# اثر متقابل اسانس به لیمو و نانو امولسیون کیتوسان بر فعالیت‌های آنزیمی، محتوای آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فیتوشیمیایی میوه تمشک (*Rubus ulmifolius sub sp. sanctus*)

شیرین رحمن زاده ایشکه[۱]، محمدرضا اصغری[۲]، حبیب شیرزاد[۳]، ابوالفضل علیرضالو[۴*]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲- استاد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳- استادیار علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

*۴- استادیار علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول)

## چکیده

میوه تمشک به دلیل لطافت زیاد و داشتن آب بالا مستعد آلودگی به عوامل قارچی بوده و از عمر قفسه‌ای کوتاهی برخوردار است. در پژوهش حاضر، کارایی نانو امولسیون کیتوسان و اسانس به لیمو به عنوان پوشش‌های خوراکی جهت افزایش عمر قفسه‌ای تمشک مورد بررسی قرار گرفت. میوه‌های تمشک برداشت شده، با اسانس به لیمو در غلظت‌های ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر تیمار شد و سپس با نانو امولسیون کیتوسان در غلظت-های ۰، ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مورد تیمار قرارگرفته و به سردخانه‌ای با دمای ۲±۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵-۹۵ درصد انتقال یافتند. محتوای فنل و فلاونوئید کل، غلظت آنتوسیانین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های PAL و گایاکول پراکسیداز میوه‌ها هر سه روز یکبار مورد ارزیابی قرار گرفتند. میوه‌های تیمار شده از فعالیت آنزیم PAL و محتوای آنتوسیانین بیشتری برخوردار بودند. بیشترین فعالیت آنزیم PAL (۱۳۶/۵۵ نانو مول وزن تر بر دقیقه) در تیمار ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس و ۲۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان و بیشترین میزان آنتوسیانین (۱۲۹/۲۲ میلی‌گرم سیانیدین ۳-گلوکوزید در ۱ میلی‌لیتر عصاره) در تیمار ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس و ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان در روز نهم مشاهده شد. همچنین بیشترین محتوای فنل کل (۵۷/۵۳ میلی‌گرم گالیک‌اسید در ۱ میلی‌لیتر عصاره) در نمونه‌های مربوط به شاهد در روز نهم مشاهده شد. میزان فلاونوئید کل با گذشت زمان از روندی نزولی برخوردار بود. پوشش دهی میوه تمشک با اسانس به-لیمو و نانو امولسیون کیتوسان می‌تواند به عنوان روشی سالم، میزان ترکیبات بیوشیمیایی از جمله فنل و آنتوسیانین و فعالیت آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز ترکیبات فنولیک مانند PAL را افزایش دهد.

**کلید واژگان:** تمشک، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی، فلاونوئید، آنزیم PAL

*مسئول مکاتبات: a.alirezalu@urmia.ac.ir



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25 ]

## ۱- مقدمه

تمشک سیاه با نام علمی *Rubus ulmifolius sub sp. Sanctus* یکی از اعضای خانواده گلسرخیان و زیر خانواده‌ی Rosoideae است. این جنس تمشک در قسمت‌هایی از آسیا و اروپا رشد کرده و نام رایج آن حولی برمبل[1] می‌باشد. میوه آن سته است که مقدار زیادی از ترکیبات فنلی و رنگیزه‌های مهمی مانند آنتوسیانین را دارا می‌باشد و منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان-های طبیعی و ویتامین‌های A، B و C است. همچنین این میوه‌ها داروی مناسبی برای درمان چندین بیماری به خصوص دیابت می‌باشند [۱]. بعد از توت‌فرنگی، بلو بری‌ها وتمشک‌ها بیشترین محبوبیت را برای تازه خوری در بین بری‌ها دارند و از مشکلات مهم پس از برداشت آن ها، حساسیت به اتلاف آب، نرم شدن، صدمات مکانیکی و به ویژه پاتوژن‌های پس از برداشت مانند *Rhizopus sp, Penicillium expansum,Botrytis cinerea,* و *Aspergilus nigra* می‌باشد [۲].

یکی از روش‌هایی که برای کنترل پاتوژن‌ها استفاده می‌شود استفاده از قارچ‌کش‌های مصنوعی است که منجر به افزایش مقاومت قارچ‌ها و تولید سویه‌های جدیدی از آن‌ها می‌شود [۳و٤]. به همین دلیل برای جایگزینی سموم شیمیایی از روش هایی مانند اتمسفر تغییریافته با $CO_2$ بالا، خنک‌سازی، تیمارهای گرمایی و اسمزی، پرتوافکنی و پوشش‌های خوراکی استفاده می‌شود [۵-۷]. در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی درزمینه‌ی استفاده از پوشش‌های خوراکی و یا زیست تخریب پذیر برای افزایش عمر پس از برداشت محصولات باغی به عمل آمده است. پوشش‌های خوراکی به صورت لایه محافظ در سطح محصول قرار گرفته و شرایطی مانند بسته‌بندی با اتمسفر تغییر یافته ایجاد می‌کنند [۸ و۹]. پوشش‌های خوراکی با ایجاد یک مانع نیمه تراوا درمقابل بخارآب، اکسیژن و دی اکسیدکربن در روی محصول موجب حفظ کیفیت، سلامت، ثبات خواص فیزیکی محصولات و ماندگاری آن‌ها می‌شوند [۱۰]. کیتوسان یکی از انواع پوشش‌های خوراکی بر پایه‌ی پلیمرهای طبیعی کیتین است. کیتوسان پلیمر β (٤و۱) ان-استیل دی گلوکز آمین است که از استیل زدایی کیتین سخت پوستان، حشرات و قارچ‌ها تولید می‌شود [۱۱]. کیتوسان دارای خواص میکروب‌کشی، آفت‌کشی، قارچ‌کشی، باکتری کشی و ویروس‌کشی طبیعی است که استفاده از سموم شیمیایی در محصولات کشاورزی را کاهش داده و موجب افزایش سلامت غذایی محصول می‌شود. کیتوسان به دلیل خاصیت نیمه تراوایی خود نفوذپذیری نسبی به بخار آب داشته و مانع خوبی برای اکسیژن می‌باشد و از این طریق اتمسفر درونی محصول را تغییر داده و باعث افزایش ماندگاری محصول می شود [۱٤-۱۲].

فناوری نانو در پوشش‌های خوراکی و بسته بندی‌ها می‌تواند با کاهش اندازه‌ی ذرات و کوچکتر کردن منافذ پوشش‌ها باعث افزایش کارایی آن‌ها در مقایسه با پوشش‌های خوراکی معمولی شود و ارتقای کیفی مواد بسته بندی را به دنبال داشته باشد. تحقیقات انجام شده نشانگر این امر است که کاربرد پوشش های نانو امولسیون کیتوسان باعث افزایش ماندگاری در توت فرنگی و پرتقال می‌شود [۱۱]. از میان انواع پوشش‌های خوراکی مختلف، اسانس‌ها نیز روی میوه‌های سته مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. اسانس‌ها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که در گیاهان معطر یافت می‌شوند و به عنوان ترکیباتی طبیعی، متنوع و با خصوصیات پیچیده شناخته می‌شوند. و نقش مهمی را در حفاظت گیاه به دلیل داشتن خصوصیات ضد باکتریایی، ضدویروسی، قارچ کشی و حشره کشی ایفا می‌کنند [۱٦]. اسانس‌ها به عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاهی، ماندگاری محصولات باغبانی را به دلیل داشتن فعالیت ضد قارچی و ضد میکروبی خود افزایش می‌دهند. توانایی اسانس‌ها در کاهش ضایعات پس از برداشت و همچنین طبیعی بودن و ضرر کمتر آن‌ها برای سلامتی انسان منجر به افزایش علاقه و توجه مردم به اسانس‌ها شده است [۱۷]. گیاه دارویی به لیمو جنس *Lippia* یکی از ۲۰۰ گونه متعلق به خانواده Verbenaceaeاست، که به طور گسترده‌ای در آمریکا و آفریقا توزیع شده است [۱۸]. معمولا *Lippia citriodora* به عنوان یک چاشنی برای تهیه غذا و یک ترکیب معطر برای نوشیدنی‌ها استفاده می‌شود [۱۹]. ۱و۸ -سینئول، ژرانیول، اینالول و لیمونن از ترکیبات مهم *Lippia citriodora* هستند [۲۰].

امروزه به دلیل افزایش مقاومت پاتوژن‌ها به ویژه قارچ‌ها در برابر قارچ کش‌های سنتزی و تولید سویه‌های جدیدی از آن‌ها، اعمال یک نوع قارچ‌کش طبیعی موثر نبوده و استفاده از روش های تلفیقی پیشنهاد می‌شود. در این راستا، کیتوسان علاوه بر ویژگی‌های خود در افزایش عمر پس از برداشت محصولات



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25 ]

باغبانی، می‌تواند به عنوان نگه دارنده اسانس عمل نموده و از فراریت آن بکاهد. Vargas و همکاران [۲۱] کیتوسان را در ترکیب با اسیداولئیک به عنوان پوشش خوراکی در میوه توت فرنگی طی ١٤ روز نگهداری بررسی کرده ومتوجه شدند که استفاده از این تیمار باعث می شود نمونه ها از تغییرات تنفس کمتری برخوردار باشند. Perdones و همکاران [۲۲] از ترکیب کیتوسان و اسانس لیمو برای پوشش میوه‌ی توت فرنگی استفاده کردند و زمان نگهداری درسردخانه با دمای ۵ درجه سانتی گراد را چهارده روز گزارش کردند. در این مطالعه، برای اولین بار پوشش خوراکی نانو امولسیون کیتوسان در ترکیب با اسانس به لیمو با هدف بررسی فعالیت‌های آنزیمی، محتوای آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فیتوشیمیایی میوه تمشک پس از برداشت مورد ارزیابی قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- تهیه میوه‌ها

میوه‌های تمشک مورداستفاده در این آزمایش که به صورت وحشی و تحت شرایط دیم در منطقه خان دره سی با طول جغرافیایی ("۰۹ ´۰۷ °٤٥)، عرض جغرافیایی ("١٦ ´١٩ °٣٧) و ارتفاع از سطح دریا (۱۳۹۲ متر) رشد کرده بودند، جمع‌آوری شد. نمونه‌برداری در اوایل صبح انجام شد و تا حد امکان سعی شد میوه‌هایی برداشت شوند که در مرحله بلوغ تجاری بوده (رنگ قرمز) و از نظر رنگ، شکل و اندازه شبیه به همدیگر و بدون آسیب یا دارای کمترین میزان آسیب‌دیدگی باشند. میوه‌ها پس از برداشت در کارتن‌های تمیز قرار داده شده و به سردخانه واقع در گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انتقال یافتند. اندازه‌گیری شاخص‌های مربوط به نمونه‌های شاهد روز برداشت (صفر) و اعمال تیمارها در همان روز برداشت انجام گرفت.

### ۲-۲- تهیه اسانس به لیمو و نانوامولسیون کیتوسان

اسانس‌گیری از برگ‌های گیاه به لیمو که از شهر اراک خریداری شده بود با دستگاه کلونجر و روش تقطیر با آب مقطر به مدت سه ساعت صورت گرفت، اسانس‌های تهیه شده در داخل ویال‌های کدر به دلیل جلوگیری از نفوذ نور و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. نانوامولسیون کیتوسان نیز از شرکت دانش بنیان نانو نوین پلیمر واقع در شهر ساری خریداری شد.

### ۲-۳- فرآیند اعمال تیمارها

برای تهیه غلظت‌های مربوط به اسانس به لیمو چهار ظرف یک لیتری حاوی آب مقطر تهیه شده و سپس مقادیر ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس به لیمو به ظروف فوق اضافه گردید، باتوجه به ماهیت روغنی بودن اسانس و عدم حل شدن آن در آب مقطر از توئین ۸۰ جهت امولسیون کردن اسانس در آب استفاده شد. سپس برای اعمال تیمارمربوط به اسانس، ٦٠ گرم از میوه‌ها به مدت سه دقیقه در داخل ظرف حاوی امولسیون اسانس و آب مقطر با غلظت مشخص غوطه‌ور شدند و بعد از آن به مدت ۵ دقیقه روی دستمال کاغذی ضخیم قرار داده شدند تا محلول حاوی اسانس اضافی روی میوه گرفته شود . سپس جهت اعمال تیمار نانوامولسیون کیتوسان، غلظت های ۰، ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی گرم بر لیتر تهیه شده و همان میوه‌هادر داخل ظروف حاوی نانو امولسیون کیتوسان به مدت سه دقیقه غوطه ور شده و سپس در داخل ظروف یکبار مصرف از قبل استریل شده قرارگرفته و با پارافیلم دور درب ظروف جهت جلوگیری از تبادل هوا مسدود شده و به سردخانه‌ای با دمای ٤±٢ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد انتقال یافتند.

### ۲-٤- اندازه‌گیری میزان فنل کل

اندازه‌گیری مواد فنلی با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو انجام گرفت. برای انجام این کار ابتدا مقدار ۳۰ میکرولیتر عصاره غلیظ ( عصاره‌ای که با گرفتن آب میوه از تمشک تهیه شده بود) در داخل لوله آزمایش ریخته شده و ۹۰ میکرولیتر آب مقطر به آن اضافه گردید، سپس ٦٠٠ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد به آن‌ها اضافه شد و بعد از ۵-۱۰دقیقه، ٤٨٠ میکرو لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آن اضافه شد. پس از قراردادن نمونه ها به مدت نیم ساعت در تاریکی و در دمای اتاق، با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر( MODEL: UV2100 PC) جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۷٦٠ نانومتر قرائت شد. جهت رسم منحنی استاندارد نیز از گالیک اسید استفاده شد. میزان فنل کل عصاره‌ها براساس میلی گرم معادل گالیک اسید در ۱ میلی‌لیتر عصاره میوه گزارش شد [۲۳].



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25 ]

## ۲-۵- اندازه‌گیری فلاونوئید کل

برای سنجش میزان فلاونوئید کل ۵۰ میکرولیتر از عصاره غلیظ داخل لوله آزمایش ریخته شده و به آن ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵ درصد اضافه گردید. پس از ۵ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد اضافه شد و در مرحله بعد ۱۰۰۰ µl سود ۱ نرمال به محلول حاصل اضافه و با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. در پایان جذب محلول حاصل در طول‌موج ۳۸۰ نانومتر نسبت به شاهد قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرسیتین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها براساس میلی‌گرم معادل کوئرسیتین در ۱ میلی‌لیتر عصاره میوه گزارش شد [۲٤].

## ۲-٦- اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین کل

برای اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین کل از روش اختلاف pH ها استفاده شد. برای این منظور ابتدا دو بافر با pHهای ۱ و ٤/۵ تهیه شده و سپس ۵۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه با ۲/۵ میلی‌لیتر از بافرهای تهیه شده مخلوط و سپس جذب آن‌ها در طول‌موج‌های ۵۳۰ و ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید [۲۵] در نهایت با استفاده از فرمول زیر برای محاسبه جذب کل هر یک از عصاره‌ها استفاده شد [۲٦].

$$A = (A_{530} - A_{700})_{pH=1} - (A_{530} - A_{700})_{pH=4.5}$$

محتوای آنتوسیانین کل به صورت میلی گرم سیانیدین ۳-گلوکوزید معادل ۱۰۰ گرم وزن تر و طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$TAC = A*MW*V*DF*100/\varepsilon*100$$

A = جذب، MW = وزن مولکولی، DF = فاکتور رقت و $\varepsilon$ = جذب مولی

## ۲-۷- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش DPPH استفاده شد. برای این کار ۲۰۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH را (که از قبل آماده شده بود) در داخل لوله‌های آزمایش استریل ریخته شد و سپس مقدار مشخصی از عصاره میوه هر یک از نمونه‌ها به آن اضافه شده و محلول حاصل در دمای اتاق و در تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه تکان داده شد. جذب محلول حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. جهت تهیه شاهد (بلنک) نیز به روش فوق عمل شد ولی به جای عصاره، متانول ۸۰ درصد استفاده شده و طبق فرمول زیر محاسبه گردید [۲۷].

$$RSA = \frac{(Abs\ control)t = 30\ min - (Abs\ sample)t = 30\ min}{(Abs\ control)t = 30min} \times 100$$

Abs control: میزان جذب شاهد (بلنک)

Abs sample: میزان جذب نمونه

## ۲-۸- سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)

برای سنجش فعالیت آنزیم PAL از روش Karthikeyan و همکاران [۲۸] با کمی تغییر استفاده شد. ۰/۵ گرم از بافت تازه میوه با استفاده از ۱/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج ( بافر بورات ۰/۱ مولار، ۰/۱ درصد پلی وینیل پیرولیدون و ۱/٤ میلی مولار مرکاپتواتانول) با pH = ۷ کوبیده شد سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ °C سانتریفیوژ شد. پس از اتمام سانتریفیوژ از عصاره رویی برای سنجش آنزیم استفاده شد. محتوی نمونه برای سنجش آنزیم حاوی ۳۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی، ۱ میلی‌لیتر بافر سنجش (بافر بورات ۰/۱ مولار، ۰/۱ درصد پلی وینیل پیرولیدون و ۱/٤ میلی مولار مرکاپتواتانول) با pH = ۸/۸ و ۱۰۰۰ میکرولیتر L-فنیل آلانین ۱۲ میلی مولار بود که به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (بن ماری) با دمای ۳۰ °C قرار داده شده و جذب در طول‌موج ۲۹۰ nm با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. محاسبه فعالیت آنزیم PAL با استفاده از قانون بیرلامبرت و با ضریب خاموشی (۹٦۳۰ $\mu l.cm^{-1}$) و برحسب نانو مول وزن تر بر دقیقه انجام گردید.

## ۲-۹- سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)

برای سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)، ۰/۱ گرم از بافت تازه میوه ا توزین شد و در داخل هاون چینی موجود روی یخ قرار گرفت سپس ۱/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج ( بافر فسفات پتاسیم ۱۲۵ میلی مولار با pH = ۷/۸) به آن اضافه نموده و پس از ساییدن محلول رویی را در داخل میکروتیوب ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ °C با دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. جهت سنجش فعالیت آنزیم ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی را داخل لوله آزمایش ریخته و به آن ۲۰۰ میکرو لیتر گایاکول ۲۲ میلی مولار اضافه شده و پس از آن ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۲۵ میلی مولار اضافه شد. بعد جهت قرائت، محلول فوق را در داخل سل ریخته و جهت جلوگیری از واکنش سریع پراکسید هیدروژن با محلول حاضر پراکسید هیدروژن را در داخل



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25 ]

دستگاه اسپکتروفتومتر اضافه نموده و جذب را در زمان‌های صفر و ۱ دقیقه بعد از اضافه شدن پراکسید هیدروژن در طول‌موج ٤٧٠ نانومتر قرائت شد [۲۹].

### ۲-۱۰- تجزیه و تحلیل آماری

اندازه‌گیری شاخص‌ها در روزهای سوم، ششم و نهم طی مدت نگهداری صورت گرفت. کلیه داده‌های به دست آمده در چهار تکرار و به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شده، و از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- محتوای فنل کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان فنل کل نمونه-های شاهد و تیمار شده تفاوت معنی‌داری با یکدیگر در سطح احتمال ۱ درصد داشتند. بالاترین محتوای فنل کل در نمونه-های مربوط به شاهد در روز نهم با مقدار۵۷/۵۳ میلی‌گرم گالیک‌اسید در ۱میلی‌لیتر عصاره و پایین‌ترین آن‌ها مربوط به نمونه‌های دارای اثر متقابل تیمارهای۵۰۰ میکرو لیتر بر لیتر اسانس و۲۵۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان در روز ششم با مقدار ۲۷/۵۰ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱ میلی‌لیتر عصاره مشاهده شد (شکل۱). میزان فنل کل نمونه‌های تیمار شده نیز مانند آنزیم PAL در اکثر تیمارها به مرور زمان افزایش یافت، که می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت آنزیم PAL با افزایش زمان نگهداری باشد. از سوی دیگر کیتوسان که یکی از تیمارهای این آزمایش بود علاوه بر خاصیت ضد قارچی، دارای پتانسیل القای دفاع آنزیمی و ترکیبات فنلی در گیاهان نیز می‌باشد [۳۰]. همچنین لیو در سال ۲۰۰۸ گزارش کرد که میزان ترکیبات فنلی درگوجه فرنگی و میوه‌های تیمار شده با کیتوسان القاء می‌شود [۱۳].

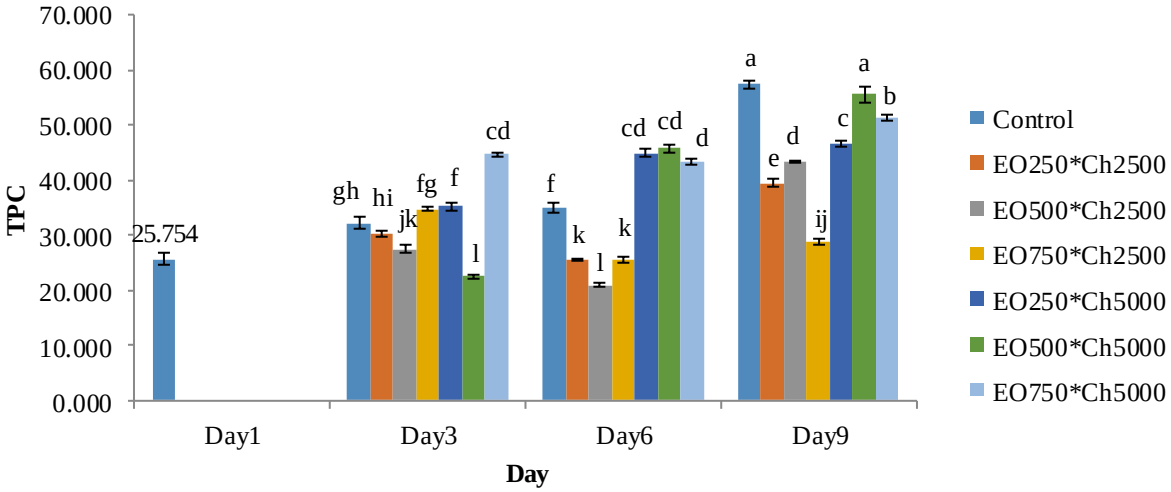


**Fig 1** The amounts of total phenolic contents in different treatments (EO: essential oil and Ch: chitosan nano-emulsion)

### ۳-۲- میزان فلاونوئید کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان فلاونوئید کل نمونه‌های شاهد و تیمار شده تفاوت معنی‌داری با یکدیگر در سطح احتمال ۱درصد داشتند. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میزان فلاونوئید کل نمونه‌ها از ۲/۲۵ تا۷/۳۵ میلی‌گرم کوئرسیتین در ۱ میلی‌لیتر عصاره متغیر بوده و بیشترین آن در اثر متقابل بین تیمار۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس و ۲۵۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان با مقدار۷/۳۵ میلی‌گرم کوئرسیتین در ۱میلی لیتر عصاره و کمترین میزان آن در اثر متقابل بین ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس و۲۵۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان با مقدار۲/۲۵ میلی‌گرم کوئرسیتین در ۱ میلی‌لیتر عصاره مشاهده شد (شکل ۲). مطابق نتایج بدست آمده مقدار فلاونوئید کل در اکثر نمونه‌های تیمار شده به مرور زمان کاهش یافت که این موضوع با توجه به این که مقدار فلاونوئید در میوه‌های نارس بیشتر از میوه‌های کاملا رسیده است [۳۱] قابل توجیه می‌باشد و طبیعی است که میوه-های دارای پوشش خوراکی در مقایسه با میوه‌های بدون پوشش (شاهد) ازتبادلات گازی کمتری با محیط برخوردار بوده و در نتیجه میزان تنفس کمتری دارند بنابراین سرعت رسیدن در آن‌ها کاهش می یابد، زیرا که با گذشت زمان وطی فرآیند پیری به دلیل افزایش تنفس به ویژه در نمونه‌های شاهد موجب از هم پاشیدگی درونی میوه می‌شود.



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25 ]

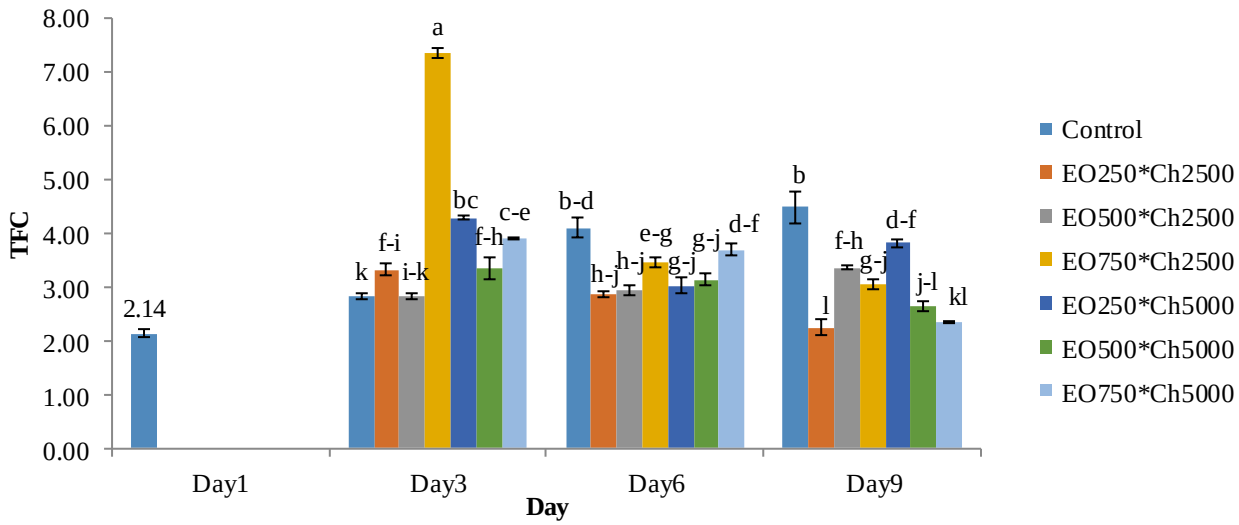


**Fig 2** The amounts of total flavonoid contents in different treatments
**(**EO: essential oil and Ch: chitosan nano-emulsion)

## ۳-۳- میزان آنتوسیانین کل

در این تحقیق میزان سیانیدین ۳-گلوکوزید به عنوان شاخصی برای اندازه گیری غلظت آنتوسیانین نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان تغییرات این شاخص در نمونه‌های تیمار و شاهد نگهداری شده در سردخانه در شکل (۳) نشان داده شده است. همانطور که در شکل مشخص شده است بیشترین میزان آنتوسیانین نمونه‌ها دراثر متقابل میوه‌های تیمار شده با غلظت ۷۵۰ میکرو لیتر بر لیتر اسانس و ۵۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان در روز نهم پس از انبارداری مشاهده شد، کمترین میزان آنتوسیانین نیز درمیوه‌های شاهد روز نهم پس از انبارداری مشاهده شد. محتوای آنتوسیانین میوه‌های تیمار شده اختلاف معنی‌داری با شاهد در سطح احتمال ۱ درصد داشتند (شکل ۳). وجود بالاترین میزان آنتوسیانین کل در نمونه‌های مربوط به تیمار با ۷۵۰ میکرو لیتر بر لیتر اسانس و ۵۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان در روز نهم می‌تواند به دلیل افزایش رسیدگی میوه و همچنین افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز باشد، همچنین در این مطالعه میزان آنتوسیانین در نمونه‌های مربوط به شاهد از روندی نزولی برخوردار بود که می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز باشد، زیرا سلول‌های میوه‌های تیمار نشده به دلیل برخوردار نبودن از هیچ نوع پوششی تبادلات گازی بیشتری با هوا داشته و اکسیژن بیشتری را جهت فعایت آنزیم PPO در اختیار دارند [۲۱] افزایش در محتوای آنتوسیانین کل در طول انبارداری قبلا گزارش شده در تمشک، توت فرنگی و بلوبری-ها [۳۲]. همچنین افزایش در میزان آنتوسیانین کل نمونه‌ها در طول نگهداری ممکن است ناشی از افزایش فعالیت آنزیم PAL باشد که شروع کننده مسیر بیوسنتز فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها است. [۳۳].

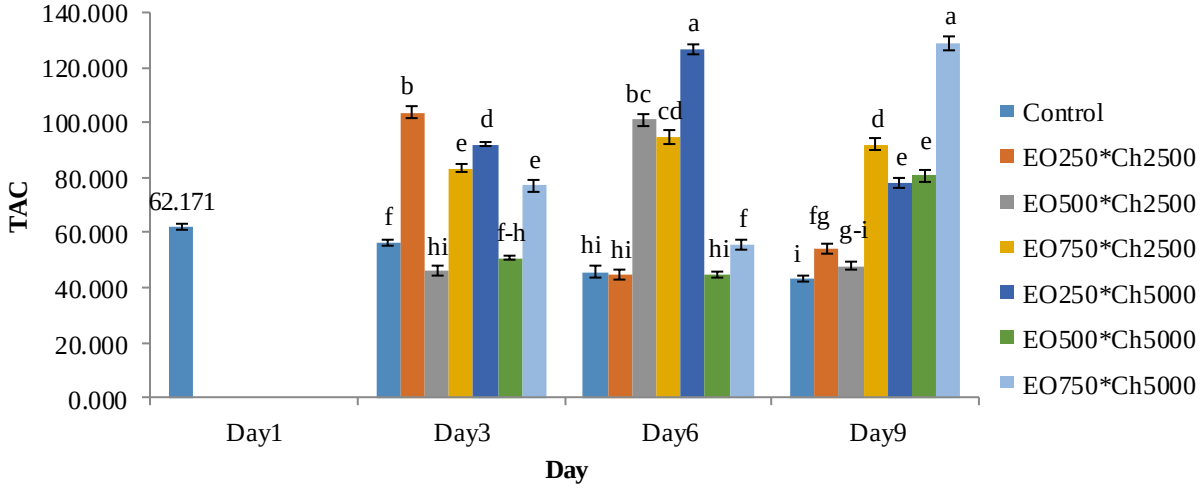


**Fig 3** The amounts of total anthocyanin content in different treatments
(EO: essential oil and Ch: chitosan nano-emulsion**)**

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25 ]

## ۳-٤- فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های تمشک تیمار شده با اسانس و نانو امولسیون کیتوسان و نیز تمشک‌های شاهد در شکل (٤) نشان داده شده است، مطابق نتایج بدست آمده این شاخص( به جز تیمار مربوط به ۷۵۰ میکرو لیتر بر لیتر اسانس و ۵۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان که در روز ششم نسبت به روز سوم کاهشی جزئی داشت) با گذشت زمان در تمام تیمارها روند صعودی داشته و با گذشت زمان افزایش یافت. همچنین درنمونه‌های مربوط به شاهد روز سوم نیز نسبت به روز برداشت کاهشی بسیار جزئی مشاهده شد. در بقیه موارد همه نمونه‌های تیمار شده و شاهد با گذشت زمان از روند صعودی برخوردار بودند. بالاترین میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی دراثر متقابل نمونه‌های تیمارشده با ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس و ۵۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان روز نهم نگهداری و کمترین میزان آن در اثر متقابل نمونه‌های تیمار شده با ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس و ۲۵۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان روز سوم نگهداری مشاهده شد. همچنین تفاوت معنی داری درمیزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های شاهد و تیمارها در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که بری‌ها یک منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند [۳٤ و ۳۵]. این آنتی-اکسیدان‌های طبیعی گیاهی تولید ترکیبات فنلی و آنتوسیانین‌ها را تحریک می‌کنند [۳٦]. همچنین، Wang وهمکاران نیز در سال ۲۰۰۰ عنوان کردند [۳۷] که ارتباط مثبتی بین ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. از سوی دیگر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها می‌تواند به وسیله‌ی فاکتورهایی از جمله شرایط محیطی تحت تاثیر قرار بگیرد [۳۱].

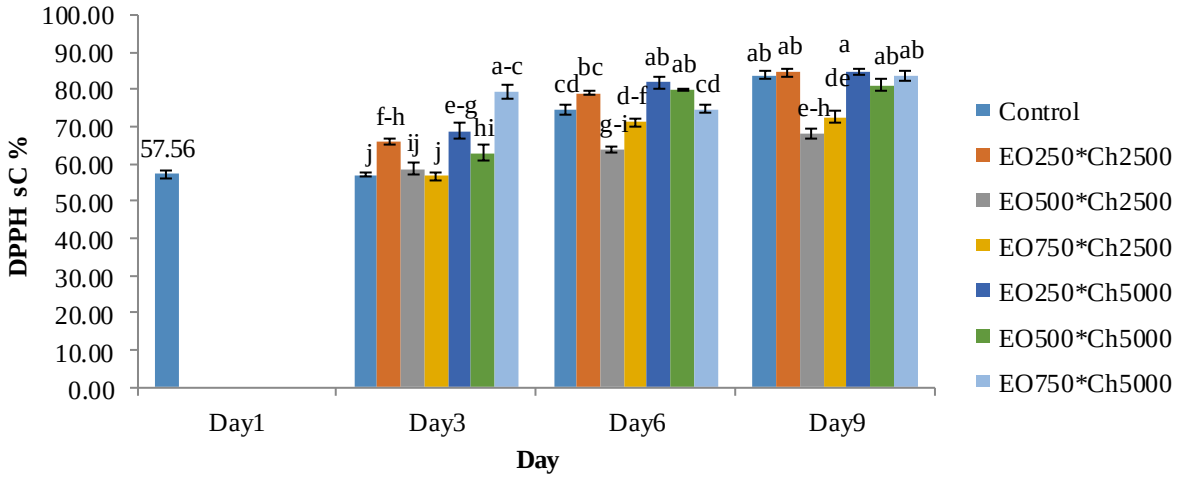


**Fig 4** The antioxidant activity by DPPH assay in different treatments
(EO: essential oil and Ch: chitosan nano-emulsion)

## ۳-۵- فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)

مطابق نتایج بدست آمده فعالیت آنزیم PAL در اکثر تیمارها( به جز در نمونه‌های مربوط به شاهد و اثر متقابل تیمار ۲۵۰ میکرو لیتر بر لیتر اسانس و ۵۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان) در روزهای مختلف نگهداری از روندی صعودی برخوردار بود، همچنین بیشترین فعالیت آنزیمی در بین نمونهها مربوط به تیمار ترکیبی ۵۰۰ میکرو لیتر بر لیتر اسانس و ۲۵۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان در روز نهم پس ازنگهداری با مقدار ۱۳٦/۵۵ نانو مول وزن تر بر دقیقه و کمترین فعالیت آنزیم PAL مربوط به تیمار ترکیبی ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس و ۲۵۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان با مقدار ۳۹/٤۰ نانو مول وزن تر بر دقیقه بود.نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نیز نشان داد که بین نمونه‌های شاهد و تیمار شده تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. طبق نتایج حاصل از این تحقیق در اکثر تیمارها با افزایش مدت زمان نگهداری میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز روندی صعودی به خود گرفت، بیوسنتز فنل‌ها و فلاونوئیدها در گیاهان از طریق مسیر شیکمات-فنیل پروپانوئید-فلاونوئیدها انجام می‌گیرد و PAL یک آنزیم کلیدی در مسیر فنیل پروپانوئیدهاست که فنیل آلانین را به ترنس سینامیک اسید تبدیل می‌کند [۳۸]. پیشنهاد شده است که فعالیت آنزیم PAL یک مسئولیت کلیدی در تنظیم متابولیسم فنیل پروپانوئیدها دارد [۳۹]. نتایج تحقیق



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25 ]

حاضر نشان داد که تیمار اسانس به لیمو و نانو امولسیون کیتوسان به طور معنی‌داری میزان فعالیت آنزیم PAL را با گذشت زمان افزایش دادند که این نتایج با نتایج حاصل از تحقیق حسن پور در سال ۲۰۱٤ [۳۳] مطابقت داشت (شکل ۵).

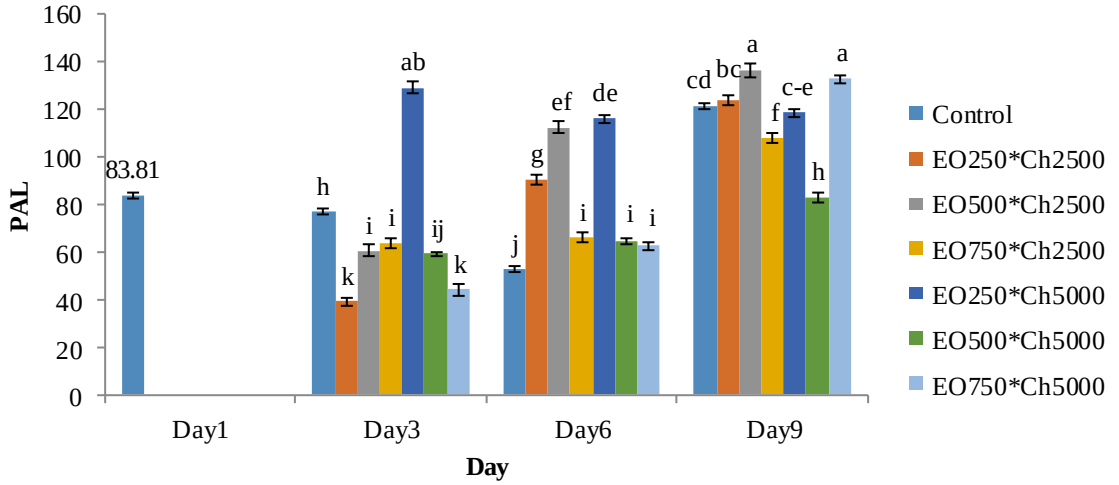


**Fig 5** The phenylalanine ammonilase (PAL) activity in different treatments (EO: essential oil and Ch: chitosan nano-emulsion)

## ۳-٦- فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

نتایج بدست آمده در این تحقیق در رابطه با میزان فعالیت آنزیم گایاکول پر اکسیداز در بین تمشک‌های شاهد و تیمار شده نشانگر متغیر بودن این شاخص از ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۰۵ میکرو مول پر اکسید هیدروژن بر دقیقه بر یک گرم وزن تر بود، بنابراین بالاترین میزان فعالیت این آنزیم در اثرمتقابل تیمار ۷۵۰ میکرو لیتر بر لیتر اسانس و۵۰۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان در روز ششم پس ازنگهداری و پایین ترین میزان آن در اثرمتقابل تیمار۵۰۰ میکرو لیتر بر لیتراسانس و ۲۵۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو امولسیون کیتوسان مشاهده شد (شکل ٦). همچنین با تجزیه واریانس داده‌ها مشخص شد که بین نمونه‌های شاهد و تیمار شده تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت.

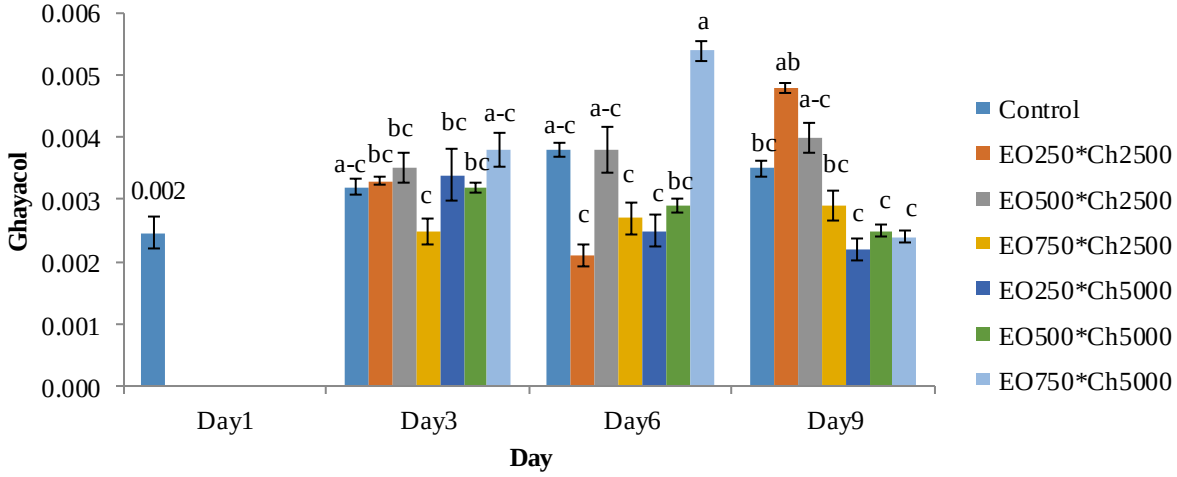


**Fig 6** The guaiacol peroxidase (GPX) activity in different treatments (EO: essential oil and Ch: chitosan nano-emulsion)

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25 ]

## ٤- نتیجه‌گیری کلی

در سال‌های اخیر مطالعات زیادی جهت بهبود خصوصیات فیتوشیمیایی و افزایش عمر پس از برداشت محصولات باغبانی به ویژه محصولات کوتاه عمر صورت گرفته است. در این میان، میوه‌هایی مثل تمشک علاوه بر جنبه‌ی تغذیه ای، از ارزش دارویی بسیار بالایی برخوردار بوده که توجه ویژه محققان پس از برداشت را می‌طلبد. از سوی دیگر با توجه به نگرانی فزاینده‌ی عموم مردم و دانشمندان علوم تغذیه در مورد اثرات سوء مواد شیمیایی نگه دارنده لزوم توجه بیشتر به استفاده از مواد طبیعی جهت نگه‌داری محصولات کشاورزی بیش از پیش احساس می‌گردد. در بین مواد طبیعی نگه دارنده، کیتوسان علاوه بر خاصیت قارچ‌کشی دارای کارایی حفظ اسانس روی میوه‌ها به عنوان مکمل حفظ کیفیت میوه‌ها نیز تلقی می‌گردد. در این مطالعه از نانو امولسیون کیتوسان استفاده شده است که کاهش اندازه‌ی ذرات (فناوری نانو) سبب افزایش کارایی مواد تشکیل دهنده‌ی پوشش می‌شود. با اعمال این دو تیمار می‌توان خصوصیات بیوشیمیایی میوه تمشک از جمله ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد.

## ٥- منابع


[1] Kanegusuku, M., Sbors, D., Stefanelo Bastos, E., Maria de de Souza, M., Cechinel-Filho, V., Augusto Yunes, R., Delle Monache, F., and Niero, R. 2007. Phytochemical and Analgesic Activity of Extract, Fractions and a 19-Hydroxyursane-Type Triterpenoid Obtained from Rubus rosaefolius (*Rosaceae*). Biological and Pharmaceutical Bulletin. 30: 999-1002.

[2] Reddy, M.V.B., Angers, P., Castaigne, F., and Arul1, J. 2000. Chitosan Effects on Blackmold Rot and Pathogenic Factors Produced by Alternaria alternata in Postharvest Tomatoes. American society for horticultural science. 125:742-747.

[3] J. Janisiewicz, W., and Korsten, L. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. Annual Review of Phytopathology. 40:411-441.

[4] Yu, C., Zeng, L., Sheng, K., Chen, F., Zhou, T., Zheng, X., and Yu, T. 2014. γ-Aminobutyric acid induces resistance against *Penicillium expansum* by priming of defence responses in pear fruit. Food chemistry. 159: 29-37.

[5] Fan, G., Zha, J., Du, R., and Gao, L. 2009. Determination of soluble solids and firmness of apples by Vis/NIR transmittance. Journal of Food Engineering. 93: 416-420.

[6] Castelló, M., Fito, P., and Chiralt, A. 2010. Changes in respiration rate and physical properties of strawberries due to osmotic dehydration and storage. Journal of food engineering. 97, 64-71.

[7] Velickova, E., Winkelhausen, E., Kuzmanova, S., Alves, V.D., and Moldão-Martins, M. 2013. Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa* × *Camarosa*) under commercial storage conditions. LWT-Food Science and Technology. 52: 80-92.

[8] Flores, S., Haedo, S., and Campos, C. 2007. Antimicrobial performance of potassium sorbate supported in tapioca starch edible films. European Food Research and Technology. 225: 375-384.

[9] Franssen, L. R., Rumsey, T. R., and Krochta, J. M. 2004. Whey protein film composition effects on potassium sorbate and natamycin diffusion. Journal of Food Science. 69(5): 347-353.

[10] Diab, T., Biliaderis, C., Gerasopoulos, G. D., and Sfakiotakis, E. 2001. Physicochemical properties and application of pullulan edible films and coatings in fruit preservation. Journal of the Science of Food and Agriculture. 81: 988–1000.

[11] Bautista-Banos, S., Hernandez-Lauzardo, A. N., Velazquez-del Valle, M. G., Hernandez- Lopez, M., Ait Barka, E., Bosquez-Molina E., and Wilson, C. L. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. Crop Protection. 25: 108-118.

[12] Kofuji, K., Qian, C. J., Nishimura, M., Sugiyama, I., Murata, Y., and Kawashima, S. 2005. Relationship between physicochemical characteristics and functional properties of chitosan. European Polymer journal. 41: 2784-91.

[13] Liu, J., Zhang, J., and Xia, W. 2008. Hypocholesterolaemic effects of different chitosan samples in vitro and in vivo. Food Chemistry. 107: 419-25.


[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25 ]

leaves. Journal of Pharmacol-online. 1: 7-14.

[24] Shi, J., Yu, J., Pohorly, J., Young, J. C., Bryan, M., and Wu, Y. 2003. Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution. Journal of Food Agric Environ. 1:42–7.

[25] Chung, Y.C., Chen, S.J., Hsu, C.K., Chang, C.T., and Chou, S.T. 2005. Studies on theantioxidative activity of Graptopetalum paraguayense E. Walther. Food Chemistry. 91: 419–424.

[26] Giusti, M.M., and Wrolstad, R.E. 2001. Characterization & measurement of anthocyanins by UV, visible spectroscopy. Current protocols in food analytical chemistry. 47: 777-780.

[27] Chiou, A., Karathanos, V. T., Mylona, A., Salta, F. N., Preventi, F., and Andrikopoulos, N. K. 2007. Currants (*Vitis vinifera L.*) content of simple phenolics and antioxidant activity. Food Chemistry. 102: 516–22.

[28] Karthikeyan, M., Radhika, K., Mathiyazhagan, S., Bhaskaran, R., Samiyappan, R., and Velazhahan, R. 2006. Induction of phenolics and defense-related enzymes in coconut (*Cocos nucifera L.*) roots treated with biocontrol agents. Brazilian Journal of Plant Physiology. 18: 367-377.

[29] Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248–254.

[32] Vu, K.D., Hollingsworth, R.G., Leroux, E., Salmieri, S., and Lacroix, M. 2011. Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries. Food Research International. 44: 198–203.

[30] Bautista-Banos, S. A. N., Hernandez-Lauzardo, M. G., Velazquez-del Valle, M., Hernandez-Lopez, E., Ait Barka, E., Bosquez-Molina, C., and Wilson, L. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. Crop Protection. 25: 108-118.

[31] Safa Eynalladin, M., and Hajilou, j. 2016. Effect of postharvest application of methyl jasmonat on qualitative traits and storage life of strawberry cv. 'camarosa'. Food industry research.

[14] Marguerite, R. 2006. Chitin and chitosan: properties and applications. European Polymer juornal. 31: 603-32.

[15] Eshghi, S., Hashemi, M., Mohammadi, A., Badie, F., Mohammad hosseini, Z., Ahmadi, K., and Ghanati, K. 2013. Effect of nano-emulsion coating containing chitosan on storability and qualitative characteristics of strawberries after picking. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology. 8 (2) :9-19.

[16] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils–a review. Food and chemical toxicology. 46: 446-475.

[17] Vergis, J., Gokulakrishnan, P., Agarwal, R.K., and Kumar, A. 2015. Essential Oils as Natural Food Antimicrobial. Food Science and Nutrition. 55:1320-1323.

[18] Santos-Gomes, P.C., Fernandes-Ferreira, M., and Vicente, A.M.S., 2005. Composition of the essential oils from flowers and leaves of Vervain (*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton) grown in Portugal. J. Essential Oil Research. 17 (1), 73-78.

[19] Shahhoseini, R., Ghorbani, H., Karimi, S.R., Estaji, A., and Moghaddam, M. 2013. Qualitative and Quantitative Changes in the Essential Oil of Lemon Verbena (*Lippia citriodora*) as Affected by Drying Conditio. Drying Technology. 31:1020-1028.

[20] Catherine, A., Dimitra, D., Petros, A. T., Costas, F., and Moschos, P. 2007. Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* H.B.K. (*Verbenaceae*) at two developmental stages. Journal of Biochemical Systematics and Ecology. 35: 831-837.

[21] Vargas, M., Albors, A., Chiralt, A., and Gonzalez- Martinez, C. 2006. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. Postharvest Biology and Technology. 41: 164-71

[22] Perdones, A., Sánchez-González, L., Chiralt, A., Vargas, M. 2012. Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. Postharvest Biology and Technology. 70: 32-41.

[23] Ebrahimzadeh, M. A., Hosseinimehr, S. J., Hamidinia, A., and Jafari, M. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of Feijoa sallowiana fruits peel and

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25 ]

[32] Kalt, W., Forney, C. F., Martin, A., and Prior, R. L. 1999. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47: 4638-4644.

[33] Hassanpour, Hamid. 2015. Effect of Aloe vera gel coating on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activities and decay in raspberry fruit. journal LWT- Food science and Technology. Vol.60(1): 495-501.

[34] Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., and Heinonen, M. 2001. Berry phenolics and their antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49, 4076–4082.

[35] Heinonen, I.M., Lehtonen, J.P., and Hopia, I.A. 1998. Antioxidant Activity of Berry and Fruit Wines and Liquors. Food Chemistry. 46:25-31.

[36] Hassanpour, H., Hamidoghli, Y., Hajilo, J., and Adlipour, M. 2011. Antioxidant capacity and phytochemical properties of cornelian cherry (Cornus mas L.) genotypes in Iran. Scientia Horticulturae. 129: 459–463.

[37] Wang, S.Y., and Lin, H.S. 2000. Antioxidant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. Agricultural and Food Chemistry. 48: 140–146.

[38] Pérez-Balibrea, S., Moreno, D. A., and García-Viguera, C. 2011. Improving the phytochemical composition of broccoli sprouts by elicitation. Food chemistry. 129: 35-44.

[39] Jahangir, M., Abdel-Farid, I. B., Kim, H. K., Choi, Y. H., and Verpoorte, R. 2009. Healthy and unhealthy plants: The effect of stress on the metabolism of *Brassicaceae*. Environ. Experimental of Botany. 67: 23–33.

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25 ]

# Combination effects of Lemon essential oil and chitosan nano-emulsion on enzyme activity, antioxidant capacity and phytochemical content of Raspberry fruit

**Rahmanzadeh Ishkeh, SH. [1], Asghari, M. R. [2], Shirzad, H. [3], Alirezalu, A. [4*]**

1. M. Sc of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran,
2. professor of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran,
3. Assistant Professor of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran,
4. Assistant Professor of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran,

Due to high softness and water content, Raspberry fruit is very perishable and highly sensitive susceptible to fungi leading to a very short shelf life. In this study, the effects of a nano-chitosan based coating in combination with lemon essential oil on extending the shelf life of raspberry were studied. Harvested raspberry fruits were treated with lemon essential oil at 0, 250, 500 and/or 750 µl/l, and then coated with chitosan nano-emulsion at 0, 2500 and 5000 mg/l and stored at 4±2 ℃ with 85-95% RH. Total phenolics and flavonoid content, the concentration of anthocyanins, the antioxidant activity and the activity of PAL and guaiacol peroxidase enzymes were evaluated every three days. The PAL activity and anthocyanin content of fruit treated were significantly higher. The highest PAL activity (136.55 nmoles $min^{-1}$ $mg^{-1}$ of fresh weight) and anthocyanin content (129.22 mg cyanidin 3-galactoside equivalent/1 mL juice) were observed in the 500µll$^{-1}$ EO×2500 mgl$^{-1}$ CH and 750µll$^{-1}$ EO×5000 mgl$^{-1}$ CH treatments on the 9th day, respectively. Also the highest total phenolic content (57.53 mg GAE/1 mL juice) was observed in the control treatment on the 9th day. The values of total flavonoid content showed a downward trend over the storage period for all treatments. Coating the perishable fruits of raspberry with a nano-chitosan based coating containing lemon essential oil is introduced as a safe treatment for increasing the phytochemical compounds such as total phenolic and flavonoid contents and the activity of the enzymes involved in the biosynthesis of phenolic compounds such as PAL.

**Key words**: Raspberry, Activity antioxidant, Phenolic compounds, Flavenoid, PAL enzayme

* Corresponding Author E-Mail Address: a.alirezalu@urmia.ac.ir

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-25 ]