



بررسی اثر ارتفاع رویشگاه بر توان آنتی اکسیدانی عصاره‌های هیدروالکلی و آبی میوه درخت سنجد *Elaeagnus angustifolia* L. در استان البرز

کورش زندی فر^{۱*}

۱- پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۰۸

چکیده

سنجد با نام علمی (*Elaeagnus angustifolia* L.) دارای خواص دارویی و از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. سنجد با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد باعث کاهش خطر پیشرفت سرطان‌ها، ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی و سکنه می‌شود. امروزه در راستای کاهش عوارض جانبی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، توجه زیادی به آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شده است. در این تحقیق که در محدوده استان البرز (ارتفاع ۱۱۰۰ تا ۱۹۰۰ متر) انجام شد عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی میوه ژنوتیپ‌های سنجد جهت تعیین میزان فنل و سنجش توان آنتی‌اکسیدانی با توجه به قرار گرفتن ژنوتیپ‌ها در ارتفاعات مختلف مورد سنجش قرار گرفتند. بیشترین مقدار فنل در عصاره اتانولی ژنوتیپ پورکان ($16/321 \pm 1476/523$) و عصاره متانولی آن ($7/269 \pm 1391/759$) میکروگرم بر میلی‌لیتر و کمترین مقدار در عصاره آبی ژنوتیپ تنکمان ($12/032 \pm 316/51$) میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشترین میزان فعالیت، مربوط به حلال اتانولی ژنوتیپ پورکان با $2/1 \pm 751/395$ میکروگرم بر میلی‌لیتر و ژنوتیپ آسارا $11/71 \pm 2/486$ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج این تحقیق نشان داد با تغییر ارتفاع و شرایط جغرافیایی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ‌ها نیز تفاوت معنی‌داری خواهد داشت. واژگان کلیدی: ارتفاع، توان آنتی‌اکسیدانی، رادیکال‌های آزاد، سنجد.

Effect of altitude on the antioxidant capacity of hydroalcoholic and aqueous extracts of *Elaeagnus angustifolia* L. fruit in Alborz Province

Kouresh Zandifar^{1*}

1- Researcher of Temperate Fruits Research Center (TFRC), Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Received: October 2022

Accepted: June 2026

Abstract

Elaeagnus, with its scientific name *Elaeagnus angustifolia* L., has medicinal properties, including antioxidant effects. By neutralizing free radicals, it reduces the risk of developing cancers, cardiovascular diseases and stroke. Today, in order to reduce the side effects of synthetic antioxidants, much attention has been paid to natural antioxidants. In this research, which was conducted in Alborz province (altitude 1100-1900 meters), aqueous, ethanolic and methanolic extracts of fruit genotypes of *Elaeagnus angustifolia* were evaluated for their total phenol content and antioxidant capacity considering the different altitudes of the genotypes. The highest amount of total phenol was observed in the ethanolic extract of the Porkan genotype ($1476.523 \pm 16.321 \mu\text{g/mL}$) and its methanolic extract ($1391.759 \pm 7.269 \mu\text{g/mL}$), while the lowest amount was found in the aqueous extract of the Tankaman genotype ($316.51 \pm 12.032 \mu\text{g/mL}$). In terms of antioxidant activity, the highest capacity was related to the ethanolic extract of the Porkan genotype ($1.395 \pm 2.103 \mu\text{g/mL}$) and the Asara genotype ($2.1 \pm 751.395 \mu\text{g/mL}$), and the lowest activity was observed in the Tankaman genotype with its ethanolic extract ($11.71 \pm 2.486 \mu\text{g/mL}$). The results of this study showed that with changes in altitude and geographical conditions, the antioxidant activity of the genotypes also shows a significant difference.

Keywords: altitude, antioxidant activity, *Elaeagnus angustifolia*, free radicals.

۱- مقدمه

آنتوسیانین و ... را شامل می‌شود که معمولاً در میوه‌ها، سبزیجات، برگ‌ها، آجیل‌ها، دانه‌ها، ریشه و در سایر قسمت‌های گیاه دیده می‌شوند. این مواد مزایای قابل توجهی در زمینه مواد غذایی، شیمی، داروسازی و پزشکی با توجه به طیفی از اثرات مطلوب زیستی از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی دارند (Raghavendra *et al.*, 2010). فلاونوئیدها یک گروه از ترکیبات پلی فنلی با خصوصیات شناخته شده می‌باشند که باعث مهار رادیکال‌های آزاد، مهار آنزیم‌های اکسیداتیو و همچنین هیدرولیتیک و عملکرد ضد درد و ضد التهابی می‌شوند. با وجود آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در پلاسما، سیستم دفاعی به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد ایجاد شده در بدن نیست (Young *et al.*, 2011). یک راه موثر برای حذف رادیکال‌های آزاد استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است که به عنوان جمع‌کننده‌های رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند، بنابراین توجه ویژه‌ای به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها برای حفظ سلول‌ها از آسیب‌های بیولوژیک رادیکال‌های آزاد صورت گرفته است به طوری که باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما و کاهش ابتلا به بعضی بیماری‌ها مانند سرطان، بیمارهای قلبی و سکنه مغزی می‌شوند (Prior *et al.*, 2000). بسیاری از گونه‌های گیاهی توان آنتی‌اکسیدانی مشابه با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، ولی بدون اثرات جانبی دارند و به عنوان یک جایگزین در صنعت غذا و دارو همواره مورد استفاده قرار می‌گیرند (Roy *et al.*, 2011). در پژوهشی که جهت انتخاب حلال مناسب انجام شد استخراج به روش حلال اتانول/آب، بازدهی استخراج و محتوی آنتوسیانین بیشتری نسبت به حلال اتانولی دارد. در حالی که میزان ترکیبات فنلی در حلال اتانولی بیشتر از حلال اتانول/آب بود. حلال مورد استفاده بر محتوی آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنلی موثر بوده و نقش ویژه‌ای در پایداری رنگ و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره دارد (Zahid *et al.*, 2021). حلالی که بیشتر برای استخراج فلاونوئیدهای قطبی آنتوسیانین‌ها استفاده می‌شود، مخلوطی از آب و حلال‌های آلی است و بهترین بازده استخراج با غلظت‌های مختلف اتانول در محلول آبی حاصل می‌شود (Chaves *et al.*, 2020). در مطالعه‌ای دیگر که در زمینه اثر نوع حلال بر روی استخراج ترکیبات فنلی پوست انار انجام شد و از

درخت سنجد بومی غرب آسیا و اروپاست. این گونه در آمریکای شمالی، اروپای جنوبی، مرکزی و شرقی، ایران و آسیای مرکزی و شمالی پراکنش دارد (Ahani *et al.*, 2015). ارتفاع سنجد به ۱۰ متر و در برخی مناطق تا ۱۴ متر نیز می‌رسد. سنجد در خاک‌های شنی تا رسی سنگین و مرطوب به خوبی رشد می‌کند. درختان بالغ سنجد قابلیت تحمل شرایط نامساعد از جمله سیل و خشکسالی را دارند اما نسبت به شرایط اسیدی ($\text{pH} < 6$) حساس هستند. سنجد نسبت به شوری خاک مقاوم و توانایی زیادی در تثبیت نیتروژن دارد (Katz and Shafroth, 2003). در طب سنتی از میوه و گل آن به عنوان داروی مقوی، ضد تب، درمان بیماری‌های کلیوی، اختلالات معده، آرتروز، یرقان، آسم و ... استفاده می‌شود. همچنین این گیاه اثرات آنتی‌باکتریال، شل‌کنندگی عضلات، اثر ضد التهابی و ضد درد نشان داده است (Mirhydar, 1998). بخش‌های مختلف درخت سنجد، به ویژه برگ و میوه، منابع غنی از ترکیبات فنلی (مانند اسیدهای کافئیک، فرولیک و وانیلیک) و فلاونوئیدها (مانند کاتچین، اپی کاتچین، کامفرول، کوئرستین، روتین و ایزورهمانتین) هستند. این ترکیبات مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌باشند (Ayaz and Bertoft, 2001; Carradori *et al.*, 2020; Hamidpour *et al.*, 2017, 2021; Yuca *et al.*, 2019). امروزه پذیرفته شده است که متابولیت‌های ثانویه نقش دفاعی عمده‌ای در تعاملات بین گیاهان و محیط زیست آنها دارند (Ahmadiani *et al.*, 2007). واکنش‌های اکسیداسیون به دلیل تولید رادیکال‌های آزاد برای سلامت انسان زیان‌بار می‌باشند. این رادیکال‌های آزاد، آغازگر واکنش‌های اکسیداسیون هستند به همین دلیل موجب آسیب یا مرگ سلولی می‌شوند (Kulshreshtha *et al.*, 2011). گیاهان دارویی با دارا بودن ترکیبات فنلی، پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند. از زمانی که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات و عصاره‌های طبیعی توسط طیف وسیعی از روش‌ها شناسایی شده‌اند، این مسأله که کدام یک از این آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بازده بیشتری دارند، مطرح شده است (Kamkar *et al.*, 2010). ترکیبات فنلی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی مانند فلاونوئیدها، تانن‌ها،

مقدار ترکیبات ثانویه اثرگذار باشد. به طوریکه با افزایش ارتفاع مقدار ترکیبات آلکالوئیدی و آنتوسیانینی افزایش یافته و خواص آنتی‌اکسیدانی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Laftouhi *et al.*, 2023). هدف از این مطالعه بررسی تأثیر ارتفاع رویشگاه بر ترکیبات شیمیایی عصاره میوه درخت سنجد به عنوان یک گیاه دارویی در حلال‌های مختلف و بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی آن‌ها بوده است.

۲- مواد و روش‌ها

در فاصله زمانی مرداد تا مهرماه ۱۴۰۲، ژنوتیپ‌های گیاهی از ارتفاعات ۱۱۰۰ تا ۱۹۰۰ متری محدوده استان البرز جمع‌آوری و اطلاعات جغرافیایی مورد نیاز نیز ثبت گردید (جدول ۱).

حلال‌هایی مانند اتانول، استون، آب، متانول و ترکیب متانول با آب استفاده شد نتایج نشان داد که انتخاب حلال، عملکرد استخراج را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Kennas and Chibane, 2019). عوامل متعددی از جمله خاک، هوا، ارتفاع، آب و... بر میزان فنل، فلاونوئید، آنتی‌اکسیدان و دیگر متابولیت‌های ثانویه تأثیر می‌گذارند. همچنین دخالت طول روز، نورخوردن، تبخیر، تعرق و درجه حرارت بر کمیت و کیفیت مواد موثره تأثیر بسزایی دارند (Qaderi *et al.*, 2023). یکی از عوامل موثری که نقش اساسی در رشد و تولید گیاهان دارد عامل ارتفاع از سطح دریا می‌باشد که از جمله عوامل مهم و تعیین کننده برای ویژگی‌های رویشی و ترکیبات موثره گیاهان است (Omidbaigi, 2013). این عامل با تأثیر بر میزان و نوع بارندگی، تبخیر، تعرق و شدت تشعشعات خورشیدی، بر نوع و تراکم پوشش گیاهی تأثیر بسزایی دارد (Roupioz, 2016). تفاوت در ارتفاع رویشگاه می‌تواند بر جدول ۱- مشخصات جغرافیایی ژنوتیپ‌های گیاهی، زمان و محل جمع‌آوری.

ردیف	کد ژنوتیپ	ژنوتیپ	تاریخ جمع‌آوری میوه	ارتفاع (متر)	عرض جغرافیایی (شمالی)	طول جغرافیایی (شرقی)
۱	Ar	ارنگه	مهرماه	۱۸۶۵	۳۵°۹۲	۵۱°۰۷
۲	Po	پورکان	شهریور ماه	۱۵۰۴	۳۵°۸۶	۵۱°۰۴
۳	Ms	مشکین دشت	مرداد ماه	۱۲۳۶	۳۵°۷۴	۵۰°۹۵
۴	Ta	تنکمان	شهریورماه	۱۱۹۵	۳۵°۸۹	۵۰°۶۱
۵	As	آسارا	مهرماه	۱۸۱۹	۳۱°۵۰	۵۱°۱۶

۲-۱- تهیه عصاره

صاف گردید. عصاره در آن و دمای ۴۰ درجه تغلیظ و پودر حاصل شده تا زمان استفاده در ظروف سر بسته و غیر قابل نفوذ به هوا، در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کلیه مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این تحقیق متعلق به شرکت مرک آلمان و رادیکال آزاد DPPH متعلق به شرکت سیگمای آمریکا و دارای بالاترین درصد خلوص بودند. میزان بازده استخراج عصاره نیز با توجه به حلال مورد استفاده تعیین شد (Samsam shariat *et al.*, 1981) (جدول ۲).

برای این آزمایش سه عصاره آبی، اتانولی و متانولی تهیه شد. ابتدا میوه‌های برداشت شده با آب مقطر شستشو و بلافاصله خشک شدند. پس از جدا کردن هسته، قسمت گوشت آسیاب و از الک با مش ۴۰ گذرانده شد. در ادامه ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال (آبی - اتانولی - متانولی) به ۵۰ گرم پودر گیاهی افزوده و مخلوط حاصل به مدت ۷۲ ساعت در دمای آزمایشگاه در انکوباتور شیکردار هم زده شد. بعد از این مرحله، بخش جامد تحت شرایط خلاء با کاغذ صافی واتمن شماره ۱

جدول ۲ - عملکرد بازده عصاره میوه ژنوتیپ‌های سنجد بر اساس نوع حلال.

بازده عصاره در حلال %			ژنوتیپ	ردیف
آبی	اتانولی	متانولی		
۱۴/۵	۱۹/۶۱۶	۱۲/۵۱۶	ارنگه	۱
۱۱/۶۱	۹/۳۲	۱۳/۸۱۵	پورکان	۲
۵/۷	۷/۰۵۴	۸/۲۷	مشکین دشت	۳
۶/۴۳	۷/۱۱۸	۷/۸۱	تنکمان	۴
۸/۶	۱۲/۸۷۸	۹/۵۲	آسارا	۵

روش، ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های مختلف عصاره‌ها با ۲۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیو و ۳/۱۶ میکرولیتر آب دیونیزه مخلوط و به مدت سه دقیقه در دمای اتاق انکوبه و سپس ۶۰۰ میکرولیتر محلول بی‌کربنات سدیم ۲۰ درصد به آن اضافه و به مدت ۲ ساعت در دمای آزمایشگاه انکوبه گردید. پس از آن، به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر در مقابل کنترل و در سه تکرار خوانده شد. با استفاده از معادله خط منحنی استاندارد اسید تانیک میزان فنل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم اسید تانیک در گرم عصاره خشک محاسبه گردید.

۲-۴- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل از آزمایش به صورت میانگین \pm انحراف معیار (Mean \pm SD) ثبت و تمامی اندازه‌گیری‌ها برای هر ژنوتیپ گیاهی سه بار تکرار شد. محاسبات با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح $P < 0.05$ انجام گرفت.

۳- نتایج

یافته‌های این مطالعه نشان داد که ارتفاع از سطح دریا به عنوان یک عامل اکوفیزیولوژیک اصلی، بر سنتز ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ‌های مورد بررسی موثر است. بین ارتفاع و میزان ترکیبات فنلی، رابطه مثبت و معنی‌داری در سطح $p < 0.05$ مشخص شد که نشان دهنده

۲-۲- تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای بررسی توان آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، از رادیکال پایدار DPPH در حلال متانول استفاده شد (Slinkard, 1977). از کلیه عصاره‌ها با حلال‌های متفاوت، رقت‌های (۰، ۱/۵، ۲/۵، ۵) میکرولیتر تهیه و برای هر رقت عصاره یک کنترل در نظر گرفته شد (Razali et al., 2012). ۱۰۰ میکرولیتر محلول DPPH و ۱۰۰ میکرولیتر محلول انکوباسیون کنترل منفی اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوباسیون و نگهداری شد. جذب ژنوتیپ‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت. همچنین از اسید اسکوربیک در محدوده غلظتی ۰/۰۱ تا ۱۵ نانومول به عنوان کنترل مثبت استفاده و درصد مهار رادیکال‌های DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\% \text{Inhibition} = \frac{(\text{Ac} - (\text{As} - \text{Ablank}))}{\text{Ac}} \times 100$$

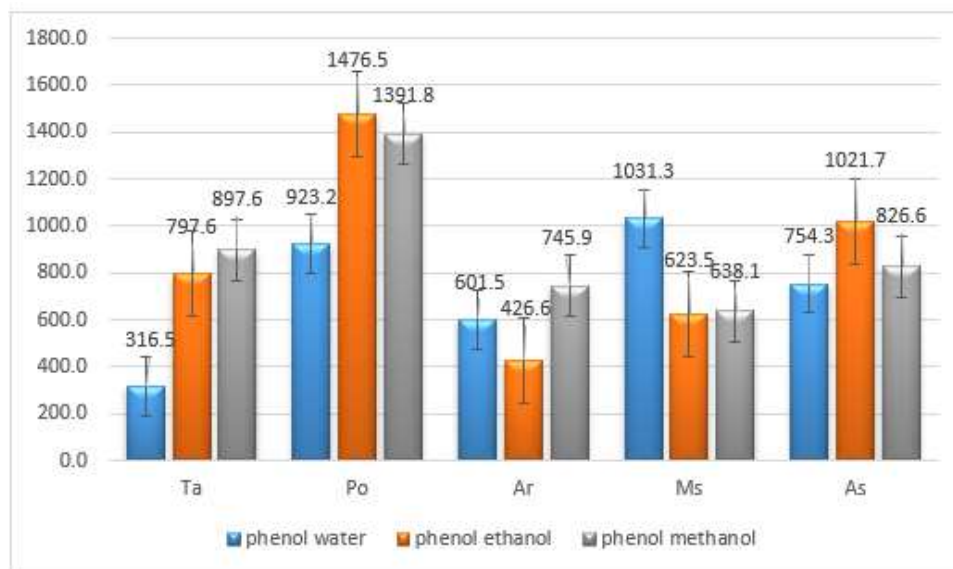
در این فرمول Ac و As به ترتیب جذب کنترل و جذب ژنوتیپ می‌باشند (Burits et al., 2000). با آنالیز رگرسیون خطی، غلظت مورد نیاز عصاره برای مهار ۵۰ درصد رادیکال DPPH محاسبه گردید. IC50 اسید اسکوربیک به عنوان کنترل مثبت و مقدار ۵۴/۲۱۷ میکروگرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد.

۲-۳- تعیین فنل کل

محتوای فنل کل در عصاره‌ها بر اساس روش فولین سیوکالتیو انجام شد (Antonovich, 2002). مطابق با این

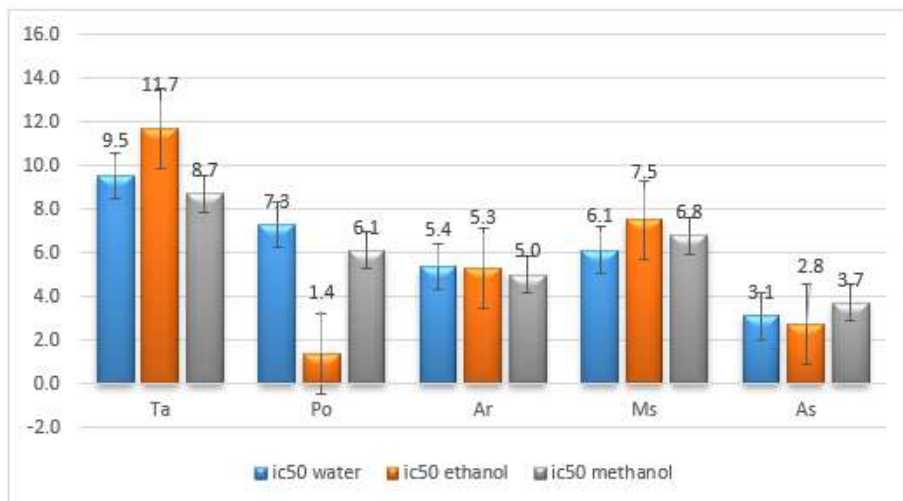
۳۲/۱۲±۳۱۶/۵۱ تا ۳۲۱/۱۶±۱۴۷۶/۵۲۳ میکروگرم در هر گرم عصاره خشک متغیر بود. بیشترین محتوای فنلی در عصاره‌های متانولی و اتانولی مشاهده شد. ژنوتیپ پورکان (Pr) با مقادیر ۱۳۹۱/۷۵۹ (متانول) و ۱۴۷۶/۵۲۳ (اتانول) میکروگرم در گرم، بالاترین میزان ترکیبات فنلی را در بین تمام ژنوتیپ‌ها نشان داد. این امر می‌تواند نشان‌دهنده غنای این گونه گیاهی در ترکیبات فنلی با قطبیت متوسط باشد. عصاره‌های آبی به‌طور کلی محتوای فنلی کمتری داشتند، به‌طوری که ژنوتیپ تنکمان (Ta) کمترین مقدار (۳۱۶/۵۱) میکروگرم در گرم) را در این حلال ثبت کرد. با این حال، ژنوتیپ (Ms) در عصاره آبی محتوای فنلی نسبتاً بالایی (۱۰۳۱/۲۵۱) را نشان داد که احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات فنلی بسیار قطبی یا موسیلاژهای قابل استخراج با آب است. ژنوتیپ ارنگه نیز در حلال متانول و آب محتوای فنلی قابل توجهی داشت، اما در اتانول مقدار کمتری (۴۲۶/۵۶۳) ثبت کرد که می‌تواند نشان‌دهنده وابستگی شدید ترکیبات فنلی این گونه به قطبیت حلال باشد (شکل ۱).

سازگاری گیاهان به شرایط زیستی در ارتفاعات بالا است. همچنین رابطه منفی و معنی‌دار بین ارتفاع و مقادیر آنتی اکسیدانی مشاهده شد که حاکی از افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی در ارتفاعات بالاتر است. در این مطالعه، رابطه معنی‌داری بین عرض یا طول جغرافیایی با متغیرها مشاهده نشد این موضوع نشان می‌دهد که در محدوده جغرافیایی مورد مطالعه، عامل ارتفاع نقش تعیین‌کننده‌تری نسبت به موقعیت جغرافیایی داشته است. نتایج این مطالعه نشان داد که نوع حلال، تأثیر معناداری بر محتوای فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی مورد بررسی دارد. به‌طور کلی، عصاره‌های متانولی و اتانولی محتوای فنلی بالاتر و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری (مشخص شده با مقادیر IC50 پایین‌تر) نسبت به عصاره‌های آبی از خود نشان دادند. این یافته مطابق با مطالعات پیشین است که حلال‌های با قطبیت متوسط مانند متانول و اتانول توانایی بهتری در استخراج ترکیبات فنلی قطبی و نیمه‌قطبی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارند. میزان فنل استخراج شده بر اساس معادله خط منحنی استاندارد اسید تانیک، از



شکل ۱- میزان فنل تام در عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی بر اساس میکروگرم در گرم عصاره خشک (تنکمان Ta، پورکان Po، ارنگه Ar، مشکین دشت Ms، آسارا As).

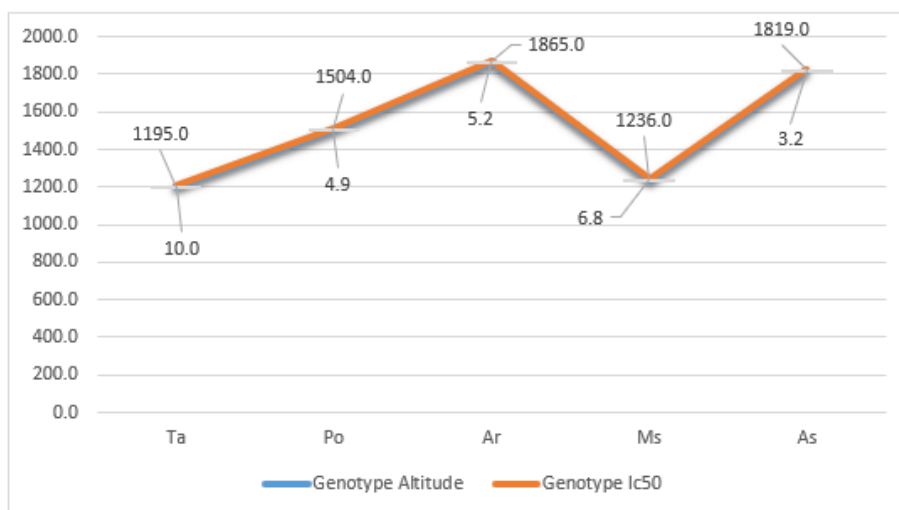
بررسی اثر ارتفاع رویشگاه بر توان آنتی اکسیدانی عصاره‌های هیدروالکلی و آبی میوه درخت سنجد



شکل ۲- درصد مهار رادیکال پایدار DPPH در حلال‌های آبی، اتانولی و متانولی در غلظت ۰/۵ عصاره (تنکمان Ta، پورکان Po، ارنگه Ar، مشکین دشت Ms، آسارا As).

ژنوتیپ‌ها به شرایط حاکم بر ارتفاع از جمله دما و رطوبت است. ژنوتیپ‌های ارنگه (Ar) و پورکان (Po) نیز روند افزایشی ملموسی داشتند در حالیکه ژنوتیپ‌های تنکمان (Ta) و مشکین دشت (Ms) علیرغم پاسخ مثبتی که به ارتفاع نشان دادند اما شیب افزایش در مقایسه با دیگر ژنوتیپ‌ها ملایم‌تر بود که می‌تواند ناشی از سازوکارهای دفاعی متفاوت یا محدودیت ژنتیکی باشد (شکل ۳).

نتایج نشان داد که با افزایش ارتفاع، میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در اکثر ژنوتیپ‌ها افزایش یافته است. از نظر کارایی یا قدرت مهارکنندگی مقدار پایین‌تر IC₅₀، نشان‌دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتر است یعنی با غلظت کمتری از ماده، می‌توان به اثر ۵۰ درصد رسید. ژنوتیپ آسارا (As) بیشترین افزایش را در میزان توان آنتی‌اکسیدانی (۳/۲) و کمترین توان آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ تنکمان مشاهده شد (شکل ۲). این موضوع ناشی از واکنش پذیری بسیار بالای این



شکل ۳- اثر ارتفاع از سطح دریا بر درصد مهار رادیکال پایدار DPPH (تنکمان Ta، پورکان Po، ارنگه Ar، مشکین دشت Ms، آسارا As).

۴- بحث

آنتی‌اکسیدانی متناسب با این ترکیبات نیست که نشان می‌دهد عواملی از جمله شرایط محیطی و اقلیم می‌تواند بر روی میزان فعالیت و خواص آنتی‌اکسیدانی تأثیرگذار باشد. در مجموع کلیه ژنوتیپ‌های بررسی شده از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برخوردار بوده اما میزان آن متفاوت و با تغییر اکوتیپ، توان آنتی‌اکسیدانی نیز تغییر می‌کند (Farasat et al., 2019). در این تحقیق برای بررسی ظرفیت و توان آنتی‌اکسیدانی از روش مهار رادیکال پایدار DPPH استفاده شد. نتایج مطالعات نشان داده است، در تمامی گیاهان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد. شیمادا و همکاران (Shimada et al., 1992) ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره نعناع را مورد سنجش قرار دادند. همچنین رابطه مستقیمی بین فعالیت بالای آنتی‌اکسیدانی با محتوی فنلی در عصاره رزماری توسط سویت و همکاران (Swetie et al., 2007) گزارش شد. در پژوهشی دیگر الماستا و همکاران (Elmasta et al., 2006) عصاره آبی و متانولی قسمت‌های مختلف گیاه سیزاب کوهستان را از نظر محتوی فنلی و فلاونوئیدی بررسی نمودند و در این پژوهش به این نتیجه رسیدند که محتوی فنلی و فلاونوئیدی عصاره آبی بیشتر از عصاره متانولی است. نتایج مطالعه‌ای در مورد اثر رویشگاه بر میزان فنل باریجه (*Ferula gummosa*) نشان داد که فنل تحت تأثیر رویشگاه قرار گرفته و اثر متقابل اندام گیاهی در رویشگاه نیز بر میزان فنل باریجه معنی‌دار بود (Zeinali, 2014). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نیز نشان می‌دهد که با افزایش و یا کاهش ارتفاع از سطح دریا، مقادیر ترکیبات فیتوشیمیایی تغییر یافته است. در این تحقیق مشخص شد که بیشترین میزان توان آنتی‌اکسیدانی مربوط به ژنوتیپ‌هایی است که در ارتفاع ۱۵۰۰ تا ۱۸۰۰ متری قرار دارند و کمترین توان آنتی‌اکسیدانی در ارتفاع بین ۱۱۰۰ تا ۱۳۰۰ متری مشاهده شد. افزایش ارتفاع به بالاتر از ۱۵۰۰ متر باعث کاهش میزان فنل در ژنوتیپ‌ها گردید. اما توان آنتی‌اکسیدانی آنها افزایش یافت. در ارتفاعات کمتر از ۱۵۰۰ متر از میزان توان آنتی‌اکسیدانی کاسته شد که این موضوع نشان داد، کاهش ارتفاع و در نتیجه افزایش دما و کاهش رطوبت، تأثیر مستقیم در میزان آنتی‌اکسیدان دارد. افزایش ارتفاع از سطح دریا باعث

این پژوهش نشان داد که نوع و غلظت حلال در میزان مهار رادیکال DPPH کاملاً معنی‌دار بوده به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره‌های متانولی و اتانولی بود. برای فنل نیز با تغییر حلال، این تفاوت‌ها مشاهده شده است. در مقایسه عصاره متانولی با عصاره اتانولی، جذب فنل توسط عصاره متانولی بیشتر از عصاره اتانولی بوده است. بر اساس نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر، بجز ژنوتیپ مشکین دشت (Ms)، حلال‌های آبی، در مقایسه با حلال‌های هیدروالکلی قابلیت استخراج کمتری را نشان دادند. کائو و همکاران (۱۹۹۸) در تحقیقی که نتایج آن با این تحقیق همخوانی دارد به این نتیجه رسیدند که استفاده از حلال‌ها و روش‌های مختلف تهیه عصاره، یکی دیگر از عوامل توجیه کننده اختلاف در نتایج مطالعات به شمار می‌آیند (Cao et al., 1998). نتایج حاصل از روش‌های مختلف عصاره‌گیری از برگ گیاه کرفس نشان داد که در سطح معنی‌داری بین روش خیساندن و روش جوشاندن تفاوت وجود دارد. به این معنی که بازدهی عصاره‌های اتانولی حاصل از روش خیساندن و جوشاندن با هم و بازدهی عصاره‌های آبی حاصل از این دو روش نیز با هم تفاوت معنی‌داری دارند (Malviya et al., 2014). با وجود ایمنی و هزینه کم برای استفاده از حلال آبی، این روش برای استخراج ترکیبات فنلی مناسب نیست. مخلوط اتانول/آب با اسید استیک باعث افزایش عملکرد در استخراج عصاره می‌شود (Masci et al., 2016). نابرابری بین بازده استخراج را می‌توان با تفاوت بین حلالیت فنل‌ها در بین حلال‌ها توضیح داد (Li et al., 2006). این نکته دارای اهمیت است که برای به دست آوردن بهترین و مؤثرترین عصاره، توجه به مواردی از جمله خصوصیات ماده گیاهی، انتخاب حلال مناسب و دقت در مراحل عصاره‌گیری ضروری بوده و باید در نظر داشت که بازده بالا در عصاره حاصله، به معنای بازده بالای ترکیب مورد نظر در عصاره نمی‌باشد (Zolfaghari et al., 2011). همچنین ژنوتیپ‌هایی که خواص آنتی‌اکسیدانی آنها بالاتر بود میزان فنل بالاتری نیز داشتند. برخی از نتایج حاصله نشان می‌دهد که با وجود بالا یا پایین‌تر بودن فنل، میزان خواص

استخراج می‌باشد (Chatchawan *et al.*, 2008). تغییرات دما در اثر کاهش یا افزایش ارتفاع از مهمترین عوامل موثر در تغییرات اقلیمی است به طوریکه با افزایش و یا کاهش ارتفاع، عواملی چون دما، رطوبت نسبی، سرعت باد، میزان آب در دسترس و حتی تابش دریافتی تغییر می‌کند. گیاهان دارویی وابسته به شرایط اقلیمی و اکولوژیوک منطقه، میزان متفاوتی مواد موثره تولید می‌کنند، گزارش‌هایی مبنی بر وجود ارتباط بین شرایط آب و هوایی رویشگاه بر ترکیبات شیمیایی گیاهان بیان گردیده است و همبستگی بالایی بین منشأ جغرافیایی گیاهان و ترکیبات موثره نشان داده شده است (Bertom *et al.*, 2007).

۵- نتیجه‌گیری

این مطالعه به وضوح نشان می‌دهد که نوع حلال نقش حیاتی در بازدهی استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی ایفا می‌کند. اتانول به عنوان حلالی با سمیت کم، قطبیت مناسب و کارایی بالا در استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی در بیشتر ژنوتیپ‌ها پیشنهاد می‌شود. براساس نتایج بدست آمده نوسان‌های دمایی و ارتفاع از سطح دریا و همچنین مختصات جغرافیایی جمعیت‌ها، باعث ایجاد تفاوت در خصوصیات فیتوشیمیایی بین آن‌ها شده است. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که ارتفاع از سطح دریا یک متغیر محیطی قوی برای محتوای فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ‌های مورد بررسی است. این یافته‌ها اهمیت انتخاب گیاهان از ارتفاعات بالا را برای بهره‌برداری از ترکیبات طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی برجسته می‌سازد. تنوع گیاهی، ارتفاع رویشگاه و تغییرات آب و هوایی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه می‌تواند باعث اختلاف در مقادیر آزمایش شود. جهت رفع این مشکل، استفاده از روش‌های استاندارد و یکسان توصیه می‌گردد.

تشدید تنش‌های محیطی مانند تابش UV-B شدیدتر، دمای پایین‌تر و اکسیژن کمتر می‌شود که این عوامل تولید گونه‌های اکسیژن را افزایش داده و گیاهان را وادار به سنتز بیشتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فنولیک‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها می‌کند. این مکانیسم دفاعی گیاهان برای خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و محافظت از بافت‌ها در برابر استرس اکسیداتیو فعال می‌شود (Rana *et al.*, 2019; Gülsoy *et al.*, 2023). کاهش دما و رطوبت نیز تجمع متابولیت‌های ثانویه و فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را به دنبال دارد. این روند در برخی گونه‌ها مانند بلوبری و سنجد مشهودتر است، اما در فندق بسته به رقم متغیر بوده و گاهی اوقات ارتفاع بالاتر، میزان ترکیبات فنولیک را کاهش می‌دهد، اما به طور کلی، ارتفاعات بالاتر پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالاتری ایجاد می‌کنند (Ashraf *et al.*, 2024; Zargoosh *et al.*, 2019).

در این تحقیق ارتفاع جغرافیایی در میزان متابولیت‌ها ی ثانویه موثر بود که یکی از دلایل آن می‌تواند افزایش تشعشعات UV-B در ارتفاعات باشد (Jakola and Hohtola, 2010). اصولاً با افزایش ترکیبات فنل تام خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌شود. ترکیبات فنلی با وزن مولکولی زیاد توانایی زیادی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد را دارند و این توانایی بیشتر بستگی به تعداد حلقه‌های آروماتیکی و ماهیت گروه‌های جا به جا شونده هیدروکسیل دارد (Lagouri *et al.*, 1996). مطالعات نشان می‌دهد که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی از عصاره‌ها از جمله عصاره‌های قطبی می‌باشد. زیرا بر اساس شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد. از طرف دیگر به نظر می‌رسد که ترکیبات فنلی که به صورت گسترده در گیاهان یافت می‌شوند و قدرت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند بیشتر از طریق عصاره‌های گیاهی آنها قابل

تضاد و تعارض منافع - نویسندگان هر گونه تعارض و تضاد منافع اعم از تجاری و غیر تجاری و شخصی را که در ارتباط مستقیم یا غیر مستقیم با اثر منتشر شده است رد می‌نمایند.

منابع

- Ahmadiani, A., Hosseini, J., Semnanian, S., Javan, M., Saeedi, F., Kamalinejad, M., & Saremi, S. (2007). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Elaeagnus angustifolia* fruit extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(2), 287-292.
- Ahani, H., Jalilund, H., Vaezi, & Sadati, S. A. (2015). A new subspecies of bitter elder (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson) for Iran based on molecular data. *Research in Genetic Research and Improvement of Pasture and Forest Plants of Iran*, 24(2), 208-220.
- Antonovich, R. S. (2002). *Applicability of mass spectrometry to detect coeluting impurities in high performance liquid chromatography* [Master's thesis, University of Cincinnati]. OhioLINK Electronic Theses and Dissertations Center.
- Ashraf, M. V., Khan, S., Misri, S., Gaira, K. S., Rawat, S., Rawat, B., Khan, M. A. H., Shah, A. A., Asgher, M., & Ahmad, S. (2024). High-altitude medicinal plants as promising source of phytochemical antioxidants to combat lifestyle-associated oxidative stress-induced disorders. *Pharmaceuticals*, 17(8), 975.
- Ayaz, F. A., & Bertoft, E. (2001). Sugar and phenolic acid composition of stored commercial oleaster fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14(5), 505-511.
- Bertome, J., Arrillage, M., & Segura, J. (2007). Essential oil variation within and among natural populations of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35, 479-488.
- Burits, M., & Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14, 323-328.
- Cao, G., & Prior, R. L. (1998). Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clinical Chemistry*, 44, 1309.
- Carradori, S., Cairone, F., Garzoli, S., Fabrizi, G., Iazzetti, A., Giusti, A. M., & Cesa, S. (2020). Phytocomplex characterization and biological evaluation of powdered fruits and leaves from *Elaeagnus angustifolia*. *Molecules*, 25(9), 2021.
- Chaves, J. O., De Souza, M. C., Da Silva, L. C., Lachos-Perez, D., Torres-Mayanga, P. C., Machado, A. P. D. F., ... & Rostagno, M. A. (2020). Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques. *Frontiers in chemistry*, 8, 507887.
- Chatchawan, C., Soottawat, B., Jakul, H., & Nattiga, S. (2008). Antioxidant components and properties of five long-grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailand. *Food Chemistry*, 111(3), 636-641.
- Elmasta, M., Dritas, I., Isildak, O., & Aboul-Enein, H. Y. (2006). Antioxidant activity of S-Carone isolated from spearmint (*Mentha spicata* L.). *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 29(10), 1465-1475.
- Farasat, M., Asadi, P., & Zandifar, K. (2018). *Antioxidant power of methanol extracts of four selected medicinal plants* [Paper presentation]. The First Conference on Basic Research in Agricultural and Environmental Sciences, Tehran, Iran.
- Gülsoy, E., Kaya, E. D., Türkhan, A., Bulut, M., Koyuncu, M., Güler, E., Sayın, F., & Muradoğlu, F. (2023). The effect of altitude on phenolic, antioxidant and fatty acid compositions of some Turkish hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Molecules*, 28(13), 5067.
- Gürbüz, I., Stun, O., Yesilada, E., Sezik, E., & Kutsal, O. (2003). Anti-ulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 88, 93-97.
- Hamidpour, R., Hamidpour, S., & Doostmohamadi, P. (2019). Chemistry, pharmacology and medicinal property of Russian olive (*Elaeagnus angustifolia* L.). *Cancer Science & Research*, 6, 1-7.
- Jakola, L., & Hohtola, A. (2010). Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. *Plant, Cell & Environment*, 33(8), 1239-1241.
- Kamkar, A., Shariatifar, N., Jamshidi, A. H., & Mohammadian, M. (2010). Study of antioxidant functional of the water, methanol, and ethanol extracts of endemic *Cuminum cyminum* L. and *Cardaria draba* L. in the *in-vitro* systems. *Ofoghe-Danesh*, 16(3), 37-45.
- Karpinska, M., Borowski, J., & Danowska-Oziewicz, M. (2001). The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. *Food Chemistry*, 72, 5-9.
- Katz, G. L., & Shafroth, P. B. (2003). Biology, ecology and management of *Elaeagnus angustifolia* (Russian olive) in Western North America. *Wetlands*, 23(4), 763-777.
- Kennas, A., & Aellal-Chibane, H. (2019). Comparison of five solvents in the extraction of phenolic antioxidants from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *The North African Journal of Food and Nutrition Research*, 5, 140-147.

- Kulshreshtha, M., Goswami, M. V., Rao, C., Ashwlayan, V., & Yadav, S. (2011). Estimation of antioxidant potential of aqueous extract of *Ficus bengalensis* leaf on gastric ulcer. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 9(1), 122-126.
- Laftouhi, A., Eloutassi, N., Ech-Chihbi, E., Rais, Z., Abdellaoui, A., Taleb, A., Beniken, M., Nafidi, H.-A., Salamatullah, A. M., Bourhia, M., & Taleb, M. (2023). The impact of environmental stress on the secondary metabolites and the chemical compositions of the essential oils from some medicinal plants used as food supplements. *Sustainability*, 15(10), 7842.
- Lagouri, V., & Boskou, D. (1996). Nutrient antioxidants in oregano. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 47, 493-497.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., & Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96(2), 254-260.
- Malviya, S., Jha, A., & Hettiarachchy, N. (2014). Antioxidant and antibacterial potential of pomegranate peel extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 51(12), 4132-4137.
- Masci, A., Coccia, A., Lendaro, E., Mosca, L., Paolicelli, P., & Cesa, S. (2016). Evaluation of different extraction methods from pomegranate whole fruit or peels and the antioxidant and antiproliferative activity of the polyphenolic fraction. *Food Chemistry*, 202, 59-69.
- Mirhydar, H. (1998). *Encyclopedia of plants: Indications of plants in the prevention and treatment of diseases*. Islamic Farhang Publications. (pp. 1-7).
- Omidbaigi, R. (2013). *Production and processing of medicinal plants* (2nd ed.). Behshahr Publication. (pp. 1-270).
- Platzer, M., Kiese, S., Tybussek, T., Herfellner, T., Schneider, F., Schweiggert-Weisz, U., & Eisner, P. (2022). Radical scavenging mechanisms of phenolic compounds: A quantitative structure-property relationship (QSPR) study. *Frontiers in Nutrition*, 9, 882458.
- Qaderi, M. M., Martel, A. B., & Strugnell, C. A. (2023). Environmental factors regulate plant secondary metabolites. *Plants*, 12(3), 447.
- Raghavendra, H., Vijayananda, B., Madhumathi, G., & Hiremath, A. (2010). *In vitro* antioxidant activity of *Vitex negundo* L. leaf extracts. *Chiang Mai Journal of Science*, 37(3), 489-497.
- Rana, P. S., & Saklani, P. (2019). Analyzing effect of altitudinal variation in enzymatic antioxidants of *Coleus forskohlii* from Uttarakhand, India. *Department of Biotechnology, HNB Garhwal University*.
- Razali, N., Mat-Junit, S., Abdul-Muthalib, A. F., Subramaniam, S., & Abdul Aziz, A. (2012). Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindus indica* L. *Food Chemistry*, 131, 441-448.
- Roupioz, L., Jia, L., Nerry, F., & Menenti, M. (2006). Estimation of daily solar radiation budget at kilometer resolution over the Tibetan Plateau by integrating Modis data products and a DEM. *Remote Sensing of Environment*, 8, 1-24.
- Roy, A., Sitalakshmi, T., Geetha, R. V., Lakshmi, T., & Vishnu Priya, V. (2011). *In vitro* antioxidant and free radical scavenging activity of the ethanolic extract of *Dioscorea villosa* (wild yam) tubers. *Drug Invention Today*, 3(9), 214-215.
- Samsam Shariat, H., & Moattar, F. (1981). *Plants and natural medicines* (2nd ed.). Mashat Publications. (pp. 431-433).
- Sanei, M., Ghasem Nejad, A., Sadeghi, A., & Masoumi, M. (2019). Investigating the effect of environmental parameters on the antioxidant activity of medicinal plants collected from Paveh and Ormanat regions. *Journal of Plant Production Research*, 27(4), 241-261.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 945-948.
- Sivaci, A. (2016). Seasonal changes of total carbohydrate contents in three varieties of apple (*Malus sylvestris* Miller.) stem cuttings. *Scientia Horticulturae*, 109, 234-237.
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.
- Swetie, R., Raesh, C., & Arun, S. (2007). Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. *Food Chemistry*, 100(2), 451-458.
- Young, I. S., & Woodside, J. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54, 176-186.
- Yuca, H., Ozbek, H., Demirezer, L. O., Kasil, H. G., & Guvenalp, Z. (2021). *Trans*-Tiliroside: A potent alpha-glucosidase inhibitor from the leaves of *Elaeagnus angustifolia* L. *Phytochemistry*, 188, 112795.
- Zahid, N. I., Kanari, R., & Farhamandfar, R. (2021). Evaluation of color efficiency and antioxidant power of anthocyanin extract of pomegranate peel powder obtained by solvent extraction. *Iranian Journal of Food Sciences and Industries*, 18(117), 197.

- Zargoosh, Z., Ghavam, M., Bacchetta, G., & Tavili, A. (2019). Effects of ecological factors on the antioxidant potential and total phenol content of *Scrophularia striata* Boiss. *Scientific reports*, 9(1), 16021.
- Zeinali, Z., Hemmati, K. H., Mazandarani, M., & Asghari, J. (2014). Aut-ecology, ethnopharmacology, phytochemistry and antioxidant activity of *Ferula gummosa* Bioss. in two different regions of Khorasan Razavi province. *Eco-Phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 1(4), 11-22.
- Zhou, M., Chen, Y., Ouyang, Q., Liu, S. X., & Pang, Z. J. (2000). Reduction of the oxidative injury to the rabbits with established atherosclerosis by protein bound polysaccharide from *Coriolus versicolor*. *The American Journal of Chinese Medicine*, 28, 239-249.
- Zolfaghari, B., & Yekdane, A. (2011). Recent developments in the combination of herbal extraction methods. *Journal of Medicinal Plants*, 1, 51-55.