

## بررسی تأثیر کلسیم بر فعالیت ضداکسایشی و میزان ترکیبات فنولیک در گیاه گاوزبان (*Borago officinalis* L.)

هدی شمس<sup>۱</sup>، حشمت امیدی<sup>۲\*</sup>، حسنعلی نقدی بادی<sup>۳</sup>، شمسعلی رضازاده<sup>۴</sup>، علی سروشزاده<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

۲- استادیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

۳- دانشیار پژوهش، گروه پژوهشی کشت و توسعه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج

۴- استادیار پژوهش، گروه فارماکوتوزی و داروسازی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج

۵- دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

\*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه شاهد، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت، صندوق پستی: ۱۵۹-۱۸۱۵۵

تلفن و نمابر: ۰۲۱) ۵۱۲۱۳۱۱۲-۳

پست الکترونیک: heshmatomidi@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۹۰/۱۰/۶

تاریخ دریافت: ۹۰/۱/۱۵

### چکیده

مقدمه: گاوزبان (*Borago officinalis* L.) از خانواده *Boraginaceae* یکی از گیاهان دارویی ارزشمندی است که به دلیل دارا بودن اسیدهای چرب غیراشباع به عنوان یک ماده غذایی مهم معرفی شده است. نتایج تحقیقات نشان داده است که عصاره برگ‌های گاوزبان، توانایی حذف گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال DPPH را دارد.

هدف: تأثیر کاربرد سطوح مختلف کلسیم نیترات بر فعالیت ضداکسایشی اندام‌های هوایی گیاه گاوزبان.

روش بررسی: آزمایش به صورت اسپلینت در زمان بر پایه طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در سال زراعی ۸۸ - ۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی واقع در کرج اجرا شد.

نتایج: نتایج نشان داد که میزان فنول و فعالیت ضداکسایشی ( $IC_{50}$ ) در مراحل مختلف رویشی تفاوت معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) داشت. همچنین درصد فنول و میزان  $IC_{50}$  به طور معنی‌داری ( $p < 0/01$ ) تحت تأثیر محلول‌پاشی سطوح مختلف کلسیم نیترات قرار گرفت، اما اثر متقابل تیمار و مرحله رویشی بر درصد فنول و میزان  $IC_{50}$  تأثیری نداشت.

نتیجه‌گیری: به طور کلی نتایج نشان داد که محلول‌پاشی کلسیم نیترات سبب افزایش فعالیت ضداکسایشی گیاه گاوزبان به ویژه در مراحل بذردهی می‌شود که با توجه به اهمیت دارویی گیاه در فرمولاسیون غذایی و بهداشتی، ترکیبات ضداکسایشی آن می‌توانند به عنوان جاذب نور ماورا بنفش (Ultra violet) (UV) عمل کنند.

گل واژگان: گاوزبان، فعالیت ضداکسایشی، فنول،  $IC_{50}$ ، کلسیم نیترات



سنتز بیشتر تولیدات ثانویه فنولی با جدا شدن گروه آمین از فنیل آلانین و تبدیل آن به اسید سینامیک آغاز می‌شود. آنزیمی که این واکنش را کاتالیز می‌کند، فنیل آلانین آمونیا لایاز ((Phenylalanine ammonia lyase (PAL)) نام دارد. فنیل آلانین آمونیا لایاز یک آنزیم کلیدی است، زیرا به گونه‌ای مؤثر موجب انحراف مسیر کربن از سوخت و ساز اولیه، مانند سنتز پروتئین، به سمت تولید ترکیبات فنولی می‌شود [۱۰]. نقش کلسیم در چرخه متابولیسم اسیدهای فنولیک به وضوح مشخص شده است. کلسیم از طریق تأثیر بر آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیا لایاز، پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز نقش خود را ایفا می‌کند، این آنزیم‌ها در سنتز و اکسیداسیون فنول‌ها نقش دارند. هر چند در بررسی‌های دیگر، اثرات متفاوت کلسیم بر آنزیم‌های سنتزکننده و اکسیدکننده فنول‌ها وجود دارد [۱۱، ۱۲، ۱۳]. در آزمایشی محلول‌پاشی کلرید کلسیم روی برگ‌های تنباکو موجب افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیا لایاز شده است [۱۳]. سودر هال (Soderhall) (۱۹۹۵) نشان داد افزایش غلظت کلسیم کلراید در محلول غذایی موجب افزایش فعالیت پراکسیداز می‌شود [۱۴]، اما در بعضی از تحقیقات افزایش غلظت کلسیم، موجب کاهش فعالیت پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز شده است [۱۵].

گاوزبان از خانواده *Boraginaceae* یکی از گیاهان دارویی ارزشمندی است که در درمان بیماری‌های قلبی، تورم اندام‌ها، سرفه و دیگر مشکلات تنفسی استفاده می‌شود، روغن بذر گاوزبان، غنی‌ترین منبع گیاهی گامالینولنیک اسید (GLA) است. عموماً گامالینولنیک اسید به عنوان مکمل‌های غذایی و دارویی تجویزی برای درمان بیماری‌های قلبی، آگزمای طبیعی، دیابت‌ها، ورم مفاصل و بیماری MS استفاده می‌شود [۸]. نتایج تحقیقات نشان داده است که عصاره برگ‌های گاوزبان، توانایی حذف گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال DPPH را دارد. این توانایی مربوط به خاصیت ضد اکسایشی، ترکیبات فنولی موجود در عصاره برگ‌های گاوزبان می‌باشد [۱۶].

اکسایش چربی یکی از دلایل اصلی کاهش کیفیت غذاهای دارای چربی است، این فرآیند بر روی رنگ، طعم، بافت و ارزش تغذیه‌ای غذاها تأثیر دارد [۱]. واکنش‌های بیوشیمیایی متعددی سبب تولید رادیکال آزاد می‌شوند که توانایی تخریب بیومولکول‌ها را دارا می‌باشند. گیاهانی که غنی از ترکیبات ضد اکسایشی هستند می‌توانند سلول‌ها را از تخریب رادیکال‌های آزاد محافظت نمایند، این ترکیبات موجب به دام اندازی رادیکال‌های آزاد شده و موجب سمیت‌زدایی می‌شوند [۲]. نکته حائز اهمیت آن است که باید بین عوامل اکسیدکننده و ضد اکسایش تعادل وجود داشته باشد تا شرایط بهینه فیزیولوژیکی حفظ شود [۳]. غذاهای غنی از ضد اکسایشی نقش مهمی در پیشگیری از بیماری‌های قلبی و عروقی، سرطان و بسیاری از بیماری‌های دیگر دارند. اگرچه به کارگیری ضد اکسایشی‌های سنتزی در غذاها می‌تواند اکسیداسیون چربی را به تأخیر اندازد ولی استفاده از ضد اکسایشی‌های سنتزی به سبب عوارض جانبی آنها از نظر قوانین محدودیت دارد، زیرا این ترکیبات می‌توانند موجب سرطان و بروز برخی از بیماری‌ها شوند [۴، ۵]، این موضوع ما را بر آن می‌دارد که از ترکیبات ضد اکسایشی‌های طبیعی به جای ضد اکسایشی‌های سنتزی استفاده کنیم، تعداد زیادی از ضد اکسایشی‌های طبیعی قبلاً از انواع مواد گیاهی نظیر دانه‌های روغنی، سبزیجات، میوه‌ها، برگ‌ها و دیگر اندام‌های گیاه استخراج شده است [۶، ۷] در این میان عصاره‌های مختلف گیاهی که غنی از پلی فنول‌ها هستند به عنوان ضد اکسایشی‌های قوی در مواد غذایی مختلف مانند روغن‌های خوراکی مطرح می‌باشند [۸]. در سال‌های اخیر ترکیبات فنولی به دلیل نقش آنها در ممانعت از آسیب‌های بسیاری از بیماری‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند [۹]. فنول‌ها و ترکیبات فنولی، که به طور گسترده در محصولات غذایی یافت شده فعالیت ضد اکسایشی قابل ملاحظه‌ای دارند [۲].



### درصد فنول کل

درصد فنول کل عصاره آبی اندام‌های هوایی گیاه گاوزبان طبق روش فررز و همکاران (۲۰۰۹) در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد و میزان فنول کل بر اساس منحنی استاندارد اسید گالیک و به صورت میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک بیان شد [۱۷].

### سنجش فعالیت ضداکسایشی با استفاده از رادیکال DPPH

جهت تهیه عصاره الکلی مقدار ۰/۵ گرم از پودر خشک شده گیاهی با ۲۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت با روش خیساندن و به کمک دستگاه تکان‌دهنده عصاره‌گیری شد و پس از صاف کردن، عصاره حاصل با اتانول ۸۰ درصد به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول اتانولی DPPH با غلظت  $6 \times 10^{-5}$  مولار تهیه شد. به ۱/۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های متفاوت عصاره الکلی که شامل: ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند، ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول DPPH اضافه شد و به مدت ۴۵ دقیقه جهت تکمیل واکنش در تاریکی قرار داده شد. پس از گذشت زمان موردنظر با استفاده از دستگاه طیف نورسنج (مدل VARIAN 100) کاهش جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد.  $IC_{50}$  مقدار غلظت ضداکسایشی موردنیاز برای خنثی‌سازی ۵۰ درصد رادیکال‌های اولیه DPPH می‌باشد. درصد فعالیت خنثی‌سازی رادیکال‌های DPPH توسط فرمول زیر محاسبه شد:

$$\%DPPH = \left( \frac{A_{control} - A_{test}}{A_{control}} \right) \times 100$$

عدد خوانده شده برای کنترل (محلول DPPH بدون عصاره گیاهی) = A control

عدد خوانده شده برای نمونه‌های گیاهی به همراه محلول DPPH = A test

با رسم خط رگرسیون بین غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میزان  $IC_{50}$  محاسبه شد. داده‌های این

نظر به اینکه گیاهان منبع ضداکساینده‌ها طبیعی می‌باشند [۶] و همچنین با توجه به نقش کلسیم در سنتز ترکیبات فنولی و از طرفی نقش اسیدهای فنولیک در افزایش فعالیت ضداکسایشی و حذف گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال آزاد، اثر محلول‌پاشی کلسیم نترات بر فعالیت ضداکسایشی و میزان ترکیبات فنولیک در مرحله گلدهی و بذردهی گیاه گاوزبان در این تحقیق مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق با هدف بررسی تأثیر کاربرد سطوح مختلف کلسیم نترات بر فعالیت ضداکسایشی اندام‌های هوایی گیاه گاوزبان به صورت آزمایش اسپلنت در زمان و در طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در سال زراعی ۸۸ - ۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی واقع در کرج اجرا شد.

تیمارهای آزمایش شامل کاربرد سطوح کلسیم نترات (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌مولار) و آب مقطر به عنوان شاهد به همراه ۰/۱ درصد توین (Tween) ۲۰ به صورت محلول‌پاشی در مراحل مختلف رویشی (گلدهی و بذردهی) بر روی اندام‌های هوایی گیاه گاوزبان بود. کرت‌های آزمایشی به مساحت ۶ مترمربع بود و تراکم گیاهی ۱۲۰۰۰۰ بوته در هکتار بود. قبل از کاشت گاوزبان، از خاک مزرعه جهت تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌برداری شد (جدول شماره ۱). در پاییز به میزان ۲۰ تن در هکتار کود دامی کاملاً پوسیده به خاک اضافه و با شخم و دیسک با خاک مخلوط شد. پس از ایجاد واحدهای آزمایشی، بذور گاوزبان در تاریخ ۱۵ مهرماه کشت شدند و عملیات آبیاری و سایر عملیات زراعی بر حسب نیاز گیاه انجام گرفت. پس از سبز شدن گیاه با شروع فصل سرما، گیاه وارد مرحله رزت شد. در بهار سال بعد با شروع رشد مجدد گیاه عملیات وجین دستی جهت حذف علف‌های هرز مزرعه صورت گرفت. اعمال تیمار در اواسط مرحله گل‌دهی و بذردهی انجام و یک هفته پس از هر اعمال تیمار، نمونه‌گیری جهت اندازه‌گیری پارامترهای مربوطه صورت گرفت.



فنول در مرحله گلدهی بیش از مرحله بذردهی بود (نمودار شماره ۱). محلول پاشی سطوح مختلف کلسیم نیترات بر درصد فنول تأثیر معنی داری ( $p < 0/01$ ) داشت (جدول شماره ۲) و بیشترین درصد فنول در تیمار ۱۵ میلی مولار کلسیم نیترات و کمترین میزان فنول در تیمار ۵ میلی مولار مشاهده شد (نمودار شماره ۲).

مطالعه توسط نرم افزار آماری SAS تجزیه و مقایسه میانگین ها به روش آزمون LSD انجام شد [۱۸].

## نتایج

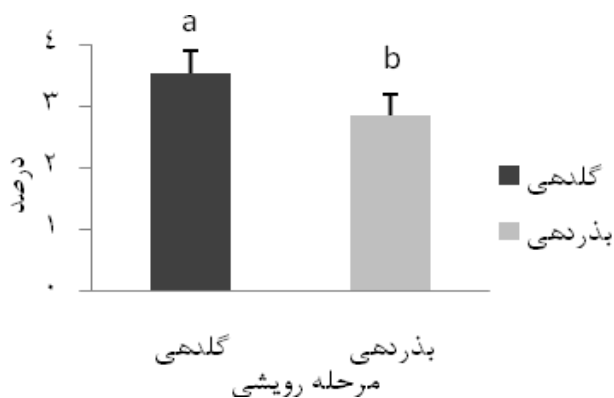
نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد، کاربرد کلسیم نیترات در مراحل مختلف رویشی تأثیر معنی داری ( $p < 0/05$ ) بر میزان ترکیبات فنولیک داشت. (جدول شماره ۲) و درصد

جدول شماره ۱- مشخصات خاک مورد آزمایش در اعماق مختلف

اسیدیته	هدایت الکتریکی	تخلخل	نیترژن کل	فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب
pH	Ds/m	درصد	درصد	ppm	ppm
۷/۹	۱/۲	۳۱/۶۲	۰/۷۵	۱۱/۹	۱۲۵

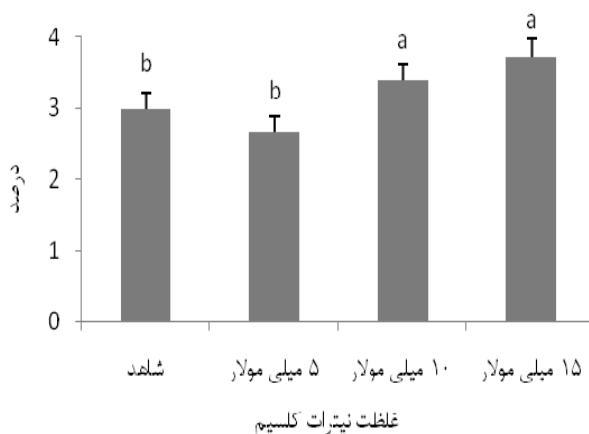
جدول شماره ۲- تجزیه واریانس میانگین مربعات اثرات تیمار و مرحله رویشی بر میزان فنول و IC50

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی	IC50	درصد فنول
بلوک	۲	۷۰۸۳/۳**	۰/۷۴۴**
مرحله رویشی	۱	۲۰۲۹۴/۹۳*	۲/۸۷۷*
خطای اصلی	۲	۳۰۱/۶۵ <sup>n.s</sup>	۰/۱۳۸ <sup>n.s</sup>
تیمار	۳	۴۲۲۶۷/۳**	۱/۳۱۵**
تیمار × مرحله رویشی	۳	۵۸۹/۹۵ <sup>n.s</sup>	۰/۰۲۶ <sup>n.s</sup>
خطای آزمایشی	۱۲	۶۴۳/۷۴	۰/۰۷۹
ضریب تغییرات		۸/۳۹	۸/۸۲



نمودار شماره ۱- مقایسه میانگین تأثیر مرحله رویشی بر درصد فنول





نمودار شماره ۲- مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف کلسیم نیترات بر درصد فنول

غلظت کلسیم کلرید در محلول غذایی موجب افزایش فعالیت پراکسیداز می‌شود [۱۴]، اما در بعضی از تحقیقات افزایش کلسیم، موجب کاهش فعالیت پراکسیداز و پلی‌فنول‌اکسیداز شده است [۱۳]. اخیراً پنل (Penel) (۱۹۹۹) بیان کرد کلسیم به طور غیرمستقیم موجب فعال شدن پراکسیداز می‌شود. این کاتیون موجب ایجاد پیوند بین پلی‌گالاکتوریون‌ها و ایجاد ساختاری می‌شود که توسط پراکسیداز قابل شناسایی است [۱۹]. رویز و همکاران (۲۰۰۳) در تحقیقی بر روی گیاه تنباکو دریافتند با افزایش غلظت کلسیم، میزان فنول کل افزایش پیدا کرد. این در حالی بود که فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیلایز نیز افزایش یافت، که احتمالاً تأثیر کلسیم بر فعالیت آنزیم سنتز کننده فنول بیشتر از آنزیم‌های اکسیدکننده فنول‌هاست. تحقیق دیگری بر روی گیاه سویا نشان داد با افزایش غلظت کلسیم در محلول غذایی، میزان فنول کل، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز کاهش یافت [۱۵]. همچنین در مطالعه دیگری با کاربرد غلظت‌های بالای کلسیم نیترات، افزایش درصد فنول در مرحله گلدهی گیاه گاوزبان مشاهده شد [۲۰].

سنتز اسیدهای فنولیک موجب افزایش فعالیت ضدکاسیاسی و کاهش رادیکال‌های آزاد در گیاه می‌شود. این به دلیل قابلیت ترکیبات فنولی در خنثی‌سازی رادیکال

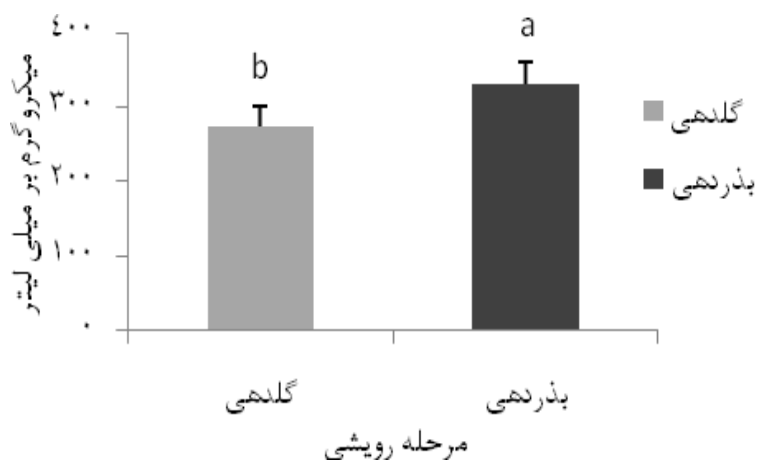
میزان IC50 در دو مرحله رشد مورد بررسی به طور معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) متفاوت بود و بیشترین IC50 در مرحله بذردهی مشاهده شد (نمودار شماره ۳)، همچنین غلظت‌های مختلف کلسیم نیترات تأثیر معنی‌داری ( $p < 0.01$ ) بر IC50 داشت و بیشترین میزان IC50 در غلظت ۵ میلی‌مولار کلسیم نیترات مشاهده شد (نمودار شماره ۴).

اثر متقابل تیمار و مرحله رشد بر درصد فنول و میزان IC50 از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول شماره ۲). البته در مرحله بذردهی و تیمار کلسیم نیترات ۱۵ میلی‌مولار، بالاترین درصد فنول حاصل شد. همچنین در مرحله گلدهی و تیمار ۵ میلی‌مولار کلسیم نیترات، بالاترین میزان IC50 مشاهده شد (نمودار شماره‌های ۵ و ۶).

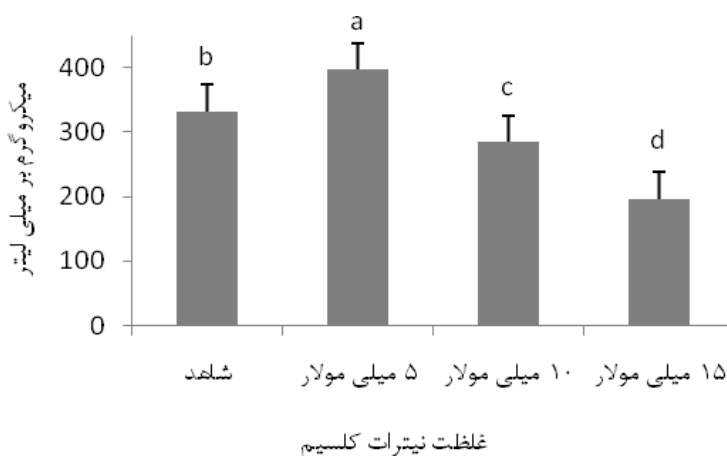
## بحث

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد کاربرد غلظت‌های بالای کلسیم نیترات موجب افزایش درصد فنول در مرحله گلدهی شد (نمودار شماره‌های ۱، ۳، ۵). اولین مطالعه‌ای که نقش مستقیم کلسیم را در سنتز ترکیبات فنولی نشان داده توسط کاستاندا و پرز (Castaneda and Perez) (۱۹۹۶) انجام شده است. آنها دریافتند که محلول پاشی کلرید کلسیم روی برگ موجب افزایش فعالیت فنیل‌آلانین آمونیلایز شده است [۱۱]. سودر هال (Soderhall) (۱۹۹۵) نشان داد افزایش

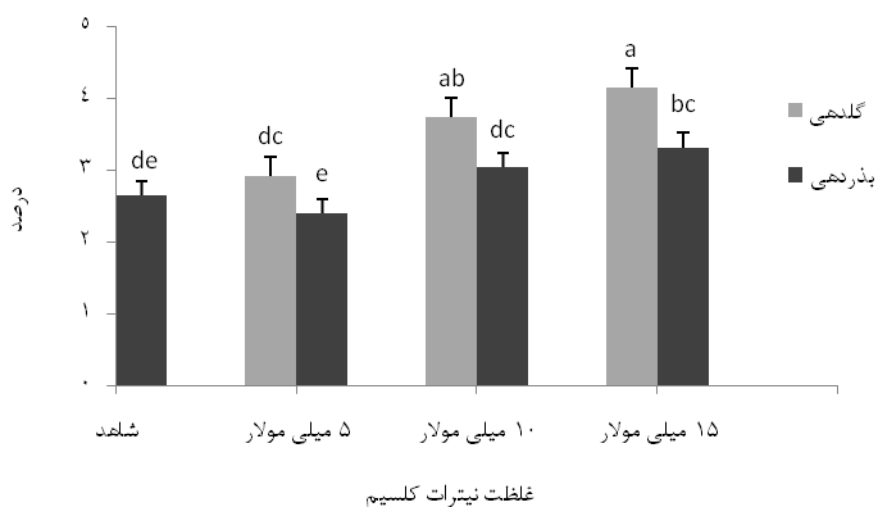




نمودار شماره ۳- مقایسه میانگین تأثیر مرحله رویشی بر میزان IC50

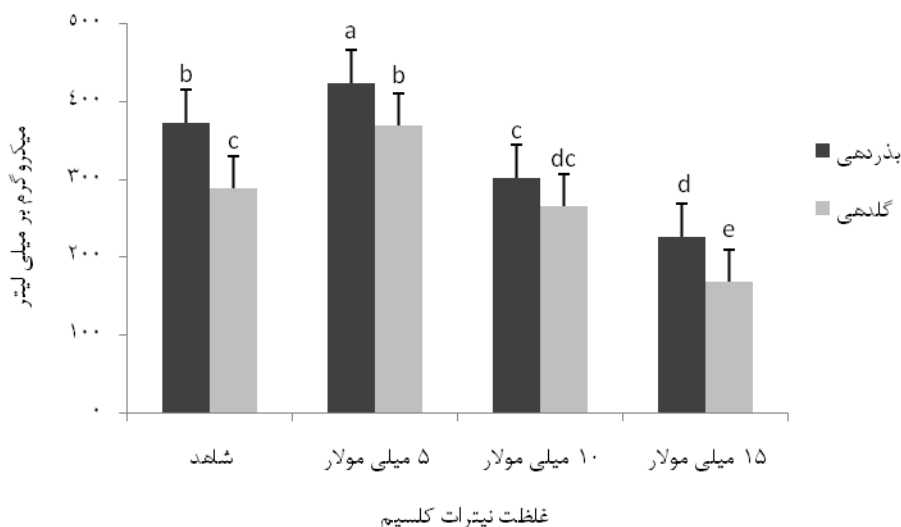


نمودار شماره ۴- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کلسیم نیترات بر میزان IC50



نمودار شماره ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل مرحله رویشی و کلسیم نیترات بر درصد فنول





نمودار شماره ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل مرحله رویشی و کلسیم نیترات بر میزان IC50

ترکیبات فنولی، فعالیت ضداکسایشی کاهش یافت [۲۲] و بین میزان پلی فنولها و فعالیت بازدارندگی DPPH (ضداکسایشی) در گیاه نخود [۲۳] و رازیانه [۲۴] همبستگی مثبت گزارش شده است. در آزمایشی که توسط آگاو و همکاران (۲۰۰۵)، صورت گرفت، کاربرد کلرید کلسیم موجب افزایش فعالیت ضداکسایشی در گیاهچه‌های گندم شد [۲۵].

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد غلظت بالای کلسیم نیترات موجب افزایش فنول و افزایش فعالیت ضداکسایشی در گیاه گاوزبان شده است که می‌توان با تحقیقات بیشتر در برنامه‌های تولید این گیاه مورد توجه قرار داد.

هیدروکسیل می‌باشد [۱۶]. با توجه به نقشی که کلسیم در افزایش فنول و همچنین نقشی که در افزایش فعالیت ضداکسایشی دارد، در این آزمایش نیز، کاربرد غلظت بالای کلسیم نیترات موجب کاهش میزان IC50 شده است (نمودارهای شماره ۲، ۴ و ۶). با توجه به اینکه IC50 با فعالیت ضداکسایشی رابطه عکس دارد، کاربرد کلسیم نیترات ۱۵ میلی‌مولار موجب افزایش فعالیت ضداکسایشی (DPPH) در این گیاه شده است. لازم به ذکر است که قبلاً در تحقیقی نشان داده شده، که عصاره برگ‌های گاوزبان، توانایی حذف رادیکال DPPH را دارد و این توانایی مربوط به خاصیت ضداکسایشی ترکیبات فنولی موجود در عصاره برگ‌های گاوزبان می‌باشد [۲۱]. همچنین در تحقیق دیگری با کاهش

## منابع

1. Shahidi F and Wanasundara P. Phenolic antioxidants. *Critical Review in Food Science and Nutrition*. 1992; 32: 67 - 103.
2. Kumaran A and Karunakaran RJ. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chem*. 2006; 97: 109 - 14.
3. Lee SE Hwang HJ Ha JS Jeong HS and Kim. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. *Life Sci*. 2003; 73: 167 - 79.
4. Hettiarachchy NS Glenn KC Gnanasambandam R and Johnson MG. Natural antioxidant extracts from fenugreek for ground beef patties. *Journal of Food Sci*. 1996; 61: 516 - 9.



5. Kubola J and Siriamornpun S. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf stem and fruit fraction extracts in vitro. *Food Chem.* 2008; 110: 881 - 90.
6. Ramarathnam N Osawa T Ochi H and Kawakishi S. The contribution of plant food antioxidant to human health. *Trends in Food Science and Technol.* 1995; 6: 75 - 82.
7. Ramchandran AG Chettiyar RS and Pakhale SS. Evaluation of antioxidant and anti-initiating activities of crude polyphenolic extracts from seedless and seeded Indian grapes. *Food Chem.* 2010; 119: 298 - 305.
8. Naghdibadi H Soroshzadeh A Rezazadeh Sh Sharifi N Ghalavand A and Omidi H. Review on borage (valuable medicinal plant and the richest plant source of gamma linolenic acid). *J. Medicinal Plants* 2007; 24: 1 - 13.
9. Soto C Concha J and Zuniga ME. Antioxidant content of oil and defatted meal obtained from borage seeds by an enzymatic-aided cold pressing process. *Process Biochem.* 2009; 52: 30 - 7.
10. Ahmadi A Ehsanzadeh P and Jabbari F. Introduction to plant physiology. 2nd ed. *University of Tehran Press.* Iran. 2004.
11. Castaneda P and Perez LM. Calcium ions promote the response of citrus lemon against fungal elicitors or wounding. *Phytochem.* 1996; 42: 595 - 8.
12. Kanmegne G and Omokolo ND. Changes in phenol content and peroxidase activity during *in vitro* organogenesis in *Xanthosoma sagittifolium* L. *Plant Growth Regulation.* 2003; 40: 53 - 7.
13. Ruiz JM Rivero RM Lo'pez-Cantarero I and Romero L. Role of Ca in the metabolism of phenolic compounds in tobacco leave (*Nicotiana tabacum* L.). *Plant Growth Regulation* 2003; 41: 173 - 7.
14. Soderhall I. Properties of carrot polyphenol oxidase. *Phytochem.* 1995; 39: 33 - 8.
15. Finger Teixeira A de Bastos Andrade A Ferrarese - Filho O and de Lourdes Lucio Ferrarese M. Role of calcium on phenolic compounds and enzymes related to lignification in soybean (*Glycine max* L.) root growth. *Plant Growth Regulation* 2006; 49: 69 - 76.
16. Wettasinghe M and Shahidi F. Scavenging of reactive-oxygen species and DPPH free radical by extracts of borage and evening primrose meals. *Food Chem.* 2000; 70: 17 - 26.
17. Ferreres F Gomes D Valent P Gonçalves R Pio R Chagas EA Seabra RM and Andrade PB. Improved loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars: Variation of phenolics and antioxidative potential. *Food Chem.* 2009; 114: 1019 - 27.
18. De Ciriano MG Garcia-Herreros C Larequi E Valencia I Ansorena D and Astiasaran I. Use of natural antioxidants from lyophilized water extracts of *Borago officinalis* in dry fermented sausages enriched in  $\omega$ -3 PUFA. *Meat Sci.* 2009; 83: 271 - 7.
19. Penel C Van Cutsem P and Greppin H. Interactions of a plant peroxidase with oligogalacturonides in the presence of calcium ions. *Phytochem.* 1999; 51: 193 - 8.
20. Shams H, Naghdibadi H, Omidi H, Rezazadeh Sh, Soroshzadeh A and Sahandi M. Qualitative and quantitative changes in the aerial parts of borage under foliar application of Calcium Nitrate. *J. Medicinal Plants* 2009; 30: 138 - 44.
21. Wettasinghe M Shahidi F Amarowicz R and Abou-zaid MM. Phenolic acids in defatted Seeds of borage (*Borago officinalis* L.). *Food Chem.* 2001; 75: 49 - 56.
22. Oms-Oliu G Odriozola-Serrano I Soliva-Fortuny R and Martín-Belloso O. The role of peroxidase on the antioxidant potential of fresh-cut 'Piel de Sapo' melon packaged under different





modified atmospheres. *Food Chem.* 2008; 106: 1085 - 92.

**23.** Siddhuraju P and Becker K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* L.) seed extracts. *Food Chem.* 2007; 101: 10 - 19.

**24.** Meot-Duros L and Magne C. Antioxidant activity and phenol content of *Crithmum*

*maritimum* L. leaves. *Plant Physiology and Biochem.* 2009; 47: 37 - 41.

**25.** Agarwal S Sairam RK Srivastava GC Tyagi A and Meena RC. Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings. *Plant Sci.* 2005; 169: 559 – 70.



## Evaluation of Calcium Effect on Antioxidant Activity and Phenolic Compound Content in Borage (*Borago officinalis* L.)

Shams H (M.Sc. Student)<sup>1</sup>, Naghdi Badi H (Ph.D.)<sup>2</sup>, Omidi H (Ph.D.)<sup>1\*</sup>, Rezazadeh Sh (Ph.D.)<sup>2</sup>, Soroushzadeh A (Ph.D.)<sup>3</sup>

1- Agriculture College, Shahed University, Tehran, Iran

2- Cultivation & Development Department of Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran

3- Agriculture College, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

\*Corresponding author: Agriculture College, Shahed University, Tehran, Iran, km 25 of Tehran – Qom, P.O.Box: 18155/159, Tehran, Iran

Tel & Fax: +98 – 21 – 51213113 - 4

Email: heshmatomidi@yahoo.com

### Abstract

**Background:** Borage of *Boraginaceae* family is a valuable medicinal plant. This plant because their seeds contain unsaturated fatty acids is introduced as an important food. Many research has indicated that the borage extract is able to scavenge active oxygen species and DPPH free radical

**Objective:** To study the effect of different levels of calcium nitrate on phenolic contents and antioxidant activities in aerial parts of borage.

**Methods:** The split-plot experiment based on randomized complete block design with three replications in the research farm of Institute of Medicinal Plants, ACECR, located in Karaj was done from 2008 to 2009.

**Results:** Results showed that Phenolic content and antioxidant activity (IC<sub>50</sub>) in the various stages of growth significantly was different ( $p < 0.05$ ). Also, spraying of calcium nitrate had significant effect ( $p < 0.01$ ) on antioxidant activity and phenolic content, but interaction effect of calcium nitrate and vegetative stages on amount of phenol and IC<sub>50</sub> wasn't significant.

**Conclusion:** Generally, results showed that spraying calcium nitrate throughout seed ripening increased antioxidant activity of borage plants. Considering to the borage plant is important in the formulation of health and food products, the increasing antioxidants compounds can be valuable.

**Keywords:** Coriander, Cattle manure, Azotobacter, Azospirillum, Essential oil

