

ارزیابی و مقایسه خصوصیات فیتوشیمیایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برخی ریز میوه‌های دارویی جمع‌آوری شده از منطقه خان‌درسی ارومیه

قادر قاسمی^۱، ابوالفضل علیرضالو^{۲*}، شیرین رحمن زاده ایشکه^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۲۷)

چکیده

در سال‌های اخیر با توجه به مشکلات سلامتی و تغذیه‌ای استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در فرآوری مواد غذایی، بهره‌گیری از گیاهان دارویی و ترکیبات موثره آنها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است. در این مطالعه خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی ۱۵ ژنوتیپ از ریز میوه‌های مختلف (عروسک پشت پرده، تاجریزی، تمشک، زالزالک (دوگانه)، زرشک (چهارگونه)، رز (سه گونه)، آقطی (سه گونه)) مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از شناسایی گونه‌ها، استخراج نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اولتراسونیک انجام شد. تنوع فیتوشیمیایی ریز میوه‌ها بر اساس محتوای فنول کل (روش فولین سیکالتو)، فلاونوئید کل (روش آلومینیوم کلراید)، کاروتنوئید کل، کلروفیل a، b و کل (روش لیچن تالر) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (روش DPPH) ارزیابی گردید. نتایج مطالعه نشان داد ریز میوه‌های جمع‌آوری شده، تفاوت‌های معنی‌داری (سطح احتمال ۱ درصد) از نظر خصوصیات فیتوشیمیایی مورد مطالعه دارند. بیشترین میزان فنول (۵/۰۹۶ mg GAE/g FW) و فلاونوئید کل (۰/۳۱۵) و فلاونوئید کل (۰/۸ mg Qu/100g FW) در ژنوتیپ G1 (*Physalis alkekengi*) مشاهده شد. همچنین بیشترین کاروتنوئید کل (۲۰/۵۰۸ μg/g FW) در ژنوتیپ G13 (*sambucus nigra marginata*) گزارش شد. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه ژنوتیپ G3 (*Rubus ulmifolius sub sp. sanctus*) با ۸۶/۶۳۴ درصد مشاهده شد. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که میوه‌های مختلف به ویژه تمشک دارای منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بوده و می‌توانند در صنایع غذایی و دارویی کاربرد فراوان داشته باشند.

کلید واژگان: ریز میوه‌های دارویی، فنول، فلاونوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدان، فیتوشیمیایی

* مسئول مکاتبات: a.alirezalu@urmia.ac.ir

۱- مقدمه

بین منابع ذکر شده، گیاهان دارای منابع سرشار ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی هستند که این ترکیبات در دسته آنتی‌اکسیدان‌ها دسته‌بندی می‌شوند. استفاده از گیاهان دارویی در جوامع مختلف به منظور استفاده‌های درمانی و پیشگیری معمول می‌باشد [۱۳]. گیاهان دارویی مانند ولیک (*Crataegus L.*)، تمشک (*Rubus L.*) و نسترن (*Rosa L.*) متعلق به تیره گل‌سرخ (*Rosaceae*)، عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*) و تاجریزی (*Solanum luteum*) از تیره بادنجانیان (*Solanaceae*)، آقظی (*Elderberry*) از تیره *Adoxaceae* و زرشک (*Berberis L.*) از تیره *Berberidaceae* بوده منبع بسیار قوی از ترکیبات طبیعی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. گیاه ولیک، به طور معمول غنی از انواع پروسپانیدین‌ها، فلاونوئیدها و تری‌ترین‌ها است که ترکیبات اصلی موثره در فعالیت‌های بیولوژیکی آن محسوب می‌شوند [۱۴]. تمشک نیز به علت سرشار بودن از اسید الازیک، اسید گالیک، کاتکین‌ها، کامفرول و اسیدسالیسیک از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردار بوده و می‌تواند از آسیب‌های ناخواسته به غشای سلولی و دیگر ساختارها در بدن جلوگیری کند همچنین این میوه با توجه دارا بودن میزان بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی همچون ویتامین ث و پلی‌فنول‌ها، از ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن، در حدود ۱۰۰-۳۰ میلی‌مول در ۱۰۰ گرم، برخوردار است [۱۵]. از سوی دیگر در مطالعات زیادی فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف نسترن که یکی از مهمترین گونه‌های دارویی رز می‌باشد به اثبات رسیده است [۱۶]. مطالعات زیادی وجود ترکیباتی مانند آلکالوئیدها، آنتوسیانین‌ها، تانن و ویتامین ث را در زرشک به اثبات رسانده‌اند [۱۷-۱۹]. از جمله متابولیت‌های ثانویه گیاهی می‌توان به آلکالوئید فیزالین در گیاه عروسک پشت پرده [۲۰]، آلکالوئید سولانین در گیاه تاجریزی [۲۱] و آنتوسیانین و رزوراترول در گیاه آقظی [۲۲-۲۳] اشاره کرد. با وجود پوشش انبوه مناطق مختلف کشور از گونه‌های مختلف ریز میوه‌های دارویی، براساس دانش ما تاکنون تحقیقات جامعی مبنی بر ارزیابی ترکیبات فنولی و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات در ریز میوه‌های مختلف در منابع علمی گزارش نشده است. در کل هدف ما از انجام این تحقیق بررسی خصوصیات مختلف فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی ۱۵ گونه ریز میوه جمع‌آوری شده

بنا بر گزارش سازمان جهانی بهداشت، گیاهان دارویی می‌توانند بهترین منبع برای بدست آوردن انواع مختلف از داروها باشند [۱]. در عصر حاضر استفاده از متابولیت‌های ثانویه گیاهی جهت درمان بازه وسیعی از بیماری‌های مختلف روز به روز در حال افزایش است، به طوریکه در بسیاری از کشورها ۳۵ درصد داروها را منابع گیاهی تشکیل داده است [۲]. گیاهان به عنوان دارنده طیف وسیعی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند منبع غنی از ترکیبات فعال بیولوژیکی باشند [۳-۴]. آنتی‌اکسیدان‌ها به دو گروه بزرگ طبیعی و سنتزی تقسیم‌بندی شده که آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شامل ۴ دسته پلی‌فنل‌های فلاونوئیدی، پلی‌فنل‌های غیر فلاونوئیدی، اسیدهای فنولی بادی‌ترین‌های فنولی و ترکیبات آلیگوگرد دار هستند [۵-۶]. پلی‌فنل‌ها آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که در برخی از میوه‌ها، دانه‌ها، سبزیجات و به ویژه در گیاهان دارویی به وفور وجود دارند و امروزه بسیار مورد توجه مصرف‌کنندگان و محققین در صنایع دارو سازی، بهداشتی و آرایشی قرار گرفته‌اند. فنول‌ها به عنوان ملکول زیست فعال موجود در میوه‌ها دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی می‌باشند. این ترکیبات فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود را از طریق مکانیسم‌های مختلف مانند مهار رادیکال‌های آزاد، تبدیل محصولات اولیه اکسیداسیون به ترکیبات غیراکسیداتیو، شلات کردن فلزات و کاهش غلظت اکسیژن به انجام می‌رساند [۷-۸]. ویژگی آنتی‌اکسیدانی بستگی به حضور و غلظت انواع مختلف ترکیبات فنولی دارد. فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، تانن‌ها و اسیدهای فنولی از مهمترین ترکیبات فنولی هستند. رادیکال‌های آزاد عامل اصلی پیری زود رس بسیاری از بیماری‌ها از جمله سرطان، تصلب شرایین، آسیب‌های مغزی، دیابت و غیره هستند [۹]. آنتی‌اکسیدان‌ها رادیکال‌های آزاد و آسیب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن را خنثی می‌کنند [۱۰]. در سال‌های اخیر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و یا غیرآنزمی مانند BHT، TBHQ، BHA همانند سایر افزودنی‌های شیمیایی به دلیل محتمل بودن سمیت و سرطان‌زایی بودن آنها کم شده است. امروزه بیشتر از منابع حیوانی، گیاهی و میکروبی جهت استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به کار گرفته می‌شود [۱۱-۱۲]. در

شده و عصاره‌گیری متانولی از آنها با استفاده از دستگاه اولتراسونیک انجام گرفت. یک گرم از هر نمونه داخل فالكون‌های ۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شده و پس از اضافه کردن ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری به مدت نیم ساعت در دمای ۳۰ درجه اولتراسونیک و قدرت ۱۲۰ هرتز (Elmasonic) انجام گرفت [۲۴].

۲-۵- اندازه‌گیری محتوای فنول کل

اندازه‌گیری محتوای فنول کل عصاره‌ها با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو صورت گرفت. ۲۵ میکرولیتر عصاره از محلول استخراج شده اصلی برداشته، سپس ۱/۶ میلی‌لیتر آب دی یونیزه به آن اضافه شد. در مرحله بعد ۱۲۰۰ میکرولیتر فولین به مخلوط افزوده و بعد از ۵ دقیقه به آن ۹۶۰ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد. پس از آن نمونه‌ها به مدت ۴۵-۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. نهایتاً جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (MODEL: UV2100 PC) قرائت شد. آب دی یونیزه به عنوان شاهد و اسیدگالیک به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. منحنی استاندارد بر اساس اسیدگالیک، ترسیم و نتایج به صورت mg GAE/g FW^1 (میلی‌گرم اسیدگالیک در یک گرم وزن تازه میوه) گزارش شد [۹].

۲-۶- اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل

جهت اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی مورد نظر، ۱۵۰ میکرولیتر نیتريت سدیم ۵ درصد اضافه کرده و بعد از مدت زمان ۵ دقیقه میزان ۳۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد اضافه شد. سپس بعد از مدت ۵ دقیقه میزان ۱ میلی‌لیتر محلول سود ۱ مولار بر روی هر نمونه اضافه کرده و با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. طول موج جذبی محلول مورد نظر در طول موج ۳۸۰ نانومتر و نسبت به محلول شاهد قرائت شد. از محلول کوئرستین جهت رسم نمودار استاندارد استفاده شد و میزان فلاونوئید کل عصاره بر اساس mg Qu/100g FW^2 (میلی‌گرم کوئرستین در یک گرم وزن تازه میوه) میوه گزارش شد [۲۵].

از منطقه خان دره‌سی ارومیه بود، تا علاوه بر شناخته شدن هرچه بیشتر فواید دارویی و ظرفیت‌های بالقوه آن‌ها، کمکی در راستای بهره‌برداری، حفظ، اهلی‌سازی و جلوگیری از انقراض این گونه‌های ارزشمند دارویی رویش یافته در عرصه‌های طبیعی صورت بگیرد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- منطقه مورد مطالعه

منطقه خان‌دره‌سی ارومیه با طول جغرافیایی ($37^{\circ} 19' 16''$) و عرض جغرافیایی ($45^{\circ} 07' 09''$)، عرض جغرافیایی ($37^{\circ} 19' 16''$) و ارتفاع از سطح دریا (۱۳۹۲ متر) به دلیل موقعیت خاص آب و هوایی، اقلیمی و جنگلی بودن این منطقه دارای تنوع گیاهی بالایی هست و گیاهان دارویی و معطر نیاز مبرم به تحقیقات وسیعی در زمینه پتانسیل جنگل‌ها و مراتع از نظر برخورداری از گیاهان دارویی بیش از گذشته احساس می‌گردد. به دلایل مذکور منطقه خان‌دره سی ارومیه جهت مطالعه روی ریز میوه‌های دارویی موجود انتخاب گردید.

۲-۲- جمع‌آوری مواد گیاهی

در این مرحله ۱۵ نمونه گیاهی (اندام میوه) از گونه‌های مختلف ریز میوه‌ها پس رسیدن بلوغ تجاری جمع‌آوری و جهت شناسایی به گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه منتقل شدند. نمونه‌های میوه پس از شناسایی گونه برای انجام مطالعات فیتوشیمیایی عصاره‌گیری شدند (جدول ۱).

۲-۳- مواد اولیه

مواد مورد استفاده در این آزمایش از مواد شیمیایی موجود در آزمایشگاه فیزیولوژی گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه تهیه گردید که عبارت بودند از: DPPH، TPTZ، کوئرستین (شرکت سیگما)، گالیک اسید، فولین، سولفوریک اسید، کلرید آلومینیوم، کربنات سدیم، اتانول، نیتريت سدیم، سولفات سدیم، استات سدیم، متانول، سولفات آهن، پلی‌وینیل پیرولیدون، مرکاپتواتانول (شرکت مرک).

۲-۴- عصاره‌گیری نمونه‌های گیاهی

میوه‌های جمع‌آوری شده مختلف با استفاده از ازت مایع پودر

1. Gallic acid
2. Quercetin

Table 1 Medicinal small fruits collected from Urmia Khan-Dareh-si region

Genotype	Plant name	Family	Common name
G1	Cape gooseberry	Solanaceae	<i>Physalis alkekengi</i>
G2	Nightshade	Solanaceae	<i>Solanum luteum</i>
G3	Raspberry	Rosaceae	<i>Rubus ulmifolius</i> sub sp. <i>sanctus</i>
G4	Hawthorn	Rosaceae	<i>Crataegus meyeri</i>
G5	Hawthorn	Rosaceae	<i>Crataegus sakranensis</i>
G6	Barberry	Berberidaceae	<i>Berberis crataegina</i>
G7	Barberry	Berberidaceae	<i>Berberis vulgaris-1</i>
G8	Barberry	Berberidaceae	<i>Berberis vulgaris-2</i>
G9	Barberry	Berberidaceae	<i>Berberis integerima</i>
G10	Rose	Rosaceae	<i>Rosa canina</i>
G11	Rose	Rosaceae	<i>Rosa foetida</i>
G12	Rose	Rosaceae	<i>Rosa hemisphaerica</i>
G13	Elder	Caprifoliaceae	<i>Sambucus nigra marginata</i>
G14	Elder	Caprifoliaceae	<i>Sambucus elbus</i>
G15	Elder	Caprifoliaceae	<i>Sambucus nigra</i>

صاف گردید. محلول صاف شده با متانول به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده شد و به مدت ۱۰ دقیقه و در ۲۶۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. فاز روپی جداسازی و جذب محلول در طول موج‌های ۶۶۶، ۶۵۳ و ۴۷۰ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از متانول به عنوان شاهد استفاده شد. میزان کاروتنوئید و کلروفیل a و b و کلروفیل کل برای هر عصاره با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید [۲۷]:

$$Chl_a^4 = 10/65 A_{666} - 7/340 A_{645}$$

$$Chl_b^5 = 27/05 A_{666} - 11/160 A_{645}$$

$$TChl^6 = Chl_a + Chl_b$$

$$TCC^7 = 1000 A_{470} - 2/270 Chl_a - 81/4 Chl_b / 227$$

A666: جذب در طول موج ۶۶۶ نانومتر، A645: جذب در

طول موج ۶۴۵ نانومتر، A653: جذب در طول موج ۶۵۳

نانومتر، A470: جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر

۹-۲- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP⁸

عصاره میوه و ۳ میلی لیتر معرف تازه FRAP (بافر استات سدیم ۳۰۰ میلی مولار با اسیدیته ۳/۶، TPTZ⁹) باهم مخلوط شدند. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت و جذب آن در طول

4. Chlorophyll a

5. Chlorophyll b

6. Total Chlorophyll

7. Total carotenoid content

8. Ferric Reducing Ability of Power (FRAP)

9. 2,4,6-Tris(2-Pyridyl)-S-Triazine (TPTZ)

۷-۲- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH^۳

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH^۳ ۲۵ میکرولیتر از عصاره متانولی اصلی نمونه را در یک لوله آزمایشی ریخته و به آن ۲۰۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH^۳ (۱۰×۱۰^{-۶} مول بر لیتر ۹۵ درصد رادیکال‌های آزاد) اضافه شد. محلول حاصل را تکان داده در شرایط تاریکی و در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه شیکر شده و جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (MODEI: UV2100) (PC) قرائت شد. جهت تهیه شاهد (Control) نیز به روش بالا عملکرده فقط به جای عصاره از ۲۵ میکرولیتر اتانول ۸۰ درصد استفاده شد [۲۶]. با استفاده از معادله زیر درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی محاسبه شد:

$$DPPHsc\% = \frac{(Abs\ control)_{t=Xmin} - (Abs\ sample)_{t=Xmin}}{(Abs\ control)_{t=Xmin}} \times 100 \quad (1)$$

Abs control: میزان جذب شاهد

Abs sample: میزان جذب نمونه

۸-۲- سنجش میزان کاروتنوئید کل، کلروفیل

کل و کلروفیل a و b

برای سنجش میزان کاروتنوئید و کلروفیل، مقدار ۰/۰۵ گرم از بافت تازه میوه‌ها با ۵ میلی لیتر متانول در یک هاون چینی سرد و در حمام یخ هموژن شد. سپس به هموژنات حاصل ۱ گرم سولفات سدیم بدون آب اضافه و با استفاده از کاغذ صافی،

3. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

۱/۴ میلی مولار مرکاپتواتانول) با $\text{pH} = 7$ کوبیده شد سپس به مدت ۱۵ دقیقه در 12000 دور در دقیقه در دمای 4°C سانتریفیوژ شد. پس از اتمام سانتریفیوژ از عصاره رویی برای سنجش آنزیم استفاده شد. محتوی نمونه برای سنجش آنزیم حاوی 30 میکرولیتر عصاره آنزیمی، 1 میلی لیتر بافر سنجش (بافر بورات $0/1$ مولار، $0/1$ درصد پلیوینیل پیرولیدون و $1/4$ میلی مولار مرکاپتواتانول) با $\text{pH} 8/8$ و 1 میلی لیتر L-فنیل آلانین 12 میلی مولار بود که به مدت 30 دقیقه در حمام آب گرم (بن ماری) با دمای 30°C قرار داده شده و جذب در طول موج 290 nm با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. محاسبه فعالیت آنزیم PAL با استفاده از قانون بیرلامبرت و با ضریب خاموشی 9630 l.cm^{-1} و برحسب n mol FW min انجام گردید.

۲-۱۲- آنالیز آماری

کلیه داده‌های بدست آمده با سه تکرار و به صورت طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 (2003) آنالیز شدند. نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم شدند. همچنین در این تحقیق آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) روی داده‌ها انجام گرفت.

۳- نتایج

۳-۱- محتوای فنول کل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان فنول کل هر 15 ژنوتیپ مورد مطالعه از ریز میوه‌های جمع‌آوری شده در سطح احتمال 1 درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان فنول کل در بین ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان مورد بررسی از $0/96$ تا $0/315$ (mg/g FW) متغیر بود (جدول ۳). بیشترین میزان فنول کل در عصاره حاصل از ژنوتیپ G3 (میوه تمشک) با $0/96$ و کمترین آن در عصاره حاصل از ژنوتیپ G1 (میوه عروسک پشت پرده) با مقدار $0/315$ (mg/g FW) بود.

موج 593 نانومتر و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر نسبت به شاهد خوانده شد. از سولفات آهن برای رسم منحنی استاندارد استفاده گردید و نتایج داده‌ها براساس mmol $\text{Fe}^{++}/\text{g FW}$ بیان شد [۲۸].

۲-۱۰- اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین کل (TAC^{10})

برای اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین کل از روش اختلاف pH ها استفاده شد، برای این منظور ابتدا دو بافر با pH های ۱ و ۴/۵ تهیه شده سپس $2/5$ میلی لیتر از بافر ۱ در لوله آزمایش ریخته بعد از آن 100 میکرولیتر عصاره به محلول ریخته شده در لوله آزمایش اضافه کرده و جذب را در دو طول موج 530 nm و 700 قرائت شد، سپس $2/5$ میلی لیتر از بافر ۲ ($4/5 = \text{pH}$) را در لوله آزمایش دیگر ریخته و 100 میکرولیتر عصاره به آن اضافه کرده و جذب آن نیز در دو طول موج 530 nm و 700 قرائت شد [۲۹]. در نهایت از فرمول زیر برای محاسبه جذب کل هر یک از عصاره‌ها استفاده گردید [۳۰].

$$A = (A_{530} - A_{700}) \text{ pH} = 1 - (A_{530} - A_{700})$$

$$\text{pH} = 4.5$$

محتوای آنتوسیانین کل به وسیله میلی گرم سیانیدین ۳- گلوکوزید معادل 100 گرم وزن تر و طبق فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{TAC} = A * MW * V * DF * 100 / \varepsilon * 100$$

A = جذب، MW = وزن ملکولی، DF = فاکتور رقت و ε = جذب مولی

۲-۱۱- سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL^{11})

برای سنجش فعالیت آنزیم PAL از روش karthikeyan و همکاران (۲۰۰۶) با کمی تغییر استفاده شد [۳۱]. $0/5$ گرم از بافت تازه میوه با استفاده از $1/5$ میلی لیتر بافر استخراج (بافر بورات $0/1$ مولار، $0/1$ درصد پلی وینیل پیرولیدون و

10. Total anthocyanin content
11. Phenylalanine ammonia-lyase

Table 2 Analysis variance of phytochemical properties of medicinal small fruits

Source of variation	Degree of freedom	Mean of square						
		Total phenol (TPC)	Total flavonoid (TFC)	Antioxidant activity (DPPH)	Chlorophyll a (Chl a)	Chlorophyll b (Chl b)	Total Chlorophyll (TChl)	Total carotenoid content (TCC)
Genotype	14	5.963**	57.803**	1740.898**	0.000**	0.004**	18.646**	154.788**
Error	30	0.018	0.848	2.141	0.000	0.000	0.000	0.000
Total	44							
CV%		5.855	12.037	3.437	2.350	1.180	0.624	0.305

** , * and ns are significant at the 1% and 5% level and non-significant respectively.

۳-۲- میزان فلاونوئید کل

بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس میزان فلاونوئید کل عصاره ریز میوه‌های مختلف جمع‌آوری شده نیز نشان دهنده‌ی معنی‌دار این شاخص در سطح احتمال یک درصد بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های بدست آمده از اندازه گیری میزان این شاخص حاکی از متغیر بودن مقدار این شاخص از ۱۴/۴۰۰ در عصاره حاصل از ژنوتیپ G3 (میوه تمشک) تا ۰/۸ (mg Qu/100g FW) در عصاره ژنوتیپ G1 (عروسک پشت پرده) بود (جدول ۳).

۳-۴- میزان کارتنوئید کل

نتایج تجزیه واریانس کارتنوئید کل نشان داد که ژنوتیپ‌های مختلف گیاهی جمع‌آوری شده، تفاوت‌های معنی‌داری با یکدیگر از نظر شاخص ذکر شده، در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ۲). بررسی مقایسه میانگین این شاخص نیز نشان داد که میزان کارتنوئید کل بین ۰/۳۲۳ تا ۲۰/۵۰۸ $\mu\text{g/g}$ FW متغیر بوده که بیشترین میزان آن در ریز میوه آقوی ابلق (G13) و کمترین آن نیز در ژنوتیپ (G1) ریز میوه عروسک پشت پرده گزارش شد (جدول ۳).

۳-۳- میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده به روش DPPH

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریز میوه‌های مورد مطالعه در این شاخص همانند سایر ترکیبات فیتوشیمیایی مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی همانند بیشترین میزان فنول و فلاونوئید کل باز هم در عصاره حاصل از ژنوتیپ G3 (میوه تمشک) با مقدار ۸۶/۶۳۴ درصد و کمترین آن مطابق با ژنوتیپ گیاهی دارنده‌ی کمترین میزان فنول و فلاونوئید کل متعلق به ژنوتیپ G1 (عروسک پشت پرده) با مقدار عددی ۵/۶۶۳ درصد مشاهده شد (جدول ۳).

۳-۵- میزان کلروفیل کل و کلروفیل a و b

نتایج تجزیه واریانس کلروفیل a, b و کل نشان داد که ریز میوه‌های مختلف جمع‌آوری شده از منطقه خان‌دره‌سی ارومیه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد از نظر خصوصیات مذکور داشتند (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها داده‌های میزان کلروفیل a, b و کل در ریز میوه‌های مختلف که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند نشان داد بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به ژنوتیپ (G12) رز (*Rosa hemisphaerica*) معادل ۰/۰۵۴ $\mu\text{g/g}$ FW، کلروفیل b مربوط به ژنوتیپ (G4) زالزالک (*Crataegus meyeri*) معادل ۰/۱۲۳ $\mu\text{g/g}$ FW و کلروفیل کل هم مربوط به ژنوتیپ (G12) رز (*Rosa hemisphaerica*) معادل $\mu\text{g/g}$ FW ۷/۶۶۸ گزارش شد، در حالی که کمترین میزان این فاکتورها مربوط به ژنوتیپ (G11) رز (*Rosa foetida*) بود (جدول ۳).

Table 3 Level of phytochemical compounds and antioxidant activity of medicinal small fruits collected from Urmia Khan-Dareh-si region

TCC	TChl	Chl b	Chl a	DPPH	TFC	TPC	Common name	Code
0.323 ^o	0.200 ^k	0.001 ^m	0.003 ^{fg}	5.663 ^j	0.8 ^h	0.315 ^g	<i>Physalis alkekengi</i>	G1
1.517 ^l	0.140 ^l	0.002 ^{kj}	0.001 ^j	6.817 ^j	1.733 ^{gh}	0.492 ^g	<i>Solanum luteum</i>	G2
5.920 ^g	0.628 ^g	0.010 ^h	0.003 ^h	86.634 ^a	14.433 ^a	5.096 ^a	<i>Rubus ulmifolius</i> sub sp. <i>sanctus</i>	G3
20.028 ^b	7.186 ^b	0.123 ^a	0.021 ^b	54.428 ^c	11.750 ^b	2.113 ^{ed}	<i>Crataegus meyeri</i>	G4
3.642 ⁱ	0.381 ^j	0.004 ^j	0.003 ^g	24.503 ⁱ	3.316 ^g	1.308 ^f	<i>Crataegus sakranensis</i>	G5
5.703 ^h	0.604 ^h	0.010 ^g	0.002 ⁱ	33.038 ^f	5.200 ^{ef}	2.123 ^{ed}	<i>Berberis carataegin</i>	G6
1.819 ^j	0.485 ⁱ	0.009 ⁱ	0.001 ^j	53.435 ^c	11.000 ^{b-d}	2.936 ^c	<i>Berberis vulgaris</i> -1	G7
10.294 ^d	0.991 ^f	0.016 ^e	0.004 ^f	27.429 ^{hi}	4.500 ^{ef}	1.483 ^f	<i>Berberis vulgaris</i> -2	G8
1.064 ⁿ	0.119 ^l	0.002 ^l	0.001 ^j	55.797 ^c	10.200 ^{ed}	2.668 ^c	<i>Berberis integerima</i>	G9
1.352 ^m	0.125 ^l	0.002 ^k	0.000 ^k	31.401 ^{fg}	5.666 ^e	1.410 ^f	<i>Rosa canina</i>	G10
1.619 ^k	0.024 ^m	0.000 ^m	0.000 ^k	85.454 ^a	12.750 ^{ab}	4.923 ^a	<i>Rosa foetida</i>	G11
7.033 ^f	7.668 ^a	0.099 ^b	0.054 ^a	46.592 ^d	5.033 ^{ef}	1.883 ^c	<i>Rosa hemisphaerica</i>	G12
20.508 ^a	2.525 ^d	0.039 ^d	0.011 ^d	59.152 ^b	13.000 ^{ab}	3.913 ^b	<i>sambucus nigra marginata</i>	G13
19.037 ^c	3.036 ^c	0.047 ^c	0.013 ^c	39.667 ^e	9.533 ^d	2.304 ^d	<i>Sambucus elbus</i>	G14
11.441 ^e	1.619 ^e	0.023 ^f	0.009 ^e	31.200 ^{gh}	7.100 ^e	2.096 ^e	<i>Sambucus nigra</i>	G15

Total phenol (TPC) (mg GAE/g FW), Total flavonoid (TFC) (mg Qu/100g FW), Antioxidant activity (DPPH) (%) and Chlorophyll a (Chl a), Chlorophyll b (Chl b), Total Chlorophyll (TChl) and Total carotenoid (TCC) ($\mu\text{g/g}$ FW)

Table 4 Level of phytochemical compounds and antioxidant and enzyme activity of *Rubus ulmifolius* sub sp. *Sanctus*

PAL	TChl	Chlb	Chla	TCC	TAC	FRAP	DPPH	TFC	TPC
80.44	0.628	0.010	0.003	5.920	64.50	17.10	86.634	14.433	5.096
$\mu\text{mol trans-cinnamic acid min}^{-1}$	$\mu\text{g/gFW}$	$\mu\text{g/gFW}$	$\mu\text{g/gFW}$	$\mu\text{g/gFW}$	$\text{mg cyanidin-3-O-glucoside/gFW}$	$\text{mmol Fe}^{2+}/100\text{g FW}$	%	$\text{mg Qu}/100\text{gFW}$	mg GAE/gFW

۶۴/۵۰) بالایی بوده که فعالیت آنتی اکسیدانی این میوه می تواند ناشی از این ترکیب فلاونوئیدی باشد که فعالیت بالای آنزیم PAL ($\mu\text{mol trans-cinnamic acid min}^{-1}$) به عنوان یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز این ترکیب فلاونوئیدی موید همین موضوع است. طی تحقیقی، میوه ها و سبزیجات غنی از آنتوسیانین مانند توت فرنگی، تمشک و آلوئی قرمز، فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی را نشان دادند [۳۲]. در تحقیقی دیگر، همبستگی معنی دار بین

۳-۶- خصوصیات فیتوشیمیایی ریز میوه دارویی انتخاب شده (تمشک) (*Rubus ulmifolius* sub sp. *Sanctus*)

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ریز میوه دارویی تمشک از پتانسیل فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی بالایی برخوردار است. جهت ارزیابی بیشتر این ریز میوه بررسی های دیگری صورت گرفت که نشان داد این میوه دارای آنتوسیانین (mg)

صفات نشان داد که صفات اندازه‌گیری شده همبستگی مثبت معنی‌داری با هم دارند از صفات مهمی که همبستگی آن‌ها در سطح احتمال یک معنی‌دار شده است می‌توان به همبستگی بین میزان محتوای فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ($R^2 = 0.9566$) اشاره کرد و این نشان دهنده آن است که هرچه میزان فنول کل بالاتر باشد میزان فعالیت بیشتر خواهد شد. ترکیبات فنولی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند. مطابق با نتایج مطالعه حاضر، بیشترین میزان فنول کل در ژنوتیپ (G3) مربوط به میوه تمشک هست به دنبال آن نیز بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به همان ژنوتیپ است. از همبستگی دیگر می‌توان به همبستگی بین محتوای فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ($R^2 = 0.9224$) اشاره کرد که در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار هست (شکل ۱). ترکیبات فلاونوئیدی گروه بزرگی از ترکیبات فنولی هستند که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند [۴۰-۴۱]. به عبارت دیگر، هرچه میزان فلاونوئید کل بیشتر باشد میزان فنول کل هم بیشتر می‌شود که همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین میزان فلاونوئید و فنول کل ($R^2 = 0.9045$) موید این موضوع است (شکل ۲).

آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گزارش شد [۳۳]. در تحقیق دیگر، همبستگی بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با آنتوسیانین مشاهده نشد [۳۴]، ولی بین آنتی‌اکسیدان و فنول‌های کل، این ارتباط ثابت شد [۳۵]. تمشک، حاوی غلظت‌های بالایی از آنتوسیانین‌ها و الازیتانین‌ها است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند [۳۶]. آنتوسیانین‌ها برای اهداف درمانی متعددی از قبیل درمان بیماری‌های چشمی ناشی از دیابت، بیماری فیبروسیتیک و بیماری‌های بینایی استفاده می‌شوند [۳۷] همچنین از رشد سلول‌های سرطانی روده بزرگ جلوگیری می‌کنند و چربی خون را کاهش می‌دهند [۳۸]. سیانیدین-۳-گلوکوزید به عنوان آنتوسیانین اصلی تمشک، بیشترین ترکیب آنتوسیانینی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی قوی را دارد و به دنبال آن، سیانیدین-۳-گزیلوزید، سیانیدین-۳-دیاکسیلا گلوکوزید، سیانیدین-۳-روتینوزید و سیانیدین-۳-مالونیل گلوکوزید مقدار کمتری را تشکیل می‌دهند [۳۹].

۷-۳- همبستگی ساده بین خصوصیات

فیتوشیمیایی

ضرایب همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی اندازه‌گیری شده در شکل ۱ به طور کامل آمده است. ضرایب همبستگی ساده بین

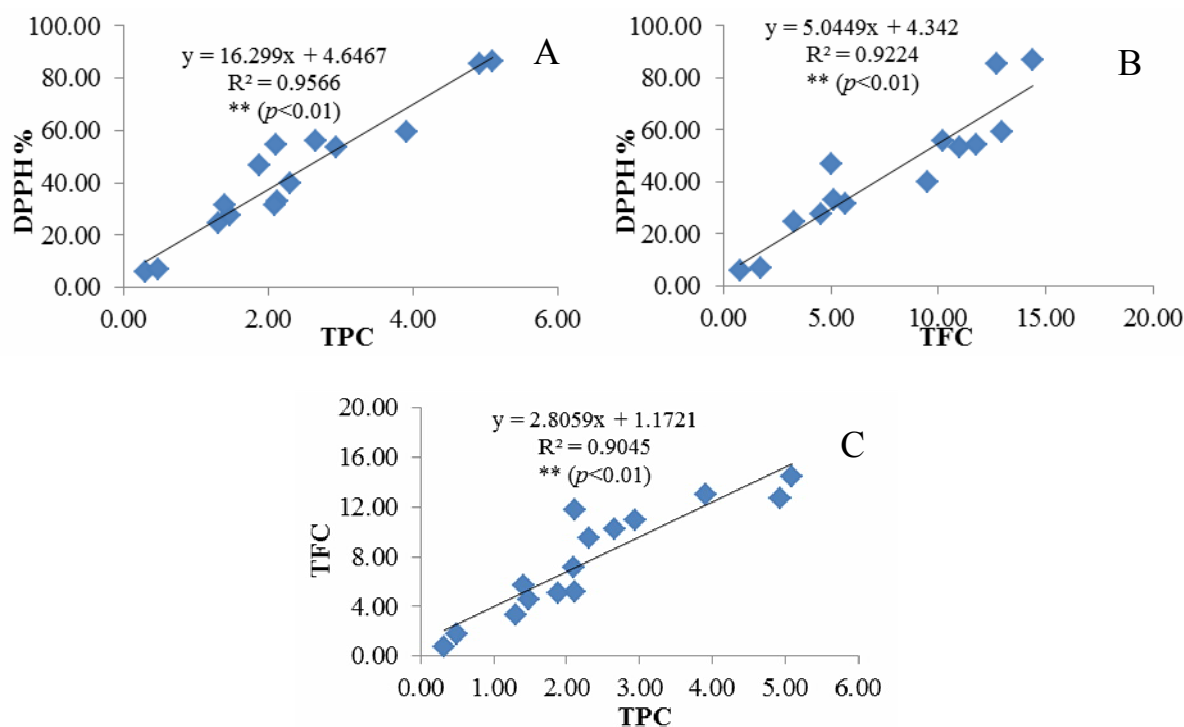


Fig 1 Coefficients of correlation between phytochemical and antioxidant properties of medicinal small fruits

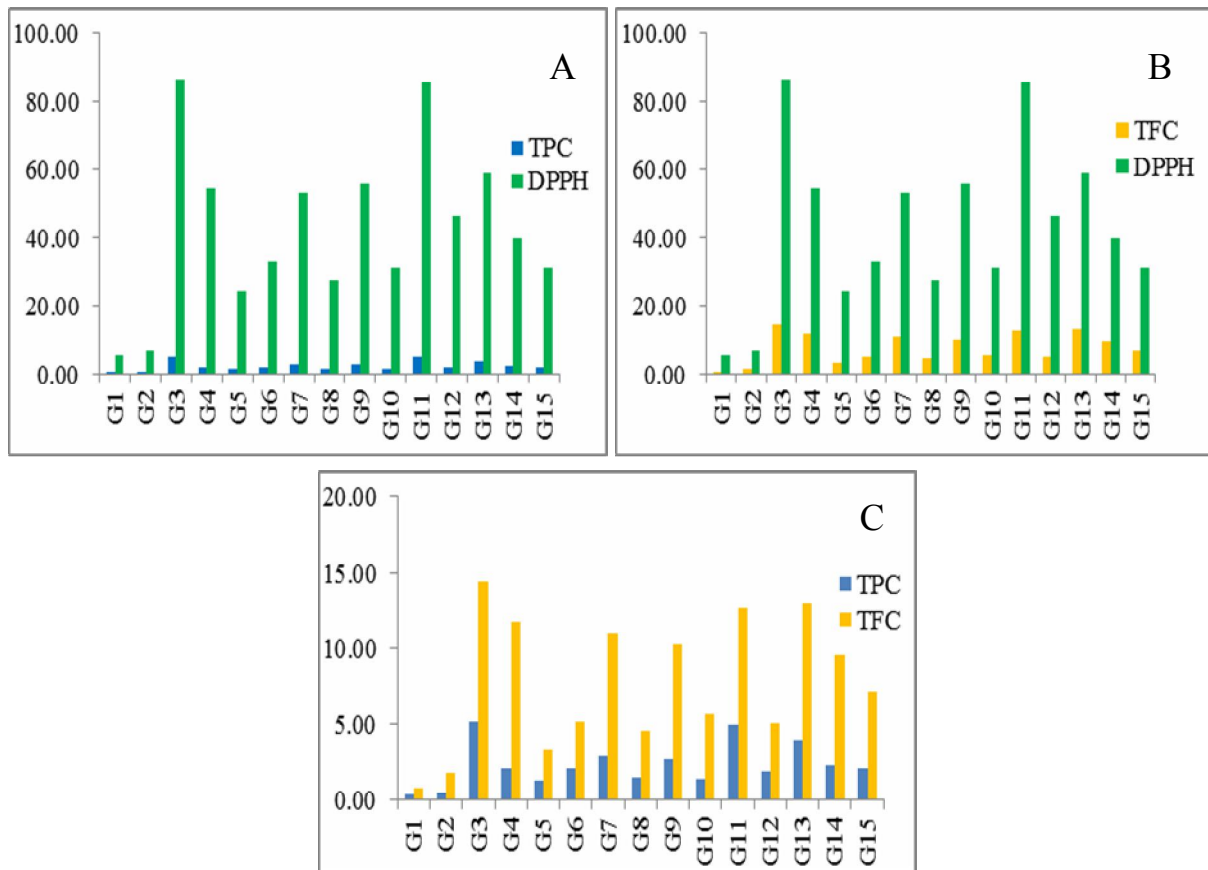


Fig 2 Level and comparison of Correlation between phytochemical and antioxidant properties of medicinal small fruits

لحاظ محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) ریز میوه‌ها متمایز کرد (شکل ۳). طبق این دسته‌بندی ۱۵ ژنوتیپ از ریز میوه‌ها در ۵ گروه قرار گرفتند که در گروه اول G1، G2، G5، G6، G8، G10 و G15، گروه دوم ژنوتیپ‌های G7 و G9، گروه سوم ژنوتیپ‌های G3 و G11، گروه چهارم ژنوتیپ‌های G13 و G14 و در گروه پنجم ژنوتیپ‌های G12، G4 قرار گرفتند که گروه اول دارای کمترین میزان فنول، فلاونوئید و آنتی‌اکسیدان کم، گروه دوم دارای کمترین میزان کلروفیل a، b و کل و کارتنوئید کل کم، گروه سوم دارای بیشترین میزان فنول، فلاونوئید و آنتی‌اکسیدان بیشتر، گروه چهارم دارای حد متوسطی از خصوصیات فیتوشیمیایی و گروه پنجم دارای میزان کلروفیل a، b و کل و کارتنوئید کل بیشتر می‌باشد.

۳-۸- دسته‌بندی گونه‌ها

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بیشترین عمومیت را در بین روش‌های کمومتریک^{۱۲} دارد. با توجه به تعداد متغیرهای مورد مطالعه مشاهده شده در همه آنها، تجزیه و تحلیل چند متغیره، به منظور طبقه بندی کردن نمونه‌ها با توجه به محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، کلروفیل a، b و کل و کارتنوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (با روش DPPH) انجام شد. با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ۷ متغیر اولیه در قالب دو متغیر جدید (دو مؤلفه اصلی) تعیین شدند که این دو مؤلفه در مجموع ۸۸/۱ درصد از تغییرات کل را توجیه نمودند (۷/ ۴۹ درصد برای مؤلفه اول و ۳۸/۴ درصد برای مؤلفه دوم) (شکل ۳). اولین مؤلفه همبستگی بالایی با کلروفیل a، b و کل و کارتنوئید کل ریز میوه‌ها داشت. دومین مؤلفه نمونه‌ها را از

¹². Chemometrics

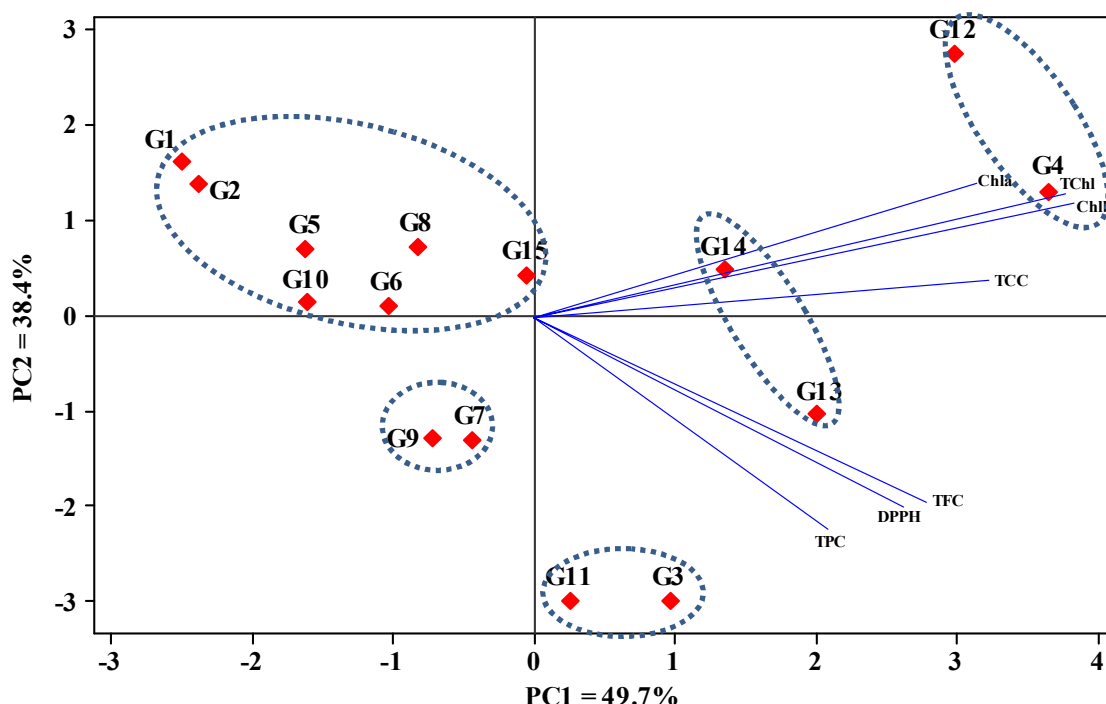


Fig 3 Multivariate analyses of medicinal small fruits based on phytochemical and antioxidant characteristics

۴- بحث

مختلف می‌باشد. در تعدادی از مطالعات انجام شده میزان فنول کل گونه *C. pinnatifidam* GAE/gDW [۴۵]، گونه *C. monogynam* GAE/g DW [۴۶] و گونه *C. oxyacantham* GAE/gDW [۴۷] گزارش شد. تحقیقات نشان داده، ارتفاع، نور، دما و میزان مواد غذایی قابل دسترس در خاک نیز می‌تواند متابولیسم فنیل پروپانوئید را تحت تاثیر قرار دهد [۴۸] و همچنین مرحله بلوغ گیاه در زمان برداشت نیز یکی از فاکتورهای خیلی مهم بر میزان ترکیبات فنولیک می‌باشد که نتایج علیرضالو و همکاران (۲۰۱۵) نیز موید این مطلب می‌باشد [۴۹]. در تحقیق حاضر بیشترین میزان فنول و فلاونوئید کل مربوط به میوه تمشک بود که با سایر مطالعات مطابقت داشت [۵۰]. ترکیبات فنولیکی از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه می‌باشند که از مسیر اسیدشیکیمات سنتز می‌شوند و نقش مهمی را در خنثی سازی رادیکال‌های آزاد تولید شده طی تنش بر عهده دارند [۵۱]. آنتوسیانین یکی از ترکیبات مهم فنولی تمشک، که ایجاد کننده رنگ‌های قرمز و آبی در میوه‌ها و سبزیجات است که نقش مهمی در سلامت انسان دارد از اکسیداسیون لیپوزوم در بدن جلوگیری می‌کنند [۵۲]. آنتوسیانین موجود در میوه تمشک به عنوان متابولیت

با توجه به اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت انسان، تحقیقات بیشتر در زمینه‌ی استخراج، خالص سازی و کاربرد عصاره‌ی گیاهان دارویی در صنایع غذایی و دارویی پیشنهاد می‌شود. به همین خاطر واژه‌ای که از سال ۱۹۵۹ بوسیله استفان دِفلیس ابداع گردید که به صورت زیر تعریف می‌شود "قسمتی از غذا که خاصیت دارویی مفیدی مانند جلوگیری و درمان بیماری‌ها داشته باشد" [۴۲]. مطالعه حاضر ریز میوه‌های جمع‌آوری شده از منطقه خان‌دره‌سی ارومیه را به عنوان غذا دارو معرفی می‌کند. با توجه به مقایسه خصوصیات فیتوشیمیایی ریز میوه‌ها در رویشگاه طبیعی (خان‌دره‌سی) مشخص شد که ریز میوه‌ها مختلف و گونه‌های مختلف ریزمیوه‌های دارویی دارای میزان فنول و فلاونوئید متفاوتی هستند که میزان و نوع این تفاوت و اختلاف مواد موثره ناشی از ژنوتیپ و عوامل محیطی می‌باشد [۴۳] که این کاملاً با نتایج سایر محققین مطابقت داشت. برخی مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که ترکیبات پلی‌فنولیک گیاه تحت تاثیر ژنوتیپ و عادت رشدی می‌باشد [۴۴] نتایج محققین روی گونه‌های مختلف ولیک، حاکی از متفاوت بودن میزان فنول کل در گونه‌های

۶- منابع

- [1] Borneo, R., Leon, E.A., Aguirre, A., Ribotta, P. and Cantero, J.J., 2008. Antioxidant capacity of medicinal plants from the Province of Cordoba (Argentina) and their in vitro testing in model food system. *Food Chemistry*, 112: 664-670.
- [2] Kordi tamandani, E., Valizadeh, J. and Valizadeh, M., 2014. In vitro production of secondary metabolites in *Cicer spiroceras* using elicitors. *Global Journal of Research on Medicinal Plants and Indigenous Medicine*, 3(2): 48-56.
- [3] Mishra, K.P., Ganju, L., Sairam, M., Banerjee, P.K. and Sawhney, R.C., 2008. A review of high throughput technology for the screening of natural products. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 62: 94-98.
- [4] Dawidowicz, A.L., Wianowska, D. and Baraniak, B., 2006. The antioxidant properties of alcoholic extracts from *sambucus nigra* L. (antioxidant properties of extracts). *Journal of LWT-Food Science and Technology*, 39: 308-315.
- [5] Nouri, S., Kiasat, A.R., Kolahi, M., Mirzajani, R. and Seyednejad, S.M., 2016. Phytochemical studies, antioxidants and various optimization methods in order to determine the best method of extracting curcumin extract ethanol from the plant *Curcuma longa* L. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 11(3): 1-11.
- [6] Mohajerani, M., 2012. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Nerium oleander* L. Grown in North of Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 11(4): 1121-1126.
- [7] Tlili, N., Mejri, H., Anouer, F., Saadaoui, E., Khaldi, K. and Nasri, N., 2015. Phenolic profile and antioxidant activity of *Capparis spinosa* seed harvested from different wild habitats. *Nizar. Industrial Crops and Products*, 76: 930-935.
- [8] Morais, D.R., Rotta, E.M., Sargi, S.C., Schmidt, E.M., Bonafe, E.G., Eberlin, M.N., Sawaya, A.C. and Visentainer, J.V., 2015. Antioxidant activity, phenolics and UPLC-ESI-MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels. *Food Research International*, 77: 392-399.
- [9] Ebrahimzadeh, M.A., Pourmorad, F. and Hafezi, S., 2008. Antioxidant activities of

ثانویه، مهم‌ترین ترکیب ایجاد کننده آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های بری (تمشک) هستند [۵۳] این در حالی است که آنزیم PAL یک آنزیم کلیدی در مسیر فنیل پروپانوئیدهاست که فنیل آلانین را به ترنس‌سینامیک اسید تبدیل می‌کند [۵۴]. پیشنهاد شده است که فعالیت آنزیم PAL یک مسئولیت کلیدی تنظیم‌کنندگی در متابولیسم فنیل پروپانوئیدها دارد [۵۵]. به طور کلی فعالیت آنزیم PAL همبستگی بالایی با میزان آنتی‌اکسیدانی میوه دارد که در مطالعه حاضر، بالاترین میزان آنتی‌اکسیدانی مربوط به ژنوتیپ G3 میوه تمشک بوده که مویذ همین موضوع است. بیشترین میزان کلروفیل a, b و کل در مطالعه حاضر به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های G12 (*Rosa hemisphaerica*) و G4 (*Crataegus meyeri*) بوده است که تا حدودی با سایر مطالعات مطابقت دارد.

۵- نتیجه‌گیری نهایی

گیاهان منبع مهمی از ترکیبات هستند که به عنوان متابولیت‌های ثانویه شناخته شده‌اند بررسی مقادیر ترکیبات فعال ثانوی در میوه‌ها و مقایسه آنها نشان داد میوه‌های مختلف دارای میزان و نوع متابولیت‌های ثانویه متفاوتی هستند. به طور کلی نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که میوه‌های مختلف دارای میزان بالایی از ترکیبات فنولی بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارند این نتایج پیشنهاد می‌کنند که ژنوتیپ‌های مختلف ریز میوه‌ها دارای منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بوده و می‌توانند در صنایع غذایی و دارویی کاربرد فراوان داشته باشند در بین ژنوتیپ‌ها مطالعه شده ژنوتیپ‌های ریز میوه‌ها، میوه تمشک غنی‌تر از سایر میوه‌ها می‌باشند، که می‌توانند در محققان صنایع غذایی قرار گیرند با توجه به اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت انسان، تحقیقات بیشتر در زمینه‌ی استخراج، خالص سازی و کاربرد عصاره ریز میوه‌ها بخصوص میوه تمشک در صنایع غذایی و دارویی پیشنهاد می‌شود با شناسایی و کاربرد بیشتر ترکیبات بیولوژیک میوه‌های مختلف می‌توان برای استفاده بهینه از مقادیر انبوه این گیاه در کشور برنامه‌ریزی کرد.

- cultivars. Horticultural Science, 45: 1029-1033.
- [20] Kawai, M., Matsuura, T., Kyuno, S., Matsuki, H., Takenaka, M., Katsuoka, T., Butsugan, Y. Kazuki, Saito., 1987. A New physalin from *Physalis alkekengi*: structure of *physalin L*. Phytochemistry, 26(12), 3313-3317.
- [21] Mazandaran, M. and Cheragoli, M., 2013. Total Alkaloid and Solanin Study in Different Sectors of Stem Cell (*Solanum nigrum L*) in Golestan Province (Northern Iran), The First Regional Conference of Medicinal Plants in the North of Iran, Gorgan, Agricultural Research Center and Resources Natural golestan, RCMPNI01_086.
- [22] Veberic, R., Jakopic, J., Stampar, F. and Schmitzer, V., 2009. European elderberry (*Sambucus nigra L.*) rich in sugars, organic acids, anthocyanins and selected polyphenols, Food Chemistry, 114 : 511–515.
- [23] Vatai, T., Skerget, M. and Knez, Z., 2009. Extraction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. Journal of Food Engineering, 90(2): 246-254.
- [24] Alirezalu, A., Salehi, P., Ahmadi, N., Sonboli, A., Aceto, S., Hatami Maleki, H. and Ayyari, M., 2018. Flavonoids profile and antioxidant activity in flowers and leaves of hawthorn species (*Crataegus spp.*) from different regions of Iran. International Journal of Food Properties, 21(1): 452-470.
- [25] Chang, Q., Zuo, Z., Harrison, F. and Chow, M.S.S., 2002. Hawthorn, Int. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 42: 605–612.
- [26] Nakajima, J.i., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M. and Saito, K., 2004. LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. BioMed Research International, 5: 241-247.
- [27] Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic membranes. Methods in Enzymology, 148: 350-382.
- [28] Zugic, A., Đorđević, S., Arsic, I., Markovic, G., Zivkovic, J., Jovanovic, S., and Tadic, V. 2014. Antioxidant activity and phenolic compounds in 10 selected herbs from Vrujci Spa, Serbia, Ind Crop Prod, 52: 519– 527.
- [10] Sing, R. and Kumari, N., 2015. Comparative determination of phytochemicals and antioxidant activity from leaf and fruit of *Sapindus mukorrossi* Gaertn. – A valuable medicinal tree. Industrial Crops and Products, 73: 1–8.
- [11] Mohamed, H., Ons, M., Yosra, E., Rayda, S., Neji, J. and Moncef, N., 2013. Chemical composition and antioxidant and radical-scavenging activities of *Periploca laevigata* root bark extracts. Journal of the Science of Food and Agriculture, 89(5): 897–905.
- [12] Khanizadeh, Sh., Tsao, R., Rekika, D., Yang, R., Charles, M.T. and Rupasinghe, H.P.V., 2008. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. Journal of Food Composition and analysis, 21: 396-401.
- [13] Jamshidi, M., Ahmadi, H.R., Rezazadeh, S., Fathi, F. and Mazanderani, M., 2010. Study on phenolic and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. Medicinal Plant, 9(34): 177-183.
- [14] Melikoglu, G., Bitis, L. and Mericli, A.H., 2004. Flavonoids of *Crataegus microphylla*. Natural Product Research, 18(3): 211–213.
- [15] Zhang, L., Jianrong, L.I., Hogan, S., Chung, H., Gregory, E. and Zhou, W.K., 2010. Inhibitory effect of raspberries on starch digestive enzyme and their antioxidant properties and phenolic composition. Food Chemistry, 119: 592–599.
- [16] Montazeri, N., Baher, E., Mirzajani, F., Barami, Z. and Yousefian, S., 2011. Phytochemical contents and biological activities of *Rosa canina* fruit from Iran. Journal of Medicinal Plants Research, 5: 18. 4584-4589.
- [17] Imanshahidi, M. and Hosseinzadeh, H., 2008. Pharmacological and therapeutic effects of *Berberis vulgaris* and its active constituent, berberine. Phytotherapy Research, 22: 999–1012.
- [18] Zarei, A., Changizi-Ashtiyani, S., a Taheri, S. and Ramezani, M., 2015. A quick overview on some aspects of endocrinological and therapeutic effects of *Berberis vulgaris L.* Avicenna Journal of Phytomedicine, 5 (6): 485-497.
- [19] Rounsaville, T.J. and Ranney, T.G., 2010. Ploidy levels and genome sizes of *Berberis L.* and *Mahonia nutt.* Species, hybrids, and

- of anthocyanin containing extracts from selected blackberry cultivars: extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. *Journal of Food and Chemical Toxicology*, 47(4): 837-847.
- [39] Wang, W. D., Xu, Sh. Y. 2007. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*, 82(3):271-275.
- [40] Fattahi, M., Nazeri, V., Torras-Claveria, L., Sefidkon, F., Cusido, R.M., Zamani, Z., Palazon, J., 2013. Identification and quantification of leaf surface flavonoids in wild-growing populations of *Dracocephalum kotschyi* by LC-DAD-ESI-MS. *Food Chemistry*, 141:139-146.
- [41] Martins, S., Mussatto, S.I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C.N., Teixeira, J.A., 2011. Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation. A review *Biotechnology Advances*, 29:365-73.
- [42] Tapas, A.R., Sakarkar, D.M. and Kakde, R.B., 2008. Flavonoids as nutraceuticals: A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3): 1089-1099.
- [43] Urbonaviciute A, Jakstas V, Kornysova O, Janulis V and Maruska A. 2006. Capillary electrophoretic analysis of flavonoids in single-styled hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) ethanolic extracts. *Journal of Chromatography A*: 1112, 339-344.
- [44] Orhan DD, Hartevioglu A, Küpeli E, Yesilada E. 2007. In vivo anti-inflammatory and antinociceptive activity of the crude extract and fractions from *Rosa canina* L. fruits. *J. Ethnopharmacol*, 112: 394-400.
- [45] Zhang Z, Chang Q, Zhu M, Huang Y, Hoa WKK. and Chena ZY. 2001. Characterization of antioxidants present in hawthorn fruit. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 12: 144-152.
- [46] Bernatoniene J, Masteikova R, Majiene D, Savickas A, Kevelaitis E, Bernatoniene R, Dvorackova K, Civinskiene G, Lekas R, Vitkevicius K and Peciura R. 2008. Free radical-scavenging activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Medicina* 44(9), 706-712.
- [47] Liu PZ, Kallio H, Lu DG, Zhou CS, Ou SY and Yang BR. 2010. Acids, Sugars, and Sugar Alcohols in Chinese Hawthorn (*Crataegus* spp.) Fruits. *J. Agric. Food Chem* 58: 1012-1019.
- [29] Chung, Y.C., Chen, S.J., Hsu, C.K., Chang, C.T. and Chou, S.T. 2005. Studies on the antioxidant activity of *Graptopetalum paraguayense* E. Walther. *Food Chemistry*, 91: 419-424.
- [30] Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2001. Characterization & measurement of anthocyanins by UV - visible spectroscopy. *Current protocols in food analytical Chemistry*, 47: 777-780.
- [31] Karthikeyan, M., Radhika, K., Mathiyazhagan, S., Bhaskaran, R., Samiyappan, R. and Velazhahan, R. 2006. Induction of phenolics and defense-related enzymes in coconut (*Cocos nucifera* L.) roots treated with biocontrol agents. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18: 367-377.
- [32] Boudet, A. M. 2007. Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, 68:2722-2735.
- [33] Olszewska, M. A., Nowak, S., Michel, P., Banaszczak, P., Kicel, A. 2010. Assessment of the content of phenolics and antioxidant action of inflorescences and leaves of selected species from the genus *sorbus sensu stricto*. *Molecules*, 15: 8769-8783.
- [34] Moyer, R. A., Hummer, K. E., Finn, C. E., Frei, B., Wrolstad, R. E. 2002. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: vaccinium, rubus, and ribes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3): 519-525.
- [35] Prior, R. L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G., Mainland, C.M. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7): 2686-2693.
- [36] Wu, R., Feri, B., Kennedy, A. J., Zhao, Y. 2010. Effect of refrigerated storage and processing technologies on the bioactive compounds and antioxidant capacities of 'Marion' and 'Evergreen' blackberries. *LWT Food Science and Technology*, 43(8):1253-1264.
- [37] Koca, I., Karadeniz, B. 2009. Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea region of Turkey. *Journal of Scientia Horticulture*, 121(4): 447-450.
- [38] Dai, J., Gupte, A., Gates, L., Mumper, R. J. 2009. A comprehensive study

- endothelial cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 3378–3384.
- [53] Mullen, W., McGin, J., Lean, M.E.J., MacLean, M.R., Gardner, P., Duthie, G.G., Yokota, T. and Crozier, A., 2002. Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5191–5196.
- [54] Pérez-Balibrea, S., Moreno, D.-A. and García-Viguera, C. 2011. Improving the phytochemical composition of broccoli sprouts by elicitation. *Food chemistry*. 129: 35-44.
- [55] Jahangir, M., Abdel-Farid, I.B., Kim, H.K., Choi, Y.H. and Verpoorte, R. 2009. Healthy and unhealthy plants the effect of stress on the metabolism of Brassicaceae. *Environmental and Experimental Botany*, 67: 23–33.
- [48] Dixon RA, Paiva NL. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7: 1085-1097.
- [49] Alirezalu, A, Ahmadi, N, Salehi, P, Sonboli, A, Ayyari, M and Hatami Maleki, H. 2015. Antioxidant capacity in different organs of Hawthorn various species (*Crataegus* spp.), *journal of food research*, 25(2): 325-338.
- [50] Piljac-Zegarac, J. and Samec, D., 2011. Antioxidant stability of small fruits in postharvest storage at room and refrigerator temperatures. *Food Research International*, 44:345–350.
- [51] Tosun, I., Ustun, N.S. and Tekguler, B., 2008. Physical and chemical changes during ripening of blackberry fruits. *Science Agriculture*, 65: 87-90.
- [52] Garcia-Alonso, M., Rimbach, G., Rivas-Gonzalo, J.C. and Pascual-Teresa, S., 2004. Antioxidant and cellular activities of anthocyanins and their corresponding vitisins studies in platelets, monocytes, and human

Evaluation and comparison of phytochemical and antioxidant capacity of some small fruits collected from Urmia Khan-Dareh-si region

Ghasemi, Gh. ¹, Alirezalu, A. ^{2*}, Rahmanzadeh-Ishkeh, Sh. ³

1. MSc of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
2. Assistant Professor of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
3. MSc of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

(Received: 2018/05/10 Accepted:2019/03/18)

Recently, due to healthier and nutritional problems of synthetic antioxidants in food processing, using of herbal medicine and its effective components as a natural resources with antioxidant properties have been evaluated. This study was accomplished in order to examine phytochemical and antioxidant capacity of different small fruits in 15 accessions (*Physalis*, *Solanum luteum*, Raspberry, Hawthorn, Barberry, Rose, and Elderberry). After species identification, extraction of samples was conducted using ultrasonic device. Total phenolic content, total flavonoid content, total carotenoid and chlorophyll and antioxidant capacity were determined by using Folin–ciocalteu assays, aluminum chloride method, Lichtentaler method, DPPH respectively. The results showed that significant difference ($p \leq 0.01$) among small fruits phytochemical properties. Total phenolic content was in its highest value (5.096 mg GAE/g FW) in the genotype of G3 (*Rubus ulmifolius* sub sp. *sanctus*), whereas the lowest level (0.315 mg GAE/g FW) was found in the genotype of G1 (*Physalis alkekengi*). Total flavonoid content was in its highest value (14.433 mg /100g FW) in the genotype of G3 (*Rubus ulmifolius* sub sp. *sanctus*), whereas the lowest level (0.8 mg /100g FW) was found in the genotype of G1 (*Physalis alkekengi*). The highest level of total carotenoid content (20.508 μ g/g FW) was found in G13 (*sambucus nigra marginata*). The highest level of antioxidant capacity in DPPH assays (*Rubus ulmifolius* sub sp. *sanctus*) were found in G3 (86.634 %). These results showed that different small fruits especially *Rubus* promising sources of natural antioxidants and other bioactive compounds beneficial to be used in the food or the pharmaceutical industries.

Keywords: Medicinal small fruits, Phenol, Flavonoid, Antioxidant activity, Phytochemical

* Corresponding Author E-Mail Address: a.alirezalu@urmia.ac.ir