



## بررسی ترکیبات فلاونوئیدی و رسوراترول در انگور سیاه و انگور جنگلی بومی شمال ایران

روح اله دستور<sup>۱</sup>، داود بخشی<sup>۲\*</sup>، علیرضا علی اکبر<sup>۳</sup>، سحر فنایی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی سابق دکتری گروه باغبانی، گیاهان دارویی و معطر، پردیس دانشگاهی ۲، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

<sup>۲</sup>دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران،

<sup>۳</sup>دانشیار گروه شیمی دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

<sup>۴</sup>دانشجو دکتری پردیس باغبانی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

نویسنده مسئول: [bakhshi-d@guilan.ac.ir](mailto:bakhshi-d@guilan.ac.ir)

### چکیده

امروزه ترکیبات فنلی در دارو سازی اهمیت ویژه ای دارند. عدم دسترسی آسان به فراورده های فنلی با منشأ طبیعی در خارج و داخل کشور، شناسایی منابع آن را امری اجتناب ناپذیر می کند. به همین دلیل طرحی برای اندازه گیری میزان مواد فنلی به ویژه رسوراترول در انگور سیاه و انگور جنگلی به صورت کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که مقدار فنل و فلاونوئید کل در انگور سیاه بالاتر بود. بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی و رسوراترول در انگور وحشی مشاهده شد. میزان رسوراترول در پوست انگور خودرو ۱۴ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک و در پوست میوه انگور سیاه ۲/۳ میلی گرم بود. با توجه به مقدار قابل توجه رسوراترول در انگور جنگلی، تلاش برای اهلی سازی و کاربرد تکنیک های اصلاحی روی این منبع، ضروری است.

**کلمات کلیدی:** فنل کل، فلاونوئید کل، ظرفیت آنتی اکسیدانی

### مقدمه

ایران به عنوان یکی از مراکز پیدایش و پراکنش انگور در جهان، از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار است ( Doulaty 2007). علاوه بر تنوع بالای ارقام انگور در ایران، گونه labrusca در شمال کشور و انگورهای جنگلی از زیر گونه sylvestris در جنگلهای شمال و مناطق مرطوب دامنه کوه های زاگرس نیز وجود دارند. انگور جنگلی در جنگل های شمال از گرگان تا ارسباران و در درود و سفید دشت لرستان شناسایی شده است ( Doulaty et al., 2007). رسوراترول یک پلی فنل غیر فلاونوئیدی از دسته استیلبن ها است ( Deng et al. 2012; Kaban, 2012).

بیشترین تولید رسوراترول در دنیا در کشور چین صورت می گیرد که مقدار آن در حدود ۲۵ تن در سال است. پس از چین کره جنوبی قرار دارد. کشور آمریکا خریدار اصلی رسوراترول تولید شده در کشورهای مختلف دنیاست بطوریکه ۹۰٪ کل رسوراترول دنیا در ایالات متحده آمریکا بفروش میرسد. پس از آمریکا، اروپا و پس از آن در آسیا استرالیا و نیوزیلند بیشترین مصرف کننده های این ترکیب هستند ( Kiselev, 2011). فرآورده های رسوراترول شامل قرص، کپسول و شربت هستند.

Burns و همکاران (۲۰۰۲) با ارزیابی رسوراترول در برخی منابع گیاهی نشان دادند انگور قرمز دارای بیشترین مقدار رسوراترول ترانس هست. در بررسی دیگری رسوراترول را از پوست انگور جداسازی و با دستگاه کروماتوگرافی مایع با قابلیت بالا میزان آن را ۱۰۲ میلیگرم در گرم گزارش کردند ( Martí et al., -Pascual2001). در بررسی دیگری رسوراترول در آب انگورهای موجود در بازار در ۴۷ واریته انگور قرمز و ۲۱ واریته انگور سفید، رسوراترول در همه ارقام انگور قرمز و در ۸ رقم از انگورهای سفید وجود داشت. بیشترین میزان رسوراترول در انگور قرمز و به میزان ۶۴ / ۲ میلیگرم در لیتر گزارش شد ( Ratola et al., 2004). در بررسی تغییرات میزان رسوراترول در برگ و میوه دو رقم انگور ایرانی نشان داده شد این ماده در برگ و میوه نوع رجبی سفید شیراز بیشتر از رقم کشمش قرمز بود. در بررسی دیگری میزان رسوراترول را در ۱۴۷ رقم انگور ایرانی با استفاده از HPLC را مورد اندازه گیری قرار دادند و اعلام کردند مقدار رسوراترول در ارقام قرمز و سیاه بطور نسبی بیشتر است، اما برخی ارقام زرد نیز حاوی مقدار بالایی از رسوراترول هستند ( Esna-Ashari et al., 2008).



امروزه جهت استخراج رسوراترول این آنتی اکسیدان ارزشمند دستیابی به منابع ارزان و سهلال وصول امری ضروری به نظر می‌رسد. نظر به اهمیت بسیار زیاد و روزافزون رسوراترول در صنایع دارویی و عدم دسترسی آسان به فراورده های آن در خارج و داخل کشور، شناسایی منابع آن در ایران ضروری است. به همین دلیل پژوهشی با هدف اندازه گیری میزان مواد فنلی به ویژه رسوراترول در انگور سیاه و انگور جنگلی انجام خواهیم داد.

## مواد و روش‌ها

از انگور سیاه و انگور جنگلی در استان گیلان نمونه برداری شد. نمونه برداری از پوست میوه ها انجام گردید. زمان نمونه برداری جهت بررسی ترکیبات فنلی در مرحله رسیدگی کامل میوه انجام شد. پوست میوه به صورت دستی از سایر اجزای گیاه جدا و توزین گردید. سپس در آون در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد بمدت ۷۲ ساعت خشک شدند.

نام نمونه	نام علمی	تیره	قسمت مورد ارزیابی
انگور سیاه	<i>Vitis vinifera</i>	Vitaceae	پوست میوه
انگور جنگلی	<i>Vitis vinifera L. ssp. silvestris</i>	Vitaceae	پوست میوه

عصاره گیری با بکارگیری استخراج با حلال و روش خیساندن طبق روش (Bakhshi and Arakawa, 2006) انجام شد. سپس محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، ظرفیت آنتی اکسیدانی و رسوراترول ترانس ارزیابی گردید. محتوای فنل کل به روش Folin-Ciocalteu تعیین گردید. نتایج بر مبنای میلی گرم گالیک اسید بر یک گرم ماده خشک نمونه گزارش شد (Guerrero et al., 2011). میزان فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی با آلومینیوم کلرید به روش Park و همکاران (2008) با اندکی تغییرات اندازه گیری شد. میزان فلاونوئید کل بر اساس میلی گرم کاتچین در یک گرم ماده خشک نمونه گزارش شد. ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره ها، از طریق خنثی کنندگی رادیکال آزاد DPPH با کمی تغییرات تعیین گردید (Brand-Williams et al., 1995). سپس ظرفیت آنتی اکسیدانی نمونه ها بصورت درصد بازدارندگی DPPH بر طبق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{DPPH scavenging effect (\%)} = ((A_0 - A_1)/A_0) \times 100$$

برای جداسازی و اندازه گیری رسوراترول ترانس از دستگاه طیف سنج جرمی مدل Agilent 5977A Series MSD با آشکار ساز مجهز به سیستم یونیزاسیون از نوع EI و آنالیز آن از نوع Single Quadrupole جهت تهیه طیف رسوراترول استفاده گردید. شناسایی و ارزیابی رسوراترول ترانس، با یک سیستم (HPLC Breeze system, Waters, MA, USA) (مجهز به شناساگر UV-Visible (Waters Dual  $\lambda$  Absorbance 2487) با ستون فولادی (ODS 4/6  $\times$  150 mm Symentery, C18) (با قطر منافذ پنج میکرومتر، (Waters, Dublin Ireland) انجام شد. (Zhang et al., 2011). شناسایی و آنالیز کمی رسوراترول در نمونه ها به کمک استاندارد داخلی و خارجی انجام شد. استاندارد سازی نیز به کمک تزریق غلظت‌های ۰ / ۱۲۵ ، ۰ / ۲۵ ، ۰ / ۰۶۲ و ۰ / ۰۳۱ میلیگرم در لیتر از استاندارد رسوراترول انجام گرفت (Zhang et al., 2011). آنالیز آماری این مطالعه به صورت طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. تجزیه واریانس نتایج حاصل بوسیله نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها بوسیله آزمون LSD صورت گرفت.

## نتایج و بحث

انگور سیاه نسبت به انگور جنگلی تفاوت معنی داری داشته و بالاترین سطح فنل و فلاونوئید کل در انگور سیاه مشاهده گردید (جدول ۱). اعضای خانواده فلاونوئیدها شامل فلاون، فلاونول، ایزوفلاون، فلاوانونها، فلاوانونولها، فلاوانول و آنتوسیانینها هستند. فلاوانونها تحت یک سری تحولات موثر بر حلقه کربنی هتروسیکلیک قابل ارتقا به آنتوسیانین و کاتچینها هستند (Das, 1994). آنتوسیانین ها نیز بوفور در میوه و گل‌های رنگی و به ویژه در بری ها وجود دارند که در بین



آنتوسیانینها، سیانیدین ۳ گلیکوزید - ۵ بیشترین توزیع را دارد (Kong *et al.*, ۲۰۰۳). آنتوسیانین ها در انگور مسئول تولید رنگ سیاه، قرمز و بنفش هستند (Mazza, 1995). در میوه انگور آنتوسیانین ها در واکنش به پروتئین های خاصی متصل شده و تشکیل AVI را می دهند که نقش اصلی را در تشکیل و ایجاد رنگ در میوه انگور بازی می کند، (Ananga *et al.*, 2013) این موضوع می تواند یکی از دلایل بالاتر بودن سطح فلاونوئیدها در انگور سیاه رنگین تر نسبت به انگور جنگلی باشد.

بیشترین تفاوت معنی دار در ظرفیت آنتی اکسیدانی و رسوراترول در انگور جنگلی مشاهده گردید (جدول ۱). این نتیجه با گزارش zheng و همکاران (۲۰۱۷) مشابه است که در مطالعه ای بر روی ۹۵ ژنوتیپ انگور (۴۵ واریته باغی و ۵۰ گونه وحشی) در چین نشان دادند برگ و پوست میوه انگورهای جنگلی به نسبت از محتوای رسوراترول بسیار بالاتری برخوردارند. نتایج مطالعه مقایسه رسوراترول در انگور باغی و گونه های انگور وحشی (*vitis labrusca*) نشان داد میزان رسوراترول در همه قسمتهای مطالعه گیاه از جمله برگ و میوه در انگور جنگلی بیش از سه برابر انگور باغی است (Jeandet *et al.*, 1991) که موید تحقیقات ما در قسمت پوست میوه انگور جنگلی و انگور سیاه می باشد. Rodríguez و همکاران (۲۰۱۴) در تحقیقی در میوه سیاه ولیک، این گیاه را سرشار از ظرفیت آنتی اکسیدانی معرفی نموده و این ظرفیت را ناشی از وجود میزان بالای دی هیدروآسکوربیک اسید دانستند.

در مطالعه ای که با هدف ارزیابی رسوراترول در ۲۱ واریته انگور که برخی از آنها نیز از گونه های جنگلی بودند، میزان رسوراترول بین ۱ / ۹ تا ۵۰ میلیگرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک گزارش گردید (Vincenzi *et al.*, 2013)، اما در عمده ارقام میزان رسوراترول بین ۱۰ تا ۲۰ میلی گرم بود که با نتایج حاصل در این پژوهش که میزان رسوراترول در حدود ۱۴ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک در پوست میوه انگور جنگلی بود ولی در انگور سیاه در حدود ۳/۲ گرم بود، مشابهت دارد. زمان بازداری رسوراترول ترانس در شرایط آزمایش ما دقیقه ۴۸ بود.

جدول ۱- میزان فنل کل، فلاونوئید، ظرفیت آنتی اکسیدانی و رسوراترول موجود در نمونه های گیاهی

نام نمونه گیاهی	فنل کل (mg گالیک اسید بر g ماده خشک)	فلاونوئید کل (mg کاتچین بر g ماده خشک)	ظرفیت آنتی اکسیدانی (%)	رسوراترول (mg بر ۱۰۰ ماده خشک)
انگور سیاه	۰,۰۶ ± ۹,۴ a	۰,۱۷ ± ۴,۵ a	۰,۰۷ ± ۲۸,۳ b	۰,۴ ± ۳,۲ b
انگور جنگلی	۰,۲۳ ± ۸,۸ b	۰,۰۵ ± ۲,۹ b	۰,۰۸ ± ۵۰,۵ a	۰,۹ ± ۱۴ a

## همبستگی بین مقادیر اندازه گیری شده

بین میزان فنل کل با ظرفیت آنتی اکسیدانی همبستگی مثبتی وجود داشت (جدول ۲) که این نتیجه با نتایج John *et al.*, 2014; Singh, 2015; Tukun *et al.*, 2014 در نمونه های گیاهی مختلف مطابقت دارد. همچنین بین فلاونوئید با فنل کل نیز همبستگی معنی داری بدست آمد. اما بین فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی همبستگی مشاهده نگردید (جدول ۲). اما در رابطه با عدم همبستگی بین فلاونوئید و ظرفیت آنتی اکسیدانی میتوان گفت در این گیاهان فلاونوئید نقشی در مهار رادیکالهای DPPH نداشته (Barcelo, 2015; Nickavar and Abolhasani, 2009).

بین رسوراترول و سایر فاکتورهای ارزیابی شده (فنل و فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی) هیچ رابطه معنی داری بدست نیامد (جدول ۲). اگر چه ترکیبات فنلی سهم عمده ای را در ایفای نقش آنتی اکسیدانی به عهده دارند اما همه آنها ممکن است در ایجاد این خواص موثر نباشند و یا اینکه در مواردی بخش کوچکی از این سهم را داشته باشند و سایر فیتوکمیکال ها در کنار این ترکیبات فنلی در این خاصیت مشارکت کرده و یا موجبات هم افزایی ظرفیت آنتی اکسیدانی را فراهم آورده باشند (Bajpai *et al.*, 2005 and Kaur and Mondal, 2014).



جدول ۲: همبستگی بین صفات

	رسوراترول	فنل کل	فلاونوئید کل
فنل کل	۰,۱**	-	
فلاونوئید کل	۰,۲ <sub>ns</sub>	۰,۷**	-
ظرفیت آنتی اکسیدانی	۰,۰۲ <sub>ns</sub>	۰,۴*	۰,۱۶ <sub>ns</sub>

ns، \*، \*\* و ns به ترتیب بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و بدون اختلاف معنی دار می باشند.

### نتایج طیف - FT-IR

همان طور که در شکل ۲ دیده می شود نمونه دارای سه فرکانس کششی قوی است که قله جذب پهن و قوی ۱ - ۹۸ / cm 3291 مربوط به گروه هیدروکسیل است. ارتعاش خمشی گروه C - H در ترکیب با سایر باندها در محدوده ۱۱۵۰ تا ۱ - 1600 cm دیده میشوند. خمشی ها در ۵۳ / ۵۱۱ ، ۰۱ / ۶۱۹ و ۱۸۳۱ - cm میتواند مربوط به باند C-C در حلقه فنلی باشد (جدول ۳). مولکول رسوراترول ترانس با ۲۹ اتم دارای ۸۱ ارتعاش بود.

جدول ۳: مناطق ارتعاش طیف FT-IR گروه های عامل در رسوراترول استاندارد و تخلیص شده از عصاره انگور وحشی

میزان ارتعاش رسوراترول استخراج شده ۱ - cm	میزان ارتعاش رسوراترول استاندارد ۱ - cm	گروه عاملی
۳۲۹۱,۹۸	۳۲۹۴,۱۹	کشش گروه OH حلقه فنلی
۳۰۰۶,۱۳	۳۰۱۹,۴۶	کشش گروه CH حلقه آروماتیکی
۱۵۹۳,۲۱	۱۵۸۹,۲۳	کشش گروه C=C آلیفاتیکی
۱۱۵۱,۱۰	۱۱۴۹,۵۰	کشش گروه C=C آروماتیکی

### منابع

Barcelo. R. (2015). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Edible Wild Fruits in Benguet, Cordillera Administrative Region, Philippines. *Electronic Journal of Biology* 11(3): 80-89.

Tukun. A.B., Shaheen, N., Banu, C.P., Mohiduzzaman, M., Islam, S. and Begum, M. (2014). Antioxidant capacity and total phenolic contents in hydrophilic extracts of selected Bangladeshi medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. (7): 568-573.



## Investigation of Phenolic Compounds and Resuratrol in Black and Wild Grapes Native in Iran North

Rouhollah Dastoor<sup>1</sup>, Davoud Bakhshi<sup>2\*</sup>, Ali Reza Ali Akbar<sup>3</sup>, Sahar Fana'i<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Ph.D. Student, Department of Horticulture, Medicinal and Aromatic Plants, Pardis College 2, Guilan University, Rasht, Iran

<sup>2</sup>Associate Prof. of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, Guilan University, Rasht, Iran,  
Corresponding Author: bakhshi-d@guilan.ac.ir

<sup>3</sup>Associate Prof., Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

<sup>4</sup>Ph.D.Horticultural student, Paradise College, Guilan University, Rasht, Iran

Corresponding Author: bakhshi-d@guilan.ac.ir

### Abstract

Nowadays phenolic compounds have special importance in pharmacy. Lack of easy access to natural phenolic products inside of country and in abroad, makes the identification of its sources an inevitable object. Therefore a research was done to measure the amount of phenolic compounds, especially Resuratrol in black grapes and wild grapes, in a completely randomized design with three replications. The obtained results indicated that amount of phenol and total flavonoid was higher in black grapes. The most amount of antioxidant capacity and Resuratrol were observed in wild grapes. The amount of Resuratrol in wild grapes skin was 14 mg per 100 gr dry weight and in black grapes skin was 3.2 mg per 100 gr dry weight. According to the considerable amount of Resuratrol in wild grapes, trying to domesticize wild grapes and applying breeding techniques on this source is necessary.

**Key words:** Antioxidant Capacity, Total Phenol, Total Flavonoid

