(گزارش کوتاه)

بررسی اثر روش‌های مختلف استخراج عصاره بر ترکیبات موثره و عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه دارویی *Cynara scolymus* L. در استان گلستان

آتنا منصول ملاشاهی خمکی [۱]، علی وارسته‌مرادی*[۲]

[۱] گروه شیمی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

[۲] گروه شیمی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۰۱ ؛ تاریخ پذیرش:۱۳۹٤/۰٦/۲۳

چکیده

کنگرفرنگی (آرتیشو) با نام علمی *Cynara scolymus* L. متعلق به تیره کاسنی است که به‌دلیل امکان سنتز ترکیبات پلی‌فنلی و فلاونوئیدهای آنتی‌اکسیدان، دارای خاصیت ضدالتهاب بوده و در صنایع غذایی و دارویی جایگاه ویژه دارد. در این تحقیق میوه‌های گیاه کنگر فرنگی در تابستان ۱۳۹۲ از مزرعه تحقیقات گیاهان دارویی کشت و صنعت گیاهان دارویی نیاک برداشت و عصاره اتانولی (۷۰ درصد) آنها با استفاده از روش‌های مختلف خیساندن و اولتراسوند استخراج گردید. اندازه‌گیری میزان فلاونوئید و فنل کل با استفاده از روش‌های اسپکتروفتومتری، عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها نیز با استفاده از روش‌های RP, TAC, DPPH و در نهایت میزان کوئرستین و گالیک اسید توسط دستگاه HPLC جداسازی و شناسایی گردید. نتایج نشان داد بیشترین مقدار فنل کل (۱۷۲/۰۳ mg GAE) و گالیک اسید (۱/٤۷ppm) متعلق به عصاره اولتراسوند ولی بیشترین میزان فلاونویید کل (۹۳/۲۲ mg QE) و کوئرستین (۳/۳ppm) در عصاره مستخرج به روش خیساندن گزارش شد . بیشترین میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی متعلق به عصاره اولتراسوند در روش RP با میزان IC50=0.39 µg/ml در مهار رادیکال آزاد گزارش شد. بررسی نتایج نشان می‌دهد که روش‌های استخراج عصاره و آنالیز نقش مهمی را در کمیت و کیفیت مواد موثره و عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاهان در مهار رادیکال‌های آزاد وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: آرتیشو (*Cynara scolymus* L.)، آنتی‌اکسیدان، استخراج عصاره، فنل، فلاونویید، کوئرستین و گالیک اسید

*نویسنده مسئول: avmoradi@yahoo.com

مقدمه

امروزه مصرف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌طور فزاینده در به تأخیر انداختن فرآیند اکسیداسیون، به مواد غذایی اضافه می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها در غلظت پایین به طور قابل توجهی اکسیداسیون سوبستراهای قابل اکسید را به تأخیر می‌اندازند (Choe and Min, 2009؛ Kamkar et al., 2010). گیاهان دارویی از جمله گیاه آرتیشو (کنگر فرنگی) نیز یکی از مهمترین منابع آنتی‌اکسیدانهای طبیعی محسوب می‌شود که به علت پتانسیل سنتز مواد موثره ثانوی فنلی و فلاونوییدی از مهمترین داروهای طبیعی آنتی‌اکسیدان با خواص ضدالتهابی را فراهم می‌کنند (Mozaffarian, 2012).

کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.) گیاهی علفی متعلق به تیره Asteraceae است که بیشتر در نواحی نیمه‌بیابانی ارمنستان و آسیای صغیر می‌روید (Askari, et al., 2008). ولی اغلب در مزارع دارویی کشور کشت می‌شود (Jamshidzadeh et al., 2005). ساقه و گل آذین این گیاه در قسمت های مختلف جهان به عنوان یک سبزی مغذی، مقوی کبد و داروی ضدالتهاب در کاهش چربی خون و کلسترول استفاده می‌شود (Karis et al., 2001؛ Coruh et al., 2007؛ Mirheidar et al., 1377).

در طب سنتی ترکیه از دانه های خشک شده این گیاه برای درمان بیماری برص و از برگ‌های تازه آن به عنوان مدر استفاده می‌شود (Aburajai, 2001). اسیدهای فنولیک (سیلیمارین)، کافئیک اسید و استرهای اسیدکینیک-اسید کافئیک از ترکیبات عمده گیاه محسوب می‌شوند که از آن جمله می‌توان به سودوکلروژنیک اسید (۱-کافئیل کینیک اسید)، کریپتوکلروژنیک اسید (۳-کافئیل کینیک اسید)، نئوکلروژنیک (۵-کافئیل کینیک اسید) و ۱و۵- دی کافئیک کینیک اسید (سینارین) اشاره نمود که از ترکیبات عمده عصاره دانه‌های گیاه محسوب می‌شوند (Gillery et al., 2001).

از آنجائی‌که هیچ یک از روش‌های رنگ‌سنجی نمی‌تواند همه انواع فلاونوئیدها را شناسایی کند و در روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید تنها فلاون‌ها و فلاونول‌ها قادرند کمپلکس پایداری با آلومینیوم کلرید را تشکیل دهند و از نظر کمی اندازه‌گیری شوند، لذا می‌توان نتیجه گرفت که میزان ترکیبات فنلی به تنهایی معیار دقیق و ثابتی جهت اثبات قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای یک نمونه نیست، بلکه ماهیت و میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی یک فراورده گیاهی شاخص قدرت آنتی‌اکسیدانی بالای آن است. علاوه بر این به جز ترکیبات فنلی، سایر ترکیبات موجود در عصاره نظیر قندها، آمینواسیدها، اسیدهای آلی، آمین‌های آروماتیک و ویتامین‌ها نیز قادر به احیاء این معرف می‌باشد (Salmanian et al., 1392؛ Mohsen and Ammar, 2009).

استفاده از روش‌های استاندارد استخراج نقش بسیاری در بهینه سازی کمیت و کیفیت مواد موثره گیاهان دارد. امروزه استخراج با روش فرا صوت (اولتراسوند) به‌دلیل کارایی بالاتر و مصرف انرژی کمتر میتواند، جایگزینی مناسب برای روش‌های استخراج قدیمی و به‌عنوان روشی اثبات شده در فراوری مواد موثره گیاهی، به‌ویژه ترکیبات با وزن مولکولی پایین باشد که این اثر افزایشی امواج فراصوت در میزان استخراج مواد گیاهی مربوط به شکستن سلول‌ها و رهایش محتویات آنها به محیط استخراج است (Milani et al., 2009؛ Patricia, 2010). به‌طوری‌که اولتراسوند می‌تواند دمای عملیاتی را کاهش دهد و امکان استخراج ترکیبات حساس به حرارت را فراهم سازد (Karami et al., 2010).

در این تحقیق برای نخستین بار، ترکیبات ثانوی عصاره گیاه (فنل و فلاونوییدکل) با استفاده از

روش های مختلف استخراج مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت و همزمان نقش روش‌های مختلف استخراج در ارزیابی میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی گیاه در مهار رادیکال‌های آزاد و امکان جداسازی کوئرستین و گالیک اسید سنجیده شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاه: میوه‌های رسیده گیاه کنگر فرنگی در تابستان ۱۳۹۲ از محل مزرعه تحقیقاتی گیاهان دارویی شرکت کشت و صنعت گیاهان دارویی نیاک (گرگان) با اقلیم نیمه مرطوب و خاک لوس-رسی جمع‌آوری شد، در شرایط آزمایشگاه خشک، پودر و برای عملیات آزمایشگاهی آماده گردید.

عصاره‌گیری به روش خیساندن- ماسراسیون مازندرانی و همکاران (Mazandarani et al., 2015): مقدار ۱۰۰ گرم از بذر گیاه را به صورت نیم‌کوب درآورده در ارلن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری ریخته و ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه کرده (تا جایی که سطح بذرها کاملاً پوشیده شود). درب ارلن را با پارافین بسته به مدت ٢٤ ساعت شیک می‌کنیم. محتوای ارلن را توسط کاغذ صافی صاف کرده و مقدار ۱۰۰ سی‌سی از محتوای ارلن را برای عصاره اتانولی برداشته. برای تهیه عصاره خشک، عصاره اتانولی را در دستگاه روتاری با دمای آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت گردش حلال ۵۰ دور در دقیقه و درجه پمپ خلاء ۱۷۵ گذاشته تا اتانول آن جدا شود. قبل از این‌که عصاره کاملاً خشک شود و به دیواره ظرف بچسبد برداشته، به مدت٢٤ ساعت در بن‌ماری گذاشته تا عصاره خشک بدست آید.

عصاره‌گیری به روش اولتراسوند مازندرانی و همکاران (Mazandarani et al., 2015): در این روش نیز مانند روش خیساندن جهت تهیه عصاره اتانولی و خشک به روش اولتراسوند مقدار ۱۰۰ گرم از بذر گیاه را به صورت نیم‌کوب در ارلن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری ریخته و ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه کرده (تا جایی که سطح بذرها کاملاً پوشیده شود). درب ارلن را با پارافین بسته و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه تحت اولتراسوند قرار داده شد. سپس به مدت ٢٤ ساعت شیک کرده. محتوای ارلن را توسط کاغذ صافی صاف و مقدار ۱۰۰ سی‌سی از محتوای ارلن را برای عصاره اتانولی برداشته. برای تهیه عصاره خشک، عصاره اتانولی را در دستگاه روتاری با دمای آب ۵۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت گردش حلال ۵۰ دور در دقیقه و درجه پمپ خلأ ۱۷۵ گذاشته تا اتانول آن جدا شود، قبل از اینکه عصاره کاملاً خشک شود و به دیواره ظرف بچسبد برداشته، به مدت٢٤ ساعت در بن ماری گذاشته تا عصاره خشک بدست آید.

اندازه‌گیری میزان فلاونویید کل پورمراد و همکاران (Pourmorad et al., 2006): میزان فلاونوئیدهای کل به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره بیان شد. ابتدا استانداردها بر حسب کوئرستین با غلظت‌های متفاوت (۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تهیه شد. به یک میلی‌لیتر از استانداردها و عصاره‌های اتانولی گیاه، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم ۰/۱ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم ۰/۱ درصد و ۹ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و پس از هم زدن جذب آن در طول موج ٤۱۵ نانومتر قرائت گردید. منحنی استاندارد نیز بر اساس محلول های استاندارد و جذب های نوری بدست آمده در Excel رسم گردید، معادله بدست آمده نیز برای تعیین میزان فلاونویید عصاره‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفت. ضمناً بلانک نیز به همین صورت و بدون عصاره تهیه شد.

اندازه‌گیری میزان فنل کل پورمراد و همکاران (Pourmorad et al., 2006): میزان کل ترکیبات فنلی با روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری شد و نتایج برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان شد. ابتدا استانداردها بر حسب گالیک اسید با غلظت‌های متفاوت (۲۰، ٤۰، ٦۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۲۰ و ۱٤۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تهیه شد سپس به ۰/۵ میلی‌لیتر از هر یک از استانداردها و عصاره‌ها، ۵ میلی‌لیتر فولین ۱۰ درصد، ٤ میلی‌لیتر کربنات سدیم یک مولار اضافه گردید و پس از ۱۵ دقیقه جذب در ۷٦۵ نانو متر قرائت گردید. منحنی استاندارد نیز بر اساس محلول‌های استاندارد و جذب‌های نوری بدست آمده در Excel رسم گردید و معادله بدست آمده نیز برای تعیین میزان توتال فنل عصاره‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفت. ارزیابی میزان فلاونویید کوئرستین و فنل گالیک اسید نیز با استفاده از دستگاه HPLC مدل اندازه گیری شد.

بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها

روش RP[1] عرب‌شاهی دلوئه و همکاران (Arabshahi-Delouee et al., 2007): مقدار ۰/۱ گرم از عصاره خشک ماسیراسیون و اولتراسوند برداشته، در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتر با متانول خالص به حجم ppm ۱۰۰۰ می‌رسانیم و از آن غلظت های ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ پی پی ام را تهیه می‌کنیم. ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌ها با غلظت‌های متفاوت را برداشته و در لوله های آزمایش مجزا ریخته، به هر کدام ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH 6.6 و ۲/۵ سی‌سی فروسیانید پتاسیم ۰/۰۱ مولار اضافه کرده، هم زده، درب لوله‌ها را بسته و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهیم. سپس به هر کدام ۲/۵ سی‌سی تری کلرو استیک اسید ۰/۱ مولار اضافه کرده و پس از بستن مجدد درب لوله ها در سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۷۰۰ قرار داده پس از آن ۲/۵ سی‌سی آب مقطر و ۰/۵ سی‌سی کلرید آهن III اضافه کرده و جذب آن در طول موج ۷۰۰ نانو متر قرائت گردید.

بافر فسفات: ۱۰ گرم دی سدیم هیدروژن فسفات را با آب مقطر به حجم ۵۰۰ سی‌سی رسانده و ۱۰ گرم تری‌سدیم هیدروژن فسفات به آن اضافه می‌کنیم. بلانک نیز به همین صورت و بدون عصاره تهیه شد.

روش TAC[2] عرب‌شاهی دلوئه و همکاران (Arabshahi-Delouee et al., 2007): مقدار ۰/۱ گرم از عصاره را با متانول خالص به حجم ۱۰۰ رسانده و از آن غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ppm۷۵۰ را تهیه می‌کنیم. ۰/۳ سی‌سی از عصاره‌ها با غلظت های متفاوت را در لوله های مجزا ریخته و به هر کدام ۳ سی‌سی معرف TAC افزوده، درب لوله ها را با فویل بسته و به مدت ۱/۵ ساعت در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهیم. پس از برداشتن لوله‌ها از بن ماری و رسیدن دمای آن به محیط جذب نمونه ها را در طول موج ٦۹۵ نانومتر قرائت گردید. مراحل ساخت معرف TAC به شرح زیر می‌باشد: ۱٦ سی‌سی اسید سولفوریک ۰/٦ مولار را توسط آب مقطر به حجم ۵۰۰ سی‌سی رسانده و توسط مگنت هم زده، در مرحله بعد ۲/٤۷ گرم آمونیوم مولیبدات و ۲/۵ گرم تری فسفات سدیم اضافه کرده، در این مرحله رنگ محلول زرد کم رنگ می‌باشد. هم زدن را تا جایی ادامه می‌دهیم تا محلول کاملاً بی‌رنگ شود.

روش DPPH[3] (عرب‌شاهی دلوئه و همکاران (Arabshahi-Delouee et al., 2007): مقدار ۰/۱

1. Reducing Power

2. Total Antioxidant Capacity

3. 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl

گرم از عصاره خشک ماسیراسیون و اولتراسوند برداشته و مانند روش قبلی به حجم ۱۰۰ رسانده و از آن غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ppm۷۵۰ را تهیه می‌کنیم. ۳ سی‌سی از عصاره‌ها با غلظت‌های متفاوت برداشته و در لوله‌های مجزا ریخته، به هر کدام ۱ سی‌سی DPPH اضافه کرده و پس از هم زدن درب لوله‌ها را با فویل بسته و در جایی تاریک به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده و پس از آن جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانو متر قرائت گردید. در ضمن بلانک شامل ۳ سی‌سی متانول و ۱ سی‌سی DPPH بود. درصد مهار رادیکال آزاد (DPPH)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) و قدرت احیا کنندگی (RP) نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد :

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

- برای هر سه تست، IC50 مربوط به هر نمونه (غلظتی که در آن ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد مهار می‌شوند) با معادله خط مربوط محاسبه گردید.
- تمامی جذب‌ها با سه بار تکرار توسط دستگاه Spectrophotometer 2800 uv-vis قرائت گردید.

آنالیز آماری

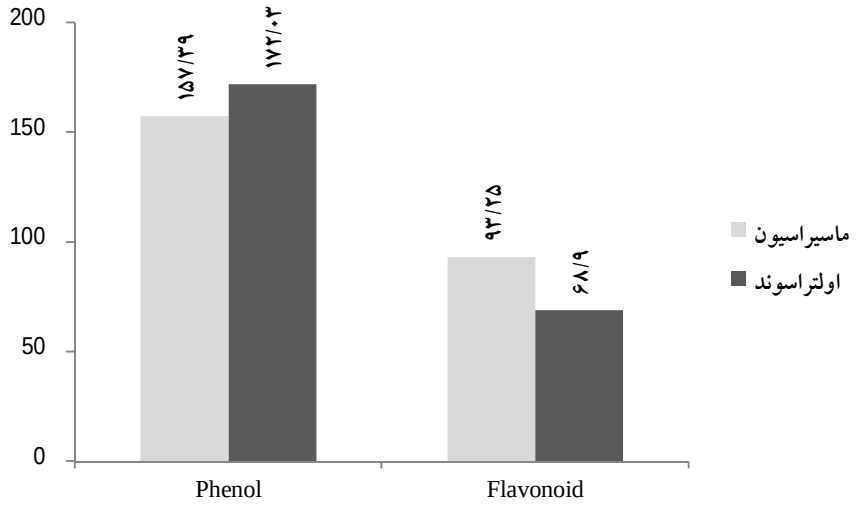
تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده مربوط به اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و نیز ارزیابی فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد، قدرت احیاءکنندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در قالب فاکتوریل به صورت طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار صورت پذیرفت. تجزیه وتحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار Excel (برای تست‌های فنلی و فلاونوییدی) و نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ (برای تست‌های آنتی‌اکسیدانی) انجام شد. به این منظور از ANOVA و متعاقباً از Tukey test جهت مشخص نمودن اختلاف بین هر یک از غلظت‌های گیاه استفاده شد و نتایج با احتمال $P \leq 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. نمودارها نیز با نرم‌افزار Excel رسم گردیدند.

نتایج

در این تحقیق اندازه‌گیری فنل، فلاونویید کل و بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف بذر گیاه کنگر فرنگی (ماسیراسیون و اولتراسوند) مد نظر قرار گرفت، که نتایج آن در جدول ۱ نشان داده شده است.

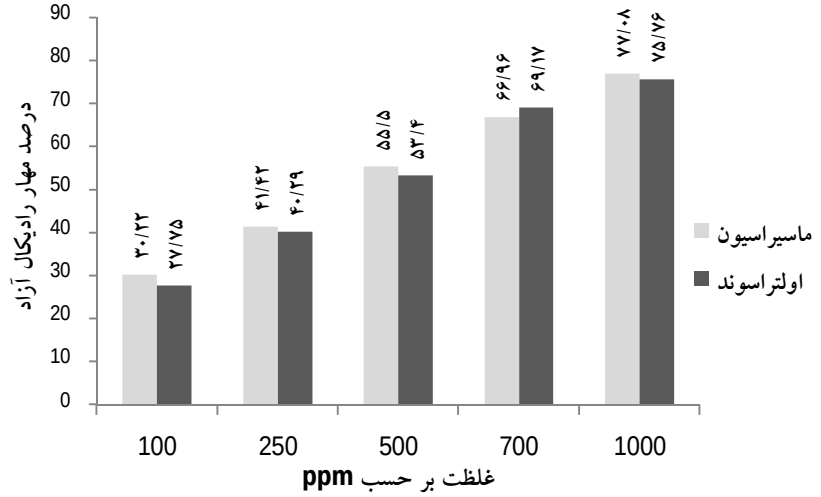
جدول ۱: مقایسه میانگین مقادیر کل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی در عصاره بذر گیاه کنگر فرنگی (ماسراسیون و اولتراسوند)

تست / عصاره	فنل کل (mg GAE g^{-1} DW)	فلاونویید کل (mg QUE g^{-1} DW)
ماسراسیون	۱۵۷,۳۹±۲,٦۵	۹۳,۲۵±۲,۱۱
اولتراسوند	۱۷۲,۰۳±۰,۱۳	٦۸,۹۰±۲,۵۱



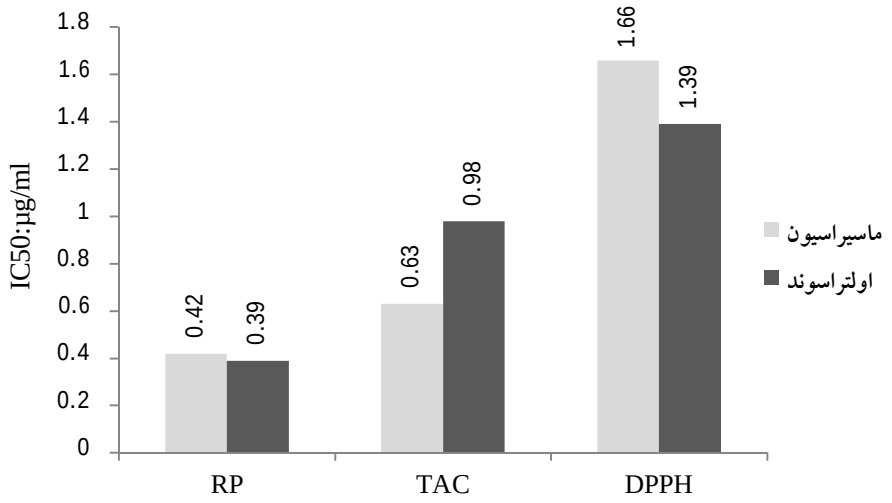
شکل ۱: مقایسه میزان فنول و فلاونویید کل در روش‌های مختلف استخراج عصاره (ماسراسیون و اولتراسوند)

مقایسه و بررسی درصد مهار رادیکال آزاد در غلظت‌های مختلف عصاره به روش DPPH در شکل ۱ حاکی از آن است که با افزایش غلظت عصاره ها، درصد مهار رادیکال آزاد افزایش یافته است. در مقایسه دو عصاره مشاهده می‌شود که در همه غلظت‌های مورد مطالعه عصاره مستخرج از هر دو روش درصد مهار رادیکال آزاد اختلاف معنی‌دار ندارد.



شکل ۲: مقایسه درصد مهار رادیکال آزاد در عصاره‌های متفاوت مستخرج از روشهای ماسراسیون و اولتراسوند

با توجه به شکل ۲ مقایسه ۳ روش آنتی‌اکسیدانی آزمایش شده (RP, TAC, DPPH) در گیاه مورد مطالعه نشان داد که بیشترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره اولتراسوند، در تست RP می‌باشد و کمترین آن مربوط به عصاره ماسراسیون در تست DPPH می‌باشد که همسو با نتایج قبلی عصاره اولتراسوند در تست RP به‌دلیل کثرت مواد فعال ثانوی از کمترین میزان IC50 و بیشترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی برخوردار است.



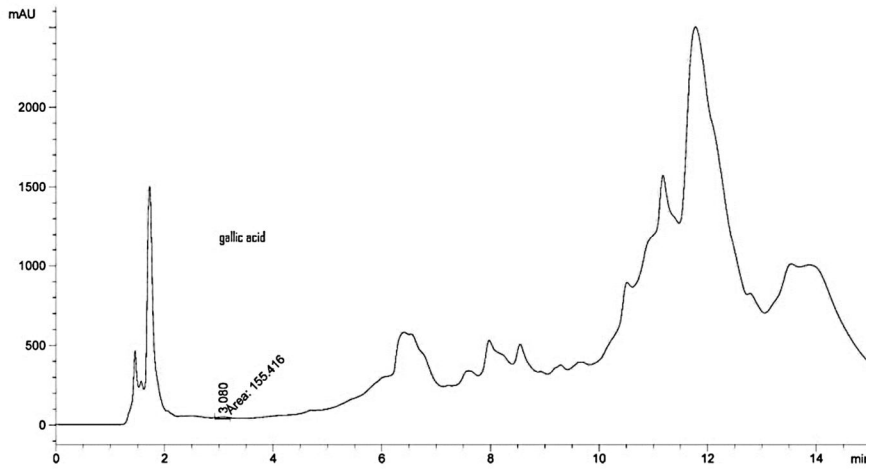
شکل ۳: مقایسه عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره‌ها در روش‌های مختلف (TAC, RP, DPPH)

جدول ۲: بررسی عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره‌ها در روش‌های مختلف (DPPH,RP,TAC)

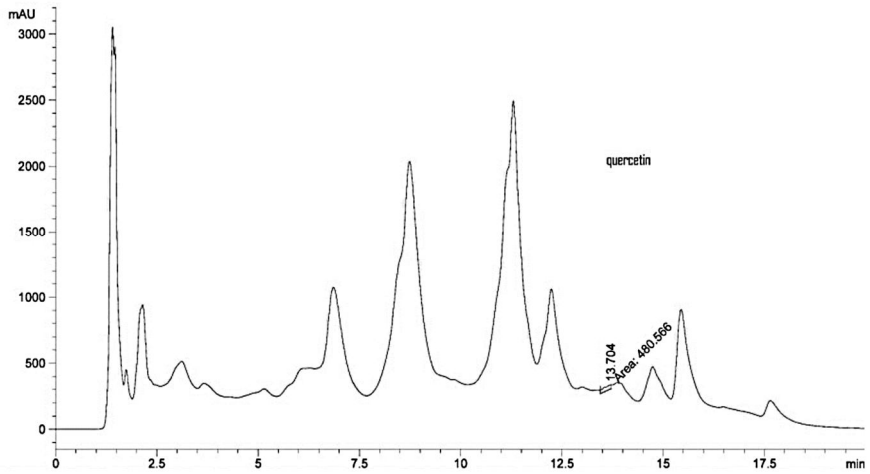
تست / عصاره	RP (µg/ml)	TAC (µg/ml)	DPPH (µg/ml)
ماسراسیون	۰/٤۲۸±۰/۰۰۱	۰/٦۳۵±۰/۰۰۱	۱/٦٦±۰/۲۷
اولتراسوند	۰/۳۹۷±۰/۰۰۱	۰/۹۸±۰/۰٦۵	۱/۳۹±۰/۰۰۷

ارائه نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار (۳ تکرار)

نتایج حاصل از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC): بررسی طیف های کروماتوگرام حاکی از آن است که میزان ترکیبات فنلی در عصاره اولتراسوند و ترکیبات فلاونوییدی در عصاره ماسیراسیون بیشتر می‌باشد که این نتایج با نتایج حاصل از تست های فنلی و فلاونوییدی نیز هماهنگی دارد



شکل ٤: کروماتوگرام مربوط به‌ترکیب گالیک اسید در عصاره مستخرج از روش اولتراسوند



شکل ۵: کروماتوگرام مربوط به ترکیب کوئرستین در عصاره مستخرج از روش ماسراسیون

جدول ۳: مقایسه مقادیر گالیک اسید و کوئرستین در عصاره بذر گیاه کنگر فرنگی در هر دو روش استخراج عصاره

ترکیب / عصاره	ماسراسیون (پی پی ام)	اولتراسوند (پی پی ام)
گالیک اسید	۱/۲۲	۱/٤۷
کوئرستین	۳/۳	۱/۳۷

بحث

ترکیبات فنولی از مهمترین گروه‌های متابولیت‌های ثانوی در گیاهان هستند که به طور گسترد ه در سراسر گیاه پخش شده‌اند و تأثیرات بیولوژیکی متعددی همچون فعالیت آنتی اکسیدانی و فعالیت ضدباکتریایی دارند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنل‌ها در گیاهان عمدتاً به علت ویژگی‌های کاهش اکسایشی در ساختار شیمیایی آنهاست که نقش مهمی در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، احاطه کردن فلزات انتقالی و فرونشاندن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه از طریق تغییر مکان یا تجزیهٔ پراکسیدها دارند. این ویژگی‌ها با تأثیرات مفید آنتی اکسیدان‌ها ی طبیعی بر سلامت، در ارتباط است که به‌دلیل تأثیرات بازدارندگی این ترکیبات در مقابل پیشرفت بسیاری از بیماری‌های وابسته به تنش چون بیماری‌های قلبی عروقی، سندرم رودهٔ التهابی و بیماری آلزایمر است (Fazli et al.,2002).

فلاونوییدها نیز گروه بزرگی از ترکیبات فنلی با بیش از ۳۰۰۰ ساختار و یکی از مهمترین ترکیبات ثانوی در گیاهان هستند که عمدتاً در اکثر گیاهان دارویی با مقادیر مختلف یافت می‌شوند، حدود ٤۰۰۰ نوع ترکیب متعلق به گروه فلاونوییدها در گیاهان وجود دارند که طی مسیر سنتز فنل پروپانوئید در گیاه سنتز می‌شوند و عمدتاً شامل فلاون، فلاونول و آنتوسیانین‌ها هستند (Morello et al., 2005; Siriamornpus et al., 2010).

با توجه به نتایج این تحقیق مشخص شد که میزان مواد موثره فنلی و فلاونوییدی در هر دو عصاره (ماسراسیون و اولتراسوند) تفاوت‌هایی را از خود نشان داده و در مقایسه مقادیر فنل و فلاونوییدبیشترین و کمترین مقدار به‌ترتیب در عصاره اولتراسوند و ماسراسیون مشاهده شد. همچنین پژوهش‌ها نشان می‌دهد که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها می‌باشد،

زیرا بر اساس شواهد موجود ارتباط مثبتی بین ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد (Mazandarani et al., 2011؛ Lutza et al., 2011). لوتزا و همکاران (Lutza et al., 2011) در استخراج ترکیب‌های شیمیایی عصاره گیاه کنگر فرنگی گزارش کردند که شامل محتوی پلی فنلی کل، اسید کافیک، اسید کلروژنیک و سیانین و نیز خواص آنتی‌اکسیدانی آن را با روش DPPH در دو حالت خام و پخته بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که گیاه کنگر فرنگی به‌عنوان منبع غذایی غنی از آنتی‌اکسیدان‌های پلی‌فنلی، دارای خاصیت جذب الکترون آزاد را داراست (Toma et al., 2013). مطالعه دیگر انجام گرفته توسط شریعتی‌فر و همکاران (Shariati far et al., 2010) بر روی گیاه علف هیضه (*Gnaphalodes Pulicaria*) از خانواده کاسنی میزان فنل و فلاونویید کل در عصاره اتانولی به‌ترتیب ۲٦μgGAE و ۲۱/۳۲μg QE بود که نسبت به گیاه مورد مطالعه بسیار کم می‌باشد.

گزارش برخی از محققان بیانگر این است که ارتباط بسیار بالایی بین میزان فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهان وجود دارد و اینکه عوامل بسیار زیادی از جمله آب، هوا، خاک، ارتفاع، اختلاف در گونه های مختلف، روش های استخراج و اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌ها در میزان متابولیت‌های ثانویه گیاهان از جمله فنل و فلاونویید کل و خواص آنتی‌اکسیدانی دخالت دارد (Fraga et al., 2010; ZarghamiMoghadam et al., 2012; Mazandarani et al., 2011;).

در تحقیق حاضر نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و نیز قدرت احیا کنندگی عصاره بذر کنگر فرنگی وابسته به غلظت بود به‌طوری‌که با افزایش غلظت، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نیز به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) افزایش یافت (شکل ۲). در کل، افزایش غلظت ترکیبات فنلی به‌طور مستقیم میزان توانایی عصاره های مختلف را در مهار رایکال های آزاد افزایش می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنلی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال دادن هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. توانایی و مهارکنندگی فنل‌ها به دلیل گروه‌های هیدروکسیل (-OH) و گروه‌های قابل تعویض متوکسی (-OCH3) در ملکول‌هاست (Salmanian et al., 2012). در حالی که در تحقیق حاضر بیشترین مقدار به غلظت های پایین‌تر تعلق داشت و در کل روش DPPH روشی مطلوب برای بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی در این تحقیق نبود. همانطور که در ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی عصاره متانولی پونه (*Mentha longoifolia*) توسط گلوس و همکاران با روش DPPH میزان IC50 عصاره متانولی ۷٤/٤ میکروگرم در میلی‌لیتر اعلام گردید که در تحقیق حاضر نیز مقدار این عدد نیز کم می‌باشد (Shariatifar et al., 2011).

همچنین در مطالعه‌ای که توسط جورجویا و همکاران (Georgieva et al., 2013) انجام گرفت، نشان دادند که درصد مهار رادیکال آزاد عصاره بذر کنگر فرنگی با استفاده از طیف‌سنجی EPR یا اسپکتروفتومتر، بالاتر از عصاره برگ این گیاه می‌باشد. آنها میزان IC50 برای عصاره بذر گیاه ٤/٤۳۵ میکرولیتر و برای برگ ۲۵/٦۱۹ میکرولیتر گزارش کردند. در این تحقیق هر دو عصارهٔ اتانولی مورد مطالعه، سطوح گوناگونی از فعالیت آنتی اکسیدانی از خود نشان دادند و چون قابلیت احیاکنندگی عصارهٔ ماسیراسیون بالاتر بود، می‌توان نتیجه گرفت که این عصاره با کمک انتقال الکترون باعث پایان یافتن واکنش‌های زنجیره‌ای می شود و این گیاه منبع مفیدی برای تأمین منابع طبیعی آنتی‌اکسیدانی است.

در مطالعه حیدری مجد و همکاران (Heydari majd et al., 2014) در مقایسه بین روش‌های استخراج ماسراسیون و اولتراسوند به برتری استخراج اولتراسوند برای استخراج ترکیبات فنولیک از گیاه پونه گاوی را نشان داد که مشاهدات این محقق با مشاهدات کنونی در این تحقیق نیز مطابقت دارد. ترکیب فلاونوییدی کوئرستین دارای خواص دارویی بوده و برای مقابله با ویروس‌ها و سلول‌های سرطانی استفاده می‌شوند. اصولاً استخراج ترکیب کوئرستین به‌عنوان آنتی اکسیدان طبیعی یا به عنوان افزودن رنگ بکار می‌روند. این ترکیب رادیکال‌های آزاد در بدن را که باعث سرطان و بیماری‌هایی از قبیل اترواسکلروز می‌شوند، پاک‌سازی نموده و در پیشگیری از بیماری‌های قلبی و عروقی سودمند می‌باشد. بررسی میزان این ترکیب‌ها در گیاه به دلیل اثرهای دارویی، از اهمیت خاصی برخوردار است (Jaymnd et al., 2013). در تحقیق حاضر در عصاره بذر گیاه دو ترکیب کوئرستین و گالیک اسید جداسازی و شناسایی شد و میزان کوئرستین ppm ۳/۳ گزارش شد که نسبت به ترکیب گالیک اسید در این گیاه بیشتر بود.

نتایج بدست آمده در این پژوهش نشان داد که میزان ترکیب‌های فنلی گیاه کنگر فرنگی در مقایسه با دیگر گیاهان دیگر تیره آفتابگردان و در نتیجه خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی تری را داراست (Shariatifar et al., 2011). همچنین مقدار ترکیب‌های فنلی و فلاونویید استخراج شده در این پژوهش به ترتیب برابر با mgGAE ۱۷۲/۰۳ و mgQE۹۳/۲۲ و نیز مقدار گالیک اسید و کوئرسین به ترتیب برابر با ۱/٤۷ -۳/۳ پی پی ام بود که در مقایسه با گزارش سایر پژوهش‌ها از گیاه کنگر فرنگی هماهنگی دارد (MingfuWang et al., 2003؛ Lutza et al., 2011؛ Abdul Mutalib et al., 2012).

نتیجه‌گیری نهایی

استفاده از گیاهان دارویی با اثرات درمانی مناسب که عوارض جانبی کمتری دارند و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه می‌باشند، می‌تواند جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی باشد که علاوه بر عوارض جانبی بالایی دارند، گاهاً هزینه‌های سنگینی را به بیماران تحمیل می‌کنند. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره گیاه کنگر فرنگی حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات پلی فنل و فلانوییدی است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارد. همچنین در روش اولتراسوند در مقایسه با روش ماسراسیون مقدار پلی فنل بیشتری قابل دست‌یابی است. لذا با توجه به نتایج این پژوهش و پژوهش های مرتبط دیگر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که بذر گیاه کنگر فرنگی کشت شده در کشور ایران منبعی غنی از ترکیب های پلی فنلی با عملکرد آنتی‌اکسیدانی قوی است که می‌تواند به عنوان ماده اولیه مناسبی در صنایع گوناگون غذایی ودارویی به کار رود. همچنین به دلیل غنی بودن از ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانی به عنوان منبع غذایی سودمندی در رژیم غذایی محسوب می‌شود.

References

1. Abdul Mutalib, A.G Nasser, 2012. Phytochemical Study of *Cynara scolymus* L. (Artichoke) (Asteraceae) Cultivated in Iraq, detection and identification of phenolic acid compounds cynarin and chlorogenic acid. Iraqi J Pharm Sci. 21(1): 6-13.
2. Aburajai, A., Darwish, R.M., Al-Kalil, S., Mahafzah, A., and Al-Abbadi, A. 2001. Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of *Pseudomonas aeruginosa*, J. of Ethnopharmacol, 76(1): 39-44.
3. Arabshahi-Delouee, S., Vishalakshi Devi, D. and Urooj, A. 2007. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, PH and storage stability, Food chem, 100:1100-1105.
4. Askari, S.A., Attar Movahedian, Gh., A., Naderi, A., and Amini, F. 1387. The effect of artichoke (*Guandelia tournefortil*) on some

biochemical factors contributing to atherosclerosis in an animal model. Quarterly Herb, 28(4):112-119.

5. Choe, E. and Min, B.D. 2009. Mechanisms of antioxidants in the oxidation of food, comprehensive review in food science and food safety, 8(4): 345-358.
6. Coruh, N., Sag Ducog, Lu Celep, A.G. and Ozgokce, F. 2007. Iscan M Antioxidant capacities of *Gundelia tournefortii* L. extracts and inhibition on glutathione-S-transferase activity. Food Chem, 100, 1249-1253.
7. Fazli, R., Nazarnejad, N.A. and Ebrahimzadeh, M.P. 1392. To evaluate the phenolic antioxidant activity total Flavonoids of beech, hornbeam and spruce. Journal of the forest and wood products, natural resources of Iran. Period. Fall, 66(3):339-349.
8. Fraga, G.C., Galleano, M., Verstraeten, V.S. and Oteiza, I.P. 2010. Review basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. Molecular Aspects of Medicine, 31(6):435–445.
9. Gillery P. 2001. Advanced glycation end products (AGEs), free radicals and diabetes. J. Soc. Biol. 195(4): 387-390.
10. Georgieva, E., Karamalakova, Y., Nikolova, G., Grigorov, B., Pavlov, D. and Zheleva, A. 2011. Radical scavenging capacity of seed and leaves ethanol extracts of *Cynara scolymus* L. A comparative study, Pharmaceutical biotechnology, 26: 151-155
11. Jamishdzadeh, A., Fereidooni, F., Salehi, Z. and Niknahad H. 2005. Hepatoprotective activity of *Gundelia tourenfortii*, J. of Ethnopharmacol, 101(1-3): 233-7.
12. Jaymnd, K., Ahrabi, Asl, H. and Bhrad, Z. 1392. Extracting and measuring the composition of plant species in different organs desert seaton kampherol in *Foeniculum vulgare* Mill. Research Journal of the Research Medicinal and Aromatic Plants in Iran, 29(3): 681-691.
13. Kamkar, A., Jebelli Javan, A., Asadi, F. and Kamalinejad, M. 2010. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil, Food and Chemical Toxicology, 48(7): 1796–1800.
14. Karami, Z. Imam jome, Z. Mirzaee, H.A., Mahonak, A.R. Khamiri, M. and Aidani, A. 1390. Laboratory ultrasonic extraction method comparison study to help in the extraction of phenolic compounds from licorice root, Paper processing and food storage, 3(2): 1-22.
15. Karis, P.O., Eldenas, P., and Kallersjo M. 2001. New evidence for the systematic position of *Gundelia* L.–Taxon, 50(1): 105-114.
16. Mazandarani, M., Makri, S. and Bajian, G.R. 2011. Evaluation of phytochemical and antioxidant activity in different parts of *Heracleum gorganicum* rech. F. In golestan province, North of iran Iranian J.plant physiology, 2(2):381-388.
17. Milani, A.H, Porazrang, R., Kadkhodaie, H. and Vakilian, SH. 1389. Evaluate the efficiency of ultrasound in the extraction of inulin from Jerusalem artichoke tubers troubleshooting and optimization of extraction conditions, response surface methodology (RSM), 6 (2): 120-113.
18. Mingfu, W., James, E., Simon, I., Fabiola A., Kan, H., Qun-Yi, Z. and Yaakov, T. 2003. Analysis of Antioxidative Phenolic compounds in Artichoke (*Cynara scolymus* L.). J. Agric. Food Chem, 51 (3): 601–608.
19. Mirheidar H. 1377. Introduction of herbal medicine, Islamic Farhang publication, 1:1-240.
20. M. Lutza, C. Henrı ´quez, M. Escobar, 2011. Chemical composition and antioxidant properties of mature and baby artichokes (*Cynara scolymus* L.), raw and cooked, Journal of Food Composition and Analysis, 24: 49-54.
21. Mohsen, S.M., and Ammar, A.S.M. 2009. Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. Food Chemistry, 112(3): 595-598.
22. Heydari Majd, M., Rajaei, A., Salar Bashi, D., Mortazavi, S.A. and Bolourian, SH. 2014. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compoundsfrom bovine pennyroyal (*Phlomidoschema parviflorum*) leaves using response surface methodology, Industrial Crops and Products, 57: 195–202.
23. Morello, J.R, Romero, M.P., Ramo, T. and Motilva, M.J. 2005. Evaluation of 1-phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic profile in olive drupe (*Oleae uropaea* L.) From fruit setting period to harvesting time. Plant science, 168: 65-72.
24. Mozaffarian, 1392. Dictionaries of plants o f Iran, Seventh Edition. Contemporary culture Publications, Tehran, p 750.
25. Patricia, G. Aranzazu, M. Antonio, S. and Alberto, F. 2010. Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples, Molecules. 15: 8813-8826.
26. Pourmorad, F., Hosseini Mehr, S.J. and Shahabimaj, D.N. 2006. Antioxidant

activity,phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants, African journal of biotechnology, 5(11): 1142-1145

27. Salmanian, Sh., Sadqy Mahonak, A.R., Allami, M. and Qorbani, M. 1392. Evaluate the anti-radical activity, and determination of flavonoid antioxidant hawthorn fruit, Journal of Nutrition and Food Science. 1(8): 185-177.
28. Shariatifar, N., Kamkar, A., Ardekani, S., Mysaqy M.R., Jamshydi, A.H., Iahed Khaniki, GH.R. 1390. The study of quantity and quality of phenolic compounds and antioxidant activity Hyzheh grass plant. Horizon of knowledge, Journal of Gonabad University of Medical Sciences and Health Services, winter 4 (17): 35-41.
29. Siriamompus, S. and Suttajit, M. 2010. Microchemicals compounds and antioxidant activity of different morphological part of thai wildpurslane (*portulaca oleraceae* L.). Weed science, 58(3):182-188.
30. Toma, C., Pribac, G., Neag, T., Campean, R. and Olah, N. 2013. Correlation between the polyphenol content and antioxidant effect of *cynara scolymus* L. mother tincture, Studia Universitatis, 23(1):95-100.
31. Zarghami moghaddam, P., Mazandarani, M., Baiat, H., Zolfaghari, M., Ghaemi, E. and Hemati, H. 2011. Antioxidant activity, phenol, flavonoid and anthocyanin contents in various extracts of *Onosma dichroanthum* boiss. In north of Iran, Iranian Journal of plant physiology, 1(3):169-176.
32. Mazandarani, M., and Khormali, A. 2015. Autecology, ethnopharmacology, total phenol and flavonoids and antioxidant activity of Ditrichia graveolens (L.) Greuter. In different extraction from Bandargaz region. Ecophytochemical Journal, 6 (2):69-78.