بررسی تاثیر دو روش آبیاری و دو نوع کود بر ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گل محمدی (*Rosa damascene* Mill.)

رضا دهقانی بیدگلی[1*]، زهرا عبداله‌پور[2]، مریم اخباری[3]

[1]استادیار گروه مرتع و آبخیزداری دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

[2]کارشناس‌ارشد مرتعداری دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

[3]استادیار پژوهشکده اسانس‌های طبیعی دانشگاه کاشان، کاشان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۱۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۲۳

چکیده

ترکیبات فنلی (فلاونوئید، تانن و آنتوسیانین) مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌آیند و عوامل متعددی مانند عوامل محیطی و تغذیه گیاه بر کمیت و کیفیت آنها تاثیر گذارمی باشند. یکی از گیاهان دارویی بومی ایران، گل محمدی با نام علمی *Rosa damascene* Mill. است که سابقه استفاده از تر کیبات آن به زمان‌های کهن بر می‌گردد و در مناطق مختلف کشور به صورت طبیعی و کشت شده وجود دارد. تحقیق حاضر به‌منظور بررسی کمی و کیفی ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گل محمدی تحت تاثیر دو نوع کود (کود دامی و کود شیمیایی) و همچنین دو روش‌های آبیاری (غرقابی و قطره‌ای) در پژوهشکده اسانس‌های طبیعی دانشگاه کاشان در سال ۱۳۹۵ انجام شده است. در این سنجش میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی کل به روش اسپکتروفتومتری صورت گرفت و در نهایت فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه در غلظت‌های مختلف با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و روش آنالیز واریانس انجام شد. نتایج آزمون فیتوشیمیایی وجود ترکیبات ثانویه‌ای مانند تانن، آنتوسیانین و فلاونوئید و عدم وجود آلکالوئید را در عصاره این گونه تایید کرد. همچنین میزان فلاونوئید کل موجود در نمونه‌ای که کود شیمیایی به کار برده شده بود کمی بیش‌تر از سایر نمونه‌ها بود. تیمار کود دامی و تیمار آبیاری غرقابی به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان ترکیبات فنلی و تیمار آبیاری قطره‌ای بیش‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داده‌اند. نتایج این تحقیق نشان داد با استفاده از روشهای مدیریتی از جمله آبیاری و تغذیه می توان تولید، کمیت و کیفیت ترکیبات ثانویه در گیاهان را کنترل نمود.

واژه‌های کلیدی: آبیاری قطره‌ای، عصاره، فنول کل، کود دامی، گل محمدی

*نویسنده مسئول: dehghanir@kashanu.ac.ir

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی به‌منظور استخراج عصاره، تولید دارو و نیز جایگزین کردن آنها به جای داروهای شیمیایی برای حفظ سلامتی انسان‌ها از مهم‌ترین نیازهای تمدن امروزی می‌باشد (Ramesh and Okigbo, 2008). ترکیبات فنلی گروه بزرگی از مواد طبیعی شامل فلاونوئیدها، تانن‌ها و آنتوسیانین‌ها می‌باشند که معمولاً در اغلب سبزیجات، میوه‌ها و گیاهان دارویی یافت می‌شوند و به‌دلیل خواص زیاد آنتی‌اکسیدانی و دارویی از مصارف غذایی و دارویی گسترده در صنایع غذایی، داروسازی و پزشکی برخوردارند (Raghavendra et al., 2010). در سال‌های اخیر ثابت شده است که رادیکال‌های آزاد مهم‌ترین عوامل اکسید کننده مواد غذایی هستند که با یک روند تخریبی باعث از بین رفتن ارزش غذایی و تغییر در ترکیبات شیمیایی آنها می گردند. (Henry and Heppell, 2002; Robards et al., 1988) فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنلی انتشار وسیعی در گیاهان دارند و فعالیت بیولوژیک متنوع این ترکیبات از جمله آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌میکروبی، ضدالتهاب آنها در بسیاری از بررسی‌های گزارش شده است. ترکیبات فنلی با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی می‌توانند نقش مهمی در نگهداری محصولات غذایی و حفظ سلامتی انسان ایفا نمایند. گل محمدی نیز در این گروه قرار دارد و دارای انواع زیادی از ترکیبات فلاوونوئیدی و آنتوسیانین‌ها می‌باشد. این ترکیبات خود دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند (Jamshidi et al., 2010).

یکی از گیاهان دارویی بومی ایران، گل محمدی با نام علمی *Rosa damascene* Mill. است که از قدیمی‌ترین گیاهان تیره گل سرخیان (Rosacea) بوده و در شرایط مختلف آب و هوایی کشور می‌روید اما از آنجا که اولین بار از دمشق به اروپا برده شده رز دمشقی نام گرفته است (Gult and Synge, 1971) این گل یکی از گیاهان مهم اقتصادی در کشور بوده به‌طوری که هر ساله گلاب تولید شده و اسانس حاصل از آن علاوه بر مصرف داخلی به خارج از کشور نیز صادر می گردد (Damadzadeh, 2003).

جنس رز (*Rosa*) شامل ۱۰۰ گونه در دنیا و ۱۲ گونه در ایران می باشد که به صورت درختچه و بوته‌های نیمه سبز هستند. کشت و کار این گونه گیاهی و توجه علاقه‌مندان به آن به هزارها سال پیش بر می‌گردد. مبدا گونه‌های رز هر کدام به محلی یا کشوری مربوط می‌گردد، برای مثال *Rosa gallica officinalis* مبدا آن جنوب اروپا، *Rosa damascena* (گل گلاب) مبدا ایرانی و *Rosa rugosa leavigata* مبدا شرقی دارند (Karimi, 2005). خواص دارویی و اثرات درمانی این گیاه در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است و طی پژوهش‌هایی بر وجود خواص ضدباکتریایی، میکروبی و آنتی‌اکسیدانی در روغن فرار آن تاکید شده است (Ozkan et al., 2004) ابومنصور در قرن دهم میلادی ضمن تعریف خواص دارویی گل محمدی خاطرنشان کرده که بهترین گل‌ها گل سرخ ایرانی است (Weiss, 1997). زادگاه و رویشگاه آغازین گل محمدی سرزمین کهن ایران و خاورمیانه می‌باشد. گلهای این گیاه شامل تانن، روغن چرب و اسیدهای چرب، ماده رنگی و گالیک اسید است. بوی مطبوع گل محمدی به علت ترکیب شیمیایی ژرانیول است. ترکیب شیمیایی موجود در سلول‌های اپیدرم گلبرگ باعث به‌وجود آمدن خواص مختلف این گل شده است. این ترکیبات از دو قسمت تشکیل شده اند قسمت جامد با نام استئاروپتن که جسمی کریستالی، بدون بو با نقطه ذوب ۳۳ درجه سانتی‌گراد است. قسمت مایع که دارای بویی معطر و قوی، مزه‌ای کمی شیرین می‌باشد و اولئوپتن نامیده می‌شود (Emad et al., 2011; Rezaie et al., 2002; Jaimand et al.,

2010). اگر چه اسانس گل سرخ، مخلوط پیچیده‌ای از بیش از ۱۰ ترکیب مختلف می‌باشد اما ماده اصلی اسانس حاوی الکل بوده که مهم‌ترین الکل‌های ترپنی آن عبارتند از: ژرانیول، رودینول، نرول، لینالول، اوژنون و مقدار قابل ملاحظه‌ای استرژرانیل استات می‌باشد (Emad et al., 2011; Ayci et al., 2005). با توجه به بومی بودن گل محمدی در ایران، دسترسی آسان و ارزان و مصرف غذایی و دارویی این گیاه از زمان‌های دور در کشور، این مطالعه می‌تواند مقدمه‌ای جهت استفاده عملی از عصاره‌های این گیاه به‌عنوان منبع ترکیبات فنلیو آنتی‌اکسیدان جهت استفاده در صنایع غذایی و دارویی باشد

مواد و روش‌ها

این تحقیق با هدف بررسی تاثیر دو نوع کود (شیمیایی و دامی) و دو سیستم آبیاری (غرقابی و قطره‌ای) بر ترکیبات فنولی و خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی گل محمدی در ٤ کرت آزمایشی واقه در پژوهشکده اسانس دانشگاه کاشان در شهر قمصر کاشان در سال ۱۳۹۵ انجام گرفت.

روش نمونه برداری: نهال‌های گل محمدی دراسفند ماه سال ۱۳۹۳ به کرت‌های مورد نظر انتقال یافتند و به‌مدت یکسال تحت تیمارهای مورد نظر قرار داشتند. در کرت اول و دوم بوته‌های گل محمدی به‌صورت ردیف‌های منظم قرار داشتند و به ترتیب به مدت یکسال کود دامی و کود شیمایی (ترکیب کود فسفاته و اوره) همراه با آب مورد نیاز در پای هر بوته قرار داده شد. در کرت سوم و چهارم بوته‌های گل محمدی به‌صورت ردیف‌های منظم قرار داشتند و به‌ترتیب به‌مدت یکسال با سیستم غرقابی و قطره ای آبیاری شدند. نمونه‌برداری از گل‌های بوته‌های کرت‌های آزمایشی در اردیبهشت سال ۱۳۹۵ همزمان با فصل گلدهی از گل‌های ۱۰ بوته به‌صورت تصادفی انجام گردید.

عملیات آزمایشگاهی: گل‌های برداشت شده به آزمایشگاه منتقل گردید و پس از جدا کردن گلبرگ‌ها عصاره گیری از آنها شروع شد، روش عصاره‌گیری از نوع ماسراسیون بود. در این روش گلبرگ‌ها بعد از برداشت از سایر اجزای گل جدا شدند و در سه تکرار به میزان ۱۰۰ گرم از هر نمونه وزن شد و در ارلن ریخته شد و مقدار ۷۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به گلبرگ‌ها اضافه شد. بعد از مدت٤٨ ساعت عصاره از کاغذ صافی عبور داده شد در نهایت عصاره‌های اتانولی به رنگ زرد متمایل به قهوه‌ای با حجمی از اتانول به‌دست آمدند. سپس در بالن مخصوص دستگاه روتاری ریخته شد تا تغلیظ شوند. بعد از تغلیظ، نمونه‌ها در پتری دیش ریخته شده و در آون فن‌دار به مدت ٢٤ ساعت قرار گرفتند و بعد از آن به مدت ٤٨ ساعت در آون خلا با دمای ۵۰ درجه قرار داده شدند. بعد از خشک شدن عصاره‌ها توسط اسپاتول تراشیده شد و در ظرف درب‌دار و غیرقابل نفوذ ریخته شدند و به‌منظور جلوگیری از تجزیه و یا از بین رفتن مواد موثره در عصاره‌ها تا مراحل آزمایش در یخچال نگهداری شدند.

تشخیص آلکالوئید: به‌منظور شناسایی آلکالوئیدهای موجود در عصاره از آزمون واگنر- مایر استفاده شد. در این روش ابتدا ۰/۵ گرم عصاره خشک در یک بشر ریخته شد و ۱۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال به آن اضافه شد، مخلوط به مدت پنج دقیقه درون بن ماری با دمای ٤٥ درجه قرار داده و با یک همزن مخلوط هم زده شد سپس محلول از کاغذ صافی عبور داده شد و محلول به دو لوله‌ی آزمایش منتقل شد. به لوله آزمایش اول چند قطره معرف مایر اضافه شد تشکیل رسوب سفید به این معناست که عصاره دارای آلکالوئید است. به لوله آزمایش دوم

چند قطره معرف واگنر اضافه شد رسوب قرمز نشان‌دهنده وجود آلکالوئید است (Brain and Turner, 1975; Chhabra et al., 1984).

تشخیص تانن: به‌منظور شناسایی آلکالوئیدهای موجود در عصاره از ۲ آزمون استفاده شد. ۱- **آزمون** رنگی با محلول کلرید آهن استفاده شد به این صورت که ۱۰ میلی‌لیتر اتانول بر روی ۰/۲ گرم پودر گیاه ریخته و خوب تکان داده شد سپس محلول مورد نظر از صافی رد شد و به محلول صاف شده پنج قطره محلول کلریدآهن اضافه شد، تغییر رنگ محلول به آبی یا سبز نشان‌دهنده وجود تانن است. ۲- آزمون ژلاتین: ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر به جوش آورده شد و ۰/۵ گرم عصاره در آن حل شد محلول در محیط قرار گرفته شد تا به دمای آزمایشگاه برسد سپس پنج قطره محلول سدیم کلرید ۱۰ درصد به محلول اضافه شد تا ترکیبات غیر تانني رسوب کند، در مرحله‌ی بعد محلول صاف شد و در سه لوله آزمایش ریخته شد، به لوله آزمایش اول پنج قطره ژلاتین ۱ درصد و به لوله آزمایش دوم یک قطره کلریدآهن ۱ درصد اضافه شد و لوله آزمایش سوم به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. ایجاد رسوب در محلول ژلاتین و تولید رنگ سبز یا آبی در محلول کلرید آهن نشان‌دهنده وجود تانن در عصاره است. Brain and Turner, 1975; Chhabra et al., 1984).

تشخیص سیانیدین (به‌منظور تعیین آنتوسیانین و فلاونوئید): آزمون منیزیم: یک گرم عصاره گیاه سه بار با پترولیوم اتر شسته شد تا چربی و رنگ آن از بین برود. به عصاره بدون چربی دو میلی‌لیتر مخلوط آب و اتانول (۱:۱) اضافه شد سپس دو میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک غلیظ به محلول اضافه شد، ظهور رنگ قرمز نشانه‌ای بر وجود آنتوسیانین در نمونه گیاهی است. در مرحله بعد یک سر اسپاتول پودر منیزیم به محلول و بعد سه میلی‌لیتر الکل آمیلیک اضافه شد. محلول دو فازی تشکیل خواهد شد، ایجاد رنگ قرمز در فاز بالایی نشان دهنده‌ی این است که نمونه گیاهی دارای فلاونوئید است و تشکیل رنگ قرمز در فاز زیرین نشان می‌دهد که نمونه گیاهی حاوی آنتوسیانین است، ظهور رنگ قرمز در هر دو فاز این را بیان می‌کند که نمونه گیاهی هم دارای آنتوسیانین و هم دارای فلاونوئید است.

تشخیص میزان فلاونوئید کل: محتوی تام فلاونوئیدی با استفاده از معرف کلرید آلومینیم اندازه گیری شد. به این صورت که به نیم میلی‌لیتر از هر عصاره ۱/۵ میلی‌لیترمتانول، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول آلومینیم کلراید ۱۰ درصد در اتانول، ۱/ ۰میلی‌لیتر از استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیترآب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط نیم ساعت بعد از نگهداری در دمای اتاق، در طول موج ٤١٥ نانومتر در مقابل بلانک قرائت شد. کوئرستین (ساخت مرک) به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد . میزان فلاونوئید بر اساس میزان معادل " میلی گرم کوئرستین درگرم عصاره" گزارش گردید آزمایشات ۳ بار تکرار و میانگین آنها گزارش شد (Chang et al., 2002; Pop et al., 2007).

ارزیابی میزان فنل کل: محتوی تام فنل کل با استفاده از معرف فولین -سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. در این روش به نیم میلی‌لیتر از هر عصاره ۲/۵ میلی‌لیتر واکنشگر فولین سیوکالتیو اضافه شده، پس از ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر از محلول ۷۵ گرم بر لیتر کربنات سدیم به آن اضافه شد. جذب مخلوط ۲ ساعت بعد در طول موج ٧٦٠ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر در مقابل بلانک قرائت شد اسید گالیک به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون به کار رفت. میزان تام فنولیک بر اساس میزان معادل میلی گرم اسید گالیک درگرم عصارهگزارش گردید. آزمایشات ۳ بار تکرار و میانگین آنها گزارش شد (Ordonez et al., 2006).

ارزیابی عملکرد آنتی اکسیدانی: بررسی خاصیت توانایی دادن اتم هیدروژن یا DPPH آنتی رادیکالی به روش الکترون در ترکیبات و عصاره‌های مختلف در این تست با میزان بی رنگ کردن محلول بنفش ۲ و ۲- دی فنیل-۱- پیکریل ئهیدرازیل یا (DPPH) در متانول مورد سنجش قرار می‌گیرد. در این روش به‌عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده عنوان معرف DPPH (Sigma ,Aldrich) سیگما – الدریچ استفاده شد. بدین ترتیب که ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس و عصارهای آبی، اتانولی، متانولی در متانول به ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۰٤ درصد DPPH در متانول اضافه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانو متر با DPPH علیه بلانک قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Burits and Bucar, 2000).

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

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری کنترل منفی که تمامی مواد به استثنای عصاره‌ها را دارد، نشان می‌دهد. A_{sampl} بیانگر جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره‌ها گیاه می‌باشد. پس از آن غلظتی از عصاره‌های گیاه که دارای درصد مهار رادیکالی ۵۰ درصد بود یا (IC_{50}) توسط نمودار محاسبه گردید. بدیهی است که هر چه این عدد کوچکتر باشد قدرت آنتی‌اکسیدانی یا مهار رادیکال‌های آزاد، بیشتر می باشد. در این تست به عنوان کنترل مثبت از BHT استفاده گردید و کلیه آنتی‌اکسیدان سنتزی آزمایشات سه بارتکرار شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات به‌دست آمده به‌صورت (Mean ±SD) میانگین ± انحراف معیار بیان شده و به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱٦ و روش آزمون آنالیز واریانس استفاده شد و سطح معنی‌داری آزمون‌ها ۵ در صد در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج آزمون‌های فیتوشیمیایی: ترکیبات طبیعی یا متابولیت‌های ثانویه که غربالگری آن‌ها در عصاره گیاه صورت گرفته است شامل سه دسته از ترکیبات طبیعی معروف تانن،سیانیدین، آلکالوئید می‌باشند که در جدول ۱، ذکر شده است. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می شود عصاره نمونه‌های مختلف نسبت‌های متفاوتی از فاکتورهای مورد بررسی داشتند. آزمون‌های انجام شده آزمون‌های کیفی به شمار می‌روند که نشان‌دهنده وجود یا عدم وجود و میزان نسبی ترکیبات مهم فعال در عصاره گیاه هستند. علامت‌های مثبت نشان‌دهنده وجود آن ترکیب و علامت‌های منفی نشان‌دهنده عدم وجود آن ترکیب در عصاره می‌باشد. در این تحقیق آزمایش‌های فیتوشیمی وجود (+) سیانیدین، تانن و فلاونوئید را در عصاره، و وجود (-) آلکالوئید را در نمونه عصاره تایید نمود. همان‌طور که اشاره شد آزمون استفاده شده برای تشخیص سیانیدین به آزمون شینودا معروف است، این آزمون حضور آنتوسیانین را با رنگ قرمز اثبات می‌کند. در این تحقیق نمونه آبیاری غرقابی رنگی روشن‌تر نسبت به سه نمونه کود دامی، کود شیمیایی و آبیاری قطره‌ای داشت برای ردیابی تانن‌ها از دو معرف کلریدآهن و ژلاتین استفاده شد. در روش کلریدآهن در هر چهار نمونه با ایجاد رنگ سبز لجنی، به آزمون جواب مثبت نشان دادند. در روش ژلاتین رسوب خاصی مشاهده نشد و بسیار ناچیز بود.

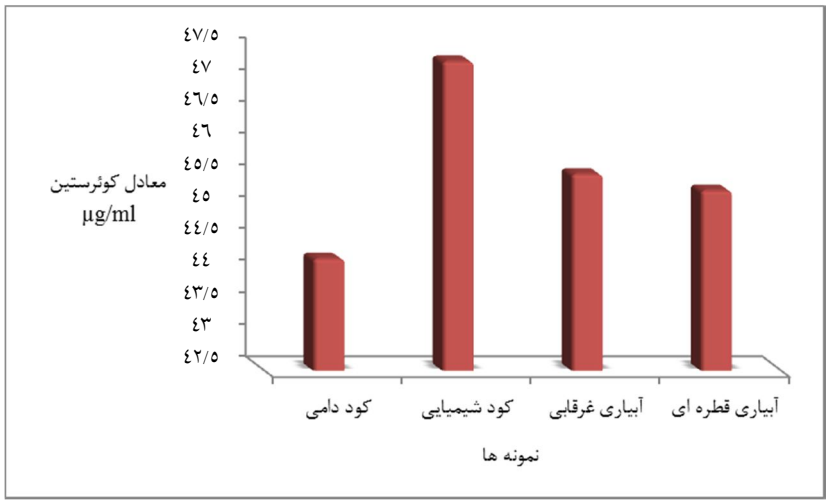
ردیابی آلکالوئیدها در نمونه‌ها با کمک دو معرف واگنر و مایر صورت گرفته است. در آزمون واگنر هیچ یک از چهار نمونه به رنگ قرمز درنیامدند و به آزمون جواب منفی دادند. همچنین در آزمون مایر رسوب سفید رنگی حاصل نشد که این نشان‌دهنده عدم حضور آلکالوئید است.

جدول ۱: آزمون‌های فیتوشیمیایی تمیارهای مختلف عصاره گل محمدی

نمونه‌ها	آزمون تانن		آزمون سیانیدین	آزمون آلکالوئید	آزمون فلاونوئید
	کلریدآهن	ژلاتین			
کود دامی	+++	+	+++	−	+
آبیاری غرقابی	+++	+	++	−	+++
آبیاری قطره‌ای	+++	+	+++	−	++
کود شیمیایی	+++	+	+++	−	+++

نتیجه میزان فلاونوئید کل

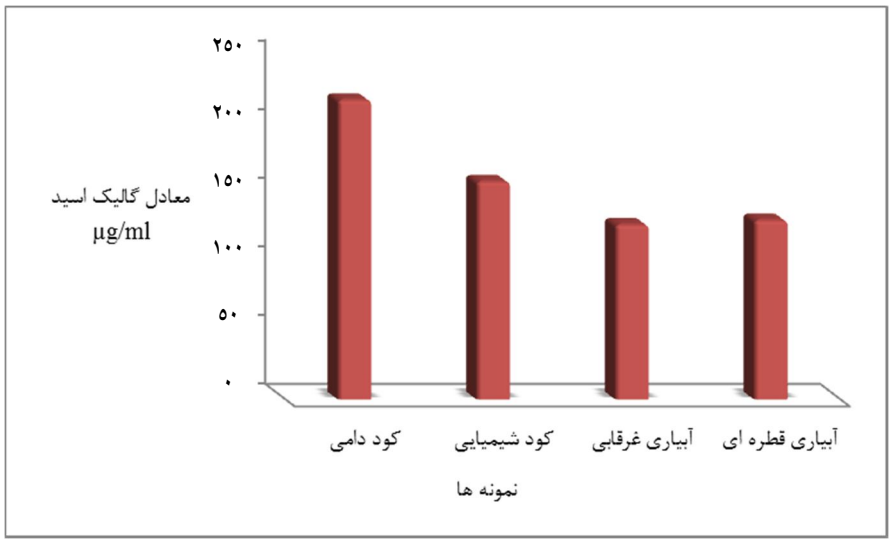
سنجش این آزمون با توجه به نمودار خطی جذب بر حسب غلظت برای استاندار کوئرستین در طول موج ٤١٥ نانومتر انجام شد. کوئرستین یک فلاونوئید طبیعی اسست که به منظور مهار نیتریک اسید استفاده می‌گردد که اثر سرطان‌زایی آن هم گزارش شده است (Dunnik and Hailey, 1992). نتایج حاصل از بررسی ترکیبات فلاونوئیدی در تیمارهای مختلف نشان داد که مقدار فلاونوئید در نمونه کود دامی کم‌تر از نمونه‌ای است که با کود شیمیایی تغذیه شده است. همچنین در بین در روش آبیاری مقدار فلاونوئید در تیمار غرقابی بیش‌تر از تیمار قطره‌ای بوده است البته در این دو تیمار مقدار فلاونوئید آن‌ها تفاوت چندانی با یکدیگر نداشتند. در بین عصاره‌ها نمونه کود دامی کم‌ترین مقدار فلاونوئید و نمونه کود شیمیایی بیشترین مقدار فلاونوئید را به خود اختصاص داد (شکل ۲).



شکل ۱: مقایسه میزان فلاونوئید کل برحسب معادل کوئرستین در تیمارهای مختلف عصاره گل محمدی

نتیجه بررسی میزان کل ترکیبات فنلی: همان طور که اشاره شد برای به‌دست آوردن مقدار ترکیبات فنلی موجود در عصاره‌ها از آزمون فولین سیکالتو استفاده شد که تعیین کننده میزان کل ترکیبات فنلی گیاه است. جذب محلول شامل عصاره با غلظت یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر در حضور معرف فولین، در طول موج مذکور پس از دو ساعت خوانده و میزان کل ترکیبات فنلی بر حسب میکروگرم گالیک اسید معادل با یک میلی‌گرم عصاره با توجه به نمودار استاندارد محاسبه شد. میزان ترکیبات فنلی خود معیاری از آنتی‌اکسیدانی بودن عصاره‌ها نیز می باشد و هر چه این ترکیبات در عصاره‌ها بیش‌تر باشند، عصاره خاصیت آنتی‌اکسیدانی

بیش‌تری دارند. با توجه به نمودار مقدار ترکیبات فنلی در نمونه‌ای که آبیاری آن به صورت قطره‌ای بوده از نمونه‌ای که آبیاری آن غرقابی بود بیش‌تر است، همچنین مقدار این ترکیبات در تیمار کود دامی بیش‌تر از کود شیمیایی است. نتایج حاصل از بررسی ترکیبات فنلی معادل گالیک اسید موجود در عصاره‌ها نشان داد، مقدار ترکیبات فنلی در نمونه کود دامی بیش‌ترین و درنمونه آبیاری غرقابی کم‌ترین است. نتایج مربوط به این آزمون در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲: مقایسه میزان فنل کل در عصاره تیمارهای مختلف گل محمدی

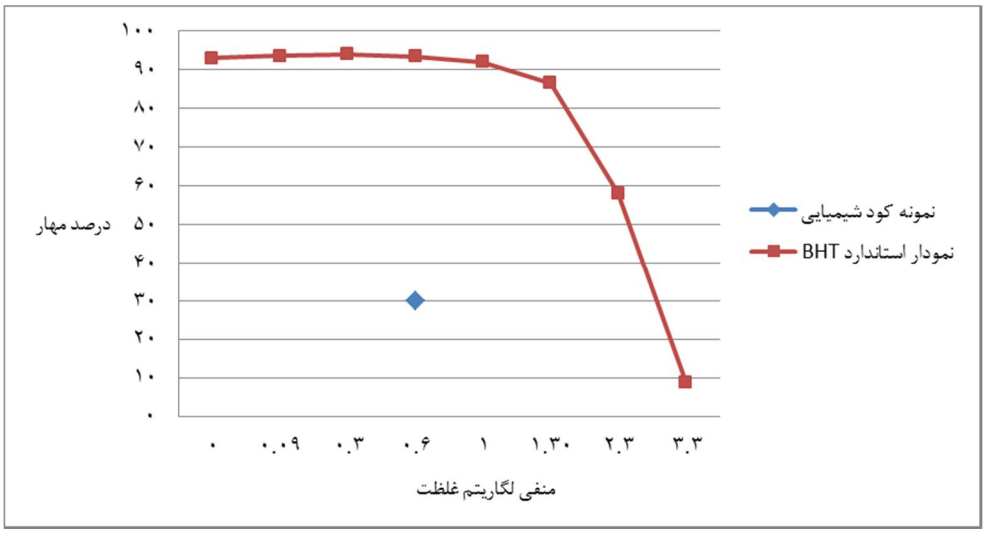
همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود در نمونه‌ای که به‌صورت قطره‌ای آبیاری شده است، درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بیش‌تر است، در نتیجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نیز دارد و به همین ترتیب تیمارهای تحت کود شیمیایی قدرت مهار کم‌تری در رادیکال‌های DPPH از خود نشان داده اند. همچنین نمودار استاندارد BHT میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها و درصد مهار بر حسب منفی لگاریتم غلظت برای تیمارهای مختلف در شکل ۵ تا ۸ قابل مشاهده می‌باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود هرچه نمودار به عدد صد در نمودار نزدیک‌تر باشد درصد مهار رادیکال‌های آزاد در آن بیش‌تر و در نتیجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن بیش‌تر است.

جدول ۲: عملکرد آنتی‌اکسیدانی تیمارهای مختلف عصاره گل محمدی

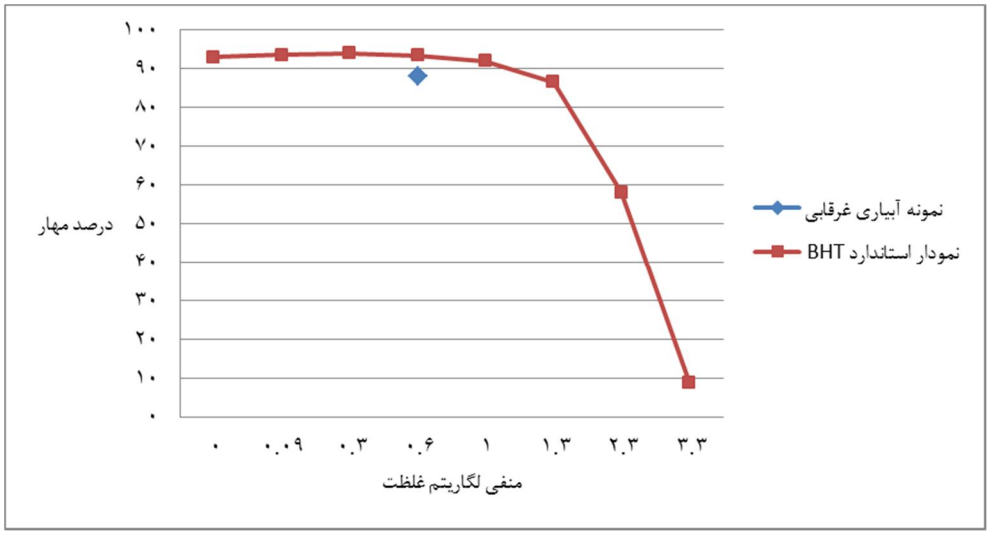
تیمارها	کود دامی	کود شیمیایی	آبیاری غرقابی	آبیاری قطره‌ای
درصد مهار رادیکال آزاد	۹۱/٦۳ ±۰/٤	۲۹/۸۷٦ ±۰/۵	۸۷/۹۵ ±۰/۳	۹۷/۰٦ ± ۰/٦

با توجه به شکل‌های ۵ و ٦ درصد مهار رادیکال آزاد نمونه کود دامی ۹۱/٦۳ شده است که نشان از خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالای آن است اما در نمونه‌ای که با کود شیمیایی تغذیه می‌شده است درصد مهار آن ۲۹/۸۷ درصد شده است که نشان دهنده توانایی کم این نمونه در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH است.

شکل ۵: درصد مهار تیمار کود دامی روی نمودار استاندار BHT

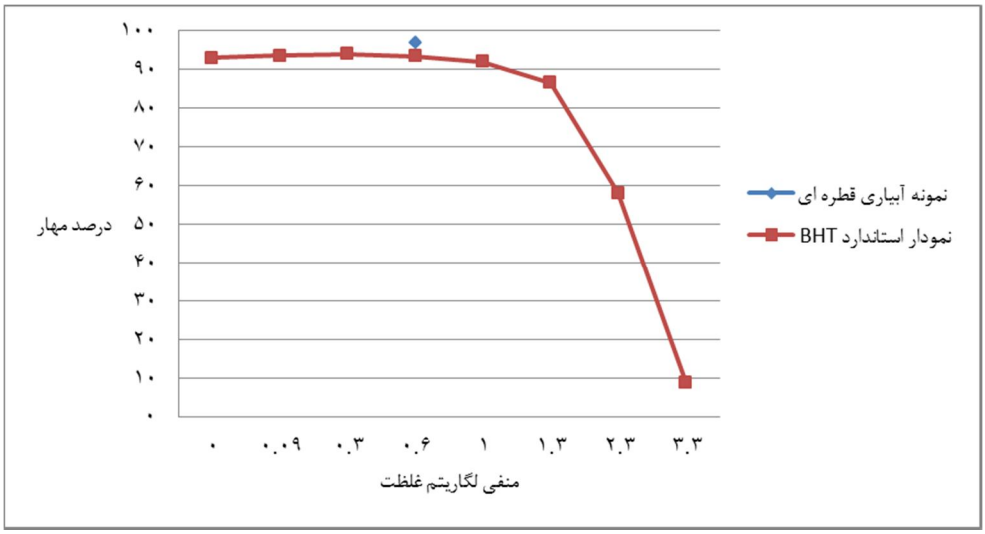


شکل ٦: درصد مهار تیمار کود شیمایی روی نمودار استاندار BHT



شکل ۷: درصد مهار تیمار آبیاری غرقابی روی نمودار استاندار BHT

همان طور که نتایج مندرج در شکل‌های ۷ و۸ نشان می‌دهد نمونه‌ها در آبیاری قطره‌ای و غرقابی به‌ترتیب با میزان مهار ۹۷/۰۶ و ۸۷/۹۵ از بیشترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی در مهار مهار رادیکال‌های آزاد DPPH برخوردار بودند که نشان‌دهنده رابطه معنی‌دار میان کمیت مواد موثره عصاره با عملکرد آنتی‌اکسیدانی آنها می‌باشد.



شکل ۸: درصد مهار تیمار آبیاری قطره‌ای روی نمودار استاندار BHT

بحث

تاکنون در مورد عملکرد عصاره این گونه تحت تیمارهای اعمال شده در این تحقیق، گزارشی مشاهده نشده است بر اساس نتایج این تحقیق بین میزان ترکیبات فنولی و درصد مهار رادیکال‌های آزاد در آزمون تشخیص خاصیت آنتی‌اکسیدان رابطه‌ی معنی دار وجود دارد، به همین دلیل در هر دو آزمون مشاهده می‌شود که نمونه‌های تحت تیمار کود دامی، از درصد نسبتاً بالای ترکیبات فنولی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی قابل قبول برخوردار می‌باشند که این امر می‌تواند به دلیل جذب موادی باشد که در تولید ترکیبات فنولی و بروز خاصیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه نقش دارند، این نتیجه با نتایج تحقیق (Daneshkhah et al., 2007) که در تحقیق خود سطوح مختلف نیتروژن و پتاسیم را بر عملکرد گل و اسانس گل محمدی بررسی کردند و دریافتند که بیش‌ترین میزان گل‌دهی و وزن تر گل با آمیخته‌ی کودی به میزان ۶۰ کیلوگرم در هکتار به نسبت مساوی برای نیتروژن و پتاسیم و بیش‌ترین عملکرد اسانس و خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس با مصرف ۳۰ کیلوگرم در هکتار برای هر کدام از آنها به‌دست آمد تا حد زیادی مطابقت دارد. همچنین آنوار و همکاران (۲۰۰۵)، مکی زاده تفتی و همکاران (۲۰۱۰) نیز در تحقیقات خود نشان داده‌اند که استفاده از کود شیمیایی در گیاه ریحان باعث افزایش میزان و بهبود کیفیت اسانس این گیاه شده است. این نتایج نشان می‌دهند که تاثیر پذیری ترکیبات گیاهان تحت تاثیر فاکتورهای تغذیه‌ای و مدیریتی بسیار زیاد است.

جایمند و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیقات خود به‌منظور بررسی یکی از ترکیبات ترکیبات فنولی (تانن) در گلاب، پساب و تفاله‌ی گل محمدی در ژنوتیپ‌های مختلف نشان دادند که میزان تانن در

تفاله گل محمدی قابل توجه بوده است، همچنین بخش دیگری از نتایج پژوهش آنها وجود آنتوسیانین و تانن در گل محمدی را تائید کرده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

وجود ترکیبات فنولی در گل محمدی بر اساس تحقیق حاضر نشان می دهد که گل محمدی منبعی از ترکیبات فنولی بوده که این نتیجه با نتایج تحقیقات اسچیبر و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت دارد. تاثیر کودهای مختلف بر فلاونوئیدهای موجود در گل محمدی نیز توسط مازا و ویلیوگلو (۱۹۹۱) انجام شده است که در آن بیش از ۲۵ پیک ردیابی و شناسایی شده اند و وجود فلاونوئیدهایی مانند کامفرول و کوئرستین نیز تائید شده است. از آنجایی که به جز نمونه کود شیمیایی درصد مهار سه نمونه دیگر با نمودار استاندارد BHT بسیار نزدیک بوده نشان از عملکرد آنتی‌اکسیدانی بالای نمونه‌هاست که این نتیجه با نتایج بورریدللی و همکاران (۲۰۱۲)؛ بیدرام (۲۰۱۲) مطابقت دارد و تائیدی بر عملکرد آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه عصاره گلبرگ این گیاه است.

همان‌طور که در نتایج عنوان شده است در نمونه‌هایی که آبیاری آنها متفاوت بود تفاوت چندانی از نظر فاکتورهای مورد بررسی مشاهده نشد به همین دلیل بهتر است از آبیاری قطره‌ای استفاده شود تا صرفه‌جویی در مصرف آب صورت گیرد.

نتیجه‌گیری نهایی

در این تحقیق نتایج آزمون فیتوشیمیایی وجود ترکیبات ثانویه‌ای مانند تانن، آنتوسیانین و فلاونوئید و عدم وجود آلکالوئید را تایید کرد. در آزمون میزان فلاونوئید کل اگرچه میزان ترکیبات فلاونوئیدی موجود در نمونه‌های عصاره نزدیک به یکدیگر بودند اما در نمونه‌ای که کود شیمیایی به کار برده شده بود این مقدار، کمی بیش‌تر بود. میزان ترکیبات فنلی و درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH هم نشان از خاصیت آنتی‌اکسیدانی نسبتا بالای این گونه است. نمونه کود دامی و نمونه غرقابی به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان ترکیبات فنلی و نمونه قطره‌ای بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داده‌اند. سازگاری گل محمدی به شرایط آب و هوایی کشورمان، وجود فرهنگ دیرینه، تولید و مصرف، رونق و تقاضای بازارهای جهانی محصولات ایران و به تبع آن اشتغال‌زایی و ارزآوری از جمله مسائلی است که توجه خاص به این گیاه را می‌طلبد.

References

1. Anwar, M., Petra, D.D., Chand, S., Alpesh, K., Naqvi, A.A. and Khanuja S.P.S. 2005. Effect of organic manures and inorganic fertilizer on growth herb and oil yield, nutrient accumulation and quality of French basil. Communication soil science and plant analysis, 36(13-14): 1737-1746.
2. Ayci, F., Aydinili, M., Bozdemir, A. and Tatus, M. 2005. Gas chromatograchic investigation of Rose concrete, absolute and solid residue, Flavour and fragrance, 20(5): 481-486.
3. Bidram, F. 2013. Identify essential components and antioxidant, antimicrobial and anticancer effects of two plants *Rosa damascene* and Salvia limbata. M.Sc Thesis, of Natural essential oil research institute University of Kashan.130 p.
4. Borrelli, A. 2012. The influence of the water regimes and nitrogen fertilizing on the production of Roses under glass. Rivista Della Orto florofuettioli, 65:109-117.
5. Brain, KR. And Turner, T.D. 1975. The practical evaluation of phytopharmaceuticals. Bristol: Wright-Scientechnica, 10-30.
6. Burits, M. and Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotheraphy research, 14: 323-328.

7. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C. 2002. Estmation of total flavonoid content in proplis by two complementary colorimetric methods. Food drug. 10: 178-182.
8. Chhabra, S.C., Uiso, F.C., Mshiu, E.N. 1984. Phytochemical screening of Tanzanian medicinal plants. Ethno pharmacology, 11: 157-179.
9. Damadzadeh, M. 2003. Integrated management *Rosa damascene* Mill. In connection with the essential oil and rose water in Kashan. The final report of the research project, Agriculture and Natural Resources Research Center of Isfahan, 250 p.
10. Danshkhvah, M., Kafi, M., Nikbakht, A. and Mirjalili, M.H. 2007. Effect of nitrogen and potassium on performance indices and *Rosa damascene* Mill. linseed flowers Kashan. Horticultural Science and Technology, 8(2): 90-83.
11. Dunnik, J.K. and Hailey, J. 1992. Toxicity and carcinogenicity studies of quercetin, a natural component of foods. Journal of Toxicology Science, 19(3): 423-431.
12. Emad, M., Gheybi, F., Rasooli, M., Khanjan Zadeh, R. and Mohammadi Gozani, S. 2012. Industrial Herbalist *Rosa damascene* Mill. Tehran: Pune Publication, 310 p.
13. Gault, M., Synge, P.M. 1971. The dictionary of roses in colour. Rainbird references Books, London, David Publication, London, 250 p.
14. Henry, C. and Heppell, N. 2002. Nutritional losses and gains during processing: future problems and issues. Procceding of Natural Sciences, 61: 145-8.
15. Jaimand, K., Rezaei, M.B., Asareh, MH., Tabaei Aghdaie, R. and Moshky zadeh, S., 2010. Evaluation of the flavonoid species of *Rosa damascene* Mill. Medicinal and Aromatic Plants Research, 25 (2): 85-92.
16. Jaimand, K., Rezaei, M.B., Tabaei Aghdaie, R., Naderi Hajibagheri Kennedy, M. and Moshky zadeh, S. 2011. Determination of tannin content in Rose water, wastewater and trash of rose (*Rosa damascene* Mill). Medicinal and aromatic plants research, 27 (2): 35-47.
17. Jamshidi, M., Ahmadi, HR., Rezazadeh, Sh., Fathi, F. and Mazanderani, M. 2010. Study on phenolicd and anioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. Medicinal plant, 9(34): 177-183.
18. Karimi, H. 2005. Culture of Iranian plants. Volume II. Parcham Publication, 450p.
19. Makki zadeh Tafti, M., Chaiechi, M.R., Nasrollahzadeh, S. and Khavazi, K. 2011. Evaluate the effect of nitrogen fertilizers on growth and yield of biological and chemical dill (*Anethum graveolens* L.). Journal of Knowledge of sustainable agricultural production agricultural knowledge, 21 (4): 62-51.
20. Ordoñez, A., Gomez, J.D., Vattuone, M.A. and Lsla, M.I. 2006. Antioxidant activities of sechium edule (Jacq) Swartz extracts. Food chemistry, 97: 452-458.
21. Ozkan, G., Sagdic, O., Baydar, N.G. and Baydar, H. 2004. Antioxidant and anti-bacterial acitvities of *Rosa damascene* flower extracts. Food science and technology, 10: 277 – 281.
22. Pop, G., Pirsan, P., Mateoc-sirb, N. and Mateoc, T. 2007. Influence of technological elements on yield quantity and quality in marigold (*Calendula officinalis* L.) cultivated in cultural conditions of Timisoara. 1st international scientific on Medicinal, Aromatic and spice plants, December 5–6, 20-23.
23. Raghavendra, H., Vijayananda B., Madhumathi G. and Hiremath A. 2010. In vitro antioxidant activity of *Vitex negundo* L. Leaf extracts. Chiang Mai. Science, 37(3): 489-497.
24. Ramesh, P. and Okigbo, R.N. 2008. Effects of plants and medicinal plant combinations as anti-infectives. African pharmacy and pharmacology, 2(7): 130-135.
25. Rezaei, M., Jaimand, K., Tabaei Aghdaie, R. and Barazandeh, M. 2002. Comparison of laboratory and industrial samples in terms of quantity and quality *Rosa damascene* Mill major

combinations of Kashan. Medicinal and aromatic plants of Iran, 19: 72-63.

26. Schieber, A., Mihalev, K., Berardini, N., Mollov, P. and Carle, R. 2005. Flavonol Glycosides from distilled petals of Rosa *damascene Mill*. *Zeitschrift* fur Natuforschung. Biosciences(C), 60: 379- 84.

27. Velioglu, Y.S. and Mazza, G. 1991. Characterization of flavonoids in petals of *Rosa damascene* By HPLC and spectral analysis, Agriculture and food chemistry, 39: 463-7.

28. Weiss, E.A. 1997. Essential Oil Crops and Medicinal plants. (CABI) Publication, London, 230 p.

Effect of two irrigation methods and two types of fertilizers on phenolic compounds and antioxidant activity of *Rosa damascene* Mill. extract

Dehghani Bidgoli, R. [1*], Abdollahpoor, Z. [2], Akhbari M.[3]
[1]Assistant Prof., Dept. of Watershed & Rangeland Management University of Kashan, Kashan, Iran
[2]M.Sc of Rangeland sciences Dept. of Watershed &Rangeland Management University of Kashan, Kashan, Iran
[3]Assistant Prof., Dept. of Natural Essential Oil Research Institute University of Kashan, Kashan, Iran

Received: 2017-6-3 ; Accepted: 2017-10-15

Abstract

Phenolic compounds (flavonoids, tannins, and anthocyanins) are the most important natural antioxidants. *Rosa damascene* Mill. is one of the most natural medicine, which has been used in Iranian ancient and were cultivated traditionally in different parts of Iran. The present study was conducted to investigate the quantitative and qualitative properties of phenolic compounds and antioxidant activity of *Rosa damascene* Mill. under the influence of two types of fertilizers (livestock manure and fertilizer), as well as two irrigation methods (flushing and dripping) in Kashan university (2015). The total phenolic, flavonoidal, alkaloids, tannin contents and the antioxidant activity were measured by spectrophotometer and DPPH methods, respectively, then all data were analyzed by using SPSS software version 19 and analysis of variance. The results of the phytochemical test confirmed the presence of secondary compounds such as tannin, anthocyanin and flavonoids, and the absence of alkaloids in the extract of this species. Also, the total flavonoid content in the sample used for chemical fertilizer was slightly higher than the other samples. The Livestock manure and flood irrigation treatments showed the highest and lowest phenolic compounds respectively and drip irrigation treatment had the most antioxidant properties. The results of this research were showed that the irrigation and nutrition can be controlled the production, quantity and quality of secondary compounds in plants.

***Keywords*:** Antioxidant; Drop irrigation, Extract, Manure, Nutrition, *Rosa damascene* Mil, Total phenol

[*]Corresponding author; dehghanir@kashanu.ac.ir