

## بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*) در طی مراحل مختلف رویش

مهديه هوشنی<sup>۱</sup>، منیژه میان‌آبادی<sup>۱\*</sup>، مهناز اقدسی<sup>۱</sup> و مجید عظیم محسنی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

<sup>۲</sup> گروه آمار، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

### چکیده

گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*) از خانواده سب‌زمینی (Solanaceae)، منبعی غنی از آنتی‌اکسیدان‌های گوناگون است که برای درمان بیماری‌های متعددی نظیر التهاب و روماتیسم توصیه می‌شود. در این پژوهش، بخش‌های مختلف گیاه مانند برگ، غلاف گل، میوه سبز و نارنجی عروسک پشت پرده در طی مراحل مختلف رویش از حوالی تنکابن به صورت تصادفی جمع‌آوری و ویژگی آنتی‌اکسیدانی آن مطالعه شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از آزمون به دام‌اندازی رادیکال ۱ و ۱ دی‌فیل-۲-پیکریل-هیدرازین، مهارکنندگی اکسیداسیون اسید چرب و قدرت احیاکنندگی آهن سنجش شد. همچنین، میزان فنل، فلاونوئید، کوئرستین، لوتولین، آنتوسیانین، کاروتنوئید کل آنها نیز تعیین شد. آزمایش‌های مختلف با ۴ تکرار ارزیابی شدند. تکرار نتایج نشان داد که میزان فنل، فلاونوئید و قابلیت احیاکنندگی آهن در برگ به طور درخور توجهی بیشتر از سایر بخش‌ها بود. بیشترین مقدار کاروتنوئید کل اکسیداسیون اسید چرب (۱/۰۵±۱/۴۵ mg/g FW)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH (۱/۸۱±۰/۲۱۴ g/g FW) و مهارکنندگی اکسیداسیون اسید چرب (۷۵/۵۳±۵/۳۵ درصد) در میوه نارنجی مشاهده شد. بیشترین مقدار لوتولین در برگ مرحله میوه سبز (۰/۱۹۸±۰/۰۰۱ mg/g DW) به دست آمد. کوئرستین فقط در برگ مرحله رویشی و گل‌دهی به ترتیب ۹±۰/۵۳ و ۹/۲±۰/۰۵ μg/g DW به دست آمد.

**واژه‌های کلیدی:** آنتی‌اکسیدان، عروسک پشت پرده، فلاونوئید، مراحل مختلف رویش

### مقدمه

تنش‌زایی است که موجودات زنده هر روز در معرض آنها هستند. گونه‌های فعال اکسیژن در ایجاد و بدخیمی بیماری‌هایی نظیر سرطان، دیابت، نقرس، پیری و

توانایی افزایش تولید مولکول‌های فعال شیمیایی از جمله گونه‌های فعال اکسیژن ویژگی کلی عوامل

توانایی هیدروژن‌دهی عصاره) (Miliauskas *et al.*, 2004)، مطالعه مهار اکسیداسیون لینولئیک اسید (BCB) و سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بر اساس توانایی احیاکنندگی آهن دو ظرفیتی (FRAP) (Benzie and Strain, 1999) نام برد. این سه روش سنجش، در ویژگی‌هایی مانند نوع سوبسترا، شرایط واکنش، روش‌های کمی کردن داده‌ها و ... از یکدیگر متفاوتند (Conforti *et al.*, 2007). بسته به روش سنجش به کار برده شده، عصاره‌های گیاهی در دوره‌های مختلف توانایی آنتی‌اکسیدانی متفاوتی را نشان می‌دهند (Gardner *et al.*, 2000). روش FRAP فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را بر اساس توانایی احیاکنندگی آهن می‌سنجد و مطابق تحقیقات Deepa و همکاران (۲۰۰۷) در حقیقت، تخمین ویژگی آنتی‌اکسیدانی ترکیبات محلول در آب را نشان می‌دهد. Gardner و همکاران (۲۰۰۰) با اندازه‌گیری FRAP و مقدار آسکوربیک اسید در عصاره پرتغال نشان دادند که محتوای آسکوربیک اسید با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره با روش FRAP ارتباط مستقیم دارد. اندازه‌گیری ویژگی آنتی‌اکسیدانی از طریق مهار لینولئیک اسید (روش BCB)، توانایی بازدارندگی پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع مزدوج نظیر لینولئیک اسید و آراشیدونیک اسید را نشان می‌دهد. لپیدهای غشایی غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع بوده که بیشترین حساسیت را به اکسیداسیون دارند (Ordon *et al.*, 2006) و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که سنجش BCB در گیاه ارتباط خطی با ترکیبات کاروتنوئیدی آن دارد. فعالیت پالایشی رادیکال‌های آزاد موجود در عصاره با استفاده از روش

بیماری‌های قلبی-عروقی مؤثرند (Kris-Etherton *et al.*, 2002). سیستم‌های آنتی‌اکسیدان بافت‌های گیاهی شامل آنزیم‌های پالاینده ROS مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیدازها و آنزیم‌های سم‌زدای فرآورده‌های حاصل از پراکسیداسیون لپید مانند گلو‌تاتیون-S-ترانسفراز، فسفولیپید-هیدروپراکسید گلو‌تاتیون پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و شبکه‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های با جرم مولکولی کم مانند آسکوربات، گلو‌تاتیون، ترکیبات فنلی، توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها و ... هستند. به علاوه، مجموعه کاملی از آنزیم‌ها شامل مونو دهیدرو آسکوربات ردوکتاز، دهیدرو آسکوربات ردوکتاز و گلو‌تاتیون ردوکتاز برای تولید مجدد شکل‌های فعال آنتی‌اکسیدان‌ها نیاز هستند (Blokhina *et al.*, 2003). گیاه عروسک پشت پرده با نام علمی *Physalis alkekengi* متعلق به خانواده سیب‌زمینی، دارای ۸۰ گونه در دنیا و ۲ گونه در ایران است. گیاهی علفی، یک ساله یا چند ساله به ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر، به صورت خودرو در استان‌های مازندران، گیلان و گلستان می‌روید. از این گیاه برای درمان بیماری‌هایی نظیر سنگ کلیه و مجاری ادراری، نقرس و هیپاتیت استفاده می‌شود (Amini, 2004). از آنجا که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گوناگون از طریق سازوکارهای مختلفی عمل می‌کنند، واضح است که تنها یک روش نمی‌تواند پیش‌بینی جامعی از تأثیر تمام شاخص‌های درگیر در ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی ارائه دهد (Pellegrini *et al.*, 2000). از روش‌های معروف اندازه‌گیری ویژگی آنتی‌اکسیدانی می‌توان به روش به دام‌اندازی رادیکال ۱-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، بر مبنای

**اندازه‌گیری محتوای فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین و کاروتنوئید کل عصاره‌های گیاه عروسک پشت پرده**  
 برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۲ درصد)، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیو کالچو (Folin-Ciocalteu's) (۵۰ درصد) اضافه شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب آنها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به شاهد ثبت شد. گالیک اسید به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. محتوای فنل کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Meda et al., 2005).

برای سنجش میزان فلاونوئید کل به ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره ۱/۵ میلی‌لیتر متانول (۸۰ درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید (۱۰ درصد)، ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط پس از گذشت ۴۰ دقیقه در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به بلانک اندازه‌گیری شد. بلانک حاوی تمام ترکیبات یاد شده در بالا بود، اما به جای عصاره، همان حجم متانول ۸۰ درصد به آن اضافه شده بود. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرستین استفاده شد. میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل کوئرستین بر گرم وزن خشک گیاه گزارش شد (Chang et al., 2002).

برای سنجش میزان آنتوسیانین کل مقدار ۰/۰۲ گرم از بافت خشک گیاهی با ۴ میلی‌لیتر محلول کلریدریک اسید یک درصد متانول در یک هاون چینی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس، محلول به مدت ۱۰ دقیقه و در ۱۳۰۰۰ دور

DPPH سنجش می‌شود که Velioğlu و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که با ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاه ارتباط خطی دارد. از آنجا که اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه عروسک پشت پرده در طی مراحل مختلف رشد تاکنون گزارش نشده است، بدین منظور سه روش استاندارد برای این پژوهش انتخاب شد. بنابراین، هدف از این پژوهش تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان برخی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی عصاره خام گیاه عروسک پشت پرده نظیر فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین، کاروتنوئید کل و مقدار کوئرستین، لوتولین در مراحل مختلف رشد است تا بتوان مرحله‌ای که بیشترین مقدار ترکیبات و ویژگی آنتی‌اکسیدانی را دارد انتخاب و برداشت کرد.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری گیاه و عصاره‌گیری

بخش‌های مختلف گیاه عروسک پشت پرده از جمله برگ، غلاف گل، میوه سبز و نارنجی در طی دوران رشد از حوالی تنکابن جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در سایه و در مجاورت هوا خشک و سپس آسیاب شد. مقدار یک گرم از هر نمونه در ۵۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. پس از طی شدن زمان مورد نظر، عصاره‌ها صاف شد. سپس حلال در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتیگراد توسط دستگاه تبخیر در خلاء تبخیر شد. باقیمانده برای انجام آزمایش‌ها در یخچال با دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد (Pourmorad et al., 2006).

### تحلیل HPLC

از دستگاه HPLC مدل Hitachi Merk با آشکارساز UV/VIS و ستون C<sub>18</sub> فاز معکوس Lichrospher 100، ابعاد ۴ mm × ۲۵۰، اندازه ذرات ۵ میکرومتر، برای سنجش لوتئولین و کوئرستین استفاده شد. فاز متحرک شامل متانول استونیتریل، استیک اسید، فسفریک اسید، آب (۱:۱:۱:۳۸) و سرعت جریان برابر ۰/۶ میلی‌لیتر بر دقیقه و مدت زمان کروماتوگرافی ۲۵ دقیقه بود. طیف‌ها در طول موج ۳۵۲ نانومتر ثبت شدند. مساحت سطح زیر هر یک از پیک‌ها محاسبه و منحنی استاندارد لوتئولین و کوئرستین نیز رسم شد (شکل ۱).

### فعالیت به دام‌اندازی رادیکال DPPH

غلظت‌های مختلف عصاره با ۲ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴ درصد DPPH مخلوط شد. محلول شاهد شامل ۲ میلی‌لیتر DPPH و ۲ میلی‌لیتر متانول است. محلول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شدند. جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد متانول خوانده شد. درصد مهار رادیکال آزاد (%I) هر عصاره به کمک فرمول محاسبه شد:

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

بر اساس اطلاعات حاصل، IC<sub>50</sub> عصاره (غلظتی از سوبسترا بر حسب میلی‌گرم است بر میلی‌لیتر که برای احیای رادیکال DPPH به میزان ۵۰ درصد اولیه نیاز است)، از منحنی درصد مهار در مقابل غلظت‌های مختلف عصاره به دست آمد. با محاسبه IC<sub>50</sub> برای آسکوربیک اسید، به عنوان استاندارد و با استفاده از فرمول زیر، داده‌ها بر اساس فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل آسکوربیک اسید (AEAC) بیان شدند (Miliauskas *et al.*, 2004).

$$AEAC \text{ (mg AA/g dw)} = IC_{50 \text{ ascorbate}} / IC_{50 \text{ sample}} \times 1000$$

سانتریفیوژ شد. فاز رویی برداشته و جذب محلول‌ها در طول موج ۵۳۰ و ۶۵۷ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از محلول کلریدریک اسید یک درصد متانول به عنوان شاهد استفاده شد. میزان آنتوسیانین برای هر عصاره با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Mita *et al.*, 1997).

$$A = A_{657} - (0/25 \times A_{530})$$

A: جذب محلول (اعداد اندیس نشانگر طول موج‌هایی است که جذب در آنها اندازه‌گیری شده است).

برای سنجش میزان کاروتنوئید کل، مقدار ۰/۰۵ گرم از بافت تازه گیاهی با ۵ میلی‌لیتر استون در هاون چینی سرد و در حمام یخ هموژن شد. سپس به هموژنای حاصل یک گرم سولفات سدیم بدون آب افزوده و با استفاده از کاغذ صافی، صاف شد. محلول صاف شده با استون به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و به مدت ۱۰ دقیقه و در ۲۶۰۰ دور سانتریفیوژ شد. فاز رویی برداشته و جذب محلول در طول موج‌های ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از استون به عنوان شاهد استفاده شد. میزان کاروتنوئید برای هر عصاره با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد (Lichtenthaler, 1987).

$$C_a = 11/24 A_{662} - 2/04 A_{645}$$

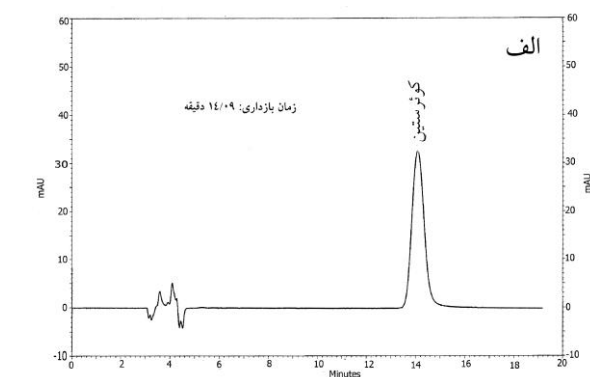
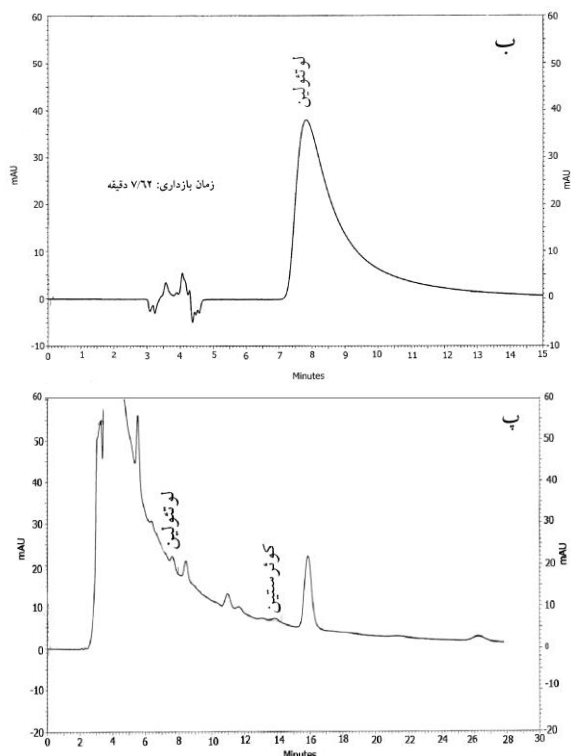
$$C_b = 20/13 A_{645} - 4/19 A_{662}$$

$$C_t = 1000 A_{670} - 1/9 A C_a - 63/14 C_b / 214$$

C<sub>a</sub>: میزان کلروفیل a، C<sub>b</sub>: میزان کلروفیل b، C<sub>t</sub>: میزان کاروتنوئید کل است.

### اندازه‌گیری محتوای کوئرستین و لوتئولین عصاره‌های گیاهی

محتوای کوئرستین و لوتئولین عصاره‌ها با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تعیین شد (Chen and Xiao, 2005).



شکل ۱- کروماتوگرام‌های حاصل از تزریق به HPLC. (الف) استاندارد کوئرستین، (ب) استاندارد لوتولین، (پ) نمونه گیاهی.

درجه سانتیگراد انکوبه شد. جذب محلول‌ها در ۵۹۳ نانومتر نسبت به شاهد (شامل ۵۰ میکرولیتر آب مقطر به همراه ۱/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP)، خوانده شد. از آمونیوم فرو سولفات به عنوان شاهد برای مقایسه استفاده شد (Then *et al.*, 2003).

#### سنجش ویژگی مهار پراکسیداسیون لیپید (BCB)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های عروسک پشت پرده برای جلوگیری از اکسیداسیون لینولئیک اسید با روش بتاکاروتن-لینولئیک اسید بررسی شد (Kumazawa *et al.*, 2002). به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی رقیق شده با متانول، ۳ میلی‌لیتر معرف بتاکاروتن-لینولئیک اسید اضافه و جذب نخستین این محلول در زمان صفر در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محلول به مدت ۶۰ دقیقه در بن ماری ۵۰ درجه سانتیگراد انکوبه شد. پس از گذشت زمان مورد نظر، جذب نمونه‌ها در همان طول موج پیشین

#### بررسی قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP)

در این روش، ویژگی الکترون‌دهندگی آنتی‌اکسیدان‌ها در اسیدیته پایین باعث احیا کاتیون فریک به فرو ( $Fe^{+2}$  به  $Fe^{+3}$ ) می‌شود. بنابراین، آنتی‌اکسیدان‌ها قادرند کمپلکس بی‌رنگ فریک-تری پیریدیل-تریازین را به کمپلکس آبی رنگ فرو-تری پیریدیل-تریازین تبدیل نمایند که در طول موج ۵۹۳ نانومتر جذب دارد. به منظور سنجش این ویژگی، مقدار ۰/۱ گرم از بافت فریز شده گیاهی با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون چینی سرد در حمام یخ همگن شد. همگنای حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد. سپس به ۵۰ میکرولیتر از عصاره به دست آمده ۱/۵ میلی‌لیتر معرف FRAP (بافر استات سدیم ۳۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۳/۶، فریک-تری پیریدیل-اس-تریازین و فریک کلرید) اضافه شد. مخلوط حاصل ورتکس و به مدت ۴ دقیقه در دمای ۳۰

ثبت شد. نمونه بلانک به جای عصاره گیاهی حاوی متانول بود. سرعت تجزیه بتاکاروتن (DR) و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها (AOX%) با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد:

$$DR = \text{Ln} (A_{\text{initial}} / A_t) / 60$$

$$\% \text{ AOX} = [ (DR_{\text{Control}} - DR_{\text{Sample}}) / DR_{\text{Control}} ] \times 100$$

در روابط بالا  $A_{\text{initial}}$  و  $A_t$  به ترتیب، جذب نمونه‌ها در زمان شروع و پس از گذشت زمان ۶۰ دقیقه است.

### تحلیل آماری

همه اندازه‌گیری‌ها در ۳ تکرار و همه اطلاعات به شکل میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد گزارش شد. از آنالیز واریانس یک سویه (ANOVA) برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد و در صورت معنی‌داری آزمون دانکن برای مقایسات زوجی استفاده شد. همچنین، از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۴/۰ برای محاسبه ضریب همبستگی بین مشخصه‌ها استفاده شد. نتایج با احتمال  $P < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد. مقادیر  $IC_{50}$  از برازش رگرسیون خطی بین درصد مهار و غلظت‌های مربوطه به دست آمد.

### نتایج

تحلیل مقایسه‌ای مراحل مختلف نمونه‌برداری بر محتوای فنل کل گیاه عروسک پشت پرده نشان داد که تأثیر دوره‌های مختلف رشد بر میزان فنل کل در بخش‌های مختلف گیاه معنی‌دار بود (شکل ۲-الف و جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌های فنل کل عصاره گیاه در مراحل مختلف رشد نشان داد که میزان فنل کل در برگ بیشتر از میوه و غلاف گل بود. به طوری که بیشترین میزان فنل کل در برگ مرحله بلوغ میوه

۱۳۱/۷۸  $\pm$  ۲/۴۸ کی‌والان میلی گرم گالینگ اسید در گرم پودر گیاه به دست آمد که نسبت به میوه نارنجی ۲۵۷ درصد و نسبت به غلاف نارنجی ۷۱ درصد افزایش نشان داد. نتایج حاصل از سنجش محتوای فلاونوئید عصاره‌های گیاه عروسک پشت پرده در مراحل مختلف نمونه‌برداری بر اساس روش کلریمتری آلومینیوم کلرید (شکل ۲-ب و جدول ۱) نشان داد که در برگ مرحله رویشی گیاه میزان فلاونوئید تقریباً اندک بود و همزمان با رشد گیاه، در برگ مرحله گل‌دهی میزان ترکیبات فلاونوئیدی تا حدود بیش از دو برابر برگ مرحله رویشی و به بیشترین مقدار خود افزایش یافت. مقدار فلاونوئید کل در اندام‌های زایشی، میوه و غلاف گل، کمترین مقدار را به خود اختصاص داد. همچنین، نتایج نشان داد که میزان لوتئولین به عنوان یک ترکیب فلاونوئیدی در برگ مرحله رویشی اندک بوده، همگام با رشد گیاه بیشترین مقدار آن در برگ مرحله میوه سبز مشاهده شد (شکل ۲-پ). در حالی که کوئرستین به عنوان نوع دیگری از ترکیبات فلاونوئیدی فقط در برگ مراحل رویشی و گل‌دهی مشاهده شد و مقدار آن به ترتیب ۰/۰۵  $\pm$  ۹/۲ و ۰/۵۳  $\pm$  ۹ میکروگرم بر گرم بافت خشک گیاه به دست آمد. نتایج حاصل از سنجش محتوای آنتوسیانین کل گیاه عروسک پشت پرده در مراحل مختلف نمونه‌برداری نشان می‌دهد که تأثیر زمان‌های مختلف نمونه‌برداری بر میزان این ترکیبات معنی‌دار است (جدول ۱ و شکل ۲-ت). بیشترین مقدار آنتوسیانین به برگ مرحله رویشی (۰/۳۹  $\pm$  mg/gDW) مربوط است. این میزان در برگ در طی مراحل زایشی کاهش اندکی یافته، در میوه سبز و غلاف سبز به کمینه مقدار خود، به ترتیب ۰/۲۱  $\pm$  ۱/۳ و ۰/۴۷  $\pm$  ۶/۳۶

میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد گزارش شد. از آنالیز واریانس یک سویه (ANOVA) برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد و در صورت معنی‌داری آزمون دانکن برای مقایسات زوجی استفاده شد. همچنین، از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۴/۰ برای محاسبه ضریب همبستگی بین مشخصه‌ها استفاده شد. نتایج با احتمال  $P < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد. مقادیر  $IC_{50}$  از برازش رگرسیون خطی بین درصد مهار و غلظت‌های مربوطه به دست آمد.

### تحلیل آماری

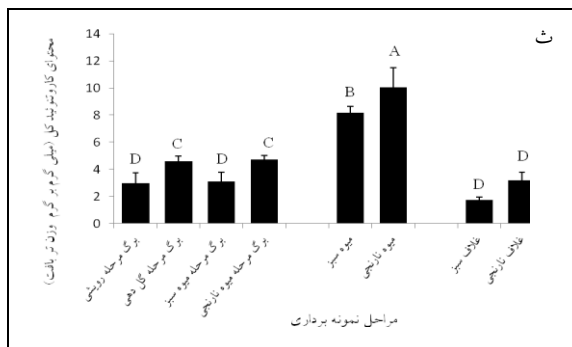
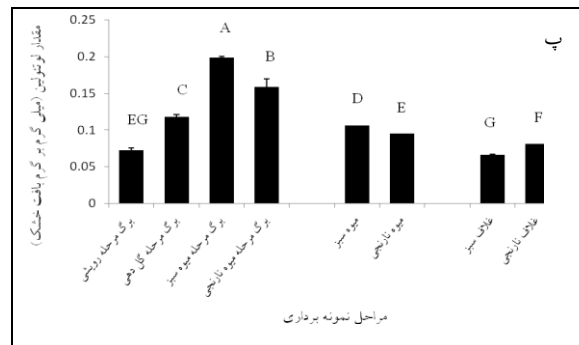
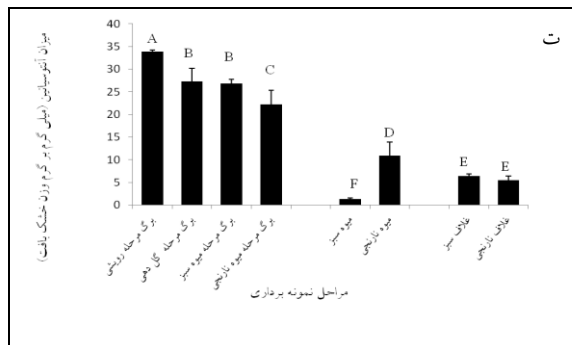
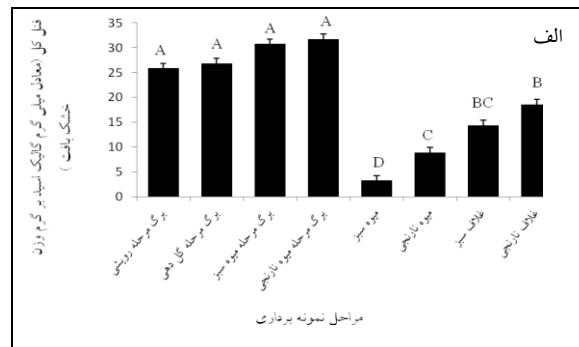
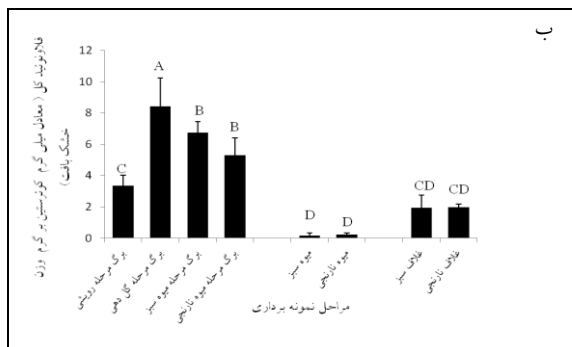
همه اندازه‌گیری‌ها در ۳ تکرار و همه اطلاعات به شکل میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد گزارش شد. از آنالیز واریانس یک سویه (ANOVA) برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد و در صورت معنی‌داری آزمون دانکن برای مقایسات زوجی استفاده شد. همچنین، از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۴/۰ برای محاسبه ضریب همبستگی بین مشخصه‌ها استفاده شد. نتایج با احتمال  $P < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد. مقادیر  $IC_{50}$  از برازش رگرسیون خطی بین درصد مهار و غلظت‌های مربوطه به دست آمد.

### نتایج

تحلیل مقایسه‌ای مراحل مختلف نمونه‌برداری بر محتوای فنل کل گیاه عروسک پشت پرده نشان داد که تأثیر دوره‌های مختلف رشد بر میزان فنل کل در بخش‌های مختلف گیاه معنی‌دار بود (شکل ۲-الف و جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌های فنل کل عصاره گیاه در مراحل مختلف رشد نشان داد که میزان فنل کل در برگ بیشتر از میوه و غلاف گل بود. به طوری که بیشترین میزان فنل کل در برگ مرحله بلوغ میوه

۲-ث) نشان داد که میزان کاروتنوئید در برگ مراحل رویشی و زایشی اندک بوده، در حالی که در میوه‌های سبز و نارنجی به صورت معنی‌داری بیشتر بود و بیشترین میزان کاروتنوئید در میوه نارنجی مشاهده شد.

میلی گرم بر گرم وزن خشک بافت، رسید. نتایج آنالیز واریانس (جدول ۱)، نشان می‌دهد که بخش‌های مختلف نمونه‌برداری شده طی مراحل فنولوژیک تأثیر معنی‌داری بر میزان کاروتنوئید کل داشت. مقایسه میانگین‌ها (شکل



شکل ۲- مقایسه تأثیر مراحل مختلف نمونه‌برداری بر میزان برخی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاه عروسک پشت پرده. الف) محتوای فنل کل؛ ب) محتوای فلاونوئید کل؛ پ) محتوای لوتئولین؛ ت) محتوای آنتوسیانین کل؛ ث) محتوای کاروتنوئید کل. مقادیر میانگین داده‌ها ± انحراف استاندارد است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

جدول ۱- تجزیه واریانس محتوای برخی آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی گیاه عروسک پشت پرده در مراحل مختلف نمونه‌برداری. \*\* در سطح کمتر از ۱ درصد معنی‌دار است. اعداد جدول مربوط به هر آنتی‌اکسیدان بیانگر میانگین مربعات است. DW: وزن خشک گیاه؛ FW: وزن تر گیاه

منبع تغییر	درجه آزادی	محتوای فنل کل mg/gDW	محتوای فلاونوئید کل mg/gDW	محتوای لوتئولین mg/gDW	محتوای کوئرستین μg/gDW	محتوای آنتوسیانین کل mg/gDW	محتوای کاروتنوئید کل mg/gFW
مراحل نمونه‌برداری	۷	۱۳۳/۱۰**	۲۹/۵۱**	۰/۰۰۶۲**	۰/۰۰۰۳۷**	۴۴۱/۹۴**	۲۴/۵۲**
خطا	۱۶	۳/۱۳	۰/۷۵۷	۰/۰۰۰۰۲۱	۰/۰۰۰۰۰۱	۳/۵۲	۰/۶۶۲

### فعالیت به دام‌اندازی رادیکال DPPH

با توجه به روش سنجش، عصاره‌های گیاهی در دوره‌های مختلف رشد توانایی آنتی‌اکسیدانی متفاوتی را نشان دادند. مطابق جدول تجزیه آنالیز واریانس (جدول ۲)، تأثیر مراحل مختلف نمونه‌برداری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH معنی‌دار بود. در این روش، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ مراحل رویشی، زایشی و غلاف گل کم بود، در حالی که در میوه سبز افزایش نشان داد. با این حال، در میوه بالغ (میوه نارنجی) به طور معنی‌داری به بیشینه مقدار خود رسید (شکل ۳-الف).

### سنجش قدرت احیا کنندگی آهن

نتایج حاصل از سنجش FRAP نشان داد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ‌ها در طی رشد گیاه از مرحله رویشی به مرحله زایشی افزایش معنی‌داری داشت. همچنین، در میوه و جام گل نیز با بلوغ این بافت‌ها افزایش معنی‌داری مشاهده شد. با این روش، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ مرحله میوه‌دهی  $0.225 \pm 0.034$  میلی‌مول یون فرو بر گرم بافت خشک به دست آمد (شکل ۳-ب و جدول ۲).

### فعالیت مهار پراکسیداسیون لیپید (BCB)

تحلیل مقایسه‌ای نشان داد که تأثیر مراحل مختلف

نمونه‌برداری بر میزان مهار اکسیداسیون لیپید معنی‌دار است (جدول ۲). نتایج نشان داد که بیشترین میزان درصد مهار پراکسیداسیون لیپید در میوه نارنجی است که از نظر عددی از سایر مراحل فنولوژیک بیشتر است. با وجود این، این میزان تفاوت معنی‌داری با برگ مراحل رویشی، گل‌دهی و میوه سبز نداشت (شکل ۳-پ).

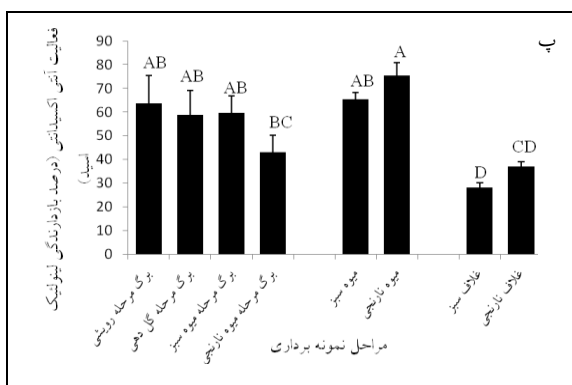
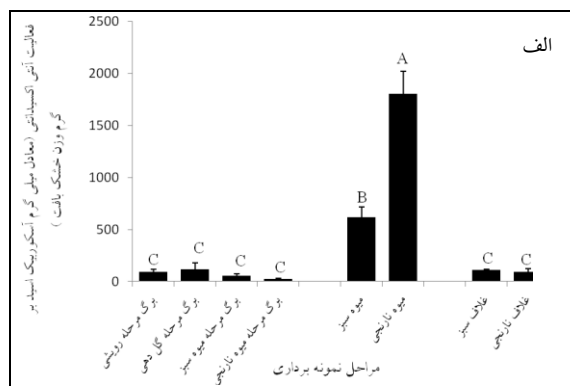
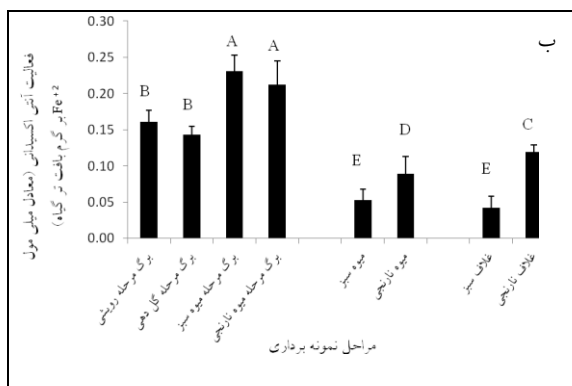
### بررسی همبستگی بین شاخص‌های اندازه‌گیری شده در مراحل مختلف نمونه‌برداری گیاه عروسک پشت پرده

بررسی همبستگی بین مقادیر سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با دیگر عوامل اندازه‌گیری شده نشان می‌دهد که سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی روش DPPH، با محتوای کاروتنوئید همبستگی مثبت معنی‌داری در سطح ۱ درصد و با محتوای فنل، فلاونوئید کل، لوتولین و آنتوسیانین کل همبستگی منفی معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) دارد. همچنین، سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP با میزان فنل، فلاونوئید کل، لوتولین و آنتوسیانین همبستگی مثبت معنی‌داری دارد. بررسی همبستگی سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش BCB نیز حاکی از همبستگی مثبت معنی‌دار با محتوای کاروتنوئید است (جدول ۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه عروسک پشت پرده در مراحل مختلف نمونه‌برداری. \*\* در سطح کمتر از ۱ درصد معنی‌دار است.

منبع تغییر	درجه آزادی	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (روش DPPH)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (روش FRAP)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (روش BCB)
مراحل نمونه‌برداری	۷	۱۱۲۷۲۸۵/۹۸ **	۰/۰۱۴ **	۷۲۵/۲۵ **
خطا	۱۶	۹۶۹۹/۹۶	۰/۰۰۰۱	۱۰۷/۲۰





شکل ۳- مقایسه تأثیر مراحل مختلف نمونه‌برداری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه عروسک پشت پرده. الف) روش DPPH؛ ب) روش FRAP؛ پ) روش BCB. مقادیر میانگین داده‌ها ± انحراف استاندارد است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

### بحث

سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در تمام مراحل رشد گیاهان فعال است. عمل این آنتی‌اکسیدان‌ها متفاوت است و به طور گسترده با چندین عامل مانند مراحل بلوغ، شرایط آب و هوایی، بخش‌های مورد استفاده از گیاه، شرایط برداشت و ذخیره‌سازی تغییر می‌کند (Mejia *et al.*, 1988). در طی بلوغ گیاهان، تغییرات فیتوشیمیایی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها مؤثر است و کیفیت غذایی انواع مختلف میوه و سبزیجات را در زمان‌های خاص تحت تأثیر قرار می‌دهد (Conforti *et al.*, 2007). در این مطالعه، گیاه عروسک پشت پرده در مراحل مختلف رشد از رویشگاه طبیعی خود جمع‌آوری و مطالعه شد. وجود اختلاف معنی‌دار در ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، آنتوسیانین، محتوای کاروتنوئید کل و

سایر عوامل (جدول‌های ۱ و ۲)، در بخش‌های مختلف گیاه در طی مراحل رویشی نشان داد که توانایی آنتی‌اکسیدان‌ها به طور شایان توجهی در طی مراحل رویشی متغیر است. بدین ترتیب با توجه به درصد ترکیبات گوناگون و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی آنها در برابر اکسیدان‌های مختلف، برداشت گیاه به منظور مقابله با اکسیدانی ویژه می‌تواند در مرحله نمود مناسب انجام شود.

از آنجا که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی متفاوت در شرایط در شیشه (*in vitro*) از طریق سازوکارهای مختلفی عمل می‌کنند، واضح است که تنها یک روش نمی‌تواند پیش‌بینی جامعی از تأثیر همه شاخص‌های درگیر در ویژگی آنتی‌اکسیدانی ارائه دهد (Aruoma, 2003). بنابراین، در این تحقیق از سه روش سنجش DPPH، FRAP و BCB برای ارزیابی فعالیت

DPPH، وجود همبستگی مثبت معنی‌داری با محتوای کاروتنوئید کل و همبستگی منفی معنی‌داری را با محتوای ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی را نشان می‌دهد (جدول ۳). بدین معنا که نقش ترکیبات پلی فنلی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH اساسی نیست، در حالی که طبق گزارش‌های موجود (Velioğlu *et al.*, 1998; Sun *et al.*, 2002) با روش FRAP می‌تواند به این ترکیبات مرتبط شود.

آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها استفاده شد. این سه روش سنجش در ویژگی‌هایی مانند سوبسترا، شرایط واکنش، روش‌های کمی کردن داده‌ها و ... با یکدیگر متفاوتند (Conforti *et al.*, 2007). بسته به روش‌های استفاده شده، عصاره‌های گیاهی در دوره‌های مختلف توانایی آنتی‌اکسیدانی متفاوتی را نمایش دادند (شکل ۳-الف تا پ). نتایج فعالیت جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد در عصاره گیاه عروسک پشت پرده با استفاده از روش

جدول ۳- همبستگی بین شاخص‌های مختلف اندازه‌گیری شده در مراحل نمونه‌برداری گیاه عروسک پشت پرده. \* و \*\* به ترتیب در سطوح ۵ و ۱ درصد معنی‌دار است و <sup>ns</sup> معنی‌دار نیست.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی (BCB)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (FRAP)	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH)	محتوای کاروتنوئید	محتوای فلاونوئید	محتوای فنل	محتوای آنتوسیانین	محتوای لوتولین
۱	۰/۱۳۶ <sup>ns</sup>	۰/۵۳۶ <sup>**</sup>	۰/۶۵۰ <sup>**</sup>	-۰/۰۳۷ <sup>ns</sup>	-۰/۰۸۱ <sup>ns</sup>	۰/۲۴۵ <sup>ns</sup>	۰/۲۴۵ <sup>ns</sup>
	۱	۰/۳۷۶ <sup>ns</sup>	-۰/۲۹۱ <sup>ns</sup>	۰/۶۹۵ <sup>**</sup>	۰/۸۴۵ <sup>**</sup>	۰/۷۲۸ <sup>**</sup>	۰/۷۴۹ <sup>**</sup>
		۱	۰/۹۱۲ <sup>**</sup>	-۰/۵۰۵ <sup>*</sup>	-۰/۶۲۴ <sup>**</sup>	-۰/۳۴۵ <sup>ns</sup>	-۰/۱۹۸ <sup>ns</sup>
			۱	۰/۳۹۲ <sup>ns</sup>	-۰/۵۶۸ <sup>**</sup>	۰/۲۰۵ <sup>ns</sup>	-۰/۱۳۶ <sup>ns</sup>
				۱	۰/۷۸۶ <sup>**</sup>	۰/۶۷۹ <sup>**</sup>	۰/۶۲۲ <sup>**</sup>
					۱	۰/۷۸۹ <sup>**</sup>	۰/۵۴۴ <sup>**</sup>
						۱	۰/۳۵۱ <sup>ns</sup>
							۱

توانایی بازدارندگی پراکسیداسیون لیپید هستند (شکل ۳-پ)، که قدرت بازدارندگی آنها ارتباط مثبت معنی‌داری با محتوای کاروتنوئید کل دارد (جدول ۳). تحقیقات زیادی

اندازه‌گیری ویژگی آنتی‌اکسیدانی از طریق مهار لینولئیک اسید (روش BCB) نشان داد که عصاره‌های گیاهی عروسک پشت پرده در مراحل مختلف رشد دارای

تأثیر دوره رشد و بلوغ بر محتوای فنل و فلاونوئیدها در بین میوه‌ها و سبزیجات متفاوت باشد، چنانچه سطح ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در فلفل (Marin *et al.*, 2004)، انگور (Castrejón *et al.*, 2008) و کلم (Kim *et al.*, 2004) در پاسخ به بلوغ کاهش می‌یابد و در توت‌فرنگی، شاه‌توت و تمشک همراه با بلوغ سطح این ترکیبات افزایش می‌یابد (Kim *et al.*, 2004). نتایج مطالعه اخیر مشخص می‌کند که تجمع ترکیبات فلاونوئیدی در برگ، در مرحله رشد رویشی گیاه آغاز شده و پس از گل‌دهی مقدار آن کاهش می‌یابد (شکل ۲-ب). بدین ترتیب، بیشترین میزان این ترکیبات در گیاه عروسک پشت پرده به برگ دوران گل‌دهی و زایشی مربوط است. نقش دفاعی برخی از فلاونوئیدها در گیاهان اثبات شده است (Witzell *et al.*, 2003). برای مثال، کوئرستین در گیاه سیاه‌گیله (*Vaccinium myrtills*) چنین نقشی دارد (Vedenskaya and Varsa, 2004). در گیاه عطرسنگ (*Varthemia Persica*) برخی از ترکیبات فلاونوئیدی نظیر میرستین و آپی ژنین فقط در مرحله گل‌دهی وجود دارند (سیاهپوش و همکاران، ۱۳۸۷). اختصاصی بودن بعضی از فلاونوئیدها به بافت‌های ویژه در گیاه عناب نیز گزارش شده است (Pelotto *et al.*, 1993).

کاروتنوئیدها رنگدانه‌هایی هستند که نقش مهمی در حفاظت گیاهان در برابر فرآیندهای اکسیداتیو دارند که می‌توانند به عنوان عاملی آنتی‌اکسیدان با اکسیژن منفرد و رادیکال پراکسید واکنش دهند (Stahl and Sies, 2003). در این پژوهش، تغییرات محتوای کاروتنوئید کل در طی مراحل رشد گیاه معنی‌دار بود، به طوری که میوه بالغ دارای بیشترین میزان کاروتنوئید بود (جدول ۱).

بر نقش کاروتنوئیدها به عنوان آنتی‌اکسیدان لیپیدی متمرکز شده است که می‌توانند در برابر فرآیندهای مخرب ایجاد شده توسط اکسیژن منفرد و رادیکال آزاد دخالت کنند (Menichini *et al.*, 2008). بنابراین، احتمالاً سطح بالای کاروتنوئیدها در مرحله رسیدگی میوه می‌تواند مسؤول افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی (روش BCB) در این مرحله باشد (Bergquist *et al.*, 2007).

روش FRAP که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را بر اساس توانایی احیاکنندگی آهن می‌سنجد در حقیقت تخمین خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات قابل حل در آب را نشان می‌دهد (Deepa *et al.*, 2007). گزارش‌ها نشان داد که در گیاهانی مانند شاه‌توت، تمشک و توت‌فرنگی بین محتوای فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه‌های سنجش شده به روش FRAP، ارتباطی خطی وجود دارد (Kim *et al.*, 2004). بنابراین، با توجه به ارتباط مثبت بین سنجش FRAP و محتوای فنل، آنتوسیانین، فلاونوئیدهای مانند لوتولین و کوئرستین در این گیاه (جدول ۳)، به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان محلول در آب، احتمالاً سطح بالای این ترکیبات در برگ مرحله رسیدگی میوه می‌تواند علت اصلی برای قدرت احیایی بالا در این مرحله باشد. اکثر پلی‌فنل‌ها در بین ترکیبات فیتوشیمیایی آنتی‌اکسیدان به علت ویژگی احیایی و عمل به دام انداختن رادیکال آزاد بسیار مهم هستند. آنها همچنین، از طریق تعامل با سیستم‌های آنزیمی مختلف توانایی کلات‌کنندگی فلزات را دارند. علاوه بر آن، این ترکیبات که در طی رشد و نمو متغیر است به علت شرکت داشتن در بو، رنگ و مزه در گیاهان نیز اهمیت دارند (Deepa *et al.*, 2007) به نظر می‌رسد

فلفل، فلاونوئید و آنتوسیانین در برگ‌های آن در مراحل مختلف رشد وجود دارد، در حالی که بیشترین میزان کاروتنوئید در میوه‌های سبز و نارنجی وجود دارند. همچنین، ویژگی جمع‌کنندگی رادیکال آزاد در برگ‌ها بیشتر از سایر اندام‌هاست، در صورتی که ویژگی مهارتی اکسیداسیون ترکیبات حاوی پیوندهای مزدوج نظیر اسیدهای چرب و الکترون‌دهندگی به رادیکال ترکیبات آروماتیک در میوه‌ها بیشتر است.

### سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه گلستان و ریاست محترم دانشکده علوم برای فراهم آوردن اعتبار پژوهشی قدردانی می‌شود.

*Varthemia Persica* (var. *persica*) مجله علوم پزشکی دانشگاه مازندران (۱۸): ۶۳-۲۸-۳۶.

- Amini, A. (2004) Dictionary of therapeutic plants. Tehran University, Tehran.
- Aruoma, O. (2003) Methodological consideration for characterization potential antioxidant action of bioactive components in plant foods. Mutation Research/ Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 524: 9-20.
- Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. (1999) Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods in Enzymology 299: 15-27.
- Bergquist, S. A. M., Gertsson, U. E. and Olss, M. E. (2007) Bioactive compounds and visual quality of baby spinach-changes during plant growth and storage. Acta Horticulturae (ISHS) 744: 343-348.

افزایش محتوای کاروتنوئید کل در مرحله رسیدگی میوه (شکل ۱-ث) گیاه عروسک پشت‌پرده ارتباط مثبت با فعالیت آنتی‌اکسیدانتی به روش‌های BCB و FRAP دارد (جدول ۳). گزارش‌ها نشان داده است که محتوای کاروتنوئید کل در گیاهان رازیانه و شنبلیله با بلوغ میوه افزایش می‌یابد (Singh et al., 2010). سطح کلروفیل و کاروتنوئید در برگ‌های ذرت وابسته به سن است (Drazkiewicz and Barzyorski, 2005).

### جمع‌بندی

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره متانولی بخش‌های مختلف گیاه عروسک پشت‌پرده در طی مراحل رشد حاوی غلظت‌های مختلفی از ترکیبات مختلف آنتی‌اکسیدان است. به طوری که بیشترین میزان

### منابع

- سیاهپوش، ا.، قاسمی، ن.، اصغری، غ. و اردکانی، م. (۱۳۸۷) بررسی کمی و کیفی فلاونوئیدهای موجود در اندام‌های هوایی، گل و میوه گیاه عطر سنگ
- Blokhina, O., Virolainen, E., and Fagerstedt, K. V. (2003) Antioxidant, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of Botany 91: 179-194.
- Castrejón, A. D. R., Eichholz, I., Rohn, S., Kroh, L. W. and Huyskens-Keil, S. (2008) Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. Food Chemistry 109: 564-572.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis 10: 178-182.
- Chen, X. Q. and Xiao, J. (2005) HPLC-DAD determination of flavonoids: separation of quercetin, luteolin and apigenin in *Marchantia Convolvata*. Iranian Journal of Pharmaceutical

- Research 3: 175-181.
- Conforti, F., Statti, G. A. and Menichini, F. (2007) Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annuum* var. *acuminatum* L.) in relation to maturity stage. Food Chemistry 102: 1096-1104.
- Deepa, N., Kaura, Ch., George, B., Singh, B. and Kapoor, H. C. (2007) Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes during maturity. LWT Food Science and Technology 40: 121-129.
- Drazkiewicz, M. and Barzyorski, T. (2005) Growth parameters and photosynthetic pigments in leaf segments of *Zea mays* exposed to cadmium, as related to protection mechanisms. Journal of Plant Physiology 162: 1013-1021.
- Gardner, P. T., White, T. A. C., McPhail, D. B., and Duthie, G. C. (2000) The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. Food Chemistry 68: 471-474.
- Kim, D. O., Padilla-Zakour, O. I. and Griffiths, P. D. (2004) Flavonoids and antioxidant capacity of various cabbage genotypes at juvenile stage. Journal of Food Science 69: 685-689.
- Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E. and Hilpert, K. F. (2002) Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. American Journal of Medicine 113: 71-88.
- Kumazawa, S., Taniguchi, M., Suzuki, Y., Shimura, M., Kwon, M. and Nakayama, T. (2002) Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. Agricultural and Food Chemistry 50: 373-377.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids; pigments of photosynthetic membranes. Methods Enzymology 148: 350-382.
- Marin, A., Ferreres, F., Tomas-Barberan, F. and Gil, M. I. (2004) Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture 52: 3861-3869.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O. G. (2005) Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Faso honey, as well as their scavenging activity. Food Chemistry 91: 571-577.
- Mejia, L. A., Hudson, E., Gonzalez de Mejia, E. and Vasquez, F. (1988) Carotenoid content and vitamin A activity of some common cultivars of Mexican peppers (*Capsicum annuum*) as determined by HPLC. Journal of Food Science 53: 1448-1451.
- Menichini, F., Tundis, R., Bonesi, M., Loizzo, M. R., Conforti, F., Statti, G., De Cindio, B., Houghton, P. J. and Menichini, F. (2008) The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. cv Habanero. Food Chemistry 45: 123-127.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. and Vanbeek, T. A. (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry 85: 231-237.
- Mita, S., Murano, N., Akaike, M. and Nakamura, K. (1997) Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that are inducible by sugars. Plant Journal 11: 841-851.
- Ordon, A. A. L., Gomez, J. D., Vattuone, M. A. and Lsla, M. I. (2006) Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq) Swart extracts. Food Chemistry 97: 452-458.
- Pellegrini, N., Simonetti, P., Gardana, C., Brenna, O., Brighenti, F., and Pietta, P. G. (2000) Polyphenol content and total antioxidant activity of vini novelli (young red wines). Journal of Agricultural and Food Chemistry 48: 732-735.
- Pellote, J. P., Maria, A. and Martinez, D. P. (1993) Flavonoid variation with the plant age in *Zyzyphus mistol* leaves. Biochemistry and Ecology 2: 645-646.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J. and Shahabimajd, N. (2006) Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology 5: 1142-1145.

- Singh, P., Singh, U., Shukla, M. and Singh, R. L. (2010) Variation of some phytochemicals in Methi and Saunf plants at different stages of development. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology* 4: 93-99.
- Stahl, W. and Sies, H. (2003) Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular and Medicine* 24: 345-351.
- Sun, J., Chu, Y. F., Wu, X. Z., and Liu, R. H. (2002) Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 50: 7449-7454.
- Then, M., Szentmihaly, K., Sarkozi, A. and Varga, I. S. (2003) Examination on antioxidant activity in greater celandine (*Chelidonium majus* L.) extracts by FRAP method. *Acta Biologica Szegediensis* 47(1-4): 115-117.
- Vedenskaya, I. O. and Vorsa, N. (2004) Flavonoid composition over fruit development and maturation in American canberry. *Plant Science* 167: 1043-1054.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., and Oomah, B. D. (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 4113-4117.
- Witzell, G., Gref, R. and Nasholm, T. (2003) Plant-Part specific and temporal variation in phenolic compounds of boreal bilberry (*Vaccinium myrtills*) plants. *Biochemistry and Ecology* 31: 115-127.

## An investigation of antioxidant activity of *Physalis alkekengi* methanolic extracts in different phenological stages

Mahdieh Hoshani <sup>1</sup>, Manijeh Mianabadi <sup>1\*</sup>, Mahnaz Aghdasi <sup>1</sup> and Majid Azim Mohseni <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Golestan, Gorgan, Iran

<sup>2</sup> Department of Statistic, Faculty of Sciences, University of Golestan, Gorgan, Iran

### Abstract

*Physalis alkekengi* (Solanaceae) is a rich source of different antioxidants, which has been advised for the treatment of various diseases such as inflammation and rheumatism. In this paper, antioxidant properties of different parts of *P. alkekengi* including leave, calyx, green and orange fruits randomly collected from around the Tonekabon-Iran were studied. Antioxidant activity of extract was measured with DPPH radical scavenging activity, inhibition of fatty acid oxidation and ferric-reducing antioxidant power. Also, the total phenol, flavonoid, quercetin, luteolin, anthocyanin and carotenoid contents of samples were determined. The tests were conducted in a completely randomized design with 4 replications. The leaves of *P. alkekengi* contained the most content of the total phenol, flavonoid and ferric-reducing antioxidant power. The maximum of DPPH radical scavenging activity ( $1.81 \pm 0.214$  g/gFW), peroxidation fatty acid inhibition ( $75.53 \pm 5.35$  %), and total carotenoids content ( $10.05 \pm 1.45$  mg/gFw) were observed in orange fruit of *P. alkekengi*. The highest value of luteolin was measured in the leaves of green fruit stage, and it was  $0.198 \pm 0.001$  mg/gDW. Quercetin was found only in the leaves of vegetative and flowering stages,  $9.2 \pm 0.05$  and  $9 \pm 0.53$   $\mu$ g/gDw respectively.

**Key words:** Antioxidant, *Physalis alkekengi*, Flavonoid, Phenological stages

---

\* Corresponding Author: m.mianabadi@gu.ac.ir