

مقایسه آنتوسیانین کل و سیانیدین ۳-گلوکوزاید به روش اسپکتوفتومتری و تجزیه HPLC در پرتقال‌های خونی شمال و جنوب ایران

جواد فتاحی مقدم (۱)، رضا فتوحی قزوینی (۲)، داوود بخشی (۳) و امیررضا توکلی (۴)

۱- دانشجوی دکترا علوم باغبانی دانشگاه گیلان و عضو هیات علمی موسسه تحقیقات مرکبات کشور، ۲- استاد گروه علوم باغبانی دانشگاه گیلان، ۳- استادیار گروه علوم باغبانی دانشگاه گیلان، ۴- عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس

چکیده

تعیین میزان آنتوسیانین‌ها در عصاره پرتقال‌های خونی می‌تواند شاخصی برای تعیین کیفیت این نوع پرتقال‌ها باشد. سطح محتوای آنتوسیانینی بستگی به ژنوتیپ، عوامل فیزیولوژیکی، خاک و خصوصیات آب و هوایی منطقه دارد. در این آزمایش از روش‌های اسپکتوفتومتری و تجزیه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به ترتیب جهت کمیت سنجی آنتوسیانین‌ها و کیفیت سنجی سیانیدین ۳-گلوکوزاید در پرتقال‌های خونی استفاده شد. نمونه‌های مورد آزمایش از چهار رقم (مورو، تاراگو، سانگونلا و سانگوئین) و دو منطقه کترا (شمال) و داراب (جنوب) تهیه و مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان سیانیدین ۳-گلوکوزاید در رقم تاراگو از جنوب و مورو از شمال با مقادیر به ترتیب ۳۶۸/۲ و ۱۹۶/۰۵ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سایر ارقام در هر دو مکان حداکثر بود. عصاره میوه ارقام سانگونلا و سانگوئین برداشت شده از جنوب ایران بیشترین میزان سیانیدین ۳-گلوکوزاید را نسبت ارقام مشابه در جنوب داشتند.

مقدمه

ارزش غذایی و نقش آنتوسیانین‌های موجود در پرتقال‌های خونی در سلامت انسان انگیزه‌ای قوی در مطالعه جنبه‌های مختلف کمی و کیفی این ترکیب در میوه شده است. سیانیدین ۳- گلوکوزاید ترکیب اصلی پرتقال‌های خونی است. دیگر آنتوسیانین عمده در پرتقال‌های خونی سیانیدین ۳-(۶-مالونیل) -بتا-گلوکوزاید است. غلظت آنتوسیانین بستگی به ژنتیک، و عوامل فیزیولوژیک موثر در رسیدن، خاک و خصوصیات آب و هوایی دارد (۲، ۳ و ۴). کلبک و همکاران (۲۰۰۸) میزان سیانیدین ۳- گلوکوزاید را در رقم مورو ۱۱۰/۸ و رقم سانگونلا ۱۵/۸۳ میلی‌گرم در لیتر گزارش نمودند (۲). در تحقیقی با استفاده از منحنی استاندارد سیانیدین ۳- گلوکوزاید اقدام به تعیین آنتوسیانین‌ها در پرتقال‌های خونی ارقام مورو، تاراگو، سانگونلا و نوسلار سانگونلا به فاصله هر ۱۵ روز برداشت با استفاده از روش HPLC/UV-Vis نمودند. بر این اساس رقم مورو حاوی بالاترین میزان آنتوسیانین‌ها همراه با میزان حداکثری (۲۱۷ پی‌پی‌ام) در فروردین ماه بود. رقم تاراگو در دهه اول اسفند دارای بالاترین میزان (۱۳۳ پی‌پی‌ام) بود که حاکی از تاثیر فصل و نوع رقم است. نتایج حاصل از تجزیه اسپکتوفتومتری با نتایج حاصل از HPLC تطابق داشت (۴). در تحقیقی دیگر میزان آنتوسیانین‌ها در دو رقم مورو و سانگونلا مشابه بود گرچه میزان آنتوسیانین کل در عصاره مورو بیشتر از سانگونلا بود. آنتوسیانین‌های سیانیدین ۳-(۶-مالونیل) -بتا-گلوکوزاید و سیانیدین ۳- گلوکوزاید غالبیت داشت و مقدار آن به ترتیب ۱۳۲/۶ و ۱۱۰/۸ میلی‌گرم در لیتر در مورو و ۱۶/۹۵ و ۱۵/۸۳ میلی‌گرم در لیتر در سانگونلا گزارش شد (۳).

مواد و روش‌ها

نمونه‌های میوه مورد استفاده در این آزمایش (چهار رقم پرتقال خونی به نام‌های مورو، تاراکو، سانگوئین و سانگونلا) طی دو مرحله زمانی اواخر دی و بهمن ماه از دو منطقه (ایستگاه تحقیقات مرکبات کترا - تنکابن واقع در شمال و ایستگاه تحقیقات مرکبات داراب در جنوب کشور) جمع‌آوری شد. عصاره میوه همراه با گوشت به صورت دستی با نسبت ۱:۳ تهیه و به صورت تمام شب در حلال اسید استیک به نسبت ۱۵: ۸۵ درصد و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر از هر یک از بافرهای تهیه شده بر اساس روش اختلاف pH برداشته شده و به نیم میلی‌لیتر عصاره در کیبوت اضافه شد. میزان جذب محلول در دو طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری سیانیدین -۳- گلوکوزاید بوسیله روش HPLC انجام شد. حلال A شامل آب مقطر مخصوص HPLC و حلال B محلول استونیتریل بود. روش کار به صورت حلال با سرعت جریان ۰/۶ میلی‌لیتر در دقیقه و طول موج ۵۳۰ نانومتر تعریف شد. حجم تزریقی برابر ۵۰ میکرولیتر بود و برنامه‌گردانیات بصورت ۸۸ درصد حلال A/۱۲ درصد حلال B به مدت صفر تا ۱۵ دقیقه، ۳۰ درصد حلال A/۷۰ درصد حلال B به مدت ۱۵ تا ۲۵ دقیقه، ۱۰ درصد حلال A/۹۰ درصد حلال B به مدت ۲۵ تا ۳۵ دقیقه تعریف شد.

نتایج و بحث

رقم تاراکو (بهمن - جنوب) با محتوای آنتوسیانین کل ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر از بالاترین مقدار برخوردار بود. ارقام سانگونلا (بهمن-جنوب) و مورو (بهمن-شمال) با مقادیر ۱۸۰/۳ و ۲۳۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. رقم سانگوئین (بهمن - جنوب) نیز با تولید ۷۰/۸ میلی‌گرم در لیتر همراه با تاراکو برداشت دی - شمال (۶۲/۳) در مقام چهارم قرار گرفتند. ارقام سانگونلا و سانگوئین با متوسط ۳۰-۱۰ میلی‌گرم در لیتر در هر دو تاریخ برداشت و در شمال و جنوب از کمترین مقدار آنتوسیانین‌ها برخوردار بودند. در این ارتباط موندلو و همکاران (۲۰۰۰) نیز کمترین میزان (۳۷ میلی‌گرم در لیتر) را در ارقام سانگونلا نوع جنسی و نوسلار مشاهده نمودند (۴). رقم تاراکو جنوب با مقدار ۳۶۸/۲ میلی‌گرم در لیتر دارای حداکثر سیانیدین ۳- گلوکوزاید بود و رقم مورو شمال با مقدار ۱۹۶/۰۵ میلی‌گرم در لیتر در مقام دوم و همین رقم با برداشت از جنوب با محتوای ۱۲۹/۴۵ میلی‌گرم در لیتر در مقام سوم قرار داشت. ارقام سانگونلا و سانگوئین فقط در برداشت بهمن-جنوب دارای مقادیر جزئی سیانیدین ۳- گلوکوزاید بودند. که از نظر ارزش غذایی و خواص آنتی‌اکسیدانتی این نوع آنتوسیانین در درجه اهمیت پایینی قرار دارند. در تحقیقی با تجزیه کیفی سیانیدین ۳- گلوکوزاید مشخص شد که این ترکیب حدود ۳۸/۵ درصد محتوای آنتوسیانین کل را تشکیل می‌دهد (۱).

منابع

1. Choi M.H., G.H. Kim and H.S. Lee. 2002. Effect of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. Food Research International.
2. Jayaprakasha G.K. and B.S. Patil. 2007. In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. Food Chemistry. 101: 410-418

3. Kelebek H., A. Canbas, S. Selli. 2008. Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of blood orange juices obtained from cvs. Moro and Sanguinello (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) grown in Turkey. *Food Chemistry*. 107: 1710-1716
4. Luigi M., C. Antonella, G. Errante, D. Giovanni, D. Paola. 2000. Determination of anthocyanins in blood orange juices by HPLC analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 23: 191-195

Comparison of total anthocyanins and cyanidin 3-glucoside in north and south blood oranges of Iran by spectrophotometric and HPLC analysis

Fattahi Javad^{1,2}, Reza Fotouhi¹, Davoud Bakhshi¹, AmirReza Tavakoli³

1- Department of Horticulture, Guilan University, Rasht, Iran. 2- Citrus Research Institute of Iran, Ramsar. 3- Fars Research Institute.

Abstract

Determination of anthocyanins in fresh juices can be a parameter for the assessment of quality of blood oranges. The concentration of anthocyanins can be dependent on genetic, physiological factors, soil and climate characteristics. A HPLC/UV-Vis and spectrophotometric methods were used to identify and quantify Cyanidin 3- glucoside of the blood oranges. Sample analysed have been obtained from fruits of different location and varieties (Moro, Tarocco, Sanguinello and Sanguine). It was absorbed that Cyanidin 3- glucoside of Tarocco (South) and Moro (North) were higher amount 368.2 mg/l and 196.05 mg/l respectively than other cultivars. Fruit juices of Sanguinello and Sanguine that obtained from south of Iran were the most dominant Cyanidin 3- glucoside than that of same in north of Iran.