مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی عصاره دو گیاه (*Dianthus caryophylus ,Fumaria vaillant*) با استفاده از روشهای TLC و HPLC

پریچهر حناچی[1*]، مرجان حسین پور[2]

۱- دانشیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران.

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳

کلمات کلیدی:

سرطان،

فلاونوئیدی،

فنولها،

شاه تره،

آنتی اکسیدانی،

کروماتوگرافی،

میخک.

DOI: 10.52547/fsct.18.116.231

* مسئول مکاتبات:

p.hanachi@alzahra.ac.ir

چکیده

در این مطالعه دو گیاه میخک و شاهتره میزان فلاونوئیدهای تام و فنل های تام وفعالیت انتی اکسیدانی عصاره متانولی،آبی،اتانولی دو گیاه شاهتره و میخک بررسی و نتایج به دست آمده با هم مقایسه شد. سنجش میزان فنل و فلاونوئید تام و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها با استفاده از روش DPPH و FRAP اندازه گیری شد. و روش کروماتوگرافی TLCو HPLC با هدف جداسازی ترکیبات فنولی موجود در گیاه شاهتره و میخک انجام شد. بیشترین مقدار فنول مربوط به گیاه شاه تره درحلال متانولی و روش خیساندن بوده که مقدار10±0/14 mg/g DW بوده و بیشترین مقدار فلاونوئید مربوط گیاه شاه تره در حلال متانولی و روش خیساندن 9±0/14 mg/g DW بوده و تفاوت معنی داری را در سطح P< ۰/۰۵ نشان داد. بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی مربوط به حلال متانولی شاهتره و روش خیساندن با روش DPPH به مقدار 0/4±0/14µg/ml بوده و تفاوت معنی داری را در سطح P< ۰/۰۵ نشان داد. با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک ترکیبات گالیک اسید و ٤ هیدروکسی ۳و۵ دی متوکسی بنزوئیک اسید و٤هیدروکسی سینامیک اسید و وانیلیک اسید شناخته شدند.و با استفاده از کروماتوگرافی با کارایی بالا ترکیبات فنولی گالیک اسیدو ٤هیدروکسی سینامیک اسیدو ٤هیدروکسی بنزوئیک اسید شناسایی شدند. نتایج این مطالعه به خوبی نشان می دهند که فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاهان با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدهای تام رابطه مستقیم دارد. پیشنهاد میشود با انجام ازمایشهای تکمیلی استفاده از انتی اکسیدان های طبیعی موجود در گیاه شاهتره و میخک را جایگزین آنتی اکسیدان های مصنوعی نمود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

۱-مقدمه

کشور ایران از مناطق خاص دنیا است که دارای تنوع آب و هوایی بسیار زیادی بوده و این امر سبب شده که ذخیره عظیمی از گیاهان، قارچ‌ها، جلبک‌ها، جانوران و میکروارگانیسم‌ها، که همگی ذخایر عظیمی از ترکیبات فعال زیستی را در خود دارند را در اختیار داشته باشیم. امروزه ایران به عنوان یک اقلیم مهم برای مطالعات دستیابی به داروهای دارای منشاء زیستی، شناخته شده است.

ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان برای محافظت و ایمنی در برابر بسیاری از بیماری های مزمن مانند بیماری های قلبی عروقی، چاقی، دیابت، و انواع سرطان ها پیشنهاد شدند، که برای حفاظت از ابتلا به سرطان با رژیم ضمنی از ترکیبات شیمیایی گیاهی احتمال بروز سرطان تا ۲۰٪ کاهش پیدا می یابد. ترکیباتی که مسئول خاصیت دارویی هستند، معمولا متابولیت های ثانویه هستند. فراورده های طبیعی گیاه نقش فعالی را در تولید تعداد قابل توجهی از ترکیبات دارویی در برنامه کشف داروها ایفا می کنند. اخیرا در گزارشات تحقیقات اعلام شده است که ٤٩٪ از ۸۷۷ ملکول های کوچک که به عنوان داروهای جدید در سال های ۱۹۸۱ و ۲۰۰۲ معرفی شده است، یا کاملا از محصولات طبیعی حاصل شده اند و یا به صورت نیمه مصنوعی و یا به طور مصنوعی بر پایه مدل های فراورده طبیعی تهیه می شوند [۲,۱].

گیاه میخک *Dianthus spp* یکی از بزرگترین جنس ها از گیاهان تیره *Caryophyllaceae* میباشد. این جنس دارای گونه های متنوعی است که در طی قرن ها برای اهداف زینتی به کار میرود.به عنوان مثال] D. *caryophyllu* (*carnation*) با گلهای به رنگ صورتی جهت اهداف زینتی و تجاری تولید میشود [۳]. عصاره گیاه میخک شامل الکالوئید ها و کومارین ها و سیانوژن گلیکوزید نیز می باشد.و روغن های جدا شده از این گیاه شامل:فنیل اتیل الکل، بنزوآت، هگزنیل، هگزیل بنزوآت، بنزیل بنزوآت می باشد. گیاه میخک دارای درصد بالایی از ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی می باشد. فلاونوئید های موجود در آن شامل apigenin-C-glycoside، kaempferol و غیره می باشد. از ویژگی های بارز این گیاه حضور ساپونین های تری ترپنوئیدی می باشد.ساپونین ها با ساختارهای متنوع، دارای بعضی از اثرات مفید یا سمی، درچندین فعالیت زیستی دخالت دارند.هرچند این ملکول ها غیر اختصاصی هستند اما فعالیت قابل توجهی را برای کنترل واکنش های موجود بین گیاه با موجود زنده دیگر را بر عهده دارند.محققین دیگر نقش های دفاعی متعددی را برای ساپونین ها در نظر گرفته اند [٤ , ٥]. *F. Vaillantii*، معمولا به عنوان "شاه تره" در طب گیاهی ایرانی شناخته شده است، دارای اثرات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و سیتوتوکسیک می باشد[٦]. آنتی اکسیدان های اولیه الکترون یا هیدروژن خود را به رادیکالهای آزاد میدهند در حالیکه آنتی اکسیدانهای ثانویه به عنوان همیار عمل میکنند، یعنی از طریق دادن هیدروژن و بازیابی آنتی اکسیدان اولیه و یا جاروب کننده های اکسیژن و عوامل کلاته کننده نقش خود را ایفا می نمایند[۱]. سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی شامل عوامل آنزیمی نظیر سوپر اکسید دسموتاز کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز می باشد.که به ترتیب رادیکال های سوپر اکسید و پراکسید های آلی و هیدروژن پر اکسید را در درون سلول ها خنثی میکند. همچنین در این سیستم عوامل غیر آنزیمی همچون ویتامین E کاروتنوئید ها و ویتامین C نیز به عنوان آنتی اکسیدان در خنثی سازی بسیاری از رادیکال های موجود در بدن دخالت دارند.[۷]. ترکیبات فنلی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی شامل فلاونوئیدها، تانن ها و آنتوسیانین و هستند. کـه معمـولا در میوه ها، سبزیجات، برگ ها، آجیل ها، دانه ها، ریشه و در سایر قسمت های گیاه میتوان آنها را دید. این ها استفاده قابـل توجهی در زمینه مواد غذایی، شیمی، داروسازی و پزشکی بـا توجه به طیف گسترده ای از اثرات مطلوب زیسـتی از جملـه خواص آنتی اکسیدان دارا هستند. فلاونوئید ها و سـایر ترکیبـات فنلـی انتشـار وسـیعی در گیاهان دارند و فعالیت بیولوژیک متنوع این ترکیبات از جمله آنتی اکسیدانی، آنتی میکروبی، ضد التهاب دارند. [۸ , ۹].

هدف از انجام این پژوهش، مقایسه میزان فلاونوئید و فنل تام وفعالیت انتی اکسیدانی عصاره متانولی،آبی،اتانولی دو گیاه میخک و شاهتره و انجام روش کروماتوگرافی لایه نازک(TLC) و مایع با کارایی بالا با هدف جداسازی ترکیبات فنولی موجود در این دو گیاه میباشد. تا کنون مطالعه ای مبنی بر مقایسه ترکیبات ثانویه این دو گونه گیاهی صورت نگرفته است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

۲- مواد و روش ها

۲-۱ - تهیه نمونه

گیاهان مورد ازمایش (*Dianthus Caryophyllaceae, Fumaria vaillantii*)، از باغ گیاهان دارویی تهران تهیه و ابتدا ساقه های این گیاهان با استفاده از آسیاب خرد شده اند.نمونه های مورد استفاده برای ازمایش های مرحله استخراج دارای اندازه ذرات بین صفر تا 2nm شدند.نمونه ها تا زمان آزمایش در یخچال ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شدند .مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت های مرک و سیگما تهیه شده بودند.

۲-۲- استخراج ترکیبات موثره با دو روش مختلف عصاره گیری

در روش امواج فراصوت جهت عصاره گیری، ۱۰۰میلی گرم اندام هوایی نمونه های مختلف در ۱۰ میلی لیتر (متانول ۸۰٪، اتانول ۷۰٪، آب) با استفاده از امواج فراصوت تولید شده توسط دستگاه Ultrasonic با قدرت 40kHz به مدت ۲۰ دقیقه در دمای 40°C عصاره گیری شد[٥].

۲-۳- سنجش ترکیبات فنلی کل

محتوای فنلی تام بر اساس روش رنگ سنجی Folin-ciocalteau با استفاده از گالیک اسید به عنوان استاندارد اندازه گیری شد .روش فولین سیوکالتو از متداول ترین روش های اندازه گیری ترکیبات فنلی می باشد .اساس کار در این روش، احیاء معرف فولین سیوکالتو توسط ترکیبات فنلی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج 750 نانومتر نشان می دهد. برای رسم منحنی از گالیک اسید استاندار بر حسب mg/g DW محاسبه شد[۱۰] .

۲-٤- اندازه گیری محتوای فلاونوئید کل

محتوای فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم با استفاده از کوئرستین به عنوان استاندارد اندازه گیری شد.میزان جذب نوری آنها در طول موج 414nm خوانده شده و منحنی استاندارد رسم گردید.

۲-٥- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدان به وسیله دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)

دی فنیل پیکریل هیدرازیل از رادیکال های آزاد پایدار است .در این روش توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط عصاره های موجود، از روی میزان تغییر رنگ محلول ارغوانی به محلول زرد رنگ سنجیده شد. مقادیر مختلفی از عصاره ها (0/1-10µL) را با متانل مطلق به حجم 2ml رسانده شد. پس از افزودن 1ml محلول ۰/۰۰٤ ٪ DPPH ، مخلوط به خوبی تکان داده شد و به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداری گردید .سپس جذب نمونه ها در ٥۱۷nm خوانده شده است. و با جایگزین کردن در فرمول زیر درصد رادیکال های آزاد پاکسازی شده(RSA٪) محاسبه گردیده است. متانل مطلق برای صفر کردن دستگاه و نمونه حاوی۲ میلی متر متانل مطلق و ۱میلی متر DPPH به عنوان کنترل در نظر گرفته شد.

در این رابطه:

$$\%RSA= ((A_{control} - A_{sample}))/A_{control}) \times 100$$

A_{sample} میزان جذب نمونه، $A_{control}$ میزان جذب شاهد در طول موج ٥۱۷nm و RSA میزان فعالیت به دام اندازی رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل است .به جهت بررسی بهتر فعالیت آنتی اکسیدانی، از فاکتور IC_{50} استفاده شد که بیانگر غلظتی از عصاره است که قادراست به کاهش غلظت رادیکال آزاد DPPH اولیه به میزان 50% مقدار اولیه است و هرچه مقدار آن کمتر بوده باشد نشان دهنده میزان فعالیت بیشتر آنتی اکسیدانی است.همچنین IC_{50} برای تفسیر بهتر نتایج حاصل از این روش به عنوان غلظت موثر (Efficient Concentration) کار برده شد [۱].

۲-٦- اندازه گیری توان آنتی اکسیدانی احیاء آهن(FRAP)

در این روش توانایی عصاره ها در احیای یونهای فریک (Fe^{3+}) در حضور آنتی اکسیدانها اندازه گیری می شود .با احیای یون های فریک (Fe^{3+}) و تبدیل آن به یونهای فرو (Fe^{2+}) در pH اسیدی و درحضورTPTZ (2,4,6 – Tripyridyl-s-Triazine)، کمپلکس TPTZ-Fe تشکیل می شود که رنگ آن

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

آبی است .پس از آن سنجش نوری در 593nm اندازه گیری می شود.

۲-۷- اندازه گیری ظرفیت تام آنتی اکسیدانی براساس روش FRAP

مقدار ۱/۵ ml از معرف FRAP به هر یک از لوله های آزمایش افزوده و مقدار ۵۰ µl از نمونه و یا استاندارد سولفات آهن با غلظتMm ۱ (برای رسم منحنی استاندارد ۵-۲) به لوله های مذکور اضافه و کاملا ورتکس گردید. جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۹۳nm در مقابل بلانک غلظت صفر استاندارد (۱/۵ml محلول FRAP و ۵۰ml آب مقطر) اندازه گیری شد.

۲-۸-کروماتوگرافی لایه نازک برای تایید اثر آنتی اکسیدانی

فعالیت مهارکنندگی عصاره های حاصل با استفاده از محلول DPPH و کروماتوگرافی لایه نازک TLC و مورد بررسی قرار گرفت. ۸µl محلول های متانلی استاندارد ها، و ۸µl از عصاره های متانولی و اتانولی و آبی حاصل از گیاهان شاهتره و میخک را روی کاغذ سیلیکاژل TLC Silica gel 60 ,25 Aluminium sheets 20 x 20 cmبه فاصله ی یک و نیم سانت از یکدیگر لکه گذاری میکنیم. حلالی را که از قبل با نسبت های (۱:۱:۲) از آب،استیک اسید، n بوتانول تهیه کردیم را در تانک TLC میریزیم و در آن را قرار داده و زمان میدهیم تا تانک از حلال کاملا اشباع گردد. بعد از بارگذاری لکه ها کاغذ را درون تانک قرار دادیم و تا زمانی که حلال به انتهای کاغذ برسد این کار را ادامه دادیم سپس کاغذ را خارج کرده و در دمای اتاق قرار داده شده تا خشک شود.

.سپس صفحه سیلیکاژل TLC که خشک شده را با محلول متانولی DPPH ۰/٤٪ اسپری میکنند. استانداردهای استفاده شده شامل: گالیک اسید،تانیک اسید، ٤ هیدروکسی ۳و۵ دی متوکسی بنزوئیک اسید، سینامیک اسید، ٤ هیدروکسی سینامیک اسید، کوماریک اسید، وانیلیک اسید، بود. لکه ها با استفاده از محلول متانولی DPPH مشاهده و Rf آن از رابطه زیر محاسبه گردید[۱۱].

۲-۹- کروماتوگرافی با کارایی بالا برای تعیین ترکیبات فنلی(HPLC)

در جهت تعیین ترکیبات فنلی روش کروماتوگرافی (HPLC) انجام شد.استاندارد هایی که ما در این پژوهش از آنها استفاده کردیم شامل: گالیک اسید، وانیلیک اسید، کوماریک اسید، ٤ هیدروکسی ۳و ۵ دی متوکسی بنزوئیک اسید، ٤کلرو بنزوئیک اسید، ٤ هیدروکسی بنزوئیک اسید،٤ هیدروکسی سینامیک اسید،رزمارینیک اسید،سینامیک اسید٤۰۰ میلی گرم از دو گیاه میخک و شاه تره با ۲۰ میلی لیتر حلال متانول ۸۰٪ به مدت نود دقیقه در بن ماری با دمای ۷۰ درجه قرار داده شده و عصاره گیری کامل شده است. در روش (UAE)، 20 mlحلال متانول ۸۰ ٪ به٤۰۰ میلی گرم نمونه افزوده و مخلوط حاصل در حمام اولتراسونیک به مدت ۲۰ دقیقه استخراج شد این عمل دو بار در دمای اتاق انجام و نمونه ها برای ۱۰ دقیقه 3000gسانتریفیوژ شدند. متانل نمونه ها در دمای اتاق تبخیر شد و به باقی مانده نمونه در سه مرحله اتیل استات افزوده شد. پس فاز رویی را که اتیل استات بود برداشته و خشک گردید. سپس ۱۰ mg از نمونه در ۲ml استونیتریل حل شد. به عنوان فاز متحرک از مخلوط آب، استونیتریل و استیک اسید به نسبت (٦۷ ،٪ ۳۲ ،٪ ۱٪) (روش گرادیانت) با سرعت جریان 1min/ml استفاده شد. برای شست و شوی دستگاه از دو روش شامل: در مرحله اول آب واستونیتریل با نسبت ۵۰:۵۰ و در روش دوم فقط از استونیتریل استفاده شد. حجم نمونه تزریق شده در هربار تزریق ۳۰ µl بود و برای هر نمونه سه بار تکرار انجام شد. مدت زمان انجام آزمایش برای هر تزریق ۱۰ دقیقه به طول انجامید[۱۱].

۲-۱۰- آنالیز آماری

تمام آزمایش های انجام شده در این پژوهش براساس طرح اماری بلوک های کاملا تصادفی در ۳تکرار طراحی شده اند.بعد از انجام هر سنجش داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS version 17 در سطح احتمال P<0/05 تجزیه و تحلیل شدند. براساس نوع عوامل مورد آزمایش به کمک تجزیه واریانس یک طرفه برای طرح یک عامل(ANOVA) و تجزیه واریانس دو طرفه برای طرح های دو یا چند عاملی میانگین ها مقایسه و معنی دار بودن اختلاف بین میانگین ها تعیین گردید. و داده ها به کمک آزمون چند دامنه ای دانکن گروه بندی شدند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

۳- نتایج و بحث

۳-۱- مقایسه محتوای ترکیبات فنلی

نتایج حاصله از بررسی میزان ترکیبات فنلی عصاره های حاصل از دو گیاه میخک و شاهتره در حلال های آبی، متانولی، اتانولی که با دو روش استخراج استفاده از امواج فراصوت، و خیساندن عصاره گیری شده بودند نشان داد که در روش استخراج استفاده از امواج فراصوت، بیشترین و کمترین محتوای ترکیبات فنلی در عصاره حاصل از گیاه شاهتره در حلال متانولی و گیاه میخک در حلال آبی به ترتیب به میزان mg/g DW ۰/۵±۱/۱۹و mg/g DW ۰/۱± ۵ به دست آمد که تفاوت معنی داری را در سطح P<۰/۰۵ نشان داد. در حالی که در روش خیساندن بیشترین و کمترین محتوای ترکیبات فنولی در عصاره حاصل از گیاه شاهتره در حلال متانولی وعصاره حاصل از گیاه میخک در حلال آبی به میزان mg/g DW ۵/۲±۰/۵۱mg/g DW و mg/g DW ۱۰±۰/۱۴ اندازه گیری شد که تفاوت معنی داری را در سطح P< ۰/۰۵ نشان داد. (شکل ۱و۲).

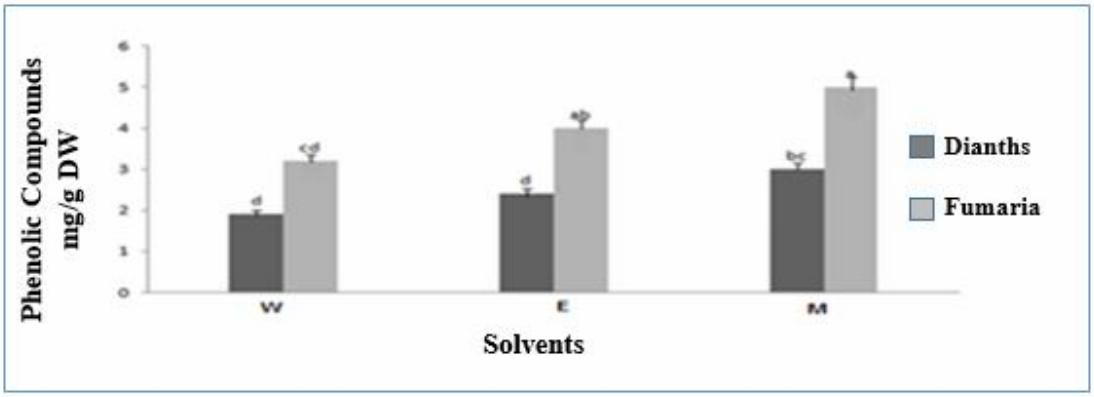

Fig 1 The amount of phenolic compounds in the extracts obtained by ultrasonic method (W: water, M: methanol, E: ethanol).

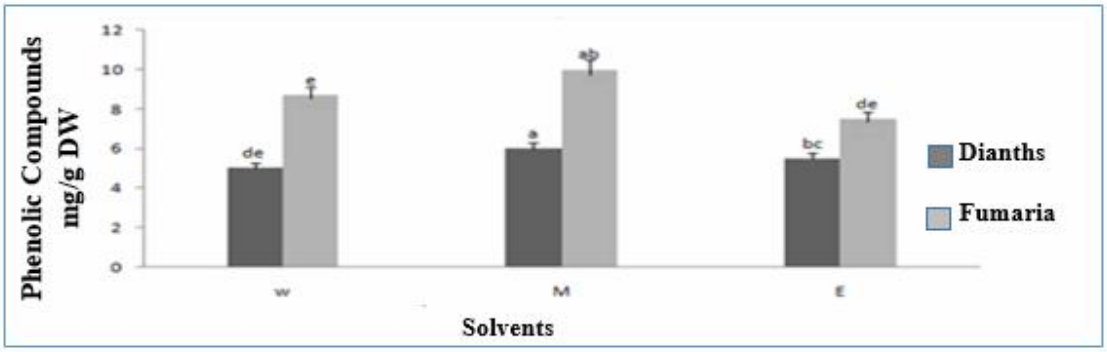

Fig 2 The amount of phenolic compounds in the extracts obtained by Maceration method (W: water, M: methanol, E: ethanol).

۳-۲- مقایسه محتوای ترکیبات فلاونوئیدی

میزان ترکیبات فلاونوئیدی عصاره های حاصل از دو گیاه شاه تره و میخک در حلال های آبی، اتانولی، متانولی، که با دو روش استخراج استفاده از امواج فراصوت و خیساندن عصاره گیری شده بودند نشان داد که در روش استخراج استفاده از امواج فراصوت ،بیشتر ترین و کم ترین محتوای ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره حاصل از گیاه شاهتره در حلال اتانولی و در عصاره حاصل از گیاه میخک در حلال آب به ترتیب به میزان mg/g DW۰/۰۳± ۱/۸، ۰/۱۲ ± ۳ به دست آمد که تفاوت معنی داری را در سطح احتمال P< ۰/05 نشان داد. در حالی که در روش خیساندن بیش ترین و کم ترین محتوای ترکیبات فلاونوئیدی در عصاره حاصل از گیاه شاه تره در حلال متانول و حلال آبی به ترتیب به میزان mg/g DW ۰/۱۴ ±۰/۶، mg/g DW ۰/۲± ۲/۳ اندازه گیری شد که تفاوت معنی داری را در سطح P<۰/۰۵ نشان

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

داد (شکل ۳ و ٤).

مقایسه میانگین های محتوای ترکیبات موثره در دو گیاه شاه تره و میخک، با سه حلال مختلف و همچنین نوع گیاه هم اثرات متقابل روش عصاره گیری و نوع حلال در سنجش ترکیبات فنلی تفاوت معنا داری را در مقدار محتوای ترکیبات موثره در سطح P <۰/۰۵ از خود نشان دادند.

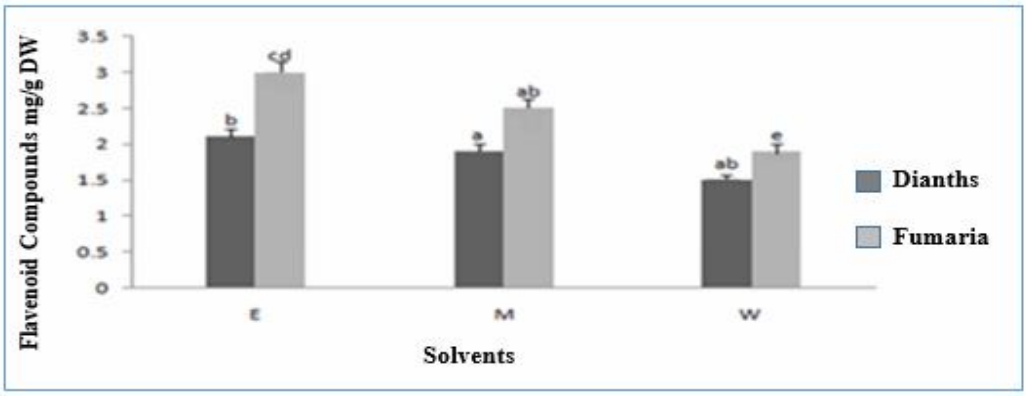

Fig 3 The amount of flavenoid compounds in the extracts obtained by ultrasonic method (W: water, M: methanol, E: ethanol).

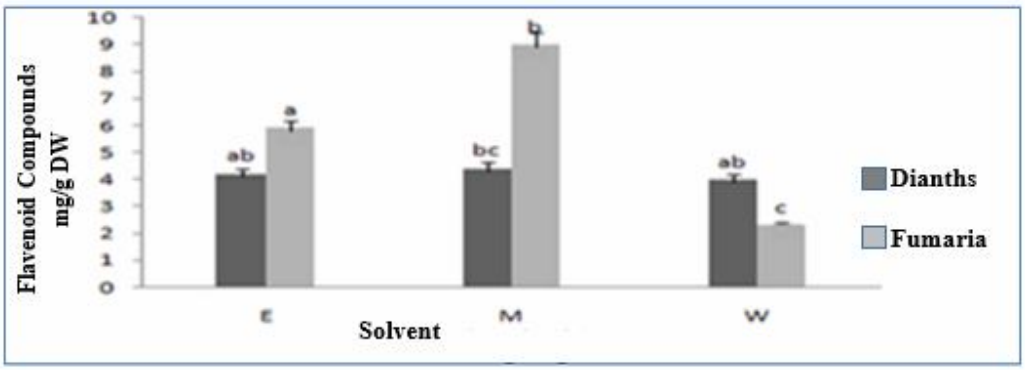

Fig 4 The amount of flavenoid compounds in the extracts obtained by Maceration method (W: water, M: methanol, E: ethanol).

اثر متقابل روش عصاره گیری و نوع گیاه در محتوای ترکیبات فلاونوئیدی و فنولی تفاوت معناداری را نشان نداد.

۳-۳- مقایسه خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره استخراج شده از *Dianthus caryophylus*، *Fumaria vaillanti* حاصل از دو روش مختلف

الف- روش DPPH: میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهان *Dianthus caryophylus*، *Fumaria vaillanti* حاصل از دو روش مختلف عصاره گیری نسبت به آسکوربیک اسید و گالیک اسید به عنوان شاهد در شکل ۵ نشان داده شده است.در این آزمون ،محلول متانولی DPPH با آنتی اکسیدان ها یا سایر رادیکال های دهنده پروتون مانند ترکیبات فنلی و همچنین فلاونوئیدی واکنش میدهد و به شکل غیر رادیکالی خود تبدیل خواهد شد. در نهایت مقدار آن کاهش پیدا میکند و رنگ بنفش تیره به زرد روشن تبدیل خواهد شد.در نتیجه میزان جذب در طول موج ۵۱۷-۵۱۰ نانومتر کاهش می یابد. بنابراین هرچه مقدار جذب DPPH باقیمانده در نمونه های شکل۵ بیشتر باشد فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها در حذف رادیکال های آزاد کمتر بوده است. نتایج نشان داد که در روش استخراج استفاده شده از امواج فراصوت ،بیشترین و کم ترین فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره حاصل از گیاه شاهتره در حلال متانولی و گیاه میخک در حلال آب بوده است که به ترتیب به میزان (IC_{50} =0/5±0/05, 1/4±01/2 µg/ml) به دست آمد که تفاوت معنی داری را در سطح P <۰/۰۵ نشان داد. در حالی که در روش خیساندن بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنتی

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

اکسیدانی در عصاره حاصل از گیاه شاهتره در حلال متانولی و گیاه میخک در حلال آبی به ترتیب به میزان (IC_{50} =0/4±0/14, 0/61±0/14 µg/ml) اندازه گیری شد که تفاوت معنی داری را در سطح P <۰/۰۵ نشان داد (شکل۵- ۷). در تمام عصاره های حاصل از دو روش استخراج، استفاده از امواج فراصوت و خیساندن، پتانسیل آنتی اکسیدانی با افزایش غلظت عصاره و یا به عبارتی با افزایش ماده موثره موجود در محلول واکنش افزایش پیدا کرده است.

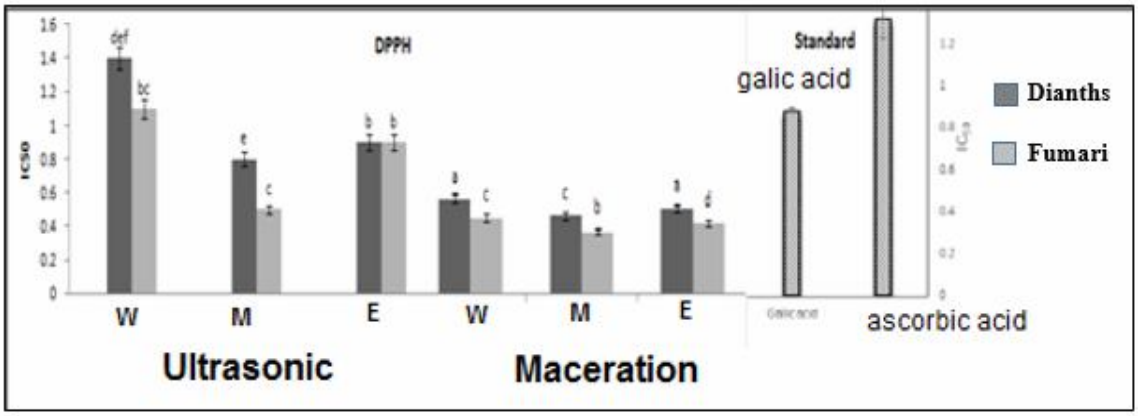

Fig 5 Comparison of antioxidant effect of different extracts with two methods of extraction ultrasonic and Maceration by DPPH assay (W: water, M: methanol, E: ethanol)

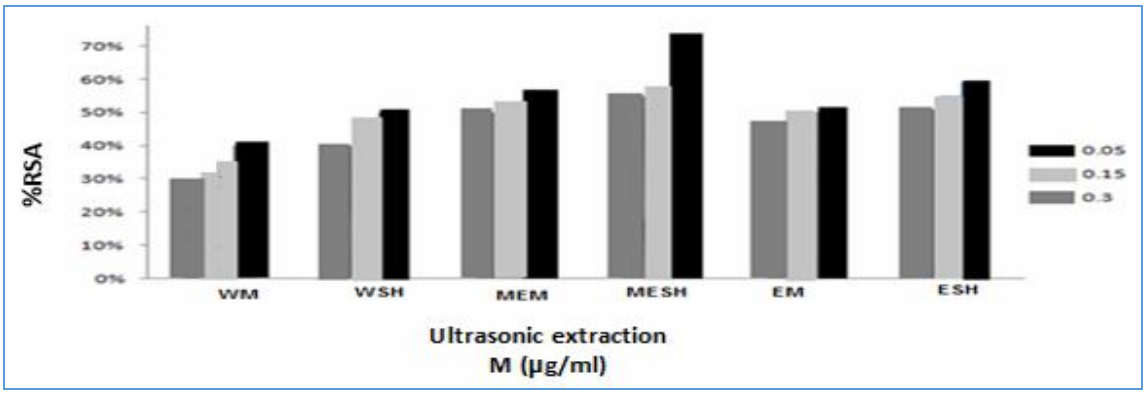

Fig 6 Comparison of free radical scavenging effect of DPPH in different concentrations of *Fumaria vaillanti* and *Dianthus caryophylus* by ultrasonic method (M: *Dianthus caryophylus*, SH: *Fumaria vaillanti*, W: water, E: ethanol, ME: methanol

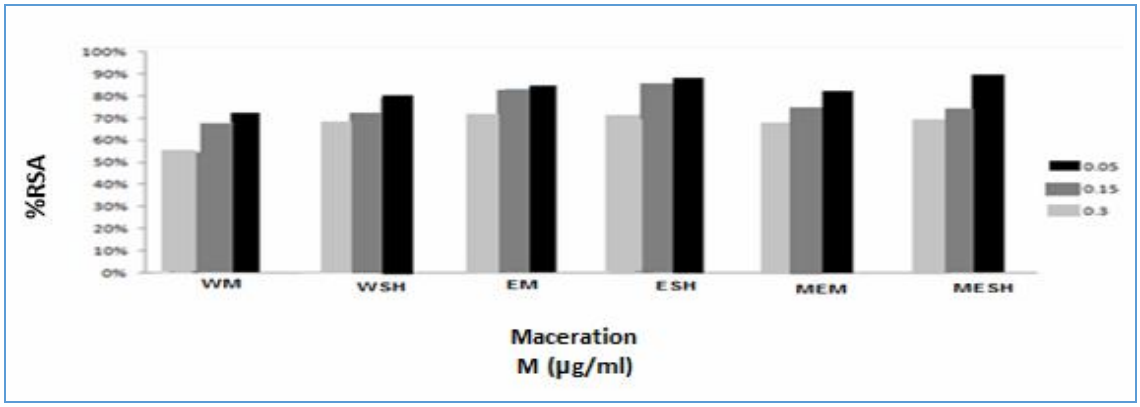

Fig 7 Comparison of free radical scavenging effect of DPPH in different concentrations of *Fumaria vaillanti* and *Dianthus caryophylus* by Maceration method (M: *Dianthus caryophylus*, SH: *Fumaria vaillanti*, W: water, E: ethanol, ME: methanol

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

۳-٤- مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها به وسیله اندازه گیری توان آنتی اکسیدانی احیاء آهن (FRAP)

میزان فعالیت عصاره های حاصل از دو گیاه *Dianthus caryophylus*، *Fumaria vaillant* در حلال های آب، متانولی، اتانولی، که با دو روش استخراج استفاده از امواج فراصوت و خیساندن عصاره گیری نشان داد که در روش استخراج استفاده شده از امواج فراصوت، بیشترین و کم ترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره حاصل از گیاه شاهتره در حلال اتانولی و عصاره حاصل از گیاه میخک در حلال آبی بوده است که به ترتیب به میزان(٤±٠/١ ,٢/١±٠/٠٥ mM) به دست آمد که تفاوت معنی داری را در سطح P <٠/٠٥ نشان داد. در حالی که در روش خیساندن بیشترین و کم ترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در عصاره حاصل از گیاه شاهتره در حلال متانولی و حلال آبی بوده است که به ترتیب به میزان (6.9 ± 0/1,3/3±0/07 mM) اندازگیری شد که تفاوت معنی داری را در سطح P <٠/٠٥ نشان داد (شکل ۹).

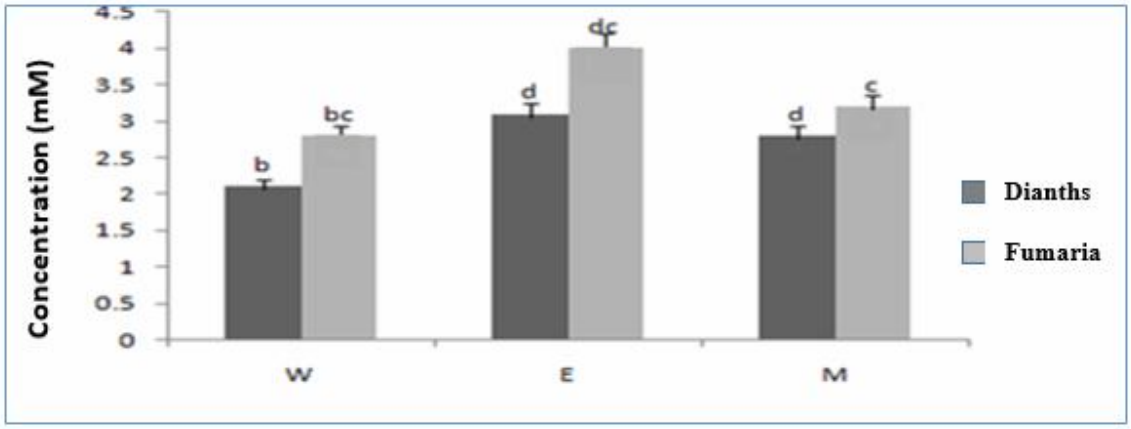

Fig 8 Antioxidant activity of extracts obtained by ultrasonic method by FRAP assay (W: water, M: methanol, E: ethanol)

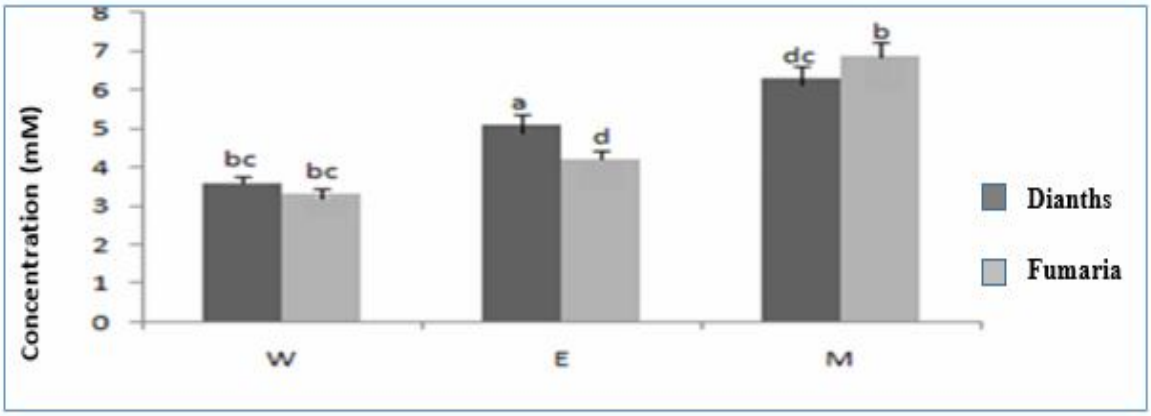

Fig 9 Antioxidant activity of extracts obtained by Maceration method by FRAP assay (W: water, M: methanol, E: ethanol)

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی در دو گیاه شاهتره و میخک با دو روش مختلف عصاره گیری سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی که هر یک در ارتباط با یکی از خصوصیات و ویژگی های و یا با در نظر گرفتن برخی ترکیبات خاص عصاره ها اجرا شده بود تفاوت معنا داری را بین دو گیاه و حلال های مختلف و روش های مختلف عصاره گیری نشان داد. تجزیه و تحلیل داده های موجود از طریق واریانس دوطرفه نشان داد که نوع گیاه و حلال های مختلف ب روی میزان میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی به روش

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

DPPH اثر معنی دار را در سطح P <۰/۰۵ داشته است. درحالی که در روش قدرت احیائ کنندگی یون آهن (FRAP) نوع گیاه و حلال و روش عصاره گیری تاثیر معنا داری را در سطح P <۰/۰۵ داشتند علاوه بر این تاثیر متقابل این عوامل هم معنا دار بوده است.

۳-۵- نتایج حاصل از تایید اثر آنتی اکسیدانی با کروماتوگرافی لایه نازک

هدف اصلی از این بررسی، ارزیابی سریع اندازه گیری فعالیت مهار رادیکال های آزاد توسط برخی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به عنوان مواد آنتی اکسیدانی بود که به طور مستقیم بر روی صفحاتTLC انجام گرفت. کروماتوگرام عصاره های حاصل از روش استفاده از امواج فراصوت و خیساندن بعد از اسپری با معرف DPPH در شکل زیر آمده است. همانطور که در شکل(۱۰) نشان داده شده است گالیک اسید، ٤ -هیدروکسی ۳ و ۵ دی متوکسی بنزوئیک اسید،٤هیدروکسی سینامیک اسیدو وانیلیک اسید و سایر ترکیبات ناشناخته مسئول فعالیت آنتی اکسیدانی در شاهتره و میخک هستند.

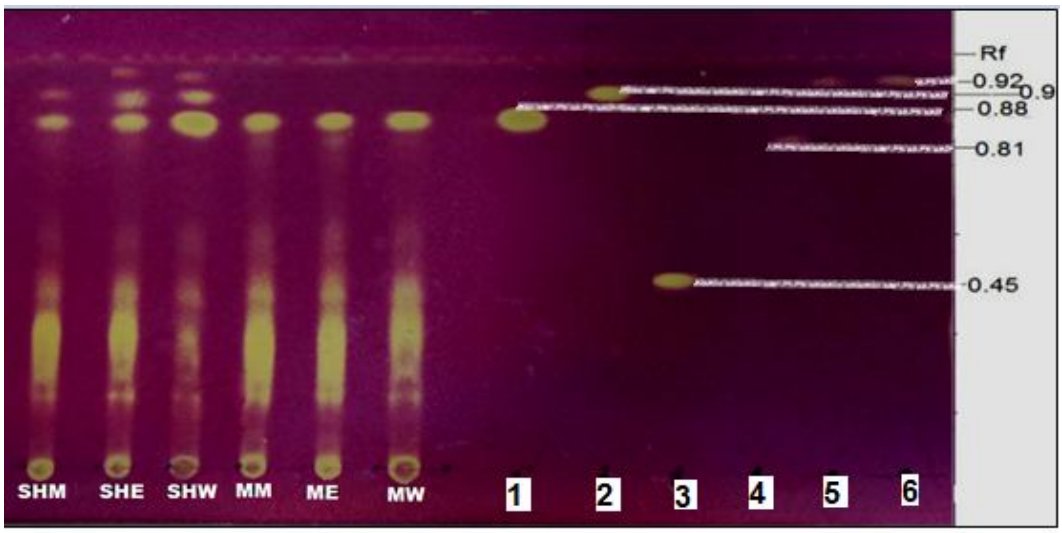

Fig 10 Chromatogram obtained from one-dimensional thin layer chromatography of extracts of two plants (M: *Dianthus caryophylus*, SH: *Fumaria vaillanti*) in three different solvents (W: water, E: ethanol, M: methanol (by Maceration method): Gallic acid, 2: 4 hydroxy 3 and 5 dimethoxy benzoic acid, 3: cinnamic acid, 4: coumaric acid, 5: vanillic acid, 6: 4 hydroxy cinnamic acid using a solvent system consisting of acetic acid and n butanol and water in ratios (v / v 1: 2: 1) as mobile phase and fixed phase of 60HF254 silica gel and detection with 0.4% DPPH solution.

۳-٦- کروماتوگرافی با کارایی بالا برای تعیین ترکیبات فنولی(HPLC)

نتایج حاصل از HPLC نشان داد عصاره گیاه شاه تره دارای ترکیبات فنلی مانند ٤ هیدروکلرو بنزوئیک اسید در زمان (RT:1:2min)، ٤ هیدروکسی سینامیک اسید در زمان (RT:2:3min)، سینامیک اسید در زمان (RT=4min) و گیاه میخک دارای ترکیبات فنلی ٤ هیدروکلرو بنزوئیک اسید در زمان (RT=1:6 min)، ٤ هیدروکسی سینامیک اسید در زمان (RT=2:2 min) و گالیک اسید در زمان (RT=1:8 min) در عصاره متانولی حاصل از روش عصاره گیری خیساندن بود. به طوری که تشخیص پیک های کروماتوگرام نمونه ها از طریق زمان بازداری آنها مشابه با زمان بازداری استانداردها بود و همچنین از طریق طول موج و UV (که لکه های ظاهر شده در نمونه مشابه با لکه های ظاهر شده در استاندارد ها بود انجام شد (شکل ۱۱و ۱۲).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

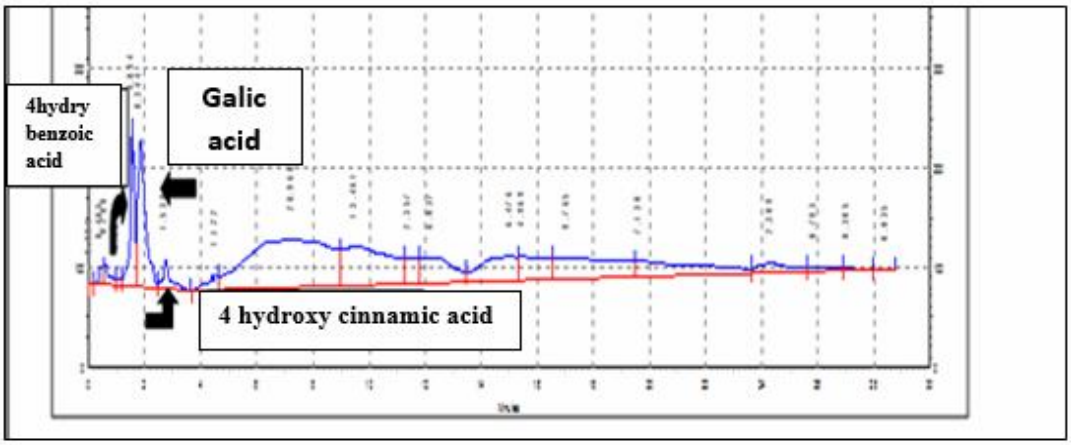

Fig 11 HPLC chromatogram of *Dianthus caryophylus* in methanol solvent by Maceration method.4 hydroxybenzoic acid (RT = 1: 6 min), gallic acid (RT = 1: 8 min), 4 hydroxy cinnamic acid (RT = 2: 2min)

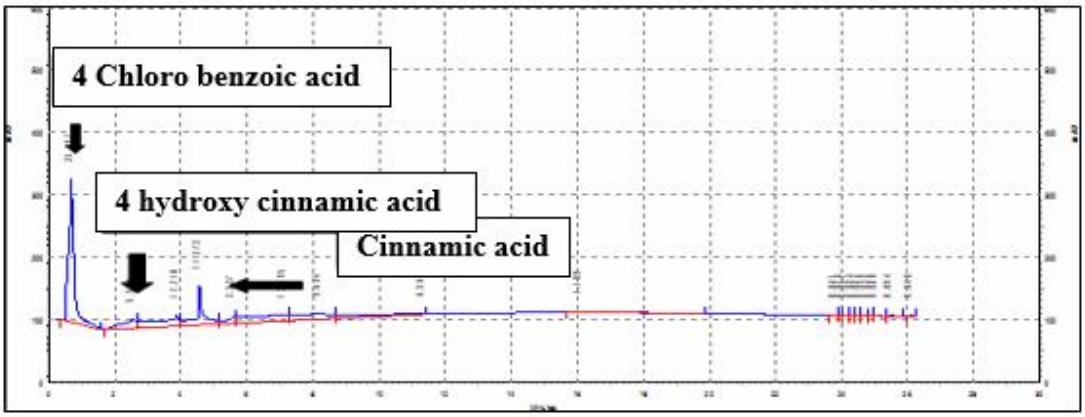

Fig 12 HPLC chromatogram of *Fumaria vaillanti* in methanol solvent by Maceration method. 4 chlorobenzoic acid (RT = 1: 2 min), 4 hydroxycinnamic acid (RT = 2: 3min), cinnamic acid (RT = 4min)

Table 1 The amount of compounds in two plants (M: *Dianthus caryophylus*, SH: *Fumaria vaillanti*) by Maceration and HPLC method

4 Chloro benzoic acid mg/g DW	4 hydroxy benzoic acid mg/g DW	4 hydroxy cinnamic acid mg/g DW	Cinnamic acid mg/g DW	Galic acid mg/g DW	Phenolic Compound
0/1126	-	0/015	0/0044	-	SH-
-	0/0048	0/0058	-	0/006	M-

٤- نتیجه گیری

در این تحقیق برای افزایش کیفیت استخراج و جداسازی متابولیت های گیاهان شاهتره (*Fumaria vaillanti*)و میخک(*Dianthus caryophylus*) شامل ترکیبات فنلی ،فلاونوئیدی از سه حلال مختلف (آب، اتانول ۷۰٪، متانول ۸۰٪) با درجه قطبیت متفاوت استفاده شد.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که حلال ها با ترکیب شیمیایی و درجه قطبیت متفاوت توانایی استخراج ترکیبات مختلفی از گیاه را دارند که روی خواص آن تاثیر گذار است. کارایی استخراج ترکیبات فنلی توسط حلال های قطبی به طور قابل ملاحظه ای افزایش یافته است.

نتایج به دست آمده در مطالعه Sun و همکاران (۲۰۱۰) ، در استخراج ترکیبات فنلی از سبوس جو نتایج نشان داد که محتوای

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

ترکیبات فنلی استخراج شده توسط حلال متانول حدود ۳ برابر بالاتر از حلال استن و ٤ برابر بیشتر از حلال هگزان بوده است [۱۲].

در پژو هش های مربوط به کمالی روستا و همکاران (۲۰۱۰) بازده استخراج عصاره دارچین توسط حلال متانول نیز در هر دو روش حلال سرد و سوکسله بالاتر از حلال استون تعیین شد. در مقایسه کلی بین دو حلال و دو روش استخراج، عصاره متانولی حاصل شده توسط روش سوکسله بیشترین راندمان استخراج را داشت [۱۳].

استخراج با آب مقدار پایین تری از ترکیبات فنولیک قابل استخراج را نسبت به حلال اتانول۸۰ درصد و متانول ۸۰ درصد به همراه داشت. آب بیشترین ثابت دی الکتریک را نسبت به حلالهای معمول دارد اگرچه فاکتور اتلاف آب از حلالهای دیگر پایین تر است. بنابراین میزان جذب مایکروویو برای آب بیشتر از حلالهای متانول و اتانول میباشد اما ضریب حرارت دهی کلی برای هر دو حلال بیشتر از آب میباشد بنابراین میزان استخراج ترکیبات فنولیک توسط حلال آب کمتر میباشد[۱٤].

در این مطالعه پوست سیب زمینی راموس به عنوان یک منبع طبیعی ترکیبات فنولیک مورد ارزیابی قرار گرفت. از میان حلال های مورد استفاده حلال متانول با داشتن راندمان بالا و نیز بیشترین میزان ترکیبات فنولیک به عنوان مناسبترین حلال در نظرگرفته شد. از میان حلال های مورد استفاده حلال متانول با داشتن راندمان بالا و نیز بیشترین میزان ترکیبات فنولیک به عنوان مناسب ترین حلال در نظرگرفته شد [۱٤].

در پژوهشی Csiktusnsdi و همکاران (۲۰۰۰) محتوای ترکیبات فنولی توسط حلال ها با قطبیت بیشتر به طور معناداری بالاتر از حلال های غیر قطبی بود.سیستم حلال متانول ۸۰٪ بیشترین محتوای فنولی را در بر داشت و با این واقعیت که حلال های قطبی به دلیل داشتن ثابت دی الکتریک بالا مطلوب تر هستند جهت استخراج منطبق بود. یک مطالعه مقایسه ای نشان داد که استفاده از امواج فراصوت باعث تخریب کمتر و استخراج سریع تر ترکیبات فنلی از توت فرنگی در مقایسه با دیگر روش های استخراج مثل جامد-مایع، آب فوق بحرانی و روش ماکروویو می شود [۱۵].

در این پژوهش، روش امواج فراصوت در مقایسه با روش های سنتی عصاره گیری مانند خیساندن، هیچ تفاوت معنی داری در استخراج ترکیبات موثره از گیاهان شاه تره (*Fumaria vaillanti*) و میخک (*Dianthus caryophylus*) نداشت. گیاهان دارویی حاوی ترکیبات ثانویه وسیعی هستند که اغلب دارای فعالیت زیستی مهمی هستند و از آنجاییکه عصاره های گیاهی به طور وسیعی در صنایع دارویی، غذایی و بهداشتی مورد استفاده قرار می گیرند، فناوری‌های عصاره گیری مورد ارزیابی قرار گرفته تا بتوانند این ترکیبات فعال را از منابع گیاهی استخراج نماید. روشهای سنتی مانند روش سوکسله که سالها مورد استفاده قرار میگرفته است، بسیار زمان بر بوده و مقدار زیادی حلال مصرف میکند [۱٦].

به همین دلیل تقاضای زیادی برای روشهای عصاره گیری جدیدی با زمان کوتاهتر، میزان مصرف حلال کمتر و محافظ محیط زیست وجود دارد. روش‌های جدید عصاره گیری مانند عصاره گیری همراه با امواج فراصوت عصاره گیری همراه با امواج مایکروویو برای استخراج ترکیب های موثر از گیاهان بسیار سریع و موثر عمل می کنند.این روشهای جدید، پیشرفت زیادی داشته اند و برخی موارد استفاده از آنها در استخراج مواد گیاهی گزارش شده اند [۱۷ , ۱۸].

احتمال داده می شود یکی از دلایل افزایش مقدار ترکیبات فنلی در اثر حرارت دهی عصاره تجزیه پلی فنل های سنگین وزن با انواع وزن ملکولی کمتر باشد.افزایش دما استخراج با حلال را از طریق افزایش در ضریب انتشار و هم از طریق افزایش حلالیت ترکیبات فنولی بهبود میدهد. جلالی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش نمودند که افزایش دمای استخراج میزان ترکیبات فنولی استخراج شده را از برگ های انجیر افزایش داده است.بیشترین ترکیبات فنولی در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد مشاهده شدند افزایش دمای گرماخانه میزان استخراج ترکیبات فنولی را به دلیل تضعیف یکپارچگی دیواره سلولی بهبود میدهد[۱۹].

برخلاف شیوه های مرسوم امواج صوتی باعث تخریب دیواره سلولی در یک مدت زمان کوتاه شده و عصاره گیاهی در طول دیواره سلولی انتشار می یابد.مشخصات گیاهی مثل میزان رطوبت،اندازه ذرات،و نوع حلال مورد استفاده به منظور به دست آوردن استخراج کارامد و موثر مهم هستند.به علاوه فاکتورهای زیادی مثل فرکانس،فشار،دما و زمان،کارکرد امواج صوتی را

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

تحت تاثیر قرار میدهند[۲۰].

در تحقیقی بر روی گیاه سرخارگل برای اندازه گیری ترکیبات فنلی با روش های استخراج روش های خیساندن، سونیکاسیون، پرکوالسیون، استخراج گرم و با دستگاه سوکسله انجام شد نشان داد که بهترین روش برای استخراج ترکیبات فنلی استفاده از روش استخراج گرم و استفاده از دستگاه سوکسله کمترین کارآیی را داشت که نمایانگر آن است که در روش سوکسله، دمای بالا منجبه تخریب برخی ترکیبات فنلی می شود [۲۱].

نتایج به دست آمده از استخراج ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی گیاهان شاهتره (*Fumaria vaillanti*) و میخک (*Dianthus caryophylus*) با استفاده از روش های مختلف عصاره گیری با حلال متانولی نشان داد که روش استخراج خیساندن نسبت به سایر روش ها برتری داشت. مقایسه نتایج میزان آنتی اکسیدان و مقادیر فنل کل در روشهای عصاره گیری(خیساندن) مورد مطالعه نشان میدهد در روش خیساندن به دلیل جداسازی مقادیر بیشتر ترکیبات فنلی و نقش آنتی اکسیدانی این ترکیبات میزان IC50 کمتر آن دور از ا نتظار نمی باشد.

هر گیاه دارای ترکیبات شیمیایی گوناگونی است که مقایسه آنها را از نظر بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی پیچیده میسازد. به همین علت فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های حاصل از حلال های مختلف و روش های مختلف گیاه شاهتره (*Fumaria vaillanti*) و میخک (*Dianthus caryophylus*) با دو روش متفاوت بررسی گردید.

در مورد روش FRAP این سیستم به غلظت آنتی اکسیدان غیر وابسته بوده و تفاوتهای مشاهده شده به فاکتورهای استکیومتری و ظرفیت آنتی اکسیدانی باز میگردد. . به این دلیل که در دز پاسخ برای آنتی اکسیدانهای مختلف رفتار خطی دیده شده است یعنی ظرفیت آنتی اکسیدان غیر وابسته به غلظت می باشد.

ولی در رابطه با روش DPPH واکنش رادیکال آزاد و DPPH برگشت پذیر بوده و این قابلیت بازگشت باعث میشود که ظرفیت آنتی اکسیدانی بسیاری از آنتی اکسیدان ها معمولا کمتر از حد مشخص بشود. پاسخ های متفاوت عصاره حاصل از یک گونه در روش های مختلف آنتی اکسیدانی می تواند به دلیل این واقعیت باشد که انتخاب الکترون و هیدروژن از آنتی اکسیدان ها در پتانسیل های ردوکس مختلف رخ می دهد و این انتقال به ساختار آنتی اکسیدان ها نیز وابسته است[۲۲].

کامکار در سال (۲۰۱۰) گزارش کرد که در مجموع تناقص های مشاهده شده می تواند در ارتباط به تنوع ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان، مکانیسم های مختلف درگیر و کینتیک متفاوت واکنش های مهاری در روش های انتخابی باشد. همچنین ظرفیت آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده یک نمونه در ارتباط با روش های مورد استفاده و منبع تولید رادیکال ازاد یا عامل اکسید کننده موثر هستند [۲۳].

افزون بر این ها افزایش درصد مهارکنندگی رادیکال های آزاد عصاره در اثر حرارت دهی ممکن است ناشی از باز شدن ساختار سوم پروتئین ها موجود در آن در اثر دناتوراسیون جزئی آنها باشد.به این ترتیب میزان در دسترس بودن باقیمانده های اسید آمینه ای دارای زنجیره های جانبی سولفوردار (سیستئین و متیونین) یا آروماتیک (تریپتوفان،تیروزین،فنیل آلانین)که به راحتی پروتون آزاد می کنند افزایش پیدا می کند. آزاده دل و همکاران (2010) فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی پوست پسته را بررسی کردند این محققان افزایش درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد در عصاره متانولی نسبت به کلروفرمی را به افزایش در مقدار ترکیبات فنولی در آنها نسبت دادند و بیان کردند که یک رابطه ی خطی میان مقدار کل ترکیبات فنولی و توانایی مهار کنندگی DPPH وجود داشته است. در تمام عصاره های حاصل از دو گیاه میخک و شاه تره با سه حلال مختلف با دو روش استخراج نشان داد بیشترین میزان خاصیت آنتی اکسیدانی در روش DPPH در روش استفاده از خیساندن به دست آمد که در همان عصاره بیشترین میزان ترکیبات فنلی وجود داشت بنابراین می توان ارتباط معنی داری بین فعالیت انتی اکسیدانی با افزایش محتوای ترکیبات فنلی برقرار نمود [۹].

اما در روش FRAP بیشترین میزان خاصیت آنتی اکسیدانی در روش استفاده از امواج فراصوت به دست آمد که در همان عصاره میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بیشتری سنجیده شده بودند. شاید در این آزمایش به دلیل ترکیبات فلاونوئیدی و فنولی که دارای گروه هیدروکسیل در ساختار خود هستند و سریعا در واکنش شرکت می کردند.

از ویژگی های بارز و اساسی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی فعالیت

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

مهار رادیکال های آزاد و خواص آنتی اکسیدانی انهاست. که کروماتوگرافی لایه نازک ترکیبات فلاونوئیدی و اسپری صفحات با استفاده از معرف DPPH این مسئله را در مورد ترکیبات فنولی گیاه میخک و شاه تره اثبات نمود.فنول ها با فعالیت بالای آنتی اکسیدانی لکه هایی زرد رنگ را بر روی صفحه TLC ایجاد نمودند که از ترکیبات اصلی موجودر گیاه میخک میتوان به حضور گالیک اسید اشاره کرد و در مورد گیاه شاه تره حضور ترکیبات فنولی گالیک اسید و ٤ هیدروکسی سینامیک اسید و ٤هیدروکسی ۳و۵ دی متوکسی بنزوئیک اسید اشاره کرد که ترکیب فنولی ٤ هیدروکسی سینامیک اسید توسط تکنیک HPLC هم مشاهده شده بوده است.

Muthanna. و همکاران(۲۰۰۸) توانستند که با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک و HPLC دو ترکیب تیمول و ائوژنول را در گیاه میخک بررسی و تشخیص دادند که هر دو ترکیب خاصیت ضد باکتریایی وسیعی دارند. با توجه به اینکه روش خیساندن با بن ماری نتایج بهتری از نظر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و خاصیت آنتی اکسیدانی قوی تر بود بر آن شدیم تا از عصاره حاصل از این روش عصاره گیری برای انجام تست های مراحل بعدی استفاده کنیم و به همین دلیل انجام HPLC فقط برای عصاره حاصل از روش خیساندن انجام گردید و ترکیبات فنولی همچون ٤ کلرو بنزوئیک اسید و ٤هیدروکسی سینامیک اسید و سینامیک اسید با این روش در گیاه شاه تره شناسایی شدند و ترکیبات فنولی ٤هیدروکسی بنزوئیک اسید و گالیک اسید و ٤هیدروکسی سینامیک اسید هم در گیاه میخک شناسایی و بررسی شدند [٢٤].

Paltinean و همکارانش (۲۰۱٦) بر روی گیاه شاه تری تحقیقاتی را انجام دادند جهت بررسی ایزوکوئینولین الکالوئید های موجود در گیاه شاه تره *FUMARIA OFFICINALIS L* و نتیجه ای که به دست آوردند شامل این ترکیبات آلکالوئیدی موجود در گیاه شاهتره بود chelidonine (allocryptopine, protopine, bicuculline, sanguinarine, cheleritrine, stylopine and hydrastin) [۲۵].

از نتایج مطالعه برسی ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی عصاره دو گیاه (*Dianthus caryophylus ,Fumaria vaillant*) با استفاده از روشهای TLC و HPLC انجام شده است پیشنهاد میشود که با توجه به اینکه گیاهان دارویی نقش حیاتی در پیشگیری برخی بیماریها داشته و از مزایای آنها در دسترس واز نظر اقتصادی به صرفه بودن انها میباشد شاید با بررسی های in vivo برای تعیین پتانسیل ترکیبات فنلی تمرکز به یک ترکیب فعال خاص موجود در گیاه شاهتره به عنوان انتی اکسیدان طبیعی بتواند جایگزین آنتی اکسیدان های مصنوعی نمود و همان طور که ملاحظه میشود دوگیاه *ianthus caryophylus D ,Fumaria vaillant* دارای اثرات درمانی مفیدی می باشند که می توان با بررسی این اثرات در دیگر گونه های موجود در کشور در جهت مستند سازی اثرات درمانی گیاهان بومی ایران حرکت نمود.

۵- تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی استادان، کارکنان و دانشجویان دانشگاه الزهرا و کارکنان آزمایشگاه بیوشیمی که در انجام این تحقیق همکاری داشته اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می شود.

٦-منابع

[1] Hanachi P, Zarringhalami R, Tamijani RR. Investigation of Antioxidant Properties of Polygonatum orientale Desf and Tilia dasystyla Extracts by Different Methods and Solvents. Hormozgan Medical Journal. 2019 Feb 3;22(4):e86504-.

[2] Kaur H, et al. (2011). Cys-Gly specific dipeptidase Dug1p from S. cerevisiae binds promiscuously to di-, tri-, and tetra-peptides: Peptide-protein interaction, homology modeling, and activity studies reveal a latent promiscuity in substrate recognition. Biochimie 93(2):175-186

[3] Tutin, et al A. Cano-Ortiz, E. Bioindi, C. J. Pinto Gomes, S. Del Río González, E. Cano, 2014. Soil and Phytosociological Characterisation of Grasslands in the Mediterranean. American Journal of Plant Sciences 5 (21): 3213-3240

[4] Chandra S, Rawat DS, 2015. Medicinal plants of the family Caryophyllaceae: a review of ethno-medicina l uses and pharmacological

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

properties. Integrative Medicine Research 4 (3): 123-131.

[5]Pizzale L, Bortolomeazzi R, Vichi S, Uberegger E, Conte LS, 2002. Antioxidant activity of sage (Salvia officinalis and S fruticosa) and oregano (Origanum onites and O indercedens) extracts related to their phenolic compound content. J Sci Food Agric 82:1645–1651.

[6] Srivastava S, Choudhary GP, 2014. Pharmacognostic and pharmacological study of Fumaria vaillantii Loisel: a review. J Pharmacogn Phytochem 3:194–197

[7] Serrano F, Klann E, 2004. Reactive oxygen species and synaptic plasticity in the aging hippocampus. Ageing Res Rev 3(4):431-443.

[8] Hanachi P, Salehizadeh S, Ramezani R, Zarringhalami R. Comparison of antioxidant and anti-bacterial activities of Ocimum basilicum and Impatiens walleriana and their anticancer properties on SKOV-3 cancer cell line. Food Science and Technology. 2020 Nov 10;17(106):95-107.

[9] Azadedel, Sh, Hanachi, P, Saboora O.Investigation on antioxidant activity of pistachio (pistacia vera L) skin extraction. Journal of Food Science & Technology (2008-8787). 2017 May 1;14(63).

[10] Socaci SA, Socaciu C, Mureşan C, Fărcaş A,Tofană M, Vicaş S, Pintea A, 2013. Chemometric discrimination of different tomato cultivars based on their volatile fingerprint in relation to lycopene and total phenolics content. Phytochem. Anal. 25:161–169.

[11] Tomaino A , Martorana M, Arcoraci T, Monteleone D, Giovinazzo C, Saija A, 2010. Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (Pistacia vera L., variety Bronte) seeds and skins. Biochimie 92(9):1115-1122. doi: 10.1016/j.biochi.2010.03.027. Epub 2010 Apr 11.

[12] Sun, Y. L., Zhang, Q., Anastasio, C., and Sun, J, 2010. Insights into secondary organic aerosol formed via aqueous-phase reactions of phenolic compounds based on high resolution mass spectrometry, Atmos. Chem. Phys 10: 4809-4822.

[13] Kamaliroosta L, Ghavami M, Gharachorloo M, , Azizinezhad R, 2010.Isolation of cinnamon extract and assessing its effect on the stability of sunflower oil. Iranian Journal Nutrition Science &Food Technology 6(1): 13- 22.

[14] Proestos C, Komaitis M, 2008. Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds. Food Science and Technology 41(4):652-659.

[15] Csiktusnadi Kiss, G. A., Forgacs, E. F., Cserhati, T.Mota, T., Morais, H. & Ramos, A. 2000. Optimization of the microwave-assisted extraction ofpigments from paprika (Capsicum annuum L.) powders. Journal of Chromatography 889: 41–49.

[16] Luque de Castro, M.D. and Garcia-Ayuso, L.E, 1998. Soxhlet Extraction of Solid Materials: An Outdated Technique with a Promising Innovative Future. Analytica Chimica Acta 369: 1-10.

[17] Vinatoru M. 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. Ultrason Sonochem. 8(3):303-313.

[18] Kaufmann B, Christen P, 2002. Recent extraction techniques for natural products: microwave assisted extraction and pressurised solvent extraction. Phytochemical analysis. 13 (2) : 105-113

[19] Jalali Jivan M, Sadeghi S, Madadlou A, Yarmand MS. 2012. Effect of heating and acidification on total phenolic content and antioxidant activity of date palm pit extract. Journal of Food Research 23(2): 237-248.

[20] Wang, L. and Weller, C.L. (2006). Recent Advances in Extraction of Nutraceuticals from Plants. Trends in Food Science and Technology 17, 300-312. http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004

[21] Hajimehdipoor H , Khanavi M, Shekarchi M, Abedi Z, Pirali Hamedani M, 2009. Investigation of the Best Method for Extraction of Phenolic Compounds from Echinaceae purpurea L. Journal of Medicinal Plants 4(32): 145-152.

[22] Fatollahi N, , Ostadrahimi A, Einollah Valizadeh, 2011 .Evaluation of Antioxidant Activity of Total Extract of Onopordon leptolepis L. in Vitro. Depiction of Health 2 (4): 9-15.

[23] KamkarA, Shariatifar N, Jamshidi AH, Mohammadian M, 2010. Study of Antioxidant Functional of the Water, Methanol, and

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

Ethanol Extracts of Endemic Cuminum cyminum L. and Cardaria draba L. in the In-vitro Systems. Ofogh-e-Danesh. Journal 16(3): 37-45

[24] Muthanna J M, Al-Bayati FA. Isolation and identification of antibacterial compounds from Thymus kotschyanus aerial parts and Dianthus caryophyllus flower buds Phytomedicine. International journal of phytotherapy and phytopharmacology 16(6-7):632-637. DOI: 10.1016/j.phymed.2008.12.026

[25] Paltinean R, Toiu A, Wauters JN, Frederich M, Tits M, Angenot L , 2016. .Phytochemical analysis of Fumaria officinalis L. Farmacia 64 (3): 409-413.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

To investigate phenol and antioxidant properties of plant extract of *Dianthus caryophylus and Fumaria vaillanti* with TLC and HPLC methods

Hanachi, P. [1]*, Hosein poor, M. [2]

1. Associate Professor, Biotechnology Dep, Faculty of Biological Science, Alzahra University, Tehran Iran.
2. MSc Student, Biotechnology Dep, Faculty of Biological Science, Alzahra University, Tehran Iran.

ABSTRACT

In this study, the extracts of *Dianthus* and *fumaria* plants were studied. The total amount of flavonoids and phenolic compounds and antioxidant activities of methanolic, aqueos and ethanolic of the two extracts were studied with TLC and HPLC methods. Phenol and total flavonoids were measured and the antioxidant activities of the extracts analysed using DPPH and FRAP method. A thin-layer chromatography method and HPLC were conducted to evaluate the quality of phenolic compounds with antioxidant properties. The results showed highest amount of phenol was obtained from the plant in methanol solution and maceration method with the amount of 10±0/14 mg/g DW and highest flavonoid content of the plants was in the methanolic solvent and the maceration method with the amount of 9±0/6 mg/g DW ($p<0.05$). The highest antioxidant properties was in methanolic solvents and using DPPH method with the value of 0.41 ± 0/14µg/ml ($p<0.05$).Using thin-layer chromatography, glycine and 4-hydroxy-3 and 5-dimethoxy-benzoic acid, vanilic acid, 4hydroxy cinamic acid and a number of other compounds were identified. Using high-performance chromatography, gallic acid and 4-hydroxy-cinamic acid and 4-hydroxy benzoic acid were detect. The conclusion of this study is that the antioxidant activities of plants have a direct relation with the amount of phenolic compounds and total flavonoids, However *Fumaria vaillanti* has a higher antioxidant properties compared with *Dianthus*. The natural antioxidants extracted from the medicinal plants in this research might pose an attractive alternative to synthetic antioxidants.

ARTICIE INFO

Article History:

Received 2019/ 07/ 22
Accepted 2020/ 01/ 13

Keywords:

Antioxidant Cancer,
Cromatography,
Dianthus L,
Flavenoids,
Fumaria officinalis,
Phenol .

DOI: 10.52547/fsct.18.116.231

*Corresponding Author E-Mail:
p.hanachi@alzahra.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2022-06-27]

[DOI: 10.52547/fsct.18.116.231]