مجله به‌زراعی کشاورزی، دوره ۱۴، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۱، صص ۵۵-۴۳

ترکیب‌های فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برخی ارقام سیب ایرانی و تجاری در استان آذربایجان غربی

مریم رفیعی [۱]، لطفعلی ناصری [۲*]، داود بخشی [۳] و اسد علیزاده [۴]

(E-mail: l.naseri@urmia.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۴/۰۲ و تاریخ پذیرش: ۹۱/۰۷/۱۵

چکیده

در این مطالعه، میزان فنل‌کل، کلروژنیک‌اسید، کاتچین، کوئرستین، فلوریدزین، سیانیدین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست و گوشت شش رقم سیب (*Malus domestica*) ایرانی شامل ارقام 'گلاب‌کهنز'، 'سیب‌ترش دیررس'، 'قره‌یاپراق'، 'ترکمان'، 'قزل‌آلما' و 'عباسی‌مشهد' و چهار رقم تجاری شامل 'گلدن‌دلیشز'، 'رددلیشز'، 'برابرن' و 'فوجی' بررسی شد. رقم 'فوجی' بیشترین مقدار سیانیدین ۳-گالاکتوزید (۳۷۱۱/۹ میکروگرم بر گرم وزن تر) و رقم 'گلاب کهنز' بیشترین مقدار کوئرستین ۳-گالاکتوزید (۳۱۳۳/۸ میکروگرم بر گرم وزن تر) و فلوریدزین را در پوست (۶۴۲/۲ میکروگرم برگرم وزن تر) و رقم 'قره‌یاپراق' بیشترین مقدار فلوریدزین گوشت (۹۸/۱ میکروگرم بر گرم وزن تر) را نشان دادند. رقم 'عباسی‌مشهد' بیشترین مقدار کلروژنیک‌اسید پوست (۲۹۸/۱ میکروگرم بر گرم وزن تر) و گوشت (۴۸۴/۳ میکروگرم بر گرم وزن تر) و رقم 'قزل‌آلما' بیشترین مقدار کاتچین پوست (۲۵۵/۲ میکروگرم بر گرم وزن تر) و 'سیب‌ترش دیررس' بیشترین کاتچین گوشت (۷۶/۹ میکروگرم بر گرم وزن تر) را نشان دادند. تجزیه رگرسیونی داده‌های فنل‌کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که ارتباط مثبتی بین مقدار فنل‌کل و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. بیشترین مقدار فنل‌کل و بیشترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی در رقم 'فوجی' مشاهده شد.

کلمات کلیدی: سیانیدین ۳-گالاکتوزید، فلوریدزین، فنل‌کل، کاتچین، کلروژنیک‌اسید

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

۲ - دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران **(نویسنده مسئول مکاتبات *)**

۳ - استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت - ایران

۴ - مربی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی، ارومیه - ایران

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

ترکیبات فنلی از متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که از پنتوزفسفات و مسیر شیکیمات و فنیل پروپانوئید در گیاهان تولید می‌شوند. این ترکیبات یکی از گسترده‌ترین گروه‌های فیتوشیمیایی هستند که دارای اهمیت مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی قابل ملاحظه‌ای در گیاهان می‌باشند (۲). بیش از ۸۰۰۰ ترکیب‌های فنلی از محصولات گیاهی مختلف استخراج شده است که شامل فلاونوئیدها، اسیدهای فنلی، کومارین‌ها، و تانن‌ها است که هر گروه به زیرگروه‌هایی تقسیم می‌شوند (۱۷). فلاونوئیدها شناخته‌شده‌ترین گروه ترکیبات فنلی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی موجود در میوه‌ها، سبزی‌ها و سایر غذاهای گیاهی هستند. این ترکیب‌ها نقش مهمی در خصوصیات تجاری، حسی و تغذیه‌ای محصولات کشاورزی به واسطه تأثیرشان در خواص حسی نظیر رنگ، طعم و کیفیت آب میوه دارند (۴، ۵، ۱۳، ۱۷ و ۳۰). ترکیب‌های فنلی از جمله فلاونوئیدها، گیاهان را در مقابل اشعه فرابنفش، پاتوژن‌ها و گیاه‌خواران محافظت می‌کنند (۲۱). بیشترین تأثیرات حفاظتی فلاونوئیدها در سیستم‌های بیولوژیکی به توانایی آنتی‌اکسیدانی آنها، ظرفیت انتقال الکترون، دفع رادیکال‌های آزاد، توانایی کلاته کردن، فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش رادیکال‌های آلفاتوکوفرول نسبت داده شده است (۶). براساس مطالعات متعدد، مصرف آنتی‌اکسیدان‌های غذایی باعث پیش‌گیری از بسیاری آسیب‌ها شامل انواع سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی – عروقی و عصبی و اختلالات مربوط به افزایش سن می‌گردد (۵، ۱۵ و ۲۸). یکی از بهترین روش‌های پیش‌گیری از بیماری‌های مذکور، استفاده از رژیم غذایی مطلوب متشکل از انواع سبزی‌ها و میوه‌های سرشار از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است که روزانه حداقل یک الی دو گرم پلی‌فنل وارد بدن مصرف‌کننده شود (۱۳). در میان میوه‌ها سیب به عنوان یک میوه پرمصرف، منبعی غنی از انواع ترکیب‌های فنلی متعدد به‌ویژه فلاونوئیدها است (۱۱، ۱۴، ۲۰ و ۲۶). طی نتایج دیگر تحقیقات در بین ۱۰ میوه رایج مصرفی، سیب بیشترین میزان ترکیب‌های فنلی قابل حل شامل انواع فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی را دارد (۲۰، ۲۲ و ۲۷). گروه‌های اصلی فلاونوئیدها در میوه سیب فلاونول‌ها یا کوئرستین ۳-گالاکتوزید، فلاوان ۳-ال‌های منومری و الیگومری نظیر کاتچین، اپی‌کاتچین، پروسیانیدین‌ها و دی‌هیدروچالکون‌هایی نظیر فلوریدزین هستند. در ارقام سیب قرمز علاوه بر ترکیب‌های مذکور، آنتوسیانین‌ها یا سیانیدین ۳-گالاکتوزیدها وجود دارند که عمدتاً در پوست تجمع می‌یابند (۷ و ۲۳). متداول‌ترین اسیدهای فنلی در میوه سیب عبارتند از کافئیک‌اسید که در فرم استری[1] شده با کوئینیک اسید حضور دارد (کلروژنیک‌اسید) و پی-کوماریک‌اسید که در فرم استری شکل با کوئینیک‌اسید حضور دارد (پی-کوماریل کوئینیک‌اسید) که ترکیب فنلی غالب در گوشت میوه است (۲۳). در گوشت سیب کاتچین، پروسیانیدین، اپی‌کاتچین و فلوریدزین نیز به مقدار خیلی کمتری نسبت به پوست وجود دارند (۱۱). به‌طورکلی، محتوای ترکیب‌های فنلی در پوست درمقایسه با گوشت و مرکز میوه بالاتر است (۱۶). به همین دلیل، عصاره پوست سیب درمقایسه با گوشت این میوه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری دارد (۳۰). فعالیت و غلظت ترکیب‌های فنلی باتوجه به شرایط محیطی، رقم، مرحله بلوغ و بخش‌های مختلف میوه متفاوت است (۱۲ و ۲۹). از بین فاکتورهای محیطی، نور مهم‌ترین عامل در رنگ‌گیری سیب‌ها می‌باشد، با این حال، میزان تحریک‌کنندگی نور به شدت به رقم سیب و مرحله نمو بستگی دارد و این امر به خاطر افزایش فعالیت فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) در برابر نور است. میوه‌های درون تاج درخت رنگ‌گیری کمتری دارند. اگر میوه بیش از ۷۰ درصد کل نور تابشی را دریافت کند، بهترین رنگ‌گیری را خواهد داشت و اگر کمتر از ۴۰ درصد نور تابشی را دریافت کند، رنگ خوبی نخواهد داشت. نور آبی و فرابنفش، به‌ویژه فرابنفش، در توسعه رنگ بسیار مؤثرند (۲۵). محققین طی مطالعه دو رقم 'ال‌استار' و 'جاناگلد' متوجه شدند که پوست میوه‌هایی که در معرض نور خورشید قرار دارند، دارای سیانیدین ۳-گالاکتوزید (آنتوسیانین) و کوئرستین ۳-گالاکتوزید بیشتری نسبت به قسمتی که در سایه هستند، می‌باشند، درحالی‌که فلوریدزین، کاتچین و کلروژنیک اسید در پوست هر دو طرف مشابه است (۸ و ۹). میوه‌های موجود در قسمت‌های بالایی درخت و بخش‌های بیرونی تاج

1 - Esterified

Archive of SID

www.SID.ir

دارای فلاونوئید بیشتری‌اند. فلوریدزین و کلروژنیک‌اسید توسط موقعیت میوه روی درخت تحت تأثیر قرار نمی‌گیرند. تفاوت‌های بارزی بین ارقام مختلف سیب در میزان کل مواد فنلی و فلاونوئید وجود دارد. بنابراین فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیب‌ها بین ارقام مختلف متفاوت است و ارقام دارای مواد فنلی بیشتر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری هم دارند (۸ و ۱۱). آگاهی از پروفیل پلی‌فنلی هر رقم سیب اطلاعاتی در مورد حساسیت‌شان به اکسیداسیون، خصوصیات حسی‌شان (تلخی و گسی) و اثر احتمالی‌شان روی خصوصیات و کیفیت محصول نهایی (آب میوه) فراهم می‌کند (۳). با بررسی ترکیب‌های فنلی در چهار رقم سیب 'جاناگلد'، 'سمپیون'، 'آیدارد' و 'توپاز'، تفاوت‌های بارزی بین ارقام فوق از نظر میزان ترکیب‌های فنلی مشاهده شد (۲۳). 'آیدارد' بیشترین مقدار اسیدهای فنلی و 'جاناگلد' و 'توپاز' بیشترین مقدار کوئرستین ۳-گالاکتوزیدها را نشان داد. در میان ۱۰ رقم 'فوجی'، 'رد دلیشز'، 'گالا'،'لایبرتی'، 'نورثرن اسپای'، 'گلدن دلیشز'، 'رم بیوتی'، 'فورتون'، 'جاناگلد'، 'آیدارد'، 'کرتلند'، 'امپایر' و 'ان‌وای۶۴۷'، رقم 'فوجی' بالاترین میزان ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدهای کل را داشت (۱۱). همچنین رقم 'رد دلیشز' دارای مقدار بسیار زیادی ترکیب‌های فنلی و ارقام 'امپایر' و 'ان‌وای۶۴۷' دارای کمترین مقدار بودند. همچنین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیب‌ها بین ارقام مختلف متفاوت است و به طور مثبتی با مقدار فنل‌کل در ارتباط است. مطالعات انجام شده در مورد ترکیب‌های فنلی اصلی میوه سیب شامل کلروژنیک‌اسید، کاتچین، فلوریدزین، کوئرستین ۳-گالاکتوزید، سیانیدین ۳-گالاکتوزید (آنتوسیانین) و فلاونوئید کل پوست ارقام بومی 'قندک'، 'حیدرزاده' و ارقام وارداتی 'گلدن‌اسپور'، 'رداسپور' و 'ردلیشز' نشان داد که ارقام انتخاب شده از نظر تمامی فاکتورها به‌جز میزان سیانیدین ۳-گالاکتوزید دارای اختلاف معنی‌داری هستند (۱). رقم قرمز 'رداسپور' دارای بیشترین میزان کاتچین و فلوریدزین بود و رقم قرمز 'حیدرزاده' بیشترین میزان کوئرستین ۳-گالاکتوزید و سیانیدین ۳-گالاکتوزید و فلاونوئید کل را نشان داد. رابطه مثبتی بین مقدار فنل‌کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برقرار بود. پوست ارقام مورد مطالعه، دارای فنل‌کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به گوشت آنها بودند. در میان ارقام مورد آزمایش، پوست رقم 'رداسپور' و گوشت رقم 'حیدرزاده' بیشترین میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارا بودند.

با افزایش جمعیت و نیاز حیاتی به غذای سالم، توجه بشر به تولید و کشت ارقام سیب باارزش غذایی بالا مخصوصاً ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدها افزایش یافته است که این امر مستلزم توجه ویژه به پتانسیل‌های هر منطقه می‌باشد. در این بین، مطالعه ارقام بومی و مقایسه آنها با ارقام تجاری، راهکار مناسبی برای ارزش‌گذاری ارقام بومی و معرفی ارقام غنی از ترکیب‌های فنلی می‌باشد که این پژوهش به بررسی این موضوع خواهد پرداخت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

این پژوهش بر روی ۱۰ رقم سیب شامل ارقام بومی 'گلاب‌کهنز'، 'ترکمان'، 'قره‌یاپراق'، قزل‌آلما، 'سیب‌ترش دیررس'، 'عباسی‌مشهد' و ارقام وارداتی 'فوجی'، 'برابرن'، 'ردلیشز' و 'گلدن‌دلیشز' انجام شد. این ارقام در کلکسیون ارقام تجاری سیب واقع در منطقه کهریز ارومیه (مرکز تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان غربی) پرورش می‌یابند. تمام ارقام روی پایه‌های بذری سیب پیوند شده بودند و فرم تربیت آنها به صورت شلجمی و سن ارقام در زمان انجام تحقیق هشت سال بود. میوه‌های هر رقم در زمان رسیدگی فیزیولوژیکی براساس شاخص تعداد روز پس از مرحله تمام‌گل[1] برداشت شدند. تاریخ برداشت ارقام به شرح زیر است: 'ترکمان' (۱۵ تیر)، 'گلاب کهنز' (پنج مرداد)، 'قره‌یاپراق' (۱۰ مرداد)، 'قزل‌آلما' (۱۵ مرداد)، 'ردلیشز' (یک مهر)، 'گلدن‌دلیشز' (پنج مهر)، 'عباسی‌مشهد' (۱۵ مهر)، 'سیب‌ترش دیررس' (۲۵ مهر)، 'برابرن' (۲۶ مهر) و 'فوجی' (۳۰ مهر).

مواد شیمیایی

در این تحقیق، از استانداردهای (+) - کاتچین، کوئرستین ۳-گالاکتوزید، سیانیدین کلراید (Extrasynthese، فرانسه)، فلوریدزین (Sigma (St.Louis, MO, USA

1 - DAFB (Days After Full Bloom)

Archive of SID

www.SID.ir

Japan (Cayman) Chemical Co.) و کلروژنیک اسید (Chemical Co. (Sigma-Aldrich)) و همچنین رادیکال آزاد DPPH استفاده شد. حلال‌های مورد استفاده برای استخراج، کروماتوگرافی و اسپکتروفتومتری دارای درجه HPLC و تولید شرکت مرک[1] بودند. فولین مورد استفاده برای اندازه‌گیری فنل‌کل نیز محصول شرکت مرک بود.

استخراج ترکیب‌های فنلی

به منظور استخراج ترکیب‌های فنلی، نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه شسته و پوست‌گیری شدند. برای استخراج ترکیب‌های فنلی از روش بخشی و آراکاوا استفاده شد، بدین‌صورت که مقدار دو گرم از بافت پوست و گوشت میوه به صورت جداگانه توسط چاقوی تیزی خرد شد (۱۰). سپس چهار میلی‌لیتر حلال استخراج متشکل از ۸۵ درصد متانول HPLC و ۱۵ درصد اسیداستیک به آن اضافه شد. پس از آن، نمونه‌ها به مدت یک شبانه‌روز در دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در مرحله بعدی، نمونه‌ها داخل تیوپ ریخته و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. حدود ۲۰۰ میکرولیتر از فاز روشناور[2] هر نمونه با استفاده از فیلتر سر سرنگی ۰/۴۵ میکرومتر یک بار مصرف فیلتر شد.

تعیین مقدار و اجزای ترکیب‌های فنلی با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا[3]

شناسایی اجزای ترکیب‌های فنلی با یک سیستم HPLC (Breeze system, Waters, MA,USA)، مجهز به شناساگر UV-Visible (Waters Dual λ Absorbance 2487) با ستون Symentery C18 ۱۵۰ × ۴/۶ میلی‌متر با قطر منافذ پنج میکرومتر، (Waters, Dublin Ireland) انجام شد. فاز متحرک متشکل از دو حلال A (۹۵ درصد آب: پنج درصد متانول) و B (پنج درصد آب: ۹۵ درصد متانول) با pH حدود سه بود و با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه جریان داشت. ترکیب‌های فنلی اندازه‌گیری شده در این پژوهش شامل کاتچین، فلوریدزین، کلروژنیک‌اسید، کوئرستین ۳-گالاکتوزید و سیانیدین ۳-گالاکتوزید بودند. برای اندازه‌گیری ترکیب‌های فوق، ردیاب[4] به ترتیب در طول موج‌های ۲۸۰ (برای کاتچین و فلوریدزین)، ۳۲۰، ۳۵۰ و ۵۳۰ نانومتر تنظیم شد. برای ارزیابی این ترکیب‌ها در عصاره تهیه شده از پوست و گوشت میوه‌ها، مقدار ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های تهیه شده، به دستگاه تزریق شدند. به منظور شناسایی اجزای تشکیل‌دهنده مواد فنلی و اندازه‌گیری مقدار آن‌ها، کروماتوگرام‌های حاصل از تزریق هر نمونه در هر تیمار با کروماتوگرام‌های به‌دست آمده از تزریق استانداردهای مربوطه مقایسه شد و درنهایت غلظت این ترکیب‌ها برحسب میکروگرم در یک گرم بافت تازه محاسبه گردید.

تعیین میزان فنل‌کل با روش اسپکتروفتومتری

میزان فنل‌کل در عصاره‌ها با روش فولین سیوکالتیو[5] و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۱۴). در این آزمایش، به علت بالا بودن غلظت ترکیب‌های فنلی در عصاره‌های پوست و گوشت نمونه‌های سیب، ابتدا نمونه‌ها (با استفاده از فیلتر سر سرنگی ۰/۴۵ میکرومتر یک بار مصرف فیلتر شده) ۳۵ بار رقیق شدند. سپس به ۱۲۵ میکرولیتر از هر یک از این نمونه‌ها ۳۷۵ میکرولیتر آب و ۲/۵ میلی‌لیتر فولین ۱۰ درصد اضافه شد و بعد از شش دقیقه دو میلی‌لیتر سدیم‌کربنات ۷/۵ درصد نیز به آنها اضافه گردید. محلول به‌دست آمده به مدت ۱/۵ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شد. سپس میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Novaspec II (Pharmacia LKB) و در طول موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان فنل‌کل از روی میزان جذب نمونه و استاندارد برحسب میکروگرم اسیدگالیک در یک گرم بافت تازه بیان شد. این آزمون در سه تکرار صورت گرفت و درصد رقیق کردن نیز در محاسبات منظور گردید.

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، از طریق خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH (۲و۲ دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل) تعیین گردید. برای این منظور، ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌های رقیق شده نمونه‌های پوست و گوشت داخل لوله‌های آزمایش

1 - Merck

2 - Supernatant

3 - HPLC

4 - Detector

5 - Folin-Ciocalteu

Archive of SID

www.SID.ir

کوچک ریخته شد و ۹۵۰ میکرولیتر محلول DPPH ۰/۱ نرمال به آنها اضافه گردید. محلول حاصل ورتکس شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در یک محفظه تاریک در دمای اتاق نگهداری شدند. نمونه شاهد شامل یک میلی‌لیتر محلول ۰/۱ نرمال DPPH بود. سپس میزان جذب شاهد و نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر T80 + PG Instruments Ltd در طول موج ۵۱۷ نانومتر و در سه تکرار تعیین گردید. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۱۴):

$$\%DPPH_{sc} = (A_{cont} - A_{samp})/A_{cont} \times 100 \quad (۱$$

در این رابطه، $\%DPPH_{sc}$ درصد بازدارندگی، A_{cont} میزان جذب DPPH و A_{samp} میزان جذب (نمونه + DPPH) می‌باشد.

تجزیه آماری

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تجزیه واریانس نتایج حاصل از آزمایش به وسیله نرم‌افزار SAS، مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون توکی و رسم نمودارها نیز با نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر، نشان‌دهنده وجود تفاوت بین ارقام مختلف از نظر مقدار کل ترکیب‌های فنلی و همچنین مقدار هر یک از این ترکیب‌ها به طور جداگانه می‌باشد که این یافته‌ها با نتایج دیگر تحقیقات مطابقت دارد (۱۱، ۲۴ و ۳۱). وجود این اختلاف می‌تواند بیانگر نقش رقم و ژنتیک در سنتز و میزان ترکیب‌های فنلی باشد. در این تحقیق، از ارقام بومی و وارداتی با رنگ‌های زرد و قرمز استفاده شده است. در ارقام سیب قرمز، رنگ قرمز پوست میوه به‌دلیل وجود آنتوسیانین یا همان سیانیدین ۳- گالاکتوزید است که در واکوئل‌های سلول‌های پوست میوه وجود دارند (۶ و ۲۶). محققین بیان کردند که ارقام قرمز در شرایط پرنور تولید و تجمع سیانیدین ۳-گالاکتوزید را نشان می‌دهند که نتیجه آن افزایش رنگ قرمز پوست است (۲۶). در تحقیق حاضر، پوست رقم 'فوجی' بیشترین مقدار سیانیدین ۳-گالاکتوزید (۳۷۱۱/۹۰۲ میکروگرم بر گرم وزن تر) را دارا بود که این امر نشان‌دهنده پایین بودن آستانه تحریک سیستم دفاعی برای تولید آنتوسیانین برای مقابله با اثرات مخرب نور در بافت‌ها، در این رقم نسبت به ارقام دیگر است (شکل ۱). نتایج دیگر تحقیقات نشان داد که آنتوسیانین، بافت را در مقابل نور به ویژه اشعه UV محافظت می‌کند. بعد از رقم 'فوجی'، به ترتیب ارقام 'عباسی‌مشهد' (۶۵۲/۵۷۳ میکروگرم بر گرم وزن تر)، 'رددلیشز' (۶۱۸/۲۶۸۱ میکروگرم بر گرم وزن تر)، 'برابرن' (۳۱۲/۳۵۸۷ میکروگرم بر گرم وزن تر)، 'قزل‌آلما' (۲۲۶/۵۷۸۲ میکروگرم بر گرم وزن تر) و 'گلاب‌کهنز' (۱۹۴/۷۹۱۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) قرار داشتند.

هنگام انتخاب ارقام برای صنعت آب‌میوه‌گیری باید توجه ویژه‌ای به محتوای پلی‌فنلی آن ارقام به دلیل نقش این ترکیب‌ها در رنگ، تلخی و گسی داشته باشیم. تعدادی از پلی‌فنل‌ها مثل هیدروکسی‌سینامیک‌اسیدها پیش‌ماده ترکیب‌های فرار هستند که عطر آب‌میوه را می‌سازند. تعدادی از پلی‌فنل‌ها نیز نقش مهمی در قهوه‌ای شدن آنزیمی محصولات به‌دست آمده از سیب دارند (۲۰). هیدروکسی‌سینامات‌ها مثل کلروژنیک‌اسید به همراه کاتچین به عنوان مهمترین پیش‌ماده پلی‌فنل‌اکسیداز[1] شناخته شده است که در حضور اکسیژن و پلی‌فنل‌اکسیداز به اُ-کوئینون[2] تغییر ماهیت می‌دهد و دوباره با سایر ترکیب‌های فنلی واکنش می‌دهد که نتیجه آن تشکیل رنگدانه‌های زرد و قهوه‌ای می‌باشد (۴ و ۲۰). همچنین در این تحقیق، رقم 'عباسی‌مشهد' از میان ارقام قرمز رنگ بیشترین مقدار کلروژنیک اسید پوست (۲۹۸/۱۱۶۷ میکروگرم بر گرم وزن تر) و گوشت (۴۸۴/۳۳۹۵ میکروگرم بر گرم وزن تر) و رقم 'قره‌یاپراق' از میان ارقام زرد رنگ بیشترین میزان کلروژنیک‌اسید پوست (۲۳۷/۲۰۷ میکروگرم بر گرم وزن تر) و گوشت (۲۹۳/۶۲۳ میکروگرم بر گرم وزن تر) را داشتند (شکل ۲). همچنین میزان کلروژنیک‌اسید گوشت تمامی ارقام به استثنای 'برابرن' بیشتر از کلروژنیک‌اسید پوست آنها بود که این مطلب با یافته‌های دیگر محققین مطابقت دارد (۸ و ۱۸). نتایج تحقیقاتی بر روی ارقام 'الاستار' و 'جوناگلد' نشان داد

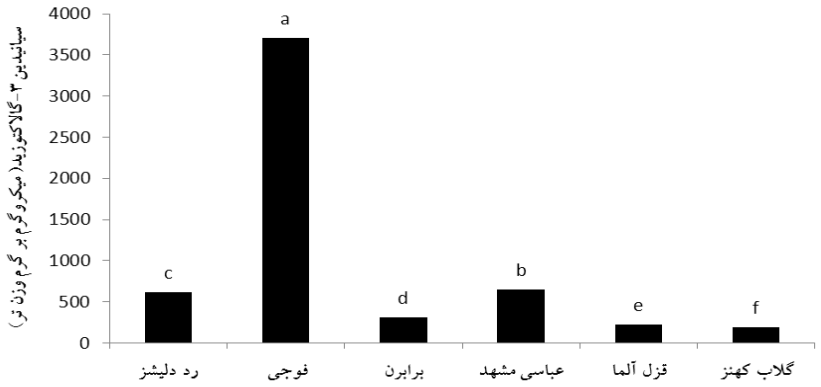
1 - PPO

2 - O-quinone

Archive of SID

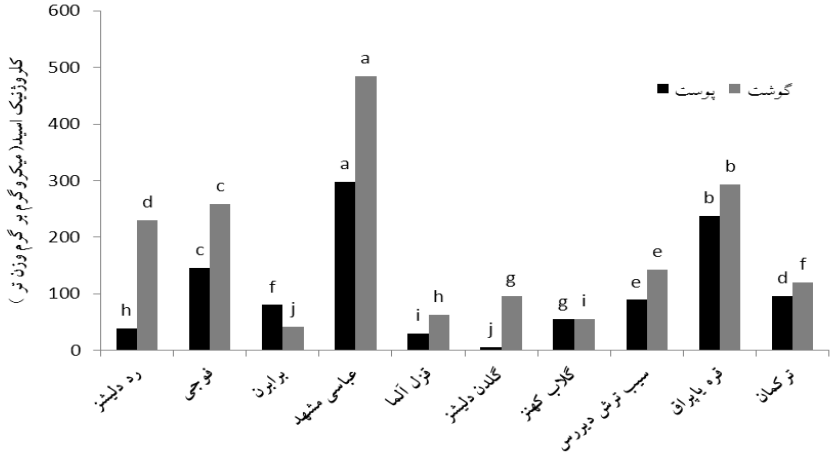
www.SID.ir

که کلروژنیک‌اسید به طور غالب در مرکز میوه و دانه‌ها و در یک سطح متوسط در گوشت میوه و به میزان خیلی کمتری در پوست میوه وجود دارد (۸). همچنین نتایج مطالعه‌ای بر روی چهار رقم 'رددلیشز'، 'گلدن‌دلیشز'، 'گرانی‌اسمیت' و 'گرین‌رینتا' نشان داد که به استثنای رقم 'گرانی‌اسمیت' در بقیه ارقام، کلروژنیک‌اسید گوشت بیشتر از کلروژنیک‌اسید پوست همان ارقام است.



شکل ۱ - مقایسه میانگین مقدار سیانیدین ۳-گالاکتوزید در پوست ارقام مورد مطالعه

(ارقام با حروف متفاوت، در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار با آزمون توکی هستند.)

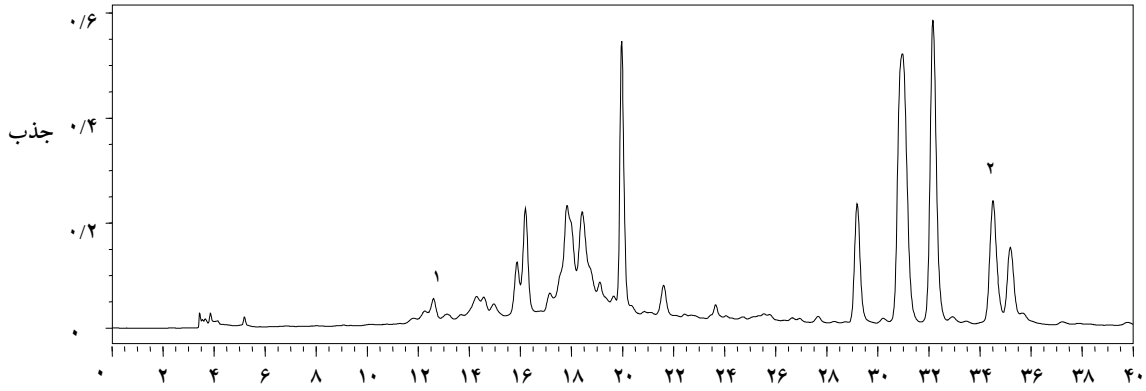


شکل ۲ - مقایسه میانگین مقدار کلروژنیک‌اسید در ارقام مورد مطالعه

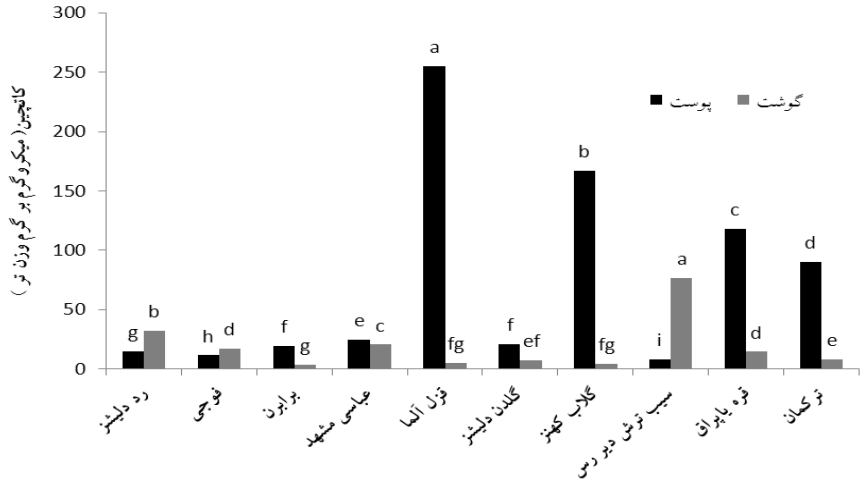
(ارقام با حروف متفاوت، در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار با آزمون توکی هستند.)

همچنین در مورد کاتچین پوست به ترتیب ارقام 'قزل‌آلما' (۲۵۵/۱۸۸۳ میکروگرم بر گرم وزن تر)، 'گلاب کهنز' (۱۶۶/۷۱۵۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) (شکل ۳، پیک ۱) و 'قره‌یاپراق' (۱۱۷/۸۰۴۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) و در مورد کاتچین گوشت به ترتیب ارقام 'سیب‌ترش دیررس' (۷۶/۸۹۰۳۶ میکروگرم بر گرم وزن تر)، 'رددلیشز' (۳۲/۱۳۹۷۳ میکروگرم بر گرم وزن تر) و 'عباسی‌مشهد' (۲۰/۵۸۷۵۷ میکروگرم بر گرم وزن تر) قرار داشتند که این اختلاف موجود بین کاتچین پوست و گوشت می‌تواند مبنایی برای نحوه استفاده ارقام در صنعت فرآوری باشد (شکل ۴).

www.SID.ir



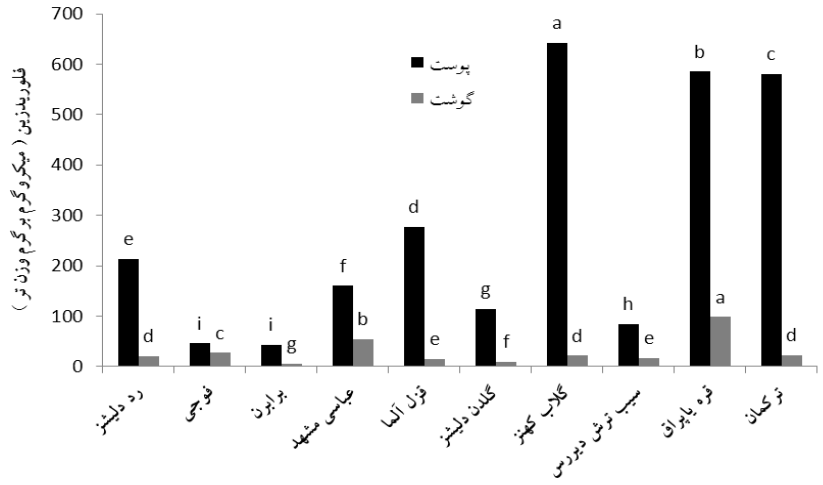
شکل ۳ - کروماتوگرام پوست سیب رقم 'گلاب کهنز' در طول موج ۲۸۰ نانومتر، پیک ۱ (کاتچین)، پیک ۲ (فلوریدزین)



شکل ۴ - مقایسه میانگین مقدار کاتچین در ارقام مورد مطالعه
(ارقام با حروف مشابه، در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار با آزمون توکی نیستند.)

فلوریدزین یکی از ترکیب‌های فنلی می‌باشد که در تمامی ارقام سیب دیده شده است. در دهه اخیر، تحقیقات روی اثرات مفید فلوریدزین بر سلامتی بشر دارای رشد افزاینده‌ای بوده است. شواهد بسیاری در مورد استفاده از این مواد برای درمان دیابت و انواع بیماری‌های عصبی وجود دارند (۱۹). همچنین در این تحقیق، در میان ارقام مورد مطالعه به ترتیب ارقام 'گلاب کهنز' (۶۴۲/۱۷۴۲ میکروگرم بر گرم وزن تر) (شکل ۳، پیک ۲)، 'قره‌یاپراق' (۵۸۵/۲۸۳۲ میکروگرم بر گرم وزن تر) و 'ترکمان' (۵۸۱/۱۷۴۷ میکروگرم بر گرم وزن تر) بیشترین فلوریدزین پوست و ارقام 'قره-یاپراق' (۹۸/۱۱۰۱۳ میکروگرم بر گرم وزن تر)، 'عباسی‌مشهد' (۵۳/۸۴۱۳۵ میکروگرم بر گرم وزن تر) و 'فوجی' (۲۶/۷۲۲۵۵ میکروگرم بر گرم وزن تر) بیشترین میزان فلوریدزین گوشت را داشتند (شکل ۵).

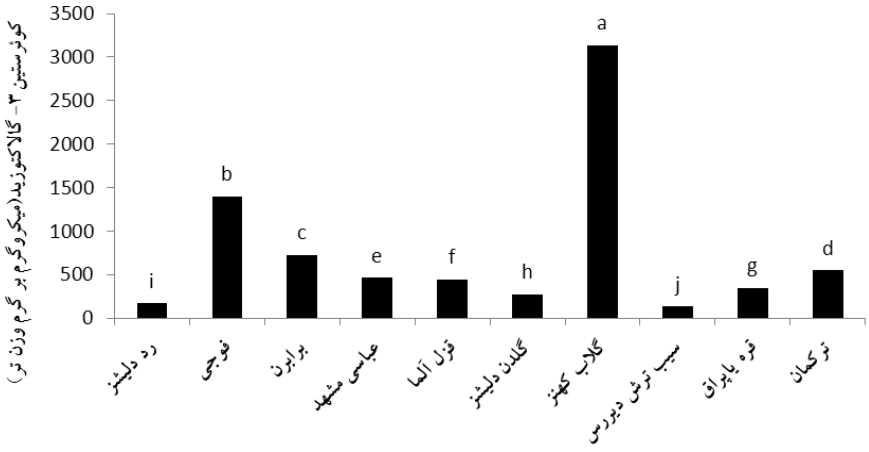
www.SID.ir



شکل ۵ – مقایسه میانگین مقدار فلوریدزین در ارقام مورد مطالعه

(ارقام با حروف مشابه، در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار با آزمون توکی نیستند.)

فلاونول‌ها گسترده‌ترین فلاونوئید موجود در غذاها هستند که مهمترین آنها کوئرستین و کامپفرول است که به طور متوسط ۱۵ تا ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر هستند. میوه سیب یکی از غنی‌ترین منابع فلاونول‌ها است (۱۷). رقم 'گلاب کهنز' بیشترین مقدار کوئرستین (۳۱۳۳/۷۶۸ میکروگرم بر گرم وزن تر) را در مقایسه با سایر ارقام داشت که نشان‌دهنده ارزش بالای این رقم بومی ایران است، زیرا کوئرستین یکی از باارزش‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است (شکل ۶).

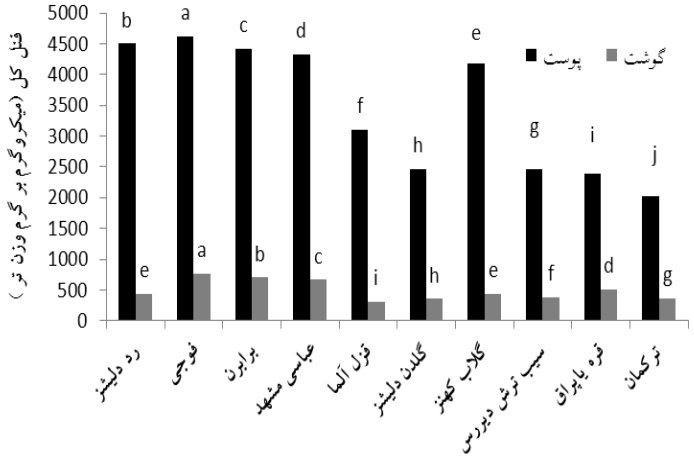


شکل ۶ – مقایسه میانگین کوئرستین ۳-گالاکتوزید در پوست ارقام مورد مطالعه

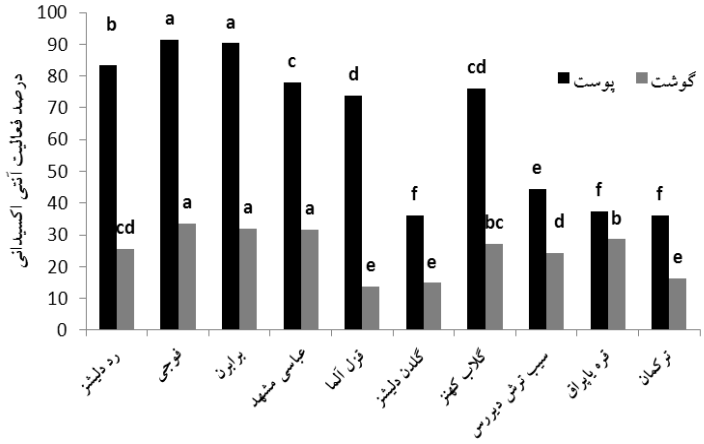
(ارقام با حروف متفاوت، در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار با آزمون توکی هستند.)

طبق نتایج حاصل از این تحقیق، ارقام با فنل‌کل بیشتر دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری هستند. در این آزمایش، پوست رقم 'فوجی' دارای بیشترین مقدار فنل‌کل (۴۶۱۴/۲۴ میکروگرم بر گرم وزن تر)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۹۱/۵۴۳۶۲) و سیانیدین ۳-گالاکتوزید بود و همچنین این رقم بیشترین مقدار فنل‌کل (۷۷۱/۲۱۸۷ میکروگرم بر گرم وزن تر) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۳۳/۵۵۷۰۵) گوشت را نیز داشت (شکل‌های ۷ و ۸).

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۷ – مقایسه میانگین مقدار فنل‌کل در پوست و گوشت ارقام مورد مطالعه
(ارقام با حروف مشابه، در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار با آزمون توکی نیستند.)



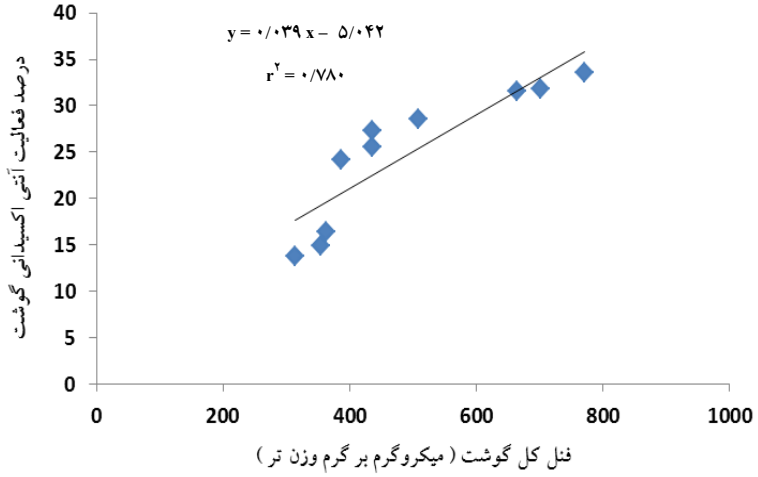
شکل ۸ – مقایسه میانگین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پوست و گوشت ارقام مورد مطالعه
(ارقام با حروف مشابه، در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار با آزمون توکی نیستند.)

ضریب رگرسیونی نیز وجود یک ارتباط مثبت و قوی را مابین مقدار فنل‌کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد که نتایج دیگر تحقیقات را تأیید می‌کند (شکل‌های ۹ و ۱۰) (۱). مطالعات اخیر نشان می‌دهد که پوست سیب دارای دو تا شش نوع (بسته به رقم) ترکیب فنلی و دو تا سه نوع فلاونوئید بیشتر از گوشت است که این امر باعث می‌شود پوست سیب فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به گوشت میوه داشته باشد (۱۱). همچنین در این تحقیق، مقدار فنل‌کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پوست بیشتر از گوشت است که یافته‌های دیگر محققین را تأیید می‌کند (۳ و ۲۰).

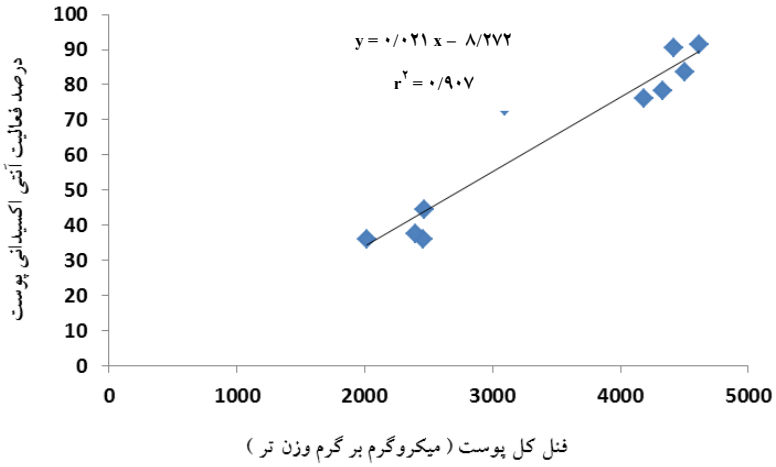
نتیجه‌گیری کلی از تحقیق حاضر این است که ارقام قرمز رنگ محتوای ترکیب‌های فنلی بیشتری نسبت به ارقام زرد رنگ دارند که نیاز است در برنامه‌های تغذیه‌ای به اهمیت این ارقام اشاره شود. همچنین باتوجه به اینکه بخش عمده ترکیب‌های فنلی میوه سیب در بخش پوست آن موجود است و در فرآیندهای فرآوری، پوست از میوه جدا می‌شود، می‌توان ترکیب‌های فنلی را از پوست میوه استخراج کرده و به

www.SID.ir

محصول فرآوری شده اضافه نمود. همچنین در بین ارقام داخلی ارقامی هستند که بسیار حائز اهمیت می‌باشند که می‌توان آن‌ها را از لحاظ جنبه‌های دیگر میوه‌شناسی مورد بررسی قرار داد و از آن‌ها در بخش تغذیه و همچنین برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود.



شکل ۹ – ارتباط رگرسیونی بین فنل‌کل و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی گوشت



شکل ۱۰ – ارتباط رگرسیونی بین فنل‌کل و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست

پیشنهادها

باتوجه به وجود ارقام بومی ارزشمند در کشور، توصیه می‌شود که تحقیقاتی مشابه روی دیگر ارقام صورت گیرد. مقدار ترکیب‌های فنلی طی رشد و نمو و تحت تأثیر شرایط آب و هوایی و شیوه‌های مدیریت باغ تغییر می‌کند، بنابراین می‌توان این تغییرات را در طی رشد هر رقم و در مناطق مختلف مورد مطالعه قرار داد و بهترین ارقام را برای هر منطقه شناسایی و شیوه‌های مدیریتی برای به حداکثر رساندن این مواد را معرفی نمود.

www.SID.ir

منابع مورد استفاده

۱ . قربانی ا.، بخشی د.، حاج‌نجاری ح.، قاسم‌نژاد م. و تقی‌دوست پ (۱۳۸۹) ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برخی ارقام ایرانی وارداتی سیب در منطقه کرج. علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۴(۱): ۹۰-۸۳.

2 . Aberoumand A and Deokule SS (2008) Comparison of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. Pakistan Journal of Nutrition. 7(4): 582-585.

3 . Alonso-Salces RM, Barranco A, Abad B, Berrueta LA, Gallo B and Vicente F (2004) Polyphenolic profiles of Basque cider apple cultivars and their technological properties. Agricultural and Food Chemistry. 52: 2938-2952.

4 . Alonso-Salces RM, Herrero C, Barranco A, Berrueta LA, Gallo B and Vicente F (2005) Classification of apple fruits according to their maturity state by the pattern recognition analysis of their polyphenolic compositions. Food Chemistry. 93: 113-123.

5 . Alonso-Salces RM, Korta E, Barranco A, Berrueta LA, Gallo B and Vicente F (2001) Pressurized liquid extraction for the determination of polyphenol in apple. Chromatography. 933: 37-43.

6 . Amzad Hossain M, Salehuddin SM, Kabir MJ, Rahman SMM and Vasantha Rupasinghe HP (2009) Sinensetin, rutin 3-hydroxy- 5, 6, 7, 4-tetramethoxyflavone and rosmarinic acid contents and antioxidative effect of the skin of apple fruit. Food Chemistry. 113: 185-190.

7 . Awad MA and De Jager A (2002) Relationship between fruit nutrients and concentrations of flavonoids and chlorogenic acid in ‘Elstar’ apple skin. Scientia Horticalturae. 92: 265-276.

8 . Awad MA, De Jager A and Van Westing LM (2000) Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterization of variation. Scientia Horticulturae. 83: 249-263.

9 . Awad MA, De Jager A, Van der Plas LHW and Van der Krol AR (2001) Flavonoid and chlorogenic acid changes in skin of ‘Elstar’ and ‘Jonagold’ apples during development and ripening. Scientia Horticulturae. 90: 69-83.

10 . Bakhshi D and Arakawa O (2006) Effect of UV-B irradiation on phenolic compounds accumulation and their antioxidant activity in ‘Jonathan’ apple. Food, Agriculture and Environment. 4(1):75-79.

11 . Boyer J and Liu RH (2004) Apple phytochemicals and their health benefits. Nutrition. 3: 5.

12 . Chinici F, Bendini A, Gaiani A and Riponi C (2004) Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. Agricultural and Food Chemistry. 52: 4684-4689.

13 . Cieslik E, Greda A and Adamus W (2006) Contents of polyphenols in fruits and vegetables. Food Chemistry. 94: 135-142.

14 . D’Abrosca B, Pacifico S, Cefarelli G, Mastellone C and Fiorentino A (2007) Limoncella apple, an Italian apple cultivar: phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. Food Chemistry. 104: 1333-1337.

15 . D’Archivio M, Filesi C, Benedetto RD, Gargiulo R, Giovannini C and Masella R (2007) Polyphenols dietary sources and bioavailability. ANN IST SUPER SANITA. 43: 348-361.

16 . Drogoudi PD, Michailidis Z and Pantelidis G (2008) Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. Scientia Horticalturae. 115: 149-153.

17 . Erdman JW, Balentine D, Arab L, Beecher G, Dwyer JT, Folts J, Harnly J, Hollman P, Keen CL, Mazza G, Messina M, Scalbert A, Vita J, Williamson G and

Archive of SID

www.SID.ir

Burrowes J (2007) Flavonoids and heart health: Proceedings of the ILSI North America flavonoids workshop. Nutrition. 137: 718S-737S.

18 . Escarpa A and Gonzalez MC (1998) High-performance liquid chromatography with diode- array detection for the determination of phenolic compounds in peel and pulp from different apple varieties. Chromatography A. 823: 331-337.

19 . Gosch C, Halbwirt H and Stich K (2010) Phloridzin: Biosynthesis, distribution and physiological relevance in plants. Phytochemistry. 71: 838-843.

20 . Khanizadeh Sh, Tsao R, Rekika D, Yang R, Charles MT and Vasantha Rupasinghe HP (2008) Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. Food Composition and Analysis. 21: 396-401.

21 . Lata B (2008) Apple peel antioxidant status in relation to genotype, storage type and time. Scientia Horticulturae. 117: 45-52.

22 . Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C and Jimenez L (2004) Polyphenols: food sources and bioavailability. American Journal of Clinical Nutrition. 79: 727-747.

23 . Markowski J and Plocharski W (2006) Determination of phenolic compounds in apples and processed apple products. Fruit and Ornamental Plant Research. 14: (Suppl. 2).

24 . Podsedek A, Wilska-Jeszka J and Anders B (2000) Compositional characterization of some apple varieties. European Food Research and Technology. 210: 268-272.

25 . Ritenour M and Khemira H (2007) Red color development of apple: a literature review. Washington State University, Tree Fruit Research and Extention Center.

26 . Solovchenko A and Schmitz-Eiberger M (2003) Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits. Experimental Botany. 54: 1977-1984.

27 . Sun J, Chu YF, Wu X and Liu RH (2002) Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. Agricultural and Food Chemistry. 50: 7449-7454.

28 . Tabart J, Kevers C, Pincemail J, Defraigne JO and Dommes J (2009) Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. Food Chemistry. 113: 1226-1233.

29 . Van der Sluis A, Dekker M, De Jager A and Jongen W (2001) Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year and storage conditions. Agricultural and Food Chemistry. 49: 3606-3613.

30 . Veberic R, Trobec M, Herbinger K, Hofer M, Grill D and Stampar F (2005) Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh) cultivars of organic and integrated production. The Science of Food and Agriculture. 85: 1687-1694.

31 . Vrhovsek U, Rigo A, Tonon D and Mattivi F (2004) Quantitation of polyphenols in different apple varieties. Agricultural and Food Chemistry. 52: 6532-6538.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Crops Improvement, Vol. 14, No. 2, Autumn 2012

Phenolic compounds and antioxidant activity of some Iranian and commercial apple varieties in West Azarbaijan province

M. Rafiee [1], L. Naseri [2*], D. Bakhshi [3] and A. Alizadeh [4]

(E-mail: l.naseri@urmia.ac.ir)

Abstract

In this study, the amount of total phenol, chlorogenic acid, catechin, quercetin, phloridzin, cyanidin and antioxidant activity of apple (*Malus domestica*) skin and flesh of six Iranian cultivars, including: 'Golab Kohanz', 'Sib Torsh Dirras', 'Ghara Yapragh', 'Torkman', 'Ghezel Alma' and 'Abbasi Mashhad', and four commercial cultivars including: 'Golden Delicious', 'Red Delicious', 'Braeburn' and 'Fuji' was investigated. 'Fuji' had the highest amount of cyanidin 3-galactoside (3711.9 $\mu g.g^{-1}$ fresh weight) and 'Golab Kohanz' had the greatest amount of quercetin 3-galactoside (3133.8 $\mu g.g^{-1}$ fresh weight) and phloridzin in the skin (642.2 $\mu g.g^{-1}$ fresh weight) and 'Ghara Yapragh' showed the greatest amount of flesh phloridzin (98.1 $\mu g.g^{-1}$ fresh weight). 'Abbasi Mashhad' had the largest amount of flesh (484.3 $\mu g.g^{-1}$ fresh weight) and the skin's (298.1 $\mu g.g^{-1}$ fresh weight) chlorogenic acid, 'Ghezel Alma' had the greatest amount of catechin of skin (255.2 $\mu g.g^{-1}$ fresh weight) and 'Sib Torsh Dirras' showed the highest catechin of flesh (76.9 $\mu g.g^{-1}$ fresh weight). The regression analysis of total phenol and antioxidant capacity showed a positive correlation between the amount of total phenol and the antioxidant activity. The highest amount of total phenol and antioxidant activity in 'Fuji' was observed.

Keywords: Catechin, Chlorogenic acid, Cyanidin 3-galactoside, Phloridzin, Total phenol

1 – M.Sc. Student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia – Iran

2 – Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia – Iran **(Corresponding Author *)**

3 – Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Guilan University, Rasht – Iran

4 – Instructor, West Azarbaijan Agriculture and Natural Resorces Research Center, Urmia – Iran

Archive of SID

www.SID.ir