مقاله پژوهشی

تأثیر مراحل مختلف رشد و نمو میوه بر خصوصیات فیتوشیمیایی میوه توت سیاه (*Morus alba* var.nigra)

رسول ابتهاج[۱] و حمید حسن‌پور[۲]*

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۸- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱/۲۷)

چکیده

میوه‌های توت حاوی ترکیبات فیتوشیمیایی متنوعی هستند که خصوصیات فیزیولوژیکی شناخته شده‌ای در سلامتی بشر دارند. بررسی خصوصیات عملکردی مواد موجود طبیعی به ویژه آن‌هایی که به طور طبیعی در رژیم غذایی انسان وجود دارند در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی تغییرات ترکیبات فیتوشیمیایی میوه‌های توت در طی ۵ مرحله رشد و نمو میوه می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اکثر صفات اندازه‌گیری شده در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌داری داشتند. همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که محتوای بیوشیمیایی میوه به طور ویژه‌ای از مراحل میانی تا مراحل آخر رشد و نمو میوه افزایش می‌یابد. محدوده ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH (2,2-dipheny 1-1-picrylhydrazy) در طی مراحل مختلف از ۵۳/۳۶ تا ۹۰/۱۷ درصد متغیر بود. بالاترین میزان آنتوسیانین کل در مرحله آخر رشد و نمو میوه (۱۳۸/۷ میلی‌گرم بر صد گرم وزن تر معادل سیانیدین-۳-گلیکوزاید) مشاهد شد. بیشینه و کمینه میزان فنل کل در مراحل مختلف به‌ترتیب ۸۶۱/۱۴ و ۳۵۲/۲۵ میلی‌گرم بر صد گرم وزن تر معادل اسید گالیک بودند. همچنین میزان فلاونوئید کل از ۶۴/۹۹ در مرحله اول تا ۲۶۳/۰۴ میلی‌گرم بر صدگرم وزن تر معادل کوئرستین در مرحله آخر رشد و نمو میوه متغیر بود. به طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که محتوای فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مراحل پایانی رشد و نمو میوه افزایش پیدا می‌کنند.

کلمات کلیدی: آنتوسیانین کل، رشد و نمو میوه، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، مواد جامد محلول

۱- دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

* پست الکترونیک: ha.hassanpour@urmia.ac.ir

مقدمه

درخت توت متعلق به جنس *Morus* از خانواده توت‌سانان (Moraceae) است. در جنس *Moros*، ۲۴ گونه و یک زیرگونه وجود دارد که حداقل ۱۰۰ واریته از آن شناخته شده است. درختان توت در طیف وسیعی از مناطق گرمسیری، نیمه‌گرمسیری و معتدله گسترش یافته‌اند که سازگاری بالای این درختان را به شرایط آب و هوایی مختلف نشان می‌دهد (کامل‌اوغلو[1] و همکاران، ۲۰۱۳). میوه‌های توت معمولا به‌صورت تازه‌خوری، آب میوه و ... مصرف می‌شوند. علاوه بر این از میوه‌های بالغ و نارس توت به عنوان داروهای مرسوم برای آنتی‌بیوتیک‌ها و سیستم ایمنی بدن استفاده می‌شود (کیم[2] و همکاران، ۲۰۱۳). همچنین میوه‌های توت حاوی ترکیبات شیمیایی متنوعی از جمله فنل‌ها، گاماآمینوبوتریک اسید، اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، قندها و مواد معدنی می‌باشند (لی[3] و همکاران، ۲۰۰۴). گزارش شده است که عملکرد فیزیولوژیکی میوه‌های توت به ترکیبات شیمیایی مختلفی مانند آلکالوئیدها، ۱-دئوکسینوژیریمایسین و فنل‌ها مرتبط می‌باشد (کیم و همکاران، ۲۰۱۳). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی توت‌ها به طور کلی به ترکیبات فنلی آن‌ها به‌خصوص آنتوسیانین‌ها نسبت داده می‌شود. از مهم‌ترین آنتوسیانین‌های میوه توت می‌توان به سیانیدین-۳-گلیکوزاید و سیانیدین-۳-روتینوزاید اشاره نمود (کوتلو[4] و همکاران، ۲۰۱۱). ترکیبات فنلی به‌واسطه ظرفیت آنتی اکسیدانی خود با مهار رادیکال‌های آزاد خاصیت ضدپیری خود را نشان می‌دهند. علاوه بر این بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که فنل‌ها خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی و برخی از انواع سرطان‌ها را کاهش می‌دهد (ایدوران[5] و همکاران، ۲۰۱۵).

پژوهش‌های اخیر نشان داده‌اند، هنگامی که میوه‌های توت سیاه به مرحله بلوغ کامل می‌رسند، استحکام میوه سریعا کاهش پیدا کرده و مواد جامد محلول و pH میوه افزایش می‌یابد، در حالی که اسیدیته، پروتئین، مواد معدنی و اسیدهای آمینه در طول دوره رشد و نمو میوه کاهش پیدا می‌کنند. علاوه بر این مشخص شده است که در طول دوره رشد و نمو میوه محتوای فنل کل میوه، آنتوسیانین‌ها و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابند (لی[6] و وانگ، ۲۰۱۷). در مطالعه اوکی[7] و همکاران (۲۰۰۶)، فنل، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را در ۴ مرحله رشد و نمو میوه توت بررسی نموده و گزارش کردند که میوه‌های توت حاوی ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشند. در پژوهشی که به منظور بررسی ترکیبات میوه توت سیاه انجام گردید، مشخص شد که سطح ترکیبات فنلی از قبیل اسیدکلروژنیک، کریپتوکلروژنیک، اسیدنئوکلروژنیک، آسکوربیک‌اسید و δ-توکوفرول در میوه‌های نابالغ بیشتر می‌باشد، در حالی که میزان گلیسرول، سیترات، فروکتوز، گلوکز، ۳-o-گلیکوزاید و سیانیدین-۳-o-روتینوزاید در میوه‌هایی که در مرحله بلوغ کامل هستند، بیشتر دیده می‌شود (لی و همکاران، ۲۰۱۶). همچنین در مطالعه دیگر که با هدف ارزیابی تغییرات آنزیمی و بیوشیمیایی در میوه توت سفید در طی ۵ مرحله رشد و نمو میوه انجام شد، مشخص گردید که روند کاهشی در کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها همزمان با افزایش محتوای آنتوسیانین‌ها اتفاق می‌افتد. در این مطالعه مشخص شد هنگامی که میوه‌های توت سفید مراحل رشد و نمو میوه را طی می‌کنند یک افزایش شدید در کمیت قندها رخ می‌دهد، اما مقدار نشاسته کل، پروتئین و اسیدآسکوربیک کاهش می‌یابد (گل[8] و همکاران، ۲۰۰۹).

با این وجود میوه‌های کاملا رسیده توت در طول انبارداری و حمل و نقل، خیلی زود دچار زوال شده و نسبت به میوه‌های نارس نرم‌تر و حساس‌تر به پوسیدگی قارچی می‌باشند. بنابراین بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی میوه در مراحل مختلف رشد و نمو میوه می‌تواند پتاسیل استفاده آن را گسترش دهد. با توجه به اینکه نشان داده شده که میوه‌های نابالغ توت دارای ارزش زیادی از لحاظ تغذیه‌ای و عملکردی می‌باشند و نظر به اینکه توت سیاه دارای پتانسیل بالای اقتصادی بوده و در حال حاضر کشت و کار آن نیز نیاز به استفاده از مواد شیمیایی جهت کنترل امراض و آفات ندارد. بنابراین کشت و کار آن علاوه بر ارزش تغذیه‌ای بالا، عاری از هرگونه اثرات مضر بر محیط زیست می‌باشد. همچنین اکثر محققان میوه‌هایی که در مرحله بلوغ کامل هستند را مورد مطالعه و بررسی قرار داده‌اند، در حالی که

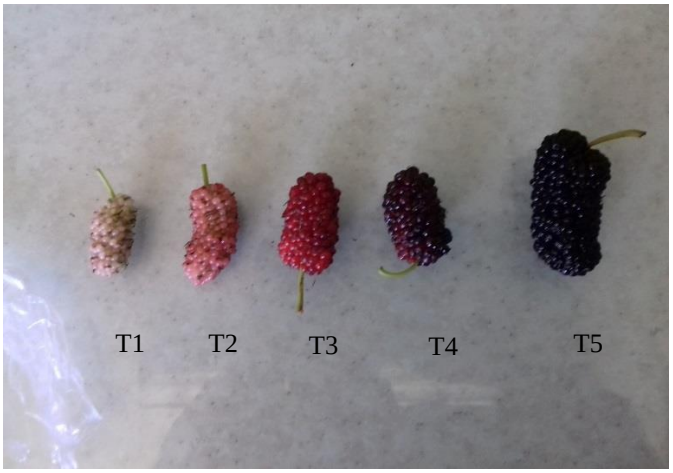
1. Kamiloglu
2. Kim
3. Lee
4. Kutlu
5. Eyduran
6. Lee and Hwang
7. Oki
8. Gol

مطالعات کمی در مورد میوه‌های نابالغ یا تغییرات فیتوشیمیایی طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه توت سیاه گزارش شده است. لذا بررسی روند تغییرات ترکیبات فیتوشیمیایی مختلف در میوه‌های نارس و رسیده توت سیاه و تعیین فعالیت بیولوژیکی آن‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی

در این پژوهش نمونه‌های میوه از درختان عاری از بیماری و آفات از یک باغ در استان آذربایجان‌غربی، شهرستان ارومیه بصورت دستی و بر اساس رنگ و اندازه میوه از جهات مختلف درختان برداشت شدند (شکل۱). میوه‌های مرحله ۱ چهار هفته پس از گلدهی از درخت چیده شد و دیگر مراحل هم با رنگ گرفتن میوه به رنگ قرمز تا سیاه از درخت برداشت شدند. میوه‌های مرحله ۱، ۲ و ۳ در فاز نارس و میوه‌های مرحله ۴ در فاز رسیده و مرحله ۵ در فاز کاملا رسیده انتخاب شدند. بطوریکه میوه‌های مرحله ۴ محکم به شاخه چسبیده بودند، در حالیکه میوه‌های مرحله ۵ به آسانی از شاخه چیده می‌شدند. میوه‌های برداشت شده بلافاصله در ازت مایع فریز و بعد در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد جهت اندازه‌گیری صفات مورد نظر نگهداری شدند.



شکل۱- تصویر مربوط به میوه توت سیاه در طی ۵ مرحله مختلف رشد و نمو میوه

اندازه‌گیری pH عصاره میوه، اسید کل (TA) و میزان مواد جامد محلول (TSS)

برای اندازه‌گیری pH عصاره میوه از دستگاه pHمتر دیجیتالی مدل (pH-Meter CG 824) کالیبره شده با محلول‌های بافری ۴ و ۷ استفاده شد. برای اندازه‌گیری TA، عمل تیتراسیون توسط هیدروکسیدسدیم (NaOH) ۰/۱ نرمال (۴ گرم در لیتر) تا pH=۸/۲ صورت گرفت و بر مبنای مقدار هیدروکسیدسدیم مصرفی در جریان تیتراسیون، مقدار اسید موجود در عصاره میوه به صورت گرم اسید سیتریک در ۱۰۰ میلی‌لیتر بیان گردید (سلوک و ارکان[1]، ۲۰۱۵). جهت اندازه‌گیری میزان TSS چند قطره از عصاره میوه توت سیاه روی رفراکتومتر دستی مدل ATAGO قرار گرفت و عدد مربوطه از روی ستون مدرج قرائت شد و بصورت درصد بیان گردید.

استخراج عصاره برای اندازه‌گیری محتوای فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه توت سیاه

عصاره‌گیری از نمونه‌ها مطابق روش (حسن‌پور و علیزاده[2]، ۲۰۱۶) با کمی تغییر انجام شد. نمونه‌های میوه بصورت جداگانه توزین و داخل هاون چینی توسط ازت مایع بصورت پودر درآمدند. ۰/۵ گرم از نمونه پودر شده با ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۵٪ مخلوط و سپس به‌مدت ۱ دقیقه ورتکس گردید. نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند و دوباره به مدت ۱ دقیقه ورتکس و سپس به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس قسمت روشناور نمونه‌ها به آرامی برداشته و در لوله‌های درب‌دار در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و برای سنجش صفات

1. Selcuk and Erkan

2. Hassanpour and Alizadeh

بیوشیمیایی مانند فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار گرفت. استخراج عصاره میوه برای سنجش میزان فلاونوئید کل و آنتوسیانین کل نیز مطابق این مطالعه با کمی تغییر انجام شد. در این روش نمونه‌های میوه توزین، و داخل هاون چینی توسط ازت مایع بصورت پودر در آمدند. ۰/۲ گرم از نمونه پودر شده با ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۵٪ (حاوی یک میلی‌لیتر HCL غلیظ) مخلوط و به‌مدت ۱ دقیقه ورتکس شد. بعد از نگهداری نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. سپس قسمت روشناور نمونه‌ها برداشته و در لوله‌های درب‌دار در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری میزان فنل کل، فلاونوئید کل و آنتوسیانین کل میوه توت سیاه

برای اندازه‌گیری فنل کل از روش دیو[1] و همکاران (۲۰۰۹) با کمی تغییر استفاده شد. ابتدا ۳۰ میکرولیتر عصاره تهیه شده به داخل ویال ریخته شد و سپس ۱۸۰ میکرولیتر آب مقطر، ۱۲۰۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد به آن اضافه گردید و پس از گذشت ۶ دقیقه، ۹۶۰ میکرولیتر کربنات سدیم به آن اضافه گردید، سپس نمونه‌ها به مدت ۱/۵ الی ۲ ساعت در محل تاریکی در دمای اتاق نگهداری شدند. بعد از آن جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. محتوای فنل کل بر اساس میلی‌گرم بر صد گرم وزن تر معادل گالیک‌اسید محاسبه گردید.

برای اندازه‌گیری فلاونوئید کل از روش شین[2] و همکاران (۲۰۱۴) با کمی تغییر عمل شد. ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر عصاره تهیه شده را با ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت‌سدیم ۵٪ مخلوط کرده و پس از گذشت ۵ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰٪ به آن اضافه گردید و پس از طی ۵ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر سود یک مولار به آن اضافه شد و در نهایت حجم محلول به ۵ میلی‌لیتر رسانده شد و توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول‌موج ۴۲۰ نانومتر قرائت گردید. مقدار فلاونوئید کل برحسب میلی‌گرم بر صد گرم وزن تر معادل کوئرسیتین[3] بیان شد.

برای اندازه‌گیری آنتوسیانین کل از روش اختلاف جذب در pHهای مختلف (pH=1 و pH=4/5) استفاده شد (روسلستاد[4]، ۱۹۹۳). برای قرائت آنتوسیانین کل از دو طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر استفاده گردید. برای این منظور ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر با بافر۱ (pH=1) کالیبره شد، سپس ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر ۱ در فالکن مخلوط کرده و در هر دو طول موج قرائت شد. پس از این مرحله دستگاه با بافر ۲ (pH= 4/5) کالیبره شده و ۵۰۰ ماکرولیتر از عصاره‌ها با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر ۲ مخلوط گردیده و مانند مرحله قبل قرائت شد. در نهایت محتوای آنتوسیانین کل بر اساس ضریب خاموشی سیانیدین-۳-گلیکوزاید (۲۶۹۰۰) و وزن مولکولی سیانیدین-۳-گلیکوزاید (۴۴۹/۲)، به صورت میلی‌گرم بر صدگرم وزن تر معادل سیانیدین۳-گلیکوزاید بیان شد.

تعیین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه توت سیاه

برای تعیین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از دو روش دی‌پی‌پی‌اچ **(DPPH)** و فرپ (FRAP) استفاده شد.

روش دی‌پی‌پی‌اچ

ارزیابی توانایی عصاره‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به این صورت انجام شد که ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آماده شده را با ۱۹۰۰ میکرولیتر DPPH مخلوط و پس از قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی در دمای اتاق جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید و درصد بازدارندگی مطابق فرمول زیر محاسبه شد (ناکاجیما[5] و همکاران، ۲۰۰۴).

$$\text{بازدارندگی (٪)} = Ac\text{-}As/Ac\times100$$

در این رابطه Ac و As به‌ترتیب جذب شاهد و جذب نمونه می‌باشند.

روش فرپ

برای اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به وسیله این روش، ۲۶۰ میلی‌لیتر بافر استات برداشته شد و ۲۶ میلی‌لیتر کلرید آهن به آن اضافه گردید. سپس ۲۶ میلی‌لیتر TPTZ و ۳۱ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شده و به این ترتیب محلول فرپ بدست می‌آید. در نهایت ۲/۸۵ میلی‌لیتر از محلول فرپ برداشته شده و با ۱۵۰ میکرولیتر از عصاره مخلوط گردید و بعد از گذشت ۱۰ دقیقه توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در

1. Du
2. Shin
3. Quercetin
4. Wroslstad
5. Nakajima

طول‌موج ۵۹۳ نانومتر قرائت گردید (بنزیک و استرین[1]، ۱۹۹۶). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بصورت میلی‌گرم سولفات آهن در صد گرم وزن تر عصاره بدست آمد.

آنالیز داده‌ها

این آزمایش به صورت طرح کاملا تصادفی با ۵ تیمار (مراحل مختلف رشد و نمو میوه) در ۳ تکرار (از جهات مختلف) انجام شد. داده‌های حاصل با نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شده و با نرم‌افزار Excel نمودارها رسم شدند. همچنین برای مقایسه میانگین از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

میزان مواد جامد محلول (TSS)، اسید کل (TA) و pH

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین میزان مواد جامد محلول، اسید کل و pH در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه توت سیاه در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت (جدول۱). بر اساس مقایسه میانگین بین داده‌ها، بالاترین میزان مواد جامد محلول در مرحله آخر رشد و نمو میوه (۶/۶۶ درصد) و کمترین میزان آن در مرحله دوم و سوم رشد و نمو میوه (۲/۶۶ درصد) مشاهده شد (شکل۲). میزان اسید کل از ۲/۴۱ در مرحله اول تا ۰/۵۴ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر در مرحله آخر متغیر بود (شکل۳). کمترین میزان pH میوه در مرحله دوم (۳) و بیشترین میزان pH در مرحله پنجم رشد و نمو میوه (۴/۲۷) مشاهده شد (شکل ۴). نتایج مطالعه لی و همکاران (۲۰۱۶) روی میوه توت سیاه نشان داد که میزان اسیدهای آلی مانند گلیسرات، مالات و سوکسینات در مراحل اولیه رشد بیشتر از مراحل پایانی رشد و نمو میوه بود. همچنین در مطالعه‌ای لی و وانگ (۲۰۱۷) مشخص شد که میزان اسیدیته میوه توت سیاه از ۲/۴ در مراحل اولیه رشد و نمو میوه تا ۰/۳ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر در مراحل پایانی رشد و نمو میوه متغیر می‌باشد. همچنین در این مطالعه میزان pH میوه از ۳/۵ تا ۵/۵ متغیر بود که با نتایج حاصل از مطالعه ما مطابقت داشت. علاوه بر این تفاوت در میزان مواد جامد محلول، اسید کل و pH میوه در میوه‌های توت می‌تواند ناشی از گونه‌ها و ارقام مختلف، نوع پایه، شرایط محیطی و وضعیت تغذیه‌ای باغات باشد (لی و وانگ، ۲۰۱۷). تغییر در محتوای TSS در طی مراحل پایانی رشد و نمو میوه با هیدرولیز ساکاریدها و تغلیظ شدن عصاره میوه مرتبط می‌باشد. همچنین افزایش محتوای مواد جامد محلول در مراحل پایانی رشد و نمو میوه به‌دلیل شکسته شدن کربوهیدرات‌ها، مواد پکتیکی، تجزیه قندها و هیدرولیز پروتئین‌ها در طی فرایند تنفس اتفاق می‌افتد. اسیدهای آلی منبع اندوخته انرژی محسوب می‌شوند و در زمان رسیدن میوه با افزایش سوخت و ساز در چرخه کربس مصرف شده و میزان آن‌ها کاهش می‌یابد. همچنین الگوی تغییرات TA و pH باهم در تضاد هستند، بطوریکه افزایش در میزان قندها و کاهش اسیدهای آلی منجر به افزایش pH میوه می‌شود. علاوه براین میزان pH میوه در اثر مصرف اسیدهای آلی و تبدیل شدن به قندها نیز افزایش می‌یابد (لی و وانگ، ۲۰۱۷).

محتوی فنل کل

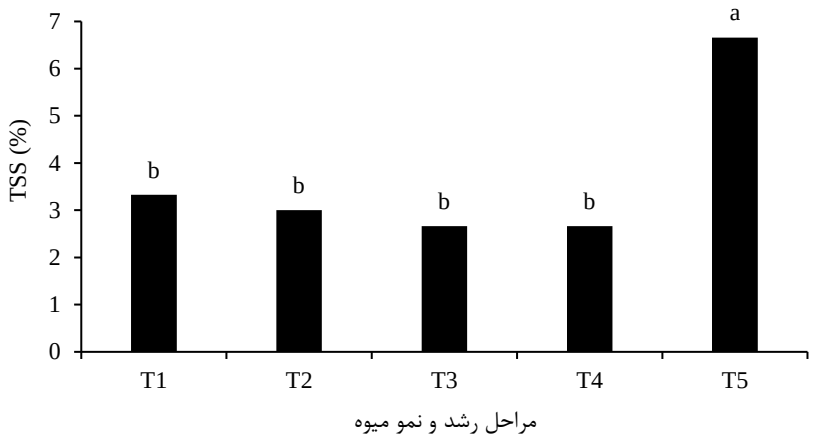
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در محتوای فنل کل در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه توت سیاه در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین میزان فنل کل در مرحله ۵ (۸۶۱/۱۴ میلی‌گرم بر صدگرم وزن تر معادل گالیک اسید) و کمترین میزان آن در مرحله ۲

جدول ۱-نتایج تجزیه واریانس خصوصیات بیوشیمیایی میوه توت سیاه در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه

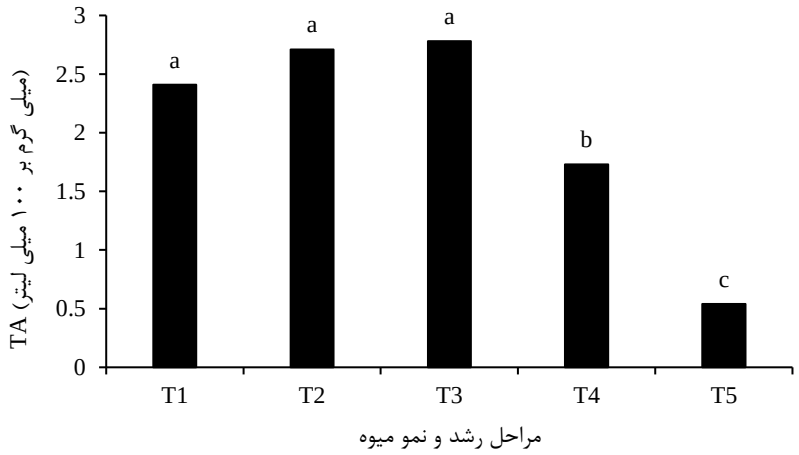
	میانگین مربعات								
منابع تغییرات	درجه آزادی	pH	TSS	TA	فنل کل	فلاونوئید کل	آنتوسیانین کل	DPPH	FRAP
تیمار	۴	۰/۸۱**	۸/۶۶**	۲/۶۱**	۱۴۸۶۵۲/۹۲**	۰/۵۴**	۱۰۸۹۸/۲۴**	۱۱۳۵/۸۵**	۶۰۵۲/۷۲**
خطای آزمایشی	۱۰	۰/۰۳	۰/۴۶	۰/۰۳	۸۴۴۳/۱۳	۰/۰۷۱	۸۳/۷۹	۱۲۵/۷۴	۳۳۲/۵۵
ضریب تغییرات	-	۵/۶۶	۱۸/۶۳	۹/۶۴	۱۶/۷۳	۱۴/۶۵	۱۹/۷۸	۱۶/۳۵	۶/۳۱

**،* و ns به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ و عدم معنی‌داری

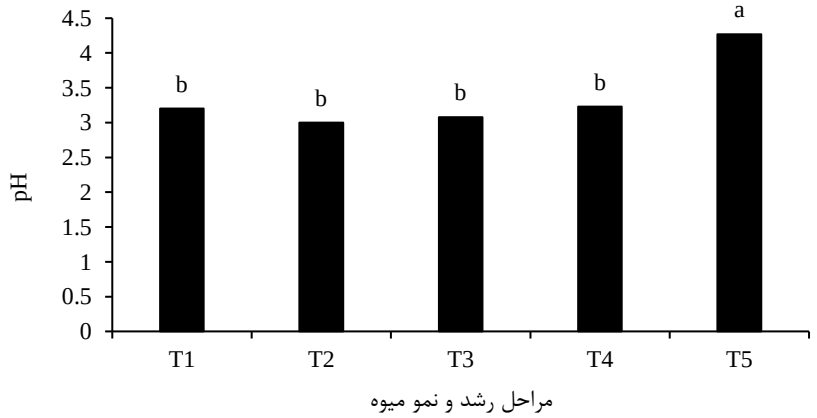
1. Benzic and strain



شکل۲- مقایسه میانگین محتوای مواد جامد محلول (TSS) در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه توت سیاه. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ در بین میانگین‌ها در آزمون چنددامنه‌ای دانکن است. T-Time (مراحل مختلف برداشت میوه: از مرحله نارس (T1) تا مرحله سیاه و کاملا رسیده (T5)).

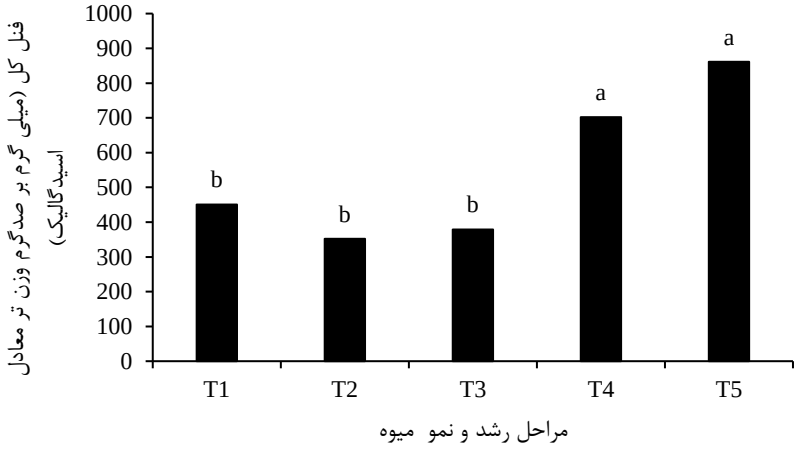


شکل۳- مقایسه میانگین میزان اسید کل (TA) در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه توت سیاه. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ در بین میانگین‌ها در آزمون چنددامنه‌ای دانکن است. T-Time (مراحل مختلف برداشت میوه: از مرحله نارس (T1) تا مرحله سیاه و کاملا رسیده (T5)).



شکل۴- مقایسه میانگین میزان اسیدیته (pH) در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه توت سیاه. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ در بین میانگین‌ها در آزمون چنددامنه‌ای دانکن است. T-Time (مراحل مختلف برداشت میوه: از مرحله نارس (T1) تا مرحله سیاه و کاملا رسیده (T5)).

(۳۵۲/۲۵ میلی‌گرم بر صدگرم وزن تر معادل گالیک اسید) مشاهده شد (شکل۵). نتایج مطالعات قبلی نیز نشان داده است، زمانی که میوه‌ها به مرحله بلوغ کامل می‌رسند، محتوای فنل کل میوه سریعا افزایش پیدا می‌کند (ازگن[1] و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین گزارش شده است که افزایش در محتوای فنل کل میوه در طی مراحل آخر رسیدن می‌تواند به‌دلیل تجمع بیشتر آنتوسیانین‌ها و فلاونول‌ها باشد (ارجسلی و اورهان[2]، ۲۰۰۷). در مطالعه فراهانی[3] و همکاران (۲۰۱۹) میزان فنل کل میوه توت سیاه از ۱۳۴/۷۳ تا ۹۲۲/۶۴ میلی‌گرم بر صدگرم وزن تر معادل گالیک اسید متغیر بود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. به نظر می‌رسد که مقادیر بالای قندهای کاهنده مانند گلوکز و فروکتوز در میوه‌ها باعث افزایش محتوای فنل کل می شود، در نتیجه میزان فنل کل موجود در میوه‌های بالغ و کاملا رسیده به طور ویژه‌ای از میوه‌های نارس بیشتر است، برای اینکه تفاوت زیادی در میوه‌های رسیده و نارس از نظر میزان قندهای آزاد وجود دارد با این حال میوه‌های نارس حاوی اسید کلروژنیک فراوانی هستند که ارزش زیادی را از لحاظ تغذیه‌ای دارا می باشند (لی و وانگ، ۲۰۱۷).



شکل۵- مقایسه میانگین میزان فنل کل میوه توت سیاه در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ در بین میانگین‌ها در آزمون چنددامنه‌ای دانکن است. T-Time (مراحل مختلف برداشت میوه: از مرحله نارس (T1) تا مرحله سیاه و کاملا رسیده (T5)).

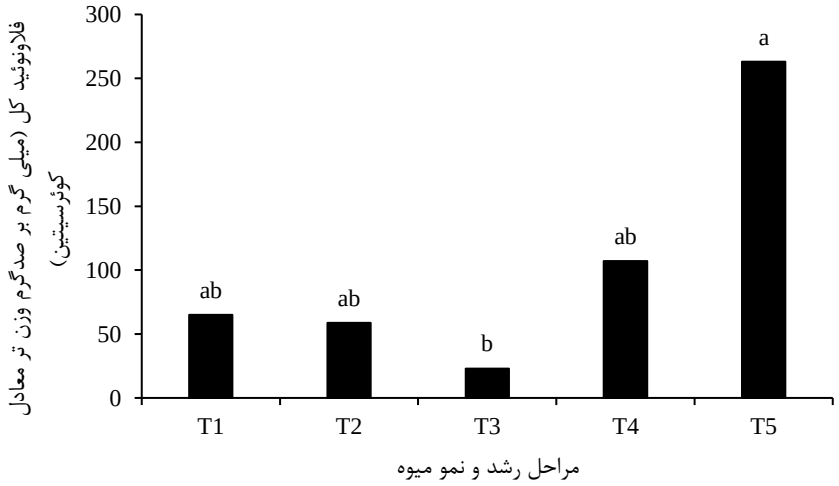
محتوی فلاونوئید کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر تفاوت معنی‌دار در میزان فلاونوئید کل در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه در سطح احتمال ۱٪ می‌باشد (جدول۱). طبق نتایج مقایسه میانگین محتوای فلاونوئید کل در مراحل میانی رشد کاهش و بعد در طی مراحل آخر افزایش می‌یابد و مقدار آن از ۶۴/۹۹ میلی‌گرم بر صدگرم وزن تر معادل کوئرسیتین در مرحله ۱ به ۲۶۳/۰۴ میلی‌گرم بر صدگرم وزن تر معادل کوئرستین در مرحله ۵ می‌رسد (شکل۶). بطور مشابه در مطالعات قبلی نیز کاهش در میزان فلاونوئید کل میوه توت سیاه در طی مراحل میانی رشد و افزایش دوباره آن در طی مراحل پایانی رشد گزارش شده است (لی و وانگ، ۲۰۱۷)، همچنین در این مطالعه میزان فلاونوئید کل از ۰/۱ تا ۰/۴ گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر معادل کوئرسیتین در مراحل مختلف رشد و نمو میوه متغیر بود. نتایج مطالعه آیونیکا[4] و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که محتوای فلاونوئید کل از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت و مقدار آن از ۷۲/۲۹ میلی‌گرم بر صدگرم معادل کوئرستین در توت قرمز تا ۲۴۱/۲۲ میلی گرم بر صدگرم معادل کوئرستین در توت سیاه متغیر بود. تغییرات در ترکیبات فلاونوئیدی میوه‌های توت بستگی به فاکتورهای مختلفی از قبیل تنوع ژنتیکی، میزان بلوغ و شرایط آب و هوایی و خاکی دارد.

محتوی آنتوسیانین کل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، تفاوت معنی‌داری در میزان آنتوسیانین کل عصاره میوه در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول۱).

1. Ozgen
2. Ercisli and Orhan
3. Farahani
4. Ionica



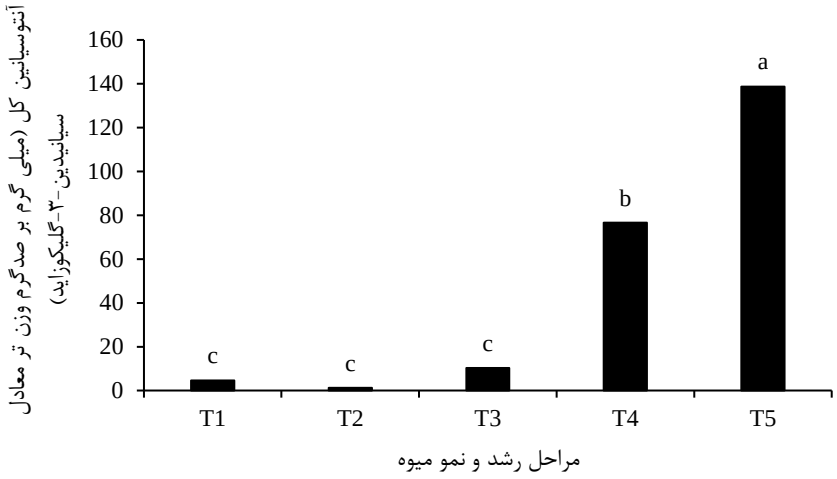
شکل۶- مقایسه میانگین میزان فلاونوئید کل میوه توت سیاه در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ در بین میانگین‌ها در آزمون چنددامنه‌ای دانکن است. T-Time (مراحل مختلف برداشت میوه: از مرحله نارس (T1) تا مرحله سیاه و کاملا رسیده (T5)).

نتایج حاصله نشان داد که بیشترین میزان آنتوسیانین کل در مرحله آخر رشد و نمو میوه (۱۳۸/۷ میلی‌گرم بر صدگرم وزن تر معادل سیانیدین-۳-گلیکوزاید) و کمترین میزان آنتوسیانین کل در مرحله ۲ رشد و نمو میوه (۱/۲۲ میلی گرم بر صدگرم وزن تر معادل سیانیدین-۳-گلیکوزاید) مشاهده شد (شکل۷). افزایش در میزان آنتوسیانین کل همزمان با بلوغ میوه قبلا در مطالعه یانگ[1] و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش شده است. در مطالعه فراهانی و همکاران (۲۰۱۹) میزان آنتوسیانین کل میوه توت سیاه در محدوده بین ۲۵/۶۷ تا ۵۶۹/۶۹ میلی‌گرم بر صدگرم وزن تر معادل سیانیدین-۳-گلیکوزاید قرار داشت که دلیل متفاوت بودن نتایج مطالعه حاضر با این مطالعه می‌تواند ناشی از متفاوت بودن شرایط محیطی و ژنوتیپ‌های متفاوت باشد. مطالعات قبلی نشان داده است که آنتوسیانین‌ها یکی از اجزای مهم مهارکننده رادیکال‌های آزاد هستند. با این وجود، آنتوسیانین‌ها بندرت در میوه‌های نارس یافت می‌شوند، اما میزان آن در میوه های بالغ رو به افزایش می‌باشد. بنابراین فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد در میوه‌های نارس توت که به ندرت حاوی هرگونه آنتوسیانین هستند شاید مربوط به دیگر اجزای مرتبط با فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد باشد. این نتایج نشان می‌دهد که فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در میوه‌های رسیده توت بیشتر مربوط به ترکیبات آنتوسیانینی و در میوه‌های نارس بیشتر مربوط به ترکیبات فنلی غیر آنتوسیانینی می‌باشد، برای اینکه آنتوسیانین‌ها در میوه‌های نارس وجود ندارند یا غلظت آن‌ها بسیار کم است (اکی و همکاران، ۲۰۰۶).

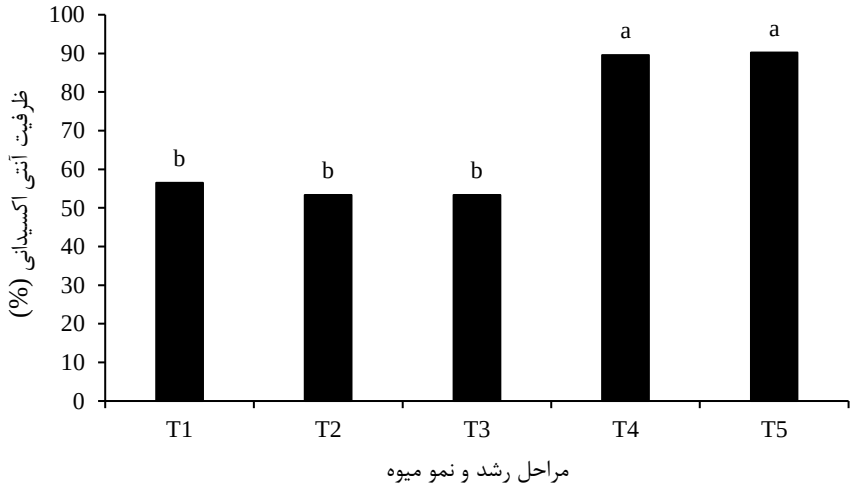
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه به روش DPPH

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه توت سیاه به روش DPPH در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول۱). بر اساس مقایسه میانگین بین داده‌ها، بالاترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله ۵ رشد و نمو میوه (۹۰/۱۷ درصد) و کمترین میزان ظرفیت آنتی-اکسیدانی در مرحله ۳ رشد و نمو میوه مشاهده شد (شکل۸). در مطالعه انجام شده توسط لی و وانگ (۲۰۱۷)، میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه توت سیاه در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه مطابق روش DPPH در محدوده بین ۱۵۸ تا ۶۶۳ میکرومول بر صدگرم وزن خشک معادل ترولوکس گزارش گردید. افزایش در میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی در میوه‌های رسیده توت احتمالا ناشی از تجمع آنتوسیانین‌ها است که می‌تواند هیدروژن را برای افزایش واکنش گونه‌های رادیکال آزاد احیا کند و از این طریق از واکنش زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد جلوگیری کنند (یانگ و همکاران، ۲۰۱۶). نتایج حاصل این مطالعه نشان داد که روند افزایشی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مشابه با روند افزایشی

1. Yang



شکل۷- مقایسه میانگین میزان آنتوسیانین کل میوه توت سیاه در طی مراحل مختلف رشد و نمو میوه. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ در بین میانگین‌ها در آزمون چنددامنه‌ای دانکن است. T-Time (مراحل مختلف برداشت میوه: از مرحله نارس (T1) تا مرحله سیاه و کاملا رسیده (T5)).



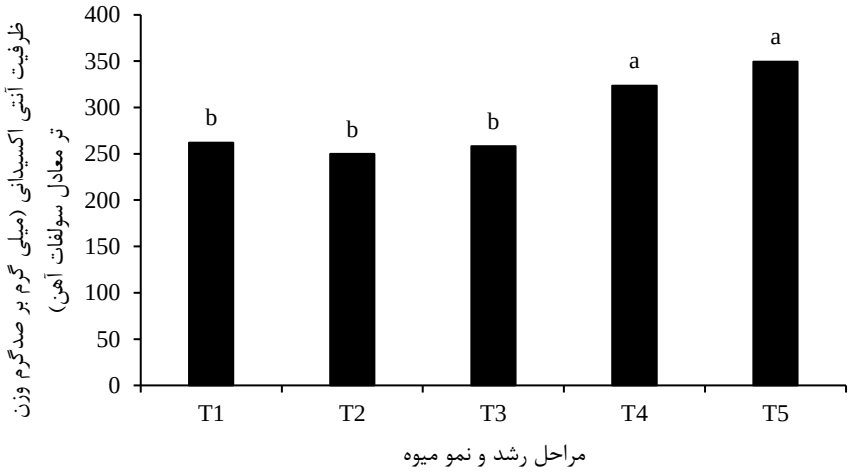
شکل۸- مقایسه میانگین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه توت سیاه مطابق روش DPPH در طی مراحل مختلف رشد و نمو. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ در بین میانگین‌ها در آزمون چند دامنه‌ای دانکن است. T-Time (مراحل مختلف برداشت میوه: از مرحله نارس (T1) تا مرحله سیاه و کاملا رسیده (T5)).

ترکیبات آنتوسیانی در طول رسیدن میوه‌های توت سیاه بود، این نشان می‌دهد که ترکیبات آنتوسیانینی ممکن است سهم بالاتری در ظرفیت آنتی‌اکسیدنی توت سیاه داشته باشند.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه به روش FRAP

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر تفاوت معنی‌داری در میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در مراحل مختلف برداشت میوه توت سیاه در سطح احتمال ۱٪ می‌باشد (جدول۱). بر اساس مقایسه میانگین بین داده‌ها میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی بر اساس روش فرپ در محدوده بین ۲۴۹/۹۲ و ۳۴۹/۵۵ میلی‌گرم بر صدگرم وزن تر معادل سولفات آهن قرار داشت، بطوریکه مرحله ۵ با ۳۴۹/۵۵ میلی‌گرم بر صدگرم وزن تر معادل سولفات آهن بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی کل را داشت. نتایج مطالعات قبلی نشان داده است که میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه توت سیاه مطابق روش FRAP از ۰/۵۹ تا ۱۲/۴۹ میلی‌مول بر صدگرم وزن تر متغیر می‌باشد (فراهانی و همکاران، ۲۰۱۹). در مطالعات قبلی مشخص شده است که میوه‌های رسیده توت سیاه

نسبت به میوه‌های توت سفید از فنل‌ها و فلاونوئیدهای بیشتری برخوردار هستند و تغییرات در محتوای فنلی میوه توت بر افزایش میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن نیز تأثیر می‌گذارد (کریشنا[1] و همکاران، ۲۰۲۰). خصوصیات بیوشیمیایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی از جمله ساختار ژنتیکی گیاهان مورد مطالعه، میزان بلوغ در زمان برداشت و عوامل محیطی است (گوندوگدو[2] و همکاران، ۲۰۱۷). بنابراین تفاوت‌های مشاهده شده در ظرفیت آنتی اکسیدانی میوه‌های توت سیاه در مطالعات مختلف ممکن است ناشی از عواملی از قبیل گونه و ژنوتیپ و روش استخراج عصاره باشد.



شکل۹- مقایسه میانگین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه توت سیاه بر اساس روش FRAP در طی مراحل مختلف رشد و نمو. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ در بین میانگین‌ها در آزمون چنددامنه‌ای دانکن است. T-Time (مراحل مختلف برداشت میوه: از مرحله نارس (T1) تا مرحله سیاه و کاملا رسیده (T5)).

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه روند تغییرات محتوای بیوشیمیایی میوه توت سیاه در طی ۵ مرحله مختلف رشد و نمو مورد ارزیابی قرار گرفت. زمانی که میوه‌ها مراحل مختلف رسیدن را طی می‌کنند، تغییرات قابل توجهی در محتوای بیوشیمیایی میوه از مراحل میانی تا مراحل پایانی رشد و نمو مشاهده می‌شود. محتوای فنل کل میوه در میوه‌های بالغ و کاملا رسیده به طور ویژه‌ای بیشتر از میوه‌های نارس است که مرتبط با افزایش در میزان قندهای گلوکز و فروکتوز در طی مراحل آخر رشد و نمو میوه می‌باشد. همچنین میوه‌های نارس توت سیاه نیز حاوی ترکیبات فنلی هستند و فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در میوه‌های نارس به ترکیبات فنلی غیرآنتوسیانینی نسبت داده می‌شوند. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌های توت قابل توجه می‌باشد. بنابراین توت‌ها به ویژه آن‌هایی که دارای رنگ تیره‌تری بوده و در نتیجه میزان آنتوسیانین آنها بیشتر است به‌عنوان یک رنگ طبیعی با خصوصیات آنتی اکسیدانی و فواید سلامتی بوده و به نظر می‌رسد هم در صنایع غذایی و هم در پزشکی کاربرد داشته باشند.

منابع

Benzie, I.F. and Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical biochemistry, 239(1): 70-76.

Du, G., Li, M., Ma, F. and Liang, D. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in *Actinidia* fruits. Food Chemistry, 113(2): 557-562.

Ercisli, S. and Orhan, E. 2007. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. Food chemistry, 103(4): 1380-1384.

1. Krishna

2. Gundogdu

Selcuk, N. and Erkan, M. 2015. The effects of 1-MCP treatment on fruit quality of medlar fruit (*Mespilus germanica* L. cv. Istanbul) during long term storage in the palliflex storage system. Postharvest Biology and Technology, 100: 81–90.

Eyduran, S.P., Ercisli, S., Akin, M., Beyhan, O., Geçer, M.K., Eyduran, E. and Erturk, Y.E. 2015. Organic acids, sugars, vitamin C, antioxidant capacity, and phenolic compounds in fruits of white (*Morus alba* L.) and black (*Morus nigra* L.) mulberry genotypes. Journal of Applied Botany and Food Quality, 88: 134-138.

Farahani, M., Salehi-Arjmand, H., Khadivi, A. and Akramian, M. 2019. Chemical characterization and antioxidant activities of Morus alba var. nigra fruits. Scientia Horticulturae, 253: 120-127.

Gol, N.B., Rao, T.R. and Patel, P.R. 2009. Certain biochemical changes associated with the growth and ripening of mulberry (*Morus alba* l.) fruit. PRAJÑ-Journal of Pure and Applied Sciences, p.58.

Gundogdu, M., Canan, I., Gecer, M.K., Kan, T. and Ercisli, S. 2017. Phenolic compounds, bioactive content and antioxidant capacity of the fruits of mulberry (*Morus* spp.) germplasm in Turkey. Folia Horticulturae, 29(2): 251-262.

Hassanpour, H. and Alizadeh, S. 2016. Evaluation of phenolic compound, antioxidant activities and antioxidant enzymes of barberry genotypes in Iran. Scientia Horticulturae, 200: 125-130.

Ionica, M.E., Nour, V. and Trandafir, I. 2017. Bioactive compounds and antioxidant capacity of some *Morus* species. South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment, 8(2): 79-88.

Kamiloglu, S., Serali, O., Unal, N. and Capanoglu, E. 2013. Antioxidant activity and polyphenol composition of black mulberry (*Morus nigra* L.) products. Journal of Berry Research, 3(1): 41-51.

Kim, S.B., Chang, B.Y., Jo, Y.H., Lee, S.H., Han, S.B., Hwang, B.Y., Kim, S.Y. and Lee, M.K. 2013. Macrophage activating activity of pyrrole alkaloids from *Morus alba* fruits. Journal of ethnopharmacology, 145(1): 393-396.

Krishna, H., Singh, D., Singh, R.S., Kumar, L., Sharma, B.D. and Saroj, P.L., 2020. Morphological and antioxidant characteristics of mulberry (*Morus* spp.) genotypes. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 19(2), pp.136-145.

Kutlu, T., Durmaz, G., Ates, B., Yilmaz, I. and Çetin, M.Ş., 2011. Antioxidant properties of different extracts of black mulberry (*Morus nigra* L.). turkish Journal of Biology, 35(1), pp.103-110.

Lee, J.Y., Moon, S.O., Kwon, Y.J., Rhee, S.J., Park, H.R. and Choi, S.W. 2004. Identification and quantification of anthocyanins and flavonoids in mulberry (*Morus* sp.) cultivars. Food Science and Biotechnology, 13(2): 176-184.

Lee, K.M., Oh, T.J., Kim, S.H., Kim, H.Y., Chung, H., Min, D.S., Auh, J.H., Lee, H.J., Lee, J. and Choi, H.K., 2016. Comprehensive metabolic profiles of mulberry fruit (*Morus alba* Linnaeus) according to maturation stage. Food science and biotechnology, 25: 1035-1041.

Lee, Y. and Hwang, K.T., 2017. Changes in physicochemical properties of mulberry fruits (*Morus alba* L.) during ripening. Scientia Horticulturae, 217: 189-196.

Nakajima, J.I., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M. and Saito, K., 2004. LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. BioMed Research International, 2004(5): 241-247.

Oki, T., Kobayashi, M., Nakamura, T., Okuyama, A., Masuda, M., Shiratsuchi, H. and Suda, I., 2006. Changes in radical-scavenging activity and components of mulberry fruit during maturation. Journal of food science, 71(1): C18-C22.

Özgen, M., Serçe, S. and Kaya, C. 2009. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. Scientia horticulturae, 119(3): 275-279.

Shin, S.E., Ghimeray, A.K. and Park, C.H., 2014. Investigation of total phenolic, total flavonoid, antioxidantand allyl isothiocyanate content in the different organs of *wasabi Japonica* grown in an organic system. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 11(3): 38-45.

Wrolstad, R. E. 1993. Color and pigment analysis in fruit products. Station Bull. 621. Agricultural Experiment station, Oregon State University, Corvallis, OR, USA.

Yang, J., Liu, X., Zhang, X., Jin, Q. and Li, J. 2016. Phenolic profiles, antioxidant activities, and neuroprotective properties of mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) fruit extracts from different ripening stages. Journal of Food Science, 81(10): C2439-C2446.