بررسی تغییرات مهمترین مواد موثره ثانوی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی 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 آزاداسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران

[۳] دانشیار دانشگاه آزاداسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/٤/۲۸ ؛ 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 وگل) 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 TAC، DPPH صورت گرفت. میزان مواد موثره در اندام‌های مختلف گیاه سنجد ثابت نبود به‌طوری که نتایج نشان داد که بیشترین میزان فلاونوئید و فنل درمنطقه قرخ قیز به‌دلیل افزایش تنش شوری (Ec=٤/٦) مشاهده شد. بیشترین میزان آنتوسیانین‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز در این منطقه به‌دلیل وجود این تنش شوری افزایش یافت.

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

*نویسنده مسئول: sadatmand_m66@yahoo.com

مقدمه

گونه‌های بسیاری در رویشگاه‌های متفاوت با شرایط اقلیمی ایران سازگاری حاصل نموده‌اند از جمله آن‌ها درخت سنجد با نام علمی(*Elaeagnus 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 ٨٠ گونه می‌باشد که به‌طور اساسی در آسیا و اروپا گسترده شده‌اند. بخشی از آن در آمریکای شمالی و تقریباً حدود ٥٥ گونه در چین می‌باشد. سنجد (*Elaeagnus angusifolia*) معمولاً درختچه یا درخت کوچک خارداری است که ارتفاع آن به ١٠-٥ 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 cm ٢-١/٥، به رنگ زرد- قرمز می‌باشند (Wang et al., 2012). قسمت‌های مختلف آن به‌دلیل 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، حالت تهوع، استفراغ، یرقان، آسم و نفخ استفاده می‌شود (Mirhydar, 1998؛ Gürbüz et al., 2003). مطالعات فارماکولوژیکی اخیر اثر شل کنندگی 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 ضدالتهابی 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 به‌دلیل محدود بودن عوارض جانبی شان از قبیل سرطان شد (Zhou et al., 2000).

با توجه به اینکه رویشگاه‌های مختلف دارای شرایط متفاوتی می‌باشند به‌نظر 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 ٥٩ درجه و ٦ دقیقه و عرض جغرافیایی ٣٧ درجه و ٢٦ دقیقه است.از شمال به جمهوری ترکمنستان و از سمت شرق به شهر مشهد، از جنوب به شهرستان‌های

قوچان و چناران و از غرب به قوچان محدود است. ارتفاع این شهر از سطح دریا ٤٨٠ متر می‌باشد.

مراحل جمع‌آوری نمونه

در طی عملیات صحرایی وانتخاب ٤ رویشگاه در شهرستان درگز بخش‌های مختلفی از گیاه سنجد از قبیل (برگ، گل، میوه) در محدوده زمانی نیمه اردیبهشت تا نیمه مهرماه ١٣٩٠ 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 عصاره گیری به آزمایشگاه‌های آنالیز و فیتوشیمیایی دانشگاه آزاد اسلامی گرگان منتقل گردیدند.

جهت تهیه خاک نیز در هر منطقه سه نقطه انتخاب و تا عمق ٣٠ سانتی‌متری گود شد. سپس خاک سه نقطه با هم مخلوط گردید و جهت انجام آزمایشات مربوطه به آزمایشگاه خاک شناسی ارسال شد (جدول ١).

روش عصاره‌گیری برای سنجش مقدارترکیبات فنل‌های کل

برای سنجش مقدار فنل کل، حدود ١g از برگ‌های تازه در ١٠ میلی‌لیتر متانول به‌مدت ٢ دقیقه ساییده و محلول به‌دست آمده با کاغذ صافی، صاف شد (Khattak 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 ١g از برگ‌های تازه را در ١٠ میلی‌لیتر متانول به‌مدت ٢ دقیقه ساییده و محلول به دست آمده با کاغذ صافی، صاف شد. به ٠/٥ml از عصاره رقیق شده ($g\ ml^{-1}$ ١:١٠) ٥ ml فولین رقیق شده (١:١٠رقیق شده با آب مقطر) و سپس Na_2Co_3 آبی (١m) به مقدار ٤ml به آن اضافه شده و نمونه‌ها به مدت ١٥ دقیقه در دمای آزمایشگاه باقی ماند و جذب آن در ٧٦٥ nm با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی استاندارد توسط غلظت‌های مختلفی ($mg.l^{-1}$٥٠٠-٠) 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، عصاره گیری با کمی اصلاحات مطابق روش Khattak و همکاران (٢٠٠٨) توسط همزن مگنت با دو حلال انجام شد. حدود ١g از برگ‌های تازه در ١٠mL متانول سائیده و سپس در دمای ٤٠°C به مدت ١ 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 (٠/٥ ml از $g.ml^{-1}$ ١:١٠) به صورت جداگانه با ١/٥ میلی‌لیتر متانول، ٠/١ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم (٪١٠ متانولی)، ٠/١ میلی‌لیتر استات پتاسیم (١M) و ٢/٨ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها در دمای اتاق به‌مدت ٣٠ دقیقه قرار داده شدند. جذب هر ترکیب واکنشی در ٤١٥ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتراندازه گیری شد. منحنی استاندارد با محلول‌های کوئرستین (Quercetin, Sigma Chemical Co.) متانولی در غلظت‌های $\mu g.ml^{-1}$ ١٠٠٠-٢٥٠ 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.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

روش DPPH (Sun et al., 2007)

برای این منظور از رادیکال آزاد DPPH (2,2-Diphenyl- Picryl- Hydrazyl) 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 ١:١ از محلول DPPH (8 mg/100) و عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های متفاوت تهیه شد. جذب نمونه‌ها بعد از ٣٠ دقیقه در دمای آزمایشگاه در ٥١٧ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نمونه‌ها با استفاده از رابطه زیر به‌دست آمد.

R%=AD–AS/AD×100

R%= درصد مهار

AD: جذب DPPH در ٥١٧ نانومتر

AS: جذب نمونه‌ها در ٥١٧ نانومتر

برای مقایسه فعالیت عصاره‌ها از پارامتر IC_{50} استفاده شد (IC_{50} غلظتی از عصاره است که ٥٠ درصد رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کند).

روش RP (reducing power) (Arabshahi –Delouee et al., 2007)

برای تهیه عصاره‌ها، مقدار ٤٥ گرم از پودر خشک نمونه‌ها را در ٣٠٠ میلی‌مول متانل خالص حل کرده و به‌مدت ٢٤ ساعت با دور ٢٥٠ شیک می‌کنیم بعد محلول را صاف کرده و عصاره صاف شده را درون بشر می‌ریزیم و سپس در بن ماری با دمای ٤٥ درجه سانتی‌گراد خشک می‌کنیم. ٠/١ گرم از وزن عصاره خشک را برداشته با ١٠٠ میلی مول متانول به حجم می‌رسانیم و از روی آن غلظت‌های ١٢/٥، ٢٥، ٥٠، ١٠٠، ٢٥٠، ٥٠٠، ٧٥٠، ١٠٠٠ را آماده می‌کنیم و سپس یک میلی‌مول از عصاره‌های اندام‌های مختلف و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی (Butylated Hydroxytoluene) BHT، (Butylated ydroxyansiol) BHA با غلظت‌های مختلف (١٢/٥، ٢٥ ٥٠، ١٠٠، ٢٥٠، ٥٠٠، ٧٥٠، ١٠٠٠ را بر داشته درون لوله آزمایش ریخته و به هر کدام ٢/٥ میلی‌مول بافر فسفات با pH=٦/٦ و ٢/٥ میلی‌مول فرو سیا نید پتاسیم اضافه کرده هم می‌زنیم درب لوله‌ها را بسته و به‌مدت ٣٠ دقیقه در بن‌ماری ٥٠ درجه سانتی‌گراد قرار داده سپس به هر کدام ٢/٥ میلی‌مول تری کلرو استیک اسید ریخته درون لوله‌های پلاستیکی درب دار فالکوم ریخته ١٠ دقیقه سانتریفوژ با دور ١٧٠ سپس ٢/٥ میلی‌مول از محلول رویی درون لوله‌ها را داخل لوله آزمایش ریخته و به آن ٢/٥ میلی‌مول آب مقطر و ٠/٥ میلی‌مول کلرید آهن ٣ اضافه کرده سپس جذب را در ٧٠٠ نانو متر می‌خوانیم. IC50 مربوط به هر نمونه و استانداردهای BHT, BHA (غلظتی که درآن ٥٠ درصد رادیکال‌های آزاد مهار می‌شوند) با معادله خط مربوط (محاسبه گردید).

روش TAC (Total antioxidant capacity) (Arabshahi –Delouee et al., 2007)

٠/١ گرم از وزن عصاره خشک را برداشته با ١٠٠ میلی‌مول متانول به حجم می‌رسانیم و از روی آن غلظت‌های ١٢/٥، ٢٥، ٥٠، ١٠٠، ٢٥٠، ٥٠٠، ٧٥٠، ١٠٠٠را آماده می‌کنیم. در داخل لوله‌های آزمایش ٠/٣ میلی‌مول از عصاره‌های اندام‌های مختلف و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی BHA, BHT با غلظت‌های مختلف (١٢/٥، ٢٥، ٥٠، ١٠٠، ٢٥٠، ٥٠٠، ٧٥٠، ١٠٠٠) که مانند تست RP تهیه شده را برداشته به هر کدام ٣ میلی‌مول معرف TAC اضافه می‌کنیم و سر لوله‌ها را با فویل بسته به‌مدت یک ساعت و نیم در بن ماری ٩٥ درجه سانتی‌گراد قرار داده بعد از سرد شدن جذب نمونه را در ٦٩٥ نانومتر می‌خوانیم. شاهد شامل ٠/٣ میلی‌مول متانول و ٣ میلی‌مول معرف TAC می‌باشد. مراحل ساخت معرف TAC ١٥/٩٨٥ میلی‌مول از اسیدسولفوریک ٠/٦ مولار را با آب مقطربه حجم ٥٠٠ میلی‌مول می‌رسانیم و با مگنت هم

مـــی‌زنیم در مرحلـــه دوم ۱/۲۳۵ گـــرم از آمونیـــوم مولیبدات را با ۱۰۰ میلی‌مـول اسـید سـولفوریک ۰/٦ مولاردر بشر اضافه کرده هم می‌زنیم و در بشـر دیگـر ۲/٦٦ گـرم از تـری فسـفات سـدیم ریختـه و ۱۰۰ میلی‌مول اسیدسولفوریک ۰/٦ مولاربه آن اضافه کرده هم می‌زنیم و محتویات این دو بشـر را در یـک بـالن ۲۵۰ میلی‌مول دیگر ریخته. بلانک شامل ۰/۳ میلی‌مول متانـل و ۳ میلـی‌مـول معـرف TAC می‌باشـد. IC50 مربوط بـه هـر نمونـه (غلظتـی کـه در آن ۵۰ درصـد رادیکال‌های آزاد مهار می‌شوند) با معادله خط مربـوط (محاسبه گردید).

روش‌های آماری

کلیه آنالیزها، با ٤ تکرار و هر ایستگاه با ٤ نمونـه 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 سـطح ۰/۰۵ معنی‌دار بودن یا نبودن آن‌ها کنترل شد.

نتایج

تمامی آزمایشات در ایستگاه‌های ٤ منطقه مختلف شهرستان درگز انجام شد. بر اساس نتایج بدست آمده از مطالعات خاکشناسی در جدول ۱ مشخص گردیـد که میزان هدایت‌الکتریکی (شـوری) خـاک در منطقـه قرخ قیز نسبت به سایر مناطق افزایش یافته است.

محتوی فلاونوئید بر حسب اکی والانت کوئرستین همـراه بـا منحنـی اسـتاندارد (y=0.0012x-0.0021، R^2=۰/۹۸) بین ۸±۰/۸۵ و ۱٤/۸۱±۱/۸۰ بود (جدول ۲). بالاترین میزان فلاونوئید در عصاره برگ‌های گیـاه سنجد منطقه قرخ قیز (منطقه قرخ قیـز دارای شـوری بیشتری نسبت به سایر منـاطق مـی‌باشـد) و کمتـرین میزان آن‌ها در منطقه آرتیان یافت شـدند. امـا از نظـر ایستگاهی بین ایستگاه‌های منطقه آرتیان و ایسـتگاه ۱ و۳ منطقه قرخ قیز از نظـر میـزان فلاونوئیـد اخـتلاف معنی‌داری مشاهده نگردید در حالی که با ایستگاه‌های سـایر منـاطق دارای اخـتلاف معنـی‌داری در سـطح p<۰/۰۵ می‌باشند (شکل ۱).

در جدول ۲ نیز میزان فنـل کـل نشـان داده شـده است که با معرف فولن سیکالتو برحسب گالیک اسید همـــراه بـــا منحنـــی اســـتاندارد (y=0.005x-0.025، R^2=۰/۹۸) اندازه‌گیری شد. میزان فنل کل در ٤ منطقـه بین ۰/۰۸± ٤/۰۳ و ۰/۲۰± ٦/۲۸ متغیر بود و بیشترین میزان در عصاره برگ‌های منطقه قرخ قیـز و کمتـرین میزان در منطقه آرتیان یافت شد. بـا توجـه بـه نتـایج مندرج در نمودار ۲ میـزان فنـل در ایسـتگاه ۲ منطقـه قرخ قیز بیشتراز سایر ایستگاه‌ها می‌باشد و در ایستگاه ۱ آرتیان به کمترین میزان یافت شد و بین ایسـتگاه ۱ منطقه آرتیان و ایسـتگاه ۱ منطقـه چهلمیـر، همچنـین ایستگاه ۲ منطقه چهلمیر و ایستگاه سـنگ سـوراخ از نظـر میـزان فنـل کـل در سـطح P<۰/۰۵ اخـتلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. اما با سایرایستگاه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند.

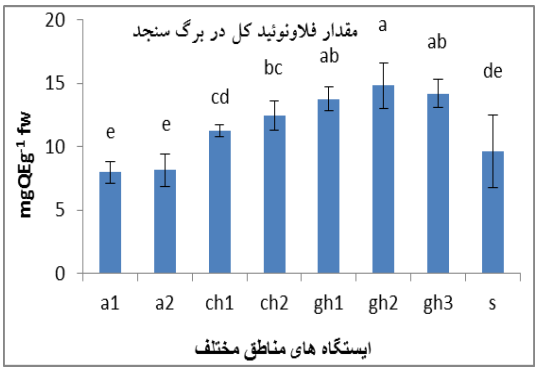
جدول ۱: نتایج خاکشناسی

مشخصات نمونه	عمق	هدایت‌الکتریکی EC(ds m^{-1})	اسیدیته کل اشباع pH	رس %Clay	لای %Silt	ماسه %Sand	نوع بافت خاک
منطقه چهلمیر	۰-۳۰	۱,۹	۷,٤	۱۰	۵۸	۳۲	Si-C-L
منطقه قرخ قیز	۰-۳۰	٤,۸	۷,۳	۱۰	٤٤	٤٦	Si-C
منطقه سنگ سوراخ	۰-۳۰	۱,۸	۷,۵	۱۰	۵۲	۳۸	Si-C-L
منطقه آرتیان	۰-۳۰	۱,٦	۷,٦	۲۰	۵۲	۲۸	Si-C-L

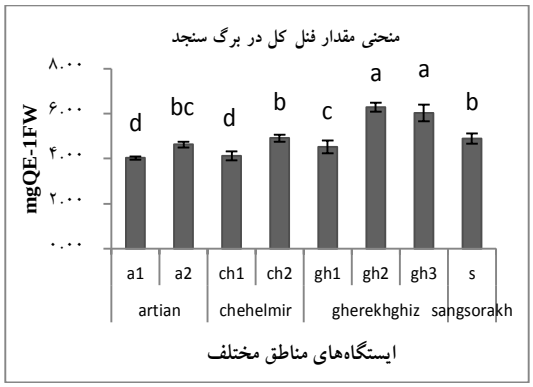
جدول ٢: نتایج حاصل از اندازه‌گیری فنل و فلاونوئید

مناطق مورد مطالعه	ایستگاه‌های مختلف	میزان فلاونوئید ($mg.g^{-1}fw$)	میزان فنل کل ($mg.g^{-1}fw$)
منطقه چهلمیر	ایستگاه ١	١١/٢٤ ±٠/٤٩ cd	٤/١٣ ± ٠/١٩ d
	ایستگاه٢	١٢/٤٥ ±١/١٨ bc	٤/٩١ ±٠/١٦ b
منطقه قرخ قیز	ایستگاه١	١٣/٧٨ ±٠/٩٦ ab	٤/٥٣ ±٠/٢٩ c
	ایستگاه٢	١٤/٨١ ±١/٨٠ a	٦/٢٨ ±٠/٢٠ a
	ایستگاه٣	١٤/٢٠ ±١/١١ ab	٦/٠٣ ±٠/٣٧ a
منطقه آرتیان	ایستگاه١	٨ ±٠/٨٥ e	٤/٠٣ ±٠/٠٨ d
	ایستگاه٢	٨/١٦ ±١/٢٧ e	٤/٣٥ ±٠/١٣ bc
منطقه سنگ سوراخ	ایستگاه١	٩/٦٣ ±٢/٨٥ de	٤/٦٩ ±٠/٢٩ b

٤ تکرار، نتایج به‌صورت میانگین± انحراف معیار، آنالیز آماری تحت ANOVA در سطح ٥ درصد با تست دانکن، در هر ستون بین داده‌هایی با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار وجود دارد

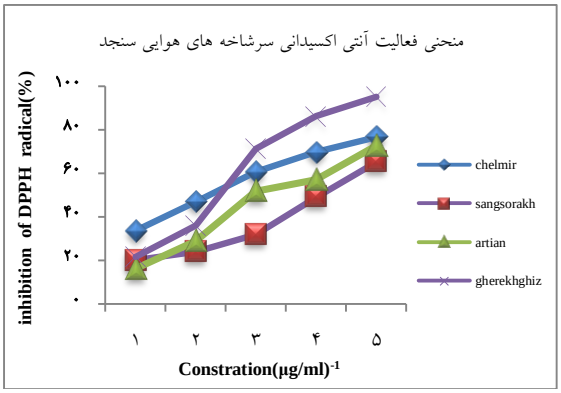


شکل ١: میزان فلاونوئید در ایستگاه‌های مناطق مختلف

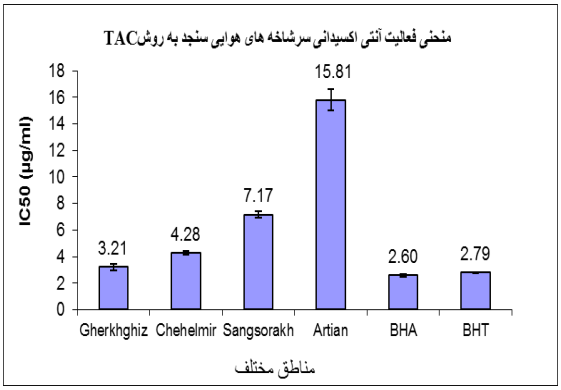


شکل ٢: میزان فنل کل در ایستگاه‌های مناطق مختلف

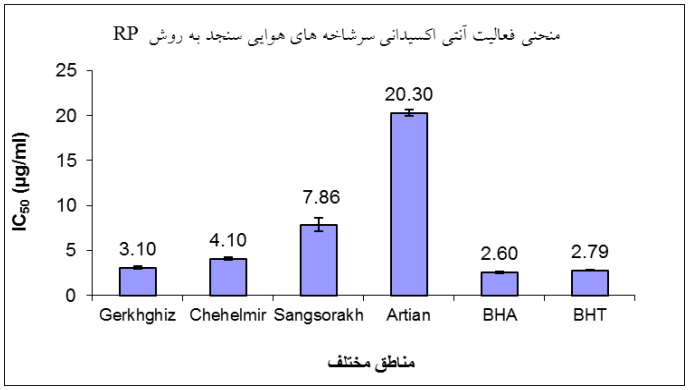
مهاری رادیکال‌های آزاد از عصاره سرشاخه‌های هوایی سنجد با استفاده از رادیکال DPPH بررسی شد و نتایج به صورت درصد فعالیت مهاری گزارش شد (نمودار ٣). فعالیت مهار DPPH در سطح P<٠/٠٥ معنی‌دار بود به‌طوری‌که ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره سرشاخه‌های هوایی سنجد در تمامی ٤ رویشگاه بین ٦٢/٠٦ و ٣٧/٩ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر متغیر بود. بررسی‌ها نشان داد که با افزایش غلظت‌های عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. همچنین نتایج فعالیت مهاری به‌صورت 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 پارامترهایی است که به‌طور گسترده‌ای برای ارزیابی فعالیت مهاری رادیکال‌های آزاد استفاده می‌شود و IC_{50} کمتر نشان‌دهنده بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد به‌طوری‌که بیشترین فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد در عصاره سرشاخه‌های هوایی سنجد منطقه قرخ قیز مشاهده گردید (IC_{50} در پایین‌ترین غلظت، ٢٠١/٢٥ $\mu g\ ml^{-1}$) و کمترین فعالیت مهاری مربوط به عصاره سرشاخه‌های هوایی سنجد منطقه آرتیان بود (IC_{50} در بالاترین غلظت ٤٨١/١٣ $\mu g\ ml^{-1}$). (به‌ترتیب دارای قدرت مهاری بیشتر می‌باشند BHA>BHT>Gherkhghiz>Chehelmir>Sangsora kh>Artian) (شکل ٤ و ٥).



شکل ۳: میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سرشاخه‌های هوایی سنجد در ٤ رویشگاه مختلف به روش DPPH



شکل ٤: میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سرشاخه‌های هوایی سنجد در ٤ رویشگاه مختلف با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های استاندارد به روش TAC



شکل ٥: میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سرشاخه‌های هوایی سنجد در ٤ رویشگاه مختلف با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های استاندارد به روش RP

بحث

گیاهان منبع مهمی از ترکیبات هستند که به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه شناخته شده‌اند. بررسی مقادیر ترکیبات فعال ثانوی در اندام‌ها و مقایسه آن‌ها نشان داد که میزان مواد موثره ثانوی (فلاونوئید، فنل، آنتوسیانین) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی 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 می‌باشند. مشابه به مطالعه ما عنوان شده است که فلاونوئیدها یکی از اجزای بسیار مهم در سنجد هستند که اثرات ضد درد و ضدالتهابی برخی از آن‌ها قبلا گزارش شده است (Wolniak et al., 2007).

میزان ترکیبات فلاونوئید و فنل کل در رویشگاه قرخ قیز (۳۷ درجه و ٢٤ دقیقه شمالی و ٥٩ درجه و ۰۳ دقیقه شرقی) به‌دلیل افزایش شدت تنش شوری نسبت به سایر مناطق افزایش یافته است و در منطقه آرتیان نیز به‌دلیل کاهش شدت این تنش کاهش یافته است (جدول‌های ۱ و ۲). در این راستا گزارش شده 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 به‌ویژه برگ‌ها می‌فرستد. بنابراین به‌دلیل افزایش تنش شوری ترکیبات فلاونوئیدی و فنل‌ها افزایش می‌یابند

(Levitt, 1980). مشابه به پژوهش ما محتوی فلاونوئید کل در نهال‌هایی از واریته‌های 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 پلی‌فنل‌ها در گیاه گردو (*Juglans regia*) مشخص شد با افزایش سطح شوری (١٠٠، ٢٠٠ و ٣٠٠ میلی‌مول نسبت به شاهد)، محتوای پلی‌فنل‌ها 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 (Ayaz et al., 2000) و آنزیم‌های اکسیداتیو شده باشد (Darbyshire, 1971) و این بررسی‌ها با نتایج ما مطابقت دارد و اینکه گیاه سنجد به‌دلیل 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 ٢٠٠٣ عنوان کردند که فعالیت آنتی اکسیدانی فنل‌ها عمدتا به دلیل خواص اکسیداسیون و کاهش آن‌ها می باشد که اجازه می‌دهد تا به‌عنوان عوامل کاهنده، 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 به‌دلیل 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 (١٣٨٢) 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 مهار کننده 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 (Blokhina et al., 2010).

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 می باشد، 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

١-کافی، م، کامکار، ب و مهدوی دامغانی، ع.م. ١٣٨٢. واکنش‌های گیاهان زراعی به محیط رشد، انتشار: دانشگاه فردوسی مشهد، صفحه ٢٥٧.

2.Ahmadiani, A, Hosseini, J., Semnanian, 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.

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. Wrolstaded), 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, NewYork. 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, M[2]., Niakan, M[3].
[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