



Scan online to view this article

Evaluation and Comparison of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity Extract of Several population of *Narcissus sp.* From Behbahan city

Somayeh Dourr¹, Reza Dehghani Bidgoli *¹, Maryam Akhbari², Damoun Razmjoue³

1. Department of Rangeland Management, University of Kashan, Kashan, Iran

2. Department of Chemistry, Natural Essential Oils Institute, University of Kashan, Kashan, Iran

3. Department of Basic Sciences, School of Medicine Yasuj University of Medical Sciences

Abstract

Aim and Background: Narcissus family plants are important in addition to their ornamental value in terms of aromatic and medicinal compounds. The present study was conducted to investigate the quantitative and qualitative properties of phenolic compounds and antioxidant activity of four genotypes of Narcissus with the local name: Shahla, Meskin, Shasteper and Panjeh gorbeie in two phenological stages (beginning and end of harvest season).

Material and methods: For this purpose, after collecting plant materials in the natural habitats of Behbahan, drying and cold extraction were done. In this experimental study, the phytochemical study of the plant was first performed, then the total phenolic and flavonoid compounds were measured by spectrophotometric method. Finally, the antioxidant activity of the extract at different concentrations was determined using DPPH assay.

Results: The results showed that the extract yield in the sample of Maskin was more than the other samples at the beginning of harvest season. Also, compounds such as tannin and alkaloids were observed in some samples, that, varied in different these genotypes. The high percentage of DPPH inhibition is also confirmed the high antioxidant properties of these genotypes, although the three genotypes had the same degree of DPPH inhibition level, but the highest antioxidant activity is related to Meshkin with inhibitory percent 72.93 and the least anti-oxidant property related to Shahla with an inhibition rate of 91.895. According to the results, Maskin and Shahla genotypes showed the highest and least antioxidant properties, respectively.

Conclusion: The results of this study indicate that there is a significant difference in the composition and percentage of inhibition of DPPH free radicals in the extract of various nursery plants, which has not been reported for this plant in scientific sources.

Keywords: Phytochemical test, Antioxidant properties, Inhibitory percentage, Narcissus, Extract

Corresponding author:

Department of Rangeland Management, University of Kashan, Kashan, Iran

Email: dehghanir@kashanu.ac.ir



بررسی و مقایسه ترکیب‌های فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره چند جمعیت گل نرگس (*Narcissus sp*) از شهرستان بهبهان

سمیه دور^۱، رضا دهقانی بیدگلی^{۱*}، مریم اخباری^۲، دامن رزمجویی^۳

۱. گروه مرتع و آبخیزداری دانشگاه کاشان، کاشان، ایران
۲. پژوهشکده اسانس های طبیعی دانشگاه کاشان، ایران
۳. گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج

چکیده

سابقه و هدف: گیاهان خانواده نرگس علاوه بر ارزش زینتی به لحاظ دارا بودن ترکیبات معطر و دارویی نیز دارای اهمیت می باشند. تحقیق حاضر به منظور بررسی کمی و کیفی ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی چهار نژادگان گل نرگس به نام‌های نرگس شهلا، نرگس مسکین، نرگس شصت‌پر و نرگس پنجه‌گره‌ای انجام شده است.

مواد و روش‌ها: پس از جمع‌آوری گل‌نرگس در نرگسزار طبیعی بهبهان، عصاره‌گیری به روش سرد (خیساندن) انجام شد. در این مطالعه آزمایشگاهی ابتدا بررسی فیتوشیمی گیاه انجام شد، سپس سنجش میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی تام به روش اسپکتروفتومتری صورت گرفت و در نهایت فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه در غلظت‌های مختلف با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد ۲ و ۲ دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بر اساس نتایج بازده عصاره در نمونه‌ی نرگس مسکین در ابتدای فصل برداشت، بیشتر از نمونه‌های دیگر بود. ترکیبات ثانویه مانند تانن و آلکالوئیدها نیز در برخی نمونه‌ها مشاهده گردید که البته میزان آنها در نژادگان‌های مختلف گل‌نرگس، متفاوت بود. درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نیز نشان از خاصیت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً بالای این نژادگان‌ها دارد هرچند هر چهار نژادگان تقریباً در یک حد دارای درصد مهار بودند، اما در این میان، بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به نرگس مسکین با درصد مهار ۹۳/۷۲ و کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به نرگس شهلا با درصد مهار ۹۱/۸۹۵ بود، بر اساس نتایج، نرگس مسکین بیشترین و نرگس شهلا به ترتیب کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان دادند.

بحث: نتیجه تحقیق حاضر نشان می‌دهد تفاوت قابل ملاحظه‌ای در ترکیبات و درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در عصاره نژادگان‌های مختلف گیاه نرگس مشاهده می‌شود که تاکنون برای این گیاه در منابع علمی گزارش نشده است.

نتیجه‌گیری: گونه‌ها و واریته‌های مختلف گیاهی ترکیبات مختلفی دارند و این عامل می‌تواند در نوع استفاده صحیح آنها در صنایع مرتبط مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آزمون فیتوشیمیایی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، درصد مهار، گل نرگس، عصاره

نویسنده مسئول:

گروه مرتع و آبخیزداری دانشگاه کاشان، کاشان، ایران
پست الکترونیکی: dehghanir@kashanu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۱۰

مقدمه

میله‌های پرچم آزاد یا به لوله مادگی چسبیده؛ تخمدان زیرین، سه خانه‌ای؛ تخمک‌ها در هرخانه متعدد، یا به ۱ تا ۲ عدد تقلیل یافته؛ خامه باریک، نخی شکل؛ کلاله معمولا سراسن؛ میوه کپسول یا به-ندرت سته است.

گیاهان خانواده نرگس علاوه بر ارزش زینتی، به لحاظ دارا بودن ترکیب‌های آلکالوئیدی و نیز از نظرخواص دارویی اهمیت دارند. انواع آلکالوئیدهای خانواده آماریلیداسه^۱، خواص آنتی‌ویروسی و ضد توموری دارند (۵). براساس گزارش‌ها و مستندات علمی قدمت گل نرگس در ایران به قبل از تاریخ هجری می‌رسد (۶). محل رویش گل نرگس در ایران، مازندران، گیلان، گرگان، استان فارس، بهبهان و بوشهر است (۷).

متابولیت‌های ثانویه مشتق از گیاهان مانند فنل و فلاونوئید تام مشتق از گیاهان دارای پتانسیل قوی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد هستند که در تمام قسمت‌های مختلف گیاهی مانند برگ، میوه، دانه، ریشه و پوست وجود دارند (۸). بنابراین با توجه به شیوع بالای بیماری‌های مزمن، منطقی است که برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های مورد نیاز بدن، از گیاهان استفاده شود به خصوص گیاهانی که فنل و فلاونوئید تام بالایی داشته باشند.

پژوهش‌های مختلفی در مورد ترکیب‌های شیمیایی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره نرگس انجام شده است و در برخی از این پژوهش‌ها گزارش شده که میزان آلکالوئیدها در خانواده نرگس در مرحله پس از گلدهی بیش‌تر از زمان گلدهی است (۹، ۱۰، ۱۱) (هم‌چنین مشخص شده است گیاه نرگس دارای آلکالوئیدهای متنوعی است که دارای فعالیت‌های زیستی و داروسازی بسیاری است (۱۲). اسانس تعداد زیادی از گونه‌های نرگس را مورد آزمایش قرار گرفته و ترکیب‌های مختلفی گزارش شده است (۱۳). گل نرگس به دلیل زیبایی و در برخی ژنوتیپ‌ها به ترکیب‌های معطر، به خصوص از نظر داشتن ترکیب‌های

گیاهان دارویی و مشتقات آن امروزه ۲۰ درصد تجویزات دارویی در کشورهای صنعتی پیشرفته و ۸۰ درصد در کشورهای در حال توسعه را به خود اختصاص می‌دهد (۱). براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، ۸۰ درصد مردم جهان برای مراقبت‌های اولیه بهداشتی ترجیح می‌دهند از عصاره‌های گیاهی یا مواد مؤثره آن‌ها استفاده نمایند (۲، ۳). امروزه گیاهان دارویی به‌عنوان نوآوری‌های زیستی در عرصه پزشکی جایگزینی شایسته برای داروهای شیمیایی هستند. یکی از علل مهم این جایگزینی حداقل عوارض جانبی نسبت به داروهای شیمیایی است (۴).

برخی از گیاهان دارویی به شکل توده غیرفرآوری شده بعد از برداشت گیاه از مزرعه بدون آن که کار دیگری روی آن انجام شود وارد بازار می‌شود. این بخش از گیاهان به صورت‌های مختلفی مورد استفاده قرار می‌گیرند که تولید اسانس و عصاره‌ها از جمله آن‌ها است. بخش دیگر از گیاهان دارویی در کارخانه‌های داروسازی با انجام فرآوری بر آن، به صورت قرص و شربت وارد صنعت داروسازی می‌شوند. کاربرد دیگر گیاهان دارویی در صنایع غذایی است. در این بخش، گیاهان به‌عنوان طعم‌دهنده مواد غذایی به صورت چاشنی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۵).

یکی از گیاهان دارویی مورد استفاده در ایران گل نرگس با نام علمی *Narcissus sp.* از خانواده (Amaryllidaceae) هستند. ویژگی‌های عمومی این خانواده عبارتند از: گیاهانی پیازدار، غده‌دار، یا دارای ریزوم، برگ‌ها اغلب قاعده‌ای، گل آذین چتر کم تا پرگل، به‌ندرت خوشه یا تک گل، چمچه دارای ۱ تا ۲ برگه کامل یا از وسط شکافته شده، گاهی در قاعده به-هم پیوسته و لوله‌ای شکل. گل‌ها نرماده، منظم یا نامنظم؛ گلپوش با قطعه‌های مشابه جدا و یا پیوسته به لوله تخمدان، کوتاه یا بلند، گاهی با فلس‌های تاج مانند در سطح داخلی. پرچم‌ها ۶ عدد، دوحلقه نابرابر،

آلکالوئیدی از جمله گالانتامین (مؤثر در درمان بیماری آزایمر) بسیار قابل توجه بوده و از ارزش اقتصادی بالائی برخوردار است (۱۴).

روش کار

مشخصات عمومی منطقه مورد مطالعه

شهرستان بهبهان واقع در جنوب شرقی استان خوزستان، ارتفاع آن از سطح دریا ۲۸۰ متر است. و دارای میانگین دمای سالانه ۲۴ درجه سانتی‌گراد و میانگین بارش سالانه آن ۳۷۰ میلی‌متر است. بخش مرکزی بهبهان در دشتی خشک و نمک‌زار قرار دارد. در زمان آبادی شهر باستانی ارگان «کوشک دشت» گفته می‌شد. آب و هوای آن به سبب ویژگی طبیعی و قرار گرفتن در منطقه گرمسیری، نیمه بیابانی است که تابستان‌های گرم و سوزان و ۵ تا ۷ ماهه و زمستان‌های سرد و کم باران و کوتاه مدت دارد. حداکثر بارندگی در آن ۳۰ روز و بین آبان ماه تا اسفند است. پوشش گیاهی آن استپ جنگلی است. بهار واقعی بهبهان بین نیمه دوم بهمن و نیمه اول فروردین است.

در این پژوهش چهار نژادگان از جنس نرگس از نظر خواص کمی و کیفی عصاره مورد بررسی قرار گرفتند. این نژادگان‌ها از نظر خصوصیات عمومی نرگس‌ها مشابه بوده و فقط از نظر شکل ظاهری و به احتمال میزان مواد مؤثره دارای تفاوت هستند. از نظر رویشگاه، زمان گلدهی، زمان رویش کمابیش مشابه‌اند و تفاوت‌های ناچیزی دارند.

عملیات آزمایشگاهی

تهیه گیاه و عصاره گیری

در این پژوهش ۴ نژادگان با اهمیت گل‌نرگس از رویشگاه‌های شهرستان بهبهان به نام‌های شهلا، شصت‌پر، مسکین، پنجه‌گره‌ای در دو مرحله ابتدای فصل برداشت (اواخر دی‌ماه ۱۳۹۴) و انتهای فصل برداشت (اواخر بهمن ماه ۱۳۹۴) از در دو مرحله رشد ابتدای برداشت و انتهای برداشت شدند. از نظر

بررسی بر روی آلکالوئیدهای خانواده نرگسیان (Amaryllidaceae) با جداسازی لیکورین از گونه *N. Pseudonarcissus* در سال ۱۸۷۷ آغاز شد (۱۴). براساس کلیدهای شناسایی فلور ایرانیکا (۱۵) و طبقه‌بندی گیاهی (۱۴)، نرگس‌های بومی ایران متعلق به نرگس‌های فنجانی یا پیاله‌ای *Narcissus tazetta* L. و نرگس‌های غیر بومی متعلق به نرگس‌های شیپوری *Narcissus pseudonarcissus* L. هستند. در ضمن نرگس‌های بومی معطر و حساس به سرما و غیربومی‌ها فاقد عطر و مقاوم به سرما هستند. از طرفی تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای بین نژادگان‌های بومی کم بوده که گویای رابطه خویشاوندی نزدیک بین آن‌هاست.

در بررسی اسانس واریته‌های *N. tazetta* ترکیب‌های زیادی از جمله Nonane, Papyr, Chinensis, Pentadecane, Dodecane, Heptadecane را استخراج شده است (۱۶). این گیاه زینتی به جهت دارا بودن خواص داروئی بسیار مورد توجه است (۱۷).

از نظر ویژگی‌های ریخت شناسی نرگس‌ها به دسته‌های «شهلا» با مشخصه کم‌پر بودن، کرم رنگ و گرد بودن گلبرگ‌ها و کاسبرگ‌ها، «مسکینک» با ویژگی کم‌پر بودن، کشیدگی و سفیدرنگ بودن گلبرگ‌ها و کاسبرگ‌ها و «مسکین» با ویژگی‌های مرفولوژیکی حد واسطی از «شهلا» و «مسکینک» تقسیم بندی شده‌اند، که با تقسیم‌بندی مولکولی که «شهلا» در گروه یک، «مسکین» در گروه دو و «مسکینک» در گروه سه قرار گرفته‌اند، مطابقت دارد (۱۷). میزان آلکالوئیدها در مرحله پس از گلدهی بیش‌تر از زمان گلدهی است (۱۸).

به دلیل اهمیت این تیره گیاهی در این تحقیق به بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و ترکیب‌های فنولی و آلکالوئیدهای موجود در چهار نژادگان با اهمیت آن به

آوری شد و مورد آزمایش قرار گرفت. به دلیل مقدار خیلی کم ماده گیاهی مقادیر بسیار کمی از عصاره آن به دست آمد که برای آزمون شناسایی تانن و آزمون شناسایی آلکالوئیدها مورداستفاده قرار گرفت.

آزمون های فیتوشیمیایی

- سنجش الکلوئید

به منظور شناسایی آلکالوئیدهای موجود در عصاره از آزمون واگنر-مایر استفاده شد. در این روش ابتدا ۰/۵ گرم عصاره خشک در یک بشر ریخته شد و ۱۵ میلی-لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال به آن اضافه شد، مخلوط به مدت پنج دقیقه درون بن ماری با دمای ۴۵ درجه قرار داده و با یک همزن مخلوط هم زده شد سپس محلول از کاغذ صافی عبور داده شد و محلول به دو لوله آزمایش منتقل شد. به لوله آزمایش اول چند قطره معرف مایر اضافه شد تشکیل رسوب سفید به این معناست که عصاره دارای آلکالوئید است. به لوله آزمایش دوم چند قطره معرف واگنر اضافه شد رسوب قرمز نشان دهنده وجود آلکالوئید است (۴،۵).

- سنجش تانن

به منظور شناسایی آلکالوئیدهای موجود در عصاره از آزمون استفاده شد.

آزمون رنگی با محلول کلرید آهن: به این صورت که ۱۰ میلی لیتر اتانول بر روی ۰/۲ گرم پودر گیاه ریخته و خوب تکان داده شد سپس محلول مورد نظر از صافی رد شد و به محلول صاف شده پنج قطره محلول کلرید آهن اضافه شد، تغییر رنگ محلول به آبی یا سبز نشان دهنده وجود تانن است.

آزمون ژلاتین: ۱۵ میلی لیتر آب مقطر به جوش آورده شد و ۰/۵ گرم عصاره در آن حل شد محلول در محیط قرار گرفته شد تا به دمای آزمایشگاه برسد سپس پنج قطره محلول سدیم کلرید ۱۰٪ به محلول اضافه شد تا ترکیب های غیر تاننی رسوب کند، در مرحله بعد محلول صاف شد و در سه لوله آزمایش ریخته شد، به لوله آزمایش اول پنج قطره ژلاتین ۱٪ و

مشخصات رویشگاهی در نرگسزار شهرستان بهبهان هر چهار نژادگان مختلف گل نرگس به صورت پراکنده و در کنار هم قرار دارند. در بخش هایی نیز بدون فاصله مشخص، انواع نرگس در کنار هم رویش یافته اند و وسعت زمین اختصاص یافته به نرگس شهلا بیش از سایرین است و در این میان کمترین وسعت زمین به نرگس پنجه گربه ای اختصاص دارد. نمونه های جمع-آوری شده و در پاکت های کاغذی مخصوص که دارای منافذ ریز برای تهویه بودند، در دمای محیط خشک شده و جهت عصاره گیری به آزمایشگاه دانشکده منابع طبیعی دانشگاه کاشان منتقل شدند و پس از عمل خشک کردن در سایه، عصاره گیری به روش خیساندن انجام شد و سپس آزمون های آنتی اکسیدانی و آزمون های فیتوشیمیایی (آزمون آلکالوئید و آزمون تانن) روی آنها انجام شد.

گل های برداشت شده به آزمایشگاه منتقل گردید و پس از جدا کردن گلبرگ ها عصاره گیری از آنها شروع شد، روش عصاره گیری از نوع ماسراسیون بود. در این روش گلبرگ ها بعد از برداشت از سایر اجزای گل جدا شدند و در سه تکرار به میزان ۱۰۰ گرم از هر نمونه وزن شد و در ارلن ریخته شد و مقدار ۷۰۰ میلی لیتر اتانول ۷۰٪ به گلبرگ ها اضافه شد. بعد از مدت ۴۸ ساعت عصاره از کاغذ صافی عبور داده شد در نهایت عصاره های اتانولی به رنگ زرد متمایل به قهوه ای با حجمی از اتانول به دست آمدند. سپس در بالن مخصوص دستگاه روتاری ریخته شد تا تغلیظ شوند. بعد از تغلیظ، نمونه ها در پتری دیش ریخته شده و در آون فن دار به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و بعد از آن به مدت ۴۸ ساعت در آون خلاء با دمای ۵۰ درجه قرار داده شدند. بعد از خشک شدن عصاره ها توسط اسپاتول تراشیده شد و در ظرف درب دار و غیر قابل نفوذ ریخته شدند و به منظور جلوگیری از تجزیه و یا از بین رفتن مواد موثره در عصاره ها تا مراحل آزمایش در یخچال نگهداری شدند.

در مورد نرگس پنجه گربه ای از آنجایی که دوره رویشی آن کوتاه تر است فقط یک بار از سطح رویشگاه جمع-

(IC₅₀) توسط نمودار محاسبه گردید. بدیهی است که هر چه این عدد کوچک تر باشد قدرت آنتی اکسیدانی یا مهار رادیکال های آزاد، بیش تر است. در این تست به- عنوان کنترل مثبت از Butyl-4-hydroxytoluene (BHT) استفاده گردید و کلیه آنتی اکسیدان سنتزی آزمایشات سه بار تکرار شدند.

- تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات به دست آمده به صورت (Mean ±SD) میانگین ± انحراف معیار بیان شده و به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و روش آزمون آنالیز واریانس استفاده شد و سطح معنی داری آزمون ها ۵ درصد در نظر گرفته شد.

یافته ها

هدف اصلی این پژوهش بررسی و مقایسه خواص کمی و کیفی عصاره چهارنژادگان با اهمیت گل نرگس موجود در رویشگاه های طبیعی گل نرگس شهرستان بهبهان، واقع در استان خوزستان است. در راستای انجام این پژوهش، پس از جمع آوری نمونه های گیاهی مورد نظر و انتقال به آزمایشگاه، عصاره گیری انجام شد. عصاره های به دست آمده از چهار نژادگان گل نرگس (شهلای، مسکین، شصت پر و پنجه گربه ای) در دو مرحله ابتدای فصل برداشت و انتهای فصل برداشت، بررسی و آزمایش شدند. نتایج سنجش بازده عصاره در شکل ۱ ارائه شده است.

در این پژوهش، عصاره سرشاخه های چهار نژادگان با اهمیت گل نرگس بهبهان به نام های شهلای، شصت پر، مسکین و پنجه گربه ای به روش خیساندن با اتانول ۷۰ درصد، عصاره گیری و بازده عصاره گیری در (جدول) گزارش شده است. برای همه نمونه های گیاهی به یک اندازه از گیاه مورد نظر و مقدار مشخصی حلال (اتانول ۷۰٪)، استفاده شد، هم چنین نسبت حلال به گیاه خشک مقدار ثابتی بود (۱۴ ml/g) و در نهایت مقادیر متفاوتی برای بازده عصاره در نژادگان- های مورد بررسی به دست آمد.

همان طور که در شکل ۱ نشان داده شده است،

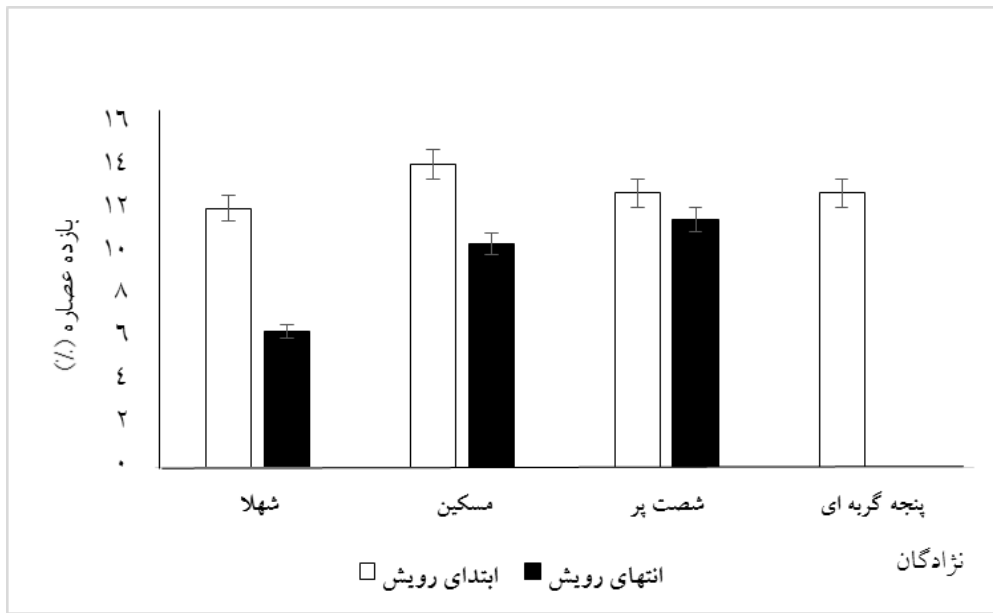
به لوله آزمایش دوم یک قطره کلرید آهن ۱٪ اضافه شد و لوله آزمایش سوم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. ایجاد رسوب در محلول ژلاتین و تولید رنگ سبز یا آبی در محلول کلرید آهن نشان دهنده وجود تانن در عصاره است (۱۸). در این آزمون، پس از افزودن هریک از معرف های مایر و واگنر به محلول های تهیه شده از عصاره های گیاهان مورد آزمایش در این پژوهش، تشکیل رسوب در برخی نمونه ها نشان داده شد. تشکیل رسوب سفید رنگ، نشان دهنده وجود آلکالوئیدهاست. درجه امتیاز اختصاص یافته به میزان رسوب تشکیل شده در محلول هر نمونه، نشان دهنده میزان آلکالوئیدها است.

- سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی

بررسی خاصیت توانایی دادن اتم هیدروژن یا DPPH^۱ آنتی رادیکالی به روش الکترون در ترکیبات و عصاره های مختلف در این تست با میزان بی رنگ کردن محلول بنفش DPPH در متانول مورد سنجش قرار می گیرد. در این روش به عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده عنوان معرف DPPH (Sigma, Aldrich) استفاده شد. به این ترتیب که ۵۰ میکرو لیتر از غلظت- های مختلف اسانس و عصاره های آبی، اتانولی، متانولی در متانول به ۵ میلی لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH در متانول اضافه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۱۷ نانو متر با DPPH علیه بلانک قرائت شد. درصد مهار رادیکال های آزاد استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۱۸).

$$I\% = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}) \times 100$$

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری کنترل منفی که تمامی مواد به استثنای عصاره ها را دارد، نشان می دهد. A_{sample} بیانگر جذب نوری غلظت های مختلف عصاره ها گیاه است. پس از آن غلظتی از عصاره های گیاه که دارای درصد مهار رادیکالی ۵۰ درصد بود یا



شکل ۱- بازده عصاره ۴ نژادگان گل نرگس شهرستان بهبهان

عدم وجود آلکالوئیدهاست. هم‌چنین در هنگام افزودن معرف واکنر، گل‌های نرگس مسکین در ابتدای فصل برداشت و شصت‌پر در انتهای فصل برداشت به یک اندازه تشکیل رسوب دادند. گل‌های نرگس شہلا در ابتدای فصل برداشت و پنجه‌گریه‌ای در ابتدای فصل برداشت نیز به یک میزان و کم‌تر از دو گیاه قبلی رسوب تشکیل دادند. و گل‌های نرگس شہلا در انتهای فصل برداشت، مسکین در انتهای فصل برداشت و شصت‌پر در ابتدای فصل برداشت نیز هیچ واکنشی نسبت به افزودن معرف واکنر نشان ندادند.

گل نرگس شصت‌پر در ابتدای فصل برداشت تنها نمونه‌ای بود که نسبت به افزودن هر دو معرف مایر و واکنر، واکنش نشان نداد که بیانگر عدم وجود آلکالوئیدها در این نژادگان گل نرگس در ابتدای فصل برداشت گل است. و به احتمال آلکالوئیدها به مرور زمان تا انتهای فصل برداشت در این نژادگان گل نرگس ظاهر می‌شوند (جدول ۱).

بیش‌ترین بازده عصاره‌گیری مربوط به گل نرگس مسکین در ابتدای فصل برداشت است و کم‌ترین بازده عصاره‌گیری مربوط به گل نرگس شہلا در انتهای فصل برداشت، است که تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین بازده عصاره‌گیری این دو نمونه گیاهی وجود داشت. براساس نتایج به‌دست آمده گل نرگس شصت‌پر در ابتدای فصل برداشت و گل نرگس پنجه‌گریه‌ای در ابتدای فصل برداشت، بازده عصاره‌گیری مشابهی داشتند. گل نرگس شہلا در ابتدای فصل برداشت و گل نرگس شصت‌پر در انتهای فصل برداشت نیز بازده عصاره‌گیری مشابهی داشتند.

نتایج آزمون‌های فیتوشیمیایی

گل‌های نرگس شہلا در ابتدای فصل برداشت، شہلا در انتهای فصل برداشت و پنجه‌گریه‌ای در ابتدای فصل برداشت، در واکنش به افزودن معرف مایر، به یک میزان رسوب تشکیل دادند. گل‌های نرگس مسکین در ابتدای فصل برداشت و در انتهای فصل برداشت و شصت‌پر در انتهای فصل برداشت نیز به یک میزان نسبت به افزودن معرف مایر، واکنش نشان دادند ولی رسوب تشکیل شده کم‌تر از سه گیاه قبلی بود. نرگس شصت‌پر در ابتدای فصل برداشت نیز در واکنش به افزودن معرف مایر، تغییری نداشت که نشان دهنده

جدول ۱- واکنش عصاره ۴ نژادگان گل نرگس به معرف‌های شیمیایی

نژادگان	مرحله روشی	آلکالوئید		نشان
		رسوب حاصل از معرف مایر	رسوب حاصل از معرف واگنر	
شهبلا	ابتدای فصل برداشت	++	+	+
	انتهای فصل برداشت	++	-	++
مسکین	ابتدای فصل برداشت	+	++	+
	انتهای فصل برداشت	+	-	+
شصتپنجر	ابتدای فصل برداشت	-	-	+
	انتهای فصل برداشت	+	++	++
پنجه گریه ای	ابتدای فصل برداشت	++	+	++++

مقایسه کلی نمودارهای درصد مهار نسبت به منفی لگاریتم غلظت عصاره‌ها نیز در نمودار شکل ۷ نشان داده شده است.

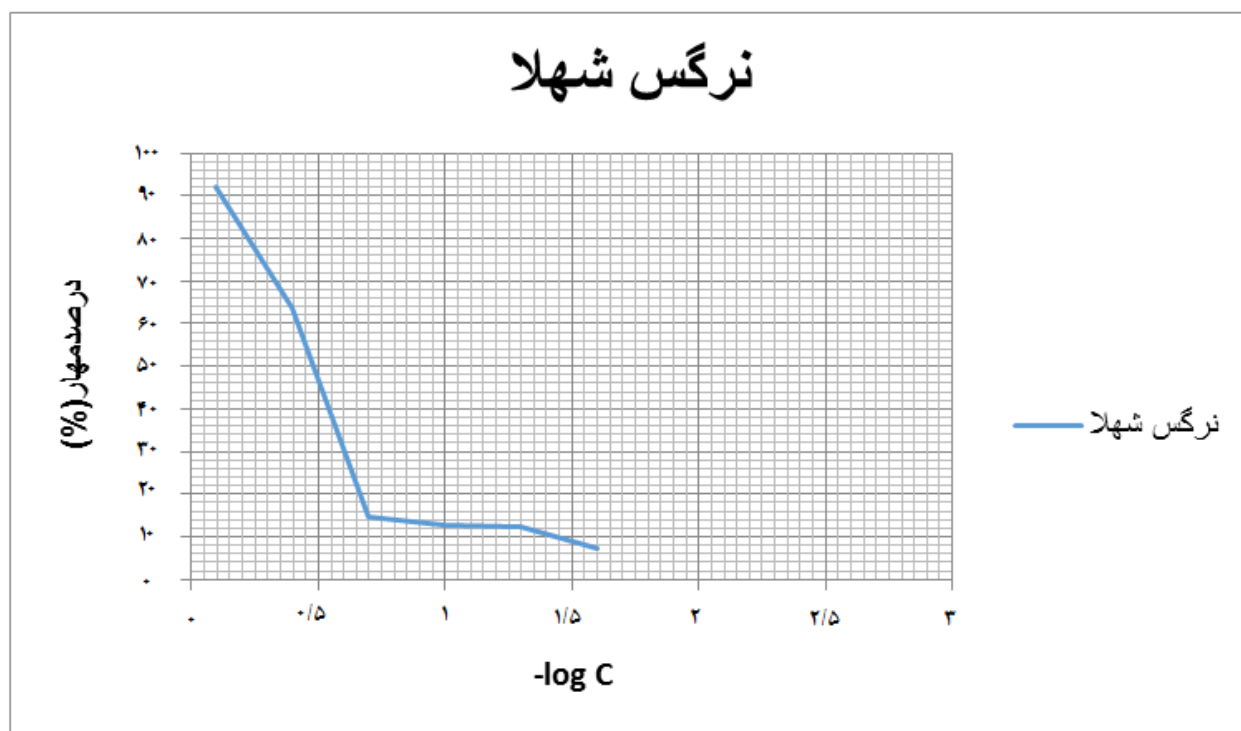
نتایج سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش

DDPH

به منظور سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش، پس از محاسبه درصد مهار هریک از نمونه‌ها، نمودارهای درصد مهار نسبت به منفی لگاریتم غلظت عصاره‌های متانولی و همچنین نمودار استاندارد BHT رسم شد، سپس میزان IC_{50} (توانایی از بین بردن ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد DPHH مربوط به هر نمونه محاسبه گردید. نتایج مربوط به درصد مهار و مقادیر IC_{50} آن‌ها در (جدول ۲ تا ۴) و (شکل‌های ۲ تا ۴) گزارش شده است.

جدول ۲ - میزان درصد مهار و جذب‌های خوانده شده برای نرگس شهلا

غلظت ($\mu\text{g/ml}$)	درصد مهار (%)	جذب (میانگین جذب های خوانده شده)
شاهد	۰	۲/۱۴۸۳
۰/۰۲۵	۱۲/۲۹۸	۱/۸۸۴۱
۰/۰۵	۱۲/۷۴۴	۱/۸۷۴۵
۰/۱	۱۴/۸۴۴	۱/۸۲۹۴
۰/۲	۶۳/۵۶۱	۰/۷۸۲۸
۰/۸	۹۱/۸۹۵	۰/۱۷۴۱

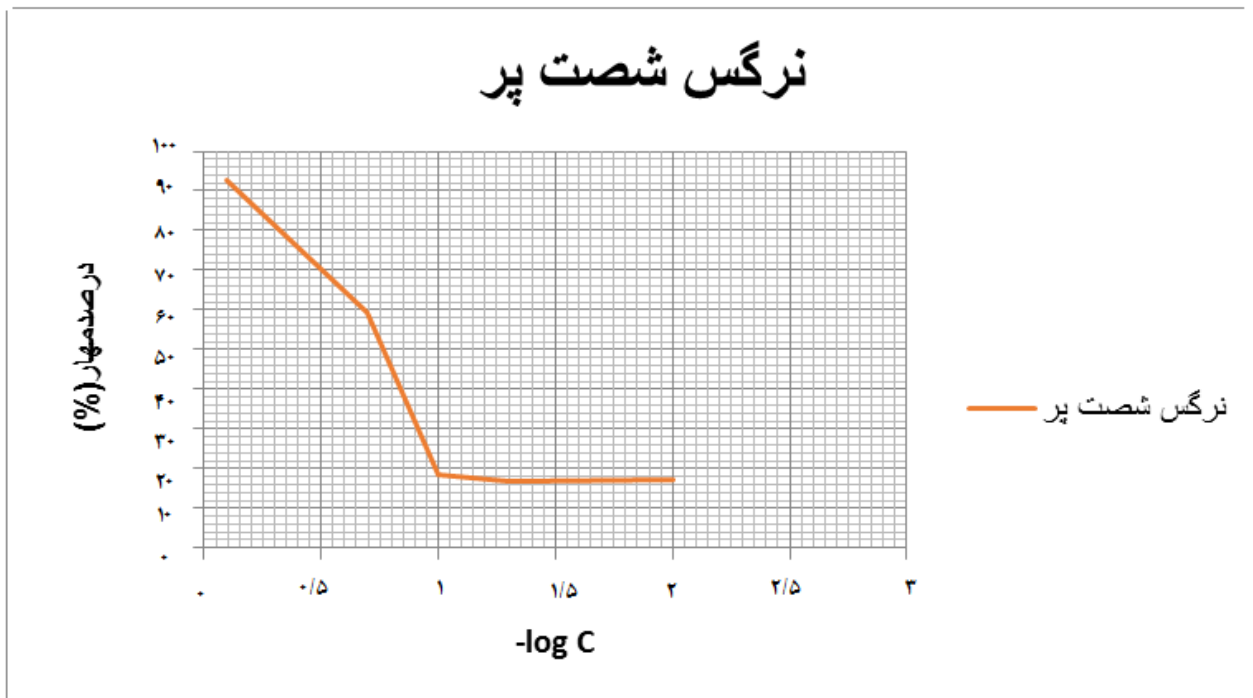


شکل ۲- درصد مهار برحسب منفی لگاریتم غلظت عصاره متانولی نرگس شهلا

با توجه به شکل ۲ می‌توان گفت مقدار عددی IC_{50} در $-\log C = 0/48$ است. به این معنی که در غلظتی بین $0/4 - 0/2$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر توانایی از بین بردن ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را داراست. همچنین می‌توان دریافت که درصد مهار رادیکال‌های آزاد نرگس شهلا در $-\log C = 0/1$ دارای بالاترین درصد مهار (۹۱/۸۹۵) است، و قدرت از بین بردن رادیکال‌های آزاد بیش‌تری را در این غلظت دارد.

جدول ۳- میزان درصد مهار و جذب های خوانده شده برای نرگس شصت پر

غلظت ($\mu\text{g/ml}$)	درصد مهار (%)	جذب (میانگین جذب های خوانده شده)
شاهد	۰	۲/۳۹۰۸
۰/۰۱	۱۷/۲۱۱	۱/۶۷۳۶
۰/۰۵	۱۶/۹۸۴	۱/۹۸۵۶
۰/۱	۱۸/۳۰۳	۱/۹۵۳۲
۰/۲	۵۹/۳۷۷	۰/۹۷۱۲
۰/۸	۹۲/۵۲۹	۰/۱۷۸۶



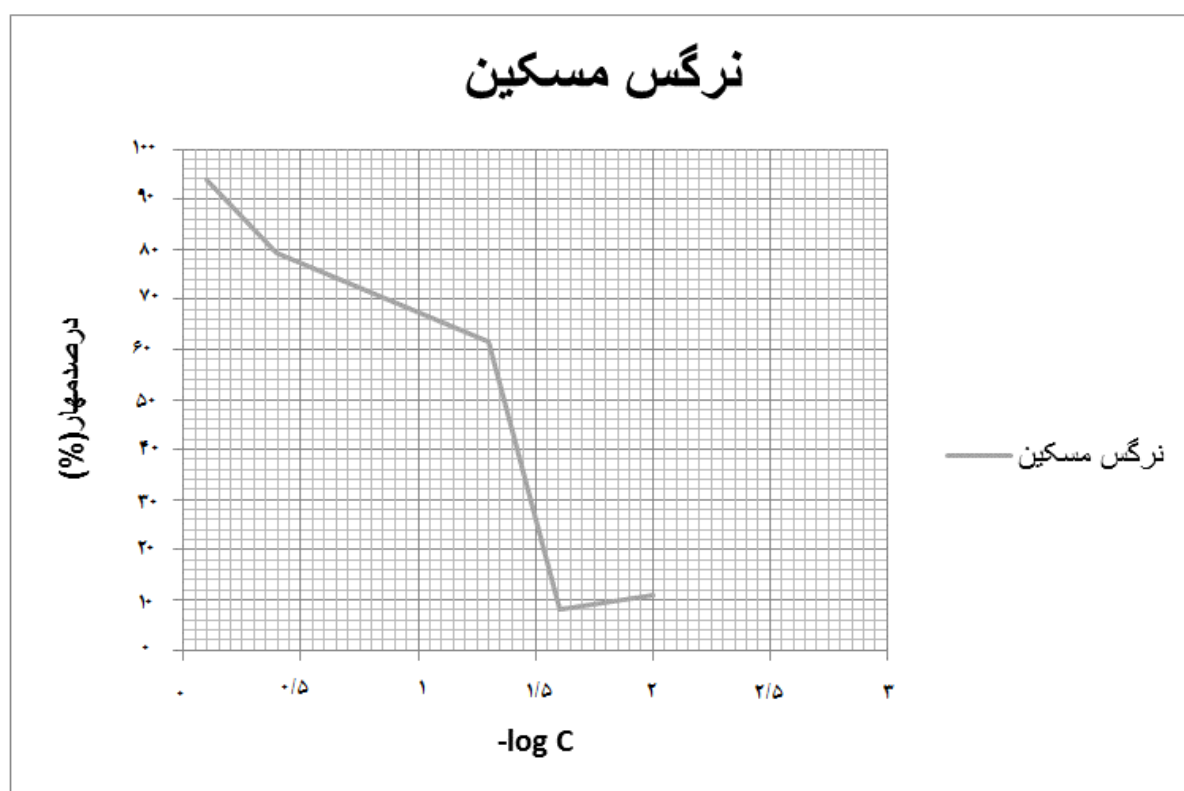
شکل ۳- درصد مهار بر حسب منفی لگاریتم غلظت عصاره متانولی نرگس شصت پر

بالاترین مقدار عددی در صد مهار است (۹۲/۵۲۹)، که نشان دهنده بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی نرگس شصت پر در این غلظت است.

با توجه به نمودار در شکل ۵ نیز می توان گفت مقدار عددی IC_{50} در $-\log C = 0.75$ است می توان دریافت که در غلظتی بین ۰/۱-۰/۲، توانایی مهار ۵۰ درصد رادیکال های آزاد را دارد. در $-\log C = 0.1$ دارای

جدول ۴- میزان درصد مهار و جذب‌های خوانده شده برای نرگس مسکین

غلظت (µg/ml)	درصد مهار (%)	جذب (میانگین جذب‌های خوانده شده)
شاهد	۰	۲/۴۱۰۹
۰/۰۱	۱۰/۹۴۶	۲/۱۴۷۰
۰/۰۲۵	۷/۹۸۴	۲/۲۱۸۴
۰/۰۵	۶۱/۵۲۰	۰/۹۲۷۷
۰/۴	۷۹/۱۸۲	۰/۵۰۱۹
۰/۸	۹۳/۷۲۰	۰/۱۵۱۴



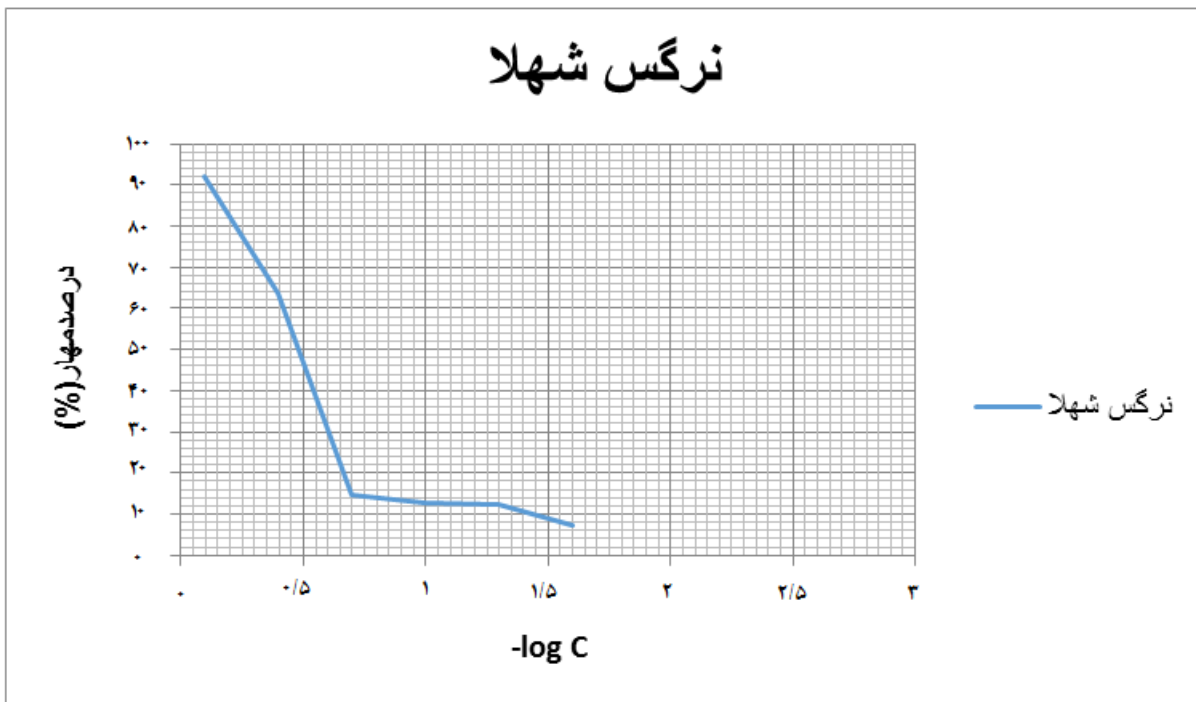
شکل ۴- درصد مهار برحسب منفی لگاریتم غلظت عصاره متانولی نرگس مسکین

آزاد را داراست. هم‌چنین این نمونه نرگس در ۰/۷۵ - $\log C =$ دارای بیش‌ترین مقدار عددی درصد مهار است (۹۳/۷۲) که نشان‌دهنده خاصیت اکسیدانی زیاد آن است.

با توجه به نمودار در شکل ۵ می‌توان گفت مقدار عددی IC_{50} ، در $\log C = ۱/۳۵$ است که نشان دهنده این است که نرگس مسکین، در غلظتی بین ۰/۰۱-۰/۰۲۵، توانایی مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های

جدول ۲ - میزان درصد مهار و جذب های خوانده شده برای نرگس شهلا

غلظت (µg/ml)	درصد مهار (%)	جذب (میانگین جذب های خوانده شده)
شاهد	۰	۲/۱۴۸۳
۰/۰۲۵	۱۲/۲۹۸	۱/۸۸۴۱
۰/۰۵	۱۲/۷۴۴	۱/۸۷۴۵
۰/۱	۱۴/۸۴۴	۱/۸۲۹۴
۰/۲	۶۳/۵۶۱	۰/۷۸۲۸
۰/۸	۹۱/۸۹۵	۰/۱۷۴۱

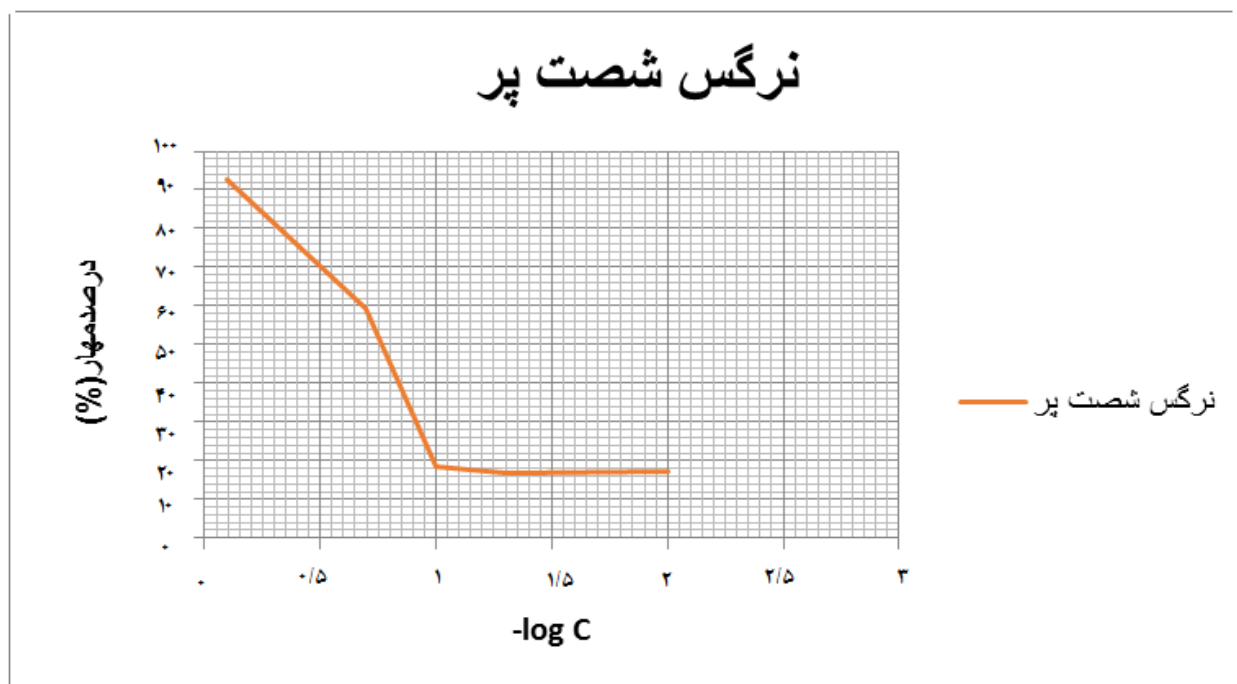


شکل ۲- درصد مهار برحسب منفی لگاریتم غلظت عصاره متانولی نرگس شهلا

با توجه به شکل ۲ می توان گفت مقدار عددی IC_{50} در $-\log C = 0/48$ است. به این معنی که در غلظتی بین $0/4 - 0/2$ میلی گرم بر میلی لیتر توانایی از بین بردن ۵۰ درصد رادیکال های آزاد را داراست. هم چنین می توان دریافت که درصد مهار رادیکال های آزاد نرگس شهلا در $-\log C = 0/1$ دارای بالاترین درصد مهار (۹۱/۸۹۵) است، و قدرت از بین بردن رادیکال های آزاد بیش تری را در این غلظت دارد.

جدول ۳- میزان درصد مهار و جذب‌های خوانده شده برای نرگس شصت‌پر

غلظت ($\mu\text{g/ml}$)	درصد مهار (%)	جذب (میانگین جذب‌های عنوانه شده)
شاهد	۰	۲/۳۹۰۸
۰/۰۱	۱۷/۲۱۱	۱/۶۷۳۶
۰/۰۵	۱۶/۹۸۴	۱/۹۸۵۶
۰/۱	۱۸/۳۰۳	۱/۹۵۳۲
۰/۲	۵۹/۳۷۷	۰/۹۷۱۲
۰/۸	۹۲/۵۲۹	۰/۱۷۸۶



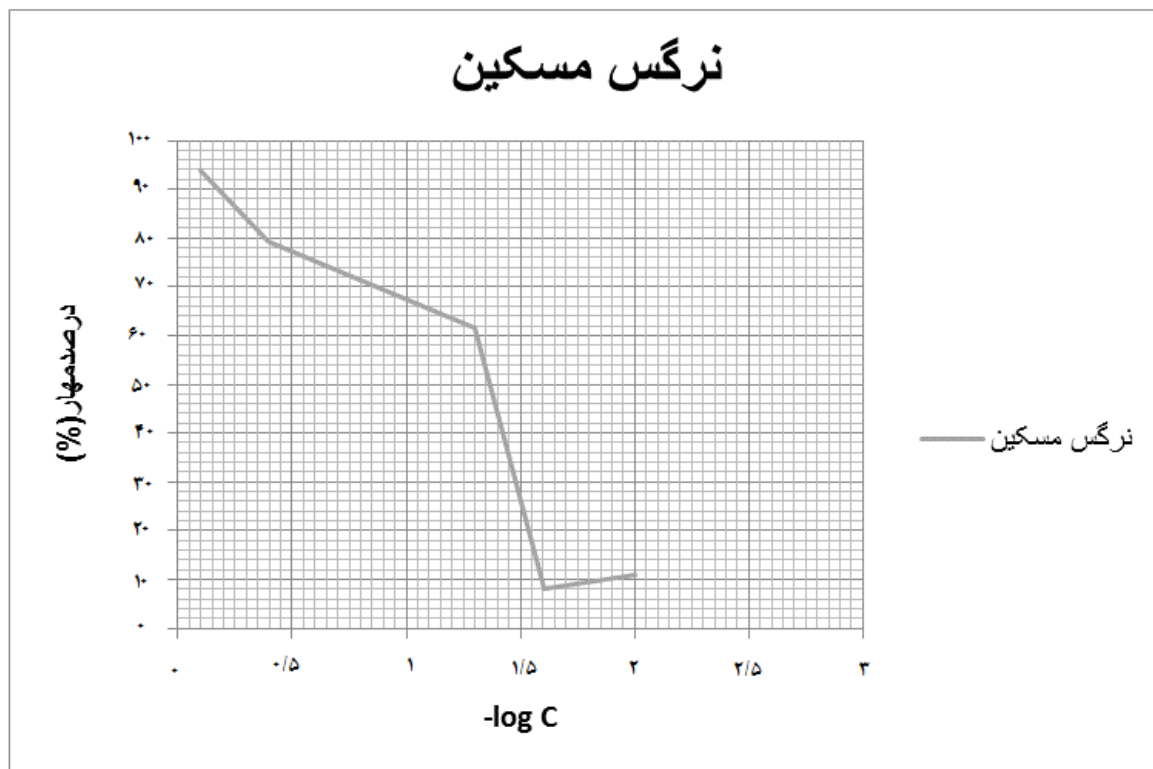
شکل ۳- درصد مهار برحسب منفی لگاریتم غلظت عصاره متانولی نرگس شصت‌پر

بالاترین مقدار عددی در صد مهار است (۹۲/۵۲۹)، که نشان‌دهنده بیش‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی نرگس شصت‌پر در این غلظت است.

با توجه به نمودار در شکل ۵ نیز می‌توان گفت مقدار عددی IC_{50} در $-\log C = 0.075$ است می‌توان دریافت که در غلظتی بین ۰/۱-۰/۲، توانایی مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را دارد. در $-\log C = 0.1$

جدول ۴- میزان درصد مهار و جذب های خوانده شده برای نرگس مسکین

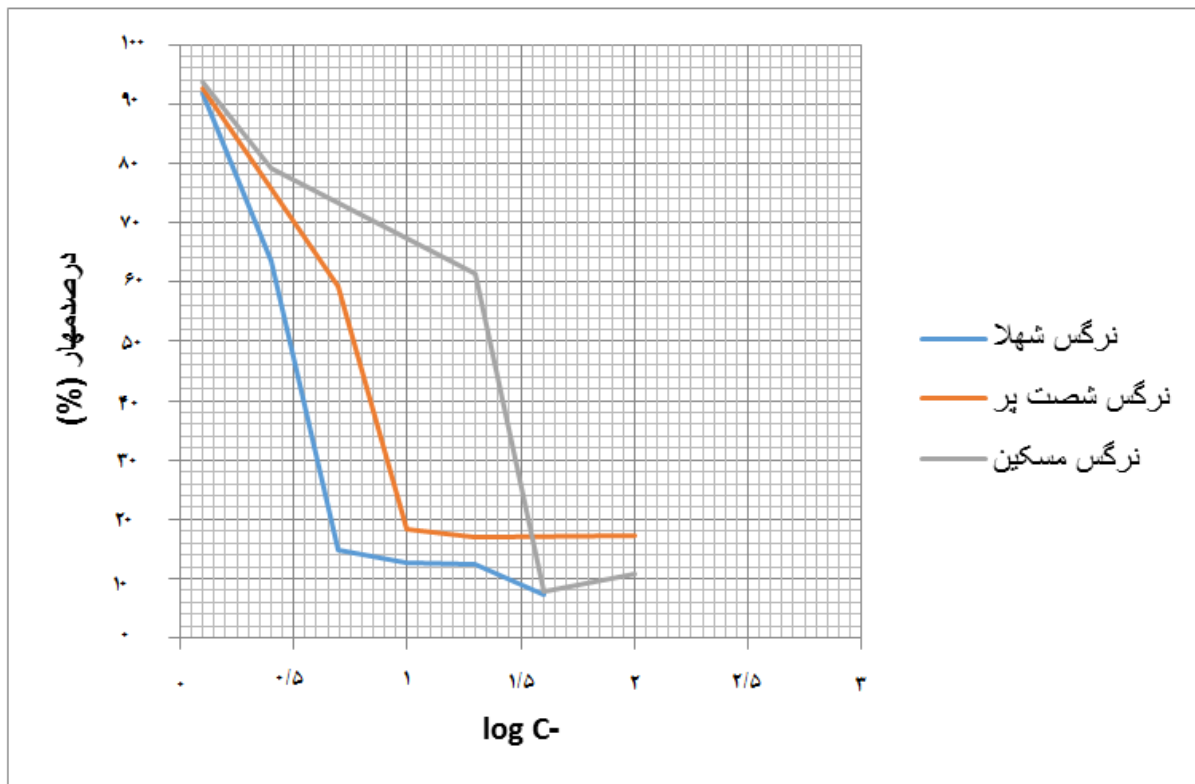
جذب (میانگین جذب های خوانده شده)	درصد مهار (%)	غلظت (µg/ml)
۲/۴۱۰۹	۰	شاهد
۲/۱۴۷۰	۱۰/۹۴۶	۰/۰۱
۲/۲۱۸۴	۷/۹۸۴	۰/۰۲۵
۰/۹۲۷۷	۶۱/۵۲۰	۰/۰۵
۰/۵۰۱۹	۷۹/۱۸۲	۰/۴
۰/۱۵۱۴	۹۳/۷۲۰	۰/۸



شکل ۴- درصد مهار برحسب منفی لگاریتم غلظت عصاره متانولی نرگس مسکین

آزاد را داراست. هم چنین این نمونه نرگس در ۰/۷۵ - $\log C =$ دارای بیشترین مقدار عددی درصد مهار است (۹۳/۷۲) که نشان دهنده خاصیت اکسیدانی زیاد آن است.

با توجه به نمودار در شکل ۵ می توان گفت مقدار عددی IC_{50} در $\log C = ۱/۳۵$ است که نشان دهنده این است که نرگس مسکین، در غلظتی بین ۰/۰۱-۰/۰۲۵، توانایی مهار ۵۰ درصد رادیکال های

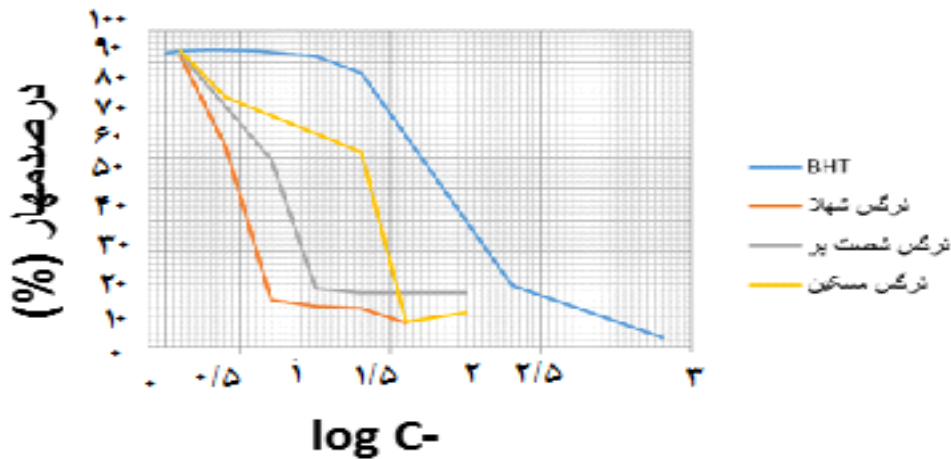


شکل ۵- درصد مهار برحسب منفی لگاریتم غلظت عصاره‌های متانولی

این میان، نرگس مسکین بالاتر از بقیه نمونه‌ها و نزدیک‌تر به حد استاندارد BHT است.

باتوجه به نمودار در شکل ۵، قابل ذکر است که هر سه نمونه گیاهی در یک حد دارای درصد مهار بوده و تفاوت جزئی آن‌ها سبب تقسیم‌بندی آنها در رده‌های کم‌ترین و بیش‌ترین میزان درصد مهار شده است که در این میان، بیش‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به نرگس مسکین با درصد مهار $93/72$ و کم‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به نرگس شهلا با درصد مهار $91/895$ است. هم‌چنین مقدار IC_{50} در نرگس شهلا کم‌تر و در نرگس مسکین بیش‌تر است.

نمودار در شکل ۶، نیز سه نمونه گیاهی مورد آزمایش را با نمودار استاندارد BHT، مقایسه نموده است. با توجه به این نمودار می‌توان دریافت که درصد مهار هر سه نمونه مورد تحقیق (نرگس شهلا، مسکین و شصت‌پر) بسیار کم‌تر از حد استاندارد هستند. و در



شکل ۶ - مقایسه نمودارهای نمونه‌های گیاهی با نمودار استاندارد BHT

همکاران، ۲۰۱۴) قسمت هوایی ۱۴ گونه مختلف گیاهی را به جهت فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها مورد ارزیابی قرار دادند، در این مطالعه مشخص شد که عصاره‌های متانولی تمامی گیاهان مورد آزمایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی را نشان دادند (۱۹).

میزان غلظت مهاری در نمونه‌های نرگس مورد بررسی در این پژوهش با نتایج آزمایش‌های محققان روی جنس نعنای بسیار متفاوت و بیش‌تر بود.

در مطالعه (Bergono و همکاران، ۱۹۹۶) در کشور ترکیه روی خواص آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی *Mentha longifolia* با روش DPPH میزان غلظت مهاری ۵۰٪ عصاره متانولی ۷۴/۴ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد (۲۰).

در مطالعه دیگر (Delnavaz و همکاران، ۲۰۱۷) در تحقیقی گزارش دادند اثرهای آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی *Narcissus spp* نشان داده که غلظت مهاری ۵۰٪ آن در تست مهار رادیکال‌های آزاد برابر ۲۸/ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای بوتیلیند هیدروکسی تولوئن برابر با ۱۰/۱ میکروگرم در میلی‌لیتر بود (۲۱).

بحث

با توجه به نتایج ذکر شده، درصد مهار رادیکال‌های آزاد در سه نژادگان گل نرگس به نام‌های شهلای، مسکین و شصت پر با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت که با نتایج تحقیق (Mathew و همکاران، ۲۰۱۶) در مورد نعنای ایرانی مطابقت داشت. این مورد می‌تواند به دلیل وجود مقادیر بیش‌تر ترکیب‌های ثانویه در غلظت‌های بالاتر عصاره این گل باشد (۱۷).

در مورد ترکیب‌های فنولی جمعیت‌های نرگس مورد مطالعه اگرچه تطابق گونه‌ای مانند این تحقیق وجود ندارد اما نتایج تا حد بسیار زیادی با نتایج پژوهش (Mathew و همکاران، ۲۰۱۶) که بر روی نرگس شهلای انجام شده است مطابقت نشان می‌دهد (۱۷).

ترکیب‌های فیتوشیمیایی عصاره اتانولی سرشاخه‌های چهارنژادگان گل نرگس مورد بررسی در این پژوهش با تحقیقات (Gotti و همکاران، ۲۰۱۶) مطابقت دارد. این تفاوت ممکن است به خاطر تفاوت در گونه‌ها یا نژادگان‌های مختلف باشد (۱۸).

نتایج آزمون آنتی‌اکسیدانی سه نژادگان گل نرگس به نام‌های نرگس شهلای، نرگس مسکین و نرگس شصت پر با نتایج پژوه (Chhabra و

نتایج اثرهای آنتی‌اکسیدانی و غلظت مهارى ۵۰٪ در تست مهار رادیکال‌های آزاد در نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیق با نتایج تحقیقات (۳) بر روی عصاره گیاه ولیک به‌طور کامل متفات بود. طبق تحقیق عصاره گیاه ولیک فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری از BHT دارد که در مورد نژادگان‌های نرگس مورد بررسی در این پژوهش این میزان کم‌تر از BHT است (۲۱).

نتیجه‌گیری

نتایج آزمون فیتوشیمیایی نیز نشان داد ترکیب‌های ثانویه مانند تانن و آلکالوئیدها در برخی نمونه‌های گل نرگس بهبهان موجود است. درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نیز نشان از خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوب این نژادگان‌ها دارد. نرگس مسکین بیش‌ترین و نرگس شهلا کم‌ترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارا هستند. نتایج پژوهش انجام شده نشان داد بازده عصاره در نمونه نرگس مسکین در ابتدای فصل برداشت، بیش‌تر از نمونه‌های دیگر است. در تحقیقات محلی انجام شده در طی این تحقیق، مشخص شد نرگس مسکین رایحه بیش‌تری نسبت به سایر نژادگان‌های نرگس بهبهان دارد که به‌احتمال به‌خاطر تفاوت در نوع و میزان ترکیب‌های ثانویه آن‌ها است.

از آنجایی که تحقیقات پراکنده‌ای در مورد وارپته‌های مختلف گل نرگس در کشور انجام شده است این پژوهش می‌تواند به‌عنوان مقدمه‌ای بر انجام یک کار مقایسه‌ای بوده و در شناسایی و گسترش گونه‌های دارای خواص دارویی بیش‌تر مورد توجه محققان علوم کشاورزی و علوم دارویی کشور قرار گیرد.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه کاشان برای تأمین منابع مالی این پروژه تشکر و قدردانی می‌شود.

- 1- Bagheri A, Naghdi Badi H, Movahedian F, Makizadeh Tafti M. and Hemmati Moghadam A.H. Investigating the approach of women in Isfahan in the use of traditional medicine. J Med Plants, 2015; 4(15): 81-93.
- 2- Arrigoni O, De Gara L. and Pacilla, C. Lycorine: A powerful inhibitor of L - galactono- γ -lactone dehydrogenase activity. J. Plant Physiol, 1997; 150: 362 - 364.
- 3- Martin F. The Amaryllidaceae alkaloids. In: The Alkaloids, Academic press. Newyork.1987; pp: 251 - 376.
- 4-Cheminat A, Zawatzky R, Becker H. and Brouillard R. Caffeoyl conjugates from Echinacea species: structures and biological activity. J Phytochem, 1988; 27 (9): 87 - 94.
- 5- Bailey L.H. Manual of Cultivated Plants. The Macmillan Company, New York, 1973; 420 p.
- 6- Brain KR, Turner TD. The practical evaluation of phytopharmaceuticals. Bristol:Wright-Scientehnica;1975; 10-30.
- 7-Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phyto Res, 2000; 14: 323-328.
- 8-Kamkar A, Asadi F, Jabali Javan A. and Jamshidi R. Evaluation of antioxidant capacity of essential oil and Iranian peppermint extract(Mentha). J Vete Lab Res, 2009;1(1): 69-77.
- 9-Ghahreman A. Flore de l' Iran en couleur naturelle. 1nd ed. Institut des forets et des paturages department botanique, Iran, 1978; 1 ,pp: 115 .
- 10-Golluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, Polissiou M, Adiguzel A, Ozken H. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L.ssp.longifolia. J Food Chem, 2007;103: 1449-1456.
- 11-Cook J.W, Loudon J.D. The Alkaloids. Academic press. NewYork, 1952; pp: 439- 457.
- 12- Chehrazi M, Naderi R, Nejat Boushehri A.A. and Hasani, M.A. Genetic variation of native and non-native daisies using RAPD markers. Iranian J Hort Scie and Tech, 2004; 4: 225-236.
- 13-Dobson H, Arroyo J, Bergstrom G, Groth I. Interspecific variation in floral fragrances within the genus Narcissus (Amaryllidaceae). Biochem. Syst. Ecol, 1997; 25:685-706.
- 14-Karimian, A.A. Medicinal, aromatic, pasture and rare herbs of Kalmand Bahadoran and Mount Bafgh Yazd J Environ Studies, 2015; 37: 77-88.
- 15- Labrana J, Machocho A.K, Kricsfalusy V, Brun R, Codina C, Viladomat F. and Bastida, J. Alkaloids from *Narcissus angustifolius* subsp. Trans carpathicus (Amaryllidaceae). J Phytochem. 2005; 60(8): 847-852.
- 16- Heinrich M. and Teoh, H.L. Galanthamine from snowdrop- the development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge. J Ethno, 2004; 92(2/3): 147-162.
- 17- Mathew, S. and Abraham, T.E. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of Cinnamomum verum leaf extract assayed by different methodologies, J Food Chem Toxicol, 2016; 44:198-206.
- 18- Gotti R, Fiori J, Bartolini M. and Cavrini, V. Analysis of Amaryllidaceae alkaloids from *Narcissus* by GC-MS and capillary electrophoresis. J Pharm and Biomed Analysis, 2016; 42(1): 17-24.

19-Chhabra SC, Uiso F C, Mshiu EN. Phytochemical screening of Tanzanian medicinal plants. *Ethno*, 2014;11: 157-179.

20- Bergonon S, Codina C, Bastida J and Mele E. Galanthamine production in shoot - clump cultures of *Narcissus confusus* in liquid - shake medium. *Plant Cell, Tissue. Org. Cult.* 1996; 45: 191 - 199.

21-Delnavaz Hashemiuiyan B. and Atae Azimi, A. Medicinal and oral effects of herbs. Islamic Azad University of Saveh Publications, 2017; pp:48-49.



