

## مطالعه کمی و کیفی آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها در پوست حبه چند رقم انگور با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

مریم پژمان‌مهر<sup>۱</sup>، علی عبادی<sup>۲\*</sup>، امیر موسوی<sup>۳</sup>، آماندا ر. والکر<sup>۴</sup>، علیرضا رحیمی<sup>۲</sup>

- ۱- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
  - ۲- استاد و کارشناس ارشد، گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
  - ۳- دانشیار، پژوهشگاه مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی، تهران، ایران
  - ۴- استاد مؤسسه CSIRO، ادلاید، استرالیا
- \*آدرس مکاتبه: کرج، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، صندوق پستی: ۳۱۵۸۷-۷۷۸۷۱، تلفن: ۳۲۲۴۸۷۳۱ (۰۲۶)، نمابر: ۳۲۲۴۸۷۳۱ (۰۲۶)  
پست الکترونیک: aebadi@ut.ac.ir

تاریخ تصویب: ۹۴/۳/۲۰

تاریخ دریافت: ۹۳/۱/۱۶

### چکیده

مقدمه: میوه انگور به دلیل دارا بودن انواع فلاونوئیدها از جمله آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها از ارزش غذایی دارویی بالایی برخوردار است که نوع و درصد ترکیبات تحت تأثیر ژنوتیپ و شرایط محیطی قرار می‌گیرد. هدف: بررسی آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها در چند رقم مهم انگور با طیف رنگ متنوع. روش بررسی: پوست حبه ارقام انگور آب، بیدانه قرمز، فخری قرمز، موسکات هامبورگ، فلیم سیدلس، سرخک و آش سیاه شیراز بوسیله حلال آبی متانولی عصاره‌گیری شد. ترکیب آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها با استفاده از HPLC مورد بررسی قرار گرفت. نتایج: بیشترین مقدار آنتوسیانین کل ۰/۴۴ (آش سیاه شیراز) و فلاونول کل ۰/۶۷ (انگور آب) میلی‌گرم درصد گرم بود. بیشترین مقدار سیانیدین در بیدانه قرمز (۹۱/۶ درصد)، پتوئیدین در فخری قرمز (۹۱/۴ درصد)، دلفینیدین در فلیم سیدلس (۴/۹ درصد)، مالویدین در سرخک (۸۷/۷ درصد) و پتوئیدین در موسکات هامبورگ (۴/۴ درصد) مشاهده شد. کوئرستین ترکیب فلاونولی غالب (۶۱/۲۱) درصد در آش سیاه شیراز تا ۸۷/۳۷ درصد در موسکات) در تمام ارقام بود. بیشترین مقدار لاریسیتین در سرخک (۱۶/۷ درصد)، میریستین در آش سیاه شیراز (۲۸/۴ درصد) و کامفرول در فلیم سیدلس (۲۱/۴ درصد) و ایزورامتین در فخری قرمز (۱۴/۴ درصد) مشاهده شد. همچنین تخمین فعالیت هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون نشان داد که برای هر دو، آنتوسیانین‌ها سوبستراهای بهتری نسبت به فلاونول‌ها می‌باشند. نتیجه‌گیری: ارقام انگور مورد مطالعه از نظر محتوا، نوع و نسبت آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها و الگوی هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون آنها متفاوت بودند. این امر منجر به تفاوت در ارزش غذایی- دارویی و بویژه اثرات آنتی‌اکسیدانی، پایداری، حلالیت و ویژگی‌های رنگ آنها می‌شود.

کل واژگان: آنتوسیانین، انگور، فلاونول، HPLC



## مقدمه

انگور گیاهی از خانواده Vitaceae و جنس *Vitis* است که اکثر ارقام تجاری آن متعلق به گونه *V. vinifera* می‌باشد. حضور اسیدهای آلی، قندها و ترکیبات معطر در گوشت میوه، ترکیبات آنتوسیانینی، تانن‌ها، فلاونول‌ها و ترکیبات معطر در پوست، و تانن‌ها و روغن در بذر انگور موجب شده تا این گیاه اهمیت بالایی از نظر غذایی و دارویی داشته باشد [۱]. عصاره‌های به دست آمده از تفاله حاصل از فراوری انگور نیز در ساخت فراورده‌ها و مکمل‌های غذایی دارویی مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند [۳-۱]. به همین جهت در چند دهه اخیر تحقیقات گسترده‌ای در زمینه این ترکیبات صورت گرفته تا بتوان با استفاده از آنها کیفیت دارویی و غذایی انگور و فراورده‌های آنرا از طریق کاهش یا افزایش ترکیبات خاص بهبود بخشید.

فلاونوئیدها از مهم‌ترین ترکیبات موجود در انگور می‌باشند که عمدتاً در پوست و بذر آن تجمع می‌یابند [۱]. فلاونوئیدها شامل ۴ گروه اصلی آنتوسیانین‌ها، فلاونول‌ها، فلاوان-۳-آل و تانن‌ها (پروآنتوسیانیدین‌ها) بوده و تعیین کننده رنگ، کیفیت و خواص دارویی انگور می‌باشند [۴]. فلاونوئیدهای انگور و فراورده‌های آن اثرات سودمند بر بیماری‌های قلبی-عروقی، گرفتگی عروق و برخی ناهنجاری‌های متابولیکی دارند و می‌توانند به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی از بروز سرطان جلوگیری نمایند [۵]. هسته فلاوان اساس ساختار شیمیایی فلاونوئیدها است و شامل ۱۵ اتم کربن قرار گرفته در ۳ حلقه (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) می‌باشد که ۲ حلقه آروماتیک (A و B) در ترکیب با حلقه هتروسیکلیک (C) با سه اتم کربن (یک حلقه پیران واجد اکسیژن)، می‌باشند [۶].

الگوی هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون حلقه B یکی از خصوصیات ساختاری اصلی فلاونوئیدها است و شاخص مهمی در رنگ، پایداری و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها می‌باشد [۷]. هیدروکسیلاسیون در موقعیت ۳' یا ۳' و ۵' حلقه B توسط آنزیم‌های فلاونوئید ۳'-هیدروکسیلاز (F3'H) و فلاونوئید ۳' و ۵'-هیدروکسیلاز (F3'5'H)، منجر به ایجاد آنتوسیانین‌ها، فلاونول‌ها، فلاوان‌ها و پروآنتوسیانیدین‌های

هیدروکسیله می‌شود [۸، ۷]. متیلاسیون آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها توسط آنزیم‌های متیل ترانسفراز صورت می‌گیرد که منجر به پایداری حلقه B می‌شود، در نتیجه واکنش‌پذیری مولکول را کاهش و حلالیت آن را در آب افزایش داده و بنابراین ویژگی‌های رنگ آن را تقویت می‌کند [۶]. از طریق محاسبه فعالیت کلی هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون، آگاهی از میزان فعالیت و ارتباط سه آنزیم کلیدی ذکر شده در بیوسنتز آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها در ارقام مختلف انگور امکان‌پذیر است [۹].

آنتوسیانین‌های موجود در انگور شامل سیانیدین، پئونیدین، دلفینیدین، پتونیدین و مالویدین می‌باشند که در دو فرم ۳-آ-مونو گلوکوزیدها و ۳-آ-اسیل مونوگلوکوزیدها هستند که اثرات دارویی متعدد برای آنها گزارش شده است [۲، ۱]. فلاونول‌ها دسته دیگری از فلاونوئیدها هستند که در انگور به صورت گلوکوزید، گالاکتوزید و گلوکورونید در پوست حبه سنتز می‌شوند. فلاونول‌های مهم در پوست انگورهای قرمز شامل کوئرستین، میریستین، کامفرول، لاریسیتین، ایزورامنتین، سیرینجتین و در انگورهای سفید شامل کوئرستین، کامفرول و ایزورامنتین می‌باشند [۹-۱۲]. این فلاونول‌ها نقش مهمی از نظر تغذیه‌ای دارند و ترکیبات فعال بیولوژیک هستند که اثرات دارویی متعدد آنها ثابت شده است [۲].

تأثیر رقم و شرایط محیطی بر ترکیب آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها در انگور، ارزش تغذیه‌ای و دارویی آن را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد [۱۲]. تنوع آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها در ارقام مختلف انگور با استفاده از آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC (High Performance Liquid Chromatography) گزارش شده است. کاستیلو مانوز (Castillo-Munoz) و همکاران [۱۳] طیف فلاونول‌ها در ۷ رقم انگور قرمز را مطالعه نموده و نتیجه‌گیری کردند که تنوع در نوع و درصد ترکیبات، بین ارقام قابل توجه بوده و آنها را از یکدیگر متمایز می‌نماید. کوک پاپینی (Cook-Papini) و همکاران [۱۴] تنوع ژنتیکی در ترکیب آنتوسیانین‌های ارقام مختلف انگور را گزارش نمودند.

ارقام انگور کشت شده در ایران تاکنون از نظر کمیت و



شده استاندارد [۱۶] عمل شد. سیصد میکرولیتر حلال ۵۰ درصد حجمی متانول در آب به هر نمونه اضافه شده و جهت سونیکاسیون به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه سونیک قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در ادامه ۲۰۰ میکرولیتر از روشناور در ویال‌های نمونه‌بردار خودکار (autosampler) دستگاه HPLC ریخته شد. حجم تزریق در هر آنالیز ۲۵ میکرولیتر بود.

### جداسازی و آنالیز آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها با HPLC

برای جداسازی و آنالیز آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها بوسیله HPLC طبق روش دونی (Downey) و رچفرت (Rochfort) [۱۷]، از گرادیان اسید فرمیک ۱۰ درصد در آب (حلال الف) با اسید فرمیک ۱۰ درصد در متانول (حلال ب) با شدت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. طی آنالیز دمای ستون در ۴۰ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. ستون مورد استفاده C-18 SS Wakosil (150 mm×4.6mm, 3µm) HPLC مورد استفاده Hewlett Packard HP1100 (packaging; SGE, Ringwood, Australia) و دستگاه HPLC مورد استفاده Agilent, Mulgrave, Australia) بودند. شرایط گرادیان به صورت زیر بود: دقیقه صفر، ۱۸ درصد حلال ب؛ دقیقه ۴، ۲۹ درصد حلال ب؛ دقیقه ۱۶، ۳۲ درصد حلال ب؛ دقیقه ۱۸، ۴۱ درصد حلال ب؛ دقیقه ۱۸/۱، ۳۰ درصد حلال ب؛ دقیقه ۲۹، ۴۱ درصد حلال ب؛ دقیقه ۳۲، ۵۰ درصد حلال ب؛ دقیقه ۳۴/۵، ۱۰۰ درصد حلال ب؛ دقیقه ۳۸-۳۵، ۱۸ درصد حلال ب.

روش برای استاندارد کوئرستین-۳-ا-گلوکوزید روشی تکرارپذیر و معتبر بود به صورتی که در محدوده ۰/۰۰۰۱ تا یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر معادله خطی و رگرسیون خطی برابر با ۰/۹۹۹۴ بود. همچنین برای استاندارد مالویدین-۳-ا-گلوکوزید در محدوده ۰/۰۵ تا ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر معادله خطی بوده و رگرسیون خطی برابر با ۰/۹۹۸۲ بود. آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها به ترتیب در طول موج ۵۲۰ و ۳۵۳ نانومتر بوسیله دکتور فتودیود تشخیص و ردیابی شدند [۱۸]. با مقایسه طیف استانداردهای تجاری مانند مالویدین-۳-ا-گلوکوزید، سیانیدین-۳-ا-گلوکوزید و کوئرستین-۳-ا-

کیفیت آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها چندان مورد بررسی قرار نگرفته‌اند. در تحقیق حاضر چند رقم مهم انگور کشت شده در ایران با طیف رنگی متنوع، از این نظر مورد مطالعه و مقایسه قرار گرفته‌اند تا با استفاده از نتایج بتوان ارقام انگور را به صورت هدفمند در صنایع غذایی و دارویی مورد استفاده قرار داد و همچنین در جهت بهبود صفات مربوط به آب انگور، مانند شدت و پایداری رنگ برنامه‌ریزی نمود.

### مواد و روش‌ها

#### مواد گیاهی و شیمیایی

در این مطالعه ارقام انگور آب، بیدانه قرمز، فخری قرمز، موسکات هامبورگ، فلیم سیدلس، سرخک و آس سیاه شیراز کشت شده در کلکسیون انگور مرکز تحقیقات گروه علوم باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج واقع در جاده محمد شهر مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس دیسکریپتور انگور [۱۵] ارقام انگور آب به رنگ سبز مایل به زرد (کد ۱)، بیدانه قرمز به رنگ قرمز روشن (کد ۲)، فخری قرمز به رنگ قرمز (کد ۳)، موسکات هامبورگ به رنگ قرمز مایل به بنفش متوسط (کد ۸)، فلیم سیدلس به رنگ قرمز مایل به بنفش تیره (کد ۵)، سرخک به رنگ آبی تیره (کد ۶) و آس سیاه به رنگ قرمز سیاه (کد ۷) هستند. حبه‌ها از هر رقم در دامنه بریکس ۱۸ تا ۲۰ برداشت و پس از قرار گرفتن در دمای پایین به آزمایشگاه منتقل شدند. پوست حبه‌ها بلافاصله جدا و بوسیله دستگاه لایوفیلایزر خشک شدند. جهت استخراج و آنالیز آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها، نمونه‌های خشک شده به آزمایشگاه بخش علوم باغبانی، موسسه CSIRO در ادلاید استرالیا منتقل شدند.

ترکیبات استاندارد مالویدین-۳-ا-گلوکوزید، سیانیدین-۳-ا-گلوکوزید و کوئرستین-۳-ا-گلوکوزید از شرکت Extrasynthese فرانسه تهیه شدند. تمام مواد شیمیایی و حلال‌ها دارای درجه خلوص مخصوص HPLC بودند.

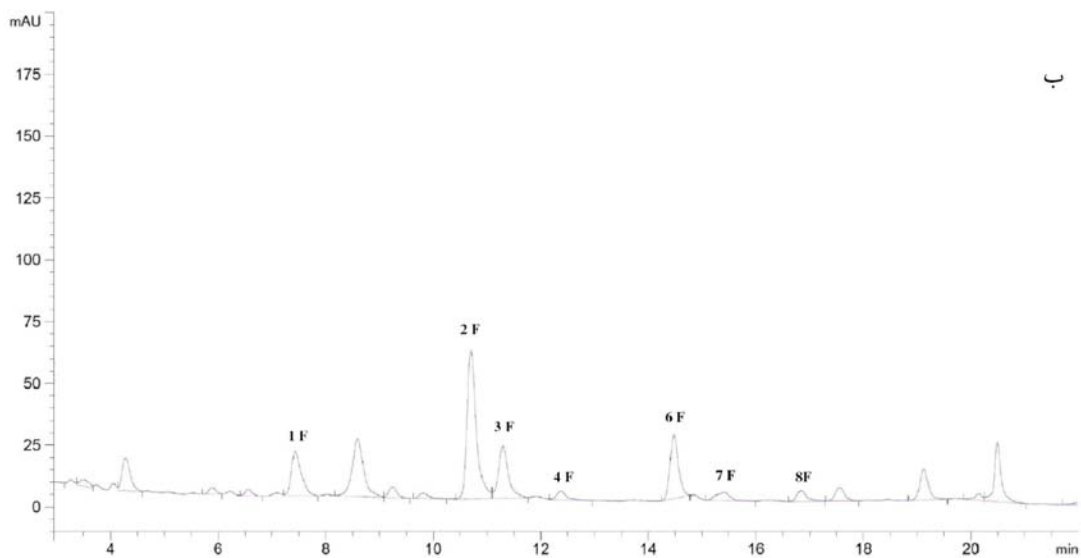
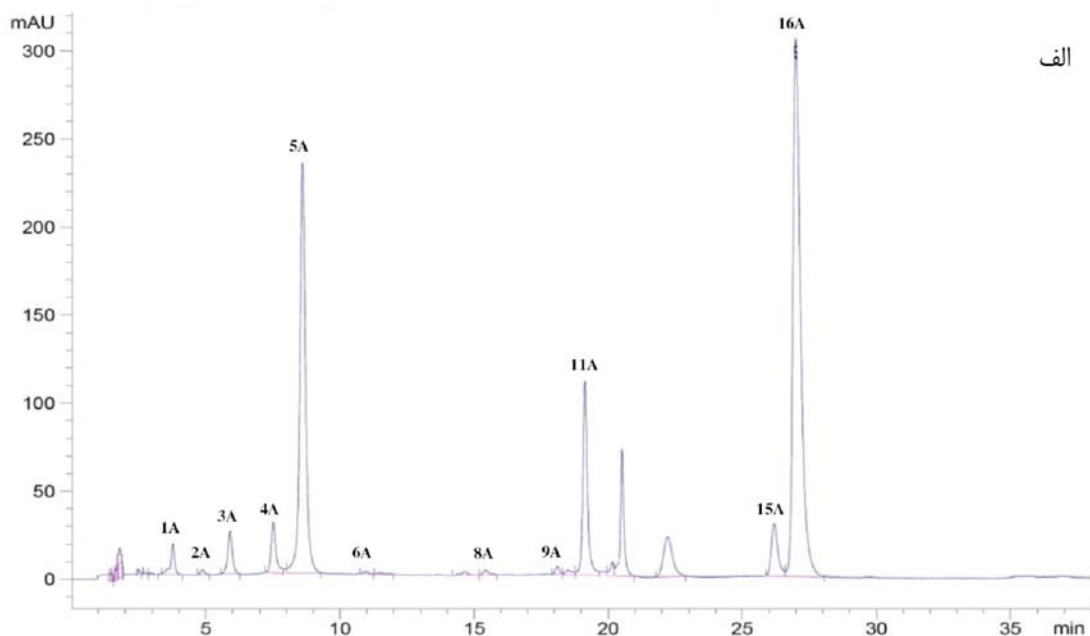
#### تهیه عصاره

صد میلی‌گرم از پوست حبه هر رقم پودر شده و در سه تکرار عصاره‌گیری شد. جهت تهیه عصاره بر اساس روش بهینه



حاصل از آنالیز آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.

گلوکوزید، آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها شناسایی شدند. همچنین برای شناسایی آنها از نتایج گزارش شده برای زمان بازداری در گزارش‌های قبلی استفاده شد [۱۰، ۱۷، ۱۹]. کروماتوگرام



شکل شماره ۱- کروماتوگرام HPLC آنتوسیانین‌ها (۵۲۰ نانومتر) (الف) و فلاونول‌های (۳۵۳ نانومتر) (ب) موجود در پوست حبه انگور رقم سرخک (نام ترکیب منطبق با هر پیک در جدول‌های شماره ۱ و ۳ ذکر شده است).



تجزیه داده‌ها  
جهت آنالیز کلاستر ارقام انگور مورد مطالعه بر مبنای  
فواصل اقلیدوسی حاصل از داده‌های آنتوسیانین‌ها و  
فلاونوئیدها، از نرم‌افزار SPSS ver. 16 استفاده شد.

محاسبه فعالیت هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون  
فعالیت هیدروکسیلاسیون (F3'5'H) و متیلاسیون  
(3'OMT و 5'OMT) توسط آنزیم‌های مشترک و کلیدی در  
مسیر بیوسنتز آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها انجام می‌گیرد که میزان  
فعالیت آنها به کمک فرمول‌های زیر محاسبه شد [9].

فعالیت F3'5'H در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین‌ها

$$\frac{3',5' - \text{dihydroxy}}{3' - \text{hydroxy}} = \frac{\text{delphinidin 3 - glucoside} + \text{petunidin 3 - glucoside} + \text{malvidin 3 - glucoside}}{\text{cyanidin 3 - glucoside} + \text{peonidin 3 - glucoside}}$$

فعالیت F3'5'H در مسیر بیوسنتز فلاونول‌ها

$$\frac{3',5' - \text{dihydroxy}}{3' - \text{hydroxy}} = \frac{\text{myricetin} + \text{laricitrin} + \text{syringetin}}{\text{quercetin} + \text{isorhamnetin}}$$

فعالیت 3'OMT در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین‌ها

$$\frac{3' - \text{methoxy}}{3' - \text{hydroxy}} = \frac{\text{peonidin 3 - glucoside}}{\text{cyanidin 3 - glucoside}}$$

فعالیت 3'OMT در مسیر بیوسنتز فلاونول‌ها

$$\frac{3' - \text{methoxy}}{3' - \text{hydroxy}} = \frac{\text{isorhamnetin}}{\text{quercetin}}$$

فعالیت 5'OMT در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین‌ها

$$\frac{3',5' - \text{methoxy}}{3',5' - \text{hydroxy}} = \frac{\text{malvidin 3 - glucoside}}{\text{delphinidin 3 - glucoside}}$$

فعالیت 5'OMT در مسیر بیوسنتز فلاونول‌ها

$$\frac{3',5' - \text{methoxy}}{3',5' - \text{hydroxy}} = \frac{\text{syringetin}}{\text{myricetin}}$$



## نتایج

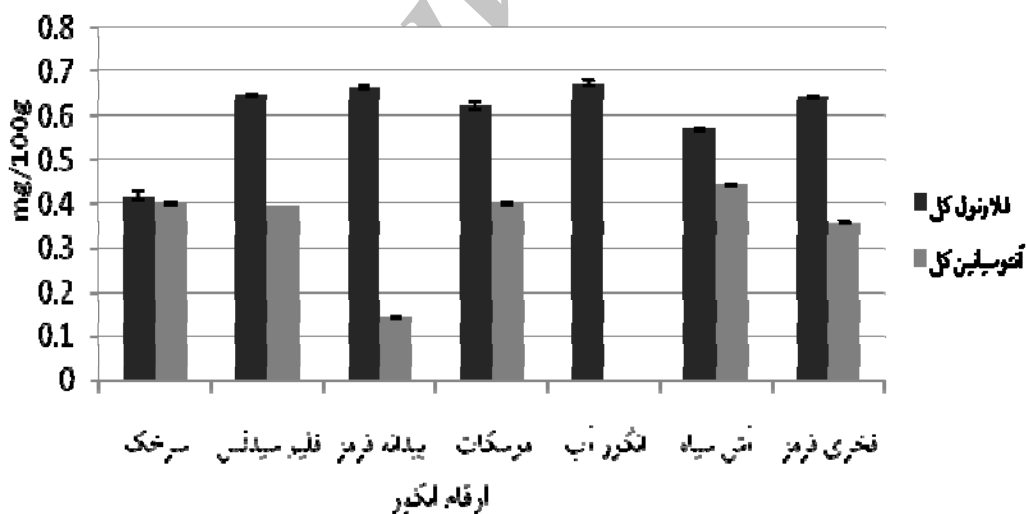
### بررسی کمیت و کیفیت آنتوسیانین‌ها

محتوای آنتوسیانین کل در بین ارقام رنگی انگور از ۰/۱۴ (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) در بیدانه قرمز تا ۰/۴۴ در آتش سیاه شیراز متفاوت بود (شکل شماره ۲). از بین آنتوسیانین‌های بررسی شده، بیشترین مقدار سیانیدین در بیدانه قرمز (۹۱/۶ درصد)، پئونیدین در فخری قرمز (۹۱/۴۳ درصد)، دلفینیدین در فلیم سیدلس (۴/۹۵ درصد)، مالویدین در سرخک (۸۷/۶۹ درصد) و پئونیدین در انگورهای موسکات هامبورگ (۴/۳۶ درصد) و فلیم سیدلس (۴/۳۲ درصد) بود. همان‌طور که انتظار می‌رفت، در انگور آب که یک رقم سبز مایل به زرد می‌باشد هیچ نوع آنتوسیانینی یافت نشد (جدول‌های شماره ۱ و ۲).

گروه‌بندی بر اساس ترکیبات آنتوسیانینی، ارقام مورد مطالعه را در سه دسته کلی قرار داد (شکل شماره ۳- الف). ارقام آتش سیاه شیراز، فخری قرمز، فلیم سیدلس و موسکات هامبورگ در دسته اول قرار گرفتند. در آتش سیاه شیراز و فخری قرمز که در یک زیرگروه بودند، درصد پئونیدین بالایی مشاهده شد (به ترتیب ۷۴/۶۸ و ۹۱/۴۳ درصد) و در هر دو سهم بالایی از

آنتوسیانین‌ها را انواع دی‌هیدروکسیله تشکیل دادند (به ترتیب ۸۰/۵۶ و ۹۲/۴۰ درصد). در فخری قرمز پئونیدین و دلفینیدین یافت نشد و در آتش سیاه شیراز میزان آنها کمتر از دو درصد بود. همچنین در فخری قرمز ۸۸/۲۲ درصد و در آتش سیاه شیراز ۹۶/۸ درصد از کل محتوای آنتوسیانین آنها به فرم گلوکوزید بود (جدول‌های شماره ۱ و ۲).

در ارقام فلیم سیدلس و موسکات هامبورگ که در زیرگروه دوم گروه یک قرار گرفتند، میزان سیانیدین (به ترتیب ۱۰/۰۴ و ۸/۷۳ درصد)، پئونیدین (۴۵/۶۳ و ۳۴/۹۱ درصد)، دلفینیدین (۴/۹۵ و ۳/۱۷ درصد)، مالویدین (۳۵/۰۶ و ۴۸/۸۲ درصد) و پئونیدین (۴/۳۲ و ۴/۳۶ درصد) بسیار مشابه بود. در رقم فلیم سیدلس و موسکات هامبورگ به ترتیب ۵۵/۶۷ درصد و ۴۴ درصد از آنتوسیانین‌ها را آنتوسیانین‌های دی‌هیدروکسیله و ۴۴/۳۳ درصد و ۵۶ درصد را آنتوسیانین‌های تری‌هیدروکسیله تشکیل دادند. در فلیم سیدلس ۸۴/۹۲ درصد و در موسکات هامبورگ ۹۳/۷۵ درصد از کل محتوای آنتوسیانین به فرم گلوکوزید بود (جدول‌های شماره ۱ و ۲).



شکل شماره ۲ - مقدار آنتوسیانین و فلاونول کل در بین ارقام مختلف انگور



جدول شماره ۱- میانگین مقدار آنتوسیانین‌ها (درصد سطح زیر منحنی) در بین ارقام مختلف انگور

نوع آنتوسیانین	بیک	رقم						فخری قرمز
		سرخک	فلمم سیدلس	بیدانه قرمز	موسکات	انگور آب	آش سیاه شیراز	
Delphinidin-3-O-glucoside	۱	۱/۳۶	۴/۲۵	۰/۰	۲/۷۷	-	۱/۲۷	۰/۰
Cyanidin-3-O-glucoside	۲	۰/۲۲	۸/۶۳	۲۸/۰۸	۷/۶۲	-	۵/۶۳	۰/۷۶
Petunidin-3-O-glucoside	۳	۲/۱۳	۳/۷۲	۰/۰	۳/۸۰	-	۱/۸۷	۰/۰
Peonidin-3-O-glucoside	۴	۲/۵۶	۳۱/۶۹	۲/۶۵	۲۸/۱۸	-	۶۹/۱۶	۶۴/۰۳
Malvidin-3-O-glucoside	۵	۲۴/۰۷	۲۴/۷۴	۰/۰	۳۹/۴۳	-	۱۴/۸۱	۴/۴۱
Delphinidin-3-O-acetylglucoside	۶	۰/۱۴	۰/۰	۰/۰	۰/۰	-	۰/۰	۰/۰
Cyanidin-3-O-acetylglucoside	۷	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	-	۰/۰	۰/۰
Petunidin-3-O-acetylglucoside	۸	۰/۳۴	۰/۰	۰/۰	۰/۰	-	۰/۰	۰/۰
Peonidin-3-O-acetylglucoside	۹	۰/۳۸	۰/۵۵	۰/۰	۰/۳۲	-	۰/۴	۰/۴۹
Petunidin-(6-O-Caffeoyl) glucoside	۱۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	-	۰/۰	۰/۰
Malvidin-3-O-acetylglucoside	۱۱	۹/۴۲	۰/۹۲	۰/۰	۰/۴۲	-	۰/۱۶	۰/۰
Delphinidin-3-(6-O-coumaroyl) glucoside	۱۲	-	-	-	-	-	-	-
Group of anthocyanins	۱۷-۱۳	-	-	-	-	-	-	-
Petunidin-3-(6-O-coumaroyl) glucoside	۱۴	-	-	-	-	-	-	-
Peonidin-3-(6-O-coumaroyl) glucoside	۱۵	۳/۶۵	۷/۰۱	۰/۰	۱/۹۶	-	۱/۹۹	۷/۲۱
Malvidin-3-(6-O-coumaroyl) glucoside	۱۶	۴۲/۲۷	۴/۴۹	۰/۰	۲/۷۵	-	۰/۵۱	۱/۵۵

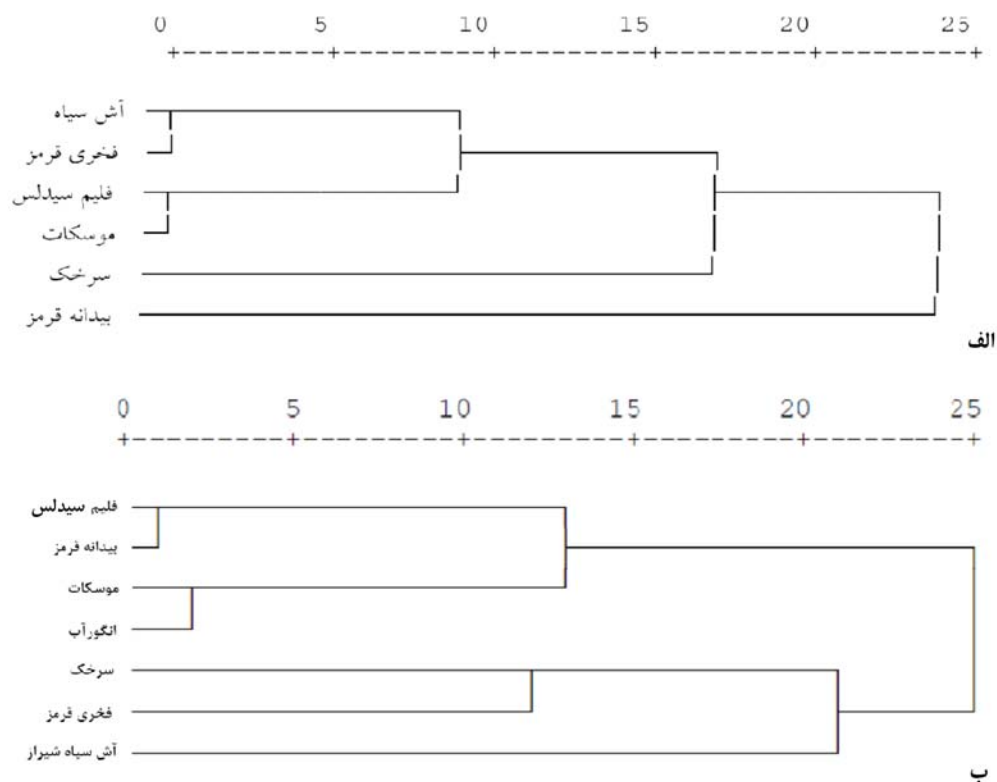


جدول شماره ۲- مقادیر گروه‌های مختلف آنتوسیانین‌ها (درصد) در بین ارقام مختلف انگور

آنتوسیانین	رقم						
	سرخک آبی تیره	قلیم سیدلس قرمز مایل به بنفش متوسط	بیانه قرمز قرمز روشن	موسکات قرمز مایل به بنفش تیره	انگور آب سبز مایل به زرد	آتش سیاه شبراز قرمز سیاه	لفخری قرمز قرمز
Cyanidin	۰/۲۵۱±۰/۰۰۱*	۱/۰۳۹±۰/۰۵۶	۹۱/۵۹۷±۴/۲۶۱	۸۷۳۳±۰/۰۳۳	-	۵/۸۰±۰/۰۲۲	۰/۹۶±۰/۰۲۳
Peonidin	۷/۵۲۱±۰/۰۷۸	۴۵/۶۳۳±۰/۱۱۱	۸/۴۰۳±۴/۲۶۱	۳۴/۹۱۵±۰/۰۲۹	-	۷۲/۶۸۱±۰/۱۳۰	۹۱/۳۳۵±۰/۰۷۴
Delphinidin	۱/۸۱۷±۰/۰۳۳	۴/۹۴±۰/۰۳۰	۰/۰	۳/۱۷۳±۰/۰۷۰	-	۱/۳۳۹±۰/۰۱۰	۰/۰
Malvidin	۸۷/۶۸۷±۰/۰۴۵	۲۵/۰۶۰±۰/۱۷۷	۰/۰	۴۸/۸۲۰±۰/۱۲۲	-	۱۶/۱۶۰±۰/۱۴۹	۷/۵۹۶±۰/۰۵۶
Petunidin	۲/۸۲±۰/۰۲۶	۴/۳۲±۰/۰۱۹	۰/۰	۴/۳۵±۰/۰۶۱	-	۱/۹۵±۰/۰۳۰	۰/۰
Dihydroxylated	۷/۷۷۷±۰/۰۷۸	۵۵/۶۷±۰/۱۶۵	۱۰۰/۰±۰/۰	۴۳/۶۳±۰/۰۲۱	-	۸۰/۵۶±۰/۱۵۰	۹۷/۴۰۴±۰/۰۵۶
Trihydroxylated	۹/۲۲۷±۰/۰۲۸	۴۳/۳۷±۰/۱۶۵	۰/۰	۵۶/۲۵۳±۰/۰۲۱	-	۱۹/۳۳۹±۰/۱۵۰	۷/۵۹۶±۰/۰۵۶
Glucoside	۲۴/۶۶۹±۰/۱۸۸	۸۴/۹۲۵±۰/۱۶۴	۱۰۰/۰±۰/۰	۹۳/۷۵۲±۰/۰۶۷	-	۹۶/۸۰۲±۰/۰۰۶	۸۸/۳۱۶±۰/۲۹۵
Acetylglucoside	۱۱/۸۳۵±۰/۰۲۸	۱۷/۰۴±۰/۰۱۵	۰/۰	۰/۰/۵۵±۰/۰۹۹	-	۰/۵۸۹±۰/۰۰۲	۰/۶۱۸±۰/۰۳۰۹
Coumaroyl	۵۲/۵۹۶±۰/۱۶۷	۱۳/۳۷۰±۰/۱۵۲	۰/۰	۵/۳۹۳±۰/۱۱۴	-	۲/۶۰۸±۰/۰۰۴	۱۱/۱۶۶±۰/۰۲۸
Petunidin Caffeoylglucoside	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	-	۰/۰	۰/۰

\* میانگین ± الحراف معیار





شکل شماره ۳- دندروگرام حاصل از آنالیز کلاستر ارقام انگور بر اساس فواصل اقلیدسی به دست آمده از ترکیبات آنتوسیانین (الف) و ترکیبات فلاونول (ب)

شناسایی شدند.

#### بررسی کمیت و کیفیت فلاونولها

مقدار فلاونول کل در بین ارقام انگور مورد مطالعه از ۰/۴۲ (سرخک) تا ۰/۶۷ (انگور آب) میلی گرم در ۱۰۰ گرم متفاوت بود (شکل شماره ۲). کوئرستین ترکیب فلاونولی غالب (۶۱/۲۱ درصد در آش سیاه شیراز تا ۸۷/۳۷ درصد در رقم موسکات هامبورگ) در تمام ارقام انگور مورد مطالعه بود (جدول شماره ۳). کوئرستین به دو فرم ۳-آ-گلوکورونید و ۳-آ-گلوکوزید وجود داشت که فرم گلوکورونید در بین انگورهای قرمز از ۳۳/۳۲ درصد در آش سیاه شیراز تا ۶۰/۴ درصد در موسکات هامبورگ و ۶۰/۰۴ درصد در فخری قرمز متغیر بود. فرم گلوکوزید هم در بین این انگورها از ۱۳/۲ درصد در فخری قرمز تا ۳۸/۷ درصد در بیدانه قرمز متفاوت

در سرخک ۹۲/۲۳ درصد از کل آنتوسیانینها را آنتوسیانینهای تری هیدروکسیله بویژه مالویدین (۸۷/۶۹ درصد) تشکیل دادند. در این رقم کمترین مقدار سیانیدین (۰/۲۵ درصد) و پئونیدین (۷/۵۲ درصد) مشاهده شد. بر خلاف سایر ژنوتیپهای مورد مطالعه که فرم ۳-آ-گلوکوزید رایجترین فرم آنتوسیانین بود، در سرخک ۳-۶-آ-کومارویل-گلوکوزید بیشترین فرم آنتوسیانین را تشکیل داد و فرم استیل گلوکوزید نیز در این رقم (۱۱/۷۳ درصد) نسبت به سایر ارقام بیشتر بود (جدولهای شماره ۱ و ۲). این ویژگیها رقم سرخک را در یک گروه مجزا قرار داد.

رقم بیدانه قرمز که در بین ارقام رنگی کمترین شدت رنگ را داشت، در دسته سوم قرار گرفت. این رقم کمترین مقدار آنتوسیانین کل را داشته و در آن فقط آنتوسیانینهای دی هیدروکسیله (سیانیدین و پئونیدین) و تنها به فرم گلوکوزید



(به ترتیب ۲۱/۳۹ و ۱۹/۲۸ درصد) در یک زیرگروه و ارقام موسکات هامبورگ و انگورآب با دارا بودن بالاترین میزان کوئرستین (به ترتیب ۸۷/۳۷ و ۸۷/۲۵ درصد) در زیرگروه دوم قرار گرفتند. فخری قرمز و سرخک نیز که دارای مقدار میریستین نسبتاً بالا (به ترتیب ۱۲/۳۷ و ۱۳/۱۶ درصد) و همچنین دارای مقدار کوئرستین کمتری (به ترتیب ۷۳/۲۲ و ۶۲/۶۷ درصد) بودند، در دسته دوم قرار گرفتند. رقم آش سیاه شیراز به تنهایی در گروه سوم قرار گرفت. این رقم دارای بیشترین مقدار میریستین (۲۸/۴ درصد) و کمترین کوئرستین (۶۱/۲۱ درصد) بود.

#### محاسبه فعالیت هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون

در ارقام مورد مطالعه، فعالیت  $F3'5'H$ ،  $3'OMT$  و  $5'OMT$  بر روی آنتوسیانین‌ها در مقایسه با میزان فعالیت آنها بر روی فلاونول‌ها بیشتر بود چنانکه میانگین فعالیت بر آنتوسیانین‌ها  $F3'5'H=1/54$ ،  $3'OMT=14/47$ ،  $5'OMT=7/11$  و میانگین فعالیت بر فلاونول‌ها  $F3'5'H=0/159$ ،  $3'OMT=0/050$ ،  $5'OMT=0$  بود (جدول شماره ۴).

در هر دو مسیر (بیوسنتز آنتوسیانین و فلاونول)، فعالیت  $F3'5'H$  در رقم سرخک بالاترین مقدار (به ترتیب  $r=9/93$  و  $r=0/45$ ) محاسبه شد. فعالیت  $F3'5'H$  در انگورآب صفر و در بیدانه قرمز تنها در مسیر سنتز فلاونول به مقدار ناچیز تخمین زده شد. فعالیت بالای  $F3'5'H$  منجر به آبی‌تر شدن سرخک و فعالیت کم آن منجر به قرمز رنگ پریده شدن بیدانه قرمز می‌شود.

در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین‌ها، فعالیت  $3'OMT$  در فخری قرمز بسیار بالا بود ( $r=84/25$ ) که منجر به متیلاسیون سیانیدین و تولید پئونیدین به مقدار قابل ملاحظه‌ای شد. بالعکس، فعالیت  $3'OMT$  در بیدانه قرمز بسیار کم ( $r=0/09$ ) بوده و سیانیدین، آنتوسیانین غالب در این رقم بود. فعالیت  $5'OMT$  در مسیر بیوسنتز آنتوسیانین‌ها، در رقم سرخک بالاترین مقدار را داشت که نتیجه آن تولید میزان بالای مالویدین بود. در بیدانه قرمز فعالیت  $5'OMT$  صفر تخمین زده شد. در این رقم هیچ یک از آنتوسیانین‌های تری‌هیدروکسیله شناسایی نشد.

بود. در انگورآب نیز دو رقم گلوکورونید و گلوکوزید به ترتیب ۶۱/۱ و ۲۶/۱۵ درصد از فلاونول‌های موجود در پوست حبه این رقم را تشکیل دادند (جدول شماره ۳).

لاریسیتین به دو رقم ۳-ا-رامنوز-۷-ا-تری هیدروکسی سینامیک اسید و رقم ۳-ا-گالاکتوزید وجود داشت. لاریسیتین در رقم سرخک بیشترین مقدار (۱۶/۷۳ درصد) بوده و فقط در این رقم به هر دو رقم (به ترتیب ۱۳/۷۲ درصد و ۳/۰۱ درصد) موجود بود. این ترکیب در ارقام انگورآب (انگور سبز مایل به زرد)، فخری قرمز و فلیم سیدلس شناسایی نشد و در رقم آش سیاه شیراز (۰/۶۲ درصد)، موسکات هامبورگ (۰/۶۴ درصد) و بیدانه قرمز (۰/۱۷ درصد) تنها به رقم گالاکتوزید و به مقدار ناچیز حضور داشت (جدول شماره ۳).

میریستین ۳-ا-گلوکوزید در رقم آش سیاه شیراز در بالاترین غلظت (۲۸/۴ درصد) حضور داشت، در حالی که در رقم بیدانه قرمز مقدار جزئی (۰/۲۲ درصد) بوده و در انگورآب اصلاً شناسایی نشد. کامفرول به دو رقم ۳-ا-گلوکوزید و رقم ۳-ا-کافنولیت مورد بررسی قرار گرفت که بیشترین مقدار آن ۲۱/۳۹ درصد در رقم فلیم سیدلس (به ترتیب ۴/۵۱ درصد و ۱۶/۸۸ درصد) بود. در حالی که در سرخک تنها به رقم ۳-ا-کافنولیت (۳/۸۶ درصد) بوده و در فخری قرمز اصلاً شناسایی نشد. در انگورآب نیز کامفرول به دو رقم ۳-ا-گلوکوزید و رقم ۳-ا-کافنولیت به ترتیب به مقدار ۲/۷۲ و ۱۰/۰۲ درصد حضور داشت (جدول شماره ۳).

ایزورامتین ۳-ا-گلوکوزید در انگورآب (سبز مایل به زرد) شناسایی نشد و بیشترین و کمترین آن در انگورهای قرمز به ترتیب در ارقام فخری قرمز (۱۴/۴۱ درصد) و فلیم سیدلس (۰/۱۴ درصد) مشاهده شد. سیرینجتین ۳-ا-گالاکتوزید نیز در هیچ یک از ارقام مورد مطالعه حضور نداشت (جدول شماره ۳). گروه‌بندی بر اساس ترکیبات فلاونولی، ارقام مورد مطالعه را در سه دسته کلی قرار داد (شکل شماره ۳ - ب). در دسته اول ارقام فلیم سیدلس، بیدانه قرمز، موسکات هامبورگ و انگورآب قرار گرفتند که دارای بالاترین مقدار کوئرستین و کمترین مقدار میریستین و ایزورامتین بودند. از این ارقام فلیم سیدلس و بیدانه قرمز که دارای بالاترین میزان کامفرول بودند



محصول متیلاسیون کوثرستین در موقعیت 3' می باشد، مشاهده نشد. در ارقام مورد مطالعه در مسیر سنتز فلاونول ها هیچ گونه فعالیت 5'OMT وجود نداشت.

در مسیر بیوسنتز فلاونول ها در ارقام قرمز رنگ، فعالیت 3'OMT و در نتیجه تولید ایزورامنتین در فخری قرمز بیشترین ( $F=0/197$ ) و در فلیم سیدلس کمترین ( $F=0/002$ ) بود. در انگورآب فعالیت 3'OMT صفر بوده و ایزورامنتین، که

جدول شماره ۳- مقادیر فلاونول های مختلف (درصد) در بین ارقام مورد مطالعه انگور

نوع فلاونول	بیک	سرخک	فلیم سیدلس	بیدانه قرمز	موسکات	انگور آب	آش سیاه شیراز	فخری قرمز
Myricetin-3-O-glucoside	۱	۱۳/۱۶±۰/۴۱*	۱/۱۱±۰/۰۳	۰/۲۲±۰/۰۱	۴/۸۸±۰/۰۵	۰/۰	۲۸/۶±۰/۳۰	۱۲/۳۳±۰/۴۷
Quercetin-3-O-glucuronide	۲	۴۵/۲۷±۱/۷۱	۴۴/۸۵±۰/۱۱	۴۱/۲۳±۰/۶۵	۶۰/۴۰±۰/۰۷	۶/۱۸±۰/۱۱	۳۳/۳۳±۰/۱۳	۶۰/۰۴±۰/۳۰
Quercetin-3-O-glucoside	۳	۱۷/۴±۰/۸۲	۳۲/۵۱±۰/۱۳	۳۸/۶۷±۰/۲۲	۲۶/۹۷±۰/۱۲	۲۶/۱۵±۰/۱۴	۲۷/۸۸±۰/۱۸	۱۳/۱۸±۰/۴۴
Laricitrin-3-O-galactoside	۴	۲/۰۱±۰/۱۹	۰/۰	۰/۱۷±۰/۰۲	۰/۶۶±۰/۰۵	۰/۰	۰/۶۶±۰/۰۷	۰/۰
Kaempferol-3-O-glucoside	۵	۰/۰	۲/۵۱±۰/۰۳	۴/۲۸±۰/۰۳	۱/۲۸±۰/۰۱	۲/۸۷±۰/۰۸	۱/۲۵±۰/۰۱	۰/۰
Laricitrin-3-O-rhamnose-7-O-trihydroxyinnamic acid	۶	۱۳/۷۲±۱/۷۹	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰
Kaempferol-3-O-caffeoylate	۷	۳/۸۶±۰/۱۱	۱۶/۸۸±۰/۰۹	۱۵/۰±۰/۴۱	۴/۴۱±۰/۰۶	۱۰/۰۶±۰/۰۳	۴/۱۱±۰/۰۹	۰/۰
Isorhamnetin-3-O-glucoside	۸	۳/۶±۰/۱۹	۰/۱۴±۰/۰۱	۰/۴۳±۰/۰۳	۱/۴۲±۰/۰۱	۰/۰	۴/۴۱±۰/۰۸	۱۴/۴۱±۰/۱۲
Syringetin-3-O-galactoside	۹	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰

\* میانگین ± انحراف معیار



جدول شماره ۴- تخمین فعالیت هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون در بیوستز آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها در بین ارقام مختلف انگور

رقم	بیوستز فلاونول			بیوستز آنتوسیانین		
	فعالیت F3'5'H	فعالیت 3'OMT	فعالیت 5'OMT	فعالیت F3'5'H	فعالیت 3'OMT	فعالیت 5'OMT
سرخک	۰/۴۵۱	۰/۰۵۷	۰/۰	۹/۹۳	۱۱/۸۲	۱۷/۷۰
فلیم سیدلس	۰/۰۱۴	۰/۰۰۲	۰/۰	۰/۸۱	۳/۶۷	۵/۸۲
بیدانه قرمز	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰	۰/۰	۰/۰۹	۰/۰
موسکات	۰/۰۶۲	۰/۰۱۶	۰/۰	۱/۲۹	۳/۷۰	۱۴/۲۳
انگور آب	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰
آش سیاه	۰/۴۴۲	۰/۰۷۲	۰/۰	۰/۲۴	۱۲/۲۸	۱۱/۶۶
فخری قرمز	۰/۱۴۱	۰/۱۹۷	۰/۰	۰/۰۷	۸۴/۲۵	۰/۰
میانگین	۰/۱۵۹	۰/۰۵۰	۰/۰	۱/۵۴	۱۴/۴۷	۷/۱۱

## بحث

### بررسی کمیت و کیفیت آنتوسیانین‌ها

اظهار شده است. در رقم بیدانه قرمز تنها آنتوسیانین‌های با فرم گلوکوزید دی‌هیدروکسیله (مشتق شده از سیانیدین) یافت شد. ماتیبوی و همکاران [۹] پیشنهاد دادند که ارقامی مانند شادونی (pink Chardonnay) صورتی که در طیف آنتوسیانین آنها غالباً مشتقات سیانیدین یافت می‌شود، از انگورهای سفید منشأ می‌گیرند. بر این اساس، می‌توان گفت انگور بیدانه قرمز از انگورهای سفید منشأ گرفته است.

در ارقامی مانند بیدانه قرمز به رنگ قرمز روشن، فخری قرمز به رنگ قرمز تیره و آش سیاه شیراز به رنگ قرمز سیاه، آنتوسیانین‌های سیانیدین و پئونیدین (دی‌هیدروکسیله) بیشترین مقدار را نشان دادند. در حالی که، در سرخک (آبی تیره)، موسکات هامبورگ (قرمز مایل به بنفش تیره) و رقم فلیم سیدلس (قرمز مایل به بنفش متوسط) آنتوسیانین‌های تری‌هیدروکسیله به ترتیب ۹۲/۲۳، ۵۶/۳۵ و ۴۴/۳۳ درصد را به خود اختصاص دادند. کوبایاشی (Kobayashi) و همکاران [۲۴] گزارش کردند که آنتوسیانین‌های مشتق شده از سیانیدین رنگ قرمز را ایجاد می‌کنند، در حالی که آنتوسیانین‌های مشتق شده از دلفینیدین منجر به ایجاد رنگ آبی در حبه‌ها می‌شوند.

در این تحقیق فرم گلوکوزید رایج ترین فرم آنتوسیانین در ارقام مورد مطالعه بود و تنها در سرخک کومارویل-گلوکوزید بیشترین فرم آنتوسیانین را تشکیل داد. پومار (Pomar) و همکاران (۲۰۰۵) [۲۵] در مطالعه محتوای آنتوسیانین‌های ۵۰ رقم انگور گزارش کردند که فرم گلوکوزید فرم غالب در اکثر

در این مطالعه محتوا و ترکیب آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌های چند رقم انگور که دارای طیف رنگی متفاوت می‌باشند، با استفاده از HPLC مورد بررسی قرار گرفت. انگور و فراورده‌های آن منابع مهم آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها در رژیم غذایی هستند. این ترکیبات دارای اثرات دارویی متنوع از جمله آنتی‌اکسیدانی هستند. چنانکه ثابت شده است آب انگور قرمز اثر بازدارندگی بر اکسیداسیون لیپو پروتئین‌های با چگالی کم دارد [۲۰]. افرادی که مرتب در رژیم غذایی از انگور استفاده می‌کنند از نظر شرایط اکسیداتیو در بافت‌های بدن تفاوت قابل توجهی با سایر افراد دارند [۲۱]. در انگورهای مورد مطالعه، مقدار آنتوسیانین کل ارتباط بالایی با رنگ ارقام داشت. مطالعات نشان داده که محتوای آنتوسیانین کل، همبستگی بالایی با بیان تجمعی ژن‌های *UFGT*، *F3'H* و *GST* دارد. دو ژن *GST* و *UFGT* در انگورهای سفید بیان نمی‌شوند و حداقل ۱۰ برابر کمتر در ارقام قرمز رنگ پریده در مقایسه با ارقام کاملاً قرمز بیان می‌شوند [۲۲]. ماتیبوی (Mattivi) و همکاران [۹] در تکمیل مطالعات باس (Boss) و همکاران [۲۳]، نتیجه گرفتند که برخی ارقام صورتی انگور موتاسیون‌های حاصل از ارقام قرمز و برخی دیگر موتاسیون‌های حاصل از ارقام سفید می‌باشند. این نظریه بر اساس شباهت طیف آنتوسیانین‌های این ارقام با ارقام اولیه



تغذیه‌ای - دارویی آن بیشتر به صورت تازه خوری مطرح می‌باشد [۳].

کامفرول به فرم کافئولیت در دو رقم فلیم سیدلس و بیدانه قرمز به غلظت بالاتری مشاهده شد. این ترکیب از طریق جلوگیری از اکسیداسیون لیپو پروتئین‌های کم چگالی و تشکیل پلاکت درخون از گرفتگی عروق (arteriosclerosis) و همچنین از اکسیداسیون LDL جلوگیری می‌کند [۳]. همچنین ثابت شده است که این ترکیب برای افراد در معرض خطر سرطان مفید می‌باشد [۲۹]. ایزورامنتین که در انگور فخری قرمز در غلظت بالاتر مشاهده شد، در پیشگیری از تشکیل غدد چربی در بدن و چاقی نقش مؤثری دارد [۳۰].

در این تحقیق، در انگورآب (سبز مایل به زرد) تنها کوئرستین (۸۷/۲۵ درصد) و کامفرول (۱۲/۷۵ درصد) شناسایی شد. بر اساس گزارش‌های موجود، در انگورهای سفید فلاونول‌های شبه دلفینیدین (میرستین، لاریسیتین، سیرینجین) به دلیل عدم بیان ژن F3'5'H وجود ندارند [۳۱، ۹].

#### بررسی فعالیت هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون

بررسی میزان هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون در ارقام مورد مطالعه نشان داد که فعالیت F3'5'H، 3'OMT و 5'OMT بر روی آنتوسیانین‌ها از فلاونول‌ها بیشتر است که می‌تواند ناشی از تمایل بالاتر این آنزیم‌ها به سوبسترای (substrate specificity) آنتوسیانینی باشد که این تفاوت در مورد فعالیت 3'OMT و 5'OMT بسیار چشمگیرتر است. ماتیوی و همکاران [۹] نیز در مطالعه ۹۱ رقم انگور گزارش کردند که برای فعالیت هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون، آنتوسیانین‌ها سوبسترهای خیلی بهتری نسبت به فلاونول‌ها هستند. مالویدین ۳-ا-گلوکوزید پایدارترین و فراوان‌ترین آنتوسیانین در بیشتر انگورهای قرمز می‌باشد [۳۲]. در این مطالعه نیز، میزان مالویدین در بین آنتوسیانین‌های تری‌هیدروکسیله به طور قابل توجهی بالاتر از دلفینیدین و پتونیدین بود و دلفینیدین در ارقام مورد بررسی، به غیر از فخری قرمز، کمترین میزان را داشت.

ارقام (به جز یک رقم) می‌باشد. در رقم مستثنی، فرم پارا-کوماریت بیشترین بخش محتوای آنتوسیانینی را به خود اختصاص داده بود.

در انگورآب همان‌طور که انتظار می‌رفت هیچ نوع آنتوسیانینی یافت نشد. در انگورهای سفید عدم فعالیت و بیان دو فاکتور رونویسی *VvMYBA1* و *VvMYBA2* که در کنترل بیان ژن *VvUFGT* نقش دارند، منجر به تولید نشدن آنتوسیانین می‌شود [۲۶]. کوبایاشی و همکاران [۲۷] اضافه شدن یک رتروترانسپوزون (*retrotransposon*) درون ژن *VvMYBA1* را علت غیرفعال شدن آن ذکر کردند.

#### بررسی کمیت و کیفیت فلاونول‌ها

دو فرم ۳-ا-گلوکورونید و ۳-ا-گلوکوزید کوئرستین، فلاونول‌های غالب در پوست حبه‌های انگور می‌باشند [۱۱، ۱۰]. در این تحقیق نیز کوئرستین ترکیب فلاونولی غالب در تمام ارقام انگور مورد مطالعه بود (جدول شماره ۳). جونگ (Jeong) و همکاران [۲۸] بیان کردند که آنزیم فلاونول سینتاز در انگور بر دی‌هیدروکوئرستین نسبت به دی‌هیدروکامفرول و دی‌هیدرومیرستین بسیار اختصاصی‌تر عمل می‌کند که این امر به تجمع کوئرستین حتی در ارقامی که سطح بالایی از بیان *F3'5'H* را دارند، منجر می‌شود. هر دو فرم گلوکورونید و گلوکوزید کوئرستین نقش اساسی در پایداری رنگ و ویژگی‌های مطلوب ارگانولوپتیکی آب انگور و سایر فراورده‌های آن دارند. این ترکیبات همچنین با دارا بودن اثرات مفید بر سلامت، نقش مهمی به عنوان غذادارو (*nutraceutical*) دارند [۳].

همان‌طور که در این تحقیق مشاهده شد، در مطالعه ماتیوی و همکاران [۹] نیز کوئرستین، میرستین و ایزورامنتین در همه ارقام پوست قرمز حضور داشتند و به طور مشابه با بیدانه قرمز، میرستین در ارقام صورتی رنگ تنها به مقدار کم مشاهده شده است. در این مطالعه مقدار میرستین متناسب با کاهش شدت رنگ از آش سیاه شیراز تا بیدانه قرمز به تدریج کاهش یافت. میریستین ترکیبی است که طی فراوری انگور هیدرولیز شده و مقدار آن کاهش می‌یابد، بنابراین اثرات



معمول با محتوای آنتوسیانین و فلاونول آنها کاملاً منطبق نیست. این امر به دلیل حضور ترکیبات فنلی متعدد دیگر در این عصاره می‌باشد [۳۳].

علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی، خواص دارویی متعدد دیگری برای انگور گزارش شده است. در مطالعه کریری (Carrieri) و همکاران [۳۴] مشخص شد که ارقام انگوری که دارای مقادیر بالاتری از کوئرستین و سیانیدین هستند، فعالیت ضدانعقادی (Antithrombotic activity) بالاتری از خود نشان می‌دهند. با این حال هر یک از این ترکیبات به تنهایی فعالیت چندانی نشان ندادند، بلکه عصاره تام انگور که غنی از دو ترکیب ذکر شده و شامل سایر ترکیبات نیز بود بیشترین اثر را نشان داد. این امر ثابت می‌کند که علاوه بر نقش هر یک از ترکیبات، اثر هم‌افزایی بین ترکیبات موجود در عصاره ممکن است در بروز اثرات دارویی نقش بالاتری داشته باشد.

### نتیجه‌گیری

ارقام انگور مورد مطالعه از نظر محتوا، نوع و نسبت آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها و الگوی هیدروکسیلاسیون و متیلاسیون آنها متفاوت بودند. این امر منجر به تفاوت در ارزش غذایی- دارویی و بویژه اثرات آنتی‌اکسیدانی، پایداری، حلالیت و ویژگی‌های رنگ آنها می‌شود. اثرات مفید دارویی انگور طیف متنوعی را شامل می‌شود به همین دلیل بسته به نوع اثر مورد انتظار باید بررسی‌های لازم در این زمینه به عمل آید تا مشخص شود که چه ترکیباتی در ایجاد اثر دارویی مدنظر نقش بیشتری دارند و در نتیجه رقم مناسب جهت استفاده تعیین شود.

به طور کلی در مسیر بیوستزی فلاونول‌ها فعالیت متیلاسیون پایین‌تر از هیدروکسیلاسیون در این مسیر است. به همین دلیل فرم‌های هیدروکسیله فلاونول‌ها (کوئرستین و میریستین) نسبت به فرم‌های متیله آنها (ایزورامنتین، لاریسیتین و سیرینجتین) غالب هستند [۹]. در این مطالعه نیز میانگین کوئرستین (۷۵/۵۷ درصد) و میریستین (۸/۵۹ درصد)، بیشتر از ایزورامنتین (۳/۴۹ درصد)، لاریسیتین (۲/۵۹ درصد) و سیرینجتین (صفر) در ارقام مورد مطالعه بود.

در مسیر بیوستز فلاونول‌ها در نتیجه فعالیت 3'OMT ارقام فخری قرمز و فلیم سیدلس، ایزورامنتین تولید می‌شود. در هر دو این ارقام لاریسیتین که حاصل متیلاسیون میریستین در موقعیت ۳' است، تولید نمی‌شود. شاید بتوان گفت که برای متیلاسیون، ۲ یا چند ژن پارالوگ کنترل‌کننده مسیر بیوستز فلاونول‌ها موجود است که هر کدام سوپسترای اختصاصی خود را دارند و در این دو رقم تنها فرمی که به صورت اختصاصی بر روی کوئرستین عمل می‌کند وجود دارد یا بیان می‌شود. در انگور آب فعالیت 3'OMT و تولید ایزورامنتین برخلاف آنچه در ارقام سفید دیگر گزارش شده [۹] مشاهده نشد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها به گروه‌های هیدروکسیله نسبت داده می‌شود که با افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیله در موقعیت ۳' و ۵' حلقه B افزایش می‌یابد [۲]. البته آنتوسیانین‌های پتوئیدین، دلفینیدین و سیانیدین دارای بخش کاتکول آزاد (Free catechol) (نه متیله) در ساختارشان هستند و بطور کلی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری از مالویدین‌ها، با یک گروه هیدروکسیله آزاد، دارند [۲]. با این حال فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره تام (Total extract) انگور به طور

### منابع

1. Kennedy JA. Grape and wine phenolics: observations and recent findings. *Cien. Inv. Agr.* 2008; 35: 107 - 20.
2. Iriti M and Faoro F. Bioactive Chemicals and Health Benefits of Grapevine Products. In: Watson RR and Preedy VR. *Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables*. Academic Press, Amsterdam. 2009, pp: 581 - 621.
3. De Nisco M, Manfra M, Bolognese A, Sofò A, Scopa A, Tenore GC, Pagano F, Milite C and Russo MT. Nutraceutical properties and polyphenolic profile of berry skin and wine of *Vitis*



- vinifera* L. (cv. Aglianico). *Food Chem.* 2013; 140: 623 - 29.
4. Clarke RJ and Bakker J. Basic Taste, Stimulant and other Constituents of Wines. In: Bakker J and Clarke RJ. *Wine Flav. Chem.* Blackwell Publishing UK. 2004, pp: 66 - 119.
  5. Vermerris W and Nicholson R. Phenolic compound biochemistry. 2nd ed. Springer, New York. 2007, pp: 1 - 32.
  6. Sarni P, Fulcrand H, Souillol V, Souquet JM and Cheynier V. Mechanisms of anthocyanin degradation in grape must-like model solutions. *J. Sci. Food Agr.* 1995; 69: 385 - 91.
  7. Forkmann G. Flavonoids as flower pigments: the formation of the natural spectrum and its extension by genetic engineering. *Plant Breed.* 1991; 106: 1 - 26.
  8. Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis: a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiol.* 2001; 126: 485 - 93.
  9. Mattivi F, Guzzon R, Vrhovsek U, Stefanini M and Velasco R. Metabolite profiling of grape: flavonols and anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54: 7692 - 702.
  10. Cheynier V and Rigaud J. HPLC separation and characterization of flavonols in the skin of *Vitis vinifera* var. *cinsault*. *Am. J. Enol. Vitic.* 1986; 37: 248 - 52.
  11. Price SF, Breen PJ, Valladao M and Watson BT. Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 1995; 46: 187 - 94.
  12. Downey MO, Harvey JS and Robinson SP. The effect of bunch shading on berry development and flavonoid accumulation in Shiraz grapes. *Aust. J. Grape Wine R.* 2004; 10: 55 - 73.
  13. Castillo-Muñoz N, Gómez-Alonso S, García-Romero E and Herminos-Gutiérrez I. Flavonol profiles of *Vitis vinifera* red grapes and their single-cultivar wines. *J. Agric. Food Chem.* 2007; 55: 992 - 1002.
  14. Cook-Papini P, Mazza G, Gatti M and Bavaresco L. Anthocyanin and aroma profiling of the 'Albarossa' grapevine crossbreed (*Vitis vinifera* L.) and its parent varieties 'Barbera' and 'Nebbiolo di Dronero'. *Vitis* 2010; 49: 121 - 127.
  15. IPGRI, UPOV, OIV. Descriptors for Grapevine (*Vitis* spp.). International union for the protection of new varieties of plants, Geneva, Switzerland, 1997.
  16. Downey MO, Mazza M and Krstic MP. Development of a stable extract for anthocyanins and flavonols from grape skin. *Am. J. Enol. Vitic.* 2007; 58: 358 - 364.
  17. Downey MO and Rochfort S. Simultaneous separation by reversed-phase high performance liquid chromatography and mass spectral identification of anthocyanins and flavonols in Shiraz grape skin. *J. Chromatogr. A.* 2008; 1201: 43 - 7.
  18. Mabry TJ, Markham KR and Thomas MB. The Systematic Identification of Flavonoides. Springer, New York. 1970, 354 p.
  19. Wulf LW and Nagel CW. High-Pressure Liquid Chromatographic Separation of Anthocyanins of *Vitis vinifera*. *Am. J. Enol. Vitic.* 1978; 29: 42 - 9.
  20. Frankel EN, Bosanek CA, Meyer AS, Silliman K and Kirk LL. Commercial grape juices inhibit the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. *J. Agric. Food Chem.* 1998; 46: 834 - 38.
  21. Hassimotto NMA and Lajolo FM. Antioxidant status in rats after longterm intake of anthocyanins and ellagitannins from blackberries. *J. Sci. Food Agr.* 2011; 91: 523 - 31.
  22. Castellarin S. D. and Di Gaspero G. Transcriptional control of anthocyanin biosynthetic genes in extreme phenotypes for berry pigmentation of naturally occurring grapevines. *BMC Plant Biol.* 2007; 7: 46.
  23. Boss PK, Davies C and Robinson SP. Anthocyanin composition and anthocyanin pathway gene expression in grapevine sports



differing in berry skin colour. *Aust. J. Grape Wine R.* 1996; 2: 163 - 70.

**24.** Kobayashi H, Suzuki S, Tanzawa F and Takayanagi T. Low expression of Flavonoid 3', 5'-hydroxylase (F3',5' H) Associated with Cyanidin-based Anthocyanins in grape Leaf. *Am. J. Enol. Vitic.* 2009; 60: 362 - 67.

**25.** Pomar F, Novo M and Masa A. Varietal differences among the anthocyanin profiles of 50 red table grape cultivars studied by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 2005; 11: 34 - 41.

**26.** Walker AR, Lee E, Bogs J, McDavid DAJ, Thomas MR and Robinson SP. White grapes arose through the mutation of two similar and adjacent regulatory genes. *Plant J.* 2007; 49: 772 - 85.

**27.** Kobayashi S, Goto-Yamamoto N and Hirochika H. Retrotransposon- induced mutations in grape skin color. *Science* 2004; 304: 982.

**28.** Jeong ST, Goot-Yamamoto N, Hashizume K and Esaka M. Expression of the flavonoid 3'-hydroxylase and flavonoid-hydroxylase genes and flavonoid composition in grape (*Vitis vinifera*). *Plant Sci.* 2006; 170: 61 - 9.

**29.** Zhang Y, Chen AY, Li M, Chen C and Yao Q.

*Ginkgo biloba* extract kaempferol inhibits cell proliferation and induces apoptosis in pancreatic cancer cells. *J. Surg. Res.* 2008; 148: 17 - 23.

**30.** Lee J, Jung E and Lee J. Isorhamnetin represses adipogenesis in 3T3-L1 cells. *Obesity* 2009; 17: 226 - 32.

**31.** Bogs J, Ebadi A, McDavid D and Robinson SP. Identification of the flavonoid hydroxylases from grapevine and their regulation during fruit development. *Plant Physiol.* 2006; 140: 279 - 91.

**32.** Mori K, Goto-Yamamoto N, Kitayama M and Hashizume K. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *J. Exp. Bot.* 2007; 58: 1935 - 45.

**33.** Kallithraka S, Mohdalya AA, Makrisb DP, Kefalas P. Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. *J. Food Comp. Anal.* 2005; 18: 375 - 86.

**34.** Carrieri C, Milella RA, Incampo F, Crupi P, Antonacci D, Semeraro N and Colucci M. Antithrombotic activity of 12 table grape varieties. Relationship with polyphenolic profile. *Food Chem.* 2013; 140: 647 - 53.

