

بررسی میزان آنتوسیانین و فعالیت سمیت سلولی در عصاره‌های مختلف پوست میوه گیاه *Solanum melongena* L.

مریم اخباری^{۱*}، محمدرضا حائری^۲، معصومه بابایی^۳

چکیده

زمینه و هدف: آنتوسیانین‌ها یک دسته مهم متابولیت‌های ثانویه هستند که به سبب دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا، ممانعت از جهش ژنتیکی، جلوگیری از ایجاد سرطان، همچنین خواص ضدپیری بسیار، شناخته و مورد توجه می‌باشند. از طرفی، این ترکیبات رنگدانه‌های بسیار پرکاربرد طبیعی برای صنایع غذایی و دارویی محسوب می‌شوند. هدف از این پژوهش، تعیین میزان آنتوسیانین و خواص سمیت سلولی در پوست میوه گیاه *Solanum melongena*، کاشته‌شده در کاشان و مقایسه اثر حلال استخراج می‌باشد.

روش بررسی: در این پژوهش، با استفاده از روش اندازه‌گیری جذب UV-Vis، میزان محتوای آنتوسیانین موجود در پوست میوه گیاه *Solanum melongena* با نام عمومی "بادنجان" تعیین گردید. به منظور یافتن بهترین حلال، از سه حلال آب، متانول و اتانول جهت استخراج این ترکیبات ارزشمند استفاده شد. همچنین عصاره‌های به دست آمده به منظور تعیین میزان سمیت سلولی و غربالگری اولیه جهت وجود اثرات ضدسرطانی، از طریق آزمون ارزیابی میزان کشندگی میگوی آب شور مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان آنتوسیانین استخراج‌شده با حلال‌های آب، متانول و اتانول به ترتیب ۴۱۲، ۳۵۴ و ۲۹۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم عصاره و فعالیت سمیت سلولی برحسب LC_{50} در همین حلال‌ها به ترتیب ۷۵۰، ۵۲۵ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.

نتیجه‌گیری: در مقاله حاضر، اثبات وجود مقدار زیادی از این ترکیبات و خواص ارزشمند مانند فعالیت سمیت سلولی در عصاره‌های مختلف پوست بادنجان که به عنوان زباله دور ریخته می‌شود؛ لزوم توجه بیشتر به منابع طبیعی ارزشمند از این نوع را نشان می‌دهد. همچنین معرفی آب به عنوان بهترین حلال استخراج آنتوسیانین‌ها از پوست بادنجان، با توجه به ارزانی، عدم سمیت و مطلوبیت زیست‌محیطی از نتایج مهم این تحقیق به شمار می‌رود.

کلید واژه‌ها: *Solanum melongena*؛ بادنجان؛ آنتوسیانین؛ سمیت سلولی؛ آزمون غربالگری؛ عامل ضدسرطان؛ عصاره آبی؛ آزمون میگوی آب شور؛ روش اختلاف pH.

^۱استادیار فیتوشیمی، پژوهشکده اسانس‌های طبیعی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران.

^۲استادیار بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

^۳کارشناس ارشد سم‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

مریم اخباری، پژوهشکده اسانس‌های طبیعی، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
m_akhbari@kashanu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۵

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۳

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Akhbari M, Haeri MR, Babaei M. Investigation of anthocyanin contents and cytotoxic activity in different extracts of fruit peel of *Solanum melongena* L. Qom Univ Med Sci J 2014;8(3):11-17. [Full Text in Persian]

مقدمه

اهمیت فراوان گیاهان در کاربردهای غذایی، دارویی و صنایع وابسته از یک سو و وجود انواع زیادی از گونه‌های ارزشمند گیاهی در ایران از سوی دیگر، معرفی و بررسی کاربردها و خواص آنها را بسیار ارزشمند ساخته است. از طرفی، با وجود تأثیر چشمگیر نوع حلال مورد استفاده در استخراج مواد مؤثر گیاهی، این موضوع کمتر مورد توجه قرار گرفته است. مسلماً معرفی بهترین حلال عصاره‌گیری که منجر به استخراج بیشترین مواد مؤثره در راستای هدف مورد نظر باشد، در بهینه‌سازی و استفاده کاربردی از گیاه نقش ویژه‌ای دارد (۱، ۲). همچنین بررسی عوامل تأثیرگذار بر روی کیفیت و کمیت عصاره یا اسانس از نظر میزان مواد مؤثره و خواص بیولوژیکی حایز اهمیت است (۲).

فلاوونوئیدها و آنتوسیانین‌ها دارای نقش‌های مهمی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا، حفاظت در برابر نور و مکانیسم‌های دفاعی هستند. آنتوسیانین‌ها نقش بیولوژیکی ویژه‌ای نیز دارند، بدین صورت که بین نوع آنتوسیانین یا رنگ گل و مکانیسم گرده‌افشانی و پراکنده‌سازی دانه ارتباطاتی مشاهده شده است. برای مثال رنگهای دلفینیدین در خانواده‌هایی از زنبورهای عسل گرده‌افشان رایج می‌باشد.

همچنین آنتوسیانین‌ها می‌توانند به عنوان یک کنترل‌کننده بیولوژیکی عمل کنند، مانند سیانیدین-۳-گلوکوزید که از رشد لارو حشره‌ها در گونه‌ای از تنباکو جلوگیری می‌کند. آنتوسیانین در کنار دیگر فلاوونوئیدها به عنوان یک عامل دفاعی در برابر هجوم حشرات محسوب می‌شود (۳). با قرار گرفتن گیاه در دمای انجماد، غشای سلول‌های گیاه به دلیل حضور اکسیژن فعال و دیگر رادیکال‌های آزاد آسیب می‌بیند. آنتوسیانین‌هایی که در واکوئل تجمع یافته‌اند به احتمال زیاد غشای واکوئل را از تخریب در دمای پایین محافظت می‌کنند (۴). از دیگر فواید آنتوسیانین‌ها، کاربرد گسترده آنها در رنگ‌آمیزی مواد غذایی مانند آب میوه، مربا و نوشابه است. تولیدکنندگان مواد غذایی برای ارائه محصولی با کیفیت ظاهری بهتر، به محصول خود آنتوسیانین اضافه می‌کنند. با توجه به اینکه هر میوه، آنتوسیانین با ترکیبات ویژه خود را دارد، بنابراین در یک محصول خوراکی، آنتوسیانین را از ضایعات همان میوه تهیه می‌کنند (۳).

آنتوسیانین دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و بازدارندگی بر روی سلول‌های سرطانی است و خاصیت ضدسرطانی خود را با تأثیر بر روی ۱، ۲-دی‌متیل هیدرازین در موش‌های رت از خود نشان می‌دهد. آنتوسیانین دارای خاصیت ضدالتهابی، ویروس‌کشی و ضدباکتریایی است. همچنین درمان گلودرد، آنفولانزا و کاهش ترقق در سرماخوردگی از کاربردهای دارویی آنتوسیانین در طب قدیم چین بوده است (۵).

بادنجان یکی از سبزیجات پرکاربرد با سابقه مصرف چند هزارساله در سرتاسر جهان به شمار می‌رود. ترکیبات عمده موجود در گوشت میوه این گیاه شامل: ترکیبات فنلی و آسکوربیک اسید می‌باشد. این گیاه غنی از ترکیبات فلاوونوئیدی است که در کاهش خطر سکنه، سرطان ریه و بیماری‌های قلبی - عروقی مؤثر است. این گیاه از میان ۲۵ سبزی مختلف مصرفی متداول و ۴ نوع قارچ بررسی شده از نظر میزان آنتوسیانین و اسید اسکوربیک اول و از نظر خاصیت آنتی‌اکسیدانی DPPH و نیز میزان ترکیبات فلاوونوئیدی دوم شناخته شده است (۶). از میان گونه‌های مختلف سبزی، بادنجان از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی جزء ۱۰ گیاه برتر شناخته شده است (۷). همچنین در مطالعات ثابت شده است آنتوسیانین موجود در بادنجان با داشتن خاصیت ضدسرطانی، از جهش‌های ژنی در سلول‌های بدن جلوگیری می‌کند (۸-۶). به‌منظور دستیابی و تکامل داروهای ضدسرطان از منابع طبیعی، به یک‌سری آزمایشهای غربالگری عصاره‌های خام نیاز است. یکی از آزمون‌های معتبر جهت یافتن ترکیبات سیتوتوکسیک، آزمون ارزیابی میزان مرگ لارو میگوی آب شور (Brine Shrimp Lethality Test, BST) می‌باشد که توسط مؤسسه ملی سرطان در آمریکا (NCI) تأیید شده است. اساس این آزمون قابلیت ترکیبات در کشتن لاروهای نوعی سخت‌پوست به نام *Artemia salina* در محیط آزمایشگاهی می‌باشد (۹). Michael و همکاران در سال ۱۹۵۶، *Artemia salina* را ارگانسیم مناسب جهت تست‌های بیولوژیکی معرفی کردند (۱۰). سپس این آزمون‌ها توسط Vanhaecke و همکاران در سال ۱۹۸۱ توسعه یافت (۱۱). علت استفاده از این موجود، قرابت زیاد آن به ارگانسیم‌های پستاندار است. مانند شباهت RNA پلیمراز وابسته به DNA، پمپ $\text{NaK}^+ \text{-ATPase}$ و غیره.

همچنین این روش، دارای مزیت‌های متعددی نسبت به سایر روش‌های مورد استفاده می‌باشد که از جمله این مزایا، سهولت عمل، عمومیت روش و هزینه کم است (۱۲). نظر به اینکه گیاه بادنجان جزء پرمصرف‌ترین غذاهای گیاهی در ایران بوده و انواع خوراک‌های آن نیز جزء غذاهای سنتی این مرز و بوم محسوب می‌شود، بنابراین نتایج این گونه تحقیقات می‌تواند به سرعت در صنایع مختلف از جمله غذایی و دارویی به کار گرفته شود. لذا بررسی خواص بیولوژیکی و یافتن راههای بهینه جهت استخراج مواد فعال بیولوژیک این گیاه از منطقه ایران، بسیار ارزشمند خواهد بود. این مطالعه با هدف تعیین میزان آنتوسیانین و خواص سمیت سلولی در پوست میوه گیاه *Solanum melongena* در عصاره‌های مختلف پوست میوه گیاه انجام شد.

روش بررسی

میوه گیاه *Solanum melongena* از چندین مزرعه در اطراف کاشان (شامل مناطق چهارگانه جغرافیایی کاشان) در پاییز سال ۱۳۸۸ جمع‌آوری و به منظور عصاره‌گیری توسط روش‌های مختلف و بهینه‌سازی پارامترهای مؤثر بر استخراج و بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به آزمایشگاه منتقل شد. پس از انتقال گیاه به آزمایشگاه، پوست میوه جدا و در شرایط معمولی، دور از نور و حرارت به مدت ۷۲ ساعت خشک شد، سپس آسیاب شده و کاملاً مخلوط گردید. در ادامه، عمل عصاره‌گیری بر روی وزن مشخصی از نمونه آماده‌شده، انجام گرفت. عصاره‌گیری از پوست خشک و پودر شده گیاه، به روش خیساندن توسط حلال آب، متانول و اتانول مطلق به‌طور جداگانه انجام شد. ۵g از گیاه مذکور به‌صورت پودر شده توسط ترازوی آنالیتیکی توزین گردید و داخل ارلن ریخته شد. عمل استخراج با حلال‌های آب، متانول و اتانول توسط ۳×۱۰۰ml حلال به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۰°C انجام گرفت (هر ۱۶ ساعت یک‌بار، حلال توسط توری پارچه‌ای جداشده و حلال تازه به گیاه اضافه می‌شد). حلال جداشده در سه مرحله استخراج، ابتدا توسط توری پارچه‌ای و سپس به‌وسیله کاغذ صافی رولی فیلتر شد. محلول به دست آمده، به منظور حذف هرگونه ذرات جامد اضافی، بار دیگر وسط کاغذ صافی واتمن با منافذ ۲۰µm صاف شد.

برای تهیه عصاره خشک، محلول شفاف حاصل به‌وسیله روتاری (تبخیرکن دوار) در دمای ۴۵-۳۵°C تغلیظ گردید تا به حجم ۴-۵ml رسید. عصاره‌های تغلیظ‌شده برای خشک‌شدن کامل به پتری‌دیش منتقل و ابتدا در آون تهویه در دمای ۳۰°C به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند تا بقیه حلال تبخیر گردد. سپس به‌منظور حذف باقیمانده مواد فرار موجود در عصاره در آون خلأ به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار گرفت. عصاره به دست آمده به‌وسیله اسپاتول تراشیده و به ظروف درب‌دار و غیرقابل نفوذ انتقال یافت و به‌منظور جلوگیری از تجزیه و یا از بین رفتن مواد مؤثره موجود در عصاره‌ها تا انجام آزمایشهای بعدی در یخچال نگهداری شد. در تمام مدت تهیه، خشک کردن و آماده‌سازی، نمونه‌ها از نور و حرارت محافظت شدند. برای اندازه‌گیری میزان کل آنتوسیانین از روش اختلاف pH، به شرح زیر استفاده شد (۱۳):

۱ml محلول شفاف با غلظت مشخص از عصاره به درون بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری ریخته شد و سپس با یک بافر با pH برابر با یک (۴۹/۱g کلرید پتاسیم و ۱۰۰ml آب و ۲/۰ نرمال اسید کلریدریک) مخلوط شد. ۱ml دیگر از مواد استخراج‌شده به درون بالن ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری ریخته شد و سپس با یک بافر با pH برابر با ۴/۵ (۶۴/۱g استات سدیم و ۱۰۰ml آب) به حجم رسانده شد. پس از تنظیم صفر دستگاه با آب خالص، میزان جذب هریک از این محلول‌ها در اسپکتوفتومتر UV در ۵۱۰nm و ۷۰۰nm خوانده شد و میزان اختلاف جذب نمونه رقیق‌شده، مطابق معادله زیر محاسبه گردید.

$$\{Ab = (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH=1.0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH=4.5}\}$$

مقدار کل آنتوسیانین‌های موجود در محلول از رابطه زیر محاسبه شد.

$$C_{\left(\frac{mg}{100g}\right)} = \frac{Ab}{eL} \times MW \times DF \times \frac{V}{G} \times 100$$

(e برابر جذب مولی آنتوسیانین و برابر ۲۶۹۰۰، L برابر با طول مسیر طی شده در سل و برابر ۱cm، MW وزن مولی آنتوسیانین و برابر ۲/۴۴۹، DF ضریب رقیق‌سازی، V حجم نمونه، G وزن نمونه به میلی گرم)

غلظت ($\mu\text{g/ml}$) رسم و از روی منحنی حاصل، میزان LC_{50} محاسبه شد. محلول بدون عصاره به عنوان شاهد جهت ارزیابی صحت آزمون مورد استفاده قرار گرفت. به منظور ارزیابی دقت، این آزمون سه بار تکرار شد و درصد لاروهای مرده به صورت میانگین با انحراف استاندارد کمتر از ۵٪ گزارش شد.

یافته‌ها

میزان آنتوسیانین موجود در عصاره‌های استخراج شده با حلال‌های آب، متانول و اتانول در جدول و میزان فعالیت سمیت سلولی (LC_{50}) عصاره‌های مذکور در نمودار آمده است.

برای تعیین میزان سمیت سلولی مراحل زیر طی شد: برای تهیه آب شور به ۱۰۰۰ ml آب بدون املاح، ۲۳ g سدیم کلرید، ۱۱ g منیزیم کلرید، ۴ g سولفات سدیم، ۱/۳ g کلرید کلسیم و ۰/۷ g کلرید پتاسیم اضافه و حل شد. به ۸ لوله حاوی ۵ ml آب شور دارای ۱۰ عدد میگوی آب شور (*Artemiasalina*)، ۵ ml عصاره به گونه‌ای که غلظت‌های ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره حاصل شود، اضافه شد. لوله‌ها در حمام آب بن‌ماری با دمای 30°C و تحت تابش امواج UV با طول موج ۸۰۰-۳۰۰ nm، به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند. بعد از ۴۸ ساعت لاروهای زنده با کمک ذره‌بین شمارش شده و نمودار درصد لاروهای مرده برحسب



نمودار: درصد لاروهای مرده برحسب غلظت ($\mu\text{g/ml}$) برای عصاره‌های مختلف از پوست میوه گیاه *Solanum melongena*

میگوی آب شور برحسب LC_{50} ، به عنوان معیاری از میزان سمیت سلولی عصاره آمده است.

در جدول، نتایج حاصل از ارزیابی میزان آنتوسیانین استخراج شده در عصاره‌ها و میزان فعالیت کشندگی عصاره بر روی لارو

جدول: میزان کل آنتوسیانین‌ها و سمیت سلولی عصاره‌های استخراج شده از پوست میوه گیاه *Solanum melongena* کاشته شده در مزارع اطراف کاشان

ردیف	حلال استخراج	محتوای آنتوسیانین ($\text{mg}/100\text{g}$)	فعالیت سمیت سلولی (LC_{50} , $\mu\text{g}/\text{ml}$)
۱	آب	۴۱۲	۷۵۰
۲	متانول	۳۵۴	۵۲۵
۳	اتانول	۲۹۳	۱۰۰۰

بحث

مقدار متوسط آنتوسیانین به دست آمده از پوست بادنجان کاشته شده در مزارع کاشان، قابل مقایسه با مقدار گزارش شده در میوه شاه توت می باشد (۱۴). از آنجا که در گزارش مذکور نیز همانند این مطالعه از روش اختلاف pH که دقیق ترین روش برای تعیین کمی میزان آنتوسیانین های گیاه است (۱۵) استفاده شده، لذا مقایسه نتایج به دست آمده در این تحقیق با گزارش مذکور کاملاً منطقی به نظر می رسد. با توجه به اینکه میوه شاه توت مصرف خوراکی داشته، ولی پوست بادنجان جزء ضایعات در مصارف خانگی و صنایع غذایی محسوب می شود، از نظر اقتصادی، استفاده از پوست بادنجان به عنوان منبعی غنی از آنتوسیانین در صنایع مختلف غذایی، دارویی و غیره توجه پذیرتر است. ثابت شده است آنتوسیانین موجود در میوه گیاه بادنجان به طور عمده شامل ترکیب دلفیدین ۳- روتینوساید می باشد (۱۶)، نام دیگر این ترکیب تولپانین است که یک آنتوسیانین گلیکوزیدی بوده و خاصیت آنتی اکسیدانی بالای آن به اثبات رسیده است (۱۲، ۱۸). البته تعیین دوز سمیت در آنها به منظور به کارگیری این ترکیبات به عنوان رنگدانه های خوراکی یا دارویی حایز اهمیت است. در این مطالعه آب به عنوان حلال استخراج، نه تنها بیشترین راندمان استخراج عصاره؛ بلکه بیشترین توانایی را در استخراج آنتوسیانین ها داشته است. به طور کلی به نظر می رسد میزان استخراج آنتوسیانین با روند افزایش قطبیت حلال به صورت اتانول > متانول > آب هماهنگ است. در گزارشی که در مورد یافتن بهترین حلال استخراج جهت جداسازی آنتوسیانین ها از گیاه شاه توت توسط Zou و همکاران در سال ۲۰۱۱ منتشر شد، حلال متانول به عنوان بهترین حلال جهت استخراج ترکیبات مذکور از میوه شاه توت معرفی شده است (۱۶). بنابراین، به نظر می رسد در مورد پوست بادنجان، با توجه به ماهیت سخت دیواره های سلولی، قدرت نفوذ پذیری آب در این سلول ها بیشتر و در نتیجه استخراج آنتوسیانین ها با موفقیت بیشتری همراه می باشد. همچنین میزان کل آنتوسیانین های استخراج شده قابل مقایسه و در برخی موارد بیش از مقادیر گزارش شده در منابع علمی است (۳، ۱۴، ۱۸). از آنجا که خاصیت آنتی اکسیدانی و ضدسرطانی آنتوسیانین ها اثبات شده است، می توان پیش بینی کرد عصاره آبی پوست بادنجان یک

منبع غنی از ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضدسرطانی است، همچنین با توجه به اینکه آنتوسیانین ها، رنگدانه های طبیعی و شامل طیف وسیعی از رنگها (زرد، قرمز، نارنجی، بنفش، آبی و حتی سیاه) می باشند (۱۶-۱۳)، لذا ارزیابی دوز سمیت سلولی برای محصولات گیاهی حاوی این ترکیبات لازم و ضروری است. آزمون تعیین میزان مرگ و میر میگوی آب شور (BST)، یک آزمون غربالگری اولیه جهت تعیین خواص سمیت سلولی و فعالیت ترکیبات از نظر توانایی جلوگیری از رشد سلولی از طریق مهار تکثیر DNA می باشد (۱۰، ۱۱)، که نتایج آن تطابق قابل قبولی با آزمون های Cell line نشان داده است. LC_{50} محاسبه شده (نمودار) فعالیت متوسطی را برای عصاره ها نشان می دهد که به ترتیب به صورت عصاره اتانولی > عصاره آبی > عصاره متانولی می باشد. بنابراین، به نظر می رسد روند میزان فعالیت سمیت سلولی دقیقاً با میزان محتوای آنتوسیانین عصاره ها هماهنگ نیست، اما به هر حال عصاره اتانولی با دارا بودن کمترین میزان آنتوسیانین، کمترین سمیت را نیز دارا می باشد. اگرچه نتایج این آزمون نشان می دهد عصاره متانولی، کاندیدای بهتری جهت استفاده برای مهار و از بین بردن سلول های سرطانی است، اما باید به این نکته توجه داشت که مکانیسم اصلی عمل آنتوسیانین ها، به دام انداختن و مهار ترکیبات مضر و سرطان زا است، نه از بین بردن یا مهار سلول سرطانی؛ بنابراین، این ترکیبات بیشترین اثر را در پیشگیری (و نه درمان سرطان) ایفا می کنند.

همچنین توجه به این نکته نیز حایز اهمیت است که بالا بودن دوز سمیت در آزمون میگوی آب شور، ایمنی بیشتری را برای استفاده های خوراکی در مورد نمونه مورد آزمایش تضمین می کند. به هر حال برای اظهار نظر دقیق تر، انجام آزمون های تکمیلی برون تن، درون تن و انجام آزمایش های بالینی در هر مورد ضروری است. همچنین ثابت شده است وجود اثرات اختلاطی ناشی از حضور سایر ترکیبات طبیعی فعال بیولوژیکی در عصاره های گیاهی؛ در افزایش کارایی و کاهش عوارض جانبی آنها مؤثر بوده و این موضوع یکی از وجوه تمایز این محصولات با داروهای (گیاهی یا سنتزی) در استفاده های دارویی است (۱۹)، به همین سبب در مطالعه حاضر به جای استخراج و جداسازی کامل آنتوسیانین ها به صورت خالص، از مخلوط عصاره غنی از

نتیجه‌گیری

اثبات وجود ترکیباتی با خواص سمیت سلولی در عصاره‌های مورد مطالعه نشان داد پوست میوه این گیاه می‌تواند کاندیدای خوبی برای انجام آزمون‌های ضدتومور باشد. اثبات مناسب بودن آب به‌عنوان حلالی ایمن، در دسترس و ارزان در استخراج ترکیبات آنتوسیانینی، از نتایج قابل توجه در این مقاله است. از سوی دیگر، با توجه به تفاوت نژاد بذر و تأثیر عوامل اکولوژیکی بر ترکیبات و خواص موجود در گیاهان؛ انجام این گونه تحقیقات به‌صورت منطقه‌ای در سایر مناطق ایران و جهان و مقایسه نتایج آنها جهت دستیابی به بهترین کیفیت در مورد خواص بی‌شمار آنها بسیار ارزشمند خواهد بود.

آنتوسیانین به‌منظور ارزیابی فعالیت بیولوژیکی استفاده شد تا میزان تأثیر این ترکیبات در ماتریکسی از سایر ترکیبات گیاهی موجود در عصاره سنجیده شود. بنابراین، به‌منظور بررسی دقیق و یافتن ارتباط میان فعالیت مشاهده‌شده و نوع یا میزان هریک از آنتوسیانین‌های موجود در عصاره‌ها؛ جداسازی و شناسایی ساختار هریک از آنتوسیانین‌ها به‌طور مستقل و ارزیابی خواص بیولوژیکی آنها لازم است که این مورد می‌تواند موضوع مناسبی جهت انجام تحقیقات تکمیلی در این زمینه باشد.

References:

1. Omidbeigi R. Producing and processing of medicinal plants. Mashhad: Astan Ghods; 2003. p. 1-3. [Text in Persian]
2. Samsam-shariat SH. Extraction and isolation of active components from medicinal plants and identification and evaluation of them. Esfahan: Mani Pub; 1993. [Text in Persian]
3. Tiwari BK, O'Donnell CP, Patras A, Brunton N, Cullen PG. Anthocyanins and color degradation in ozonated grape juice. Food Chem Toxicol 2009 Nov; 47(11):2824-9.
4. Gould KS. Natures Swiss Army Knife: The diverse protective roles of anthocyanins in leaves. J Biomed Biotechnol 2004;2004(5):314-320.
5. Todaro A, Cimino F, Rapisarda P, Catalano AE. Recovery of anthocyanins from eggplant peel. Food Chemistry 2009;114(2):434-39.
6. Prohens J, Rodriguez-Burruezo A, Raigon MD, Nuez F. Total phenolics concentration and browning susceptibility in a collection of different varietal types and hybrids of eggplant: Implications for breeding for higher nutritional quality and reduced browning. J Am Soci Horticul Sci 2007 Sep; 132(5):638-46.
7. Hanson PM, Yang RY, Tsou SCS, Ledesma D, Engle L, Lee TC. Diversity in eggplant (*Solanum melongena*) for superoxide scavenging activity, total phenolics, and ascorbic acid. J Food Comp Analys 2006;19:594-600.
8. Kwon YI, Apostolidis E, Shetty K. In vitro studies of eggplant (*Solanum melongena*) phenolics as inhibitors of key enzymes relevant for type 2 diabetes and hypertension. Bioresour Technol 2008 May; 99(8):2981-8.
9. Lewan L, Anderson M, Morales-Gomez P. The use of *Artemiasalina* in toxicity testing. Alternatives to Laboratory Animals (ATLA) 1992 Apr; 20(2):297-301.
10. Michael A, Thompson C. Abramovitz, *Artemiasalina* as a test organism for bioassay. Science 1956 Mar 16;123(3194):464.
11. Vanhaecke P, Cooreman A, Sorgeloos P. International study on *Artemia*: Effect of light intensity on hatching rate of *Artemia* cysts from different geographical origin. Mar Ecol Prog Ser 1981 Apr; 5:111-115.
12. Solis PN. A microwell cytotoxicity assay using *Artemiasalina* (brine shrimp). Planta Med 1993 Jun; 59(3):250-2.

13. Rapisarda P, Fanella F, Maccarone E. Reliability of analytical methods for determining anthocyanins in blood orange juices. J Agric Food Chem 2000 Jun; 48(6):2249-52.
14. Sadilova E, Stintzing FC, Carle R. Anthocyanins, colour and antioxidant properties of eggplant (*Solanum melongena L.*) and violet pepper (*Capsicum annuum L.*) peel extracts. Z Naturforsch C 2006;61(7-8):527-35.
15. Giusti MM, Ronald E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. Wiley Online Library 2001 AUG. Available From: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0471142913.faf0102s00/abstract>. Accessed, 2001.
16. Zou T, Wang D, Guo H, Zhu Y, Luo X, Liu F, et al. Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from mulberry and identification of anthocyanins in extract using HPLC-ESI-MS. J Food Sci 2012 Jan; 77(1):C46-50.
17. Harborne JB, Baxter H. The handbook of natural flavonoids. New York: Wiley Pub; 1999. p. 21. (Vol 2)
18. Azuma K, Ohya A, Ippoushi K, Ichiyanagi T, Takeuchi A, Saito T, et al. Structures and antioxidant activity of anthocyanins in many accessions of eggplant and its related species. J Agric Food Chem 2008 Nov 12;56(21):10154-9.
19. Abd El-Kalek HH, Mohamed EA. Synergistic effect of certain medicinal plants and amoxicillin against some clinical isolates of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Int J Pharm App 2012;3(3):387-98.