بررسی ویژگی‌های فیتوشیمیایی میوه سه ژنوتیپ از گیاه *Ficus carica* L. شهرستان خوی

سکینه مرادخانی[1*]

استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، مرکز خوی، خوی، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۹/۶/۲۲

چکیده

میوه انجیر (*Ficus carica* L.) حاوی مقادیر فراوانی از ترکیبات فنولی، فلاونوییدی و آنتوسیانین‌ها می‌باشد که مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند. در این پژوهش میوه سه ژنوتیپ انجیر از سه منطقه: قرخ‌یاشار، بدل‌آباد و پیرموسی واقع در شهرستان خوی، (آذربایجان‌غربی) در شهریورماه ۱۳۹۸ برداشت و صفات بیوشیمیایی آنها مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH، میزان فنل کل، آنتوسیانین کل با استفاده از اسپکتوفتومتری و تعیین مقدار میزان قندهای محلول و پلی‌فنل‌ها با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی‌مایع (HPLC) انجام شد. میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی در میوه‌ها از ۳۶/۹۳ تا ٤٥/٦٧ درصد متغیر بود. بیشترین میزان فنل کل ٤۱۸/٥۹ میلی‌گرم در صد گرم وزن تر گالیک‌اسید بود که در ژنوتیپ دوم مشاهده گردید. بیشترین میزان آنتوسیانین ۱/۲۱۹ میلی‌گرم در صد گرم وزن تر بود که در ژنوتیپ اول مشاهده شد. طبق نتایج حاصل از آنالیز قندهای محلول هرسه قند فروکتوز، ساکارز وگلوکز در هر سه ژنوتیپ مشاهده شد. همچنین در این پژوهش ۹ ترکیب پلی فنلی از میوه‌ی انجیر استخراج شد که به‌ترتیب: شامل گالیک‌اسید، کافئیک‌اسید، کلروژنیک‌اسید، روتین، کوماریک، رزماریک‌اسید، کوئرسیتین، سینامیک اسید، آپاژنین می‌باشد و ترکیب کلروژنیک‌اسید با میانگین ۳۰/۸۸ میکروگرم بر گرم به عنوان پلی فنل غالب شناسایی گردید. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، ژنوتیپ‌های مختلف انجیر حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها و پلی‌فنل‌های طبیعی می‌باشد که در بین آنها ژنوتیپ اول که مربوط به روستای قرخ‌یاشار می‌باشد حاوی سطوح بالاتری از آنتی‌اکسیدان و پلی‌فنل‌ها می‌باشد که می‌توان این ژنوتیپ را برای برنامه‌های اصلاحی آینده پیشنهاد نمود، همچنین می‌توان از آن در صنایع غذایی و داروسازی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، آنتی‌اکسیدان، آذربایجان غربی، انجیر، پلی‌فنل، قندهای محلول

*نویسنده مسئول: s.moradkhani@pnu.ac.ir

مقدمه

انجیر با نام علمی *Ficus carica* L. از زیر جنس اوسیس Eusyce و تیره توت سانان Moraceae می‌باشد. در این تیره بیش از ۱۴۰۰ گونه در ۴۰ جنس طبقه‌بندی شده‌اند (Lazreg et al., 2011). درخت انجیر بومی ایران، آسیای صغیر و سوریه است و به‌صورت وحشی یا خودرو دراغلب کشورهای حوزه ی دریای مدیترانه می‌روید. در سراسر جهان میوه‌ی انجیر برای مصارف خشک و تازه خوری اهمیت دارد، اخیرا ارزش دارویی این گیاه را بررسی می‌کنند و این گیاه جزء یکی از گیاهان داروئی پرمصرف بوده که مطالعات گسترده‌ای در خصوص آن انجام شده است. انجیر خشک در میان میوه‌ها و نوشیدنی‌های معمولی از نظر پلی فنول ها یکی از بالاترین رتبه‌ها را دارد (Flaishman et al., 2008). میوه ی انجیر حاوی فیبرها و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، بخصوص (اسیدهای فنولیک ، فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها) می‌باشد (Arvaniti et al., 2019). هچنین به دلیل برخورداری از خواص تغذیه‌ای بالا برای سلامتی مفید می‌باشد. (Gaaliche et al., 2012). وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فنولی در میوه انجیر تایید شده است (Mopuri et al., 2018). در مطالعات پیشین، فلاوون‌ها، کاتشین، فلاوونون‌ها، آنتوسیانین (سیانیدین)، اسید کلروژنیک، اسید گالیک و اسید سیرینجیک به عنوان پلی فنول‌های اصلی انجیر شناسایی شده‌اند (Tsalokostas, 2009). آنتوسیانین‌ها از رنگیزه‌های فلاونوئیدی محسوب می‌شوند که مسئول رنگ‌های قرمز تا بنفش و آبی در گل‌ها و میوه‌ها هستند (Buchert et al., 2005). کمی و همکاران گزارش کردند که آنتوسیانین‌ها بیشتر از سایر فلاونوئیدها، جهت مهار رشد سلول‌های توموری موثرند (Kamei et al., 1995). مطالعات امروزی نیز حاکی از این است که میوه انجیر از نظر قند غنی است. درپژوهشی محصول اولیه و ثانویه‌ی ترکیبات قند و اسیدهای آلی انجیر شناسایی شد که بر اساس نتایج آن‌ها مقدار قابل توجهی از قندهای اصلی در همه‌ی ژنوتیپ‌های انجیر در هر دو محصول بهاره و تابستانه مشاهده شد. محصولات تابستانه میزان گلوکز و فروکتوز بیشتری دارد، ولی ساکارز، مالتوز و غلظت کل اسید بسیار کم دارند (Melgarejo, 2003). در مطالعه‌ی دیگری خواص آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی ژنوتیپ‌های انجیرهای با رنگ‌های متفاوت (انجیر بنفش، سیاه، قهوه‌ای، سبز و زرد) برداشت شده از مناطق مدیترانه‌ای شرق ترکیه را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، آنتوسیانین کل و فنول کل انجیر سیاه بیشتر از انواع انجیر سبز و زرد بود و همبستگی معنی‌داری بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، آنتوسیانین میوه‌ها و محتوی پلی فنلی نشان داده شد (Caliskan, 2011).

انجیر یکی از درختانی است که در شرایط اقلیمی گرم نواحی مرکزی تا جنوبی کشور رویش دارد و باتوجه به حساسیت این گیاه در برابر سرما و یخبندان، کشت این گیاه در نواحی سردسیر کمتر مورد توجه بوده است و در سطح وسیع کشت نشده و به‌صورت تک درختانی درباغات و حیاط منازل وجود دارد. شهرستان خوی نیز دارای اقلیم سرد و کوهستانی می‌باشد. از آنجایی که شرایط آب و هوایی نیز بر خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی تاثیر دارد و ممکن است کشت در این شرایط آب و هوایی بر این گیاهان تاثیراتی گذارد و با توجه به این‌که تاکنون مطالعه‌ی وسیعی بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و استخراج پلی فنلی و قندهای محلول انجیرهای شهرستان خوی صورت نگرفته است لذا انجام این کار ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این مطالعه بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و اندازه‌گیری

پلی‌فنل‌ها و قندهای میوه انجیرقرمز با روش اسپکتوفتومتری و کروماتوگرافی مایع می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر ۳ ژنوتیپ انجیر قرمز از سه روستای قرخ‌یاشار، بدل آباد و پیرموسی، واقع در شهرستان خوی، استان آذربایجان غربی جمع‌آوری گردید. محل جمع‌آوری ژنوتیپ‌ها، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی در جدول (۱) آورده شده است. میوه‌ها در اواخر شهریور ماه ۱۳۹۸ برداشت شدند و در زمان برداشت کاملا رسیده بودند. سپس به آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور مرکز خوی انتقال یافتند و آنتی‌اکسیدان کل، فنل کل و آنتوسیانین کل میوه‌ها اندازه‌گیری شد، برای اندازه‌گیری قندهای محلول و پلی فنل‌ها که نیاز به دستگاه HPLC بود، نمونه‌ها به جهاد دانشگاهی مرکز ارومیه جهت اندازه‌گیری قندهای محلول و پلی فنل‌ها فرستاده شد.

جدول ۱: موقعیت جغرافیایی ژنوتیپ‌های مورد بررسی انجیر در استان آذربایجان غربی

شماره	ژنوتیپ	محل جمع آوری	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)
۱	G1	قرخ‌یاشار	38° 618 905	44° 893 204	1259
۲	G2	بدل آباد	38° 565 777	44° 935 345	1178
۳	G3	پیرموسی	38° 581862	44° 883 635	1190

عصاره‌گیری آنتی‌اکسیدان کل، فنل کل و آنتوسیانین کل: استخراج عصاره‌ها برای اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان کل، فنل کل و آنتوسیانین کل به این صورت انجام شد که میوه‌ها به صورت کامل در یک دستگاه میکسر، میکس شده و یک گرم از نمونه‌ی میکس شده با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصد مخلوط شد سپس به مدت یک دقیقه توسط دستگاه ورتکس(مخلوط کن)، مخلوط گردید. بعد از آن نمونه‌ها را به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار دادیم و دوباره به مدت یک دقیقه نمونه‌ها را توسط دستگاه ورتکس مخلوط کردیم و سپس در داخل دستگاه سانتریفیوژ قرار دادیم و نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و از قسمت بالایی نمونه‌ها که شناور بودند استفاده گردید (Hassanpour and Alizadeh, 2016).

ارزیابی فعالیت پاداکسایشی عصاره‌ها به روش DPPH: برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ۵۰ میکرولیتر از عصاره آماده شده با ۱۰۰۰ میکرولیتر DPPH مخلوط شد و این مخلوط به شدت تکان داده شد. سپس همه نمونه‌ها در دمای اتاق و تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری و جذب آنها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (pharmacia LKB. Novaspec II) اندازه گیری شد. درصد بازدارندگیDPPH طبق معادله (۱) محاسبه گردید (Nakajima et al., 2004)

$$\text{درصد مهار} = (B_0 - B_1/B_0) \times 100 \quad (۱)$$

B_0 = جذب محلول کنترل

B_1 = جذب نمونه

روش اندازه‌گیری فنل کل: میزان فنل کل با استفاده از فولین سیو کالتو[1] محاسبه شد. ۳۰ میکرولیتر از عصاره در داخل لوله آزمایش ریخته سپس به‌ترتیب ٦۰۰ میکرو لیتر معرف فولین سیوکالتو ۱۰ درصد و ۹۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه گردید و بعد از ٦ دقیقه به میزان ٤۸۰ میکرولیتر سدیم کربنات به هر لوله اضافه کردیم و به حجم ۱۲۰۰ میکرولیتر رساندیم (Du et al., 2009) بعد به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی قرار دادیم و جذب هر نمونه را در طول موج ۷٦۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (pharmacia LKB. Novaspec II) قرائت کردیم. میزان فنل کل هر نمونه با رسم نمودار استاندارد برحسب معادل گالیک اسید (GAE) بیان شد و از معادله‌ی (۲) محاسبه گردید.

$$Y = 0.0012X - 0.00035 \quad (۲)$$

Y = مقدار جذب نمونه

روش اندازه‌گیری آنتوسیانین کل: برای اندازه‌گیری آنتوسیانین کل، از روش اختلاف جذب در pH های مختلف (pH=4.5 و pH=1) استفاده شد. آنتوسیانین کل در دو طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید. در ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر را با بافر یک کالیبره کردیم، سپس ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره را با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر یک در لوله‌ی آزمایش ریخته و مخلوط کردیم و در هر دو طول موج قرائت کردیم، پس از این مرحله دوباره دستگاه را با بافر دو کالیبره کردیم و ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها را با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر دو مخلوط کردیم و در هر دو طول موج قرائت کردیم (Hassanzadeh and Hassanpour, 2018).

بافر یک pH=1: حاوی (کلراید پتاسیم ۰/۲ مولار و اسید کلریدریک ۰/۲ مولار)

بافر دو pH=4.5: حاوی (استیک اسید ۰/۲ مولار و استات سدیم ۰/۲ مولار)

میزان آنتوسیانین کل طبق فرمول‌های زیر محاسبه شد:

$$(A) = (A520\ pH1 - A700\ pH1) - (A520\ pH4.5 - A700\ pH4.5) \quad (۳)$$

جذب

آنتوسیانین کل

$$(mg/L) = (A/26900^{a})(10^{3})(449/2^{b})(15^{c}) \quad (٤)$$

ضریب تبدیل = 10^{3}

ضریب خاموشی سیانیدین-۳- گلوکوزاید a =

وزن مولکولی سیانیدین-۳- گلوکوزاید = b

درجه رقیق‌سازی = c

نتایج به صورت میلی‌گرم سیانیدین-۳- گلوکوزاید در هر صد گرم وزن تر گزارش شد.

عصاره‌گیری پلی فنل: به منظور آماده‌سازی نمونه دو گرم از نمونه را برداشته و به آن ٤ میلی‌لیتر محلول متانولی حاوی یک درصد اسید استیک اضافه شد سپس به مدت ۱۰ دقیقه تحت امواج ماورا صوت قرار گرفت. درنهایت نمونه سانتریفیوژ شده و جهت آزمون ۲۰ میکرولیتر از آن به دستگاه کروماتوگرافی مایع تزریق شد.

جداسازی پلی‌فنل‌ها: جداسازی، شناسایی و تعیین مقدار کمی اسیدهای فنلی مورد مطالعه در این پژوهش با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مدل سری ۱۱۰۰ ساخت کمپانی Agilent آمریکا، مجهز به یک لوپ تزریق به حجم ۲۰ میکرولیتر، پمپ گرادیان چهار حلالی، سیستم گاز زدا، آون ستون (تنظیم شده در ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و آشکارساز آرایه دیودی، که در طول موج‌های ۲۵۰، ۲۷۲ و ۳۱۰ نانومتر تنظیم شده، صورت گرفت. جداسازی برروی ستون اکتادسیل‌سیلان (به طول ۲۵ سانتی‌متر، قطر داخلی ٤/٦ میلی‌متر و اندازه‌ی ذرات ۵

1. Folin-Ciocalteu

میکرومتر (ZORBAX Eclipse XDB) ساخت کمپانی Dr. Mainsch آلمان انجام شد. از نرم افزار Chemstation جهت پردازش داده‌ها استفاده شد. به منظور جداسازی بهتر ترکیبات از برنامه شویش استفاده شد که برای این منظور ابتدا فاز متحرک با نسبت ۱۰ درصد استونیتریل و ۹۰ درصد محلول یک درصد استیک اسید با فلوی یک میلی‌لیتر بر دقیقه شروع و در طی ۵ دقیقه به نسبت ۲۵ درصد استونیتریل و ۷۵ درصد محلول یک درصد استیک اسید با فلوی یک میلی‌لیتر بر دقیقه رسید، سپس در طی ۱۰ دقیقه به نسبت ٦٥ درصد استونیتریل و ۳۵ درصد محلول یک درصد استیک اسید با فلوی یک میلی‌لیتر بر دقیقه رسید. زمان جداسازی ۱۵ دقیقه بود (Seal, 2016).

عصاره‌گیری قندهای محلول: دو گرم از نمونه را برداشته و بعد از افزودن ٤ میلی‌لیتر آب دیونایز استخراج تحت امواج التراسونیک به‌مدت ۲۰ دقیقه تحت دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت.

جداسازی قندهای محلول: جداسازی، شناسایی و تعیین مقدار قندهای با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مدل سری ۱۱۰۰ ساخت کمپانی Agilent آمریکا، مجهز به یک لوپ تزریق به حجم ۲۰ میکرولیتر، پمپ گرادیان چهار حلالی، سیستم گاز زدا، آون ستون (تنظیم شده در ۲۵°C) و آشکارساز ضریب شکست صورت گرفت. جداسازی برروی ستون آمینو (به طول ۲۵ سانتی‌متر، قطر داخلی ٤/٦ میلی‌متر و اندازه‌ی ذرات ۵ میکرومتر) انجام شد. از نرم افزار Chemstation جهت پردازش داده‌ها استفاده شد. به منظور جداسازی ترکیبات از فاز متحرک با نسبت ۱۵ درصد آب و ۸۵ درصد استونیتریل با فلوی دو میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد. دمای ستون ۳۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. زمان جداسازی ۲۰ دقیقه بود.

آنالیز آماری: این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. تجزیه واریانس و مقایسه‌ی میانگین بین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۱٪ انجام شد. داده‌های حاصل با کمک نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ تجزیه شدند.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲ و ۳) نشان داد که تمامی صفات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و آنتوسیانین کل، قندهای محلول و پلی‌فنل‌ها در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار می‌باشند.

جدول ۲: تجزیه واریانس خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و قندهای محلول

	میانگین مربعات						
منابع تغییر	درجه آزادی	آنتی‌اکسیدان کل (DPPH)	فنل کل	آنتوسیانین کل	گلوکز	فروکتوز	ساکارز
تیمار	۲	۵۷/۲۰**	۲۸۷۱/٦٥**	۰/۰۳٦**	۰/۰٦۹**	۷/۱۳**	۱٤/٤٥**
خطا	٦	٦/۱٤	۲۰/۰٤	۰/۰۰٤	۰/۰۰۱۵	۰/۰۱٦	۰/۰٤۹
ضریب تغییرات	-	٦/۰۰	۱/۱٦	۵/۷٦	۱۷/۰٦	٤/٦۲	۱۲/۰۹

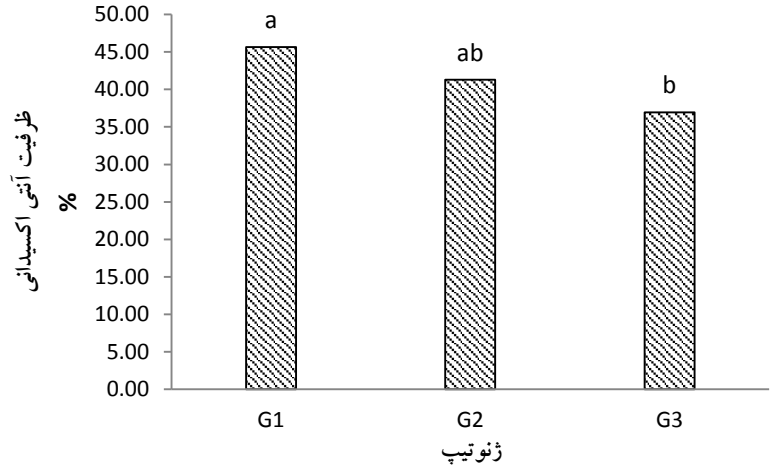
**معنی داری در سطح ۱٪

جدول ۳: تجزیه واریانس ترکیبات فنلی

		میانگین مربعات								
منابع تغییر	درجه آزادی	گالیک اسید	کافئیک اسید	کلروژنیک اسید	روتین	کوماریک	رزماریک اسید	کوئرسیتین	سینامیک اسید	آپاژنین
تیمار	۲	۱۵۵/۱٤**	۳٦/۰۸**	۳۲۷٤/۸۱**	٦/۱۲**	۳۵۳/٦۱**	۱/۰۷ **	٦۸/۳٤**	۰/۲۲۳**	٤/۲۵ **
خطا	٦	۰/٤٤	۰/۱۱۵	۲/۲۳	۰/۰۷۱	۰/۱۱۲	۰/۰۲۵	۰/۱۱۱	۰/۰۰۱۲	۰/۰۰۱۵
ضریب‌تغییرات	–	۷/۵۵	۱۱/۵۹	٤/۸٤	۲۵/۸٤	۳/۳۵	۲۷/۵٤	۱۱/٤۲	۱٦/۰۷	٤/۱۱

**معنی‌داری در سطح ۱٪

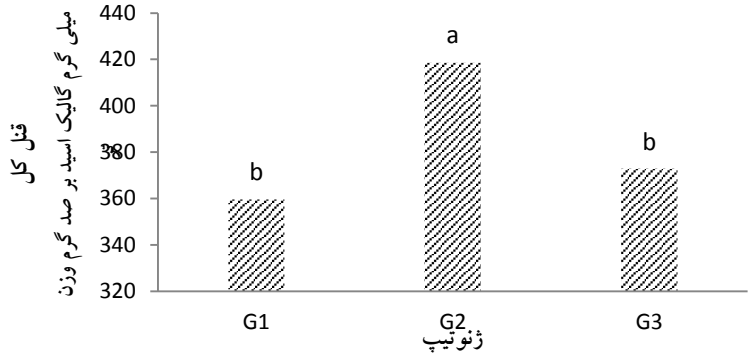
ارزیابی فعالیت پاداکسایشی عصاره‌ها به روش DPPH: با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۱)، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH، در ژنوتیپ اول، دوم و سوم به ترتیب ۳٦/۹۳، ٤۱/۳۰ و ٤۵/٦۷ درصد بود و ژنوتیپ اول فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به ژنوتیپ دوم و سوم داشت.



شکل ۱: بررسی فعالیت پاد اکسایشی میوه سه ژنوتیپ انجیر به روش مهار رادیکال DPPH (درصد) (میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترکند از نظر آماری در سطح ۱ درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.)

فنل کل و پلی فنل: طبق نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۲)، میزان فنل کل در ژنوتیپ اول، ژنوتیپ دوم و ژنوتیپ سوم به ترتیب به میزان ۳۵۹/٦۲ ، ٤۱۸/۵۹ و ۳۷۲/۸٦ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر معادل اسید گالیک مشاهده شد و ژنوتیپ دوم نسبت به ژنوتیپ اول و ژنوتیپ سوم محتوای فنلی بالاتری داشت. همچنین در این پژوهش ۹ نوع ترکیب پلی‌فنلی در میوه انجیر شناسایی شد که شامل گالیک اسید، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، روتین، کوماریک، رزماریک اسید، کوئرسیتین، سینامیک اسید، آپاژنین می‌باشد که مقدار آنها در جدول (٤) آورده شده است. کمترین و بیشترین میزان گالیک اسید بین ۲/٤۷ و ۱٦/٦۳، کافئیک اسید ۰/۷۷ و ٦/۹۳، کلروژنیک اسید٤/۱۰ و ٦۷/۸۰، روتین ۰/۰۰۱ و ۲/٦۷، کوماریک ۰/۱۵ و ۲۱/٦۳، رزماریک اسید ۰/۰۰٤ و ۱/۱۹، کوئرسیتین ۰/۱۲ و ۸/٤۳، سینامیک

اسید ۰/۰۲ و ۰/۵۳ و آپاژنین ۰/۲۳ و ۲/۳۳ میکروگرم بر گرم بدست آمد. ترکیب کلروژنیک اسید با میانگین ۳۰/۸۸ میکروگرم بر گرم بـه عنـوان پلـی فنـل غالـب شناسایی شد. بیشترین میـزان کافئیـک اسـید، روتـین، کوماریک، کوئرسـیتین، سـینامیک اسـید و آپـاژنین در ژنوتیپ اول مشاهده شد.

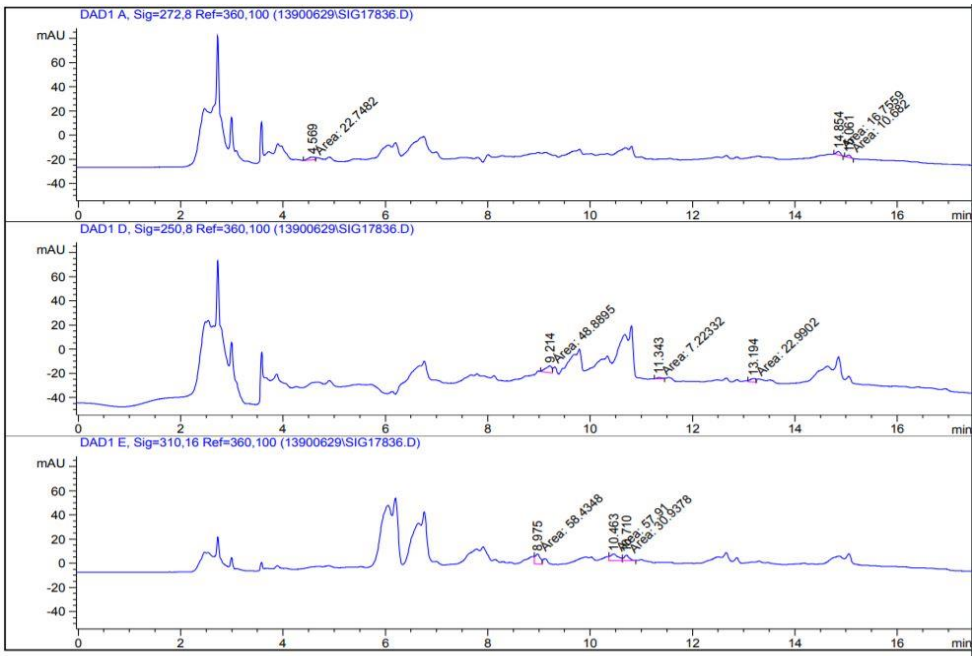


شکل ۲: بررسی محتوای فنل کل (میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترکند از نظر آماری در سطح ۱ درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی داری ندارند)

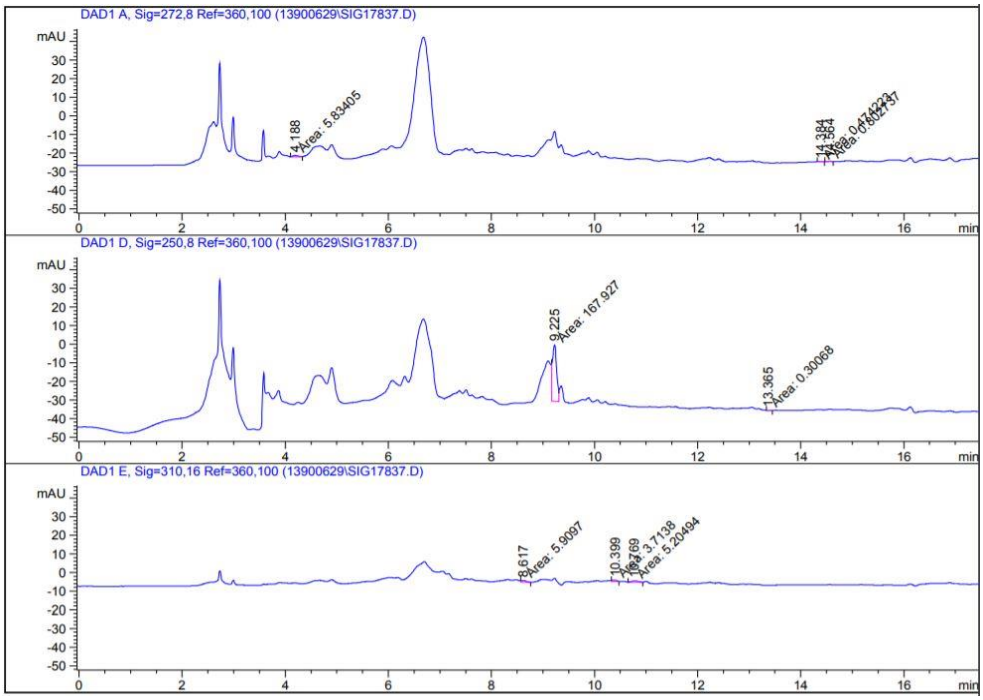
جدول ٤: پلی فنل‌های شناسایی شده میوه‌ی انجیر (میکروگرم بر گرم)

ژنوتیپ‌ها	گالیک اسید	کافئیک اسید	کلروژنیک اسید	روتین	کوماریک	رزماریک اسید	کوئرسیتین	سینامیک اسید	آپاژنین
ژنوتیپ ۱	^{b}۷/٤۰	^{a}٦/۹۳	^{b}۲۰/۷۳	^{a}۲/٦۷	^{a}۲۱/٦۳	^{b}۰/۵۳	^{a}۸/٤۳	^{a}۰/۵۳	^{a}۲/۳۳
ژنوتیپ ۲	^{c}۲/٤۷	^{b}۰/۷۷	^{a}٦۷/۸۰	^{b}۰/۰۰۱	^{c}۰/۱۵	^{c}۰/۰۰٤	^{b}۰/۱۲	^{b}۰/۰۲	^{b}۰/۲۳
ژنوتیپ ۳	^{a}۱٦/٦۳	^{b}۱/۱۰	^{c}٤/۱۰	^{b}۰/٤٤	^{b}۸/۱٦	^{a}۱/۱۹	^{b}۰/۲۱	^{b}۰/۱۲	^{b}۰/۳۱

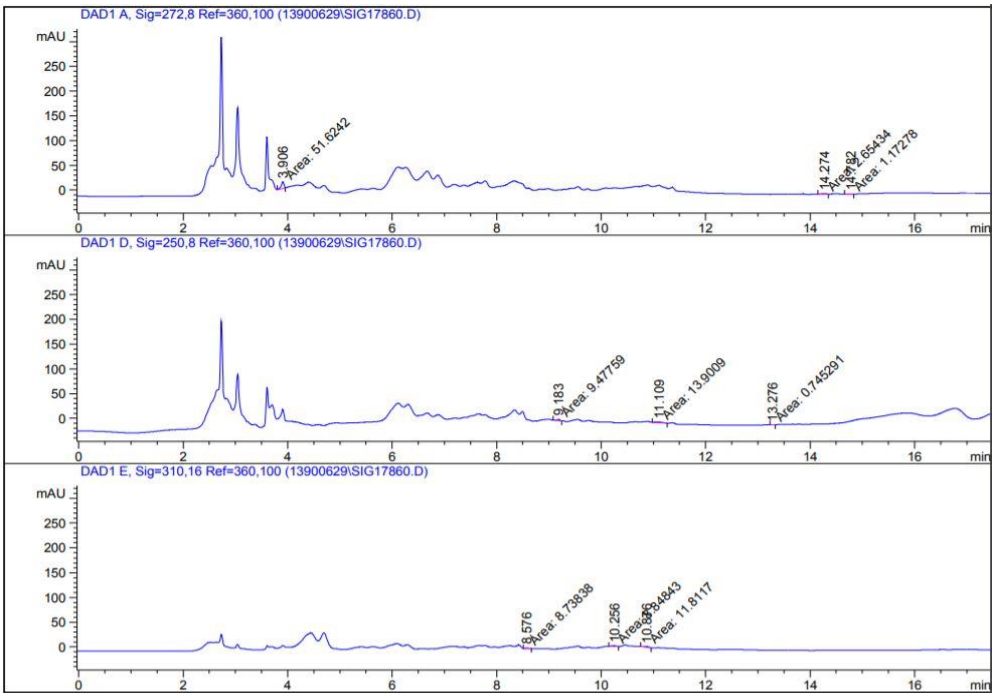
در هر ستون میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترکند از نظر آماری در سطح ۱ درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی داری ندارند.



شکل ۳: نمودار HPLC پروفیل ترکیبات فنلی میوه انجیر ژنوتیپ اول

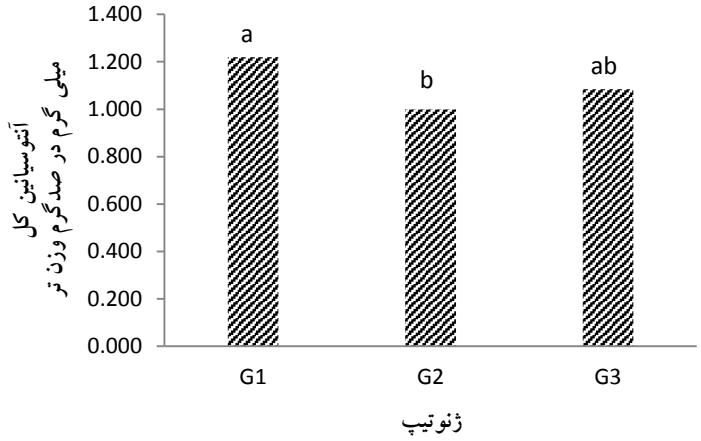


شکل ٤: نمودار HPLC پروفیل ترکیبات فنلی میوه انجیر ژنوتیپ دوم



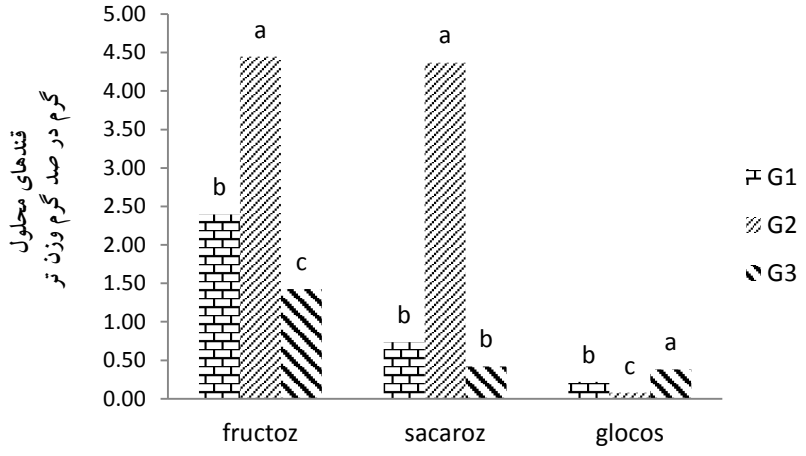
شکل ٥: نمودار HPLC پروفیل ترکیبات فنلی میوه انجیر ژنوتیپ سوم

آنتوسیانین کل: با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ٦)، میزان آنتوسیانین کل در ژنوتیپ اول، ژنوتیپ دوم و ژنوتیپ سوم به‌ترتیب به میزان ۱/۲۱۹، ۰/۹۹۹ و ۱/۰۸۵ میلی‌گرم در صد گرم وزن تر مشاهده شد و ژنوتیپ اول میزان آنتوسیانین بالاتری نسبت به دو ژنوتیپ دیگر داشت.

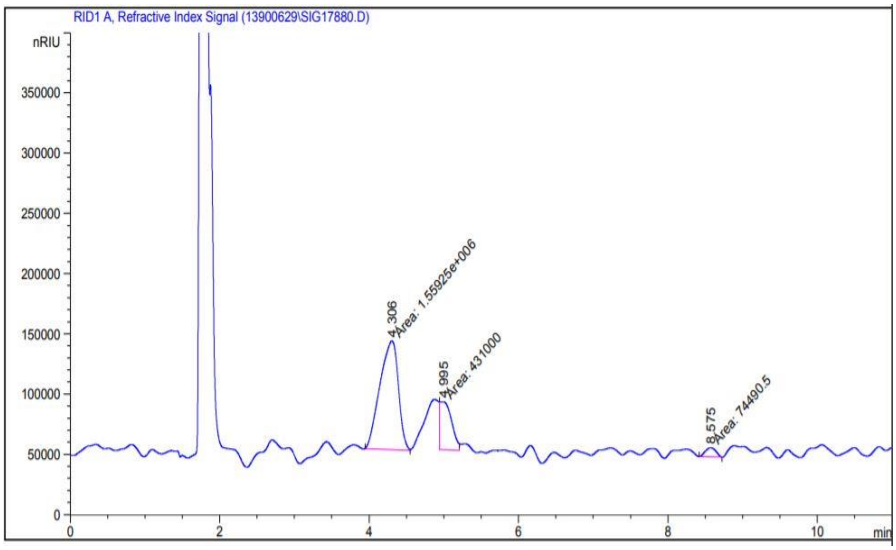


شکل ٦: بررسی آنتوسیانین کل (میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترکند از نظر آماری در سطح ۱ درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی داری ندارند.)

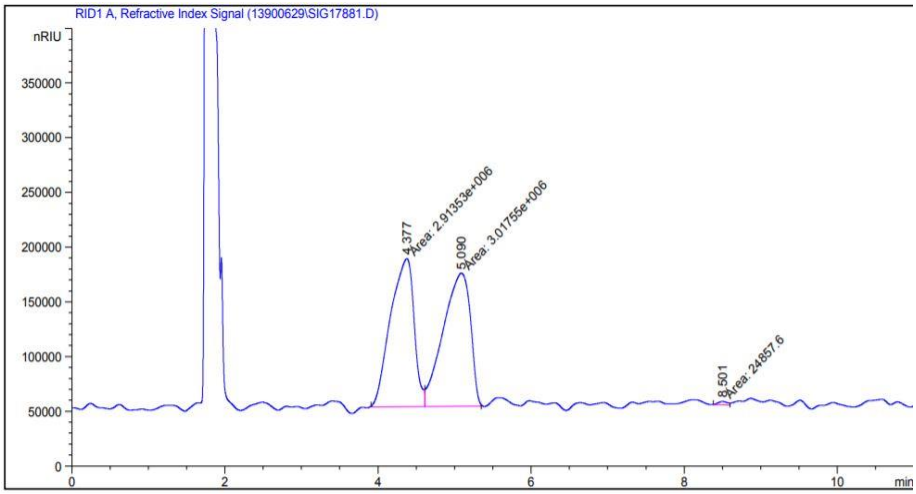
قندهای محلول: با توجه به (شکل ۷) در این پژوهش در میوه انجیر میزان قند گلوکز، فروکتوز و ساکارز به دست آمد. براساس مقایسه میانگین بین داده‌ها به ترتیب میزان گلوکز بین ۰/۰۸۰ و ۰/۳۸، فروکتوز ۱/٤۲و ٤/٤٤ و ساکارز ۰/٤۲ و ٤/۳۷ گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر متغیر بود و ژنویپ دوم با داشتن ۲/٤۰ گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر فروکتوز و ۰/۷٤ گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر ساکارز بیشترین میزان فروکتوز و ساکارز داشت و همچنین و ژنوتیپ دوم میزان گلوکز کمتری نسبت به دو ژنوتیپ دیگر داشت.



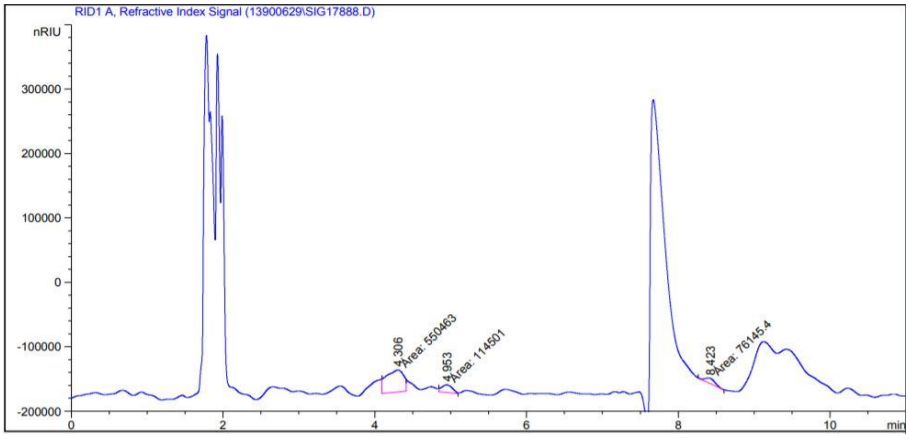
شکل ۷: بررسی قندهای محلول (میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترکند از نظر آماری در سطح ۱ درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.)



شکل ۸: نمودار HPLC قندهای محلول میوه‌ی انجیر ژنوتیپ اول



شکل ۹: نمودار HPLC قندهای محلول میوه‌ی انجیر ژنوتیپ دوم



شکل ۱۰: نمودار HPLC قندهای محلول میوه‌ی انجیر ژنوتیپ سوم

جدول ۵: کل صفات اندازه‌گیری شده در پژوهش

شماره	ترکیبات	ژنوتیپ		
		G1	G2	G3
۱	Phenol	۳۵۹/۶۲٤	٤۱۸/۵۹۲	۳۷۲/۸٦٤
۲	dpph	٤۵/٦٦۷	٤۱/۳۰۰	۳٦/۹۳۳
۳	antocianin	۱/۲۱۹	۰/۹۹۹	۱/۰۸۵
٤	gallicacid	۷/٤۰۰	۲/٤٦۷	۱٦/٦۳۳
۵	caffeicacid	٦/۹۳۳	۰/۷٦۷	۱/۱۰۰
٦	chlorogenicacid	۲۰/۷۳۳	٦۷/۸۰۰	٤/۱۰۰
۷	rutin	۲/٦٦۷	۰/۰۰٤	۰/٤۳۷
۸	comaric	۲۱/٦۳۳	۰/۱۵۰	۸/۱٦۰
۹	rosmaricacid	۰/۵۳۳	۰/۰۰۱	۱/۱۹۳
۱۰	quercetin	۸/٤۳۳	۰/۱۲۳	۰/۲۱۰
۱۱	cinamicacid	۰/۵۳۳	۰/۰۲۰	۰/۱۱۷
۱۲	apigenin	۲/۳۳۳	۰/۲۳۳	۰/۳۱۰
۱۳	fructoz	۲/۳۹٦	٤/٤٤٦	۱/٤۲٦
۱٤	sacaroz	۰/۷۳٦	٤/۳۷۰	۰/٤۲۰
۱۵	glocos	۰/۲۲۰	۰/۰۸۰	۰/۳۸۳

در پژوهش حاضر ژنوتیپ اول که مربوط به روستای قرخ‌یاشار بود حاوی بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، آنتوسیانین، کافئیک اسید، روتین ، کوماریک ، کوئرسیتین ، سینامیک اسید و آپاژنین بود. همچنین ژنوتیپ دوم که مربوط به روستای بدل‌آباد بود حاوی بیشترین میزان فنل، کلروژنیک اسید،فروکتوز و ساکارز بود، ژنوتیپ سوم که مربوط به روستای پیرموسی بود نیز بیشترین میزان میانگین گالیک اسید، رزماریک اسید و گلوکز را دارا بود. پس ژنوتیپ اول به دلیل داشتن خصوصیات فیتوشیمیایی بالاتر به عنوان ژنوتیپ برتر شناسایی گردید.

بحث

مطالعه حاضر اولین پژوهش در مورد بررسی ویژگیهای فیتوشیمیایی میوه‌های انجیر شهرستان خوی می‌باشد. فعالیت آنتی اکسیدانی ممکن است به دلیل وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود درعصاره باشد، وجود فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان‌دهنده‌ی این است که ترکیبات موجود در میوه‌ی انجیر می‌توانند واکنش‌های زنجیرهای رادیکالی را پایان دهند. پیش از این مقصودلو و همکاران (Maqsoudlou et al., 2017)، وجود فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های پوست و پالپ انجیر سبز و سیاه را تایید کردند و نشان دادند که عصاره‌های پوست و پالپ انجیر سیاه نسبت به عصاره‌های پوست و پالپ انجیر سبز فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری دارد. همچنین حرض اله و همکاران (Harzallah et al., 2016)، در پژوهشی در پوست و گوشت و کل میوه‌ی سه نوع انجیر سبز، قرمز و سیاه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به روش DPPH را اندازه‌گیری کردند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ی انجیر قرمز را ۷/۰٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش نمودند.

ترکیبات فنلی متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که اثرات زیست محیطی مهم از جمله اثرات

ضدسرطانی و ضدمیکروبی دارند (Garcia-Alonso et al., 2004). میزان فنل کل در پژوهش حاضر بین ۳۵۹/۶۲ ، ٤۱۸/۵۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر معادل اسید گالیک مشاهده شد .در پژوهشی سولمون و همکاران (Solomon et al., 2006) میزان ترکیبات فنلی در پوست رقم میشن، (Mission) را ٤٦۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم میوه‌ی تازه گزارش کردند که تاحدودی با یافته های ما مشابهت داشت. وجدیلو وهمکاران نیز (Wojdylo et al., 2016) میانگین فنل کل را ٤۰۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک بیان کردند که تاحدودی با پژوهش ما مشابهت داشت. در پژوهشی دیگر که قربانی و همکاران (Qorbani el al., 2019) بر روی تنوع فیتوشیمیایی و بیوشیمایی ۳۸ ژنوتیپ انجیر منطقه ارسباران استان آذربایجان شرقی انجام دادند، میزان فنل کل میوه‌ی انجیر را از ۰/۷۲ تا ۲/٦٦ میلی‌گرم در گرم وزن تر معادل اسید گالیک گزارش نمودند. همچنین در پژوهشی که برروی خصوصیات فیتوشیمیایی محصولات بهاره و تابستانه سه ژنوتیپ انجیر در استان گلستان انجام شد، میزان ترکیبات فنلی در رقم بهاره و تابستانه به ترتیب ۱/٦۳ و ۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر گزارش شد (Keykha et al., 2016). دلیل مغایر بودن نتایج ما با برخی از مطالعات صورت گرفته می‌تواند ناشی از ژنوتیپ‌های متفاوت و شرایط محیطی متفاوت منطقه مورد مطالعه باشد. در پژوهش حاضر پلی فنل هایی نظیر گالیک اسید، کافئیک اسید ، کلروژنیک اسید، روتین ، کوماریک ، رزماریک اسید ، کوئرسیتین ، سینامیک اسید و آپاژنین شناسایی شد. ویودا-مارتوس و همکاران نیز (Viuda-Martos et al., 2015)، در مطالعه‌ای برروی دو رقم انجیر وجود پلی فنل کلروژنیک اسید را در پوست و گوشت میوه‌ی انجیر گزارش نمودند. وبریک و همکاران (Veberic et al., 2008) پلی فنل‌های گالیک اسید، کلروژنیک اسید، سیرینگیک اسید، (-)- اپی کاتچبن، (+)-کاتچبن و روتین را از میوه‌ی انجیر استخراج کرده و کلروژنیک اسید به‌عنوان پلی فنل غالب معرفی نمودند. در پژوهش حاضر نیز کلروژنیک اسید به عنوان پلی فنل غالب شناسایی شد. در هر گونه، میزان این ترکیبات می‌تواند تحت تاثیر رقم و ژنتیک، منشاء جغرافیایی، بلوغ، اقلیم، موقعیت روی درخت، عملیات باغبانی و شرایط انبارداری قرار گیرد (Deshmukh et al., 2011).

در پژوهش حاضر بیشترین میزان آنتوسیانین کل ۱/۲۱۹ میلی‌گرم در صد گرم وزن تر بود. در پژوهشی سولمون و همکاران (Solomon et al., 2006)، با مطالعه برروی شش رقم انجیر در ترکیه میزان آنتوسیانین میوه ی انجیر، رقم براون ترکی (Brown-Turkey) را ۱/۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر میوه گزارش دادند که با نتایج حاصل از یافته های ما مطابقت داشت. قربانی و همکاران درپژوهشی (Qorbani et al., 2019) میزان آنتوسیانین کل در پوست و گوشت میوه را در دامنه‌ای بین ۰/۱ تا ۰/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر میوه گزارش نمودند. علت تفاوت در میزان آنتوسیانین در پژوهش‌های مختلف می‌تواند با ژنوتیپ، رنگ میوه و فصل باردهی میوه در ارتباط باشد، به عبارت دیگر در ارقام میوه تیره و در شرایط گرم تر تابستان سنتز مواد رنگی آنتوسیاتینی بیشتر می‌شود، در حالی که در ارقام میوه‌های روشن رنگ و بهاره آنتوسیاتین کمتری وجود دارد. در چندین پژوهش دیگر تغییرات در تجمع آنتوسیانین گزارش شده است که می‌تواند ناشی از ژنتیک متفاوت، فصل رشد، آب و هوا و عملیات باغبانی باشد (Bureau et al., 2009; Usenik et al., 2009).

از فاکتورهای مهم مزه میوه، قند و اسید می‌باشد. در انجیر و به‌ویژه انجیرهای خشک بالا بودن میزان

قند بسیار مطلوب می‌باشد (Karacali, 2002). در پژوهش حاضر در میوه‌ی انجیر میانگین قند فروکتوز، ساکارز و گلوکز ۲/۷٦، ۱/۸٤ و ۰/۲۳ گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر به‌دست آمد که با پژوهش جیانگ و همکاران (Jiang et al., 2013) که میانگین قند فروکتوز، ساکارز و گلوکز را ۲/۰۱، ۱/۰۳ و ۰/۱۷ گرم در ۱۰۰ گرم گزارش نموده بودند تا حدود زیادی مشابهت داشت. همچنین الجان وهمکاران (Aljane et al., 2006) در پژوهشی میزان فروکتوز را بین ۱/۹۱٦و ٤/٦٥٨ گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر گزارش کردند که با پژوهش حاضر شباهت داشت. پالمریا و همکاران(Palmeira et al., 2019) میزان ساکارز در گوشت میوه ی انجیر را ۲/۹۷ گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر گزارش کردند که با نتایج حاصل از این پژوهش تاحدودی شباهت داشت.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادند که میوه انجیر حاوی خاصیت آنتی‌اکسیدان بالا، ترکیبات فنلی و آنتوسیانین فراوانی می‌باشد، علت خاصیت آنتی‌اکسیدان بالای انجیر می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات فنلی، فلاونوییدی و آنتوسیانین‌های موجود در پوست و پالپ باشد. دراین پژوهش ۹ ترکیب پلی فنل ،گالیک اسید، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، روتین، کوماریک، رزماریک اسید، کوئرسیتین، سینامیک اسید و آپاژنین اندازه‌گیری گردید و کلروژنیک اسید به‌عنوان پلی فنل غالب شناسایی شد. انتظار می‌رود که فنول‌های دیگری نیز در میوه انجیر موجود باشد. میزان قندهای محلول به‌ترتیب از بیشترین به کم‌ترین فروکتوز، ساکارز وگلوکز معرفی شد. ژنوتیپ اول که مربوط به روستای قرخ‌یاشار بود حاوی سطوح بالاتری از آنتی اکسیدان و پلی فنل‌ها می‌باشد و با توجه به اثرات مطلوب آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بر سلامت انسان، می‌توان از آن در صنایع غذایی و داروسازی استفاده نمود و همچنین توصیه می‌شود برای برنامه‌های اصلاحی آینده از این ژنوتیپ استفاده گردد.

References

1. Aljane F., Toumi I. and Ferchichi A. 2007. HPLC determination of sugars and atomic absorption analysis of mineral salts in fresh figs of Tunisian cultivars. African Journal of Biotechnology. 6 (5): 599-602.
2. Arvaniti, O.S., Samaras, Y., Gatidou, G., Thomaidis, N.S., and Stasinakis, A.S. 2019. Review on fresh and dried fgs: Chemical analysis and occurrence of phytochemical compounds, antioxidant capacity and health effects. Food Research International, 119: 244-267.
3. Buchert, J., Koponen J.M., Suutarinen, M., Mustranta, A., Lille, M., Torronen, R. and Poutanen, K. 2005. Effect of enzyme-aided pressing on anthocyanin yield and profiles in bilberry and blackcurrant juices. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85:2548–2556.
4. Bureau, S., Renard, C.M.G.C., Reich, M., Ginies, C. and Audergon, J.M. 2009. Change in anthocyanin concentrations in red apricot fruits during ripening. LWT-Foo Science Technology. 42: 372-377.
5. Caliskan, O. and Polat, A.A. 2011, Phytochemical and antioxidant properties of selected fig (*Ficus carica* L.) accessions from the eastern Mediterranean region of Turkey, Scientia Horticulturae, 128: 473-478.
6. Deshmukh, S.R., Wadegaonkar, V.P., Bhagat, R.P. and Wadegaonkar, P.A. 2011. Tissue specific expression of anthraquinones, flavonoids and phenolics in leaf, fruit and root suspension cultures of Indian mulberry (*Morinda citrifola* L.). Plant Omics Journal. 4: 6-13.
7. Du, G., Li, M., Ma, F. and Liang, D. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in Actinidia fruits. Food Chemistry, 113: 557-562.

8. Flaishman, M. A., Rodov, V., and Stover, E. 2008. The fig: botany, horticulture, and breeding. Horticultural ReviewsWestport Then New York, 34: 113.
9. García-Alonso, M., Pascual-Teresa, S., Santos Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J.C. 2004. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. Food Chemistry. 84: 13-18.
10. Harzallah, A., Mnari Bhouri, A., Amri, Z., Soltana, H. and Hammami, M. 2016. Phytochemical content and antioxidant activity of different fruit parts juices of three figs (*Ficus carica* L.) varieties grown in Tunisia, Industrial Crops and Products. 83: 255-267.
11. Hassanpour, H. and Alizadeh, S. 2016. Evaluation of phenolic compound, antioxidant activities and antioxidant enzymes of barberry genotypes in Iran. Scientia Horticulturae, 200: 125-130.
12. Hassanzadeh, Z. and Hassanpour, H. 2018. Evaluation of physicochemical characteristics and antioxidant properties of *Elaeagnus angustifolia* L., Scientia Horticulturae, 238: 83-90.
13. Jiang, L., Shen, Z., Zheng, H., He, W., Deng, G. and Lu, H. 2013. Noninvasive evaluation of fructose, glucose, and sucrose contents in fig fruits during development using chlorophyll fluorescence and chemometrics. J. Agri. Sci. Tech. 15: 333-342.
14. Kamei, H., Kojima, T., Hasegawa, M., Koide, T., Umeda, T., Yukawa, T. and Terabe, K. 1995. Suppresion of tumor cell growth by anthocyanins in vitro. Cancer Investigation. 13: 590-594.
15. Karacali, I. 2002. Storage and marketing of horticultural products. Ege University Agriculture Faculty Publication.
16. Keykha, Z., Seyfi, A., Varasteh, F. and ghasemnezhad, E., 2016. Comparison of cognitive and phytochemical properties of spring and summer products of three fig genotypes in Golestan province. Environmental plant physiology. 10 (40): 62-72.
17. Lazreg, A.H., Gaaliche, B., Fekih, A., Mars, M., Aouni, M., Pierre, C.J. and Said, K. 2011. In vitro cytotoxic and antiviral activities of *Ficus carica* latex extracts. Natural Product Research. 25: 310-319.
18. Maqsoudlou, A., Esmailzadeh Kenari, R. and Raftani Amiri, Z. 2017. Investigating the antioxidant properties of skin extracts and fig pulp in oxidative stability of canola oil as a substitute for synthetic antioxidants. Iranian Journal of Food Science and Technology Research. 13(4): 503-516.
19. Melgarejo, P., Hernandez, F., Martinez, J.J., Sanchez, J. and Salazar, D.M. 2003. Organic acids and sugars from first and second crop fig juices. Acta Horticulture. 605: 237-239.
20. Mopuri R., Ganjayi M., Meriga B., Koorbanally N.A. and Islam M.S. 2018. The effects of *Ficus carica* on the activity of enzymes related to metabolic syndrome. Journal of Food and Drug Analysis. 26: 201-210.
21. Nakajima, J.I., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M. and Saito, K., 2004. profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. J. Biomed. Biotechnol. 5: 241-247.
22. Palmeira L., Pereira C., Dias M.I., Abreu R., Corrêa R., Pires T., Alves M.J., Barros L. and Ferreira I. 2019. Nutritional, chemical and bioactive profiles of different parts of a Portuguese common fig (*Ficus carica* L.) variety. Food Research International 126: 108572.
23. Qorbani A., Hassanpour H. and Arjishli S. 2019. Phytochemical, biochemical and molecular diversity of Figs (*L. carica Ficus*) in east azerbaijan province. Journal of Plant Environmental Physiology. 52: 16-28.
24. Seal, T. 2016. Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, Sonchus arvensis and Oenanthe linearis of North-Eastern region in India, Journal of Applied Pharmaceutical Science. 6: 157-166
25. Solomon, A., Golubowicz S., Yablowicz Z., Grossman S., Bergman, M. and Gottlieb, H. 2006. Antioxidant activities and anthocyanin content of fresh fruits of common Fig (*Ficus carica* L.). Journal of

Agriculture and Food Chemistry. 54: 7717-7723.

26. Tsalokostas G. Using tissue culture as analternative source of polyphenols produced by Ficus carica L. 2009. The City University of New York. The Faculty of Biology Ph.D. Thesis, NewYork, ABD. 116.
27. Usenik, V., Štampar, F. and Veberič, R. 2009. Anthocyanins and fruit colour in plums (*Prunus domestica* L.) during ripening. Food Chemistry. 114: 529-534.
28. Veberic, R. Colaric, M. Stampar,F. 2008. Phenolic acids and flavonoids of fig fruit (*Ficus carica* L.) in the northern Mediterranean region. Food Chemistry. 106: 153-157
29. Viuda-Martos, M., Barber, X., Pérez-Álvarez, J. and Fernández-López, J. 2015. Assessment of chemical, physico-chemical, techno-functional and antioxidant properties of fig (*Ficus carica* L.) powder co-products Industrial Crops and Products. 69: 472-479.
30. Wojdyło A., Nowicka P., Carbonell-Barrachina A., and Hernández F. 2016. Phenolic compounds, antioxidant and antidiabetic activity of different cultivars of *Ficus carica* L. fruits. Journal of Functional Foods 25: 421-432.

Investigating the phytochemical properties of the fruit of three edible fig genotypes in Khoy city

Moradkhani, S.
Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Payame Noor University

Received: 9-5-2020; Accepted: 12-9-2020

Abstract

Fig fruit (*Ficus carica* L.) contains large amounts of phenolic-compounds, flavonoids and anthocyanins, which are the most important natural antioxidants. In this study, the fruit of three fig genotypes from three villages of Qerkh-Yashar, Badal-Abad and Pirmousi located in Khoy city, West-Azarbaijan province was harvested in September of 2019 and their biochemical characteristics were investigated. Some important chemical properties of the fruit were measured, such as antioxidant capacity with DPPH method, total phenol-content, total anthocyanin with Spectrophotometer, soluble sugars and polyphenols with HPLC. The measured antioxidant capacity by DPPH method in fruits varied from 36.93 to 45.67%. The highest total phenol was 418.59 mg in 100g of fresh gallic-acid, which was observed in the second genotype. The highest anthocyanin was 1.219 mg in 100g of fresh weight, which was observed in the first genotype. According to the results of the analysis of soluble sugars in all three sugars: fructose, sucrose and glucose were observed in all three genotypes. in this study, 9 types of polyphenolic-compounds were extracted from fig fruit, which included: caffeic-acid, gallic-acid, chlorogenic-acid, rutin, coumaric, rosemary-acid, quercetin, cinnamic-acid, apagenine, and the combination of chlorogenic-acid with an average of 30.88 micrograms-per-gram was identified as the dominant polyphenol. According to the results of this study, different fig genotypes contain antioxidants and natural polyphenols, among which the first genotype, which belongs to the village of Qerkh-Yashar, contains higher levels of antioxidants and Polyphenols can be suggested for future correctional programs, but can also be used in the food and pharmaceutical industries.

Keywords: DPPH, figs, polyphenols, soluble sugars, total anthocyanins.

*Corresponding author; s.moradkhani@pnu.ac.ir