**Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants**
ISSN: 2322-3235 (Print), 2783-4697 (Online) http:// http://ecophytochemical.gorganiau.ac.ir

Doi:10.30495/ejmp.2022.1950143.1676
Dor:20.1001.1.23223235.1401.10.3.6.4

# Phytochemical and antioxidant activity of some of *Morus alba* L. Var. *Nigra* genotypes in West and East Azerbaijan province

**Sakineh Moradkhani***

Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Payam Noor University, Khoi, Iran, Email:s.moradkhani@pnu.ac.ir

Serial 39, 10th year, Number 3, Autumn 2022 (56-68)

**Article type:**
Research Full Paper

**Article history**
Received: 18-01-2022
Revised: 29-06-2022
Accepted: 04-07-2022

**Keywords**
Anthocyanins
Antioxidants
DPPH
Mulberries
Polyphenols
Soluble sugar

**Abstract**

Blackberry (*Morus alba* L. Var. *Nigra*) has phytochemical compounds and antioxidant activity. In the present study, the fruits of four blackberry genotypes were harvested from two West and East Azerbaijan in mid-July 2017. Phytochemical indices were evaluated based on the content of total phenol (folate sizing method), total anthocyanin and antioxidant activity (DPPH). To separate, identify and determine the amount of phenolic acids and sugars a high-performance liquid chromatography device (HPLC) was used. Data analysis was performed by Duncan's multiple range test at the probability level of 1%. According to the variance analysis results, the measured traits were significant at the level of 1% and a high diversity was observed among the measured traits. The highest amount of antioxidants was 78.04 %, total anthocyanin and total phenol were 6.24 mg/ml and 925.98 mg/100 g fresh weight equivalent to gallic acid, respectively. In the current study, 9 polyphenolic compounds were identified in the fruit extract by HPLC. The main constituents included chlorogenic acid (60.060), coumaric acid (8.807) and caffeic acid (3.657) microgram per gram. In addition, in extracts, cinnamic acid (0.355), rosemary acid (0.055), gallic acid (2.59), rutin (0.833), apagenin (2.700), quercetin (1.861) microgram per gram were identified and also two sugars of fructose (5.84) and glucose (6.31) g per 100 g of fresh weight were reported. The results showed that in all genotypes, glucose was higher than fructose. The first genotype with the highest amount of antioxidant capacity, fructose, total phenol, caffeic acid, chlorogenic acid, quercetin and apagenin was introduced as the superior breed. The findings of this study is useful for understanding the diversity and efforts to select berries for breeding as well as for the food industry in selecting cultivars with high nutritional properties.

Please cite this article as Sakineh Moradkhani. 2022. Phytochemical and antioxidant study of some Mulberries fruit genotypes (*Morus alba* L. Var. *Nigra*) in the provinces of West and East Azerbaijan. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*. 10(3): 56-68.

© 2022. All Rights Reserved

فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی

شاپا: (چاپی) ۲۳۲۲-۳۲۳۵ (آنلاین) ۴۶۹۷-۲۷۸۳، http://ecophytochemical.gorganiau.ac.ir

Doi: 10.30495/ejmp.2022.1950143.1676
Dor: 20.1001.1.23223235.1401.10.3.6.4

# بررسی فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی برخی ژنوتیپ‌های میوه گیاه *Morus alba* L. Var. *nigra* در استان‌های آذربایجان غربی و شرقی

**سکینه مرادخانی***

استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، خوی، ایران، رایانامه: s.moradkhani@pnu.ac.ir

**سال دهم، شماره ۳۹، پاییز ۱۴۰۱ / صفحات: ۶۸-۵۶**

**نوع مقاله:**
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۸
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۴/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۳

***واژه‌های کلیدی:***
آذربایجان غربی
آنتوسیانین
آنتی اکسیدان
پلی‌فنل
توت سیاه
ژنوتیپ
قندهای محلول

**چکیده**

توت سیاه با نام علمی (*Morus alba* L. Var. *Nigra*) به دلیل تولید متابولیتهای ثانوی دارویی دارای عملکرد آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. در پژوهش حاضر میوه چهار ژنوتیپ توت سیاه از دو استان آذربایجان غربی و شرقی در اواسط تیرماه سال ۱۳۹۸ برداشت و صفات فیتوشیمیایی آنها مورد بررسی قرار گرفت. شاخص‌های فیتوشیمیایی براساس محتوای فنل کل (روش فولین سیکاتیو)، آنتوسیانین کل (روش اختلاف جذب در pH های مختلف) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) ارزیابی شدند و برای جداسازی شناسایی و تعیین مقدار کمی اسیدهای فنلی و قندها از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد. تجزیه داده‌ها با آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد. با توجه به نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در سطح یک درصد معنی‌دار بودند و تنوع بالایی در بین صفات اندازه‌گیری شده مشاهده شد. بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان بر اساس روش DPPH، ۷۸/۰۴ درصد، آنتوسیانین کل ۶/۲۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و فنل کل ۹۲۵/۹۸ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر معادل گالیک اسید بود. در پژوهش حاضر با استفاده از دستگاه (HPLC) نه ترکیب پلی‌فنلی در عصاره میوه شناسایی شد ترکیبات اصلی شامل کلروژنیک اسید (۶۰/۰۶۷)، کوماریکاسید (۸/۸۰۷) و کافئیک‌اسید (۳/۶۵۷) میکروگرم برگرم بودند، همچنین در عصاره‌ها سینامیک‌اسید (۰/۳۵۵)، رزماریک‌اسید (۰/۰۵۵)، گالیک‌اسید (۲/۵۹)، روتین (۰/۸۳۳)، آپیژنین (۲/۷۰۰)، کوئرسیتین (۱/۸۶۱) میکروگرم برگرم شناسایی شد و همچنین دو قند محلول فروکتوز (۵/۸۴) و گلوکز (۶/۳۱) گرم در صدگرم وزن تر گزارش گردید، نتایج نشان داد که در تمامی ژنوتیپ‌ها میزان قند گلوکز بیشتر از فروکتوز بود. ژنوتیپ اول با داشتن بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فروکتوز، فنل کل ،کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، کوئرسیتین و آپاژنین به عنوان نژاد برتر معرفی گردید، یافته‌های حاضر برای درک تنوع و تلاش برای انتخاب توت‌هایی برای اصلاح نژاد و همچنین برای صنایع غذایی در انتخاب ارقام با خواص غذایی بالا مفید هستند.

**استناد:** سکینه مرادخانی. (۱۴۰۱). بررسی و مقایسه فیتوشیمیایی و آنتیاکسیدانی برخی ژنوتیپ‌های میوه گیاه *Morus alba* L. Var. *nigra* در استان‌های آذربایجان غربی و شرقی. *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*، ۱۰ (۳)، ۶۸-۵۶.

**مقدمه**

یکی از مهم‌ترین مواد طبیعی خوراکی که در رژیم غذایی انسان وجود دارد میوه‌ها هستند که به دلیل دارا بودن ترکیبات مفید فراوان در خود می‌توانند سلامت انسان را تضمین کنند (Fattahi et al., 2011). میوه‌ها منابع غنی از ویتامین‌های مختلف، عناصر و فیبرها هستند که برای سلامت بشر مطلوب می‌باشند با توجه به اینکه انواع ریزمیوه‌ها نقش مهمی در حفظ سلامت انسان و پیشگیری از ابتلا به انواع بیماری‌ها دارند در سال‌های اخیر مرکز توجه پژوهش‌های تغذیه‌ای بوده‌اند (Firoz barandozi and Hassanpour, 2020). توت از خانواده Moraceae و از جنس Morus است که شامل ۲۴ گونه، یک زیر گونه و حداقل ۱۰۰ واریته شناخته شده می باشد (Elhamirad, 2013). سه نوع عمده توت شامل توت سفید، توت سیاه و توت قرمز است (Fanoodi et al., 2021). توت سیاه یکی از واریته‌های توت سفید است که مخلوط با گونه اصلی در جنگل‌های شمال کشور پراکنده است (Sabeti, 2008). پراکندگی جغرافیایی توت بیشتر در مناطق معتدل و نیمه گرمسیری جهان است. درخت توت در نواحی مرطوب شمال ایران یعنی مازندران و گیلان و همچنین در مناطق خشک و کم آب مانند خراسان و آذربایجان نیز می‌تواند رشد کند (Basiri, 2017). میوه توت میوه‌ای با ارزش غذایی و دارویی است (Chen et al., 2022). به‌طور خاص، میوه توت سرشار از مواد مغذی مفید است و حاوی متابولیت‌های ثانویه است که دارای فعالیت‌های دارویی مانند ضد دیابت، آنتی‌اکسیدان، ضدچاقی و ضدالتهاب هستند (Ramappa et al., 2020). پتانسیل تغذیه‌ای و محبوبیت بسیار زیاد میوه‌های توت، انگیزه تحقیقات در مورد محتوای شیمیایی و قدرت آنتی‌اکسیدانی میوه‌های توت برای یافتن منابع نویدبخش آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی است (Hosseini et al., 2018). پیش از این، بسیاری از گزارش‌های تحقیقاتی وجود ترکیبات فعال زیستی در میوه‌های توت را نشان داده‌اند (Jiang & Mahmood et al., 2017; Nie, 2015). در پژوهش‌های گذشته وجود آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنلی در ارقام مختلف توت تایید شده است (Chen et al., 2022). آنتی‌اکسیدان‌ها با از بین بردن رادیکال‌های آزاد یا مانع شدن از تشکیل آنها، سلول‌ها را در مقابل آسیب اکسیداتیو محافظت می‌نمایند (Parsons, 2017). خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان در درجه‌ی اول به‌دلیل ترکیبات فنولی موجود در آنها است که ممکن است در تمام قسمت‌های گیاهان مثل میوه‌ها، دانه‌ها و برگ‌ها وجود داشته باشد (Shah et al., 2014). فنول‌ها و ترکیبات فنولیک مثل فلاونوئیدها جزء متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند و به‌صورت وسیع در بعضی گیاهانی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند، یافت می‌شوند (Alam et al., 2007). میوه توت سیاه حاوی آنتوسیانین می‌باشد. آنتوسیانین‌ها جاروب‌کننده‌ی رادیکال‌های آزاد بوده و تاثیر خیلی مهمی در مهار اکسیداسیون لیپوپروتئین، با چگالی کم (LDL) دارد که یک گام کلیدی برای درمان بیماری آرترواسکلروزیس است (Smith et al., 2000). آنتوسیانین برای فعالیت‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان، از جمله آنتی‌اکسیدان، محافظت از آسیب گیاه، پاسخ به استرس، و جذب حیوانات برای گرده افشانی و پخش بذر ضروری است (Guo et al., 2011). در سال‌های اخیر به آنتوسیانین‌ها به دلیل نقش برجسته‌ای که در منابع دارویی دارند، توجه بیشتری شده است (Dai et al., 2022). با توجه به این که میوه‌ها یکی از مهم‌ترین مواد طبیعی خوراکی موجود در رژیم غذایی انسان هستند و با توجه به دارا بودن انواع ترکیبات مفید در خود می‌توانند سلامت بشر را تضمین کنند. میوه‌ها منابع غنی از ویتامین‌های مختلف، عناصر و فیبرها بوده که

برای سلامتی بشر مطلوب هستند. پس مطالعه بر مواردی که بر خصوصیات فیتوشیمی میوه‌ها اثر می‌گذارد و معرفی ژنوتیپ‌های برتر بسیار حائز اهمیت می‌باشد. از آنجایی که شرایط آب و هوایی نیز بر خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها تاثیر دارد و ممکن است کشت در شرایط آب و هوایی متفاوت بر این گیاهان تاثیراتی گذارد و با توجه به این‌که تاکنون مطالعه‌ی وسیعی بر روی ترکیبات فنلی و قندهای میوه توت سیاه در استان‌های آذربایجان غربی و شرقی صورت نگرفته است لذا انجام این کار ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این مطالعه بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و اندازه‌گیری پلی‌فنل‌ها و قندهای میوه توت سیاه با روش اسپکتوفتومتری و کروماتوگرافی مایع می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر ۴ ژنوتیپ میوه‌ی توت سیاه از چهار شهرستان خوی، ارومیه، تبریز و مرند از استان‌های آذربایجان غربی و شرقی جمع‌آوری گردید. محل جمع‌آوری ژنوتیپ‌ها، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی در جدول (۱) آورده شده است. میوه‌ها پس از رسیدن به بلوغ کامل و در اواسط تیر ماه ۱۳۹۸ برداشت شدند. پس از جمع‌آوری، میوه‌های هر ژنوتیپ در داخل پلاستیک گذاشته شده و نام و موقعیت جغرافیایی برروی آن ذکر شد و در فلاکس حاوی یخ قرار گرفت و به آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور مرکز خوی انتقال یافتند و خصوصیاتی از قبیل آنتی‌اکسیدان کل، فنل کل و آنتوسیانین کل میوه‌ها اندازه‌گیری گردید، با توجه به عدم وجود دستگاه HPLC در دانشگاه پیام نور خوی، نمونه‌ها برای اندازه‌گیری قندهای محلول و پلی‌فنل‌ها که نیاز به دستگاه HPLC بود، به جهاد دانشگاهی مرکز ارومیه فرستاده شد.

**جدول ۱:** موقعیت جغرافیایی ژنوتیپ‌های مورد بررسی توت سیاه در استان آذربایجان غربی

| شماره | ژنوتیپ | محل جمع آوری | عرض جغرافیایی | طول جغرافیایی | ارتفاع از سطح دریا (متر) |
|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | G1 | خوی | ″۴۱/۷ ′۳۴ °۳۸ شمالی | ″۴۰/۹ ′۵۵ °۴۴ شرقی | ۱۱۶۴ |
| ۲ | G2 | ارومیه | ″۵۴/۸ ′۳۵ °۳۷ شمالی | ″۳۵/۶ ′۰۲ °۴۵ شرقی | ۱۳۴۱ |
| ۳ | G3 | مرند | ″۳۸/۷ ′۲۴ °۳۸ شمالی | ″۱۰/۹ ′۴۶ °۴۵ شرقی | ۱۴۰۲ |
| ۴ | G4 | تبریز | ″۱۱/۳ ′۰۶ °۳۸ شمالی | ″۳۶/۷ ′۱۵ °۴۶ شرقی | ۱۳۵۴ |

**عصاره‌گیری آنتی‌اکسیدان کل، فنل کل و آنتوسیانین کل:** برای استخراج عصاره‌ها برای اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان کل، فنل کل و آنتوسیانین کل، میوه‌ها را به صورت کامل در یک دستگاه میکسر (مخلوط کن) ریخته و مخلوط گردید، سپس یک گرم از نمونه‌ی میکس شده را با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصد مخلوط شد و به مدت یک دقیقه نمونه‌ها ورتکس (مخلوط) گردید. بعد از آن نمونه‌ها را به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار داده شد و دوباره به مدت یک دقیقه نمونه‌ها را ورتکس شده و سپس در داخل دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد و نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و قسمت بالایی نمونه‌ها که شناور بود را استفاده کردیم (Hassanpour and Alizadeh, 2016).

**ارزیابی فعالیت پاداکسایشی عصاره‌ها به روش DPPH :** جهت سنجش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ۵۰ میکرولیتر از عصاره آماده شده با ۱۰۰۰ میکرولیتر DPPH مخلوط گردید و این مخلوط به شدت تکان داده شد. سپس همه نمونه‌ها در دمای اتاق و تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند و

جذب آنها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتراندازه‌گیری شد. درصد بازدارندگی DPPH طبق معادله (۱) محاسبه گردید (Nakajima et al., 2004).

درصد مهار = $(B_0 - B_1/B_0) \times 100$

$B_0$ = جذب محلول کنترل (۱)

$B_1$ = جذب نمونه

**روش اندازه‌گیری فنل کل**: از روش فولین سیو کالتو[1] برای سنجش فنل کل استفاده گردید. در ابتدا ۳۰ میکرولیتر از عصاره در داخل لوله آزمایش ریخته سپس به‌ترتیب ۶۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو ۱۰ درصد و ۹۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد و بعد از ۶ دقیقه به هر لوله اضافه به‌میزان ۴۸۰ میکرولیتر سدیم کربنات اضافه شد و به حجم ۱۲۰۰ میکرولیتر رسانده شد (Du et al., 2009). سپس نمونه‌ها به مدت ۹۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی قرار گرفتند و جذب هر نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و در در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. میزان فنل کل هر نمونه با رسم نمودار استاندارد برحسب معادل گالیک اسید (GAE) بیان شد و از معادله (۲) محاسبه گردید.

$$Y \quad (۲)$$

مقدار جذب نمونه = Y

**روش اندازه‌گیری آنتوسیانین کل**: برای اندازه‌گیری آنتوسیانین کل، از روش اختلاف جذب در pH های مختلف (pH=4.5 و pH=1) استفاده شد. آنتوسیانین کل در دو طول موج ۵۳۰ و ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید. در ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر با بافر یک کالیبره شد، سپس ۲/۵ میلی‌لیتر بافر یک در لوله‌ی آزمایش ریخته و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره را با آن مخلوط کردیم و در هر دو طول موج قرائت کردیم، پس از این مرحله نیز دستگاه با بافر دو کالیبره گردید و ۲/۵ میلی‌لیتر بافر دو را با ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره مخلوط شد و در هر دو طول موج قرائت گردید (Giusti and Wrolstad, 2001).

میزان آنتوسیانین کل طبق فرمول‌های زیر محاسبه شد:

$$(A) = (A530\ pH1 - A700\ pH1) - \text{جذب} \quad (۳)$$

$$TAC = \frac{A * MW * V * DF * 100}{\varepsilon * 100} \quad (۴)$$

A= جذب DF = فاکتور رقت

MW = وزن مولکولی $\varepsilon$= جذب مولی

نتایج به‌صورت میلی‌گرم سیانیدین-۳ – گلوکوزاید در میلی‌لیتر عصاره گزارش شد.

**عصاره‌گیری پلی‌فنل**: برای عصاره‌گیری در ابتدا دو گرم از نمونه‌ی سابیده شده را وزن کرده و داخل لوله آزمایش ریختیم و به آن ۴ میلی‌لیتر محلول متانولی حاوی یک درصد اسید استیک اضافه کردیم سپس این محلول را به مدت ۱۰ دقیقه تحت امواج ماورا صوت قرار دادیم. سپس نمونه را سانتریفیوژ کرده و جهت آزمون ۲۰ میکرولیتر از آن به دستگاه کروماتوگرافی مایع تزریق کردیم.

**جداسازی پلی‌فنل‌ها**: برای جداسازی، شناسایی و تعیین مقدار کمی اسیدهای فنلی مورد مطالعه در این پژوهش از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مدل سری ۱۱۰۰ ساخت کمپانی Agilent آمریکا، مجهز به یک لوپ تزریق به حجم ۲۰ میکرولیتر، پمپ گرادیان چهار حلالی، سیستم گاز زدا، آون ستون (تنظیم شده در ۲۵ سانتی‌گراد) و آشکارساز آرایه دیودی، که در طول موج‌های ۲۵۰، ۲۷۲ و ۳۱۰ نانومتر تنظیم شده، استفاده شد. جداسازی برروی ستون اکتادسیل‌سیلان (به طول ۲۵ سانتی‌متر، قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر و اندازه ذرات ۵ میکرومتر (ZORBAX Eclipse XDB) ساخت کمپانی Dr. Mainsch آلمان انجام شد. از نرم افزار

1. Folin-Ciocalteu

Chemstation جهت پردازش داده‌ها استفاده گردید. جهت جداسازی بهتر ترکیبات از برنامه شویش استفاده گردید، به این صورت که ابتدا فاز متحرک با نسبت ۱۰ درصد استونیتریل و ۹۰ درصد محلول یک درصد استیک اسید با فلوی یک میلی‌لیتر بر دقیقه شروع شد و در طی ۵ دقیقه به نسبت ۲۵ درصد استونیتریل و ۷۵ درصد محلول یک درصد استیک اسید با فلوی یک میلی‌لیتر بر دقیقه رسید، سپس در طی ۱۰ دقیقه به نسبت ۶۵ درصد استونیتریل و ۳۵ درصد محلول یک درصد استیک اسید با فلوی یک میلی‌لیتر بر دقیقه رسید. زمان جداسازی ۱۵ دقیقه بود (Seal, 2016).

**عصاره‌گیری قندهای محلول:** دو گرم از نمونه سابیده شده را برداشتیم و بعد از آن ۴ میلی‌لیتر آب دیونایز به آن اضافه کردیم و تحت امواج التراسونیک به مدت ۲۰ دقیقه تحت دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد استخراج انجام شد.

**جداسازی قندهای محلول:** جداسازی، شناسایی و تعیین مقدار قندهای با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مدل سری ۱۱۰۰ ساخت کمپانی Agilent آمریکا، مجهز به یک لوپ تزریق به حجم ۲۰ میکرولیتر، پمپ گرادیان چهار حلالی، سیستم گاز زدا، آون ستون (تنظیم شده در ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و آشکارساز ضریب شکست انجام شد. جداسازی برروی ستون آمینو (به طول ۲۵ سانتی‌متر، قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر و اندازه‌ی ذرات ۵ میکرومتر) صورت گرفت. از نرم‌افزار Chemstation جهت پردازش داده‌ها استفاده گردید. جهت جداسازی ترکیبات از فاز متحرک با نسبت ۱۵ درصد آب و ۸۵ درصد استونیتریل با فلوی دو میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده گردید. دمای ستون ۳۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. زمان جداسازی ۲۰ دقیقه بود.

**آنالیز آماری:** این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. داده‌های حاصل با کمک نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ تجزیه شدند. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین بین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۱ درصد انجام شد.

## نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲ و ۳) نشان داد که تمامی صفات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و آنتوسیانین کل، قندهای محلول و پلی‌فنل‌ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشند.

**جدول ۲:** تجزیه واریانس خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و قندهای محلول

| | | میانگین مربعات | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| منابع تغییر | درجه آزادی | آنتی‌اکسیدان کل (DPPH) | فنل کل | آنتوسیانین کل | گلوکز | فروکتوز |
| تیمار | ۳ | ۱۳۸/۲۵** | ۳۴۲۲۰/۲۸** | ۴/۶۷** | ۱/۲۰** | ۱/۱۴** |
| خطا | ۸ | ۹/۹۸ | ۱۱۷۷/۲۶ | ۰/۴۴ | ۰/۱۳۶ | ۰/۱۰۳ |
| ضریب‌تغییرات | - | ۴/۵۹ | ۴/۱۷ | ۱۳/۵۹ | ۶/۴۸ | ۶/۲۶ |

**معنی داری در سطح ۱ درصد

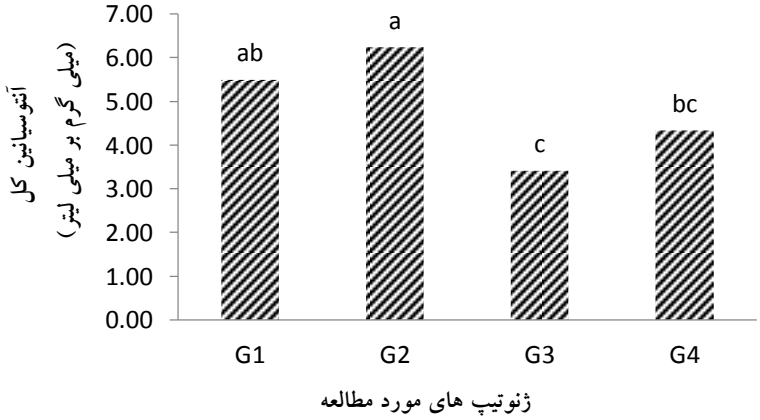
**جدول ۳:** تجزیه واریانس ترکیبات فنلی

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | گالیک اسید | کافئیک اسید | کلروژنیک اسید | روتین | کوماریک | رزماریک اسید | کوئرسیتین | سینامیک اسید | آپاژنین |
| تیمار | ۳ | ۱/۳۱** | ۴/۱۴۶ ** | ۱۰۵۸/۷۶** | ۰/۴۶۲** | ۴۲/۷۶ ** | ۰/۰۰۷ ** | ۰/۹۰۲ ** | ۰/۲۰۲ ** | ۴/۷۲۷** |
| خطا | ۸ | ۰/۱۹۶ | ۰/۳۴۵ | ۶۷/۸۱ | ۰/۰۱۳ | ۰/۷۰۲ | ۰/۰۰۰۴ | ۰/۰۲۵ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۹۲ |
| ضریب‌تغییرات | – | ۲۵/۷۳ | ۲۲/۳۳ | ۱۹/۱۹۱ | ۲۶/۶۳ | ۲۵/۳۳ | ۲۹/۶۳ | ۱۱/۱۸۹ | ۱۵/۳۹ | ۲۶/۲۲ |

**معنی داری در سطح ۱ درصد

**ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ها به روش DPPH:** طبق نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۱)، به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان آنتی‌اکسیدان کل ۷۸/۰۴ و ۶۳/۲۹ درصد بود که به‌ترتیب در ژنوتیپ‌های اول و دوم مشاهده شد.

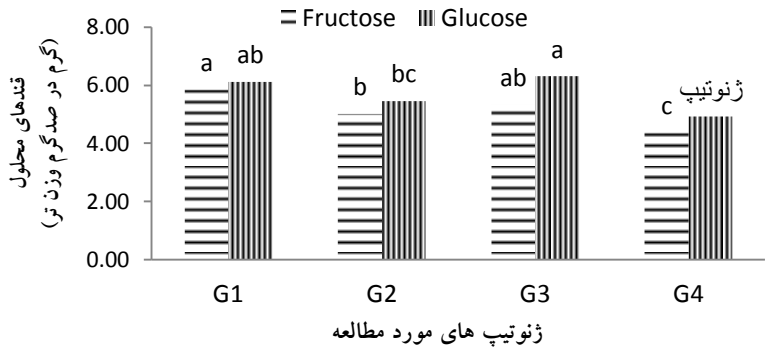
**شکل ۱:** بررسی فعالیت پاد اکسایشی میوه‌ی چهار ژنوتیپ توت سیاه به روش مهار رادیکال DPPH (درصد) (میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترکند از نظر آماری در سطح ۱ درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی داری ندارند.)




**شکل ۲:** بررسی آنتوسیانین کل میوه چهار ژنوتیپ توت سیاه (میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترکند از نظر آماری در سطح ۱ درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند)

**آنتوسیانین کل:** با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۲)، بیشترین میزان آنتوسیانین کل در ژنوتیپ دوم ۶/۲۴ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر و کمترین میزان آنتوسیانین کل در ژنوتیپ سوم ۳/۴۲ میلی‌گرم برمیلی‌لیتر مشاهده شد. پیش از این در چندین پژوهش وجود آنتوسیانین‌ها در توت‌های رنگی و شاه توت گزارش شده است.

**قندهای محلول:** با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (شکل ۳)، دو قند فروکتوز و گلوکز در میوه توت سیاه مشاهده گردید، همچنین در تمامی ژنوتیپ‌ها میزان قند گلوکز بیشتر از فروکتوز بود. بیشترین میزان گلوکز ۶/۳۱ گرم در صدگرم وزن تر بود که در ژنوتیپ سوم مشاهده گردید، همچنین بیشترین میزان فرکتوز ۵/۸۴ گرم در صد گرم وزن تر بود که در ژنوتیپ اول مشاهده شد.




**شکل ۳:** بررسی قندهای محلول میوه‌ی چهار ژنوتیپ توت سیاه (میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترکند از نظر آماری در سطح ۱ درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی داری ندارند)

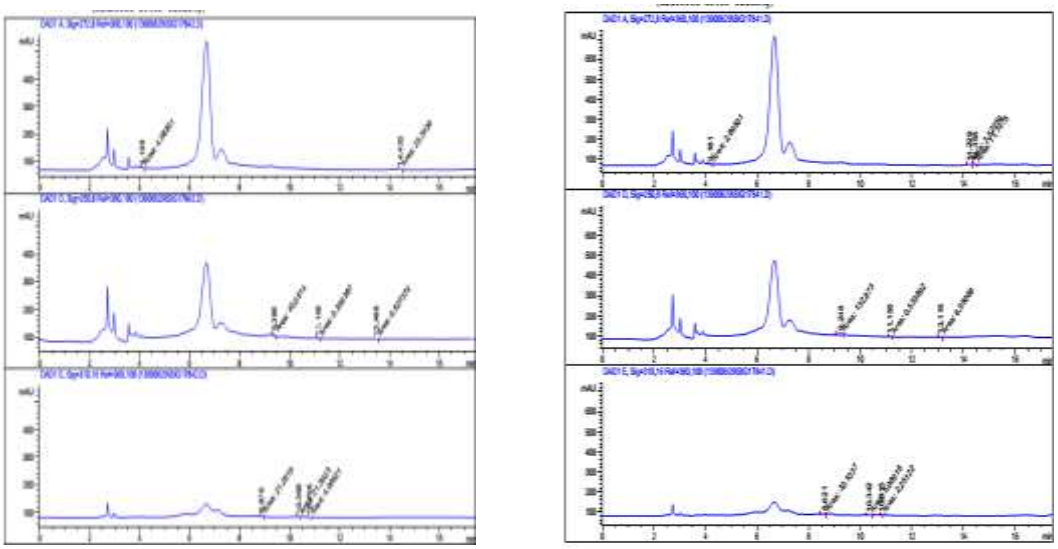
**جدول ۴:** پلی فنل‌های شناسایی شده میوه‌ی چهار ژنوتیپ توت سیاه (میکروگرم بر گرم)

| ژنوتیپ‌ها | فنل کل | گالیک اسید | کافئیک اسید | کلروژنیک اسید | روتین | کوماریک | رزماریک اسید | کوئرسیتین | سینامیک اسید | آپاژنین |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ژنوتیپ ۱** | ۹۲۵/۹۸ $^{a}$ | ۱/۰۱ $^{b}$ | ۳/۶۵۷ $^{a}$ | ۶۰/۰۶۷ $^{a}$ | ۰/۱۸۴ $^{b}$ | ۱/۵۵۳ $^{bc}$ | ۰/۰۵۵ $^{b}$ | ۱/۸۶۱ $^{a}$ | ۰/۱۵۶ $^{c}$ | ۲/۷۰۰ $^{a}$ |
| **ژنوتیپ ۲** | ۶۹۲/۸۲ $^{c}$ | ۱/۵۰۰ $^{b}$ | ۲/۵۰۰ $^{b}$ | ۲۸/۷۷۳ $^{b}$ | ۰/۶۸۷ $^{a}$ | ۲/۵۴ $^{b}$ | ۰/۰۳۰ $^{b}$ | ۱/۴۶۷ $^{b}$ | ۰/۶۶۱ $^{a}$ | ۰/۰۱۲ $^{c}$ |
| **ژنوتیپ ۳** | ۷۷۹/۵۱ $^{b}$ | ۱/۷۹۰ $^{ab}$ | ۱/۰۲۷ $^{c}$ | ۵۸/۱۳۳ $^{a}$ | ۰/۰۱۳ $^{b}$ | ۰/۳۳۲ $^{c}$ | ۰/۰۳۴ $^{b}$ | ۰/۶۴۳ $^{c}$ | ۰/۰۷۸ $^{c}$ | ۰/۲۶۳ $^{c}$ |
| **ژنوتیپ ۴** | ۸۹۲/۱۲ $^{a}$ | ۲/۵۹۰ $^{a}$ | ۳/۳۴۰ $^{ab}$ | ۲۴/۶۶۷ $^{b}$ | ۰/۸۳۳ $^{a}$ | ۸/۸۰۷ $^{a}$ | ۰/۱۳۳ $^{a}$ | ۱/۷۳۹ $^{ab}$ | ۰/۳۵۵ $^{b}$ | ۱/۶۴۳ $^{b}$ |

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند از نظر آماری در سطح ۱ درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

**فنل کل:** طبق نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (جدول۴)، به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان فنل کل ۹۲۵/۹۸ و ۶۹۲/۸۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر معادل گالیک اسید بود که به ترتیب در ژنوتیپ‌های اول و دوم مشاهده شد.

**پلی‌فنل ها:** در پژوهش حاضر ۹ نوع ترکیب پلی فنل در میوه‌توت سیاه شناسایی گردید که شامل گالیک اسید، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، روتین، کوماریک اسید، رزماریک اسید، کوئرسیتین، سینامیک اسید، آپاژنین می‌باشد که مقدار آنها در جدول (۴) آورده شده است. ژنوتیپ اول حاوی بیشترین میزان کافئیک اسید (۳/۶۵۷)، کلروژنیک اسید (۶۰/۰۶۷)، کوئرسیتین (۱/۸۶۱) و آپاژنین (۲/۷۰۰)، میکروگرم بر گرم بود.



**شکل ۴:** نمودار HPLC پروفایل ترکیبات فنلی میوه توت سیاه
(تصویر سمت راست مربوط به ژنوتیپ اول) و (تصویر سمت چپ مربوط به ژنوتیپ دوم)

**بحث**

نتایج پژوهش حاضر حاکی از وجود فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوت توت سیاه بود، ژنوتیپ‌های اول بیشترین ۷۸/۰۴ درصد و ژنوتیپ دوم کمترین ۶۳/۲۹ درصد ، فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشت. پیش از این وجود آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در توت‌ها تایید شده است و میوه‌ی توت به عنوان منبع قوی از آنتی‌اکسیدان معرفی شده است (Chen et al., 2016). در پژوهش مشابهی (Farahani et al., 2019) میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب DPPH را در میوه توت سیاه را از ۱۰۹/۰۵ تا ۱۵۲۴/۸۴ میلی‌گرم در صد گرم گزارش نموده‌اند. در پژوهش دیگری جون و همکاران (Jun et al., 2014) میزان آنتی‌اکسیدان به روش DPPH و در غلظت‌های متفاوت متانول را در میوه توت سیاه ۶۸/۳۰ تا ۷۸/۴۰ درصد گزارش نمودند که تا حدودی با پژوهش حاضر مشابهت داشت. همچنین کریشنا و همکاران ( Krishna et al., 2018)، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب DPPH را در میوه دو ژنوتیپ متفاوت از توت قرمز را ۷۸/۵۰ تا ۸۳/۲۰ درصد گزارش کرده‌اند که تا حدودی با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد.

آنتوسیانین‌ها مشتقات گلیکوزیله پلی‌هیدروکسی و پلی‌متوکسی از نمک‌های فلاویلیوم بوده و به‌عنوان رنگ‌های طبیعی از خانواده فلاونوئیدها می‌باشند و به‌طور گسترده‌ای در گل‌ها، میوه‌ها و سبزیجات وجود دارند (Nikkhah et al., 2009). نتایج پژوهش حاضر حاکی از وجود آنتوسیانین در میوه توت سیاه بود. بیشترین میزان آنتوسیانین کل در ژنوتیپ دوم ۶/۲۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و کمترین میزان آنتوسیانین کل در ژنوتیپ سوم ۳/۴۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. پیش از این در چندین پژوهش وجود آنتوسیانین‌ها در توت‌های رنگی و شاه توت گزارش شده است. در پژوهشی پرویزی و همکاران (Parvizi et al., 2019) محتوی آنتوسیانین کل را در روز اول برداشت در توت سیاه ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره گزارش کردند که با پژوهش حاضر تا حدودی مشابهت داشت. در پژوهشی در هندوستان میزان آنتوسیانین در چندین ژنوتیپ توت قرمز رنگ ۱۲/۶ تا

۱۹/۲ میلی‌گرم بر صدگرم گزارش شد (Krishna et al., 2018). در پژوهش دیگری میزان آنتوسیانین توت در رقم‌های متفاوت توت، ۱۹ تا ۱۹۳ میلی‌گرم بر صد گرم وزن تر گزارش شد (Liang et al., 2012). دلیل تفاوت در میزان آنتوسیانین مشاهده شده می‌تواند به دلیل شرایط باغبانی متفاوت، قرارگیری در شرایط نوری متفاوت و همچنین شدت رسیده بودن میوه باشد. برخی از تحقیقات نشان داده‌اند که در میوه‌های قرمز رنگ، در آخرین مراحل رسیدن افزایش می‌یابد که از علل این افزایش می‌توان به وجود فلاونول‌ها و آنتوسیانین‌ها اشاره نمود (Bridle & Timberlake, 1978; Gerasopoulos & Stavroulakis, 1997).

از دیگر مواد موجود درمیوه‌ها می‌توان به قند میوه‌ها اشاره نمود. نتایج نشان دهنده این است که دو قند فروکتوز و گلوکز در میوه توت سیاه وجود دارد، همچنین در تمامی ژنوتیپ‌ها میزان قند گلوکز بیشتر از فروکتوز بود. بیشترین میزان گلوکز ۶/۳۱ گرم در صد گرم وزن تر بود که در ژنوتیپ سوم مشاهده گردید، همچنین بیشترین میزان فرکتوز ۵/۸۴ گرم در صد گرم وزن تر بود که در ژنوتیپ اول مشاهده شد. شیامین و همکاران (Xiaomin et al., 2020) پیش از این وجود قندهای فروکتوز و گلوکز را در مراحل مختلف رسیدن توت تایید کرده‌اند، ماخول و همکاران (Makhoul et al., 2017) در پژوهشی بیشترین فروکتوز را در توت سیاه ۱۱/۰۱ درصد و گلوکز را ۱۴/۶۹ درصد گزارش نمودند. در پژوهشی دیگر ازجان و همکاران (Özgen et al., 2009) به ترتیب بیشترین میزان قندهای فروکتوز و گلوکز را در توت قرمز ۴/۶۶ و ۴/۹۶ میلی‌گرم بر صد میلی‌لیتر گزارش کردند و گزارش نمودند که میزان قند گلوکز در ژنوتیپ‌های مختلف توت بیشتر از مقدار فروکتوز می‌باشد. همچنین در پژوهشی اندوگدو و همکاران (Gundogdu et al., 2011) میزان فرکتوز و گلوکز را در میوه‌های شاه توت (*Morus nigra*) به‌ترتیب ۵/۶۳۴ و ۷/۷۴۸ گرم در صد گرم وزن تر و در توت قرمز (*Morus rubra*) میزان فرکتوز و گلوکز را به ترتیب ۵/۴۰۷ و ۶/۰۶۸ گرم در صد گرم وزن تر گزارش کردند و بیان داشتند که میزان گلوکز در میوه‌های ارقام متفاوت توت بیشتر از میزان فروکتوز می‌باشد که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر کاملا شباهت داشت.

ترکیبات فنلی متابولیت‌های ثانویه‌ای می‌باشند که دارای اثرات زیست محیطی مهمی همچون اثرات ضدسرطانی و ضدمیکروبی هستند (García–Alonso et al., 2004). در پژوهش حاضر میزان فنل کل بین ۹۲۵/۹۸ و ۶۹۲/۸۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر معادل گالیک اسید گزارش شد. در پژوهشی ایمران و همکاران (Imran et al., 2010) میزان فنل کل در میوه‌های شاه توت (*Morus nigra*)، را ۸۸۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم میوه‌ی تازه گزارش کردند که تا حدودی با یافته‌های ما مشابهت داشت. همچنین در پژوهش دیگری فراهانی و همکاران (۲۰۱۹)، بیشترین میزان فنل کل در میوه توت سیاه را ۹۲۲/۶۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم میوه‌ی تازه گزارش کردند که با یافته‌های ما در پژوهش حاضر همخوانی داشت. در پژوهش دیگری جون و همکاران (Jun et al., 2014) نیز بیشترین میزان فنل کل در توت سیاه را با استفاده از استخراج حلال استون، ۱/۸ میکروگرم بر میلی‌گرم بیان کردند.

همچنین در پژوهش حاضر ۹ نوع ترکیب پلی‌فنلی در میوه‌ی توت سیاه شناسایی گردید که شامل گالیک اسید، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، روتین، کوماریک اسید، رزماریک اسید، کوئرسیتین، سینامیک اسید، آپاژنین می‌باشد، ژنوتیپ اول حاوی بیشترین میزان کافئیک اسید (۳/۶۵۷)، کلروژنیک اسید (۶۰/۰۶۷)،

کوئرسیتین (۱/۸۶۱) و آپاژنین (۲/۷۰۰)، میکروگرم بر گرم بود. در پژوهش مشابهی (Zadernowski et al., 2005)، گالیک اسید، کافئیک اسید، کوماریک، سینامیک اسید را در توت سیاه گزارش نمودند. در پژوهش دیگری گالیک اسید، کوماریک اسید در توت سیاه گزارش شده است (Jun et al., 2014). روش‌ها و حلال‌های استخراجی متفاوت عصاره‌ها و همچنین استفاده از ژنوتیپ‌های متفاوت و متفاوت بودن شرایط محیطی منطقه مورد مطالعه می‌تواند دلیل تفاوت در نتایج مطالعات صورت گرفته باشد. در هر گونه، میزان این ترکیبات می‌تواند تحت تاثیر رقم و ژنتیک، منشاء جغرافیایی، بلوغ، اقلیم، موقعیت روی درخت، عملیات باغبانی و شرایط انبارداری قرار گیرد (Deshmukh et al., 2011).

## نتیجه‌گیری نهایی

برخی از مطالعات اشاره کرده‌اند که میوه توت ممکن است منبع خوبی از ترکیبات پلی‌فنلی باشد که می‌تواند بر سلامت انسان تأثیر مثبت بگذارد. نتایج گزارش‌شده در اینجا نشان داد که میوه‌ی توت‌ها محتوای زیاد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، پلی‌فنل‌ها، قندهای محلول و آنتوسیانین را دارا می‌باشند در حالی که این پارامترها در ژنوتیپ‌ها متنوع است. در پژوهش حاضر ۹ پلی‌فنل و دو قند گلوکز و فروکتوز در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شناسایی گردید. ژنوتیپ اول با داشتن بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فروکتوز، فنل کل، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، کوئرسیتین و آپاژنین به‌عنوان نژاد برتر معرفی گردید، امکان دارد که ترکیبات فنلی بیشتری در میوه توت وجود داشته باشد که در پژوهش حاضر بررسی نشده است، یافته‌های حاضر برای درک تنوع و تلاش برای انتخاب توت‌هایی برای اصلاح نژاد و همچنین برای صنایع غذایی در انتخاب ارقام با خواص غذایی بالا مفید هستند.

## References


1. Alam, M.S., Kaur, G., Jabbar, Z., Javed, K. and Athar, M. 2007. *Eruca sativa* seeds possess antioxidant activity and exert a protective effect on mercuric chloride induced renal toxicity. Food and chemical toxicology, 45(6): 910- 920.
2. Basiri, S. 2017. Determination of some of physico-chemicalthe properties and suitable storage time of concentrated mulberry in Khorasan region. Iranian Journal of food science and technology, 14(66): 175-186.
3. Bridle, P. and Timberlake, C.F. 1978. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. Food Chemistry, 58: 103-109.
4. Chen, H., Chen, J., Yang, H., Chen, W., Gao, H. and Lu, W. 2016. Variation in total anthocyanin, phenolic contents, antioxidant enzyme and antioxidant capacity among different mulberry (*Morus* sp.) cultivars in China. Scientia Horticulturae, 213: 186-192.
5. Chen, T., Shuang, F.F., Fu, Q.Y., Ju, Y.X., Zong, C.M., Zhao, W.G., Zhang, D.Y., Yao, X.H. and Cao, F.L. 2022. Evaluation of the chemical composition and antioxidant activity of mulberry (*Morus alba* L.) fruits from different varieties in China. Molecules, 27(9): 2688.
6. Dai, M., Kang, X., Wang, Y., Huang, S., Guo, Y., Wang, R., Chao, N. and Liu, L. 2022. Functional characterization of flavanone 3-hydroxylase (f3h) and its role in anthocyanin and flavonoid biosynthesis in mulberry. Molecules, 27(10): 3341.
7. Deshmukh, S.R., Wadegaonkar, V.P., Bhagat, R.P. and Wadegaonkar, P.A. 2011. Tissue specific expression of anthraquinones, flavonoids and phenolics in leaf, fruit and root suspension cultures

of Indian mulberry (*Morinda citrifola* L.). Plant Omics Journal, 4: 6-13.
8. 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: 557-562.
9. Elhamirad, A. 2013. Optimization of juice clarification of two native white mulberry (*Morus alba*) varieties. Innovation in food science and technology (Journal of food science and technology), 5(1): 91-103.
10. Fanoodi, M., Hosseini-Vashan, S.J., Mojtahedi, M. and Raji, A.R. 2021. Effect of dried surplus white mulberries and multi-enzyme on growth performance. Blood Biochemical Indices and Intestinal Morphology of Broiler Chickens. rap, 12(34): 40-5.
11. 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.
12. Fattahi, J., Hamidoghli, Y., Fotouhi, R., Ghasemnejad, M. and Bakhshi, D. 2011. Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activity of the peel of different commercial *Citrus* species. Journal of Horticulture Science, 25(2): 211-217.
13. Firoz barandozi, S. and Hassanpour, H. 2020. Investigation of physicochemical characteristics and fruit color of some white mulberry (*Morus alba*) *Genotypes in* West Azerbaijan province of Iran. Journal of crop production and processing, 9(4): 145-158.
14. García-Alonso, M., Pascual-Teresa, S., Santos Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J.C. 2004. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. Food Chemistry, 84: 13-18.
15. Gerasopoulos, D. and Stavroulakis, G. 1997. Quality characteristics of four Mulberry (*Morus* spp.) cultivars in the area of Chania Greece. Journal of the Science of Food and Agriculture, 73: 261-264.
16. Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV- visible spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry, 47: 777-780.
17. Gundogdu, M., Muradoglu, F., Sensoy, R.I.G. and Yilmaz, H. 2011. Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra* L., *Morus alba* L. and *Morus rubra* L. by HPLC. Scientia Horticulturae, 132: 37–41.
18. Guo, F.D., Wang, X.Z., Liu, X.Y., Han, X. and Wang, X.J. 2011. Metabolic regulation of plants anthocyanin. Chin. Bull. Life Sci., 23: 938–944.
19. 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.
20. Hosseini, A.S., Akramian, M., Khadivi, A. and Salehi-Arjmand, H. 2018. Phenotypic and chemical variation of black Mulberry (*Morus nigra*) genotypes. Ind. Crops. Prod., 117: 260–271.
21. Imran, M., Khan, H., Shah, M., Khan, R. and Khan, F. 2010. Chemical composition and antioxidant activity of certain *Morus* species. Journal of Zhejiang University science B, 11(12): 973–980.
22. Jiang, Y. and Nie, W.J. 2015. Chemical properties in fruits of mulberry species from the Xinjiang province of China. Food Chem. 174: 460–466.
23. Jun, H., Kim, Y. and Kim, Y. 2014. Antioxidant activities of *Rubus coreanus* Miquel and *Morus alba* L. Fruits. J Korean Soc. Food Sci. Nut. 43(3): 381-388.
24. Krishna, H., Singh, D., Singh, R.S., Kumar, L., Sharma, B.D. and Saroj, P.L. 2018. Morphological and antioxidant characteristics of Mulberry (*Morus* spp.) genotypes. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 19(2): 136-145.
25. Liang, L., Zhu, M., Li, F., Yang, L., Wu, X., Zhao, W. and Zou, Y. 2012. Chemical composition, nutritional value, and antioxidant activities of eight mulberry cultivars from China. Pharmacognosy Magazine, 8(31): 215.
26. Mahmood, T., Anwar, F., Afzal, N., Kausar, R., Ilyas, S. and Shoaib, M.

2017. Influence of ripening stages and drying methods on polyphenolic content and antioxidant activities of Mulberry fruits. J. Food Meas. Charact., 11 (4): 2171–2179.

27. Makhoul, G., Mahfoud, H. and Baroudi, H. 2017. Some chemical characteristics of white *(Morus Alba* L.) and black (*Morus Nigra* L.) mulberry phenotypes in Tartus Syria. SSRG International Journal of Agriculture & Environmental Science, 4(2): 53-62.
28. Nakajima, J.I., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M. and Saito, K. 2004. LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 5: 241–247.
29. Nikkhah, E., Khayami, M. and Heydari, R. 2009. Evaluation of nitric oxide scavenging activity of anthocyanins from Black berry (*Morus Nigra* L.), Strawberry (*Fragaria Vesca* L.) and Berry (*Morus Alba* L. var. *Nigra*) extracts. Iranian journal of medicinal and aromatic plants, 25(1): 120-128.
30. Özgen, M., Serçe, S. and Kaya, C. 2009. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. Scientia Horticulturae, 119: 275-279.
31. Parsons, B. 2017. Antioxidants in food: the significance of characterisation, identification, chemical and biological assays in determining the role of antioxidants in food. Foods, 6(8): 68.
32. Parvizi, V., Shirzad, H., Alirezalou, A. and Rahmanzadeh Ishkeh, Sh. 2019. Effect of chitosan nano-emulsion and fennel essential oil on antioxidant activity and biochemical contents of Black mulberry (*Morus* nigra L.). Pomology Research, 5(1):1-15.
33. Ramappa, V.K., Srivastava, D., Singh, P., Kumar, U., Kumar, D., Gosipatala, S.B., Saha, S., Kumar, D. and Raj, R. 2020. Mulberries: a promising fruit for phytochemicals, nutraceuticals, and biological activities. Int. J. Fruit Sci., 20: S1254-S1279.
34. Sabeti, H. 2008. Forests, trees and shrubs of Iran. Yazd university press, Yazd, 854 p.
35. Seal, T. 2016. Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, *Sonchus arvensis* and *Oenanthe linearis* of north-eastern region in India. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 6: 157-166
36. Shah, M.A., Bosco, S.J.D. and Mir, S.A. 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. Meat science, 98(1): 21-33.
37. Smith, M., Marley, K., Seigler, D., Singletary, K. and Meline, B. 2000. Bioactive properties of wild Blueberry fruits. Journal of Food Science, 65: 352-356.
38. Xiaomin, G., Qi, H. and Zhiling, M. 2020. Differences of sugar components in different mulberry cultivars during its ripening. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 446: 032058.
39. Zadernowski, R., Naczk, M. and Nesterowicz, J. 2005. Phenolic acid profiles in some small berries. J. Agric. Food Chem., 53(6): 2118-2124.