. سپس ۱۵۰۰ میکرولیتر محلول شناساگر فولین (ده درصد رقیق شده با آب مقطر) به آن افزوده شد و پس از گذشت ۸ دقیقه، ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷ درصد به آن اضافه گردید. نمونه حاصل به مدت ۹۰ دقیقه روی دستگاه شیکر با سرعت ۱۴۰ دور در دقیقه در دمای اتاق و شرایط تاریک قرار گرفت. جذب هر نمونه با استفاده از دستگاه طیف سنج (مدل کری ۱۰۰، واریان، آمریکا) در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. مقدار فنول کل بر اساس میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن تازه پوست با استفاده از منحنی استاندارد بیان شد.

**فلاونوئید کل:** برای اندازه‌گیری فلاونوئید کل از روش اندرسون و همکاران (۸) استفاده شد. بدین منظور، ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره قبلی برداشته و ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به آن اضافه شد و به آن ۵ میلی‌لیتر محلول اتانول: استون (به نسبت حجمی ۳:۷) اضافه شد. پس از هموژنیزه کردن به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ۱۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم اضافه کرده و در ادامه ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم اضافه کرده و سپس ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر به لوله‌های آزمایش ریخته پس از ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی جذب نوری هر نمونه با استفاده از دستگاه طیف سنج (مدل کری ۱۰۰، واریان، آمریکا) در طول موج ۴۱۹ نانومتر خوانده شد. سپس با مقایسه با منحنی استاندارد کوئرستین، مقدار

آموزش، تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان انجام شد. منطقه آزمایش دارای اقلیم نیمه خشک، با طول جغرافیایی ۳۳ درجه و ۵۹ دقیقه عرض شمالی از خط استوا و عرض جغرافیایی ۴۷ درجه و ۳۴ دقیقه است. کلیه آزمایش‌ها و اندازه‌گیری صفات نیز در آزمایشگاه فیزیولوژی گروه علوم باغبانی دانشگاه بوعلی سینا انجام گرفت.

**روش نمونه برداری:** برای انجام این پژوهش در پنج مرحله ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ روز پس از گلدهی و در زمان رسیدن میوه‌ها (بلوغ فیزیولوژیکی)، یعنی در پنج مرحله، تعدادی خوشه از قسمت‌های مختلف بوته به طور تصادفی نمونه برداری شد. در هر مرحله میوه‌ها پس از انتخاب بلافاصله به آزمایشگاه انتقال یافته و شسته شد تا از گرد و غبار پاک شوند. حبه‌ها به چهار گروه تقسیم شدند. یک گروه برای اندازه‌گیری اندازه حبه، وزن و چگالی استفاده شد. گروه دیگر برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی مانند فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، ظرفیت پاد اکسایشی، محتوای مواد جامد محلول، pH و اسیدیته قابل تیتراسیون استفاده گردید. همچنین برای بررسی محل و نحوه تجمع ترکیبات فنولی نمونه‌هایی از لایه‌های پوست حبه در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. گروه دیگر نیز در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا برای اندازه‌گیری ترکیبات فنولی توسط کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا استفاده شود.

**اندازه حبه، مواد جامد محلول و اسیدیته:** در هر مرحله ابتدا ویژگی‌های میوه شامل طول و قطر (با استفاده از کولیس)، چگالی حبه انگور (با وزن تعدادی حبه و تعیین حجم آنها) اندازه‌گیری شدند. همچنین مواد جامد محلول با استفاده از رفراکتومتر دستی (مدل ANI، آتاگو، ژاپن)، میزان پی‌اچ آب میوه با استفاده از دستگاه پی‌اچ متر (مدل ۸۲۷، ساخت شرکت متروهم، سوئیس) و اسیدیته‌ی قابل تیتراسیون با تیتر کردن ۵ میلی‌لیتر از آب میوه با سود ۰/۱

فلانویئید کل محاسبه شد.

**آنتوسیانین کل:** به منظور اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین کل بر مبنای روش طیف سنجی بر اساس تفاوت در جذب در پی‌اچ‌های مختلف انجام گرفت (۲۷). ابتدا مقدار ۲/۵ میلی لیتر از عصاره از قبل تهیه شده برداشته و در لوله آزمایش ریخته و سپس ۱۰ میلی‌لیتر حلال (متانول ۹۵ درصد و اسید کلریدریک ۰/۳۷ درصد به نسبت حجمی ۲۰:۸۰) اضافه شد. پس از این که مخلوط‌ها کاملاً همگن شدند به لوله‌های آزمایش درب‌دار منتقل شدند. آن‌گاه به مدت ۳۰ دقیقه روی دستگاه شیکر با سرعت ۱۴۰ دور در دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفتند. به منظور جدا سازی بخش‌های جامد و مایع عمل سانترفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. مالویدین-۳-گلوکوزاید آنتوسیانین غالب انگورهای قرمز می‌باشد و حداکثر طول موج جذبی آن ۵۳۲ نانومتر است. ابتدا دستگاه طیف سنج با استفاده از آب مقطر صفر شد. سپس جذب نوری هر نمونه رقیق شده در دو پی‌اچ ۱ و ۴/۵ با استفاده از دستگاه طیف سنج (مدل کری ۱۰۰، شرکت واریان، آمریکا) در دو طول موج ۷۰۰ و ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. میزان تفاوت جذب نمونه‌ها از طریق رابطه زیر به دست آمد.

$$\Delta A = (A_{\lambda 520} - A_{\lambda 700})_{pH 4.5}$$

$$C \text{ (ml/L)} = (\Delta A \cdot MW \cdot DF \cdot 1000) / (\varepsilon \cdot L)$$

که در آن  $C$  = غلظت آنتوسیانین (میلی گرم در لیتر)،  $\Delta A$  = تفاوت جذب نوری نمونه‌ها،  $MW$  = وزن مولکولی مالویدین-۳-گلوکوزاید (۴۹۳/۳)،  $DF$  = میزان رقت (۱۰)،  $\varepsilon$  = جذب مولی مالویدین-۳-گلوکوزاید (۲۸۰۰۰) و  $L$  = عرض کووت دستگاه طیف سنجی (۱ سانتی‌متر) می‌باشد.

**ظرفیت پاداکسایشی:** اندازه‌گیری ظرفیت پاداکسایشی مطابق روش برنندوبلامز و همکاران (۹) با استفاده از DPPH انجام شد. ابتدا محلول متانولی ۶۰ میکرو مولار DPPH تهیه گردید. سپس ۵۰۰ میکرو لیتر از عصاره

متانولی که پیش از این برای سنجش میزان فنل کل تهیه شده بود با ۵۰۰ میکرو لیتر آب مقطر داخل تیوپ ۱/۵ میلی لیتری رقیق گردید. آن‌گاه نمونه رقیق شده به مدت ده دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانترفیوژ شد. به دنبال آن ۷۵ میکرو لیتر از بخش بالایی برداشته شد و به لوله‌های آزمایش جداگانه منتقل گردید. در آخر به میزان ۲۹۲۵ میکرو لیتر محلول متانولی DPPH به نمونه‌ها افزوده و به مدت چند ثانیه ورتکس شدند. جذب نوری این محلول‌ها فوراً با استفاده از طیف سنج UV و نوری مرئی (مدل کری ۱۰۰، واریان، آمریکا) در طول موج ۵۱۵ نانومتر خوانده شد. جذب نمونه‌ها مجدداً پس از گذشت ۳۰ دقیقه قرارگیری در شرایط تاریکی و دمای اتاق خوانده شد. ظرفیت پاداکسایشی نمونه‌ها از طریق رابطه زیر محاسبه و به صورت درصد بازدارندگی بیان شد. پیش از خواندن طیف جذبی نمونه‌ها، دستگاه طیف سنج با متانول ۸۵ درصد صفر گردید. که در آن  $A_{t0}$  = جذب نمونه در دقیقه صفر و  $A_{t30}$  = جذب نمونه در دقیقه ۳۰ می‌باشد.

$$\text{درصد بازدارندگی} = (A_{t0} - A_{t30} / A_{t0}) \times 100$$

**اجزای ترکیبات فنولی:** اندازه‌گیری اجزای ترکیبات فنولی با استفاده از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا انجام شد. به منظور استخراج ترکیبات فنولی مقدار ۲ گرم از بافت حبه‌ها را در ۲ میلی‌لیتر حلال استخراج، شامل (۸۵ درصد متانول و ۱۵ درصد استیک اسید محصول شرکت مرک)، در داخل هاون چینی کوبیده و پس از انتقال به داخل میکروتیوب به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند و سپس به مدت ۱۰ دقیقه و با ۱۰۰۰۰ دور سانترفیوژ شدند. بعد از سانترفیوژ، بخش روشناور با کمک سمپلر برداشته شده و به میکروتیوب‌های جدید انتقال گردید و تا زمان انتقال نمونه‌ها برای قرائت توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تعیین اجزای تشکیل دهنده ترکیبات فنولی نمونه‌ها با

**طرح آماری:** پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم افزار آماری SAS انجام پذیرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح یک درصد انجام شد.

### نتایج

**اندازه و چگالی حبه:** نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس نشان داد تغییرات طول و قطر حبه در مراحل مختلف رسیدن انگور رقم شاهانی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش تعداد روز پس از گلدهی طول و قطر حبه انگور به طور معنی‌داری افزایش و در زمان رسیدن اندکی کاهش یافت. بیشترین طول حبه برابر با ۱۲/۱۳ میلی‌متر مربوط به ۶۰ روز پس از گلدهی و همچنین کمترین طول حبه در ۳۰ روز پس از گلدهی برابر با ۱۰/۲۰ میلی‌متر به دست آمد. بیشترین قطر حبه برابر با ۱۱/۲۴ میلی‌متر مربوط به ۶۰ روز پس از گلدهی و همچنین کمترین قطر حبه در ۳۰ روز پس از گلدهی و برابر با ۹/۵۲ میلی‌متر حاصل گردید (شکل ۱).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد مقدار وزن حبه و چگالی در مراحل مختلف رسیدن حبه انگور رقم شاهانی در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌دار است (جدول ۲). به طوری که با افزایش تعداد روز پس از گلدهی مقدار چگالی در حبه انگور در ۴۰ روز پس از گلدهی کاهش و سپس افزایش پیدا کرد. بیشترین مقدار چگالی برابر با ۱/۰۷ گرم بر سانتی‌متر مکعب مربوط به زمان رسیدن و همچنین کمترین مقدار چگالی برابر با ۰/۹۷ گرم بر سانتی‌متر مکعب بود (شکل ۱).

**مواد جامد محلول، پی‌اچ و اسیدیته:** مقدار مواد جامد محلول در مراحل مختلف رسیدن حبه انگور رقم شاهانی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

استفاده از HPLC (ساخت شرکت کونور، آلمان) مجهز به یک پمپ دوتایی و شناساگر UV-Visible انجام شد. جداسازی ترکیبات فنولی در یک ستون C18 (۱۵۰\*۴/۶ میلی‌متر با قطر ذرات ۵ میکرومتر، استفاده از دو حلال A (ارتوفسفریک یک درصد) و B (استونیتریل) انجام شد. حلال‌های مورد استفاده دارای درجه HPLC (تولید شرکت مرک) بودند و قبل از استفاده با فیلتر استات سلولز با قطر منافذ ۰/۴۵ میکرومتر فیلتر شدند. شیوه کار به صورت گرادپانت در نظر گرفته شد. سرعت جریان فاز متحرک داخل ستون و شیوه مورد استفاده برای کار پمپ‌ها در جدول ۱ آمده است. مقدار ۲۰ میکرولیتر از نمونه به دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا تزریق شد.

در این پژوهش از استانداردهای کاتچین، اپی‌کاتچین و اسیدگالیک و اسیدکلروژنیک برای اندازه‌گیری این ترکیبات فنولی استفاده شد. برای اندازه‌گیری ترکیبات فوق شناساگر در طول موج ۳۲۰ نانومتر تنظیم شد. به منظور آنالیز کمی، کروماتوگرام‌های حاصل از تزریق هر نمونه در هر تیمار با کروماتوگرام‌های به دست آمده از تزریق استانداردهای مربوطه مقایسه شدند و در نهایت غلظت این ترکیبات بر حسب میکروگرم در یک گرم بافت نمونه محاسبه شد.

جدول ۱- گرادپانت نرخ جریان حلال‌ها مورد استفاده در دستگاه HPLC برای آنالیز ترکیبات فنولی موجود در انگور

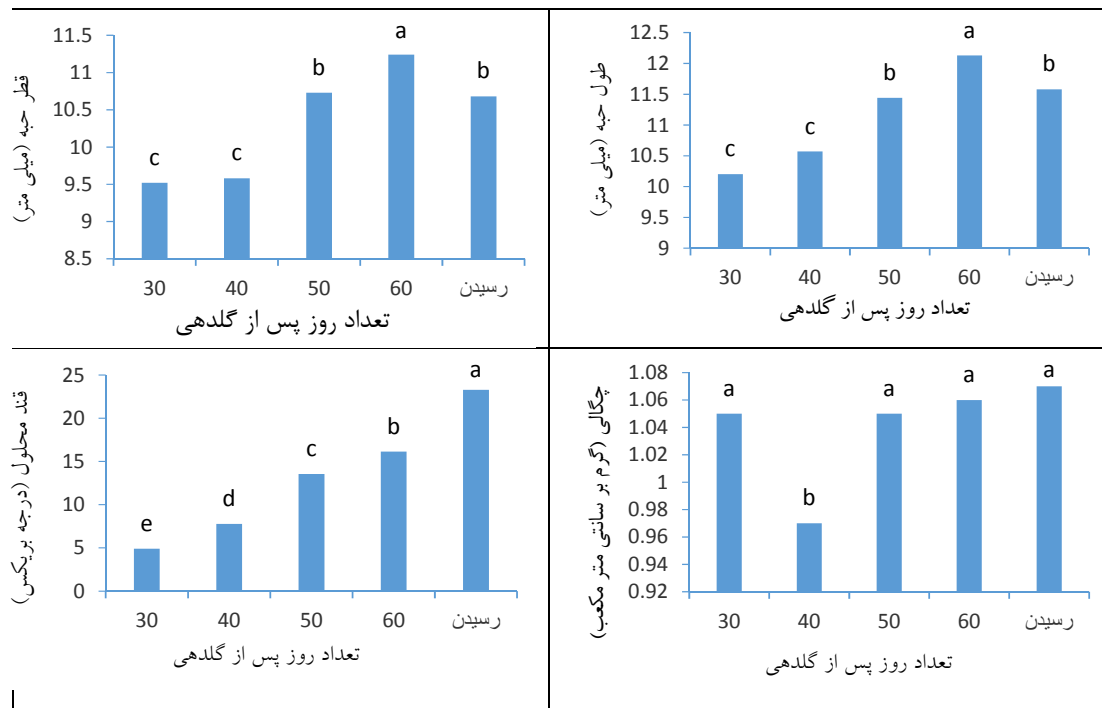
زمان (دقیقه)	حلال A (درصد)	حلال B (درصد)	سرعت جریان (میلی‌لیتر در دقیقه)
۰	۱۰	۹۰	۰/۶
۵	۶۰	۶۰	۰/۸
۱۵	۹۰	۱۰	۰/۴

**محل تجمع ترکیبات فنولی:** برای بررسی محل و نحوه تجمع ترکیبات فنولی نیز نمونه‌هایی تهیه شد و پس از حذف واکس از لایه‌های پوست، نمونه‌هایی به اندازه ۰/۵ سانتی‌متر از لایه‌های پوست حبه تهیه شد و در زیر میکروسکوپ الگویی تجمع ترکیبات فنولی و آنتوسیانینی در بخش‌های مختلف پوست حبه مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۲- تجزیه واریانس داده‌های ابعاد و چگالی حبه، مواد جامد محلول، پی‌اچ و اسیدیته انگور رقم شاهانی در مراحل مختلف رسیدن

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		طول حبه	قطر حبه	چگالی	مواد جامد محلول	پی‌اچ
مراحل رسیدن	۴	۵/۵۵۴**	۵/۲۳۳**	۰/۰۱۵**	۴۶۹/۷۸**	۰/۹۳**
خطای آزمایش	۳۲	۰/۱۹۸	۰/۲۲۵	۰/۰۰۱۲	۳/۶۸۴	۰/۰۰۹
ضریب تغییر (درصد)	-	۳/۹۸	۴/۵۹	۳/۳۹	۱۴/۶۱	۳/۲۵

\*\* اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱

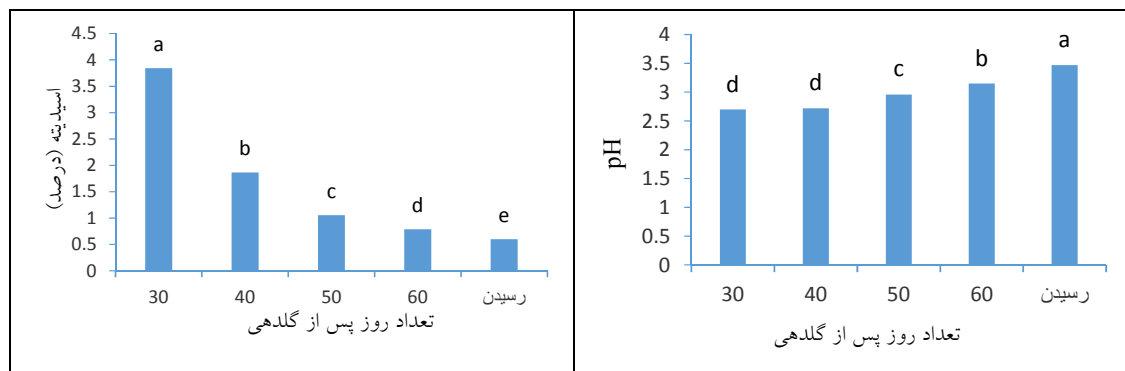


شکل ۱- طول و قطر، چگالی و محتوای مواد جامد محلول حبه انگور رقم شاهانی در مراحل مختلف رسیدن. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

از گلدھی مقدار pH در حبه انگور به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. بیشترین مقدار pH برابر با ۳/۴۷ مربوط به مرحله رسیدن بود و همچنین کمترین مقدار pH در ۳۰ روز پس گلدھی به دست آمد (شکل ۲). در مقابل، با افزایش تعداد روز پس از گلدھی مقدار اسیدیته در حبه انگور به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. بیشترین مقدار اسیدیته برابر با ۳/۸۴ درصد مربوط به ۳۰ روز پس از گلدھی و همچنین کمترین مقدار اسیدیته در زمان رسیدن و برابر با ۰/۶۰ درصد حاصل گردید (شکل ۲).

با افزایش تعداد روز پس از گلدھی مقدار مواد جامد محلول در حبه انگور به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. نمودار مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار مواد جامد محلول برابر با ۲۳/۳ درجه بریکس مربوط به مرحله رسیدن و همچنین کمترین مقدار مواد جامد محلول در ۳۰ روز پس گلدھی و برابر با ۴/۹ درجه بریکس مشاهده شد (شکل ۱).

تغییرات مقدار pH و اسیدیته قابل تیتراسیون در مراحل مختلف رسیدن حبه انگور رقم شاهانی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). با افزایش تعداد روز پس



شکل ۲- مقایسه میانگین pH و اسیدیته قابل تیتراسیون انگور رقم شاهانی در مراحل مختلف رسیدن. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

حبه رسیده انگور در مرحله سوم شروع به تجمع می‌کند که تجمع آنتوسیانین در انگور تابع رقم، شرایط محیطی و همچنین قندهای موجود در حبه می‌باشد. با این حال پس از مرحله دگرگامی افزایش شدید در محتوای آنتوسیانین رخ می‌دهد. در پژوهش حاضر نیز در مرحله پس از دگرگامی که پس از ۴۰ روز از گلدهی می‌باشد، تغییر در محتوای آنتوسیانین کل مشاهده شد. این روند افزایشی آنتوسیانین کل در دوره‌های آخر رسیدن علاوه بر انگور در میوه‌های دیگر نیز رخ داده است.

با افزایش تعداد روز پس از گلدهی ظرفیت پاداکسایشی در حبه انگور در ۵۰ روز پس از گلدهی افزایش و سپس کاهش پیدا کرد و در نهایت در زمان رسیدن به کمترین مقدار خود رسید و برابر با ۱۹/۳ درصد بود و همچنین بیشترین ظرفیت پاد اکسایشی در ۵۰ روز پس گلدهی و برابر با ۵۲/۱ درصد گزارش گردید (شکل ۳).

**اجزای ترکیبات فنلی:** نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از کروماتوگرام‌های HPLC نشان داد که تغییرات اجزای ترکیب فنولی اسیدکلروژنیک، اسیدکافئیک، فلورزین و اپیکاتچین در زمان‌های مختلف رسیدن در سطح احتمال ۱ درصد و اسیدگالیک در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار شدند (جدول ۴). با افزایش تعداد روز پس از گلدهی مقدار اسیدگالیک، اسیدکلروژنیک و اپیکاتچین در حبه انگور به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد و بیشترین مقدار

**ویژگی‌های فنولی و ظرفیت پاداکسایشی:** نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد مقدار فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل و ظرفیت پاداکسایشی در مراحل مختلف رسیدن حبه انگور رقم شاهانی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). با افزایش تعداد روز پس از گلدهی فنول کل در حبه انگور در ۵۰ روز پس از گلدهی افزایش و سپس کاهش پیدا کرد و در نهایت در زمان رسیدن به بیشترین مقدار خود رسید و برابر با ۳/۵۶ میلی گرم در گرم وزن تر بود و همچنین کمترین میزان فنل کل در ۳۰ روز پس گلدهی و برابر با ۱/۱۱ میلی گرم در گرم وزن تر گزارش گردید (شکل ۳).

مقدار فلاونوئید کل در زمان‌های ۳۰ و ۴۰ روز پس از گلدهی بالا بود و پس از آن به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. به طوری که بیشترین درصد فلاونوئید برابر با ۰/۳۳۶ درصد وزن تر مربوط به ۴۰ روز پس از گلدهی بود و کمترین مقدار فلاونوئید در ۶۰ روز پس گلدهی و برابر با ۰/۱۱۶ درصد وزن تر به دست آمد (شکل ۳).

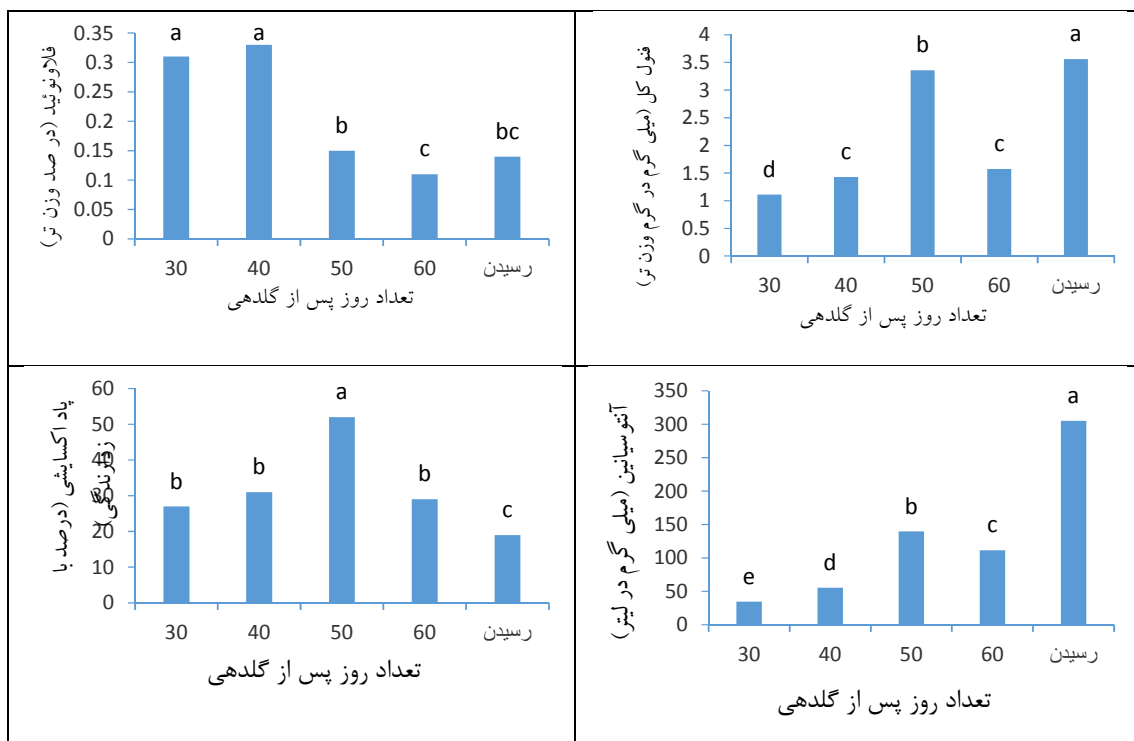
با افزایش تعداد روز پس از گلدهی مقدار آنتوسیانین در حبه انگور به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد و بیشترین مقدار آنتوسیانین برابر با ۳۰۵/۱۲ میلی‌گرم در لیتر مربوط به مرحله رسیدن بود و همچنین کمترین مقدار آنتوسیانین در ۳۰ روز پس گلدهی و برابر با ۳۴/۵۹ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد (شکل ۳). بخش اصلی آنتوسیانین موجود در

آن‌ها مربوط به مرحله رسیدن بود کمترین مقدار در ۳۰ روز پس گلدهی حاصل شد، مقدار اسید کافئیک و فلوریزین در ابتدا افزایش و در ۵۰ روز پس از گلدهی کاهش و در

جدول ۳- تجزیه واریانس داده‌های صفات فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل و ظرفیت پاداکسایشی انگور رقم شاهانی در مراحل مختلف رسیدن.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		فنل کل	فلاونوئید کل	آنتوسیانین کل	ظرفیت پاداکسایشی
مراحل رسیدن	۴	۱۲/۰۴**	۰/۰۹۷**	۱۰۲۹۳۲**	۰/۱۳۳**
خطای آزمایش	۳۲	۰/۰۳۳	۰/۰۰۰۹۸	۲۰۵	۰/۰۰۲۹
ضریب تغییر	-	۸/۲۶	۱۴/۶۷	۱۱/۰۸	۱۶/۹۵

\*: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱



شکل ۳- میزان فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل و ظرفیت پاداکسایشی انگور رقم شاهانی در مراحل مختلف رسیدن. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

جدول ۴- تجزیه واریانس اجزای ترکیبات فنولی اندازه‌گیری شده حبه انگور رقم شاهانی در مراحل مختلف رسیدن

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کلروژنیک اسید	کافئیک اسید	رزمارینیک اسید	فلوریزین	اپی کاتچین
مراحل رسیدن	۴	۸۷۳/۲۸*	۳۳۷/۲۲**	۹۶۳۰/۲۸**	۱۱۶/۰۱ <sup>n.s</sup>	۵۶۰/۷۶**
خطای آزمایش	۸	۱۳۴/۲۱	۳۵/۵۴	۵۸/۴۶	۳۸/۴۶	۵۸/۶۹
ضریب تغییر	-	۱۳/۵	۴۳/۷	۱۴/۱۴	۳۴/۲۵	۳۵/۴۰



<sup>n.s</sup> عدم وجود اختلاف معنی‌دار، \* اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵، \*\* اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱

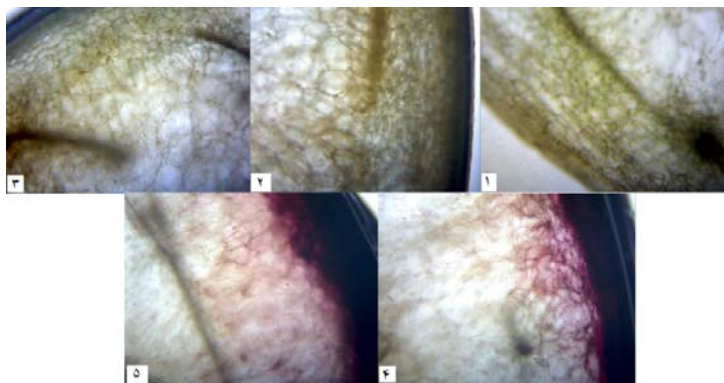
جدول ۵-مقایسه میانگین اجزای ترکیبات فنولی اندازه‌گیری شده حبه انگور رقم شاهانی در مراحل مختلف رسیدن

زمان نمونه برداری	گالیک اسید	کلروژنیک اسید	کافنیک اسید	رزمارینیک اسید	فلوریزین	ابی کاتچین
۳۰ روز پس از گلدهی	۶۰/۳۷ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>b</sup>	۴۱/۸ <sup>b</sup>	۱۸/۷۳	۱۷/۷۰ <sup>b</sup>	۱۱/۷۰ <sup>c</sup>
۴۰ روز پس از گلدهی	۷۹/۴۷ <sup>bc</sup>	۴/۴۶ <sup>b</sup>	۲۲/۶۳ <sup>c</sup>	۲۸/۴	۱۴/۷۰ <sup>b</sup>	۱۸/۸۶ <sup>b</sup>
۵۰ روز پس از گلدهی	۹۲/۹۷ <sup>ab</sup>	۱۸/۹۳ <sup>a</sup>	۲۱/۷۷ <sup>c</sup>	۱۲/۶۶	۱۳/۹۶ <sup>b</sup>	۲۵/۳۰ <sup>b</sup>
۶۰ روز پس از گلدهی	۹۰/۲۰ <sup>ab</sup>	۲۱/۹۶ <sup>a</sup>	۲۷/۷۳ <sup>bc</sup>	۱۶/۷۳	۱۵/۸۶ <sup>b</sup>	۱۸/۳۳ <sup>b</sup>
رسیدن	۱۰۵/۹۷ <sup>a</sup>	۲۲/۷۰ <sup>a</sup>	۱۵۴/۵۰ <sup>a</sup>	۱۴/۰۰	۴۵/۹۶ <sup>a</sup>	۶۴/۳۳ <sup>a</sup>

حروف مشابه در هر ستون، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

آنتوسیانینی و فلاونویدی همچین در چهل و پنجاه روز بعد از گلدهی که مصادف با سخت شدن دانه و فاز تاخیری می‌باشد مشاهده نشد (شکل ۴). تا اینکه در شصت روز بعد از گلدهی که مصادف با مرحله دگرگامی است تشکیل ترکیبات آنتوسیانینی آغاز شده، و در مرحله رسیدن به حداکثر میزان خود می‌رسد.

**محل تجمع ترکیبات فنولی:** تصاویر میکروسکوپی از قسمت‌های مختلف پوست و گوشت حبه انگور رقم شاهانی نشان می‌دهد که در سی روز پس از گلدهی ترکیبات آنتوسیانین و فلاونویدی در هیچ کدام از قسمت‌های پوست و گوشت هنوز تشکیل نشده و به اصطلاح گیاه حالت غوره مانند دارد. تشکیل ترکیبات



شکل ۴- تصویر میکروسکوپی از قسمت پوست و گوشت حبه انگور رقم شاهانی در ۳۰ (۱)، ۴۰ (۲)، ۵۰ (۳)، ۶۰ (۴) روز پس از گلدهی و در زمان رسیدن (۵).

افزایش اندازه طول حبه در زمان‌های ۵۰ و ۶۰ روز پس از گلدهی مشاهده شد که نشان دهنده مرحله سوم رشد حبه می‌باشد. با مقایسه طول دوره مرحله اول، دوم و سوم این رقم با ارقام دیررس مانند قزل ازوم (۴)، رقم شاهانی یک رقم زودرس تا میان رس محسوب می‌شود. دولتی بانه و همکاران (۴) طی پژوهشی به بررسی مورفولوژیکی، فنولوژیکی و تغییرات صفات کمی و کیفی میوه طی دوره‌های رشدی حبه انگور رقم قزل ازوم پرداختند و

## بحث و نتیجه گیری

انگور رقم شاهانی رقمی دانه‌دار است و همانند ارقام دیگر دانه‌دار دارای سه مرحله رشدی کاملاً مشخص است. براساس بررسی‌ها تا حدود ۳۰ روز پس از گلدهی رشد سریعی در این رقم مشاهده شد اما پس از آن دوره رشدی آهسته مشاهده شد که تا ۴۰ روز پس از گلدهی تغییر زیادی در طول و قطر حبه مشاهده شد. پس از آن نیز

نشان می‌دهد. گامتا و همکاران (۱۵) در پژوهشی عنوان کرد با شروع رنگ‌گیری انگور میزان قندهای محلول در آن افزایش می‌یابد و تا مرحله رسیدن ادامه دارد.

در انگور در مراحل مختلف رشد ترکیبات مختلف اسیدی و اسیدهای آلی متفاوتی وجود دارند. در مراحل ابتدایی رشد حبه انگور اسید تارتاریک اسید غالب اکثر ارقام انگور است که مقدار آن در پایان مرحله اول و اوایل مرحله دوم رشد به حداکثر می‌رسد. به همین دلیل در این مرحله پایین‌ترین pH و بالاترین درصد اسیدیته قابل تیتراسیون مشاهده شده است. علاوه بر اسید تارتاریک، اسید مالیک نیز به عنوان اسید غالب انگور شناخته می‌شود اما کمترین اسید در مرحله رسیدن وجود دارد، دلایل متعددی شامل تولید کمتر ترکیبات اسیدی، مصرف اسیدها در تنفس، تبدیل اسید به قند (گلوکز) و همچنین رقیق شدن با افزایش اندازه حبه از دلایل دیگر کاهش اسیدیته قابل تیتراسیون و افزایش pH در مرحله سوم رشد حبه انگور می‌باشد (۱). توپالویک و میکولیک (۳۱) گزارش کردند با پیشرفت فرآیند رسیدن میزان اسیدهای آلی میوه انگور کاهش می‌یابد، که با نتایج بدست آمده مشابه می‌باشد. پيله و همکاران (۲) در پژوهشی که روی تأثیر زمان برداشت و مدت نگهداری بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی حبه انگور رقم بیدانه سفید داشتند گزارش کردند با تأخیر در زمان برداشت میزان مواد جامد محلول حبه‌ها افزایش و میزان اسیدهای آلی آن کاهش می‌یابد.

نتایج به دست آمده در ارتباط با افزایش محتوای فنل کل با پيله و همکاران (۲) در یک راستا قرار داشت، آنها عنوان کردند محتوای فنولی کل با تأخیر در زمان برداشت به صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد. واتسون و همکاران (۳۴) گزارش کردند افزایش در میزان فنول کل میوه انگور می‌تواند به دلیل از دست رفتن کلروفیل و شروع سنتز ترکیبات فنولی باشد که مصادف با دوره تغییر رنگ حبه‌ها می‌باشد. میردهقان و راحمی (۲۵) تغییرات فصلی را در

عنوان کردند روند تغییرات وزن و قطر حبه به صورت منحنی سیگموئید مضاعف بود. آنها گزارش کردند که در مرحله اول وزن و قطر حبه به سرعت افزایش یافت و حدود ۶۰ روز به طول انجامید. در مرحله دوم یا فاز تاخیری تغییرات قطر و وزن حبه‌ها بسیار کند بود درحالی‌که وزن دانه در این مرحله به حداکثر رسید. این مرحله به مدت ۲۵ روز طول کشید.

مرحله اول رشد حبه انگور بیشتر تقسیم سلولی رخ می‌دهد که به همراه کمی در افزایش اندازه سلول سبب رشد سریع در مرحله اول می‌گردد. در مرحله دوم رشد بیشتر تغییر در رویان و دانه رخ می‌دهد و سبب رشد آهسته در این مرحله در وزن و ابعاد حبه انگور می‌شود که این موضوع در پژوهش حاضر در زمان‌های ۳۰ و ۴۰ روز پس از گلدهی مشاهده شد. در مرحله سوم رشد سریع اندازه و وزن حبه مشاهده شد که این موضوع می‌تواند به انتقال بیشتر آسمیلات‌ها و آب از طریق آوند آبکش به داخل حبه ارتباط داشته باشد که در موارد متعددی در مورد ارقام انگور گزارش شده است (۴، ۱۲).

حسن‌پور و همکاران (۳) طی پژوهشی به بررسی تغییر ویژگی‌های مکانیکی انگور سفید بیدانه طی رسیدن برداشت میوه طی ۷ مرحله به فاصله زمانی ۷ روز انجام شد که نتایج نشان داد همزمان با کاهش اسیدیته در طول دوره‌ی رسیدن، چگالی حقیقی حبه افزایش می‌یابد.

بر اساس بررسی‌های انجام شده (۱۲)، به طور معمول در شروع مرحله سوم حداکثر مواد جامد محلول انگور حدود ۴ تا ۸ درجه بریکس است که با روند تغییرات سریعی در مرحله سوم همراه است. در پژوهش حاضر نیز روند افزایشی مشابه‌ای مشاهده گردید. همچنین شاخص برداشت انگورهای تازه‌خوری مواد جامد محلول حدود ۱۷ درجه بریکس است (۱۳، ۳۴) که در پژوهش حاضر بالا بودن مواد جامد محلول در مرحله آخر نمونه‌برداری را

انار رقم ملس یزدی بررسی کردند و ملاحظه نمودند که در طول بلوغ میوه سطح فنول کل کاهش می‌یابد. توسان و همکاران (۳۲) گزارش کرد میزان فنول کل در توت سیاه با نمو و رسیدن میوه به‌طور پیوسته کاهش می‌یابد. لابه و همکاران (۲۳) در پژوهشی به بررسی تأثیر بلوغ میوه و منطقه رشدی بر محتوای فنول، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در انار پرداختند و عنوان کردند، میزان فنول کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله رسیدن کامل میوه نسبت مراحل دیگر رشد کاهش یافته است.

آدامز (۶) تغییرات نوع و تغییرات ترکیبات فنولی انگور را بررسی و عنوان کردند که رسیدن در بخش‌های مختلف یک حبه همزمان رخ نمی‌دهد. آدامز (۶) تغییرات ترکیبات فنولی در میوه‌های انگور را در تغییر در زمان رسیدن مورد مطالعه قرار دادند و عنوان کردند، مقدار آنتوسیانین با افزایش زمان رسیدن در حبه در مرحله سوم افزایش می‌یابد و در مرحله بلوغ به حداکثر مقدار آن رسید. همچنین بسته به نوع رقم انگور، بخش عمده ترکیبات آنتوسیانینی در پوست حبه تجمع می‌یابد. بر اساس پژوهش‌های مختلف انجام شده ارتباط بسیار زیاد و معنی‌داری بین محتوای ترکیبات فنول و همچنین ظرفیت پاداکسایشی وجود دارد (۱۸). در واقع ترکیبات مختلف فنولی با توانایی جاروب کردن رادیکال‌های آزاد توانایی پاداکسایشی دارند. در پژوهش حاضر افزایش ویژگی پاداکسایشی تا ۵۰ روز پس از گلدهی و پس از آن کاهش مشاهده شد که این افزایش در محتوای فنول کل مشاهده گردید. البته ارتباط میزان فنول کل در زمان رسیدن با ظرفیت پاداکسایشی نیاز به بررسی بیشتری دارد. تغییر در محتوای ترکیبات فنولی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مراحل مختلف رسیدن در میوه ازگیل (۱۸)، گوجه‌فرنگی (۱۴) و عناب (۳۳) گزارش شده است و تایید کننده نوسان بالای ترکیبات فنولی در میوه‌ها طی مراحل مختلف رشدی است.

علاوه بر محتوای کل ترکیبات فنولی، اجزای ترکیبات فنولی نیز در مراحل مختلف رشد دارای نوسان هستند. وجودی مهربانی و همکاران (۵) با بررسی کمی و کیفی ترکیبات فنولی در پوست سیب (رقم گالا) طی سه مرحله اصلی نمو عنوان کردند میزان اسیدگالیک به ترتیب در مرحله فندق‌ی و میانی نمو میوه ۶ و ۱۳٪ و در مرحله برداشت میوه ۲٪ از اسیدهای فنولی کل را به خود اختصاص داده است. میزان اسیدکافئیک در پوست گالا در مرحله برداشت، بیشتر از میزان آن در مرحله فندق‌ی بود و کمترین میزان آن در مرحله میانی رشد مشاهده گردید. میزان اپی کاتچین در مرحله فندق‌ی میوه در بیشتر میزان قرار داشت و در زمان برداشت به کمترین میزان خود رسید. دل‌جیودیسه و همکاران (۱۴) تغییرات ترکیبات اجزای ترکیبات فنولی را در سه مرحله از رشد در میوه گوجه‌فرنگی بررسی نمودند و عنوان کردند؛ میزان اسیدگالیک هرچه به زمان رسیدن نزدیک می‌شود افزایش می‌یابد و بیشترین مقدار آن در زمان رسیدن کامل گوجه‌فرنگی بود. همچنین مقدار اسیدکلروژنیک در اوایل مرحله رشد میوه زیاد و در مراحل میانی کاهش و سپس در مرحله رسیدن به بیشترین میزان خود می‌رسد. قاسم‌نژاد و همکاران (۱۶) طی پژوهشی که روی میزان ترکیبات فنولی در مراحل مختلف رشد فلفل داشتند عنوان کردند غلظت فلاونوئیدها مانند کورستین و اپی‌کاتچین در میان ارقام فلفل در دو مرحله بلوغ بسیار متفاوت است. میزان این ترکیبات با بلوغ در برخی از ارقام افزایش و در برخی ارقام کاهش می‌یابد. بیوستز ترکیبات فنولی در بافت حبه انگور به طور معمول با اسید آمینه فنیل آلانین که خود محصول مسیر شیکمات است آغاز می‌شود. در مسیر تولید ترکیبات فنولی، برخی از ترکیبات به عنوان ترکیبات اولیه شناخته می‌شوند و در مراحل بعدی و به ویژه رسیدن، به دلیل تخریب یا تجزیه ترکیبات دیگری ساخته می‌شود. همچنین تجمع برخی از ترکیبات فنولی به میزان قند در حبه ارتباط دارد (۶). به نظر می‌رسد برای سنتز برخی از ترکیبات فنولی، وجود یا تجمع حداقل

اسیدگالیک، اپی‌کاتچین و اسیدکلروژنیک در میوه ازگیل کاهش می‌یابد و کمترین میزان در زمان کامل رسیدن میوه است. با اینکه تغییرات در مراحل مختلف رشد حبه انگور در ارقام مختلفی بررسی شده‌اند و علاوه بر آن تغییرات در محتوای ترکیبات مختلف به دقت بررسی و گزارش شده است اما عوامل ینی به طور کامل شناخته شده نیست.

### نتیجه‌گیری کلی

مسیر نتایج پژوهش حاضر نشان داد که انگور رقم شاهانی الگوی رشد حبه سه مرحله‌ای دارد که در مرحله اول و سوم رشد سریع و مرحله دوم رشد کندی دارد. تجمع مواد کربوهیدرات محلول عمدتاً از اواخر مرحله دوم شروع می‌شود و در مقابل در مرحله سوم محتوای اسیدهای آلی رو به کاهش است. در مورد ترکیبات فنلی و اجزای برخی از آنها که عمدتاً فنولیک اسیدها مورد بررسی قرار گرفتند الگوی افزایشی را طی این مراحل نشان دادند. با اینکه بیوستزی تولید ترکیبات فنلی از مواد اولیه فتوسنتزی در انگور شناخته است اما عوامل موثر بر آن و همچنین برخی از مسیرهای آن ناشناخته است و نیازمند بررسی بیشتری است.

ترکیبات فتوسنتزی ضروری است (۱۵). ساگوردون و همکاران (۱۷) طی پژوهشی که روی میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در سه مرحله مختلف رسیدن میوه خرما داشتند عنوان کردند، مقدار اسیدگالیک در مرحله اول رشد میوه کم و سپس زیاد و در مرحله کامل رسیدن کاهش می‌یابد و نیز میزان اسید کلروژنیک و اسیدکافئیک با رسیدن میوه کاهش می‌یابد و کمترین مقدار آنها در زمان کامل رسیدن یا مرحله سوم مشاهده شد. طی پژوهشی که موله‌ی و همکاران (۲۶) روی تغییرات آنتی‌اکسیدانی در نارنگی داشتند عنوان کردند که هرچه به زمان رسیدن میوه نزدیک شویم میزان اسید گالیک و اسید رزمارینیک در میوه افزایش می‌یابد. وزویو و همکاران (۳۵) در پژوهشی تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنج مرحله مختلف رسیدن عناب مورد بررسی قرار دادند و عنوان کردند، میزان اپی‌کاتچین در میوه عناب با افزایش تعداد روز پس از گلدهی کاهش می‌یابد و کمترین میزان آن در مرحله پنجم یا زمان رسیدن کامل میوه مشاهده شد. راب و همکاران (۲۸) در پژوهشی به بررسی اثر پنج زمان مختلف پس از گلدهی روی ترکیبات شیمیایی در میوه ازگیل پرداختند و عنوان کردند با افزایش زمان گلدهی مقدار اسیدکافئیک،

### منابع

- ۱- اثنی عشری، م.، غلامی، م. و الماسی، پ. (۱۳۸۶) زیست‌شناسی تاک (ترجمه). انتشارات دانشگاه بوعلی سینا. ۲۴۵ ص.
- ۲- پیله، ف.، فرخزاد، ع.، اسماعیلی، م. و دولتی‌بانه ح. (۱۳۹۴) تأثیر زمان برداشت و مدت نگهداری بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی حبه انگور رقم بیدانه سفید. پژوهش‌های صنایع غذایی. ۲۵: (۴) ۵۶۴-۵۷۶.
- ۳- حسن‌پور، ع.، مدرس‌مطلق، ا.، اسماعیلی، م. و رحمانی، ع. (۱۳۹۰) دیدار تغییرات خواص مکانیکی انگور سفید بیدانه در طی رسیدن. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی. ۲۱: (۳) ۳۴۳-۳۵۵.
- ۴- دولتی‌بانه، ح.، خاتون‌عابدی، ن. و جدیدی، ت. (۱۳۹۵) بررسی مورفولوژیکی، فنولوژیکی و تغییرات صفات کمی و کیفی میوه طی دوره‌های رشدی حبه انگور رقم قزل اوزوم. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی). ۳۰: (۱) ۴۹-۵۸.
- ۵- وجودی‌مهربان، ل.، دادپور، م.، دل‌آذر، ع.، موافقی، ع. و حاجیلو، ج. (۱۳۸۹) بررسی کمی و کیفی ترکیبات فنلی در پوست سیب، رقم گالا. نشریه زیست‌شناسی گیاهی. ۲: (۵) ۷۵-۸۸.
- 6- Adams, D.O. (2006). Phenolics and ripening in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3): 249-256.
- 7- Amarowicz, R., and Weidner, S. (2009). Biological activity of grapevine phenolic compounds. In: *Grapevine Molecular Physiology and Biotechnology*. Springer, Dordrecht. (pp. 389-405)

- 8- Andersen, O.M., and Markham, K.R. (Eds.). (2006). Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. CRC press.
- 9- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., and Berset, C.L.W.T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1): 25-30.
- 10- Cantina, C.M., Fidelibus, M.W. and Crisosto C.H. (2007). Application of abscisic acid (ABA) at veraison advanced red color development and quality of Crimson seedless grapes. *Journal of Postharvest Biology and Technology*, 46(2): 237-241.
- 11- Chaves, M.M., Santos, T.P., Souza, C.R.D., Ortuño, M.F., Rodrigues, M.L., Lopes, C.M., and Pereira, J.S. (2007). Deficit irrigation in grapevine improves water-use efficiency while controlling vigour and production quality. *Annals of Applied Biology*, 150(2): 237-252.
- 12- Coombe, B.G., McCarthy, M.G. (2000) Dynamics of grape berry growth and physiology of ripening. *Australian Journal of Grape & Wine Research* 6: 131-135.
- 13- Creasy, G.L., and Creasy, L.L. (2009). *Grapes*. CABI publishing. 295 p.
- 14- Del Giudice, R., Raiola, A., Tenore, G.C., Frusciante, L., Barone, A., Monti, D.M., and Rigano, M.M. (2015). Antioxidant bioactive compounds in tomato fruits at different ripening stages and their effects on normal and cancer cells. *Journal of Functional Foods*, 18 (23): 83-94.
- 15- Gambetta, G.A., Matthews, M.A., Shaghasi, T.H., McElrone, A.J., and Castellarin, S.D. (2010). Sugar and abscisic acid signaling orthologs are activated at the onset of ripening in grape. *Planta*, 232(1): 219-234.
- 16- Ghasemnezhad, M., Sherafati, M., and Payvast, G.A. (2011). Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *Journal of Functional Foods*, 3(1): 44-49.
- 17- Gordon, A., Cruz, A.P.G., Cabral, L.M.C., de Freitas, S.C., Taxi, C.M.A.D., Donangelo, C.M., ... and Marx, F. (2012). Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Açai fruits (*Euterpe oleracea* Mart.) during ripening. *Food Chemistry*, 133(2): 256-263.
- 18- Gruz, J., Ayaz, F.A., Torun, H., and Strnad, M. (2011). Phenolic acid content and radical scavenging activity of extracts from medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit at different stages of ripening. *Food Chemistry*, 124(1): 271-277.
- 19- Iriti, M., and Faoro, F. (2010). Bioactive chemicals and health benefits of grapevine products. In: *Bioactive Foods in Promoting Health* (pp. 581-620).
- 20- Kennedy, J.A. (2008). Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. *Ciencia e Investigación Agraria*, 35(2): 107-120.
- 21- Khanizadeh, S., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M.T., and Rupasinghe, H.V. (2008). Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(5): 396-401.
- 22- Korkutal, L., Bahar, E. and Gökhan Ö. (2008). The characteristics of substances regulating growth and development of plants and the utilization of gibberellic acid (GA3) in Viticulture. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(3):321-325.
- 23- Labbé, M., Pérez, F., and Sáenz, C. (2010). Influence of fruit maturity and growing region on phenolic content, antioxidant capacity and color of pomegranate juices. In *International conference on food innovation*. <http://www.foodinnova.com/foodInnova/docu2/249.pdf>.
- 24- McCarthy, M.G., Coombe B.G. (1999) Is weight loss in ripening grape berries cv. Shiraz caused by impeded phloem transport? *Australian Journal of Grape & Wine Research* 5: 17-21.
- 25- Mirdehghan, S. H., and Rahemi, M. (2007). Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 111(2): 120-127.
- 26- Moulehi, I., Bourgou, S., Ourghemmi, I., and Tounsi, M.S. (2012). Variety and ripening impact on phenolic composition and antioxidant activity of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) and bitter orange (*Citrus aurantium* L.) seeds extracts. *Industrial Crops and Products*, 39: 74-80.
- 27- Rapisarda P., Fanella F. and Maccarone E. (2000). Reliability of analytical methods for determining anthocyanins in blood orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(22): 49 - 52.
- 28- Rop, O., Sochor, J., Jurikova, T., Zitka, O., Skutkova, H., Mlcek, J., ... and Kramarova, D. (2010). Effect of five different stages of ripening on chemical compounds in medlar (*Mespilus germanica* L.). *Molecules*, 16(1): 74-91.

- 29- Santiago, L.J.M., Louro, R.P., and De Oliveira, D.E. (2000). Compartmentation of phenolic compounds and phenylalanine ammonia-lyase in leaves of *Phyllanthus tenellus* Roxb. and their induction by copper sulphate. *Annals of Botany*, 86(5): 1023-1032.
- 30- Singleton, V.L., and Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144-158.
- 31- Topalovic, A., and Milukovic-Petkovsek, M. (2010). Changes in sugars, organic acids and phenolics of grape berries of cultivar Cardinal during ripening. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8(3and4): 223-7.
- 32- Tosun, I., Ustun, N.S., and Tekguler, B. (2008). Physical and chemical changes during ripening of blackberry fruits. *Scientia Agricola*, 65(1): 87-90.
- 33- Wang, B., Huang, Q., Venkatasamy, C., Chai, H., Gao, H., Cheng, N., ... and Pan, Z. (2016). Changes in phenolic compounds and their antioxidant capacities in jujube (*Ziziphus jujuba* Miller) during three edible maturity stages. *LWT-Food Science and Technology*, 66: 56-62.
- 34- Weston, B., (2003). Evaluation of vine grape maturity. In: E.W. Hellman (Ed) *Oregon Viticulture*. Oregon State University Press. 242 p.
- 35- Zozio, S., Servent, A., Casal, G., Mbéguié-A-Mbéguié, D., Ravion, S., Pallet, D., and Abel, H. (2014). Changes in antioxidant activity during the ripening of jujube (*Ziziphus mauritiana* Lamk). *Food Chemistry*, 150: 448-456.

## Study of growth pattern and changes in some phenolic compounds in grape cv. Shahani

Mihan M., Sarikhani H. and Gholami M.

Dept. of Horticultural Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran.

### Abstract

Grapes are one of the important sources of polyphenols in the diet. The aim of this study was to investigate the quantitative and qualitative changes of phenolic compounds in grapes cv. Shahani during growth stages. At five stages, 30, 40, 50 and 60 days after flowering and fruit ripening, the characteristics of berries as well as some phenolic compounds were measured. The results showed that with phase, berry size, berry weight, soluble solids content, pH and total anthocyanins increased and acidity decreased. At the time of fruit ripening, a slight decrease was observed in berry size compared to the time before. With passing time to 50 days after flowering, total phenol content increased in berries, and then decreased at 60 days after flowering and reached its peak again at the time of ripening. The amount of flavonoids in berries decreased with passing time and the highest amount was obtained in 30 days after flowering and the lowest amount was obtained at ripening time. Over time, antioxidant capacity increased and then decreased during the 50 days after flowering, reaching its lowest level at ripening. Also, during the time, the amount of gallic acid, chlorogenic acid and epicatechin increased in grape berries, and peaked at the ripening stage. The amount of caffeic acid and fluoresin increased initially and decreased in 50 days after flowering, and then increased to its highest level at ripening. The amount of phenolic compound of rosmarinic acid did not show any significant differences in different stages.

**Key words:** Grape, Shahani, Phenol, Anthocyanin, HPLC.