فصلنامه (علمی – پژوهشی)

زیست شناسی تکوینی

سال دوازدهم، شماره ۴، پاییز ۱۳۹۹ ص. ۱۸-۹

مقاله پژوهشی

شناسایی فیتوشیمیایی، تعیین برخی متابولیت‌های اولیه و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه شورپسند اشنان (*Seidlitzia rosmarinous*)

مهناز دوابی[۱]، رویا آزادی[۱*]، مریم کلاهی[۲*]، ناهید پوررضا[۱]

[۱] گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

[۲] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

[*] Email: m.kolahi@scu.ac.ir, razadi@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۹

چکیده

گیاه شورپسند اشنان با نام علمی *Seidlitzia rosmarinous* از خانواده اسفناجیان، گیاهی با کاربرد در صنایع مختلف است که اغلب در نواحي شور و قلیایي، بیابان‌ها و شوره‌زارها به عنوان گونه‌اي بومي و سازگار رویش می یابد. در مطالعه حاضر گیاه اشنان با استفاده از سه حلال اتانول، متانول و آب به روش سوکسله عصاره‌گیری شد، سپس عصاره متانولی مورد بررسی فیتوشیمیایی قرارگرفت. به منظور شناسایی ترکیبات شیمیایی و عناصر موجود در گیاه به ترتیب، آنالیز کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنج جرمی بر روی عصاره متانولی و آنالیز پراش انرژی پرتو ایکس بر روی پودر گیاه اشنان انجام گرفت. سپس محتوای برخی متابولیت‌های اولیه نظیر: پروتئین، فیبر و کربوهیدرات در پودر گیاه اندازه‌گیری شد. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن با استفاده از آزمون ABTS[۱] مورد ارزیابی قرارگرفت. بیشترین راندمان وزنی مربوط به عصاره‌گیری با حلال آب بود. بررسی‌های فیتوشیمیایی حضور ترکیبات آلکالوئیدی، فلاونوئیدی، تانني، ساپونینی، استروئیدی و گلیکوزیدی و عدم حضور ترپنوئیدها را نشان داد. آنالیز کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنج جرمی حضور ۵۱ ترکیب شیمیایی، و آنالیز پراش انرژی پرتو ایکس حضور ۸ عنصر را در گیاه نشان داد. بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره اتانولی می‌باشد. براساس نتایج به دست آمده، گیاه اشنان می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی، در صنایع بهداشتی، دارویی و غذایی مورد استفاده قرار بگیرد. همچنین وجود عناصر سدیم، کلر و کلسیم فراوان در گیاه نشان از شور پسند بودن گیاه اشنان است که می‌تواند برای مدیریت مشکلات زیست محیطی و کشت در خاک های شور بسیار حائز اهمیت باشد.

کلیدواژه‌ها: آنتی‌اکسیدان طبیعی، اشنان، متابولیت‌های اولیه.

[1] 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

مقدمه

گیاه اشنان با نام علمی *Seidlitzia rosmarinous* از خانواده اسفناجیان می‌باشد و به‌طور گسترده‌ای در استان‌هاي اصفهان، فارس، کرمان، خوزستان، بوشهر، هرمزگان، سیستان وبلوچستان، خراسان، سمنان، تهران، قم، مرکزي و یزد گسترش دارد. در سطح جهانی این گیاه در فلسطین اشغالی، اردن، سوریه، عراق، عربستان، کویت، بحرین، عمان، امارات متحده عربی، قطر، افغانستان و آسیاي مرکزي یافت می‌شود [۱]. گیاهی یک‌ساله و یا چند ساله، داراي ساقه‌ای ترد، چوبي با انشعابات فرعي متعدد، دارای شاخه‌های فراوان، متقابل، بدون کرك و سفیدرنگ است. ارتفاع متوسط گیاه تا دو متر و قطر تاج پوشش آن تا یك و نیم متر نیز مي‌رسد. زمان گل‌دهي آن، اوایل شهریورماه و مهرماه بوده و زمان رسیدن بذور نیز درآبان‌ماه می‌باشد [۲]. اشنان درختچه‌ای شورپسند و مقاوم به خشکي است که اغلب در نواحي شور و قلیایي، بیابان‌ها و شوره‌زارهاي دشت کویر به عنوان گونه‌اي بومي و سازگار رویش داشته و ایجاد اجتماعات یکدست و وسیعي را مي‌نماید [۳]. اشنان خاك‌هاي شور و قلیایي را (حتي تا شوري بالاي ۴۰ میلي‌موس) به راحتي تحمل می‌کند. گیاه اشنان را شورپسند اختیاری و برخی آن را شورپسند اجباری می‌دانند. مقاومت به شوری در این گیاه از نوع بردباری[1] می‌باشد. به این صورت که املاح موجود در خاک را جذب و در اندام‌های هوایی به ویژه در برگ‌های خود ذخیره می‌کند و به این وسیله با فشار اسمزی بالا می‌تواند آب مورد نیاز خود را جذب کند [۴]. در گذشته به طور سنتی، برگ های خشک شده گیاه اشنان به دلیل دارا بودن خاصیت کف‌کنندگی، برای شستشوی پارچه و ظروف استفاده می‌شد. همچنین گزارشاتی در مورد خواص دارویی گیاه اشنان، به ویژه در درمان بیماری‌های پوستی وجود دارد. این گزارشات نشان داده شده است که خاکستر تولید شده از سوزاندن برگ‌ها و ساقه گیاه اشنان دارای اثر ضدعفونی کننده و ضدباکتریایی می‌باشد و برای درمان برخی از انواع آکنه و نیز درمان لیشمانیوز[2] استفاده شده است [۵]. اشنان همچنین برای درمان و کاهش علائم بالینی در هایپرپلازی خوش‌خیم پروستات BPH[3] مورد آزمایش قرار گرفته است [۳]. این گیاه در صنایع مختلف از جمله رنگرزی، صابون سازی، سفالگری، شیشه سازی، سرامیك سازي، شستشوي نخ‌های ابریشم مورد استفاده قرار مي‌گیرد [۶].

امروزه تقاضای استفاده از محصولات طبیعی به جای محصولات شیمیایی برای تولید کنندگان مواد غذایی، لوازم آرایشی و دارویی رو به افزایش است. در سال‌های اخیر محصولات گیاهی طبیعی در دارو، لوازم آرایشی، تغذیه و طعم دهنده بدون عوارض جانبی یا با عوارض جانبی پایین مورد استفاده قرار گرفته‌اند. برخی متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان، جایگزین مناسبی برای ترکیبات شیمیایی در صنعت هستند [۷]. اغلب مواد فیتوشیمیایی موجود در عصاره‌های گیاهی در غلظت‌های پایین غیرسمی هستند و آسیب چندانی به محیط زیست وارد نمی‌کنند. در صنایع غذایی، مواد فیتوشیمیایی تخریب اکسیداتیو لیپیدها را به تأخیر می‌اندازند و موجب بهبود ارزش غذایی شده و از زوال میکروبی جلوگیری می‌کنند [۸, ۹, ۱۰]. به طور کلی، واژه آنتي‌اکسیدان، به ممانعت کننده‌هاي پراکسیداسیون لیپیدها، گیرنده‌هاي رادیکال آزاد و عوامل کلات کننده[4] مربوط مي‌شود [۱۱]. این ترکیبات طبیعي اغلب از بدن در برابر رادیکال‌هاي آزاد مضر محافظت می‌کنند و به عنوان عامل کاهش‌دهنده خطر انواع مختلفي از ناهنجاري‌ها شناخته شده‌اند [۱۲].

پدیده‌ی ریزگردها یکی از معضلات زیست محیطی است که در سالیان اخیر بدنبال فعالیت‌هاي انسانی افزایش یافته است. ۳۴۹ هزار و ۲۵۴ هکتار از مساحت دشت خوزستان منشأ کانون‌های تولید ریزگرد است. گیاه اشنان به عنوان گیاه بومی خوزستان از جمله گیاهان سازگار با شرایط پرتنش شوری و کم‌آبی منطقه است. این پوشش گیاهی باعث جلوگیري از تبخیر آب از سطح خاك و مرطوب ماندن آن می‌شود. همچنین با افزایش مقدار رطوبت خاك، تراکم پوشش گیاهی بیشتر شده و خود پوشش گیاهی به عنوان

[1] Tolerance
[2] Leishmaniasis
[3] Benign prostatic hyperplasia
[4] Chelation agents

مانعی براي انتشار ذرات خاك در هوا عمل می‌کند. در شرایط یکسان در نواحی با پوشش گیاهی بیشتر امکان وقوع طوفان‌هاي گرد و غبار بسیار کمتر است[۱۳]. آگاهی از وضعیت گونه‌های منطقه و شیوه‌های سازگاری آن‌ها با توجه به شرایط تنش شوری، دما و خشکی، می‌تواند کمک مناسبی برای به کارگیری این دسته از گونه‌های بومی و سازگار با منطقه، در برنامه‌های مدیریت، احیا و تثبیت بیولوژیک خاک باشد. گیاه بوته‌ای یا شبه درختچه‌ای اشنان با داشتن اندام‌های گوشتی و تنظیم فشار اسمزی، گونه‌ای مناسب و قابل توصیه برای کشت در خوزستان می‌باشد [۱۴]. شناسایی ترکیبات شیمیایی درگیر در کسب سازش‌های محیطی این گیاه می‌تواند برای مطالعات پایه و نیز مدیریت مشکلات زیست محیطی بسیار حائز اهمیت باشد.

به رغم اهمیت گیاه اشنان، تاکنون مطالعات فیتوشیمیایی کمی روی این گیاه انجام شده است. با توجه به آلاینده‌های محیطی و مشکلاتی که شوینده‌های صنعتی به وجود می‌آورند، نظر به اهمیت گیاه اشنان در شیمی سبز به عنوان یک سورفکتانت و پراکنش وسیع گیاه در خوزستان به عنوان منطقه‌ای که با مشکلات زیست محیطی و ریزگرد مواجه است، مطالعه فیتوشیمیایی گیاه اشنان با داشتن ترکیبات شیمیایی فراوان و ارزشمند می‌تواند بسیار حائز اهمیت باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه: گیاه اشنان از حاشیه جاده اهواز-خرمشهر جمع‌آوری و پس از شناسایی آن توسط گروه زیست‌شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز، نمونه با استفاده از آسیاب خانگی، آسیاب گردید و از الک عبور داده شد.

استخراج عصاره گیاه اشنان: به منظور استخراج عصاره گیاه اشنان به روش سوکسله از سه حلال اتانول، متانول و آب به‌طور جداگانه استفاده شد. به‌این‌ترتیب که ۱۰ گرم نمونه پودر شده درون انگشتانه قرار داده شد. ۱۲۰ میلی‌لیتر حلال موردنظر درون بالن ریخته شد و عمل استخراج به مدت ۷ ساعت ادامه یافت. به‌منظور حذف حلال، عصاره‌ی حاصل در دستگاه تقطیرکننده دوار[1] قرار داده شد [۱۵].

بررسی‌های فیتوشیمیایی: آزمون‌های فیتوشیمیایی مقدماتی بر روی عصاره متانولی با استفاده از روش‌های استاندارد جهت شناسایی متابولیت‌های ثانویه انجام گرفت.

شناسایی آلکالوئید: ترکیبات آلکالوئیدی موجود در عصاره‌ی گیاه اشنان با استفاده از دو معرف مایر و واگنر شناسایی شد [۱۶, ۱۷].

شناسایی ساپونین: ترکیبات ساپونینی با استفاده از آزمون کف‌کنندگی شناسایی شد [۱۷].

شناسایی فلاونوئید: ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره‌ی گیاه اشنان با استفاده از دو روش واکنشگر آمونیاک و واکنشگر سود با چند قطره اسید کلریدریک رقیق شناسایی شد [۱۷].

شناسایی تانن: ترکیبات تانني موجود در عصاره‌ی گیاه اشنان با استفاده از محلول اتانولی فریک کلریدریک و روش دیگر با اضافه کردن استات سرب بر عصاره شناسایی شد [۱۸].

شناسایی گلیکوزید: ترکیبات گلیکوزیدی با استفاده از آزمون فهلینگ[2] شناسایی شد [۱۹].

شناسایی استروئید: ترکیبات استروئیدی با اضافه کردن چند قطره اسید سولفوریک اسید غلیظ به عصاره شناسایی شد [۱۸].

شناسایی ترپنوئید: ترکیبات ترپنوئیدی با استفاده از آزمون سالوسکی[3] شناسایی شد [۱۸].

تجزیه عصاره متانولی گیاه اشنان به روش GC/MS: به منظور شناسایی ترکیبات موجود در عصاره متانولی گیاه اشنان، ۱ میکرولیتر از عصاره به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی مدل Agilent 5975C-MS تزریق شد. ابتدا آون به مدت ۳ دقیقه در دمای $۷۰^{o}C$ نگه داشته شد. بعد از این مرحله دما با سرعت ۱۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه تا دمای $۳۰۰^{o}C$ افزایش یافت. گاز حامل، هلیوم با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه انتخاب گردید. اجزاء و ترکیبات نمونه با استفاده از روش طیف

[1] **Rotary** evaporator
[2] Fehling test
[3] Salkowski test

سنجي جرمي و مقايسه شاخص‌هاي بازداري آن‌ها با ترکیبات استاندارد شناسايي شدند.

آنالیز پودر خشک گیاه اشنان توسط تکنیک EDS: به منظور تشخیص نوع و میزان عناصر موجود در پودر خشک گیاه اشنان آنالیز EDS گرفته شد.

ارزیابی میزان پروتئین کل در پودر خشک گیاه اشنان: سنجش پروتئین موجود در گیاه اشنان به روش بیوره[1] با اعمال کمی تغییرات انجام گرفت. به کمک منحنی استاندارد آلبومین، مقدار پروتئین موجود در گیاه برحسب درصد محاسبه شد [۲۰].

ارزیابی میزان فیبر کل موجود در پودر خشک گیاه اشنان: سنجش فیبر موجود در گیاه اشنان به روش بیان شده در کتاب Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis انجام گرفت. مقدار فیبر موجود در گیاه برحسب درصد محاسبه شد [۲۱].

ارزیابی میزان کربوهیدرات کل در پودر خشک گیاه: سنجش کربوهیدرات موجود در گیاه اشنان به روش فنول سولفوریک اسید با اعمال کمی تغییرات انجام گرفت. به کمک منحنی استاندارد گلوکز، مقدار کربوهیدرات موجود در گیاه برحسب درصد محاسبه شد [۲۲].

ارزیابی اثر آنتی‌اکسیدانی گیاه اشنان به روش ABTS: فعالیت آزادسازی رادیکال آزاد از عصاره‌های گیاهی توسط روش رنگ‌زدایی رادیکال کاتیون ABTS سنجیده شد. جذب محلول‌ها در طول موج ۷۳۴ نانومتر ثبت شد و با استفاده از منحنی میزان IC_{50} محاسبه گردید [23].

آنالیز آماری داده‌ها: آزمون نرمال داده‌های به دست آمده با نرم افزار SPSS[2] انجام گردید، مقایسه میانگین داده‌ها با روش دانکن[3] انجام شد. نمودارهای مقایسه میانگین با نرم افزار Excel (۲۰۱۰) رسم شدند.

نتایج

راندمان عصاره‌گیری از گیاه اشنان: بررسی مقدار عصاره‌های بدست آمده از حلال‌های مختلف نشان داد که بازده حلال‌های متانول و اتانول با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند و بازده حلال آب به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($P< ۰/۰۵$) (شکل ۱).

شکل ۱: راندمان عصاره‌گیری از گیاه اشنان با استفاده از حلال‌های مختلف. مقادیرذکر شده میانگین سه بار تکرار± خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌های عصاره‌گیری هر نمونه در حلال‌های مختلف عصاره‌گیری می‌باشد.

آزمون‌های فیتوشیمیایی: نتایج به‌دست‌آمده از بررسی‌های فیتوشیمیایی حضور برخی از متابولیت‌های ثانویه شامل ترکیبات آلکالوئیدی، فلاونوئیدی، تاننی، ساپونینی، استروئیدی و گلیکوزیدی و عدم حضور ترپنوئیدها را تائید می‌کند.

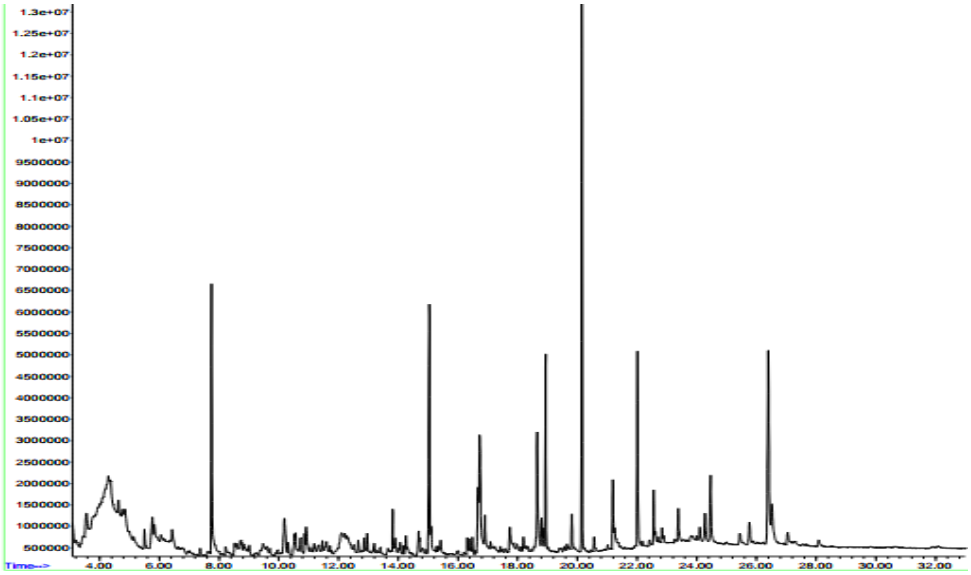
آنالیز عصاره به روش GC/MS: آنالیز کروماتوگرام عصاره گیاه اشنان ۵۱ پیک را نشان داد (شکل ۲). عمده‌ترین ترکیبات موجود در گیاه اشنان در جدول ۱ آمده است.

آنالیز EDS: نتایج حاصل از آنالیز پودر خشک گیاه اشنان ۸ عنصر را شناسایی کرد (شکل ۳). همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، عناصر کربن و اکسیژن دارای بیشترین فراوانی هستند که احتمال حضور ساپونین در گیاه را نشان می‌دهد. وجود عناصر سدیم، کلر و کلسیم در گیاه نشان از شور پسند بودن گیاه اشنان است (Khan et al., 2000).

ارزیابی میزان پروتئین کل: پس از قرار دادن میزان جذب عصاره گیاه در معادله خط منحنی استاندارد آلبومین، میزان پروتئین موجود در ۰/۱ گرم پودر گیاه اشنان ۱/۰۵۸۳%±۰/۰۷۰۰۰۴ محاسبه گردید (شکل۴).

[1] Biuret test
[2] Statistical package for social science
[3] Duncan method

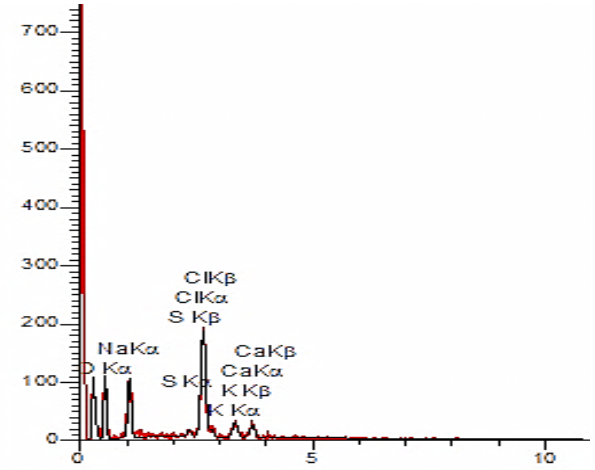
ارزیابی میزان فیبر کل: میزان فیبر موجود در ۰/۱ گرم پودر گیاه اشنان ۰/۰۱۲±۳/۲۷% محاسبه گردید (شکل ۴).



شکل۲: طیف GC/MS عصاره متانولی گیاه اشنان

جدول ۱: ترکیبات عمده موجود در عصاره متانول

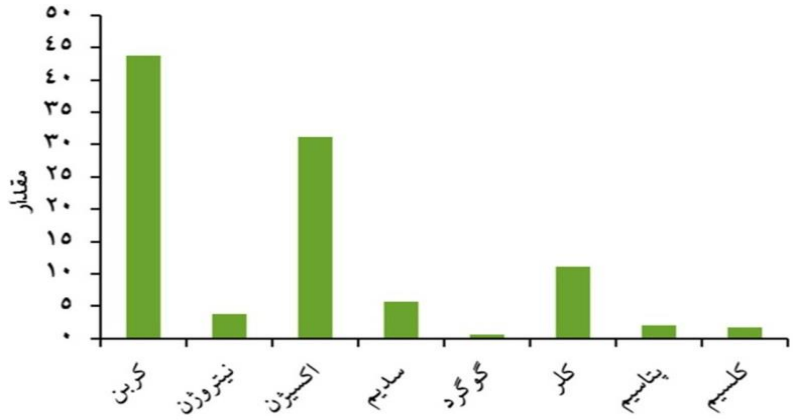
ردیف	نام ترکیب	نوع ماده مؤثره	درصد ترکیب
۱	*N,N*-دی متیل گلایسین	آمینواسید سازنده پروتئین	۲۶/۰۵
۲	۲,۱-بنزن دی کربوکسیلیک اسید، دیس اُکتیل استر	استر چرب	۷/۷۹
۳	بتا-سیتواسترول	استرول‌های گیاهی	۷/۶۳
۴	۲-متوکسی-۴-وینیل فنول	فنول	۵/۳۲
۵	*n*-هگزادکانوییک اسید	اسید چرب	۵/۶
۶	۱۷,۹ (Z) - اُکتا دکا دی اِنال	اسید چرب	۴/۷۴
۷	بیس (۲-اتیل هگزیل) استر، هگزان دی اُوییک اسید	استر چرب	۲/۵۳
۸	ویتامینE		۱/۶۸
۹	۴,۳-آلتروسان		۱/۶۳



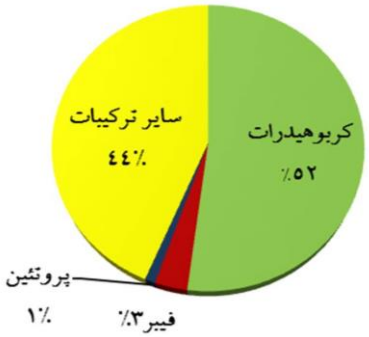
شکل۳: آزمون EDS از پودر گیاه اشنان

ارزیابی میزان کربوهیدرات کل: پس از قرار دادن میزان جذب عصاره گیاه در معادله خط منحنی استاندارد گلوکز، میزان کربوهیدرات موجود در ۰/۱ گرم پودر گیاه اشنان ۱/۵±۰۶۲۵/۵۲% محاسبه گردید (شکل ۴).

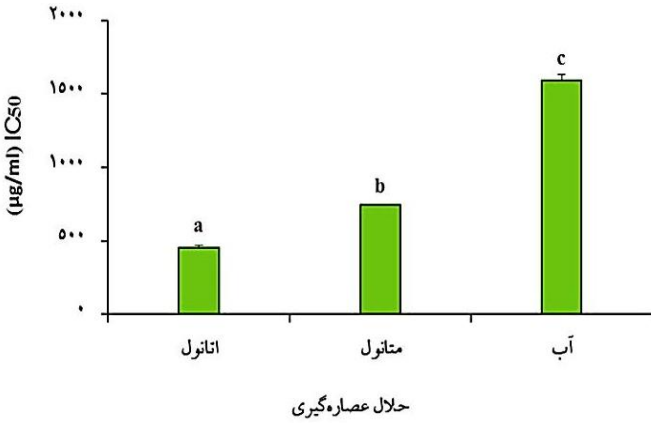
ارزیابی اثر آنتی‌اکسیدانی: بررسی C50 به‌دست آمده از عصاره‌های مختلف گیاه اشنان نشان داد که عصاره اتانولی با اختلاف معنی‌داری دارای کمترین میزان IC50 و عصاره آبی دارای بیشترین میزان IC50 می‌باشد ($p<۰/۰۵$) (شکل ۵).



A نمودار ۱: میزان عناصر موجود در گیاه اشنان در آنالیز EDS



شکل۴: محتوای متابولیت‌های اولیه موجود در ۰/۱ گرم از پودر گیاه اشنان



شکل۵: محتوای آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف گیاه اشنان. مقادیرذکر شده میانگین دوبار تکرار± خطای استاندارد می‌باشد. حروف مشابه در بالای ستون‌ها معرف عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌های محتوای آنتی‌اکسیدانی هر نمونه در حلال‌های مختلف عصاره‌گیری می‌باشد.

بحث

طبق تحقیقات انجام‌شده، گیاه اشنان به سبب داشتن اجزای فنلی، آلکالوئیدها و ساپونین‌ها، دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی می‌باشد. در پژوهش‌های آتنوبوتانی گیاهان دارویی ایران، به کاربرد بومی برگ اشنان به‌عنوان شوینده نیز اشاره شده است [۲٤]. این مطالعه به منظور بررسی خواص فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی و همچنین شناسایی ترکیبات و عناصر موجود در گیاه اشنان انجام شد. فراهم آوردن اطلاعات پایه به هدف بکارگیری گیاه در صنایع آرایشی-بهداشتی و غذایی با توجه به پراکنش وسیع این گیاه می‌تواند در استفاده صنعتی از گیاه اشنان و نیز ارتقاء اشتغال‌های دانش بنیان مورد استفاده قرار گیرد.

بررسی بازده عصاره‌های حاصل از حلال‌های مختلف گیاه اشنان، نشان داد که حلال‌های متانول و اتانول با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند و بازده حلال آب به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. این نتایج نشان مي‌دهند که حلال قطبي‌تر، بازده استخراج بالاتري دارد. البته باید توجه داشت که بازده بالاتر استخراج به‌تنهایی نمي‌تواند به‌منزله وجود ترکیبات با خاصیت آنتی‌اکسیدانی باشد. این امر نشان می‌دهد که احتمالاً بخش عمده‌ای از ترکیبات موجود در این گیاه بسیار قطبی می‌باشند یا اینکه به قند یا گروه‌های قطبی دیگر متصل شده‌اند. نتایج به‌دست‌آمده از بررسی‌های فیتوشیمیایی صورت گرفته بر روی گیاه اشنان، حضور ترکیبات آلکالوئیدی، فلاونوئیدی، استروئیدی، ساپونینی، گلیکوزیدی و تانني و عدم حضور ترپنوئیدها را تائید می‌کند. آنالیز کیفی فیتوشیمیایی انجام‌شده توسط آل صالح و همکاران بر روی عصاره‌ی اتانولی گیاه اشنان، حضور ترکیبات آلکالوئیدی، ساپونینی، استرول یا تری‌ترپنی و فلاونوئیدی را تائید نمود که نتایج آن‌ها با نتایج حاصله از این پژوهش بر روی گیاه اشنان هم‌خوانی دارد [۲۵]. نتایج حاصل از تعیین ترکیبات موجود در عصاره سوکسله گیاه اشنان با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنج جرمی براساس زمان‌های بازداری نشان داد که تعداد ترکیبات موجود در عصاره سوکسله گیاه اشنان، ۵۱ ترکیب می‌باشد. تجزیه و تحلیل طیف گیاه اشنان نشان داد که بیشترین ترکیب موجود در گیاه مربوط به *N,N*-دی متیل گلایسین می‌باشد که مشتق شده از اسید آمینه گلایسین است. گلایسین یکی از ۲۰ اسید آمینه‌ای هست که در بدن موجودات زنده در سنتز پروتئین‌ها نقش دارد. همچنین نتایج نشان داد که یکی دیگر از عمده‌ترین ترکیبات موجود درگیاه مربوط به ترکیبات فنلی و اسیدهای چرب می‌باشد. از دیگر متابولیت های ثانویه موجود در گیاه می‌توان به ویتامین E، استرول‌ها، آلکالوئیدها و گلوکز اشاره کرد. بالا بودن تعداد ترکیبات فنلی در آنالیز GC/MS تأییدی بر بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه اشنان می‌باشد که گیاه می‌تواند به عنوان یک منبع بالقوه آنتی‌اکسیدان طبیعی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین آلکالوئیدهای موجود در گیاه نشان دهنده اهمیت گیاه در داروسازی می‌باشد. اندام‌های گیاهی انواع وسیعی از متابولیت‌های ثانویه (مانند آلکالوئیدها، ترکیبات فنلی و پلی آمین‌ها) را تولید می‌کنند که ممکن است فعالیت‌های بیولوژیکی زیادی داشته باشند. تنش شوري بر مقدار کل آلکالوئیدها و ترکیبات فنلي موجود در گیاه اثر مي‌گذارد. شوري موجب اختلال در فرآیندهاي متابولیکي مي‌شود که منجر به افزایش متابولیت‌هاي ثانویه در گیاه مي‌شود. این متابولیت‌ها نقش اسمزی دارند و به عنوان مکانیسم تطبیقی برای استرس اعمال شده مورد توجه قرار می‌گیرند [۲۶]. نتایج به دست آمده از آنالیز EDS مقدار عناصر موجود در گیاه اشنان را نشان می‌دهد. وجود عناصر سدیم، کلر و کلسیم در گیاه نشان از شور پسند بودن گیاه اشنان است. گیاه اشنان در برابر شوری مقاوم بوده و املاح موجود در خاک را جذب و در اندام‌های هوایی به ویژه در برگ‌های خود ذخیره می‌کند و به این وسیله با فشار اسمزی بالا می‌تواند آب مورد نیاز خود را جذب کند. کم بودن میزان عناصر پتاسیم وکلسیم نسبت به سایر عناصر در نتایج EDS گیاه احتمالا مربوط به اثر آنتاگونیستی بین سدیم جذب شده توسط گیاه و میزان پتاسیم و کلسیم باشد [۲۷]. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که گیاه اشنان توانایی تحمل به تنش شوری را بواسطه جذب عناصر در اندام‌های مختلف خود دارد و با توجه به اینکه سطوح متوسط شوری تاثیر معنی‌داری در کاهش رشد این گیاه ندارد، گیاه اشنان برای اصلاح

خاک‌های شور و سدیمی گزینه‌ی مناسبی می‌باشد. توحیدی و همکاران گزارش کردند که گیاه اشنان حاوی ویتامین E، پروتئین و مواد معدنی مختلفی مانند Z, Cu, Mn, Fe, K, Mg, P, Ca می‌باشد [۲۸]. نتایج حاصل از بررسی متابولیت‌های اولیه در گیاه اشنان نشان داد که محتوای پروتئین، فیبر و کربوهیدرات موجود در گیاه به ترتیب ۱% ، ۳% و ۵۲% می‌باشد. وجود پروتئین محلول در بخش هوایی گیاه در برقراری فشار اسمزی نقش کلیدی دارد و غشای سلولی را در برابر آسیب‌های وارده حفاظت می‌کند، که به وسیله جذب رادیکال‌های آزاد نقش خود را ایفا می‌نماید. این نقش توسط آنزیم های تنشی و پروتئین های ساختاری انجام می‌شود [۲۹]. بررسی‌ها نشان داده که مقدار فیبر خام با افزایش سن گیاه به واسطه لیگنینی شدن گیاه افزایش می‌یابد و ارزش غذایی گیاه کاهش می‌یابد [۳۰]. تجمع کربوهیدرات محلول در بخش هوایی گیاه می‌تواند به سازگاری گیاه نسبت به شوری کمک کند. باشتنی و همکاران گزارش کردند که با پیشرفت مراحل رشد گیاهان شورپسند از میزان پروتئین خام آن‌ها کاسته شده و بر میزان فیبر و ترکیبات دیواره سلولی گیاهان افزوده می‌شود [۳۱]. بررسی IC_{50} به‌دست‌آمده از عصاره‌های مختلف گیاه اشنان با استفاده از محلول ABTS نشان داد که نوع حلال به‌کار رفته تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف دارد. عصاره اتانولی با اختلاف معنی‌داری بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، و عصاره آبی کمترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارا می‌باشد. مقادیر بالاتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، در عصاره‌های اتانولی و متانولی در مقایسه با عصاره آب می‌تواند به این دلیل باشد که متانول و اتانول، دارای قطبیت کمتری نسبت به آب هستند. حلال‌های غیرقطبی از طریق اثر بر روی دیواره‌ی سلولی و برهم زدن ساختارهای بافتی توانایی بیشتری برای آزادسازی ترکیبات فنلی دارند [۱۶]. عزیزیان و طاهری‌زاده [۳۲] گزارش کردند که عصاره اتانولی گیاه اشنان دارای محتوای فنل و فلاونوئید بالاتری نسبت به عصاره آبی می‌باشد. همچنین آن‌ها گزارش کردند که فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد به دو روش DPPH[1] و FRAP[2]، در عصاره اتانولی دارای درصد بالاتری نسبت به عصاره آبی می‌باشد که بررسی آن‌ها با نتایج حاصل از عصاره‌های گیاه اشنان در این پژوهش هم‌خوانی دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که گیاه اشنان دارای مقادیر قابل توجهی ترکیبات شیمیایی با خواص آنتی‌کسیدانی و ضدمیکروبی می‌باشد. بیشترین دسته ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در گیاه مربوط به ترکیبات فنلی می‌باشد و عصاره اتانولی بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به سایر عصاره‌ها دارا می‌باشد. لذا گیاه اشنان می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی در صنایع بهداشتی و دارویی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین نتایج نشان داد که کربوهیدرات‌ها بیش از ۵۰% وزن خشک گیاه را تشکیل می‌دهند. وجود مقادیر بالای کربوهیدرات و عناصر سدیم، کلر و کلسیم در گیاه باعث افزایش فشار اسمزی گیاه می‌شوند و کمک به جذب بیشتر آب توسط ریشه از خاک‌های شور می‌کند. در نتیجه پوشش گیاهی اشنان از تبخیر آب از سطح خاك شور جلوگیری کرده و باعث مرطوب ماندن آن می‌شود و با افزایش مقدار رطوبت خاك، تراکم پوشش گیاهی بیشتر شده و خود پوشش گیاهی به عنوان مانعی براي انتشار ریزگردها و مدیریت محیط زیست عمل می‌کند.

تشکر و قدردانی: نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی و تشکر خویش را از دانشگاه شهید چمران اهواز در پرداخت کلیه هزینه‌های این پروژه (گرنت سال ۱۳۹۷) اعلام می‌دارند.

منابع

[1] Mozaffarian, V., 2005. Trees and shrubs of Iran.Tehran: Farhang Moaser.

[2] Boyaghchi, M. A., Zolfaghari, B. and Karim-Nejad, M. M., 2017. Evaluation and optimization of Seidlitzia rosmarinus (Ashnan) extract in

[1] 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

[2] Fluorescence recovery after photobleaching

washing historical textiles. International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research, 7(3): 25-29.

[3] Heidari, M., Hosseinabadi, R., Anbari, K., Pournia, Y. and Tarverdian, A., 2014. Seidlitzia rosmarinus for lower urinary tract symptoms associated with benign prostatic hyperplasia: A pilot randomized controlled clinical trial. Complementary Therapies in Medicine, 22(4): 607-613.

[4] Baghestani Maybodi, N. and Taghi Zare, M., 2009. Some ecological requirements and exploitation of Seidlitzia rosmarinus in the desert region of Yazd province. Enviromental Sciences, 6 (3): 31-42

[5] Ahmadi, M., Fata, A., Khamesipour, A., Rakhshandeh, H., Mohammadi, A. M., Salehi, G. and Monavari, H., 2014. The efficacy of hydro alcoholic extract of Seidlitzia rosmarinus on experimental zoonotic cutaneous leishmaniasis lesions in murine model. Avicenna Journal of Phytomedicine, 4(6): 385-391.

[6] Hadi, M. R., 2009. Biotechnological potentials of Seidlitzia rosmarinus: A mini review. African Journal of Biotechnology, 8 (11): 2429-2431.

[7] Wong-Paz, J. E., Contreras-Esquivel, J. C., Rodríguez-Herrera, R., Carrillo-Inungaray, M. L., López, L. I., Nevárez-Moorillón, G. V. and Aguilar, C. N., 2015. Total phenolic content, in vitro antioxidant activity and chemical composition of plant extracts from semiarid Mexican region. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 8(2): 104-111.

[8] Osorio, E., Flores, M., Hernández, D., Ventura, J., Rodríguez, R. and Aguilar, C. N., 2010. Biological efficiency of polyphenolic extracts from pecan nuts shell (Carya Illinoensis), pomegranate husk (Punica granatum) and creosote bush leaves (Larrea tridentata Cov.) against plant pathogenic fungi. Industrial Crops and Products, 31(1): 153-157.

[9] Guerrero-Rodríguez, E., Solís-Gaona, S., Hernández-Castillo, F. D., Flores-Olivas, A., Sandoval-López, V. and Jasso-Cantú, D., 2007. Actividad Biológica in vitro de Extractos de Flourensia cernua DC en Patógenos de Postcosecha: Alternaria alternata (Fr.: Fr.) Keissl., Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Penz. y Sacc. y Penicillium digitatum (Pers.: Fr.) Sacc. Revista Mexicana de Fitopatología, 25(1): 48-53

[10] De Rodríguez, D. J., García, R. R., Castillo, F. H., González, C. A., Galindo, A. S., Quintanilla, J. V. and Zuccolotto, L. M., 2011. In vitro antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahuan desert plants against postharvest fruit fungi. Industrial Crops and Products, 34(1): 960-966.

[11] Lee, J.-C., Kim, J., Park, J.-K., Chung, G.-H. and Jang, Y.-S., 2003. The antioxidant, rather than prooxidant, activities of quercetin on normal cells: quercetin protects mouse thymocytes from glucose oxidase-mediated apoptosis. Experimental Cell Research, 291(2): 386-397.

[12] Erasto, P., Grierson, D. S. and Afolayan, A. J., 2007. Evaluation of antioxidant activity and the fatty acid profile of the leaves of Vernonia amygdalina growing in South Africa. Food Chemistry, 104(2): 636-642.

[13] Ravahi-Nezhad, M. and Ajili, A., 2013. Investigating the Effects of the dust on vegetation (Importance, consequences, solutions). National Conference on Agricultural Pollutants and Health food, Challenges and Solutions, Impact of Pollutants on Production and Performance. pp: 540-544. (In Persian)

[14] Dinarvand, M., Keneshloo, H. and Fayaz, M., 2018. Vegetation of dust sources in Khuzestan Province. Irannature, 3(3): 32-42.

[15] Popuri, A. K. and Pagala, B., 2013. Extraction of curcumin from Turmeric roots. International Journal of Innovative Research and Studies, 2(5): 289-299.

[16] Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G. and Kaur, H., 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. Internationale Pharmaceutica Sciencia, 1(1): 98-106.

[17] Ugochukwu, S. C., Uche, A. and Ifeanyi, O., 2013. Preliminary phytochemical screening of different solvent extracts of stem bark and roots of Dennetia tripetala G. Baker. Asian Journal of Plant Science and Research, 3(3): 10-13.

[18] Nasrabadi, M., Halimi, M. and Nadaf, M., 2013. Phytochemical screeningand chemical composition of extract of Muscari neglectum. Middle-East Journal of Scientific Research, 14(4): 566-569.

[19] Kumar, A., Jha, K., Kumar, D., Agrawal, A. and Gupta, A., 2012. Preliminary phytochemical analysis of leaf and bark (mixture) extract of Ficus infectoria plant. The Pharma Innovation, 1(5, Part A): 71-76.

[20] Nicole, K. and Keppy Micheal, W., 2009. The biuret method for the determination of total protein using an evolution array. Thermo Fisher Scientific, Madison WI, USA.

[21] Harborne, A., 1998. Methods of plant analysis. Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis., Chapman and Hall Publication, USA, 300 p.

[22] Agrawal, N., Minj, D. and Rani, K., 2015. Estimation of total carbohydrate present in dry fruits. Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology, 1(6): 24-27.

[23] Zheleva-Dimitrova, D., Nedialkov, P. and Kitanov, G., 2010. Radical scavenging and antioxidant activities of methanolic extracts from Hypericum species growing in Bulgaria. Pharmacognosy Magazine, 6 (22): 74-78.

[24] Ghasemi, P. A., Momeni, M. and Bahmani, M., 2013. Ethnobotanical study of medicinal plants used by Kurd tribe in Dehloran and Abdanan districts, Ilam province, Iran. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 10(2): 368-385.

[25] Al-Saleh, G., Gamal El-Din, A., Abbas, J. and Saeed, N., 1997. Phytochemical and biological studies of medicinal plants in Bahrain: The family chenopodiaceae-Part 2. International Journal of Pharmacognosy, 35(1): 38-42.

[26] Mohsen, A., Elhaak, M., Hamada, E. and El-Gebaly, F., 2015. Adaptation potential of two common halophytes to salinity stress in the Salt Marshes of lake burullus in Egypt. International Journal Advances Pharmacy, Biology Chemistry, 4(4): 809-820.

[27] Khan, M. A., Ungar, I. A. and Showalter, A. M., 2000. Effects of salinity on growth, water relations and ion accumulation of the subtropical perennial halophyte, Atriplex griffithii var. stocksii. Annals of Botany, 85(2): 225-232.

[28] Towhidi, A. and Zhandi, M., 2007. Chemical composition, in vitro digestibility and palatability of nine plant species for dromedary camels in the province of Semnan, Iran. Egyptian Journal of Biology, 9(1): 47-52.

[29] Bybordi, A., 2012. Study effect of salinity on some physiologic and morphologic properties of two grape cultivars. Life Science Journal, 9(4): 1092-1101.

[30] Yousef Elahi, M., Peyravi, M., Mirzaei, H. R. and Chashnide, Y., 2014. Determination of nutritive value of five species of halophyte plants of Sistan by in vitro and in situ techniques. Research on Animal Production, 5(9): 50-68.

[31] Bashtani, M., Seyfi, S., Na'imipour Younessi, H. and Farzad Mehr, J., 2013. Determination of chemical composition and degradability coefficients of salsola tomentosa in different growth stages using in situ method. Iranian Journal of Animal Science Research, 5(3): 210-216.

[32] Azizian-Shermeh, O. and Taherizadeh, M., 2014. Phytochemical investigation, antioxidant and antimicrobial activities of Seidlitzia rosmarinus L. from Sistan and Baluchestan, 97.

Journal of Developmental Biology
Vol. 12, No. 4, Autumn 2020

Identification of Phytochemical, Determination of Some Primary Metabolites and Antioxidant Capacity in Ashnan (*Seedlitzia rosmarinous*)

Davabi M.[1], Azadi R.[1*], Kolahi M.[2*], Pourreza N.[1]

[1] Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[2] Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

[*] Email: m.kolahi@scu.ac.ir, razadi@scu.ac.ir

Received: October 2019 Accepted: September 2020

Abstract

The Halophytic plant of Ashnan with Scientific name *Seidlitzia rosmarinous* from the chenopodiceae family, plant with applications in various industries which often grow in saline and alkaline areas, deserts and salt marsh as indigenous and adapted species. In the present study plant of Ashnan using three solvents, ethanol, methanol and water were extracted by soxhlet method. Then, the ethanolic extract was examined phytochemically. In order to identify the chemical compounds and elements available in the plant respectively, GC/MS analysis was performed on methanol extract and EDS analysis on Ashnan powder. Also, the content of some of the early metabolites, such as protein, fiber and carbohydrate, was measured in plant powder. Finally, its antioxidant activity was evaluated using the ABTS test. The highest weighted efficiency was related to water solvent extraction. Phytochemical studies revealed the presence of alkaloids compounds, flavonoids, tannins, saponins, steroids and glycosides, and the absence of terpenoids. The GC/MS analysis showed the presence of 51 chemical compounds, and the EDS analysis showed the presence of 8 elements in the plant. The most antioxidant activity is in the ethanolic extract. Based on the results Ashnan plant can be a natural antioxidant. In sanitary, medicine and food industries. Also, the presence of sodium, chlorine and calcium elements in the plant indicates saltiness of the Ashnan plant. It can be very important to manage environmental problems and cultivate in saline soils.

Keywords: Natural Antioxidants, Ashnan, Primary Metabolites.