بررسی فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه گیاه دارویی سنجد *Elaeagnus angustifolia* L. در رویشگاه‌های مختلف منطقه شاهرود

اسماعیل باباخانزاده سجیرانی[1*]، سیدجواد موسوی‌زاده[2]، خدیجه مظفری[3]

[1]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران، ایران

[2]استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[3]کارشناس‌ارشد باغبانی ،دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان ، دامغان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۰۹ ؛ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۵/۱۱/۲۸

چکیده

گیاه سنجد (*Elaeagnus angustifolia* L.) به علت وجود متابولیت‌های ثانوی فلاونوئید و فنول از خواص آنتی اکسیدانی برخوردار است و به این جهت دارای عملکردهای دارویی فراوان است. از آنجایی که کمیت و کیفیت آن مواد در شرایط آب و هوایی مختلف متغیر می‌شود، این تحقیق با هدف بررسی تغییرات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه‌های گیاه سنجد در رویشگاه‌های مختلف منطقه شاهرود (مجن، میامی و کلامو ۱۰۰۰ – ۱٤۰۰ متر) انجام گرفت. عصاره متانولی میوه‌ها با استفاده از روش خیساندن، میزان فنل و فلاونویید کل در عصاره‌ها با استفاده از روش‌های اسپکتروفوتومتری، ارزیابی و مقایسه عملکرد آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش DPPH انجام گرفت . نتایج نشان داد با افزایش ارتفاع در منطقه کوهستانی مجن (۱٤۰۰ متر)، میزان ترکیبات فنولی، فلاونوییدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه گیاه افزایش معنی‌داری پیدا می‌کند و این موضوع در تایید اثر متقابل تنش‌های محیطی موجود در ارتفاعات مختلف رویشگاهی، بر کمیت و کیفیت مواد موثره دارویی گیاهی قابل بحث است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، سنجد (*Elaeagnus angustifolia* L.)، رویشگاه‌های مختلف شاهرود، فنل و فلاونویید

*نویسنده مسئول: esmailbabakhanzade@yahoo.com

مقدمه

سنجد (*Elaeagnus angstifolia* L.) متعلق به تیره Elaeagnaceae است که در اغلب استان‌های آذربایجان، کردستان، چهارمحال و بختیاری، همدان، اصفهان، تهران، خراسان و سمنان می روید (Sabety, 1994). مهمترین اهمیت این درخت استفاده از آن در نواحی بیابانی جهت تثبیت خاک می‌باشد زیرا این درخت در برابر عوامل نامساعد طبیعی چون خشکی، طوفان‌های شدید، کم‌آبی تاحدی شوری خاک و دمای بسیار بالا و پایین مقاوم می‌باشد (Friedman et al., 2005). جنس *Elaeagnu* شامل ۸۰ گونه می‌باشد که به‌طور اساسی در آسیا و اروپا گسترده شده‌اند بخشی از آن در آمریکای شمالی و تقریبا حدود ۵۵ گونه در چین می‌باشد. قسمت‌های مختلف سنجد به‌دلیل دارا بودن خواص دارویی در درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفته است (Saadatmand et al., 2006). در گیاه سنجد وجود فلاونوئید و فنول کل گزارش گردیده است. فلاونوئیدها یک از اجزای مهم سنجد هستند (Wang et al., 2012) که اثرات ضد درد، ضدالتهابی و ضدسرطانی آن‌ها قبلا گزارش شده است (Wolniak et al ., 2007; Ramezani et al., 2001).

فلاونوئیدها یک گروه از ترکیبات فنولی با قدرت مهار رادیکال آزاد و مهار آنزیم‌های اکسیداتیودارای عملکرد ضددرد و ضدالتهابی هستند. فلاونوئیدها و فنول‌ها در گیاهان منبع غنی از آنتی اکسیدان هستند که ا منجر به توجه بیشتر برای جایگزین آنتی اکسیدان‌های طبیعی به جای آنتی اکسیدان‌های مصنوعی به دلیل محدود بودن عوارض جانبی‌شان از قبیل سرطان شد (Zhou et al., 2000). فلاون‌ها و مشتقات آن‌ها (فلاونوئید) موادی هستند که به صورت آزاد در بسیاری از گیاهان مانند سنجد و یا به صورت ترکیب همراه با گلیکوزیدها وجود دارند. این مواد از نظر شیمیایی متعلق به فنول‌ها می‌باشند. (Wang et al., 2012). نتایج تحقیقات نشان داده که ترکیب‌های فنولی نظیر فلاونوییدها، ترپنوئیدها و توکوفرول‌ها دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی هستند. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به‌طور قابل توجهی، اکسیداسیون سوبسترا را به تاخیر انداخته یا از آن جلوگیری می‌کنند. آنتی اکسیدان‌ها از لحاظ بیولوژیکی ترکیبات فعالی محسوب می‌شوند که بدن را در برابر آسیب‌های ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال، نیتروژن فعال و کلر فعال که منجر به بروز بیماری‌ها می‌شوند، محافظت می‌نمایند (Zaveri, 2006). آنتی اکسیدان‌ها از نظر بیولوژیکی موادی هستند که در غلظت‌های پایین با سوبسترای حساس به اکسیداسیون آن‌ها را به تاخیر می‌اندازند یا مانع می‌شوند (Halliwell, 1994). عمل دیگر آنتی اکسیدان‌ها زدودن ترکیبات حاصل از واکنش‌های گونه‌های اکسیژن فعال با ماکرو مولکول‌ها است. اثرات آنتی اکسیدانی مواد گیاهی تا حدودی به حضورترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن‌ها نسبت داده می‌شود که در تمام قسمت‌های مختلف گیاهی برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند (Wolniak et al., 2007).

محققان گزارش کردند که عوامل بسیار زیادی از جمله آب، هوا، خاک، ارتفاع، اختلاف در گونه‌های مختلف، روش‌های استخراج و روش اندازه‌گیری‌های آنتی اکسیدان‌ها در میزان متابولیت‌های ثانویه گیاهی از جمله فنول و فلاونوئید کل و خواص آنتی‌اکسیدانی دخالت دارند تأثیر رویشگاه بر میزان متابولیت‌های ثانویه تاکید شده است (Gairola et al., 2010). در بررسی گیاه سرخ ولیک نشان داده شد که نوع مکان بر میزان فلاونوئیدهای آن اثر معنی‌داری داردوهم چنین بابررسی تأثیر ارتفاع و اندام‌ها بر فنول و فلاونوئید این گیاه مشخص شد که در ارتفاعات بالاتر، میزان ترکیبات فنول و فلاونوئید بیشتری در

گیاه تولید می‌شود (Hemati et al., 2003). مکان رشدگیاه می‌تواند از طریق تغییرات دمایی و رطوبتی بر فرایند تشکیل مواد مؤثره تاثیرگذار باشد مثلاً بیشترین میزان تجمع‌هایپرسین در گل راعی زمانی انجام می‌شود که رشد و نمو گیاه در مناطقی با رطوبت نسبی بالا صورت گیرد (Laurel et al., 1999).

محققان در مورد عوامل مؤثر بر تولید فلاونوئیدها گزارش کرده‌اند که هر عاملی که در رشد و نمو گیاه مؤثر است می‌تواند در تولید متابولیت‌ها نیز مؤثر باشد (Jakola and Hohtola, 2010). با بررسی ارتفاع‌های مختلف روی میزان فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و مقدار فنول و فلاونوئید کل درگیاه فاگوپیروم نشان داده شد که مقدار فنول و فلاونوئید با افزایش ارتفاع افزایش می‌یابد (Gairola et al., 2010). این تنوع سنتز ترکیبات ثانوی دارویی در نمونه‌های گیاهی بیشتر تحت تأثیر سه عامل مهم: خزانه ژنتیکی منحصر به فرد هر گونه، تنوع ترکیبات در بین بخش‌های مختلف گیاه، مراحل تکاملی و رشد گیاه و سپس اهمیت تغییرات محیطی است (Friedman et al., 2005). با توجه به اینکه رویشگاه‌های مختلف دارای شرایط متفاوتی می‌باشد به نظر می‌رسد اثرات زیادی بر رشد گیاهان دارند و شرایط آب و هوایی می‌تواند میزان مواد مؤثره گیاهی را تحت تأثیر قرار دهد. لذا بررسی اثر مناطق و ارتفاع برخواص فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی گیاه دارویی سنجد خالی از لطف نیست. ازاینرو در تحقیق حاضر به بررسی اثر ارتفاع از سطح دریا و رویشگاه‌های مختلف بر مواد مؤثره دارویی و فعالیت آنتی اکسیدان میوه سنجد پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

زمان و مشخصات محل اجرای آزمایش: آزمایش در سال ۱۳۹۳ در سه رویشگاه شهرستان شاهرود با مشخصات جغرافیایی و نمونه خاک مشخص(مجن، کلامو و میامی) و در دو ارتفاع (۱۰۰۰ و ۱۴۰۰ متر) اجرا شد. موقعیت جغرافیایی و نمونه خاک ۳ منطقه مورد بررسی در جدول ۱ گزارش شده است.بر اساس آمار بلند مدت، میامی در تابستان دارای هوای گرم و معتدل و در زمستان دارای هوای سرد است. منطقه مجن دارای آب و هوای معتدل کوهستانی و تابستان‌های خنک می‌باشد. همچنین منطقه کلامو دارای زمستان سرد و تابستان معتدل کوهستانی است.

جدول ۱: مشخصات جغرافیایی و نمونه خاک مورد آزمایش از هر منطقه

مشخصات نمونه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع (متر) مورد ارزیابی	عمق (سانتی‌متر)	Ec (ds/m)	pH	% clay	%Silt	% Sand	بافت خاک
منطقه کلامو	۵۵:۰۲:۵۸	۳۶:۳۶:۵۱	۱۰۰۰	۰-۳۰	۲/٤	۸/۲۱	۳٤	٤٥	۲۱	Si-L
			۱٤۰۰	۰-۳۰	۲/۸	۸/۰۵	۲۸	۵۰	۲۲	Si-C
منطقه میامی	۵۵:۳٦:۳٦	۳٦:۲٤:۵۹	۱۰۰۰	۰-۳۰	۱/۷	۷/۵	۱۰	۵۲	۳۸	Si-C-L
			۱٤۰۰	۰-۳۰	۲/۱	۷/۸	۸	۵٤	۳۸	Si
منطقه مجن	٥٤:٤۳:۰۸	۳٦:۲۸:۵۸	۱۰۰۰	۰-۳۰	۲/۸	۷/۳	۱۰	٤٤	٤٦	Si-C
			۱٤۰۰	۰-۳۰	۳/۲	۷/۲	۱۲	٤۸	٤۰	Si-L

در طی عملیات صحرایی و انتخاب ۳ رویشگاه در شهرستان شاهرود، میوه سنجد در محدوده زمانی اواخر مهر ۱۳۹۳به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار جمع آوری گردید. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری از رویشگاه‌های مورد مطالعه به صورت مجزا از هم در مکان سایه و تهویه

مناسب خشک و جهت انجام آزمایشات مربوطه به آزمایشگاه‌های آنالیز و فیتوشیمیایی دانشگاه آزاد اسلامی دامغان منتقل گردید. برای اندازه‌گیری خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدان، ابتدا میوه‌ها به صورت جداگانه در محیط آزمایشگاه و در دمای طبیعی خشک شده سپس در آسیاب برقی (شرکت IKA، مدل A11، ساخت کشور آلمان) پودر شدند. ۱۰ گرم نمونه پودر شده به مدت ٤۸ ساعت داخل ۱۰۰ سی‌سی محلول متانول ٪۸۰ قرار گرفت (نسبت نمونه به محلول متانولی۱ به ۱۰ بود). پس از ٤۸ ساعت با استفاده از کاغذ صافی محلول متانولی حاوی نمونه توسط پمپ خلاء صاف شد. پس از آن محلول متانولی به دستگاه روتاری برای خارج کردن متانول از عصاره انتقال یافت. پس از تبخیر متانول در دستگاه، عصاره خالص در ظرف کوچکی ریخته شد و برای اندازه‌گیری فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده گردید.

ارزیابی عملکرد آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH: میزان مهار رادیکال‌های DPPH با روش ابراهیم‌زاده و همکاران (Ebrahimzade et al., 2008) مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا از عصاره بالا ٤۰ میلی‌گرم وزن نموده در۲۵ سی‌سی متانول حل شد. وزن مورد نظر را برداشته در مقدار کمی متانول حل کرده سپس به حجم ۲۵ سی‌سی با متانول رسانده شد و نمونه در آن ریخته شد. در این مرحله رادیکال پایدار دیفنیل پیکریل هیدرازیل یا DPPH را به غلظت ٤ میلی‌گرم در ۱۰۰ سی‌سی متانول حل گردید (۰/۱ میلی‌مولار). زمانی که عصاره‌ها در حلال متانول آماده شدند. سپس لوله‌های مناسب انتخاب گردیدند. ابتدا در همه لوله‌ها ۲ سی‌سی DPPH ریخته شد. سپس ۲ سی‌سی عصاره به DPPH اضافه گردید. بعد از این کار لوله‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در محیط تاریک قرار گرفتند و در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شدند. علاوه بر لوله‌های مذکور یک لوله برای شاهد در نظر گرفته شد. این لوله ماکزیمم جذب راداشت و فقط ۲ سیسی DPPH و۲سیسی متانول داشت. اسپکت بامتانول صفرشد و اعداد توسط فرمول زیر به درصد مهار تبدیل گردید: در انتها اعداد به دست آمده در اکسل تشکیل یک شیب خط را داد. از فرمول به‌دست آمده یا همان شیب خط بدست آمده y درصد جذب مهار است و x غلظت بوده و مجهول ما غلظت می‌باشد (Sun et al., 2001).

اندازه گیری فنول کل: اندازه‌گیری فنول کل ازروش ابراهیم زاده وهمکاران انجام شد (Ebrahimzade et al., 2008). تهیه عصاره به روش قبلی انجام پذیرفت. بعد از گرفتن عصاره ۰/۵ سی‌سی عصاره متانولی (٤۰ میلی‌گرم در ۲۵ سی‌سی) را با ۵ سی‌سی فولین سیوکالتو (۱ به ۱۰ رقیق شده با آب مقطر) مخلوط کرده سپس ٤ سی‌سی کربنات سدیم یک مولار (۱۰/٦ گرم در ۱۰۰ سی‌سی آب‌مقطر) اضافه گردید. برای شاهد نیز به جای عصاره خشک، متانول که حلال است ریخته شد و بعد فولینسیوکالتیو و کربنات سدیم اضافه گردید. از این محلول برای صفر کردن اسپکتروفتومتر استفاده شد. محلول فوق ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و بعد در طول موج ۷٦۵ نانومتر قرائت‌ها انجام شد. با استفاده از استاندارد گالیک اسیدمنحنی کالیبراسیون رسم گردید. معادله‌هایی که به‌دست آمد مشابه معادله y=0.006*x بود. در اینجا y همان عددی است که در مقابل بلانک قرائت شد و از این طریق x به‌دست آمد.

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید: تهیه عصاره خشک به روش قبلی انجام شد. ۰/۵ سی سی از عصاره متانولی به همراه ۱/۵ سی‌سی متانول و ۰/۱ سی‌سی آلومنیوم کلرید ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرم آلومنیوم کلرید در ۱۰۰ سی‌سی اتانول و آب مقطر) و ۰/۱ سی‌سی استات پتاسیم یک‌مولار (۱۲/٤۱ گرم در ۱۰سی‌سی

آب‌مقطر) و ۲/۸ سی‌سی آب‌مقطر استفاده شد. برای تهیه شاهد نیز به جای عصاره متانولی، متانول خالص استفاده شد. سپس مخلوط، نیم‌ساعت در تاریکی قرار گرفت و در طول‌موج ٤١٥ نانومتر قرائت‌ها انجام شد. اعداد به دست آمده برای فنولوفلاونوئید باید با رجوع به منحنی استاندارد تبدیل به میزان واقعی شوند (Chang et al., 2002).

نتایج

همان گونه که در جدول ۳ نشان داده شده است میزان فلانوییدموجود در سنجد با افزایش ارتفاع افزایش یافته و همچنین بالاترین میزان این ماده در منطقه مجن ۰/٤۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک (که دارای شوری بیشتری نسبت به سایر مناطق می‌باشد) و کمترین میزان در سنجدهایی دیده شد که در منطقه میامی رشد کرده بودند (۰/۳۳ میلی‌گرم بر گرم). همان‌طوری که مشاهده می‌شود بیشترین مقدار فنول در گیاهانی دیده شد که در ارتفاع ١٤٠٠ متری منطقه مجن رشد کرده بودند (معادل ۰/٤۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک). گیاهانی که در ارتفاع ۱۰۰۰ متر منطقه کلامو و مجن رشد کرده بودند، از نظر مقدار فنول اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند و در یک سطح آماری قرار گرفتند. کمترین مقدار فنول در گیاهانی به ثبت رسید که در ارتفاع ۱۰۰۰ متری منطقه میامی رشد کرده بودند که البته از لحاظ آماری با گیاهانی که در ارتفاع ١٤٠٠ متری مجن و کلامو رشد کرده بودند، اختلاف معنی‌داری نداشت. بالاترین مقدار آنتی‌اکسیدان در گیاهان منطقه مجن به ثبت رسید که معادل ۸/۰۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در بین دو منطقه کلامو و میامی از نظر مقدار آنتی‌اکسیدان در این آزمایش اختلاف معنی‌داری دیده نشد.

بررسی جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که میزان فلاونوییدموجود در میوه سنجد در این آزمایش تحت تاثیر ارتفاع و منطقه قرار گرفت. همان‌طور که در جدول ۳ و شکل ۱ ملاحظه می‌گردد، میزان فلاونوییدموجود در میوه سنجد با افزایش ارتفاع، افزایش معنی‌داری را نشان داد. به‌طوری‌که با افزایش ارتفاع از ۱۰۰۰ متر به ١٤٠٠ متر، میزان فلاونوییدبه از ۰/۳٦ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک به ۰/۳۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک رسید.

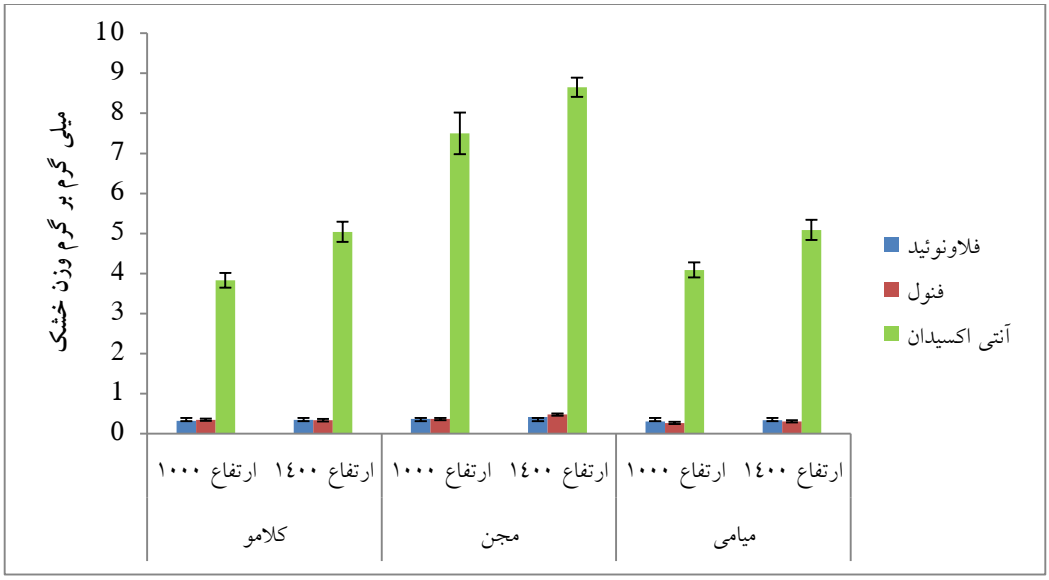
جدول ۲: تجزیه واریانس میزان فلاونوییدفنول و آنتی اکسیدان موجود در میوه سنجد تحت تاثیر ارتفاع و مناطق مورد آزمایش.

منابع تغییر	درجه آزادی	فلاونوییدفنول (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)	فنول (میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک)	آنتی اکسیدان (میکروگرم در میلی‌لیتر)
بلوک	۲	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۱۳
ارتفاع	۱	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۸**	۵/٦۸**
منطقه	۲	۰/۰۱۱**	۰/۰٤**	۲۵/٤۱**
ارتفاع*منطقه	۲	۰/۰۰۰۰٦*	۰/۰۰۰۱*	۰/۰۱۸*
اشتباه	۱۰	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۷	۰/۳۰۰
C.V		۳/۱۳	۷/٤٦	۹/٦۰

*، ** به‌ترتیب بیانگر معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

جدول ۳ : مقایسه میانگین میزان فلاونویید، فنول و آنتی اکسیدان موجود در میوه سنجد تحت تاثیر ارتفاع و مناطق مورد آزمایش.

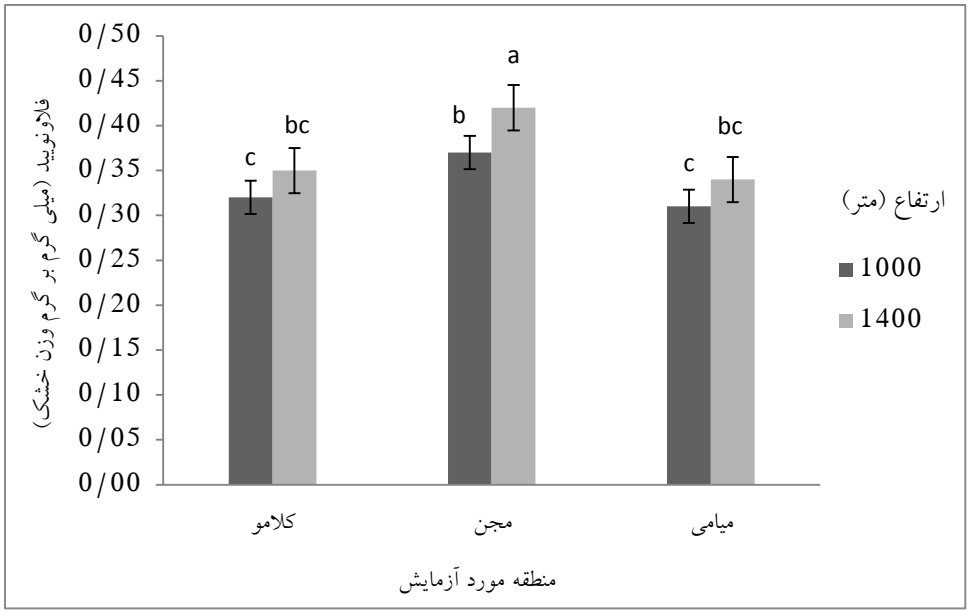
تیمارهای آزمایشی	فلاونویید (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)	فنول (میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک)	آنتی اکسیدان (میکرو گرم در میلی لیتر)
ارتفاع (متر)			
۱۰۰۰	۰/۳۶ b	۰/۳۵ b	۵/۱٤ b
۱٤۰۰	۰/۳۸ a	۰/۳۹ a	٦/۲٦a
LSD	۰/۰۱۲	۰/۰۲۹	۰/۵۷۵
منطقه کلامو	۰/۳۷ b	۰/۳۷ b	٤/٤۳ b
منطقه مجن	۰/٤۲ a	۰/٤۵ a	۸/۰۷ a
منطقه میامی	۰/۳۳ c	۰/۲۹ c	٤/۵۹ b
LSD	۰/۰۱۵	۰/۰۳٦	۰/۷۰٤



شکل ۱: مقایسه میانگین میزان فلاونوئید، فنل و آنتی اکسیدان در ارتفاع مختلف

در مورد تاثیر مناطق مورد آزمایش بر میزان فلاونویید موجود در میوه سنجد، می‌توان این طور نتیجه‌گیری کرد که بالاترین میزان این ماده در منطقه مجن به ثبت رسید که معادل ۰/٤۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. منطقه کلامو با دارا بودن ۰/۳۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک در سطح دوم قرار گرفت. کمترین میزان این صفت را گیاهانی نشان دادند که در منطقه میامی رشد کرده بودند.

اثرات متقابل حاصل از ارتفاع در منطقه، گیاهانی که در ارتفاع ۱٤۰۰ متری منطقه مجن رشد کرده بودند، بالاترین مقدار فلاونویید را که معادل ۰/٤۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود، را به خود اختصاص دادند. کمترین مقدار این صفت مربوط به گیاهانی بود که در ارتفاع ۱۰۰۰ متری کلامو و ارتفاع ۱۰۰۰ متری میامی رشد کرده بودند (شکل ۲).



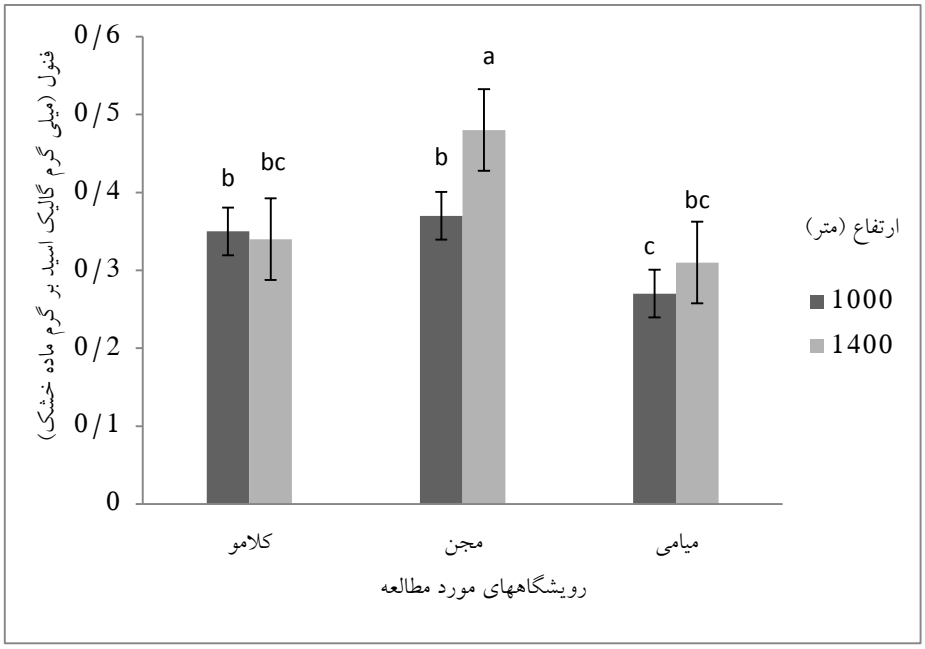
شکل ۲: مقایسه میانگین برهمکنش بین ارتفاع و مناطق مورد مطالعه.

میزان فنول کل در میوه سنجد تحت تاثیر ارتفاع، مناطق مورد آزمایش و اثر متقابل ارتفاع در منطقه قرار گرفت. با افزایش ارتفاع میزان فنول موجود در میوه سنجد افزایش معنی‌داری را نشان داد. مقدار این ماده در ارتفاع ۱۰۰۰ متر معادل ۰/۳۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک بود و این در حالی بود که در ارتفاع بالاتر (۱٤۰۰ متر) این مقدار به ۰/۳۹ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک رسید.

بررسی شکل ۱ نشان داد که بالاترین مقدار فنول در گیاهانی دیده شد که در منطقه مجن رشد کرده بودند. در این منطقه مقدار فنول به ۰/٤۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک رسید. منطقه کلامو و میامی با دارا بودن ۰/۳۷ و ۰/۲۹ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک به‌ترتیب در سطح دوم و سوم قرار گرفتند. بین اثرات متقابل، بیشترین مقدار فنول در گیاهانی دیده شد که در ارتفاع ۱٤۰۰ متری منطقه مجن رشد کرده بودند (معادل ۰/٤۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک). گیاهانی که در ارتفاع ۱۰۰۰ متر منطقه کلامو و مجن رشد کرده بودند، از نظر مقدار فنول اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند و در یک سطح آماری قرار گرفتند. کمترین مقدار فنول در گیاهانی به ثبت رسید که در ارتفاع ۱۰۰۰ متری منطقه میامی رشد کرده بودند که البته از لحاظ آماری با گیاهانی که در ارتفاع ۱٤۰۰ متری مجن و کلامو رشد کرده بودند، اختلاف معنی‌داری را به نشان ندادند (شکل ۳).

بررسی جدول ۳ نشان داد که میزان آنتی اکسیدان موجود در میوه سنجد تحت تاثیر ارتفاع، نوع رویشگاه و اثر متقابل ارتفاع در منطقه قرار گرفت. عملکردآنتی اکسیدانی با افزایش ارتفاع از ۱۰۰۰ متر به ۱٤۰۰ متر، افزایش معنی‌داری را نشان داد و از ۵/۱٤ به ٦/۲٦ میکرو گرم بر میلی‌لیتر رسید (شکل ۱).

عملکرد آنتی اکسیدانی میوه سنجد در این آزمایش تحت تاثیر رویشگاه‌های مختلف قرار گرفت. بالاترین مقدارعملکرد آنتی‌اکسیدانی در گیاهان منطقه مجن به ثبت رسید که معادل ۸/۰۷ میکرو گرم بر میلی لیتر بود. در بین دو منطقه کلامو و میامی از نظر مقدار آنتی اکسیدان در این آزمایش اختلاف معنی‌داری دیده نشد (شکل ۱).



شکل ۳: مقایسه میانگین میزان فنول در میوه سنجد تحت تاثیر ارتفاع و مناطق مورد آزمایش.

بررسی اثرات متقابل حاصل از ارتفاع در منطقه نشان داد، گیاهانی که در ارتفاع ۱٤۰۰ متری منطقه مجن رشد کرده بودند، بالاترین میزان عملکرد آنتی اکسیدانی که معادل ۸/٦٥ میکروگرم بر میلی لیتر بود را به خود اختصاص دادند. گیاهان رشد یافته در ارتفاع ۱۰۰۰ متر منطقه مجن، در سطح دوم قرار گرفتند. کمترین مقدار این ماده در گیاهانی دیده شد که در ارتفاع ۱۰۰۰ متر منطقه کلامو رشد کرده بودند و معادل ۳/۸۳ میکرو گرم بر میلی لیتر بود. گیاهانی که در ارتفاع ۱٤۰۰ متری منطقه کلامو و ۱۰۰۰ و ۱٤۰۰ متری منطقه میامی رشد کرده بودند، از نظر مقدار آنتی اکسیدان موجود در میوه اختلافی را نشان ندادند (شکل ۳).

بحث

در نظر گرفتن ویژگی‌های محل رویش و موقعیت گیاه در طبیعت از عمده عواملی است که می‌تواند بر کمیت وکیفیت مواد موثره گیاهان تأثیر داشته باشد. بررسی نتایج نشان داد که میزان فلاونویید موجود در میوه سنجد تحت تاثیر ارتفاع (۱۰۰۰ و ۱٤۰۰ متر)، منطقه (مجن، کلامو و میامی) و اثر متقابل ارتفاع در منطقه قرار گرفت. به طوری که با افزایش ارتفاع از ۱۰۰۰ به ۱٤۰۰ متر، میزان فلاونویید در میوه سنجد افزایش پیدا کرد. محققان نشان دادند که با افزایش ارتفاع بر میزان ترکیبات فلاونوئیدی در اندام‌های گیاهی مانند میوه افزوده می‌شود. زیرا ترکیبات فلاونوئیدی جاذب نور مانند فلاون‌ها و آنتوسیانین‌ها در پاسخ به اشعه یو- وی برای محافظت بافت‌های درونی از آسیب‌های ناشی از این اشعه، در سلول‌های اپیدرم تجمع پیدا می‌کنند (Jakola and Hohtola, 2010). در این تحقیق ارتفاع جغرافیایی در میزان متابولیت‌های ثانویه موثر بود که یکی از دلایل آن می-تواند افزایش تشعشعات مخصوصا UV-B در ارتفاعات باشد (Jakola and Hohtola, 2010). در مورد عوامل مؤثر بر تولید فلاونویدها بیان کرده‌اند که هر عاملی که در رشد و نمو گیاه موثر است می‌تواند در تولید متابولیت‌ها نیز موثر باشد. در مورد گونه‌های دارویی مرزه، گلپر، هواچوبه، کنگر و کاسنی نشان

داده شده است که یک رابطه مستقیم میان افزایش ارتفاع و میزان مواد موثره فنولی و فلاونویدی و از همه مهم‌تر ارتقای توان مهار رادیکال‌های آزاد و آنتی اکسیدانی عصاره آن گیاهان دارد (Mazandarani et al., 2011; Zarghami-Moghaddam et al., 2012).

بر اساس نتایج ، بالاترین مقدار فلاونویید در گیاهان منطقه مجن به ثبت رسید. علت این امر را می‌توان با درجه حرارت پایین‌تر منطقه مجن مرتبط دانست. بررسی‌ها نشان داده است که در مناطقی با درجه حرارت پایین‌تر تجمع فلاونوئیدها بیشتر است (Najarfirozabadi et al., 2014). علت دیگر این امر را می‌توان با شوری بیشتر خاک منطقه مجن (جدول ۱) مرتبط دانست. شوری در بسیاری از گیاهان باعث افزایش و گاهی تجمع مواد موثره گیاهی می‌شود. در این راستا گزارش شده است که گیاهان یا از شوری اجتناب می‌کنند و یا در مقابل آن بردباری می‌نمایند. در حالت مقاومت گیاه در برابر شوری گیاه، نمک را جذب کرده و آن را به اندام‌ها به ویژه برگ‌ها می‌فرستد. بنابراین به دلیل افزایش شوری، ترکیبات فلاونوئیدی و فنول‌ها افزایش می‌یابند (Sadatmand et al., 2006).

در آزمایش حاضر، عملکرد آنتی اکسیدانی در میوه سنجد با افزایش ارتفاع از ۱۰۰۰ به ۱۴۰۰ متر، افزایش معنی‌داری را نشان داد. اثرات آنتی‌اکسیدانی مواد گیاهی تا حدودی به حضور ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آن‌ها نسبت داده می‌شود که در تمام قسمت‌های مختلف گیاهی وجود دارند (Mathew and Abraham, 2006). عوامل بسیار زیادی از جمله آب، هوا، خاک، ارتفاع، اختلاف در گونه‌های مختلف، روش‌های استخراج و روش‌های اندازه‌گیری‌های آنتی اکسیدان‌ها در میزان متابولیت‌های ثانویه گیاهی از جمله فنول، فلاونویید کل و خواص آنتی اکسیدان دخالت دارند (Cao and Prior, 1998). هر یک از این عوامل می‌توانند تأثیر به سزایی بر کمیت و کیفیت محصول گیاهان داشته باشند (Habibi et al., 2006 ; Gairola et al., 2010).

با بررسی تاثیر ارتفاع‌های مختلف روی میزان فعالیت‌های آنتی اکسیدانی و مقدار فنول و فلاونویید کل در گیاه فاگوپیروم (*Fagupyrum tatsricum*) نشان دادند که مقدار فنول و فلاونویید با افزایش ارتفاع افزایش می‌یابد. نتایج بسیاری از گروه‌های پژوهشی نشان می‌دهد که ترکیبات فنولی، کمک قابل توجهی به ظرفیت آنتی اکسیدانی گونه گیاه مورد مطالعه می‌کند و همبستگی مثبتی را بین محتوای فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی گزارش نموده‌اند (Cai et al., 2004; Pourmorad et al., 2006; Tawaha et al., 2007 Javanmardi et al., 2003). ضمن بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان فنول‌های ۲۳ توده ریحان بومی ایران گزارش نمودند که یک رابطه خطی مثبت بین فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان فنول‌های کل توده‌های ریحان مورد مطالعه وجود دارد. اگرچه میزان متابولیت‌های ثانویه تحت کنترل ژن‌ها است ولی کمیت و کیفیت این مواد به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد (Omidbeighi, 2000).

رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌ها و رویشگاه‌های طبیعی مختلف، تحت تاثیر عوامل مختلفی قرار دارد که هر یک از آن‌ها می‌توانند تاثیر بسزایی بر کمیت و کیفیت محصول گیاهان داشته باشد. مکان رشد گیاه می‌تواند از طریق تغییرات دمایی و رطوبتی بر فرآیند تشکیل مواد موثره تاثیرگذار باشد. ارتفاع از سطح دریا از جمله فاکتورهای مهم می‌باشد. تغییرات دما در اثر تغییر ارتفاع از مهم‌ترین عوامل موثر در تغییرات مربوط به ارتفاع محل زندگی گیاه است، به‌طوری‌که با افزایش و یا کاهش ارتفاع عواملی چون دما، رطوبت نسبی، سرعت باد، میزان آب در

دسترس و حتی تابش دریافتی تغییر می‌کند. گیاهان دارویی وابسته به شرایط اقلیمی و اکولوژیک هر منطقه، میزان متفاوتی مواد موثره تولید می‌کنند، که این موضوع باید در تولید داروهای گیاهی مورد توجه قرار گیرد. گزارش‌هایی مبنی بر وجود ارتباط بین شرایط رویشگاه بر ترکیبات شیمیایی گیاهان بیان گردیده است و همبستگی بالایی بین منشا جغرافیایی گیاهان و ترکیبات موثره نشان داده شده است (Bertom et al., 2007). از این رو تاثیر رویشگاه بر میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان مختلف بررسی شده است که در اکثر موارد بر نقش رویشگاه به عنوان عامل تاثیر گذار در تجمع متابولیت‌های ثانویه تاکید شده است (Hemati et al., 2003).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد که میزان فنول، فلاونویید و آنتی اکسیدان موجود در میوه سنجد تحت تاثیر ارتفاع و منطقه رویش قرار گرفت. با افزایش ارتفاع از ١٠٠٠ به ١٤٠٠ متر، مقدار این مواد در میوه گیاه سنجد افزایش معنی‌داری یافت. بالاترین میزان این مواد در گیاهانی به ثبت رسید که در منطقه مجن رشد کرده بودند. از نظر میزان آنتی اکسیدان موجود در میوه بین گیاهان منطقه میامی و کلامو اختلاف معنی‌داری دیده نشد. صفات مذکور از اثر متقابل ارتفاع در منطقه نیز تاثیر پذیرفتند. بدین صورت که بیشترین میزان این مواد در ارتفاع ١٤٠٠ متری در منطقه مجن مشاهده شد. منطقه کلامو از نظر دارا بودن این مواد در سطح دوم قرار گرفت و منطقه میامی کمترین میزان این مواد را به خود اختصاص داد. 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. در نهایت می‌توان بیان کرد که مکانیسم تاثیرات محیط بر تجمع متابولیت‌های ثانویه به درستی روشن نیست. با این وجود این نکته روشن است که محیط از طریق تاثیری که در فرآیند تولید متابولیت و عوامل مرتبط به فرآیند تولید (مثل آنزیم‌ها) دارد، در نوع و شدت واکنش‌های شیمیایی موثر است.

References

1. Bertome, J., Arrillage, M. and Segura, J. 2007. Essential oil variation whitin and among natural population of *Lavandulalatifolia* and its relation to their ecological areas. Biochemical systematics and Ecology, 35:479-488.
2. Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. and Corke, H. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plant associated with anticancer'. Life Sciences, 74:2157–2184.
3. Cao, G. and Prior, R. L. 1998. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. Clinical Chemistry, 44:1309–1315.
4. Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food Drug Analaysis, 10: 178-182.
5. 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.
6. Gairola, S., Shariff, N., Bhate, A. and Prakash kola, C. 2010. Influence of climate change on production of secondary chemicals in high altitude medicinal plants. Journal of medicinal plant research, 1825- 1829.
7. Habibi, H., Manifestations, d., MajnoonHosseini, N., Chaichi, M. R. And Tabatabai, M. F. 2006. The effect of altitude on wild thyme essential oil and plant preparations. Taleghan Research and development in agriculture and horticulture, 73: 1-10.

8. Halliwell, B. 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease curiosity, cause, or consequence. Lancet, 344: 721-724.
9. Hemati, K.H., Omidbeigi, R. and Bashiri Sadr, Z. 2003. Effect of climate and harvest time on the qualitative and quantitative characteristics of flavonoids of citrus varieties. Ph.D thesis, Submitted to Modares University.
10. Jakola, L. and Hohtola, A. 2010. Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. Plant cell and environmental, 1239-1241
11. Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. and Vivanco, J.M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. Food Chemistry, 83(4): 547-550.
12. Laurel, F.R., Servio, R.P., Valerie, B.K., Gregory, M.J. and Ian, C.P. 1999. Direct and indirect effects of climate change on St. John's wort, *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae). Oecologia. 120: 113-122.
13. Mathew, S. and Abraham, T. E. 2006. *In vitro* antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. Food and Chemical Toxicology, 44: 198-206**.**
14. Mazandarani, M., Makari, S. and Bajian, G.R. 2011. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Heracleum gorganicum* Rech. F. in Golestan province, North of Iran. Iranian Journal plant physiology, 2(2): 381-388.
15. Najarfirouzabadi, M., Hemmati, kh.,Khorasanineghad, S. And Bagherifard, A. 2014. The effect of height on the morphological and biochemical characteristics of *Urtica* in Mazandaran and Golestan province. Journal of Plant Ecophysiology of Iran, 35 (9): 1-11.
16. Omidbeighi, R. 2000. Production and Processing of Drug Plants. Astan-e GhodsRazavi Press, 347 pp.
17. Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J. and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 5 (11): 1142-1145.
18. Ramezani, M., Hosseinzadeh, H. and Daneshmand, N. 2001. Antinociceptive effect of *Elaeagnus angustifolia* fruit seeds in mice. Fitoter, 72:255-62.
19. 19-Sabety, H. 1994. Forests, trees and shrubs of Iran, Yazd University press, Yazd, Iran, 810 pp.
20. Sadatmand, l., Ghorbanli, M. and Nikan M. 2006. Evaluation of some habitat effects of the compounds flavonoids, polyphenols and antioxidant activity of *Elaeagnus angustifolia*. The first national conference on new issues in agriculture.
21. Sun, F., Hayami, S., Ogiri, Y., Haruna, S., Tanaka, K., Yamada, Y., Tokumaru, S. and Kojo, S. 2001. Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Molecular Basis of Disease, 1535(2): 186-191.
22. Tawaha, K.H., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M. and Elimat, T.E. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chemistry, 104:1372–1378.
23. Wang, Ya., Guo, T., Yin, L.J., Shang-Zhen, Z. and Zhao, P. 2012. Four flavonoid glycosides from the pulps of *Eleagnusangustifolia* and their antioxidant activities, Advanced Materials Research, 756: 16-20.
24. 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.
25. Zarghami-Moghaddam, P., Mazandarani, M. and Zolfaghari, M.R. 2012. Antibacterial and antioxidant activities of root extract of *Onosma dichroanthum* Boiss. In North of Iran. African Journal of Microbiology Research, 6(8): 1776-1781.
26. Zaveri, N.T. 2006. Green tea and its polyphenoliccatechins: Medicinal uses

in cancer and noncancer applications. Life Sciences, 78(18): 2073-2080.

27. 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*. The American Journal of Chinese Medicine, 28: 239-249.