مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فنول کل گیاه تشنه‌داری (*Scropholaria striata* Boiss.) در شرایط آب و هوایی مختلف استان ایلام

زهرا زرگوش[۱]، منصوره قوام[۱*] و علی طویلی[۲]

[۱] ایران، کاشان، دانشگاه کاشان، دانشکده منابع طبیعی وعلوم زمین، گروه مرتع وآبخیزداری

[۲] ایران، کرج، دانشگاه تهران، دانشکده منابع طبیعی، گروه احیا مناطق خشک و کوهستانی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۲۵

چکیده

گل میمونی (*Scropholaria striata* Boiss.) با نام محلی تشنه‌داری (تشنه دارو) از مهم‌ترین گیاهان دارویی خانواده گل میمونی است. این گیاه در مناطق سردسیر و کوهستانی زاگرس رشد می‌کند. گرچه ترکیبات شیمیایی این گیاه شناسایی نشده است؛ اما مردم ساکن استان ایلام سال‌هاست که به‌صورت تجربی از آن در درمان بیماری‌های مختلفی استفاده می‌کنند. پژوهش حاضر با هدف تحلیل اثر شرایط آب و هوایی برخواص آنتی‌اکسیدانی و میزان فنول این گیاه انجام شد. برای این منظور از سه منطقه بدره، دره‌شهر و دهلران در یک جهت یکسان (شمال شرقی) سرشاخه میوه‌دار گیاه در خرداد ماه ۱۳۹۵ و هنگام رسیدن میوه جمع‌آوری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی نمونه‌های گیاهی با روش DPPH و مقدار کل ترکیب‌های فنولی با روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که اثر منطقه آب و هوایی بر بازده عصاره، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فنول کل در سطح احتمال خطای یک درصد معنی‌دار بود. بالاترین میزان بازده (۳/۰۷ ± ۱۹/۳۷ درصد)، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب IC50 (۰/۹۶±۱۲۶/۵۶۵۶ میکرو گرم بر میلی لیتر) و فنول کل (۳/۱۷±۵۵/۷۶۸۹ میکرو گرم بر میلی‌لیتر) در منطقه دره-شهر بدست آمد. بنابراین میتوان دریافت تغییرات اقلیمی سبب سنتز برخی ترکیبات ثانویه شده است.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنولی، گل میمونی، DPPH، اقلیم، عصاره

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۹۶۶۰۹۹۵۰، پست الکترونیکی:mghavam@kashanu.ac.ir

مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌ها به موادی گفته می‌شود که در غلظت کم و با سازوکار ویژه‌ای موجب به تاخیر انداختن، کند کردن و یا حتی توقف فرایندهای اکسیداسیونی می‌شوند (۱۵). این مواد بسته به نوع ساختمان در واکنش‌های گوناگونی از قبیل کند کردن مرحله انتشار، مهار کاتالیزگرها، پایدار کردن هیدروپراکسیدها یا ترکیب شدن رادیکال‌ها شرکت می‌کنند (۲۳). گیاهان یکی از منابع مهم آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که می‌توانند باعث حفاظت سلول‌ها از آسیب‌های اکسیداتیو شوند. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی علاوه بر فعال کردن آنزیم-های آنتی‌اکسیدان، قدرت آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما را نیز افزایش می‌دهند و در نتیجه باعث کاهش ابتلا به برخی از بیماری‌ها مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی، سکته و اختلال‌های عصبی می‌شوند. متابولیت‌های ثانویه مانند فنول، فلاونوئید در بخش‌های مختلف گیاهی مانند برگ، میوه دانه، ریشه و پوست وجود دارند و از منابع مهم تأمین آنتی‌اکسیدان هستند (۲۴). فنول‌ها از جمله متابولیت‌های ثانویه و ترکیب‌های مهم گیاهی هستند که معمولاً در پاسخ به استرس محیطی ایجاد می‌شوند. این ترکیب‌ها از هسته-های آروماتیک و یا چند گروه OH ساخته شده‌اند. توانایی فنول‌ها در خنثی سازی رادیکال‌های آزاد به دلیل وجود

گروه هیدروکسیل آن‌ها است که به عنوان دهنده‌ی هیدروژن یا الکترون، ترکیب‌های پایدار فنوکسیل تولید می‌کنند .

با وجود اینکه عوامل ژنتیکی در گیاهان دارویی مسئول رشد و نمو، کمیت و کیفیت مواد مؤثره می‌باشد ولی عوامل محیطی رویشگاه نقش مهمی را بر عهده دارند. عوامل محیطی سبب به وجود آمدن تغییراتی در رشد گیاهان‌دارویی و کمیت و کیفیت مواد مؤثره آن‌ها نظیر آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها، روغن‌های فرار و امثال آن‌ها می‌شوند. میزان ترکیبات گیاهان از نظر کمی و کیفی ثابت نیست و همیشه به علت نیازهای محیط و زنده ماندن و بقای گیاهان تغییر می‌یابد (۲). عوامل بسیار زیادی از جمله آب، هوا، خاک، ارتفاع، بر میزان متابولیت‌های ثانویه گیاهی از جمله فنول و فلاونوئید کل و خواص آنتی‌اکسیدان دخالت دارند . تاثیر عوامل اقلیمی بر گیاهان دارویی مختلف، متفاوت است. از مهمترین عوامل اقلیمی که تأثیر بسزایی بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی می‌گذارد، می‌توان به درجه حرارت محیط ، بارندگی، طول روز، نور خورشید، تبخیر و تعرق اشاره کرد (۱۴).

گیاه گل میمونی (*Scropholaria striata* Boiss.) با نام محلی تشنه‌داری از مهم‌ترین گیاهان دارویی خانواده گل میمونی است، این تیره دارای سه زیر خانواده و ۲۲۲ جنس و ۴۴۸۰ گونه در جهان است. سرده *Scrophularia* در ایران دارای ۶۰ گونه و زیر گونه یکساله، دوساله و چند ساله است که ۲۸ گونه آن انحصاری ایران هستند. تشنه-داری لغت محلی و به زبان کردی است که ریشه کلمه تشنه از تَش به معنی آتش و داری به معنی دارو گرفته شده است و به معنای داروی آتشین است. گیاهی است پایا، به ارتفاع ۹۰-۳۰ سانتی‌متر و ایستاده، ساقه‌ها متعدد دارای شاخه‌های کم و بیش برگدار، منتهی به خوشه گرزنی پرگل (۲۱). در ایران گیاه تشنه‌داری بیشتر در مناطق سردسیر و کوهستانی زاگرس و عمدتا در استان ایلام و مناطقی از استان خوزستان رشد می‌کند (۲۲). به صورت تجربی به شکل‌های مختلف از قبیل جوشانده، خوراکی، بخور، ضماد در درمان بیماری‌های مختلفی از جمله التهاب و عفونت چشم و گوش، سوختگی پوستی، زخم‌های عفونی، درد و اختلالات گوارشی استفاده می گردد (۲۴). گرچه ترکیبات شیمیایی این گیاه شناسایی نشده اما مردم ساکن استان ایلام سال‌هاست که به‌صورت تجربی از این گیاه به شکل‌های مختلف از قبیل جوشانده خوراکی بخور و ضماد در درمان بیماری‌های متفاوت استفاده می‌کنند. نوشیدن جوشانده‌ی تشنه‌داری در درمان سرماخوردگی و درد و اختلالات گوارشی به کار می‌رود(۶).

نظر به اهمیت این گیاه در استفاده سنتی، مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران در راستای بررسی آنتی‌اکسیدان‌ها در شرایط مختلف رویشگاهی طراحی و اجرا گردید.

مواد و روشها

انتخاب مناطق مختلف آب و هوایی: بمنظور انتخاب مناطق نمونه‌برداری، ابتدا با بررسی‌های کتابخانه‌ای و میدانی، رویشگاه‌های گونه مورد نظر شناسایی گردید. سپس با در نظر گرفتن عوامل مختلف از قبیل قابل دسترس بودن رویشگاه، طبیعی بودن شرایط رویشگاه، وجود سایت‌های مختلف با فواصل مناسب از هم و همچنین حضور مناسب و قابل برداشت گیاه از طریق بازدیدهای صحرایی از رویشگاه‌های مختلف، سه منطقه دره‌شهر (با ارتفاع متوسط ۶۰۰ متر از سطح دریا)، بدره (۸۳۲ متر) و دهلران(۲۶۴/۵متر) در استان ایلام انتخاب شدند (جدول۱).

نمونه‌برداری گیاه: بمنظور نمونه‌برداری از گیاه مورد مطالعه در خرداد ماه ۱۳۹۵ و هنگام رسیدن میوه (بر اساس استفاده سنتی مردم منطقه از این اندام و حضور ترکیبات فنولی در آن) در هر منطقه با توجه به حضور و وفور گونه در یک جهت یکسان (شمال شرقی) با فاصله ۱۰۰ متر و

در هر طبقه در طول یک ترانسکت ۱۰۰ متری از سه نقطه به طور تصادفی از پایه‌های گیاهی مورد نظر سرشاخه میوه‌دار گیاه توسط قیچی باغبانی جمع‌آوری شد. نمونه‌ها پس از برداشت به آزمایشگاه منتقل و در معرض هوای آزاد قرار داده شده تا خشک شوند.

جدول ۱- برخی پارامترهای آب و هوایی مناطق مورد مطالعه

منطقه	میانگین بارش (mm)	میانگین دما (C)	حداکثر دما (درجه سانتیگراد)	حداقل دما (درجه سانتیگراد)	میانگین طوبت نسبی (درصد)	حداکثر رطوبت نسبی (درصد)	حداقل رطوبت نسبی (درصد)	تعداد روزهای یخبندان	کل ساعات آفتابی	میانگین تبخیر	اقلیم (دومارتن گسترش یافته)
بدره	۳۸۵/۵	۲۰/۸	۲۷/۷	۱۳/۹	۴۰	۵۴	۲۶	۱۶	۳۰۵۲/۶	۲۴۷۵	نیمه خشک معتدل
دهلران	۲۹۷/۸	۲۶/۲	۳۲/۳	۲۰/۲	۳۸	۵۱	۲۶	۰/۳	۳۰۹۶/۶	۳۸۵۷/۵	خشک و گرم
دره‌شهر	۴۲۶/۳	۲۱/۴	۲۹/۲	۱۳/۳	۴۵	۶۲	۲۹	۲۱	۳۰۴۵/۶	۲۶۶۹/۴	نیمه خشک معتدل

استخراج عصاره: عصاره نمونه‌های مختلف با استفاده از دستگاه سوکسله توسط حلال متانول استخراج شد. سپس برای تغلیظ محلول عصاره از دستگاه تبخیر کننده دوار (Rotary Vacuum) استفاده شد. عصاره‌های غلیظ شده به داخل پتری دیش منتقل گردیدند و برای تبخیرکامل حلال به آون فن‌دار با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و سپس برای حلال‌زدایی کامل و خشک شدن نمونه ها، به آون خلاء (دمای ۳۵ درجه سانتی گراد و فشار ۲۰ میلی لیتر جیوه) منتقل شدند. بعد از گذشت ۴ روز، عصاره‌های خشک شده با استفاده از اسپاتول از پلیت‌ها جدا شد. بازده عصاره براساس میزان عصاره خشک به دست آمده در ۱۰۰ گرم گیاه خشک، محاسبه گردید.

ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره (آزمون DPPH): در این روش توانایی عصاره‌های گیاهی به عنوان آنتی‌اکسیدان در الکترون‌دهی به رادیکال ۲، ۲- دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) ارزیابی می‌شود (این رادیکال در طول موج ۵۱۷ نانومتر جذب دارد و شدت آن از قانون بیر-لامبرت پیروی می‌کند. کاهش جذب این ترکیب با میزان ماده‌ی آنتی‌اکسیدان رابطه‌ی خطی دارد. بنابراین در صورتی که ماده‌ی آنتی‌اکسیدان افزایش یابد، DPPH بیشتری مصرف شده و باعث تغییر رنگ آن از بنفش به زرد می‌شود.

محلول DPPH: میزان ۴/۷ میلی‌گرم از جامد DPPH وزن شد و در بالن ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و سپس با متانول مرک با درجه‌ی خلوص بالا به حجم رسانده شد. برای اطمینان از درستی محلول، آزمایش مقدماتی روی آن انجام شد. به این ترتیب که یک میلی‌متر از محلول DPPH ساخته شد و یک میلی‌متر از متانول داخل بالن تیره ۵ میلی‌متری ریخته و به مدت نیم ساعت در دمای اتاق نگهداری شد بعد از مدت نیم ساعت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب این محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. در صورتی که جذب خوانده شده بین ۱/۱ تا ۱/۷ به دست آید. محلول DPPH ساخته شده برای ادامه آزمایش مناسب است.

محلول‌های عصاره: برای تهیه‌ی محلول پایه از هر یک از عصاره‌های متانولی نمونه‌های گیاهی میزان ۲۵ میلی‌گرم وزن شد و در بالن ژوژه ۲۵ میلی لیتری ریخته و با متانول مرک به حجم رسانده شد. به این ترتیب محلول استوک با غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای هر یک از نمونه‌ها تهیه شد. سپس محلول‌هایی با غلظت‌های ۰/۸، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱، ۵×۱۰^{-۲} ، ۵×۱۰^{-۳}، ۵×۱۰^{-۴} میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از محلول استوک ساخته شد

پس از آن یک میلی‌لیتر از هر محلول، و یک میلی‌لیتر از محلول DPPH به داخل بالن‌های تیره مربوط به هر غلظت ریخته و به مدت نیم ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سرانجام پس از ۳۰ دقیقه محلول‌های تهیه شده در طول

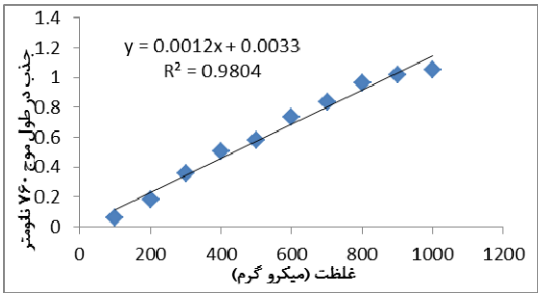
موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر uv/vis خوانده شد. با محاسبه درصد مهار (رابطه ۱) نمودار بر حسب منفی لگاریتم غلظت در برنامه اکسل رسم شد و از روی نمودار رسم شده، IC_{50} بر حسب میکرو گرم بر میلی‌لیتر استخراج شد (۱۹). رابطه ۱:

$$\text{درصد مهار} = \frac{\text{میزان جذب نمونه} - \text{میزان جذب شاهد}}{\text{میزان جذب شاهد}} \times ۱۰۰$$

اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات فنلی با معرف فولین سیوکالتیو (Folin-Ciocalteu reagent) : برای این منظور میزان ده میلی‌گرم از نمونه عصاره گیاهی با ترازوی آنالیتیکال وزن و داخل لوله آزمایش ریخته و دو میلی‌لیتر حلال دی متیل سولفوکسید به آن افزوده شد به طوری که نمونه عصاره کاملا حل گردد. به ازای هر نمونه عصاره، سه عدد بالن ژوژه پنج میلی‌لیتری جهت سه بار تکرار در نظر گرفته شد. در هریک از بالن ژوژه‌ها حدود سه میلی-لیتر آب مقطر و ۰/۰۲ میلی‌لیتر (۲۰ میکرولیتر) از هر نمونه عصاره و ۱/. میلی‌لیتر (۱۰۰میکرولیتر) معرف فولین سیوکالتیو به بالن ژوژه افزوده و بعد از مدت زمان سه دقیقه میزان ۰/۳ میلی‌لیتر (۳۰۰میکرولیتر) کربنات سدیم ۰/۲ اضافه شد و سپس با آب مقطر به حجم رسانده شد. برای ایجاد محلول شاهد جای ۰/۰۲ میلی‌لیتر از نمونه عصاره، ۰/۰۲ میلی‌لیتر از حلال دی متیل سولفوکسید در بالن ژوژه ریخته شد. در مرحله بعد تمام محلول همگن شده و به مدت دو ساعت در محیط قرار داده شدند. بعد از مدت زمان دو ساعت جذب هر محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد، برای هر نمونه گیاهی از سه جذب خوانده شده میانگین گرفته و با استفاده از معادله خط (رابطه ۲) حاصل از منحنی استاندارد گالیک اسید (نمودار ۱)، غلظت ترکیبات فنولی موجود در عصاره گیاهی معادل گالیک اسید برحسب میکروگرم به دست آمد (۳۲). رابطه۲ :

$$\text{Absorbance}=0.0012\times\text{Galic cia}(\mu g)+0.0033$$

$$R^2=0.98$$



نمودار ۱–منحنی استاندارد گالیک اسید

نمودار ۱– مقایسه میانگین اثر منطقه آب و هوایی بر بازده عصاره گیاه *S. striata*

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. ابتدا نرمال بودن متغیرهای آماری از طریق آزمون کولموگروف -اسمیرنوف بررسی شد و پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه واریانس داده‌ها با آزمون F و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در احتمال سطح پنج درصد خطا انجام شد. برای بررسی همبستگی بین کمیت های گیاهی و مناطق مختلف آب و هوایی از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. از این‌رو، بمنظور اطمینان از صحت و دقت معادلات به‌دست آمده نرمال بودن باقی مانده‌ها، داده پرت و هم خطی بین داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت نتایج به‌دست آمده در قالب نمودارها و یا جداول ارائه شد.

نتایج

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر منطقه آب و هوایی بر بازده عصاره ، فعالیت آنتی اکسیدانی، فنول کل گیاه *S. striata* در سطح احتمال خطای یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

جدول ۲- نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر منطقه بر بازده عصاره، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فنول کل گیاه *S. striata*

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F
بازده عصاره	۲	۴۰/۵۲۸	۱۳/۵۹۲**
ظرفیت آنتی اکسیدان	۲	۲۲۶۳۴/۵۸۲	۷۷۱۸/۱۵۷**
فنول کل	۲	۵۲۷/۶۳۳	۱۰۳/۸۰۰**

**: معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

یافته‌های حاصل از مقایسه میانگین بازده عصاره در مناطق مختلف حاکی از آن بود که بیشترین بازده عصاره متعلق به نمونه‌های منطقه دره‌شهر بود و بین دو منطقه دیگر از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (نمودار۱). ازسوی دیگر نمودار ۲ بیانگر آن است که بیشترین میزان IC50 متعلق به منطقه بدره (۳۳۳/۳۸ میکرو گرم بر میلی‌لیتر)، و کمترین آن متعلق به منطقه دره‌شهر (۲۳۵/۴۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر) بود.

نمودار ۲- مقایسه میانگین اثر منطقه آب و هوایی بر ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه *S. striata* با استفاده از روش تست DPPH برحسب IC50

مقایسه میانگین‌ها در مناطق مختلف (نمودار ۳) بیانگر آن بود که منطقه دره‌شهر با میانگین ۴۷/۶۲ میکروگرم گالیک اسید در ۱ گرم از عصارهٔ گیاه خشک و بدره با ۳۲/۸۸ میکرو گرم گالیک اسید در ۱ گرم از عصارهٔ گیاه خشک به ترتیب بیشترین و کمترین میزان فنول را دارا بودند.

نمودار ۳- مقایسه اثر منطقه آب و هوایی بر میزان فنول کل گیاه *S. striata*

همبستگی بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب IC_{50} و میزان فنول کل: یافته‌های جدول ۳ نشانگر آن است که بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کل ترکیبات فنولی در مناطق بدره و دره‌شهر همبستگی منفی قوی و در منطقه دهلران همبستگی مثبت قوی با ضریب اطمینان ۹۹ درصد وجود دارد.

جدول ۳- مقایسه همبستگی آنتی‌اکسیدان و فنول در مناطق مورد مطالعه

منطقه	همبستگی	آنتی اکسیدان	فنول
	ظرفیت آنتی‌اکسیدان بر حسب میزان IC_{50}	۱	-۹۱۳**
بدره	فنول کل		۱
	ظرفیت آنتی‌اکسیدان بر حسب میزان IC_{50}	۱	۰/۶۷۲**
دهلران	فنول کل		۱
	ظرفیت آنتی‌اکسیدان بر حسب میزان IC_{50}	۱	-۰/۶۳۹**
دره‌شهر	فنول کل		۱

**: معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد خطا

بحث و نتیجه گیری

بر اساس نتایج اثر منطقه آب و هوایی بر بازده معنی‌دار و بیشترین بازده عصاره متعلق به نمونه‌های منطقه دره‌شهر بود. خوش سخن و همکاران (۵) هم تفاوت بازده عصاره گیاهان آویشن کوهی و دنایی را در مناطق مختلف گزارش دادند. در مطالعات متعددی تاثیر رویشگاه بر میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان مختلف بررسی شده است که در بیشتر موارد بر نقش رویشگاه به عنوان عامل تاثیر گذار در کمیت و تجمع متابولیت‌های ثانویه تاکید شده است (۳۲) که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. مکان رشد گیاه می‌تواند از طریق تغییرات دمایی و رطوبتی بر فرایند تشکیل مواد موثره تاثیر گذار باشد (۲۶). مکانیسم تاثیرات محیط بر تجمع متابولیت‌های ثانویه به درستی روشن نیست. از اینرو روشن است که محیط از طریق تاثیری که در فرایند تولید متابولیت و عوامل مرتبط به فرآیند تولید (مثل آنزیم ها) دارد، در نوع و شدت واکنش-های شیمیایی موثر است. میزان بارندگی و رطوبت نسبی منطقه دره‌شهر به طور میانگین به ترتیب ۴۲۶/۳ میلی‌متر و ۴۵ درصد در سال گزارش شده است که نسبت به دو منطقه دیگر بالاتر بود. از اینرو می‌توان گفت شرایط آب و هوایی (نیمه خشک معتدل) به وضوح در افزایش بازده غالبیت داشته است. گفتنی است این افزایش نسبت به منطقه دهلران بسیار مشهودتر است که تفاوت آب و هوای این دو منطقه کاملا روشن است.

از آنجایی که IC_{50} به طور معکوس با فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌ها در ارتباط است، هرچه IC_{50} کمتر باشد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر خواهد بود (۲۰). اثر منطقه آب و هوایی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مورد مطالعه معنی‌دار بود که با یافته‌های سعادتمند و همکاران (۸)، صبورا و همکاران (۹)، مازندرانی و همکاران (۱۳)، خرمالی و همکاران (۳)، باباخانزاده سجیرانی و همکاران (۱)، خوش سخن و همکاران (۵)، ده‌چشمه و همکاران (۱۴)، مهرپور و همکاران (۱۶)، خلاصی اهوازی و همکاران (۴)، زینلی و همکاران (۷)، یلدیز و همکاران (۳۳)، قاسمی و همکاران (۲۲)، سلوام و همکاران (۳۰) مطابقت دارد. منطقه دره‌شهر با کمترین میزان IC_{50} بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به خود اختصاص داد. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره‌های گیاهی دارای چند عملکرد بوده و فعالیت و مکانیسم عمل آنها به شدت به ترکیب و شرایط رویشگاه بستگی دارد. زیرا این شرایط بر سنتز مواد شیمیایی گیاهی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند، مؤثر است (۳۱). زیستگاه گیاه از طریق تغییرات اقلیمی می‌تواند بر فرآیند تشکیل مواد موثره ثانوی در گیاه تاثیرگذار باشد. رطوبت نسبی بالا و دمای کمتر این منطقه یکی از عوامل اثرگذار بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی است. مهرپور و همکاران (۱۶) در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه *Ferula assafoetida* L در دو رویشگاه طبیعی در سمنان و خراسان به این امر تاکید کرده‌اند. کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مجموع متعلق به منطقه بدره بود. علی‌رغم شرایط یکسان آب و هوایی دو منطقه بدره و دره‌شهر، به نظر می‌رسد شرایط خاک در منطقه بدره نقش تعیین کننده‌ای در کاهش خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مورد مطالعه دارد.

یافته‌ها حاکی از آن است که اثر منطقه آب و هوایی بر میزان فنول کل گیاه معنی‌دار بود. لیوانی (۱۲)، سعادتمند و همکاران (۸)، صبورا و همکاران (۹)، خرمالی و همکاران (۴)، باباخانزاده سجیرانی و همکاران (۱)، خوش سخن و همکاران (۵)، مهرپور و همکاران (۱۶)، خلاصی اهوازی و همکاران (۴)، زینلی و همکاران (۷)، قاسمی و همکاران (۲۲)، ، سلوام و همکاران (۲۸) هم به نتایج مشابهی بر روی سایر گیاهان دست یافتند. اما در مطالعه فاضلی نسب و همکاران (۱۰) اثر منطقه بر فنول کل معنی‌دار نبود.. بر اساس مطالعات، ترکیبات فنولی در گستره وسیعی از گیاهان یافت می‌شوند. تولید این ترکیبات اگر چه تحت کنترل عوامل ژنتیکی است؛ اما عوامل اقلیمی و تنش‌های محیطی نیز تاثیر قابل توجهی بر سنتز این ترکیبات دارد.

مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که عوامل محیطی مانند میزان بارش و میانگین دما و همچنین غلظت عناصر غذایی موجود در خاک می‌توانند سطح ترکیبات پلی‌فنولیک را تغییر دهند. در مطالعه حاضر بیشترین میزان کل ترکیبات فنولی در منطقه دره‌شهر مشاهده شد. به نظر می‌رسد عوامل آب و هوایی نظیر میزان بارندگی و رطوبت نسبی بالا و دمای کمتر این منطقه می‌تواند دلیلی بر افزایش میزان فنول کل این منطقه باشد. مهرپور و همکاران (۱۶) در بررسی گیاه *Ferula assafoetida* L. و قلی‌زاده مقدم و همکاران (۱۱) در بررسی گیاه زرشک به نتایج مشابهی دست یافتند. کمترین میزان فنول کل در منطقه بدره مشاهده شد که بیانگر غلبه سایر عوامل بوم‌شناسی در کاهش میزان فنول نسبت به دره‌شهر است..

نتایج حاکی از آن است که بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنول کل در دو منطقه دره‌شهر و بدره همبستگی قوی مستقیم وجود دارد. یافته‌های بسیاری از پژوهش‌ها نظیر القزیر و همکاران (۱۸)، آلفارو و همکاران (۱۷)، سعادتمند و همکاران (۸)، و قلی‌زاده مقدم و همکاران (۱۱) نیز تایید کننده این همبستگی است. فعالیت آنتی اکسیدانی فنول‌ها عمدتا به دلیل خواص اکسیداسیون و کاهش آنها است که اجازه می‌دهد تا به‌عنوان عوامل کاهنده، دهنده هیدروژن، اکسیژن و کلاتورهای فلز عمل کنند (۲۷). نقش کلیدی ترکیبهای فنولی به‌عنوان حذف کننده رادیکال‌های آزاد گزارش شده است (۲۵). آنتی-اکسیدان ها براساس عملکردشان به دو گروه اصلی تقسیم می‌شوند: آنتی‌اکسیدان‌های اولیه و ثانویه. آنتی‌اکسیدان‌های اولیه الکترون یا هیدروژن خود را به رادیکال‌های آزاد می-دهند در حالی که آنتی‌اکسیدان‌های ثانوی به عنوان همیار عمل می‌کنند، یعنی از طریق دادن هیدروژن و بازیابی آنتی-اکسیدان اولیه و یا جاروب کننده‌های اکسیژن و عوامل کلاته کننده نقش خود را ایفا می‌نمایند. فنول‌ها و فلاونوئیدها معمولاً به عنوان جاروب کننده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند (۲۸). گروه‌های OH فنلی از ارجح‌ترین گروه‌ها برای از دست دادن پروتون از اشکال اکسید شده تک الکترونی هستند. پایداری رادیکال‌های فنوکسیل منتج از آنها باعث افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی و توانایی بیشتر ترکیب‌های دارای گروه‌های هیدروکسیل متعدد برای جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسید شده می‌گردد، همچنین از تشکیل رادیکال‌های آزاد ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری به‌عمل می‌آورد.

از سوی دیگر بین فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه در منطقه دهلران همبستگی قوی معکوس وجود دارد. این نتیجه نشان می‌دهد که وجود ترکیب‌های دیگری از مواد غیر فنول به‌ویژه فلاونوئیدها در ایجاد خاصیت آنتی-اکسیدانی این جمعیت مشارکت دارند. مطالعات نشان می-دهد که علاوه بر ترکیبات فنولیک عوامل دیگری نیز روی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی تأثیر دارند. بنابراین به علت پیچیدگی ترکیب‌های موجود در گیاهان ایجاد یک رابطه بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیب‌های گیاهی خاص دشوار است. به نظر می‌رسد مجموعه‌ای از مواد قطبی و غیرقطبی در ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی دخالت دارند. البته تحقیقات بیشتر که متضمن شناسایی اجزا مواد شیمیایی موجود در عصاره این گیاه است به تشخیص ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی کمک مؤثری خواهد نمود. صبورا و همکاران (۹) نیز به نتایج مشابهی در گیاه میخک وحشی دست یافتند. سنجش خاصیت آنتی‌اکسیدانی با روش DPPH می‌تواند خاصیت آب‌دوستی یا آب‌گریزی مواد آنتی‌اکسیدانی را پیش‌بینی کند. در برخی گیاهان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ممکن است به علت وجود ترکیب-های ناشناخته یا برهم کنش‌های سینرژیک بین مواد مختلف باشد. علاوه بر ساپونین‌ها، فنول‌ها و فلاونوئیدها نیز از آنتی‌اکسیدان‌های مشهور گیاهی هستند. هر گیاه دارای طیف وسیعی از ترکیب‌های فنلی متفاوت است و خاصیت آنتی‌اکسیدانی هر کدام از این مواد وابسته به ساختار شیمیایی آنها است. به‌عنوان مثال فعالیت آنتی-اکسیدانی فلاونوئیدها با افزایش تعداد گروه‌های

هیدروکسیل استخلاف شده روی حلقه B به ویژه روی کربن موقعیت ′۳ یا یک استخلاف هیدروکسی منفرد افزایش می‌یابد (۲۸).

بنابراین احتمال داده می‌شود که ترکیبات فنولی بخش مهمی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی این گیاه را شامل می‌شود که در شرایط آب و هوایی نیمه خشک و معتدل دره‌شهر و تحت افزایش ارتفاع (۸۳۲ متر) و کاهش دمای بدره تشکیل می‌شوند. لیکن در منطقه گرم و خشک دهلران سنتز فنول‌ها کمتر شده و خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه با تشکیل ترکیب‌های دیگر هدایت شد که می‌بایست با تحقیقات بیشتر این ترکیبات شناسایی گردند (۳۴).

ویژگی‌های رویشگاه و موقعیت گیاه در طبیعت غالبا بر کمیت وکیفیت مواد موثره گیاهان تأثیر دارند. پژوهش حاضر نشان داد که از عوامل بوم شناسی، آب و هوا بر میزان بازده عصاره، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنول کل گیاه تشنه‌داری تاثیر زیادی دارد. نتایج مختلف به‌دست آمده حاکی از پیچیدگی اثر عوامل بوم‌شناسی از یک سو و شکل‌گیری فرایندهای شیمیایی مختلف در گیاه تحت تاثیر این عوامل از سوی دیگر است که سبب سنتز ترکیبات مختلف موثر بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه است. در مجموع می‌توان گفت منطقه دره‌شهر با بالاترین میزان بازده، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و فنول کل بهترین نقطه برای رویش این گیاه با هدف تولید ترکیبات فنولی و خواص آنتی‌اکسیدانی است .

منابع

۱- باباخانزاده سجیرانی، ا.، موسوی‌زاده، س.، ج.، مظفری، خ.، ۱۳۹۵، بررسی فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه گیاه دارویی سنجد *Elaeagnus angustifolia* در رویشگاه‌های مختلف منطقه شاهرود. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۴ (۴): ۶۲-۷۳.

۲-تبریزی، ل. و کوچکی، ع.، ۱۳۹۳، گیاهان دارویی: بوم شناسی، تولید و بهره برداری پایدار، دانشگاه تهران، مؤسسه انتشارات، ص ۴۶۰.

۳- خرمالی، ع. و مازندرانی، م.، ۱۳۹۳. آت اکولوژی، فنولوژی، اتنوفارماکولوژی، ارزیابی فنل و فلاونویید کل و عملکرد آنتی-اکسیدانی عصاره‌های مختلف سرشاخه‌های گلدارعطر پاییزی در روشهای مختلف استخراج (رویشگاه بندرگز) ،گیاه فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۲(۲):۶۹-۸۰.

۴- خلاصی اهوازی، ل.، حشمتی، غ.، ذوفن، پ. و اکبرلو، م.، ۱۳۹۵، بررسی تغییرات محتوای فنل ، فلاونویید کل و عملکرد آنتی اکسیدانی گیاه دارویی کنگر علوفه‌ای در مراحل مختلف رشد در چهار رویشگاه شمال شرق استان خوزستان، فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۴(۱): ۳۳-۴۶

۵-خوش سخن، ف.، بابالار، م.، پورمیدانی، ع. و فتاحی، م، ر.، ۱۳۹۴، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی و بازده اسانس برخی جمعیتهای آویشن کوهی و دنایی. فن‌آوری تولیدات گیاهی، ۱۵(۱): ۱۵۳-۱۶۲.

۶- رحمتی، ز.، ۱۳۹۲، خواص طبی گیاه تشنه داری، همایش ملی کاربرد گیاهان دارویی در سبک زندگی وطب سنتی، تربت حیدریه، دانشگاه تربت حیدریه.

۷- زینلی، ع.، ۱۳۹۲، بررسی اوت اکولوژی، اتنوفارماکولوژی، فیتوشیمیایی و بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره اندام‌های مختلف گیاهی دارویی باریجه در دو رویشگاه مختلف استان رضوی، فصلنامه اکو فیتوشیمیایی گیاهان دارویی، ۱(۴): ۱۱-۲۲

۸-سعادتمند، ل.، قربانلی، م. و نیاکان، م.، ۱۳۹۲، ررسی تغییرات مهمترین مواد موثره ثانوی و فعالیت آنتیاکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه دارویی سنجد رویشگاه‌های مختلف استان خراسان رضوی، فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱(۴): ۵۸-۶۷.

۹- صبورا، ع.، احمدی، ا.، زینالی، ا. و پارسا، م.، ۱۳۹۲، مقایسه محتوای ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی اندام هوایی دو جمعیت گیاه بشقابی سنبله‌ای شمال ایران، مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان.

۱۰- فاضلی نسب ، ب.، سیروس مهر، ع.، ناصر میرزایی، ن. و سلیمانی، م.، ۱۳۹۵، ارزیابی و مقایسه محتوای فنل، فلاونوئیدکل و عملکرد آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه در ۱۴ ژنوتیپ مختلف گیاه

۱۴-محمدی ده چشمه، ن.، قاسمی پیربلوطی، ع.، آقابراری، ب. و حامدی، ب.، ۱۳۹۴، ترکیبات اسانس، خاصیت ضدباکتریایی و فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس اکوتیپهای مختلف سیاه دانه در رویشگاه های مختلف ایران، فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۳(۴): ۵۶-۶۸.

۱۵- مهدی، پ.، قربانلی، م. و عظیمی مطعم، ف.، ۱۳۹۴، ارزیابی و مقایسه عملکرد آنتی‌اکسیدانی اندامهای مختلف دو گونه بذرالبنج و بذرالبنج کردی در رویشگاههای مختلف استان اردبیل، فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۳(۴): ۸۶-۹۸.

۱۶-مهرپور، م.، کاشفی، ب. و مقدم، م.، ۱۳۹۵، بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی اندامهای مختلف گیاه دارویی آنغوزه در دو رویشگاه طبیعی استانهای سمنان و خراسان، فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۴(۱): ۵۶-۶۸

دارویی در جنوب ایران، فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۴(۴): ۱-۱۴

۱۱- قلیزاده مقدم، ن.، بهمن حسینی، ب. و علیرضالو، ا.، ۱۳۹۶، ارزیابی تنوع برخی از شاخصهای فیتوشیمیایی عصاره برگ ژنوتیپ های گونه‌های مختلف گیاه زرشک در شمال غرب ایران فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۳(۲): ۱-۱۲.

۱۲-لیوانی، ف.، ۱۳۹۲، بررسی تغییرات فنل و آنتوسیانین کل در اندام-ها و مراحل مختلف رشد میوه در دو گیاه دارویی آلو و ازگیل در رویشگاه‌های طبیعی استان گلستان، فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱(۴): ۷۹-۸۸.

۱۳- مازندرانی، م.، قائمی، ع. و بیات، ه. ۱۳۹۳، آت اکولوژی، آنتی-اکسیدانی و اتنوفارماکولوژی اندامهای مختلف گیاه دارویی عصاره انار در استانهای گلستان و مازندران، فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۲(۱): ۵۲-۵۹

17-Alfaro, S., Mutis, S., Palma, R., Quiroz, A., Seguel, I. and Scheuermann, E. 2013, Influence of genotype and harvest year on polyphenol content and antioxidant activity in murtilla (Ugni molinae Turcz) fruit. Soil Science and Plant Nutrition, 13: 67-78.

18-Alghazeer, R., El-Saltani, H., Saleh, N., Al-Najjar, A. and Hebail, F. 2012, Antioxidant and antimicrobial properties of five medicinal Libyan plants extracts Natural Science, 4(5): 324-335

19-Blois M.S. 1958, Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical Nature. 181: 1199-200.

20-Borra, S. K., Gurumurthy, P., Mahendra, J., Jayamathi, K. M., Cherian, C.N. and Chand, R. 2013, Antioxidant and free radical scavenging activity of curcumin determined by using different in vitro and ex vivo models. Journal of Medicinal Plants Research, 7(36): 2680-2690.

21- Ghahreman A. 1978-1999, Color flora of Iran. 1st ed. Tehran: Res Ins Forest and Rangelands; pp: 1091.

22-Ghasemi, Y. Faridi, P. Mehregan, I. and Mohagheghzadeh A. 2005, *Ferula gummosa* B. Fruits: An Aromatic Antimicribial Agent. Chem. of Natur. Compounds., Vol. 41(3): 311–314

23- Hung, D., Ou, B. and Rrior RL. 2005, The chemistry behind antioxidant capacity assays. agric. Food chem., 53(6):1841-56.

24- Karahan, F., Avsar, C., Ilker Ozyigit, I. and Berber, I, 2016, Antimicrobial and antioxidant activities of medicinal plant Glycyrrhiza glabra var. glandulifera from different habitats. from different habitats, Biotechnology & Biotechnological Equipment, 30(4):797-804.

25- Katalinic, V., MIlos, M., Kulisic, T. and Jukic, M. 2006, Screening of 70 medical plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. Food Chemistry, 94: 550-577.

26-Laurel F.R., Servio R.P., Valerie B.K., Gregory M.J. and Ian, C.P. 1999, Direct and indirect effects of climate change on St. John's wort, *Hypericum perforatum*L. (Hypericaceae). Oecologia. 120: 113-122.

27-Muscolo, A., Sidari, M. and Panuccio, M.R. 2003, Tolerance of kikuyu grass to long term salt stress is associated with induction of antioxidant defenses. Plant Growth Regulation 41: 57-62.

28- Pietta, P.G., 2000, Flavonoids as antioxidants. Journal of Natural Products, 63(7): 1035-1042.

29. Rajalakshmi, D. and Narasimhan, S. 1996, Food antioxidants: Sources and methods of evaluation: 65-83. In: Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K., (Eds.). Food Antioxidants- Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc., New York, 512p.

30- Selvam1, K., Rathika Rajinikanth1, Muthusamy Govarthanan1., Agastian Paul, Thangasamy Selvankumar1 and Arumugam

Sengottaiyan1,2013. Antioxidant potential and secondary metabolites in *Ocimum sanctum* L. at various habitats, Journal of Medicinal Plants Research Vol. 7(12), pp. 706-712.

31-Slinkard, K., Singleton, V.L. 1977, Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. Am. J. Enol. Viticul., 28:49–55.

32-Srivastava, A.W. and Shym, S. 2002, Citrus: Climate and soil. International Book Distributing Company, p. 559.

33-Yildiz, H., Ercisli, S., Sengul, M., Topdas, E.F., Beyhan, O., Cakir, O., Narmanlioglu, HK. And Orhan, E. 2014. Some Physicochemical Characteristics, Bioactive Content and Antioxidant Characteristics of Non-Sprayed Barberry (Berberis vulgaris L.) Fruits from Turkey. Erwerbs-Obstbau, 56: 123-129.

34- Zargoosh, Z., Ghavam, M., Bacchetta, G. and Tavili, A. 2019. Effects of ecological factors on the antioxidant potential and total phenol content of Scrophularia striata Boiss. Sci Rep 9, 16021. https://doi.org/10.1038/s41598-019-52605-8

Comparison of Antioxidant and Total Phenol of *Scropholaria striata* Boiss. In different weather conditions of Ilam province

Zargoosh Z.,[1] Ghavam M.[1] and Tavili A.[2]

[1] Dept. of Range and Watershed Management, Faculty of Natural Resources and Earth Sciences, University of Kashan, Kashan, I.R. of Iran.

[2] Dept of Rehabilitation of Arid and Mountainous, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R. of Iran

Abstract

Scropholaria striata Boiss. with thirsty medicine local name is the most important medicinal plant of the family of Scrophulariaceae. This plant grows in cold and mountainous regions of Zagros. Although the chemical composition of this plant has not been identified, the people living in the province of Ilam have been used to treat various diseases for many years. The purpose of this study was to analyze the effects of climate conditions on the antioxidant activity and phenol content of this plant. For this purpose, the fruit-bearing branch of the plant was harvested at the time of ripening of the fruits from the three Baderh, Dehloran, and Darehshahr areas in the same direction (northeastern) in June 2016. The antioxidant activity of methanol extract of the plant samples was measured by DPPH method and the total amount of phenolic compounds was measured by Folin-Ciocalteu reagent method. The results showed that the effect of climate area on extract yield, antioxidant capacity and total phenol was significant at 1% probability level. The highest efficacy (19.37 ± 3.7%), antioxidant activity (126.556 ± 0.96 µg / ml) and total phenol (55.76 ± 3.17 ± 5.5 µg / ml) was obtained in the Darehshahr area. So, climate change can cause the synthesis of some secondary compounds.

Key words: Phenolic compounds, *Scropholaria striata* Boiss., DPPH, Climates, Extract