



فصلنامه علوم محیطی، دوره بیستم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱

۱۶۷-۱۷۸

مقاله پژوهشی

کمیت و کیفیت ترکیب های آنتی اکسیدانی و اجزا تشکیل دهنده اسانس گیاه دارویی زولنگ (*Eryngium campestre*) تحت تأثیر ارتفاع از سطح دریا

مجتبی اسماعیل زاده و حسین مرادی*

گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی و پژوهشکده فناوری های زیستی گیاهان دارویی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۹/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۸/۲۵

اسماعیل زاده، م. و ح. مرادی. ۱۴۰۱. کمیت و کیفیت ترکیب های آنتی اکسیدانی و اجزا تشکیل دهنده اسانس گیاه دارویی زولنگ (*Eryngium campestre*) تحت تأثیر ارتفاع از سطح دریا. فصلنامه علوم محیطی. ۲۰(۱): ۱۶۷-۱۷۸.

سابقه و هدف: درسال های اخیر استفاده از گیاهان دارویی و داروهای گیاهی، جایگاه خاص خود را در بین عموم مردم پیدا کرد، که این امر موجب شناخت و معرفی گیاهان دارویی جهت کاربرد در صنایع داروسازی شده است. رویشگاه های طبیعی ایران به عنوان منابع ارزشمند ژنی تعدادی زیادی از گیاهان دارویی مفید می باشند که از جمله آن ها می توان به رشد خودرو زولنگ در شمال کشور اشاره نمود. زولنگ گیاهی علفی و چند ساله از خانواده چتریان است که به وفور در نواحی شمالی کشور رویش می کند. این گیاه با ارزش دارای ترکیب های دارویی نظیر: استیلین، فلاونوئید، ساپونین های تری ترین می باشد.

مواد و روش ها: این تحقیق جهت بررسی تأثیر ارتفاع بر ترکیب های آنتی اکسیدانی و ترکیب های تشکیل دهنده اسانس گیاه زولنگ در سه ارتفاع (۳۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ متر از سطح دریا) از بخش سوادکوه استان مازندران که رویشگاه طبیعی این گیاه بود، انجام شد. گیاهان پس از جمع آوری و خشک شدن جهت اندازه گیری صفاتی نظیر: آنتی اکسیدان، فنل، فلاونوئید با حلال متانول عصاره گیری شدند و اندازه گیری انجام شد. همچنین جهت شناسایی ترکیب های اسانس، و درصد اسانس، به روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر استخراج اسانس صورت گرفت و با دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC/MS) ترکیب های اسانس استحصال شده، شناسایی گردید.

نتایج و بحث: بنابر نتایج این پژوهش، صفات آنتی اکسیدان، فنل، فلاونوئید و درصد اسانس در سطح یک درصد معنی دار ($p < 0.01$) شدند. این نتایج بیانگر این موضوع است که ارتفاع از سطح دریا می تواند روی ترکیب های فنلی و آنتی اکسیدانی گیاه زولنگ مؤثر باشد. همچنین این نتایج نشان می دهد که ترکیب های آنتی اکسیدانی و فنلی تحت تأثیر ارتفاع هستند. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در گیاهان برداشت شده از ارتفاع های ۳۰۰ متر بیشترین میزان را نشان داد که میزان درصد مهار این گیاهان نسبت به ارتفاع ۳۰ متر از سطح دریا تا دو برابر افزایش یافت. میزان فلاونوئید ارتفاع ۳۰ و ۱۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا اختلافی نشان نداد، اما نسبت به ۳۰۰ متر اختلاف بیشتر بود.

* Corresponding Author: Email Address. h.moradi@sanru.ac.ir

<http://dx.doi.org/10.52547/envs.2021.37179>

<http://dorl.net/dor/20.1001.1.17351324.1401.20.1.10.9>

همچنین با افزایش ارتفاع، درصد اسانس کاهش می یابد. نتایج حاصل از همبستگی صفات نشان می دهد که فلاونوئید و فنل با افزایش درصد اسانس افزایش یافته و ارتباط معنی داری دارند. همچنین صفت درصد مهار رادیکال آزاد DPPH ارتباط معکوسی با صفات درصد اسانس و فلاونوئید دارد. نتایج کروماتوگرافی گازی اسانس زولنگ نشان داد که با افزایش ارتفاع، ترکیب‌هایی نظیر: D-Limonene و beta-Sesquiphellandrene افزایش و ترکیب cis-alpha-Bisabolene کاهش یافت. نتایج حاصل از آنالیز اسانس این گیاه با دستگاه کروماتوگرافی (GC/MS)، نشان داد که مقدار ترکیب‌های شناسایی شده لزوماً به ارتفاع وابسته نبوده و می تواند تابع عامل‌های دیگری باشد.

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که میزان مهار رادیکال آزاد DPPH با افزایش ارتفاع، افزایش می یابد اما روند میزان درصد اسانس به صورت معکوس با افزایش ارتفاع کاهش یافت. همچنین تفاوت معنی داری بین ارتفاع ۳۰ و ۱۰۰ متر از سطح دریا در فلاونوئید حاصل نشد. تعداد ترکیب‌های شناسایی شده حاصل از کروماتوگرافی گازی در ارتفاع ۳۰۰ متر از سطح دریا بیشترین بود. در واقع از ارتفاع ۳۰ تا ۱۰۰ متر تعداد ترکیب‌ها کم شده و از ارتفاع ۱۰۰ تا ۳۰۰ تعداد ترکیب‌های شناسایی شده بیشتر شده است. همچنین سه ترکیب D-Limonene، beta-Sesquiphellandrene و cis-alpha-Bisabolene تابع ارتفاع از سطح دریا بودند.

واژه‌های کلیدی: چتریان، زولنگ، رادیکال آزاد DPPH، کروماتوگرافی گازی.

مقدمه

رویشگاه‌های طبیعی تولید کرد چراکه گیاهان از سازگاری مناسبی برخوردار می باشند (Omidbeigi, 1995). در حال حاضر گیاهان دارویی و مشتقات آن حدود ۲۰ درصد از تجویزهای دارویی در کشورهای صنعتی پیشرفته و ۸۰ درصد در کشورهای در حال توسعه را به خود اختصاص داده است (Rojhan, 1995). زولنگ با نام علمی (*Eryngium campestre*) گیاهی علفی و چند ساله از خانواده چتریان است که به وفور در نواحی شمالی کشور می روید. این گیاه با ارزش دارای ترکیب‌های دارویی نظیر: استیلن، فلاونوئید، ساپونین‌های تری ترپن، بتا-سیوسترول و استیگماسترول می باشد (Crowden et al. 1969). برگ‌های زولنگ به عنوان سبزی خوراکی و عامل طعم-دهنده در تهیه غذاهای محلی بویژه در شمال کشور کاربرد دارد (Ismailzadeh and Ghasemi, 2016). در شمال کشور برگ‌های جوان زولنگ را تا قبل از مرحله گلدهی و فاز زایشی از منطقه‌های جنگلی برداشت کرده و در غذاهای بومی و محلی استفاده می کنند (Khoshbakht et al. 2007). در طب سنتی ایران از این گیاه جهت درمان سیاه سرفه، عفونت‌های ادراری، افزایش ترشح ادرار و از بین بردن سنگ‌های کلیوی استفاده می -شود (Flamini et al. 2007). همچنین متابولیت‌های

با توجه به رویکرد استفاده از گیاهان دارویی و داروهای گیاهی در سال‌های اخیر، شناخت گیاه دارویی مناسب جهت معرفی و استفاده در صنعت داروسازی دارای اهمیت است. استفاده از گیاهان با خاصیت دارویی که در رویشگاه‌های طبیعی توانایی سازگاری در منطقه و همچنین با سنتز مواد مؤثره فعال (آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی) جهت درمان و پیشگیری بیماری‌ها کاربرد دارند، در سال‌های اخیر جایگاه ویژه‌ای در علم پزشکی پیدا کرده‌اند (Kaur and Kapoor, 2002). بنابر بررسی‌های مرکز بازار بین-المللی (ICC)^۱، ۴۰۰ گونه گیاهی در اروپای غربی مصرف می شود. ایالات متحده آمریکا بیشترین سهم بازار داروهای گیاهی در جهان را داراست و کشور ژاپن بزرگترین واردکننده گیاهان دارویی در آسیا می باشد. (Habibi, 2003). عمده‌ترین قسمت مرتع‌های کشور را گیاهان دارویی تشکیل می دهند که دارای ترکیب‌های شیمیایی نظیر: آلکالوئیدها، تانن‌ها و اسانس‌ها در بخشی از مرحله-های رشدی خود هستند، همچنین دام در مرتع‌ها می -تواند از این گیاهان دارویی استفاده کند (Tajli and Sadeghipour, 2010). با توجه به اینکه رویشگاه‌های طبیعی ایران به عنوان منابع ارزشمند توارثی هستند، بنابراین می توان گیاهان، بویژه گیاهان دارویی را در

بازده اسانس در ارتفاع‌های پایین (۷۰۰ - ۸۰۰ متر از سطح دریا) و کمترین بازدهی اسانس در ارتفاع‌های میانی (۱۲۰۰ - ۱۱۰۰ متر از سطح دریا) به دست آمد. پژوهشی در سال ۲۰۰۹ نشان داد که گیاه (*roxburghiana*) *Artemisia* رویش یافته در هیمالیا در ارتفاع ۲۲۰۵ متری کمترین بازدهی اسانس (۰/۲ درصد) و در ارتفاع ۸۵۰ و ۱۲۱۸ متر از سطح دریا، بیشترین بازدهی اسانس (۰/۸۰ تا ۰/۸۵ درصد) را دارد که نشان دهنده اثر ارتفاع می‌باشد (Haider et al. 2009).

Behtari et al. (2012) با بررسی اثر ارتفاع از سطح دریا و مرحله رشد در گیاه دارویی درمنه وحشی در مرتع‌های گرگان، که از چهار ارتفاع مختلف (۱۱۰۰، ۱۲۰۰، ۱۲۸۰ و ۱۳۸۰ متر از سطح دریا) و دو مرحله رشد رویشی و گلدهی انجام شد به این نتیجه رسیدند که بیشترین میزان اسانس از ارتفاع‌های ۱۲۸۰ متر و به ترتیب در شرایط رشد رویشی و گلدهی به میزان ۰/۸ و ۰/۹۲ میلی‌لیتر بر گرم حاصل شد. در گیاه (*H.gorganicum*) مقدار اکتیل استات با افزایش ارتفاع از سطح دریا افزایش یافت (Mirza and Najaf pournavaei, 2012).

Srivastava et al. (2005) با مطالعه روی گیاه (*Juniperus macropoda*) به این نتیجه رسیدند که در کیفیت و کمیت اسانس برگ این گیاه در ارتفاع‌های مختلف اختلاف وجود دارد. اسانس برگ این گیاه در ارتفاع ۱۷۰۰ متری دارای ۱/۲ درصد اسانس و در ارتفاع ۲۰۰۰ متری این عدد به ۰/۵ درصد کاهش می‌یابد. همچنین ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس گیاه در ارتفاع ۱۷۰۰ متری شامل: بتا-المن، سابینین هیدرات و آلفا-کیوبین بودند ولی در ارتفاع ۲۰۰۰ متری آلفا-توجون، بیفورمن و سابینین یافت شد.

با توجه به مطالب بیان شده این پژوهش در راستای بررسی تأثیر ارتفاع روی ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس گیاه زولنگ در ارتفاع‌های مختلف استان مازندران اجرا شد.

ثانویه این گیاه در ریشه‌ها و اندام‌های هوایی یافت می‌شود که ویژگی‌های دارویی فراوانی از جمله: مدر، خلط آور و شل کننده عضلات اسکلتنی را دارا می‌باشد (Thiem and Wiatrowska, 2007). عصاره متانولی این گیاه دارای ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی بالا در برابر رادیکال‌های آزاد مانند: نیتریک اکساید دارای بیشترین اثر در مهار رادیکال آزاد می‌باشد که در داروهای آفرودیسیاک (تقویت جنسی) و نروین (آرام‌بخش) کاربرد دارد (Ebrahimzadeh et al. 1999). در پژوهش‌های صورت گرفته روی چندین گونه از *Eryngium* مشخص شد که گونه‌های این جنس دارای ترکیب‌های اسانسی، ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، ساپونین‌ها، استروئیدها، پلی استاستلین‌ها و کومارین‌ها می‌باشد. عصاره‌ها و ترکیب‌های ایزوله شده از گونه‌های *Eryngium* نقش بسیاری در صنایع غذایی و دارویی از خود نشان داده‌اند (Wang et al. 2012). همچنین از اندام‌های گیاه دارویی زولنگ مانند: ریشه، برگ، گل آذین و ساقه اسانس استحصال می‌گردد (Hashemabadi and Kaviyani, 2010). آنالیز ترکیب‌های تشکیل دهنده اسانس برگ‌ها و ساقه‌های زولنگ در دو مرحله رویشی و زایشی نشان داده است که نوع و میزان ترکیب‌های اسانس تابع تغییرات فصلی و جغرافیایی، فاز رویشی و اندام مورد استفاده می‌باشد (Hashemabadi and Kaviani, 2010). عامل‌های محیطی نظیر: ارتفاع از سطح دریا، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک نه تنها روی ویژگی‌های رویشی و پراکندگی گیاهان دارویی مؤثر نیستند، بلکه بر کمیت و کیفیت اسانس و ویژگی‌های فیتوشیمیایی گیاهان دارویی نیز مؤثرند (Omidbeigi, 2005). در اکوسیستم‌های زراعی و طبیعی عامل‌هایی نظیر: رطوبت، آب، عناصر غذایی، نور، ارتفاع از سطح دریا در تعیین کمیت و کیفیت گیاهان مؤثر هستند (Kochaki and Hosseini, 1995). (Kochaki et al. 2014) در مورد گیاه دارویی افسنطین (*Artemisia absinthium*) نشان دادند که در منطقه سوادکوه بیشترین

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آبان ماه سال ۱۳۹۸ در استان مازندران انجام شد. جمع‌آوری گیاه دارویی زولنگ از سه ارتفاع مختلف (۳۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ متر از سطح دریا) منطقه سوادکوه استان مازندران جمع‌آوری و به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری آورده شدند. پس از تمیزکردن و شست‌وشو، در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند. سپس از گیاه خشک‌شده عصاره و اسانس‌گیری به عمل آمد. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و با دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت صورت گرفت و در نهایت اسانس به دست آمده در مکان تاریک و دمای ۱۸- تا زمان تزریق به دستگاه GC-MS نگهداری شدند. صفاتی نظیر: درصد مهار رادیکال آزاد DPPH، فنل کل و فلاونوئید با استفاده از عصاره‌گیری اندازه‌گیری شدند. به این صورت که یک گرم از بافت خشک را در ده میلی لیتر متانول به مدت ۷۲ ساعت روی شیکر قرار داده و پس از سانتریفیوژ در ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، از محلول بالایی جهت اندازه‌گیری درصد مهار رادیکال آزاد DPPH، فنل کل و فلاونوئید استفاده گردید. جهت اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان (Ebrahimpour *et al.*, 2009)، یک میلی لیتر از عصاره با یک میلی لیتر از محلول رادیکال آزاد DPPH ۱۰ میکرومولار به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شده و سپس در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت صورت گرفت. درصد مهار رادیکال آزاد از طریق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$IP = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{control}}) \times 100\% \quad (1)$$

به منظور بررسی محتوای تام فنلی عصاره از روش معرف فولین سیوکالتیو استفاده شد. ابتدا به ۲۰ میکرولیتر از عصاره گیاهان ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین - سیوکالتیو افزوده شد، سپس ۱/۶ میلی لیتر آب مقطر اضافه کرده و ۵ دقیقه استراحت به مخلوط مورد نظر می‌دهیم در ادامه ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۱ مولار اضافه کرده و به مدت

۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۴۰ درجه قرار می‌دهیم. میزان تام فنولیک براساس میزان معادل میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره گزارش گردید (Slinkard and Singleton, 1977). محتوای تام فلاونوئیدی با استفاده از معرف کلرید آلومینیم اندازه‌گیری شد. به نیم میلی لیتر از عصاره، ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر از محلول آلومینیم کلراید ۱۰ درصد در اتانول، ۰/۱ میلی لیتر از محلول از استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط نیم ساعت بعد از نگهداری در تاریکی، در طول موج ۴۱۵ نانومتر در مقابل بلانک قرائت شد میزان فلاونوئید براساس میزان معادل میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش گردید (Chang *et al.*, 2002).

میزان درصد اسانس از فرمول زیر محاسبه شد:

درصد اسانس = میزان اسانس حاصل / وزن گیاه جهت استخراج اسانس $\times 100$

همچنین برای شناسایی ترکیب‌های استخراج شده در عصاره متانولی از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC/MS) استفاده شد. مدل دستگاه Agilent Technologies 7890A gas chromatograph، مدل ستون Mass 5975CT، طول آن ۳۰ متر و قطر آن ۰/۲۵ میلی متر، دمای محفظه تزریق ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد، حجم تزریق ۱ میکرولیتر، فاز متحرک گاز هلیوم، زمان تأخیر در حلال ۴ دقیقه و سرعت جریان فاز متحرک ۱ میلی لیتر بر دقیقه بود. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS ۹.۴ و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

باتوجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، صفات آنتی-اکسیدان، فنل، فلاونوئید و درصد اسانس در سطح یک درصد معنی‌دار ($p < 0.01$) شدند. با توجه به این نتیجه می‌توان گفت که ارتفاع از سطح دریا می‌تواند بر ترکیب‌های فنلی،

در ارتفاع ۱۲۰۰ متر یافت می‌شود. همچنین سایر ویژگی‌های فیتوشیمیایی این گیاه بدون اختلاف معنی‌داری در بین ارتفاع‌های مختلف بودند.

باتوجه به این نتایج می‌توان احتمال داد که همواره ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی و فنلی تحت تأثیر ارتفاع هستند، چرا که گیاهان رشد کرده در ارتفاع‌های تحت تأثیر شرایط مختلف مانند: میزان و شدت نور، اشعه ماورابنفش، دما، میزان بارش و دیگر عامل‌ها قرار دارند که این عامل‌ها همانند السیتورها در گیاهان رویش کرده، در این ارتفاع‌ها اثر کرده که سبب ایجاد اختلاف در این منطقه‌ها می‌شود.

فلاونوئیدها، آنتی‌اکسیدان‌ها و درصد اسانس گیاه زولنگ مؤثر باشد. پژوهشی در مورد دو گونه گیاه دارویی درمنه نشان داد که ارتفاع از سطح دریا در تغییر میزان اسانس آن‌ها مؤثر است (Azarnivand, 2002). در تحقیقی توسط Zidorn (2010) مشخص شد که برخی از متابولیت‌های ثانویه مانند: فلاونوئیدها، ترکیب‌های فنلی و آنتوسیانین‌ها در اثر افزایش ارتفاع افزایش یافته و ترکیب‌هایی نظیر آلکالوئیدها، سسکوئی‌ترین‌ها و لاکتون‌ها با افزایش ارتفاع کاهش می‌یابد. طی پژوهشی که توسط Arianfar *et al.* (2018) گزارش شد، مشخص گردید که بیشترین بازدهی اسانس گیاه درمنه دشتی در ارتفاع ۱۸۰۰ متر و بیشترین میزان تانن در آن

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی زولنگ در ارتفاع‌های مختلف منطقه سوادکوه

Table 1. Analysis of variance of phytochemical traits of *Eryngium* at different altitudes of Savadkuh region

درصد اسانس	فلاونوئید	فنل	آنتی‌اکسیدان	درجه آزادی	تیمار
Percentage of essential oils	Flavonoids	Phenol	Antioxidants	Degrees of freedom	Treatment
**0.047	**2.115	**0.362	**1817.31	2	ارتفاع Height
2.608	4.988	10.449	5.681	-	ضریب تغییرات Coefficient of variation

ns **, and *, respectively, nonsignificant and significant at 1 and 5% probability levels

برداشت شده از ارتفاع ۳۰۰ متر اختلاف نشان دادند و مقدار بیشتری را شامل شدند. همچنین ارتفاع ۱۰۰ متر روی فنل اثر بیشتری نسبت به دو ارتفاع دیگر داشته است. باتوجه به نتایج این پژوهش، با افزایش ارتفاع، درصد اسانس کاهش می‌یابد. قابل بیان است که بیشترین درصد اسانس در ارتفاع ۳۰ متر از سطح دریا و کمترین آن در ارتفاع ۳۰۰ متر از سطح دریا مشاهده شد.

بنابر نتایج حاصل از جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) ارتفاع ۳۰۰ متر از سطح دریا روی درصد مهار رادیکال آزاد DPPH (صفت آنتی‌اکسیدان) بهترین اثر را داشته که حتی توانست نسبت به ارتفاع ۳۰ متر از سطح دریا اثر بیشتری داشته باشد و میزان درصد مهار را تا دو برابر افزایش دهد. اما در فلاونوئید ارتفاع ۳۰ و ۱۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا باهم اختلافی نشان ندادند، اما با گیاهان

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات فیتوشیمیایی زولنگ در ارتفاع‌های مختلف منطقه سوادکوه

Table 2. Comparison of mean phytochemical traits of *Eryngium* in different altitudes of Savadkuh region

درصد اسانس (%)	فلاونوئید (میلی گرم کوئرستین در هر میلی گرم ماده خشک)	فنل (میلی گرم گالیک اسید در هر گرم ماده خشک)	آنتی‌اکسیدان (درصد مهار رادیکال‌های آزاد)	تیمار
Essential oil percentage (%)	Flavonoids (mg quercetin per milligram of dry matter)	Phenol (mg gallic acid per gram of dry matter)	Antioxidants (percentage of free radical scavenging)	Treatment
0.500 ^a	2.710 ^a	0.523 ^b	47.790 ^c	ارتفاع ۳۰
0.400 ^b	2.900 ^a	0.803 ^a	63.830 ^b	ارتفاع ۱۰۰
0.250 ^c	1.360 ^b	0.112 ^c	96.113 ^a	ارتفاع ۳۰۰

حروف غیر مشترک به معنی اختلاف معنادار در سطح یک درصد است

Non-common letters mean a significant difference at the level of one percent

نیز افزایش می یابد که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر متناقض است. این احتمال وجود دارد که افزایش ارتفاع، کاهش دما، افزایش شدت نور و افزایش شدت باد را به همراه داشته باشد که این تغییرات با تأثیر روی خاک و تحت تأثیر قرار دادن گیاه، منجر به کاهش عملکرد اسانس در گیاه شود (Mahdavi et al., 2013). تغییرات ترکیب-های شیمیایی موجود در گیاهان تحت تأثیر عامل های مختلفی از جمله ارتفاع از سطح دریا صورت می گیرد که رخدادهای طبیعی است (Omidbeigi, 1995).

جدول ۳- همبستگی صفات گیاه دارویی زولنگ در ارتفاع های مختلف منطقه سوادکوه

Table 3. Correlation of *Eryngium* medicinal plant traits in different altitudes of Savadkuh region

	درصد اسانس Percentage of essential oils	فلاونوئید Flavonoids	فنل Phenol	آنتی اکسیدان Antioxidants
درصد اسانس Percentage of essential oils	1	.859**	.673*	-.985**
فلاونوئید Flavonoids		1	.943**	-.875**
فنل Phenol			1	-.721*
آنتی اکسیدان Antioxidants				1

نشان داد که ارتفاع از سطح دریا و ویژگی های فیتوشیمیایی گونه درمنه کوهی با هم در ارتباط می باشند که ارتفاع از سطح دریا با بازده اسانس همبستگی منفی معنی دار و با فنل کل همبستگی مثبت معنی دار دارد.

نتایج به دست آمده از شناسایی ترکیب های اسانس گیاه دارویی زولنگ بوسیله کروماتوگرافی گازی (GC/MS)، توانست ۲۳ ترکیب را از اسانس گیاهان برداشت شده از ارتفاع ۳۰ متر از سطح دریا، ۱۰ ترکیب از اسانس گیاهان جمع آوری شده از ارتفاع ۱۰۰ متر و ۳۱ ترکیب از گیاهان به دست آمده از ارتفاع ۳۰۰ متر شناسایی کند. ترکیب های مشترک اسانس این سه منطقه به صورت جدول (جدول ۴) نشان داده شده است.

جدول ۴. ترکیب های مشترک اسانس گیاه دارویی زولنگ در سه ارتفاع از استان مازندران

Table 4. Common compounds of *Eryngium* medicinal plant essential oil in three heights of Mazandaran Province

H300	H100	H30	Compound name
0.58	0	1.45	3-Carene
1.56	3.48	7.6	D-Limonene
1.42	0.98	0.75	cis-.alpha.-Bisabolene
1.30	3.44	2.77	2,4-Di-tert-butylphenol

گزارش هایی مبنی بر ارتباط متابولیت های ثانویه و ترکیب های شیمیایی گیاهان با رویشگاه آن ها مطرح گردیده و همبستگی بین آن ها گزارش شده است (Mohammadnejad Ganji et al., 2014). نتایج کار et (2006) Jamshidi al. روی گیاه آویشن نشان داد که هرچه ارتفاع افزایش یابد، میزان درصد اسانس کاهش می یابد. اما (Dehghani Bidgoli (2012) بیان کرد که در درمنه کوهی میزان اسانس رابطه مستقیمی با افزایش ارتفاع داشته که هرچه ارتفاع افزایش یابد، درصد اسانس

نتایج حاصل از همبستگی صفات (جدول ۳)، نشان می دهد که فلاونوئید و فنل با افزایش درصد اسانس افزایش یافته و ارتباط معنی داری به ترتیب در سطح ۱ و ۵ درصد دارد. همچنین آنتی اکسیدان ارتباط معکوسی با درصد اسانس و فلاونوئید در سطح ۱ درصد و با فنل در سطح ۵ درصد دارد. با افزایش فنل، فلاونوئید نیز افزایش می یابد.

(2015) Delnavazhashamloyan et al. اظهار داشتند که فنول ها از متابولیت های ثانویه معطر گیاهی می باشند و جزء ترکیب های شیمیایی دگرآسیب برگ گیاهان و ریزجانداران محسوب می شوند که اثر بسزایی بر اکولوژی گیاه تولید کننده این ترکیب ها دارند. نتایج پژوهش (Arianfar et al. (2018

ادامه جدول ۴. ترکیب‌های مشترک اسانس گیاه دارویی زولنگ در سه ارتفاع از استان مازندران

Table 4. Cont. common Compounds of *Eryngium* medicinal plant essential oil in three heights of Mazandaran Province

H300	H100	H30	Compound name
0.66	2.03	2.44	beta. -Sesquiphellandrene
3.91	1.14	1.2	Neophytadiene
13.31	22.83	2.37	(S, Z)-Heptadeca-1,9-dien
5.57	33.14	24.02	Phytol
0.58	3.47	1.13	Lupinifolin

H نشان دهنده ارتفاع از سطح دریا می‌باشد.

و مونوگیلیکوزیدها نیز در جنس *Eryngium* شناسایی و گزارش شده است (Erdelmeier and Sticher, 1985).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش روی گیاه دارویی زولنگ، نشان داد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانته گیاه با ارتفاع از سطح دریا رابطه مستقیمی و با میزان درصد اسانس رابطه معکوسی داشت. همچنین میزان فلاونوئید در منطقه‌های پائین‌دست و میان‌دست اختلافی باهم ندارد. ولی میزان ترکیب‌های فنلی در میان‌دست به نسبت بیشتر بود. تعداد ترکیب‌های شناسایی شده اسانس این گیاه، در بالاترین ارتفاع از سطح دریا (۳۰۰ متر)، بیشترین مقدار را نشان داد. در واقع از ارتفاع ۳۰ تا ۱۰۰ متر تعداد ترکیب‌ها کم شده و از ارتفاع ۱۰۰ تا ۳۰۰ متر تعداد ترکیب‌های شناسایی شده، بیشتر شده است. همچنین برخی ترکیب‌ها نظیر: D-Limonene، beta. - Sesquiphellandrene تحت تأثیر ارتفاع از سطح دریا کم به ارتفاع زیاد (از ۳۰ متر به ۳۰۰ متر) مقدارشان کاهش یافت و cis-. alpha. -Bisabolene از ارتفاع ۳۰ متر به ۳۰۰ متر مقدارشان افزایشی بود که تحت تأثیر ارتفاع از سطح دریا قرار گرفته‌اند.

پی‌نوشت

¹ International Chamber of Commerce

Arianfar, M., Akbari Nodehi, D., Hemmati, Kh. and Rostampour, M., 2018. The effect of height and direction on essential oil yield and some phytochemical properties of *Artemisia Boiss aucheri* and *Artemisia Besser sieberi* in South

ترکیب‌هایی نظیر: D - Limonene و beta. - Sesquiphellandrene با افزایش ارتفاع، میزانشان در اسانس کاهش و ترکیب cis-. alpha. -Bisabolene با افزایش ارتفاع، در اسانس گیاه زولنگ مقدارشان افزایش یافت. نتایج حاصل از آنالیز اسانس گیاه دارویی زولنگ با دستگاه کروماتوگرافی (GC/MS)، نشان می‌دهد که مقدار ترکیب‌های شناسایی شده لزوماً به ارتفاع وابسته نبوده چراکه با افزایش ارتفاع باید شاهد افزایش ترکیب‌های شناسایی شده می‌بودیم اما در ارتفاع ۱۰۰ متر، کاهش ترکیب‌ها رخ داد. در واقع افزایش ارتفاع از سطح دریا منجر به افزایش ترکیب‌ها نمی‌شود و این ناهمگنی شناسایی ترکیب‌ها تحت تأثیر عامل‌هایی غیر از ارتفاع از سطح دریا می‌باشد. (Jamshidi *et al.* (2006) با تحقیق روی گیاه آویشن به این نتیجه رسیدند که با افزایش ارتفاع، میزان درصد اسانس و میزان کارواکرول کاهش می‌یابد که این همبستگی به صورت غیر مستقیم و معکوس می‌باشد.

باتوجه به پژوهش‌های صورت گرفته توسط Główniak *et al.* (2004)، Le Claire *et al.* (2005) و Ayoub *et al.* (2006) روی گیاه دارویی زولنگ، جهت شناسایی ترکیب‌های موجود در عصاره و اسانس این گیاه، ترکیب‌های ساپونین‌های تری ترپنوئید، فلاونوئیدها، اسیدهای فنلیک - اسید رزمارینیک، اسانس، کومارین‌ها، کامفرول و پلی استیلن‌ها شناسایی و گزارش کردند. همچنین فلاونوئیدها

منابع

Khorasan rangelands. *Journal of Rangeland Research*, 12 (3): 281-294.

Ayoub A., Al-Azizi, M., König W., Kubeczka KH., 2006. Essential oils and a novel

- polyacetylene from *Eryngium yuccifolium* Michaux. (Apiaceae). *Flavour and Fragrance Journal*, 21(6):864-8.
- Azarnivand, H., 2002. Investigation of botanical and ecological traits of *Artemisia sieberi* and *Artemisia aucheri* in southern Alborz mountains. PhD Thesis in Range Management, University of Tehran
- Behtari, B., Gholami, F., Khalid A.K., Tilaki G.D. and Bahari, R., 2012., Effect of growth stages and altitude on artemisia herba-alba asso essential oil growing in Iran *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15: 307-313
- Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M., Chern J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Food Drug Anal*, 10: 178-182.
- Crowden, R., Haeme, K. and Heywood, V. H., 1969., *Phytochemistry*. 8:1963.
- Dehghani Bidgoli, R., 2012. Comparison of the effect of some environmental and pasture parameters on the quantity and quality of essential oils of Siberian and *Artemisia* plants in steppe and semi-steppe rangelands of Isfahan province. PhD Thesis in Rangeland Management, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
- Delnavazhashamloyan, B., Atai Azimi, A. and Mozhdehi, M., 2015. Identification and evaluation of some secondary metabolites of leaf, stem and root organs of Guinea (*Dendrostellera lessertii* (Wikstr) Van.Tigeh.) And their alterative effect on barley and mung bean plants. *Journal of Plant Ecophysiology*, Volume 7, Number 22: 162-177.
- Ebrahimzadeh, M. A. and Nabavi, S. F., 2009. Antioxidant activity of leaves and inflorescence of *Eryngium Caucasicum* Trautv at flowering stage. *Pharmacocny Research*, 1(6): 435-439.
- Ebrahimzadeh, M. A., Rehman A., Naeem, M.A. and Mushtaq, N., 1999. Effect of organic and inorganic fertilizers on nutrient contents and some properties of eroded loess soils. *Pakistan journal of soil science* 16: 63-68.
- Erdelmeier, C. A. J. and Sticher, D., 1985. *Planta Med.*407
- Flamini G., Tebano, M. and Cion, P.L., 2007. Composition of the essential oils from leafy parts of the shoots, flowers and fruits of *Eryngium amethystinum* from Amiata Mount (Tuscany, Italy). *Food Chemistry*, 107(2): 671 - 674.
- Głowniak K., Madej, A. and Żak, D., 2004. Chromatographic analysis of petroleum ether extract and methanol extract from fruits of *Eryngium campestre* L. 4th International Symposium on Chromatography of Natural Products, Lublin-Kazimierz Dolny (Poland), 17(14):106.
- Habibi, H., 2003. Exploring new perspectives on the world's most important medicinal plants. Faculty of Agriculture, University of Tehran.
- Haider, F., Kumar N., Banerjee, S., Naqvi, A. and Baggi, G., 2009. Effect of altitude on the essential oil constituents of *Artemisia roxburghiana* Besser Var. *Purpurascens* (Jacq) Hook. *Journal of Essential Oil Research*, 21(4): 303– 304
- Hashemabadi, D. and Kaviani, B., 2010. Seasonal and geographical variations in the essential oils of *Eryngium caasicum* Trautv growing in Iran. *American-Eurasian Journal Agricultural and Environmental Science*, 8(2): 212-215.
- Ismailzadeh, M. and Ghasemi, K., 2016. Comparison of Antioxidant Activity and Some Biochemical Properties of Four Medicinal

- Vegetables, National Conference on Medicinal Plants, Shahroud, Shahroud University of Technology - Iranian Association of Medicinal Plants.
- Jamshidi, A. H., Aminzadeh, M., Azarnivand, H. and Abedi, M., 2006. The effect of height on the quantity and quality of essential oil of thyme (Case study of Damavand region, Tar Lake basin). *Journal of Medicinal Plants*, 5 (18): 17-22.
- Kaur, C. and Kapoor, H.C. 2002. Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Journal of Food Science and Technology*. 37:157-161.
- Khoshbakht, K., Hammera, K. and Pistrick, k., 2007. *Eryngium caucasicum* Trautv cultivated as a vegetable in the Elburz Mountains (Northern Iran). *Jor Genetic Resources and Crop Evolution*, 54(2): 445-8.
- KOchaki, A. and M., Hosseini., 1995. *Agricultural Ecology*, Ferdowsi University of Mashhad Publications Page 164.
- Le Claire, E., Schwaiger, S., Banaigs B., Stuppner, H. and Gafner, F., 2005. Distribution of a new rosmarinic acid derivative in *Eryngium alpinum* L. and other Apiaceae. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53:4367-72.
- Mahdavi, M., Jouri, M.H., Mahmoudi, J., Rezazadeh, F. and Mahzooni-Kachapi, S.S., 2013. Investigating the altitude effect on the quantity and quality of the essential oil in *Tanacetum polycephalum* Sch.-Bip. *polycephalum* in the Baladeh region of Nour, Iran. *Chinese journal of natural medicines*, 11(5):553-559.
- Mirza, M. and Najaf pornography, M., 2012. Comparative study of chemical compounds of *Heracleum gorganicum* Rech fruit essential oil in several different altitudes in Golestan National Park. *Journal of Medicinal Plants and Aromatics Research*, Volume 28, Number 2: 324-329.
- Mohammadnejad Ganji, S.M., Moradi, H., Ghanbarzade, A. and Akbarzadeh, M. 2014 The effect of height in terms of quantity and quality of essential oil on *Rosmarinus officinalis* in Mazandaran province, *Journal of Medicinal Plants Ecophytochemistry*, 2 (1): 36-42
- Omidbeigi, R. 1995. *Approaches to the production and processing of plants*, 282 pages
- Omidbeigi, R. 1995. *Approaches to the production and processing of medicinal plants (Vol. I)*. Publishing Designers Publications, 286 pages.
- Omidbeigi, R. 2005. *Production and processing of plants*, Behnsheer Publications, Mashhad, 347 pages.
- Rojhan, M. S. 1995. *Treatment with medicinal plants*. University of Tehran Press.
- Rostami Kia, Y., Fattahi, M. and Faith A. A., 2009. Investigation of genetic diversity of pistachio populations using morphological traits of leaves and fruits. *Iranian Journal of Genetic Research and Breeding of Range and Forest Plants*, (17)2: 284-294.
- Samsam Shariat, H. 1992. *Extraction and extraction of active ingredients of medicinal plants and methods of their identification and evaluation*. Mani Publications, Isfahan, 293 pages.
- Slinkard, K and singleton, V., 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*,(28): 49-55.
- Srivastava, D., Haider, F., Dwivedi, P. D., Naqvi, A. A. and Bagchi, G. D., 2005. Comparative study of the leaf oil of *Juniperus macropoda* growing in

Garhwal regions of Uttranchal (India). Flavour and Fragrance Journal, 20(5): 460-461

Tajli, A.A., Sadeghipour, A. 2010. The effect of phenological stages on the percentage and composition of essential oil of *Stachys schtschegleevii*. 4(1): 130-137.

Thiem, B. and Wiatrowska, I., 2007. *Eryngium campestre* L. (Field Eryngo) and other species of *Eryngium* L. little known medicinal plants. [Eryngium campestre L. (mikołajek polny) i inne gatunki Eryngium L. mało znane rośliny lecznicze]. Herba Pol : 53(1):93-102 .

Wang, P., Su, Z., Yuan, W., Deng, G. and Li, SH., 2012. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *eryngium* L. (piaceae). Pharmaceutical Crops, 3: 99-120

Zidom, C., 2010. Altitudinal variation of secondary metabolites in flowering heads of the Asteraceae: trends and causes. Phytochemistry Reviews, 9(2): 197-203.

Zobel, B. J van Buijtnen. 1989. Wood variation its causes and control.





Environmental Sciences Vol.20 / No.1 / Spring 2022

167-178

Original Article

Quantity and quality of antioxidant compounds and components of essential oil of the medicinal plant (*Eryngium campestre*) under the influence of altitude

Mojtaba Ismailzadeh and Hossein Moradi*

Department of Horticultural Sciences, Crop Sciences College Research Institute of Medicinal Plant Biotechnologies (RIMPBio) Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Received: 2020.12.12 Accepted: 2021.11.16

Ismailzadeh, M. and Moradi, H., 2022. Quantity and quality of antioxidant compounds and components of essential oil of the medicinal plant (*Eryngium campestre*) under the influence of altitude. Environmental Sciences. 20(1): 167-178.

Introduction: In recent years, the use of medicinal plants and herbal medicines has found its special place among the general public, which has led to the recognition and introduction of medicinal plants for use in the pharmaceutical industry. Iran's natural habitats are valuable genetic resources for a large number of useful medicinal plants, including the growth of *Eryngium* in the north of the country. *Eryngium* is a perennial herbaceous plant of the Umbelliferae family that grows in abundance in the northern parts of the country. This valuable plant contains medicinal compounds such as acetylene, flavonoids, triterpene saponins.

Material and methods: This study was conducted to investigate the effect of altitude on antioxidant compounds and constituents of essential oil of *Eryngium* at three altitudes (30, 100 and 300 meters above sea level) in Savadkuh section of Mazandaran Province, which was the natural habitat of this plant. After collection and drying, the plants were extracted with methanol solvent to measure traits such as antioxidants, phenol, and flavonoids. Also, in order to identify the essential oil compounds, and the percentage yield of essential oil, the essential oil was extracted by distillation with water and clevenger apparatus and the extracted essential oil compounds were identified by gas chromatography (GC / MS).

Results and discussion: According to the results of this study, the traits of antioxidants, phenol, flavonoids and essential oil content were significant at the level of one percent ($p < 0.01$). These results indicate that in the *Eryngium*, altitudes can be effective on phenolic and antioxidant compounds content of *Eryngium*. Research has shown that the chemical properties of the soil and altitude are the most important factor in changes in the

* Corresponding Author: *Email Address.* h.moradi@sanru.ac.ir

amount of essential oil. These results show that antioxidant and phenolic compounds are affected by altitude and factors such as the amount and intensity of light, ultraviolet rays, temperature and precipitation. An altitude of 300 meters above sea level had the best effect on the percentage of free radicals in DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and doubled the percentage of salinity compared to 30 meters above sea level. However, in flavonoids, they did not show any difference between 30 and 100 meters above sea level, but they differed from plants harvested from 300 meters above sea level and included a larger amount. Also, with increasing height, the percentage of essential oil decreases. The results of the correlation of traits show that flavonoids and phenol have a significant relationship with increasing the percentage of essential oil yield. Antioxidants are also inversely related to the percentage of essential oils and flavonoids. The results of gas chromatography showed that compounds such as: D-limonene and beta. -sesquiphellandrene decreased with increasing altitude in essential oil and cis-.alpha.-Bisabolene increased with increasing altitude, in the essential oil of *Eryngium*. We also showed that the amount of identified compounds was not necessarily dependent on height and could be a function of other factors.

Conclusion: The results showed that the amount of free radical inhibition of DPPH increased with increasing altitude, but the trend of percentage of essential oil yield decreased inversely with increasing altitude. Also, there was no significant difference between 30 and 100 meters above sea level in flavonoids. The number of compounds identified by gas chromatography was the highest at an altitude of 300 m above sea level. Also, the three compounds D-limonene, beta. -sesquiphellandrene and cis-. alpha. -Bisabolene were a function of altitude.

Keywords: Flavonoids, Free radical scavenging DPPH, Gas chromatography, Habitat, Phenol.