Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 51, No 1, Spring 2020 (91-107)
DOI: 10.22059/ijhs.2019.266392.1514

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۱، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۹ (ص ۱۰۷-۹۱)

خواص آنتی‌اکسیدانی برخی از ژنوتیپ‌های زرشک بومی ایران

سمیه طالبی[۱]، مهدی علیزاده[۲*]، سیده ساناز رمضانپور[۳] و عظیم قاسم نژاد[۲]
۱ و ۲. دانشجوی دکتری و دانشیار، گروه باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۳. دانشیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۷/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۲۲)

چکیده

در این پژوهش توانمندی آنتی‌اکسیدانی ۱۵ ژنوتیپ مختلف زرشک به روش‌های چهارگانه DPPH، قدرت کاهندگی آهن، بتاکاروتن لینولئیک اسید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس روش TFPL در سال ۱۳۹۶ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مورد بررسی قرار گرفت. ۱۴ ژنوتیپ دانه‌دار وحشی و یک ژنوتیپ بی‌دانه زراعی زرشک از استان‌های شمال شرق ایران جمع‌آوری و بررسی شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد ژنوتیپ دارای اثر معنی‌داری بر میزان فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و توانمندی آنتی‌اکسیدانی میوه با استفاده از روش‌های DPPH، قدرت کاهندگی آهن، بتاکاروتن لینولئیک اسید و TFPL بود. در این پژوهش بیشترین و کمترین میزان فنل کل به ترتیب به مقدار ۱۶۹و ۱۴۹ میلی‌گرم بر گرم (وزن خشک) در ژنوتیپ‌های درگز۱ و بیرجند بی‌دانه حاصل شد. همچنین ژنوتیپ‌های گلستان۱ و شیروان ۵ به ترتیب بالاترین میزان فلاونوئید (۸۸/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و آنتوسیانین (۶۱۹ میکروگرم بر گرم وزن خشک) را دارا بودند. همچنین نتایج نشان داد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای TFPL اندازه‌گیری شده میوه‌ی ژنوتیپ‌های زرشک در روش‌های مختلف اندازه‌گیری متفاوت بودند. توانمندی آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده با روش‌های مختلف از قبیل روش DPPH، قدرت کاهندگی آهن، بتاکاروتن لینولئیک اسید اسید به ترتیب در ژنوتیپ‌های شیروان٤ (۶۳/۷ میلی‌گرم بر گرم)، بیرجند بیدانه (۵٤/۵ میکرومول بر گرم)، درگز۲ (۷۸ درصد) بیشترین میزان بود. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای TFPL در ژنوتیپ گلستان۳ (۲۹/۹ میکروگرم بر میلی لیتر) بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود. نتایج نشان داد توانمندی آنتی‌اکسیدانی بر مبنای TFPL در ژنوتیپ‌های مختلف زرشک با ترکیبات فنلی رابطه مستقیم دارد و ژنوتیپ‌هایی که دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی به خصوص فنل کل هستند، دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالاتری نیز می‌باشند. نتایج مقایسه روش‌های اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ‌های مختلف زرشک نشان داد روش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای TFPL به دلیل ارتباط بیشتر با ترکیبات آنتی‌اکسیدانت از قبیل فنل کل روش بهتری برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ‌های زرشک بود و ژنوتیپ درگز۱ با مقادیر بالای فنل کل دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است که می‌توان از این ژنوتیپ در مطالعات بالینی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، بتاکاروتن لینولئیک اسید، ترکیبات فنلی، فلاونوئید.

The antioxidant properties of some endemic barberry genotypes of Iran

Somayeh Talebi[1], Mahdi Alizadeh[2*], Sayyedeh Sanaz Ramezanpour[3] and Azim Ghasemnezhad[2]
1, 2. Ph.D. Candidate and Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
3. Associate Professor, Department of Plant Breeding, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
(Received: Oct. 17, 2018 - Accepted: Jan. 12, 2019)

ABSTRACT

In the present research, the antioxidant property of 15 barberry genotypes was assessed by four various methods namely; DPPH, ferric reducing antioxidant power (FRAP), beta-carotene linoleic acid and total antioxidant activity based on TFPL method in Gorgan University of Agricultural Siences and Natural Resources at 2017. The plant materials were 14 seeded berrbery genotypes and a seedless one that already collected from northeastern provinces of Iran. The results of analysis variance showed that the effect of genotype was significant on phenol, flavonoid, anthocyanin, antioxidant capacity of barberry genotypes measured by DPPH, FRAP, beta-carotene linoleic acid and TFPL methods. In this experiment the highest and lowest levels of phenol (169 and 149 mg/g DW) were obtained in Daregaz1 and seedless Birjand genotypes, respectively. Also, Golestan1 and Shirvan5 genotypes had the highest flavonoid (88.6 mg/g) and anthocyanin (619 µmol/g), respectively. The results also showed that the antioxidant properties of barberry fruits were different in all measurement methods. The measured antioxidant capacity by various methods such as DPPH, FRAP, beta-carotene Linoleic acid were the highest in Shirvan4 (63.7 mg/g), seedless Birjand (54.5 µmol/g) and Dargas2 (78%) respectively. The total antioxidant activity based on TFPL method in Golestan3 genotype (29.9 µg/ml) was higher than other genotypes. The results showed that the total antioxidant activity in different barberry genotypes was directly related to phenolic compounds, and genotypes with the higher phenolic compounds, especially total phenols, had higher antioxidant properties. In this study, results of antioxidant activity comparison in different methods for berbery genotypes showed that it was finally determined that the total antioxidant activity based on TFPL method was a better technique for measuring the antioxidant activity in barberry genotypes due to its greater association with antioxidant compounds such as phenols. Furthermore, Daregaz1 genotype had the thigher phenols and therefore showed a high total antioxidant activity, which may be used in clinical studies.

Keywords: Anthocyanin, beta-carotene linavic acid, Flavonoid, Phenolic componds.

* Corresponding author E-mail: mahdializadeh@gau.ac.ir

مقدمه

زرشک (*Berberris* sp.) یکی از گونه‌های بومی ایران می‌باشد که دارای ۵۰۰ گونه بوده و چهار گونه آن در ایران وجود دارد (Kafi *et al*., 2002). تیره زرشک شامل ۱۵ جنس و ۶۵۰ گونه است که بیشتر آنها در مناطق معتدله نیم‌کره شمالی پراکنده‌اند (Gholizadeh Moghadam *et al*., 2017). گونه‌های مختلف گیاه زرشک در جهت اهداف تغذیه‌ای و درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Koncic *et al*., 2010). به عنوان مثال از میوه گونه‌هایی از زرشک مانند زرشک معمولی بی‌دانه با نام علمی *Berberis vulgaris* در طب سنتی برای درمان بیماری‌های کبدی، برونشیت و برخی از بیماری‌های سیستم گردش خون استفاده می‌شود (Blumenthal *et al*., 1998). ریشه و ساقه گونه *B. vulgaris* به دلیل وجود مقادیر بالایی از بربرین و آلکالوئید ایزوکوئینولین، دارای دو خاصیت درمانی و سمیت می‌باشد و اندام‌هایی نظیر برگ‌ها، میوه و گل‌ها به دلیل مقادیر کمتری از این آلکالوئید را دارا می‌باشند (Bernatonienė, 1999; Frohne & Pfänder, 1987). خاصیت درمانی زرشک به دلیل وجود ترکیبات زیست فعال، آلکالوئیدها و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Hassanpour & Alizadeh, 2016). به همین دلیل عصاره استخراج شده از این گونه‌ها دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی بالایی می‌باشد. اکسیداسیون در بسیاری از ارگانیسم‌های زنده در جهت تولید انرژی برای فرایند بیولوژیکی ضروری می‌باشد. در طی متابولیسم طبیعی در اندام‌های مختلف گونه‌های فعال اکسیژن شکل می‌گیرند که ممکن است دارای خواص مخربی برای بافت‌های زنده بوده و به اکسیداسیون ترکیبات آنها منجر شود (Robertson & Harmon, 2006). امروزه استفاده از گروه وسیعی از گیاهان دارویی که حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی هستند مانند ترکیبات فنلی، مورد توجه محققین قرار گرفته است (Kulisic *et al*., 2004). ترکیباتی مانند فنل‌ها از مهمترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی در گیاهان محسوب می‌گردند که قدرت پالایش گونه‌های فعال اکسیژن را دارا می‌باشند (Shahidi, 2000). برخی از ترکیبات طبیعی ممکن است به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت عمل نموده و سبب نابودی این گونه‌های فعال اکسیژن شوند (Kaliora *et al*., 2006). در بین این ترکیبات طبیعی ترکیبات فنلی (فنل‌های ساده، آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها) دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشند (Koncic *et al*., 2010). این ترکیبات با دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد، واکنش‌های اکسیداسیون چربی را مهار می‌کننـد (Ahmadi *et al*., 2007).

ترکیبات استخراج شده از اندام‌های مختلف گیاه زرشک دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده که ممکن است در اندام‌ها مختلف این خواص متفاوت باشد (Martynov *et al*., 1984). به‌عنوان مثال عصاره استخراج شده از ریشه زرشک حاوی آلکالوئید بربرین (Sabir *et al*., 1978)، عصاره اندام هوایی زرشک حاوی انواع فلاونوئیدها (Gilgun-Sherki *et al*., 2001)، اسید آسکوربیک، توکوفرول‌ها و بتاکاروتن (Ferre *et al*., 2001) و ترکیبات آنتوسیانینی مختلف (Silic, 2005) بوده که همگی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. به علاوه میوه زرشک نیز دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده و دارای توان بالایی در پالایش رادیکال‌های آزاد واکنش‌گر می‌باشد (Sasikumar *et al*., 2012). بیشتر خاصیت آنتی‌اکسیدانی میوه زرشک ناشی از وجود ترکیبات فنلی می‌باشد (Hanachi & Golkho, 2009). عصاره استخراج شده از میوه زرشک بی‌دانه معمولی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی بوده و قابلیت حیات را در سلولهای آسیب دیده از سرطان در شش انسانی را افزایش می‌دهد (Hanachi *et al*., 2006). عصاره استخراج شده از ریشه و ساقه زرشک بی‌دانه از پراکسیداسیون لیپید و خسارت به DNA ممانعت نموده، درحالی‌که عصاره استخراج شده از میوه آن دارای فعالیت ضد اکسایشی کمتری می‌باشد (Schaffer & Heinrich, 2005). به‌هر حال میوه زرشک دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد (Ozgen *et al*., 2012). ترکیبات فنولی میوه زرشک از قبیل آنتوسیانین‌ها و رنگدانه‌های کاروتنوئیدی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی

بوده که از سلول‌ها محافظت می‌نمایند (Kuo *et al.*, 2004; Tomosaka *et al.*, 2008). توانایی عصاره استخراج‌شده از میوه زرشک در پالایش رادیکال DPPH وابسته به وجود ترکیباتی از قبیل فنول‌ها و فلاونوئیدهای می‌باشد (Koncic *et al.*, 2010).

روش‌های آزمایشگاهی مختلفی برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مختلف استخراج شده از گیاهان مختلف وجود دارد. روش فولین سیوکالتیو، DPPH، قدرت کاهندگی آهن و همچنین روش بتاکاروتن لینولئیک اسید مثال‌هایی از این روش‌ها می‌باشند که به‌وسیله آنها پایداری رادیکال‌های آزاد به‌وسیله انتقال الکترون یا اتم هیدروژن تعیین می‌گردد (Fernandes *et al.*, 2016). برای یک نمونه خاص ممکن است که روش‌های مختلف نتایج مختلفی از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی نشان دهند که می‌توان این تفاوت‌ها را با استفاده از نمونه‌برداری پر تکرار و آنالیزهایی مانند تجزیه کلاستر به حداقل رساند (Capitani *et al.*, 2009). این رویکرد می‌تواند برای انتخاب ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر مناسب باشد (Sharifi & Pourakbar, 2016; Fernandes *et al.*, 2016). این تفاوت ها ممکن است به دلیل تفاوت در روش و یا ترکیباتی باشد که برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به کار می‌رود. بنابراین مقایسه کامل یک روش با سایر روش‌ها بسیار سخت می‌باشد (NurAlam *et al.*, 2013). روش‌های مختلف استخراج و درجه قطبیت حلال‌های مختلف مورداستفاده، میزان استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را تحت تأثیر قرار داده و ممکن است نتایج متفاوتی داشته باشد (Suzuki *et al.*, 2002). به عقیده آنها حلال‌های اتانول و متانول به‌صورت مخلوط با آب توانایی بیشتری نسبت به حالت خالص در استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدان از بافت‌های گیاه دارند که ممکن است منجر به نتایج متفاوتی در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها گردد. همچنین بین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره استخراج شده از گیاهان و ترکیباتی فنولی ارتباط مستقیمی وجود دارد، به طوری که با افزایش ترکیبات فنولی از قبیل فنل کل در گیاهان، خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراج‌شده نیز افزایش می‌یابد (Aksoy *et al.*, 2013). از این‌رو، هدف از اجرای این تحقیق بررسی میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره ژنوتیپ‌های مختلف زرشک و همچنین مقایسه روش‌های مختلف استخراج برای اندازه‌گیری توانمندی آنتی‌اکسیدانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی

این آزمایش در سال ۱۳۹۶ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. در این مطالعه ابتدا رویشگاه‌های مورد نظر بازدید شده و توده‌های زرشک شناسایی شدند. سپس تعداد ۱۴ ژنوتیپ وحشی زرشک دانه‌دار استان خراسان و گلستان و یک نمونه زرشک زراعی بی‌دانه بیرجند جمع‌آوری شدند. آدرس و ارتفاع از سطح دریا مربوط به محل جمع‌آوری نمونه‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

آماده‌سازی نمونه‌ها

پس از جمع‌آوری، نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده و در یخچال نگه‌داری شدند. میوه‌ها با استفاده از غربالهای دستی تمیز شدند و تمامی مواد خارجی از جمله خارها، برگ‌ها، میوه‌های نارس و خردشده از آنها جداسازی شدند. اندازه‌گیری ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و تعیین توانمندی آنتی‌اکسیدانی از میوه‌های زرشک صورت گرفت. برای اندازه‌گیری فنل و فلاونوئید مقدار یک گرم نمونه خشک را در ۱۰ میلی‌لیترمتانول ۸۰ درصد حل و به‌مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار گرفت و پس از عبور از کاغذ صافی میزان فنل و فلاونوئید به‌صورت زیر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فنل

برای اندازه‌گیری فنل، از روش پیشنهادی مک دونالد استفاده شد و میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (McDonald *et al.*, 2001). پس از محاسبه، مقدار فنل کل برحسب میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک گزارش گردید.

اندازه‌گیری فلاونوئید

اندازه‌گیری مقدار فلاونوئید ب اساس روش Cheng *et al.* (2002) انجام شد. در این روش میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شده و مقدار فلاونوئید بر حسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک گزارش گردید.

اندازه‌گیری آنتوسیانین

مقدار یک گرم نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (۹۹ میلی‌لیتر متانول اسیدی و یک میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک) ساییده و عصاره به‌مدت ۲۴ ساعت روی شیکر در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. در این آزمایش ضریب جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و مقدار آنتوسیانین بر حسب میکرومول بر گرم وزن خشک گزارش شد (Wanger, 1979).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه‌ها از طریق خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH (۱ و ۱- دی فنیل ۲- پیکریل هیدرازیل) از روش یلدیریم و همکاران (Yildirim *et al.*, 2001) تعیین گردید. در این روش ۳۰ میکرولیتر از عصاره سانتریفیوژشده با ۹۷۰ میکرولیتر محلول DPPH مخلوط و به سرعت هم زده شده، سپس در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه در شرایط تاریکی تا رسیدن محلول به حالت یکنواخت نگهداری شد. کاهش میزان جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به‌صورت درصد بازدارندگی DPPH محاسبه شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از طریق قدرت کاهندگی آهن

در روش اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از قدرت کاهندگی آهن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه‌ها با استفاده از قدرت کاهندگی آهن از روش تن و همکاران تعیین گردید (Then *et al.*, 2003). به این منظور ابتدا مقدار ۰/۱ گرم از آب میوه با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر در یک هاون چینی سرد و در حمام یخ هموژن شد و سپس محلول هموژن حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و از کاغذ صافی عبور داده شد. سپس به ۵۰ ماکرولیتر از عصاره به‌دست‌آمده ۱/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP اضافه شد و جذب محلول‌ها در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت گردید. در پایان توانایی احیاکنندگی عصاره‌ها بر اساس میلی‌مول یون فروس تولید شده بر گرم وزن تر گیاه بیان شد.

جدول ۱. مکان و ارتفاع از سطح دریا مربوط به محل جمع‌آوری ژنوتیپ‌های زرشک

Table 1. Location and altitude (mean sea level) related to the sites of collecting barberry genotypes

Genotype code	Fruit color	Height from sea level (m)	Altitude	Collection sites address
Daregaz1	Black	1376	N37 31, E59 01	Khorasan Razavi, Quchan Road, Ghaza-Dagh Valley, Gharakhan Valley
Daregaz2	Black	1376	N37 31, E59 01	Khorasan Razavi, Quchan Road, Ghaza-Dagh Valley, Gharakhan Valley
Daregaz3	Red	1385	N37 31, E59 01	Khorasan Razavi, Quchan Road, Ghaza-Dagh Valley, Gharakhan Valley
Shirvan1	Red	1434	N37 28, E57 58	North Khorasan, Shirvan, between Ghangalat and Hanameh
Shirvan2	Black	1429	N37 28, E57 58	North Khorasan, Shirvan, between Ghangalat and Hanameh
Shirvan3	Black	1505	N37 28, E57 58	North Khorasan, Shirvan, between Ghangalat and Hanameh
Shirvan4	Black	1052	N37 28, E57 58	North Khorasan, Shirvan, between Ghangalat and Hanameh
Shirvan5	Black	1558	N37 28, E57 58	North Khorasan, Shirvan, between Ghangalat and Hanameh
Golestan1	Black	1945	N36 45, E55 02	Golestan Province-Gorgan-Toskestan-Road- Abr Forest
Golestan2	Red	2077	N36 47, E54 26	Golestan-Gorgan province-Toskestan Road-Shah Kuh
Golestan3	Red	2090	N36 47, E54 26	Golestan-Gorgan province-Toskestan Road-Shah Kuh
Golestan4	Black	2080	N36 47, E54 26	Golestan-Gorgan province-Toskestan Road-Shah Kuh
Golestan5	Black	1804	N37 06, E55 31	Golestan Province -Ramiyan Road -Olang
Golestan6	Black	1771	N36 46, E55 04	Golestan Province - Shahrood Azadshahr road
Birjand Bidane	Red	1491	N32 87, E59 21	Southern Khorasan-Birjand

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از معرف بتاکاروتن- لینولئیک اسید

در روش اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از معرف بتاکاروتن- لینولئیک اسید از روش بنزی و استرین استفاده شد (Benzi & Strain, 1996). در این روش به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از آب میوه رقیق شده با متانول، ۳ میلی‌لیتر معرف بتاکاروتن- لینولئیک اسید اضافه و جذب اولیه این محلول در زمان صفر در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس محلول به مدت ۶۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و جذب نمونه‌ها در همان طول موج قبلی قرائت گردید.

اندازه‌گیری‌فعالیت آنتی‌اکسیدانی برمبنای روش TFPL

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای TFPL از روش سان و همکاران اندازه‌گیری شد (Sun *et al*., 2011). در این روش به یک گرم آب میوه ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه و به مدت ۲/۵ ساعت در آن خیسانده شد و سپس به مدت ۴۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بعد از آن توسط کاغذ صافی دو بار صاف گردید. به ۳۰۰ ماکرولیتر عصاره، سه میلی‌لیتر از معرف اضافه شد و درب لوله‌ها با فویل بسته و به‌مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدندو تا دمای اتاق سرد شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۹۵ نانومتر قرائت شد.

طرح آزمایشی و آنالیز آماری داده‌ها

این آزمایش به‌صورت یک آزمایش تک عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا در آمد. تجزیه واریانس، مقایسه میانگین و تجزیه همبستگی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.3 و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال یک درصد استفاده شده و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی میوه زرشک

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر ژنوتیپ بر میزان فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۲).

جدول ۲. تجزیه واریانس ترکیبات بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های زرشک

Table 2. Analysis of variance for biochemical compounds of barberry genotypes

SOV	df	Phenol	Flavonoid	Antocianin
Genotype	14	147**	261**	3210**
Error	30	2.25	1.77	40
C.V. (%)		0.94	1.67	1.1

* و **: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

*, **: Significantly differences at 5 and 1% of probability levels, respectively.

میزان فنل کل

در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه میزان فنل در ژنوتیپ درگز۱ بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود (۱۶۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) و این ژنوتیپ از این نظر با ژنوتیپ گلستان۱ (۱۶۸ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) تفاوت معنی‌داری نداشت. ژنوتیپ بیرجند بی‌دانه نسبت به سایر ژنوتیپ‌های دانه‌دار میزان فنل کمتری داشت (۱۴۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) (جدول ۳). پس از ژنوتیپ درگز۱ ژنوتیپ‌های گلستان۱ و شیروان۳ بالاترین میزان فنل را دارا بودند. ژنوتیپ‌های دارای دانه از نظر میزان فنل نسبت به ژنوتیپ بی‌دانه بیرجند مقادیر فنل بالاتری دارا بودند. در این مطالعه اندازه‌گیری میزان فنل از میوه ژنوتیپ‌های زرشک انجام شد، زیرا میزان فنل در میوه این گیاه بیشتر از سایر اندام‌های گیاه از قبیل برگ، ساقه و ریشه می‌باشد (Mazandarani *et al*., 2013). در این مطالعه میزان فنول کل بین ۱۴۹ الی ۱۶۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک قرار داشت. این در حالی بود که برخی دیگر از مطالعات میزان فنول کل در ژنوتیپ‌های مختلف زرشک را بین ۴۵ الی ۱۰۰ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک (Aliakbarlu *et al*., 2018)، ۲۶۱/۶۸ الی ۶۲۳/۰۷ میلی‌گرم اسید گالیک بر ۱۰۰ گرم وزن تازه (Hassanpour & Alizadeh, 2016)، ۱۰ الی ۵۲ میلی‌گرم بر گرم (Koncic *et al*., 2010)، ۲۵۴۴ الی ۳۴۶۲ میلی‌گرم گالیک اسید بر لیتر (Erosy *et al*., 2018)، ۲۵۱۲ الی ۳۶۲۹ میلی‌گرم گالیک اسید بر

لیتر (Ozgen *et al*., 2012)، ۱۹۰۰ الی ۲۶۰۰ میلی‌گرم اسید گالیک بر ۱۰۰ گرم وزن خشک (Mohamadi *et al*., 2012) عنوان نمودند. میزان ترکیبات ثانویه موجود در اندام‌های مختلف گیاهان ثابت نبوده و با تغییر مراحل رشدی و زیستگاه متفاوت می‌باشد (Mazandarani *et al*., 2013). میزان فنل موجود در اندام‌های مختلف و در گونه‌های مختلف زرشک متفاوت بود (Zovko-Koncic *et al*., 2010). فنل کل دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی است که وجود آن در عصاره استخراج شده بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره می‌افزاید (Brunetton, 1999). مطالعات فیتوشیمیایی نشان داد گیاه زرشک شامل اسیدهای آلی و ترکیبات فنلی (آنتوسیانین، کاروتنوئید، فنل کل، پلی‌فنل) با خاصیت آنتی‌اکسیدانی است (Aghbashlo *et al*., 2008) که بیشتر خاصیت آنتی‌اکسیدانی زرشک مربوط به فنل موجود در ترکیبات ثانویه این گیاه است (Kosalec *et al*., 2009).

میزان فلاونوئید

میزان فلاونوئید نیز در بین ژنوتیپ‌ها از تفاوت بالایی برخوردار بود، به طوری که بالاترین میزان فلاونوئید در ژنوتیپ گلستان۱ به میزان ۸۸/۶ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک حاصل شد (جدول ۳). ژنوتیپ گلستان۱، به غیر از ژنوتیپ‌های گلستان۲ (۸۸/۱۳ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک)، گلستان۳ (۸۸ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) و شیروان۱ (۸۷ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک)، با سایر ژنوتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری داشت. میزان فلاونوئید در ژنوتیپ شیروان۳ به میزان ۵۹ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک بود که از نظر آماری کمتر از سایر ژنوتیپ ها بود. ژنوتیپ بیرجند بی‌دانه از نظر میزان فلاونوئید (۸۳ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) با ژنوتیپ‌های درگز۱ (۸۴ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک)، درگز۳ (۸۵ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) و شیروان۲ (۸۳ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) و شیروان۴ (۸۲ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) دارای تفاوت معنی‌داری نبود، ولی با سایر ژنوتیپ‌ها از این نظر تفاوت معنی‌دار داشت (جدول ۳). فلاونوئید یکی از عوامل مهم آنتی‌اکسیدانی در عصاره های گیاهی محسوب می‌شود. میزان تجمع آن علاوه بر ژنوتیپ به شرایط آب و هوایی زیستگاه گیاهی مرتبط است. با توجه به این‌که مناطق مختلف جمع‌آوری این ژنوتیپ‌ها دارای ارتفاع مختلفی از سطح دریا بوده و تحت تأثیر شدت نور متفاوتی رشد یافته‌اند، لذا مشاهده تفاوت در میزان تجمع فلاونوئید در گیاهان آزمایشی حتی ژنوتیپ های مشابه دور از انتظار نیست. اهمیت ترکیبات فلاونوئیدی و آنتوسیانینی در زرشک به‌دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آنها می‌باشد (Hassanpour & Alizadeh, 2016). این محققین عنوان داشتند که میزان فلاونوئید موجود در میوه ژنوتیپ‌های مختلف زرشک در محدوده بین۱۳۲/۶۶ الی ۲۸۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تازه قرار دارد، در حالی که در مطالعه حاضر این مقدار در ژنوتیپ‌های مختلف زرشک بین ۵۹ الی ۸۸/۶ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک قرار داشت. در مطالعه‌ای دیگر میزان فلاونوئید ژنوتیپ‌های زرشک بین ۱ الی ۵ میلی‌گرم بر گرم برآورد شده است (Koncic *et al*., 2010). میوه زرشک بالاترین میزان متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها را دارا می‌باشد و این ترکیبات در گیاه زرشک از نظر آنتی‌اکسیدانی دارای اهمیت بالایی می‌باشند (Gholizadeh Moghadam *et al*., 2017). بین ژنوتیپ‌های مختلف زرشک از نظر این ترکیبات ثانویه تفاوت وجود دارد (Qadir *et al*., 2009). به عقیده آنها خصوصیات ژنتیکی و شرایط محیطی تعیین‌کننده میزان ترکیبات ثانویه سنتزشده در گیاهان می باشد. در این مطالعه نیز مشخص شد که با توجه به تفاوت در خصوصیات ژنتیکی و شرایط محیطی جمع‌آوری گیاهان میزان ترکیبات ثانویه از جمله فلاونوئیدها در آنها متفاوت می‌باشد. فلاونوئیدها و فنل‌ها از جمله ترکیبات ثانویه در گیاهانی مانند زرشک هستند که با اثر ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضدالتهابی، ضدسرطان و ضدعفونی‌کننده و آنتی‌اکسیدانی مطرح هستند (Montoro *et al*., 2005).

جدول ۳. مقایسه میانگین ترکیبات بیوشیمیایی ژنوتیپ های زرشک
Table 3. Mean comparison of biochemical compounds of barberry genotypes

Genotype code	Phenols (mg Gallic acid/g dry weight)	Total flavonoids (mg quercetine/g dry weight)	Anthocyanin (µg/g dry weight)
Daregaz1	169^{a}	84^{bc}	567^{f}
Daregaz2	152^{fg}	74^{e}	600^{p}
Daregaz3	163^{cd}	85^{b}	490^{i}
Shirvan1	160^{d}	87^{a}	552^{g}
Shirvan2	$152f^{gh}$	83^{bc}	591^{bcd}
Shirvan3	164^{bc}	59^{h}	599^{bc}
Shirvan4	154^{f}	82^{c}	590^{bcde}
Shirvan5	157^{e}	62^{g}	619^{a}
Golestan1	168^{a}	88.6^{a}	593^{bcd}
Golestan2	150^{hi}	88.13^{a}	580^{e}
Golestan3	152^{fg}	88^{a}	525^{h}
Golestan4	165^{b}	71^{f}	589^{cde}
Golestan5	150^{ghi}	71.9^{f}	592^{bcd}
Golestan6	161^{d}	78.7^{d}	593^{bcd}
Birjand Bidane	149^{i}	83^{bc}	584^{de}

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد تفاوت آماری معنی‌دار براساس آزمون LSD و در سطح پنج درصد می‌باشند.
Means by at least one same letters had no significant differences based on LSD test at 5% level.

در یک بررسی نشان داده شد که بیشترین میزان ترکیبات فنلی در میوه زرشک وجود دارد. این در حالی بود که بالاترین میزان فلاونوئید در برگ زرشک مشاهده شد (Mazandarani *et al*., 2013). ترکیبات فلاونوئیدی (کوئرستین و کامفرول) زرشک دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده و قدرت پاک‌کنندگی رادیکال‌های سوپر اکسید و هیدروکسیل را دارد. در حقیقت بین قدرت احیاکنندگی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی رابطه مستقیم وجود دارد (Sayyah *et al*., 2010).

میزان آنتوسیانین

میزان آنتوسیانین اندازه‌گیری شده فقط در دو ژنوتیپ شیروان۵ (۶۱۹ میکروگرم بر گرم وزن خشک) و درگز۲ (۶۰۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک) با تفاوت معنی‌دار از هم در بیشترین مقدار بود. در بین ژنوتیپ‌های درگز نیز کمترین میزان آنتوسیانین مشاهده شد. به طوری‌که که در ژنوتیپ درگز۳ (۴۹۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک) کمترین میزان آنتوسیانین، که تفاوت معنی‌داری با سایر ژنوتیپ‌ها داشت، ثبت شد (جدول ۳). با توجه به نتایج این مطالعه مشخص شد میزان آنتوسیانین اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های مختلف زرشک شمال شرق ایران بین ۴۹۰ الی ۶۱۹ میکروگرم بر گرم وزن خشک، در حالی که در برخی دیگر از مطالعات مقدار آنتوسیانین میوه ژنوتیپ‌های زرشک بین ۳۶۰ الی ۸۶۴ میلی‌گرم در لیتر (Erosy *et al*., 2018)، ۱۹/۶۹ الی ۹۱/۶۶ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تازه (Hassanpour & Alizadeh, 2016)، گزارش شده است. با توجه به این که میوه زرشک سرشار از آنتوسیانین است، احتمالاً آنتوسیانین موجود در زرشک در مهار رادیکال‌های آزاد نقش موثری دارد. با توجه به این‌که فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها، منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانی هستند، با این وجود بسته تغییرات دما، pH وکسیژن مقادیر آنها قابل تغییر می‌باشند (Aboulhassan-Nejad *et al*., 2014). بین گونه‌های مختلف زرشک از نظر میزان ترکیبات ثانویه تولیدی و در نتیجه آن فعالیت آنتی‌اکسیدانی تفاوت معنی‌داری وجود داشته که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (Jamshidi *et al*., 2012).

تجزیه واریانس خواص آنتی‌اکسیدانی میوه زرشک

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر ژنوتیپ بر توانمندی آنتی‌اکسیدانی میوه ژنوتیپ‌های مختلف زرشک که به چهار روش مختلف انجام شد (DPPH، قدرت کاهندگی آهن، بتاکاروتن لینولئیک اسید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل) در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴).

جدول ۴. تجزیه واریانس مربوط به روش‌های مختلف اندازه‌گیری خواص آنتی‌اکسیدانی میوه ژنوتیپ‌های زرشک
Table 4. Analysis of variance related to different methods of measuring the antioxidant properties in barberry genotype fruits

SOV	DF	DPPH	FRAP	Beta-carotene linoleic acid	TFPL
Genotype	14	369^{**}	136^{**}	100^{**}	60^{**}
Error	30	12.8	2.5	27.7	3.62
C.V. (%)		7.4	4.8	7.5	8.4

* و **: به‌ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.
*, **: Significantly differences at 5 and 1% of probability levels, respectively.

خصوصیات آنتی‌اکسیدانی

بررسی توانمندی مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره‌های زرشک نشان داد دو ژنوتیپ شیروان۴ و گلستان۲ بالاترین قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها به ترتیب ۶۳/۷ و ۶۳/۲ میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم وزن خشک داشتند که با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند. با این وجود نتایج نشان داد این دو ژنوتیپ از این نظر با ژنوتیپ‌های درگز۳ (۵۸/۱ میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم وزن خشک) و گلستان۶ (۶۰/۱ میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم وزن خشک) نیز تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول۵). این در حالی بود که دو ژنوتیپ شیروان۵ و گلستان۱ کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را از نقطه نظر قدرت جذب مهار رادیکال آزاد DPPH به ترتیب به میزان ۳۱/۴ و ۳۲/۶ میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم وزن خشک داشتند. هرچند که از این نظر با ژنوتیپ گلستان۴ (۳۴/۶ میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم وزن خشک) تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۵). بررسی‌ها نشان داد همانند روش DPPH، براساس قدرت کاهندگی آهن، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه با هم تفاوت معنی‌داری دارند. از این نظر ژنوتیپ بی‌دانه بیرجند با تفاوت معنی‌داری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها، بالاترین میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی به میزان ۵۴/۵ میلی‌مول یون فروس بر گرم وزن تر را نشان داد. در مقابل ژنوتیپ‌های درگز۱، شیروان۴، گلستان۲ و گلستان۵ بدون تفاوت معنی‌دار، کمترین میزان قدرت کاهندگی را نشان دادند. اگرچه کمترین میزان کاهندگی از نظر میزان ارزش در ژنوتیپ درگز۱ به میزان۳۴/۱ میلی‌مول یون فروس بر گرم وزن تر به ثبت رسید (جدول ۵).

نتایج نشان داد میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس روش بتاکاروتن لینولئیک اسید در ژنوتیپ درگز۲ نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بیشتر بود (۷۸ درصد) و پس از این ژنوتیپ میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ‌های بی‌دانه بیرجند (۷۷/۲ درصد) و درگز۱ (۷۶ درصد) بالاترین مقدار را داشت. هرچند که با ژنوتیپ‌های شیروان۱ (۷۳/۵ درصد)، گلستان۴ (۷۲/۲) و گلستان۵ (۷۴/۵ درصد) نیز تفاوت معنی‌داری نداشتند. با این حال ژنوتیپ شیروان۴ نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها براساس بتاکاروتن لینوائیک اسید فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری (۵۹/۹ درصد) داشت (جدول ۵).

براساس نتایج حاصل از این مطالعه مشخص شد بین ژنوتیپ‌ها از نظر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای TFPL تفاوت معنی‌داری وجود داشت. به‌طوری‌که ژنوتیپ گلستان۳ دارای بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای TFPL (۲۹/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود و به جز با ژنوتیپ درگز۱ (۲۸/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، تفاوت آن با سایر ژنوتیپ‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود.

جدول ۵. مقایسه میانگین خواص آنتی‌اکسیدانی با روش‌های مختلف اندازه‌گیری در میوه ژنوتیپ‌های زرشک ایرانی

Table 5. Mean comparison for fruit antioxidant properties using different methods in Iranian barberry genotypes

Genotype code	DPPH (mg ascorbic acid/g dry weight)	FRAP (mM Fross ion/g fresh weight)	Beta-carotene linoleic acid (%)	Total antioxidant activity based on TFPL (µg/ml)
Daregaz1	39.1^{ef}	34.1^{h}	76^{abc}	28.9^{ab}
Daregaz2	39.6^{ef}	43.3^{de}	78^{a}	15.1^{j}
Daregaz3	58.1^{abc}	38.4^{fg}	69.3^{b-f}	20.9^{fgh}
Shirvan1	53.4^{cd}	40.7^{ef}	73.5^{a-e}	17.4^{ij}
Shirvan2	50^{d}	35.9^{gh}	67.2^{d-g}	19.4^{ghi}
Shirvan3	55.2^{bcd}	43.1^{de}	69.7^{a-f}	26.6^{bc}
Shirvan4	63.7^{a}	34.9^{h}	59.9^{g}	19.1^{hi}
Shirvan5	31.4^{g}	44.7^{cd}	63^{fg}	23.4^{def}
Golestan1	32.6^{g}	46.5^{c}	68.4^{c-g}	25.7^{cd}
Golestan2	63.2^{a}	34.4^{h}	66.2^{d-g}	22.3^{efg}
Golestan3	44.1^{e}	35.9^{gh}	61.6^{fg}	29.9^{a}
Golestan4	34.6^{fg}	51.7^{b}	72.2^{a-e}	23.5^{c-f}
Golestan5	41^{e}	35.2^{h}	74.5^{a-d}	24.4^{cde}
Golestan6	60.1^{ab}	44.1^{cd}	65.2^{efg}	23.6^{c-f}
Birjand Bidane	51.1^{d}	54.5^{a}	77.2^{ab}	15.6^{j}

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد تفاوت آماری معنی‌دار براساس آزمون LSD و در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Means by at least one same letters had no significant differences based on LSD test at 5% level.

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای TFPL در ژنوتیپ درگز۲ (۱۵/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و بیدانه بیرجند (۱۵/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) کمتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود و این دو ژنوتیپ از نظر آماری به جز با ژنوتیپ شیروان۱ (۱۷/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با سایر ژنوتیپ‌های جمع‌آوری‌شده از مناطق مختلف تفاوت معنی‌داری را دارا بودند (جدول ۵).

در بین ژنوتیپ‌های مختلف زرشک از نظر ترکیبات ثانویه و همچنین توانمندی آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده با روش‌های مختلف تفاوت هایی وجود داشت. این تفاوت‌ها ناشی از تفاوت در ژنوتیپ‌ها و شرایط محیطی از قبیل آب‌وهوا، ارتفاع محل، دما، حاصلخیزی محل رشد و همچنین مواجه با آفات و بیماری‌ها و همچنین نوع اندام و زمان نمونه‌برداری از آن می‌باشد (Fernandes *et al*., 2016; Shan *et al*., 2005). این نتایج با نتایج سایر محققین در زمینه اندازه‌گیری ترکیبات ثانویه مطابقت داشت (Gawlic-Dziki, 2012). میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای DPPH بین ۳۱/۴ الی ۶۳/۷ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم وزن خشک بود که بالاترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی در بین ژنوتیپ‌های مختلف زرشک بر مبنای DPPH مقدار ۶۳/۷ میلی‌گرم اسید آسکوربیک بر گرم وزن خشک در ژنوتیپ شیروان۴ به دست آمد که نشان دهنده خاصیت بالای آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های مختلف زرشک و به خصوص ژنوتیپ شیروان۴ می‌باشد. کمترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی زرشک بر مبنای DPPH مقدار ۳۲/۳mg/g بود که نشان‌دهنده خاصیت خوب آنتی‌اکسیدانی آن بوده و تأییدکننده نتایج حاصل از این مطالعه می‌باشد (Aboulhassan-Nejad *et al*., 2014).

در این مطالعه از نظر اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ‌های مختلف زرشک با روش‌های متفاوت تفاوت هایی وجود داشت. در یک روش خاص بین ژنوتیپ‌های مختلف و همچنین در بین روش‌ها اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی تفاوت وجود داشت. نتایج برخی محققین نشان داد بین گونه‌های مختلف از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری‌شده با روش DPPH، تفاوت وجود دارد که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت داشت (Tusevski *et al*., 2014; Fernandes *et al*., 2016). میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در ژنوتیپ‌های مختلف زرشک براساس روش DPPH بین ۳۱/۴ الی ۶۳/۷ میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم وزن خشک قرار داشت، درحالی‌که در برخی مطالعات این میزان بین ۲۵/۲۵ الی ۷۸/۶۵ میلی‌گرم بر میلی لیتر (Aliakbarlu *et al*., 2018)، ۲۰ الی ۸۲ درصد (Hoshyar *et al*., 2016)، ۲۰ الی ۹۷ درصد (Hosseinihashemi *et al*., 2015)، ۲۲۰ الی ۳۸۴۰ پی‌پی‌ام (Mohamadi *et al*., 2012)، ۱۳ الی ۲۷۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (Mojaddar Langroodi *et al*., 2018)، ۲۱ الی ۷۴ درصد (Hassanpour & Alizadeh, 2016) قرار داشت. همچنین در این مطالعه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ‌های زرشک براساس روش بتاکاروتن لینولئیک اسید بین ۵۹/۹ الی ۷۸ درصد قرار داشت که منطبق بر برخی از مطالعات انجام شده در زمینه زرشک بود. در مطالعات مذکور میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی زرشک بر مبنای روش بتاکاروتن لینولئیک اسید بین ۵۹ الی ۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک (Koncic *et al*., 2010) برآورد شده است. همچنین در این مطالعه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای قدرت کاهندگی آهن بین ۳۴/۱ الی ۵۴/۵ میلی‌مول یون فروس بر گرم وزن تر قرار داشت، در حالی که در برخی دیگر از مطالعاتی که روی زرشک انجام شده است این میزان بین ۵۱/۱ الی ۶۹/۳ میلی‌مول یون فروس بر لیتر (Erosy *et al*., 2018)، ۴۱ الی ۶۵/۶ میلی‌مول یون فروس بر لیتر (Ozgen *et al*., 2012)، ۲۰ الی ۷۰ میلی‌مول یون فروس بر لیتر (Hassanpour & Alizadeh, 2016) برآورد شده است. ژنوتیپ‌هایی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری با این روش دارند می‌توانند یون آهن را به میزان بیشتری در حالت کاهندگی قرار دهند که در این مطالعه در ژنوتیپ بیرجند بی‌دانه مشاهده شد. دلیل اصلی در بالا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی در ۱۳ عصاره از گیاهان مختلف، ترکیبات فنولی تشخیص

داده شده است (Fernandes *et al*., 2016). در این مطالعه نیز ژنوتیپ درگز۱ با بالاترین میزان فنل کل دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بالایی بر مبنای TFPL بود و با ژنوتیپ گلستان۳ (که دارای بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بر مبنای TFPL در بین همه ژنوتیپ‌ها بود) تفاوت معنی‌داری نداشت. از طرفی ژنوتیپ بیرجند بی‌دانه، که دارای کمترین میزان ترکیبات فنلی بود، دارای کمترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بر مبنای TFPL بود که با ژنوتیپ درگز۲ نیز تفاوت معنی‌داری نداشت. این نتایج با نتایج برخی محققین که نشان دادند همبستگی بالایی بین ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان مورد مطالعه از قبیل *Syzygium aromaticum* وجود دارد، مطابقت دارد (Wojdylo *et al*., 2007). همچنین نتایج بررسی‌های دیگر نشان داد در گیاهان مورد مطالعه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده با میزان ترکیبات فنلی همبستگی مثبت دارد که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت (Katalinic *et al*., 2006). گیاهانی که ترکیبات فنلی بیشتری دارند دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری هستند (Wongsa *et al*., 2012). به هر حال بایستی در نظر داشت که خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراج شده از گیاهان فقط محدود به ترکیبات فنلی نمی‌شود (Javanmardi *et al*., 2003)، بلکه سایر ترکیبات ثانویه موجود در عصاره استخراج شده مانند کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در پتانسیل آنتی‌اکسیدانی گیاه نقش دارند (Wongsa *et al*., 2012).

در روش DPPH بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به ژنوتیپ شیروان۴ بود. درحالی‌که با روش‌های قدرت کاهندگی آهن و بتاکاروتن اسید لینولئیک بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب در ژنوتیپ‌های بیرجند بی‌دانه و درگز۲ مشاهده شد. همچنین بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای TFPL مربوط به ژنوتیپ گلستان۳ بود. بررسی توانمندی آنتی‌اکسیدانی با روش قدرت کاهندگی آهن نشان داد در این روش بالاترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ بیرجند بی‌دانه (۵۴/۵ میلی‌مول یون فروس بر گرم وزن تر) و کمترین میزان آن در ژنوتیپ درگز۱ (۳۴/۱ میلی‌مول یون فروس بر گرم وزن تر) حاصل شد. این در حالی بود که در روش اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای TFPL وضعیت بر عکس بود و بیشترین توانمندی آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ‌های درگز۱ (۲۸/۹ میکروگرم بر میلی لیتر) و گلستان۳ (۲۹/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به دست آمد و بین این دو از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. کمترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در ژنوتیپ‌های درگز۲ (۱۵/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و بیرجند بی‌دانه (۱۵/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به ثبت رسید. از طرفی در روش اسید لینولئیک بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به میزان ۷۸ درصد در ژنوتیپ درگز۲ حاصل شد. در حالی که این ژنوتیپ در روش ارزیابی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی کل بر مبنای TFPL، کمترین توانمندی را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها داشت. همچنین ژنوتیپ شیروان ۴ که در روش DPPH دارای بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (۶۳/۷ میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم وزن خشک) بود، در روش بتا کاروتن لینولئیک اسید دارای کمترین میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی (۵۹/۹ درصد) بود. این نتایج بیانگر این مطلب است‌که ژنوتیپ‌های مختلف زرشک به روش‌های مختلف بررسی توانمندی آنتی‌اکسیدانی پتانسیل‌های متفاوتی دارند و تفاوت مشاهده شده کاملا مشهود است. به عنوان مثال اگر در یک روش ژنوتیپ مورد نظر نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها برتری کامل دارد، در روش دیگر ممکن است در حداقل مقدار باشد و بالعکس. ژنوتیپ بیرجند بی‌دانه که دارای کمترین میزان فنل کل (۱۴۹ میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک) بود، براساس روش قدرت کاهندگی آهن دارای کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۵۴/۵ میلی‌مول یون فروس بر گرم وزن تر) بود که بیانگر رابطه عکس بین میزان فنل کل با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده با روش قدرت کاهندگی آهن در ژنوتیپ بی‌دانه بیرجند است. در مقابل ژنوتیپ درگز۱ که دارای بالاترین میزان فنل کل (۱۶۹ میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک) است دارای میزان فعالیت کل آنتی‌اکسیدانی بالایی (۲۸/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بر

مبنای TFPL بود که بیانگر رابطه مستقیم بین میزان فنل کل و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی بر مبنای TFPL در ژنوتیپ درگز۱ می‌باشد. بالاتر بودن میزان فنل در ژنوتیپ درگز۱ و پایین بودن قدرت آنتی‌اکسیدانی آن بر اساس روش قدرت کاهندگی آهن نیز یکی دیگر از دلایل رابطه عکس بین این ترکیب با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری‌شده با روش قدرت‌کاهندگی آهن می‌باشد. این در حالی بود که در روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل، میزان فنول و قدرت آنتی‌اکسیدانی رابطه مستقیم داشتند. یکی از دلایل متفاوت بودن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به شرایط آب‌وهوایی منطقه، میزان رسیدگی میوه و فاکتورهای مدیریتی در ژنوتیپ‌های زراعی می‌باشد. همچنین در فرآیند استخراج عصاره ژنوتیپ‌های زرشک عواملی چون نوع حلال و زمان استخراج بسیار مهم هستند (Hayouni *et al*., 2007)، زیرا استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از مواد گیاهی به حلالیت این ترکیبات در حلال‌های مختلف بستگی دارد، به علاوه قطبیت حلال‌های مورد استفاده نقش مهمی در افزایش حلالیت این ترکیبات بازی می‌کند (Huang *et al*., 2005). ممکن است که در یک روش خاص از استخراج و اندازه‌گیری مقدار یا قدرت بازدارندگی یکی از ترکیبات موجود در عصاره به خصوص ترکیبات فنلی (فنل کل، آنتوسیانین و فلاونوئید) کمتر و در روشی دیگر این میزان بیشتر بوده و نقش آن ترکیب پررنگ‌تر گردد. به هر حال در روش‌های مختلف استخراج و اندازه‌گیری حلال‌هایی با درجه قطبیت پایین، نظیر هگزان، استون، بوتانول و کلروفرم نسبت به حلال‌های قطبی توانایی کمتری در استخراج این ترکیبات دارند که ممکن است سبب ایجاد تغییراتی در تعیین توانمندی آنتی‌اکسیدانی در روش‌های مختلف گردد (Rumbaoa *et al*., 2009).

با توجه به این‌که در ژنوتیپ درگز۱ میزان فنل کل بالاترین مقدار بود نتیجه‌گیری می‌شود که روش قدرت کاهندگی آهن، قدرت استخراج کامل فنل کل را ندارد. به نظر می‌رسد که فنل کل در روش اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برمبنای TFPL به‌خوبی استخراج شده و با توجه به همبستگی مثبت و معنی‌داری که با توانایی آنتی‌اکسیدانی کل بر مبنای TFPL دارد (جدول ۶)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را به میزان قابل‌توجهی افزایش داده است. در این زمینه گزارش شده است که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آهن با میزان فنل عصاره در انار رابطه مستقیم داشته و افزایش ترکیبات فنلی سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره می‌گردد (Tzulker *et al*., 2007). میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه زرشک بر مبنای DPPH در این مطالعه در محدوده ۳۱/۴ الی ۶۳/۷ میلی‌گرم آسکوربیک اسید بر گرم وزن خشک قرار داشت، در حالی که در ژنوتیپ‌های مختلف برخی دیگر از میوه‌هایی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند مانند انار این مقدار بین ۱۸/۸ الی ۷۱/۳٪ (بر مبنای درصد اسکوربیک اسید بوده است) گزارش شده است (Akhavan *et al*., 2015) که بیانگر برابری فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه زرشک در مقایسه با انار می‌باشد. در مطالعه‌ای دیگر که با ژنوتیپ‌های انار صورت گرفته است، فعالیت آنتی‌اکسیدانی برابر با ۱۵ الی ۴۰ درصد ارزیابی شده است (Tehranifar *et al*., 2010)، که نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که خواص آنتی‌اکسیدانی میوه زرشک به مراتب بالاتر از انار می‌باشد. همچنین در این مطالعه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای قدرت کاهندگی آن بین ۳۴/۱ الی ۵۴/۵ میلی‌مول یون فروس بر گرم وزن تازه بود، درحالی‌که در میوه انار بین مقادیر ۱۳/۶ و ۵۹/۹ درصد بود (Akhavan *et al*., 2015)، که از این نظر نیز می‌توان عنوان کرد که تقریباً میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه زرشک از نظر قدرت کاهندگی آهن با انار برابر می‌باشد. همچنین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ‌های زرشک براساس قدرت کاهندگی آهن که در محدوده ۳۴/۱ الی ۵۴/۵ میلی‌مول یون فروس بر گرم وزن تر قرار داشت، در مقایسه با ژنوتیپ‌های مختلف انگور که در محدوده ۲/۵ الی ۳ میلی‌مول یون فروس بر گرم وزن تر بود (Pileh & Ghasemzadeh, 2017)، بیشتر بود که از این نظر ارزش آنتی‌اکسیدانی این میوه را بیشتر مشخص می‌نماید. از طرفی در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه انار در

محدوده در مورد ژنوتیپ‌هایی که دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل کمتری هستند وضعیتی عکس این ژنوتیپ رخ داده است. به هر حال در این مطالعه نیز همبستگی بین فنل کل با فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بر مبنای TFPL مثبت و معنی‌دار بود (جدول ۶) که بیانگر اثر بیشتر این ترکیب بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بر مبنای TFPL در ژنوتیپ‌های زرشک می‌باشد. با توجه به اینکه ترکیبات فنولی بیشترین ترکیب را در گیاهان تشکیل می‌دهند (Aksoy *et al*., 2013)، طبیعی است که این ترکیبات با میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بر مبنای TFPL همبستگی مثبت و معنی‌داری داشته باشند، زیرا بیشتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به فرم ترکیبات فنولی می‌باشند (Das & Pereira, 1990). این خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی مربوط به خاصیت از دست دادن پروتون، تشکیل فرم‌ها کلات و کاهش اثرات جهشی رادیکاهای آزاد می‌باشد. توانایی آنتی‌اکسیدانی فنل‌ها در پالایش گونه‌های فعال اکسیژن مربوط به وجود گروه‌های هیدروکسیل در آنها می‌باشد (De-Gaulejac *et al*., 1999). این ترکیب مهم گیاهی اتم هیدروژن را از گروه هیدروکسیل دریافت نموده و فرم پایدار رادیکال‌های فنوکسیل را تشکیل داده که نقش مهمی در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی دارند (Akosy *et al*., 2013). به همین دلیل تعیین میزان فنل موجود در عصاره گیاهی می‌تواند بیانگر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در آن عصاره باشد که در این مطالعه در عصاره استخراج شده از ژنوتیپ درگز۱ با بالاترین میزان فنل کل، بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بر مبنای TFPL نیز مشاهده شد که می‌تواند بیانگر ارتباط بین میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در ژنوتیپ‌های زرشک باشد. در این مطالعه رابطه بین میزان فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای DPPH مثبت بود، هرچند که از نظر آماری معنی‌دار نبود. ارتباط مثبت و معنی‌دار بین میزان فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای DPPH گزارش شده است (Sagar & Singh, 2011).

در مطالعات گوناگون روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان دارویی پیشنهاد شده است که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را بر اساس نوع ترکیب اکسیدکننده در آنها اندازه‌گیری نمایند (Shimada *et al*., 1992). بر این اساس در این مطالعه به نظر می‌رسد که تفاوت در چهار روش اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مربوط به نوع ترکیب اکسیدکننده در آنها باشد. اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای DPPH یک روش آسان، سریع و قابل تکرار بوده که نیاز به مراحل خاصی ندارد (Aksoy *et al*., 2013). DPPH پایدار بوده و قابلیت حل در آب، متانول و یا اتانول را ندارد. به هر حال بایستی به این نکته توجه نمود که میزان پالایش گونه‌های فعال اکسیژن در روش‌های مختلف بستگی به توانایی ترکیبات آنتی‌اکسیدانت در اکسایش هیدروژن و ساختار این ترکیبات بستگی دارد (Fukumoto & Mazza, 2000).

حداکثر جذب رادیکال آزاد DPPH در طول موج ۵۱۷ نانومتر بوده که می‌تواند به راحتی یک الکترون یا هیدروژن از مولکول آنتی‌اکسیدانت دریافت نموده که به یک حالت پایدار برسد (Soares *et al*., 1997). رادیکال DPPH می‌تواند با هیدروژن باند شده و خاصیت پالایندگی گونه‌های فعال را اکتساب نماید (Guo *et al*., 2007).

جدول ۶. همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده با فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در ژنوتیپ‌های زرشک

Table 6. Correlation among measured traits with total antioxidant activity in barberry genotypes

Traits	a	b	c	d	e	f	g
Phenol (a)	1						
Flavonoid (b)	-0.09	1					
Antocianin ©	-0.11	-0.54**	1				
DPPH (d)	0.25	0.27	-0.28	1			
FRAP (e)	0.15	-0.27	0.29*	-0.28	1		
Beta-carotene linoleic acid (f)	0.09	-0.04	0.04	-0.22	0.28	1	
Total antioxidant activity based on TFPL (g)	0.43**	-0.09	-0.11	-0.25	-0.26	-0.16	1

*,**: Significantly differences at 5 and 1% of probability levels, respectively. * و **: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

در این مطالعه ژنوتیپ بیرجند بی‌دانه کمترین مقدار فنل کل را دارا بود. اما احتمالا متانول توانسته حلال خوبی برای فلاونوئیدهای موجود در این ژنوتیپ زرشک باشد، یعنی بیشتر بودن فلاونوئید در این ژنوتیپ احتمالاً تحت تأثیر نوع و ترکیب فلاونوئید موجود در آن است که بیشتر در متانول حلالیت داشته اند. افزایش غلظت ترکیبات فنلی بطور مستقیم میزان توانائی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد که در این مطالعه نیز افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش میزان این ترکیبات مشاهده شد (Sharifi & Pourakbar, 2016). در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنلی به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به‌دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (Sanchez-Moreno *et al.*, 1999). قدرت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف به میزان زیادی به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنلی بستگی دارد. در ترکیبات فنلی با وزن مولکولی پایین‌تر گروه‌های هیدروکسیل راحت‌تر در دسترس قرار می‌گیرند (Jung *et al.*, 2006). در این مطالعه تولید بیشتر ترکیبات فنلی در ژنوتیپ‌های زرشک منجر به افزایش توانمندی آنتی‌اکسیدانی عصاره شد، هرچند که بین روش‌های مختلف اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تفاوت‌هایی وجود داشت. ماهیت روش‌های اندازه‌گیری خواص آنتی‌اکسیدانی نیز یکی دیگر از دلایل تفاوت بین خاصیت آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ‌های زرشک است. به عنوان مثال در روش قدرت کاهندگی آهن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بر اساس توانایی احیاکنندگی آهن سنجیده می‌شود. در واقع در این روش تنها توانمندی آنتی‌اکسیدانی ترکیبات قابل حل در آب نشان داده شده و ترکیبات غیر قابل حل در آب در این فعالیت آنتی‌اکسیدانی نقشی ندارند (Deepa *et al.*, 2007). این مطلب بیان می‌کند قابلیت حل ترکیبات فنلی مختلف در آب متفاوت بوده، به‌طوری‌که در روش قدرت کاهندگی آهن فقط قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیباتی سنجیده شده که قابل حل در آب هستند زیرا میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی مختلف با توجه به ساختار شیمیایی آنها متفاوت است (Sharifi & Pourakbar, 2016). البته عصاره اتانولی زرشک توانایی بالایی در مهار رادیکال DPPH دارد که این قدرت مهار DPPH فقط تحت تأثیر فنل کل نبوده و احتمالاً آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی دیگری مثل آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها هم در این امر دخیل هستند (El-Wahab *et al.*, 2013). علاوه بر این آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی مانند ملاتونین نیز اثرات غیرمستقیم آنتی‌اکسیدانی داشته و بوسیله افزایش کارایی آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی از قبیل سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز که دارای اثر مستقیم آنتی‌اکسیدانی هستند، در فرآیندهایی از قبیل پراکسیداسیون لیپیدی دخالت می‌نمایند (Sindhi *et al.*, 2013). به علاوه در بسیاری از مطالعات رابطه مستقیمی بین محتوای فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین با قدرت مهار رادیکال DPPH وجود دارد (Biglari *et al.*, 2008). در این مطالعه نیز نتایج فعالیت جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد در عصاره‌های ژنوتیپ‌های مختلف گیاه زرشک با روش‌های مختلف اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با ترکیبات فنلی رابطه مستقیم دارد. به هر حال ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی از مهمترین مواد موثره ثانویه در زرشک به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌باشند (Kremer *et al.*, 2008).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد بین ژنوتیپ‌های مختلف از نظر ترکیبات فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانی تفاوت‌هایی وجود دارد. در ژنوتیپ‌های درگز۱ و بیرجند بی‌دانه به ترتیب بیشترین و کمترین میزان فنل کل حاصل شد که این ژنوتیپ‌ها دارای بالاترین و کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی کل نیز بودند. همچنین ژنوتیپ‌های گلستان۱ و شیروان۵ به‌ترتیب بالاترین میزان فلاونوئید و آنتوسیانین را دارا بودند. تفاوت در ترکیبات آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری‌شده در ژنوتیپ‌های مختلف ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی و شرایط آب‌وهوایی حاکم بر محیط رشد آنها می‌باشد.

خاصیت آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده با روش‌های DPPH، قدرت کاهندگی آهن، بتاکاروتن لینولئیک اسید و TFPL به‌ترتیب در ژنوتیپ‌های شیروان۴، بیرجند بیدانه، درگز۲ و گلستان۳ بیشترین میزان بود. ژنوتیپ‌هایی که دارای ترکیبات فنلی بیشتری بودند، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری بر مبنای TFPL نیز داشتند. همچنین با توجه به نتایج این تحقیق تفاوت در نتایج چهار روش اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی حکایت از تفاوت ترکیب‌های شیمیایی عصاره‌های مختلف داشت.در نهایت می‌توان بیان کرد گیاه زرشک به‌واسطه داشتن مقادیر زیادی از ترکیبات فنلی توان آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد و از این رو می‌تواند به‌عنوان منبعی غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به این نتایج می‌توان عنوان نمود که از بین روش‌های مختلف اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی، روش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بر مبنای TFPL روش بهتری برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ‌های زرشک بود و از ژنوتیپ‌های مختلف زرشک به خصوص ژنوتیپ درگز۱ به دلیل دارا بودن مقادیر بالاتر فنل و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل می‌توان در زمینه‌های بالینی و مطالعات مشابه بهره برد.

REFERENCES

1. Aghbashlo, M., Kianmehr, M. H. & Hassan-Beygi, S. R. (2008). Specific heat and thermal conductivity of berberis fruit (*Berberis vulgaris*). *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 3 (1), 330-336.
2. Ahmadi, F., Kadivar, M. & Shahedi, M. (2007). Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff in model and food systems. *Food Chemistry*, 105, 57-64.
3. Akhavan, H., Barzegar, M., Weidlich, H. & Zimmermann, B. F. (2015). Phenolic compounds and antioxidant activity of juices from ten Iranian pomegranate cultivars depend on extraction. *Journal of Chemistry*, 20(15), 1-7.
4. Aksoy, L., Kolay, E., Aglo, Y., Aslan, Z. & Kargoglu, M. (2013). Free radical scavenging activity, total phenolic content, total antioxidant status, and total oxidant status of endemic *Thermopsis turcica*. S*audi Journal of Biological Sciences*, 20, 235-239.
5. Aliakbarlu, J., Ghiasi, S. & Bazargani-Gilani, B. (2018). Effect of extraction conditions on antioxidant activity of barberry (*Berberis vulgaris* L.) fruit extracts. *Veterinary Research Forum*, 9 (4), 361-365.
6. Benzie, F. F. & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
7. Bernatonienė, J., Masteikova, R., Majienė, D., Savickas, A., Kėvelaitis, E. & Bernatonienė, R. (2008). Free radicalscavenging activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Medicina (Kaunas)*, 44(9), 706-712.
8. Biglari, F., Alkarkhi, A. F .M. & Easa, A. M. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chemistry*, 107, 1636-1641.
9. Blumenthal, M., Busse, W. R., Goldbert, A., Gruenwald, J., Hall, T., Klein, S., Riggins, C.W. & Rister, R.S. (1998). The complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicine. *American Botanical Council, Austin, USA*. pp, 309-310.
10. Brunetton, J. (1999*). Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*. Lavoisier Publishing, Paris, p. 921.
11. Capitani, C.D., Carvalho, A.C.L., Rivelli, D.P., Barros, S.B.M. & Castro, I.A. (2009). Evaluation of natural and synthetic compounds according to their antioxidant activity using a multivariate approach. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111, 1090-1099.
12. Chang, C. M., Wen, H. & Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10, 178-182.
13. Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R. & Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavon). *Separation and Purification Technology*, 55, 217-225.
14. Das, N.P. & Pereira, T.A. (1990). Effects of flavonoids on thermal autooxidation of palm oil: structure-activity relationship. *Journal of American Oil Chemistry Societ*y, 67, 255-258.
15. Deepa, N., Kaura, Ch., Georgea, B., Singhb, B. & Kapoor, H. C. (2007). Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes during maturity. *LWT Food Science and Technology*, 40, 121-129.
16. De-Gaulejac, N.S.C., Glories, Y. & Vivas, N. (1999). Free radical scavenging effect of anthocyanins in red wines. *Food Research International*, 32, 327-333.

17. El-Wahab, A. E. A., Ghareeb, D. A., Sarhan, E. E. M, Abu-Serie, M. M. & Demellawy, M. A. E. (2013). *In vitro* biological assessment of *Berberis vulgaris* and its active constituent, berberine: antioxidants, anti-acetylcholinesterase, antidiabetic and anticancer effects. *Academic Journal*, 5(13), 218-226.
18. Ersoy, N., Kupe, M., Ibrahim Sagbas, H. & Ercisli, S. (2018). Physicochemical diversity among Barberry (*Berberis vulgaris* L.) fruits from eastern Anatolia *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Clij-Napoca*, 46(2), 336-342.
19. Fernandes, R.P.P., Trindade, M.A., Tonin, F.G., Lima, C.G., Pugine, S.M.P., Munekata, P.E.S., Lorenzo, J.M. & DeMelo, M.P. (2016). Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lamb burgers. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 451-460
20. Ferre, N., Camps, K., Cabre, M., Paul, A. & Joven, J. (2001). Hepatic paraoxygenase activity alterations and free radical production in rats with experimental cirrhosis. *Metabolism*, 50(9), 997-1000.
21. Frohne, D. & Pfänder, H.J. (1987). Giftpflanzen.Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, *Stuttgart*, p 78.
22. Fukumoto, L.R. & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48, 3597-3604.
23. Gawlic-Dziki, U. (2012). Dietary spices as a natural effectors of lipoxygenase, xanthine oxidase, peroxidase and antioxidant agents. *LWT Food Science and Technolo*gy, 47, 138-146.
24. Gholizadeh Moghadam, N., Hosseini, B. & alirezaaloo, A. (2017). Evaluation of variation of some phytochemical indices of leaf extract in different genotypes of barberry plant in northwestern Iran. *Quarterly Journal of Ecophythechemistry of Medicinal Plants*, 5 (2), 1-13. (in Farsi)
25. Gilgun-Sherki, Y., Melamed, E. & Offen, D. (2001). Oxidative stress induced neuro-dengenerative diseases: The need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology*, 40(8), 959-75.
26. Guo, X.Y., Wang, J., Wang, N.L., Kitanaka, S. & Yao, X.S. (2007). 9, 10-Dihydro phenanthrene derivatives from *Pholidota yunnanensis* and scavenging activity on DPPH free radical. *Journal of Asian National Product Research*, 9, 165-174.
27. Hanachi, P. & Golkho, S.H. (2009). Using HPLC to determination the composition and antioxidant activity of *Berberis vulgaris. Europian Journals Publishing*, 29, 47-54.
28. Hanachi, P., Kua, S.H., Asmah, R., Motalleb, G. & Fauziah, O. (2006). Cytotoxic effect of *Berberis vulgaris* fruit extract on the proliferation of human liver cancer line (HepG2) and its antioxidant properties. *International Journal of Cancer Research*, 2, 1-9.
29. Hassanpour, H. & Alizadeh, S. (2016). Evaluation of phenolic compound, antioxidant activities and antioxidant enzymes of barberry genotypes in Iran. *Scientia Horticulturae*, 200, 125-130.
30. Hayouni, A., Abedrabba, M., Bouix, M. & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105 (3), 1126-1134.
31. Hoshyar, R., Mahboob, Z. & Zarban, A. (2016). The antioxidant and chemical properties of *Berberis vulgaris* and its cytotoxic effect on human breast carcinoma cells. *Cytotechnology*, 68, 1207-1213.
32. Hosseinihashemi, S. K., Anooshei, H., Aghajani, H. & Salem, M. Z. M. (2015). Chemical composition and antioxidant activity of extracts from the inner bark of *Berberis vulgaris* stem. *Bioresources*, 10(4), 7958-7969.
33. Huang, D., Ou, B. & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
34. Jamshidi, M., Ashtiani, H., Rezazadeh, S.H., Fathizadeh, F., Mazandarani, M. & Khaki, A. (2010). Evaluation and comparison of phenolic compounds and antioxidant activity of some native plant species of Mazandaran. Journal of Medicinal Plants. 2 (34) :177-182.
35. Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. & Vivanco, J.M. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry*, 83, 547-550.
36. Jung, C.H., Seog, H.M., Choi, I.W., Park, M.W. & Cho, H.Y. (2006). Antioxidant properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves. *LWT Food Science and Technolo*gy, 39, 266-274.
37. Kaliora, A.C., Dedoussis, G.V.Z. & Schmidt, H. (2006). Dietary antioxidants in preventing atherogenesis. *Atherosclerosis*, 187, 1-17.
38. Katalinic, V., Milos, M., Kulisic, T. & Jukic, M. (2006). Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, 94, 550-557
39. Koncic, M.Z., Kremer, D., Karlovic, K. & Kosalec, I. (2010). Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2176-2180.

40. Kosalec, I., Gregurek, B., Kremer, D., Zovko, M., Sankovic, K. & Karlovic, K. (2009). Croatian barberry (*Berberis croatica* cv Horvat): a new source of berberine-analysis and antimicrobial activity. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 25, 145-150.
41. Kulisic, T., Radonic, A. & Katalinic, V. (2004). Use of different methods for testing antioxidative of oregano essntial oil. *Journal of Food Chemistry*, 85, 633-640.
42. Kuo, C., Chi, C. & Liu, T. (2004). The anti-inflammatory potential of berberine *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Letters*, 203(2), 127-137.
43. Martynov, E.G., Stroev, E.A. & Peskov, D.D. (1984) Polysaccharides of *Berberis vulgaris. Chemistry of NaturalCompounds*, 20(1), 99-100.
44. Mazandarani, M., Ghasemi, N. & Bait, E. (2013). Evaluation of the most important secondary materials and their comparison in various organs of *Berberis vulgaris* L. barberry in south east of Golestan province. Journal of Plant Science, 8 (5), 59-70.
45. McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73, 48-73.
46. Mohamadi, M., Maskooki, A. M. & Mortazavi, S. A. (2012). Evaluation of antioxidant properties of Barberry fruits extracts using maceration and Subcritical Water Extraction (SWE). *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 6(9), 699-703.
47. Mojaddar Langroodi A, Ebadi Fathabad A, Moulodi F, Mashak Z, Alizade Khaled Abad M. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Aqueous and Ethanolic Extracts of Barberry and *Zataria multiflora* Boiss Essential Oil Against Some Food-Borne Bacteria (2018) J Kermanshah University of Medical Sciences. 22(2):e83087. doi: 10.5812/jkums.83087.
48. Kafi M, Balandary A, Rashed-Mohasel, MH, Koochaki A, Molafilabi A (2002) Berberis: Production and Processing. Zaban va Adab Press, Iran, pp. 1–209 (In Persian).
49. Montoro, P., Alessandra, B., Cosimo, P. & Nunziatina, D.T. (2005). Structure antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chemistry*, 92, 349-355.
50. Naziripour, Z., Haghighi, P., Jalilian Tabar, F. & Rescue Lorestani, A.S. (2012). Review of some mechanical properties of Barberry. *Annual Scientific Conference of Razi University*.
51. NurAlam, M., Bristi, N.J. & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21, 143-152.
52. Ozgen, M., Saracoglu, O. & Gecer, E. N. (2012). Antioxidant capacity and chemical properties of selected berberry fruits. *Horticulture, Environment and Biotechnology*, 53(6), 447-451.
53. Pileh, F. & Ghasemzadeh, R. (2017). Diversity evaluation of biochemical parameters and antioxidant activity in some commercial grape cultivars. *Research in Pomology*, 2(1), 45-60.
54. Qadir, S.A., Kwon, C.K., Han, J. G., Chung, H. S. and Ahn, J. & Lee, H. (2009). Effect of different extraction rotocols on anticancer and antioxidant activities of Berberis koreana bark extracts. Journal of Bioscience and Bioengineering, 107, 331-338.
55. Rezaei, M., Ebadi, A., Reim, S., Fatahi, R., Balandary, A., Farrokhi, N. & MagdaViola, H. (2011). Molecular analysis of Iranian seedless barberries via SSR. Scientia Horticulturae, 129, 702-709.
56. Robertson, R.P. & Harmon, J.S. (2006). Diabetes, glucose toxicity, and oxidative stress: a case of double jeopardy for the pancreatic islet β cell. Free Radical Biology Medicine, 41, 177-184.
57. Rumbaoa, R.G.O., Cornago, D.F. & Geronimo, I.M. (2009). Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine potato (*Solanum tuberosum*) tubers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 546-550.
58. Sabir, M., Akhter, M.H. & Bhide, N.K. (1978). Further studies on pharmacology of berberin. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 22 (1), 9-13.
59. Sagar, B.K. & Singh, R.P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48, 412-422.
60. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. & Saura-Calixto, F. (1999). Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International*, 32, 407-412.
61. Sasikumar, J.M., Maheshu, V., Smilin, A.G., Gincy, M.M. & Joji, C. (2012). Antioxidant and antihemolytic activities of common Nilgiri barberry (*Berberis tinctoria* Lesch.) from south India. *International Food Research Journal*, 19 (4), 1601-1607.
62. Sayyah, M., Boostani, H., Pakseresht, S. & Malayeri, A. (2010) .Comparison of *Silybum marianum* L. with fluoxetine in the treatment of obsessive compulsive disorder. *Progress in NeuroPsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 34, 362-365.
63. Schaffer, S. & Heinrich, M. (2005). Understanding local Mediterranean diets: a multidisciplinary pharmacological and ethnobotanical approach. *Pharmacology Research*, 52, 353-366.
64. Shahidi, F. (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. *Molecular Nutrition & Food Reserch*, 44, 158-163.

65. Shan, B., Cai, Y.Z., Sun, M. & Corke, H. (2005). Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 53, 7749-7759.
66. Sharifi, F. & Pourakbar, L. (2016). Comparison of antioxidant properties of fresh barberry in water and alcohol solvents. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 12 (2), 296-307.(In Persian).
67. Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthone on the auto oxidation of soybean in cylcodextrin emulsion. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 40, 945-948.
68. Šilic, C. (2005). Atlas of dendroflora (trees and shrub) of Bosnia and Herzegovina. *Matica hrvatska C˘itluk, Franjevac˘ka kuc´a Masna Luka, C itluk* (*in Bosnian*), 18(2), 160-161.
69. Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R. & Dhaka, N. (2013). Potential applications of antioxidants-A review. *Journal of Pharmacy Research*, 7, 828-835.
70. Soares, J.R., Dins, T.C.P., Cunha, A.P. & Almeida, L.M. (1997). Antioxidant activity of some extracts of Thymus zygis. *Free Radical Research*, 26, 469-478.
71. Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L. & Zhang, Y. (2011). Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 2689-2696.
72. Suzuki, M., Watanabe, T., Miura, A., Harashima, E., Nakagawa, Y. & Tsuji, K. (2002). An extraction solvent optimum for analyzing polyphenol contents by Folin-Denis assay. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*, 49, 507- 511.
73. Tehranifar, A., Zarei, M., Nemati, Z., Esfandiyari, B. & Vazifeshenas, M. R. (2010). Investigation of physico-chemical properties and antioxidant activity of twenty Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 126, 180-185.
74. Then, M., Szentmihaly, K., Sarkozi, A. & Varga, I. S. (2003). Examination on antioxidant activity in greater celandine (*Chelidonium majus* L.) extracts by FRAP method. *Acta Biologica Szegedinesis*, 47(4), 115-117.
75. Tomosaka, H., Salim, A. A., Keller, W. J., Chai, H. & Kinghorn, A. D. (2008). Antioxidant and cytoprotection from *Berberis vulgaris*. *Phytotherapy Research*, 22(7), 979-981.
76. Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Soumaya, B., Hajlaoui, H. & Abdelly, C. (2010). Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *LWT-Food Science and Technology*, 43(4), 632-639
77. Tusevski, O., Kostovska, A., Iloska, A., Trajkovska, L. & Simic, S.G. (2014). Phenolic production and antioxidant properties of some Macedonian medicinal plants. *Cent Eurpean Journal of Biology*, 9, 888-900.
78. Tzulker, R., Glazer, I., Bar-Ilan, I., Holland, D., Aviram, M. & Amir, R. (2007). Antioxidant activity, polyphenol content and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(23), 9559-9570.
79. Wanger, G.J. (1979). Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Plant Physiology*, 64, 88-93.
80. Wojdylo, A., Oszmianski, J. & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105, 940-949.
81. Wongsa, P., Chaiwarit, J. & Zamaludien, A. (2012). *In vitro* screening of phenolic compounds, potential inhibition against α-amylase and α- glucosidase of culinary herbs in Thailand. *Food Chemistry*, 131, 964-971.
82. Yildirim, A., Mavi, A. & Kara, A.A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4083-4089.
83. Zovko-Koncic, M., Kremer, D., Karlovic, K. & Kosalec, I. (2010). Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of *Berberis vulgaris* L. and *Berberis croatica* Horvat. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), 2176-2180.