

ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل در برخی ارقام مختلف گل داوودی (*Dendranthema morifolium* Ramat.)

شیرین تقی پور^۱، عبدالله احتشام‌نیا^{۲*}، حامد خدایاری^۲، حسن مومیوند^۲

^۱دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

^۲استادیار علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

چکیده

گل داوودی به دلیل حضور ترکیبات زیستی و آنتی‌اکسیدانی متفاوت در ارقام مختلف به‌عنوان یکی از گیاهان دارویی در عرضه جهانی محسوب می‌گردد. در این آزمایش، ۲۵ رقم گل داوودی از نظر شاخص آنتی‌اکسیدانی، میزان فنول و فلاونوئید کل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه لرستان بررسی شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده در میان ارقام مختلف میزان کل ترکیبات فنلی بین ۴۷/۹۰-۱۴/۵۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک، میزان فلاونوئید کل بین ۵۵/۶۲-۱۱/۹۱ میلی‌گرم بر گرم و IC_{50} بین ۲۲۸-۵۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود. بیش‌ترین میزان فنل کل در ارقام آوادیس و دیلا (۸۶/۹۰-۴۵/۴۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) وجود داشت، در حالی که رقم یاسمین (۱۴/۵۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) دارای کمترین میزان آن بود. همچنین از نظر مقدار فلاونوئید کل ارقام گلنار و فرخانز به‌ترتیب با ۵۵/۶۲ و ۵۳/۰۱ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم دارای بیش‌ترین میزان فلاونوئید کل بودند. تجزیه خوشه‌ای همه ارقام مورد مطالعه را به پنج گروه تقسیم‌بندی نمود. بنابراین می‌توان عصاره گل‌های داوودی را به‌عنوان یک منبع مناسب آنتی‌اکسیدانی طبیعی معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: داوودی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئید، فنل

مقدمه

گل داوودی (*Dendranthema morifolium*) به دلیل طعم و بوی مطبوع و آرامش بخش، رنگ‌های جذاب، و اهداف دارویی به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان غذا، چای، تزئینات و دارو استفاده شده است (Wang et al., 2020). این گیاه متعلق به تیره Asteraceae، و یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی و دارویی در عرصه جهانی به‌شمار می‌رود (Da Silva, 2003). اخیراً ثابت شده است ترکیبات فنولیک‌ها توانایی درمان یا تسکین سرطان، دیابت و سکتة مغزی را دارند و گل‌های داوودی را به مکمل‌های جذاب برای تولید غذاها و نوشیدنی‌های کاربردی تبدیل می‌کند (Ma et al., 2020). خواص زیستی فراوانی مانند خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب، ضدباکتری و ضدویروس ایدز (HIV) برای گل داوودی شناخته شده است (Wang et al., 2008). در مطالعه‌ای Duh و همکاران (۱۹۹۹) با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره چهار رقم گل داوودی، فعالیت قوی آنتی‌اکسیدانی هر چهار رقم را در مدل سیستم‌های اسید لینولئیک و لیپوزوم تایید کرده و رقم دارای بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را معرفی نمودند. با وجود اینکه داوودی یکی از گیاهان زینتی و دارویی پرمصرف بازار جهانی محسوب می‌شود، اما در سال‌های گذشته پژوهش‌های منسجم و کافی روی ارقام مختلف آن انجام نشده و عمده مطالعات به خصوصیات زینتی معطوف بوده است. بنابراین اطلاعات اندکی در زمینه ارزیابی تنوع ژنتیکی، خواص آنتی‌اکسیدانی و صفات فیتوشیمیایی ارقام مختلف گل داوودی، به‌ویژه در ایران، در دسترس می‌باشد. در این مطالعه ارقام مورد مطالعه گل داوودی از لحاظ دارا بودن ترکیبات ثانویه و خواص دارویی مطلوب به‌منظور معرفی ارقام برتر و برنامه‌ریزی هدفمند برای پژوهش‌های به‌نژادی مورد ارزیابی قرار گرفتند. هدایی و همکاران (۲۰۱۹)، در مطالعه‌ای با ارزیابی برخی ترکیبات زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ و میزان اسانس گل داوودی پرداختند. نتایج حاصله نشان از فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی اکثر ارقام مورد بررسی بود. در بررسی چانگ و همکاران (۲۰۱۳) ترکیبات فرار گل‌های داوودی

(*Chrysanthemum morifolium*) مورد بررسی قرار رفت. در این مطالعه ارقام گل داوودی از لحاظ دارای بودن ترکیبات ثانویه و خواص دارویی مطلوب به منظور معرفی ارقام برتر و برنامه‌ریزی هدفمند برای پژوهش‌های به‌نژادی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۳۰ رقم گل داوودی اصلاح شده به روش دورگه‌گیری در پژوهش‌شکده تحقیقات گل و گیاهان زینتی محلات تهیه و در دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان در سال ۱۳۹۷ مورد بررسی قرار گرفتند.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره با روش DPPH: قدرت عصاره گیاهی در به دام انداختن رادیکال‌های آزاد DPPH بر اساس روش کولیسیک و همکاران (۲۰۰۴) اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره متانولی، در غلظت‌های مختلف (۵۰ ppm، ۱۵۰ و ۳۰۰) تهیه شد، سپس ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH ۰/۱ میلی‌مولار به نمونه‌ها افزوده گردید. سپس جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. یک نمونه حاوی ۰/۱ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد و ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH به‌عنوان کنترل استفاده شد. جهت بررسی فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال DPPH از شاخص IC_{50} استفاده شد. IC_{50} بیانگر مقدار میلی‌گرم عصاره است که قادر به حذف ۵۰ درصد از رادیکال‌های DPPH موجود در محیط می‌باشد. به‌منظور بررسی بهتر این فعالیت از آنتی‌اکسیدان سنتزی (Butylated Hydroxy Toluene) BHT به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

ارزیابی فلاونوئید کل: میزان فلاونوئید با روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید، اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۰/۱ گرم از برگ گیاه با متانول ۸۰ درصد به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسیده و سپس عصاره حاصل روی شیکر با سرعت ۱۱۰۰rpm به مدت ۸ ساعت قرار گرفت.

ارزیابی فنل کل برگ: مقدار فنل کل موجود در عصاره برگ‌های این گیاه به‌وسیله رنگ‌سنجی فولین-سیوکالتیو و به روش اسلینکارد و سینگلتون (۱۹۷۷) مورد بررسی قرار گرفت برای این منظور مقدار ۲/۵ گرم پودر برگ خشک شده گیاه به همراه ۵۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره استخراجی رقیق شده با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین-سیوکالتو رقیق شده و ۲ میلی‌لیتر از معرف کربنات سدیم ۷/۵ درصد به خوبی مخلوط و لوله‌های آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه در حمام بن‌ماری ۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم افزار SAS.9.1 و آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام و رسم نمودار با نرم‌افزار اکسل صورت گرفت. تجزیه خوشه‌ای داده‌ها به روش Ward با استفاده از نرم افزار مینی تب انجام شد.

نتایج و بحث

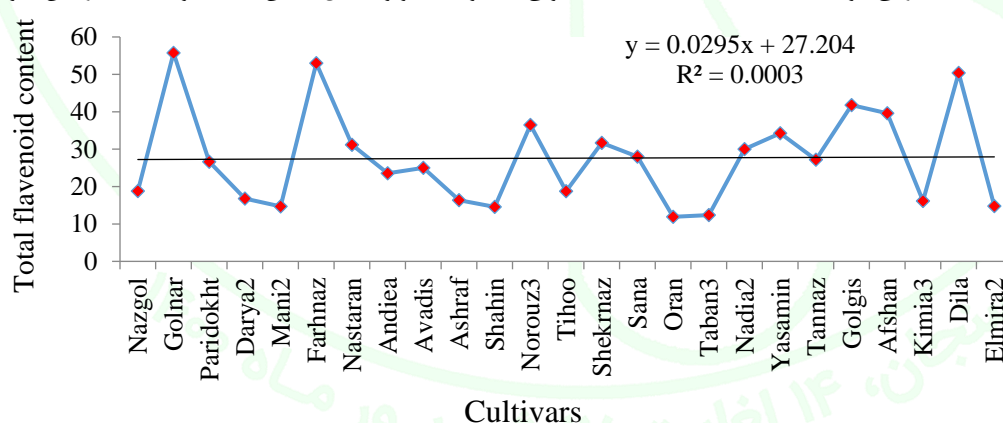
نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که ارقام داوودی مورد مطالعه از نظر همه صفات فیتوشیمیایی مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی‌دار بودند.

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی در ارقام گل داوودی.

| منبع تغییرات | درجه آزادی | فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC ₅₀) | فلاونوئید کل | فنول کل |
|------------------|------------|--|---------------------|---------------------|
| بلوک | ۲ | ۵۴۴۳/۱۷** | ۴۹۸/۸۶** | ۲۸۸/۷۹** |
| رقم | ۲۴ | ۴/۸۶ ^{ns} | ۰/۷۵۲ ^{ns} | ۰/۱۹۸ ^{ns} |
| خطا | ۴۸ | ۹/۰۹ | ۲/۲۰۸ | ۳/۱۵ |
| کل | ۷۴ | - | - | - |
| ضریب تغییرات (%) | - | ۲/۳۶۵ | ۱/۵۸۶ | ۲۲/۳۸۹ |

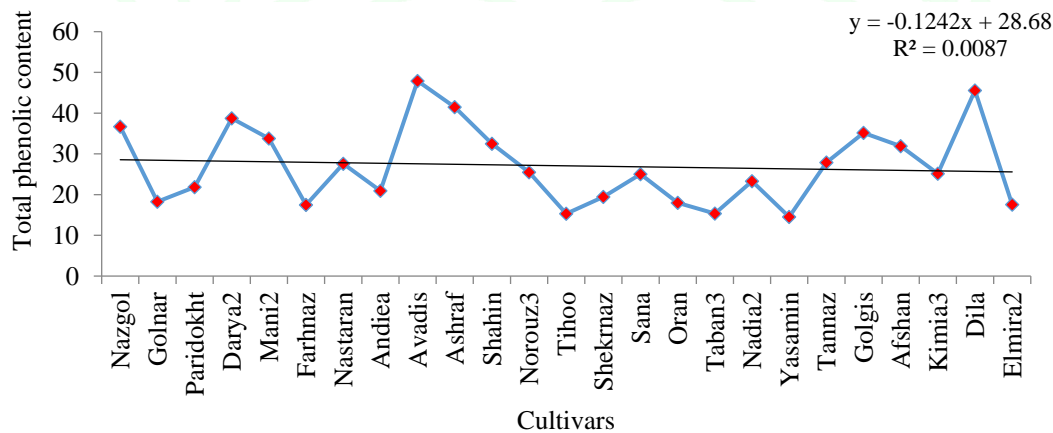
ns و ** به ترتیب غیر معنی‌داری، معنی‌داری در سطح ۵ درصد و معنی‌داری در سطح ۱ درصد.

محتوای فلاونوئید کل استخراج شده از گل‌های خشک‌شده در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده، بیش‌ترین میزان ترکیبات فلاونوئیدی به رقم 'گلنار' (۵۵/۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و کم‌ترین میزان آن به رقم 'دایلا' (۱۱/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) اختصاص داشت. دوه و همکاران (۱۹۹۹) محتوای کل فلاونوئید عصاره آبی گونه *C. morifolium* در ارقام چینی را ۱۰/۸۳ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم گزارش نمودند. بر این اساس محتوای فلاونوئید عصاره متانولی این گونه در ارقام ایرانی بیش‌تر از این میزان در عصاره آبی ارقام چینی می‌باشند. این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع ارقام مورد بررسی یا حلال‌های مختلف (آبی، متانولی) باشد. رنج‌های مختلفی از میزان فلاونوئید کل در گونه‌های مختلف داوودی در دیگر کشورها بر اساس کاربرد استانداردها و حلال‌های مختلف گزارش شده است. هدایی و همکاران (۲۰۱۹)، با بررسی ارقام هیبرید داوودی‌های ایرانی گونه *C. morifolium* با عصاره متانولی، محتوای فلاونوئید کل را بین ۱۲/۶۲ و ۵۳/۱۷ گزارش نمودند.



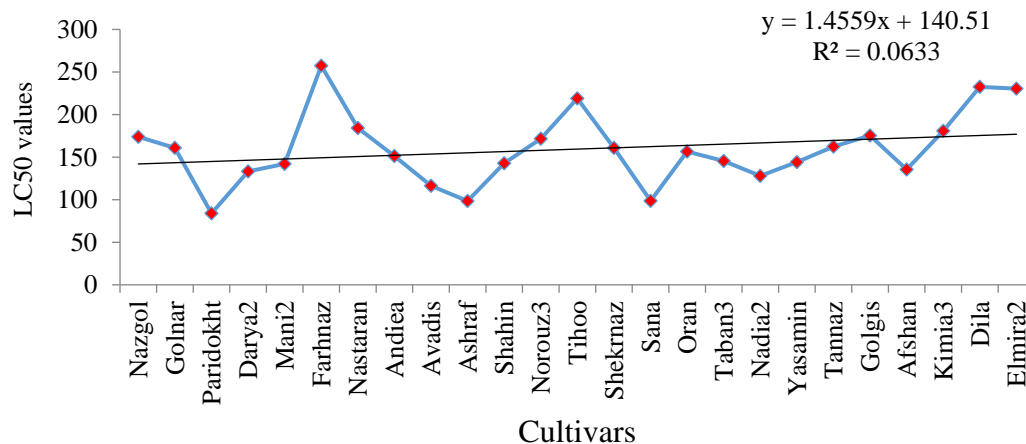
شکل ۱- محتوای فلاونوئید کل ارقام مختلف گل داوودی.

بر اساس نتایج به‌دست آمده، بیش‌ترین میزان ترکیبات فنولیک به ارقام 'آوادیس' و 'دیلا' (۴۷/۹۰ و ۴۵/۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) و کم‌ترین میزان آن به رقم 'یاسمین' (۱۴/۵۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) مربوط بود. دوه و همکاران (۱۹۹۹) میزان ترکیبات فنولیک عصاره آبی گونه *C. morifolium* در ارقام چینی را بین ۳۲/۳ تا ۵/۷ گزارش کرد. در مطالعه هدایی و همکاران (۱۳)، محتوای ترکیبات فنولیک بین ۱۷/۶۳ و ۳۳/۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک متغیر بود.



شکل ۲- محتوای فنل کل ارقام مختلف گل داوودی.

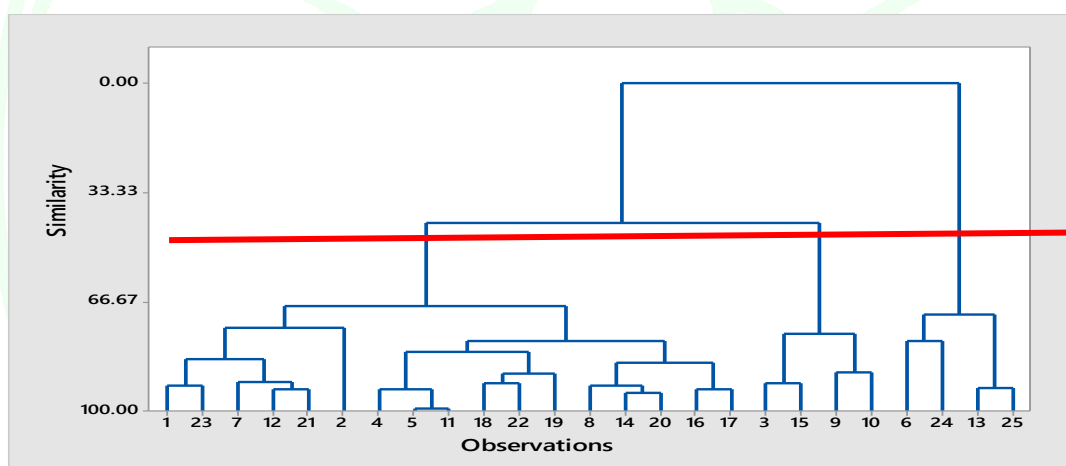
شاخص IC_{50} اندازه‌گیری شده در ارقام مورد بررسی، طیف گسترده‌ای را از بیشینه ۲۵۷/۴۳۳ تا کمینه ۸۳/۹۲ میکروگرم/میلی‌لیتر، به‌ترتیب در ارقام 'فرحناز' و 'پریدخت' به خود اختصاص داد. بنابراین رقم 'پریدخت' و در رتبه‌های بعدی ارقام 'شرف' و 'ثنا' بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به سایر ارقام و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT داشتند (شکل ۳). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی خود به‌عنوان ترکیبات دارویی مهم قابل توجه هستند. تنوع مشاهده شده در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ارقام مورد مطالعه، علاوه بر این که بیانگر فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی عصاره گل‌های گیاه داوودی می‌باشد، تفاوت بالای ژنتیکی بین ارقام و تنوع در صفت مورد بررسی را نیز نشان می‌دهد. کاربرد انواع استانداردها و حلال‌های مختلف در اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی مقایسه را دشوار می‌سازد. دوه و همکاران (۱۹۹۹) میزان فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره آبی در ارقام داوودی چینی را ۷۱ تا ۹۵ درصد گزارش نمود.



شکل ۳- مقادیر IC_{50} اندازه‌گیری شده در ارقام گل داوودی.

تجزیه خوشه‌ای

تجزیه خوشه‌ای برای تمام صفات اندازه‌گیری شده به روش حداقل واریانس Ward صورت گرفت. مناسب‌ترین نقطه برش دندروگرام همه ارقام داوودی مورد مطالعه را به سه گروه تقسیم‌بندی نمود (شکل ۴). گروه اول شامل ارقام نازگل، گلنار، نسترن، نوروز ۳، گل‌گیس و کیمیا ۳ بود که به دو زیر گروه تقسیم شدند. زیر گروه اول ارقام نازگل، نسترن، نوروز ۳، گل‌گیس و کیمیا ۳ را شامل شدند که این ارقام با داشتن میزان متوسط و مشابهی از IC_{50} و میانگین درصد اسانس بین ۰/۳-۰/۵۳ در بین ارقام مورد مطالعه بودند. رقم گلنار به تنهایی در زیر گروه دوم گروه اصلی اول قرار گرفتند. این رقم دارای میزان فلاونوئید بالاتری نسبت به سایر ارقام این کلاستر برخوردار بود که آن‌ها را از زیر گروه اول، گروه اول متمایز می‌نمود. زیرخوشه دوم کلاستر اول، بیشترین میزان ارقام را شامل شد. این گروه دارای سطح مطلوبی از میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئید و درصد اسانس بودند. گروه اصلی دوم شامل ارقام فرحناز، تیهو، اوران و تابان ۳ بود. گروه سوم نیز به دو زیرخوشه تقسیم شد، در زیرخوشه اول ارقام فرحناز و دیلا قرار گرفتند، دارای تشابه فراوانی از نظر قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و میزان کل فلاونوئید بودند و از سایر ارقام متمایز شدند (شکل ۴). در مطالعه هدایی و همکاران (۲۰۱۹)، تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات زیست فعال ارقام مورد بررسی را به ۵ گروه اصلی تقسیم‌بندی نمودند.



شکل ۴- تجزیه خوشه‌ای ارقام گل داوودی مورد مطالعه بر اساس صفات فیتوشیمیایی.

ارقام گل داوودی: ۱- نازگل، ۲- گلنار، ۳- پریدخت، ۴- دریا، ۵- مانی، ۶- فرحناز، ۷- نسترن، ۸- آندیا، ۹- آودیس، ۱۰- اشرف، ۱۱- شهین، ۱۲- نوروز ۳، ۱۳- تیهو، ۱۴- شکرناز، ۱۵- ثنا، ۱۶- اوران، ۱۷- تابان ۳، ۱۸- نادیا، ۱۹- یاسمین، ۲۰- طناز، ۲۱- گل‌گیس، ۲۲- افشان، ۲۳- کیمیا ۳، ۲۴- دیلا، ۲۵- المیرا.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر، نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در بین ارقام مختلف از نظر مقدار کل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی بوده که وجود چنین تنوعی می‌تواند نقش رقم و ژنتیک در تولید این ترکیبات باشد. بر اساس نتایج این مطالعه ارقام گل داوودی با دارا بودن سطح مطلوبی از ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی می‌تواند به عنوان یک منبع آنتی‌اکسیدان طبیعی به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان مصنوعی مورد استفاده قرار گیرد. در این مطالعه ارقام ثنا، پریدخت و اشرف از نظر صفات فیتوشیمیایی و ضدباکتریایی مورد بررسی برتر از ژنوتیپ‌های موجود ظاهر شدند. نتایج حاصل از این پژوهش را می‌توان در جهت انتخاب صحیح والدین برای انجام تلاقی‌های هدفمند در برنامه‌های اصلاحی بعدی گل داوودی به منظور بهبود صفات فیتوشیمیایی ارقام موجود به کار برد.

منابع

- Chang, K.M. and Kim, G.H. 2013. Volatile aroma constituents of gukhwa (*Chrysanthemum morifolium* Ramt.). Food Science and Biotechnology, 22(3): 659-663.
- Duh, P.D., Tu, Y.Y. and Yen, G.C. 1999. Antioxidant activity of water extract of Harnng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). Food Science and Technology, 32: 269-277.
- Hodaei M., Rahimmalek, M. and Arzani, A. 2019. Evaluation of some bioactive compounds and antioxidant activity of leaf methanolic extract and flower essential oil content from different cultivars of *Chrysanthemum morifolium*. Journal of Plant Production Research, 25(4): 133-143. (In Persian with English abstract).
- Kulisc T., Radinoc A., Katalinic, V. and Milos, M. 2004. Use of different method for testing antioxidative activity of orange essential oil. Food Chemistry, 85: 633-640.
- Ma, Y.L., Sun, P., Feng, J., Yuan, J., Wang, Y., Shang, Y.F. and Wei, Z.J. 2020. Solvent effect on phenolics and antioxidant activity of Huangshan Gongju (*Dendranthema morifolium* (Ramat) Tzvel. cv. Gongju) extract. Food and Chemical Toxicology, 111875.
- Sclinkard, K. and Singleton, V.L. 1977. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture, 28: 49-55.
- Wang, Y., Li, J., Xu, Z., Li, M., Wang, K., Pang, S. and Ni, Y. 2020. The formation process of green substances in *Chrysanthemum morifolium* tea. Food Chemistry, 326: 127028.
- Wang, Y.J., Yang, X.W. and Guo, Q.S. 2008. Studies on chemical constituents in Huangjuhua (flowers of *Chrysanthemum morifolium*). Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 33: 526-530.

Evaluation of antioxidant properties of phenol and total flavonoids in some different chrysanthemum (*Dendranthema morifolium* Ramat.) cultivars

Shirin Taghipour¹, Abdullah Ehteshamonia^{*2}, Hamed Khodayari², Hassan Momivand²

¹PhD student (Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Lorestan, Iran)

²Assistant Professor (Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Lorestan, Iran)

Abstract

Chrysanthemum is considered as one of the medicinal plants in the global supply due to the presence of different biological compounds and antioxidants in different cultivars. In this experiment, 25 *chrysanthemum* cultivars were evaluated in terms of antioxidant index, phenol content and total flavonoids in a randomized complete block design in the research farm of Lorestan University. According to the results obtained, among different cultivars, the total amount of phenolic compounds was between 14.52-47.90 mg /g dry weight, the total flavonoid content was between 11.51-55.62 mg /g and the IC₅₀ was between -228.54 µg /ml were variable. The highest amount of total phenol was in Avadis and Dila cultivars (45.86-47.90 mg /g dry weight), while Yasmin cultivar (14.52 mg / g dry weight) had the lowest. Also, in terms of total flavonoid content, Golnar and Farahnaz cultivars had the highest total flavonoid content with 55.62 and 53.01 mg / g, respectively. Cluster analysis divided all studied cultivars into five groups. Therefore, *chrysanthemum* extract can be introduced as a suitable source of natural antioxidants.

Keywords: Antioxidant activity, *Chrysanthemum*, Flavonoids, Phenol