



بررسی تغییرات میزان فنل کل، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی در خشخاش کبیر (*Papaver bracteatum* Lindl.) تحت تیمار سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات

یوسف حکیمی^۱، محمدرضا فتاحی مقدم^{*۲}، محمدرضا نقوی^۳، ذبیح اله زمانی^۴

^۱دانشجو کارشناسی ارشد (گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران)

^۲و^۴استاد (گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران)

^۳استاد (گروه زراعت، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران)

^{*}نویسنده مسئول: fattahi@ut.ac.ir

چکیده

گیاهان منبع غنی از ترکیبات فنلی هستند که مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌آیند. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از شیوع بیماری‌های مزمن و تخریب بسیاری از مواد غذایی جلوگیری می‌کنند. این تحقیق با هدف ارزیابی و مقایسه خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی خشخاش کبیر تحت تیمارهای سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات انجام گرفت. بدین منظور آزمایشی در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی بر روی سه جمعیت مختلف خشخاش کبیر صورت گرفت. شاخص‌های فیتوشیمیایی محتوای فنل کل (روش فولین سیکالتو)، فلاونوئید کل (روش آلومینیوم کلراید) و فعالیت آنتی اکسیدانی (روش DPPH) ارزیابی شدند. تیمارهای الیستوری به صورت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر روی میزان فنل کل، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تأثیر گذاشت. بیشترین میزان ضریب تغییرات به ترتیب با مقدار ۲۴/۲۴، ۲۱/۱۹ و ۳/۴۵ درصد مربوط به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و فلاونوئید کل بود. به طور کلی مشخص شد که افزایش غلظت سالیسیلیک اسید سبب افزایش مقدار فنل کل و فلاونوئید کل می‌شود. همچنین با توجه به مقایسات میانگین می‌توان نتیجه گرفت بین تمامی تیمارهای الیستوری اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد در شاخص‌های اندازه‌گیری شده مشاهده شد.

مقدمه

از زمان‌های بسیار قدیم، داروهای گیاهی برای تسکین علائم بیماری مورد استفاده قرار می‌گرفتند. با وجود پیشرفت‌های چشمگیری که در دهه‌های اخیر در پزشکی مدرن مشاهده شده است، گیاهان هنوز سهم مهمی در مراقبت‌های بهداشتی دارند. با این حال، علاقه زیاد به گیاهان دارویی از استفاده طولانی مدت از آن‌ها در داروهای محلی و همچنین خواص پیشگیری آن‌ها، به ویژه در کشورهای در حال توسعه ناشی می‌شود. تعداد زیادی از گیاهان دارویی از نظر خواص آنتی‌اکسیدانی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی یا به صورت عصاره‌های خام یا ترکیبات شیمیایی حاصل از آن‌ها برای جلوگیری از فرآیندهای مخرب ناشی از استرس‌های اکسیداتیو بسیار اثربخش هستند (Zengin *et al.*, 2011).

نقش واکنش‌های رادیکال‌های آزاد در آسیب شناسی بیماری کاملاً اثبات شده است و شناخته شده است که در بسیاری از اختلالات حاد و مزمن در انسان مانند دیابت، تصلب شرایین، پیری، سرکوب سیستم ایمنی و تخریب سلول‌های عصبی نقش دارند (Harman, 1992). مطالعات انجام شده بر روی گیاهان دارویی، سبزی‌ها و میوه‌ها وجود آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند فنل‌ها، فلاونوئیدها را نشان داده است. محتوای آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی ممکن است در محافظت از بیماری‌ها نقش داشته باشد (Gülcin, 2012).

خشخاش کبیر (*Papaver bracteatum* Lindl.) یک گیاه دارویی چند ساله وحشی متعلق به خانواده Papaveraceae، بخش Oxytona می‌باشد که به‌طور بومی در کوه‌های البرز در شمال ایران در ارتفاعات بالاتر از ۱۸۰۰ متر در دامنه‌های رو به دریاچه خزر رشد می‌کند (Sharghi & Lalezari, 1967).

جستجو برای یافتن آنتی اکسیدان‌های طبیعی با منشأ گیاهی از زمان شناخت اهمیت درمانی آن‌ها افزایش یافته است. مطالعه حاضر به منظور بررسی تغییرات میزان فنل کل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی اکسیدانی در خشخاش کبیر تحت تیمار سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات طراحی شد.

مواد و روش‌ها

به منظور اندازه‌گیری محتوای فنل و فلاونوئید کل و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، عصاره‌گیری به روش (Stankovic, 2011) با اندکی تغییرات انجام شد. مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه برگ خشک در یک میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (نسبت ۱ به ۱۰) در میکروتیوب دو میلی‌لیتری به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر عصاره‌گیری شد. سپس سانترفیوژ گردیده و با کاغذ صافی عصاره جدا شد و در تیوب جدید ریخته شد.

به منظور اندازه‌گیری فنل کل، پس از ریختن ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو ۱۰ درصد حل در آب و ۵۰۰ میکرولیتر بی‌کربنات سدیم در یک میکروتیوب، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره متانولی با اضافه‌شود. پس از آن نمونه‌ها را در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه در داخل بن‌ماری انکوبه می‌کنیم و در نهایت جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه پلیت ریدر قرائت شد (Stankovic, 2011). به منظور اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل، یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی و یکی میلی‌لیتر محلول آلومینیوم کلرید دو درصد در متانول ۸۰ درصد با همدیگر مخلوط شدند. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. جذب در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط پلیت‌ریدر قرائت شد (Stankovic, 2011). همچنین با هدف بررسی فعالیت خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد، یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی و یک میلی‌لیتر محلول متانولی ارغوانی رنگ DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به خوب در داخل میکروتیوب به هم زده شد. سپس ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد و در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط پلیت ریدر قرائت گردید (Stankovic, 2011).

نتایج و بحث

تیمارهای الیستوری به صورت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر روی میزان فنل کل، فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تأثیر می‌گذارد. بیشترین میزان ضریب تغییرات به ترتیب با مقدار ۲۴/۲۴، ۲۱/۱۹ و ۳/۴۵ درصد مربوط به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و فلاونوئید کل می‌باشد که علت آن اثر سالیسیلیک اسید و متیل جاسمونات بر مسیرهای بیوسنتزی فنل‌ها و در نتیجه افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی باشد. همچنین با توجه به مقایسات میانگین می‌توان نتیجه گرفت بین تمامی تیمارهای الیستوری اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد در شاخص‌های اندازه‌گیری شده مشاهده شد.

بیشترین مقدار فنل کل در جمعیت اول (۳۴۳/۷۲ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر میلی‌لیتر) تحت تیمار ۲۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و صفر میکرومولار متیل جاسمونات، در جمعیت دوم (۴۷۲/۷۷ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر میلی‌لیتر) تحت تیمار صفر میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات و در جمعیت سوم (۴۰۱/۸۰ میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر میلی‌لیتر) تحت تیمار ۲۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شده است. بیشترین مقدار فلاونوئید کل در جمعیت اول (۵۳/۰۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) تحت تیمار ۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات، در جمعیت دوم (۵۳/۸۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) تحت تیمار صفر میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۲۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات و در جمعیت سوم (۵۱/۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) تحت تیمار صفر میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شده است. بیشترین میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در جمعیت اول (۵۸/۱۱ درصد) تحت تیمار ۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۲۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات، در جمعیت دوم (۴۶/۵۱ درصد) تحت تیمار ۲۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۲۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات و در جمعیت سوم (۵۹/۶۷ درصد) تحت تیمار ۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شده است.

مواد فنولی، گروهی از متابولیت‌های ثانویه بوده که با عمل کردن به عنوان دهنده الکترون و کلات‌کننده یون‌های فلزی مؤثرتر از سایر آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی (اسید اسکوربیک و آلفا-توکوفرول) به مهار رادیکال‌های آزاد تحت شرایط تنش زنده و غیرزنده می‌پردازند (Ahmad *et al.*, 2010). ستر ترکیبات فنولی تحت تأثیر برهمکنش ژنتیک گیاهی و عوامل محیطی قرار گرفته و شدت‌های خفیفی از عوامل تنش‌زا مانند دمای پایین، نور زیاد، شوری، خشکی، محرک‌ها قادرند تا میزان مقاومت گیاه را در شرایط نام برده شده بهبود ببخشند (Cansev *et al.*, 2012).

به طور کلی مشخص شد که افزایش غلظت سالیسیلیک اسید سبب افزایش مقدار فنل کل و فلاونوئید کل می‌شود. همچنین میزان فنل کل در تیمار منتخب به ترتیب ۴۱/۸۴ درصد در جمعیت اول، ۲۱/۱۹ درصد در جمعیت دوم و ۸/۸۰ درصد در جمعیت سوم نسبت به حالت شاهد افزایش داشتند. میزان فلاونوئید کل در تیمار منتخب به ترتیب ۱۲/۶۵ درصد در جمعیت اول، ۴/۲۸ درصد در جمعیت دوم و ۱/۰۲ درصد در جمعیت سوم نسبت به حالت شاهد افزایش داشتند. همچنین مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار منتخب به ترتیب ۵/۸۶ درصد در جمعیت اول، ۱/۴۵ درصد در جمعیت دوم و ۲۲/۶۳ درصد در جمعیت سوم نسبت به حالت شاهد افزایش داشتند.

منابع

- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., Sharma, S. 2010. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology*, 30(3): 161–175.
- Cansev, A., Gulen, H., Celik, G., Eris, A. 2012. Alterations in total phenolic content and antioxidant capacity in response to low temperatures in olive (*Olea europaea* L. "Gemlik"). *Plant Arch*, 12(1): 489–494.
- Govind, P. 2011. Medicinal plants against liver diseases. *IJPR*, 2(5): 115–121.
- Gülcin, I. 2012. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86(3): 345–391.
- Harman, D. 1992. Free radical theory of aging. *Mutation Research/DNAging*, 275(3–6): 257–266.
- Sharghi, N., & Lalezari, I. 1967. *Papaver bracteatum* Lindl., a highly rich source of thebaine. *Nature*, 213(5082): 1244.
- Stankovic, M. S. 2011. Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac J Sci*, 33: 63–72.
- Tejidos, T., Estral, S. E. C. 2007. Toxic effects of methanolic extract of *Aspilia africana* leaf on the estrous cycle and uterine tissues of Wistar rats. *Int. J. Morphol*, 25(3): 609–614.
- Zengin, G., Aktumsek, A., Guler, G. O., Cakmak, Y. S., Yildiztugay, E. 2011. Antioxidant Properties of Methanolic Extract and Fatty Acid Composition of *Centaurea urvillei* DC. subsp. *hayekiana* Wagenitz. *Records of Natural Products*, 5(2): 123–132.