مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

مقایسه ترکیبات فنولی و فعالیت ضد اکسایشی دو رقم انگور رشه و قزل اوزوم

لعیا رضازاد باری[۱]، علیرضا قنبری[۲*]، رضا درویش زاده[۳]، موسی ترابی گیگلو[٤]، حامد دولتی بانه[٥]

۱- دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی و اصلاح درختان میوه، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۲- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۳- استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

٤- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

٥- دانشیار، مرکز تحقیقات و آموزش جهاد کشاورزی استان آذربایجان غربی، ارومیه، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۹ /۰۵/۲٤

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۷/۱۳

کلمات کلیدی:

کشت بافت،

متابولیت‌های ثانویه گیاهی،

افزودنی طبیعی،

انگور

DOI: 10.52547/fsct.18.02.01

* مسئول مکاتبات:

ghanbari66@uma.ac.ir

چکیده

امروزه استفاده از تکنیک کشت بافت در تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهی، مانند ترکیبات فنولیک، به عنوان افزودنی غذایی طبیعی در صنایع غذایی بسیار گسترش یافته است. هدف پژوهش حاضر بررسی و مقایسه محتوای ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی انگور ارقام رشه و قزل اوزوم می‌باشد که توسط کشت بافت در شرایط آزمایشگاهی تولید شدند. برای این منظور جوانه انتهایی ارقام انگور در محیط کشت موراشیگ - اسکوگ کشت داده شد تا گیاهچه کامل ایجاد گردد. سپس عصاره متانولی از برگ‌های سالم انگورها تهیه شد و برای انجام آزمون‌های تعیین ترکیب پلی فنولی با استفاده از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا همراه با آشکارساز فرابنفش، گروه‌های عاملی با استفاده از طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ، محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، کاروتنوئید کل، میزان اسید آسکوربیک، میزان مهار رادیکال‌های آزاد ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریلیدرازیل (DPPH) و هیدروکسیل (OH^-) استفاده گردید. نتایج نشان داد میزان ترکیبات فنولی کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل و کارتنوئید کل عصاره‌های متانولی رقم رشه به ترتیب ۵۰/۳۵±۰/۱۰، ۲۹/۷۲±۰/۰۵، ۱۰/٤۱±۰/۲۰ و ۱/۸۲±۰/۵۰ میلی گرم بر گرم و در رقم قزل اوزوم به ترتیب ۲۳/۰٦±۰/۳۱، ۲۰/۷٦±۰/۱۵ ، ۷/۲۸±۰/۱۵ و ۰/۹٤±۰/٤۲ میلی گرم بر گرم بود. میزان اسید آسکوربیک، مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و OH^- در عصاره‌های متانولی برگ رشه به ترتیب ±۰/۰٤ ۱/۸۳، ۲۵/۳۸±۱/۵۲ و ۷۵/۰٤±۲/۷٤ درصد و در برگ قزل اوزوم به ترتیب ۰/۸۵±۰/۰۱، ۱۸/۷۱±۲/۰۵ و ٦۸/۹٦±۳/٦۱ درصد بود. به عنوان نتیجه کلی نتایج نشان داد برگ انگور رقم رشه از نظر تمام ویژگی‌های بررسی شده بیشتر از برگ انگور رقم قزل اوزوم بود ($p<$ ۰/۰۵). همچنین این تحقیق نشان داد برگ‌های انگور از نظر ترکیبات فنولی و ضد اکسایش‌های طبیعی غنی هستند و پتانسیل استفاده در صنایع غذایی و دارویی را دارند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

[DOI: 10.52547/fsct.18.111.1]

۱- مقدمه

طی ۱۰ سال گذشته موج جدیدی در فناوری کشت سلول‌های گیاهی جهت تولید محصولات غذایی طبیعی پایدار ایجاد شده است. از اینرو محصولات بر پایه عصاره‌های حاصل از کشت سلول‌های گیاهی وارد صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی شده اند که با کشت‌های درون شیشه‌ای سلول‌های گیاهی تولید می‌شوند. با توجه به افزایش تقاضای بازار به محصولات جدید حاصل از گیاهان، کشت آزمایشگاهی به تکنیکی قابل استفاده برای تولید انبوه مواد گیاهی تبدیل شده است. علاوه بر این، این تکنیک پتانسیل زیادی برای تولید ترکیبات زیست فعال گیاهی دارد، زیرا امکان دستکاری مسیرهای بیوسنتزی برای افزایش تولید و تجمع ترکیبات خاص را بوجود آورد. با در نظر گرفتن اهمیت ترکیبات فنولی برای سلامت مصرف کنندگان، مطالعه تولید این ترکیبات گیاهی در کشت آزمایشگاهی جهت افزایش تولید بسیار مورد توجه است [۱-۳].

ترکیبات فنولی نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه دارند. همچنین این ترکیبات در افزایش تحمل گیاهان به تنش دارای اهمیت زیادی هستند. ترکیبات فنولی بسیار متنوع بوده و یکی از مهمترین متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند. آنتوسیانین‌های مختلف، مشتقات کورستین، کائمپفرول و استیلبنوئیدها از انواع مختلف ترکیبات فنولی هستند. انگور (*Vitis vinifera* L.) طیف گسترده‌ای از ترکیبات فنولی را در مقادیر قابل توجه تولید می‌کند [٤و ٥]. بسیاری از مطالعات شواهدی ارائه داده‌اند که نشان می‌دهد این ترکیبات دارای اثرات محافظتی و تقویت کننده سلامتی برای انسان هستند. اعتقاد بر این است که اثرات مفید ترکیبات فنولیک ناشی از فعالیت ضد اکسایشی و ظرفیت به دام اندازی رادیکال‌های آزاد است. بنابراین این ترکیبات از ماکرومول‌های اساسی مانند پروتئین‌های ساختاری و آنزیم‌ها، اسیدهای نوکلئیک، لیپوپروتئین‌ها و چربی‌های غشایی در برابر اکسیداسیون توسط رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند [٦-٨].

تأثیرات مفید مصرف انگور بر سلامت انسان به خوبی اثبات شده است. همچنین علاقه زیادی به سایر قسمت‌های خوراکی گیاه انگور وجود دارد، زیرا دارای ارزش غذایی بالایی هستند. اثرات زیست فعالی و خواص دارویی در تمام قسمت‌های گیاهان، به ویژه ریشه، ساقه، شاخساره و برگ نسبت داده شده است، که در فرمولاسیون مکمل‌های ضد اکسایشی دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۹-۱۳]. علاوه بر این، برگ‌های انگور دارای طعمی دلپذیر بوده و می‌توانند به عنوان یک ماده غذایی تازه و یا پخته (در دلمه برگ انگور) استفاده شوند [١٤]. ترکیب شیمیایی قسمت‌های مختلف گیاهان بسیار تحت تأثیر تنوع رقم، درجه بلوغ، شرایط آب و هوایی و استرس قرار دارد [١٥]. انگور یکی از میوه‌هایی است که کشت و تولید آن در کشورمان از سابقه بسیار طولانی برخوردار است، به طوری که ایران یکی از سرزمین های اولیه کشت انگور در جهان به شمار می‌آید. از اینرو امروزه در اکثر نقاط کشور از نواحی سردسیر شمال تا حاشیه کویر و همچنین مناطق جنوب، کشت انگور معمول می‌باشد. علاوه براین، انگور به طور وحشی و به مقدار فراوان در جنگل‌های ایران وجود دارد [١٦]. اثرات ضد اکسایشی، ضد میکروبی، ضد سرطانی و ضد التهابی از ویژگی‌های بسیار مهم عصاره قسمت‌های مختلف گیاه انگور از جمله هسته آن بوده که در مطالعات بسیاری مورد بررسی قرار گرفته است [١٥].

قزل اوزوم رقمی است که بیشتر در استان آذربایجان غربی پرورش داده می‌شود. میوه آن دیررس بوده و به صورت تازه خوری مصرف می‌شود زیرا بسیار مناسب نگهداری در سردخانه است [١٦]. رشه یکی از مهمترین ارقام انگور دیم کشور است که در سطح وسیع در جنوب استان آذربایجان غربی، و همچنین استان‌های کردستان و کرمانشاه کشت می‌شود. با توجه به اینکه برگ انگور به عنوان غذا سنتی در رژیم غذایی مردم استان آذربایجان غربی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین با توجه به اهمیت این دو رقم در استان و از آنجا که در سال های اخیر توجه به ویژگی‌های عملکردی مواد غذایی بسیار افزایش یافته است. مطالعه وجود ترکیبات فنولی و پتانسیل ضد اکسایشی در فرآورده‌های غذایی می‌تواند از نظر تغذیه‌ای و هم از دیدگاه اقتصادی بسیار با ارزش باشد. از اینرو، هدف پژوهش حاضر بررسی و مقایسه محتوای ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی برگ انگور ارقام رشه و قزل اوزوم تولید شده به روش کشت بافت (شرایط درون شیشه‌ای آزمایشگاهی) می‌باشد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

[DOI: 10.52547/fsct.18.111.1]

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد مورد استفاده

به منظور انجام این پژوهش، ارقام رشه و قزل اوزوم از سایت کهریز مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی استان آذربایجان غربی واقع در ۴۵ کیلومتری شهر ارومیه دریافت شد. ۱،۱ - دی فنیل-۲ - پیکریل هیدرازیل، معرف فولین- سیوکالتو، اسید گالیک و کوئرستین از شرکت سیگما (سنت لوئیز، میسوری، ایالات متحده آمریکا) خریداری شد. استانداردهای سیناپینیک اسید، پی کوماریک اسید، وانیلیک اسید، گالیک اسید، سیرینجیک اسید، روتین، کاتچین، اپی کاتچین، گالوکاتچین و اپی گالوکاتچین از شرکت سیگما (سنت لوئیز، میسوری، ایالات متحده آمریکا) خریداری شد. سایر مواد شیمیایی و استانداردهای مورد استفاده با خلوص آزمایشگاهی بوده و از شرکت مرک (Darmstadt، آلمان) تهیه شدند.

۲-۲-کشت بافت و آماده سازی نمونه‌ها

جهت کشت درون شیشه‌ای، ابتدا نمونه‌های قلمه ارقام انگور مورد مطالعه که قطر نیم سانتی‌متر و دارای سه جوانه بودند انتخاب شدند. سپس قلمه‌ها در گلخانه با دمای ۲۱°C و رطوبت ۷۰٪ در داخل پرلیت کشت شدند. سپس جوانه‌ی انتهایی شاخه‌های تولید شده در داخل محیط کشت موراشینگ اسکوک (MS) حاوی ۰/۲ mg ایندول بوتریک اسید، mg ۲۰۰ زغال فعال کشت شده (پنج شیشه حاوی ۵ جوانه برای هر رقم) و به اتاق رشد با دمای ۲۰-۲۵°C و رطوبت نسبی ۴۰-۵۰ ٪ و مدت زمان ۱۶ ساعت روشنایی (۸۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی انتقال داده شدند تا شاخه ای به اندازه‌ی cm ۵- ۶ سانتی‌متری تولید نمودند. این جوانه‌های رشد کرده در محیط MS قطعه قطعه شده و واکشت شدند تا تعداد کافی گیاهچه تولید شود. گیاهچه‌های تولید شده به محیط کشت MS منتقل شدند به طوری که برای هر رقم ۱۵ گیاهچه در ۳ گلدان کشت شد. در نهایت بعد از یک ماه، گیاهچه‌ها برای انجام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفتند [۱۷].

۲-۳-استخراج عصاره برای تعیین ترکیبات فنولی

مطابق روش Bistgani و همکاران (۲۰۱۹)، با اصلاح جزئی استخراج پلی فنول از برگ‌های ارقام انگور انجام شد. نمونه برگ‌ها به طور جداگانه با نیتروژن مایع خرد شد و g ۲ پودر همگن برگ‌ها برای استخراج ترکیبات پلی فنول با ml ۵۰ محلول متانولی (۷۰٪، v/v) حل شد و سپس در حمام اولتراسونیک در دمای اتاق به مدت min ۶۰ قرار گرفت. سپس عصاره‌ها در g × ۱۰،۰۰۰ در ۴°C به مدت min ۱۰ سانتریفیوژ شدند. در نهایت قبل از انجام هر آزمون مایع رویی بلافاصله از طریق فیلتر سَر سُرنگی µm ۰/۴۵ فیلتر شد [۱۸].

۲-۴- تعیین ترکیبات فنولی توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC)

برای این منظور ml ۱۰ از عصاره به ml ۲۰ متانول اضافه شده و درون شیکر به مدت min ۱۸۰ با سرعت rpm ۱۲۰ قرار داده شد. سپس برای تغلیظ نمونه درون روتاری اواپراتور در دمای °C ۴۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت rpm ۶۰۰ قرار گرفت. محلول به دست آمده به وسیله فیلتر سَر سُرنگی µm ۰/۲۲ صاف گردید و سپس همراه متانول به دستگاه HPLC (HP 1100, Agilent, Waldbronn, Germany) تزریق شد. سیستم گرادیانت با سرعت جریان ml/min ۱ و ترکیب فاز متحرک آب – متانول با نسبت ۹۵ به ۵ بود. نوع ستون مورد استفاده C18، طول ستون cm ۲۵، قطر ستون mm ۴/۶ و اندازه ذرات پایه µm ۵ بود و حجم هر تزریق برابر ml ۱۰ بود. آزمایش در دمای °C ۲۵ انجام شد و آشکارساز فرابنفش در طول موج nm ۲۸۰ مورد استفاده گردید. غلظت ترکیبات فنلی براساس غلظت نمونه تزریق شده نسبت به وزن اولیه نمونه با استفاده از نرم افزار Chroma Gate به دست آمد [۱۸].

۲-۵- آزمون طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR)

برای این منظور، mg ۱ پودر برگ انگور با mg ۲۰۰ پودر پتاسیم برمید مخلوط شده و توسط یک پرس هیدرولیک به صورت یک قرص شکل داده می‌شود. طیف‌های FTIR توسط طیف سنج FT-IR (Bruker TENSOR 27, Bruker Optik, Ettlingen, Germany) در محدوده cm^{-1} ۴۰۰۰-۵۰۰ بدست آمد [۱۹].

۲-۶- اندازه گیری محتوای فنل کل

برای این منظور از روش Zareei و همکاران (۲۰۱۹) استفاده گردید. ml ۱ از عصاره استخراجی برداشته و به آن ml ۹ آب

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

[DOI: 10.52547/fsct.18.111.1]

مقطر و ml ۱ معرف فولین- سیوکالتو اضافه شد. بعد از min ۵ به آن ml ۱۰ کربنات سدیم ۷٪ اضافه گردید و به مدت min ۶۰ در دمای اتاق انکوبه شد. سپس جذب هر یک از نمونه ها در طول موج nm ۷۵۵ با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/Vis 2100) خوانده شد. محتوای فنول کل بر حسب گالیک اسید در گرم وزن تَر[1] با استفاده منحنی استاندارد گالیک اسید $y = 0.0013x + 0.0071$ محاسبه شد [۵].

۲-۷- اندازه گیری محتوای فلاونوئید کل

محتوای فلاونوییید کل طبق روش Zareei و همکاران (۲۰۱۹)، بر مبنای رنگ سنجی آلومینیوم اندازه گیری شد. برای این منظور، g ۰/۱ از نمونه به همراه ml ۱ آب دیونیزه رقیق شد. سپس ml ۰/۵ از نمونه رقیق شده برداشته ml ۱/۵ اتانول ۹۵٪، ml ۰/۱ آلومینیوم کلراید ۱۰٪، ml ۰/۱ استات پتاسیم M ۱ و ml ۲/۸ آب دیونیزه اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت min ۴۵ در دمای آزمایشگاه انکوبه گردید. سپس جذب نمونه ها در nm ۵۱۰ با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. جهت تعیین میزان فلاونویید کل، منحنی استاندار برحسب میزان کوئرستین موجود در یک گرم وزن تَر با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین $y = 217.87x + 0.0582$ محاسبه شد [۵].

۲-۸-اندازه گیری محتوای آنتوسیانین کل

محتوای آنتوسیانین کل در نمونه‌ها طبق روش Zareei و همکاران (۲۰۱۹) اندازه گیری شد. برای این منظور g ۰/۱ از نمونه به همراه ml ۱۰ متانول اسیدی (شامل ۹۹٪ متانول و ۱٪ اسید کلریدریک) هم زده شد. سپس عصاره حاصل به مدت min ۱۰ در g ×۶۰۰۰ در °C ۴ سانتریوفوژ شد. فاز رویی به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای آزمایشگاه نگهداری شد بعد از ۲۴ ساعت جذب هر یک از نمونه ها در طول موج nm ۵۱۰ و nm ۷۰۰ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد [۵]. برای محاسبه‌ی غلظت آنتوسیانین از فرمول زیر استفاده شد:

Total anthocyanin(mg.g $^{-1}$ FW)=

$$\frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\varepsilon \times L}$$

که در آن Mw برابر g/mol ۴۴۹/۲ گرم بر مول، وزن مولکولی سیانیدین ۳- گلوکوزید، DF ضریب رقت، L برابر cm ۱ طول مسیر سلول و ε برابر L/mol.cm ۲۶۹۰۰ جذب مولی سیانیدین ۳-گلوکزید است. A تفاوت جذب آنتوسیانین در دو محیط مختلف است که به صورت زیر محاسبه می شود:

$$A = (A_{510}-A_{700})\ pH_{1.0} - (A_{510}-A_{700})\ pH_{4.5}$$

۲-۹- اندازه‌گیری کاروتنوئید

برای اندازه گیری رنگریزه‌های کلروفیلی و کاروتنوئید از روش Bistgani و همکاران (۲۰۱۹) و Asadi و همکاران (۲۰۲۰) استفاده شد. g ۰/۱ از نمونه به همراه ml ۵ استون ۱۰۰٪ در هاون چینی ساییده شد. عصاره ی حاصل به مدت min ۱۰ در g ×۳۰۰۰ در دمای °C ۴ سانتریوفوژ شد. سپس جذب فاز بالایی هریک از نمونه های سانتریوفوژ شده توسط اسپکترفتومتر در طول موج‌های nm ۶۴۵، و nm ۴۳۰ خوانده شد. برای محاسبه کاروتنوئیدها از فرمول زیر استفاده شد. غلظت برحسب $mg.g^{-1}$ عصاره تعیین گردید [۱۸ و ۲۰].

$$Chl_a = 11.75\ A_{663} - 2.35\ A_{645}$$
$$Chl_b = 18.61\ A_{645} - 3.96\ A_{663}$$

$$C_{X+C} = \frac{1000\ A_{430} - 2.27 Chl_a - 81.40 chl_b}{227}$$

۲-۱۰- اندازه گیری درصد مهار رادیکال آزاد ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریلیدرازیل (DPPH)

توانایی احیاء الکترون عصاره‌ها به وسیله بی رنگ شدن محلول بنفش رنگ ۱،۱ - دی فنیل-۲ – پیکریل هیدرازیل مطابق روش Kalantari و همکاران (۲۰۲۰) اندازه‌گیری گردید. برای این منظور به µL ۵۰ از نمونه میزان ml ۱ محلول متانولی DPPH ۰/۲mM اضافه شد. سپس به مدت min ۱ با استفاده از ورتکس هم زده شد. پس از انکوبه کردن به مدت min ۳۰ در دمای آزمایشگاه و در مکان تاریک، کاهش جذب در طول موج nm ۵۱۷ به عنوان درصد مهار رادیکال با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و درصد مهار با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{Free radical scavenging activity (\%)} = \frac{A_{Reference} - A_{Sample}}{A_{Reference}} \times 100$$

1. Fresh weight (FW)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

[DOI: 10.52547/fsct.18.111.1]

۲-۱۱- میزان مهار رادیکال هیدروکسیل (OH^-)

برای این منظورمطابق روش Pirsa و همکاران (۲۰۲۰)، ۱ ml محلول نمونه با ۲ ml $FeSO_4$ (۱/۸ Mm)، ۱/۵ ml سالیسیلیک اسید (۱/۸ Mm) و ۱/۵ ml H_2O_2 (۰/۳٪ v/v) مخلوط شد. پس از آن محلول به شدت مخلوط شده و در دمای اتاق به مدت ۳۰ min نگهداری شد. سپس در ۴۰۰۰ × g و دمای ٤ °C به مدت ۵ min سانتریفیوژ شد و جذب محلول رویی در ۵۱۰ nm توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/Vis 2100) اندازه گیری گردید. فعالیت رادیکال‌های هیدروکسیل با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید:

$$\text{Hydroxyl radicals scavenging activity (\%)} = \frac{(A_s - A_c)}{(A_b - A_c)} \times 100$$

از آنجا که جذب محلول حاوی یک نمونه از یک غلظت خاص است، جذب محلول در جایگزینی اسید سالیسیلیک با آب مقطر A_c است. جذب محلول حاوی H_2O_2 به عنوان کنترل است [۲۲].

۲-۱۲-اندازه گیری اسید آسکوربیک

غلظت اسید اسکوربیک مطابق روش Zadeh و همکاران (۲۰۲۰)، به روش اسپکترومتری در ۵۱۵ nm اندازه گیری شد. برای این منظور یک منحنی کالیبراسیون ($y = 2.4704x + 0.0005$, $R^2 = 0.9723$) با اسکوربیک اسید تهیه شد و نتایج به دست آمده حسب از میکروگرم بر گرم وزن عصاره بیان شد [۲۳].

۲-۱۳- آنالیز آماری

پژوهش حاضر در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با ۵ تکرار برای عصاره برگ انگور هر رقم و ۳ تکرار در اندازه گیری هر آزمایش انجام شد. مقایسات میانگین داده‌های به دست آمده با آزمون t- استیودنت و با استفاده از نرم افزار آماری Minitab نسخه ۱۸ در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تعیین ترکیبات فنولی با استفاده از HPLC

تکنیک کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) روش مرسوم و مناسب برای جداسازی و اندازه‌گیری ترکیبات طبیعی مانند پلی فنول‌ها می‌باشد. در بررسی منابع جهت جداسازی و تعیین ترکیبات فنولی از روش‌های متفاوت استخراج و شرایط مختلف دستگاهی استفاده شده است و نکته مهم و اساسی در تمامی روش‌ها استفاده از استاندارد و تعیین مقادیر ترکیبات فنولی با استفاده از منحنی کالیبراسیون برای هر ماده و زمان بازداری نسبی آن‌ها است [۲٤]. جهت شناسایی و تعیین کمیت ترکیبات فنولی موجود در عصاره برگ انگورهای رقم رشه و قزل اوزوم از دستگاه HPLC مجهز به آشکارساز UV بر اساس ۱۱ استاندارد موجود استفاده شد (شکل ۱). نتایج نشان داد در عصاره برگ رشه ده ترکیب پلی فنولی، یعنی پنج اسید فنولیک (سیناپینیک، پی کوماریک، وانیلیک، گالیک و سیرینجیک)، یک اسید فلاونوئیدها (روتین) و چهار فلاونوئید (کاتچین، اپی کاتچین، گالوکاتچین و اپی گالوکاتچین) شناسایی شد که مقادیر محاسبه شده از هر ترکیب آن‌ها در جدول ۱ آورده شده است. همچنین در عصاره برگ رقم قزل اوزوم هشت ترکیب پلی فنولی، شامل سه اسید فنولیک (پی کوماریک، وانیلیک و گالیک)، یک اسید فلاونوئیدها (روتین) و چهار فلاونوئید (کاتچین، اپی کاتچین، گالوکاتچین و اپی گالوکاتچین) شناسایی شد (جدول ۱). با توجه به نتایج، در عصاره برگ انگوررقم رشه بیشترین مقدار مربوط به اسید سیناپیک (۹۵ میلی گرم در کیلوگرم) بود و کمترین مقدار مربوط به اپی کاتچین (۸ mg/kg) بود. عصاره حاصل از برگ رقم قزل اوزوم فاقد اسید سیناپیک و اسید سیرینجیک بوده و بیشترین و کمترین ترکیب فنولیک آن به ترتیب گالوکاتچین (٦٤ mg/kg) و اپی کاتچین (۹ mg/kg) بود. طبق نتایج منتشر شده توسط Schoedl و همکاران (۲۰۱۱)، برگ‌های انگور Riesling حاوی غلظت بیشتری از پلی فنول‌های مورد بررسی نسبت به برگ‌های انگور Pinot Noir بود [۲۵]. میزان ترکیبات فلاونوئیدی (کاتچین، اپی کاتچین، گالوکاتچین و اپی گالوکاتچین) به دست آمده در تحقیق حاضر با نتایج Pantelic´ و همکاران (۲۰۱۷)، که ترکیبات فنولی ۲۲ رقم انگور را مورد بررسی قرار دادند، مطابقت داشت [۱۵].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

[DOI: 10.52547/fsct.18.111.1]

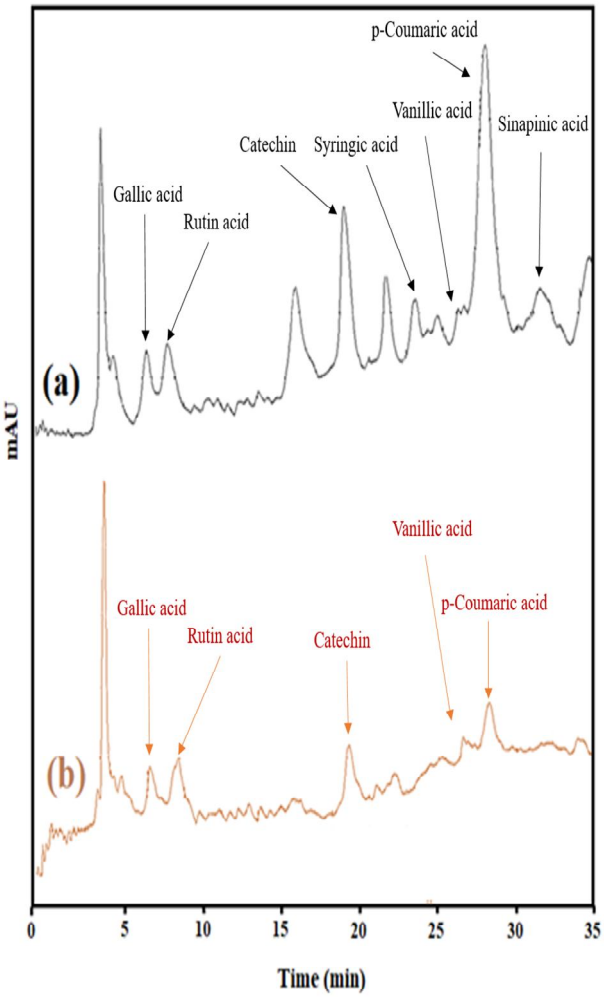

Fig 1 Chromatogram of phenolic compounds profile in leaf extract of (a) Rasha cultivar and (b) Qzel Ozum cultivar

Table 1 Values related to phenolic compounds in the studied samples

No	Phenolic compounds ($mg.kg^{-1}$ DW)	Cultivars	
		Rasha	Qzel Ozum
1	Ferolicc acid	-	-
2	Sinapinic acid	95	-
3	p-Coumaric acid	35	58
4	Vanillic acid	40	40
5	Rutin acid	25	25
6	Gallic acid	25	25
7	Syringic acid	18	-
8	Catechin	50	41
9	Epicatechin	5	9
10	Gallocatechin	32	64
11	Epigallocatechin	8	14

* DW: Dry weight

۳-۲- تعیین گروه‌های عاملی توسط FTIR

آزمون FTIR با نشان دادن لرزش‌های مولکولی (کشش، خم شدن و چرخش پیوندهای شیمیایی) یک ویژگی مشخصه از مواد شیمیایی یا بیوشیمیایی موجود در یک نمونه را فراهم می‌کند. بنابراین، می‌توان گفت که طیف FTIR نشان دهنده اثر انگشت مولکولی نمونه است [۲۶]. طیف‌های حاصل از نمونه‌های عصاره انگور ارقام رشه و قزل اوزوم در شکل ۲ نشان داده شده است. پیک‌های زیادی قابل مشاهده است که مربوط به گروه‌های عاملی و حالت‌های ارتعاش اجزای مختلف است. باند پهن در حدود $3250\ cm^{-1}$ ناشی از پیوند کششی OH است، می تواند به پلی ساکاریدها و یا لیگنین نسبت داده شود. پیک در $3000\ cm^{-1}$ مربوط به لرزش کششی پیوند C-H گروه (=CH) است. ارتعاشات کشش نامتقارن و متقارن گروه CH_2 به ترتیب در $2915\ cm^{-1}$ و $2880\ cm^{-1}$ یافت می شود. آنها به طور عمده با زنجیره‌های هیدروکربنی لیپیدها یا لیگنین در ارتباط هستند. پیک طیفی در $1745\ cm^{-1}$ و پیک در $1709\ cm^{-1}$ به جذب پیوندهای C=O گروه‌های استر نسبت داده می‌شود و مربوط به وجود اسیدهای چرب و گلیسیریدهای آنها و همچنین پکتین و لیگنین است. پیک‌ها در محدوده $1600\ cm^{-1}$ با کشش $C=OO^-$ و گروه‌های C=C ترکیبات فنولی است، که با ارتعاشات خمشی گروه های OH به عنوان ناحیه اثر انگشت از $1500\ cm^{-1}$ تا $800\ cm^{-1}$ از پیک‌های مختلف کششی، خمشی، لرزشی و چرخشش غنی است [۱۹]. این منطقه از یک سو دارای اطلاعات بسیار زیادی است، اما از سوی دیگر، به دلیل پیچیدگی‌های آن، تجزیه و تحلیل در این زمینه ضروری است. این منطقه اطلاعات مهمی در مورد ترکیبات آلی مانند اسیدهای آلی موجود در نمونه ارائه می‌دهد. کشش C-C در $1510\ cm^{-1}$ و $1433\ cm^{-1}$ مربوط به ترکیبات فنولی است. پیک در $1123\ cm^{-1}$ مربوط به کشش C-H ترکیبات معطر و پیک در $780\ cm^{-1}$ ناشی از تکان خوردن CH_2 است که هر دو در ترکیبات فنولی وجود دارد [۲۴].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

[DOI: 10.52547/fsct.18.111.1]

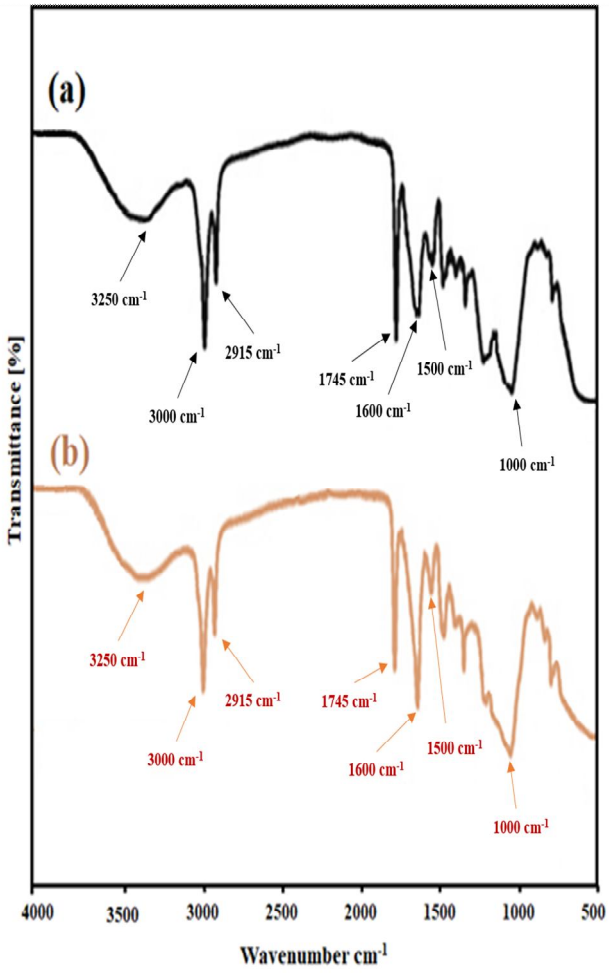

Fig 2 The FTIR spectrum of leaf extract of (a) Rasha cultivar and (b) Qzel Ozum cultivar

۳-۳- محتوای فنل کل

در میان ترکیبات ضد اکسایش طبیعی گوناگون با عملکردهای مختلف، ترکیبات فنولی به دلیل داشتن توانایی مهار رادیکال-های آزاد، اهمیت بیشتری دارند [۲۷ و ۲۸]. این ترکیبات دارای ساختار ویژه بوده و از اینرو توانایی مهار رادیکال‌های آزاد، شلاته کردن فلزات و مهار کردن گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از تنش‌ها را در سیستم‌های زیستی دارند [۲۹ و ۳۰]. غالب گیاهان مانند گیاهان دارویی اثرات ضد اکسایشی قوی دارند که این خواص ضد اکسایشی ناشی از ترکیبات فنولی است. اثرات سلامتی بخش ترکیبات فنولی برای انسان و نقش آنها در پیشگیری از برخی بیماری‌ها مانند سرطان اثبات شده است. به همین دلیل گیاهانی که مقادیر زیادی ترکیبات فنولی دارند از نظر مصرف کنندگان بسیار مورد توجه می باشند. بررسی منابع نشان می‌دهد عصاره‌های حاصل از قسمت‌های مختلف گیاه انگور از نظر ترکیبات فنولی غنی می‌باشند [۶]. نتایج نشان داد برگ‌های انگور غنی از ترکیبات فنولی است و میزان ترکیبات فنولی در عصاره برگ انگور رقم‌های رشه و قزل اوزوم به ترتیب ۵۰/۳۵±۰/۱۰ mg GAE.g^{-1} FW و ۲۳/۰۶±۰/۳۱ بود که با هم از نظر آماری اختلاف معنی دار داشتند ($p<0/05$). در تحقیقی که باقری و همکاران (۱۳۹۴) انجام داده و میزان تریکبات فنولی در آب انگور سیاه سردشت و انگور قرمز ارومیه انجام دادند، نتایج مشابه به دست آمده و میزان ترکیبات فنولی آب انگور سیاه سردشت بیشتر بود [۳۱]. Altemimi و همکاران (۲۰۱۷)، گزارش کردند میزان ترکیبات پلی فنولی در ارقام وحشی بیشتر از ارقام اهلی است و چون رقم رشه یک رقم بومی است که بطور دیم کشت می-شود در واقع نوعی رقم وحشی محسوب می‌شود [۲۴].

۳-۴- محتوای فلاونوئید کل

فلاوونوئیدها گروهی از ترکیبات فنولی هستند که دارای فعالیت ضد اکسایشی می‌باشند و میوه‌ها منابع مهم فلاوونوئیدها هستند. این ترکیبات غالباً جهت حفاظت در برابر اشعه فرابنفش در گیاه سنتز می‌شوند. همچنین محتوای فلاوونوئید کل می‌تواند تحت تاثیر تنوع گونه، شرایط آب و هوایی و جغرافیایی قرار می‌گیرد [۳۲ و ۳۳]. نتایج نشان داد میزان محتوای فلاونوئید کل در عصاره متانولی برگ انگور رقم رشه ۲۹/۷۲±۰/۰۵ mg Q.g^{-1} FW و در عصاره برگ انگور رقم قزل اوزوم ۲۰/۷۶±۰/۱۵ mg Q.g^{-1} FW بود که با هم اختلاف معنی دار داشتند ($p<0/05$). نتایج این پژوهش با نتایج باقری و همکاران (۱۳۹۴)، که میزان محتوای فلاونوئید کل را در آب انگور سیاه سردشت و انگور قرمز ارومیه بررسی کردند مشابه بود [۳۱].

۳-۵- محتوای آنتوسیانین کل

آنتوسیانین‌ها گروهی از فلاونوئیدهای محلول در آب هستند که رنگ‌های صورتی به بنفش را در برگ‌ها و سایر اندام‌ها ایجاد می‌کنند. در برخی شرایط آزمایشگاهی، می توان آنتوسیانین را در برگ‌های قلمه انگورتولید کرد [۳۴]. نتایج نشان داد میزان محتوای آنتوسیانین کل در برگ انگور رقم رشه و رقم قزل اوزوم با هم اختلاف آماری داشتند ($p<0/05$). میزان آنتوسیانین کل در برگ انگور رقم‌های رشه و قزل اوزوم به ترتیب ۱۰/۴۱±۰/۲۰ mg.g^{-1} FW و ۷/۲۸±۰/۱۵ بود. در تحقیق مشابه پنج آنتوسیانین مونوگلوکوزید در برگ‌های انگور Grenache noir شناسایی و اندازه

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

[DOI: 10.52547/fsct.18.111.1]

گیری شدند [۳۵]. باقری و همکاران (۱۳۹٤) گزارش کردند محتوای آنتوسیانین کل در آب انگور رشه بیشتر از آب انگور قزل اوزوم بود که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد [۳۱ و ۳۲].

۳-٦- محتوای کارتنوئید کل

کاروتنوئیدها گروهی از رنگدانه‌های طبیعی تتراسپنوئید هستند که به طور گسترده در قسمت‌های مختلف گیاهان شامل گل-ها، میوه‌ها و ریشه ها وجود دارند. میزان کاروتنوئیدها در گیاهان مختلف به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفتند. این ترکیبات نقش مهمی در متابولیسم و فیزیولوژی گیاه دارند و در پاسخ به شرایط تنش آبی تولید می‌شوند. کاروتنوئیدها همچنین برای سلامتی انسان از اهمیت ویژه ای برخوردار هستند زیرا دارای خواص تغذیه ای و دارویی هستند [۳٦]. بر اساس نتایج میزان محتوای کارتنوئید کل در برگ انگور رقم رشه و رقم قزل اوزوم با هم اختلاف آماری داشتند($p<۰/۰۵$) و به ترتیب $mg.g^{-1}$ FW ۱/۸۲±۰/۵۰ و ۰/۹٤±۰/٤۲ بود. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج بررسی های مشابه مطابقت داشت [۳۱ و ۳۳].

۳-۷- بررسی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط عصاره متانولی برگ‌های انگور ارقام ناشی از توانایی دادن هیدروژن و یا الکترون به رادیکال‌های آزاد DPPH می‌باشد که در نتیجه این واکنش، رادیکال‌های آزاد DPPH به ترکیب خنثی DPPH-H تبدیل می‌شود. در عصاره هر دو رقم، تغییر رنگ از بنفش (رادیکال‌های آزاد) به زرد (خنثی) مشاهده شد [۳۷]. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود مقادیر درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نمونه‌های مورد مطالعه به ترتیب برای عصاره برگ انگور رشه و عصاره متانولی برگ رقم قزل اوزوم ۰/۰٤± ۱/۸۳، ۰/۰۱ ± ۰/۸۵ به دست آمد که از نظر آماری با هم اختلاف معنی دار داشتند ($p<۰/۰۵$). میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با توجه به میزان ترکیبات فنولی عصاره متانولی حاصل از برگ ارقام رشه و قزل اوزوم کم بود که نشان دهنده‌ی این امر است که نوع ترکیب فنولی بیشتر از مقدار آن در فعالیت ضد اکسایشی نقش دارد. همچنین نتایج حاصله نشان داد همبستگی مثبت بین محتوای ترکیبات فنولی کل و فعالیت ضد اکسایشی وجود دارد. این نتایج با نتایج مطالعات مشابه از جمله Fraige و همکاران (۲۰۱٤) مطابقت دارد که این گزارش کردند فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های گیاهی می‌تواند تحت تاثیر ساختارهای متفاوت اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها وهمچنین مشتقات این ترکیبات باشد. به عنوان مثال، فعالیت آنتی اکسیدانی اسیدهای فنولیک و مشتقات آن همانند استرها، وابسته به تعداد گروه-های هیدروکسیل در مولکول است [۳٤]. همچنین گزارش شده است که درصد مهار رادیکال‌های آزاد در عصاره متانولی بیشتر از سایر حلال‌ها است [۲٤].

۳-۸- بررسی مهار رادیکال‌های آزاد OH^-

رادیکال‌های هیدروکسیل با واکنش فنتون در حضور فلزات احیا شده (مانند Fe^{2+}) و H_2O_2 تشکیل می‌شود، که از شناخته شده ترین ترکیبات واکنش پذیر فعال بوده باعث ایجاد آسیب سلولی در داخل بدن انسان می‌گردد. مهار رادیکال‌های هیدروکسیل به دلیل واکنش پذیری بسیار بالای آنها بسیار مهم است زیرا این رادیکال‌ها با طیف گسترده‌ای از مولکول‌های موجود در سلول‌های زنده مانند قندها، اسیدهای آمینه، لیپیدها و نوکلئوتیدها واکنش می‌دهند. بنابراین ، از بین بردن رادیکال-های OH برای حفاظت از سیستم های سلول‌ها و بیومولکول-های بدن بسیار مهم است [۳۷]. پتانسیل مهار رادیکال هیدروکسیل عصاره‌های متانولی برگ‌های انگور رقم رشه و قزل اوزوم در جدول ۲ نشان داده شده است. عصاره برگ انگور رقم رشه دارای درصد مهار رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل بیشتری نسبت به عصاره برگ رقم قزل اوزوم بود. بر اساس تحقیق Sowndhararajan و Kang (۲۰۱۳)، توانایی عصاره متانولی در مهار رادیکال‌های هیدروکسیل بالاتر از سایر حلال‌ها بود [۳۸].

۳-۹- بررسی میزان آسکوربیک اسید

آسکوربات، آسکوربیک اسید یا ویتامین C یک ماده مغذی ضروری است که بطور گسترده بعنوان افزودنی غذایی، عمدتاً به دلیل ویژگی‌هایی احیاء کنندگی و ضد اکسایشی آن استفاده می‌شود [۳۹]. این ویتامین دارای بسیاری از ویژگی‌های درمانی و بیولوژیکی است و ضد اکسایشی مهم محسوب می‌شود. این ویتامین باعث افزایش کلاژن می‌شود، ایجاد حفاظت در مقابل نور می‌کند، ملانین و رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد و ایمنی (اثرات ضد ویروسی) را افزایش می‌دهد. ویتامین C آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد بر روی پوست را کاهش می‌دهد، پیری را به تأخیر می‌اندازد و تشکیل ملانین را کاهش

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

[DOI: 10.52547/fsct.18.111.1]

می‌دهد [۳۹]. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، میزان آسکوربیک اسید در نمونه‌های مورد مطالعه به ترتیب برای عصاره برگ انگور رشه و عصاره متانولی برگ رقم قزل اوزوم ۲/۷۴±۷۵/۰۴، ۳/۶۱ ± ۶۸/۹۶ درصد بود که از نظر آماری با هم اختلاف معنی دار داشتند ($p<0/05$). نتایج تحقیق حاضر با نتایج گزارش شده در مطالعات پیشین مطابقت داشت [۳۱ و ۳۲].

Table 2 The results (Mean±SD, n=5) of total phenol, total flavonoids, total anthocyanins, total caretenoieds, antioxidant activities and ascorbic acid content of leaf extracts

Characteristics	Cultivars	
	Rasha	Qzel Ozum
Total phenolic compounds (mg GAE.g^{-1} FW)	50.35 ± 0.10^{a}	23.06 ± 0.31^{b}
Total flavonoids (mg Q.g^{-1} FW)	29.72 ± 0.05^{a}	20.76±0.15^{b}
Total anthocyanins (mg.g^{-1} FW)	10.41 ± 0.20^{a}	7.28 ± 0.15^{b}
Total caretenoieds (mg.g^{-1} FW)	1.82 ± 0.50^{a}	0.94 ± 0.42^{b}
DPPH FRSA (%)	1.83 ± 0.04^{a}	0.85 ± 0.01^{b}
OH^{-} FRSA (%)	25.38 ± 1.52^{a}	18.71 ± 2.05^{b}
Ascorbic acid (µg.g^{-1} FW)	75.04 ± 2.74^{a}	68.96 ± 3.61^{b}

* Different letters in each eaw indicate a significant difference ($p<0.05$).
** mg GAE.g^{-1} FW: mg of Gallic acid equivalent g^{-1} FW, mg Q.g^{-1} FW: mg of Quercetin equivalent g^{-1} FW

٤- نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر یک بررسی توصیفی از پروفایل ترکیبات فنولیک، محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، کارتنوئید کل و همچنین فعالیت ضد اکسایشی (به دو روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و OH) و میزان آسکوربیک اسید موجود در برگ‌های دو رقم متفاوت انگور پر مصرف در استان آذربایجان غربی، که با استفاده از کشت بافت تولید شده بودند، به عنوان یک محصول غذایی سنتی است. نتایج این پژوهش نشان داد عصاره متانولی برگ انگور رقم رشه از نظر تمام ویژگی‌های مورد مطالعه با اختلاف معنی داری بیشتر از عصاره متانولی انگور رقم قزل اوزوم بود. همچنین ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، کارتنوئیدها، فعالیت ضد اکسایشی و ویتامین C موجود در عصاره متانولی برگ انگور رابطه مثبت و مطلوبی باهم داشتند. این مطالعه نشان دادن که نوع واریته می تواند در میزان ترکیبات پلی فنولی و فعالیت ضد اکسایشی تاثیر گذار باشد حتی اگرتحت شرایط یکسان تولید شده باشند. سرانجام این تحقیق نشان داد برگ‌های انگور منبع خوبی از ضد اکسایش‌های طبیعی هستند و با توجه به ارزش غذایی بالا می‌توانند به عنوان مکمل در مواد غذایی و داروها استفاده شوند.

٥- منابع

[1] Eibl, R., Meier, P., Stutz, I., Schildberger, D., Hühn, T., & Eibl, D. (2018). Plant cell culture technology in the cosmetics and food industries: current state and future trends. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *102*(20), 8661-8675.

[2] Ragavendran, C., & Natarajan, D. (2017). Role of Plant Tissue Culture for Improving the Food Security in India: A Review Update. In *Sustainable Agriculture towards Food Security* (pp. 231-262). Springer, Singapore.

[3] Dias, M. I., Sousa, M. J., Alves, R. C., & Ferreira, I. C. (2016). Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: A review. *Industrial Crops and Products*, *82*, 9-22.

[4] Šuković, D., Knežević, B., Gašić, U., Sredojević, M., Ćirić, I., Todić, S., ... & Tešić, Ž. (2020). Phenolic profiles of leaves, grapes and of grapevine variety Vranac (Vitis vinifera L.) from Montenegro. *Foods*, *9*(2), 138.

[5] Zareei, E., Zaare-Nahandi, F., Oustan, S., & Hajilou, J. (2019). Effects of magnetic solutions on some biochemical properties and production of some phenolic compounds in grapevine (Vitis vinifera L.). *Scientia Horticulturae*, *253*, 217-226.

[6] Karaaslan, M., Ozden, M., Vardin, H., & Turkoglu, H. (2011). Phenolic fortification of

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

[DOI: 10.52547/fsct.18.111.1]

Serbia. *Journal of Food Composition and Analysis*, *62*, 76-83.

[16] Rezazad Bari, L., Rezazad Bari, M., Ghasemnejhad, M., & Alizadeh khaledbad, M. (2015). Effect of titanium dioxide nanoparticles on three varieties of table grapes (Bidane Sefid, Gezel Ozom and Rish Baba) shelf life and controlling postharvest decay properties. Journal of Food Research (Agricultural Science), Volume:24 Issue: 3 [In Persian].

[17] Alizadeh, M., Singh, S. K., Patel, V. B., Bhattacharya, R. C., & Yadav, B. P. (2010). *In vitro* responses of grape rootstocks to NaCl. *Biologia Plantarum*, *54*(2), 381-385.

[18] Bistgani, Z. E., Hashemi, M., DaCosta, M., Craker, L., Maggi, F., & Morshedloo, M. R. (2019). Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of Thymus vulgaris L. and Thymus daenensis Celak. *Industrial Crops and Products*, *135*, 311-320.

[19] Lucarini, M., Durazzo, A., Kiefer, J., Santini, A., Lombardi-Boccia, G., Souto, E. B., ... & Bevilacqua, N. (2020). Grape seeds: Chromatographic profile of fatty acids and phenolic compounds and qualitative analysis by FTIR-ATR spectroscopy. *Foods*, *9*(1), 10.

[20] Asadi, S., & Pirsa, S. (2020). Production of Biodegradable Film Based on Polylactic Acid, Modified with Lycopene Pigment and TiO2 and Studying Its Physicochemical Properties. *Journal of Polymers and the Environment*, *28*(2), 433-444.

[21] Kalantari, S., Roufegarinejad, L., Pirsa, S., & Gharekhani, M. (2020). Green extraction of bioactive compounds of pomegranate peel using β-Cyclodextrin and ultrasound. *Main Group Chemistry*, *19*(1), 61-80.

[22] Pirsa, S., Karimi Sani, I., Pirouzifard, M. K., & Erfani, A. (2020). Smart film based on chitosan/Melissa officinalis essences/pomegranate peel extract to detect cream cheeses spoilage. *Food Additives & Contaminants: Part A*, *37*(4), 634-648.

[23] ZADEH, M. N., PIRSA, S., AMIRI, S., & BARI, L. R. (2020). Application of the Edible Coating of Carboxy Methyl Cellulose/Pectin Composite Containing Humulus lupulus Extract on the Shelf Life of Fresh Cute Oranges at Cold Conditions. yogurt using grape and callus extracts. *LWT-Food Science and Technology*, *44*(4), 1065-1072.

[7] Durazzo, A., & Lucarini, M. (2019). The State of Science and Innovation of Bioactive Research and Applications, Health and Diseases. *Frontiers in Nutrition*, *6*, 178.

[8] Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A. A., ... & Santini, A. (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*, *33*(9), 2221-2243.

[9] Burcova, Z., Kreps, F., Schmidt, S., Strizincova, P., Jablonsky, M., Kyselka, J., ... & Surina, I. (2019). Antioxidant Activity and the Tocopherol and Phenol Contents of Grape Residues. *BioResources*, *14*(2), 4146-4156.

[10] Ferhi, S., Santaniello, S., Zerizer, S., Cruciani, S., Fadda, A., Sanna, D., ... & D'hallewin, G. (2019). Total phenols from grape leaves counteract cell proliferation and modulate apoptosis-related gene expression in MCF-7 and HepG2 human cancer cell lines. *Molecules*, *24*(3), 612.

[11] Durante, M., Montefusco, A., Marrese, P. P., Soccio, M., Pastore, D., Piro, G., ... & Lenucci, M. S. (2017). Seeds of pomegranate, tomato and grapes: An underestimated source of natural bioactive molecules and antioxidants from agri-food by-products. *Journal of Food Composition and Analysis*, *63*, 65-72.

[12] Ismail, E. H., Khalil, M. M., Al Seif, F. A., El-Magdoub, F., Bent, A. N., Rahman, A., & Al, U. S. D. (2014). Biosynthesis of gold nanoparticles using extract of grape (Vitis vinifera) leaves and seeds. *Prog Nanotechnol Nanomater*, *3*, 1-12.

[13] Xu, C., Zhang, Y., Wang, J., & Lu, J. (2010). Extraction, distribution and characterisation of phenolic compounds and oil in grapeseeds. *Food Chemistry*, *122*(3), 688-694.

[14] Secer, O. M., Guneser, B. A., & Guneser, O. (2020). Prediction of shelf-life and kinetics of quality changes in canned stuffed grape leaves. *LWT*, 109850.

[15] Pantelić, M. M., Zagorac, D. Č. D., Ćirić, I. Ž., Pergal, M. V., Relić, D. J., Todić, S. R., & Natić, M. M. (2017). Phenolic profiles, antioxidant activity and minerals in leaves of different grapevine varieties grown in

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

[DOI: 10.52547/fsct.18.111.1]

Iraninan Journal of Biosystem engeeniering, 51, 471-484. [In Persian].

[24] Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, *6*(4), 42.

[25] Schoedl, K., Forneck, A., Sulyok, M., & Schuhmacher, R. (2011). Optimization, in-house validation, and application of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS)-based method for the quantification of selected polyphenolic compounds in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(20), 10787-10794.

[26] Mahesar, S. A., Lucarini, M., Durazzo, A., Santini, A., Lampe, A. I., & Kiefer, J. (2019). Application of Infrared Spectroscopy for Functional Compounds Evaluation in Olive Oil: A Current Snapshot. *Journal of Spectroscopy*, *2019*.

[27] Mohammadkhani, N. (2018). EFFECTS OF SALINITY ON PHENOLIC COMPOUNDS IN TOLERANT AND SENSITIVE GRAPES. *Poljoprivreda i Sumarstvo*, *64*(2), 73-86.

[28] Jogaiah, S., Ramteke, S. D., Sharma, J., & Upadhyay, A. K. (2014). Moisture and salinity stress induced changes in biochemical constituents and water relations of different grape rootstock cultivars. *International Journal of Agronomy*, *2014*.

[29] Sharma, A., Shahzad, B., Rehman, A., Bhardwaj, R., Landi, M., & Zheng, B. (2019). Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. *Molecules*, *24*(13), 2452.

[30] Rizk, M. Z., Borai, I. H., Ezz, M. K., El-Sherbiny, M., Aly, H. F., Matloub, A., & Fouad, G. I. (2018). Possible therapeutic role of grape (*Vitis vinifera*) leaves polyphenolic extract in the regression of aluminium-induced Alzheimer's disease in rats. *Journal of Materials and Environmental Science, 9*(7), 2098-2108.

[31] Bagheri, N., Heidari, R., Amiri, S. & Bagheri, N. (2015). Quantitative and qualitative comparison of red grape juice of Urmia and black grape juice of Sardasht. 4th National Conference on Agriculture and Sustainable Natural Resources, Tehran, Iran [In Persian].

[32] Bagheri, N., Heidari, R., Ilkhanipour, M. & Amiri, S. (2015). Comparison of biochemical and antioxidant properties of Urmia red grape juice and Sardasht black grape juice. 4th National Conference on Agriculture and Sustainable Natural Resources, Tehran, Iran [In Persian].

[33] Baneh, H. D., Attari, H., Hassani, A., & Abdollahi, R. (2013). Salinity effects on the physiological parameters and oxidative enzymatic activities of four Iranian grapevines (*Vitis vinifera* L.) cultivar. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences (IJACS)*, *5*(9), 1022-1027.

[34] Fraige, K., Pereira-Filho, E. R., & Carrilho, E. (2014). Fingerprinting of anthocyanins from grapes produced in Brazil using HPLC–DAD–MS and exploratory analysis by principal component analysis. *Food Chemistry*, *145*, 395-403.

[35] Nabli, R., Achour, S., Jourdes, M., Teissedre, P. L., Helal, A. N., & Ezzili, B. (2012). Anthocyanin composition and extraction from Grenache noir (Vitis vinifera L.) vine leaf using an experimental design. I-By ethanol or sulfur dioxide. *OENO One*, *46*(4), 295-304.

[36] Mibei, E. K., Ambuko, J., Giovannoni, J. J., Onyango, A. N., & Owino, W. O. (2017). Carotenoid profiling of the leaves of selected African eggplant accessions subjected to drought stress. *Food Science & Nutrition*, *5*(1), 113-122.

[37] Pavithra, K., & Vadivukkarasi, S. (2015). Evaluation of free radical scavenging activity of various extracts of leaves from Kedrostis foetidissima (Jacq.) Cogn. *Food Science and Human Wellness*, *4*(1), 42-46.

[38] Sowndhararajan, K., & Kang, S. C. (2013). Free radical scavenging activity from different extracts of leaves of Bauhinia vahlii Wight & Arn. *Saudi journal of biological sciences*, *20*(4), 319-325.

[39] Wechtersbach, L., Ulrih, N. P., & Cigić, B. (2012). Liposomal stabilization of ascorbic acid in model systems and in food matrices. *LWT-food science and technology*, *45*(1), 43-49.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

[DOI: 10.52547/fsct.18.111.1]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Comparison of phenolic compounds and antioxidant activity of two grapvine root cultivars Rasha and Qzel Ozum

Rezazad Bari, L. [1], Ghanbari, A.[2*], Darvishzadeh, R. [3], Torabi Giglou, M. [4], Doulati Baneh, H. [5]

1. PhD Student of Physiology and Breeding of Fruit Trees, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Mohaghegh Ardebili University, Ardabil, Iran.
2. Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Mohaghegh Ardabil University, Ardabil, Iran.
3. Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran.
4. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Mohaghegh Ardebili University, Ardabil, Iran.
5. Associate Professor, Agricultural Jihad Research and Training Center, West Azarbaijan Province, Urmia, Iran.

ARTICIE INFO

Article History:

Received 15 July 2020
Accepted 4 October 2020

Keywords:

Tissue culture,
Plant secondary metabolites,
Natural additive,
Grapvine

DOI: 10.52547/fsct.18.02.01

*Corresponding Author E-Mail: ghanbari66@uma.ac.ir

ABSTRACT

Nowadays, the use of tissue culture technique in the production of plant secondary metabolites, such as phenolic compounds, as a natural food additive has become very widespread in the food industry. The aim of this study was to investigate and compare the content of phenolic compounds and antioxidant activity of grapevine Rasha and Qzel Ozum cultivars that were produced by tissue culture under *in vitro* condition. For this purpose, the terminal buds of grape cultivars were cultured in Murashige - Skoog Medium to produce complete seedlings. Then the methanolic extract was prepared from healthy grapevine leaves and to perform polyphenol composition tests using high performance liquid chromatography with ultraviolet detector, functional groups using Fourier-transform infrared spectroscopy, total phenol content, total flavonoids, total anthocyanins, total carotenoids, acid content, ascorbic acid, free radical scavenging 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), and hydroxyl (OH^-). The results showed that the amount of total phenolic compounds, total flavonoids, total anthocyanin and total carotenoids of methanolic extracts of Rasha cultivar were 50.35±0.10, 29.72±0.05, 10.41±0.20, and 1.82±0.50 mg/g, respectively, and in Qzel Ozum cultivar were 23.06±0.31, 20.76±0.15, 7.28±0.15, and 94.94±0.42 mg/g, respectively. Ascorbic acid, DPPH and OH^- free radicals scavenging activity in methanolic extracts of Rasha leaves were 1.83±0.04, 25.38±1.52, and 75.04±2.74 %, respectively, and in Qzel Ozum leaves were 0.85±0.01, 18.71±2.05 and 68.96±3.61 %, respectively. As a general result, the results showed that the grape leaves of the Rasha cultivar were more than the grapevine leaves of Qzel Ozum cultivar in terms of all studied characteristics ($p<0.05$). This study also showed that grape leaves are rich in phenolic compounds and natural antioxidants and have the potential to be used in the food and pharmaceutical industries.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-18]

[DOI: 10.52547/fsct.18.111.1]