بررسی فیتوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و بهینه‌سازی استخراج مواد موثره میوه گیاه *Capparis spinosa* L. در منطقه سیستان

شهلا نجفی[۱]، صدیقه اسمعیل‌زاده بهابادی[۲*]

[۱]دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، ایران

[۲]استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۱۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۲۸

چکیده

گیاه کبر با نام علمی *Capparis spinosa* L. در طب سنتی منطقه سیستان برای درمان امراض مربوط به کبد، طحال، رفع کم خونی و ضعف بدن مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این مطالعه بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس و بهینه‌سازی استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاه کبر می‌باشد. میوه گیاه کبر در تابستان ۱۳۹۳ از روستای نیک محمد شهرستان هیرمند (استان سیستان و بلوچستان) جمع آوری گردید. اسانس به روش تقطیر با آب استخراج گردید و با کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آنالیز اسانس نشان داد ۳۳ ترکیب در اسانس شناسایی شد. ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس میوه شامل تیمول (۲۴/۱ درصد) و ایزوتیوسیانات (۲۹/۲ درصد) بودند. شرایط استخراج شامل حلال، زمان، دما و توان دستگاه بود. عصاره میوه گیاه کبر با استفاده از حلال‌های مختلف (اتانول، متانول و آب) و با روش مایکروویو استخراج و سپس ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه توسط روش DPPH بررسی شد. عصاره اتانولی با شرایط توان ۳۰۰ وات، زمان ۱۵ دقیقه و درجه حرارت ۸۵ درجه سانتی‌گراد یک تیمار بهینه برای استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عصاره بود. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که عصاره میوه گیاه کبر به‌عنوان یک منبع بالقوه از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در درمان بیماری‌ها مدنظر است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اسانس، تیمول، ایزوتیوسیانات، کبر (*Capparis spinosa* L.)

*نویسنده مسئول: esmaeilzadeh@uoz.ac.ir

مقدمه

گیاهان یکی از منابع مهم آنتی اکسیدان‌ها می‌باشند و تحقیقات در این زمینه رو به افزایش می‌باشد. گیاهانی که غنی از ترکیبات آنتی اکسیدانی بوده می‌توانند باعث حفاظت سلول‌ها از آسیب‌های اکسیداتیو شوند. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی باعث افزایش قدرت آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما و کاهش ابتلا به بعضی بیماری‌ها مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و سکته مغزی می‌شوند (Prior and Go, 2000). با توجه به شیوع بالای بیماری‌های مزمن و فرسایشی، منطقی است که برای تأمین آنتی‌اکسیدان‌های مورد نیاز بدن از گیاهان استفاده شود، به خصوص گیاهانی که فنل و فلاونوئید بالایی داشته باشند. از جمله ترکیب‌های طبیعی که می‌توانند به‌عنوان نگهدارنده در مواد غذایی به کار روند، اسانس‌های گیاهی هستند. عصاره و اسانس‌های گیاهی به‌دست آمده از گیاهان معطر دارای خاصیت ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضداکسایشی و ضدسرطانی بوده و قادر هستند رشد پاتوژن‌ها و تولید سم توسط ریزسازواره‌ها را کنترل کنند. توسعه داروهای ضدمیکروبی یکی از مهمترین پیشرفت‌ها در درمان می‌باشد. داروهای گیاهی به‌علت داشتن منشاء طبیعی نسبت به داروهای شیمیایی با فیزیولوژی اندام‌های بدن سازگاری بیشتری داشته و عوارض آنها نادر است (Rehman et al., 2016). فرآیند استخراج، اولین مرحله اساسی، در تحقیقات گیاهان دارویی محسوب می‌شود و آماده‌سازی عصاره‌ها از گیاهان، نقطه شروعی برای جداسازی و خالص‌سازی اجزای شیمیایی در گیاهان هستند. امروزه روش‌های استخراج متفاوتی برای به‌دست آوردن ترکیبات زیستی فعال از منابع گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. استخراج به روش‌های خیساندن و سوکسله برای استخراج مواد گیاهی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در حالی که انجام این روش‌ها زمان بر می‌باشند و دمای زیاد نیاز دارند، استخراج به کمک مایکروویو می‌تواند زمان استخراج و مصرف حلال را با انتقال مؤثر و سریع بعضی از ترکیبات از ماتریکس جامد کاهش دهد (Pan et al., 2011; Kamran Khan et al., 2010). در تحقیقات اخیر برای استخراج ترکیبات فعال زیستی از مایکروویو استفاده شده است (Beejmohun et al., 2007; Spingo and Faveri, 2009).

گیاه کبر با نام علمی *Capparis spinosa* L.، گیاهی است زیبا، دارای شاخه‌های متعدد، پوشیده از کرک، میوه بیضوی، گوشتدار و در آغاز به رنگ سبز روشن است ولی تدریجاً مایل به قرمز می‌گردد. منشأ این گیاه برخی از نواحی آسیا بوده و در برخی از نواحی مدیترانه اقدام به کشت آن می‌کنند، در ایران در نواحی مختلف از جمله دامنه‌های البرز، سیستان و بلوچستان و شیراز و خراسان نیز می‌روید (Najafi, 2012). در طب سنتی در منطقه سیستان ریشه و گل گیاه کبر برای درمان امراض مربوط به کبد، طحال، رفع کم خونی و ضعف بدن مورد استفاده قرار می‌گیرد (Iranmanesh et al., 2010). مطالعات جدید اثر ضد دیابتی، ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی آن را تایید کرده است (Tlili et al., 2011; Kulisic-Bilusic et al., 2012).

مطالعات فیتوشیمیایی، وجود ترکیبات متنوع مختلفی از جمله گلوکوزینولات‌ها، ایزوتیوسیانات گلوکوزیدها، گلوکوزیدها، فنول‌ها، ترپن‌ها، ساپونین‌ها، استرول‌ها، تانن‌ها و سولفیدها در گیاه کبر را تأیید کرده است (Hamed et al., 2007; Mishra et al., 2007). بررسی منابع علمی مختلف نشان می‌دهد تاکنون مطالعه‌ای در زمینه بررسی فیتوشیمیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه کبر در منطقه سیستان انجام نشده است. لذا در این تحقیق ابتدا ترکیبات اسانس میوه گیاه کبر در منطقه سیستان با استفاده از GC/MS

مطالعه شد. در ادامه با توجه به اینکه عوامل مختلفی از جمله روش‌های استخراج عصاره بر خواص آنتی‌اکسیدانی اثر می‌گذارد، شاخص‌های مختلف استخراج عصاره با روش مایکروویو بهینه‌سازی شد و میزان آنتی‌اکسیدان با روش DPPH اندازه‌گیری گردید.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه‌ها: در این تحقیق، میوه گیاه کبر در تابستان ۱۳۹۳ از روستای نیک‌محمد شهرستان هیرمند (استان سیستان و بلوچستان) با مختصات عرض جغرافیایی۳۳۹۹۲۶ شرقی و طول جغرافیایی ۵۱۱۸۱۴ شمالی جمع‌آوری شد و تحت شرایط طبیعی، محیطی و با استفاده از جریان هوا، به‌مدت چند روز در سایه خشک شد. سپس با استفاده از دستگاه آسیاب به‌صورت پودر در آمد.

بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس: از ۵۰ گرم میوه گیاه کبر با روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شد. اسانس به‌دست آمده در ویال کوچکی ریخته و به آن سدیم سولفات انیدر به‌منظور جذب آب اضافه شد. اسانس تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد. اسانس به‌دست آمده از مرحله قبل پس از آماده سازی، به‌دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) تزریق شد، تا نوع ترکیبات تشکیل دهنده آن مشخص شود. دستگاه گاز کروماتوگراف استفاده شده از نوع Hewlett-Packard-6890 با ستون به طول۵۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۰ میلی‌متر و ضخامت لایه ۲۵ میکرومتر و ذرات از جنس متیل سیلیکون کراس لینک بود. برنامه حرارتی از ۱۰۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با تغییرات ۴ درجه در دقیقه استفاده گردید. از هلیم فوق خالص با سرعت عبور ۱ میلی لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده می‌شود. انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و درجه حرارت ۲۵۰ درجه سانتی گراد برای تولید منبع یون تنظیم می‌گردد. دتکتور از نوع انتخاب گر جرمی (HP-5970 mass-selective detector-USA) بود. شناسائی هر ترکیب براساس زمان باز داری و جرم ثبت شده آنها انجام گرفت.

عصاره‌گیری: عصاره‌گیری با روش مایکروویو صورت گرفت. پارامترهای نوع حلال (اتانول، متانول و آب)، زمان، دما و توان عصاره‌گیری بهینه شد. در پایان استخراج، محلول فوق از کاغذ صافی ۱۵۰ میلی‌متری عبور داده شد. عصاره تهیه شده بلافاصله مورد استفاده قرار گرفت و یا تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی گراد در تاریکی قرار داده شد (Chemat and Cravotto, 2013).

بهینه‌سازی نوع حلال: عصاره متانولی، اتانولی و آبی گیاه کبر تهیه شد. ۰/۵ گرم میوه پودر شده گیاه کبر در ظرف شیشه ای استخراج دستگاه مایکروویو قرار گرفت. به ظرف حاوی گیاه ۱۰ میلی‌لیتر حلال اضافه گشت. توان دستگاه در پیش فرض ۳۰۰ وات، دما ۷۵ درجه سانتی‌گراد و زمان ۱۵ دقیقه تنظیم شد (Hayat, 2010).

بهینه‌سازی توان دستگاه مایکروویو: عصاره گیری در توان‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ وات انجام شد و دیگر عوامل ثابت در نظر گرفته شد.

بهینه‌سازی زمان عصاره‌گیری: عصاره‌گیری با ثابت نگه داشتن سایر عوامل در زمان‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه صورت گرفت.

بهینه‌سازی دمای استخراج: عصاره‌گیری در دماهای ۶۵، ۷۵، ۸۵، ۹۵ و ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد با ثابت نگه داشتن سایر عوامل صورت گرفت.

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه به‌وسیله روش DPPH صورت گرفت. پس از عصاره‌گیری، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول DPPH، به ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره مورد نظر

(به نسبت ۱:۱) اضافه گردید. پس از ۲۰ دقیقه تکان دادن در محیطی تاریک، محلول فوق پس از صاف کردن، به دستگاه HPLC تزریق شد. عصاره‌های بدست آمده از هر سه حلال به‌صورت بالا واکنش داده و آنالیز گردید. سپس براساس سطح زیر پیک کروماتوگرام مربوطه، بهینه‌سازی نوبتی صورت گرفت. جهت بررسی کروماتوگرام DPPH، محلول استاندارد تهیه شده به دستگاه HPLC تزریق شد که این کروماتوگرام در مراحل بعدی به عنوان مرجع استفاده شد. فرایند خنثی شدن رادیکال DPPH توسط آنتی‌اکسیدان در کروماتوگرام HPLC به‌صورت کاهش ارتفاع و سطح زیر پیک ظاهر می‌گردد که طبق فرمول زیر جهت محاسبه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به کار رفت (Yamaguchi et al., 1998).

$$\Delta S = S_{blank} - S_{sample}$$

پارامترهای موجود به‌صورت زیر تعریف می‌گردند:

ΔS: تفاضل سطح زیر پیک‌ها (میزان خاصیت آنتی‌اکسیدان)

S_{blank}: سطح زیر پیک محلول استاندارد DPPH

S_{sample}: سطح زیر پیک محلول استاندارد پس از واکنش با عصاره گیاهی.

نتایج

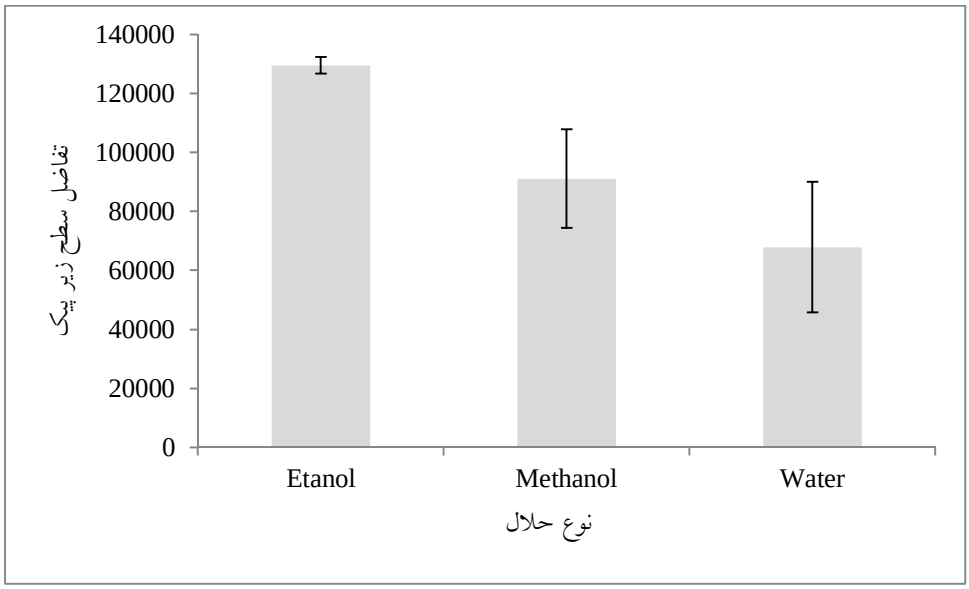
بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس: نتایج بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس میوه گیاه کبر که از بررسی طیف‌های حاصل از تزریق اسانس به‌دستگاه GC و GC/MS به‌دست آمده است، در جدول ۱ خلاصه شده است. ترپنوئیدها و ترکیبات گوگردار ترکیبات اصلی اسانس بودند. تیمول (۲۴/۱ درصد) بیشترین ترکیب ترپنوئیدی را شامل می‌شد. انواع مختلف ایزوتیوسیانات‌ها (۲۹/۲ درصد) در اسانس مشاهده شد که عمدتاً شامل متیل سولفونیل هپتیل ایزوتیوسیانات (۱۲/۵ درصد)، ایزوپروپیل ایزوتیوسیانات (۶/۱ درصد) بود. راندمان اسانس میوه گیاه کبر ۲/۱ درصد بود.

جدول ۱: آنالیز ترکیبات شناسایی اسانس در میوه گیاه کبر (*Capparis spinosa* L.)

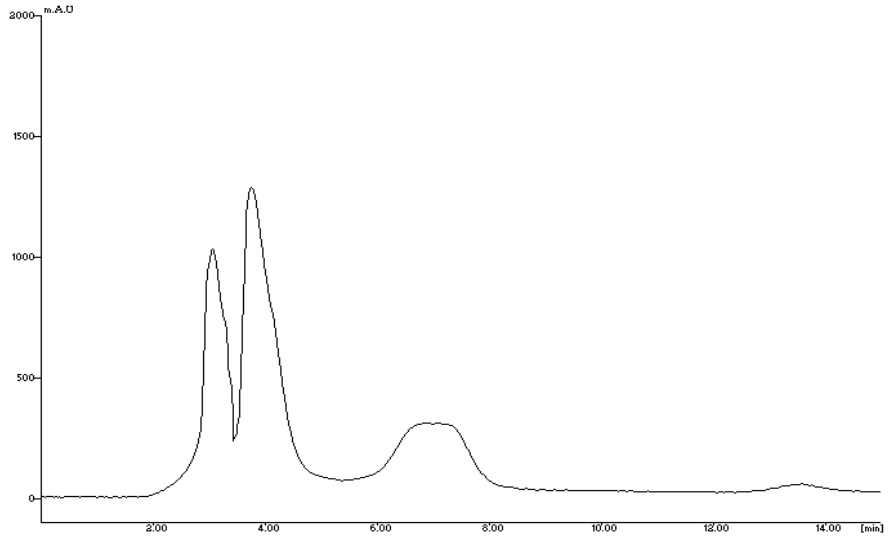
ردیف	نام ماده	شاخص بازداری	درصد (وزنی/وزنی)
۱	methyl isothiocyanate	۷۸۵	۲/۹
۲	iso propyl isothiocyanate	۸۲۲	۶/۱
۳	2-hexeneal	۸۵۸	۱/۳
۴	benzyl aldehyde	۸۶۹	۱/۰
۵	methyl sulfonyl heptyl isothiocyanate	۹۰۲	۱۲/۵
۶	methyl furan	۹۱۹	۱/۶
۷	butyl isothiocyanate	۹۳۶	۷/۷
۸	α-thujene	۹۵۷	۱/۳
۹	comphene	۹۷۱	۱/۱
۱۰	β-pinene	۹۸۸	۰/۹
۱۱	3-octanone	۱۰۱۱	۳/۵
۱۲	α-terpinene	۱۰۲۰	۱/۵
۱۳	ocymene	۱۰۵۱	۱/۲
۱۴	1,8-cineole	۱۰۸۰	۱/۰
۱۵	γ-terpinene	۱۱۰۶	۶/۱
۱۶	linalool	۱۱۲۸	۱/۰

۱۷	cis-sabinene hydrate	۱۱۷۵	۱/۳
۱۸	n-dodecane	۱۲۲۰	۲/۰
۱۹	comphor	۱۲۴۸	۱/۱
۲۰	para-menta-6,8,dien-2-ol-acetate	۱۲۷۰	۱/۰
۲۱	carvone	۱۳۱۱	۱/۵
۲۲	thymol	۱۳۴۵	۲۴/۱
۲۳	caryophyllene	۱۳۸۲	۲/۲
۲۴	n-tetradecane	۱۴۶۰	۱/۳
۲۵	α -farnesene	۱۴۸۱	۰/۹
۲۶	carvacrol	۱۴۹۵	۳/۴
۲۷	cadinol	۱۵۰۶	۰/۹
۲۸	geranyl acetone	۱۵۱۸	۱/۱
۲۹	hexadecanoic acid	۱۵۲۸	۳/۲
۳۰	frulic acid	۱۵۲۶	۰/۹
۳۱	octa decanoic acid	۱۶۰۵	۱/۲
۳۲	n-eicosane	۱۶۲۰	۰/۹
۳۳	beta- sesquiphellandrene	۱۶۳۳	۱/۰

بهینه‌سازی نوع حلال استخراج: جهت انتخاب حلال مناسب به منظور استخراج عصاره کبر، استخراج به کمک حلال‌های آلی و آبی صورت گرفت. با توجه به شکل ۱ تفاوت سطح زیر پیک در عصاره اتانولی بیشترین میزان بوده و بیانگر بالاترین میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در بین این سه عصاره است. بنابراین در ادامه از اتانول به عنوان حلال استخراج استفاده گردید. کروماتوگرام عصاره اتانولی در شکل ۲ نشان شده است.

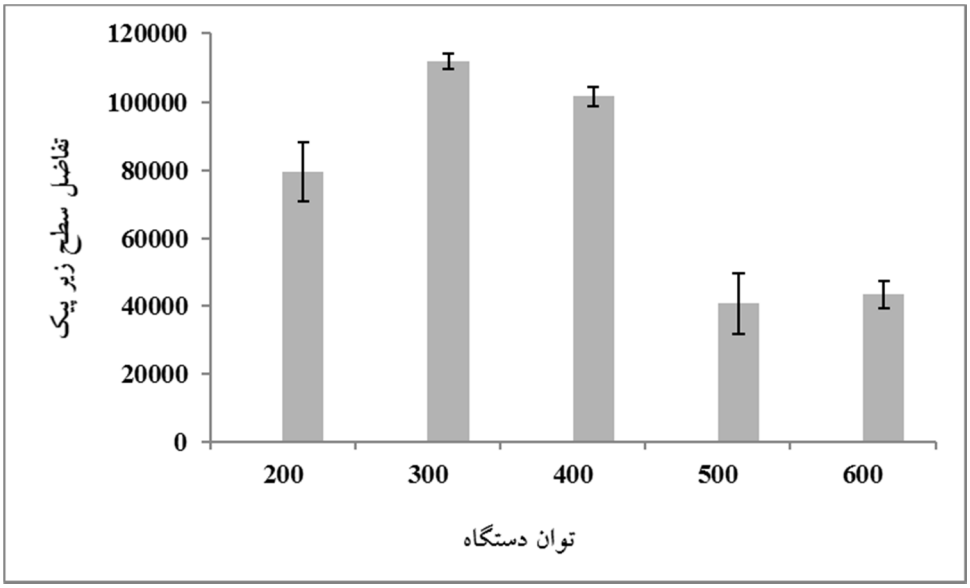


شکل ۱: میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی گیاه کبر استخراج شده به روش مایکروویو. مقادیر میانگین ۳ تکرار ± SD است.



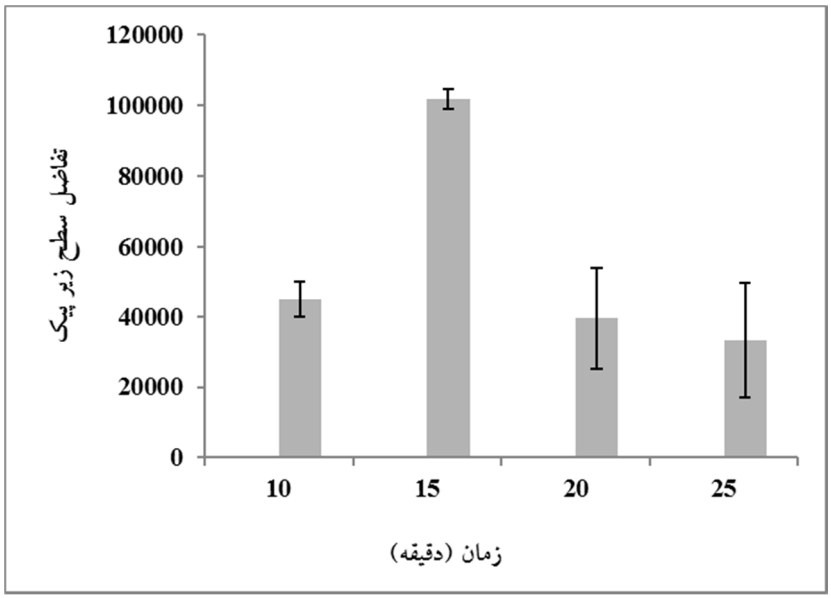
شکل ۲: کروماتوگرام عصاره اتانولی بعد از واکنش با DPPH: طول موج ۵۱۷nm، سرعت جریان ۱ ml/min و فاز متحرک آب: متانول (۷۰:۳۰v/v).

بهینه‌سازی توان دستگاه مایکروویو: استخراج در توان‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ وات انجام گرفت. با افزایش توان دستگاه مایکروویو تا ۳۰۰ وات، میزان ترکیبات استخراج شده از بافت گیاهی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در توان‌های بالای ۳۰۰ وات میزان این ترکیبات کاهش یافت. لذا در ادامه کار از توان ۳۰۰ وات برای عصاره‌گیری استفاده گردید.



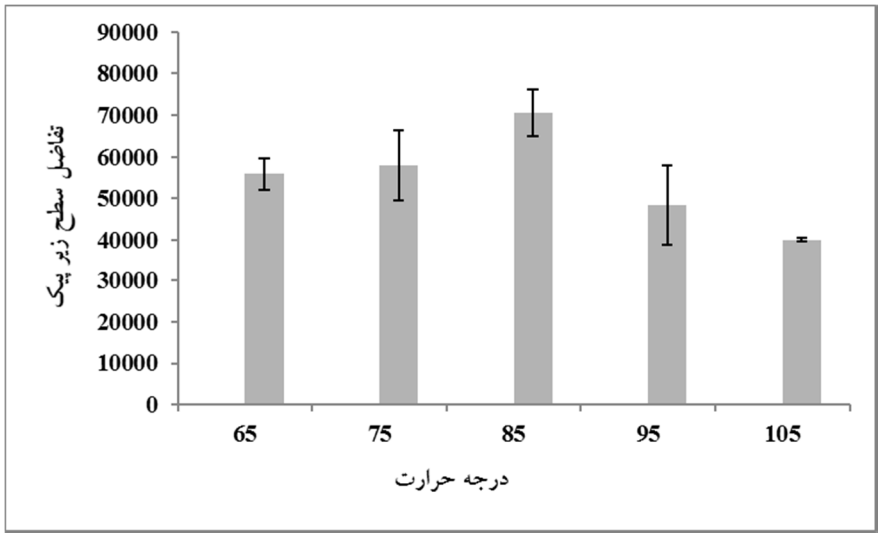
شکل۳: مقایسه توان مایکروویو روی میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی.
مقادیر میانگین ۳ تکرار ± SD است.

بهینه‌سازی زمان عصاره‌گیری: عصاره‌گیری در زمان‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ دقیقه انجام گرفت. محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در زمان ۱۵دقیقه به بیشترین میزان رسید. با افزایش مدت زمان استخراج میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی کاهش یافت (شکل ۴).



شکل ٤: مقایسه زمان استخراج با توان ۳۰۰ وات روی میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی. مقادیر میانگین ۳ تکرار ± SD است.

بهینه‌سازی درجه حرارت استخراج: عصاره‌گیری در درجه حرارت‌های ۶۵، ۷۵، ۸۵، ۹۵ و ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. با افزایش درجه حرارت میزان آنتی اکسیدان افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین میزان محتوای آنتی‌اکسیدان در درجه حرارت ۸۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. در ادامه با افزایش درجه حرارت، میزان آنتی اکسیدان کاهش یافت.



شکل ۵: میزان آنتی‌اکسیدان عصاره‌های استخراج شده در درجه حرارت ۶۵، ۷۵، ۸۵، ۹۵ و ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد. مقادیر میانگین۳ تکرار ± SD است.

بحث

در مطالعه حاضر ترکیب‌های اسانس میوه گیاه کبر در منطقه سیستان بررسی شد. ترپنوئیدها و ترکیبات گوگردار ترکیبات اصلی اسانس بودند. تیمول بیشترین ترکیب ترپنوئیدی را شامل می‌شد. انواع مختلف ایزوتیوسیانات‌ها در اسانس مشاهده شد که عمدتاً

شامل متیل سولفونیل هپتیل ایزوتیوسیانات، ایزوپروپیل ایزوتیوسیانات بود. افشارپور و همکاران (Afsharpour et al., 1998) اولین مطالعه در زمینه شناسایی ترکیبات اسانس برگ، میوه و ریشه کبر در اصفهان انجام دادند. بیشترین ترکیبات در اسانس ریشه و میوه کبر متیل، ایزوپروپیل و سک- بوتیل ایزوتیوسیانات‌ها بودند، در حالیکه ترکیبات اصلی در اسانس برگ، تیمول (۲۴/۶ درصد) و ایزوپروپیل ایزوتیوسیانات (۱۱ درصد) بود. در بررسی اسانس میوه کبر منطقه دارزین کرمان، ۲۹ ترکیب شناسایی شد که ترکیب سولفور مول بیشترین میزان اسانس (۲۹ درصد) را شامل می‌شد (Sanchooli et al., 2012). موهایدات و همکاران (Muhaidat et al., 2013) گزارش کردند ترکیبات اصلی اسانس اندام هوایی کبر اردنی شامل ترکیبات گوگرد دار و نیتروژن دار بود که متیل ایزوتیوسیانات (۳۱/۸۱ درصد) بیشترین ترکیب گوگرد دار را شامل می‌شد. به نظر می‌رسد ترکیب شیمیایی اسانس تحت تاثیر عوامل اقلیمی و جغرافیایی، نوع گونه گیاهی، زمان برداشت و اندام مورد آنالیز باشد (Podrigo et al., 1992).

تاکنون مطالعات زیادی در خصوص آنتی اکسیدان‌های طبیعی انجام شده است. این ترکیبات کاربرد وسیعی در صنایع غذایی دارند (Mishra et al., 2007). اولین مرحله برای جستجوی یک سیستم آنتی‌اکسیدانی، شناخت فعالیت و مکانیسم آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. لذا بهینه سازی روش‌های استخراج جهت دستیابی به بیشترین میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدان ضروری به نظر می‌رسد. روش استخراج به کمک مایکرویو به علت سادگی و سرعت عمل می‌تواند برای استخراج ترکیبات آنتی اکسیدان از نمونه‌های گیاهی موثرتر واقع شود و در مقیاس صنعتی نیز به کار رود (Nguyen et al., 2016). در این تحقیق، پس از بهینه‌سازی پارامترهای مؤثر بر فرآیند استخراج توسط امواج مایکروویو و به دست آوردن بهترین شرایط، میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره کبر استخراج شده بررسی گردید. در تحقیق حاضر، ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه کبر به‌وسیله روش روبش رادیکال‌های آزاد DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. DPPH یکی از قدیمی‌ترین روش‌های سنجش آزمون غیرمستقیم خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که برای یافتن ترکیبات دهنده هیدروژن در مواد طبیعی پیشنهاد شده است. عواملی از قبیل حلال و زمان استخراج بر میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مؤثر می‌باشد (Rusak et al., 2008; Lopez et al., 2011). در عصاره اتانولی بالاترین میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد. اتانول جهت استخراج بسیارقوی‌تر عمل می‌کند، زیرا اتانول تمام انرژی امواج مایکروویو را جذب می‌کند و تأثیری مستقیم روی بافت نمونه وارد می‌کند (Chen and Spiro, 1995). بنابراین سبب افزایش دمای گیاه شده که این افزایش ناگهانی دما سبب ازهم گسیختگی دیواره سلول‌ها می‌شود و اجزاء آن‌ها را به سرعت به محیط اطراف سلول آزاد می‌کند (Keshavarzi, 2002). در ادامه از اتانول به‌عنوان حلال استفاده گردید. با افزایش توان دستگاه مایکروویو تا ۳۰۰ وات، میزان ترکیبات استخراج شده از بافت گیاهی افزایش یافت، اما در توان‌های بالای ۳۰۰ وات کاهش این ترکیبات مشاهده شد که این امر می‌تواند به‌دلیل تخریب ترکیبات فوق در دمای بالای حاصل از امواج مایکوویو باشد (Spigno and Faveri, 2009). زمان و دما دو عامل مهم برای بهینه سازی محسوب می شوند. در استخراج با روش‌های مختلف زمان‌های کوتاه تر یا بلندتر مناسب دانسته شده است (Chemat and Cravotto, 2013). در تحقیق حاضر با افزایش زمان تا ۱۵ دقیقه، میزان ترکیبات اصلی استخراج شده از گیاه افزایش یافت. انتظار می‌رود با گذشت زمان

غلظت ترکیبات استخراج شده از گیاه افزایش یابد اما چنین نبود، احتمالاً زمان کافی برای تابش امواج مایکروویو و افزایش درجه حرارت تا دمای جوش حلال و گیاه ۱۵ دقیقه می‌باشد. لذا طی این مدت زمان، ترکیبات اصلی گیاه به سرعت آزاد می‌شوند و پس از آن ممکن است به‌دلیل تخریب ترکیبات اصلی گیاه توسط حرارت حاصل از امواج مایکروویو، بازده استخراج کاهش یابد (Chen and Spiro, 1995). میزان محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره در درجه حرارت ۸۵ درجه سانتی گراد بیشتر از محتوای عصاره در درجه حرارت‌های دیگر بود و با افزایش دما میزان آن کاهش یافت. با افزایش درجه حرارت احتمالا به دلیل تخریب ترکیبات موجود در عصاره میزان آنتی اکسیدان کاهش می‌یابد (Chemat and Cravotto, 2013). اخیرا شرایط استخراج آنتی اکسیدان‌های گیاه کبر با روش سطح پاسخ نیز بهینه‌سازی شده است که حلال اتانول ۵۰ درصد و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان را باعث شد (Fattahi and Rahimi, 2016).

نتیجه‌گیری نهایی

کبر یک گیاه دارویی و یک فرآورده با ارزش بالا است که در طب سنتی و در صنایع مختلف مصارف گوناگونی داشته ولی تاکنون هیچ گزارش مستندی دال بر مطالعه فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی آن در منطقه سیستان وجود ندارد. در تحقیق حاضر ابتدا ترکیبات اسانس میوه کبر بررسی شد که عمدتاً شامل تیمول و انواع مختلف ایزوتیوسیانات‌ها بود. در ادامه به‌منظور دستیابی به بیشترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی، شاخص‌های مختلف در روش استخراج آنتی اکسیدان‌ها بهینه‌سازی شد و بهترین شرایط برای استخراج آنتی‌اکسیدان‌ها با روش مایکروویو تحت تاثیر حلال اتانول، توان ۳۰۰ وات، زمان ۱۵ دقیقه و درجه حرارت ۸۵ درجه سانتی‌گراد بود. نتایج این تحقیق نشان می دهد که عصاره میوه گیاه کبر به عنوان منبع بالقوه آنتی اکسیدان‌های طبیعی برای درمان برخی بیماری‌ها در نظر گرفته شود.

References

1. Afsharypuor, S., Jeiran, K. and Arefian Jazy, A. 1998. First investigation of the flovour profiles of theleafs, ripe fruit and root of *Capparis spinosa* Var. mucronifolia from Iran. Pharmaceutica Acta Helvetiae, 72 (5): 307-09.
2. Beejmohun, V., Fliniaux, O., Grand, E., Lamblin, F., Bensaddek, L., Christen, P., Kovvensky, J., Fliniaux, M. and Mensnard F. 2007. Microwave-assisted Extraction of the Main Phenolic Compounds in Flaxseed. Photochemistry Analysis, 18: 275–82.
3. Chemat, F. and Cravotto, G. 2013. Microwave-assisted extraction for bioactive compound. Springer: New York, 229 p.
4. Chen, S.S .and Spiro, M. 1995. Kinetics of microwave extraction of rosemary leaves in hexane, ethanol and a hexane + ethanol mixture. Flavour and Fragrance Journal, 10: 101-12.
5. Hamed, A.R., Abdel-Shafeek, K.A., Abdel-Azim, N.S., Ismail, S.I. and Hammouda, F.M. 2007. Chemical investigation of some *capparis* species growing in Egypt and their antioxidant activity. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 4: 25–28.
6. Hayat, Kh. (2010). Effect of microwave treatment on phenolic content and antioxidant activity of *Citrus mandarin* pomace. Food Chemistry, 123:423-429.
7. Iranmanesh, M., Najafi, Sh., Yousefi, M. 2010. Ethnobotany study of medicinal plants in Sistan region. Journal of Herbal Drugs, 2: 61-68.
8. Fattahi, M., Rahimi, R. 2016. Optimization of extraction parameters of phenolic antioxidants from leaves of *capparis spinose* using response surface methodology. Pharmacology and Toxicology, 9(8): 2321–2334.

9. Kamran- khan, M., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A., Dangles, O. and Chemat, F. 2010. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (*Flavanone glycosides*) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. Food Chemistry, 119: 851-58.
10. Keshavarzi, F. (2002). Free radicals and antioxidants. Aeij Press, 67pp.
11. Kulisic-Bilusic, T., Schmoller, I., Siracusa, L. and Ruberto, G. 2012. The anticarcinogenic potential of essential oil and aqueous infusion from caper (*Capparis spinosa* L.). Food Chemistry, 132 (1): 261–267.
12. , Rico, A., Rivero, M., A. and Tangil, D.M. 2011. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. Food Chemistry, 125: 1104-09.
13. Mishra, S.N, Toma, P.C. and Lakra, N. 2007. Medicinal and food value of *Capparis.* Indian Journal of Traditional Knowledge, 6(1): 230-238.
14. Muhaidat, R., Al-Qudah, M., Al-Shayeb, A., Jacob J. and Hussein E. 2013. Chemical profile and antibacterial activity of essential oils and extract fractions of *Capparis ovata* Desf. var. *palaestina* and *Capparis spinosa* L. *var. aravensis.* International Journal of Integrative Biology, 14 (1): 39-47.
15. Najafi, Sh. 2012. Medicinal plants. University of Zabol Publication, Marandiz, Mahhad, 197 p.
16. Nguyen, V.N., Vuong, Q.V., Bowyer, M.C. and Van Altena, I.A. 2016. Microwave-assisted extraction for saponins and antioxidant capacity from Xao Tam Phan (*Paramignya trimera*) root. Journal of Food Processing and Preservation, DOI: 10.1111/jfpp.12851.
17. Pan, Y., Wang, H., Ji, X., Wang, K. and Liu, P. 2011. Antioxidant activity of microwave-assistedextract of *Buddleia officinalis* and its major active component. Food Chemistry, 121: 497-502.
19. Podrigo, M., Lazaro, M.J., Alvarruiz, A. and Giner ,V. 1992. Composition of Capers (*Capparis spinosa*): Influence of Cultivar, Size and Harvest Date. Journal of Food Science, 57 (5): 1152–1154.
20. Prior, R.L. and Co, G. 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetable diet and health implications. Horticultural Science, 35: 582-88.
21. Rehman, S.U., Choe, K. and Yoo, H.H. 2016. Review on a traditional herbal medicine, *Eurycoma longifolia* Jack (Tongkat Ali): Its Traditional uses chemistry, evidence - based pharmacology and toxicology. Molecules, 21 (331): 1-31.
22. Rusak, G., Komes, D., Likic, S., Horzicb, D. and Kovac, M. 2008. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. Food Chemistry, 110: 852-58.
23. Sanchooli, M., Bagheri, R., Jaberi, Sh., Mohammadi, S. and Khedangi, Z. 2012. Comaring the essential oil composision of root, leave and fruit of *Capparis spinosa* in field and habitat. Plant and Ecosystem, 8: 27-40.
24. Spigno, G. and Faveri, D.M. 2009. Microwave-assisted extraction of tea phenols: A phenomenological study. Journal of food engineering, 93: 210-17.
25. Tlili, N., Elfalleh, W., Saadaoui, E., Khaldi, A., Trike, S. and Nasri, N. 2011. The Caper (*Capparis* L.): Ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. Fitoterapia, 82 (2): 93-101.
26. Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T. and Terao, J. 1998. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of Foods by using 1, 1-diphenyl-2- picrylhydrazyl. Bioscience Biotechnology and Biochemistry Journal, 62: 1201-04.