

اثر پرتو فرابنفش B بر میزان برخی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان، فعالیت آنزیم فیل‌آلانین آمونیاکاز و پروتئین کل در میوه رسیده گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) پس از برداشت

آزاده بی‌جامی، فرخنده رضائزاد*^۱ و حسین‌علی ساسان^۱
^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

چکیده

پرتو UV-B پرتو انرژی‌ترین جزء نور خورشید است که به سطح زمین می‌رسد. گیاهان که قابلیت حرکت ندارند، بیش از سایر موجودات در معرض این پرتو قرار دارند. در این مطالعه اثر دوزهای متفاوت (۲۸۰-۳۲۰) UV-B با استفاده از زمان‌های مختلف (۱، ۲ و ۴ ساعت) بر میزان برخی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان (ترکیبات فنلی کل، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و لیکوپن)، فعالیت آنزیمی و پروتئین در میوه‌های رسیده گوجه‌فرنگی پس از برداشت مورد مطالعه قرار گرفت. اندازه‌گیری میزان فلاونوئیدها نشان داد که در هر سه تیمار میزان فلاونوئیدها در مقایسه با شاهد افزایش یافته است. سنجش غلظت آنتوسیانین‌ها نیز نتایج مشابهی را نشان داد. اندازه‌گیری ترکیب‌های فنلی کل و سنجش میزان لیکوپن، افزایش میزان آنها را در تیمارهای ۲ و ۴ ساعت نسبت به نمونه‌های شاهد نشان داد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فیل‌آلانین آمونیاکاز و پروتئین به ترتیب افزایش و کاهش میزان آنها را تحت تیمار UV-B نشان داد. در مجموع، نتایج حاصل نشان داد که کاربرد پرتو UV-B سبب افزایش ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان در میوه رسیده گوجه‌فرنگی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پرتو UV-B، ترکیبات آنتی‌اکسیدان، گوجه‌فرنگی

مقدمه

نسبت به طول موج‌هایی که در ناحیه ۲۸۰ تا ۳۲۰ نانومتر قرار می‌گیرند، حساس هستند. آسیب‌های ناشی از تابش UV-B بر گیاهان به علت نیاز آنها به نور خورشید برای بقا و عدم توانایی گیاهان در حرکت باید بیشتر مورد توجه قرار گیرد (Mpoloka, 2008). بنابراین در گیاهان ساز و کارهای دفاعی، شامل ساز و کارهای آنزیمی و غیر آنزیمی

به طور کلی، طیف فرابنفش به سه ناحیه تقسیم می‌شود: ناحیه UV-C (طول موج ۲۲۰ تا ۲۸۰ نانومتر)، ناحیه UV-B (طول موج ۲۸۰ تا ۳۲۰ نانومتر) و ناحیه UV-A (طول موج ۳۲۰ تا ۴۰۰ نانومتر). تابش UV-B پرتو انرژی‌ترین جزء نور خورشید است که به سطح زمین می‌رسد. سیستم‌های زیستی

این زمینه مورد توجه قرار گرفته است. نتایج حاصل از مطالعات همه‌گیرشناسی نشان داده است که گوجه‌فرنگی و محصولات آن نقش حفاظتی مهمی را در برابر اشکال مختلف سرطان، به ویژه سرطان پروستات و بیماری‌های قلبی-عروقی ایفا می‌کنند. میوه گوجه‌فرنگی منبع مهمی از آنتی‌اکسیدان‌ها است که انواع مهم آن شامل رنگدانه‌های کاروتنوئیدی (به ویژه لیکوپن)، آسکوربیک اسید و ترکیب‌های فنلی هستند (Jagadeesh *et al.*, 2009). لیکوپن کاروتنوئید اصلی در گوجه‌فرنگی است که بیش از ۸۰ درصد کاروتنوئیدهای موجود در میوه به طور کامل رسیده گوجه‌فرنگی را تشکیل می‌دهد (Dorais *et al.*, 2008). با توجه به خواص دارویی و آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنلی و لیکوپن در سلامتی انسان و همچنین، با توجه به نقش دفاعی که این ترکیب‌ها در برابر پرتو فرابنفش برای گیاهان ایفا می‌نمایند، می‌توان به طور مؤثر از پرتو UV برای افزایش این ترکیب‌های مفید در گیاهان بهره برد. بر این اساس، در این پژوهش اثر سه تیمار مختلف UV-B بر افزایش لیکوپن و برخی ترکیب‌های ثانویه دارویی، شامل فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها و نیز فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز و پروتئین کل در میوه رسیده گوجه‌فرنگی مطالعه گردید.

مواد و روش‌ها

میوه‌های گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* var. philippos) از گلخانه‌ای تجاری واقع در جاده هفت باغ ماهان در استان کرمان، در مرحله‌ای که میوه‌ها به طور کامل رسیده و به رنگ قرمز بودند، برداشت شدند و به مدت ۱۴ روز در چهار گروه جداگانه تحت تیمارهای

تکامل یافته است که آنها را در مقابل این پرتو حفاظت می‌کند (Hollosy, 2002). مکانیسم‌های آنزیمی شامل فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز، گلوکاتینون، ردوکتاز و غیره است (Mittler, 2002). در حفاظت غیر آنزیمی تولید آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی، چون آسکوربیک اسید، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و آلکالوئیدها افزایش می‌یابد. مؤثرترین مکانیسم حفاظتی غیر آنزیمی تحریک شده تحت یک رژیم نوری، بیوسنتز فلاونوئیدها و ترکیب‌های فنلی جذب‌کننده UV-B است (Landry *et al.*, 1995). مطالعه‌های بسیاری اثبات کرده است که تجمع فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها توسط گیاه، مکانیسمی حفاظتی را در برابر تابش UV-B ایجاد می‌کند. فلاونوئیدها در جنبه‌های بسیاری از رشد و نمو گیاهان، از جمله مقاومت در برابر پاتوژن‌ها، تولید رنگدانه، حفاظت در برابر فرابنفش، رشد کرده و نمو پوشش دانه دخالت می‌کنند (Winkel-Shirley, 2001). این ترکیب‌ها به ویژه گروهی که متعلق به رده فلاونول‌ها هستند (مانند کامفرول و کوئرستین) به علت ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی و توانایی حفاظت از سیستم آنزیمی به صورت *in vitro* در رژیم غذایی انسان برای حفظ سلامتی اهمیت ویژه‌ای دارند. افزایش در جذب روزانه فلاونوئیدهای معین می‌تواند به کاهش ۳۰ تا ۴۰ درصدی در بیماری‌های تصلب شرایین و سرطان بیانجامد (Bovy *et al.*, 2002). با توجه به این یافته‌ها، علاقه روزافزونی در جهت پرورش و رشد محصولات غذایی غنی از فلاونوئیدها به وجود آمده است. گوجه‌فرنگی گیاهی متعلق به تیره سیب‌زمینی (Solanaceae) و یکی از محصولات غذایی پر مصرف در سراسر جهان است که در

ضرب خاموشی (ε) ۳۳۰۰۰ سانتی‌متر بر مول در نظر گرفته شد.

$$A = \epsilon bc$$

$$A = \text{جذب؛}$$

$$b = \text{عرض کووت؛}$$

$$c = \text{غلظت محلول مورد نظر.}$$

سنجش میزان ترکیب‌های فنلی کل: این

اندازه‌گیری بر اساس روش Folin-Ciocalteu به صورت زیر انجام شد (Ronald and Laima, 1999). ۰/۱ گرم از هر نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد عصاره‌گیری و عصاره حاصل به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار داده شد. سپس به محلول حاصل ۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۰/۵ میلی‌لیتر فولین ۵۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد اضافه شد. شدت جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر (WPA light wave مدل S2000) در طول موج ۷۲۵ نانومتر پس از یک ساعت نگهداری در تاریکی خوانده شد. برای محاسبه غلظت ترکیب‌های فنلی از منحنی استاندارد گالیک اسید استفاده شد.

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL):

۰/۳ گرم از بافت تازه میوه را توزین کرده و در ۶/۵ میلی‌لیتر بافر Tris-HCl ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۸/۸) که حاوی بتا مرکاپتواتانول ۱۵ میلی‌مولار بود، ساییدیم و عصاره حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در ۵۰۰۰ g سانتریفیوژ گردید. محلول رویی برای شناسایی استفاده شد. مخلوطی از ۱ میلی‌لیتر بافر استخراجی بالا، ۰/۵ میلی‌لیتر فنیل آلانین ۱۰ میلی‌مولار، ۰/۴ میلی‌لیتر آب و ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد. سپس واکنش توسط ۰/۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۶ مولار متوقف گردید. در

زمانی صفر (شاهد)، ۱، ۲ و ۴ ساعت UV-B با دوزهای دریافتی صفر (شاهد)، ۷/۲، ۱۴/۴ و ۲۸/۸ کیلوژول بر متر مربع در روز قرار گرفتند. پرتودهی با استفاده از لامپ فرابنفش (UV-B) از شرکت UVitec (Cambridge) مدل LF-۲۱۵ با طول موج ۳۱۲ نانومتر در همه سطوح میوه انجام شد. در هر تیمار سه تکرار استفاده شد. پس از این مدت، نمونه‌ها در نیتروژن مایع منجمد گردید. از این نمونه‌ها برای اندازه‌گیری مؤلفه‌های مورد نظر استفاده شد.

سنجش میزان فلاونوئید کل: میزان فلاونوئید کل

با روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید اندازه‌گیری شد (Toor and Savage, 2005). ۰/۱ گرم از نمونه‌های گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر متانول عصاره‌گیری شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره حاصل، آب مقطر اضافه شد تا حجم ۵ میلی‌لیتر به دست آید. سپس به محلول حاصل ۰/۳ میلی‌لیتر NaNO_2 ۵ درصد و پس از ۵ دقیقه، ۰/۶ میلی‌لیتر AlCl_3 ۱۰ درصد اضافه گردید. در نهایت ۲ میلی‌لیتر NaOH ۱ مولار و ۲ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و شدت جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین به دست آمد.

سنجش میزان آنتوسیانین‌ها: برای اندازه‌گیری

مقدار آنتوسیانین‌ها از روش Wagner (۱۹۷۹) استفاده شد. ۰/۱ گرم از بافت تازه میوه در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و کلریدریک اسید خالص به نسبت حجمی ۹۹ به ۱) به طور کامل ساییده و عصاره حاصل در لوله‌های آزمایش در پیچ‌دار ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت،

درصد انجام و برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

اثر پرتو فرابنفش بر میزان فلاونوئیدها: مقایسه مقدار فلاونوئیدها در نمونه شاهد و تیمارهای UV-B میوه گوجه‌فرنگی نشان می‌دهد که مقدار فلاونوئیدها در هر سه تیمار در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری داشته است، اما این افزایش در بین سه تیمار معنی‌دار نیست (شکل ۱). بنابراین، افزایش مدت زمان تیمار اثر قابل ملاحظه‌ای بر میزان فلاونوئیدها نداشته است (شکل ۱).

اثر پرتو UV-B بر میزان آنتوسیانین‌ها: افزایش معنی‌دار مقدار آنتوسیانین‌ها در نمونه‌های تحت تیمار در مقایسه با نمونه شاهد مشاهده شد (شکل ۲). افزایش مدت زمان تیمار از ۱ ساعت به ۲ ساعت سبب افزایش معنی‌دار مقدار آنتوسیانین‌ها شد، اما این افزایش در تیمار ۴ ساعت معنی‌دار نیست (شکل ۲).

اثر پرتو فرابنفش بر میزان ترکیبات فنلی کل: تیمارهای ۲ و ۴ ساعت پرتو فرابنفش سبب افزایش معنی‌دار میزان ترکیب‌های فنلی در مقایسه با شاهد شد، اما تیمار ۱ ساعت تفاوت آشکاری را نشان نداد؛ ضمن این که افزایش زمان نیز تفاوت معنی‌داری را بین تیمارها ایجاد نکرده است (شکل ۳).

اثر پرتو UV-B بر میزان فعالیت آنزیم PAL:

تیمارهای ۱ و ۲ ساعت پرتو UV-B تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم PAL نسبت به شاهد ایجاد نکرد، اما افزایش مدت زمان تیماردهی به ۴ ساعت سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم شد (شکل ۴).

نهایت، به محلول حاصل ۱۵ میلی‌لیتر اتیل استات افزوده شد. فاز روغنی تشکیل شده جدا و باقیمانده در دمای آزمایشگاه قرار داده شد تا تبخیر شود. سپس باقیمانده، که همان سینامیک اسید است در ۳ میلی‌لیتر سود ۰/۰۵ مولار حل شد و غلظت سینامیک اسید با اندازه‌گیری میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی معادل $9500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ به دست آمد. فعالیت این آنزیم بر اساس سرعت تبدیل فنیل آلانین به ترانس سینامیک اسید تعیین می‌شود. یک واحد از فعالیت PAL معادل ۱ میکرومول از سینامیک اسید تولید شده در یک دقیقه است (Wang et al., 2006).

سنجش میزان لیکوپن: میزان لیکوپن با استفاده از مخلوط هگزان، استون و اتانول و با روش Fish و همکاران (۲۰۰۲) اندازه‌گیری شد.

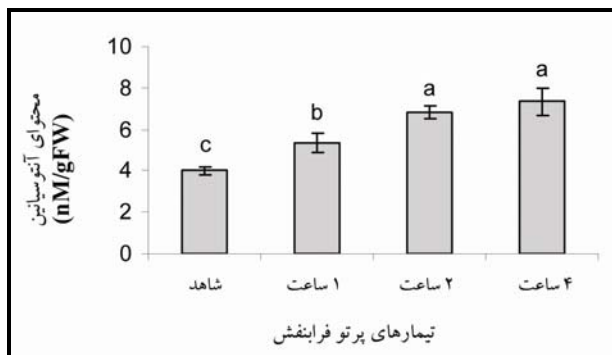
پروتئین کل: ۰/۱ گرم از هر نمونه گیاهی پس از توزین، در ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷/۲ ساییده و عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر بافر برادفورد به ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی افزوده و بی‌درنگ مخلوط گردید. پس از ۵ دقیقه شدت جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. از آلبومین گاوی برای رسم منحنی استاندارد و تعیین غلظت پروتئین‌ها استفاده گردید.

آزمون آماری

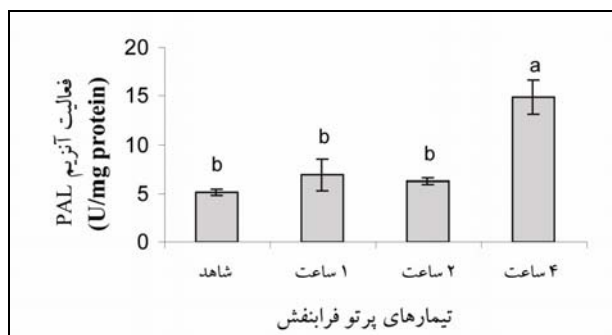
این آزمایش در قالب طرح به طور کامل تصادفی انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۱/۵) و آزمون ANOVA صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵

اثر پرتو UV-B بر میزان پروتئین: میزان پروتئین

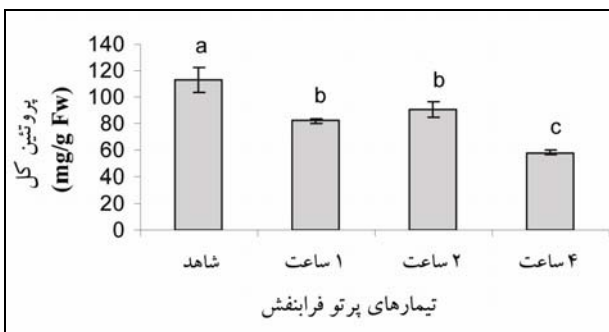
در نمونه‌های تحت تیمار نسبت به شاهد کاهش یافته است، که این کاهش در تیمار ۴ ساعت معنی‌دار است (شکل ۶).



شکل ۶- اثر مقادیر مختلف پرتو UV-B بر محتوای پروتئین، داده‌ها شامل میانگین \pm خطای استاندارد از سه تکرار هستند و با ضریب اطمینان ۹۵ درصد مطالعه شده‌اند.



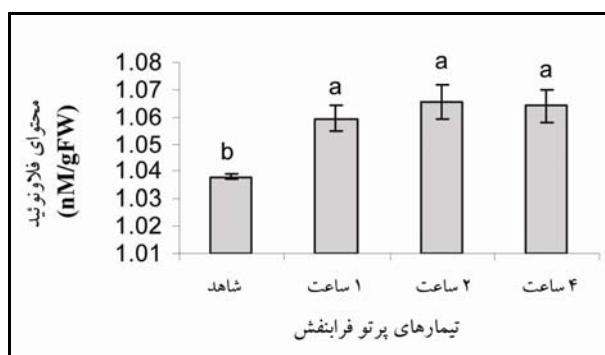
شکل ۴- اثر مقادیر مختلف پرتو UV-B بر فعالیت آنزیم PAL، داده‌ها شامل میانگین \pm خطای استاندارد از سه تکرار هستند و با ضریب اطمینان ۹۵ درصد مطالعه شده‌اند.



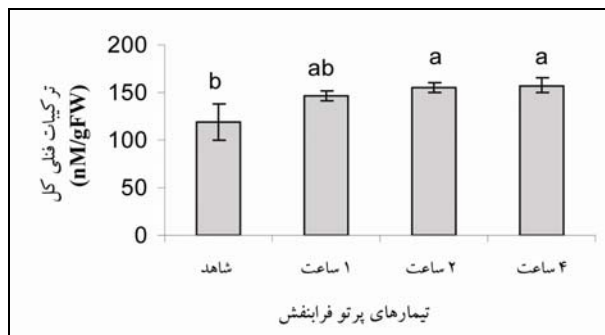
شکل ۶- اثر مقادیر مختلف پرتو UV-B روی میزان پروتئین کل، داده‌ها شامل میانگین \pm خطای استاندارد از سه تکرار هستند و با ضریب اطمینان ۹۵ درصد مطالعه شده‌اند.

اثر پرتو UV-B بر میزان لیکوپن: مقایسه مقدار

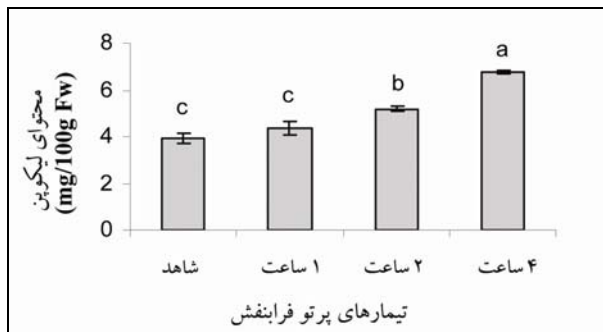
لیکوپن در نمونه‌های تیمار و شاهد نشان می‌دهد که افزایش زمان تیماردهی به ۲ و ۴ ساعت سبب افزایش معنی‌دار مقدار لیکوپن نسبت به شاهد شده است که بیشینه میزان آن تحت تیمار ۴ ساعت است (شکل ۵).



شکل ۱- اثر مقادیر مختلف پرتو UV-B بر فلاونوئیدها، داده‌ها شامل میانگین \pm خطای استاندارد از سه تکرار هستند و با ضریب اطمینان ۹۵ درصد مطالعه شده‌اند.



شکل ۳- اثر مقادیر مختلف پرتو UV-B بر ترکیب‌های فنلی کل، داده‌ها شامل میانگین \pm خطای استاندارد از سه تکرار هستند و با ضریب اطمینان ۹۵ درصد مطالعه شده‌اند.



شکل ۵- اثر مقادیر مختلف پرتو UV-B روی میزان لیکوپن، داده‌ها شامل میانگین \pm خطای استاندارد از سه تکرار هستند و با ضریب اطمینان ۹۵ درصد مطالعه شده‌اند.

بحث

بعدی و استفاده از زمان‌های طولانی‌تر و نیز استفاده از یک زمان با شدت‌های مختلف لازم می‌شود. آنتوسیانین‌ها از ترکیب‌های فنلی مشتق شده از مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها هستند که خاصیت فیلتر کردن پرتو UV را دارند (Greenberg *et al.*, 1996). خواص آنتی‌اکسیدانی آنتوسیانین‌ها نیز در برخی مطالعات گزارش شده است. افزایش میزان آنتوسیانین‌ها تحت تنش UV-B ناشی از تحریک بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های درگیر در مسیر بیوسنتز این ترکیبات است. اثر دوزها و زمان‌های مختلف پرتو UV-C بر افزایش میزان آنتوسیانین‌ها در توت‌فرنگی گزارش شده است (Erkan *et al.*, 2008). نتایج مشابهی توسط Perkinz-Veazie و همکاران در سال ۲۰۰۸ از اثر پرتو UV-C بر زغال اخته به دست آمد. افزایش میزان آنتوسیانین‌ها در میوه گوجه‌فرنگی مورد مطالعه در این تحقیق، در پاسخ به پرتو فرابنفش نیز بیانگر نقش دفاعی گیاه در مقابله با این پرتو بوده است و به احتمال خطرات ناشی از تابش پرتو UV-B را کاهش می‌دهد و از آنجایی که بسیاری از آنتوسیانین‌ها نیز دارای خواص دارویی هستند؛ بنابراین، با استفاده از پرتو UV شاید بتوان اقدامی عملی در جهت افزایش ماده مؤثر دارویی در بسیاری از گیاهان انجام داد. ترکیبات فنلی به عنوان آنتی‌اکسیدان نقش مهمی را در تغذیه بشر ایفا می‌کنند. پرتو UV به طور قابل توجهی بر محتوای فنلی میوه‌های گوجه‌فرنگی اثر می‌گذارد (Luthria *et al.*, 2006). نتایج Jagadeesh و همکاران در سال ۲۰۰۹ افزایش میزان ترکیبات فنلی را در میوه‌های گوجه‌فرنگی سبز بالغ، در اثر کاربرد پرتو UV-C پس از برداشت نشان داد. افزایش میزان ترکیب‌های فنلی کل که در تیمار با پرتو UV-B در میوه گوجه‌فرنگی

افزایش مقدار فلاونوئیدها در تیمار با پرتو UV از ویژگی‌های دفاعی برخی گیاهان در برابر پرتو فرابنفش است. این ترکیب‌ها یا با جذب پرتو UV و جلوگیری از نفوذ آن به درون بافت‌های حساس از ایجاد خسارت جلوگیری می‌کنند و یا نقش آنتی‌اکسیدانی در برابر رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش UV در گیاه ایفا نموده، تنش اکسیداتیو را تخفیف می‌دهند. افزایش در غلظت فلاونوئیدها ناشی از فعالیت زیاد آنزیم PAL و یا سرعت بالای سنتز این آنزیم تحت تنش UV است (Guo and Wang, 2008). گزارش‌ها نشان داده که مقدار و فعالیت آنزیم چالکون سنتاز که نقش اساسی در بیوسنتز فلاونوئیدها دارد نیز تحت تأثیر پرتو UV افزایش می‌یابد (Sakihama *et al.*, 2002). افزایش میزان فلاونوئیدها تحت اثر پرتو UV، در گیاهان اسفناج (Smirnoff and Wheelev, 2000) و اطلسی (Ryan *et al.*, 2002) گزارش شده است. Brandt و همکاران در ۱۹۹۵ افزایش میزان این ترکیبات در پوست میوه گوجه‌فرنگی را پس از تیمار با پرتو UV-B نشان دادند. تحقیق حاضر نشان داد که میوه گوجه‌فرنگی برای مقابله با پرتو UV-B به مقدار فلاونوئیدهای خود می‌افزاید و از آنجایی که برخی فلاونوئیدها نقش دارویی دارند، این احتمال وجود دارد که با شناسایی گیاهان حاوی این ترکیب‌ها و تیمار آنها با پرتو UV بتوان تولید طبیعی این قبیل مواد را افزایش داد. در این مطالعه، استفاده از زمان‌های مختلف نشان داد که بین زمان‌های مختلف استفاده شده تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. در این راستا، به منظور کسب اطلاعات بیشتر درباره افزایش میزان فلاونوئیدها تحت UV-B، انجام مطالعات

سال ۲۰۰۹ نشان داد که کاربرد پرتو UV-C پس از برداشت، محتوای لیکوپین میوه گوجه‌فرنگی را افزایش می‌دهد. مقادیر کم پرتو فرابنفش سبب افزایش تولید پروتئین‌هایی می‌شود که در گیاه مقاومت بیشتری در برابر تنش ایجاد می‌کنند، اما مقادیر بالای آن باعث تخریب پروتئین‌های سلول، از جمله پروتئین‌های اسکلت سلولی می‌شود. پرتو UV علاوه بر اینکه بسیاری از پروتئین‌ها را تخریب می‌کند، در مسیر سنتز آن‌ها نیز اختلال ایجاد کرده، سنتز آن‌ها را کاهش می‌دهد (Ulm and Nagy, 2005). تیمارهای مختلف پرتو UV-B که باعث کاهش در میزان پروتئین‌ها شده است، نشان‌دهنده پیشی گرفتن تخریب پروتئین‌ها، از ساخت آن‌هاست.

جمع‌بندی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که پرتو UV-B سبب افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌های فنلی شده است که این افزایش احتمالاً از افزایش میزان فعالیت آنزیم PAL و یا سایر آنزیم‌های درگیر در مسیر بیوسنتز فنیل پروپانویدها ناشی شده است که به مطالعات بعدی نیاز دارد.

تشکر و قدردانی

خالصانه‌ترین مراتب قدردانی و تشکر خود را محضر استادان گرانقدر و بزرگوارم، سرکار خانم دکتر فرخنده رضائزاد و جناب آقای دکتر حسین علی ساسان تقدیم می‌دارم؛ استادانی که دلسوزانه و با صبر و حوصله کم نظیر، همواره راهنمایم بوده‌اند.

مشاهده شد، می‌تواند از افزایش بیان ژن‌های درگیر در مسیر بیوسنتز فنیل پروپانویدها و به ویژه افزایش بیان ژن مسؤل سنتز آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL)، که اولین آنزیم در مسیر سنتز ترکیب‌های فنلی است، ناشی شده باشد (Chang *et al.*, 2008). فنیل آلانین آمونیا لایز، آنزیمی کلیدی در متابولیسم فنیل پروپانویدها است که تبدیل L-فنیل آلانین به ترانس-سینامیک اسید، اولین مرحله در متابولیسم فنولیک‌ها را انجام می‌دهد. این مرحله یک واکنش بیوشیمیایی کلیدی در نمو و دفاع گیاهان به شمار می‌رود (Chang *et al.*, 2008). نقش تحریکی UV-C بر فعالیت آنزیم PAL در هلو گزارش شده است (EI Ghaouth *et al.*, 2003). مطالعات نشان داده است که فعالیت PAL در بافت‌های رویشی برنج، ذرت و شلغم که در معرض UV-B قرار گرفته بودند، تحریک می‌شود (Singh *et al.*, 1999). نتایج این پژوهش نیز افزایش میزان فعالیت PAL را تحت تیمار ۴ ساعت UV در مرحله قرمز، نشان می‌دهد. بنابراین، افزایش میزان ترکیبات فنلی کل، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها می‌تواند به افزایش میزان فعالیت آنزیم PAL مربوط باشد. کاروتنوئیدها و به ویژه لیکوپین برای تعیین ارزش تغذیه‌ای میوه گوجه‌فرنگی ضروری و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند. لیکوپین اصلی‌ترین کاروتنوئید در گوجه‌فرنگی، و رنگ قرمز میوه به علت وجود این ترکیب است. این ترکیب آنتی‌اکسیدانی قوی است که باعث از بین رفتن رادیکال‌های آزاد می‌شود و همچنین، در بهبود بیماری دیابت، سرطان پوست، مثنه، سینه، گردن رحم و دستگاه گوارش مؤثر است. (Hedges and Lister, 2005). نتایج Liu و همکاران در

منابع

- Bovy, A. R., Vos, R., Kemper, M., Schijlen, E., Pertejo, M. A., Muir, S., Collins, G., Robinson, S., Verhoeyen, M., Hughes, S., Santos-Buelga, C. and Tunen, A. (2002) High-Flavonol Tomatoes Resulting from the Heterologous Expression of the Maize Transcription Factor Genes LC and C1. *The Plant Cell* 14: 2509-2526.
- Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Brandt, K., Giannini, A. and Lercari, B. (1995) Photomorphogenic responses to UV radiation III: a comparative study of UVB effects on anthocyanin and flavonoid accumulation in wild type and aurea mutant of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Photochemistry and Photobiology* 62: 1081-1087.
- Chang, A., Lim, M. H., Lee, S. W., Robb, E. J. and Nazar, R. N. (2008) Tomato PAL gene family: highly redundant but strongly underutilized. *Journal of Biology and Chemistry* 283: 33591-33601.
- Dorais, M., Ehret, D. L. and Papadopoulos, A. P. (2008) Tomato (*Solanum Lycopersicum*) health components: from the seed to the consumer. *Phytochemistry Review* 7: 231-250.
- El Ghaouth, A., Wilson, C. L. and Callahan, A. (2003) Induction of chitinase, beta- 1, 3 glucanase and phenylalanine ammonia lyase in peach fruit by UV-C treatment. *Phytopathology* 9: 349-355.
- Erkan, M., Wang, S. Y. and Wang, C. Y. (2008) Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology* 48: 163-171.
- Fish, W., Perkins-Veazie, P. and Collins, J. K. (2002) A Quantitative Assay for Lycopene That Utilizes Reduced Volumes of Organic Solvents. *Journal of Food Composition and Analysis* 15: 309-317.
- Greenberg, B. M., Wilson, M. I., Gerhardt, K. E. and Wilson, K. E. (1996) Morphological and physiological responses of *Brassica napus* to ultraviolet radiation: photomodification of ribulose 1-5-bis phosphate Carboxylase/oxygenase and potential acclimation processes. *Plantphysiology* 148: 78-85.
- Guo, J. and Wang, M. H. (2008) Characterization of the phenylalanine ammonia-lyase gene (SIPAL5) from tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Molecular Biology Report* 36(6):1579-85.
- Hedges, L. J and Lister, C. E. (2005) Nutritional attributes of tomatoes. New Zealand Institute for Crop and Food Research, New Zealand.
- Hollosy, F. (2002) Effects of ultraviolet on plant cells. *Micron* 33: 179-197.
- Jagadeesh, S. L., Charles, M. T., Garipey, Y., Goyett, B., Raghavan, G. S. and Vigneault, C. (2009) Influence of Post harvest UV-C Hormesis on the Bioactive Components of Tomato during Post-treatment Handling. *Food Bioprocess Technology* 1-10.
- Landry, L., Chapple, C. and Last, R. (1995) *Arabidopsis* mutants lacking phenolic sunscreens exhibit enhanced ultraviolet-B injury and oxidative damage. *Plant Physiology* 109: 1159-1166.
- Liu, L. H., Zabar, D., Bennett, L. E., Aguas, P. and Woonton B. W. (2009) Effects of UV-C, red light and sunlight on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during post-harvest storage. *Food Chemistry* 115: 495-500.
- Luthria, D. L., Mukhopadhyay, S. and Krizek, D. T. (2006) Content of total phenolics and phenolic acids in tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) Fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 771-777.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Sciences* 7: 405-410.
- Mpoloka, S. W. (2008) Effects of prolonged UV-B exposure in plants. *African Journal of Biotechnology* 7: 4874-4883.
- Perkins- Veazie, P., Collins, J. K. and Howard; L. (2008) Blueberry fruit response to postharvest

- application of ultraviolet radiation. *Postharvest Biology and Technology* 4: 280-285.
- Ronald, S. F. and Laima, S. K. (1999) Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agriculture* 1: 1-5.
- Ryan, K. G., Ewald, E., Swinny, E., Markham, K. R. and Winefield, C. (2002) Flavonoid gene expression and UV photoprotection in transgenic and mutant *Petunia* leaves. *Phytochemistry* 59: 23-32
- Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C. and Yamasaki, H. (2002) Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolic-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 177: 67-80
- Singh, A., Selvi, M. T. and Sharma, R. (1999) Sunlight-induced anthocyanin pigmentation in maize vegetative tissues. *Journal of Experimental Botany* 50:1619-1625.
- Smirnoff, N., Wheeler, G. L. (2000) Ascorbic acid in plants: Biosynthesis and function. *Critical Reviews in plant sciences* 19(4): 267-290
- Toor, R. K. and Savage, G. P. (2005) Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International* 38: 487-494.
- Ulm, R. and Nagy, F. (2005) Signalling and gene regulation in response to ultraviolet light. *Plant Biology* 8: 477-482.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutralsugars, free amino acids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology* 64: 88-93.
- Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y. and Tan, R. Y. (2006) Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and Taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures. *Nitric Oxide* 15: 351-358.
- Winkel-Shirley, B. (2001) Flavonoid biosynthesis: a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology. *Plant Physiology* 126: 485-493.

The effects of post-harvest UV-B radiation on some antioxidant compounds, PAL activity and total protein contents of ripe red tomato (*Lycopersicon esculentum*)

Azadeh Bijami, Farkhondeh Rezanejad* and Hossein Ali Sasan

Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University, Kerman

Abstract

Ultraviolet radiation is a part of sunlight spectrum and is divided into three bands A, B, and C, due to the wavelength. Plants which are incapable of movements, protect themselves against this kind of radiation, by two enzymatic and non-enzymatic mechanisms. These mechanisms can be used in order to increase medicinal products. In This study, the effects of different UV-B dosages (application of different post harvest illumination durations ; 1, 2 and 4 hours) on the content of some antioxidant compounds (i.e., flavonoids, anthocyanin, total phenolic and lycopene contents), activity of PAL and total protein of ripe red tomato fruit (*Lycopersicon esculentum* Mill.) were studied. The amount of flavonoids increased in comparison with the control, in all treatments. The changes of anthocyanin content was similar to that of the flavonoids. UV treatment of 2 and 4 hours increased total phenolic compounds. Similar results were observed in lycopene content under UV-B. This radiation increased PAL activity, but decreased protein content. Thus, it is concluded that exposure of tomato fruit to UV-B increased antioxidant compounds.

Key word: UV-B radiation, Antioxidant compounds, Tomato

* Correspong Author: frezanejad@mail.uk.ac.ir