بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی، فنل و فلاونوئید کل گیاه دارویی *Melissa officinalis* L. در بسترهای مختلف کشت تحت شرایط هیدروپونیک

الهام فرخی[1*]، عباس صمدی[2]، امیر رحیمی[3]

[1]کارشناسی‌ارشد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[2]استاد، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[3]استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۱۱

چکیده

کشت هیدروپونیک دارای مزایای زیادی از قبیل عملکرد بالا، تولید محصولات یکنواخت و کنترل بهتر عناصر غذایی نسبت به خاک می‌باشد. هیدروپونیک، روشی است که در آن از بسترهای آلی یا معدنی برای کشت گیاه استفاده می‌شود. در این تحقیق به‌منظور بررسی اثر بسترهای مختلف کشت بر خواص آنتی‌اکسیدانی برگ‌های گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)، آزمایشی بر پایه‌ی طرح کاملا تصادفی با استفاده از ۱۱ تیمار و ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ارومیه انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل بستر پرلیت با اندازه‌های: کوچکتراز ۰/۵، ۱-۰/۵، ۱/۵-۱، ۲-۱/۵ و بیش از۲ میلی‌متر به صورت ۱۰۰ درصد حجمی و مخلوط اندازه‌های پرلیت با پیت ماس (۵۰:۵۰) و بستر پیت‌ماس خالص (۱۰۰ درصد حجمی) بودند. میزان فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب با استفاده از معرف فولین سیوکالتو، کلرید آلومینیوم و روش ۲و۲ دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد. تفاوت معنی‌داری در پارامترهای مورد اندازه‌گیری در بسترهای معدنی (اندازه‌های مختلف پرلیت)، بسترهای آلی (پیت ماس) و مخلوط بسترهای آلی و معدنی مشاهده شد. بیشترین میزان فنل کل (۰/۶۳ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم)، فلاونوئید کل (۰/۰۷ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم)، آنتوسیانین کل (۱/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)، فعالیت جمع کنندگی رادیکال سوپراکسید (۵۵/۳ درصد) و فعالیت جمع کنندگی رادیکال DPPH (۶۷/۸ درصد)، در بستر پیت‌ماس خالص مشاهده شد، درحالی که کمترین مقدار فعالیت جمع کنندگی رادیکال نیتریک اکسید (۶۷ درصد) در بستر پیت‌ماس بود. می‌توان نتیجه گرفت، بسترهای کشت مختلف دارای خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مختلفی هستند که می‌توانند بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی گیاه اثر بگذارند. با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده شد، بستر پیت‌ماس خصوصیات آنتی‌اکسیدانی بادرنجبویه را نسبت به بسترهای کشت دیگر، افزایش داده است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اندازه پرلیت، بادرنجبویه، پیت‌ماس، فنل

*نویسنده مسئول: elhamfarrokhy.ef@gmail.com

مقدمه

بادرنجبویه با نام علمی (*Melissa officinalis* L.) از خانواده نعناعیان، گیاهی علفی، چندساله و با ساقه چهارگوش است که ارتفاع آن بسته به شرایط اقلیمی به ۳۰ تا ۸۰ سانتی‌متر می‌رسد. این گیاه دارای ۰/۲ تا ۰/۵درصد اسانس است (امید بیگی، ۱۳۸۷). اسانس برگ‌های بادرنجبویه دارای خواص ضد ویروسی، ضدباکتریایی و ضد قارچی و اثرات دارویی برطرف کننده خلط است (Kim et al, 2010). از رایج‌ترین خواص درمانی بادرنجبویه می‌توان به خواص آرام بخشی، آنتی‌اکسیدانی، ضد نفخی، معرق و گوارشی (Budzyńska et al., 2013; Brlsinger, 2007) آن اشاره کرد. بادرنجبویه برای اهداف گوناگونی از جمله چای گیاهی (Beloued, 2009)، ادویه (Areceusz and Wesolowski, 2013)، لوازم آرایشی، بهداشتی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Sari, 2002).

هیدروپونیک یا کشت بدون خاک یک روش نوین برای کشت گیاهان است که در آن از بسترهای معدنی(مانند پرلیت، لیکا، ماسه، پومیس و غیره) و بسترهای آلی (مانند پیت‌ماس، کمپوست، کوکوپیت، پالم‌پیت) استفاده می‌شود (Mohammadi et al., 2011). بسترهای کشت سه هدف اصلی دارند که عبارتند از: فراهم کردن آب و هوا، فراهم کردن رشد حداکثر ریشه و حمایت فیزیکی از گیاه (Margit et al., 2012). نوع بستر کشت می‌تواند بر تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان اثر بگذارد. سیستم هیدروپونیکی در محیط کنترل شده می‌تواند گیاهان دارویی با کیفیت بالا به دور از اثرات محیطی نظیر باد ،خاک، عناصر سنگین موجود در خاک تولید کند (Salighehdar et al., 2013). یکی از مهمترین عواملی که سبب توسعه سیستم‌های کشت بدون خاک گردیده است، انتخاب بستر کشت مناسب می‌باشد. نوع بستر کشت از فاکتورهای موثر بر موفقیت کشت بدون خاک است که می‌تواند خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوتی داشته باشد (Samadi, 2011). خواص بسترهای کشت مختلف در هیدروپونیک بر روی رشد و نمو گیاه تأثیر مستقیم و غیرمستقیم دارد و واریته‌های مختلف در بستر های کشت مختلف، پاسخ‌های گوناگونی می‌دهند (Tabatabai and Mohammad Rezai, 2006). یکی از بسترهای کشت رایج مورد استفاده در سیستم هیدروپونیک پرلیت است. وجود تخلخل در پرلیت، تبادلات هوایی و گازی را در خاک برای ریشه گیاه به سهولت فراهم می‌آورد و به این علت باعث اصلاح سیستم هوادهی و آبدهی خاک و در نتیجه بهبود عمل تهویه خاک می‌شود. پرلیت به دلیل خاصیت معدنی خود دارای مواد معدنی از جمله آهن، سدیم، کلسیم و کانی‌های نادر دیگر می‌باشد (Djedidi et al., 1999). توزیع اندازه ذرات برای توصیف کیفیت فیزیکی مواد و تناسب آن برای رشد گیاه مهم است و بر حجم آب و هوای نگه داشته شده در بستر تاثیر می‌گذارد (Samadi, 2011). رشد و عملکرد گیاهان مختلف به طور معنی‌داری به اندازه پرلیت وابسته است. اندازه‌های مختلف پرلیت ظرفیت نگه‌داری آب متفاوتی دارند (Asaduzzaman et al., 2013). گزارش شده است، که افزودن پرلیت به بسترهای کشت، نسبت هوا را در مخلوط گلدانی افزایش می‌دهد (Wilson and Stoffella, 2006). پیت‌ماس از جمله ترکیبات آلی رایج مورد استفاده در بسترهای کاشت می‌باشد (Hajaghaei Kamtani et al., 2014). کاربرد پیت در کشت گیاهان به تنهایی اغلب علائم کمبود عناصر غذایی را نشان می‌دهد، در صورتی که ترکیب آن با بسترهای معدنی، دارای اثرات سودمندی بر رشد گیاه می‌باشد که علت آن را در نقش پیت بر فرآیندهای شیمیایی موثر در

فـــراهمی و تعـــادل عناصـــر مغـــذی دانســـته‌انـــد (Abdollahi et al., 2006).

آنتی‌اکسیدان‌هـا بـا حـذف رادیکـال‌هـای آزاد یـا ممانعت از تشکیل آنها، از سـلول‌هـا در برابـر آسـیب اکسیداتیو محافظـت مـی‌کننـد (Joyce et al., 2005; Parsons, 2017). مکانیسم ترکیبات فنلی برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اسـت بـه طوری که غلظت این بیومولکـول‌هـا پـس از مواجهـه گیاه با تنش به سرعت افزایش یافته و هزینه‌های پاسخ به تنش را در گیاه تعدیل مـی‌کنـد (Figueroa et al., 2016; Iqbal and Ashraf, 2007). ترکیبات فنلـی در گیاهان وظایف مختلفی دارند از جمله: ۱- ماده رنگی در گیاهان، ۲- خواص ضد بیماری و آنتی اکسـیدانی، ۳-ضدباکتری و آفت‌کشی طبیعی، ٤- عامل حفاظـت گیاه در برابر امواج ماوراء بنفش، ٥- عامل عایق بندی کننـده دیـواره سـلولی گیـاهی در برابـر گازهـا (Naczk and Shahidi, 2004). ترکیبات فنلی یکی از بهترین منـابع آنتـی‌اکسـیدان‌هـای طبیعـی در گیاهـان مـی‌باشـد (Gharibi et al., 2015). فلاونوئیـدها بزرگترین گروه فنل‌های گیاهی هستند و تقریباً بیش از نصفی از ۸۰۰۰ ترکیبات فنلی طبیعی موجود را شامل می‌شوند. افزایش تعـداد گـروه‌هـای هیدروکسـیل بـا قـدرت آنتـی‌اکسـیدانی ترکیبـات فلاونوئیـدی رابطـه مسـتقیم دارد (Koda et al., 2008). بـه‌طـوری‌کـه فلاونوئیدها به‌طور مستقیم باعث مهـار مولکـول‌هـای فعـــال سوپراکســـید و هیدروکســـیل مـــی‌گـــردد (Sharma et al., 2012). آنتوسیانین‌ها مهم‌ترین گروه از رنگدانه‌هـای طبیعـی بعـد از کلروفیـل هسـتند کـه غیرسمی و محلول در آب بوده و در سطح وسیعی در مایع سـلولی گیـاه وجـود دارنـد. ایـن رنگدانـه‌هـای فلاونوئیدی مسئول رنگ‌های قرمـز، آبـی و بـنفش در بسـیاری از میـوه‌هـا، سـبزیجات و گـل‌هـا هسـتند (Buchert et al., 2005). آنتوسیانین‌ها توانایی بـالایی در جذب رادیکـال‌هـای آزاد موجـود در بـدن دارنـد. رادیکال نیتریک‌اکسید از مهمترین متابولیت‌های ثانویه در سلول‌های گیاهی و جانوری است کـه در شـرایط تـنش در دیـواره سـلولی گیاهـان تجمـع مـی‌یابـد (Brunori et al., 1999). آنیون سوپراکسید یـک فـرم کاهش یافته از اکسیژن مولکولی است که رادیکال آزاد تشکیل شده از سیسـتم‌هـای حمـل و نقـل الکترونـی میتوکندری است. برخی از الکترون‌هـا کـه از واکـنش زنجیره‌ای میتوکندری عبور می‌کنند، به طور مستقیم با اکسیژن واکنش می‌دهند و آنیون سوپراکسید را تشکیل می‌دهند (Harman ,2000). روش‌های مختلفی بـرای بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد کـه از جملـه آنهـا مـی‌تـوان بـه روش جـاروب کـردن رادیکـــال‌هـــای آزاد ۲،۲- دی فنیـــل-۱- پیکریـــل هیـدرازیل (DPPH) اشـاره کـرد (Thaipong et al., 2006). در بیشـتر مطالعـات بـرای ارزیـابی فعالیـت آنتی‌اکسیدانی گیاهان از روش به دام اندازی رادیکـال آزاد DPPH استفاده می‌شود؛ از مزایای این روش عدم وابستگی به قطبیت نمونـه مـی‌باشـد (Kartal et al., 2007). گزارشات نشان می‌دهد گیاه بادرنجبویه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشـد (Dukic et al., 2004).

علیرغم مطالعاتی کـه در زمینـه بررسـی خـواص آنتی‌اکسـیدانی بادرنجبویـه انجـام شـده اسـت، تـاثیر بسـترهای کشـت هیـدروپونیکی از جملـه پرلیـت و پیت‌ماس و اندازه پرلیت بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ایـن گیاه مورد توجه واقع نشده است. بنابرین هدف از این مطالعـه بررسـی تـاثیر بسـترهای کشـت مختلـف بـر خـواص آنتـی‌اکسـیدانی گیـاه دارویـی بادرنجبویـه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی و در سه تکرار، در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۹۵ انجام گرفت. بسترهای آزمایش شامل اندازه‌های مختلف پرلیت (کوچکتر از ۰/۵ میلی‌متر- ۱- ۰/۵ میلی‌متر- ۱/۵-۱- میلی‌متر-۲-۱/۵ میلی‌متر و بیش از ۲ میلی‌متر) به صورت ۱۰۰ درصد حجمی و اختلاط اندازه‌های پرلیت و پیت ماس به صورت۵۰ درصد حجمی و بستر پیت ماس (pm) به‌صورت ۱۰۰ درصد حجمی بود. ابتدا خصوصیات فیزیکی بسترها از جمله چگالی ظاهری، تخلخل کل، تخلخل تهویه‌ای و ظرفیت نگهداشت آب به کمک دستگاه صفحات فشاری و در فشار ۰/۱ بار و با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند که مقادیر آنها در جدول ۱ گزارش شده است. سپس نشاهای بادرنجبویه به گلدان‌های حاوی بسترها انتقال داده شدند و با محلول غذایی هوگلند تغییر یافته (قاسمیان، ۱۳۹٤) تحت شرایط نسبت آمونیوم به نیترات (۲۰:۸۰) تغذیه شدند (جدول ۲). گیاهان بعد از سه ماه و در اوایل گلدهی برداشت شدند و برای اندازه‌گیری خواص آنتی‌اکسیدانی به‌مدت یک هفته و در دمای۲۳-۲۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند.

$$b = W_d / V_t \rho \quad (1)$$

$$n = V_w / V_t \quad (2)$$

$$n_{0.1} = V_w / V_t \quad (3)$$

$$n_a = n - n_{0.1} \quad (4)$$

$$S = n - n_a \quad (5)$$

b ρ (چگالی ظاهری) - W_d (وزن خشک) - V_t (حجم کل)- V_w (حجم آب)- n (تخلخل کل)-$n_{0.1}$ (تخلخل در فشار ۰/۱ بار)- n_a (تخلخل تهویه‌ای)-S (ظرفیت نگهداشت آب).

جدول ۱: ویژگی‌های فیزیکی اندازه‌گیری شده بسترها در آزمایشگاه

بستر ۱۰۰ درصد حجمی	چگالی ظاهری (گرم بر سانتی‌مترمکعب)	تخلخل کل (درصد)	تخلخل تهویه‌ای (درصد)	نگهداشت آب (درصد)
پرلیت کوچکتر از ۰/۵	۰/۱٦	۹۱/۳	۱٦/۵	۷٤/۸
۰/۵-۱	۰/۱۹	۸٦/۳	۱۷/۷	٦۸/٦
۱-۱/۵	۰/۲۲	۷۲	۱۹/۳	۵۲/۷
۱/۵-۲	۰/۲٤	٦۵/۳	۲۲/۷	٤۲/٦
پرلیت بیش از ۲	۰/۲۷	٦۱	۲۵	۳٦
پیت ماس	۰/۳۵	۸۱	۱۰/٦	۷۰/٤
بستر ۵۰ درصد حجمی (مخلوط پرلیت و پیت ماس)	-	-	-	-
پرلیت کوچکتر از ۰/۵	۰/۱۳	۹٤	۱٤/۱	۷۹/۹
۰/۵-۱	۰/۱۷	۸۹/۵	۱٦/۵	۷۳
۱-۱/۵	۰/۱۹	۸٤	۱۷/۱	٦٦/۹
۱/۵-۲	۰/۲۲	۷۹/٦	۱۸	٦۱/٦
پرلیت بیش از ۲	۰/۲٦	۷٦/٤	۲۱/۲	۵۵/۲

جدول ۲: غلظت عناصر و منابع کودی مورد استفاده در تهیه محلول غذایی

عنصر	غلظت عنصر (mg/l)	منبع کودی
N	۲۱۰	$(NH_4)_2SO_4$-KNO_3-$Ca(NO_3)_2$
P	۸۰	H_3PO_3
K	۲۷۵	KNO_3
Ca	۱۸۰	$Ca(NO_3)_2$
Mg	۸۰	$MgSO_4.7H_2O$
S	۲۰۰	منابع سولفاته موجود در محلول غذایی
Fe	۳/۷۵	FDDHA Fe
Mn	۰/۲۵	$Mn\ SO_4.H_2O$
Cu	۰/۲٦	$CuSO_4.5H_2O$
Zn	۰/۲۵	$ZnSO_4.7H_2O$
B	۰/٦	H_3BO_3
Mo	۰/۰٦	$H_{24}Mo_7N_6O_{24}.4H_2O$

تهیه عصاره متانولی: یک گرم از نمونه خشک شده برگ‌های گیاه بادرنجبویه که در مراحل اولیه گلدهی برداشت شده بودند با ۲۵ میلی‌لیتر متانول ۱۰۰درصد به مدت ۳ ساعت در دستگاه تکان دهنده مغناطیسی قرار گرفت، سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتروفیوژ شد و محلول رویی آن برای سنجش خاصیت آنتی‌اکسیدانی جدا گردید.

تعیین محتوای فنل کل: محتوای فنل کل موجود در عصاره‌ها طبق روش‌هارویتس (Horwits, 1984) با اندکی تغییر تعیین شد. مطابق این روش ۱ میلی‌لیتر از معرف Folin-Ciocalteu (که به نسبت ۱:۱۰ رقیق شده بود) به ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی افزوده شد. سپس محلول حاصل با ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۱۰٪) مخلوط شده و به مدت ٦۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه گردید. در نهایت جذب محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای فنل کل برحسب میلی گرم اکی والان‌های گالیک اسید در ۱۰۰ گرم عصاره با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید بیان گردید.

تعیین محتوای فلاونوئید: محتوای فلاونوئید موجود در عصاره‌ها طبق روش جیا و همکاران (Jia et al., 1999) با اندکی تغییر تعیین شد. در لوله آزمایش ۵۰ میکرولیتر عصاره با ۱ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و سپس ۰/۰۷۵ میلی‌لیتر نیتریت سدیم (۵٪) به آن اضافه شد و بعد از ۵ دقیقه ۰/۱۵ میلی‌لیتر محلول $AlCl_3$ (۱۰٪) اضافه شد و پس از گذشت ٦ دقیقه ۰/۵ میلی‌لیتر NaOH (۱ مولار) اضافه گردید و حجم نهایی محلول با آب مقطر به ۳ میلی‌لیتر رسانده شد. و شدت رنگ صورتی پدیدار شده در محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر قرائت شد، محتوای فلاونوئیدی کل بر حسب میلی‌گرم اکی والان‌های کوئرستین موجود در ۱۰۰ گرم عصاره با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین بیان گردید.

آنتوسیانین کل: ۰/۰۲ گرم از گیاه خشک وزن و با ٤ میلی‌لیتر HCL ۱٪ در متانول درون‌هاون چینی سائیده شد و عصاره حاصل به‌مدت ٢٤ ساعت درون یخچال قرار گرفت. محلول رویی بعد از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ در طول موج‌های ۵۳۰ و ٦۵۷ نانو متر توسط

اسپکتروفوتومتر قرائت گردید (Mita et al., 1997).

میزان آنتوسیانین کل با فرمول زیر محاسبه شد:

$$A=A530-(0.25\times A657)$$

A، A_{530} و A_{657} به‌ترتیب نشان‌دهنده میزان آنتوسیانین کل، جذب در طول موج ۵۳۰ و جذب در طول موج ٦٥٧ نانومتر است.

سنجش درصد جمع آوری رادیکال DPPH: میزان جاروب کنندگی رادیکال پایدار DPPH (۲،۲– دی فنیل ۱– پیکریل هیدرازیل) طبق روش بوریتس و بوکار (Burits and Bucar, 2000) با کمی تغییر تعیین گردید. ٤٠ میکرولیتر از عصاره با ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۰/۰۰٤٪) مخلوط شد. جذب مخلوط بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون (در دمای اتاق و تاریکی) در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد.

$$\text{درصد مهار رادیکال DPPH} = (1\text{-}A_{sample}/A_{blank}) \times 100$$

که A_{sample} جذب عصاره در $t = 60\ min$ و A_{blank} جذب شاهد در $t = 0\ min$ است.

تعیین درصد جمع‌آوری رادیکال سوپراکسید: لوله آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر از محلول بافر تریس اسید کلریدریک (pH=۸/۲, ۵۰ میلی‌مول بر لیتر) به‌مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. ٤٠ میکرولیتر از محلول پیروگالول (٤٥ میلی‌مول بر لیتر پیروگالول در اسید کلریدریک ۱۰ میلی‌مول بر لیتر)، که قبلاً در ۲۵ درجه سانتی گراد انکوبه شده بود، با استفاده از یک سرنگ میکرولیتری به قسمت بالایی لوله آزمایش تزریق شده و مخلوط شد. مخلوط برای ۳ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید و سپس بلافاصله ۱ قطره اسید آسکوربیک (۰/۰۳۵٪) برای پایان واکنش به داخل مخلوط چکانده شد. جذب مخلوط در ٤٢٠ نانومتر به عنوان A_o پس از ۵ دقیقه ثبت شد، و این A_o سرعت اتواکسیداسیون پیروگالول را نشان می‌دهد.

سرعت اتواکسیداسیون A_1 از همان روش بالا گرفته شد فقط به بافر تریس میزان مشخصی از عصاره (۱۰ میکرولیتر) افزوده شد(Ling et al., 1995). همزمان یک بلانک کنترل از مواد واکنشی به‌عنوان A_2 در نظر گرفته شد. درصد جمع‌آوری رادیکال با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد جمع‌آوری رادیکال‌های سوپر اکسید} = (A_0 - A_1 - A_2) \times 100 / A_0$$

تعیین درصد جمع‌آوری رادیکال نیتریک اکسید: ۳ میلی‌لیتر محلول واکنشی حاوی ۲ میلی‌لیتر سدیم نیترو پروسید (۱۰ میلی‌مولار)، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین و ٤٠ میکرولیتر عصاره گیاهی به‌مدت ۱۵۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از انکوباسیون، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول حاصل با ۱ میلی‌لیتر اسید سولفانیلیک (۰/۳۳ درصد در اسید استیک گلاسیال ۱۰ درصد) مخلوط شده و به‌مدت ۵ دقیقه برای تکمیل دآزوتیزاسیون ثابت گذاشته شد. سپس ۱ میلی‌لیتر نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید به مخلوط اضافه گردید و اجازه داده شد مخلوط به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ثابت بماند. یک رنگ صورتی منتشر در زمینه روشن پدیدار گردید (Garrat, 1964). جذب این محلول در ٥٤٠ نانومتر در مقابل یک بلانک قرائت شد. درصد جمع‌آوری رادیکال نیتریک اکسید با استفاده فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصدجمع آوری رادیکال‌های نیتریک اکسید} = (A_{blank} - A_{sample}) \times 100 / A_{sample}$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار CoStat، مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد و رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام گرفت.

نتایج

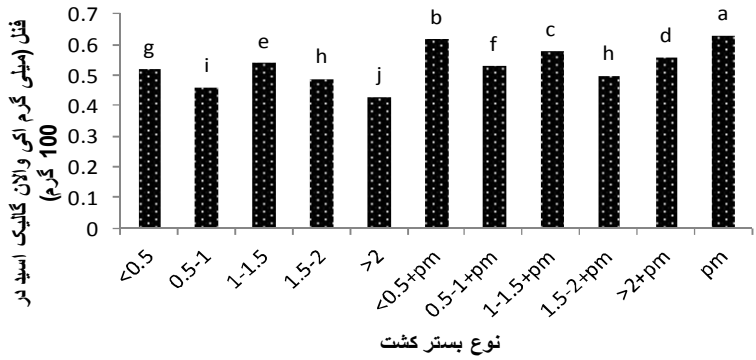
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، تاثیر اندازه پرلیت و مخلوط پیت‌ماس با اندازه‌های پرلیت بر خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی بادرنجبویه در سطح احتمال ۰/۱ درصد معنی‌دار است (جدول۲).

جدول ۳: تجزیه واریانس تاثیر اندازه‌های مختلف پرلیت و مخلوط آن با پیت‌ماس بر خواص آنتی‌اکسیدانی بادرنجبویه

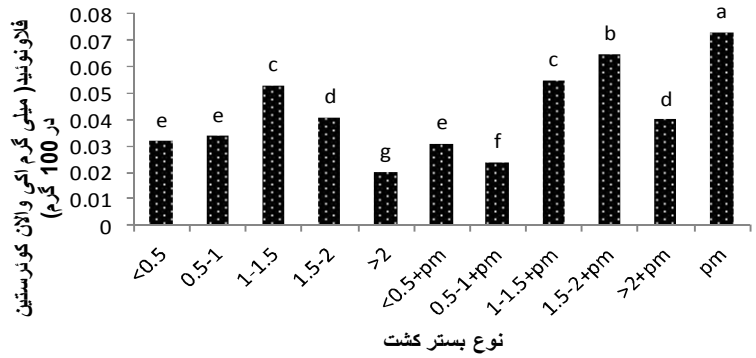
		میانگین مربعات					
منبع تغییرات	درجه آزادی	فنل کل (میلی‌گرم اکی والانهای گالیک اسید در۱۰۰ گرم عصاره)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم اکی والانهای کوئرستین موجود در ۱۰۰ گرم عصاره)	آنتوسایانین (mg/gdw)	رادیکال سوپر اکسید (درصد)	رادیکال نیتریک اکسید(درصد)	رادیکال DPPH (درصد)
نوع بستر کشت	۱۰	۰/۰۱***	۰/۰۰۸***	۰/۳۸***	۸۶/٤***	٦۹۸***	۱۳/۳***
اشتباه آزمایشی	۲۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۸	۲/٦	۰/٤۳
ضریب‌تغییرا (٪)	–	۰/۵۸	٤/۷	٤/۱	۲	۳/۱	۱/۱

***: معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۱ درصد

فنل کل: بیشترین فنل کل گیاه (۰/٦۳ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم) در بستر پیت‌ماس خالص وکمترین فنل کل گیاه (۰/٤۲ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم) در بستر پرلیت بیش از ۲ میلی‌متر بدست آمد (شکل۱).



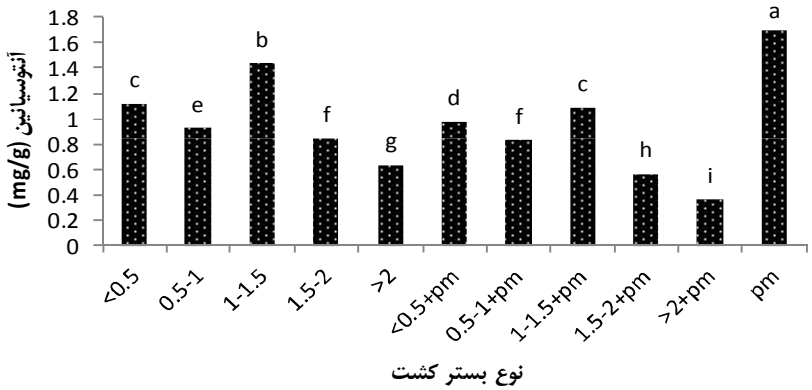
شکل ۱: تاثیر اندازه پرلیت و مخلوط آن با پیت‌ماس بر میزان فنل کل گیاه دارویی بادرنجبویه



شکل ۲: تاثیر اندازه پرلیت و مخلوط آن با پیت‌ماس بر میزان فلاونوئید کل گیاه دارویی بادرنجبویه

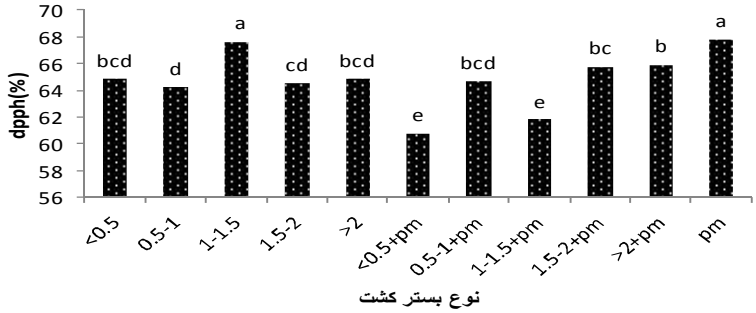
فلاونوئید کل: با توجه به نتایج بدست آمده، بیشترین فلاونوئید کل گیاه (۰/۰۷ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم) در بستر پیت‌ماس خالص وکمترین فلاونوئید کل گیاه (۰/۰۱ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم) در بستر پرلیت بیش از ۲ میلی‌متر بدست آمد (شکل ۲).

آنتوسیانین کل: بیشترین آنتوسیانین کل گیاه (۱/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در بستر پیت‌ماس خالص و کمترین آنتوسیانین کل گیاه (۰/۳۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در بستر پرلیت بیش از ۲ میلی‌متر مخلوط با پیت‌ماس بدست آمد (شکل ۳).



شکل ۳: تاثیر اندازه پرلیت و مخلوط آن با پیت‌ماس بر میزان آنتوسیانین کل گیاه دارویی بادرنجبویه

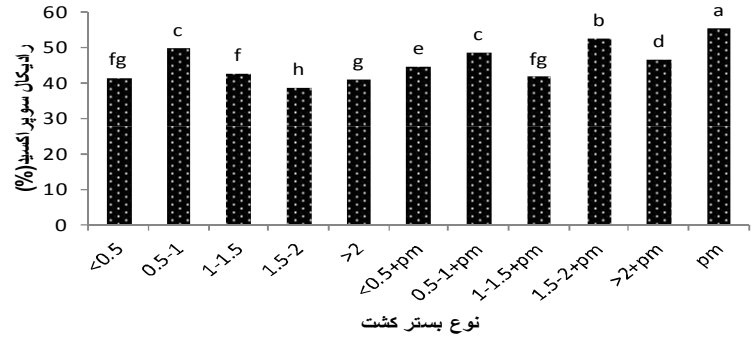
رادیکال DPPH: بیشترین فعالیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH گیاه (٦٧/٨ ٪) در بستر پیت‌ماس خالص مشاهده شد و با پرلیت با اندازه ۱/۵-۱ میلی‌متر در یک گروه آماری قرار گرفت وکمترین فعالیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH گیاه (٦٠/٧٪) در بستر پرلیت کوچکتر از ۰/۵ میلی‌متر مخلوط با پیت‌ماس بدست آمد و با پرلیت ۱/۵-۱ میلی‌متر مخلوط با پیت‌ماس در یک گروه آماری قرار گرفت (شکل ٤).



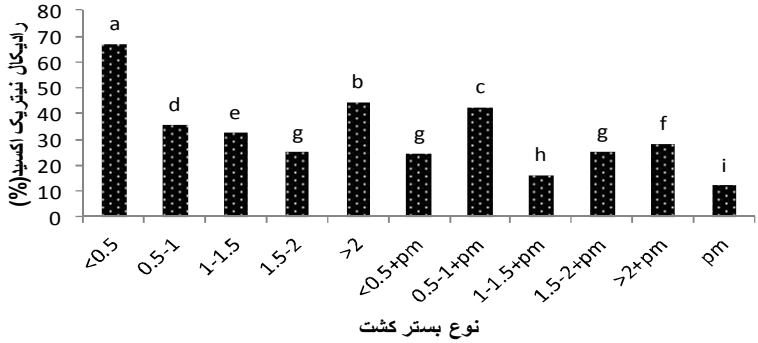
شکل ٤: تاثیر اندازه پرلیت و مخلوط آن با پیت‌ماس بر میزان جاروب کنندگی رادیکال DPPH گیاه دارویی بادرنجبویه

رادیکال سوپراکسید: بیشترین مقدار فعالیت جمع‌کنندگی رادیکال سوپراکسید گیاه (۵۵/۳ ٪) در بستر پیت‌ماس خالص وکمترین مقدار آن (۳۸/۵ ٪) در بستر پرلیت ۲-۱/۵ میلی‌متر بدست آمد (شکل ۵).

رادیکال نیتریک اکسید: بیشترین فعالیت جاروب کنندگی رادیکال نیتریک اکسید گیاه (٦٧ ٪) در بستر پرلیت کوچکتر از ۰/۵ میلی‌متر وکمترین فعالیت جاروب کنندگی رادیکال نیتریک اکسید گیاه (۱۲ ٪) در بستر پیت‌ماس خالص بدست آمد (شکل٦).



شکل ۵: تاثیر اندازه پرلیت و مخلوط آن با پیت‌ماس بر میزان فعالیت جاروب کنندگی رادیکال سوپراکسید گیاه دارویی بادرنجبویه



شکل ٦: تاثیر اندازه پرلیت و مخلوط آن با پیت‌ماس بر میزان فعالیت جاروب کنندگی رادیکال نیتریک اکسید گیاه دارویی بادرنجبویه

بحث

به نظر می‌رسد تولید متابولیت‌های ثانویه و آنتی‌اکسیدان‌ها تحت تاثیر شرایط محیطی، آب و هوایی، گونه گیاه و روش استخراج می‌باشد (Narimani et al., 2017). بنابرین شناسایی شرایط مناسب جهت تولید متابولیت‌های خاص گیاه می‌تواند در افزایش تولید این متابولیت‌ها در بسترهای کشت موثر باشد (Becerro and Paul, 2004).

ترکیبات فنلی به صورت موثری به عنوان دهنده هیدروژن عمل می‌کنند و به عنوان یک آنتی اکسیدان موثر به شمار می‌آیند (Zhang and Tsao, 2016; Gulluse et al., 2007). نتایج نشان داد، بیشترین میزان فنل و فلاونوئید کل بادرنجبویه، در بستر پیت‌ماس خالص بدست آمد و همچنین بسترهای مخلوط پرلیت و پیت‌ماس نسبت به بسترهای پرلیت خالص دارای میزان فنل و فلاونوئید کل بالاتری بودند. احتمالا دلیل بالا بودن این ترکیبات در بسترهای پرلیت و پیت‌ماس مخلوط شده، شرایط نگهداشت آب و تهویه بهتر، نسبت به سایر بسترها باشد. آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) بادرنجبویه نیز در بستر پیت‌ماس خالص دارای بالاترین مقدار بود. گزارش شده است فعالیت آنتی اکسیدانی با میزان فنل رابطه مستقیم دارد (Polatoglua et al., 2013). تحقیقات پیشین نشان داد، میزان فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه *Acmella Oleraceae* در کشت هیدروپونیک نسبت به کشت خاکی و کشت بافت بیشتر بوده است (Abaysinghe et al., 2014).سوگارا و همکاران (Sughara et al., 1999) به این نتیجه رسیده اند که بین فعالیت پاداکسایشی و فنل کل در

گیاهان خانواده نعناعیان مثل گونه‌های مختلف نعناع و پونه یک ارتباط خطی وجود دارد. رابطه مستقیم بین فعالیت آنتی اکسیدانی با ترکیبات فنلی و آنتوسیانین‌ها در بلوبری گزارش شده است (Koca and Karadeniz, 2009). آنتوسیانین‌ها بسیار ناپایدار بوده و مستعد تخریب می‌باشند. پایداری آنتوسیانین‌ها تحت تاثیر pH، دمای نگهداری، نور، اکسیژن، قندها، آنزیم‌ها و غلظت سایر فلاونوئیدها قرار دارد (Francis, 1989). سپهری‌فر و حسنلو (۱۳۸۸) گزارش کردند بین میزان فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، همبستگی مثبت و بین فلاونوئید و آنتوسیانین همبستگی منفی وجود دارد که این شرایط در گیاه بادرنجبویه نیز مشهود بود. در تعدادی از مطالعات همبستگی مثبتی بین محتویات فلاونوئید و خاصیت آنتی اکسیدانی نشان داده نشده است (Tawaha et al., 2007). فلاونوئیدها گروه بزرگی از ترکیبات فنلی موجود در گیاهان را تشکیل می‌دهند که توسط جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و یا سازوکارهایی مثل خاموش کردن اکسیژن منفرد از اکسیداسیون لیپید جلوگیری می‌کنند (Wu et al., 2004). ادیب و همکاران (Adib et al., 2010)، بالاترین فعالیت جمع کنندگی رادیکال آزاد DPPH را در حلال متانولی گزارش کردند. حسن‌زاده (۱۳۹۵) میزان فنل کل در اسانس بادرنجبویه را در محدوده ۰/۱۳۸-۰/۳۱۳، میزان فلاونوئید کل در محدوده ۰/۰٤۱-۰/۱۲۱ و رادیکال DPPH را در محدوده ٦٦-۸۳٪ گزارش کرد.

گیاهان برای فتوسنتز و تنفس به تبادلات گازهای اتمسفری نیاز دارند. معمول‌ترین مانع برای انتشار گاز، آب است که محیط ریشه را اشباع می‌کند. کاهش غلظت اکسیژن با تشکیل انواع گونه‌های اکسیژن همراه است. فقدان یا کمبود اکسیژن در ریشه گیاه سبب تخریب فتواکسیداتیو برگ‌ها و افزایش تولید انواع گونه‌های اکسیژن فعال مثل سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل شده که به وسیله اکسید کردن رنگدانه‌های فتوسنتزی، چربی‌های غشایی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک باعث خسارت‌های اکسیداسیونی می‌شوند (Sairam and Srivastava, 2002) و به صورت نکروزه شدن سطوح برگ و تخریب سلول‌های فتوسنتزی ظهور پیدا می‌کند، اما سلول‌های گیاهی برخوردار از مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانت مقابل خسارت‌های اکسیداتیوی مورد محافظت قرار می‌گیرند (Lima et al., 2002). گزارش شده است، تنش‌های محیطی باعث افزایش سطوح متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی می‌شود (Zobayed et al., 2005)، بنابرین استفاده از پیت به تنهایی به دلیل فشرده شدن و کاهش تخلخل در طول زمان مفید نیست (Carlile and Coules 2013). با توجه به اینکه میزان رادیکال سوپراکسید در بستر پیت‌ماس بالاتر و میزان رادیکال نیتریک‌اکسید در بستر پیت‌ماس کمتر است، می‌توان نتیجه گرفت رادیکال‌های نیتریک‌اکسید و سوپراکسید با یکدیگر رقابت دارند. مارکوسی و همکاران (Marcocci et al., 1994)، به این نتیجه رسیدند که جمع‌کننده‌های رادیکال نیتریک اکسید نه تنها در گیاهان خانواده نعناعیان بلکه در گیاهان دیگر نیز با اکسیژن هدایت کننده رقابت می‌کنند تا تولید نیتریک اکسید را کاهش دهند. زانگو و همکاران (Zhonggao et al., 2005)، ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتریک اکسید را در عصاره شاه‌توت بررسی کرده‌اند و نشان دادند که ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتریک اکسید در غلظت‌های پایین بسیار ناچیز بوده و به تدریج با افزایش غلظت عصاره قدرت آن بیشتر می‌شود.در مطالعات قبلی گزارش شده است که نیتریک اکسید تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسید نیتروژن را تشویق می‌کند و این مرحله مهمی در حفاظت سلول در برابر

رادیکـل‌هـای آزاد اکسـیژن اسـت (Shi and Ding, 2007). بیشترین فعالیـت جـاروب کننـدگی رادیکـال نیتریک اکسید در گیاه بادرنجبویه در پرلیت بـا انـدازه کوچکتر از ۰/۵ میلی‌متر به‌دست آمد. این اندازه پرلیت دارای کمترین تخلخل تهویـه‌ای و بیشـترین ظرفیـت نگهداشت آب است، هرچه اندازه پرلیت درشـت تـر می‌شـود میـزان تخلخـل تهویـه‌ای افـزایش و میـزان نگهداشت آب آن کاهش می‌یابـد. بنـابرین در انـدازه ریز پرلیت میزان تنش بالایی به گیاه وارد شده و مقدار رادیکـال نیتریـک‌اکسـید بـالا اسـت. نیتریـک اکسـید سرعت انتشار بالایی دارد و به‌صـورت یـک رادیکـال چربی دوست می‌تواند در سراسر غشای سلولی منتشر شود و همچنین از طریـق سیتوپلاسـم بـا تعـدادی از پروتئن‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیـک واکـنش دهـد (Corpas et al., 2004). گزارش شـده اسـت، کشـت هیدروپونیک به‌عنوان یک روش جدید در تولید گیـاه *Datura innoxia* Mill. (Gontier et al., 2002) و *plumbago indica* (Lenora et al., 2012) مـورد بررسی قرار گرفته است.

نتیجه‌گیری نهایی

ویژگی‌های بسترها شامل نگـه‌داشـت آب و مـواد غذایی، فراهمی تهویه مناسـب بـرای سیسـتم ریشـه، داشـتن وزن سـبک، عـاری بـودن از ارگانیسـم‌هـای بیماری زا و موادی کـه بـرای گیاهـان سـمی هسـتند می‌باشد. با توجه به نتایج بدست آمده، مشـخص شـد که نوع بستر کشت و اندازه ذرات پرلیت تاثیر متفاوتی بر خواص آنتی اکسیدانی گیاه دارویی بادرنجبویـه در کشت هیدروپونیک داشت به طوری که مشـاهده شـد در بین بسترهای مورد استفاده، بستر پیت‌ماس خالص بیشترین تاثیر را در خواص آنتـی اکسـیدانی در گیـاه بادرنجبویه داشته است.

References

1.Abeysinghe, D.C., Wijerathne, S.M.N.K. and Dharmadasa, R.M. 2014. Secondary metabolites contents and antioxidant capacities of *Acmella Oleraceae* grown under different growing systems. World Journal of Agricultural Research, 2(4): 163-167

2.Abdollahi, K., Movahedi- Nayini, A., Mashyekhi, K. and Mazaheri, M. 2006. Investigation of the concentration and absorption of the elements and growth of the tomato plant in the culture media prepared from Pit Sardari. Journal of Agricultural Science and Natural Resources. 14(4): 42-51.

3.Adib, S.H., Rahman, M., Ahmad, K.H. and Rashid, M. 2010. Free radical scavenging activities of some indigenous plant of Bangladesh. Bangladesh Pharmaceutical Journal. 13: 68-70.

4.Arceusz, A. and Wesolowski, M. 2013. Quality consistency evaluation of *Melissa officinalis* L. commercial herbs by HPC fingerprint and quantitation of selected phenolic acids, "Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 83; 215–220

5.Asaduzzaman, M., Kobayashi, Y., Fuad Mondal, M., Matsubara, H., Adachi, F. and Asao, T. 2013. Growing carrots hydroponically using perlite substrates. Horticulture Science.159:113-121.

6.Brunori, M., Giuffre, A., Sarti, P., Stubauer, G. and Wilson, M.T. 1999. Nitric oxide and cellular respiration. Cellular and Molecular Life Science, 56: 549-557.

7. Belsinger, S. 2007. Lemon balm, herb of the year 2007. Herbs for health: 11(6): 26-31.

8.Buchert, J., Koponen, J.M., Suutarinen, M., Mustranta, A., Lille, M., Törrönen, R. and Poutanen, K .2005. Effect of enzyme - aided pressin on anthocyanin yield and profiles in bilberry and blackcurrant juices. Journal of the Science of Food and Agriculture.85 (15) 2548-2556.

9.Burits, M., and Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa*

essential oil. Phytotheraphy Research. 14: 323-328.
10. Carlile, B. and Coules, A. 2013. Towards sustainability in growing media. In: international symposium on growing media, composting and substrate analysis. Acta Horticulturae 1013: 341-349.
11. Corpas F.J., Barroso J.B., Carreras A., Quiros M., Leo´n A.M., Romero-Puertas M.C., Esteban F.J., Valderrama R., Palma J.M., and Sandalio LM. 2004. Cellular and subcellular localization of endogenous nitric oxide in young and senescent pea plants. Plant Physiology, 136: 2722-2733.
12. Djedidi, M., Gerasopoulos, D. and Maloupa, E. 1999. The effect of different substrates on the quality of F. carmello tomatoes (*Lycopersicom esculentum* Mill.) grown under protection in a hydroponic system. Cahier option Mediterraneans, 31: 379-383
13. Dukic, N., Bozin, B., Sokovic, M. and Simin, N. 2004. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. essential oil. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 52 (9), 2485-2489.
14. Francis, F.J. 1989. Food colorants: Anthocyanins. Critical Reviews in food Science and Nutrition, 28: 273-314.
15. Garrat, D.C. 1964. The quantitative analyse of drugs (Vol. 3.). Japan: Chapman and Hall. pp. 456-458.
16. Gasemian, V. 2015. The effect of particle size distribution of perlite and organic media on basil in hydroponics system, MSc thesis department of soil science, University of Urmia, Iran.
17. Gharibi, S., Tabatabaei, B. and Saeidi, G. 2015. Comparison of essential oil composition, flavonoid content and antioxidant activity in eight *Achillea species*. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 18(6): 1382-1394.
18. Gontier, E., Clement, A., Tran, T.L.M., Gravot, A., Lievre, K., Guckert, A. and Bourgaud, F. 2002. Hydroponic combined with natural or forced root *permea bilization*: A promising technique for plant secondary metabolite production. Plant Science, 163, 723-732.
19. Golluce, M., Sahin, F. and Sokmen, M. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longif*olia L. ssp. *longifolia*, Food Chemistry, 103:1449-1456.
20. Hajaghaei Kamtani, M., Hashemi, K., Majd Najafi, N.A. and Hoseinnia, H. 2014. Effect of planting bed and soilless media on growth and yield of potato minitubers. Agroecology Journal, 10(3): 25-35.
21. Harman, D. 2000. Aging: overview. Academic Science. 928:1-21.
22. Hasanzadeh, H. 2015. Effect of propagation and use of organic fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). M.Sc thesis department of agriculture, University of Umia. Iran.
23. Hertzman, I. and Schultz, W. 1984. *Melissa officinalis* L. An old medicinal plant with new therapeutic action Deutsche, Apotheker Zeitung, 124: 2137-45.
24. Horwitz, W. 1984. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Washington, D.C. 14th Ed. AOAC.
25. Iqbal, M. and Ashraf, M.2007. Seed preconditioning modulates growth, ionic relations, and photosynthetic capacity in adult plants of hexaploid wheat under salt stress. Journal of Plant Nutrition. 30(3): 381-396.
26. Jia, Z., Tang, M. and Wu, J. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chemistry. 64: 555-559.
27. Joyce, C., Pennycooke, S. and Stushnoff, C. 2005. Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia. Environmental and Experimental Botany, 53: 225-232.
28. Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M. and Sokmen, A .2007. Investigation of the antioxidant properties of *Ferula*

orientalism Lousing a suitable extraction procedure. Food Chemistry, 100(2): 584-589.
29. Koca, I. and Karadeniz, B. 2009. Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea Region of Turkey. Scientia Horticalture, 121: 447-50.
30. Koda, T., Kuroda, Y. and Imai, H. 2008. Protective effect of rutin against spatial memory impairment induced by trimethyltin in rats. Nutrition Research, 28: 629-634.
31. Kim, S., Yun, E.J., Bak, J.S., Lee, H., Lee, S.J., Kim, C.T., Lee, J.H. and Kim, K.H. 2010. Response surface optimized extraction and chromatographic purification of rosmarinic acid from Melissa officinalis leaves. Food Chemistry, 121: 521-526.
32. Lenora, R.D.K., Dharmadasa, R.M., Abeysinghe, D.C. and Arawwawala, L.D.A.M. 2012 .Investigation of plumbagin content in *Plumbago indica* Linn. grown under different growing systems. pharmacologia, 3: 57-60.
33. Lima, A.L., DaMatta, F.M., Pinheiro, H.A., Totola, M.R. and Loureiro, M.E. 2002. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. Environmental and Experimental Botany, 47: 239-247.
34. Ling, T.Y. and Zhao, X.Y. 1995. The improved pyrogallol method by using terminating agent for superoxide dismutase measurement. Progress Biochemistry Biophysics. 22: 84-86.
35. Marcocci, L., Packer, L., Droy-Lefai, M.T., Sekaki, A. and Gardes-Albert, M. 1994. Antioxidant action of *Ginkgo* extracts. EGb 761. Methods Enzymology. 234: 462-475.
36. Margit, O., Mahieu, N. and Anastasios, S .2012. Vegetable quality and productivity as influenced by growing medium: a review. Žemdirbystė Agriculture. 99(4): 399-408.
37. Mita, S. Murano, N., Akaike, M. and Nakamura ,K. 1997. Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that are inducible by sugars., Plant Journal, 11: 841-851.
38. Mohammadi Ghehsareh, A., Borji H. and Jafarpour, M. 2011. Effect of some culture substrates (date-palm peat, cocopeat and perlite) on some growing indices and nutrient elements uptake in greenhouse tomato. African journal of microbiology research. 5(12): 1437-1442.
39. Naczk, M. and Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography, 1054: 95–111.
40. Narimani, R., Moghaddam, M. Ghasemi Pirbaloti, A. and Shokouhi, D. 2017. The study of morphological diversity, total phenolic contents and antioxidant activity indifferent populationsof *Nepeta nuda* and *Nepeta crassifolia* in Ardabil and Eas Azerbaijanprovinces. Ecophytochemical Journal of Medicinal Plants, 19(5):13-22
41. Omidbaigi, R. 2007. Production and Processing of Medicinal Plants. (4th Ed.). Astan Ghods. Publication., Vol. 2, 438 p.
42. Papas, A.M. 1999. Determinants of antioxidant status in humans. In: Papas A.M, editor. Antioxidant status, diet, nutrition, and health. Boca Raton, Fla.: CRC Press. p 21-36.
43. Polatoglua, K., Karakoc, O.C. and Goren, N. 2013. Phytotoxic, DPPH scavenging, insecticidal activities and essential oil composition of *Achillea vermicularis*, *A. teretifolia* and proposed chemotypes of *A biebersteinii* (Asteraceae). Industrial Crops and Products, 51(1): 35-45.
44. Sairam, R.K. and Srivastava, G.C. 2002. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. Plant Science. 162: 897-907.
45. Salighehdar, F., Sedaqat-Hoor, S. and Olfati, J. 2013. Effects of four nutrient solutions on vegetative traits of *Aloe vera* L. cv. *austin* at six harvest periods. Journal of Green House Culture Science and Technology. 4:15-27.

46. Samadi, A. 2011. Effect of particle size distribution of perlite and its mixture with organic substrates on cucumber in hydroponics system .Journal of Agricultural Science and Technology. 13: 121-129.
47. Sari, A.O. 2002. Yield characteristics and essential oil composition of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) in the Aegean region of Turkey. Turkish Journal Agriculture, 26: 217-224.
48. Sepehrifar, R. and Hasanlou, T. 2010. Evaluation of polyphenolic compounds, total anthocyanins and flavonoids and antioxidant properties of Cranberry herb from four regions of Iran. Journal of Medicinal Plants, 9 (1): 74-66.
49. Sharma, R.K., Samant, S.S., Sharma, P. and Devi, S. 2012. Evaluation of antioxidant activities of *Withania somnifera* leaves growing in natural habitats of north-west Himalaya, India. Journal of Medicinal Plants Research,6(5): 657-661.
50. Shi, Q. and Ding, F. 2007. "Exogenous nitric oxide protect cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress." Plant Physiology and Biochemistry, 45(8): 542-550.
51. Sughara, N., Arakawa, T., Ohnishi, M. and Furuno, K. 1999. Anti-and pro-oxidative effect of flavonoids on metal-induced lipid hydroperoxid-dependent lipid peroxidation in cultured hepatocytes loaded with alpha-linolenic acid. Free Radical. Food Technology and Biotechnology, 121(1):423-502
52. Tabatabai, J. and Mohammad Rezai, R. 2006. Effect of different media on growth and yield of Greenhouse *Cucumbers* in hydroponic system. Journal of Agricultural Science, 16(2):35-44.
53. Tawaha, K., Alali, F., Gharaibeh, M., Mohammad, M. and El-Elimat T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian species. Food Chemistry, 104:1372-1378.
54. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosbyk, L.C. and Byrne, D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, Journal of Food Complementary Analytical. 19: 669-675.
55. Walker, M.A. and Kersie, B.D. 1993. Role of the ascorbate glutathione antioxidant system in chilling resistance of tomato. Journal of Plant Physiology, 141: 234-239.
56. Wilson, S.B. and Stoffella, P.J. 2006. Using compost for container production of ornamental wetland and flatwood species native to Florida. Native Plants Journal, 7(3): 293-300
57. Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, SE. and Prior, RI. 2004. Lipophilic and hydrophilhc antioxidant capacities of common foods in the United States. Journal of Agricultural and Food C 58. Zhang, H. and Tsao, R. 2016. Dietary polyphenols, oxidative esters and antioxidant andanti-inflammatory effects. Current *Opinion* in Food Science, 52: 4026-4037.
59. Zhonggao, C., Felgines, O., Texier, C., Besson, D.J., Liu, J. and Wang, S. 2005. Antioxidant activities of total pigment extract from blackberries. Food Technology and Biotechnology, 43 (1): 97-102.
60. Zobayed, S.M.A., Afreen, F. and Kozai, T., 2005.Temperature stress can alter the photosynthetic efficiency and secondary metabolite concentrations in St. John's wort. Plant Physiology and Biochemistry, 43(10-11): 977-984.

Evaluation of antioxidant activity, total phenol and flavonoid content of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) in different cultures under hydroponic conditions

Farrokhi, E.[1*], Samadi, A.[2], Rahimi, A.[3]

[1]M.Sc. Student, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[2]Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 2019-1-1 ; Accepted: 2019-5-1

Abstract

Hydroponic cultivation has many advantages such as high yield, uniform production and better control of nutrients over the soil. The hydroponic is a method in which organic or inorganic substrates are used for plant cultivation. To investigate the effect of different cultures on the antioxidant properties of lemon balm (*Melissa officinalis*), an experiment based on a completely randomized design using 11 treatments with three replications was conducted in the experimental greenhouse of Urmia University. The experimental treatments were including perlite substrate with grades: <0.5, 0.5-1 ,1-1.5 ,1.5-2 and >2 mm as 100% volume and mixed grades of perlite with peat moss (50:50) and pure peat moss (100% volume). The total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity were measured using folin ciocalteu reagent, aluminum chloride, and 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods respectively. The results showed that significant differences were observed in the measured parameters in inorganic (perlite with different grades), organic (peat most) and mixture of organic and inorganic substrates. The highest content of total phenol (0.63mg GAA/100g), total flavonoids (0.07 mg Q/100g), total anthocyanin (1.7 mg/g_{dw}), superoxide radical scavenging activity (55.3%) and radical scavenging activity DPPH (67.8%) were observed in pure peat moss, while the lowest amount of nitric oxide radical scavenging activity (67%) was in observed Pythagorean substrate. It can be concluded that different cultures with having different physical and chemical properties affect the plant antioxidant properties. Based on the results, the antioxidant properties of lemon balm was greater in peat moss substrate in compare with other cultures.

Keywords: Antioxidant, Lemon balm, Perlite size, Peat moss, Phenol

*Corresponding author; elhamfarrokhy.ef@gmail.com