

## بررسی میزان آنتوسیانین در تعدادی از سیب‌های گوشت قرمز ایران

امیرمحمد شماع<sup>۱</sup>، محمود خسروشاهلی<sup>۲</sup>، حمید عبداللهی<sup>۳</sup>، سیما دامیار<sup>۴</sup>، مریم حسنی<sup>۵</sup>

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران. ۲- استاد گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران. ۳- دانشیار بخش تحقیقات باغبانی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج. ۴- محقق بخش تحقیقات باغبانی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج. ۵- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران (پست الکترونیکی: farshadshammae@gmail.com)

## چکیده

سیب‌های گوشت قرمز به دلیل وجود رنگ و طعم خاص دارای جایگاه ویژه از لحاظ بازارپسندی بوده و وجود آنتوسیانین (Anthocyanin) در این سیب‌ها، با خواص دارویی بر بازار پسندی بیشتر میوه، تأثیرگذار است. با توجه به اهمیت آنتوسیانین، ضرورت شناخت ساختار و روند شکل‌گیری آن در طول دوره رشد میوه احساس می‌شود. لذا در این تحقیق با ارزیابی میزان آنتوسیانین در طول دوره رشد میوه سیب‌های گوشت قرمز ایران، برای دستیابی به اهداف اصلاحی ارقام جدید و باکیفیت، از ارقام رسیده و نارس سیب‌های گوشت قرمز، نیمه گوشت قرمز و ارقام گوشت سفید به‌عنوان شاهد، با استفاده از روش Reddy استخراج آنتوسیانین به‌عمل آمد. نتایج بررسی بیوشیمیایی آنتوسیانین با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری پس از بررسی توسط نرم‌افزار SPSS مشخص نمود که اختلاف میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن برای میوه‌های رسیده در سطح ۱٪ و برای میوه‌های نارس در سطح ۵٪، معنی‌دار بوده و با نتایج مشاهدات فنوتیپی مطابقت دارد. بدین ترتیب که ارقام رسیده گوشت سفید دارای کم‌ترین میزان آنتوسیانین و سپس ارقام رسیده نیمه گوشت قرمز Crab و T4 دارای آنتوسیانین بیشتری نسبت به نمونه‌های شاهد Golden Delicious و Red Delicious و ارقام رسیده گوشت قرمز SH10، Bekran، Rangbar، T3، H-GH، GH1، 1234، GS دارای بیش‌ترین میزان آنتوسیانین نسبت به دو گروه قبلی بودند. نتایج تحلیل داده‌های مربوط به میوه‌های نارس نیز مشخص نمود که سیب‌های گوشت قرمز دارای میزان آنتوسیانین بیشتری هستند.

کلمات کلیدی: سیب‌های گوشت قرمز، آنتوسیانین، ارقام رسیده و نارس، روش اسپکتروفوتومتری، روش Reddy.

## مقدمه

سیب با نام علمی *Malus domestica* از خانواده گل‌سرخیان ۱ و زیرخانواده دانه‌دارها ۲ در شمار مهم‌ترین میوه درختان سردسیری معتدل و خزان‌کننده در هر دو نیمکره شمالی و جنوبی کشت می‌شود. این میوه در زمره اولین گیاهانی است که بشر از دوران ماقبل تاریخ و شروع دوران کشت و زرع آن را شناخته و مورد استفاده قرار داده است (۱). سیب با ارقام و گونه‌های مختلف، دارای تنوع در رنگ پوست و گوشت میوه بوده و از نظر رنگ گوشت به رنگ‌های سفید، قرمز یا صورتی با رگه‌هایی از رنگ قرمز قابل مشاهده است. ترکیباتی نظیر آنتوسیانین‌ها<sup>۳</sup>، کلروفیل<sup>۴</sup>، کاروتنوئیدها<sup>۵</sup> و فلاونولها<sup>۱</sup> در ایجاد رنگ سیب دخالت دارند (۲). مهم‌ترین عامل

<sup>1</sup>- Rosaceae

<sup>2</sup>- Pomoideae

<sup>3</sup>- Anthocyanins

<sup>4</sup>- Chlorophyll

<sup>5</sup>- Carotenoids

ایجاد قرمزی گوشت میوه، آنتوسیانین است. آنتوسیانین‌ها به‌عنوان گروهی از متابولیت‌های ثانویه که عهده‌دار اعمال مختلفی در گیاهان هستند، به صورت تلفیقی با کاروتنوئیدها در رنگ‌آمیزی گل، میوه، دانه و سایر اندام گیاهی (۳) و همراه با فلاونوئیدها<sup>۲</sup>، در مقاومت گیاه در برابر آفات نقش دارند (۴). در سیب‌های گوشت قرمز که به صورت وحشی و به ندرت یافت می‌شوند، مقدار بالای این رنگدانه در بعضی از ارقام در زمان رسیدن میوه، تا ۵ برابر افزایش می‌یابد که این ویژگی سبب استفاده از آن در برنامه‌های اصلاحی و در نهایت بالابردن بازارپسندی میوه می‌شود (۵). همچنین مصرف آنتوسیانین باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها<sup>۳</sup> و مواد ضد التهاب در بدن شده و در نهایت موجب کاهش ابتلا به بیماری‌هایی نظیر سرطان، دیابت و بیماری‌های قلبی می‌گردد (۶). از آنجا که مطالعه بر روی عوامل مؤثر قرمزی گوشت میوه سیب به ویژه آنتوسیانین و ساختار ژن‌های تولید کننده آن، برای دستیابی به اهداف اصلاحی ارقام جدید و با کیفیت مورد نیاز است، لذا در این تحقیق با تعیین میزان آنتوسیانین، تفاوت و شباهت ارقام ایرانی سیب گوشت قرمز و نیمه گوشت قرمز به همراه دو رقم گوشت سفید شاهد، مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد مطالعه

به منظور ارزیابی میزان آنتوسیانین در طول دوره رشد میوه سیب‌های گوشت قرمز ایران، ابتدا از ارقام گوشت قرمز SH10 و T3 و نیمه گوشت قرمز T4 به همراه ارقام گوشت سفید Golden Delicious و Red Delicious، در اوایل خرداد ماه ۱۳۹۱ به صورت کاملاً نارس و سپس از ارقام گوشت قرمز SH10، Rangbar، Bekran، H-GH، GH1، T3، T234، GS و نیمه گوشت قرمز Crab و T4 و همچنین دو نمونه شاهد Red Delicious و Golden Delicious در اواخر تیرماه ۱۳۹۱ به صورت رسیده و بالغ، نمونه‌برداری به عمل آمد. ارقام فوق پس از جمع‌آوری از کلکسیون باغ ملی مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج و تعدادی از باغ‌های خصوصی شاهرود توسط ازت مایع به آزمایشگاه بیوتکنولوژی مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران منتقل و تا زمان استخراج آنتوسیانین، درون فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج و ارزیابی بیوشیمیایی آنتوسیانین

در استخراج آنتوسیانین با استفاده از روش ردی (۷) که حداقل با ۳ تکرار انجام پذیرفت، ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم از گوشت میوه ارقام مورد بررسی پس از برش با اسکالپل در حضور ازت مایع پودر گردید. سپس جهت جلوگیری از تخریب ساختار آنتوسیانین، به سرعت درون لوله‌های آزمایش حاوی ۵ میلی‌لیتر مخلوط اسید کلریدریک ۰/۱ مولار و متانول به نسبت ۱ : ۹۹ منتقل و درون یخچال شبگردان شدند. در ادامه، هر یک از نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه با استفاده از سانتریفیوژ مدل K.KUSAN Head office 3\_9، به دو فاز تبدیل شدند. سپس مقدار ۷۰۰ میکرولیتر از فاز رویی هر نمونه برداشته شد و میزان جذب آنتوسیانین موجود، توسط دستگاه اسپکتروفتومتری مدل Cary 50 scan در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

<sup>1</sup>- Flavonols

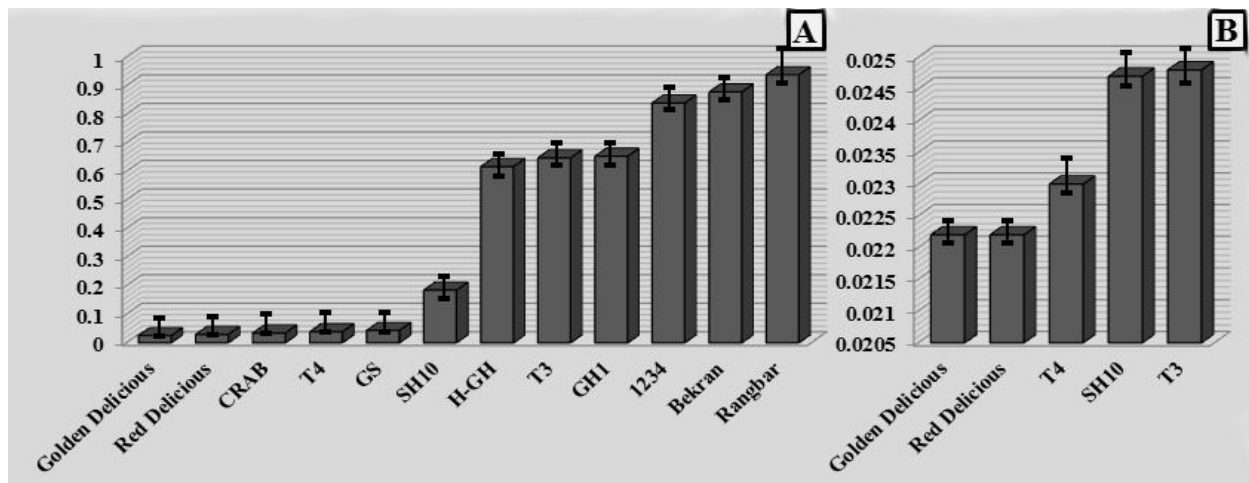
<sup>2</sup>- Flavonoids

<sup>3</sup>- Antioxidant

## نتایج و بحث

در تحلیل میزان آنتوسیانین استحصالی میوه‌های رسیده و نارس سیب‌های گوشت قرمز، نیمه گوشت قرمز و گوشت سفید مورد مطالعه (شکل ۱) توسط نرم‌افزار SPSS مشخص گردید که اختلاف میانگین داده‌ها برای میوه‌های رسیده و بالغ در سطح ۱٪ آزمون دانکن، کاملاً معنی‌دار بوده و با نتایج مشاهدات فنوتیپی مطابقت دارد. به این ترتیب ارقام گوشت سفید به‌عنوان شاهد، با کم‌ترین میزان آنتوسیانین در گوشت میوه و سپس ارقام نیمه گوشت قرمز Crab و T4 با مقدار آنتوسیانین بیشتری نسبت به نمونه‌های شاهد Golden Delicious و Red Delicious و ارقام گوشت قرمز SH10, Rangbar, Bekran, T3, H-GH, GH1, 1234, GS با بیش‌ترین میزان آنتوسیانین نسبت به دو گروه قبلی، قابل مشاهده هستند.

همچنین نتایج تحلیل داده‌های حاصل از بررسی بیوشیمیایی آنتوسیانین میوه‌های نارس توسط نرم‌افزار SPSS نشان داد که سیب‌های گوشت سفید Golden Delicious و Red Delicious و سیب نیمه گوشت قرمز T4 با سیب‌های گوشت قرمز T3 و SH10 با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بوده و باز میزان آنتوسیانین در میوه نارس سیب‌های گوشت قرمز بررسی شده بیشتر از دو گروه قبلی است.



شکل ۱- میزان آنتوسیانین در گوشت میوه ارقام رسیده (A) و نارس (B) سیب.

## سپاسگزاری

بدین وسیله از کمک‌های بی‌دریغ جناب آقای مهندس محمد عرفت‌پور، مسئول محترم آزمایشگاه باغبانی مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران قدردانی می‌شود.

## Reference

- [1]- Mohan Jain, S., Priyadarshan, P. M., 2009. Breeding Plantation Tree Crops, Tropical Species, Springer Science + Business Media, LLC.
- [2]- Honda, C., Kotoda, N., Wada, M., Kondo, S., Kobayashi, S., Soejima, J., Zhang, Z., Tsuda, T., Moriguchi, T., 2002. Anthocyanin biosynthetic genes are coordinately expressed during red coloration in apple skin. Plant Physiology and Biochemistry. 40: 955- 962

- [3]- Schaefer, H. M., Schaefer, V., Levey, D. J., 2004. How plant-animal interactions signal new insights in communication. *Trends in Ecology & Evolution*. 19: 577-584.
- [4]- Makoi, J. H. J. R., Belane, A. K., Chimphango, S. B. M., Dakora, F. D., 2010. Seed flavonoids and anthocyanins as markers of enhanced plant defence in nodulated cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) *Field Crops Research*. 188: 21-27.
- [5]- Eberhardt, M. V., Lee, C. Y., Liu, R. H., 2000. Nutrition: Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* 405: 903-904.
- [6]- Prior, R. L., Wu, X., 2006. Anthocyanins: structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radical Research*. 40: 1014-1028.
- [7]- Reddy, K. R., 1988. Water hyacinth (*Eichhornia crassipes* [Mart] Solms) biomass cropping systems: I. Production. In *Methane from Biomass – A Systems Approach*, ed. W. H. Smith & J. Frank. Elsevier Applied Science, New York, pp.103-40.

### **Determination of anthocyanins in some of Iranian Red Fleshed Apples**

**A. M. Shamma<sup>1\*</sup>, M. Khosrowshahli<sup>2</sup>, H. Abdollahi<sup>3</sup>, S. Damyar<sup>4</sup>, M. Hassani<sup>5</sup>**

1\*. M.Sc Student, Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

Email: farshadshammae@gmail.com

2. Professor, Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

3. Associated Professor, Horticulture Research Department, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran.

4. Researcher, Horticulture Research Department, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran.

5. M.Sc, Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

#### **Abstract**

Red fleshed apples due to special taste and color have a hopeful view in breeding of new apple cultivars. High anthocyanin level with medicinal properties is more impressive aspects of these apples in fruit market. Given the importance of anthocyanins, understanding the structure and process of its formation during fruit development is essential aspects of these apples. Therefore, in this research, the evaluation of anthocyanins in some of Iranian red fleshed apples was studied during fruit growth. Anthocyanins were extracted using the method of Reddy, from mature and immature red fleshed fruits, half red flesh and white flesh varieties as control. Anthocyanin biochemical studies were achieved by using the spectrophotometric method and the results revealed that the mean difference data for mature fruits at 1% level and for immature fruits at 5% level Duncan test was significant. The results were in accordance with phenotypic observations. Thus the mature white fleshed apples cultivars have the least amount of anthocyanin and then half Red Fleshed “Crab” and “T4” genotypes have more anthocyanin than control samples “Golden Delicious” and “Red Delicious” and also the mature red fleshed cultivars “SH10, Rangbar, Bekran, T3, H-GH, GH1, 1234, GS” have the most anthocyanin level compare with the two previous genotypes. Analysis of the data revealed that the immature red fleshed apples contain more anthocyanin than two other immature cultivars.

Keywords: Red Fleshed Apple, Spectrophotometric method, Reddy method, Anthocyanin, Mature and Immature cultivars