بررسی تغییرات برخی ترکیبات فیتوشیمیایی اندام هوایی و ریشه گیاه ترشک وحشی (*Rumex turcomanicus* Czerep) طی مراحل مختلف نمو گیاه

مرتضی علیرضایی نقندر[1]، مجید عزیزی[2*]، سیدحسین نعمتی[3]، پرویز رضوانی مقدم[4]، شمسعلی رضازاده[5]

۱- دانشجوی دکتری، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی، مشهد، ایران
۲- استاد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی، مشهد، ایران
۳- استادیار، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی، مشهد، ایران
۴- استاد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، مشهد، ایران
۵- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج، ایران
آدرس مکاتبه: مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی
تلفن و نمابر: ۸۷۹۵۶۱۸ (۰۵۱۳)
پست الکترونیک: Azizi@um.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۳۰ **تاریخ تصویب:** ۹۴/۶/۱۰

چکیده

مقدمه: ترشک وحشی یا ساق ترشک (*Rumex turcomanicus* Czerep) یکی از گیاهان بومی با ارزش با مصارف سبزی و دارویی متعلق به خانواده علف هفت‌بند است که به طور وحشی در شمال شرق ایران رشد می کند و برگ‌های تازه آن در بین افراد بومی این مناطق مصرف بالایی دارد. علی‌رغم مصرف بالای این گیاه اطلاعات کمی از ترکیبات و خواص این گیاه وجود دارد.

هدف: هدف این تحقیق ارزیابی تغییرات ترکیبات فیتوشیمیایی مهم در اندام هوایی و ریشه این گیاه طی مراحل مختلف نموی بود.

روش بررسی: گیاهان طی چهار مرحله نموی مختلف شامل مراحل رشد رویشی (رزت)، تورم جوانه انتهایی ساقه گلدهنده، گلدهی کامل و رسیدن بذر، از رویشگاه طبیعی گیاه جمع‌آوری شده و پس از جداسازی به قسمت هوایی و ریشه، خشک شده و مقادیر آسکوربیک اسید اندام هوایی، اگزالیک اسید اندام هوایی، فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های هوایی و ریشه، طی چهار مرحله‌ی نموی به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد.

نتایج: نتایج نشان داد که مقادیر قابل توجهی از ترکیبات فنولی و فلاونوئید و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا در هر دو اندام هوایی و ریشه (با مقادیر بالاتر این ترکیبات در ریشه نسبت به اندام هوایی) وجود دارد. بیشترین مقادیر فنول، فلاونوئید، اگزالیک اسید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام هوایی در مرحله رسیدن بذر و حداکثر میزان آسکوربیک اسید در مرحله تورم جوانه انتهایی ساقه گلدهنده مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان فنول و فلاونوئید کل ریشه در مرحله تورّم جوانه انتهایی ساقه گلدهنده و بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مرحله رسیدن بذر حاصل شد. همبستگی منفی بالایی بین میزان آسکوربیک اسید و اگزالیک اسید عصاره اندام هوایی مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: مقادیر ترکیبات فیتوشیمیایی در گیاه ترشک وحشی تحت تأثیر مرحله نموی و اندام مورد استفاده متفاوت می‌باشد و با افزایش سن گیاه از میزان آسکوربیک اسید اندام هوایی کاسته شده و میزان اگزالیک اسید افزایش می‌یابد.

گل‌واژگان: *Rumex turcomanicus* Czerep، آسکوربیک اسید، اگزالیک اسید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنول کل، همبستگی

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

طی سال‌های اخیر تلاش زیادی برای شناسایی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از میوه‌ها و سبزی‌های برگی سبز که دارای پتانسیل بالایی برای مقابله با بیماری‌های کشنده جهان مدرن باشند، به وجود آمده است. پتانسیل بالای عصاره‌های خام و ترکیبات طبیعی حاصل از گیاهان در حذف رادیکال‌های آزاد اثبات شده و آنها را به عنوان داروهای آنتی‌اکسیدانی و در ترکیب با غذاهای عملگرا برای درمان بیماری‌های ناشی از تنش‌های اکسیداتیو مطرح کرده است [۲، ۱]. بنابراین گیاهانی با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند به عنوان داروهای آنتی‌اکسیدانی برای درمان بیماری‌های ناشی از تنش‌های اکسیداتیو مورد استفاده قرار گیرند [۴، ۳]. همچنین گیاهان مفید و سبزی‌های برگی سبز به طور معمول منابع خوبی از ویتامین‌ها، عناصر معدنی و فیبرها هستند [۵]. سبزی‌های برگی سبز به طور معمول منابع خوبی از ویتامین‌ها، عناصر معدنی و فیبرها هستند که به‌تنهایی یا از فرآورده‌های آنها در غذاهای عملگرا (Functional Food)، استفاده می‌شود [۵].

گیاهان برگی زیادی از جمله گونه‌های مختلف جنس ترشک (*Rumex* L.) شناخته شده‌اند که اگر چه مورد کشت و کار قرار نمی‌گیرند و منشاء وحشی دارند، اما در مقطع زمانی کوتاه رشدشان از رویشگاه‌های طبیعی جمع‌آوری شده و به عنوان سبزی‌های کوهی مورد مصرف افراد محلی و بومی می‌رسد [۶]. ترشک گیاهی علفی از خانواده هفت‌بند یا Polygonaceae است که با اسامی دیگری همچون ترشه، حماض، ترشک معمولی، ترشک درشت و ... شناخته می‌شود. جنس ترشک در سراسر دنیا گسترش دارد که بالغ بر ۲۵۰ گونه آن گزارش شده است. تقریباً ۲۰۰ گونه از جنس ترشک در مناطق معتدله جنوبی و شمالی کره زمین رشد می‌کنند. [۷]. این جنس در ایران بیش از ۲۳ گونه دارد که در نواحی غربی، ارتفاعات البرز و زاگرس و آذربایجان و جاهای دیگر دیده می‌شود [۸].

در نقاط مختلف دنیا گونه‌های مختلف جنس ترشک گزارش شده‌اند که به علت ارزش غذایی و درمانی بالای خود مورد توجه مردم بوده‌اند. در طب سنتی چینی برگ‌های این گیاه در درمان یبوست، فشار خون، کچلی، تومور، سرماخوردگی و سردرد نیز به کار می‌رفته است. ریشه‌های این گیاه نیز به طور سنتی برای درمان درد، التهاب، خونریزی، کچلی، تومور و یبوست استفاده می‌شوند [۱۰، ۹]. برگ‌های ترشک در بحث دارویی به عنوان خنک‌کننده مصرف روزانه داشته و نیز به عنوان چاشنی همچون اسفناج مورد استفاده قرار می‌گیرد. مصرف این گیاه برای جبران کمبود ویتامین C توصیه می‌شود. در طب سنتی دانه‌های این گیاه را می‌کوبند و بعد از مرطوب کردن در محل درد و مفاصل می‌گذارند و به عنوان مُسَکن از آن استفاده می‌کنند [۱۱]. در طب سنتی ایرانی از تمام قسمت‌های گیاه (برگ، دانه و ریشه) برای مصارف درمانی مختلفی استفاده می‌شده است [۱۲].

ترکیبات بیوشیمیایی و عناصر معدنی زیادی از گونه‌های مختلف جنس ترشک گزارش شده است که این گیاه را گزینه‌ای مطلوب برای کاربرد در غذاهای عملگرا معرفی می‌کند [۱۳]. *R. induratus* یک گونه‌ی اندمیک شمال شرق اسپانیاست جایی که برگ‌های آن بسیار پرمصرف و با ارزش بوده که به علت وجود ترکیبات فنولی، اسیدهای آلی و خواص آنتی‌اکسیدانی مخصوصاً در سالاد مصرف زیادی دارد [۱۵، ۱۴]. *R. ecklonianus* Meissner یک گیاه دارویی وحشی بومی آفریقای جنوبی است که برگ‌های آن هنگامی که تازه‌اند، همانند برگ اسفناج مصرف خوراکی دارند [۱۶]. این گونه می‌تواند به عنوان یک غذای عملگرا و نیز در محصولات دارویی بر پایه گیاه کاربرد داشته باشد [۱۷]. *R. vesicarius* گونه‌ای وحشی از جنس ترشک است که در عربستان رویش دارد. تعیین اجزای شیمیایی *R. vesicarius* نشان داد که برگ‌های این گیاه حاوی ذخایر خوبی از عناصر معدنی (کلسیم، منیزیم، پتاسیم، مس، آهن، روی و سدیم)، منبع خوبی برای آسکوربیک اسید (۲۵۳ میلی‌گرم)، اسید سیتریک (۲۹۷ میلی‌گرم) و اسید مالیک (۵۵۹۰ میلی‌گرم) و پروتئین (۱۸/۶ گرم)، مقادیر بالایی اکسالیک اسید (۳۰۶۰ میلی‌گرم) و مقدار کمی چربی و توکوفرول (۴/۷ میلی‌گرم) در ۱۰۰ گرم وزن خشک می‌باشد و می‌تواند به عنوان سبزی مناسب برای مصرف تازه خوری مورد کشت و کار قرار گیرد [۱۸].

اهمیت اصلی جنس ترشک بر پایه‌ی فعالیت‌های بیولوژیکی آن مثل خواص ضدمیکروبی [۱۹]، ضدالتهاب و

Archive of SID

www.SID.ir

ضدتب [۲۰]، ضداسهال [۲۱]، و ضدویروسی [۱۴] آنست. ریشه‌های *R. hastatus* نیز دارای خاصیت درمانی بوده و برای درمان سرفه، سردرد و تب کاربرد دارند. عصاره این گونه قابض بوده و در درمان اسهال خونی مورد استفاده قرار می‌گیرد و جویدن غده تازه برای تسکین درد گلو می‌شود. ریشه ملین، مقوی و نیرو بخش، ضدرماتیسم بوده و در درمان بیماری پوستی کاربرد دارد [۲۲]. برگ‌ها و ساقه‌های *R. hastatus* و *R. dentatus* مدر و تب بر و سردکننده هستند و به عنوان عاملی برای خنک‌کنندگی استفاده می‌شوند [۲۴، ۲۳]. *R. vesicarius* L. یک گیاه با ارزش با مصرف دارویی و سبزی که برگ‌های گیاه به عنوان مدر، ملین، قابض و عامل خنک کننده مصرف می‌شوند. بذرها برای درمان اسهال خونی کاربرد دارند. عصاره گیاه به عنوان عامل خنک‌کننده و سردی بخش، درمان کمردرد، دندان درد و مقابله با حالت تهوع و دل‌آشوب مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۵]. ترکیبات استخراج شده از *R. nepalensis* Spreng و *R. hastatus* بازدارندگی فعالیت باکتری‌های عامل بیماری سل و نیز بر علیه برخی از لاین‌های سلول‌های سرطانی نشان داده‌اند [۲۸، ۲۷، ۲۶]. *R. japonicus* Houtt. به عنوان منبعی غنی از آنتراکوئینون‌ها به طور سنتی برای درمان بلغم (خلط)، یرقان، یبوست، جرب یا گال، خونریزی رحم در کشورهای شرق آسیا مثل چین، ژاپن و کره استفاده می‌شود [۲۹]. آنتراکوئینون‌های اصلی این گونه شامل امودین (Emodin)، کریزوفانول (chrysophanol)، فایسیون (physcion) می‌باشند که هر کدامشان فعالیت دارویی منحصر به فردی دارند. این سه جزء آنتراکوئینونی (کریزوفانول، امودین و فایسیون) در خلوص بالا برای کنترل کیفیت فرآورده‌های حاصل از گونه‌ی مورد نیازند و توسعه روش‌هایی برای جداسازی و تلخیص بالای این ترکیبات مهم می‌باشد [۳۰].

ترشک وحشی یکی از گیاهان با ارزش بومی ایران با خواص دارویی است که به عنوان یک سبزی وحشی خوراکی مورد استفاده است. برای مدت طولانی این گونه، به عنوان زیرگونه‌ای از گونه‌ی *R. tuberosus* L. تلقی می‌شد و در منابع با نام علمی *R. tuberosus* var. *turcomanicus* Rech. نامگذاری شده بود، ولی در نتیجه‌ی تجدید نظری که بر روی جنس ترشک انجام گرفت، از این زیرگونه جدا شده و به یک گونه‌ی جدید ارتقاء پیدا کرد. برای اولین بار توسط چرپانوف Czerepanov گزارش شد و به عنوان گونه‌ی جدیدی با نام *Rumex turcomanicus* Czerep. نامگذاری شد [۳۱]. این گونه به عنوان یک ژئوفیت غده‌ای (tuberose geophyte) بوده و متعلق به ناحیه‌ی جغرافیایی ایرانو توران است که در شمال شرق ایران مخصوصاً در ارتفاعات کوه‌های بینالود و هزار مسجد انتشار یافته است [۳۲] و در این مناطق بیشتر به عنوان سبزی خوراکی وحشی با نام ساق ترشک شناخته شده و در اوایل بهار از طبیعت جمع‌آوری شده و مورد مصرف قرار می‌گیرد [۳۳]. علی‌رغم مصرف بالایی که اندام‌های هوایی گیاه و مصارف درمانی به عنوان گیاه دارویی، اطلاعاتی از ترکیبات فیتوشیمیایی این گیاه وجود نداشته و تلاشی در جهت اهلی‌سازی گیاه صورت نگرفته است.

در رابطه با گونه‌های مختلف جنس ترشک، مقادیر بالاتر ترکیبات آنتی‌اکسیدان، فنول و فلاونوئید و آسکوربیک اسید و میزان کمتر اگزالیک اسید می‌تواند شاخصی برای کیفیت بالاتر قسمت‌های تازه هوایی گیاه به منظور مصرف باشد. همچنین وجود ترکیبات مهم فنولی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا در بخش ریشه، می‌تواند این گیاه را به عنوان گزینه‌ای در صنعت داروهای گیاهی مطرح نماید. از این‌رو هدف از این مطالعه ارزیابی تغییرات برخی ترکیبات فیتوشیمیایی مهم در قسمت برگ و ریشه گیاه ترشک وحشی در مراحل مختلف نموی بود.

مواد و روش‌ها

از آنجایی که مرحله‌ی رشدی گیاه تأثیر بسزایی بر زیست توده و میزان ترکیبات فیتوشیمیایی دارد، تغییرات میزان فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید کل، آسکوربیک اسید، اگزالیک اسید، وزن تر و خشک و زیست توده اندام هوایی و زمینی طی چهار برداشت مختلف در شرایط رویشگاه نقندر مورد بررسی قرار گرفت (جدول شماره ۱). گیاهان از رویشگاه

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۱- خصوصیات اقلیمی رویشگاه طبیعی گیاه ترشک وحشی

منطقه	جهت شیب	میزان شیب (درصد)	اقلیم	ارتفاع از سطح دریا (m)	بارندگی (mm)	میانگین حرارت سالانه (°C)
نُقُندر	شمال شرقی	۵۰ - ۳۰	نیمه خشک سرد	۲۰۷۶ - ۱۶۲۰	۲۵۳	۱۴/۳

طبیعی گیاه واقع در روستای نقندر از ییلاقات اطراف شهر مشهد در استان خراسان رضوی (طول جغرافیایی شرقی ´´ ۳۶ ´ ۱۶ ´ ۵۹ عرض جغرافیایی شمالی ´´ ۴۶ ´ ۲۰ ´ ۳۶ و ارتفاع از سطح دریا ۱۹۴۱)، جمع‌آوری شده و توسط کارشناس گیاه‌شناسی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی شدند (به شماره هرباریومی: ۳۶۶۶۸ در هرباریوم پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد). به این منظور مواد گیاهی به طور تصادفی از ۱۵ گیاه (قسمت هوایی و ریشه) در ۴ مرحله‌ی مختلف فنولوژیکی (شامل مرحله اول: رشد سریع رویشی یا مرحله رُزت، مرحله دوم: تورم جوانه زایشی انتهایی و آغاز ظهور شاخه گل‌دهنده، مرحله سوم: گل‌دهی کامل و مرحله چهارم: بلوغ و رسیدن بذر) برداشت شدند. گیاهانی با برگ‌های تازه و بدون ساقه به عنوان مرحله‌ی رویشی، گیاهان با جوانه‌های زایشی انتهایی و با ساقه گل‌دهنده تازه ظاهر شده به عنوان مرحله‌ی تورم جوانه زایشی، گیاهان گل‌های کاملاً باز شده در مرحله گل‌دهی کامل و گیاهان با بذرهای قهوه‌ای شده در مرحله‌ی بذر بالغ در نظر گرفته شدند.

آماده‌سازی گیاهان برای اندازه‌گیری‌های فیتوشیمیایی

برای اندازه‌گیری فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مواد گیاهی تازه برداشت شده (شامل قسمت هوایی و ریشه) در هر مرحله در شرایط هوای آزمایشگاه و در دمای اتاق، خشک شدند و پس از خشک شدن یک گرم از مواد گیاهی خشک شده توسط ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۹۹ درصد به مدت ۷۲ ساعت و در دمای اتاق بر روی شیکر عصاره‌گیری شدند و عصاره به دست آمده تا زمان اندازه‌گیری در فریزر نگهداری شد.

برای اندازه‌گیری اگزالیک اسید و آسکوربیک اسید فقط از قسمت هوایی استفاده شد. مواد گیاهی تازه برداشت شده در دمای ۵۰ درجه آون خشک شدند و تا زمان اندازه‌گیری در فریزر نگهداری شدند.

اندازه‌گیری میزان فنول کل

فنول کل نمونه‌ها با استفاده از معرف فولین- سیکالتو مطابق با روش سینگلتون و رسی [۳۴]، با کمی تغییر اندازه‌گیری شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی هر کدام از نمونه‌ها (حاصل از هر مرحله و قسمت‌های هوایی و ریشه) به لوله‌های آزمایش انتقال یافتند. سپس ۴/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۱ میلی‌لیتر معرف فولین – سیکالتو به هر کدام از لوله‌های آزمایش اضافه شد. پس از ۳ دقیقه ۰/۳ میلی‌لیتر محلول دو درصد Na_2CO_3 به لوله‌های ازمایش اضافه شد. سپس لوله‌ها کمی تکان داده شده و به مدت یک ساعت در تاریکی نگهداری شدند. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف گالیک اسید استفاده شد و مطابق با عصاره‌ها عملیات آماده‌سازی در مورد غلظت‌های استاندارد صورت گرفت و در نهایت عدد جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. غلظت ترکیبات فنولیک نمونه‌ها پس از رسم نمودار استاندارد گالیک اسید بر اساس اکی‌والانت گالیک اسید در میلی‌گرم وزن نمونه بیان شد.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل

اندازه‌گیری فلاونوئید کل با استفاده از روش کلرید آلومینیوم در عصاره‌های متانولی نمونه‌های گیاهی مطابق با روش مینچینی و همکاران [۳۵]، انجام گرفت. ۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه شده هر کدام از نمونه‌ها (حاصل از هر مرحله و قسمت‌های هوایی و ریشه) عصاره به لوله آزمایش انتقال یافتند. سپس ۴ میلی‌لیتر آب مقطر و ۳۰۰ میکرولیتر

Archive of SID

www.SID.ir

نیتریت سدیم ۵ درصد به آن اضافه شد، پس از ۵ دقیقه از اضافه کردن نیتریت سدیم ۵ درصد، ۶۰۰ میکرولیترکلرید آلومینیوم ۱۰ درصد اضافه و پس از گذشت ۶ دقیقه از زمان اضافه کردن کلرید آلومینیوم، ۴ سی‌سی (۴۰۰۰ میکرولیتر) سود ۰/۵ نرمال اضافه شد. در نهایت میزان جذب نور در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف کوئرستین استفاده شد. غلظت فلاونوئید نمونه‌ها بر اساس میلی‌گرم اکی والانت کوئرستین بر گرم وزن نمونه بیان شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH توضیح داده شده توسط تکائو و همکاران [۳۶]، با کمی تغییر تعیین شد. در این روش، فعالیت خنثی‌کنندگی رادیکال ۲ و ۲ دی فنیل- ۱- پیکریل هیدرازیل ((2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)) (DPPH) توسط عصاره نمونه با روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعیین شد. برای هر نمونه ۱ سی‌سی از عصاره غلیظ (حاصل از هر مرحله و قسمت‌های هوایی و ریشه) که قبلاً به دست آمده بود به طور مناسب رقیق شد و با ۴ سی‌سی (۴۰۰۰ میکرولیتر) محلول متانولی DPPH مخلوط، و در نهایت میزان جذب نور پس از آن که نمونه‌ها ۳۰ دقیقه تحت شرایط تاریکی بودند در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد.

$$I\% = (A_{blank} - A_{sample} / A_{blank})\ 100$$

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری شاهد را نشان می‌دهد و A_{sample} بیانگر جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره‌های تهیه شده می‌باشد.

اندازه‌گیری میزان آسکوربیک اسید

آسکوربیک اسید نمونه‌ها مطابق با روش‌های توضیح داده شده توسط کلین و پری [۳۷]، با کمی تغییر اندازه‌گیری شد. ۵ گرم از برگ‌های خشک شده (حاصل از مرحله) با متانول و توسط دستگاه سوکسله به مدت ۴ ساعت عصاره‌گیری شد. سپس عصاره توسط کاغذ صافی، صاف شده و با دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد. ۵۰ میلی‌گرم از عصاره تغلیظ شده با ۵۰ میلی‌لیتر اسید متافسفریک ۱ درصد به مدت ۴۵ دقیقه عصاره‌گیری شد. عصاره مجدداً توسط کاغذ صافی شماره ۴ صاف شد. یک میلی‌لیتر از عصاره فیلتر شده با ۹ میلی‌لیتر محلول آماده شده ۲ و ۶ دی‌کلرو فنول ایندو فنول مخلوط و ۳۰ دقیقه بعد عدد جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. منحنی استاندارد توسط غلظت‌های مختلف آسکوربیک اسید رسم و غلظت آسکوربیک اسید نمونه‌ها بر اساس میلی‌گرم آسکوربیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن نمونه بیان شد.

اندازه‌گیری میزان اگزالیک اسید

برای اندازه‌گیری اگزالیک اسید روش شرح داده شده توسط نیمالت و همکاران [۳۸]، استفاده شد. در ابتدا برای ساخت محلول ۰/۰۰۳ مولار پرمنگنات پتاسیم، ۰/۰۱ مول $KMnO_4$ در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. ۵۰۰ میلی‌لیتر HCl، ۰/۲۵ نرمال از حل کردن HCl در آب به دست آمد. اسید سولفوریک ۲ نرمال از حل کردن اسید سولفوریک مایع در آب به دست آمد. ۵۰۰ میلی‌لیتر سپس ۰/۵ گرم از برگ‌های آون خشک شده (۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد) حاصل از هر مرحله، پودر شده و به بالن ۵۰ سی‌سی انتقال یافتند. به هر کدام از نمونه‌ها در بالن، ۳۰ میلی‌لیتر HCl، ۰/۲۵ نرمال اضافه شد و مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس مخلوط در دمای اتاق نگهداشته شد تا سرد شود و مجدداً با HCl، ۰/۲۵ نرمال به حجم رسانیده شد. بعد از آن مخلوط از کاغذ صافی رد شد و به فاز مایع به دست آمده ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۲ نرمال به همراه ۲ میلی‌لیتر پرمنگنات پتاسیم ۰/۰۰۳ مولار اضافه شد. مخلوط به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداشته شد و بعد از آن عدد جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۸ نانومتر قرائت شد. محلول استوک برای ساخت استاندارد اگزالیک اسید از حل کردن ۱۰۰ میلی‌گرم اکزالیک اسید در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به دست آمد. از روی این محلول غلظت‌های ۰/۱ تا ۱ میلی‌گرم

Archive of SID
www.SID.ir

در میلی‌لیتر اگزالیک اسید ساخته و منحنی استاندارد رسم شد و غلظت اگزالیک اسید نمونه‌ها بر اساس میلی‌گرم گزالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک نمونه بیان شد.

آنالیز داده‌ها

آنالیز نتایج با استفاده از نرم‌افزار جامپ ۸ انجام شد و همبستگی بین صفات با استفاده از نرم‌افزار SYSTAT13 به دست آمد.

نتایج

بررسی مقادیر برخی ترکیبات فیتوشیمیایی مهم در قسمت هوایی و ریشه و تغییرات این ترکیبات طی مراحل مختلف نموی در اندام‌های گیاهان جمع‌آوری شده از رویشگاه نُقُندر نشان می‌دهد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و فلاونوئید کل در عصاره ریشه بیشتر از عصاره برگ بود (جدول شماره ۲).

همچنین میزان این ترکیبات هم در قسمت هوایی و هم بخش ریشه طی مراحل مختلف نموی از مقادیر متفاوتی برخوردار بود به نحوی که کمترین و بیشترین مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل عصاره ریشه به ترتیب در مراحل رشد رویشی و آغاز ظهور ساقه گلدهنده مشاهده شد و میزان این ترکیبات با افزایش سن گیاه به تدریج کاهش یافت (جدول شماره ۳).

بررسی تغییرات ترکیبات مختلف در عصاره بخش هوایی نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل، در مراحل بلوغ بذر و رشد رویشی به ترتیب از کمترین و بیشترین میزان برخوردار بود. میزان آسکوربیک اسید در مرحله ظهور ساقه گلدهنده حداکثر بود و حداقل میزان آن در مرحله بلوغ بذر مشاهد شد. حداقل مقدار اگزالیک اسید در مرحله رشد رویشی به دست آمد و بیشترین میزان آن در مرحله بلوغ بذر اندازه‌گیری شد (جدول شماره ۴).

بررسی همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی مورد مطالعه نشان از وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین فلاونوئید با فنل کل (r2 = ۰/۹۹۵)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با فنول کل (r2 = ۰/۶۶۱) و فلاونوئید کل (r2 =۰/۶۷۵) داشت (جدول شماره ۵).

همچنین رابطه منفی معنی‌داری بین میزان آسکوربیک اسید و اگزالیک اسید عصاره بخش هوایی (r2 = −۰/۷۶۷) به دست آمد (جدول شماره ۶). همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان اگزالیک اسید با مقادیر فلاونوئید (r2 = ۰/۶۱۸)، فنل کل (r2 = ۰/۹۱۰) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (r2 = ۰/۹۰۲) در عصاره بخش هوایی مشاهده شد.

جدول شماره ۲- میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل در قسمت هوایی و ریشه عصاره متانولی گیاه ترشک وحشی (*R. turcomanicus* Czerep.)

اندام گیاهی	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد)	فنل کل (mg galic acid/g.DW)	فلاونوئید کل (mg quercetin / g.DW)
قسمت هوایی	۶۹/۰۳b*	۹/۱۰^{b}	۶۹/۳^{b}
ریشه	۸۰/۷۵ ^{a}	۴۵/۶۶^{a}	۸۰/۷۵^{a}

* نکته: میانگین‌هایی با حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشند

جدول شماره ۳- تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل در عصاره متانولی ریشه گیاه ترشک وحشی (*R. turcomanicus*Czerep.) طی مراحل مختلف نموی

مرحله فنولوژیکی	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد)	فنل کل (mg galic acid/g.DW)	فلاونوئید کل (mg quercetin / g.DW)
رشد رویشی	۴۱/۶۳^{c}*	۳۳/۹۷^{c}	۹/۱۶^{d}
آغاز ظهور ساقه گل‌دهنده	۹۰/۳۲^{a}	۵۲/۴۱^{a}	۱۷/۳۱^{a}
گلدهی کامل	۸۸/۱۶^{ab}	۵۰/۶۸^{a}	۱۴/۹۵^{b}
بلوغ بذر	۸۲/۸۷^{b}	۴۵/۵۹^{b}	۱۳/۴۷^{c}

* نکته: میانگین‌هایی با حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۴- تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل، آسکوربیک اسید و اگزالیک اسید، در عصاره متانولی بخش هوایی گیاه ترشک وحشی (*R. turcomanicus*Czerep.) طی مراحل مختلف نموی

مرحله فنولوژیکی	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد)	فنل کل (mg galic acid/g.DW)	فلاونوئید کل (mg quercetin/g.DW)	آسکوربیک اسید (mg/100g D.W)	اگزالیک اسید (mg/100g D.W)
رشد رویشی	۵۹/۴۳^{c}*	۸/۳۳^{b}	۱/۴۹^{b}	۴۵۸/۰۱^{b}	۱۶۹۶/۶۶^{c}
ظهور ساقه گل‌دهنده	۶۳/۹۳^{bc}	۸/۵۱^{b}	۱/۶۵^{ab}	۵۲۱/۴۷^{a}	۱۷۸۶/۶۰^{c}
گل‌دهی کامل	۶۹/۹۴^{b}	۹/۴۵^{a}	۱/۵۲^{b}	۴۰۸/۰۸^{c}	۱۹۵۴/۳۳^{b}
بلوغ بذر	۸۲/۸۳^{a}	۱۰/۱۱^{a}	۱/۸۵^{a}	۳۸۴/۵۱^{d}	۲۱۷۲/۰۱^{a}

* نکته: میانگین‌هایی با حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشند

جدول شماره ۵- همبستگی فعالیت آنتی‌اکسیدانی (% AA)، فنل (TPC) و فلاونوئید کل (TFC) در عصاره متانولی ریشه و قسمت هوایی گیاه ترشک وحشی (*R. turcomanicus* Czerep.)

متغیر	TPC	TFC
TPC	۰/۹۹۵**†	–
AA %	۰/۶۷۶**	۰/۶۶۲**

* نکته: ** و * به ترتیب نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد هستند (n=۲۴)

جدول شماره ۶- همبستگی فعالیت آنتی‌اکسیدانی (% AA)، فنل (TPC) و فلاونوئید کل (TFC)، آسکوربیک اسید (AsA) و اگزالیک اسید (OA) در عصاره بخش هوایی گیاه ترشک وحشی (*R. turcomanicus* Czerep.)

متغیر	TFC	TPC	AA%	AsA
AsA	-۰/۲۹۴	-۰/۲۸۲	-۰/۲۱۱	–
OA	۰/۶۱۸*†	۰/۹۰۳**	۰/۹۱۱**	-۰/۷۶۷**

* نکته: ** و * به ترتیب نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد هستند (n=۱۲)

بحث

ترکیبات فیتوشیمیایی در نتیجه‌ی عکس‌العمل به یک محرک ایجاد می‌شود و به گیاهان این امکان را می‌دهد تا سریعاً به تنش‌های محیطی واکنش نشان داده و با محیط سازگار شوند. ساخت و تجمع ترکیبات فنولیک به وسیله‌ی برهمکنش پیچیده بین عوامل درونی (فنولوژی و مراحل شد) و عوامل محیطی شامل فاکتورهای زیستی (نور و دسترسی مواد غذایی) و فاکتورهای غیرزیستی، تنظیم می‌شود [۴۰، ۳۹]. بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، تجمع ترکیبات فیتوشیمیایی در طی مراحل مختلف نموی و در بافت‌های مختلف، از تنوع بالایی برخوردار بود. در این آزمایش بیشترین مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در بخش هوایی در مرحله‌ی بلوغ بذر دیده شد در حالی که مقادیر این ترکیبات در قسمت ریشه در مرحله ظهور ساقه گل‌دهنده بیشترین بود.

در مطالعات متعددی نشان داده شده است که مقادیر ترکیبات ثانویه به مرحله نموی گیاه بستگی دارد [۵۶، ۴۹، ۴۲، ۴۱، ۱۷]. جاکولجویچ و همکاران [۴۱]، گزارش دادند که مقدار فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در *Chelidonium majus* L. به مرحله‌ی فنولوژیکی گیاه بستگی دارد. نقی‌لو و همکاران [۴۲]، طی تحقیقاتشان بر روی *Astragalus compactus* L. عنوان کردند که مقادیر ترکیبات فنولیک و فعالیتی آنتی‌اکسیدانی در عصاره این گیاه، به مرحله‌ی نموی گیاه بستگی داشته و بالاترین مقادیر در مرحله‌ی میوه‌دهی

Archive of SID
www.SID.ir

دیده می‌شود. همچنین مقادیر ترکیبات فنولی به شدت وابسته به شرایط محیطی همچون دما و تابش خورشید می‌باشد.

افزایش دما و بالا رفتن سن گیاه نیز باعث تجمع ترکیبات فنولی در گیاهان می‌شود. نور میزان بیوسنتز ترکیبات فنولی گیاهان را با افزایش فعالیت آنزیم‌ها مخصوصاً آنزیم فنیل آلانین امونیالاز (که نقش مهمی در تبدیل فنیل آلانین به کوماریک اسید دارد که خود این ترکیب در سنتز ترکیبات فنولیکی در گیاهان دخالت دارد)، افزایش می‌دهد [۴۳].

در این آزمایش، فعالیت آنتی‌اکسیدنتی بالاتر در مرحله‌ی ظهور ساقه گل‌دهنده در بخش هوایی و در مرحله‌ی بلوغ بذر در ریشه، با مقادیر بالاتر ترکیبات فنولیک و فلاونوئید در هر دو بافت در ارتباط بود. بنابراین همبستگی مثبتی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقادیر فنول و فلاونوئید مشاهده شد. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولیک در مرحله ظهور ساقه گلدهنده مصادف با دماهای بالاتر و شدت نور بیشتر خورشید در طبیعت بود و می‌تواند منتج به این نتیجه‌گیری شود که در گیاه ترشک وحشی تجمع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (مخصوصاً ترکیبات فنولیکی) قبل و حین این مرحله، احتمالاً به این خاطر است که گیاه خود را از تشعشع شدید خورشید و یا گیاهخواران محافظت کند. مطابق با این نتایج، الزاولی و همکاران [۴۴]، گزارش دادند که تغییرات در میزان ترکیبات فنولیک در گونه *R. jsponicus* می‌تواند به دلیل تفاوت در گونه‌ی گیاهی مورد استفاده، عوامل محیطی و زمان جمع‌آوری گیاه باشد. همچنین می‌توان به این موضوع پی برد که تمام قسمت‌های این گیاه مخصوصاً بخش ریشه، غنی از ترکیبات فنولیک هستند. نتایج تحقیقات مصطفی و همکاران [۴۵]، نشان داد که در *R. vesicarius* L. بسته به نوع اندام گیاهی مورد استفاده، مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوت است. ترکیبات فنولیکی از مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در گیاهان بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مواد گیاهی با میزان ترکیبات فنولیک همستگی دارند [۴۴].

در این تحقیق، میزان آسکوربیک اسید برگ‌ها در مرحله ظهور ساقه گلدهنده حداکثر بود و بعد از آن با افزایش سن گیاه تا رسیدن به مرحله‌ی بلوغ بذر میزان آن کاهش یافت در حالی که میزان اگزالیک اسید در مرحله‌ی رشد رویشی حداقل بوده و بالاترین میزان در آخرین مرحله یعنی رسیدن بذر به دست آمد. تجمع اگزالات در برگ‌های توسط عوامل مختلفی تحت تأثیر قرار می‌گیرد که از جمله این عوامل می‌توان به شرایط خاک، اقلیم منطقه، گونه یا رقم مورد استفاده و میزان بلوغ گیاه اشاره نمود. توزانو نارتئا و ساویج [۴۶] گزارش دادند که میزان اگزالات محلول برگ در ترشک باغی (*R. acetosa*)، به طور خطی با افزایش اندازه برگ‌ها نیز افزایش می‌یابد. مطالعات جالب توجهی تجمع اگزالات را به عنوان کارکردی از مرحله‌ی بلوغ گیاه عنوان کرده‌اند [۴۹، ۴۸، ۴۷]. تفاوت بین شرایط محیطی در مراحل مختلف رشد یا زمان برداشت در شرایط مزرعه می‌تواند باعث تغییر در مقادیر اگزالات شود [۵۰]. نتایج تحقیق سینگ و ساگسنا [۵۱]، بر روی شش سبزی برگی نشان داد که سطوح اگزالات با افزایش سن گیاه نیز افزایش می‌یابد. بالا رفتن اگزالیک اسید می‌تواند به عنوان کارکرد مهمی برای گیاه تلقی شود، خواه برای تطابق گیاه با شرایط محیطی و یا به عنوان مکانیسمی دفاعی برای حفظ گیاه بر علیه حیوانات علف‌خوار، حشرات، پاتوژن‌ها محیطی و یا دیگر شرایط محیطی تنش‌زا باشد که در این مواقع طعم گیاه و دسترسی کلسیم تغییر می‌کند. به علاوه اگزالیک اسید می‌تواند به عنوان ترکیبی در جهت تنظیم pH و یا تنظیم کننده اسمزی در گیاهان کار رود [۵۲، ۱۳].

در گیاهان، گلیکولات، گلیکوکسیلات، اگزالواستات و سیترات فرض می‌رود که به عنوان پیش ماده اگزالیک اسید باشند، با این حال مطالعاتی انجام شده است که حکایت از آن دارد که آسکوربیک اسید نیز به عنوان سوبسترایی در جهت سنتز اگزالیک اسید، باشد که بعداً برای تشکیل اگزالات کلسیم به کار می‌رود [۵۴، ۵۳]. بنابراین در این تحقیق، کاهش آسکوربیک اسید برگ از مرحله‌ی تشکیل ساقه‌ی گل‌دهنده تا بذر رسیده می‌تواند به علت استفاده و مصرف آسکوربیک اسید به عنوان پیش ماده سنتز اگزالیک اسید باشد.

مطابق با نتایج این تحقیق، همبستگی مثبتی بین ترکیبات فنولیک، میزان فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی هم در بخش ریشه و هم قسمت هوایی مشاهده شد. نتایج این تحقیق کاملاً در توافق با نتایج محققان دیگر مثل فریزر و همکاران [۱۴]، جیموه و همکاران [۱۷]، تهرانی‌فر و همکاران [۵۵]، وگیرا و

Archive of SID

www.SID.ir

همکاران [۵۶]، مصطفی و همکاران [۴۵] و کو و همکاران [۵۶]، بود. این موضوع بدان معنی است که عصاره‌هایی با مقادیر بیشتر فنول کل دارای غلظت‌های بالاتری از کلاس‌های مختلف ترکیبات فنولیک در گیاهان هستند [۱۷]. همچنین همبستگی مثبت بالایی بین میزان اگزالیک اسید و فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دیده شد در حالی که همبستگی منفی بین اگزالیک اسید و میزان آسکوربیک اسید در بخش هوایی به دست آمد. همچنین همبستگی بین میزان آسکوربیک اسید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده نشد. مطابق با نتایج باهورن و همکاران [۵۸]، این موضوع طبیعی است وقتی که همبستگی بین آسکوربیک اسید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود ندارد چرا که آسکوربیک اسید تأثیر کم و یا ناچیز در فعالیت آنتی‌اکسیدانی سبزیجات دارد.

نتیجه‌گیری

بررسی تغییرات برخی ترکیبات مهم فیتوشیمیایی طی مراحل مختلف نموی و در بخش هوایی و زمینی نتایج جالب توجهی ارائه می‌دهد. در این آزمایش با افزایش سن گیاه مقادیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در اندام هوایی افزایش ولی در اندام ریشه کاهش می‌یابد. همبستگی منفی بین میزان آسکوربیک اسید و اگزالیک اسید عصاره بخش هوایی وجود داشت در حالی که همبستگی بین میزان اگزالیک اسید با مقادیر فلاونوئید، فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مثبت بود. تأمل بیشتر در نوسانات این ترکیبات و شرایط محیطی نشان می‌دهد که افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولیک در مرحله ظهور ساقه گل‌دهنده مصادف با دماهای بالاتر و شدت نور بیشتر خورشید در طبیعت بود و می‌تواند منتج به این نتیجه‌گیری شود که در گیاه ترشک وحشی، تجمع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (مخصوصاً ترکیبات فنولی) قبل و حین این مرحله، احتمالاً به این خاطر است که گیاه در عکس‌العمل به شرایط محیطی وارد مکانیسمی دفاعی می‌شود تا خود را از تشعشع شدید خورشید و یا گیاهخواران محافظت کند [۵۹].

منابع

1. Umamaheswari Mand Chatterjee TK.*In vitro* antioxidant activities of the fractions of *Coccinnia grandis* L. leaf extract. *Afr. J. Trad., Compl. Altern. Med*. 2008; 5 (1): 61 - 73.

2. Kil HY, Seong ES, Ghimire BK, Chung IM, Kwon SS, Goh EJ, Hoe K Kim MJ Lim JD, Lee D and Yu CY. Antioxidant and antimicrobial activities of crude sorghum extract. *Food Chem*. 2009; 115: 1234 - 39.

3. Ruch RJ, Cheng SJ and Klaunig JE. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogen.* 1989; 10: 1003 - 8.

4. Babu BH, Shylesh BS and Padikkala J. Antioxidant and hepatoprotective effect of *Alanthus icicifocus*. *Fitoterapia* 2001; 72: 272 - 7.

5. FAO. Tropical Food Plants. Food and Nutrition. Food and Agriculture Organization 42. Rome. Italy. 1988; pp: 593 - 9.

6. Tukan SK, Takruri HR, and Al-Eisawi DM. The use of wild edible plants in the Jordanian diet. *Int. J. Food Sci. Nutr*.1998; 49: 225 - 35.

7. Hall G, Peronospora rumicis [Descriptions of Fungi and Bacteria]. CABI Bioscience, Wallingford, Oxfordshire, UK. 1994; pp: 1199-2.

8. Gholami AL and Joharchi MR. Revision on the genus *Rumex* L. in Northeast of Iran. The 15th National and 3rd International Conference of Biology, Tehran, Iran, 2008. p: 9.

9. McConkey, GA. Targeting the shikimate pathway in the Malaria parasite Plasmodium falciparum. Antimicrob. *Agents Chemother*. 1998; 43: 175 - 7.

Archive of SID
www.SID.ir

10. Zhang GQ, Zhao HP, Wang ZY, Cheng JR and Tang XM. Recent advances in the study of chemical constituents and bioactivity of *Rumex* L. *World Sci. Tech. (Mod. Trad. Chin. Med.)*. 2008; 10: 86 - 93.

11. Mozaffarian V. Identification of medicinal and aromatic plants of Iran. Teran, Farhang Moaser Pub. 2013, pp: 1444 - 893.

12. Samsam Shariat SH. Selection of medicinal plants. Isfahan, Mani Pub. 2007, p: 107.

13. Hariprasad P.S. and Krishnan R. Phytochemical Screening and Pharmacognostical Evaluation of *Rumex vesicarius* L. *Int. J. Pharm. Tech. Res*.2011; 3 (2): 1078 - 82.

14. Ferreres F, Ribeiro V, Izquierdo AG, Rodrigues MN, Seabra RM., Andrade PB and Valento P. *Rumexinduratus* Leaves: Interesting Dietary Source of Potential Bioactive Compounds. *J. Agric. Food. Chem*. 2006; 54: 5782 - 9.

15. Guerra L, Pereira C, Andrade PB, Rodrigues MA, Ferreres F, Guedes de Pinho P, Seabra RM and Valentão P. Targeted metabolite analysis and antioxidant potencial of *Rumex induratus. J. Agric. Food Chem*. 2008; 56: 8184 - 94.

16. Bhat RB and Rubuluza T. The biodiversity of traditional vegetables of the Transkei region in the Eastern Cape of South Africa. *S. Afr. J. Bot*. 2002; 68 (1): 94 - 9.

17. Jimoh FO, Adedapo AA, Aliero AA and Afolayan AJ. Polyphenolic Contents and Biological Activities of *Rumexecklonianus. Pharma. Biol*. 2008; 46 (5): 333 - 40.

18. Alfawaz MA. Chemical composition of hummayd (*Rumex vesicarius*) grown in Saudi Arabia. *J. Food Compost. Anal*. 2006; 19: 552 - 5.

19. Getie M, Gebre-Mariam T, Rietz R, Höhne C, Huschka C, Schmidtke M, Abate A and Neubert RH. Evaluation of the anti-microbial and anti-inflammatory activities of the medicinal plants Dodanaea viscose, rumexnervosus, and rumexabyssinicus. *Fitoterapia* 2002; 74: 139 - 43.

20. Rouf ASS, Islam MS and Rahman MT.Evaluation of antidiarrheal activity of *Rumexmaritimus* root. *J. Ethnopharmacol*. 2002; 84: 307 - 10.

21. Cos P, Hermans N, Bruyne T, De Apers S, Sindambiwe JS, Witvrouw M, Clercq E, De Berghe DV, Pieters L and Vlietinck AJ. Antiviral activity of Rwandan medicinal plants against human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1). *Phytomedicine* 2002; 9: 62 - 8.

22. Manandhar NP. Plants and People of Nepal. Timber Press. Oregon. USA. 2002. Pp: 636-112.

23. Islam M, Ahmad H, Rashid A, Razzaq A, Akhtar N and Khan I. Weeds and medicinal plants of Shawar Valley, District Swat. *Pak. J. Weed Sci. Res*. 2006; 12 (1-2): 83 - 6.

24. Hussain F, Mobeen F, Kil B and Yoo SO.Allelopathic suppression of wheat and mustard by *Rumexdentatus*ssp.*klotzschianus*. *J. Plant Biol*. 1997; 40: 120 - 4.

25. Johanson DAO. Plant Microtechnique, Mc. Grew Hill Book Co., New York. USA. 1940. pp: 523 – 38.

26. Zhang LS, Li Z, Mei RQ, Liu GM, Long CL, Wang YH and Cheng YX. Hastatusides A and B: two new phenolic glucosides from *Rumex hastatus*. *Helv. Chim. Acta*. 2009; 92: 774 - 8.

27. Mei RQ, Liang HX, Wang JF, Zeng LH, Lu Q and Cheng YX. New secoanthraquinone glucosides from *Rumex nepalensis. Planta Med*. 2009; 75: 1162 - 4.

28. Liang HX, Dai HQi, Fu HA, Dong XP, Adebayo AH, Zhang Lxi andCheng YX. Bioactive compounds from *Rumex* plants. *Phytochem. Lett*. 2010; 3: 181 - 4.

29. Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Medicine*; Shanghai Science and Technology Press: Shanghai, China, 1977, p: 964.

30. Guo S, Feng B, Zhu, Ma J and Wang W. Preparative Isolation of Three Anthraquinones from *Rumex japonicus* by High-Speed Counter-

Archive of SID

www.SID.ir

Current Chromatography. *Molecules* 2011; 16: 1201 - 10.

31. The Plant List. Version 1. Published on the internet. (2010). http://www.theplantlist.org/tpl/record/tro-26002579.

32. Ghahreman A, Heydari J, Attar F and Hamzeh'ee B. A Floristic Study of the Southwestern Slopes of Binaloud Elevations (Iran: Khorassan Province). *JUST*. 2006; 32 (1): 1 - 12.

33. Alirezaie Noghondar M and Azizi M. Seed Harvesting Time Affects Seedling Emergence, Vigour and Growth: Case Study of *Rumexturcomanicus* Czerep. (Polygonaceae). *Not. Sci. Biol*. 2013; 5 (2): 244 - 8.

34. Singleton VL and Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult*. 1965; 16: 144 - 58.

35. Menichini F, Tundis R, Bonesi M, Loizzo MR, Conforti F, Statti G, Di Cindi B, Houghton PJ and Menichini F. The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of Capsicum *chinense* Jacq. Habanero. *Food Chem*. 2009; 114: 553 - 60.

36. Tekao T, Watanabe N, Yagi I and Sakata K. A simple screening method for antioxidant and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 1994; 58: 1780 - 3.

37. Klein BP and Perry AK.Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the United States. *J. Food Sci.*1982; 47: 941 - 5.

38. Naik Nirmala VV, Visha S P, Aparadh T and Karadge BA. Methodology in determination of oxalic acid in plant tissue: a comparative approach. *JGTPS*. 2014; 5 (2): 1662 - 72.

39. Beckman CH. Phenolic storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defense responses in plants? *Physiol. Mol. Plant Pathol*. 2000; 57: 101 - 10.

40. Booij-James IS, Dube SK, Jansen MAK, Edelman M and Mattoo AK. Ultraviolet-B radiation impacts light-mediated turnover of the photosystem III reaction center heterodimer in *Arabidopsis* mutants altered in phenolic metabolism. *Plant Physiol*. 2000; 124: 1275 - 83.

41. Jakovljević ZD, Stanković SM and Topuzović DM. Seasonal variability of *chelidoniummajus* l. Secondary metabolites content and antioxidant activity. *EXCLI J*. 2013; 12: 260 - 68.

42. Naghiloo S, Movafeghi A, Delazar A, Nazemiyeh H, Asnaashari S and Dadpour MR. Ontogenetic variation of volatiles and antioxidant activity in leaves of *astragaluscompactus* lam. (Fabaceae). *EXCLI J*. 2012; 11: 436 - 43.

43. Smith H. Regulatory mechanisms in the photocontrol of flavonoid biosynthesis. In: Milborrow BV (ed.): Biosynthesis and its control in plants. New York: Academic Press. 1973, pp: 303 - 20.

44. Elzaawely AA, Xuan TD and Tawata S. Antioxidant and antibacterial activities of *Rumexjaponicus* Houtt. aerial parts. *Biol. Pharm. Bull*. 2005; 28: 2225 - 30.

45. Mostafa HAM, Elbakry AA and Eman AA. Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of different plant parts of *rumexvesicarius l.* (polygonaceae). *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*. 2011; 3 (2): 109 - 18.

46. Tuazon-Nartea J and Savage G. Investigation of Oxalate Levels in Sorrel Plant Parts and Sorrel-Based Products. *FNS*. 2013; 4: 838 - 43.

47. Padilla CM, Torrereo PE, Urbiola MH, Quevedo GH, Realdel A, Munoz ER and Garcia MR. Evaluation of Ox- alates and Calcium in Nopal Pads (*Opuntia ficus - indica* var. redonda) at Different Maturity Stages. *J. Food Comp. Anal*. 2001; 24 (1): 38 - 43.

48. Kareno ST, Morley-Bunker MJS and Savage GP. Oxalate Content of Purslane Regrowth is Unaffected by Differing Repeat Harvesting

Archive of SID
www.SID.ir

Regimes. Proceedings of the Nutrition Society of New Zealand. 2008; 33: 126 - 31.

49. Simpson TS, Savage GP, Sherlock R and Vanhanen LP. Oxalate Content of Silver Beet Leaves (*Beta vulgaris* var. cicla) at Different Stages of Maturation and the Effect of Cooking with Different Milk Sources. *J. Agric. Food Chem*. 2009; 57 (22): 10804 - 8.

50. Massey LK. Food oxalate: Factors affecting measurement, biological variation, and bioavailability. *J. Amer. Dietetic Assn*. 2007; 107: 1191 - 4.

51. Singh PP and Saxena SN. Effect of maturity on the oxalate and cation contents of six leafy vegetables. *Indian J. Nutr. Diet*. 1972; 9: 269 - 76.

52. Libert B and Franceschi VR. Oxalate in crop plants. *J. Agric. Food. Chem.* 1987; 35: 926 - 38.

53. Horner HT, Kausch AP and Wagner BL. Ascorbic acid: a precursor of oxalate in crystal idioblasts of Yucca torreyi in liquid rot culture. *Int. J. Plant Sci*. 2000; 161 861 - 8.

54. Kostman TA, Tarlyn NM, Loewus FA and Franceschi VR.Biosynthesis of L-Ascorbic Acid and Conversion of Carbon 1 and 2 of L-Ascorbic Acid to Oxalic Acid Occurs within Calcium Oxalate Crystal Idioblasts. *Plant Physiol*. 2001; 125: 634 - 40.

55. Tehranifar A, Zarei M, Esfandiyari B, and Nemati Z. Physicochemical Properties and Antioxidant Activities of Pomegranate Fruit (*Punicagranatum*) of Different Cultivars Grown in Iran. *Hort. Environ. Biotechnol*. 2010; 51 (6): 573 - 9.

56. Wegiera M, Grabarczyk P, Baraniak B and Smolarz HD. Antiradical properties of extracts from roots, leaves and fruits of six *rumex*l. species. *Acta Biol. Cracoviensia Ser. Bot.* 2011; 53 (1): 125 - 31.

57. Ko EY, Kim D, Roh S W, Yoon WJ, Jeon YJ, Ahn G and Kim KN. Evaluation on antioxidant properties of sixteen plant species from jeju island in Korea. *EXCLI J*. 2015; 14: 133 - 45.

58. Bahorun T, Luximon-Ramma A, Crozier A and Aruoma OI. Total phenol, flavonoid, proanthtrocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *J. Sci. Food and Agric*. 2004; 84: 1553 - 61.

59. Mazid M, Khan TA and Mohammad F. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. *Biology and Medicine* 2011; 3 (2): 232 - 49.

Archive of SID

www.SID.ir