بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فیتوشیمیایی میوه گیاه دارویی *Rubus ulmifolius* sub sp. *sanctus* جمع‌آوری شده از منطقه خان‌دره‌سی ارومیه

شیرین رحمن‌زاده ایشکه[1*]، محمدرضا اصغری[2]، حبیب شیرزاد[3]، ابوالفضل علیرضالو[4]

[1]دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[2]استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[3]استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[4]دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۱٤

چکیده

گیاه تمشک (*Rubus ulmifolius* sub sp. *sanctus*) درختچه‌ای چند ساله متعلق به تیره گلسرخیان با عملکرد آنتی‌اکسیدانی و مصارف ارزشمند دارویی و خوراکی ، به صورت خودرو در منطقه خان دره‌سی ارومیه از رویش بهینه ای برخوردار است. در این تحقیق پس از برداشت میوه‌ها از منطقه خان دره‌سی ارومیه در اواخر تابستان سال ۱۳۹۵، میزان اسیدیته به وسیله‌ی pH متر، اسیدهای آلی به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال، مواد جامد محلول با استفاده از دستگاه رفراکتومتر، فنل کل به روش فولین سیوکالتیو، فلاونوئید کل با استفاده از کلرید آلومنیوم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دو روش DPPH و FRAP، آنتوسیانین به روش اختلاف pHها و همچنین آنزیم‌های L-فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و گایاکول‌پراکسیداز (G-POD) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد میزان pH، اسیدهای آلی و مواد جامد محلول به ترتیب برابر با ۳/۲۳، ۱/۱٤ و ۱۲/٦ بودند، همچنین محتوای فنل و فلاونوئید کل به ترتیب ۲٦/٤ میلی‌گرم معادل اسیدگالیک و ۱/۹ میلی‌گرم معادل کوئرسیتین و سپس به‌ترتیب میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان آنتوسیانین کل این گونه از تمشک به ترتیب برابر با ۵۵/۲۹ درصد و ٦۳/۷۸۹ میلی‌گرم سیانیدین ۳-گلیکوزید در هر میلی‌لیتر عصاره گزارش شد و اینکه بدلیل محتوای بهینه پلی‌فنلی و آنتوسیانینی و سپس فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه ، می‌تواند در صنایع غذایی و دارویی کاربرد فراوانی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین کل، آنتی‌اکسیدان، ارومیه، تمشک، فلاونوئید، فنل کل

*نویسنده مسئول: shirinrahmanzade@yahoo.com

مقدمه

تنش‌های اکسیداتیو بیشتر بیماری‌های مزمن مانند سرطان‌ها، ورم مفاصل، بیماری‌های قلبی-عروقی و اختلالات سیستم عصبی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Barros et al., 2010). گیاهان به عنوان دارنده طیف وسیعی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند منبع غنی از ترکیبات فعال بیولوژیکی باشند (Mishra et al., 2008; Dawidowicza et al., 2006). جنس تمشک (*Rubus ulmifolius* sub sp. *sanctus*)، متعلق به تیره Rosaceae (گلسرخ) مشتمل بر گونه‌هایی با برچه‌های گوشتی، آبدار و به هم چسبیده می‌باشد. پراکنش این گیاه در جنگل‌های شمالی کشور، دامنه‌های جنوبی البرز و غرب کشور می‌باشد (یوسفی، ۱۳۹۱). تمشک به علت سرشار بودن از اسیدالاژیک، اسید گالیک، کاتکین‌ها، کامفرول و اسید سالیسیک از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردار بوده و می‌تواند از آسیب‌های ناخواسته به غشای سلولی و دیگر ساختارها در بدن جلوگیری کند. با توجه به میزان بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی همچون ویتامین ث و پلی فنل‌ها، تمشک ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن، در حدود ۱۰۰-۳۰ میلی مول در ۱۰۰ گرم، را دارا است (Zhang et al., 2010). تمشک همچنین منبع بسیار خوبی از ریبوفلاوین، فولات، نیاسین، منیزیم، پتاسیم و مس است. وجود این مواد مغذی و نقش هم‌افزایی آن‌ها بر یکدیگر سبب شده است تا این میوه به عنوان یک منبع خوب برای تامین نیاز روزانه به ریزمغذی‌های گوناگون (آنتوسیانین، پلی‌فنل‌ها، اسید آسکوربیک، فیبر، پروتئین، ویتامین‌ها و مواد معدنی) مورد توجه قرار گیرد (Sarah et al., 2008). میوه و برگ تمشک کاربرد دارویی دارد (میرداودی، ۱۳۸٦). در طب سنتی از این گیاه به‌عنوان یک ضدالتهاب قوی و همچنین دارویی در برابر عفونت‌های چشمی و دهانی و نیز اختلالات معده، روده و اسهال استفاده شده است (Marquina et al., 2002; Schawarz et al., 2003; Barros et al., 2010). تمشک سیاه به دلیل داشتن محتوای زیادی از آنتوسیانین‌ها و الاژیتانن‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی است (Wu et al., 2010). آنتوسیانین‌ها برای اهداف درمانی متعددی مانند بیماری‌های بینایی و همچنین بیماری‌های چشمی ناشی از دیابت استفاده شده (Koca and Karadeniz, 2009) و علاوه بر کاهش چربی خون از رشد سلول‌های سرطانی روده بزرگ جلوگیری به عمل می‌آورند (Dai et al., 2009). در کل هدف ما از انجام این تحقیق بررسی خصوصیات مختلف فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی میوه تمشک بود، تا علاوه بر شناخته شدن هر چه بیشتر فواید دارویی و ظرفیت‌های بالقوه آن، کمکی در راستای بهره‌برداری، حفظ، اهلی‌سازی و جلوگیری از انقراض این گونه ارزشمند گیاهی دارویی رویش یافته در عرصه‌های طبیعی صورت بگیرد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه: میوه‌های مورد استفاده در این آزمایش از منطقه خان دره‌سی که با طول جغرافیایی ("۰۹ ′۰۷ °٤٥)، عرض جغرافیایی("١٦ ′١٩ °٣٧) و ارتفاع از سطح دریا (۱۳۹۲) در ۲۵ کیلومتری شهر ارومیه واقع است، تهیه شد. برداشت در اوایل صبح و از بوته‌های تمشک وحشی روییده در حاشیه رود باراندوز چای واقع در این منطقه انجام شد. ارتفاع بوته‌های تمشک حدود ۲-۱/۵ متر بودند، و تا حد امکان سعی شد میوه‌هایی برداشت شوند که در مرحله بلوغ تجاری بوده (رنگ سیاه) و از نظر رنگ، شکل، و اندازه شبیه به همدیگر و بدون آسیب یا دارای کمترین میزان آسیب دیدگی باشند. میوه‌ها پس از برداشت در جعبه‌های تمیز قرار داده شده و به سردخانه واقع در گروه علوم باغبانی دانشکده

کشاورزی دانشگاه ارومیه انتقال یافتند. اندازه‌گیری شاخص‌های مربوط به صفات شیمیایی مثل TSS TA و pH در همان روز برداشت صورت گرفت. سپس از میوه‌ها عصاره گیری به عمل آمده وعصاره‌های حاصل در فریزر ۲۰ درجه سانتی‌گراد برای نگهداری خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی حفظ شدند. برای اندازه‌گیری هر چه دقیق‌تر فعالیت‌های آنزیمی نیز مقداری از میوه‌ها به وسیله‌ی ازت مایع فریز شده و به یخچالی با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد انتقال یافتند، چرا که به دلیل حساسیت شدید فعالیت‌های آنزیمی به تغییرات دمایی، تا حد امکان نمونه‌ها می‌بایست تا روز اندازه‌گیری از کمترین تنش دمایی برخوردار می‌شدند.

اندازه‌گیری میزان TA[1]، TSS[2] و pH[3]: میزان TSS عصاره با استفاده از دستگاه رفراکتومتر دستی مدل ATAGO ژاپن در دمای آزمایشگاه اندازه گیری شد، برای کالیبره کردن این دستگاه نیز از آب مقطر استفاده گردید (Ayala-Zavala et al., 2007). اسیدیته کل به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال و بر حسب اسید سیتریک محاسبه گردید. به عبارتی دیگر با محلول سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH ۸/۳ تیتر گردید و پس از قرار دادن مقدار سود مصرفی در فرمول زیر اسیدیته بر اساس میلی‌گرم اسید سیتریک در ۲ میلی‌لیتر عصاره میوه محاسبه شد و سپس تبدیل به درصد گردید (Ayala-Zavala et al., 2007).

$$TA = \frac{100*M*N*V}{S*n}$$

در این فرمول TA: مقدار اسیدیته بر اساس میلی گرم اسید سیتریک در ۲ میلی‌لیتر عصاره نمونه، M: وزن مولکولی اسید غالب، n: ظرفیت اسید غالب، V: حجم سود مصرفی، S: مقدار عصاره استفاده شده و N: نرمالیته سود مصرفی می‌باشد. برای اندازه‌گیری pH نیز با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتالی مدل pH (pH-Meter CG 824) آب میوه اندازه‌گیری شد. ابتدا دستگاه با محلول‌های بافری چهار و هفت کالیبره شده و سپس ۱۰ تا ۳۰ میلی‌لیتر از آب میوه را در بشر ریخته و پس از قرار دادن الکترودهای pH متر در محلول، pH مورد نظر قرائت گردید (Jalili Marandi, 2014).

اندازه‌گیری محتوای فنل و محتوای فلاونوئید کل: اندازه‌گیری مواد فنلی با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو انجام شد. برای انجام این کار ابتدا مقدار ۳۰ میکرولیتر عصاره غلیظ در داخل لوله آزمایش ریخته و ۹۰ میکرولیتر آب مقطر به آن اضافه کردیم، پس از آن ٦۰۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد به آن‌ها اضافه نموده و بعد از ۵-۱۰ دقیقه منتظر ماندن ٤۸۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به آن اضافه نموده و پس از قراردادن به مدت نیم ساعت در تاریکی و در دمای اتاق، با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومترقرائت جذب در طول موج ۷٦۰ نانومتر صورت گرفت. جهت رسم منحنی استاندارد نیز از اسید گالیک استفاده شد. میزان فنل کل عصاره‌ها براساس میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر ۱ میلی‌لیتر عصاره میوه گزارش شد (Ebrahimzadeh et al., 2008).

برای سنجش میزان فلاونوئید کل ۵۰ میکرولیتر از عصاره غلیظ را داخل لوله آزمایش ریخته و به آن ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵ درصد اضافه شد، پس از ۵ دقیقه صبر کردن ۳۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد اضافه نموده ودوباره ۵-۱۰ دقیقه صبر شد، بعد از آن ۱۰۰۰ میکرولیتر سود ۱ نرمال را به محلول حاصل اضافه کرده و با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده و جذب مخلوط حاصل در طول موج ۳۸۰ نانومتر نسبت به شاهد قرائت شد. برای رسم منحنی

1. Titratable Acidity
2. Total Soluble Solids
3. Acidity

استاندارد نیز از کوئرسیتین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها براساس میلی‌گرم معادل کوئرسیتین بر ۱ میلی لیتر عصاره میوه گزارش گردید (Chang et al., 2002).

اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین کل: برای اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین کل از روش اختلاف pHها استفاده شد، برای این منظور ابتدا دو بافر با pHهای ۱ و ٤/٥ تهیه شده سپس ۲/٥ میلی لیتر از بافر ۱ در لوله آزمایش ریخته بعد از آن ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره به محلول ریخته شده در محلول حاصل اضافه کرده و جذب را در دو طول موج ۷۰۰nm و ۵۳۰ قرائت شد، سپس ۲/٥ میلی‌لیتر از بافر ۲ (pH = ٤/٥) را در لوله آزمایش ریخته و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره به آن اضافه کرده و جذب آن نیز در دو طول موج ۷۰۰ و ۵۳۰ قرائت شد (Chung et al., 2005) در نهایت با استفاده از فرمول زیر برای محاسبه جذب کل هر یک از عصاره‌ها استفاده شد (Giusti and Wrolstad, 2001).

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

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

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

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

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل به روش DPPH[1] و FRAP[2]: برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل به روش DPPH، ۲۰۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH را (که قبلا آماده شده بود) داخل لوله‌های آزمایش استریل ریخته، سپس ۱۰ میکرولیتر از عصاره میوه تمشک به آن اضافه شده و محلول حاصل در دمای اتاق و در تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه تکان داده شد. جذب محلول حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. جهت تهیه شاهد (بلنک) نیز به روش فوق عمل کرده ولی به جای عصاره متانول ۸۰ درصد استفاده شده و طبق فرمول زیر محاسبه گردید (Nakajima et al., 2004).

$$RSA = \frac{(Abs\ control)t = 30\ min - (Abs\ sample)t = 30\ min}{(Abs\ control)t = 30min} \times 100$$

Abs control: میزان جذب شاهد (بلنک) Abs sample: میزان جذب نمونه

در اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل به روش FRAP، ۵۰ میکرولیتر از عصاره غلیظ میوه تمشک و ۳ میلی‌لیتر معرف تازه FRAP (بافر استات سدیم ۳۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۳/٦، فریک-تریس پریدیل-اس-تریازین۳ و فریک کلرید) با هم مخلوط شده و مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (دمای ۳۷ درجه سانتیگراد) قرار گرفت و جذب آن در طول 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 داده‌ها براساس mmol Fe^{++} /1000ml عصاره بیان شد (Zugic et al., 2014).

سنجش فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL[3]) و گایاکول پراکسیداز (G-POD[4]): برای سنجش فعالیت آنزیم PAL از روش (Karthikeyan et al., 2006) با کمی تغییراستفاده شد. ۰/٥ گرم از بافت تازه میوه با استفاده از ۱/٥ میلی لیتر بافر استخراج (بافر بورات ۰/۱ مولار، ۰/۱ درصد پلی وینیل پیرولیدون و ۱/٤ میلی مولار مرکاپتواتانول) با ۷ =pH کوبیده شد سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. پس از اتمام سانتریفیوژ از عصاره رویی برای

1. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
2. Ferric Reducing Antioxidant Power
3. Phenyl alanine ammonia lyase
4. Guaiacol peroxidase

سنجش آنزیم استفاده شد. محتوی نمونه برای سنجش آنزیم حاوی ۳۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی، ۱ میلی‌لیتر بافر سنجش (بافر بورات ۰/۱ مولار، ۰/۱ درصد پلی وینیل پیرولیدون و ۱/٤ میلی مولار مرکاپتواتانول) با pH ۸/۸ و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر L-فنیل آلانین ۱۲ میلی‌مولار بود که به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (بن ماری) با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده و جذب در طول موج ۲۹۰nm با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. محاسبه فعالیت آنزیم PAL با استفاده از قانون بیرلامبرت و با ضریب خاموشی ۹٦۳۰ l.cm-µ و برحسب n mol FW min انجام گردید.

برای سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (G-POD)، ۰/۱ گرم از بافت تازه میوه را توزین کرده و در داخل هاون چینی موجود روی یخ قرار داده سپس ۱/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج (بافر فسفات پتاسیم ۱۲۵ میلی‌مولار با pH ۷/۸) به آن اضافه نموده و پس از ساییدن محلول رویی را در داخل میکروتیوب ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. جهت سنجش فعالیت آنزیم ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی را داخل لوله آزمایش ریخته و به آن ۲۰۰ میکرولیتر گایاکول ۲۲ میلی‌مولار اضافه شده پس از آن ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۲۵ میلی‌مولار اضافه شد. بعد جهت قرائت، محلول فوق را در داخل سل ریخته و جهت جلوگیری از واکنش سریع پراکسید هیدروژن با محلول حاضر پراکسید هیدروژن را در داخل دستگاه اسپکتروفتومتر اضافه نموده و جذب را در زمان های صفر و ۱ دقیقه بعد از اضافه شدن پراکسید هیدروژن در طول موج ٤۷۰ نانو متر قرائت شد (Bradfard, 1976).

نتایج

میزان TA، TSS و pH عصاره میوه تمشک: نتایج بررسی‌های ما نشان داد که میزان TA عصاره میوه تمشک جمع‌آوری شده از منطقه خان دره‌سی برابر با ۱/۱٤ درصد بود. درصد مواد جامد محلول یکی دیگر از صفات کیفی میوه و از شاخص‌های مهم کیفیت محصول محسوب می‌شود (Vargas et al., 2008). اندازه‌گیری‌ها مشخص کرد که میزان TSS عصاره میوه تمشک برابر با ۱۲/٦ درجه بریکس بود. نتایج اندازه‌گیری‌ها نشان داد که pH عصاره میوه تمشک ۳/۲۳ بود (جدول ۱).

جدول ۱: میزان ترکیبات شیمیایی اندازه‌گیری شده میوه تمشک

صفت	میزان اسیدیته	میزان قند محلول	میزان اسیدهای آلی
میزان	۳/۲۳	۱۲/٦	۱/۱٤
واحد	-	درجه بریکس	درصد

محتوای فنل و فلاونوئید کل عصاره میوه تمشک: اندازه‌گیری‌ها حاکی از آن بودند که میزان فنل کل عصاره میوه تمشک ۲٦/٤٤ میلی‌گرم اسید گالیک بر ۱ میلی لیتر عصاره بود. ارزیابی میزان فلاونوئید کل عصاره نیز نشان داد که مقدار این شاخص در عصاره تمشک ۱/۹٤۰ میلی‌گرم کوئرسیتین بر ۱ میلی‌لیتر عصاره بود (جدول ۲). فلاونوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدان‌هایی شناخته شده‌اند که بر روی سلامت و تقویت انسان اثر مثبت می‌گذارند.

محتوای آنتوسیانین کل عصاره میوه تمشک: نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌ها نشان دادند که میزان آنتوسیانین کل عصاره‌ی تمشک ٦۳/ ۷۸۹ میلی‌گرم در

۱ میلی‌لیتر عصاره بود (جدول ۲). آنتوسیانین‌ها بخشی از گروه فنل‌ها هستند که موجب ایجاد رنگ‌های قرمز، آبی و بنفش در میوه‌ها می‌شوند و همچنین عامل ایجاد رنگ‌های تمشک سیاه نیز هستند (Tosun et al., 2008).

جدول ۲: میزان ترکیبات فیتوشیمیایی اندازه‌گیری شده میوه تمشک

صفت	محتوای فنل کل	محتوای فلاونوئید کل	محتوای آنتوسیانین کل	فعالیت آنتی-اکسیدانی (DPPH)	فعالیت آنتی-اکسیدانی (FRAP)	فعالیت آنزیم PAL	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (G-POD)
میزان	۲٦/٤٤	۱/۹٤	٦۳/۷۸	۵۵/۲۹	۱٦/۷٤	۷۹/۸۷	۰/۰۰۲٤
واحد	میلی‌گرم اسید گالیک بر یک میلی‌لیتر عصاره	میلی‌گرم کوئرسیتین بر یک میلی‌لیتر عصاره	سیانیدین ۳-گلوکوزید بر یک میلی‌لیتر عصاره	درصد	میلی‌مول آهن بر ۱۰۰۰ میلی‌لیتر عصاره	نانو مول بر یک گرم وزن تر در دقیقه	میکرو مول پراکسید هیدروژن بر دقیقه بر یک گرم وزن تر

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره میوه تمشک به روش FRAP و DPPH: اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل با روش DPPH نشان داد که میزان این شاخص ۵۵/۲۹ درصد بود (جدول ۲). همچنین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده با روش FRAP ۱٦/۷٤۳ mmol Fe^{++}/1000ml عصاره بود (جدول ۲). آنتی‌اکسیدان‌ها به ترکیباتی گفته می‌شوند که با دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد باعث تاخیر و یا مانع اکسیداسیون ملکول‌های زیستی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و دئوکسی ریبونوکلئیک اسید می‌شوند (Wang 2014; Dar et al., 2015).

فعالیت آنزیم‌های PAL و G-POD: نتایج آزمایشات ما نشان دادند که میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) ۷۹/۸۷۰ n mol FW min (جدول ۲) و همچنین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (G-POD) نیز ۰/۰۰۲٤ µmol H_2O_2/min/1gfw (جدول ۲) بود. بیوسنتز فنل‌ها و فلاونوئیدها در گیاهان از طریق مسیر شیکمات-فنیل پروپانوئید-فلاونوئیدها انجام می‌گیرد (Tsai et al., 2006).

ضریب همبستگی: در این پژوهش، میزان همبستگی بین ویژگی های فیتوشیمیایی مختلف میوه تمشک مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به میزان همبستگی و مطلوب بودن یا نبودن هر دو صفت، با یکی از آن‌ها می‌توان نسبت به روش اصلاحی قابل قبول برای انتخاب یا حذف ژن‌های کنترل کننده در این صفات تصمیم مناسبی اتخاذ نمود. بالا بودن مقدار همبستگی بین دو صفت ممکن است به دلیل قرار گرفتن ژن‌های کنترل کننده این دو صفت روی یک کروموزوم باشد. اطلاع از چگونگی ارتباط بین صفات مختلف در پیشرفت برنامه‌های به‌نژادی، برای افزایش عملکرد اهمیت زیادی زیادی دارد، زیرا انتخاب یک‌طرفه صفات بدون در نظر گرفتن صفات دیگر نتایج نامطلوبی در پی خواهد داشت. بنابراین در برنامه‌های به‌نژادی باید به به ارتباط بین صفات توجه کرد (Naghavi et al., 2002). همبستگی بین صفات می‌تواند متخصصان اصلاح نباتات را در انجام گزینش غیر مستقیم صفات مهم و از طریق صفاتی که اندازه‌گیری آن‌ها آسانتر است یاری کند. در برنامه‌های اصلاحی انتخاب بر اساس تعدادی از صفات صورت می‌گیرد که ممکن است بین آن‌ها همبستگی مثبت یا منفی وجود داشته باشد. ضرایب همبستگی ساده بین صفات فیتوشیمیایی میوه تمشک اندازه‌گیری شده در

جدول ۳ به‌طور کامل آمده است. ضرایب همبستگی ساده بین صفات نشان داد که برخی از صفات اندازه‌گیری شده همبستگی مثبت و یا منفی با هم دارند. نتایج بررسی همبستگی ساده بین صفات فیتوشیمیایی نشان داد که، محتوای آنتوسیانین کل با محتوای فلاونوئید کل (۰/۸۵٤۱۲) و آن هم با محتوای فنل کل (۰/۹۳۰٦۳) همبستگی مثبتی وجود دارند یعنی با افزایش محتوای آنتوسیانین کل میزان محتوای فلاونوئید کل افزایش یافته و به دنبال محتوای فنل کل هم افزایش می‌یابد. آنتوسیانین‌ها جزء فلاونوئیدها بوده و فلاونوئید ها هم جزئی از ترکیبات فنل می‌باشد. فنل کل با میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH و FRAP) (به‌ترتیب ۰/۹۳۲۵۹ و ۰/۹۸۲٦۸) همبستگی مثبتی دارد. آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) که یک آنزیم کلیدی در بیوسنتز ترکیبات فنلی می‌باشد (Pérez-Balibrea et al., 2011). وجود همبستگی مثبت بین فعالیت آنزیم PAL و میزان ترکیبات فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین (به‌ترتیب ۰/۹۳۳۱۵، ۰/۹٤۲۸۰ و ۰/۹۵۹۹۱) موید این ارتباط است.

جدول ۳: جدول همبستگی بین شاخص‌های فیتوشیمیایی میوه تمشک

	pH	TSS	TA	TPC	TFC	TAC	DPPH	FRAP	PAL	G-POD
pH	۱/۰۰۰۰۰									
TSS	۰/۷٦۳٦۵	۱/۰۰۰۰۰								
TA	-۰/۹۹۸٦۳	-۰/۷۸٦۰۲	۱/۰۰۰۰۰							
TPC	-۰/۹۲۸۳۸	-۰/۹۱۳٤۸	۰/۹٤۵۹٤	۱/۰۰۰۰۰						
TFC	-۰/۷۸۸۱٦	-۰/۹۹۹۰۲	۰/۸۱۰۱۸	۰/۹۳۰٦۳	۱/۰۰۰۰۰					
TAC	-۰/۹۹۲۸۲	-۰/۸۳۳۸٦	۰/۹۹٤۸۱	۰/۹۵٤۲٤	۰/۸۵٤۱۲	۱/۰۰۰۰۰				
DPPH	-۰/۹۹۹۹۳	-۰/۷٦۸۸۷	۰/۹۹۹۱۸	۰/۹۳۲۵۹	۰/۷۹۳۳۲	۰/۹۹۳۵۰	۱/۰۰۰۰۰			
FRAP	-۰/۹۲۹۳۹	-۰/۹٤۷۸۲	۰/۹٤۲۰۸	۰/۹۸۲٦۸	۰/۹۵۹٦۷	۰/۹٦۵۵۷	۰/۹۳۲٤۷	۱/۰۰۰۰۰		
PAL	-۰/۹۱۵۷۰	-۰/۹۳۵۰۱	۰/۹۲۱۳۳	۰/۹۳۳۱۵	۰/۹٤۲۸۰	۰/۹۵۹۹۱	۰/۹۱۷۱۵	۰/۹۸۳۰٦	۱/۰۰۰۰۰	
G-POD	-۰/۸۷۸۹۵	-۰/۹۷٦٤۳	۰/۸۹۷۲۷	۰/۹۷۷۹۸	۰/۹۸٤۸٦	۰/۹۲٦۵٦	۰/۸۸۳۲۹	۰/۹۹۲۲۰	۰/۹٦٦۸۹	۱/۰۰۰۰۰

بحث

میزان pH عصاره نمونه ما (۳/۲۳) در مقایسه با pH اندازه‌گیری شده توسط (Eshghi et al., 2013) pH=۹ کمتر بود. اسیدیته یک پارامتر مهم در کیفیت میوه می‌باشد که با غلظت اسیدهای آلی غالب موجود در میوه به طور مستقیم در ارتباط می‌باشد (Shokrollah Fam et al., 2012). تغییرات اسیدیته به دلیل تنفس میوه در طول رسیدگی می‌باشد، البته در برخی از مطالعات نیز به فعالیت آنزیمی طی نگهداری میوه‌ها اشاره شده است که سبب کاهش اسیدیته میوه می‌شود (Vargas et al., 2006). شاخص pH عصاره میوه به دلیل شکستن کربوهیدرات‌ها و مواد پکتینی، هیدرولیز پروتئین‌ها و تجزیه گیلیکوساکاریدها به واحدهای کوچکتر در طی تنفس دچار تغییر می‌شود (Ayala-Zavala et al., 2007; Akhtar et al., 2010). همانطور که در قسمت نتایج اشاره شد مقدار TA اندازه‌گیری شده ۱/۱٤ درصد بود، که مشابهت زیادی با نتایج پژوهش حسن‌پور (Hassnpour, 2014) داشت زیرا که مقدار TA اندازه‌گیری شده در پژوهش آن‌ها نیز ۱/۱۹درصد بود. اسیدهای آلی توسط فرآیند تنفس برای حمایت فعالیت‌های عادی یک محصول در طول انبارمانی، مصرف می‌شوند (Gao et al.,

2013). طبق نتایج ذکر شده در بالا غلظت مواد جامد محلول موجود در عصاره تمشک ۱۲/٦ واحد بریکس بود که در مقایسه با سایر ریز میوه‌ها به عنوان مثال توت فرنگی، که غلظت مواد جامد محلول در آن ۷ است (Eshghi et al., 2013) از مقدار مواد جامد محلول بیشتری برخوردار است. افزایش در میزان مواد جامد محلول می‌تواند به دلیل تجزیه نشاسته و تبدیل آن به قند باشد (Babalar et al., 2007). میزان مواد جامد محلول موجود در میوه می‌تواند به شاخص‌های مختلفی مانند، اسیدیته، میزان قند موجود در میوه و همچنین پکتین‌های محلول در میوه وابسته باشد. همچنین مطالعات حاکی از آن است که عواملی که باعث کاهش میزان تنفس و تولید اتیلن می‌شوند به واسطه کاهش مصرف قندها از کاهش مواد جامد قابل حل جلوگیری می‌کنند با توجه به بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی میوه تمشک در رویشگاه خان‌دره‌سی ملاحضه شد که میوه تمشک موجود در این رویشگاه دارای میزان قابل توجهی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای فنل کل و فلاونوئید کل است. به طوری که میزان فنل کل این میوه برابر با ۲٦/٤٤ میلی‌گرم اسید گالیک بر ۱ میلی‌لیتر عصاره میوه می‌باشد. در تمامی سلول‌های میوه معمولا ترکیبات فیتوشیمیایی به خصوص پلی‌فنل‌ها در سم‌زدایی پراکسید هیدروژن بسیار کارا عمل کرده و به عنوان سیستم پشتیبان چرخه آسکوربات-گلوتاتیون در دفع رادیکال‌های پراکسید هیدروژن شرکت می‌کنند. ترکیبات فنلی یکی از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه می‌باشند که از مسیر اسید شیکیمات سنتز می‌شوند و نقش مهمی را در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد تولید شده طی تنش بر عهده دارند (Michalak, 2006). ترکیبات فنلی تمشک، از اکسیداسیون لیپوزوم در بدن جلوگیری می‌کنند. این ترکیبات همچنین به صورت قابل ملاحظه‌ای، ظرفیت بالایی را در از بین بردن اکسیژن‌های یکتایی (رادیکال آزاد) نشان داده‌اند و یا به عنوان دهنده هیدروژن ایفای نقش می‌کنند (Dai et al., 2009). این ترکیبات، حاوی گروه‌های هیدروکسیلی هستند که عامل غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد در گیاهان به شمار می‌آیند. فلاونوئیدها به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیلی که عامل غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد درگیاهان به شمار می‌روند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان شناخته شده‌اند این ترکیبات پلی‌فنلی که دارای بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند در این میوه برابر با ۱٦/۹٤ میلی‌گرم کوئرسیتین بر ۱ میلی‌لیتر عصاره میوه می‌باشند. مکانیسم عمل فلاونوئیدها از طریق فرآیند کلاته کردن و یا غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد است (Pourmorad et al., 2006). فلاونوئیدها به علت داشتن توانایی آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت انتقال الکترون‌ها، کاهش پراکسیداسیون هیدروژن و کاهش رادیکال‌های آلفاتوکفرول دارای اثرات حفاظتی مفیدی می‌باشند، علاوه بر این مشخص شده است که ترکیبات فلاونوئیدی دارای خاصیت ضد جهش، ضد میکروبی، ضد ویروس و ضد سرطان نیز هستند (Ghorbani et al., 2010). آنتوسیانین‌ها و پلی‌فنل‌ها در میوه گونه‌های جنس‌های *Vaccinnium*، *Ribes* و *Rubus* در شرایط *in vitro* به صورت شیمیایی بر روی رادیکال‌های آزاد سوپر اکسید تولید شده، فعالیت ضدرادیکالی نشان دادند یه طوری که عصاره-های خام هر سه جنس، فعالیت بسیار قوی روی رادیکال‌های سوپر اکسید داشتند (Duke et al., 2002). در ضمن تغییرات آنتوسیانین به رقم میوه مورد نظر و همچنین ترکیب شاخص مورد بررسی نیز بستگی دارد (Hernandez-Munoz et al., 2008). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو، سیستم آنتی-اکسیدانی خود را فعال می‌کنند و در برابر آسیب‌های اکسیداتیو از طریق تولید آنزیم‌های دفاعی آنتی-

اکسیدانی پاسخ داده و از تخریب سلول‌ها جلوگیری می‌کنند (Gill and Tuteja, 2010). پژوهش‌های پیشین نشان دادند که ارتباط مثبتی بین ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد (Wang et al., 2000) بنابراین بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند با بیشترین ترکیبات فنلی همراه باشد. مطابق نتایج بدست آمده میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطابق با روش DPPH ۵۵/۲۹ درصد بود، که این مقدار در مقایسه با نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌های (Ghorbanli et al., 2009) کمتربود، زیرا که نتایج اندازه‌گیری‌های آن‌ها مشخص نمود که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تمشک برگ نارونی منطقه گلستان ۹۰/٤٥ درصد بود. همان طور که اشاره شد میزان فعالیت آنزیم PAL ۷۹/۸۷۰ n mol FW min بود درحالی که طبق گزارش (Hassnpour, 2014) میزان فعالیت این آنزیم در میوه‌های تمشک جمع آوری شده از منطقه نزدیک دریای کاسپین حدود ٤٠ n mol FW min بود، که این نشان دهنده ی بالا بودن فعالیت آنزیمی در میوه تمشک جمع آوری شده از منطقه خان دره‌سی است، این تفاوت می‌تواند به علت تفاوت در شرایط آب و هوایی و اقلیمی یا همان تاثیر محیط باشد. آنتوسیانین نیز یکی از ترکیبات مهم و بارز این میوه است و پس از برداشت هم افزایش می‌یابد (Hassanpour, 2014). آنزیم PAL نیز یک آنزیم کلیدی در مسیر فنیل پروپانوئیدهاست که فنیل آلانین را به ترنس اسید سینامیک تبدیل می‌کند (Perez-Balibrea et al., 2011). پیشنهاد شده است که فعالیت آنزیم PAL یک مسئولیت کلیدی تنظیم کنندگی در متابولیسم فنیل پروپانوئیدها دارد (Jahangir et al., 2009). پژوهش حاضر میوه تمشک با خاصیت آنتی‌اکسیدانی را به عنوان یک ترکیب غذا دارو معرفی می‌کند. با توجه به ظرفیت غنی گیاهان موجود در در مراتع و جنگل‌های ایران از نظر ویژگی‌های مختلف مانند خواص آنتی‌اکسیدانی و یا سایر ویژگی‌های مطلوب از جمله، سرشار بودن از ترکیبات فیتو شیمیایی و اهمیت زیاد این ترکیبات در علوم مختلف زیستی، به ویژه علم تغذیه، کشاورزی، منابع طبیعی و در نهایت گیاهان دارویی و طب سنتی، لزوم توجه بیش از پیش به این زمینه احساس می‌گردد. در این پژوهش با توجه به نتایج بدست آمده مشخص شد که میوه تمشک درختچه‌های موجود در منطقه خان دره‌سی ارومیه یک منبع غنی از ترکیبات ارزشمند فیتوشیمیایی بوده و لزوم توجه و مطالعه بیشتری را می‌طلبد تا ضمن شناخت، با توجه به پی بردن به اهمیت زیاد این گونه در حوزه‌ی گیاهان دارویی اهلی سازی آن‌ها نیز مورد توجه و دستور کار قرار گیرد این موضوع باعث می‌شود تا علاوه بر بهره بردن از فواید مختلف این گونه گیاهی ارزشمند خطر انقراض آن نیز کاهش یابد.

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طورکلی نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که میوه تمشک دارای محتوای بالایی از ترکیبات پلی‌فنلی بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارد. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که میوه تمشک دارای منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بوده و می‌توانند در صنایع غذایی و دارویی کاربرد فراوانی داشته باشند. با توجه به اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت انسان، تحقیقات بیشتر در زمینه‌ی استخراج، خالص‌سازی و کاربرد عصاره‌ی میوه تمشک در صنایع غذایی و دارویی پیشنهاد می‌شود. با شناسایی و کاربرد بیشتر ترکیبات بیولوژیک تمشک می‌توان برای استفاده بهینه از مقادیر انبوه این گیاه در کشور برنامه‌ریزی کرد.

References

1. Akhtar, A., Abbasi, N.A. and Hussain, A. 2010. Effects of calcium chloride treatments on quality characteristics of loquat fruit during storage. Journal of Botany, 42: 181-188.
2. Ayala-Zavala, J.F., Wang, S.Y. and Gonzalez-Aguilar, G.A. 2007. High oxygen treatment increases antioxidant capacity and postharvest life of strawberry fruit, Food Technology and Biotecchnology, 45: 166-173.
3. Babalar, M., Asghari, M., Talaie, A. and Khosroshahi, A. 2007. Effect of pre and post harvest salicylic acid treatmen on ethylene prodaction, faungal decay and overall qulity of selva strawberry fruit, Food Chemistry, 105: 449-453.
4. Barros, L., Carvalho, A.M., Morais, J.S. and Ferreira, I.C.F.R. 2010. Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits detailed characterization in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties, Journal of Food Chemistry, 120: 247-254.
5. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248–254.
6. Chang, Q., Zuo, Z., Harrison, F. and Chow, M.S.S. 2002. Hawthorn, Int. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 42: 605-612.
7. 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.
8. Dai, J., Gupte, A., Gates, L. and Mumper, R.J. 2009. A comprehensive study of anthocyanin containing extracts from selected Blackberry cultivars extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms. Journal of Food and Chemical Toxicology, 47: 837-847.
9. Dar, T.A., Uddin, M., Khan, M.M.A., Hakeem, K.R. and Jaleel, H. 2015. Jasmonates counter plant stress. Journal of Experimental of Botany, 115: 49-57.
10. 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.
11. Duke, J.A., Bogenschutz-Godwin, M.J., Cellier, J.D. and Duke, P.A.K. 2002. Medicinal herbs. CRC Press LLC, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., 2nd edition, 893p.
12. Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J., Hamidinia, A. and Jafari, M. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. Journal of Pharmacol-online, 1: 7-14.
13. Eshghi, S., Hashemi, M., Mohammadi, A., Badie, F., Mohammad hosseini, Z., Ahmadi, K. and Ghanati, K. 2013. Effect of nano-emulsion coating containing chitosan on storability and qualitative characteristics of strawberries after picking. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 8: 9-19.
14. Gao, P., Zhu, Z. and Zhang, p. 2013. Effects of chitosan–glucose complex coating on postharvest quality and shelf life of table grapes. Carbohydrate Polymers, 95: 371-378.
15. Ghorbani, E., Bakhshi, D., Hajnajari, H., Ghasemnezhad, M. and Taghidoost, P. 2010. Phenolic compounds and antioxidant activity of some native and imported apple cultivars in Karaj Region. Journal of horticulture science, 24(1): 83-90.
16. Ghorbanli, M., Sateei, A. and Livani, F. 2009. Study of antioxidant activity and components of elm-leaved blackberry (*Rubus anatolicus* Focke) plant during ripening period, Journal of Investigation and Application of Medicinal Plants, 2: 25-35.
17. Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Journal of plant physiology and Biochemistry, 48: 909-930.
18. Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. Current protocols in food analytical Chemistry, 47: 777-780.

19. Hassanpour, H. 2014. Effect of *Aloe vera* gel coating on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activities and decay in raspberry fruit. journal LWT- Food science and Technology, 60: 495-501.
20. Hernandez-Munoz, P., Almenar, E., Del Valle, V., Velez, D. and Gavara, R. 2008. Effect of chirosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria × ananassa*) quality during refrigerated storage. Food Chemistry, 110: 428-435.
21. 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.
22. Jalili Marandi, R. 2012. Postharvest physiology (moving and maintaining fruits, vegetables and ornamental plants). Urmia University, Urmia, 276 p.
23. 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.
24. Koca, I. and Karadeniz, B. 2009. Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea region of Turkey. Journal of Scientia Horticulture, 121: 447- 450.
25. Marquina, M.A., Corao, G.M., Araujo, L., Buitrago, D. and Sosa, M. 2002. Hyaluronidase inhibitory activity from the polyphenols in the fruit of blackberry (*Rubus fruticosus* B.). Journal of Fitoterapia, 73: 727-729.
26. Michalak, A. 2006. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Journal of Environmental Studies, 15: 523-530.
27. 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.
28. Naghvi, M.R., Shahbazpour shahbazi, A. and Taleei, A.R. 2002. Study of genetic variation in durum wheat germplasm for some morphological and agronomic characteristics. Iranian Journal of Crop Sciences, 4 (2): 81-88.
29. 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. Journal of BioMed Research International, 5: 241-247.
30. 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.
31. Pourmorad, F., Hosseini Mehr, S.J. and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 5: 1142-1145.
32. Sarah, M., Malowicki, R.M. and - Michaeil, C. 2008. Volatile Composition in Raspberry cultivars grown in the Pacific Northwest determined by Stir Bar sorptive extraction - gas chromatography - mass spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 4128-4133.
33. Schawarz, M., Hillebrand, S., Habben, S., Degenhardt, A. and Winterhalter, P. 2003. Application of high-speed countercurrent chromatography to the large-scale isolation of anthocyanins. Biochemical Engineering Journal, 14(3): 179-189.
34. Shokrollah Fam, S., Hajilou, J., Zare, F., Tabatabaei, S.J. and Naghshiband Hasani, R. 2012. Effects of calcium chloride and salicylic acid on quality and shelf life of plum "golden drop" cultivar. Journal of Food Research (Agriculture science), 22 (1): 75-85.
35. Tosun, I., Ustun, N. S. and Tekguler, B. 2008. Physical and chemical changes durin ripening of blackberry fruits. Science Agriculture, 65: 87-90.
36. Tsai, C.J., Harding, S.A., Tschaplinshi, T.J., Lindroth, R.L. and Yuan, Y. 2006. Genome wide analysis of the structural genes regulating defense

phenylpropanoid metabolism in Populus. New Phytologist, 172: 47-62.

37. Vargas, M., Albors, A., Chiralt, A. and Gonzalez-Martinez, C. 2006. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. Postharvest Biology and Technology, 41: 164-71.
38. Vargas, R.C., Defilippi, B.G., valdes, G.H., Robledo, M.P. and Prieto, E.H. 2008. Effect of harvest time and L-cysteine as an antioxidant on flesh browing of fresh-cut cherimoya (Annon a cherimolaMiLL). Agriculture Research, 68: 217-227.
39. Wang, C.Y., Fan, L.Q., Gao, H.B., Wu, X.L., Li, J.R., Lv, G.Y. and Gong, B.B. 2014. Polyamine biosynthesis and degradation are modulated by exogenous gamma-aminobutyric acid in root-zone hypoxia-stressed melon roots. Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 82: 17-26.
40. Wang, S.Y. and Lin, H.S. 2000. Antioxidant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. Agricultural and Food Chemistry, 48: 140–146.
41. Wu, R., Feri, B., Kennedy, A.J. and 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: 1253-1264.
42. 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 antioxidan properties and phenolic composition. Food Chemistry, 119: 592-599.
43. 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*. Industrial Crops and Products, 52: 519-527.

Evaluation of antioxidant activity and phytochemical constituents of raspberry fruit (*Rubus ulmifolius* sub sp. *sanctus*) collected from Khan-Daracy region of Urmia, west Azerbaijan province of Iran

Rahmanzadeh Ishkeh, Sh.[1*], Asghari, M.R.[2], Shirzad, H.[3], Alirezalu, A.[4]

[1]Ph.D Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[2]Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[4]Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 2017-12-20 ; Accepted: 2018-3-5

Abstract

Raspberry (*Rubus ulmifolius* sub sp. *sanctus*) is a perennial shrub belonging to *Rubus* genus with antioxidant activity and medicinal and food uses. It is growing freely in Khandaracy region of Urmia, west Azerbaijan province of Iran and its fruits are most important in food and medicinal sciences due to their excellent antioxidant activity and various flavonoids and proanthocyanin content. In this study, after harvesting the fruits from this region in late summer 2016, the amount of acidity (by pH meter), organic acids (using titration method with 0.1 molar NaOH), soluble solids (by refractometer), total phenol (using Folin–Ciocalteu assay), total flavonoid (by aluminum chloride method), antioxidant activity (by DPPH and FRAP methods), total anthociyanin content (pH differential method), L-phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and guaiacol peroxidase (G-POD) enzymes were determined.The results showed that the pH, organic acids and soluble solids were 3.23, 1.14 and 12.6, respectively. Also, the content of total phenol and flavonoids was 26.4 mg GAE.ml-1 extract and 1.9 mg Qu. ml-1 extract, respectively. The amount of antioxidant activity and total anthocyanin content were 55.29% and 63.789 mg cyanidin-3-glucoside ml-1 extract, respectively. The results of this study showed that raspberry fruit has high content of polyphenol compounds and has significant antioxidant activity, so it can be used in food and pharmaceutical industries

***Keywords*:** Anthocyanin, Antioxidant, Flavonoid, Raspberry, Total phenol

*Corresponding author; shirinrahmanzade@yahoo.com