بررسی کمیت و کیفیت ترکیب های فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چند رقم سیب[1]

INVESTIGATION ON QUANTITY AND QUALITY OF FLAVONOIDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME APPLE CULTIVARS

انسیه قربانی، داود بخشی، حسن حاج نجاری و محمود قاسم نژاد[2]

چکیده

ترکیب های فنلی میوه‌ها و سبزی‌ها نقش مهمی در پیشگیری از بیماری‌های قلبی- عروقی و انواع سرطان‌ها دارند. این ویژگی ناشی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌هاست. میوه سیب به عنوان یک منبع غنی از ترکیب های فنلی شناخته شده است. در این مطالعه میزان فنل کل، برخی گروه های فلاونوئیدی، کلروجنیک اسید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست دو رقم سیب ایرانی شامل: 'مشهد'، 'مشهد نوری' و دو رقم وارداتی 'استارکینگ' و 'جاناتان' بررسی شد. نتایج تفاوت معنی‌داری را بین رقم های مورد بررسی از نظر مقدار همه ترکیب های مورد مطالعه به جز سیانیدین ۳-گالاکتوزید نشان داد. پوست رقم 'مشهد' بیشترین مقدار کلروجنیک اسید و فلوریدزین و پوست رقم 'جاناتان' بیشترین میزان کاتچین، کوئرستین ۳-گالاکتوزید و سیانیدین ۳-گالاکتوزید را داشتند. تجزیه رگرسیون داده‌های فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که ارتباط مثبتی بین مقدار فنل کل و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست وجود دارد. بیشترین مقدار فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در رقم 'جاناتان' مشاهده شد و رقم های 'استارکینگ'، 'مشهد نوری' و 'مشهد' به ترتیب پس از آن قرار گرفتند.

واژه های کلیدی: ترکیب های فنلی، سیب، فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئیدها.

مقدمه

ترکیب های فنلی گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه با وزن مولکولی کم هستند که توسط گیاهان ساخته می‌شوند و در تمام گیاهان یافت می‌شوند (۲، ۱۱). اصطلاح ترکیب های فنلی گروه خیلی بزرگ و گوناگونی از ترکیب های شیمیایی را شامل می‌شود (۲۳). مواد فنلی از جمله فلاونوئیدها، گیاهان را در برابر نور شدید، اشعه‌ی فرابنفش، بیماریزاها و جانوران علف‌خوار حفاظت می‌کنند (۲). از دیدگاه تولید و مصرف محصول ها، این ترکیب ها نقش مهمی در ویژگی های تغذیه‌ای، حسی (ارگانولپتیک) و بازارپسندی محصول های کشاورزی و فرآورده‌های آن‌ها دارند (۱)، زیرا در تعیین ویژگی های حسی از قبیل رنگ، گسی، تلخی و طعم و عطر محصول ها دخالت دارند (۱، ٤، ۲۳). این ترکیب ها به خاطر ویژگی های آنتی‌اکسیدانی، فراوانی‌شان در رژیم غذایی و نقش احتمالی‌شان در پیشگیری از بیماری‌های مختلف وابسته به تنش اکسیداتیو، مثل بیماری‌های قلبی-

---

۱- تاریخ دریافت: ۸۹/٤/۷ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۱۸

۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار، (bakhshi-d@guilan.ac.ir) گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، جمهوری اسلامی ایران.

www.SID.ir

عروقی، سرطان، سکته، خطرهای اختلال های ایمنی و ذهنی و اختلال های عصبی مورد توجه روزافزون پژوهشگران و تولیدکنندگان غذا قرار گرفته‌اند (۱۶، ۱۸، ۲۲). بررسی نقش پلی فنل‌های رژیم غذایی در پیشگیری از بیماری‌ها فقط به مدت یک دهه است که توجه علمی را به خود جلب کرده است و پیشرفت در این زمینه دارای سرعت چشمگیری است (۷). بنابراین، یکی از بهترین روش‌های پیشگیری از بیماری‌های یاد شده استفاده از رژیم غذایی مطلوب شامل آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است که روزانه دستکم ۱ تا ۲ گرم پلی فنل را در بر داشته باشد (۱۰). این ترکیب ها به طور قابل توجهی در بسیاری از میوه‌ها، سبزی‌ها و فرآورده‌هایی مانند آب میوه وجود دارند (۱۱).

سان و همکاران (۲۱) با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی میوه‌های زغال‌اختـه، سـیب، انگـور قرمز، توت فرنگی، آناناس، موز، هلو، لیمو، پرتقال، گلابی و گریپ‌فروت گزارش کردند که در میان میـوه‌هـا بعـد از زغال‌اخته، سیب دارای بیشترین میزان ترکیب های فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود. سیب یکی از میـوه‌هـای غنـی از مواد فنلی است که به طور گسترده به هر دو صورت خام و فرآوری شده مانند آب میوه، مربا و سرکه مصرف می‌شود.

ترکیب های فنلی زیادی در سیب‌ها شناسایی شده‌اند. دو نوع عمده از پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیـدها و اسـیدهای فنلی هستند (۱۶). گروه‌های اصلی فلاونوئید در میوه سیب فلاونول‌هایی مثل کوئرستین ۳-گلیکوزیـد، فـلاوان- ۳-اُل‌های منومر و الیگومر مثل کاتچین، اپی‌کاتچین، پروسیانیدین‌ها و دی‌هیدروچالکون‌هایی مثل فلوریـدزین هسـتند، و در رقم های قرمز آنتوسیانین‌هایی مثل سیانیدین ۳- گلیکوزیدها وجود دارند که به طور عمده در پوسـت تجمـع می‌یابند. میوه سیب دارای مقدار قابل توجهی مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید، به ویژه کلروجنیک اسـید، (۳، ٤، ۱۳)، که بیشتر در گوشـت سـیب وجـود دارنـد و پـی‌کوماریـک اسـید در شـکل اسـتری شـده بـا کوئینیـک اسـید (پی- کوماریول کوئینیک اسـید) نیـز مـی‌باشـد (۳، ۱۷). در گوشـت سـیب کـاتچین، پروسـیانیدین، اپـی‌کـاتچین و فلوریدزین به مقدار خیلی کمتری نسبت به پوست، نیز وجود دارند (۸).

فعالیت و غلظت پلی فنل‌ها با توجه به نوع رقم، مرحله بلـوغ و شـرایط محیطـی رشـد متفـاوت اسـت (۸). تفاوت‌های بارزی بین رقم های مختلف سیب در میزان کـل مـواد فنلـی و فلاونوئیـد وجـود دارد. بنـابراین فعالیـت آنتـی‌اکسـیدانی سـیب هـا بـین رقـم هـای مختلـف متفـاوت اسـت و رقـم هـای دارای مـواد فنلـی بیشـتر، فعالیـت آنتی‌اکسیدانی بیشتری هم دارند (٤، ۸). بویر و لیو (۸) بیان کردند که در میان ۱۰ رقم پر مصرف سیب در آمریکـا شامل 'فوجی'، 'رددلیشس'، 'گالا'، 'لایبرتی'، 'نوردرن‌اسپای'، 'گلدن‌دلیشـس'، 'رم‌بیـوتی'، ' فورتـون'، 'جاناگلـد'، 'آیدارد'، 'کرتلند'، 'امپایر' و 'ان‌وای ٦٤٧'، 'فوجی' بیشترین میزان ترکیب های فنلی و فلاونوئیدهای کل را داشـت. سیب 'رددلیشس' هم دارای مقدار خیلی بالای ترکیب های فنلی بودنـد و رقـم هـای 'امپـایر' و 'ان‌وای ٦٤٧' دارای کمترین مقدار بودند. آن ها نیز بیان کردند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی سیب‌ها بین رقم های مختلف متفـاوت اسـت و به طور مثبتی با مقدار فنل کل در ارتباط است (٦، ۱۷).

با توجه به اهمیت ترکیب های فنلی موجود در میوه‌ها و جایگاه سیب به عنوان یکی از میوه‌های اصلی در ایران، مطالعه عوامل ژنتیکی از جمله نوع رقم و شرایط محیطی بر مقدار ایـن ترکیـب هـا ضـروری اسـت. مطالعـه حاضر به منظور بررسی کمی و کیفی چند رقم برگزیده سیب شـامل دو رقـم بـومی ایـران و دو رقـم وارداتـی در منطقه کرج انجام شد. با توجه به وجود رقم های بومی بسیار ارزشمند و نیز رقم های وارداتی، بررسی مقایسه‌ای رقم های مختلف به منظور معرفی انواع برتر به ویژه از دیدگاه کیفیت تغذیه‌ای است که این موضوع رویکرد اصلی پژوهش پیش روست.

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

این پژوهش روی میوه های رسیده ٤ رقم مختلف سیب شامل دو رقم بومی 'مشهد'، 'مشهد نوری' و دو رقم وارداتی 'استارکینگ' و 'جاناتان' که در کلکسیون رقم های تجارتی سیب واقع در کمال آباد کرج (زیر نظر بخش تحقیقات باغبانی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر) پرورش می‌یابند انجام شد. درختان مورد بررسی روی پایه‌های بذری پیوند شده، به شکل جامی تربیت شده اند و همه ساله با رعایت اصول علمی هرس می‌شوند. درختان مورد مطالعه ١٦ سال سن داشتند. میوه‌های هر رقم با توجه به فاصله زمانی از مرحله تمام گل تا رسیدگی فیزیولوژیکی از بخش‌های مختلف شاخساره برداشت شدند. میوه‌ها بیدرنگ پس از برداشت به آزمایشگاه باغبانی دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان منتقل شدند.

مواد شیمیایی

در این پژوهش از استانداردهای (+)- کاتچین، کوئرستین ٣- گالاکتوزید، سیانیدین کلراید (Extrasynthese، فرانسه)، فلوریدزین ((Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) و کلروجنیک اسید ((Cayman Chemical Co. (Japan) و همچنین رادیکال آزاد DPPH (Sigma-Aldrich) استفاده شد. حلال‌های مورد استفاده برای استخراج، کروماتوگرافی و اسپکتروفتومتری دارای درجه HPLC و تولید شرکت Merck بودند. فولین مورد استفاده برای اندازه گیری فنل کل نیز محصول شرکت Merck بود.

استخراج ترکیب های فنلی

به منظور استخراج ترکیب های فنلی، نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه شسته و سپس پوست گیری شدند. برای استخراج ترکیب های فنلی از روش لیستر و همکاران (١٥) با کمی تغییر استفاده شد. بدین صورت که مقدار ٢ گرم از پوست با استفاده از نیتروژن مایع در هاون چینی کوبیده و نرم شد. سپس ٢ میلی لیتر حلال استخراج متشکل از ٨٥٪ متانول و ١٥٪ استیک اسید به آن اضافه شد. پس از مخلوط کردن، نمونه‌ها برای انجام عمل استخراج به مدت یک شبانه روز در دمای ٤ درجه سلسیوس قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها داخل ریزلوله ریخته شدند و با سرعت ١٠٠٠٠ دور در دقیقه به مدت ١٠ دقیقه سانتریفیوژ شدند و حدود ٢٠٠ میکرولیتر از فاز روشناور هر نمونه با استفاده از فیلتر سرسرنگی ٠/٤٥ میکرومتر یک بار مصرف فیلتر شد.

تعیین مقدار و اجزای ترکیب های فنلی با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

شناسایی اجزای ترکیب های فنلی با یک سیستم HPLC (Breeze system, Waters, MA, USA)، مجهز به شناساگر UV-Visible (Waters Dual λ Absorbance 2487) با ستون Symentery C18 (١٥٠×٤/٦ میلی‌متر با قطر منافذ ٥ میکرومتر، (Waters, Dublin Ireland)) انجام شد. فاز حامل متشکل از دو حلال: A (٩٥٪ آب: ٥٪ متانول) و B (٥٪ آب: ٩٥٪ متانول) با pH حدود ٣ بود که با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه جریان داشت. ترکیب های فنلی اندازه‌گیری شده در این پژوهش شامل کلروجنیک اسید، کاتچین، فلوریدزین، کوئرستین ٣-گالاکتوزید، سیانیدین ٣-گالاکتوزید بودند. برای اندازه‌گیری ترکیب های فوق، شناساگر به ترتیب در

www.SID.ir

طول موج‌های ۳۲۰، ۲۸۰، ۲۸۰، ۳۵۰ و ۵۳۰ نانومتر تنظیم شد. برای ارزیابی این ترکیب ها در عصاره تهیه شده از پوست میوه‌ها، مقدار ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های تهیه شده، به دستگاه تزریق شدند.

به منظور شناسایی اجزاء تشکیل دهنده مواد فنلی و اندازه‌گیری مقدار آن‌ها، کروماتوگرام‌های حاصل از تزریق هر نمونه در هر تیمار با کروماتوگرام‌های به دست آمده از تزریق استانداردهای مربوطه مقایسه و در نهایت غلظت این ترکیب ها برحسب میکروگرم در یک گرم بافت تازه محاسبه شد.

تعیین میزان فنل کل با روش اسپکتروفتومتری

میزان فنل کل در عصاره‌ها با روش Folin-Ciocalteu و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. در این آزمایش، به علت بالا بودن غلظت ترکیب های فنلی در عصاره‌های پوست نمونه‌های سیب، ابتدا نمونه‌ها ۲۰ بار رقیق شدند. سپس به ۱۲۵ میکرولیتر از هر یک از این نمونه‌ها ۳۷۵ میکرولیتر آب، ۲/۵ میلی‌لیتر فولین ۱۰٪ اضافه شد و بعد از ٦ دقیقه ۲ میلی‌لیتر کربنات‌سدیم ۷/۵٪ نیز به آن ها اضافه گردید. محلول به دست آمده به مدت ۱/۵ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شد. سپس میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV/Vis (JENWAY–6405) و در طول موج ۷٦۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان فنل کل از روی میزان جذب نمونه و استاندارد بر حسب میکروگرم گالیک اسید در یک گرم بافت تازه بیان شد. درصد رقیق کردن نیز در محاسبه ها منظور گردید.

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، از طریق خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH (۲و۲ دی‌فنیل۱-پیکریل هیدرازیل) تعیین گردید. برای این منظور ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌های رقیق شده نمونه‌های پوست داخل لوله‌های آزمایش کوچک ریخته شد و ۹۵۰ میکرولیتر محلول DPPH ۰/۱ نرمال به آن ها اضافه گردید. محلول حاصل به کمک تکان دهنده انگشتی[۳] به خوبی تکان داده شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در یک محفظه تاریک در دمای اتاق نگهداری شدند. نمونه شاهد شامل ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ نرمال DPPH بود. سپس میزان جذب شاهد و نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV/Vis (JENWAY–6105) در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعیین گردید. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH با استفاده از فرمول (۱) محاسبه گردید.

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

فرمول ۱:

$\%DPPH_{sc}$= درصد بازدارندگی

A_{cont} = میزان جذب DPPH

A_{samp}= میزان جذب (نمونه + DPPH)

تجزیه آماری

این پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تجزیه واریانس نتایج حاصل از آزمایش به وسیله نرم افزار SAS، مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون توکی و رسم نمودارها نیز با نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

۱- Vortex

www.SID.ir

نتایج

میزان مواد فنلی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، تفاوت معنی‌داری را بین رقم های مورد مطالعه از نظر مقدار همه فاکتورهای اندازه‌گیری شده با HPLC نشان داد. رقم 'جاناتان' بیشترین مقدار کاتچین (شکل ۱)، کوئرستین ۳- گالاکتوزید (شکل ۲)، سیانیدین ۳- گالاکتوزید (شکل ۳) را دارا بودند. رقم 'مشهد نوری' کمترین مقدار کاتچین (شکل ۱) و رقم 'مشهد' کمترین مقدار کوئرستین ۳-گالاکتوزید (شکل ۲) را نشان دادند. رقم 'مشهد نوری' و 'استارکینگ' تفاوت معنی‌داری را با رقم 'جاناتان' از نظر مقدار کوئرستین نشان ندادند. رقم 'استارکینگ' دارای کمترین و رقم 'جاناتان' دارای بیشترین مقدار سیانیدین ۳- گالاکتوزید بودند (شکل ۳). پوست رقم های 'مشهد'، 'مشهد نوری'، 'استارکینگ' و 'جاناتان' به ترتیب دارای بیشترین مقدار فلوریدزین بودند (شکل ٤). بیشترین مقدار کلروجنیک اسید در پوست سیب رقم 'مشهد' یافت شد و بعد از آن به ترتیب رقم های 'مشهد نوری'، 'استارکینگ' و 'جاناتان' قرار داشتند (شکل ٥).

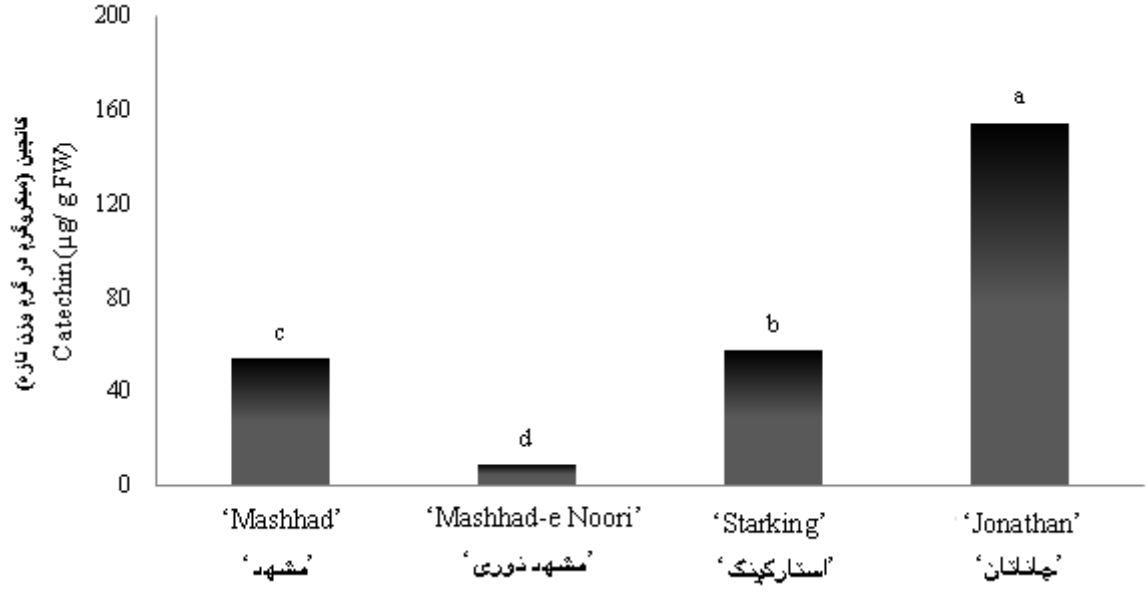

Fig. 1. Mean comparison of catechin content in the peel of the studied apple cultivars. The cultivars with same letters are not significantly different at 5% level of probability, using Tukey's test.

شکل ۱- مقایسه میانگین مقدار کاتچین در پوست رقم های مورد مطالعه. رقم های با حروف مشابه، در سطح احتمال ٥٪ آزمون توکی دارای تفاوت معنی‌دار نیستند.

www.SID.ir

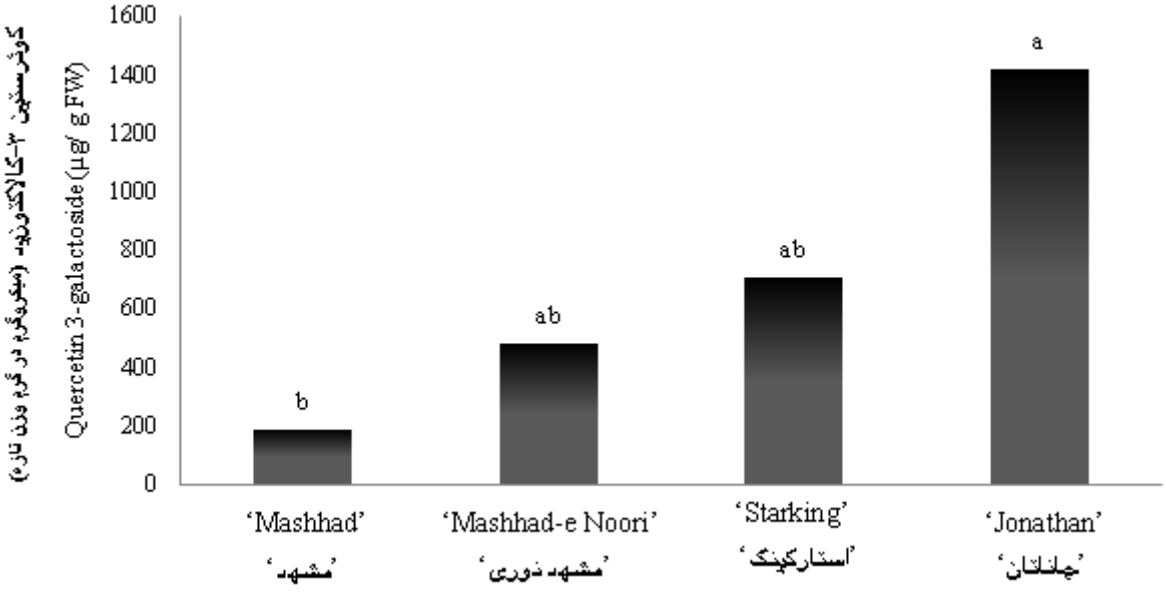

Fig. 2. Mean comparison of quercetin 3- galactoside content in the peel of the studied apple cultivars. The cultivars with same letters are not significantly different at 5% level of probability, using Tukey's test.

شکل ۲- مقایسه میانگین مقدار کوئرستین ۳-گالاکتوزید در پوست رقم های مورد مطالعه. ستون ها با حروف مشابه، در سطح احتمال ۵٪ آزمون توکی دارای تفاوت معنی‌دار نیستند.

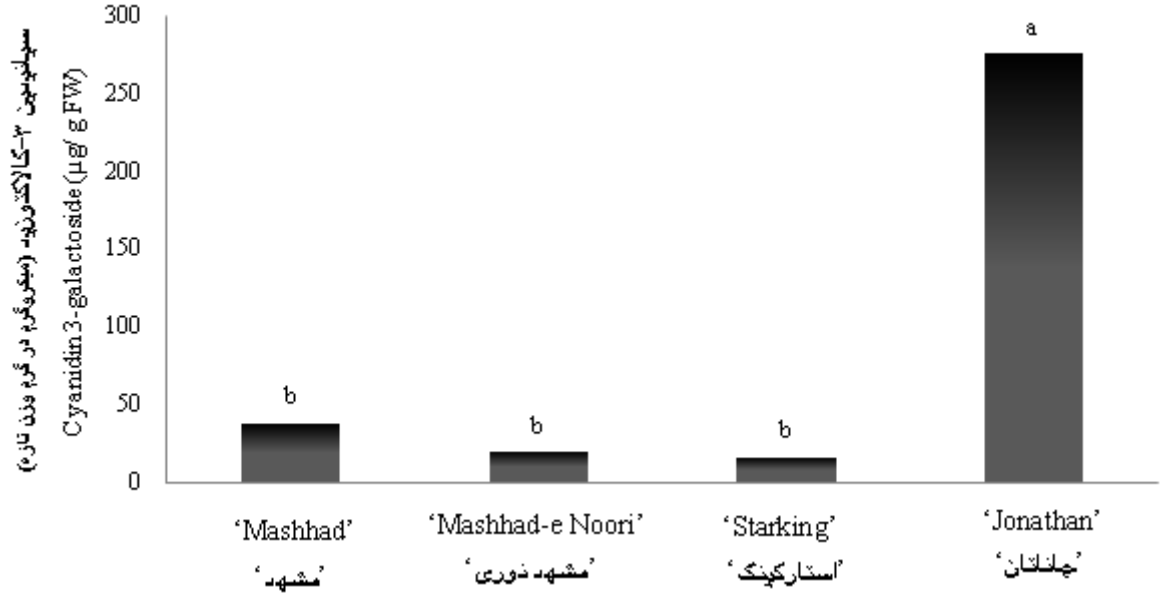

Fig. 3. Mean comparison of cyanidin 3- galactoside content in the peel of the studied apple cultivars. The cultivars with same letters are not significantly different at 5% level of probability, using Tukey's test.

شکل ۳- مقایسه میانگین مقدار سیانیدین ۳-گالاکتوزید در پوست رقم های مورد مطالعه. ستون ها با حروف مشابه، در سطح احتمال ۵٪ آزمون توکی دارای تفاوت معنی‌دار نیستند.

www.SID.ir

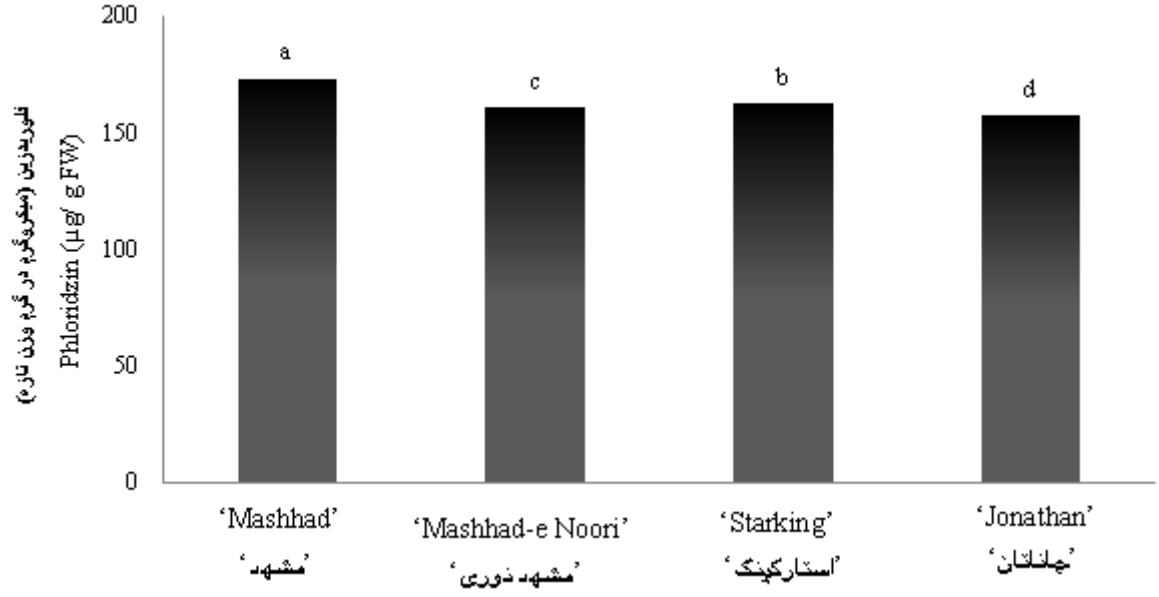

Fig. 4. Mean comparison of phloridzin content in the peel of the studied apple cultivars. The cultivars with same letters are not significantly different at 5% level of probability, using Tukey's test.

شکل ٤- مقایسه میانگین مقدار فلوریدزین در پوست رقم های مورد مطالعه. ستون های با حروف مشابه، در سطح احتمال ٥٪ آزمون توکی دارای تفاوت معنی‌دار نیستند).

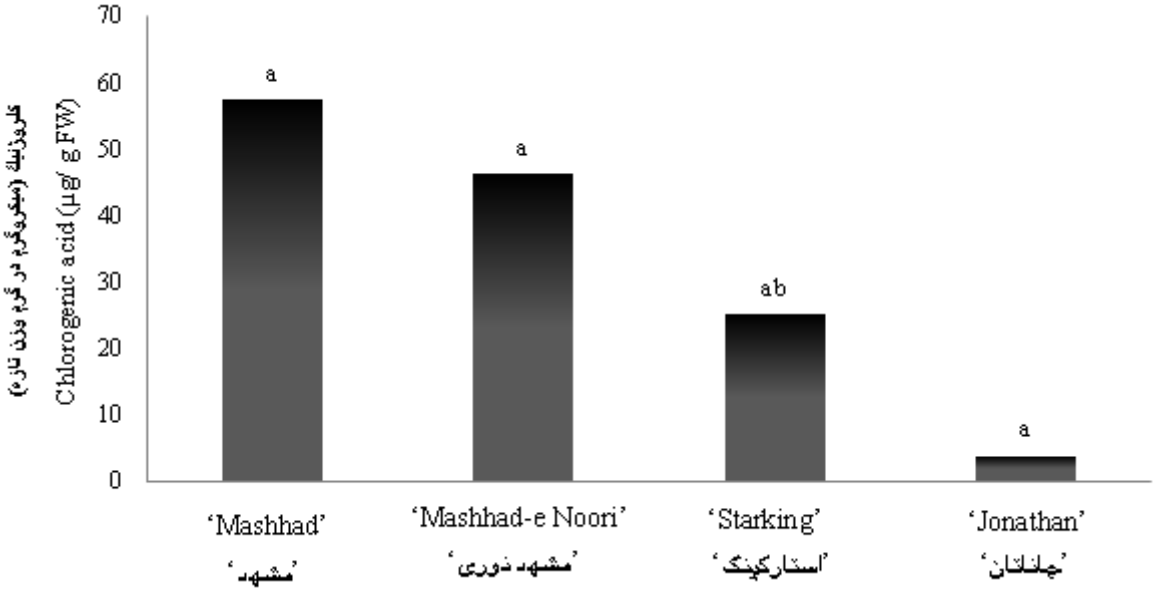

Fig. 5. Mean comparison of chlorogenic acid content in the peel of the studied apple cultivars. The cultivars with same letters are not significantly different at 5% level of probability, using Tukey's test.

شکل ٥- مقایسه میانگین مقدار کلروجنیک اسید در پوست رقم های مورد مطالعه. ستون های با حروف مشابه، در سطح احتمال ٥٪ آزمون توکی دارای تفاوت معنی‌دار نیستند.

www.SID.ir

میزان فنل کل و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که رقم های مورد مطالعه از نظر مقدار فنل کل و همچنین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ هستند. همان طور که در شکل های ٦ و ۷ نشان داده شده است پوست رقم 'جاناتان' دارای بیشترین مقدارفنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود. البته پوست رقم 'استارکینگ' تفاوت معنی‌داری با رقم 'جاناتان' نداشت. پوست رقم 'مشهد نوری' کمترین مقدار فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد.

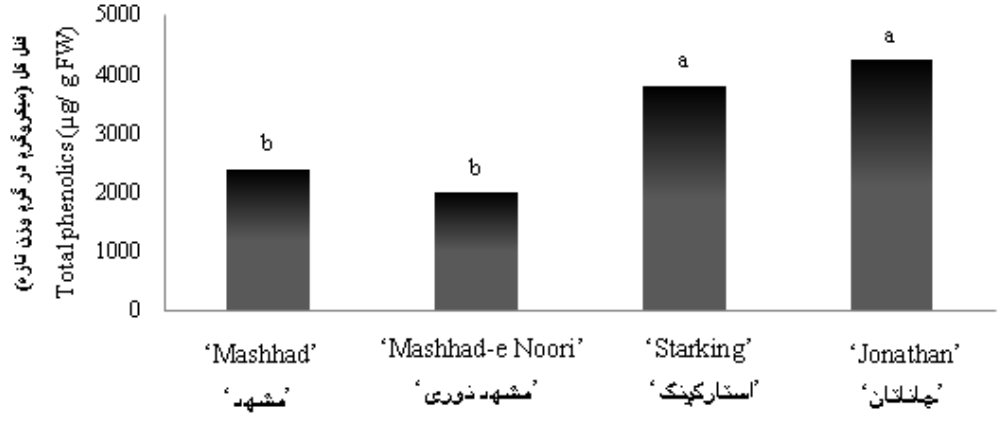

Fig. 6. Mean comparison of total phenolics in the peel of the studied apple cultivars. The cultivars with same letters are not significantly different at 5% level of probability, using Tukey's test.

شکل ٦- مقایسه میانگین مقدار فنل کل در پوست رقم های مورد مطالعه. ستون های با حروف مشابه، در سطح احتمال ٥٪ دارای تفاوت معنی‌دار نیستند).

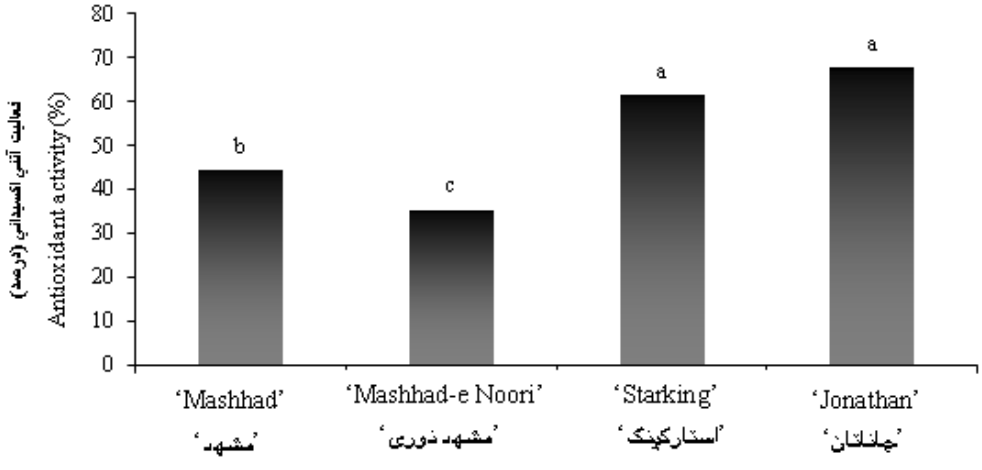

Fig. 7. Mean comparison of antioxidant activity percentage in the peel of the studied apple cultivars. The cultivars with same letters are not significantly different at 5% level of probability, using Tukey's test.

شکل ۷- مقایسه میانگین فعالیت درصد آنتی‌اکسیدانی در پوست رقم های مورد مطالعه. ستون های با حروف مشابه، در سطح احتمال ٥٪ دارای تفاوت معنی‌دار نیستند).

www.SID.ir

ضریب رگرسیونی بین مقدار فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز محاسبه شد که برابر با ۰/۹۱ =R^2 بود (شکل ۸).

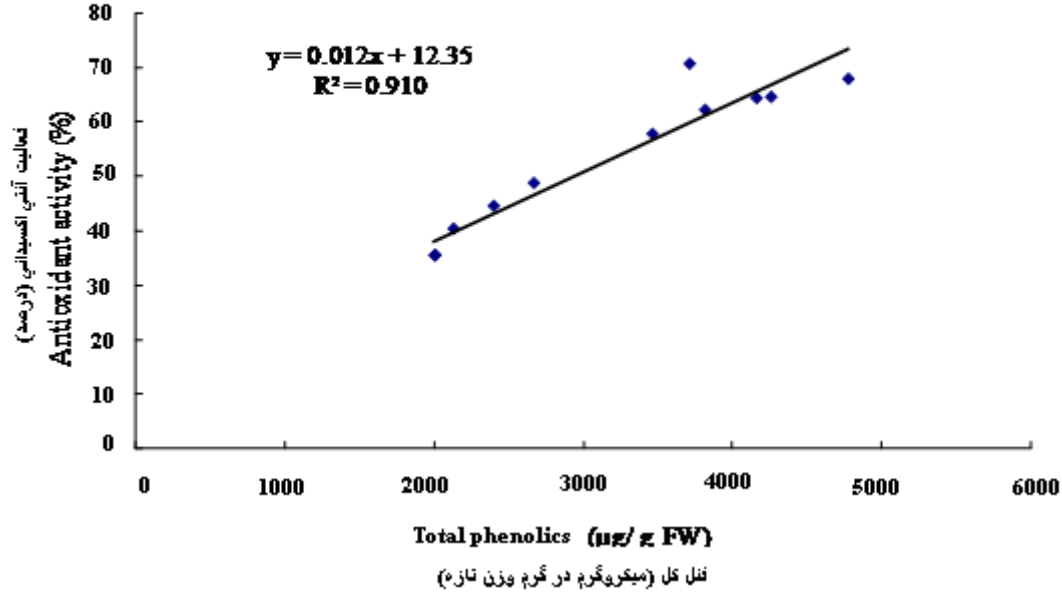

Fig. 8. Regression relation between total phenolics and antioxidant activity.

شکل ۸- ارتباط رگرسیونی بین فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

بحث

ترکیب های فنلی یک گروه مهم از متابولیت‌های ثانویه هستند که به دلیل ویژگی آنتی‌اکسیدانی دارای فواید سلامتی بسیاری هستند. نظر به اهمیت این ترکیب ها به عنوان مواد ضد سرطان، یافتن رقم های میوه غنی از ترکیب های فنلی اهمیت فراوانی دارد. امروزه در اغلب کشورهای پیشرفته پژوهشگران به دنبال معرفی انواع و رقم های میوه غنی از مواد فنلی هستند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که مقدار کل این ترکیب ها و مقدار هر یک از این ترکیب ها به طور جداگانه در میان رقم های مختلف متفاوت است. این یافته با نتایج به دست آمده توسط چینیکی و همکاران (۹)، لاتا و همکاران (۱٤)، سانونر و همکاران (۱۹) مطابقت دارد. وجود این اختلاف می‌تواند بیانگر نقش رقم و ژنتیک در سنتز و میزان ترکیب های فنلی باشد. میوه‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر از رقم های قرمزند که این رقم ها به طور طبیعی در معرض تابش نور خورشید فلاونوئیدهای سیانیدین ۳-گالاکتوزید و کوئرستین را سنتز می کنند که نقش مهمی در جذب اشعه آسیب‌رسان نور به ویژه فرابنفش دارند (۲۰). توانایی رقم های مختلف در ساخت مواد یاد شده متفاوت است که نشان دهنده نقش نژادگان در هدایت فرایند دفاعی است. نقش ویژه برخی فلاونوئیدها به عنوان سپر دفاعی میوه در برابر عوامل تنش‌زا در مطالعه های سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است. سولوچنکو و شمیتز-ایبرگر (۲۰) بیان کردند که آسیب UV-B به فتوسیستم ۲ با میزان کوئرستین ۳-گلیکوزید در پوست سیب مرتبط است. توانائی بروز پاسخ به این گونه عوامل تنش‌زا با ژنتیک گیاه (رقم) مرتبط است. به طوری که رقم های قرمز به طور مشهود در شرایط پرنور تولید و تجمع سیانیدین ۳- گالاکتوزید را نشان می‌دهند که نتیجه آن افزایش رنگ قرمز پوست است. جالب این که

www.SID.ir

میزان رنگ میوه در رقم های قرمز یکسان نیست. در آزمایش حاضر پوست رقم 'جاناتان' بیشترین مقدار سیانیدین ۳- گالاکتوزید را دارا بود. این وضعیت نشان‌دهنده حساسیت بیشتر رقم 'جاناتان' به شرایط تنش است، به عبارت دیگر آستانه تحریک برای فعال شدن ژن یا ژن‌های دخالت کننده در سنتز رنگ در این رقم پائین‌تر است. بعد از رقم 'جاناتان' به ترتیب رقم های 'مشهد'، 'مشهد نوری' و 'استارکینگ' قرار داشتند.

در میان رقم های مورد مطالعه رقم 'جاناتان' دارای فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری بود. از طرف دیگر میزان کاتچین، سیانیدین ۳- گالاکتوزید و کوئرستین ۳-گالاکتوزید این رقم نسبت به سایر رقم های مورد مطالعه نیز بیشتر بود (شکل‌های ۱، ۲، ۳). میزان کوئرستین در رقم 'جاناتان' که دارای رنگ قرمز پررنگ‌تر (سیانیدین ۳- گالاکتوزید بیشتر) است حدود هشت برابر بیشتر از کوئرستین رقم 'مشهد' با رنگ قرمز کمتر (سیانیدین ۳- گالاکتوزید کمتر) بود. بنابراین، به احتمال ارتباطی بین فعالیت ژن‌های مرتبط با سنتز سیانیدین ۳- گالاکتوزید و کوئرستین ۳-گالاکتوزید وجود دارد. در رقم 'مشهد' با این که مقدار سیانیدین ۳- گالاکتوزید بیشتر از رقم های 'مشهد نوری' و 'استارکینگ' است، اما میزان کوئرستین کمترین است. بخشی و آراکاوا (۵) بیان کردند که همبستگی معنی‌داری بین مقدار سیانیدین ۳- گالاکتوزید و کوئرستین ۳-گالاکتوزید وجود دارد، که این بخش از یافته‌های مطالعه حاضر نتایج آنان را تایید نمی‌کند. این مغایرت می‌تواند به عنوان یکی از ویژگی های انحصاری رقم های در نظر گرفته شود. با توجه به تاثیر عوامل ژنتیکی و محیطی به ویژه نقش نور و دما بر ساخته شدن مواد فنلی، بررسی ارتباط بین گروه‌های مختلف فلاونوئیدی در رقم های مختلف و شرایط آب و هوایی متفاوت نیاز به بررسی گسترده‌تر در سالیان متمادی در مناطق مختلف دارد.

در مطالعه حاضر، بیشترین مقدار کاتچین و کوئرستین ۳-گالاکتوزید در پوست رقم'جاناتان' یافت شد. رقم 'مشهد نوری' کمترین مقدار کاتچین و رقم 'مشهد' کمترین مقدار کوئرستین ۳-گالاکتوزید را نشان دادند. پوست رقم های 'مشهد' و 'جاناتان' به ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدار فلوریدزین و کلروجنیک اسید بودند. پوست رقم 'جاناتان' و رقم 'مشهد نوری' به ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدارفنل کل بودند. بنابراین آنچه که باید به عنوان معیار قضاوت در مورد رقم های مورد توجه قرار گیرد از لحاظ کمی مقدار فنل کل و از نظر کیفی اجزای تشکیل دهنده مواد فنلی از جمله اسیدهای فنلی و فلاونوئیدهاست.

همان طور که نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد، رقم های دارای فنل کل بیشتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نیز دارند. افزون بر این، ضریب رگرسیونی نیز وجود یک ارتباط مثبت و قوی را بین مقدار فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد (شکل ۸)، که یافته‌های سان و همکاران (۲۱) و جمشیدیان و همکاران (۱۲) را تایید می‌کند. باید توجه داشت که ترکیب های گیاهی دیگری مانند ویتامین C نیز دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند. از آن جائی که مقدار ویتامین C در سیب بسیار اندک (حدود ۰/۵٪) است (۸)، بنابراین بخش عمده قدرت آنتی اکسیدانی به احتمال مربوط به موادفنلی به ویژه فلاونوئیدهاست که این ترکیب ها نیز در رقم های مختلف به مقادیر متفاوت یافت می‌شوند (شکل های ۱، ۲، ۳، ٤). با توجه به این که رقم 'جاناتان' دارای بیشترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کاتچین، کوئرستین ۳- گالاکتوزید، سیانیدین ۳- گالاکتوزید بود، می‌توان نتیجه گرفت که به احتمال کاتچین، سیانیدین ۳- گالاکتوزید و کوئرستین ۳-گالاکتوزید دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به سایر ترکیب های فنلی هستند. بخشی و آراکاوا (۵) نیز بیان کردند که کاتچین، کوئرستین ۳-گالاکتوزید و به ویژه سیانیدین ۳- گالاکتوزید دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا هستند و تجمع سیانیدین ۳- گالاکتوزید یا ترکیب های مرتبط در تغییر فعالیت آنتی‌اکسیدانی تحت شرایط فیزیولوژیکی و محیطی

www.SID.ir

مختلف نقش دارند. البته اثبات این امر نیازمند تفکیک اجزاء تشکیل دهنده مواد فنلی موجود در عصاره است که کار بسیار پیچیده‌ای است و تا کنون گزارشی در این مورد دیده نشده است.

REFERENCES منابع

1. Alonso-Salces, R.M., E. Kort, A. Barranco, L.A. Berrueta, B. Gallo and F. Vicente. 2001. Pressurized liquid extraction for the determination of polyphenol in apple. J. Chromato. A, 933:37-43.
2. Amzad Hossain, M., S.M. Salehuddin, M.J. Kabir, S.M.M. Rahman and H.P. Vasatha Rupasinghe. 2009. Sinensetin, rutin 3´-hydroxyl- 5, 6, 7, 4´-tetramethoxy flavone and rosmarinic acid content and antioxidative effect of the skin of apple fruit. J. Food Chem. 113:185- 190.
3. Awad, M.A. and A. de Jager. 2002. Relationship between fruit nutrients and concentrations of flavonoids and chlorogenic acid in 'Elstar' apple skin. J. Sci. Hort. 92:265-276.
4. Awad, M.A., P.S. Wagenmakers and A. de Jager. 2001. Effects of light on flavonoid and chlorogenic acid levels in the skin of Jonagold apples. Sci. Hort. 88:289-298.
5. Bakhshi, D. and O. Arakawa. 2006. Effects of UV-B irradiation on phenolic compound accumulation and antioxidant activity in 'Jonathan' apple influenced by bagging, temperature and maturation. J. Food, Agr. Env. 4:75-79.
6. Bakhshi, D. and O. Arakawa, 2006. Induction of phenolic compounds biosynthesis with light irradiation in the flesh of red and yellow apples. J. Appl. Hort. 8:101-104.
7. Boudet, A.M. 2007. Evolution and current status of research in phenolic compounds. J. Phytochem 68:2722-2735.
8. Boyer, J. and R.H. Liu, 2004. Apple phytochemicals and their health benefits. J. Nut. 3:5.
9. Chinici, F., A. Bendini, A. Gaiani and C. Riponi. 2004. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. J. Agr. Food Chem. 52:4684-4689.
10. Cieslik, E., A. Greda and W. Adamus. 2006. Contents of polyphenol in fruit and vegetables. J. Food Chem. 94:135-142.
11. Erdman, J.W., D. Balentine, L. Arab, G. Beecher, J.T. Dwyer, J. Folts, J. Harnly, P. Hollman, C.L. Keen, G. Mazza, M. Messina, A. Scalbert, J. Vita, G. Williamson and J. Burrowes. 2007. Flavonoids and heart health: Proceed. ILSI North America flavonoids workshop. J. Nutr. 137:718S-737S.
12. Jamshidian, S., M. Ghasemnezhad, D. Bakhshi and H. Sarikhani. 2010. Reflected light improves berry quality and phenolic content of *Vitis Vinifera* cv. Askary. Korean Soc. Hort. Sci. 51:10-14.
13. Lata, B. 2008. Apple peel antioxidant status in relation to genotype, storage type and time. Sci. Hort. 117:45-52.

Archive of SID

www.SID.ir

14. Lata, B., A. Trampczynska and J. Paczesna. 2009. Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. Sci. Hort. 121:171-186.
15. Lister, C.E., J.E., Lancaster and K.H. Sutton. 1994. Developmental changes in the concentration and composition of flavonoids in skin of a red and a green apple cultivar. J. Sci. Food Agr. 64:155-161.
16. Manach, C., A. Scalbert, C. Morand, C. Remesy and L. Jimenez. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. Amer. J. Clinical Nutr. 79:727-747.
17. Markowski, J. and W. Plocharski. 2006. Determination of phenolic compounds in apples and processed apple products. J. Fruit Orn. Plant Res. 14: (Suppl. 2) 133-142.
18. Pernice, R., G. Borriello, R. Ferracane, R.C. Borreli, F. Cennamo and A. Ritieni. 2009. Bergamot: A source of natural antioxidants for functionalized fruit juices. J. Food Chem. 112:545-550.
19. Sanoner, P., S. Guyot, N. Marnet, D. Molle and J. F. Drilleau. 1999. Polyphenol profiles of french cider apple varieties (*Malus domestica* Sp.). J. Agr. Food Chem. 47:4847-4853.
20. Solovchenko, A. and M. Schmitz- Eiberger. 2003. Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits. J. Exp. Bot. 54:1977-1984.
21. Sun, J., Y.F. Chu, X. Wu and R. H. Liu. 2002. Antioxidant and antiprolifrative activities of common fruits. J. Agr. Food Chem. 50:7449-7454.
22. Tabart, J., C. Kevers, J. Pincemail, J.O. Defraigne and J. Dommes. 2008. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. J. Food Chem. 113:1226-1233.
23. Veberic, R., M. Trobec K. Herbinger, M. Hofer, D. Grill and F. Stampar. 2005. Phenolic compounds in some apple (*Malus domestica* Borkh) cultivars of organic and integrated production. J. Sci. Food Agr. 85:1687-1694.

Archive of SID

www.SID.ir

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 12 (2):193-204 (2011)

INVESTIGATION ON QUANTITY AND QUALITY OF FLAVONOIDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME APPLE CULTIVARS

E. GHORBANI, D. BAKHSHI, H. HAJNAJARI AND M. GHASEMNEZHAD[1]

Phenolic compounds of fruits and vegetables have an important role in the prevention of cardiovascular disease and different types of cancers. This property is due to their antioxidant activity. Apple fruit is known as a rich source of phenolic compounds. In this study, total phenolics, some classes of flavonoids, chlorogenic acid and antioxidant activity of the peel of two Iranian apple cultivars including 'Mashhad', 'Mashhad-e noori', and two imported cultivars namely 'Starking' and 'Jonathan' were investigated. Results showed a significant variation among the studied cultivars regarding the amount of all studied cases except for cyanidin 3-galactoside. The peel of 'Mashhad' cultivar had the highest chlorogenic acid and phloridzin and that of 'Jonathan' had the highest catechin, quercetin 3-galactoside and cyanidin 3-galactoside. Analysis of regression of total phenolics and antioxidant activity data showed that there was a positive relation between total phenol and antioxidant activity of peel. The highest total phenolics and antioxidant activity were found in 'Jonathan' followed by 'Starking', 'Mashhad-e noori' and 'Mashhad'.

Key Words: Antioxidant activity, Apple, Flavonoids, Phenolic compounds, Total phenolics.

Archive of SID

1. Former M.Sc. Student, Assistant Professor (bakhshi-d@guilan.ac.ir), Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Research Assistant Professor, Department of Horticulture, Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Karaj AND Assistant Professor, Deparment of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht. I.R. Iran, respectively.

www.SID.ir