

بررسی تغییرات مهمترین مواد موثره ثانوی و فعالیت آنتی اکسیدانی
اندامهای مختلف گیاه دارویی سنجد (*Elaeagnus angustifolia* L.) در
رویشگاههای مختلف استان خراسان رضوی

لاله سعادت‌مند*^۱، مه‌لقا قربانلی^۲، مریم نیاکان^۳

^۱ کارشناس ارشد گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران

^۲ استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران

^۳ دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۵

چکیده

سنجد با نام علمی *Elaeagnus angustifolia* L. از گونه‌های بسیار مهم غذایی و دارویی است که تاریخ شناسایی و استفاده آن به زمان‌های گذشته مربوط می‌شود. رویشگاه‌های مختلف با شرایط آب و هوایی متنوع اثرات متفاوتی بر کیفیت و کمیت مواد موثره گیاهان دارند. مناطق خشک و نیمه خشک کشور خصوصاً استان خراسان با رویشگاه‌های مختلف عرصه‌ای بالقوه برای رشد و نمو این گونه دارویی ایجاد کرده است. جهت انجام این پژوهش، در فصل رویشی و زایشی اندام‌های گیاه سنجد (برگ، میوه و گل) از چهار رویشگاه مختلف منطقه درگز (چهلمیر، قرخ قیز، آرتیان و سنگ سوراخ) واقع در استان خراسان رضوی جمع‌آوری شدند. سنجش فلاونوئید، پلی‌فنل، آنتوسیانین به روش اسپکتروفتومتری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به سه روش RP و DPPH، TAC صورت گرفت. میزان مواد موثره در اندام‌های مختلف گیاه سنجد ثابت نبود به طوری که نتایج نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئید و فنل در منطقه قرخ قیز به دلیل افزایش تنش شوری ($EC=4/6$) مشاهده شد. بیشترین میزان آنتوسیانین‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز در این منطقه به دلیل وجود این تنش شوری افزایش یافت.

واژگان کلیدی: سنجد (*Elaeagnus angustifolia* L.)، فلاونوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل

*نویسنده مسئول: sadatmand_m66@yahoo.com

مقدمه

حالت تهوع، استفراغ، یرقان، آسم و نفخ استفاده می‌شود (Mirhydar, 1998; Gürbüz et al., 2003). مطالعات فارماکولوژیکی اخیر اثر شل‌کنندگی عضلات، اثرات آنتی‌باکتریال، ضد التهابی و ضد درد را نشان داد (Ahmadiani et al., 2007). امروزه پذیرفته شده است که متابولیت‌های ثانویه نقش دفاعی عمده و جذابی در تعاملات بین گیاهان و محیط زیست آن‌ها دارند. فلاونوئیدها یک گروه از ترکیبات پلی‌فنلی با خصوصیات شناخته شده‌اند که شامل مهار رادیکال آزاد، مهار آنزیم‌های اکسیداتیو و هیدرولیتیک و عملکرد ضد درد و ضد التهابی می‌شوند. فلاونوئیدها و فنل‌ها در گیاهان خوراکی عامل قوی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی‌اند که این امر منجر به توجه بیشتر برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به جای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی به دلیل محدود بودن عوارض جانبی شان از قبیل سرطان شد (Zhou et al., 2000).

با توجه به اینکه رویشگاه‌های مختلف دارای شرایط متفاوتی می‌باشند به نظر می‌رسد اثرات متفاوتی بر رشد گیاهان دارند و شرایط آب و هوایی می‌تواند میزان مواد موثره گیاهی را تحت تاثیر قرار دهد لذا بر آن شدیم تا این موضوع را در مورد سنجد که گیاهی دارویی است تحقیق کنیم و تغییرات مواد موثر ثانوی از قبیل فلاونوئید، فنل کل و آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در این گونه مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

موقعیت جغرافیایی

شهرستان درگز از جمله شهرستان‌های شمال خراسان است که در طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۶ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۲۶ دقیقه است. از شمال به جمهوری ترکمنستان و از سمت شرق به شهر مشهد، از جنوب به شهرستان‌های

گونه‌های بسیاری در رویشگاه‌های متفاوت با شرایط اقلیمی ایران سازگاری حاصل نموده‌اند از جمله آن‌ها درخت سنجد با نام علمی (*angusifolia L.*) است که از دیرباز به اهمیت این درخت پی برده و کم و بیش در اقصی نقاط کشور به کاشت آن مبادرت گردیده و از آن در مصارف مختلف استفاده شده است. مهمترین اهمیت این درخت استفاده از آن در نواحی بیابانی جهت تثبیت خاک می‌باشد، چرا که این درخت در برابر عوامل نامساعد طبیعی چون خشکی، طوفان‌های شدید، کم آبی، تا حدی شوری خاک و دمای بسیار بالا و پایین، مقاوم می‌باشد. این گونه رویشگاه طبیعی وسیعی در اروپا و آسیا دارد. در جنوب اروپا، باختر و شمال مرکزی آسیا تا هیمالیا به‌طور بومی می‌روید (Friedman et al., 2005).

جنس *Elaeagnus* شامل بیشتر از ۸۰ گونه می‌باشد که به‌طور اساسی در آسیا و اروپا گسترده شده‌اند. بخشی از آن در آمریکای شمالی و تقریباً حدود ۵۵ گونه در چین می‌باشد. سنجد (*Elaeagnus angusifolia*) معمولاً درختچه یا درخت کوچک خاردار است که ارتفاع آن به ۱۰-۵ متر می‌رسد. شاخه‌های آن به رنگ سبز-نقره‌ای هستند. برگ‌ها تخم مرغی یا سرنیزه‌ای شکل، دارای حاشیه‌ای صاف، کامل که در طول ساقه به‌صورت متناوب هستند، گل‌ها به شکل زنگوله، بسیار معطرند، کرم رنگ، به صورت منفرد یا خوشه‌ای هستند. میوه‌ها بیضوی، به طول ۲-۱/۵ cm، به رنگ زرد-قرمز می‌باشند (Wang et al., 2012). قسمت‌های مختلف آن به دلیل دارا بودن خواص دارویی در درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفته است.

در طب سنتی از میوه و گل سنجد به‌عنوان یک داروی مقوی و ضد تب استفاده می‌شود. همچنین از آن برای درمان بیماری‌های ادراری، اختلالات معده، اسهال،

اضافه شده و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه باقی ماند و جذب آن در ۷۶۵ nm با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی استاندارد توسط غلظت‌های مختلفی ($0-500 \text{ mg.l}^{-1}$) از اسید گالیک در متانول تهیه و منحنی با نرم‌افزار Excel رسم گردید، سپس معادله خط $y=bx+a$ بدست آمد. جذب‌های خوانده شده از نمونه‌ها به جای y قرار داده شد و x یا همان غلظت بدست آمد.

روش عصاره‌گیری برای سنجش مقدار فلاونوئیدهای کل

برای تعیین میزان فلاونوئید کل، عصاره‌گیری با کمی اصلاحات مطابق روش Khatkhatk و همکاران (۲۰۰۸) توسط همزن مگنت با دو حلال انجام شد. حدود ۱g از برگ‌های تازه در ۱۰mL متانول سائیده و سپس در دمای 40°C به مدت ۱ ساعت همزده شد. در انتها با کاغذ صافی Whatman NO. 3 صاف شد.

تعیین مقدار فلاونوئیدهای کل (Chang et al., 2002):

از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار فلاونوئیدها استفاده شد. هر کدام از عصاره‌های متانولی گیاهی (۰/۵ ml از 0.1 g.ml^{-1}) به صورت جداگانه با ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم (۱۰٪ متانولی)، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم (۱M) و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند. جذب هر ترکیب واکنشی در ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با محلول‌های کوئرستین (Quercetin, Sigma Chemical Co.) متانولی در غلظت‌های $250-1000 \mu\text{g.ml}^{-1}$ تهیه شد و منحنی با نرم افزار Excel رسم گردید، سپس معادله خط $y=bx+a$ بدست آمد. جذب‌های خوانده شده از نمونه‌ها به جای y قرار داده شد و x یا همان غلظت بدست آمد.

قوچان و چناران و از غرب به قوچان محدود است. ارتفاع این شهر از سطح دریا ۴۸۰ متر می‌باشد.

مراحل جمع‌آوری نمونه

در طی عملیات صحرایی و انتخاب ۴ رویشگاه در شهرستان درگز بخش‌های مختلفی از گیاه سنجد از قبیل (برگ، گل، میوه) در محدوده زمانی نیمه اردیبهشت تا نیمه مهرماه ۱۳۹۰ در قالب طرح تصادفی جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری از رویشگاه‌های مورد مطالعه به صورت مجزا از هم در مکان سایه و تهویه مناسب خشک گردیدند و به جهت عصاره‌گیری به آزمایشگاه‌های آنالیز و فیتوشیمیایی دانشگاه آزاد اسلامی گرگان منتقل گردیدند.

جهت تهیه خاک نیز در هر منطقه سه نقطه انتخاب و تا عمق ۳۰ سانتی‌متری گود شد. سپس خاک سه نقطه با هم مخلوط گردید و جهت انجام آزمایشات مربوطه به آزمایشگاه خاک شناسی ارسال شد (جدول ۱).

روش عصاره‌گیری برای سنجش مقدار ترکیبات فنل‌های کل

برای سنجش مقدار فنل کل، حدود ۱g از برگ‌های تازه در ۱۰ میلی لیتر متانول به مدت ۲ دقیقه ساییده و محلول به دست آمده با کاغذ صافی، صاف شد (Khatkhatk et al., 2008).

تعیین مقدار ترکیبات فنل‌های کل (McDonald et al., 2001)

میزان فنل کل با معرف فولن-سیکالتوتعیین شد. برای سنجش مقدار ترکیبات فنل‌های کل، حدود ۱g از برگ‌های تازه را در ۱۰ میلی لیتر متانول به مدت ۲ دقیقه ساییده و محلول به دست آمده با کاغذ صافی، صاف شد. به ۰/۵ml از عصاره رقیق شده (g ml^{-1}) $1:10^1$ ۵ ml فولین رقیق شده (۱۰:۱ رقیق شده با آب مقطر) و سپس Na_2CO_3 آبی (۱m) به مقدار ۴ ml به آن

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

روش DPPH (Sun et al., 2007)

برای این منظور از رادیکال آزاد DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) استفاده شد. ابتدا عصاره‌های گیاهی در غلظت‌های متفاوت 5×10^{-2} mg/100 الی 5×10^{-6} در متانل خالص تهیه شد. سپس مخلوطی به نسبت ۱:۱ از محلول (8 mg/100) DPPH و عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های متفاوت تهیه شد. جذب نمونه‌ها بعد از ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر به دست آمد.

$$R\% = \frac{AD - AS}{AD} \times 100$$

R% = درصد مهار

AD: جذب DPPH در ۵۱۷ نانومتر

AS: جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر

برای مقایسه فعالیت عصاره‌ها از پارامتر IC_{50} استفاده شد (IC_{50} غلظتی از عصاره است که ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کند).

روش RP (reducing power) (Arabshahi -)

(Delouee et al., 2007)

برای تهیه عصاره‌ها، مقدار ۴۵ گرم از پودر خشک نمونه‌ها را در ۳۰۰ میلی‌مول متانل خالص حل کرده و به مدت ۲۴ ساعت با دور ۲۵۰ شیک می‌کنیم بعد محلول را صاف کرده و عصاره صاف شده را درون بشر می‌ریزیم و سپس در بن ماری با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خشک می‌کنیم. ۰/۱ گرم از وزن عصاره خشک را برداشته با ۱۰۰ میلی‌مول متانول به حجم می‌رسانیم و از روی آن غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ را آماده می‌کنیم و سپس یک میلی‌مول از عصاره‌های اندام‌های مختلف و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی (Butylated BHT Hydroxytoluene)، BHT (Butylated hydroxytoluene) با غلظت‌های مختلف (۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰،

۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ را بر داشته درون لوله آزمایش ریخته و به هر کدام ۲/۵ میلی‌مول بافر فسفات با pH=۶/۶ و ۲/۵ میلی‌مول فرو سیانید پتاسیم اضافه کرده هم می‌زنیم درب لوله‌ها را بسته و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده سپس به هر کدام ۲/۵ میلی‌مول تری کلرو استیک اسید ریخته درون لوله‌های پلاستیکی درب دار فالكوم ریخته ۱۰ دقیقه سانتریفوژ با دور ۱۷۰ سپس ۲/۵ میلی‌مول از محلول رویی درون لوله‌ها را داخل لوله آزمایش ریخته و به آن ۲/۵ میلی‌مول آب مقطر و ۰/۵ میلی‌مول کلرید آهن ۳ اضافه کرده سپس جذب را در ۷۰۰ نانو متر می‌خوانیم. IC_{50} مربوط به هر نمونه و استانداردهای BHT، BHA (غلظتی که در آن ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد مهار می‌شوند) با معادله خط مربوط (محاسبه گردید).

روش TAC (Total antioxidant capacity)

(Arabshahi - Delouee et al., 2007)

۰/۱ گرم از وزن عصاره خشک را برداشته با ۱۰۰ میلی‌مول متانول به حجم می‌رسانیم و از روی آن غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ را آماده می‌کنیم. در داخل لوله‌های آزمایش ۰/۳ میلی‌مول از عصاره‌های اندام‌های مختلف و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHT، BHA با غلظت‌های مختلف (۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰) که مانند تست RP تهیه شده را برداشته به هر کدام ۳ میلی‌مول معرف TAC اضافه می‌کنیم و سر لوله‌ها را با فویل بسته به مدت یک ساعت و نیم در بن ماری ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده بعد از سرد شدن جذب نمونه را در ۶۹۵ نانومتر می‌خوانیم. شاهد شامل ۰/۳ میلی‌مول متانول و ۳ میلی‌مول معرف TAC می‌باشد. مراحل ساخت معرف TAC ۱۵/۹۸۵ میلی‌مول از اسیدسولفوریک ۰/۶ مولار را با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی‌مول می‌رسانیم و با مگنت هم

می‌زنیم در مرحله دوم ۱/۲۳۵ گرم از آمونیوم مولیبدات را با ۱۰۰ میلی‌مول اسید سولفوریک ۰/۶ مولارد بشر اضافه کرده هم می‌زنیم و در بشر دیگر ۲/۶۶ گرم از تری فسفات سدیم ریخته و ۱۰۰ میلی‌مول اسیدسولفوریک ۰/۶ مولاربه آن اضافه کرده هم می‌زنیم و محتویات این دو بشر را در یک بالن ۲۵۰ میلی‌مول دیگر ریخته. بلانک شامل ۰/۳ میلی‌مول متانل و ۳ میلی‌مول معرف TAC می‌باشد. IC50 مربوط به هر نمونه (غلظتی که در آن ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد مهار می‌شوند) با معادله خط مربوط (محاسبه گردید).

روش‌های آماری

کلیه آنالیزها، با ۴ تکرار و هر ایستگاه با ۴ نمونه انجام گردید. سپس با استفاده از نرم‌افزار Excel مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و نمودارهای مربوطه رسم گردید. در نهایت با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار بودن یا نبودن آن‌ها کنترل شد.

نتایج

تمامی آزمایشات در ایستگاه‌های ۴ منطقه مختلف شهرستان درگزر انجام شد. بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعات خاکشناسی در جدول ۱ مشخص گردید که میزان هدایت الکتریکی (شوری) خاک در منطقه قرخ قیز نسبت به سایر مناطق افزایش یافته است.

محتوی فلاونوئید بر حسب اکی والانت کوئرستین همراه با منحنی استاندارد ($y=0.0012x-0.0021$)

در جدول ۲ نیز میزان فنل کل نشان داده شده است که با معرف فولن سیکالتو برحسب گالیک اسید همراه با منحنی استاندارد ($y=0.005x-0.025$)، $R^2=0.98$ اندازه‌گیری شد. میزان فنل کل در ۴ منطقه بین $4/03 \pm 0/08$ و $6/28 \pm 0/20$ متغیر بود و بیشترین میزان در عصاره برگ‌های منطقه قرخ قیز و کمترین میزان در منطقه آرتیان یافت شد. با توجه به نتایج مندرج در نمودار ۲ میزان فنل در ایستگاه ۲ منطقه قرخ قیز بیشتر از سایر ایستگاه‌ها می‌باشد و در ایستگاه ۱ آرتیان به کمترین میزان یافت شد و بین ایستگاه ۱ منطقه آرتیان و ایستگاه ۱ منطقه چهلمیر، همچنین ایستگاه ۲ منطقه چهلمیر و ایستگاه سنگ سوراخ از نظر میزان فنل کل در سطح $P < 0/05$ اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. اما با سایر ایستگاه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند.

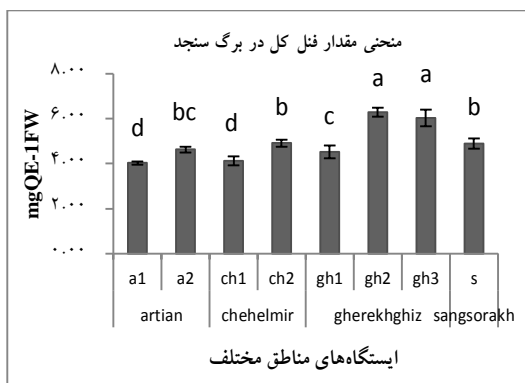
جدول ۱: نتایج خاکشناسی

مشخصات نمونه	عمق	هدایت الکتریکی EC(ds m ⁻¹)	اسیدیته کل اشباع pH	رس %Clay	لای %Silt	ماسه %Sand	نوع بافت خاک
منطقه چهلمیر	۰-۳۰	۱,۹	۷,۴	۱۰	۵۸	۳۲	Si-C-L
منطقه قرخ قیز	۰-۳۰	۴,۸	۷,۳	۱۰	۴۴	۴۶	Si-C
منطقه سنگ سوراخ	۰-۳۰	۱,۸	۷,۵	۱۰	۵۲	۳۸	Si-C-L
منطقه آرتیان	۰-۳۰	۱,۶	۷,۶	۲۰	۵۲	۲۸	Si-C-L

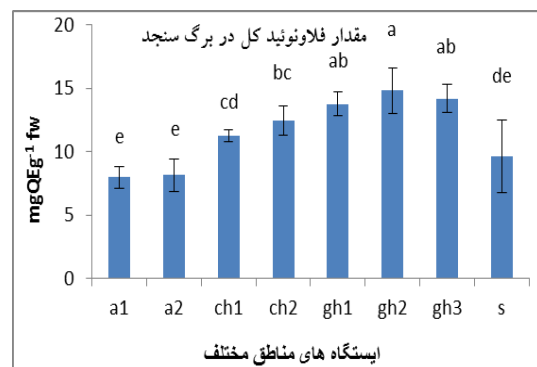
جدول ۲: نتایج حاصل از اندازه‌گیری فنل و فلاونوئید

میزان فنل کل (mg.g ⁻¹ fw)	میزان فلاونوئید (mg.g ⁻¹ fw)	ایستگاه‌های مختلف	مناطق مورد مطالعه
۴/۱۳ ± ۰/۱۹ d	۱۱/۲۴ ± ۰/۴۹ cd	ایستگاه ۱	منطقه چهلمیر
۴/۹۱ ± ۰/۱۶ b	۱۲/۴۵ ± ۱/۱۸ bc	ایستگاه ۲	
۴/۵۳ ± ۰/۲۹ c	۱۳/۷۸ ± ۰/۹۶ ab	ایستگاه ۱	منطقه قرخ قیز
۶/۲۸ ± ۰/۲۰ a	۱۴/۸۱ ± ۱/۸۰ a	ایستگاه ۲	
۶/۰۳ ± ۰/۳۷ a	۱۴/۲۰ ± ۱/۱۱ ab	ایستگاه ۳	
۴/۰۳ ± ۰/۰۸ d	۸ ± ۰/۸۵ e	ایستگاه ۱	منطقه آرتیان
۴/۳۵ ± ۰/۱۳ bc	۸/۱۶ ± ۱/۲۷ e	ایستگاه ۲	
۴/۶۹ ± ۰/۲۹ b	۹/۶۳ ± ۲/۸۵ de	ایستگاه ۱	منطقه سنگ سوراخ

۴ تکرار، نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار، آنالیز آماری تحت ANOVA در سطح ۵ درصد با تست دانکن، در هر ستون بین داده‌هایی با حروف متفاوت متفاوت معنی‌دار وجود دارد



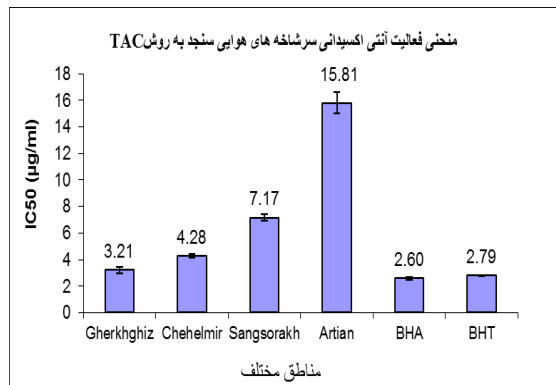
شکل ۲: میزان فنل کل در ایستگاه‌های مناطق مختلف



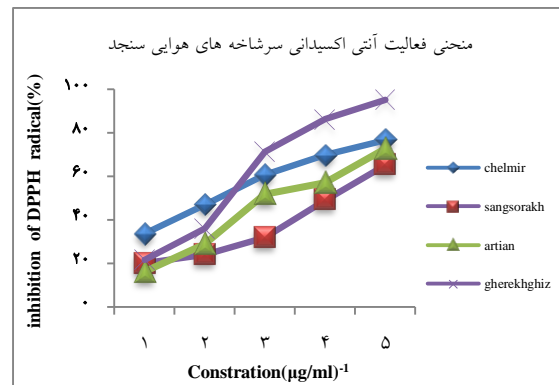
شکل ۱: میزان فلاونوئید در ایستگاه‌های مناطق مختلف

پارامترهایی است که به‌طور گسترده‌ای برای ارزیابی فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد استفاده می‌شود و IC_{50} کمتر نشان‌دهنده بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد به طوری که بیشترین فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد در عصاره سرشاخه‌های هوایی سنجد منطقه قرخ قیز مشاهده گردید (IC_{50} در پایین‌ترین غلظت، $201/25 \mu g ml^{-1}$ و کمترین فعالیت مهار مربوط به عصاره سرشاخه‌های هوایی سنجد منطقه آرتیان بود (IC_{50} در بالاترین غلظت $481/13 \mu g ml^{-1}$). (به ترتیب دارای قدرت مهار بیشتر می‌باشند BHA>BHT>Gherkhghiz>Chehelmir>SangSORA (kh)>Artian (شکل ۴ و ۵).

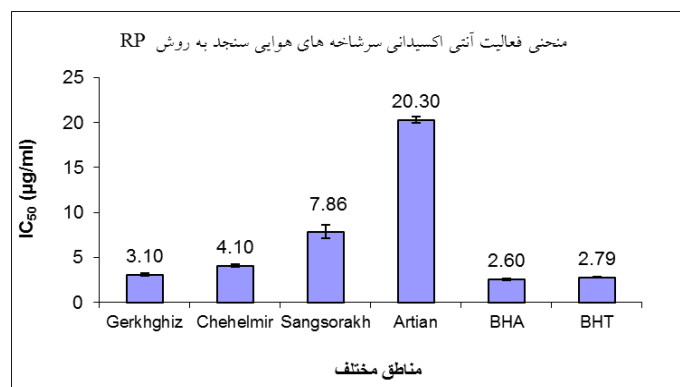
مهار رادیکال‌های آزاد از عصاره سرشاخه‌های هوایی سنجد با استفاده از رادیکال DPPH بررسی شد و نتایج به صورت درصد فعالیت مهار گزارش شد (نمودار ۳). فعالیت مهار DPPH در سطح $P < 0/05$ معنی‌دار بود به طوری که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره سرشاخه‌های هوایی سنجد در تمامی ۴ رویشگاه بین $37/9$ و $62/06$ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر متغیر بود. بررسی‌ها نشان داد که با افزایش غلظت‌های عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. همچنین نتایج فعالیت مهار به صورت میزان IC_{50} (mg/ml) با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های استاندارد BHA و BHT به دو روش TAC و RP صورت پذیرفت. IC_{50} یکی از



شکل ۴: میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در سرشاخه های هوایی سنجد در ۴ رویشگاه مختلف با استفاده از آنتی اکسیدان های استاندارد به روش TAC



شکل ۳: میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در سرشاخه های هوایی سنجد در ۴ رویشگاه مختلف به روش DPPH



شکل ۵: میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در سرشاخه های هوایی سنجد در ۴ رویشگاه مختلف با استفاده از آنتی اکسیدان های استاندارد به روش RP

ضد درد و ضدالتهابی برخی از آن ها قبلا گزارش شده است (Wolniak et al., 2007). میزان ترکیبات فلاونوئید و فنل کل در رویشگاه قرخ قیز (۳۷ درجه و ۲۴ دقیقه شمالی و ۵۹ درجه و ۰۳ دقیقه شرقی) به دلیل افزایش شدت تنش شوری نسبت به سایر مناطق افزایش یافته است و در منطقه آرتیان نیز به دلیل کاهش شدت این تنش کاهش یافته است (جدول های ۱ و ۲). در این راستا گزارش شده که گیاهان یا از شوری اجتناب می کنند و یا در مقابل آن بردباری می نمایند. در حالت مقاومت گیاه در برابر شوری گیاه نمک را جذب کرده و آن را به اندامها به ویژه برگها می فرستد. بنابراین به دلیل افزایش تنش شوری ترکیبات فلاونوئیدی و فنلها افزایش می یابند

بحث

گیاهان منبع مهمی از ترکیبات هستند که به عنوان متابولیت های ثانویه شناخته شده اند. بررسی مقادیر ترکیبات فعال ثانوی در اندامها و مقایسه آنها نشان داد که میزان مواد موثره ثانوی (فلاونوئید، فنل، آنتوسیانین) و فعالیت آنتی اکسیدانی در اندامهای مختلف و گیاهان هیچ گاه ثابت نیست و متناسب با مراحل رشد گیاه و شرایط محیطی قابل تغییر است.

در مطالعات دیگران بر روی گیاه سنجد، وجود فلاونوئید و فنل کل گزارش گردید که احتمالاً این ترکیبات دارای خواص دارویی ارزشمندی می باشند. مشابه به مطالعه ما عنوان شده است که فلاونوئیدها یکی از اجزای بسیار مهم در سنجد هستند که اثرات

(۱۳۸۲) که عنوان کردند افزایش میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن در گیاه باعث می‌شود که برای کاهش اثرات سمی تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری، مکانیسم‌های متنوعی در گیاه فعال شود. در این شرایط میزان آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش یافته و آنزیم‌های مهارکننده ROSها در جهت کاهش اثرات سمی ناشی از تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری، افزایش پیدا می‌کنند مطابقت دارد. افزایش تنش شوری باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهانی از قبیل پیاز و *Jatropha courcas* شده است (et al., 2010) (Blokina)

نتیجه‌گیری نهایی

در این پژوهش مشخص گردید که برگ‌های گیاه سنجد در منطقه قرخ قیز به دلیل افزایش تنش شوری دارای بیشترین میزان فلاونوئیدها و پلی فنل‌ها می‌باشد، همچنین سرشاخه‌های هوایی این گیاه در منطقه قرخ قیز بیشترین قدرت مهار کردن رادیکال‌های آزاد DPPH را بروز داد و با افزایش غلظت عصاره‌ها، درصد این فرآیند افزایش یافت.

منابع

- ۱- کافی، م، کامکار، ب و مهدوی دامغانی، ع.م. ۱۳۸۲. واکنش‌های گیاهان زراعی به محیط رشد، انتشار: دانشگاه فردوسی مشهد، صفحه ۲۵۷.
2. Ahmadiani, A, Hosseini, J., Semnianian, S., Javan, M., Saeedi, F., Kamalinejad, M. and Saremi, S. 2007. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Elaeagnus angustifolia* fruit extract. *J. Ethnopharmacol*, 72: 287-92.
3. Arabshahi-Delouee, S., Vishalakshi Devi, D. and Urooj, A. 2007. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. *Food Chem.*, 100: 1100-1105.
4. Ayaz, F.A., Kadioglu, A. and Turgut, R. 2000. Water stress effects on the content of low molecular weight carbohydrates and phenolic acids in *Ctenanthe setosa* (Rosc.) Eichler. *can. J. plant. Sci.*, 80:373-378.

(Levitt, 1980). مشابه به پژوهش ما محتوی فلاونوئید کل در نهال‌هایی از وارسته‌های برنج افزایش یافته بود که تجمع فلاونوئیدها در نهال‌های تحت تنش شوری بسیار بالاتر از نهال‌هایی بود که در شرایط بدون استرس قرار داشتند. بنابراین فلاونوئیدها ممکن است نقش حفاظتی را شبیه به ترکیب پرولین ایفا کنند (Sonar et al., 2011).

در بررسی‌های انجام شده بر تاثیر شوری بر میزان پلی فنل‌ها در گیاه گردو (*Juglans regia*) مشخص شد با افزایش سطح شوری (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مول نسبت به شاهد)، محتوای پلی فنل‌ها افزایش می‌یابد (Ghasemi et al., 2011). میزان ترکیبات فنلی در نهال‌های جو تحت تنش شوری افزایش یافته است که ممکن است کاهش جوانه‌زنی و رشد مربوط به اختلالات شوری القا شده از فرایندهای متابولیکی منجر به افزایش ترکیبات فنلی، فلاونوئید (2000 Ayaz et al., و آنزیم‌های اکسیداتیو شده باشد (Darbyshire, 1971) و این بررسی‌ها با نتایج ما مطابقت دارد و اینکه گیاه سنجد به دلیل داشتن ترکیبات فعال ثانوی از قبیل فلاونوئیدها و پلی فنل‌ها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قوی می‌باشد.

مشابه با پژوهش ما Muscolo و همکارانش در سال ۲۰۰۳ عنوان کردند که فعالیت آنتی اکسیدانی فنل‌ها عمدتاً به دلیل خواص اکسیداسیون و کاهش آن‌ها می باشد که اجازه می‌دهد تا به‌عنوان عوامل کاهشنده، دهنده هیدروژن، اکسیژن و کلاتورهای فلز عمل کنند.

در این تحقیق میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با سه روش DPPH, RP و TAC مورد ارزیابی قرار گرفت که در هر سه روش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در منطقه قرخ قیز به میزان قابل توجهی به دلیل افزایش تنش شوری در این رویشگاه نسبت به سایر مناطق افزایش یافت و در منطقه آرتیان نیز کمترین میزان آن مشاهده گردید و این با تحقیق کافی و همکاران

5. Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt K.V. 2010. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann. Bot.*, 91:179-194.
6. Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Analysis*, 10:178-182.
7. Darbyshire, B. 1971. Changes in indoleacetic acid oxidase activity associated with plant water potential. *Plant Physiol.*, 25:80-84.
8. Friedman, J., Auble, G., Shafroth, P., Scott, M., Merigliano, M., Preehling, M. and Griffin, E. 2005. Dominance of non-native riparian trees in western USA. *Biological Invasions*, 7:747-51.
9. Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ehteshamnia, A., Nabavi, S.M., Nabavi, S.F., Ebrahimzadeh, M.A. and Pourmorad, F. 2011. Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoids contents of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(7):1128-1133.
10. Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2001, Anthocyanins characterization and measurement with UV-visible Spectroscopy, In: *Current protocols in food analytical chemistry* (R.E. Wrolstad), Wiley, New York, F1. 2. 1-F1.1.13.
11. Gürbüz, I., Stun, O., Yesilada, E., Sezik, E. and Kutsal, O. 2003. Anti-ulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. *J. Ethnopharm.*, 88:93-7.
12. Khattak, K.F., Simpson, T. and Ihasnullah, J. 2008. Effect of gamma irradiation on the extraction yield, total phenolic content and free radical scavenging activity of *Nigella staiva* seed. *Food Chem.* 110: 967-972.
13. Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses, Vol. II, Academic press, New York. p:74-82.
14. McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. and Robards, K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73:73-84.
15. Mirhydar, H. 1998. *Encyclopedia of Plants: Indications of Plants in the Prevention and Treatment of Diseases* Tehran: Islamic Farhang. 1-7.
16. Muscolo, A., Sidari, M. and Panuccio, M.R. 2003. Tolerance of kikuyu grass to long term salt stress is associated with induction of antioxidant defenses. *Plant Growth Regulation* 41: 57-62.
17. Sonar, B.A., Desai Nivas, M., Gaikwad, D.K. and Chavan, P.D. 2011. Assessment of Salinity Induced Antioxidative Defense System in *Colubrina asiatica* Brong. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, Vol. 7. No. 3, pp.193-200.
18. Sun, T., Xu, Z., Wu, C.T., Janes, M., Prinyawiwatkul, W. and No, H.K. 2007. Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Caspicum annuum* L.). *Food Sci.*, 72: 98-102.
19. Zhou, M., Chen, Y., Ouyang, Q., Liu, S.X. and Pang, Z.J. 2000. Reduction of the oxidative injury to the rabbits with established atherosclerosis by protein bound polysaccharide from *Coriolus vesicolor*. *Am. J. Chin. Med.*, 28: 239-249.
20. Wang, Ya., Guo, Tao., Yin Li-Jia, Shang-zhen, Z. and Zhao P. 2012. Four flavonoid glycosides from the pulps of *Eleagnus angustifolia* and their antioxidant activities, 1666-1669.
21. Wolniak, M., Tomczykowa, M., Tomczyk, M., Gudej, J. and Wawer, I. 2007, Antioxidant activity of extracts and flavonoids from *Bidens tripartita*. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 64(5):441-447.

**Phytochemical and antioxidant activity of *Eleagnus angustifolia* L.
in different regions of Razavi Khorasan province**

Seadatmand, L^{*1}, Ghorbanli, M², Niakan, M³.

¹ Department of Botany, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Gorgan, Iran

² Professor, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Gorgan, Iran

³ Associate Professor, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Gorgan, Iran

Abstract

Elaeagnus angustifolia L. is the important medicine and fruit in Iran, which possibly has different quality and quantity metabolites in different climates. The leaves, flowers and fruit of *Elaeagnus angustifolia* L. were collected in different region in Dargaz region (Razavi Khorasan province). Total phenol (TP), total flavonoids (TF) and total anthocyanin (TA) were obtained by spectrophotometry and anti oxidant activity of methanolic extract were measured by RP, TAC and DPPH methods. Results showed that phytochemical of extracts of plant parts were different and so plant part extracts of Ghorakh khiz region have more content of TF, TP and TA, in addition have the better anti oxidant activity in salin regions with Ec=4.6.

Keywords: Antioxidant, *Eleagnus angustifolia* L., Khorasan province, TF, TP, TA

*Corresponding author; sadatmand_m66@yahoo.com