

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: ۱۳۹۴/۰۶/۲۳

چکیده

کنگر فرنگی (آرتیشو) با نام علمی *Cynara scolymus* L. متعلق به تیره کاسنی است که به دلیل 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 (۱/۴۷ ppm) متعلق به عصاره اولتراسوند ولی بیشترین میزان فلاونوئید کل (۹۳/۲۲ mg QE) و کوئرستین (۳/۳ ppm) در عصاره مستخرج به روش خیساندن گزارش شد. بیشترین میزان عملکرد آنتی‌اکسیدانی متعلق به عصاره اولتراسوند در روش RP با میزان $IC_{50}=0.39 \mu\text{g/ml}$ 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، فلاونوئید، کوئرستین و گالیک اسید

ترکیبات عمده عصاره دانه‌های گیاه محسوب می‌شوند (Gillery et al., 2001).

از آنجائی که هیچ یک از روش‌های رنگ‌سنجی نمی‌تواند همه انواع فلاونوئیدها را شناسایی کند و در روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید تنها فلاون‌ها و فلاونول‌ها قادرند کمپلکس پایدار 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) به دلیل 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 (Patricia, Milani et al., 2009). 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 فلاونوئید کل) با استفاده از

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 فلاونوئیدی 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 قسمت‌های مختلف جهان به عنوان یک سبزی مغذی، مقوی کبد و داروی ضدالتهاب در کاهش چربی خون و کلسترول استفاده می‌شود (Coruh et al., 2007; Karis et al., 2001; Mirheidar et al., 1377).

در طب سنتی ترکیه از دانه‌های 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)، نوکلروژنیک (۵-کافئیل کینیک اسید) و او-۵ دی کافئیک کینیک اسید (سینارین) اشاره نمود که از

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

مواد و روش ها

تهیه نمونه گیاه: میوه های 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 جمع آوری شد، در شرایط آزمایشگاه خشک، پودر و برای عملیات آزمایشگاهی آماده گردید.

عصاره گیری به روش خیساندن - ماسراسیون مازندرانی و همکاران (Mazandarani et al., 2015)

(2015): مقدار ۱۰۰ گرم از بذر گیاه را به صورت نیم کوب در آورده در ارلن ۱۰۰۰ میلی لیتری ریخته و ۵۰۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه کرده (تا جایی که سطح بذرها کاملاً پوشیده شود). درب ارلن را با پارافین بسته به مدت ۲۴ ساعت شیک می کنیم. محتوای ارلن را توسط کاغذ صافی صاف کرده و مقدار ۱۰۰ سی سی از محتوای ارلن را برای عصاره اتانولی برداشته. برای تهیه عصاره خشک، عصاره اتانولی را در دستگاه روتاری با دمای آب ۵۰ درجه سانتی گراد، سرعت گردش حلال ۵۰ دور در دقیقه و درجه پمپ خلأ ۱۷۵ گذاشته تا اتانول آن جدا شود. قبل از این که عصاره کاملاً خشک شود و به دیواره ظرف بچسبد برداشته، به مدت ۲۴ ساعت در بن ماری گذاشته تا عصاره خشک بدست آید.

عصاره گیری به روش اولتراسوند مازندرانی و همکاران (Mazandarani et al., 2015):

روش نیز مانند روش خیساندن جهت تهیه عصاره

اتانولی و خشک به روش اولتراسوند مقدار ۱۰۰ گرم از بذر گیاه را به صورت نیم کوب در ارلن ۱۰۰۰ میلی لیتری ریخته و ۵۰۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه کرده (تا جایی که سطح بذرها کاملاً پوشیده شود). درب ارلن را با پارافین بسته و در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه تحت اولتراسوند قرار داده شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت شیک کرده. محتوای ارلن را توسط کاغذ صافی صاف و مقدار ۱۰۰ سی سی از محتوای ارلن را برای عصاره اتانولی برداشته. برای تهیه عصاره خشک، عصاره اتانولی را در دستگاه روتاری با دمای آب ۵۰ درجه سانتی گراد، 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 مدت ۲۴ ساعت در بن ماری گذاشته تا عصاره خشک بدست آید.

اندازه گیری میزان فلاونوئید کل پورمراد و همکاران (Pourmorad et al., 2006):

کل به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه گیری شد و نتایج بر حسب میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره بیان شد. ابتدا استانداردها بر حسب کوئرستین با غلظت های متفاوت (۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) تهیه شد. به یک میلی لیتر از استانداردها و عصاره های اتانولی گیاه، ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم ۰/۱ درصد، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم ۰/۱ درصد و ۹ میلی لیتر آب مقطر افزوده شد و پس از هم زدن جذب آن در طول موج ۴۱۵ 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 فلاونوئید عصاره های گیاهی مورد استفاده قرار گرفت. ضمناً بلانک نیز به همین صورت و بدون عصاره تهیه شد.

هر کدام ۲/۵ سی سی تری کلرو استیک اسید ۰/۱ مولار اضافه کرده و پس از بستن مجدد درب لوله‌ها در سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۷۰۰ قرار داده پس از آن ۲/۵ سی سی آب مقطر و ۰/۵ سی سی 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 سی سی رسانده و ۱۰ گرم تری سدیم هیدروژن فسفات به آن اضافه می‌کنیم. بلانک نیز به همین صورت و بدون عصاره تهیه شد.

روش ^۲TAC 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 ۷۵۰ ppm را تهیه می‌کنیم. ۰/۳ سی سی از عصاره‌ها با غلظت‌های متفاوت را در لوله‌های مجزا ریخته و به هر کدام ۳ سی سی معرف TAC افزوده، درب لوله‌ها 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 نمونه‌ها را در طول موج ۶۹۵ نانومتر قرائت گردید. مراحل ساخت معرف TAC به شرح زیر می‌باشد: ۱۶ سی سی اسید سولفوریک ۰/۶ مولار را توسط آب مقطر به حجم ۵۰۰ سی سی رسانده و توسط مگنت هم زده، در مرحله بعد ۲/۴۷ 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 ^۳DPPH (عرب‌شاهی دلوئه و همکاران Arabshahi-Delouee et al., 2007): مقدار ۰/۱

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، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۲۰ و ۱۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تهیه شد سپس به ۰/۵ میلی‌لیتر از هر یک از استانداردها و عصاره‌ها، ۵ میلی‌لیتر فولین ۱۰ درصد، ۴ میلی‌لیتر کربنات سدیم یک مولار اضافه گردید و پس از ۱۵ دقیقه جذب در ۷۶۵ 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 فلاونوئید کوئرستین و فنل گالیک اسید نیز با استفاده از دستگاه HPLC مدل اندازه‌گیری شد.

بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها

روش ^۱RP عرب‌شاهی دلوئه و همکاران (Arabshahi-Delouee et al., 2007): مقدار ۰/۱

گرم از عصاره خشک ماسیراسیون و اولتراسوند برداشته، در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتر با متانول خالص به حجم ۱۰۰۰ ppm می‌رسانیم و از آن غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ پی پی ام را تهیه می‌کنیم. ۱ میلی‌لیتر از عصاره‌ها با غلظت‌های متفاوت را برداشته و در لوله‌های آزمایش مجزا ریخته، به هر کدام ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH 6.6 و ۲/۵ سی سی 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

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 و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار Excel (برای تست‌های فنلی و فلاونوئیدی) 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، فلاونوئید 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.

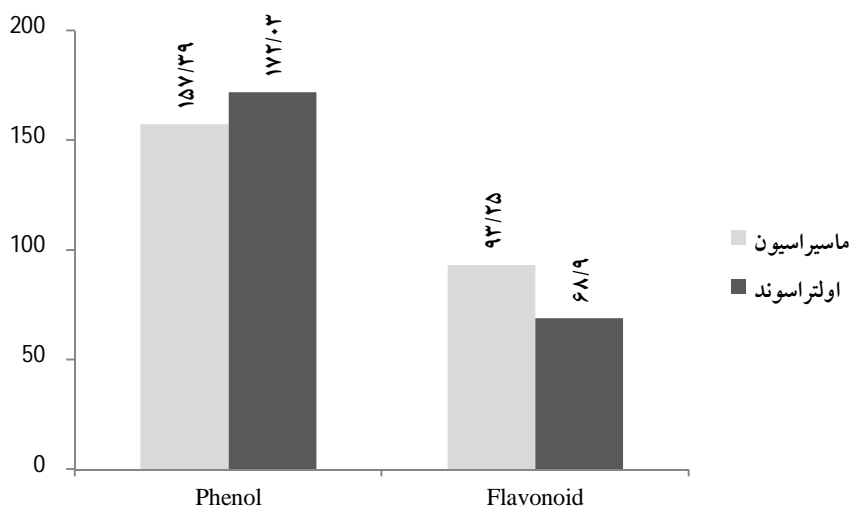
جدول ۱: مقایسه میانگین مقادیر کل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی در عصاره بذر گیاه کنگر فرنگی (ماسیراسیون و اولتراسوند)

فلاونوئید کل (mg QUE g ⁻¹ DW)	فنل کل (mg GAE g ⁻¹ DW)	تست عصاره
۹۳,۲۵±۲,۱۱	۱۵۷,۳۹±۲,۶۵	ماسیراسیون
۶۸,۹۰±۲,۵۱	۱۷۲,۰۳±۰,۱۳	اولتراسوند

گرم از عصاره خشک ماسیراسیون و اولتراسوند برداشته و مانند روش قبلی به حجم ۱۰۰ رسانده و از آن غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ ppm را تهیه می‌کنیم. ۳ سی سی از عصاره‌ها با غلظت‌های متفاوت برداشته و در لوله‌های مجزا ریخته، به هر کدام ۱ سی سی 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 سی سی متانول و ۱ سی سی DPPH بود. درصد مهار رادیکال آزاد (DPPH)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) و قدرت احیاءکنندگی (RP) نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

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

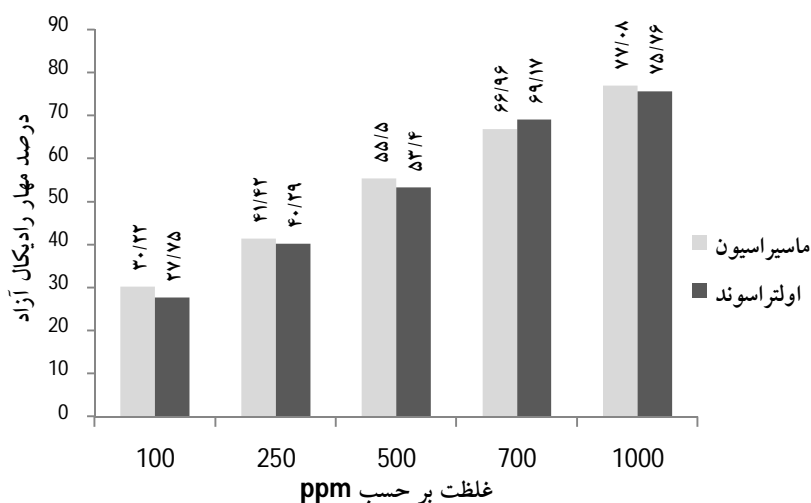
- برای هر سه تست، IC50 مربوط به هر نمونه (غلظتی که در آن ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد مهار می‌شوند) با معادله خط مربوط محاسبه گردید.
- تمامی جذب‌ها با سه بار تکرار توسط دستگاه Spectrophotometer 2800 uv-vis قرائت گردید.



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

مقایسه دو عصاره مشاهده می‌شود که در همه غلظت‌های مورد مطالعه عصاره مستخرج از هر دو روش درصد مهار رادیکال آزاد اختلاف معنی‌دار ندارد.

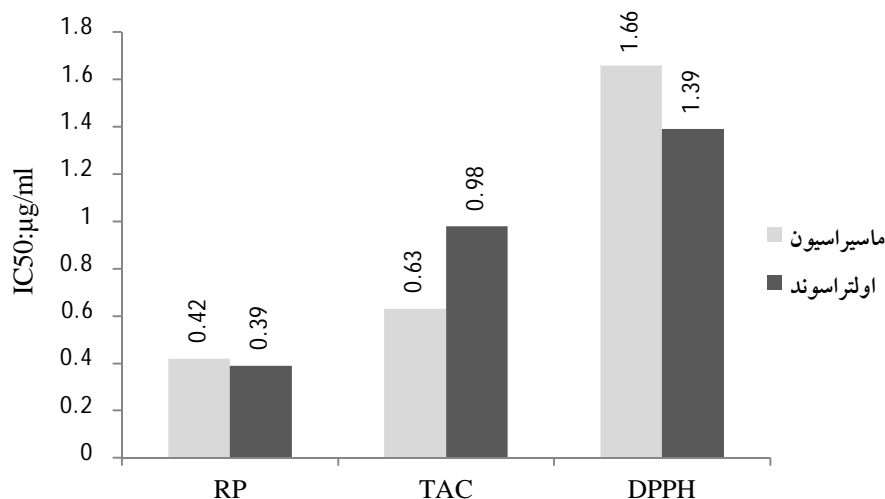
مقایسه و بررسی درصد مهار رادیکال آزاد در غلظت‌های مختلف عصاره به روش DPPH در شکل ۱ حاکی از آن است که با افزایش غلظت عصاره‌ها، درصد مهار رادیکال آزاد افزایش یافته است.



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

DPPH می‌باشد که همسو با نتایج قبلی عصاره اولتراسوند در تست RP به دلیل کثرت مواد فعال ثانوی از کمترین میزان IC50 و بیشترین عملکرد آنتی‌اکسیدانی برخوردار است.

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



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

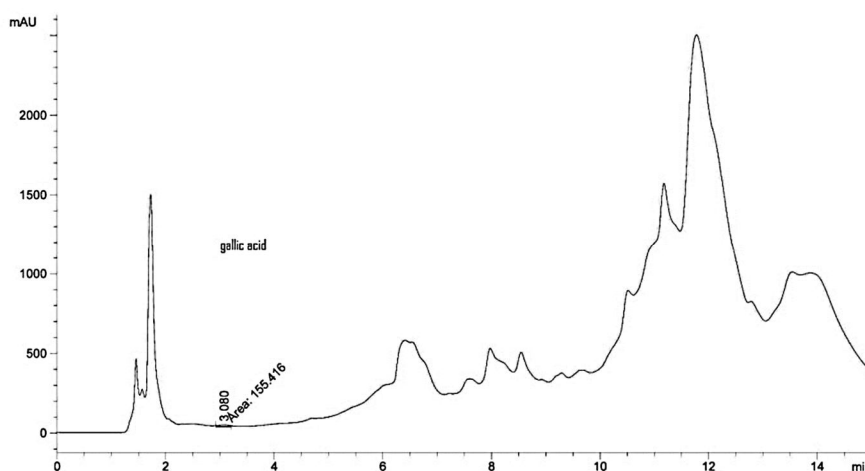
جدول ۲: بررسی عملکرد آنتی اکسیدانی عصاره‌ها در روش‌های مختلف (DPPH, RP, TAC)

عصاره	تست	RP (µg/ml)	TAC (µg/ml)	DPPH (µg/ml)
ماسیراسیون		۰/۴۲۸±۰/۰۰۱	۰/۶۳۵±۰/۰۰۱	۱/۶۶±۰/۲۷
اولتراسوند		۰/۳۹۷±۰/۰۰۱	۰/۹۸±۰/۰۶۵	۱/۳۹±۰/۰۰۷

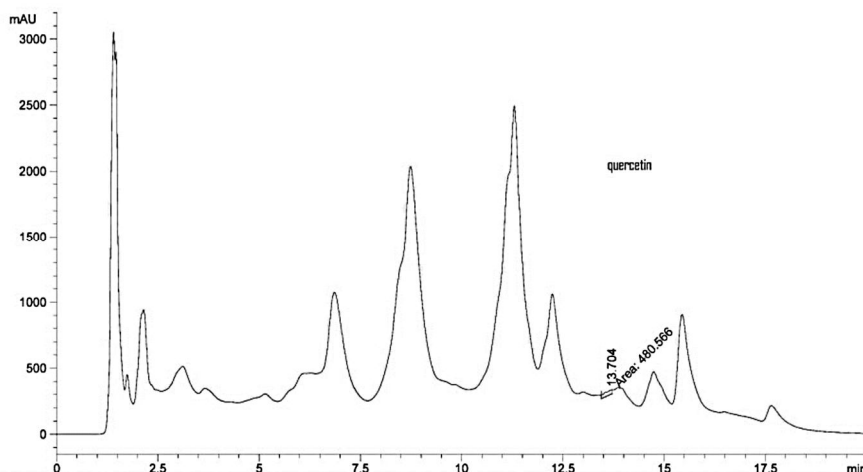
ارائه نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار (۳ تکرار)

و ترکیبات فلاونویدی در عصاره ماسیراسیون بیشتر می‌باشد که این نتایج با نتایج حاصل از تست‌های فنلی و فلاونویدی نیز هماهنگی دارد

نتایج حاصل از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC): بررسی طیف‌های کروماتوگرام حاکی از آن است که میزان ترکیبات فنلی در عصاره اولتراسوند



شکل ۴: کروماتوگرام مربوط به ترکیب 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	۱/۴۷
کوئرستین		۳/۳	۱/۳۷

بحث

فلاونوئیدها 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 ۴۰۰۰ نوع ترکیب متعلق به گروه فلاونوئیدها در گیاهان وجود دارند که طی مسیر سنتز فنل پروپانوید 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 فلاونوئیدی در هر دو عصاره (ماسراسیون و اولتراسوند) تفاوت‌هایی را از خود نشان داده و در مقایسه مقادیر فنل و فلاونوئید بیشترین و کمترین مقدار به ترتیب در عصاره اولتراسوند و ماسراسیون مشاهده شد. همچنین پژوهش‌ها نشان می‌دهد که بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها می‌باشد،

ترکیبات فنولی از مهمترین گروه‌های متابولیت‌های ثانوی در گیاهان هستند که به طور گسترده در سراسر گیاه پخش شده‌اند و تأثیرات بیولوژیکی متعددی همچون فعالیت آنتی‌اکسیدانی 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 تجزیه پراکسیدها دارند. این ویژگی‌ها با تأثیرات مفید آنتی‌اکسیدان‌ها ی طبیعی بر سلامت، در ارتباط است که به دلیل تأثیرات بازدارندگی این ترکیبات در مقابل پیشرفت بسیاری از بیماری‌های وابسته به تنش چون بیماری‌های قلبی عروقی، سندرم روده التهابی و بیماری آلزایمر است (Fazli et al., 2002).

ترکیبات فنلی به طور مستقیم میزان توانایی عصاره های مختلف را در مهار رایکال های آزاد افزایش می دهد. در غلظت های بالاتر ترکیبات فنلی، به دلیل افزایش تعداد گروه های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال دادن هیدروژن به رادیکال های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می یابد. توانایی و مهارکنندگی فنل ها به دلیل گروه های هیدروکسیل (-OH) و گروه های قابل تعویض متوکسی (-OCH₃) در ملکول هاست (Salmanian et al., 2012). در حالی که در تحقیق حاضر بیشترین مقدار به غلظت های پایین تر تعلق داشت و در کل روش DPPH روشی مطلوب برای بررسی خواص آنتی اکسیدانی در این تحقیق نبود. همانطور که در ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی عصاره متانولی پونه (*Mentha longifolia*) توسط گلوکس و همکاران با روش DPPH میزان IC₅₀ عصاره متانولی ۷۴/۴ میکروگرم در میلی لیتر اعلام گردید که در تحقیق حاضر نیز مقدار این عدد نیز کم می باشد (Shariatifar et al., 2011).

همچنین در مطالعه ای 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 طیف سنجی EPR یا اسپکتروفتومتر، بالاتر از عصاره برگ این گیاه می باشد. آنها میزان IC₅₀ برای عصاره بذر گیاه ۴/۴۳۵ میکرولیتر و برای برگ ۲۵/۶۱۹ میکرولیتر گزارش کردند. در این تحقیق هر دو عصاره اتانولی مورد مطالعه، سطوح گوناگونی از فعالیت آنتی اکسیدانی از خود نشان دادند و چون قابلیت احیاکنندگی عصاره ماسیراسیون بالاتر بود، می توان نتیجه گرفت که این عصاره با کمک انتقال الکترون باعث پایان یافتن واکنش های زنجیره ای می شود و این گیاه منبع مفیدی برای تأمین منابع طبیعی آنتی اکسیدانی است.

زیرا بر اساس شواهد موجود ارتباط مثبتی بین ترکیبات فنلی و قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان وجود دارد (Lutza et al., Mazandarani et al., 2011). لوتزا و همکاران (Lutza et al., 2011) در استخراج ترکیب های شیمیایی عصاره گیاه کنگر فرنگی گزارش کردند که شامل محتوی پلی فنلی کل، اسید کافیک، اسید کلروژنیک و سیانین و نیز خواص آنتی اکسیدانی آن را با روش DPPH در دو حالت خام و پخته بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که گیاه کنگر فرنگی به عنوان منبع غذایی غنی از آنتی اکسیدان های پلی فنلی، دارای خاصیت جذب الکترون آزاد را داراست (Toma et al., 2013). مطالعه دیگر انجام گرفته توسط شریعتی فر و همکاران (Shariati far et al., 2010) بر روی گیاه علف هیضه (*Gnaphalodes Pulicaria*) از خانواده کاسنی میزان فنل و فلاونوئید کل در عصاره اتانولی به ترتیب ۲۶ μgGAE و ۲۱/۳۲ μg QE بود که نسبت به گیاه مورد مطالعه بسیار کم می باشد.

گزارش برخی از محققان بیانگر این است که ارتباط بسیار بالایی بین میزان فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهان وجود دارد و اینکه عوامل بسیار زیادی از جمله آب، هوا، خاک، ارتفاع، اختلاف در گونه های مختلف، روش های استخراج و اندازه گیری آنتی اکسیدان ها در میزان متابولیت های ثانویه گیاهان از جمله فنل و فلاونوئید کل و خواص آنتی اکسیدانی دخالت دارد (Fraga et al., 2010; Zarghami Moghadam et al., 2012; Mazandarani et al., 2011).

در تحقیق حاضر نیز ظرفیت آنتی اکسیدانی و نیز قدرت احیا کنندگی عصاره بذر کنگر فرنگی وابسته به غلظت بود به طوری که با افزایش غلظت، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل نیز به طور معنی داری ($P < 0/05$) افزایش یافت (شکل ۲). در کل، افزایش غلظت

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 فلاونوئیدی 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 پژوهش‌های مرتبط دیگر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که بذر گیاه کنگر فرنگی کشت شده در کشور ایران منبعی غنی از ترکیب‌های پلی فنلی با عملکرد آنتی‌اکسیدانی قوی است که می‌تواند به عنوان ماده اولیه مناسبی در صنایع گوناگون غذایی و دارویی 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 tournefortii*) on some

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 فلاونوئیدی کوئرستین دارای خواص دارویی بوده و برای مقابله با ویروس‌ها و سلول‌های سرطانی استفاده می‌شوند. اصولاً استخراج ترکیب کوئرستین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان 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 ۳/۳ ppm 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 فلاونوئید استخراج شده در این پژوهش به ترتیب برابر با ۱۷۲/۰۳ mgGAE و ۹۳/۲۲mgQE و نیز مقدار گالیک اسید و کوئرستین به ترتیب برابر با ۱/۴۷ -۳/۳ پی پی ام بود که در مقایسه با گزارش سایر پژوهش‌ها از گیاه کنگر فرنگی هماهنگی دارد (Lutza et al., 2011؛ MingfuWang et al., 2003)؛ (Abdul Mutalib et al., 2012).

- 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. Henri '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 compounds from 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 (*Olea europaea* L.) From fruit setting period to harvesting time. *Plant science*, 168: 65-72.
 24. Mozaffarian, 1392. Dictionaries of plants of 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., Maysaqy M.R., Jamshydi, A.H., Iahed Khaniki, G.H.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 wild purslane (*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.