

بررسی ترکیبات فنلی و استفاده از آنها به عنوان نشانگر شیمیایی در مقایسه تنوع ارقام محلی سیب ایران

سید ابوالفضل حسنی (۱)، داوود بخشی (۲)، منصوره کشاورزی (۳)، سیما دامیار (۳)

۱- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد و ۲- عضو هیئت علمی گروه باغبانی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، ۳- عضو هیئت علمی موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج

ترکیبات فنلی به خاطر خصوصیات آنتی اکسیدانی شان مورد توجه زیادی هستند. ما بین فاکتورهای ژنتیکی و محیطی برای بیوستز ترکیبات فنلی برهم کنش وجود دارد. ترکیبات فنلی شاید برای طبقه بندی ژنوتیپها به عنوان مارکر مفید باشند. در این مطالعه ترکیبات فنلی اصلی برگ شامل کلروژنیک اسید، کاتچین، فلوریدزین، برخی از ارقام بومی اندازه گیری شد. سیب گلدن دلشز به عنوان شاخص مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که ژنوتیپ شاهرود ۱۲ دارای بیشترین میزان فلوریدزین و اسید کلروژنیک، و ژنوتیپ شاهرود ۳ بیشترین میزان کاتچین را دارا بودند. ضمن اینکه با استفاده از ترکیبات فنلی نمودار تجزیه خوشه‌ای بر اساس روش Complete ترسیم شد و ژنوتیپها در شش گروه قرار گرفتند. تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز تجزیه خوشه‌ای را در جهت گروه بندی نمونه‌ها تأیید نمود.

واژه‌های کلیدی: کلروژنیک اسید، کاتچین، فلوریدزین، تجزیه کلاستر، تجزیه به مولفه‌های اصلی

مقدمه:

سیب به عنوان یک میوه پرمصرف، سرشار از ترکیبات فنلی به ویژه فلاونوئیدهاست (۲)، که فعالیت و غلظت این ترکیبات با توجه به نوع رقم، مرحله بلوغ و شرایط محیطی متفاوت است. گروه‌های اصلی فلاونوئیدها در سیب فلاونولها یا کوئرستین ۳-گلیکوزید، فلاوان ۳-أل‌های منومر و الیگومر مثل کاتچین، اپی کاتچین، پروسیانیدینها و دی‌هیدروچالکون‌هایی مثل فلوریدزین هستند. مطالعات متعدد بر روی ارقام مختلف سیب در دنیا نشان داده است که رقم به عنوان یک عامل ژنتیکی نقش عمده ای در تجمع مواد فنلی دارد (۱، ۲). لذا مقایسه ارقام محلی ایران در جهت ارزش گذاری ارقام و معرفی انواع غنی از ترکیبات فنلی در پژوهش اخیر مورد توجه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها:

۳۰ ژنوتیپ از کلکسیون ارقام محلی سیب واقع در کمال آباد کرج به همراه رقم وارداتی گلدن دلشز به عنوان شاخص، پس از انتقال به آزمایشگاه با ازت مایع فریز شدند و تا زمان انجام آزمایش در فریزر 80°C قرار گرفتند. برای استخراج ترکیبات فنلی از روش لیستر و همکاران (۱۹۹۴) استفاده شد. آنالیز ترکیبات فنلی برگ نمونه‌ها با دستگاه (HPLC Breeze) (system, USA)، مجهز به شناساگر (Waters, 2487) UV و ستون Symentery C18 (۴/۶×۱۵۰ میلی‌متر با قطر منافذ ۵ میکرومتر)، (Waters, Ireland) انجام شد. جداسازی ترکیبات با استفاده از دو حلال A (۹۵٪ آب: ۵٪ متانول) و B (۵٪ آب: ۹۵٪ متانول) و PH ۳ و سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه انجام شد. برای اندازه‌گیری ترکیبات شناساگر در طول موج‌های ۳۲۰ و ۲۸۰ نانومتر تنظیم شد و مقدار ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های تهیه شده در هر یک از طول‌موج‌ها به دستگاه تزریق شدند. به منظور آنالیز کمی، کروماتوگرام‌های حاصل از تزریق هر نمونه با کروماتوگرام‌های استانداردهای مربوطه ((+)-کاتچین، فلوریدزین (Sigma USA) و کلروژنیک اسید (Cayman Japan)) مقایسه و در نهایت غلظت این ترکیبات برحسب میکروگرم در یک گرم بافت تر محاسبه شد. جهت آنالیز آماری تجزیه کلاستر و تجزیه به مولفه‌های اصلی از نرم افزار NTSYS ver 2 استفاده شد.

نتایج و بحث:

نتایج نشان داد که ژنوتیپ شاهرود ۱۲ بیشترین میزان فلوریدزین و اسید کلروژنیک، و ژنوتیپ شاهرود ۳ بیشترین میزان کاتچین را دارند. همچنین نتایج بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین ارقام موجود از نظر همه ترکیبات اندازه‌گیری شده با

HPLC بود. وجود تفاوت در ترکیبات فنلی ارقام مختلف تأیید کننده نقش ژنتیک در سنتز ترکیبات فنلی است که این با نتایج به دست آمده توسط لاتا و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت داشت. ضمن اینکه با استفاده از ترکیبات فنلی نمودار تجزیه خوشه ای بر اساس روش Complete ترسیم شد و ژنوتیپ ها در شش گروه قرار گرفتند. تجزیه به مولفه های اصلی نیز تجزیه خوشه ای را در جهت گروه بندی نمونه ها تأیید نمود.

منابع

1. Alonso-Salces, R.M., E. Korta, A. Barranco, L.A. Berrueta, B. Gallo and F. Vicente. 2001. Pressurized liquid extraction for the determination of polyphenol in apple. *Journal of Chromatography A*. 933: 37-43.
2. D'Abrosca, B., S. Pacifico, G. Cefarelli, C. Mastellone and A. Fiorentino. 2007. Limoncella apple, an Italian apple cultivar: phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Journal of Food Chemistry*. 104: 1333-1337.
3. Lata, B., A. Trampeczynska and J. Paczesna. 2009. Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. *Journal of Scientia Horticulturae*.
4. 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. *Journal of Science of Food and Agriculture*. 64: 155-161.

Abstract:

Phenolic compounds are the focus of attention to a great extent due to antioxidant properties. There is an interaction between genetic and environmental factors for phenolic biosynthesis. Phenolic composition might be useful biomarker for classification of genotypes. In this study, main phenolic compounds of leaf including chlorogenic acid, catechin and phloridzin from various Iranian native cultivars were quantified using HPLC. 'Golden delicious' was used as control. Results showed that Shahrood 12 had the highest phloridzin and chlorogenic acid. Shahrood 3 had highest catechin content. A dendrogram was constructed using complete clustering analysis for biochemical data and Genotypes were classified into six major groups. Principal Component Analysis confirmed the Cluster Analysis conducted in order to determine the relationships among genotypes.

Key words: Chlorogenic acid, catechin, , phloridzin, Cluster Analysis, Principal Component Analysis