بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی قره داغ (*Nitraria schoberi*) به منظور توسعه در اراضی شور

الهام میرزامحمد[۱]، ابوالفضل علیرضالو*[۲]، اسماعیل شیدای کرکج[۳]، امین حاضر وظیفه[۴]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

[۲*] گروه علوم باغبانی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

[۳] گروه مرتع و آبخیزداری، دانشگاه ارومیه، ارومیه

[۴] گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشگاه مراغه، مراغه

نویسنده مسئول: a.alirezalu@urmia.ac.ir

چکیده

استان آذربایجان غربی یکی از مناطق عمده کشت گیاهان دارویی در ایران می باشد ولی متاسفانه مناطقی از اراضی زراعی حاشیه دریاچه ارومیه به دلائل گوناگون از جمله همجواری با دریاچه از شوری خاک و آب و کاهش عملکرد ناشی از آن رنج می برد. به منظور بررسی واکنش فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی گیاه دارویی قره داغ به سطوح شوری طبیعی، این آزمایش در گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه انجام گرفت. در این تحقیق پس از برداشت میوه‌ها از منطقه سپورقان ارومیه در تابستان سال ۱۳۹۷، میزان اسیدیته به وسیله‌ی pHمتر، اسیدهای آلی به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال، مواد جامد محلول با استفاده از دستگاه رفراکتومتر، فنل کل به روش فولین سیوکالتیو، فلاونوئید کل با استفاده از کلرید آلومنیوم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH، آنتوسیانین به روش اختلاف pHها، و همچنین آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز اندازه‌گیری شد. نتایج نشان دادند که میزان pH، اسیدهای آلی و مواد جامد محلول به ترتیب برابر با ۳/۲۹، ۰/۴۵ و ۱۰/۲۰ بودند، همچنین محتوای فنل و فلاونوئید کل به ترتیب ۳۹/۹۴ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک و ۱۷/۱۸ میلی‌گرم کوئرسیتین بر گرم وزن خشک بودند. همچنین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شده و میزان آنتوسیانین کل این میوه دارویی به ترتیب برابر با ۴۶/۸۰ درصد و ۵۷/۵۸ میلی‌گرم در لیتر عصاره بودند. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به ترتیب برابر با ۷۶/۴۳ و ۶۳/۷۲ mg q/g FW بودند. نتایج این تحقیق نشان داد که میوه قره داغ دارای محتوای بالایی از ترکیبات پلی‌فنلی بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارد، بنابراین می‌تواند در اراضی شور کشت و گسترش یابد.

کلمات کلیدی: آنتوسیانین کل، آنتی‌اکسیدان، قره داغ، فلاونوئید کل، فنل کل

مقدمه

رشد و عملکرد گیاه در بسیاری از مناطق دنیا توسط تنش‌های محیطی زنده و غیرزنده متعدد، محدود می‌گردد. چنین برآورد شده که تنها حدود ۱۰ درصد از زمین‌های قابل‌کشت دنیا ممکن است تحت تأثیر تنش‌های محیطی نباشند (Ashraf, 1994). تنش نتیجه روند غیرعادی فرآیندهای فیزیولوژیک است که تحت تأثیر یک یا ترکیبی از عوامل زیستی و محیطی می‌باشد. بدین ترتیب تنش‌های محیطی از عوامل عمده محدودیت تولیدات گیاهی محسوب می‌شوند که با مختل ساختن متابولیک طبیعی گیاه، رشد را محدود نموده و درنهایت محصول را کاهش داده یا به‌کلی منجر به نابودی آن می‌شوند (Ashraf, 2004). به همین علت، اختلاف قابل‌توجهی بین عملکرد واقعی و عملکرد بالقوه محصولات دیده می‌شود. دراین‌ارتباط، عامل مهم تعیین‌کننده عملکرد، توانایی گیاهان در تحمل تنش می‌باشد. کاهش میانگین عملکرد ناشی از تنش‌های محیطی برای گیاهان دارویی، بیش از ۵۰ درصد می‌باشد (Wang et al., 2003). لذا درک اثر محیطی بر فرآیندهای فیزیولوژیک مراحل مختلف رشد گیاه تأثیر بسزایی را در افزایش محصولات کشاورزی خواهد داشت (میرمحمدی میبدی و قره¬یاضی، ۱۳۸۱). در بین تنش‌های محیطی، شوری و خشکی بیشترین اثر را بر گیاهان دارند. پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۵۰ میلادی بیش از ۵۰ درصد زمین‌های کشاورزی شور شوند (Ashraf, 1994). طی دهه‌های اخیر یافتن راه‌حل‌هایی جهت جلوگیری از کاهش عملکرد گیاهان تحت

IrHC2019

تأثیر شوری موردتوجه قرارگرفته است (فرهودی، ۱۳۸۸). بهترین روش برای به دست آوردن عملکرد مناسب در خاک‌های شور، استفاده از گیاهان متحمل به شوری است. تحمل به نمک یک پدیده پیچیده کمی و ژنتیکی است که توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شود. بنابراین باید تحمل به شوری را به‌عنوان یک صفت مرکب به‌حساب آورد (میرمحمدی میبدی و قره‌یاضی، ۱۳۸۱).

قره داغ با نام علمی *Nitraria schoberi* گیاهی است هرمافرودیت، درختچه ای تیغ دار از خانواده Zygophyllaceae که دارای شش گونه می باشد. ارتفاع آن ۱/۵ متر و قطر تاج گاهی بیش از ۲ متر می باشد. ساقه های جوان گیاه سفید کرکدار، ساقه های مسن قهوه ای بدون کرک، گلها متناوب ساده، سفید رنگ، گل آذین گرزن باز، برگها مستطیلی قاشقی یا نیزه ای و میوه آن کروی به رنگ قرمز تیره می باشد (شکل ۱).

شکل ۱- گیاه دارویی قره داغ

استفاده از قره داغ در ایران به عنوان یک گیاهی حفاظتی است که علوفه قابل توجهی نیز تولید می نماید. این گیاه به دلیل پائین بودن تنوع گونه ای دارای رویشگاه حساس و شکننده می باشد. در برخی از کشورها از میوه آن که دارای طعم مطبوعی است به صورت پخته یا خام به عنوان آجیل زمستانه استفاده می شود. قره داغ با داشتن گل های فراوان و میوه های الوان و زیبا می تواند به عنوان یک گیاه زینتی در پارک ها و منظر سازی جاده ها در مناطق کویری نیز مورد توجه قرار گیرد. پراکنش این گیاه در شرق وجنوب شرق اروپا (روسیه، اوکراین و رومانی) آسیا (ترکیه، ایران و افغانستان) منطقه قفقاز (ارمنستان، آذربایجان و گرجستان) آسیای میانه (قزاقستان، تاجیکستان، ترکمنستان و ازبکستان) و چین گزارش شده است. قره داغ گیاهی است آفتاب دوست که با توجه به دامنه وسیع سازگاری آن در خاک های اسیدی، قلیائی و شور و نیز خاک های سبک تا سنگین و علاوه بر آن به علت مقاومت در برابر محدوده های حرارتی (۵۰ تا ۳۰- درجه سانتیگراد) و نیز امکان تکثیر و ازدیاد از طریق بذر و ریشه های نابجا، گونه بسیار مناسبی برای احیاء اراضی بیابانی و کویری می باشد.

استان آذربایجان غربی یکی از مناطق عمده کشت گیاهان دارویی در ایران می باشد ولی متاسفانه مناطقی از اراضی زراعی حاشیه دریاچه ارومیه به دلائل گوناگون از جمله همجواری با دریاچه از شوری خاک و آب و کاهش عملکرد ناشی از آن رنج می برد. یکی از برنامه‌های مهم ستاد احیای دریاچه ارومیه و وزارت جهاد کشاورزی افزایش سطح زیر کشت گیاهان دارویی است اما کمبود آب و شوری خاک از عوامل محدودکننده توسعه این گیاهان می‌باشد. برای غلبه بر این مشکلات و محدودیت ها، شناسایی و کشت گیاهان دارویی مقاوم به خشکی و شوری که دارای خصوصیات ارزشمند دارویی باشند، در جهت احیای موثر دریاچه ارومیه امری ضروری به نظر می رسد. بدین منظور در این تحقیق پتانسیل دارویی گیاه قره داغ که مقاوم به شوری می باشد ارزیابی شد تا در صورت امکان به کشت این گیاه در این مناطق اقدام گردد.

مواد و روش‌ها

تهیه میوه‌ها: گیاه مورد نظر در این تحقیق گیاه دارویی قره داغ (*Nitraria schoberi*) بود که میوه های آن در تیرماه سال ۱۳۹۷ از منطقه سپورقان در شهرستان ارومیه جمع آوری شد. سپس نمونه ها برای انجام آزمایشات به آزمایشگاه فیزیولوژی علوم باغبانی دانشگاه ارومیه منتقل شدند.

IrHC2019

اندازه‌گیری pH، مواد جامد محلول کل (TSS) و اسیدیته قابل تیتراسیون (TA) آب میوه

ابتدا دستگاه pH متر دیجیتالی مدل (Az 8601) با بافرهای ۴ و ۷ کالیبره و سپس اندازه گیری pH آب میوه با دستگاه pH متر انجام گردید. از رفرکتومتر دستی مدل (ATAGO) برای اندازه گیری TSS استفاده گردید. همچنین در این تحقیق مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون بر حسب معادل اسید سیتریک محاسبه شد.

تهیه عصاره متانولی میوه ها: میوه‌ها با استفاده از نیتروژن مایع پودر شده و عصاره‌گیری متانولی از آنها با استفاده از دستگاه اولتراسونیک انجام گرفت. یک گرم از هر نمونه داخل فالکون‌های ۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شده و پس از اضافه کردن ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری به مدت نیم ساعت در اولتراسونیک و قدرت ۱۲۰هرتز (Elmasonic) در دمای ۳۰ درجه انجام گرفت.

اندازه‌گیری میزان فنل کل: اندازه‌گیری مواد فنولی با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو[1] صورت گرفت. برای این کار ابتدا ۱۰ میکرولیتر از عصاره متانولی میوه را برداشته و ۲۰۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد به مخلوط اضافه و بعد از ۵ دقیقه به آن ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد و در نهایت با آب دِیونیزه حجم آن به ۵ میلی‌لیتر رسید. پس از آن نمونه‌ها به مدت ۴۵-۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. نهایتاً جذب در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (MODEl: UV2100 PC) قرائت شد. آب دِیونیزه به عنوان شاهد و اسید گالیک به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. منحنی استاندارد بر اساس اسید گالیک، ترسیم و نتایج به صورت میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم وزن تر گزارش شد.

اندازه‌گیری فلاونوئید کل: برای سنجش میزان فلاونوئید کل ۵۰ میکرولیتر از عصاره غلیظ داخل لوله آزمایش ریخته شده و به آن ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت سدیم ۵ درصد اضافه گردید. پس از ۵ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد اضافه شد و در مرحله بعد ۱۰۰۰ µl سود ۱ نرمال به محلول حاصل اضافه و با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. در پایان جذب محلول حاصل در طول موج ۳۸۰ نانومتر نسبت به شاهد قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها براساس میلی‌گرم معادل کوئرستین در ۱ میلی‌لیتر عصاره میوه گزارش شد (Shi *et al.*, 2003).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH: برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH، ۳ میکرولیتر از عصاره متانولی نمونه را در یک لوله آزمایشی اضافه و به آن ۲۰۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH (از قبل آماده شده) اضافه شد. محلول حاصل تکان داده و در دمای آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری و جذب در طول موج ۵۱۶ نانومتر در اسپکتروفتومتر قرائت شد. جهت تهیه شاهد (بلنک) نیز به روش بالا عمل کرده فقط به جای عصاره از ۵۰ میکرولیتر متانول ۸۰ درصد استفاده شد (Nakajima *et al.*, 2004).

RSA= [(Abs control – Abs sample)/Abs control] ×100

Abs control: میزان جذب بلنک

Abs sample: میزان جذب نمونه

محتوی آنتوسیانین کل: آنتوسیانین با استفاده از روش اختلاف pH بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی در طول موج ۵۲۰ قرائت گردید. محتوی آنتوسیانین کل با استقاده از ضریب خاموشی سیانیدین ۳گلوکوزاید محاسبه شد و نتایج براساس سیانیدین ۳ گلوگوزاید در میلیگرم در لیتر وزن تر بیان گردید (Wrolstad et al., 2005).

اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز: پس از آماده سازی عصاره پروتیئنی، برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز به معرف‌های زیر نیاز است: به ۲ میلی‌لیتر بافر تریس ۱۰۰ میلی‌مولار (PH=7/5)، ۳۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۵ میلی‌مولار، ۲۰۰ میکرولیتر گایاکول ۱۰ میلی‌مولار که همگی آنها را در حمام یخ با هم مخلوط نموده و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه نموده و منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Klein et al., 2000).

[1]Folin-Ciocalteu

IrHC2019

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: فعالیت این آنزیم براساس اکسیداسیون اسیدآسوربیک و کاهش جذب در ۲۹۰ نانومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت، نمونه‌ها در ازت مایع پودر شدند و عصاره آنزیمی در بافر Na_2HPO_4/KH_2PO_4 با غلظت ۵۰ میلی مولار و pH=۷ استخراج گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شد. برای سنجش فعالیت آنزیم ۳۰۰ میکرولیتر از بافر فسفات سدیم (pH=۷) حاوی EDTA ۰/۲ mM، ۲۰۰ میکرولیتر اسیدآسکوربیک با غلظت ۰/۵ mM ، ۲۰۰ میکرولیتر آلبومین سرم گاوی (BSA) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی با هم مخلوط شد و واکنش بوسیله افزودن ۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن با غلظت ۲۵۰ mM آغاز گردید. تغییرات جذب به مدت سه دقیقه توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی اسید آسکوربیک (mM-1 cm-1) برحسب واحد µM ascorbic acid mg-1protein min-1 محاسبه شد (Nakano and Asada, 1981).

نتایج و بحث

نتایج خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی میوه های گیاه دارویی ارزشمند قره داغ (صفات pH، TSS، TA، فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (به روش DPPH)، فعالیت آنزیم پراکسیداز و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز) در جدول ۱ و ۲ آورده شده است.

جدول ۱- خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه دارویی قره داغ

	خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه دارویی قره داغ					
	pH	TSS	TA	فنل کل (mg GAE/g FW)	فلاونوئید کل (mg q/g FW)	آنتوسیانین کل (mg/L FW)
میزان	۳/۲۹	۱۰/۲۰	۰/۴۵	۳۹/۹۴	۱۷/۱۸	۵۷/۵۸

جدول ۲- خصوصیات آنتی اکسیدانی گیاه دارویی قره داغ

	خصوصیات آنتی اکسیدانی گیاه دارویی قره داغ		
	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (٪)	فعالیت آنزیم پراکسیداز (u/mg protein)	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (u/mg protein)
میزان	۴۶/۸۰	۷۶/۴۳	۶۳/۷۲

یکی از برنامه‌های مهم ستاد احیای دریاچه ارومیه و وزارت جهاد کشاورزی افزایش سطح زیر کشت گیاهان دارویی است اما کمبود آب و شوری خاک از عوامل محدودکننده توسعه این گیاهان می‌باشد. برای غلبه بر این مشکلات و محدودیت ها، شناسایی و کشت گیاهان دارویی مقاوم به خشکی و شوری که دارای خصوصیات ارزشمند دارویی باشند، در جهت احیای موثر دریاچه ارومیه امری ضروری به نظر می رسد. همانطور که در نتایج مشاهده شد گیاه ارزشمند قره داغ (که گیاهی مقاوم به شوری و خشکی می باشد) دارای پتانسیل های دارویی و آنتی اکسیدانی زیادی می باشد که با گسترش کشت این گیاه و جایگزینی این محصول با گیاهان حساس به شوری و گیاهانی که آب زیادی مصرف می کنند می توان گامی ارزشمند در سیاست های احیایی دریاچه ارومیه برداشت.

منابع

Zhang, L., Jianrong, L. I., Hogan, S., Chung, H., Gregory, E. and Zhou, W.K. 2010. Inhibitory effect of raspberries on starch digestive enzyme and their antioxidan properties and phenolic composition. Food Chemistry, 119: 592–599.

Ebrahimzadeh, M. A., Hosseinimehr, S. J., Hamidinia, A. and Jafari, M. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. Journal of Pharmacol-online, 1: 7-14.

IrHC2019

Zugic, A., Đordevic, S., Arsic, I., Markovic, G., Zivkovic, J., Jovanovic, S. and Tadic, V. 2014. Antioxidant activity and phenolic compounds in 10 selected herbs from *Vrujci Spa, Serbia*. Industrial Crops and Products, 52: 519-527.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248–254.

Wang, S.Y. and Lin, H.S. 2000. Antioxidant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. Agricultural and Food Chemistry, 48: 140–146.

Evaluation of phytochemical and antioxidant properties of *Nitraria schoberi* for plant development in saline regions

Elham Mirzamohammad[1], Abolfazl Alirezalu*[2], Esmaeil Sheidaei Karakaj[3], Amin Hazervazifeh[4]
[1] Department of Biology, Urmia University, Urmia, Iran
[2*] Department of Horticultural Sciences, Urmia University, Urmia, Iran
[3] Department of Range and Watershed Management, Urmia University, Urmia, Iran
[4] Department of Mechanical Engineering of Biosystem, University of Maragheh, Maragheh, Iran
Corresponding Author: a.alirezalu@urmia.ac.ir

Abstract

West Azerbaijan province is an important area in medicinal plants cultivation but salinity is one the biggest constraint to obtain crop potential yield in some part of the Urmia Lake coastline of medicinal plant cultivated area in this regions. In order to investigate the phytochemical and antioxidant response of *Nitraria schoberi* to the natural salinity levels, this experiment was conducted in the Department of Horticultural Sciences in Urmia University. In this research, after harvesting fruits from the Soporghan region of Urmia in the summer, pH level by pH meter, organic acids by titration with 0.1 molar NaOH, Soluble solids using a refractometer, total phenolic content (by using Folin–Ciocalteu assays), total flavonoid content (aluminum chloride method), antioxidant capacity by DPPH assay, total anthociyanin content (pH differential method), peroxidase and ascorbate peroxidase activities were determined. The results showed that level pH, organic acids and soluble solids were respectively 3.29, 0.45, 10.20, also values of total phenol content, total flavonoid, antioxidant activity and total anthocyanin content were 39.94 mg GAE g^{-1} DW, 17.18 mg Qu g^{-1} DW, 46.80 % and 57.58 mg L^{-1} Extract respectively. The values of peroxidase and ascorbate peroxidase activities were 76.43 and 63.72 mg q/g FW, respectively. The results of this study showed that *Nitraria schoberi* fruit has high content of polyphenol compounds and has significant antioxidant activity, so it can be cultivated in saline regions.

***Keywords*:** Total anthocyanin, Antioxidant, *Nitraria schoberi*, Total flavonoid, Total phenol.

IrHC2019