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 ازگیاهان دارویی و ترکیبات موثره‌ی آنها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است. در این مطالعه خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی۱۵ ژنوتیپ از ریز میوه‌های مختلف (عروسک پشت پرده، تاجریزی، تمشک، زالزالک (دوگونه)، 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 (۱٤/٤۳۳mg Qu/100g FW) در ژنوتیپ G3 (*Rubus ulmifolius* sub sp. *sanctus*) و کمترین میزان فنول (mg GAE/g FW ۰/۳۱۵) و فلاونوئید کل (۰/۸mg 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 ۸٦/٦۳٤ 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

بنا بر گزارش سازمان جهانی بهداشت، گیاهان دارویی می‌توانند بهترین منبع برای بدست آوردن انواع مختلف از داروها باشند[۱]. در عصر حاضراستفاده 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[٤-۳]. آنتی‌اکسیدان‌ها به دو گروه بزرگ طبیعی و سنتزی تقسیم‌بندی شده که آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شامل ٤ دسته پلی‌فنل‌های فلاونوئیدی، پلی‌فنل‌های غیر فلاونوئیدی، اسیدهای فنولی یادی‌ترپن‌های فنولی و ترکیبات آلیگوگرد دار هستند[٦-٥]. 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 مصرف کنندگان 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 [۸-۷]. 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 بسیاریاز بیماری‌ها از جمله سرطان، تصلب شرائین، آسیب‌های مغزی، دیابت و غیره هستند[۹]. آنتی‌اکسیدان‌هارادیکال‌های آزاد و آسیب ناشی ازگونه‌های فعال اکسیژن را خنثی می‌کنند [۱۰]. در سال‌های اخیر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و یا غیرآنزیمی مانند BHA، TBHQ و BHT 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 آنتی اکسیدان‌ها به کار گرفته می‌شود [۱۲-۱۱]. در 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 استفاده های 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)، آقطی (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 پروسیانیدین‌ها، فلاونوئیدها و تری‌ترپن‌ها است که ترکیبات اصلی موثره در فعالیت‌های بیولوژیکی آن محسوبمی‌شوند [۱٤]. تمشک نیز به علت سرشار بودن از اسید الاژیک، اسید گالیک، کاتکین‌ها، کامفرول و اسیدسالیسیک از فعالیت آنتی اکسیدانی 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 پلی فنول‌ها، 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 [۱٦]. مطالعات زیادی وجود ترکیباتی مانند آلکالوئیدها، آنتوسیانین‌ها، تانن و ویتامین ثرا در زرشک به اثبات رسانده‌اند [۱۹-۱۷]. 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 آقطی [۲۳-۲۲] 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 آنتی‌اکسیدانی۱۵ گونه ریز میوه جمع‌آوری شده

از منطقه خان دره‌سی ارومیه بود، تا علاوه بر شناخته شدن هرچه بیشتر فواید دارویی و ظرفیت‌های بالقوه آن‌ها، کمکی در راستای بهره برداری، 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 ("۰۹ ´۰۷ °۴۵)، عرض جغرافیایی("۱۶ ´۱۹ °۳۷) 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 زمینه‌ی 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) ازگونه‌های مختلف ریز میوه‌ها پس رسیدن بلوغ تجاری جمع‌آوری وجهت شناسایی به گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه منتقل شدند. نمونه‌های میوه پس از شناسایی گونه برای انجام مطالعات فیتوشیمیایی عصاره گیری 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، کلریدآلومینیوم، کربنات سدیم، اتانول، نیتریت 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 شده و عصاره‌گیری متانولی از آنها با استفاده از دستگاه اولتراسونیک انجام گرفت. یک گرم از هر نمونه داخل فالکون‌های ۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شده و پس از اضافه کردن ۲۰ میلی‌لیترمتانول 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 فولین‌سیوکالتیو صورت گرفت. ۲۵میکرولیتر عصاره از محلول استخراج شده اصلی برداشته، سپس ۱/۶ میلی‌لیتر آب دی یونیزه به آن اضافه شد. در مرحله بعد۱۲۰۰ میکرولیتر فولین به مخلوط افزوده و بعد از ۵ دقیقه به آن ۹۶۰ میلی‌لیتر کربنات سدیم۷/۵ 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 قرارگرفت. 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 مقدار۱۰۰میکرولیتر از عصاره متانولی مورد نظر، ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت 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 برروی 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[2] mg Qu/100g FW (میلی‌گرم کوئرسیتین در یک گرم وزن تازه میوه) گزارش شد [۲۵].

1. Gallic acid
2. Quercetin

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

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

۲-۷- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH[3]

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روشDPPH،۲۵ میکرولیتر از عصاره متانولی اصلی نمونه را در یک لوله آزمایشی ریخته و به آن ۲۰۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH (۶×۱۰$^{-۵}$ مول بر لیتر ۹۵ درصد رادیکال‌های آزاد) اضافه شد. محلول حاصل را تکان داده در شرایط تاریکی و در دمای اتاق به مدت۳۰ دقیقه شیکر شده و جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (MODEl: 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:

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

Abs control: میزان جذب شاهد

Abs sample: میزان جذب نمونه

۲-۸- 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 میلی‌لیتر 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، صاف گردید. محلول صاف شده با متانول به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و به مدت ۱۰ دقیقه و در ۲۶۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. فاز رویی 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 وb و کلروفیل کل برای هر عصاره با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید[۲۷]:

Chl_a[4]= ۱۵/ ۶۵ $A_{۶۶۶}$ – ۷/۳۴۰ $A_{۶۴۵}$

Chl_b[5]= ۲۷/۰۵ $A_{۶۵۳/۲۱}$ – $A_{۶۶۶}$

TChl[6] = Chl_a + Chl_b

TCC[7]= ۱۰۰۰$A_{۴۷۰}$– ۲/۲۷۰Chl_a - ۸۱/۴Chl_b / ۲۲۷

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

۲-۹- اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP[8]

عصاره میوه و ۳ میلی لیتر معرف تازه FRAP (بافر استات سدیم ۳۰۰ میلی مولار با اسیدیته ۳/۶، TPTZ[9]) باهم مخلوط شدند. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت و جذب آن در طول

3. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

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)

موج ۵۹۳ نانومتر و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر نسبت به شاهد خوانده شد. از سولفات آهن برای رسم منحنی استاندارد استفاده گردید و نتایج داده ها براساس mmol Fe^{++}/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 pHهای ۱ و ٤/۵ تهیه شده سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از بافر ۱ در لوله آزمایش ریخته بعد از آن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره به محلول ریخته شده در لوله آزمایش اضافه کرده و جذب را در دو طول موج nm ۷۰۰ و ۵۳۰ قرائت شد، سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از بافر ۲ (٤/۵ = pH)را در لوله آزمایش دیگر ریخته و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره به آن اضافه کرده و جذب آن نیز در دو طول موج ۷۰۰nm و ۵۳۰ قرائت شد [۲۹]. در نهایت از فرمول زیر برای محاسبه جذب کل هر یک از عصاره‌ها استفاده گردید[۳۰].

$A = (A_{530} - A_{700})$ $pH = 1 - (A_{530} - A_{700})$
$pH = 4.5$

محتوای آنتوسیانین کل به وسیله میلی‌گرم سیانیدین ۳-گلوکوزید معادل ۱۰۰ گرم وزن تر و طبق فرمول زیر محاسبه شد:

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

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

۲-۱۱- سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL[11])

برای سنجش فعالیت آنزیمPAL از روشkarthikeyan و همکاران (۲۰۰۶) با کمی تغییر استفاده شد [۳۱]. ۰/۵ گرم از بافت تازه میوه با استفاده از ۱/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج (بافر بورات ۰/۱ مولار، ۰/۱ درصد پلی وینیل پیرولیدون و ۱/٤ میلی‌مولارمرکاپتواتانول) با ۷ = pH کوبیده شد سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤℃ سانتریفیوژ شد. پس از اتمام سانتریفیوژ از عصاره رویی برای سنجش آنزیم استفاده شد. محتوی نمونه برای سنجش آنزیم حاوی ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۱ میلی‌لیتر بافر سنجش (بافر بورات ۰/۱ مولار، ۰/۱ درصد پلیوینیل پیرولیدون و ۱/٤ میلی‌مولار مرکاپتواتانول) با ۸/۸ pH و ۱ میلی‌لیترL-فنیل آلانین ۱۲ میلی‌مولار بود که به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (بن ماری) با دمای ۳۰℃ قرار داده شده و جذب در طول موج nm ۲۹۰ با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. محاسبه فعالیت آنزیمPAL با استفاده از قانون بیرلامبرت و با ضریب خاموشی µ-۹۶۳۰l.cmو برحسب n mol FW min انجام گردید.

۲-۱۲- آنالیز آماری

کلیه داده‌های بدست آمده با سه تکرار و به صورت طرح کاملا تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1(2003) آنالیز شدند. نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار 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 ۱۵ ژنوتیپ مورد مطالعه از ریز میوه‌های جمع‌آوری شده در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان فنول کل در بین ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان مورد بررسی از ۵/۰۹۶ تا ۰/۳۱۵ (mg/g FW) متغیر بود (جدول ۳). بیشترین میزان فنول کل در عصاره حاصل از ژنوتیپ G3 (میوه تمشک) با ۵/۰۹۶ و کمترین آن در عصاره حاصل از ژنوتیپ G1 (میوه عروسک پشت پرده) با مقدار ۰/۳۱۵ (mg/g FW) بود.

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 (جدول۲). مقایسه میانگین‌های بدست آمده از اندازه گیری میزان این شاخص حاکی از متغیر بودن مقدار این شاخص از ۱٤/٤۰۰ 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).

۳-۳- 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 ۸٦/٦۳٤ 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 ۵/٦٦۳ درصد مشاهده شد (جدول ۳).

۳-٤- 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 دادکه میزان کارتنوئید کل بین ۰/۳۲۳ تا۲۰/۵۰۸ µg/g FW متغیر بوده که بیشترین میزان آن در ریز میوه آقطی ابلق (G13) و کمترین آن نیز در ژنوتیپ (G1) ریزمیوه عروسک پشت پرده گزارش شد (جدول ۳).

۳-۵- میزان کلروفیل کل وکلروفیلa و b

نتایج تجزیه واریانس کلروفیل a، bو کل نشان داد که ریز میوه‌های مختلف جمع‌آوری شده از منطقه خان‌دره‌سی ارومیه تفاوتمعنی‌داری 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 ۰/۰٥٤ µg/g FW، کلروفیل b مربوط به ژنوتیپ (G4) زالزالک (*Crataegus meyeri*) معادل ۰/۱۲۳µg/g FW و کلروفیل کل هم مربوط به ژنوتیپ (G12) رز (*Rosa hemisphaerica*) معادل µg/g FW ۷/٦٦۸ گزارش شد، در حالی‌که 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}	0.001m	0.003^{fg}	5.663^{j}	0.8^{h}	0.315^{g}	*Physalis alkekengi*	G1
1.517^{l}	0.140^{l}	0.002kj	0.001^{j}	6.817^{j}	1.733^{gh}	0.492^{g}	*Solanum luteum*	G2
5.920^{g}	0.628^{g}	0.010h	0.003^{h}	86.634^{a}	14.433^{a}	5.096^{a}	*Rubus ulmifolius* sub sp. *sanctus*	G3
20.028^{b}	7.186^{b}	0.123a	0.021^{b}	54.428^{c}	11.750b^{c}	2.113^{ed}	*Crataegus meyeri*	G4
3.642^{i}	0.381^{j}	0.004j	0.003^{g}	24.503^{i}	$3.316f^{g}$	1.308^{f}	*Crataegus sakranensis*	G5
5.703^{h}	0.604^{h}	0.010g	0.002^{i}	33.038^{f}	5.200^{ef}	2.123^{ed}	*Berberis carataegin*	G6
1.819^{j}	0.485^{i}	0.009i	0.001^{j}	53.435^{c}	11.000^{b-d}	2.936^{c}	*Berberis vulgaris*-1	G7
10.294^{d}	0.991^{f}	0.016e	0.004^{f}	27.429^{hi}	4.500^{ef}	1.483^{f}	*Berberis vulgaris*-2	G8
1.064^{n}	0.119^{l}	0.002l	0.001^{j}	55.797^{c}	10.200^{cd}	2.668^{c}	*Berberis integerima*	G9
1.352^{m}	0.125^{l}	0.002k	0.000^{k}	31.401^{fg}	5.666^{e}	1.410^{f}	*Rosa canina*	G10
1.619^{k}	0.024^{m}	0.000m	0.000^{k}	85.454^{a}	12.750^{ab}	4.923^{a}	*Rosa foetida*	G11
7.033^{f}	7.668^{a}	0.099b	0.054^{a}	46.592^{d}	5.033^{ef}	1.883^{e}	*Rosa hemisphaerica*	G12
20.508^{a}	2.525^{d}	0.039d	0.011^{d}	59.152^{b}	13.000^{ab}	3.913^{b}	*sambucus nigra marginata*	G13
19.037^{c}	3.036^{c}	0.047c	0.013^{c}	39.667^{e}	9.533^{d}	2.304^{d}	*Sambucus elbus*	G14
11.441^{e}	1.619^{e}	0.023^{f}	0.009^{e}	31.200^{gh}	7.100^{e}	2.096^{e}	*Sambucus nigra*	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) (µg/g FW)

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

PAL	TChl	Chl b	Chl a	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
µmol trans-cinnamic acid min^{-1}	µg/gFW	µg/gFW	µg/gFW	µg/gFW	mg cyanidin-3-O-glucoside/gFW	mmolFe^{+2}/100g FW	%	mgQu/100gFW	mgGAE/gFW

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 آنتی‌اکسیدانی بالایی برخودار است. جهت ارزیابی بیشتر این ریز میوه بررسی‌های دیگری صورت گرفت که نشان داد این میوه دارای آنتوسیانین (mg cyanidin-3-O-glucoside/gFW ٦٤/٥٠) بالایی بوده که فعالیت آنتی‌اکسیدانی این میوه می‌تواند ناشی از این ترکیب فلاونوئیدی باشد که فعالیت بالای آنزیم PAL (µmol trans-cinnamic acid min^{-1} ٨٠/٤٤) به عنوان یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز این ترکیب فلاونوئیدی موید همین موضوع است. طی تحقیقی، میوه‌ها و سبزیجات غنی از آنتوسیانین مانند توت فرنگی، تمشک و آلوی قرمز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را نشان دادند [۳۲]. در تحقیقی دیگر، همبستگی معنی‌دار بین

آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گزارش شد[۳۳]. در تحقیق دیگر، همبستگی بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با آنتوسیانین مشاهده نشد [۳٤]، ولی بین آنتی‌اکسیدان و فنول‌های کل، این ارتباط ثابت شد [۳۵].

تمشک، حاوی غلظت‌های بالایی از آنتوسیانین‌ها و الاژیتانن‌ها است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند [۳٦]. آنتوسیانین‌ها برای اهداف درمانی متعددی از قبیل درمان بیماری‌های چشمی ناشی از دیابت، بیماری فیبروسیستیک 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].

۳-۷- همبستگی ساده بین خصوصیات فیتوشیمیایی

ضرایب همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی اندازه‌گیری شده در شکل ۱ به طور کامل آمده است. ضرایب همبستگی ساده بین 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 انتی‌اکسیدانی 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 [٤۱-٤۰]. 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).

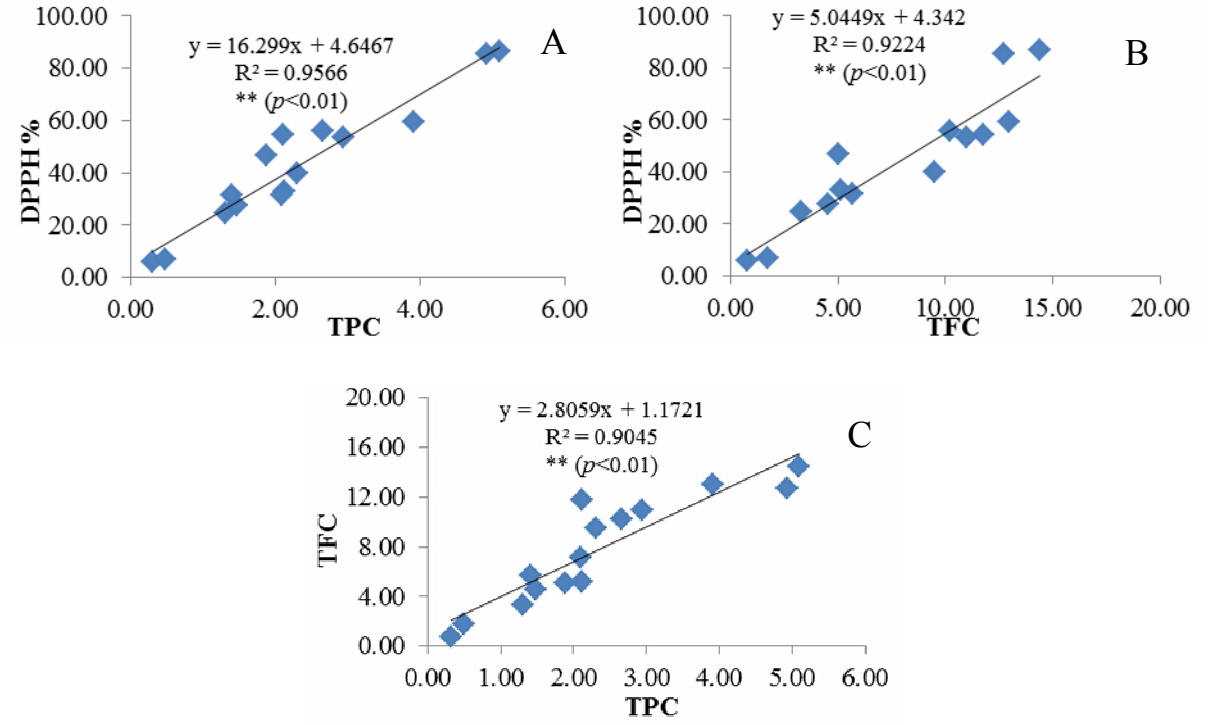

Fig 1 Coefficients of correlation between phytochemical and antioxidant properties of medicinal small fruits

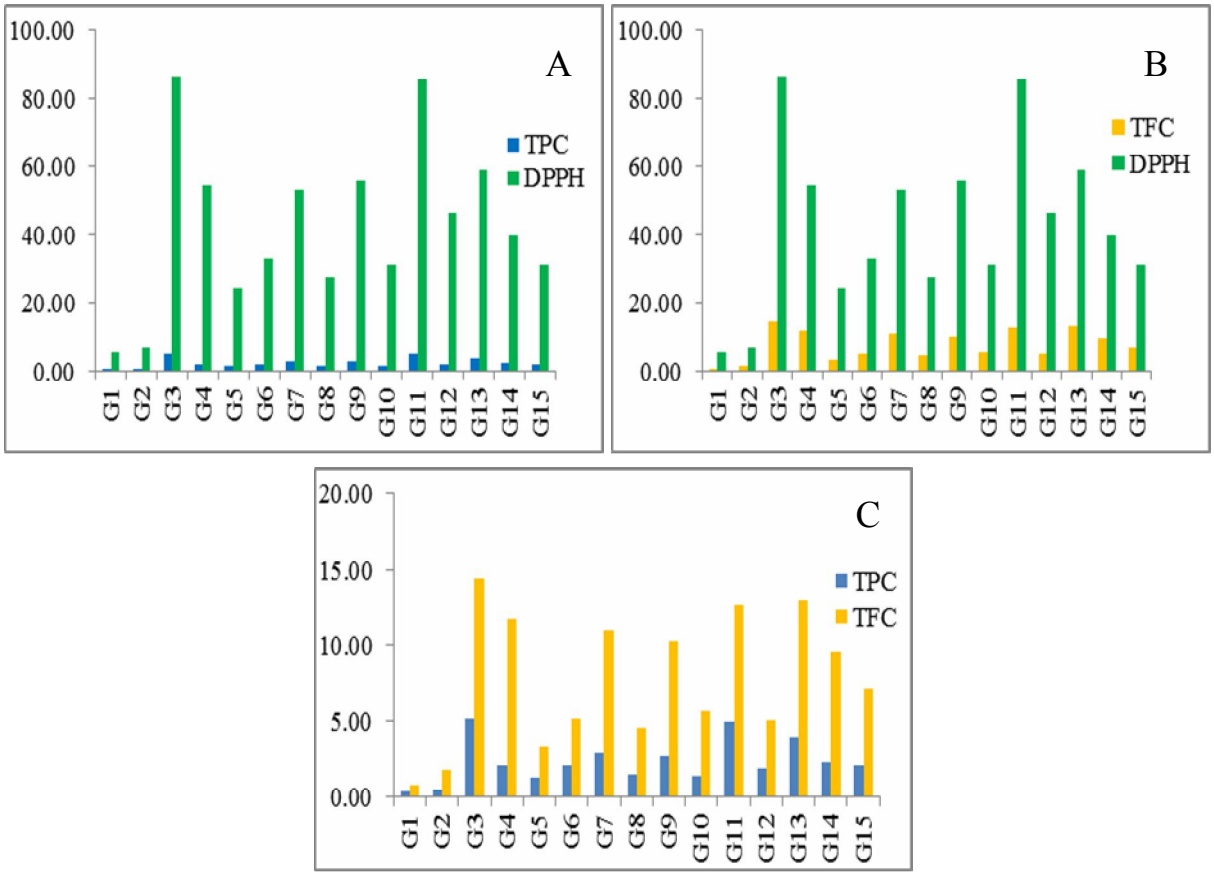

Fig 2 Level and comparison of Correlation between phytochemical and antioxidant properties of medicinal small fruits

۳-۸- دسته‌بندی گونه‌ها

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بیشترین عمومیت را در بین روش‌های کمومتریک[12]دارد. با توجه به تعداد متغیرهای مورد مطالعه مشاهده شده در همه آنها، تجزیه و تحلیل چند متغیره، به منظور طبقه بندی‌کردن نمونه‌ها با توجه به محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، کلروفیلa، b و کل و کارتنوئید کل وظرفیت آنتی‌اکسیدانی (با روشDPPH) 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 مولفه در مجموع۱/ ۸۸ درصد از تغییرات کل را توجیه نمودند (۷/ ٤۹ درصد برای مولفه اول و۳۸/٤ درصد برای مولفه دوم) (شکل۳). اولین مولفه همبستگی بالایی با کلروفیل b،a و کل و کارتنوئید کل ریز میوه‌ها داشت. دومین مؤلفه نمونه‌ها را از لحاظ محتوای فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) ریز میوه‌ها متمایز کرد (شکل۳). 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 ژنوتیپ‌هایG7 و G9، گروه سوم ژنوتیپ‌های G3 و G11، گروه چهارم ژنوتیپ‌های G13 و G14 و در گروه پنجم ژنوتیپ‌هایG12 , 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 فیتوشیمایی و گروه پنجم دارای میزان کلروفیل a، b و کل و کارتنوئید کل بیشتر می‌باشد.

[12]. Chemometrics

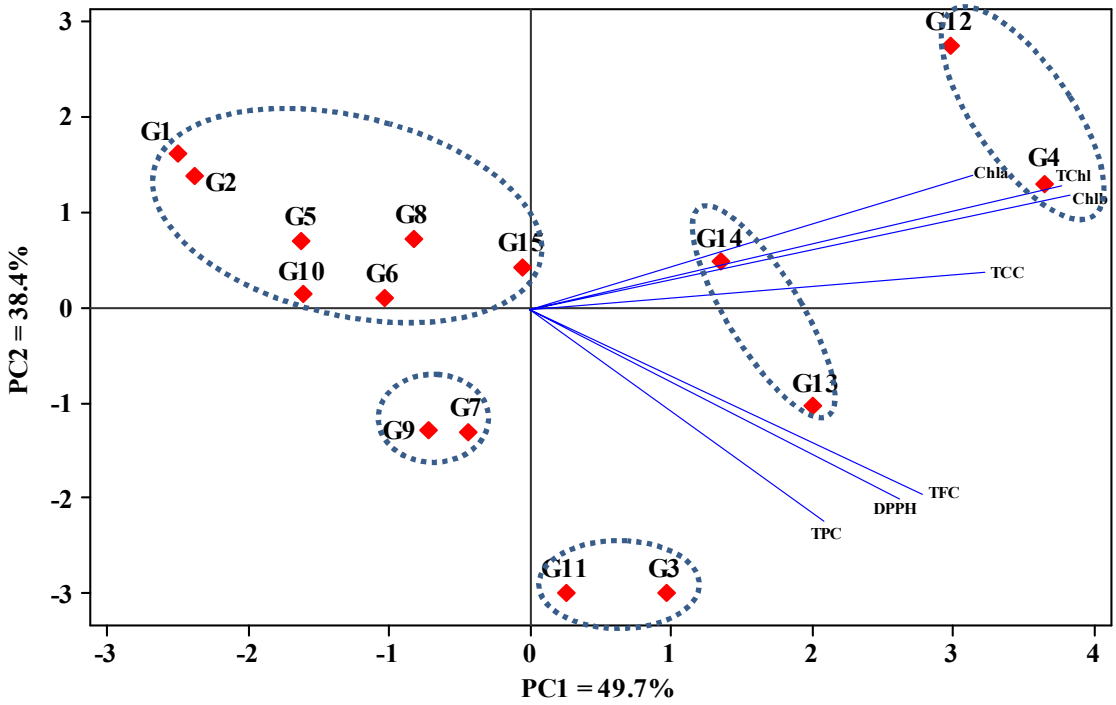

Fig 3 Multivariate analyses of medicinal small fruits based on phytochemical and antioxidant characteristics

٤- بحث

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" [٤٢]. 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[٤٣] که این کاملا با نتایج سایر محققین مطابقت داشت. برخی مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که ترکیبات پلی‌فنولیک گیاه تحت تاثیر ژنوتیپ و عادت رشدی می‌باشد [٤٤] نتایج محققین روی گونه‌های مختلف ولیک، حاکی از متفاوت بودن میزان فنول کل در گونه‌های مختلف می‌باشد. در تعدادی از مطالعات انجام شده میزان فنول کل گونه *C. pinnatifidam*GAE/gDW ۲/۹ [٤٥]، گونه *C. monogynam*g GAE/g DW ۲٦/٤[٤٦] وگونه *C. oxyacanthamg* GAE/gDW ۳٥/٤ و گونه *pinnatifida* mg GAE/g DW ۹٦/۹ [٤٧] 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[٤٨] و همچنین مرحله بلوغ گیاه در زمان برداشت نیز یکی از فاکتورهای خیلی مهم بر میزان ترکیبات فنولیک می‌باشد که نتایج علیرضالو و همکاران (۲۰۱٥) نیز موید این مطلب می‌باشد [٤٩].در تحقیق حاضر بیشترین میزان فنول و فلاونوئید کل مربوط به میوه تمشک بود که با سایر مطالعات مطابقت داشت [٥٠]. 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 [٥١]. 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 [٥٢]. آنتوسیانین موجود در میوه تمشک به عنوان متابولیت

ثانویه، مهم‌ترین ترکیب ایجاد کننده آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های بری (تمشک) هستند [۵۳] این در حالی است که آنزیم PALیک آنزیم کلیدی در مسیر فنیل پروپانوئیدهاست که فنیل آلانین را به ترنسسینامیک اسید تبدیل می‌کند[٥٤]. پیشنهاد شده است که فعالیت آنزیمPAL یک مسئولیت کلیدی تنظیم کنندگی در متابولیسم فنیل پروپانوئیدها دارد[۵۵]. به طور کلی فعالیت آنزیم PAL همبستگی بالایی با میزان میزان آنتی‌اکسیدانی میوه دارد که در مطالعه حاضر، بالاترین میزان آنتی‌اکسیدانی مربوط به ژنوتیپ G3 میوه تمشک بوده که موید همین موضوع است. بیشترین میزان کلروفیل a، b و کل در مطالعه حاضر به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های G12 (*Rosa hemisphaerica*)، G4 (*Crataegus meyeri*) و G12 (*Rosa hemisphaerica*) 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 سایرمیوه‌ها 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.

٦- 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] Dawidowicza, A.L., Wianowska, D. and Baraniak, B., 2006.The antioxidant properties of alcoholic extracts from *sambacus 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* seedsharvested from different wild habitatsNizar. Industrial Crops and Products, 76: 930–935.

[8] Morais, D.R., Rotta, E.M, Sargi, SC., 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

Iranian corn silk. Turkish Journal of Biology, 32: 43-49.

[10] Sing, R. and Kumari, N., 2015. Comparative determination of phytochemicals and antioxidant activity from leaf and fruit of *Sapindus mukorrossi* Gaertn. – Avaluable 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 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., Đordevic, 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.

ofanthocyanin containing extracts from selected blackberry cultivars: extractionmethods, stability, anticancerproperties and mechanisms. Journalof Food and Chemical Toxicology,47(4): 837-847.

[39] Wang, W. D., Xu, Sh. Y. 2007. Degradation kinetics of anthocyaninsin 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, CN., 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, Huangc 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 theantioxidative 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 andcurrent status of research in phenoliccompounds. Phytochemistry, 68:2722-2735.

[33] Olszewska, M. A., Nowak, S.,Michel, P., Banaszcak, P., Kicel, A.2010. Assessment of the content ofphenolics and antioxidant action ofinflorescences and leaves of selectedspeciesfrom the genus sorbus sensustricto. Molecules, 15: 8769-8783.

[34] Moyer, R. A., Hummer, K. E.,Finn. C. E. Frei, B., Wrolstad, R. E.2002. Anthocyanins, phenolics, andantioxidant capacity in diver's smallfruits: vaccinium, rubus, and ribes.Journal of Agricultural and Food andChemistry, 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 asinfluenced by total phenolic andanthocyanin content, maturity andvariety of *Vaccinium* species. Journalof Agricultural and Food Chemistry,46(7): 2686-2693.

[36] Wu, R., Feri, B., Kennedy, A. J.,Zhao, Y. 2010. Effect of refrigeratedstorage and processing technologieson the bioactive compounds andantioxidant capacities of 'Marion'and 'Evergreen' blackberries. LWTFoodScience and Technology, 43(8):1253-1264.

[37] Koca, I., Karadeniz, B. 2009.Antioxidant properties of blackberryand blueberry fruits grown in theBlack Sea region of Turkey. Journalof Scientia Horticulture, 121(4): 447-450.

[38] Dai, J., Gupte, A., Gates, L., Mumper, R. J. 2009. Acomprehensive 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 durin ripening of blackberry fruits. Science Agricultur, 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 beenevaluated.This study was accomplished in order to examine phytochemical and antioxidant capacity of different small fruits in 15 accessions (*Physalis*, *Solanum luteum,* Raspberry, Hawthron, 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 µg/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: Medicinalsmall fruits, Phenol, Flavonoid, Antioxidant activity, Phytochemical

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