Applied Biology, Volume 11, Issue 43, 2021

Research Article

Investigation of Antioxidant Activity in Seed, Peel and Juice Extracts of Some Samples Iranian Pomegranate[1]

Gholam Reza Najafi | Assistant Professor, Department of Chemistry, Qom branch, Islamic Azad University, Qom, Iran **(Corresponding Author).** najafi@qom-iau.ac.ir

Bahare Khan Ahmadi | Masters Student, Department of Chemistry, Delijan Branch, Payam Noor University, Delijan, Iran. bahaar-2007@yahoo.com

Abstract

Objectives: In this research, a study was performed on several pomegranate populations from different cities of Iran, including: Qom, Saveh, Khorasan and Yazd (Qajagh poand black seed of Qom, Yazd Mikhosh and Khorasan glass pomegranate). For this purpose, characteristics such as the amount and type of compounds in the juice, antioxidant activity and evaluation of the active ingredients of tannins and flavonoids were considered.

Methods: In order to extract the juice, water and dried peel of the plant were drenched separately in water and methanol. The solvent was separated using a rotary and after drying the extract by vacuum oven, the samples were used in the antioxidant test of free radical reduction methods (DPPH).

Results: The results of antioxidant test showed that sweet-and-sour Saveh pomegranate peel extract has the highest antioxidant effect in methanol solvent. Tannin test was performed on black seeds of Qom and Yazd. So, it was found that black seed pomegranate of Qom has the highest amount of tannin compounds. Based on the results of flavonoid test, black seed pomegranate had the highest amount. Finally, the chemical composition of black seed juice in Qom province was identified.

Conclusion: These results showed that Qom black seed pomegranate has large amounts of natural sugars. Also, by comparing the amount of tannin in the samples, it was observed that the total amount in the sample of Yazd pomegranate is more than Qom black seed, but the amount of flavonoids in Qom black seed is more than Yazd pomegranate.

Keywords: Saveh pomegranate, Tannin; Qom pomegranate, Flavonoid, Khorasan pomegranate, Antioxidant activity, Yazd pomegranate, DPPH test.

1. **How to Cite:** Najafi GH, Khan Ahmadi B, Pourmidani A & Motamedi R. Investigation of Antioxidant Activity in Seed, Peel and Juice Extracts of Some Samples Iranian Pomegranate. *Applied Biology*. 2021; 11(43): 41-52.

Received: 2021/01/07 ; **Revision:** 2021/06/15 ; **Accepted:** 2021/09/10

© the authors http://sjoapb.journal.qom-iau.ac.ir

Publisher: Qom Islamic Azad University

بیولوژی کاربردی، دوره ۱۱، شماره ۴۳، ۱۴۰۰

مقاله پژوهشی

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره دانه، پوست و آب چند نمونه انار ایرانی[۱]

غلامرضا نجفی | استادیار، گروه شیمی، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران (**نویسنده مسئول**). najafi@qom-iau.ac.ir
بهاره خان احمدی | دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه پیام نور، گروه شیمی، دلیجان، ایران. bahaar-2007@yahoo.com

چکیده

هدف: در این تحقیق، مطالعه بر روی چند جمعیت انار از شهرهای مختلف ایران ازجمله قم، ساوه، خراسان و یزد (انار قجاق و دانه سیاه قم، ملس ساوه، میخوش یزد و شیشه گپ خراسان) انجام شد. بدین منظور، ویژگیهایی چون، میزان و نوع ترکیبات موجود در عصاره، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ارزیابی میزان مواد مؤثره تانن و فلاونوئید مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: به منظور استخراج عصاره، آب و پوست خشک شده گیاه به طور جداگانه در آب و متانول خیسانده شد. سپس حلال با استفاده از روتاری جدا و پس از خشک شدن عصاره توسط آون خلاء، نمونه‌ها در آزمون ضداکسیدانی روش‌های احیاء رادیکال آزاد (DPPH) مورد استفاده قرار گرفتند.

نتایج: یافته‌های حاصل از آزمون ضداکسیدانی نشان‌دهنده این است که عصاره پوست انار گونه ملس ساوه در حلال متانول، بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی را دارد. تست تانن بر روی انار دانه سیاه قم و یزد انجام شده و مشخص گردید که دانه سیاه قم بیشترین میزان ترکیبات تانن را دارد. براساس نتایج حاصل از تست فلاونوئید، این انار بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد. در پایان ترکیب شیمیایی آب انار دانه سیاه استان قم شناسایی شد.

نتیجه‌گیری: انار دانه سیاه قم دارای مقادیر زیادی قندهای طبیعی است. با مقایسه مقدار تانن در نمونه‌ها مشاهده شد که مقدار کل آن در نمونه انار میخوش یزد بیشتر از دانه سیاه قم بوده، اما مقدار فلاونوئید موجود در دانه سیاه قم بیشتر از یزد است.

کلیدواژه‌ها: انار ساوه، تانن، انار قم، فلاونوئید، انار خراسان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، انار یزد، آزمون DPPH.

---

۱. **روش استناد به این پژوهش:** نجفی غ، خان احمدی ب، پورمیدانی ع، معتمدی ر. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره دانه، پوست و آب چند نمونه انار ایرانی. *بیولوژی کاربردی*. ۱۴۰۰؛ ۱۱(۴۳): ۴۱-۵۲.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۸ ؛ **تاریخ اصلاح:** ۱۴۰۰/۰۳/۲۵ ؛ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۰/۰۶/۱۹
ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم

۱. مقدمه

تحقیقات بسیاری نشان می‌دهد که مصرف میوه و سبزیجات به دلیل محتوای بالایی از ترکیبات فعال زیستی، اثرات مفیدی در حفظ سلامتی و نیز پیشگیری از بیماری‌های مختلف دارد. میوه‌های قرمز، مانند توت فرنگی، گیلاس، انگور و انار، از جمله این منابع به شمار می‌آیند، زیرا آنها غنی از ترکیبات فنولی مانند اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها و تانن‌ها هستند (۱). به طور خاص، انار به دلیل داشتن محتوای زیادی از مواد زیست فعال در همه قسمت‌ها و همچنین آب و عصاره آن، محبوبیت گسترده‌ای را به عنوان یک ماده غذایی ارزشمند پیدا کرده است (۲).

انار درختچه‌ای است (Punica granatum L.) که عمدتاً در ایران، هند، چین، آمریکا و در سراسر منطقه مدیترانه و همچنین سایر مناطق جهان که آب و هوا برای رشد آن مناسب است، کشت می‌شود (۳،۴). بوته انار، به طور معمول تا ۵ متر رشد می‌کند، اما در بعضی موارد ممکن است به مورفولوژی درختی برسد که به اندازه ۱۰ متر بلند باشد، به جز ارقام کوتوله آن که معمولاً ۲-۱ متر رشد می‌کنند (۵). این درختچه در مناطق سردسیر و نیمه گرمسیری به صورت برگ ریز و در نواحی گرمسیر به صورت همیشه سبز می‌باشد. انار، درختی بسیار پرگل است که تعداد معدودی از گل‌های ثمری تبدیل به میوه شده و بقیه می‌ریزند. این میوه به عنوان یک توت گوشتی دسته‌بندی شده و شکل آن تقریباً گرد و با قطر تا ۱۰ سانتی‌متر است و در بالای آن یک غلاف گل به صورت تاجی‌شکل قرار دارد. در داخل اگزوکارپ چرمی یک مزوکارپ گوشتی وجود دارد که در محفظه‌هایی که توسط غشاء از هم جدا شده‌اند، سازمان یافته است. آریل شامل قسمت خوراکی میوه است. قسمت اگزوکارپ گیاه یعنی پوست آن، حدود ۵۰% از کل میوه را تشکیل می‌دهد، در حالی که قسمت خوراکی آن ۱۰% دانه‌ها و ٤٠% آریل را تشکیل می‌دهد (٦).

تمامی قسمت‌های انار، به ویژه عصاره آن رنگ زیادی دارد که ترکیبات زیست فعال انتخاب شده به ویژه آنتوسیانین‌ها عامل ایجاد این رنگ هستند (۷). بنابراین، تغییر رنگ در بین ارقام مختلف عمدتاً به دلیل غلظت متفاوت این ترکیبات است. دانه انار سرشار از قند، ویتامین‌ها، پلی ساکاریدها، پلی فنول‌ها و مواد معدنی و همچنین سرشار از اسیدهای چرب اشباع نشده هستند (۸). تحقیقات صورت گرفته در مورد قسمت‌های مختلف انار نشان می‌دهد که این میوه ارزشمند، دارای فعالیت ضدسرطانی از طریق تداخل در تکثیر سلول‌های توموری، چرخه سلولی، تهاجم و رگ‌زایی (۹) و همچنین خواص ضدمیکروبی و ضدالتهابی (۱۰)، به عنوان آنتی‌اکسیدان (۱۱)، از

بین برنده سمّیت کبد (۱۲) عمل نموده و علاوه بر این قادر است عملکرد قلب و عروق (۱۳)، دهان (۱۴) و سلامت پوست را بهبود بخشد (۱۵) که این موارد ممکن است مربوط به اثرات ضد التهابی انار باشد (۱۶).

آنتوسیانین‌ها، بزرگ‌ترین و مهم‌ترین گروه فلاونوئیدهای موجود در آب انار هستند و همراه با تانن‌های قابل هضم، ارزشمندترین ترکیبات فعال زیستی را تشکیل می‌دهند (۱۷). از نظر شیمیایی، آنتوسیانین‌ها، گلیکوزیدهایی از مشتقات پلی هیدروکسی و پلی متوکسی نمک‌های ۲- فنیل بنزوپیریلیوم یا فلاویلیوم هستند (دو حلقه بنزوئیل، A و B توسط حلقه C هترویسکلیک جدا می‌شوند) (۱۸،۱۹). بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی انار، تا حد زیادی به محتوای الاژیتانین آن نسبت داده شده است (۲۰)، که متعلق به گروه تانن‌های قابل هضم بوده و پس از هیدرولیز، اسید الاژیک آزاد می‌کند. الاژیک اسید و تانن‌های قابل هیدراسیون، مانند پونیکالاژین، بیشترین فعالیت را دارند. مطالعات گذشته نشان می‌دهد که میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدان این میوه، سه برابر بیشتر از عصاره چای سبز است (۲۱).

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. عصاره‌گیری

عصاره پوست انار در سیستم حلالی هگزان به روش سوکسله و خیساندن تهیه شد. بازده عصاره‌گیری در جدول ۱ درج شده است. به طور کلی عصاره‌های جامد حاصل، بیشتر به رنگ قرمز تیره هستند.

جدول ۱ - بازده استخراج عصاره از گیاه انار

حلال	نوع روش	مقدار نمونه (g)	مقدار حلال (ml)	رنگ عصاره	زمان (h)	بازده عصاره
هگزان	سوکسله	۳۲	۳۵۰	قرمز تیره	۸	۲۵/۹
هگزان	خیساندن	۳۰	۶۰۰	قرمز تیره	۴۸	۱۰

۲-۲. ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدان به روش DPPH

پس از شناسایی و جمع‌آوری گیاه مورد نظر، عملیات خشک و آسیاب کردن آن انجام شد. بدین منظور، مقدار ۲ گرم از پوست خشک و یا دانه انار را در ۲۰ میلی لیتر حلال (متانول- آب) خیسانده و پس از گذشت ۴۸ ساعت از صافی عبور داده و با دستگاه روتاری تغلیظ شد. ۲۵ میلی‌گرم نمونه عصاره را با متانول به حجم رسانده و غلظت‌های معینی از آن تهیه گردید و با محلول

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ساخته شده، جذب در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد.

۲-۳. ارزیابی میزان تانن کل

غلظت‌های ppm ۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰ از عصاره خشک استخراج شده با متانول ۸۰% تهیه گردید. ۱ میلی‌لیتر محلول مورد سنجش (استاندارد/نمونه) ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین- سیوکالتو اضافه شده و پس از گذشت ۳ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر محلول ۲۰% کربنات سدیم اضافه و بلافاصله با آب مقطر به حجم رسانده و کاملاً مخلوط شد. پس از یک ساعت جذب تمامی محلول‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه UV خوانده شد.

پس از رسم نمودار استاندارد برحسب غلظت و جذب محلول‌های استاندارد، فرمول خط توسط نرم‌افزار اکسل محاسبه و سپس میزان غلظت فنول تمام نمونه‌ها با قرار دادن آن در فرمول، محاسبه گردید.

۲-٤. ارزیابی میزان کل فلاونوئید

مقدار ۱۰ میلی‌گرم از نمونه در بالن ژوژه با حجم ml ۱۰ توسط حلال متانول به حجم رسانده شد، به طوری که نمونه عصاره کاملاً حل گردید. ml ۰/۵ از محلول استوک، متانول، محلول استات سدیم و محلول آلومینیوم کلرید ریخته شد و با آب مقطر به حجم رسانده شد. سپس بعد از نیم ساعت، جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. برای هر نمونه گیاهی از سه جذب خوانده شده میانگین گرفته و سپس در معادله خط استاندارد گذاشته شد و غلظت فلاونوئیدهای موجود در عصاره گیاهی برحسب میکروگرم به دست آمد:

معادله ۱ $Y = 0.007X + 0.020$

که در آن X غلظت برحسب میکروگرم و Y مقدار جذب است.

۲-۵. ترکیبات شیمیایی موجود در آب انار رقم دانه سیاه قم

ترکیبات شیمیایی موجود در آب انار، رقم دانه سیاه قم به عنوان نمونه با روش‌های استاندارد موجود به شرح زیر اندازه‌گیری شد. مقادیر بریکس[1] درصد وزنی مواد جامد موجود در محلول آب انار با استفاده از دستگاه رفراکتومتر، ترکیبات اسیدی موجود در آب انار با روش تیتر کردن و مقادیر pH با استفاده از دستگاه pH متر اندازه‌گیری شد. سپس مقدار قندها با روش آنزیمی و با استفاده از اسپکتروفتومتر فرابنفش- مرئی و نیز مقدار مواد معدنی موجود توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد.

1. Brix Degree

۳. نتایج

۳-۱. ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدان به روش DPPH

پس از خواندن جذب هر یک از محلول‌ها با غلظت‌های معین در طول موج ۵۱۷ نانومتر، درصد مهار رادیکال آزاد (DPPH) توسط هر یک از محلول‌ها محاسبه و نمودار درصد مهار برحسب Log C– برای عصاره رسم گردید. سپس از روی نمودار ترسیم شده غلظتی از نمونه استاندارد که توانایی از بین بردن ۵۰ درصد از رادیکال آزاد DPPH را داشت (IC_{50}) برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد.

نمودار نتایج آزمون انار قجاق قم در شکل ۱ رسم شده است. همان‌طور که در نمودار مشخص می‌باشد، حداکثر قدرت مهار رادیکال آزاد این‌گونه تا غلظت ۰/۱ بوده و پس از آن با کاهش غلظت، قدرت مهارکنندگی نیز به شدت کاهش می‌یابد. به نحوی که قدرت مهارکنندگی حدود ۱۰۰% در غلظت ۰/۱ با شیب تندی کاهش یافته و در غلظت ۰/۰۱ به حدود ۲۰% می‌رسد.

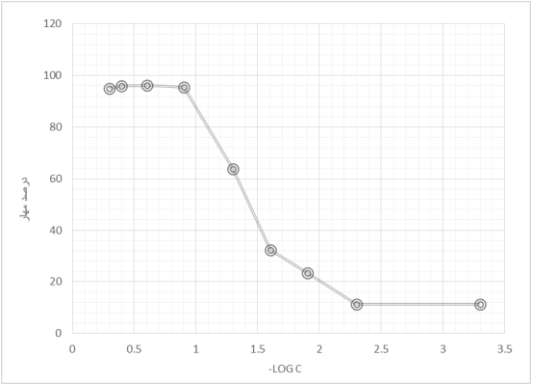
جدول ۲، نتایج مربوط به محاسبه IC_{50} قسمت‌های مختلف انار دانه سیاه قم را نشان می‌دهد. IC_{50} غلظتی از آنتی‌اکسیدان را بیان می‌کند که باعث اثر ممانعت‌کنندگی ۵۰ درصدی می‌شود. بنابراین، در جدول ۲، عصاره متانولی پوست انار دانه سیاه قم با مقدار IC_{50} = ۳۵/۴۸ mg/ml بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را در بین قسمت‌های مختلف این انار دارد.

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، گونه‌ای دیگر از انار قم به نام انار قجاق مورد بررسی قرار گرفته که همانند انار دانه سیاه قم، پوست متانولی بیشترین خصلت آنتی‌اکسیدانی را با IC_{50} = ۳۸/۰۱ برحسب mg/ml دارد.

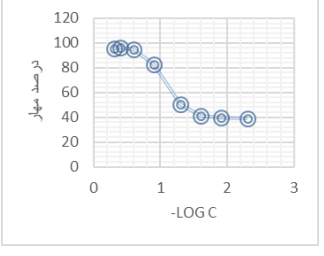
مطابق با جدول ۴ نیز همانند دو محصول دیگر عصاره پوست متانولی انار خراسان بیشترین خصلت آنتی‌اکسیدانی را در بین سایر اجزاء آن دارد.

عصاره متانولی پوست انار یزد نیز بیشترین خصلت آنتی‌اکسیدانی را دارد که البته میزان این خصلت نسبت به انار خراسان اندکی کم‌تر است (جدول ۵).

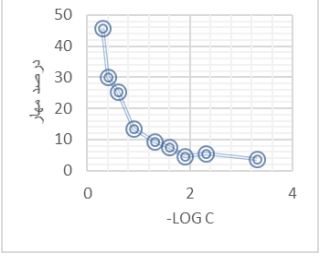
جدول ۶ به خوبی نشان می‌دهد که عصاره پوست متانولی انار ساوه کم‌ترین مقدار را در بین تمام گونه‌های انار دارا بوده و در نتیجه می‌توان گفت بیشترین میزان آنتی‌اکسیدانی را به خود اختصاص داده است.



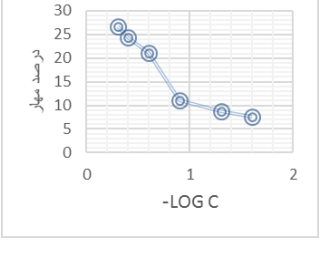
نمودار ۱- غلظت عصاره متانولی پوست انار قجاق قم



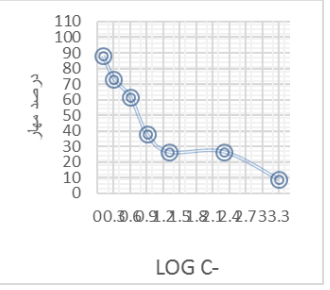
نمودار ۲- غلظت عصاره آبی پوست انار قجاق قم



نمودار ۳ - غلظت عصاره متانولی دانه انار قجاق قم



نمودار ٤- غلظت عصاره آبی دانه انار قجاق قم



نمودار ۵- غلظت آب انار قجاق قم

جدول ۲- نتایج مربوط به محاسبه IC_{50} قسمت‌های مختلف انار دانه سیاه قم

ردیف	عصاره	*IC_{50} (mg/ml)
۱	عصاره متانولی پوست انار دانه سیاه قم	۳۵/۴۸
۲	عصاره آبی پوست انار دانه سیاه قم	۱۶۵/۹۵
۳	عصاره متانولی دانه انار دانه سیاه قم	بیشتر از ۸۰۰
۴	عصاره آبی دانه انار دانه سیاه قم	۴۴۶/۶۸
۵	آب انار دانه سیاه قم	۱۷۷/۸۲

*** غلظتی از آنتی‌اکسیدان که باعث اثر ممانعت‌کنندگی ۵۰ درصدی می‌شود.**

جدول ۳- نتایج مربوط به محاسبه IC_{50} قسمت‌های مختلف انار قجاق قم

ردیف	عصاره	*IC_{50} (mg/ml)
۱	عصاره متانولی پوست انار قجاق قم	۳۸/۰۱
۲	عصاره آبی پوست انار قجاق قم	۴۴/۶۶
۳	عصاره متانولی دانه انار قجاق قم	بیشتر از ۸۰۰
۴	عصاره آبی دانه انار قجاق قم	بیشتر از ۸۰۰
۵	آب انار قجاق قم	۳۱۶/۲۲

*** غلظتی از آنتی‌اکسیدان که باعث اثر ممانعت‌کنندگی ۵۰ درصدی می‌شود.**

جدول ٤- نتایج مربوط به محاسبه IC_{50} قسمت‌های مختلف انار خراسان

ردیف	عصاره	*IC_{50} (mg/ml)
۱	عصاره متانولی پوست انار خراسان	۱۵/۸۴
۲	عصاره آبی پوست انار خراسان	۲۵۱/۱۸
۳	عصاره متانولی دانه انار خراسان	بیشتر از ۸۰۰
۴	عصاره آبی دانه انار خراسان	بیشتر از ۸۰۰
۵	آب انار خراسان	بیشتر از ۸۰۰

*** غلظتی از آنتی‌اکسیدان که باعث اثر ممانعت‌کنندگی ۵۰ درصدی می‌شود.**

جدول ۵- نتایج مربوط به محاسبه IC_{50} قسمت‌های مختلف انار یزد

ردیف	عصاره	*IC_{50} (mg/ml)
۱	عصاره متانولی پوست انار یزد	۱۵/۱۳
۲	عصاره آبی پوست انار یزد	۱۷/۷۸
۳	عصاره متانولی دانه انار یزد	بیشتر از ۸۰۰
۴	عصاره آبی دانه انار یزد	بیشتر از ۸۰۰
۵	آب انار یزد	۱۱۲/۲۰

* غلظتی از آنتی‌اکسیدان که باعث اثر ممانعت‌کنندگی ۵۰ درصدی می‌شود.

جدول ٦- نتایج مربوط به محاسبه IC_{50} قسمت‌های مختلف انار ساوه

ردیف	عصاره	*IC_{50} (mg/ml)
۱	عصاره متانولی پوست انار ساوه	۷/۹۴
۲	عصاره آبی پوست انار ساوه	۲۲/۳۸
۳	عصاره متانولی دانه انار ساوه	بیشتر از ۸۰۰
۴	عصاره آبی دانه انار ساوه	بیشتر از ۸۰۰
۵	آب انار ساوه	انجام نشد

* غلظتی از آنتی‌اکسیدان که باعث اثر ممانعت‌کنندگی ۵۰ درصدی می‌شود.

٤. نتیجه‌گیری

براساس نتایج به دست آمده، مقدار کل تانن موجود در نمونه انار میخوش یزد، بیشتر از انار دانه سیاه قم است. به طوری که در غلظت ۲۰۰۰ppm از عصاره، تقریباً مقدار تانن موجود در انار یزد نزدیک به ۲ برابر مقدار تانن موجود در انار دانه سیاه قم است. البته این نسبت در غلظت‌های ۱۰۰۰ppm و ۵۰۰ تکرار نشده است، ولی با توجه به افزایش احتمال خطا در نمونه‌هایی با غلظت کم‌تر، این روند تقریباً طبیعی به نظر می‌رسد.

همچنین، طبق بررسی‌های انجام شده، مقدار فلاونوئید موجود در انار دانه سیاه قم بیشتر از انار یزد است که البته مشاهدات عینی از رنگ و مزه این نوع انار هم تا حدی می‌تواند مؤید این مطلب باشد. با توجه به نتایج حاصل و در نظر گرفتن اینکه اثر آنتی‌اکسیدانی دانه انار یزد بیشتر از انار قم است، و با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای فلاونوئیدها انتظار می‌رود که مقدار فلاونوئید در انار یزد بیشتر باشد، در صورتی که چنین نبود. شاید بتوان این عدم تطابق را ناشی از اثر هم‌افزایی دانست که با توجه به ماتریس پیچیده عصاره‌های گیاهی چندان دور از ذهن نیست.

References

1. Trichopoulou A & Naska A. What consumers eat. In: Henry CJK & Chapman C, editors. *The Nutrition Handbook for Food Processors*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing. 2002: 7-33.
2. Wu S & Tian L. Diverse Phytochemicals and Bioactivities in the Ancient Fruit and Modern Functional Food Pomegranate (Punica granatum). *Molecules.* 2017; 22: 1606. **DOI:** 10.3390/molecules22101606.
3. Pagliarulo C, De Vito V, Picariello G, Colicchio R, Pastore G, Salvatore P & Volpe MG. Inhibitory effect of pomegranate (Punica granatum L.) polyphenol extracts on the bacterial growth and survival of clinical isolates of pathogenic Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *Food Chem*. 2016; 190: 824-831. **DOI:** 10.1016/j.foodchem.2015.06.028.
4. Schubert SY, Lansky EP & Neeman I. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *J. Ethnopharmacol*. 1999; 66(1): 11-17. **DOI:** 10.1016/s0378-8741(98)00222-0.
5. Rana TS, Narzary D & Ranade SA. Systematics and taxonomic disposition of the genus Punica L. Pomegranate. *Fruit Veg. Cereal Sci. Biotechnol*. 2010; 4: 19-25.
6. Sreekumar S, Sithul H, Muraleedharan P, Azeez JM & Sreeharshan S. Pomegranate fruit as a rich source of biologically active compounds. *Biomed. Res. Int.* 2014. **DOI:** 10.1155/2014/686921.
7. Kandylisand P & Kokkinomagoulos E. Food Applications and Potential Health Benefits of Pomegranate and its Derivatives. *Foods.* 2020; 9(2): 122. **DOI:** 10.3390/foods9020122.
8. Bassiri-Jahromi S. Punica granatum (Pomegranate) activity in health promotion and cancer prevention. *Oncol. Rev*. 2018; 12(1): 345. **DOI:** 10.4081/oncol.2018.345.
9. Kulkarni AP & Aradhya SM. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chem*. 2005; 93(2): 319-324. **DOI:** 10.1016/j.foodchem.2004.09.029.
10. Lee SH & et al. Induction of apoptosis in human leukemia U937 cells by anthocyanins through down-regulation of Bcl-2 and activation of caspases. *Int. J. Oncol.* 2009; 34: 1077-1083. **DOI:** 10.3892/ijo_00000234.
11. Çam M, Hışıl Y & Durmaz G. Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chem*. 2009; 112: 721-726. **DOI:** 10.1016/j.foodchem.2008.06.009.
12. Celik I, Temur A & Isik I. Hepatoprotective role and antioxidant capacity of pomegranate (Punica granatum) flowers infusion against trichloroacetic acid-exposed in rats. *Food Chem. Toxicol.* 2009; 47: 145-149. **DOI:** 10.1016/j.fct.2008.10.020.
13. El-Sayyad HIH. Cholesterol overload impairing cerebellar function: The promise of natural products. *Nutrition.* 2015; 31: 621-630. **DOI:** 10.1016/j.nut.2014.10.017.

14. DiSilvestro RA, DiSilvestro DJ & DiSilvestro DJ. Pomegranate extract mouth rinsing effects on saliva measures relevant to gingivitis risk. *Phytother. Res.* 2009; 23: 1123-1127. **DOI:** 10.1002/ptr.2759.
15. Aslam MN, Lansky EP & Varani J. Pomegranate as a cosmeceutical source: Pomegranate fractions promote proliferation and procollagen synthesis and inhibit matrix metalloproteinase-1 production in human skin cells. *J. Ethnopharmacol.* 2006; 103: 311-318. **DOI:** 10.1016/J.JEP.2005.07.027.
16. Howell AB & D'Souza DH. The pomegranate: effects on bacteria and viruses that influence human health. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013; 2013: 606212. **DOI:** 10.1155/2013/606212.
17. Gardeli C, Varela K, Krokida E & Mallouchos A. Investigation of Anthocyanins Stability from Pomegranate Juice (Punica Granatum L. Cv Ermioni) under a Simulated Digestion Process. *Medicines (Basel).* 2019; 6(3): 90. **DOI:** 10.3390/medicines6030090.
18. Kong J-M, Chia L-S, Goh N-K, Chia T-F & Brouillard R. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry.* 2003; 64: 923-933. **DOI:** 10.1016/S0031-9422(03)00438-2.
19. Pojer E, Mattivi F, Johnson D & Stockley CS. The Case for Anthocyanin Consumption to Promote Human Health: A Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2013; 12: 483-508. **DOI:** 10.1111/1541-4337.12024.
20. Johanningsmeier SD & Harris GK. Pomegranate as a Functional Food and Nutraceutical Source. *Annu. Rev. Food Sci. Technol*. 2011; 2: 181-201. **DOI:** 10.1146/annurev-food-030810-153709.
21. Mannan H, Reza OM, Naficeh S, Behrooz J & Maryam N. Antioxidant capacity of plasma after pomegranate intake in human volunteers. *Acta Medica Iranica*. 2009; 47(2): 125-132.