بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده علوم زیستی

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد

اعضای هیئت داوران نسخهٔ نهایی پایان‌نامه **خانم سارا سبحان نژاد** رشته **علوم گیاهی** تحت عنوان: **«تاثیر امواج فراصوت بر برخی متابولیتهای ثانویه سلولهای جداکشت جعفری»** از نظر فرم و محتوا بررسی نموده و آنرا برای اخذ درجهٔ کارشناسی‌ارشد مورد تائید قرار دادند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر فائزه قناتی	دانشیار	
۲- استاد مشاور	دکتر مهرداد بهمنش	دانشیار	
۳- استاد ناظر داخلی	دکتر فاطمه زرین کمر	دانشیار	
٤- استاد ناظر خارجی	دکتر وحید نیکنام	استاد	
٥- نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر فاطمه زرین کمر	دانشیار	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **سارا سبحان نژاد** دانشجوی رشته **زیست‌شناسی** گرایش **فیزیولوژی گیاهی** ورودی سال تحصیلی **۱۳۹۰** مقطع **کارشناسی ارشد** دانشکده **علوم زیستی** متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می‌دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم ».

نام و نام خانوادگی: سارا سبحان نژاد

تاریخ و امضا: ۹۲/۱۲/۵

آیین نامهٔ چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به دفتر «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحهٔ سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته **علوم زیستی** گرایش **فیزیولوژی گیاهی** است که در سال **۱۳۹۲** در دانشکده **علوم زیستی** دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **خانم دکتر فائزه قناتی** و مشاورهٔ **آقای دکتر مهرداد بهمنش** از آن دفاع شده است».

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیهٔ کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در مادهٔ ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶: اینجانب **سارا سبحان‌نژاد** دانشجوی رشته **زیست‌شناسی** گرایش **فیزیولوژی گیاهی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: سارا سبحان نژاد

تاریخ و امضا: ۹۳/۱۲/۵

دانشکده علوم زیستی

پایان نامه

دوره کارشناسی ارشد علوم گیاهی، گرایش فیزیولوژی

عنوان

تاثیر امواج فراصوت بر برخی متابولیت‌های ثانویه سلول‌های جداکشت جعفری (*Petroselinum crispum* L.)

نگارنده

سارا سبحان نژاد

استاد راهنما

دکتر فائزه قناتی

استاد مشاور

دکتر مهرداد بهمنش

دی ۱۳۹۲

تقدیم به عزیزانم که وجودم در کنارشان معنا می‌یابد،

پدرم، مادرم و برادرم

به پاس محبت خالصانه قلب‌های بزرگشان،

به پاس سخاوتمندی سرشار دستان پرمهرشان،

و به پاس گرمای بی‌نهایت وجودشان که در سرمای روزگاران بهترین پناه من است...

تقدیر و تشکر

سپاس بی کران پروردگار یکتا را که هستی مان بخشید، به طریق علم و دانش رهنمونمان شد و قطره‌ای از دریای بیکران علم و معرفت را روزیمان ساخت.

بر خود لازم می دانم مراتب قدردانی و احترام قلبی خود را نسبت به استاد راهنمای عزیز و گرامیم سرکار خانم دکتر فائزه قناتی که با راهنمایی و یاری بی چشمداشت خود بسیاری از سختی‌ها را برایم آسان نمودند و همچنین مشاور گرانقدرم جناب آقای دکتر مهرداد بهمنش که مرا از تجربه‌های ارزشمند خود بهره‌مند ساختند، به جا آورم.

از اساتید محترم گروه علوم گیاهی، خانم دکتر فاطمه زرین کمر و آقایان دکتر مظفر شریفی، دکتر شاهرخ کاظم پور و دکتر حسن زارع مایوان که در این دوره از محضر ایشان استفاده کردم و همچنین از مسئول محترم آزمایشگاه، خانم خرمی شاد کمال تشکر را دارم.

از دوست عزیزم نجمه برکچی فرد که همواره در کنار من بود و از هیچ تلاشی فروگذار نکرد، بی نهایت سپاسگزارم.

چکیده:

اخیرا توجهات بسیاری به اثرات سودمند و کاربردهای باالقوه امواج فراصوت با انرژی پایین در سیستم‌های زیستی و فرآیندهای زیست فن آورانه معطوف شده است. مقدار سنجی پتاسیم یداید فروریختگی حباب‌های گازی را تحت تاثیر امواج فراصوت نشان داد. همچنین آشکارسازی رادیکال هیدروکسیل تولید شده در اثر تیمار با امواج فراصوت با استفاده از لومینول انجام شد. تحقیق حاضر به منظور درک بهتر تاثیرات امواج فراصوت بر فیزیولوژی سلول‌های گیاه جعفری (*Petroselinum crispum* L.) در کشت تعلیقی و تولید متابولیت‌های ثانویه به وسیله آن‌ها صورت پذیرفت. بدین منظور سلول‌های جداکشت جعفری توسط امواج فراصوت با قدرت ۴۵۵/۲ mW/cm^2 و فرکانس ثابت ۲۹ KHz، به مدت ۱۰، ۲۰ و ۴۰ دقیقه تیمار شدند. بر اساس نتایج به دست آمده، امواج فراصوت در زمان‌های کوتاهتر، نه تنها اثر منفی بر میزان رشد، زنده مانی و تمامیت غشای سلول‌ها ندارند بلکه منجر به افزایش زیتوده، افزایش میزان پروتئین، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی از قبیل کاتالاز و پراکسیداز، افزایش فعالیت آنزیم PAL (آنزیم کلیدی در بیوسنتز ترکیبات فنلی)، افزایش فنل‌های محلول و افزایش ۸ برابری فلاونوئیدهای آپیژنین و کوئرستین به عنوان دو ترکیب مهم دارویی شد. بر بنای نتایج حاصل می‌توان استفاده از امواج فراصوت را برای تحریک بیوسنتز برخی متابولیت‌های ثانویه در سلول‌های جداکشت جعفری پیشنهاد کرد.

واژگان کلیدی: آپیژنین، امواج فراصوت، تمامیت غشا، کوئرستین، گیاه جعفری

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه ۱

۱-۱. امواج فراصوت و تاثیرات آن بر سیستم‌های زنده ۲

۱-۱-۱. معرفی امواج فراصوت ۲

۱-۱-۲. کاربرد امواج فراصوت و اثر آن بر سیستم‌های زیستی ۳

۱-۲. امواج فراصوت و سیستم آنتی‌اکسیدان ۴

۱-۳. متابولیت‌های ثانویه ۶

۱-۳-۱. گیاه جعفری (*Petroselinum crispum* L.) و متابولیت‌های ثانویه آن ۷

۱-۴. اهداف پژوهش ۸

فصل دوم: مواد و روش‌ها ۱۰

۲-۱. بنیانگذاری ونگهداری لاین سلولی جعفری و پایه گذاری کشت تعلیقی ۱۱

۲-۲. دستگاه مولد امواج فراصوت ۱۲

۲-۲-۱. مقدار سنجی پتاسیم یداید تحت تاثیر امواج فراصوت ۱۳

۲-۲-۲. آشکار سازی رادیکالهای آزاد تولید شده در اثر امواج فراصوت ۱۳

۲-۲-۳. تیمار سلول‌های جداکشت جعفری با امواج فراصوت ۱۴

۲-۳. اندازه‌گیری رشد سلولی، مشاهدات میکروسکوپی و تعیین درصد زنده بودن سلول‌ها ۱۴

۲-۴. آنالیزهای بیوشیمیایی ۱۵

۲-۴-۱. اندازه‌گیری میزان pH ۱۵

۲-۴-۲. اندازه‌گیری هدایت الکتریکی ۱۵

۲-۴-۳. بررسی تمامیت غشا ۱۵

۲-۴-۴. اندازه‌گیری میزان قندها (قند کل، مانوز و رامنوز) ۱۶

۲-۴-۵. اندازه‌گیری میزان پروتئین کل ۱۷

۲-۴-۶. اندازه‌گیری قدرت احیا کنندگی عصاره سلول‌های جعفری ۱۷
۲-۴-۷. ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد ۱۷
۲-۴-۸. تعیین مقدار هیدروژن پراکسید (H_2O_2) ۱۸
۲-۴-۹. استخراج و اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) ۱۸
۲-۴-۱۰. استخراج و اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز (PO) ۱۸
۲-۴-۱۱. استخراج و اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) ۱۹
۲-۴-۱۲. استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) ۱۹
۲-۴-۱۳. استخراج و اندازه گیری فنل کل محلول ۲۰
۲-۴-۱۴. استخراج و اندازه گیری فلاونوئید کل ۲۰
۲-۴-۱۵. استخراج و اندازه گیری آنتوسیانین کل ۲۰
۲-۵. استخراج و آنالیز فلاونوئیدهای آپیژنین و کوئرستین ۲۱
۲-۶. تجزیه و تحلیل آماری ۲۲

فصل سوم: نتایج ۲۳
۳-۱. مقدارسنجی شیمیایی پتاسیم یداید ۲۴
۳-۲. سونوشیمی نورتاب ۲۴
۳-۳. رشد و توان زنده بودن سلول‌های جداکشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) تحت تاثیر امواج فراصوت ۲۵
۳-۴. روند تغییر pH در محیط کشت سلول‌های تحت تیمار با امواج فراصوت ۲۶
۳-۵. تغییر میزان هدایت الکتریکی (EC) ۲۷
۳-۶. تمامیت غشاهای سلول‌ها ۲۸
۳-۷. قندهای محلول (قند کل، مانوز و رامنوز) ۳۰
۳-۸. محتوای پروتئین کل ۳۱
۳-۹. قدرت احیا کنندگی ۳۲

۳-۱۰. ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد ۳۳
۳-۱۱. محتوای هیدروژن پراکسید ۳۴
۳-۱۲. فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) ۳۵
۳-۱۳. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (PO) ۳۶
۳-۱۴. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) ۳۷
۳-۱۵. فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) ۳۸
۳-۱۶. محتوای ترکیبات فنلی محلول ۳۹
۳-۱۷. محتوای ترکیبات فلاونوئیدی ۴۰
۳-۱۸. محتوای آنتوسیانین ۴۱
۳-۱۹. محتوای کوئرستین و آپیژنین در سلول‌های جداکشت جعفری ۴۲

فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادها ۴۴
۴-۱. بحث و نتیجه‌گیری ۴۵
۴-۲. پیشنهادها ۵۱

فهرست منابع ۵۲
چکیده انگلیسی ۵۸

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول (۱-۱) سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان ۵

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل (۱-۱) طیف امواج صوتی ۲

شکل (۱-۲) مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه ۶

شکل (۱-۳) ساختار فلاونوئیدهای آپیژنین (الف) و کوئرستین (ب) ۸

شکل (۲-۱) سلول‌های جعفری(*Petroselinum crispum* L.) در محیط کشت LS جامد(الف) و کشت تعلیقی(ب) ۱۱

شکل (۲-۲) منحنی رشد سلول‌های جعفری در محیط کشت تعلیقی ۱۲

شکل (۲-۳) نمونه پروب ساخته شده ۱۳

شکل (۲-۴) تبخیر فاز متانول/آب تحت جریانی از هوای صاف شده ۲۱

شکل (۳-۱) غلظت I_3 تولید شده نسبت به زمان ۲۴

شکل (۳-۲) آشکارسازی حضور رادیکالهای هیدروکسیل با لومینول، پس از قرار گرفتن در معرض امواج فراصوت ۲۵

شکل (۳-۳) میزان رشد و زنده بودن سلول‌های جداکشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) پس از قرار گرفتن در معرض امواج فراصوت در زمان‌های مختلف ۲۶

شکل (۳-۴) سلول‌های جداکشت جعفری تیمار شده باامواج فراصوت در زمان‌های مختلف ۲۶

شکل (۳-۵) روند تغییر pH در محیط سلول های تحت تیمار با امواج فراصوت در زمان های مختلف در سلول‌های جداکشت جعفری(*Peroselinum crispum* L.) ۲۷

شکل (۳-۶) تاثیر تیمار با امواج فراصوت در زمان‌های مختلف بر هدایت الکتریکی محیط کشت سلول‌های جداکشت جعفری (*Petroselinum crispum* L.) ۲۷

شکل (۳-۷) تاثیر امواج فراصوت در زمان‌های مختلف بر میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و میزان نشت الکترولیت‌ها در سلول‌های جداکشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) ۲۸

شکل (۳-۸) تاثیر امواج فراصوت در زمان های مختلف بر میزان نشت K^+ از غشای سلول های جداکشت جعفری (*Petroselinum crispum* L.) ۲۹

شکل (۳-۹) تاثیر امواج فراصوت در زمان‌های مختلف بر میزان نشت Ca^{2+} از غشای سلول‌های جداکشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) ۲۹

شکل (۳-۱۰) تاثیر امواج فراصوت بر محتوای قند کل، مانوز و رامنوز تحت تیمار با امواج فراصوت در زمان‌های مختلف در سلول‌های جداکشت جعفری (*Petroselinum crispum* L.) ۳۰

شکل (۳-۱۱) تغییرات محتوای پروتئین کل تحت تاثیر تیمار با امواج فراصوت در زمان های مختلف در سلول‌های جداکشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) ۳۱
شکل (۳-۱۲) قدرت احیا کنندگی سلولی تحت تاثیر تیمار با امواج فراصوت در زمان‌های مختلف در سلول‌های جداکشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) ۳۲
شکل (۳-۱۳) ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد تحت تاثیرامواج فراصوت در سلول های جدا کشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) ۳۳
شکل (۳-۱۴) تغییرات میزان هیدروژن پراکسید (H_2O_2) تحت تاثیرامواج فراصوت در سلول های جدا کشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) ۳۴
شکل (۳-۱۵) تغییرات میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) تحت تاثیر امواج فراصوت با زمان‌های متفاوت تابش در سلول‌های جدا کشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) ۳۵
شکل (۳-۱۶) تغییر فعالیت آنزیم پراکسیداز (PO) تحت تاثیرامواج فراصوت در سلول های جدا کشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) ۳۶
شکل (۳-۱۷) تغییر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز(SOD) تحت تاثیرامواج فراصوت در سلول های جدا کشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) ۳۷
شکل (۳-۱۸) تغییر فعالیت PAL تحت تاثیر امواج فراصوت در زمان‌های مختلف در سلول‌های جدا کشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) ۳۸
شکل (۳-۱۹) تغییر در محتوای ترکیبات فنلی سول‌های جداکشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) تحت تیمار با امواج فراصوت در زمان‌های مختلف ۳۹
شکل (۳-۲۰) تغییر در محتوای ترکیبات فلاونوئیدی سلول‌های جداکشت جعفری (*Petroselinum crispum* L.) تحت تیمار با امواج فراصوت در زمان‌های مختلف ۴۰
شکل (۳-۲۱) روند تغییر محتوای آنتوسیانین سلول‌های جداکشت جعفری (*Petroselinum crispum* L.) تحت تیمار با امواج فراصوت در زمان‌های مختلف ۴۱
شکل (۳-۲۲) تغییر در محتوای کوئرستین تحت تاثیر امواج فراصوت در زمان‌های مختلف در سلول‌های جداکشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) ۴۲
شکل (۳-۲۳) روند تغییر در محتوای آپیژنین تحت تاثیر امواج فراصوت در زمان های مختلف در سلول‌های جداکشت جعفری(*Petroselinum crispum* L.) ۴۳
شکل (۴-۱) پاسخ‌های دفاعی در سلول گیاهی ۴۸
شکل (۴-۲) ساختار گروه‌های مختلف فلاونوئیدها ۵۰

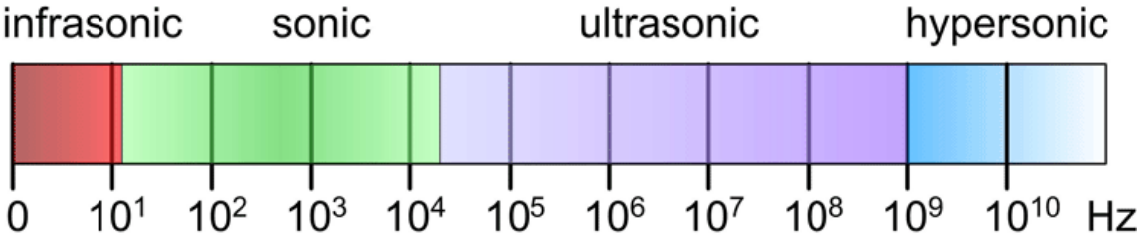
فصل اول:

مقدمه

۱-۱. امواج فراصوت و تاثیرات آن بر سیستم‌های زنده

۱-۱-۱. معرفی امواج فراصوت

امروزه مطالعه در مورد تاثیر عوامل فیزیکی بر سیستم‌های زنده گسترش یافته است. یکی از این عوامل امواج فراصوت[1] می‌باشد. حد شنوایی انسان بین ۲۰ Hz تا ۲۰ kHz متغیر است ولی امواج فراصوت دارای فرکانسی بالاتر از این حد یعنی دارای فرکانسی بالاتر از ۲۰ kHz هستند(شکل ۱-۱). امواج فراصوت با کاربردهای پزشکی عمدتا فرکانسی بین ۱ تا ۱۰ مگاهرتز دارند(Liu et al., 2006).



شکل (۱-۱) طیف امواج صوتی

یکی از روش‌های تولید امواج فراصوت به روش پیزو الکتریک می‌باشد. تاثیر متقابل فشار مکانیکی و نیروی الکتریکی را در یک محیط، اثر پیزو الکتریک می‌گویند. بلورهایی وجود دارند که در اثر فشار مکانیکی، نیروی الکتریکی تولید می‌کنند و برعکس، ایجاد اختلاف پتانسیل در دو سوی همین بلور و در همین راستا باعث فشردگی و انبساط آن‌ها می‌شود. ادامه دادن به این فشردگی و انبساط باعث نوسان و تولید امواج می‌گردد. مواد (بلورهای) دارای این ویژگی را مواد پیزو الکتریک می‌گویند بلور کوارتز اولین ماده‌ای بود که برای ایجاد امواج فراصوت مورد استفاده قرار گرفت(Mason & Lorimer, 1988).

1- Ultrasound

۱-۱-۲. کاربرد امواج فراصوت و اثر آن بر سیستم‌های زیستی

توانایی درک و پاسخ به محرک‌های فیزیکی در بین تمامی موجودات از اهمیت زیادی برخوردار است. در سال ۱۹۲۷ گزارش شد که امواج فراصوت به عنوان یک محرک فیزیکی می‌توانند تغییرات پایداری در سیستم‌های زنده ایجاد کنند. این گزارش آغازی برای استفاده از این امواج در علوم پزشکی بود (Wood & Loomis, 1927; Telewski, 2006; Haar, 2007). امروزه کاربردهای تشخیصی امواج فراصوت در عکس برداری به دلیل غیر تهاجمی و ارزان بودن این روش نسبت به سایر تکنیک‌ها از محبوبیت بیشتری برخوردار است(Feril & Kondo, 2004; Liu et al., 2006).

روشهای استفاده از امواج فراصوت در درمان[1] به دو گروه عمده تقسیم می‌شود:

۱- High power Therapy: که عمدتا در سنگ شکنی و درمان سرطان[2] استفاده می‌شود.

۲- Low power Therapy: که بیشتر شامل ژن درمانی، ترمیم استخوان‌ها و غضروف‌ها می‌باشد (Wang et al., 2006).

مطالعات اولیه بر روی اثرات و خطرات احتمالی استفاده از امواج فراصوت در درمان بر انسان و جانوران متمرکز بود. درحالی که امروزه اثرات مفید و کاربردهای باالقوه امواج فراصوت با شدت پایین در سیستم‌های زیستی و فرآیندهای زیست فناورانه توجه زیادی را به خود جلب کرده است.

امواج فراصوت با شدت‌های بالا اثرات مخربی بر روی سیستم‌های زنده دارند که از جمله آن‌ها می‌توان به تخریب غشاهای سلولی و غیر فعال کردن مولکول‌های زیستی مانند آنزیم‌ها و DNA اشاره کرد در حالیکه بنابر مطالعات انجام شده استفاده از امواج فراصوت با انرژی پایین می‌تواند تغییراتی مانند القای فعالیت‌های آنزیمی، تغییر ساختار اندامک‌های درون سلولی و همچنین افزایش رشد سلول‌ها ایجاد کند(Liu et al., 2003). همچنین تولید مولکول‌های علامت رسان مانند نیتریک اکسید و به دنبال آن افزایش فعالیت هیدروژن پراکسید و فنیل آلانین آمونیالیاز به عنوان دیگر اثرات امواج فراصوت گزارش شده است(Wu & Ge, 2004; Wu & Lin, 2002).

یکی از گسترده ترین اثرات غیر مخرب فراصوت روی سلول‌های زنده افزایش نفوذپذیری غشاها است که جذب ترکیبات خارجی و دفع فرآورده‌های درون سلولی توسط سلول را افزایش می‌دهد.

1- Ultrasound Therapy
2- Cancer Therapy

افزایش نفوذپذیری غشا جهت انتقال ترکیبات خارجی به درون سلول‌های زنده تحت تاثیر امواج فراصوت را Sonoporation می‌نامند. انرژی امواج فراصوت می‌تواند با تاثیر مستقیم بر روی غشا و تغییر نفوذ پذیری آن باعث نفوذ دارو به بافت شده و در نتیجه اثرات داروها از جمله داروهای ضد سرطان را تقویت کند(Liu et al., 2003). علاوه بر تسهیل انتقال ترکیبات خارجی به درون سلول ها، امواج فراصوت می‌تواند خروج فرآورده‌های درون سلولی نظیر متابولیت‌های ثانویه را در کشت سلول‌های گیاهی القا نماید و زمینه را برای استفاده مستمر از ظرفیت بیوسنتزی سلول‌ها فراهم سازد (Kilby & Hunter, 1990; Rezaei et al., 2011).

علاوه بر کاربردهای پزشکی در سال‌های اخیر استفاده از این امواج برای بهینه سازی و افزایش بازده فرآوری مواد غذایی، کاهش زمان و هزینه‌های فرآوری و سترون سازی در صنایع غذایی کاربردهای گسترده‌ای پیدا کرده است. اگرچه امواج فراصوت به تنهایی اثر ضد باکتریایی چندانی ندارند ولی استفاده از آن در کنار عوامل دیگر مانند حرارت[1]، فشار[2] یا هردو[3] می‌تواند به طرز موثر و کارآمدی سبب از بین بردن میکروارگانیسم‌ها گردد(Piyasena et al., 2003; Chemat et al., 2011). بر اساس این مطالعات می‌توان گفت اثرات امواج فراصوت بر سیستم‌های زنده از یک سو به نوع سلول و پاسخ آن به این محرک فیزیکی و از سوی دیگر به انرژی این امواج بستگی دارد.

۱-۲. امواج فراصوت و سیستم آنتی‌اکسیدان

گونه‌های فعال اکسیژن[4] درطی متابولیسم طبیعی سلول‌ها(فرآیندهایی مانند فتوسنتزو تنفس) و یا در اثر تحریک گیاهان با محرک‌های مختلف غیر زیستی و همچنین محرک‌های زیستی ایجاد می‌شود. مهم‌ترین گونه‌های فعال اکسیژن[5]، آنیون سوپراکسید($O_2^{\bullet-}$)، رادیکال هیدروکسیل (OH)، هیدروپراکسیل (OOH) و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) هستند (Franco et al., 2008). این مولکول‌ها دارای یک یا چندالکترون جفت نشده در اوربیتال هستند که به این دلیل تمایل زیادی به واکنش با سایر مولکول‌ها از جمله پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA در سلول دارند. گونه‌های فعال اکسیژن

1- Thermosonic
2- Manosonic
3- Manothermosonic
4- Reactive Oxygen Species
5- ROS

در واکنش با این مولکول‌ها می‌توانند باعث تغییر فعالیت و یا غیر فعال شدن آنها و درنهایت مرگ برنامه ریزی شده سلول‌ها گردند (Chen et al., 2008). لیپیدهای غشا از جمله ترکیباتی هستند که تحت تاثیر گونه‌های فعال اکسیژن قرار می‌گیرند و پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلول از جمله اثرات این مولکول‌ها می‌باشد. این امر سبب تغییر ساختار و نسبت لیپیدهای غشا شده و باعث کاهش تمامیت غشا و در نتیجه افزایش نفوذپذیری غشا می‌گردد. گیاه با استفاده از مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی می‌تواند غلظت گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش دهد و از این طریق از اثرات مخرب آن بکاهد. البته موفقیت کامل گیاه در این راستا به میزان فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه و غلظت گونه‌های فعال اکسیژن بستگی دارد (Plazek and Zur, 2003). جدول ۱-۱ اجزای مهم سیستمهای آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی را نشان می‌دهد.

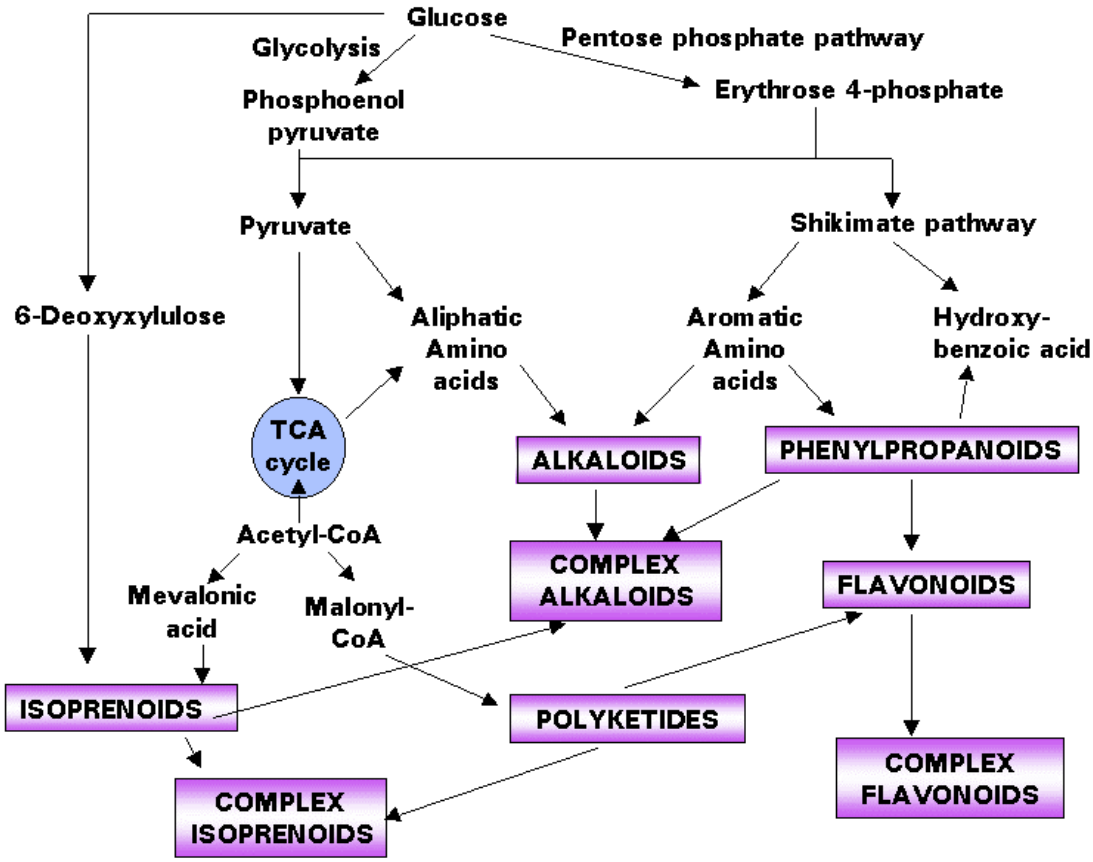
جدول (۱-۱) سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان

سیستم دفاعی آنتی اکسیدان	
آنتی اکسیدان های آنزیمی	آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی
کاتالاز (CAT) پراکسیداز (POD) سوپراکسید دیسموتاز (SOD) آسکوربات پراکسیداز (APX) گلوتاتیون ردوکتاز فنل اکسیداز	فلاونوئید ها، آنتوسیانین ها و سایر ترکیبات فنلی آسکوربات آلفا توکوفرول(ویتامین ای) بتاکاروتن پرولین

گونه‌های فعال اکسیژن دارای نقش‌های متفاوت و دوگانه‌ای هستند به گونه‌ای که گاهی باعث تشدید خسارت به گیاه می‌شوند و درمواقعی باعث فعال‌شدن مسیر علامت رسانی (سیگنالینگ) سلولی و بروز پاسخ‌های دفاعی می‌گردند. این پاسخ دفاعی در برخی موارد به شکل افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه مفید و دارویی می‌باشد. در هر صورت ROS اکسیدکننده است و می‌تواند واکنش‌های زنجیره‌ای را ایجاد کند که قادر هستند باعث تغییر سریع اعمال یا ساختارهای مولکولی گردند. بنابراین نوع و غلظت آن‌ها عامل کلیدی و تعیین‌کننده مفید و یا مضر بودن آن‌ها محسوب می‌شود. بدیهی است که چنین عملکرد دوگانه‌ای به کنترل دقیق منابع متعدد مولد ROS و سیستم‌های جاروب کننده آن‌ها در سطح سلول بستگی دارد(Dat et al., 2000).

۱-۳. متابولیت‌های ثانویه

متابولیت‌های اولیه ترکیباتی هستند که در همه گیاهان یافت شده، پراکنش یکنواختی دارند و برای موجودیت و بقای سلول‌های گیاهی الزامی می‌باشند. متابولیت‌های ثانویه در مقابل این ترکیبات قرار می‌گیرند. این ترکیبات دارای ساختار شیمیایی ویژه هستند و انواع آن منحصر به گونه یا حتی نژاد خاص می‌باشد که طی مسیرهای ویژه‌ای ساخته می‌شوند (شکل۱-۲). متابولیت‌های ثانویه اغلب در طی یک دوره رشد و نموی خاص در گیاه تولید می‌شوند واگرچه نقشی در فراهم کردن ملزومات متابولیت‌های اولیه ندارند اما توانایی کلی گیاه را برای زنده ماندن و غلبه بر شرایط محیطی افزایش می‌دهند. به طور کلی متابولیت‌های ثانویه نقش‌های متعددی مانند نقش حفاظتی به عنوان آنتی‌اکسیدان، جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن، جذب پرتوهای فرابنفش، دفاع از گیاه در برابر حمله پاتوژن‌ها مانند باکتری ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها و همچنین ایجاد ارتباطات بین گیاهی از جمله دگر آسیبی را دارا هستند(Kennedy & Wightman, 2011).



شکل (۱-۲) مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه