مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولی و فلاونوئیدی کل عصاره‌های برگ و میوه انگور وحشی

مریم مهاجرانی[۱*]، رحمان حسین زاده[۲]، رویا مقیمی[۳] و بنفشه اسماعیلی[٤]

۱- دانشیار بیوشیمی، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران.

۲- استاد شیمی آلی، گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۳- استادیار فیتوشیمی، گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

٤- کارشناس ارشد شیمی آلی، گروه شیمی آلی، دانشکده شیمی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱٤۰۲/۵/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱٤۰۳/۲/۱۹

کلمات کلیدی:

انگور وحشی،

فعالیت آنتی اکسیدانی،

عصاره گیری،

محتوای فنولی،

محتوای فلاونوئیدی

DOI:10.22034/FSCT.21.154.37.

* مسئول مکاتبات:

m.mohajerani@umz.ac.ir

چکیده

زیر گونه انگور وحشی (*Vitis vinifera* subsp. Sylvestris) متعلق به جنس Vitis و از گیاهان بومی ایران، از منطقه میانکاله جمع‌آوری شد. در این پژوهش،عصاره‌های متانولی،آبی،کلروفرمی و اتیل استاتی به روش خیساندن از میوه و برگ گیاه انگور وحشی تهیه شد. پس از آن بازده عصاره گیری تعیین گردید. همچنین محتوای فنولی کل و فلاونوئیدی کل میوه و برگ مورد ارزیابی قرار گرفت و به منظور تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از دو روش (۲و۲-دی فنیل-۱-پیکریلی هیدرازیل) DPPH و روش (قدرت احیاکنندگی یون آهن) FRAP استفاده گردید. بررسی‌ها نشان داد که بیشترین بازده عصاره‌گیری مربوط به عصاره آبی با مقادیر ٪۱٤/۳۵برای برگ و ٪۱۲/۷۱ برای میوه گیاه بوده است. از نظر محتوای فنولی، میوه گیاه دارای محتوای بالاتری نسبت به برگ است. همچنین می‌توان گفت که عصاره متانولی دارای بالاترین مقادیر محتوای فنولی در برگ (mg/g ۰/۲۵ ± ۲/۹) و میوه گیاه (mg/g ۰/۱ ± ۱۲/۳) است. در مورد محتوای فلاونوئیدی بیشترین میزان مربوط به عصاره متانولی میوه (mg/g ۰/۰۳ ±۹/۷) بوده است. بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش‌های DPPH نشان داد که عصاره آبی برگ با $IC_{۵۰}$ برابر با µg/ml ۰/۱۲ ± ۲٦/۷٤ دارای بهترین نتیجه در مقایسه استاندارد می‌باشد. عصاره متانولی برگ نیز دارای بیشترین قدرت احیای آهن در روش سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP بود. به طور کلی ارزیابی فیتوشیمیایی برگ و میوه گیاه انگور وحشی نشان داد که عصاره متانولی بهترین عملکرد را در بین چهار عصاره مورد بررسی داشته است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.37]

۱-مقدمه

جنس Vitis (انگور)، متعلق به خانواده Virtaceae با ۷۰ گونه در جهان به صورت درخته‌ای بالارونده و پیچکدار است.این جنس دارای برگ‌های متقابل و پنجه‌ای است [1]. گونه انگور(*vitis vinifera*) بومی اروپای مرکزی، منطقه مدیترانه، و جنوب غربی آسیا است که امروزه در سراسر جهان قابل کشت می باشد. این گیاه به صورت خودرو نیز در نقاط مختلف جهان دیده می‌شود. این گیاه در گذر زمان با شرایط اقلیمی و محیطی مختلف سازگاری یافته و امروزه در اقصی نقاط دنیا قابل کشت است[2]. در طب سنتی از انگور برای مداوای ناراحتی‌هایی نظیر آرتریت روماتوئید و روماتیسم استفاده می‌شده است .از طرفی انگور به دلیل داشتن ترکیبات آنتی اکسیدانی همچون الاژیک اسید موجب کاهش علائم بیماری التهاب مفاصل شده، همچنین خاصیت ضد سرطانی خوبی از خود نشان می‌دهد[3]. رویشگاه انگور وحشی در مناطقی است که دارای خاک حاصل خیز باشند که شامل مناطق جغرافیایی مختلفی در کشورهایی نظیر عراق، ترکیه، افغانستان، سوریه، لبنان و ایران می‌شود[4]. انگور وحشی(*vitis vinifera* subsp. *Sylvestris*) یکی از زیرگونه‌های گیاه انگور است که در ایران در جنگل‌های شمال کشور و مناطق مرطوب دامنه کوه‌های زاگرس دارای پراکندگی طبیعی است. این گیاه دارای برگ‌های سه بخشی است و سطح زیرین برگ دارای کرک است[5]. گیاهان منبع ارزشمندی از متابولیت‌های ثانویه طبیعی هستند. این ترکیبات دارای خواص بی‌شماری از جمله خواص ضد میکروبی[6]،آنتی اکسیدانی[7]، ضد سرطانی[8]، ضد دیابتی[9] و غیره هستند. فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی دسته‌ای از متابولیت‌های ثانویه هستند که با بسیاری از خواص گیاه در ارتباط می‌باشند. از جمله اینکه اگر گیاهی محتوای فنولی و فلاونوئیدی بالایی داشته باشد، احتمال اینکه دارای خواص ضد سرطانی[10,11] و ضد میکروبی[12] باشد افزایش پیدا می‌کند. همچنین محتوای بالای این ترکیبات با میزان مهار استرس اکسیداتیو در ارتباط است[13]. از طرفی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی یک گیاه نیز می‌تواند با اثربخشی بیولوژیکی رابطه مستقیم داشته باشد[14]. از آنجایی که مطالعات اندکی در زمینه بررسی فیتوشیمیایی این گیاه ارزشمند تاکنون به چاپ رسیده است، از اینرو در مطالعه پیش‌رو گیاه انگور وحشی از منطقه حفاظت شده میانکاله استان مازندران جمع‌آوری گردید. عصاره‌های مختلفی از برگ و میوه گیاه به روش خیساندن به کمک چهار حلال (متانول،اتیل استات،کلروفرم و آب) بدست آمد. پس از آن خواص فیتوشیمیایی عصاره‌ها از جمله محتوای فنولی کل، محتوای فلاونوئیدی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دو روش DPPH و FRAP، مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- بخش تجربی

مواد و دستگاه‌های مورد استفاده

در این تحقیق تمامی مواد و حلال‌ها با خلوص بالای ۹۹٪ از شرکت مرک (Merck Millipore) خریداری شدند. اسپکتروفوتومتر دوپرتوی (SPEKOL 2000 Analytik Jena) برای ثبت طیف UV-Vis استفاده شد.

جمع آوری گیاه

برگ و میوه گیاه انگور وحشی از منطقه میانکاله (بهشهر – مازندران – ایران) جمع‌آوری شد و با شماره هرباریومی ۵۵۲٤ در گروه زیست‌شناسی دانشگاه مازندران ثبت شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.37]

اندام‌های برگ و میوه این گیاه پس از خشک شدن در سایه و به دور از نور خورشید، به کمک آسیاب پودر شدند.

استخراج عصاره

جهت عصاره‌گیری از بخش‌های خشک شده میوه و برگ گیاه انگور وحشی از روش خیساندن استفاده شده است. به این صورت که ابتدا مقدار ۲ گرم از پودر برگ و میوه خشک شده از گیاه انگور وحشی در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و ۷۵ میلی‌لیتر از حلال اضافه گردید تا جایی که سطح گیاه پودر شده کاملا با حلال پوشیده شده باشد. درب ارلن با پارافیلم بسته شد و به مدت ۲٤ ساعت بر روی همزن قرار داده شد. عصاره بدست آمده به یک ظرف تمیز منتقل و ۷۵ میلی لیتر از حلال اضافه شد. سپس عصاره های بدست آمده توسط کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد. برای جلوگیری از اتلاف انرژی و جلوگیری از دمای زیاد و همچنین جلوگیری از تجزیه شدن ترکیبات حاصله، جداسازی حلال‌ها از عصاره‌ها از دستگاه تبخیرکننده دوار[1] استفاده شد. این عملیات ۳ بار تکرار گردید. این مقدار و تعداد دفعات استخراج، بهینه سازی گردیده است. در نهایت چهار عصاره آبی، اتیل استاتی، متانولی و کلروفرمی از پودر میوه و برگ انگور وحشی بدست آمد.

تعیین بازده عصاره‌گیری و غلظت هر عصاره

برای تعیین بازده عصاره‌گیری، حلال موجود در ۲ گرم از هر ٤ عصاره را در آون تبخیر نموده و از این طریق وزن عصاره‌ها بدست آمد. عصاره‌ها به رنگ زرد و عسلی بوده و حالت روغنی داشتند. از این طریق وزن عصاره‌ها با ترازوی دقیق با دقت ۰/۱ میلی گرم اندازه‌گیری شد تا بازده فرآیند عصاره‌گیری در هر مورد بدست آید.

تعیین مقادیر فنول کل

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی گیاه انگور وحشی با استفاده از روش فولین- سیو کالتو[2] انجام شد[15]. به این صورت که مقدار ۲۵۰-۵۰ میکروگرم از عصاره‌های موردنظر را با سمپلر در لوله‌های آزمایش ریخته و با آب مقطر به حجم ۱٦۰۰ میکرولیتر رسانده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین- سیو کالتو به آن اضافه و به خوبی با ورتکس مخلوط گردید. پس از ۵ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات ٪ ۷ به آن اضافه شد. پس از آنکه نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق هم زده شد، میزان جذب نور هز عصاره به وسیله‌ی دستگاه طیف‌سنج نوری در طول موج ۷٦۰ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری گردید. نمونه شاهد شامل همه اجزای واکنش به جز عصاره گیاهی می‌باشد.

برای به‌دست آوردن منحنی کالیبراسیون از گالیک اسید به عنوان استاندارد استفاده شد. به این صورت که گالیک اسید در غلظت‌های ۲،۵، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکروگرم بر میکرولیتر تهیه گردید و مطابق روش بالا به هر کدام از غلظت‌ها ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین- سیو کالتو و ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ٪ ۷اضافه گردید و مجدداً بعد از آنکه نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق هم زده شدند، میزان جذب آن‌ها در طول موج ۷٦۰ نانومتر قرائت شد و بر اساس آن منحنی جذب در برابر غلظت گالیک اسید رسم شد. این آزمایش‌ها برای هر غلظت سه بار تکرار شد. در نهایت میزان فنول کل از روی میزان جذب نمونه و استاندارد، بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید به گرم وزن خشک گیاه بیان گردید.

1-Rotary evaporator

2- Folin-Ciocalteu

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.37]

تعیین مقادیر فلاونوئید کل

مقدار ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از روش رنگ‌سنجی آلومینیم کلرید اندازه‌گیری شد[16]. به این صورت که، مقدار ۵۰-۴۰۰ میکروگرم بر میکرولیتر از عصاره‌ها در لوله آزمایش قرار داده و با آب مقطر به حجم ۱۵۰۰ میکرولیتر رسانده شد. ۷۵میکرولیتر $NaNO_2$ (۰/۵٪ w/w) اضافه گردید و پس از گذشت ۵ دقیقه به آن ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم کلرید (w/v ۱۰٪) اضافه شد و به مدت ٦ دقیقه به آن زمان داده شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر سدیم هیدروکسید ۱ مولار و ۲۷۵ میکرولیتر آب اضافه و بعد از مخلوط نمودن کامل، جذب در مقابل شاهد در طول موج۵۱۰ نانومتر خوانده شد. از کوئرستین به عنوان استاندارد استفاده گردید. میزان محتوای فلاونوئیدی بر اساس میزان میلی‌گرم کوئرستین در گرم پودر خشک گزارش شده است. منحنی استاندارد براساس غلظت‌های mg/mL ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ٤۰۰ کوئرستین رسم شد. این آزمایش برای هر غلظت سه بار تکرار گردید.

تعیین فعالیت ضد رادیکالی (DPPH)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها از طریق اندازه‌گیری قدرت کاهش ظرفیت رادیکالیDPPH مورد ارزیابی قرار گرفت[17]. غلظت های ۱۲۰۰-۷۵ میکروگرم بر میکرولیتر از عصاره‌های مختلف در لوله آزمایش ریخته شد. آسکوربیک اسید ۵ میلی‌مولار به عنوان استاندارد استفاده شد. به حجم‌های مختلف از عصاره‌ها متانول ۵۰ درصد اضافه و به حجم ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس محلول DPPH ۱ میلی‌مولار به حجم ۱ میلی‌لیتر اضافه گردید. پس از آن مخلوط با همزن الکتریکی به شدت همزده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. پس از آن جذب مخلوط با دستگاه طیف‌سنج نوریUV در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد (واکنشگر بدون نمونه عصاره گیاهی) اندازه‌گیری شد و میزان $IC_{۵۰}$ (غلظتی از هر عصاره که لازم است تا ٪ ۵۰ رادیکال‌ها مهار شوند) برای عصاره‌ها تعیین شد. این آزمایش برای هر اندام گیاه سه بار تکرار شد. در این روش، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر پایه خنثی کردن رادیکال DPPH (٪RSD) به وسیله فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\%RSD = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \times ۱۰۰$$

تعیین قدرت کاهندگی (FRAP)

در این روش آهن (III) به آهن (II) احیاء می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌هایی که توانایی احیای $Fe^{+۳}$ به $Fe^{+۲}$ را دارند باعث تبدیل کمپلکس TPTZ-$Fe^{+۳}$ بی‌رنگ به کمپلکس TPTZ-$Fe^{+۲}$ که به رنگ آبی بوده، می‌شوند[18]. برای این کار غلظت ۲۵۰ میکروگرم برمیلی لیتر از عصاره های گیاهی مختلف میوه و برگ گیاه انگور وحشی برداشته و به حجم نهایی ۲ میلی لیتر رسانده شد. محلول FRAP که حاوی TPTZ ۱۰ میلی‌مولار (در HCl ٤۰ میلی‌مولار)، کلرید آهن ۲۰ میلی‌مولار و بافر استات ۳۰۰ میلی‌مولار با pH=٦/۳ است، به عصاره اضافه شد. نمونه فوق به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷°C قرار داده شده و شدت رنگ حاصل در طول موج ۵۹۳ نانومتر در مقابل شاهد قرائت شد.

برای رسم منحنی استاندارد برای روش FRAP از سولفات آهن ($FeSO_{٤}.۷H_{۲}O$) با غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار استفاده و قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بر اساس مقیاس میکرومولار $Fe^{+۲}$ بیان شد. از ترکیب آسکوربیک اسید به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. این آزمایش برای هر غلظت سه مرتبه تکرار شد.

۳-بحث و نتیجه گیری

بازده عصاره‌گیری

عصاره‌گیری از برگ و میوه انگور وحشی به وسیله حلال‌های آبی، متانولی، کلروفرمی و اتیل استاتی صورت گرفته است. حلال متانول و آب با قطبیت بالا یکی از مناسب‌ترین حلال‌ها

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.37]

جهت عصاره‌گیری از گیاهان می‌باشند و به طور رایج به خصوص متانول در اکثر تحقیقات صورت گرفته بر روی گیاهان به کار گرفته می‌شود. همانطور که در جدول ۱ آمده است، بالاترین بازده عصاره‌گیری مربوط به عصاره آبی با مقادیر ۱٤/۳۵٪و ۱۲/۷۱٪ به ترتیب در برگ و میوه گیاه بوده است.

Table 1: Yield of extraction for leaf and fruit of wild grapes in different solvents

Solvent	Plant organ	Yield (w/w %)
Water	leaf	14.35
	fruit	12.71
Methanol	leaf	6.44
	fruit	4.63
Chloroform	leaf	2.23
	fruit	1.68
Ethyl acetate	leaf	1.98
	fruit	1.34

تعیین محتوای فنولی عصاره ها

جهت تعیین فنول کل از استاندارد گالیک اسید استفاده شد و مقادیر فنول کل به صورت میلی‌گرم اکی‌والان گالیک اسید بر وزن خشک گیاه گزارش گردید. نتایج بررسی‌ها در جدول ۲ آمده است.

Table 2: Total phenolic content of leaf and fruit (mgGAE/g) [a]

Solvent	Total phenolic content of leaf	Total phenolic content of fruit
Water	2.7 ± 0.02	4.7 ± 0.06
Methanol	2.9 ± 0.25	12.3 ± 0.10
Chloroform	0.9 ± 0.03	1.7 ± 0.06
Ethyl acetate	0.7 ± 0.03	1.0 ± 0.07

a :mg Gallic acid/g of dried plant

با توجه به جدول، بالاترین مقدار فنول کل (بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن گیاه خشک) مربوط به عصاره متانولی میوه (۰/۱۰ ± ۱۲/۳ mg/g) می‌باشد و کم‌ترین مقدار موجود در عصاره اتیل‌استاتی برگ (۰/۰۳mg/g ± ۰/۷) است.به طور کلی میوه انگور وحشی مقادیر بالاتری از محتوای فنولی کل نسبت به برگ گیاه را داراست. در بین حلال‌ها، حلال متانول و آب بیشترین ترکیبات فنولی را دارند. نتایج نشان می‌دهد که حلال‌های قطبی، حلال‌های بهتری برای استخراج ترکیبات فنولی از بخش‌های مختلف گیاه هستند. به طور کلی میزان محتوای فنولی در میوه و برگ انگور وحشی به مراتب کمتر از محتوای فنولی میوه دو رقم انگور رشه و قزل اوزوم است که در مطالعه رضازاد و همکارانش در سال ۱٤۰۰شمسی به آن اشاره شده است. در این مطالعه از متانول ۷۰درصد برای استخراج عصاره استفاده شده بود و روش استخراج عصاره استفاده از امواج مافوق صوت بود. یکی از دلایلی که در میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی گیاه تاثیر بسزایی دارد نوع روش استخراج است و تفاوت نتایج این مقاله با پژوهش فعلی می‌تواند علاوه بر تفاوت در رقم انگور، ناشی از تفاوت در نوع روش استخراج نیز باشد.[19].همچنین در مطالعه دیگری ربیعی و همکارانش در سال ۱۳۹۹ به

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.37]

بررسی محتوای فنولی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی ۱۵ رقم میوه انگور جمع‌آوری شده از استان زنجان پرداختند. در این مطالعه انگور شاهانی با محتوای فنولی ۱/۸۲ میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره تر، بالاترین میزان محتوای فنولی را از خود نشان داد. بسیاری از ارقام مورد بررسی در این مطالعه محتوای فنولی زیر یک میلی گرم در گرم عصاره داشتند. در مقایسه نتایج این مطالعه با زیرگونه انگور وحشی می‌توان دید که انگور وحشی محتوای فنولی و فلاونوئیدی بالاتری از خود نشان داده است[20].

تعیین محتوای فلاوونوئیدی عصاره ها

فلاونوئیدها شامل فلاون‌ها، فلاوانون‌ها، فلاونول‌ها و فلاوانونول‌ها می‌باشند که بزرگ‌ترین دسته از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان را تشکیل می‌دهند. بر اساس مقادیر جذب مربوط به غلظت‌های مختلف عصاره‌ها و مقایسه آن‌ها با محلول استاندارد کوئرستین[۳] ، نتایج ارزیابی محتوای فلاونوئید عصاره‌ها در جدول۳ آمده است.

Table 3: Total flavonoid content of wild grapes leaf and fruit extracts (mg/g) [a]

extract	Total flavonoid content of leaf	Total flavonoid content of fruit
Water	4.9 ± 0.40	3.3 ± 0.02
Methanol	6.8 ± 0.40	9.7 ±0.03
Chloroform	1.7± 0.03	1.0 ± 0.03
Ethyl acetate	0.6 ±0.01	0.7 ± 0.02

a :eq. quercetin /g extract

با توجه به جدول ۳ بالاترین مقدار فلاونوئید کل (بر حسب میلی‌گرم اکی‌والان کوئرسیتین بر گرم وزن گیاه خشک) مربوط به عصاره متانولی میوه (۰/۰۳ ± ۹/۷ mg/g) و کمترین مقدار آن مربوط به عصاره اتیل‌استاتی برگ (۰/۰۱ ± ۰/٦ mg/g) می‌باشد. به طور کلی با توجه به نتایج بدست آمده از جدول می‌توان نتیجه گرفت، که عصاره‌ی متانولی منبع غنی آنتی‌اکسیدانی بهتری در مقایسه با دیگر عصاره‌ها می‌باشد. در مطالعه‌ای که بر روی محتوای فنولی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ، غوره و شیره انگور رقم کشمشی قرمز منطقه ارومیه انجام گرفت مشخص شد که بالاترین میزان محتوای فلاونوئیدی مربوط به برگ این رقم از انگور با میزان ۳/۸ میلی گرم بر گرم کاتچین بوده است. همچنین بالاترین میزان محتوای فنولی مربوط به برگ با میزان ۸/۹ میلی گرم بر گرم گالیک اسید گزارش شد. برگ این رقم از انگور دارای محتوای فلاونوئیدی کمتری نسبت به برگ میوه انگور وحشی مورد مطالعه دارد که می‌تواند ناشی از رقم مورد بررسی و فصل و زمان جمع‌آوری نمونه باشد. علاوه بر این مشخص شد که برگ این رقم از انگور محتوای فنولی و فلاونوئیدی بیش‌تری از غوره و شیره انگور دارد[21].

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها به روش DPPH

در این مطالعه از آسکوربیک اسید عنوان استاندارد استفاده شده است. نتایج بررسی‌های فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در جدول ٤ و شکل ۱و۲ آمده است.

Table 4: Antioxidant activity of wild grapes fruit and leaf extracts using DPPH assay (µg/ml)

sample	IC_{50} of standard	IC_{50} of leaf	IC_{50} of fruit
Ascorbic acid	16.62±0.1		.

[۳] Quercetin

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.37]

Aqueous extract	–	26.74 ±0.12	59.67 ± 0.25
Methanolic extract	–	54.65 ± 0.16	34.36 ± 0.23
Chloroformed extract	–	81.20 ± 0.33	78.39 ± 0.14
Ethyl acetate extract	–	55.5 ± 2.30	75.10 ± 3.40

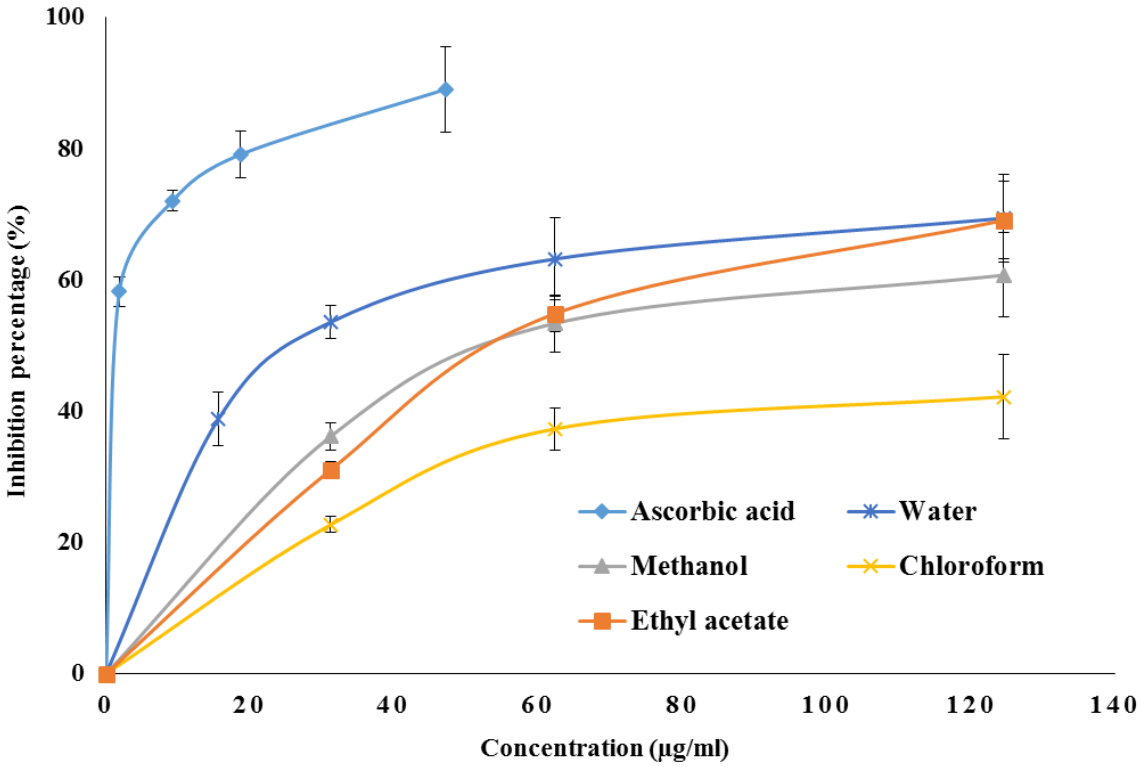


Fig.1: DPPH assay results for wild grapes leaf extracts

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.37]

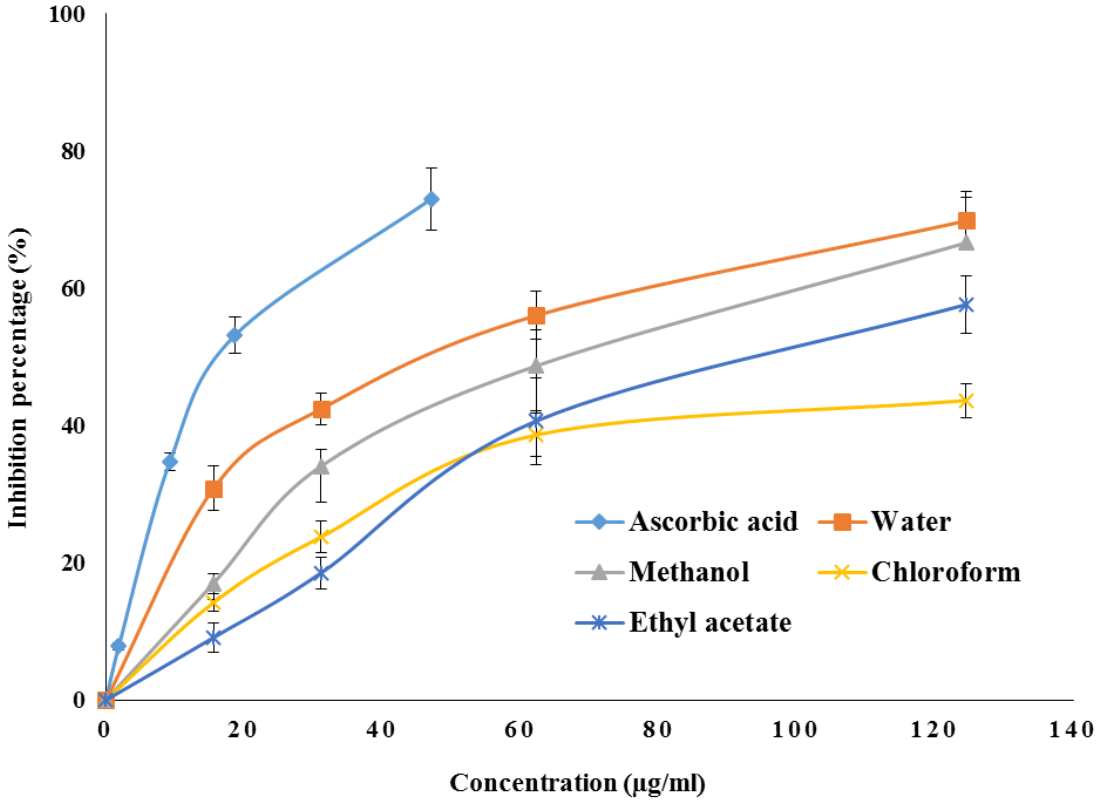


Fig.2: DPPH assay results for wild grapes fruit extracts

همانطور که در شکل ۲ پیداست، نمودار در مقادیر بالاتر از ۵۰٪ به صورت منحنی در می‌آید و در نتیجه تنها غلظت‌هایی را که تا این مقدار فعالیت مهارکنندگی دارند، به صورت IC_{50} گزارش می‌شوند.

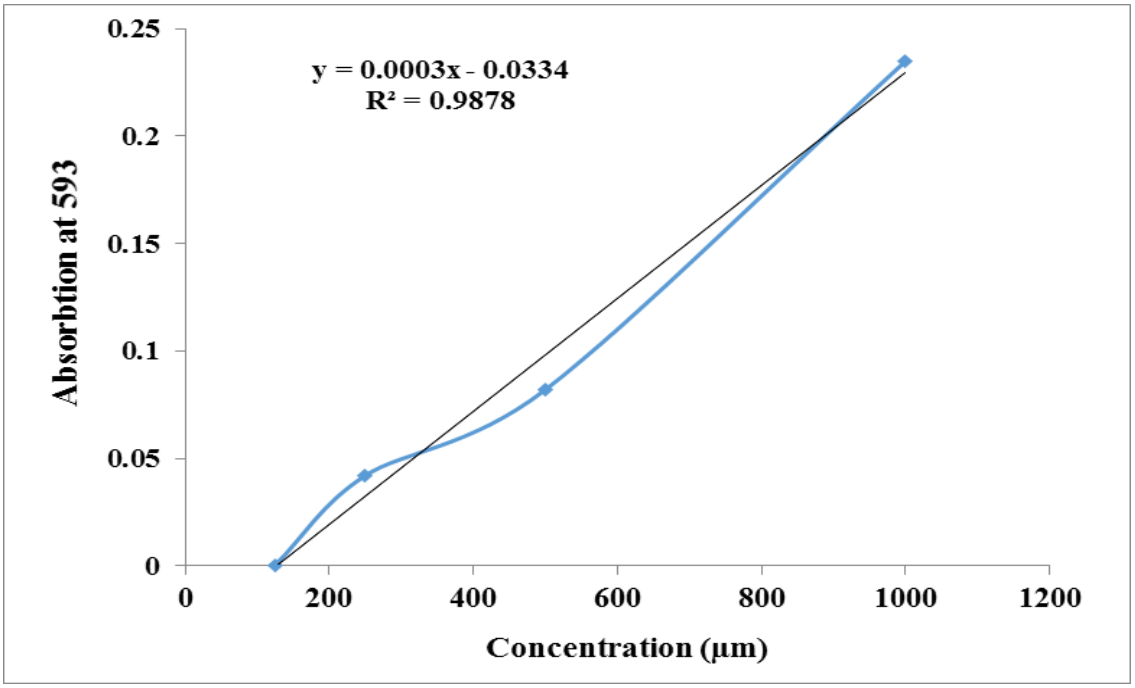
برای برگ گیاه به ترتیب عصاره‌های آبی > متانولی > اتیل‌استاتی > کلروفرمی و برای میوه گیاه به ترتیب عصاره‌های متانولی > آبی > اتیل‌استاتی > کلروفرمی فعالیت ضد رادیکالی در مقایسه با استانداردهای آسکوربیک اسید از خود نشان دادند. در میان عصاره‌ها، عصاره آبی برگ فعالیت رادیکالی بالایی با مقدار ۲۶/۷۴ µg/ml (IC_{50})نشان داد که در مقایسه با استاندارد آسکوربیک اسید ۱۶/۶۰ µg/ml، مقدار قابل‌توجهی می‌باشد. در سال ۲۰۱۳ محققان کرواسی به بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی برگ انگور قرمز پرداختند. نتایج بررسی فعالیت ضد رادیکالی این گیاه، مقدار µg/ml ۱۴۲ برای عصاره اتانولی را در مقایسه با استاندارد آسکوربیک اسید نشان داد. نتایج نشان داد که عصاره‌ی اتانولی این گونه دارای فعالیت ضد رادیکالی بالایی می‌باشد و علت آن را به حضور ترکیبات فلاونوئیدی یافت شده در این عصاره نسبت می‌دهند[22].

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها به روش FRAP

شکل ۳ و شکل ٤ به ترتیب نمودار کالیبراسیون و نمودار قدرت کاهندگی عصاره‌های مختلف برگ و میوه گیاه انگور وحشی را نشان می‌دهند. عصاره متانولی در برگ و عصاره اتیل استاتی در میوه دارای قدرت کاهندگی بیشتری نسبت به سایر عصاره‌ها می‌باشند. برای برگ گیاه به ترتیب عصاره‌های متانولی > آبی > اتیل‌استاتی > کلروفرمی و برای میوه گیاه به ترتیب عصاره‌های اتیل استاتی > متانولی > آبی > کلروفرمی قدرت کاهندگی در مقایسه با استاندارد آسکوربیک اسید از خود نشان دادند. در سال ۲۰۱۳ محققان کرواسی به بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی برگ انگور قرمز

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]
[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.37]

پرداختند. نتایج این بررسی‌ها نشان می‌دهد که این ترکیب دارای مقادیر بالای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌باشد. همچنین مطالعه بر روی عصاره اتانولی برگ انگور قرمز مقادیر بالای قدرت کاهندگی در مقایسه با استاندارد نشان می‌دهد[22]. بر طبق تحقیقات انجام شده بر روی گونه‌های دیگر جنس انگور، می‌توان خواص آنتی‌اکسیدانی بالای این گونه را نیز به حضور ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در آن نسبت داد[23].



.Fig.3: Calibration carve for FRAP assay

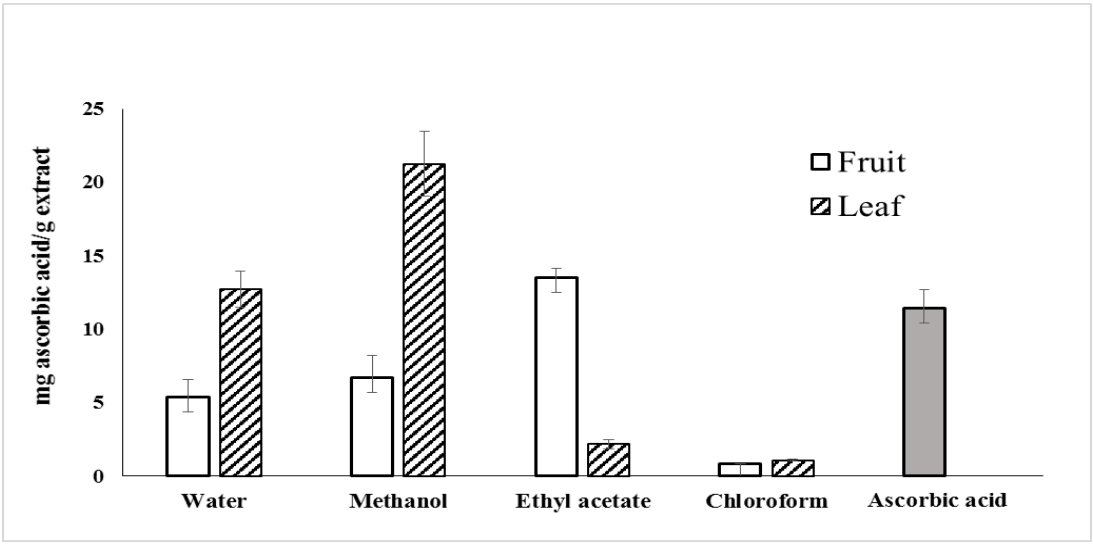


Fig.4: FRAP assay results for wild grapes fruit and leaf extracts

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.37]

٤- تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه مازندران کمال تشکر و قدردانی را داریم.

٥- منابع

[1] Kelij, S., Mohamadjani, Z., & Naqinezhad, A. (2018). The effect of ecological factors on leaf and petiole anatomy of wild grapevine (Vitis vinifera subsp. sylvestris) in northern Iran. *Nova Biol. Reperta*, *4*, 361–372.

[2] Yakhchi, V., Abbaspour, H., Peyvandi, M., & Noormohammadi, Z. (2023). Study of anatomical structure of leaves and petioles in seven Iranian cultivars of Vitis vinifera L. *Developmental Biology*, *15*(2).

[3] Zhou, K., & Raffoul, J. J. (2012). Potential anticancer properties of grape antioxidants. *Journal of Oncology*, *2012*.

[4] Ergül, A., Perez-Rivera, G., Söylemezoğlu, G., Kazan, K., & Arroyo-Garcia, R. (2011). Genetic diversity in Anatolian wild grapes (Vitis vinifera subsp. sylvestris) estimated by SSR markers. *Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation*, *9*(3), 375–383. https://doi.org/10.1017/S1479262111000013

[5] Naqinezhad, A., Ramezani, E., Djamali, M., Schnitzler, A., & Arnold, C. (2018). Wild grapevine (Vitis vinifera subsp. sylvestris) in the Hyrcanian relict forests of northern Iran: an overview of current taxonomy, ecology and palaeorecords. *Journal of Forestry Research*, *29*(6), 1757–1768. https://doi.org/10.1007/s11676-017-0549-6

[6] Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021). Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: A review study on challenges and future perspectives. *Microorganisms*, *9*(10), 2041.

[7] Reyes-Munguía, A., Carrillo-Inungaray, M. L., Carranza-Álvarez, C., Pimentel-González, D. J., & Alvarado-Sánchez, B. (2016). Antioxidant activity, antimicrobial and effects in the immune system of plants and fruits extracts. *Frontiers in Life Science*, *9*(2), 90–98.

[8] Lichota, A., & Gwozdzinski, K. (2018). Anticancer activity of natural compounds from plant and marine environment. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(11), 3533.

[9] Alam, F., Shafique, Z., Amjad, S. T., & Bin Asad, M. H. H. (2019). Enzymes inhibitors from natural sources with antidiabetic activity: A review. *Phytotherapy Research*, *33*(1), 41–54.

[10] Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A., & Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*, *12*(2), 457.

[11] Raffa, D., Maggio, B., Raimondi, M. V., Plescia, F., & Daidone, G. (2017). Recent discoveries of anticancer flavonoids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *142*, 213–228.

[12] Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, *18*, 241–272.

[13] Oteiza, P. I., Fraga, C. G., & Galleano, M. (2021). Linking biomarkers of oxidative stress and disease with flavonoid consumption: From experimental models to humans. *Redox Biology*, *42*, 101914.

[14] Yeum, K., Russell, R. M., & Aldini, G. (2010). Antioxidant activity and oxidative stress: An overview. *Biomarkers for Antioxidant Defense and Oxidative Damage: Principles and Practical Applications*, 3–19.

[15] Blainski, A., Lopes, G. C., & De

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.37]

Mello, J. C. P. (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from Limonium brasiliense L. *Molecules*, *18*(6), 6852–6865.

[16] Fattahi, S., Zabihi, E., Abedian, Z., Pourbagher, R., Ardekani, A. M., Mostafazadeh, A., & Akhavan-Niaki, H. (2014). Total phenolic and flavonoid contents of aqueous extract of stinging nettle and in vitro antiproliferative effect on hela and BT-474 Cell lines. *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, *3*(2), 102.

[17] Moon, J.-K., & Shibamoto, T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(5), 1655–1666.

[18] Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, *239*(1), 70–76.

[19] Rezazad Bari, L., Ghanbari, A., Darvishzadeh, R., Torabi Giglou, M., & Doulati Baneh, H. (2021). Comparison of phenolic compounds and antioxidant activity of two grapvine root cultivars Rasha and Qzel Ozum. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, *18*(111), 1–12.

[20] Rabiei, V., & Heydarnajad Giglu, R. (2021). Assessment of nutritional quality and antioxidant properties of some cultivars of table grapes cultivated in Khorramdareh region of Zanjan province. *Research in Pomology*, *5*(2), 119–131.

[21] Pourakbar, L., & Adli F. M. (2017). *Investigation of phenolic compounds and antioxidant capacity in leaves, unripe, ripe, sundried and molasses of red raisin grape*.

[22] Katalinic, V., Mozina, S. S., Generalic, I., Skroza, D., Ljubenkov, I., & Klancnik, A. (2013). Phenolic profile, antioxidant capacity, and antimicrobial activity of leaf extracts from six Vitis vinifera L. varieties. *International Journal of Food Properties*, *16*(1), 45–60.

[23] Balík, J., Kyseláková, M., Vrchotová, N., Tříska, J., Kumšta, M., Veverka, J., Híc, P., Totušek, J., & Lefnerová, D. (2009). Relations between polyphenols content and antioxidant activity in vine grapes and leaves. *Czech Journal of Food Sciences*, *26*(Special Issue), S25–S32.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.37]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigation the antioxidant activity and total phenol and flavonoid contents of wild grapevines (*Vitis vinifera* subsp. sylvestris) fruit and leaf extracts

Maryam Mohadjerani[1*], Rahman Hosseinzadeh[2], Roya Moghimi[3], Banafsheh Esmaeili[4]

1- Associate Professor in Biochemistry, Department of Molecular and Cell Biology, Faculty of Basic Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. (m.mohajerani@umz.ac.ir)

2- Professor in Organic Chemistry, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

3- Assistant Professor in Phytochemistry, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

4- MSc in Organic Chemistry, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

ARTICLE INFO

Article History:
Received:2023/8/12
Accepted:2024/5/8

Keywords:

wild grapes,

antioxidant activity,

plant extraction,

phenolic content,

flavonoid content

DOI: **10.22034/FSCT.21.154.37.**

*Corresponding Author E-
m.mohajerani@umz.ac.ir

ABSTRACT

Vitis vinifera subsp. Sylvestris, belong to vitis family and one of indigenous plants of Iran, was collected from Miankalleh. In this research, different plant extractions (methanol, water, chloroform, ethyl acetate) were obtained from leaf and fruit of wild grapes. The yield of extraction was determined. Also, total phenol and total flavonoid content of different extracts were analyzed and the antioxidant activity of the extracts were assessed using DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and FRAP (ferric reducing power) methods. Our investigation showed that the aqueous extract of leaf (14.35%) and fruit (12.71%) had the highest level of extraction yield. The total phenolic content of the fruit was higher than the leaf. Also, the methanolic extract had the higher total phenolic content than other extracts in leaf (2.9±0.25 mg/g) and fruit (12.3±0.1 mg/g).About the total flavonoid content, the methanolic extract of the fruit with the 9.7±0. 03 mg/g, had the highest level. Investigation the antioxidant activity using DPPH assay revealed that the aqueous extract of leaf with IC50 of 26.74±0.12 µg/ml had the best result. The methanolic extract of the leaf was more potent that other extract in FRAP assay. In conclusion the phytochemical analysis of leaf and fruit of wild grapes showed that the methanolic extract had the best performance.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.154.37]