

خاصیت آنتی اکسیدانی اندام هوایی گیاه *Pycnocycla nodiflora* Decne. ex Boiss. به روش DPPH در سه

مرحله ی مختلف رشد

زهرا شمس^{۱*}، عنایت الله تفضلی^۲، وحید روشن^۳

۱- دانشجوی دکترای علوم باغبانی دانشگاه شیراز، ایران ۲- استاد بخش باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران ۳- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، شیراز، ایران
*نویسنده مسئول: zahrashams1987@gmail.com

چکیده

امروزه به خوبی می دانیم که رادیکال های آزاد در تغییرات مولکولی و جهش ژنی در بعضی از موجودات زنده نقش دارند. تعدادی از این آنتی اکسیدانها توسط گیاهان و به عنوان متابولیت های ثانویه سنتز می شوند. سگ دندان گل گره ای *Pycnocycla nodiflora* گیاهی دائمی و بوته ای با برگ های خاردار از خانواده چتریان می باشد که به صورت وحشی در جنوب و جنوب غربی ایران می روید و بومی ایران محسوب می شود. از آنجا که خاصیت آنتی اکسیدانی برای برخی از گیاهان خانواده چتریان ذکر شده است، در این مطالعه خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی اندام هوایی گیاه *Pycnocycla nodiflora* در سه مرحله فنولوژی، توسط آزمون DPPH مورد مطالعه قرار گرفت. خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی نمونه خشک شده اندام هوایی مراحل مختلف رشد، در شش غلظت و سه تکرار، به روش مهار رادیکال پایدار 2 و 2 دی فنیل 1- پیکریل هیدرازیل (DPPH) تعیین گردید. تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS به روش آنالیز واریانس یکطرفه ($P < 0.01$)، نشان داد که خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ها با یکدیگر تفاوت معنی داری دارند. عصاره متانولی مرحله بذردهی با ic_{50} 461.68 بیشترین و عصاره متانولی مرحله گلدهی با ic_{50} 1415.70 کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی را نشان داد. دلیل این تفاوت می تواند به دلیل تفاوت در میزان ترکیبات فنلی استخراج شده توسط این دو حلال باشد. یک ارتباط قوی بین قدرت آنتی اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی وجود دارد.

کلمات کلیدی: *Pycnocycla nodiflora*، آنتی اکسیدان

مقدمه

گیاهان داروئی حاوی مواد موثر و عصاره هایی می باشند (Yali, H., 2005). گیاهان دارویی منابع غنی از متابولیت های ثانویه یعنی منابع مواد مؤثره بسیاری از داروها می باشند. مواد یاد شده اگر چه به طور اساسی با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می شوند ولی ساخت آن ها به طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می گیرد (Dorman, H.J.D., 2000). فرآورده های گیاهی در پزشکی بصورت عصاره یا اسانس مورد استفاده قرار می گیرند و دارای اثرات مختلف ضد قارچی (Mahmoudabadi AZ, 2007 و Khosravi AR, 2008)، ضد انگلی (Ziegler HL, 2004) و ضد باکتریایی (Sharififar F, 2007) می باشند. اخیراً استفاده از گونه ها و گیاهانی که دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی می باشند به عنوان مواد افزودنی بر علیه عواملی که موجب اکسیداسیون در غذا ها می گردند اهمیت بیشتری پیدا کرده است (Dorman, H.J.D., 2000 و Unver, A., 2009). بیان شده که فعالیت آنتی اکسیدانی و مقدار فنول کل در طول دوره رسیدن کاهش پیدا می کند. در یک پژوهش بر روی شش گونه بلوبری که در نگزاس آمریکا انجام شد، گزارش شده که فعالیت آنتی اکسیدانی در طول دوره رسیدن کاهش می یابد ولی مقدار فنول کل همزمان با بلوغ میوه افزایش یافته است (Castrejon, A.D.R., 2008 و Wei, Y., 2011). جنس *Pycnocycla* متعلق به تیره چتریان در ایران دارای هشت گونه بوده که تمام آن بومی ایران هستند. *Pycnocycla nodiflora* گیاهی دائمی است که به صورت وحشی

در جنوب و جنوب غربی ایران رشد می کند. از آنجایی که خواص آنتی اکسیدانی در بسیاری از جنس های خانواده ی چتریان دیده شده است، در این بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره متانولی گیاه *Pycnocycla nodiflora* توسط آزمون DPPH در مراحل مختلف رشد، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

جمع آوری گیاه

گیاه سگ دندان با نام علمی *Pycnocycla nodiflora*، در ارتفاعات کوه های استان فارس می روید. در مراحل مختلف رشد، از اردیبهشت ماه تا اوایل تیر ماه در ارتفاعات اطراف شیراز و ثبت مختصات جغرافیایی به وسیله ی دستگاه GPS، جمع آوری شد.

استخراج عصاره

جهت استخراج عصاره ی متانولی ۲۰ گرم گیاه خشک را به صورت پودر در آورده و با ۲۰۰ cc متانول، مخلوط کرده و به مدت ۴۸ ساعت روی دستگاه همزن قرار می دهیم سپس مخلوط را به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در ثانیه سانتریفیوژ می کنیم. سپس این محلول را با استفاده از دستگاه روتاری تغلیظ می کنیم، ماده ی بدست آمده عصاره ی خالص گیاه می باشد.

تهیه ی متانولی DPPH

مقدار کمی متانول به ۱ میلی گرم DPPH در بالن ژوژه ۲۵ میلی لیتری اضافه و به هم زده شد تا حل شود. سپس به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد.

تعیین فعالیت ضد اکسیداسیونی عصاره

برای انجام این تست از میکروپلیتهای ۹۶ خانه ای با چاهک های ته صاف استفاده شد، در ۴ عدد از چاهک ها ۲۰۰ میکرولیتر از محلول متانولی DPPH به ۲۰ میکرولیتر از غلظتهای مختلف عصاره اضافه شد (تست). در ۴ عدد از چاهک های دیگر ۲۰۰ میکرولیتر متانول به ۲۰ میکرولیتر محلول عصاره اضافه (بلانک) و در ۴ عدد از چاهک ها ۲۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH به ۲۰ میکرولیتر متانول اضافه می شود (کنترل). بعد از مخلوط نمودن به مدت ۱۰ ثانیه توسط میکروپلیت ریدر، جهت انجام واکنش به مدت سی دقیقه در جای تاریک و در دمای اتاق قرار داده شد. بعد از این مدت توسط دستگاه میکروپلیت ریدر جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر خوانده شد. درصد فعالیت ضد اکسیدانی از فرمول زیر محاسبه می شود.

$$\text{نسبت بازداری} = 100 - ((A_{\text{test}} - A_{\text{blank}} / A_{\text{control}} \times 100))$$

A_{blank} : جذب نمونه ی کنترل، A_{sample} : جذب نمونه ی تست شده

در نهایت غلظتی از عصاره که بتواند از ۵۰ درصد رادیکال های آزاد DPPH پیشگیری کند بر اساس داده های نمودار محاسبه شد. گالیک اسید به عنوان کنترل مثبت و هر کدام از تست ها چهار بار تکرار شدند.

طرح آماری

در تمام مراحل، تجزیه و تحلیل آماری داده ها، با استفاده از نرم افزار SPSS صورت می گیرد.

نتایج

تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم افزار آماری SPSS به روش آنالیز واریانس یکطرفه ($P < 0.01$)، نشان داد که خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ها با یکدیگر تفاوت معنی داری دارند. عصاره متانولی مرحله رویشی با ic_{50} 461.68 بیشترین و عصاره مرحله گلدهی با ic_{50} 1415.70 کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی را نشان داد.

جدول ۱- خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ها

نمونه	عصاره	
گلدهی	1415 .70	A
میوه دهی	461. 68	C
رویشی	1222 .22	b

a, b, c عصاره ها در سطح یک درصد اختلاف معنی دار نشان دادند ($p < 0.01$)

بحث

نگرانی در مورد اثرات نامطلوب آنتی اکسیدان های سنتزی تمایلات مصرف کنندگان را برای استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی افزایش داده است زیرا این مواد هم ایمن هستند و هم می توانند اثرات مفید تغذیه ای داشته باشند. البته استفاده از ترکیبات طبیعی می تواند مشکلاتی چون خاصیت آنتی اکسیدانی کمتر نسبت به ترکیبات سنتزی و طعم و بوی ناخوایسته را ایجاد کند. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره سبک دندان نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی گالیک اسید کمتر می باشد. عصاره متانولی این سه مرحله ی رشد آنالیز و مشخص گردید که خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره ها تفاوت معنی داری در سطح یک درصد با یکدیگر داشتند و عصاره متانولی مرحله میوه دهی بیشترین و عصاره گلدهی دارای کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی بوده است. در ادامه خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره در هر مرحله فنولوژی نیز با یکدیگر مقایسه گردید. در انتها مشاهده گردید خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی میوه دهی با اختلاف چشمگیری بیش از سایر عصاره ها می باشد. در این سیستم هر چند عصاره قدرت آنتی اکسیدانی کمتری نسبت به گالیک اسید نشان داد ولی قدرت آنتی اکسیدانی آن قابل ملاحظه بود به خصوص خاصیت آنتی اکسیدانی مرحله میوه دهی که می توان با انجام آزمایشهای تکمیلی به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی از آن در صنایع مختلف استفاده نمود.

منابع

1. Castrejon, A.D.R., I. Eichholz, S. Rohn, L.W. Kroh and S. Huyskens-Keil. 2008. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. Food Chem. 109: 564-572.
2. Characterisation of certain major polyphenolic antioxidants in. grape (*Vitis vinifera* cv Roditis) stems by liquid chromatography-mass spectrometry. Eur. Food Res. Technol. 226:1075-1079
3. Dorman, H.J.D. and S.G. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. 88: 308- 316.
4. enterococci in transplant medicine internal wards in 2001-2005. Transplant Proc. 2007 Nov;39(9):2886-9.

5. Hsieh, P.C. J.L. Mau and S.H. Huang 2001. Antimicrobial effect of various combinations of plant extracts. Food Microbiol. 18: 35-43.
6. Ettehad GH, Arab R. Evaluation of Antibacterial Effects of Shiraz Oregano Essence (*Zataria Multiflora* Boiss) on *Salmonella typhi* and Comparing with Antibiotics. Research Journal of Biological Sciences 2007, 2 (6): 674-676.
7. Gillij, Y.G., R.M. Gleiser and J.A. Zygadlo. 2007. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. J. Biores. Technol. 99:2507-2515
8. Khosravi AR, Eslami AR, Shokri H, Kashanian M. : *Zataria multiflora* cream for the treatment of acute vaginal candidiasis Int J Gynaecol Obstet. 2008 May;101(2):201-2. Epub 2008 Jan 24
9. Mahmoudabadi AZ, Dabbagh MA, Fouladi Z. : In Vitro Anti-Candida Activity of *Zataria multiflora* Boiss Evid Based Complement Alternat Med. 2007;4(3):351-353
10. Sharififar F, Moshafib M.H, Mansouric S.H, Khodashenasd M and Khoshnoodie M, In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss, 2007 July ; 7(18) P 800-805 ,Breakdowns in Food Safety
11. Unver, A., D. Arslan, M.M. Ozcan and M. Akbulut. 2009. Phenolic content and antioxidant activity of some spices. World Appl. Sci. J. 6: 373-377.
12. Wei, Y., L. Zhou. G. Deng. P. Wang, D. Creech and Sh. Li. 2011. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity of *Vaccinium* L. in Texas, USA. Pharmaceutical Crops. 2: 11-23.
13. Yali, H., Y. Liu, W. Cao, M. Huai, B. Xu and B. Huang. 2005. Effects of salicylic acid on heat tolerance associated with antioxidant metabolism in Kentucky bluegrass. Crop Sci. Soc. Amer. 45:988-995.
14. Ziegler HL, Franzyk H, Sairafianpour M, Tabatabaian M, Mahboubeh D, Tehrania M. et.al, Erythrocyte membrane modifying agents and the inhibition of *Plasmodium falciparum* growth: structure-activity relationships for betulinic acid analogues, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2004;12(1):119-127.
- 15.

Antioxidant activity of *Pycnocycla nodiflora* Decne. ex Boiss. in different growth stage

Z. Shams^{* 1}, E. Tafazoli², V. Rowshan³

1, pH.D. student of horticulture science, Department of Horticultural Sciences of Shiraz University, Fars 2- Department of Horticultural Sciences of Shiraz University, Shiraz, Iran 3- Department of Natural Resources, Fars Research Center for Agriculture and Natural Resources, PO Box 71555-617, Shiraz, Iran.

*Corresponding author: zahrashams1987@gmail.com

Abstract

Today we know well that radicals cause molecular transformations and gene mutations in many types of organisms. The number of antioxidant compounds synthesized by plants as secondary products. *Pycnocycla nodiflora* is a perennial and spinous plant belongs to Umbelleferea family, which is widely distributed over the south and southeast of Iran and is endemic of Iran. Umbelleferea is known to be a potential source for the antioxidant agents. The methanolic extracts of *Pycnocycla nodiflora* at different growth stage were analyzed for total antioxidant activity by 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). In our research, methanolic extract of dried aerial parts in different growth stage samples with six concentration in triplicate (n=3) was prepared. The data were statistically analyzed by SPSS software using ANOVA (P<0.01). The IC₅₀ for antioxidant activity in the following order: 461.68, 1415.70, 1222.22 µg/mL, in vegetative and flowering and fruit stage respectively (by DPPH). In conclusion, the antioxidant activity of methanolic extract of *Pycnocycla nodiflora* at fruit stage was significantly higher than that of methanolic extract of *Pycnocycla nodiflora* at flowering stage (p<0.01), which was due to difference in their phenolic

Key words: *Pycnocycla nodiflora*, antioxidant activity