ارزیابی متابولیت‌های ثانویه ریحان تحت کاربرد کادمیم و سرب

بهمن فتاحی*[۱]، کاظم ارزانی[۲]، محمد کاظم سوری[۲]، محسن برزگر[۳]

[۱، ۲ و ۳] دانشجوی دکتری، استاد و استادیار گروه علوم باغبانی دانشگاه تربیت مدرس
[۴] استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه تربیت مدرس
*نویسنده مسئول: b.fattahi@modares.ac.ir

چکیده

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گیاهی یک‌ساله، از خانواده نعناع می‌باشد که به دو صورت تازه‌خوری و دارویی مصرف می‌شود. با توجه به اینکه گیاه ریحان مصرف دارویی نیز دارد، لذا ارزیابی میزان متابولیت‌های ثانویه در خاک‌های آلوده به کادمیم و سرب می‌تواند حائز اهمیت باشد. هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی میزان متابولیت‌های ثانویه (میزان اسانس، فلاونوئیدکل، فنول کل و خاصیت ضد اکسایشی) در گیاه ریحان تحت کاربرد کادمیم و سرب می‌باشد. به منظور تاثیر کادمیم (۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و سرب (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) روی صفات فیتوشیمیایی گیاه ریحان، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که درصد اسانس در شاهد از ۰/۲۸ درصد به ۰/۳۹ درصد در کادمیم ۲۰ پی‌پی‌ام رسید. با افزایش غلظت کادمیم و سرب، غلظت فنول کل در شاهد از ۱۸۸ میکروگرم به ۲۴۰ میکروگرم بر کیلوگرم و غلظت فلاونوییدهای کل از ۱۱۰ میکروگرم به ۱۳۴ میکروگرم بر کیلوگرم افزایش یافت. همچنین خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه ریحان نیز با کاربرد کادمیم و سرب افزایش یافت. با توجه به تاثیر مثبت کادمیم و سرب بر متابولیت‌های ثانویه ریحان، کشت این گیاهان به منظور استفاده از مواد موثره در مزارعی که هنوز متکی به آبیاری با فاضلاب شهری می‌باشند می‌تواند منجر به افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه و حذف عناصر سنگین خاک (اصلاح خاک) گردد.

کلمات کلیدی: ریحان، سرب، فنول کل، کادمیم، متابولیت‌های ثانویه.

مقدمه

سلامت بشر به استفاده از مواد غذایی و محیط سالم بستگی دارد، گیاهان به دلیل داشتن مواد مغذی، ویتامین ها و عناصر مورد نیاز بدن، مورد توجه عموم مردم قرار می گیرد. آلودگی های آب، هوا و خاک با عناصر سنگین روی سبزی ها و گیاهان تاثیر گذار هستند بطوریکه گیاهان می توانند از طریق خاک های آلوده، آب آبیاری و همچنین آلودگی هوا عناصر سنگین را در بافت‌های خود ذخیره کنند (Singh and Kumar, 2006).

ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum* L. از خانواده نعناع می‌باشد که علاوه بر مصرف تازه‌خوری به عنوان گیاه دارویی نیز مورد مصرف قرار می‌گیرند. کشت گیاهان در خاک‌های آلوده به کادمیم و سرب می‌تواند بسته به هدف کشت، تاثیر متفاوتی داشته باشد. ریحان از لحاظ دارویی ارزشمند بوده و حاوی اسانس، فلاونویید و رزمارینیک اسید می‌باشد. ریحان دارای خاصیت ضد اکسایشی، ضد میکروب، ضد باکتری، ضد قارچی، ضد انگلی می‌باشد (Tanrıkulu et al., 2018) ترکیب‌های فنلی (فلاونوییدها و آنتوسیانین‌ها)، سینامیک اسید، اسانس و ساپونین‌ها از مهمترین ترکیب‌های بخش‌های مختلف ریحان می‌باشند (Filip *et al*., 2017). میزان اسانس در گل ۰/۵ درصد و در برگهای ریحان ۱ درصد (v/w) گزارش گردیده است (Chalchat and Özcan, 2008).

IrHC2019

با توجه به اینکه ریحان به صورت دو منظوره (تازه خوری و دارویی) استفاده میگردد، لذا ارزیابی دارویی بودن گیاه (صفات فیتوشیمیایی) تحت غلظتهای مختلف کادمیم و سرب امری ضروری است. هدف از انجام این تحقیق، تاثیر کادمیم و سرب بر صفات فیتوشیمیایی (متابولیت های ثانویه) گیاه ریحان می باشد.

مواد و روش‌ها

برای جداسازی میزان اسانس مقدار ۵۰ گرم سرشاخه گل‌دار ریحان خشک را با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت با روش تقطیر با آب استخراج گردید. قبل از آنالیز اسانس را در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داری شد. میزان اسانس بر حسب درصد (v/w) محاسبه گردید.

برای اندازه‌گیری محتوای آنتی‌اکسیدان‌کل، ۵۰ میکرولیتر عصاره متانولی را با ۹۵۰ میکرولیتر DDPH مخلوط کرده و بعد از ۱۵ الی ۳۰ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید (Chiou *et al.*, 2007).

AC: میزان جذب بلنک

$$AC-AS/AS \times 100$$

AS: میزان جذب نمونه

به منظور اندازه‌گیری فنول کل ابتدا به ۳۰ میکرولیتر عصاره متانولی، ۹۰ میکرولیتر آب و ۶۰۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد اضافه شده و در نهایت ۱/۵ الی ۲ ساعت درجای تاریک نگهداری گردید تا ر نگ نمونه ها به بنفش تغییر کند و سپس با دستگاه اسپکتروفتومتر و طول موج ۷۶۵ نانومتر قرایت شد. در نهایت مقدار جذب (Y) را در معادله حاصل از کالیبراسیون جای گذاری کرده تا مقدار فنول کل (X) بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک (µg/g DW) به دست آید (Slinkard and Singleton, 1977).

به منظور اندازه‌گیری فلاونویید کل ابتدا به ۵۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی، ۱۵۰ میکرولیتر نیتریت سدیم اضافه کرده و پس از ۵ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر کلرید آمونیوم ۱۰ درصد اضافه شده و پس از ۵ دقیقه یک میلی لیتر سود یک مولار اضافه و درنهایت حجم نهایی با آب مقطر به ۵ میلی لیتر رسانده شد و سپس با دسستگاه اسپکتروفتومتری و ۳۸۰ نانومتر قرایت شد. مقدار جذب (Y) را در معادله زیر جایگذاری کرده تا مقدار فلاونویید کل (X) بر حسب (g Qu/gr µDW) به دست آید. از کویرسیتین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استفاده گردید (Shin *et al.*, 2007).

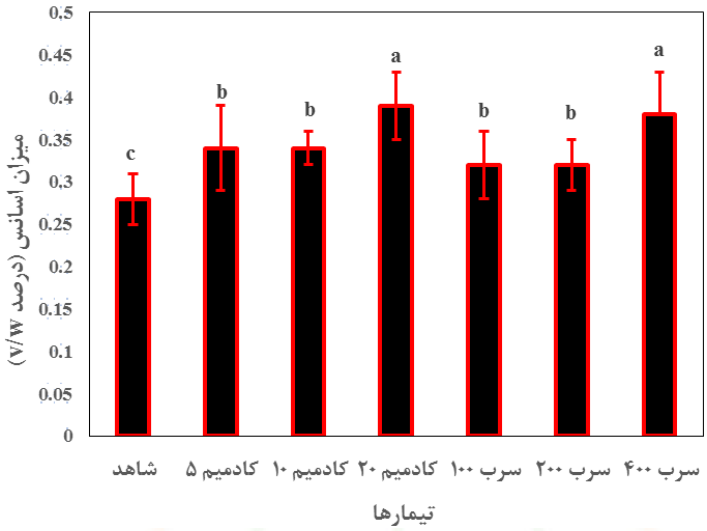
در پایان با استفاده از داده‌های حاصل از نتایج بر اساس طرح کاملا تصادفی مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند و برای مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ با استفاده از نرم افزار آماری SAS انجام گردید.

نتایج و بحث

تاثیر کادمیم و سرب بر میزان اسانس

رنگ اسانس استخراج شده از ریحان به رنگ زرد بود و مقدار آن از ۰/۲۸ تا ۰/۳۹ درصد حجمی به وزنی (v/w) وزن خشک متغیر بود. کمترین میزان اسانس در تیمار شاهد (۰/۲۸) درصد و در تیمار کادمیم ۲۰ (۰/۳۹) درصد بیشترین مقدار بود. با افزایش غلظتهای کادمیم و سرب میزان اسانس نیز افزایش یافت (نمودار ۱). در گزارشات قبلی میزان اسانس ۰/۳۲ درصد گزارش گردید. گیاهان در مواجه با شرایط تنش، با سنتز برخی از متابولیت‌های ضروری بر تنش غلبه می‌کنند (Turan *et al.*, 2012).

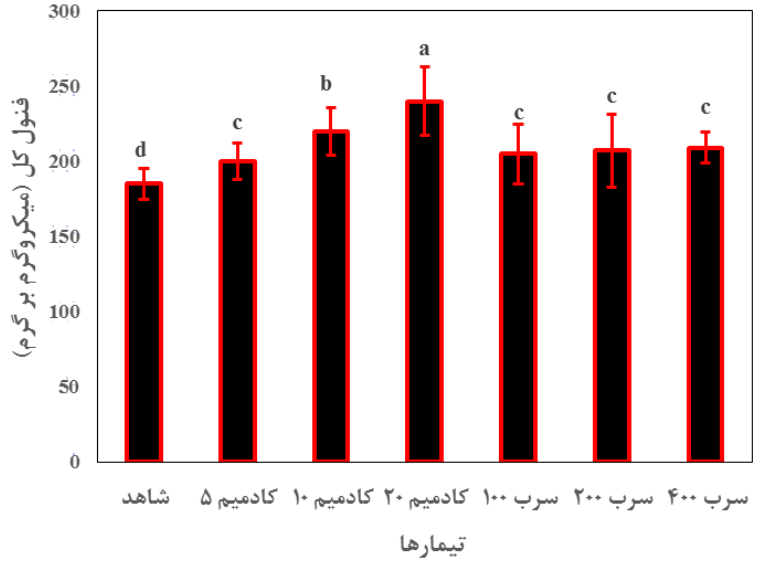
IrHC2019



نمودار ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف کادمیم و سرب بر میزان اسانس ریحان

تاثیر کادمیم و سرب بر فنول کل

میزان فنول کل در برگ‌های ریحان در تیمار شاهد برابر با ۱۸۵ میکروگرم بر کیلوگرم وزن خشک گزارش گردید. بیشترین غلظت فنول کل در کادمیم ۲۰ پی‌پی‌ام بود (نمودار ۲). در تیمارهای سرب نیز، افزایش جزئی در میزان فنول کل مشاهده گردید (نمودار ۲). در آزمایش‌های قبلی محققین، میزان غلظت فنول برگ گشنیز ۹۸/۴ میکروگرم بر گرم گزارش شده که با افزایش میزان عنصر روی این مقدار در تیمار ۲ میلی مولار روی به ۱۷۹/۱ میکروگرم بر گرم رسید (Marichali *et al.*, 2014).

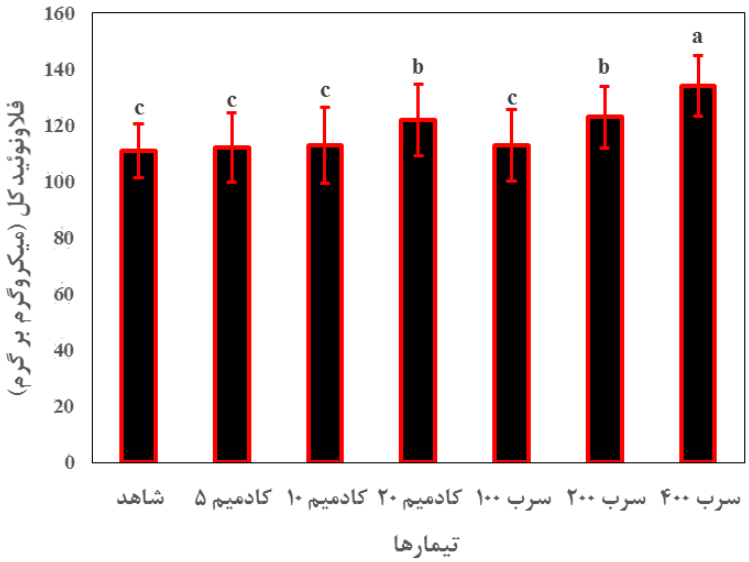


نمودار ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف کادمیم و سرب بر فنول کل ریحان

IrHC2019

تاثیر کادمیم و سرب بر فلاونوئید کل

میزان غلظت فلاونوئید کل در برگ‌های ریحان در شاهد برابر با ۱۱۲ میکروگرم بر کیلوگرم گزارش گردید. با افزایش غلظت کادمیم ۵ و ۱۰ میزان فلاونوئید کل اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید درحالی‌که در کادمیم ۲۰، میزان فلاونویید کل برابر با ۱۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم رسید. همچنین با افزایش غلظت‌های سرب میزان فلاونوئید کل در تیمار سرب ۴۰۰ به ۱۳۴ میکروگرم بر گرم افزایش یافت (نمودار ۴).

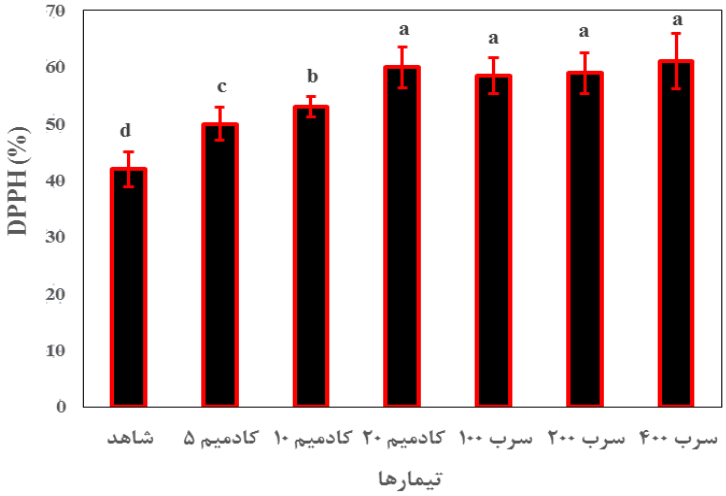


نمودار ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف کادمیم و سرب بر میزان فلاونوئید کل ریحان

تاثیر کادمیم و سرب بر آنتی اکسیدان کل

خاصیت ضد اکسیدانی عصاره برگی ریحان در تیمارهای اعمال شده بین ۴۲ تا ۶۰ درصد متغیر بود. به طوری‌که بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به تیمار کادمیم ۲۰ و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به تیمار شاهد گزارش گردید. بین تیمارهای سرب اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (نمودار ۴). خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره، با افزایش میزان فنول کل افزایش می‌یابد که می‌توان گفت فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه مربوط به فعالیت ترکیبات فنولی است (Wang *et al*., 2014).

IrHC2019



نمودار ۴- تاثیر غلظت‌های مختلف کادمیم و سرب بر خاصیت آنتی اکسیدانی ریحان

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به مصرف دارویی گیاه ریحان، ارزیابی میزان متابولیت‌های ثانویه در مزارع آلوده به کادمیم و سرب نیز می‌تواند حائز اهمیت باشد. ارزیابی میزان اسانس، فلاونوئید و فنول کل و همچنین خاصیت ضد اکسایشی گیاه ریحان نشان داد که کادمیم و سرب تاثیر مثبتی روی متابولیت‌های ثانویه گیاه ریحان دارد لذا توصیه می‌گردد در خاک‌های آلوده به عناصر سنگین گیاه ریحان را به منظور خاصیت دارویی و مواد موثره کشت شود تا علاوه بر افزایش کمی مواد موثره در اصلاح خاک (گیاه پالایی) نیز موثر باشد.

منابع

Chalchat, J. C. and Özcan, M. 2008. Comparative essential oil composition of flowers, leaves and stems of basil (*Ocimum basilicum* L.) used as herb. Food Chemistry, 110(2): 501-503.

Chiou, A., Karathanos, V.T., Mylona, A., Salta, F.N., Preventi, F. and Andrikopoulos, N.K. 2007. Currants (*Vitis vinifera* L.) content of simple phenolics and antioxidant activity. Food chemistry, 102: 516-522.

Filip, S., Pavlić, B., Vidović, S., Vladić, J. and Zeković, Z. 2017. Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds from *Ocimum basilicum* by response surface methodology. Food Analytical Methods, 10(7): 2270-2280.

Marichali, A., Dallali, S., Ouerghemmi, S., Sebei, H. and Hosni, K. 2014. Germination, morpho-physiological and biochemical responses of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to zinc excess. Industrial crops and products, 55: 248-257.

Shin, Y., Liu, R.H., Nock, J.F., Holliday, D. and Watkins, C.B. 2007. Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry. Postharvest Biology and Technology, 45: 349-357.

Singh, A. S. and Lal, E. P. 2018. Effect of different Cadmium concentrations on seed germination of *Ocimum basilicum* L. (Sweet Basil). Journal of Science and Technology, 4: 51-54.

Slinkard, K. and Singleton, V. L. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture, 28(1): 49-55.

Tanrıkulu, G. İ., Ertürk, O., Yavuz, C., Can, Z. and Çakır, H. E. 2018. Chemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and extracts of Lamiaceae family (*Ocimum basilicum* and *Thymbra spicata*) from Turkey. International Journal of Secondary Metabolite, 4(3): 340-348.

Turan, S., Cornish, K. and Kumar, S. 2012. Salinity tolerance in plants: breeding and genetic engineering. Australian Journal of Crop Science, 6(9): 1337.

Wang, J. Y., Wu, H. L., Sun, Y. M., Gu, H. W., Liu, Z., Liu, Y. J., and Yu, R. Q. 2014. Simultaneous determination of phenolic antioxidants in edible vegetable oils by HPLC–FLD assisted with second-order calibration based on ATLD algorithm. Journal of Chromatography B, 947: 32-40.

IrHC2019

Evaluation of secondary metabolites of basil (*Ocimum basilicum* L.) under cadmium and lead concentration

Bahman Fattahi[*1], Kazem Arzani[2], Mohammad Kazem Souri[3], Mohsen Barzegar[4]

[1,2&3] Department of Horticultural Science, [4]Department of Food Science and Technology, Tarbiat Modares University (TUM), P.O. Box 14115-336, Tehran, Iran.

[*]*Corresponding Author: b.fattahi@modares.ac.ir*

Abstract

Basil (*Ocimum basilicum* L.) from Lamiaceae family, is major leafy vegetable that are grown as annual herbs. Basil is consumed freshly and have various medicinal applications as well. Therefore, can be important evaluation of secondary metabolites in soils contaminated with Cd and Pb. The aim of this study was to evaluate the Cd and Pb concentrations in secondary metabolites (essential oil, flavonoids, total phenol and antioxidant properties) in basil plants. In order to, the effects of Cd (0, 5, 10 and 20 mg / kg soil) and Pb (0, 100, 200 and 400 mg / kg soil) on phytochemical traits of basil were evaluated in a completely randomized design (CRD) with four replications. The results showed that the percentage of essential oil in the control treatment, from 0.28% to 0.39% in Cd_{20} treatment. By increasing the concentration of Cd and Pb, the total phenol concentration in the control treatment from 188 µg/gr increased to 240 µg/gr and total flavonoid concentration reported of 250-280 µg/gr. Also, increased the antioxidant properties of the basil, with the application of Cd and Pb concentration. Considering that the positive effect of Cd and Pb on secondary metabolites of basil, cultures in soil contaminated of Cd and Pb, can increase the amount of secondary metabolites and remove heavy metals in soil (soil remediation).

Keywords*:* Basil, Cadmium, Lead, Total phenol, Secondary metabolites.

IrHC2019