



مقاله علمی-پژوهشی

ارزیابی فعالیت ضد رادیکالی، آنتی اکسیدانی و تعیین ترکیبات فلاونوئیدی عصاره‌های آبی و الکلی گیاه کنیوال (*Allium ampeloprasum*)

نیشتمان ستاری^{۱*}، فردین میراحمدی^{۲*}، کامبیز حسن زاده^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران.

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، سنندج، ایران.

۳- دانشیار گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۱	گیاه کنیوال با نام علمی <i>Allium ampeloprasum</i> از تیره لیلیاسه منبع مهمی از ترکیبات آنتی اکسیدانی هستند. در این پژوهش فعالیت ضد رادیکالی و آنتی اکسیدانی و تعیین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره های آبی و الکلی این گیاه مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه آزمایشگاهی ابتدا عصاره آبی و الکلی <i>Allium ampeloprasum</i> را با اضافه کردن ۵۰ گرم از گیاه و مخلوط کردن به نسبت ۱ به ۵ با آب مقطر یا اتانول تهیه کردیم. میزان فنل و فلاونوئید تام به روش اسپکتروفتومتری صورت گرفت و در نهایت فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه در غلظت های مختلف با استفاده از روش کوپراک و مهار رادیکال آزاد DPPH و احیای آهن سه ظرفیتی اندازه گیری شد. تجزیه و تحلیل داده ها با نرم افزار SAS و روش آزمون آنالیز واریانس تک عامله انجام شد. بر اساس نتایج به دست آمده میزان فنل کل در عصاره آبی ۸۶/۹۸ و در عصاره الکلی ۲۳/۴ میکروگرم اسیدگالیک بر میلی لیتر می باشد و میزان فلاونوئید تام در عصاره آبی ۴۲/۸۱ و در عصاره الکلی ۳۶۵/۵۴ میکروگرم کوئرستین در میلی لیتر گزارش گردید. همچنین ظرفیت آنتی اکسیدانی کل در عصاره آبی ۰/۲۳۶۲ و در نوع الکلی ۰/۳۸۷۶ و ظرفیت آنتی اکسیدانی به روش Cuprac در عصاره آبی ۰/۰۷۶۷ و در عصاره الکلی ۰/۱۹۹۲ گزارش شد. قدرت احیاکنندگی آهن سه ظرفیتی در عصاره آبی ۰/۱۰۴۱ و در عصاره الکلی ۰/۰۲۴۸ و قدرت احیای DPPH در عصاره آبی ۷۳/۱۸ و در نوع الکلی ۷۲/۹۵ بود. باتوجه به نتیجه مطالعه گیاه <i>Allium ampeloprasum</i> منبع خوبی از ترکیبات آنتی اکسیدانی می باشد که مصرف آن سبب کاهش آسیب های اکسیداتیو در بدن و بهبود سلامتی می شود و در صورت استخراج و خالص سازی می تواند در صنایع دارویی و غذایی استفاده گردد.
کلمات کلیدی: گیاه کنیوال، رادیکال آزاد، آنتی اکسیدان، قدرت احیا کنندگی، پلی فنل	
DOI:10.22034/FSCT.21.151.32. * مسئول مکاتبات: satari3128@gmail.com	

۱- مقدمه

گیاه درمانی در درمان بیماری‌ها و به ویژه بیماری‌های عفونی در سال‌های اخیر روند رو به فزونی پیدا کرده است. میکروبیولوژیست‌های بالینی تمایل زیادی به استفاده از این داروها جهت درمان عفونت‌ها دارند، زیرا عوارض این داروها در مقایسه با داروهای شیمیایی بطور قابل ملاحظه‌ای پایین است [۱، ۲]. بررسی تاریخچه استفاده از گیاه درمانی از زمان‌های گذشته تا اواسط قرن بیستم، نشان‌دهنده افت مصرف گیاهان دارویی تا دهه ۱۹۴۰ و افزایش مجدد استفاده از آن‌ها تا دهه ۱۹۸۰ می‌باشد [۳].

از میان گیاهان مذکور کنیوال به دلیل خواص درمانی و آنتی اکسیدانی بسیار مورد توجه قرار گرفته است که در این پژوهش نیز سعی بر آن است تا به درستی به بررسی ویژگی‌های آن پرداخته شود. کورایه و کنیوال با نام فارسی (تره کوهی یا تره وحشی) و نام علمی *Allium ampeloprasum* گیاهی است علفی شبیه تره و با طعمی شبیه پیازچه خام که بصورت خام همانند سبزی به همراه انواع غذاها مصرف می‌شود این گیاه هم در دشت‌ها و هم در کوه‌ها و ارتفاعات منطقه یافت می‌شود که به نوع دشتی آن (کو رایه) و به نوع کوهی آن (کنیوال) گفته می‌شود [۴]. این گیاه به دلیل اینکه در استان کردستان بیشتر در دامنه کوهپایه‌ها می‌روید به دلیل عدم استفاده از مواد شیمیایی و انواع سموم، دارای املاح بسیار مفیدی است که در درمان بیماری‌ها نیز کاربرد دارند [۵]. به علاوه این گیاه ارزان قیمت بوده و با توجه به اینکه عمر این گیاه بهاری محدود بوده و عموماً دارای ساقه علفی نیز می‌باشند در مدت زمان کمی گردش آب زیادی را در آوندهای خود دارا هستند، بنابراین حجم املاح معدنی جذب شده در آن‌ها نیز مطلوب است که منجر به افزایش ارزش غذایی آن برای تأمین املاح موردنیاز مسیرهای بیوشیمیایی و سوخت و ساز بدن شد [۶].

کنیوال همانند سایر گیاهان بهاری به دلیل ترکیبات ویژه و خصوصیات فیزیکی ظاهری از جمله رنگ، بو و

طعمی که دارند حاوی ترکیبات ضد سرطان و ضد پیری می‌باشد همچنین به دلیل داشتن آب زیاد از یبوست جلوگیری می‌کند [۷]. به طور کلی گیاهان بهاری از جذب قند در رژیم غذایی جلوگیری کرده و میزان جذب چربی علی‌الخصوص کلسترول را در لوله گوارش کاهش می‌دهند و همچنین ریسک ابتلا به بیماری‌های قلبی و عروقی را کاهش می‌دهند [۸]. گیاهان خودروی خوراکی از سالم‌ترین خوراکی‌ها بوده و کاملاً ارگانیک هستند و در مراحل رشد آن‌ها هیچ گونه کودشیمیایی و سموم کشاورزی استفاده نمی‌گردد و نیز به دلیل اینکه این گیاهان در مناطق در دسترس رشد نیافته‌اند تا حد زیادی از فضولات دامی و آلودگی‌های میکروبی به دور مانده‌اند، به علاوه این گیاه با دارا بودن آنتی اکسیدان از تأثیر عوامل رادیکال آزاد در بافت‌های بدن جلوگیری می‌کند [۹].

آنتی اکسیدان‌ها گروهی از ترکیبات شیمیایی هستند که می‌توانند اکسایش را در سلول‌ها و بافت‌ها کاهش دهند. اکسایش یک فرایند طبیعی است که در آن سلول‌ها با تولید رادیکال‌های آزاد و اکسیدان‌ها مواجه می‌شوند، که می‌تواند به آسیب دیدگی سلولی و پیری زودرس منجر شود [۳]. استفاده از آنتی اکسیدان‌ها می‌تواند به جلوگیری از آسیب دیدگی سلولی و حفظ سلامت سلولی کمک کند. برخی از منابع طبیعی آنتی اکسیدان‌ها شامل میوه‌ها، سبزیجات، گیاهان دارویی، مواد غذایی غنی از ویتامین C و E و مواد غذایی حاوی فلاونوئیدها و کاروتنوئیدها می‌باشند [۹]. به عنوان یک نکته مهم باید توجه داشت که مصرف مقادیر مناسب آنتی اکسیدان‌ها از طریق مواد غذایی طبیعی می‌تواند به سلامتی کمک کند، اما مصرف بیش از حد مکمل‌های آنتی اکسیدانی ممکن است به جای کمک به سلامتی، می‌تواند مضر باشد. گیاهان خانواده *Allium* منبع مهمی از ترکیب های فنولی و فلاونوئیدی رژیم غذایی هستند [۱۰]. فلاونوئیدها ی موجود در غذا و ترکیب های فنولی دیگر مانند فلاونول های کوئرستین، کائمفرول، گالیک اسید و میرستین دارای اثرهای بیولوژیکی مانند فعالیت های آنتی

۲-۳- ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی به روش

کاپراک:

محلول کلرید مس (II) با غلظت ۰/۰۱ مولار از کلرید مس دو ظرفیتی و ۲ آبه تهیه شد (به مقدار ۰/۴۲۶۲ گرم وزن شده و در آب حل شده) و نهایتاً به حجم ۲۵۰ میلی لیتر رسیده شد. آمونیوم استات بافر ۷ با وزن کردن ۱۹/۲۷ گرم NH_4AC و حل کردن در آب تهیه و به حجم ۲۵۰ میلی لیتر رسانده شد. محلول NC با غلظت $7/5 \times 10^{-3}$ مولار با حل کردن ۰/۰۳۹ گرم NC در اتانول ۹۶٪ تهیه می شود و با اتانول به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. یک میلی لیتر کلرید پتاسیم با یک میلی لیتر NC ($neocuproine$)، یک میلی لیتر استات آمونیوم را با ۰/۵ میلی لیتر عصاره آبی و الکلی به همراه ۰/۶ میلی لیتر آب دیونیزه مخلوط گردید. ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شده و نهایتاً جذب در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد [۱۴].

۲-۴- اندازه گیری میزان کل ترکیبات فلانوئیدی:

میزان کل فلانوئیدها به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلراید اندازه گیری شد. از شاخص کوئرستین استفاده شد. رقت سازی با آب دیونیزه انجام شد. رقت های مختلفی از کوئرستین تهیه شد. سپس ۱۵۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۵٪، ۱۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۱۰٪ و ۱۰۰ میکرولیتر استات پتاسیم ۱ مولار به ۵۰۰ میکرو لیتر از محلول کوئرستین در غلظت های مختلف اضافه شد. جذب مخلوط در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد و نتایج برحسب میلی گرم در هر گرم عصاره بیان شد [۱۵].

۲-۵- ارزیابی فعالیت مهار رادیکال های آزاد

DPPH:

مخلوط حاصل به شدت هم زده شد. لوله های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در محل ابتدا محلول های استاندارد (آنتی اکسیدان های سنتزی) شامل TBHQ و BHT و BHA تهیه شد. (از هر کدام ۰/۰۱ و ۰/۰۲ گرم جهت تهیه محلول های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm وزن می شود). سپس محلول الکل ۵۰٪ در بالن ژوژه ۲۵۰ میلی لیتری تهیه گردید. برای تهیه

باکتریایی، آنتی ویروسی و ضد آلرژیک هستند. مدارکی وجود دارد که آنتی اکسیدانهای طبیعی ممکن است در جلوگیری از آسیبهای ناشی از استرس اکسیداتیو مفید باشند [۱۱].

۲- مواد و روش ها

آزمایشات مربوط به این پایان نامه در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج انجام شد. گیاه کنیوال از سه منطقه سارال، دهگلان و سقز در استان کردستان برداشت شد.

۲-۱- نحوه تهیه عصاره

برای تهیه عصاره آبی و الکلی ابتدا ۵۰ گرم از گیاه خرد شده با ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر یا اتانول ۹۶٪ از شرکت مرک آمریکا به نسبت ۱ به ۵۱ مخلوط شده و به مدت ۲۴ ساعت در ظرف شیشه ای و در مکان تاریک قرار داده شد. سپس محلول حاصل با کاغذ صاف گردید. عمل حذف حلال توسط دستگاه روتاری در دمای $45^{\circ}C$ انجام شد. پس از حذف حلال، باقیمانده عصاره غلیظ موجود در دستگاه عصاره گیر، به ظروف استریل منتقل شده و تا هنگام استفاده در یخچال نگهداری گردید [۴].

۲-۲- اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنلی:

اساس کار این روش، احیای معرف فولین سیو کالتیو توسط ترکیبات فنلی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را نشان می دهد. میزان ترکیبات فنلی تام با روش فولین سیو کالتیو اندازه گیری شد و نتایج برحسب میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره بیان شد. یک گرم اسید گالیک به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانده شد. از محلول استاندارد و عصاره، رقت های مختلفی تهیه شد سپس ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره با ۱/۱۶۰ میکرولیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیو کالتو مخلوط شد. بعد از گذشت ۱ تا ۸ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم به محلول قبلی اضافه شد. لوله های آزمایش درون حمام آب در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفته و بعد از گذشت ۳۰ دقیقه جذب آن ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شد [۱۲، ۱۳].

را بسته و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آبی نگهداری شد. پس از طی زمان نگهداری شده، ۲/۵ میلی لیترتری کلرو استیک اسید اضافه نموده، درب را بسته و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۶۵۰ سانتریفوژ شد. پس از طی این مدت از محلول رویی ۲/۵ میلی لیتر برداشته، ۲/۵ میلی لیتر آب دیونیزه و ۰/۵ میلی لیترتری کلرید آهن اضافه نموده و جذب را در ۷۰۰ نانومتر خوانده شد [۱۴].

۳- تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم‌افزار آماری SAS۹.۲ استفاده شد. جهت مقایسه ظرفیت آنتی اکسیدانی، ضد رادیکالی، خاصیت احیا کنندگی و میزان پلی فنل و فلاونوئید عصاره‌ها با حلال‌ها ی مختلف با غلظت‌های مختلف گیاه *Allium ampeloprasum* جمع‌آوری شده در استان کردستان از آنالیز واریانس تک عامله استفاده شد و جهت تعیین مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD عمل شد. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد.

۴- نتایج و بحث

۴-۱- آنالیز نتایج میزان فنل کل

نتایج بیانگر این است که مدل و هم تیمارهای انواع آنتی اکسیدان‌ها شامل عصاره‌های مختلف گیاه *Allium ampeloprasum* بر اساس محنی استاندارد اسید گالیک با معادله $y=0.0013x+0.0473$ با میزان $R^2 = 0.99$ در سطح ۰/۱ درصد بر اساس آزمون LSD معنی دار می‌باشند (Table 1).

رقت‌های مختلف از عصاره‌های آبی والکلی (۰/۵۰٪)، ۰/۰۵ گرم وزن و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانیده شد. از غلظت‌های مختلف عصاره‌ها و آنتی اکسیدان‌های سنتزی هر کدام ۳۰۰۰ میکرو لیتر + ۱۰۰۰ میکرو لیتر DPPH کشیده شده، به مدت ۳۰ دقیقه در مکان تاریک قرار داده شد تا از رنگ بنفش تیره به زرد تغییر یافت. بعد از این مدت، میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. در نهایت، درصد مهار رادیکال‌های DPPH توسط عصاره با این فرمول محاسبه شد [۱۵، ۱۶]:

$$= (A_c - A_s) / A_c \times 100$$

در این فرمول A_c و A_s به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می‌باشند.

۶-۲- اندازه‌گیری قدرت احیا کنندگی آهن III:

با غلظت ۸۰۰ ppm (۰/۰۸ گرم در میلی لیتر) آزمایش انجام داده شد. ۰/۰۸ گرم را وزن کرده و در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتر به حجم رسانیده شد. رقت‌ها (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰) آماده شد. برای عصاره‌های آبی والکلی گیاه کنیوال همین مراحل تکرار شد. از آنتی اکسیدان‌های سنتزی و عصاره‌ها هر کدام ۰/۰۸ گرم را وزن نموده، با متانول به حجم ۱۰۰ رسانده و سپس از محلول مادر رقت‌های اشاره شده در بالا را تهیه کردیم. بعد در لوله‌های اپندروف در سه تکرار آزمایش را به صورت ذیل انجام داده شد:

۱ میلی لیتر از محلول‌ها را برداشته، ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات و ۲/۵ میلی لیتر پتاسیم تیو سیانید اضافه کرده، درب

Table 1. results of the analysis of variance model, and treatments of various antioxidant (extracts, alcoholic and aqueous) in terms of the amount of total phenolics

Resource changes	Degrees of freedom	Average of squares
		The amount of total phenolics based on acid Gaelic
Model choice	1	6063.0377***
Type of antioxidant*	1	6063.0377***
Error trial	4	10.8585
Cv		5.9699

*: Extracts, alcoholic and aqueous *Allium ampeloprasum* *** Namely, at the level of 0.1 percent, based on the test LSD There is a significant difference.

همچنین نتایج نشان می‌دهد عصاره‌های استخراجی با حلال‌های مختلف در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD

معنی دار می باشند که بیشترین مقدار غلظت فنل کل بر اساس اسید گالیک مربوط به عصاره آبی بوده با مقدار ۸۶/۹۸۵۹ میکرو گرم بر میلی لیتر می باشد (Table 2).

Table 2. A comparison of the mean pretreatment of various extracts, the antioxidant *Allium ampeloprasum* in terms of the amount of total phenolics

Treatment of extracts	Average concentration of total phenolics based on Acid, gallic (μ g/ ml)
Aqueous extract	86.9859±0.678 ^A
Alcoholic extract	23.4090±1.162 ^B

Numbers with the same letters in columns do not have a significant difference at the 5% level based on the LSD test.

در مطالعه‌ای که توسط Berneart و همکاران در سال ۲۰۱۲ درخصوص اندازه‌گیری میزان فنل کل در عصاره‌های حاصل از برگ‌های سبز و ساقه سفید ۳۰ گیاه *Allium ampeloprasum* var. *Porrum* انجام شد میزان فنل کل بین ۵ تا ۱۵ mg GAE /g dw گزارش شده است. برنرت در این پژوهش سطح فنل تام در بخش‌های سبز گیاه را به میزان قابل توجهی بالاتر از قسمت‌های سفید گزارش کرده است [۱۹].

۴-۲- آنالیز نتایج میزان فلاونوئید کل

نتایج نشان می‌دهد که مدل و تیمارهای انواع آنتی اکسیدان‌ها شامل عصاره‌های مختلف گیاه *Allium ampeloprasum* بر اساس استاندارد کوئرستین با معادله $y = 0.0005x + 0.2018$ و $R^2 = 0.9947$ در سطح ۰.۱ درصد بر اساس آزمون LSD معنی دار می‌باشند (Table 4). عصاره‌های استخراجی با حلال‌های مختلف در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD معنی دار می‌باشند که بیشترین مقدار غلظت فلاونوئید کل بر اساس کوئرستین مربوط به عصاره الکلی بوده ۳۴۵/۵۴۷ میکرو گرم بر میلی لیتر و عصاره‌های آبی کمترین مقدار را دارا بوده که مقدارش ۴۲/۸۱۳ میکرو گرم بر میلی لیتر می‌باشند (Table 4).

ناجدا و همکاران در سال ۲۰۱۶ بر روی ویژگی‌های تغذیه‌ای و سلامت بخش و خواص آنتی اکسیدانی پیاز و برگ‌های دو واریته از گیاه *Allium ampeloprasum* var به نام‌های *ampeloprasum* (GHG-I) و *A. sativum* کار کردند. مطالعه مذکور نشان داد میزان فنل در این گیاه بستگی به قسمت‌های گیاهی مورد استفاده در تهیه عصاره دارد و به طور کلی میزان ترکیبات فنلی در پیاز این گیاه بیشتر از برگ‌ها بود. در برگ‌های واریته (GHG-I) بیشتر ۱/۰۷۳ mg GAE /g FW از عصاره حاصل از برگ‌های واریته *A. sativum*، ۰/۸۰۴ mg GAE /g FW می‌باشد. همچنین این میزان در عصاره حاصل از پیاز واریته (GHG-I) بالاتر ۲/۰۲۱ mg GAE /g FW از عصاره پیاز در واریته *A. sativum*، ۱/۶۷۳ mg GAE /g FW بود [۱۷].

Garcia-Herrera و همکاران در سال ۲۰۱۴ مطالعه‌ای را بر روی میزان ترکیبات فنلی در عصاره الکلی گیاه *Allium ampeloprasum*. A انجام دادند و این میزان را ۵/۷۰ mg GAE/g extract گزارش کردند که نسبت به مطالع اخیر میزان کمتری را نشان داده است [۱۸].

Table 3. The results of model variance analysis and different antioxidant treatments (alcoholic and aqueous extracts) in terms of total flavonoids

Resource changes	Degrees of freedom	Average of squares
The amount of flavonoid, total, based on کوئرستین		

Model choice	1	137471.2067***
Type of antioxidant*	1	137471.2067***
Error trial	5	723.2033
Cv		13.8492

Alcoholic and aqueous extracts of Canival * at 0.1% level, according to the LSD test, show a significant difference.

Table 4. A comparison of the mean pretreatment of various extracts, the antioxidant *Allium ampeloprasum* in terms of the amount of flavonoid total

Treatment of extracts	Average concentration of flavonoid, total, based on the Querstin (micro g/ml)
Aqueous extract	42.813±10.781 ^B
Alcoholic extract	345.547±2.077 ^A

Numbers with the same letters in columns do not have a significant difference at the 5% level based on the LSD test.

در بررسی که بر روی عصاره‌های آبی و الکلی گیاه هیضه (*Pulicaria gnaphalodes*) انجام شد، فلاونوئید کل در عصاره آبی بیشتر از الکلی به میزان ۲۵/۱۲، در عصاره اتانولی ۲۱/۳۲ و در عصاره متانولی ۲۴/۹۷ میکرو گرم بر میلی لیتر گزارش گردیده است. نتایج حاصل در گیاه هیضه برعکس گیاه *Allium ampeloprasum* می‌باشد.

۳-۴- آنالیز نتایج احیای رادیکال DPPH

خاصیت ضد رادیکالی عصاره‌ها بر اساس روش DPPH تعیین گردید که در جداول زیر بر اساس آنالیز واریانس یک عامله این نتایج آمده است (Table 5). این نتایج نشان می‌دهد که هم مدل وهم تیمارهای انواع آنتی اکسیدان‌ها شامل آنتی اکسیدان‌های رایج و غلظت‌های مختلف عصاره‌های حلال‌های مختلف در سطح ۰/۱ درصد بر اساس آزمون LSD معنی دار می‌باشند.

در مطالعه‌ای که توسط Garcia-Herrera و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی خواص تغذیه‌ای و آنتی اکسیدانی و ویژگی‌های فیتوشیمیایی گیاه *Allium ampeloprasum*. A فلاونوئیدی در عصاره الکلی این گیاه را (0.86 CE/g) extract گزارش کردند که کمتر از میزان گزارش شده در این پژوهش می‌باشد [۱۸]. Najda و همکاران در سال ۲۰۱۶ میزان فلاونوئیدها را در عصاره‌های پیاز و برگ گیاه *Allium ampeloprasum* بررسی کردند. این میزان در پیاز واریته *ampeloprasum*(HGH-I) mgQE/gFW و بیشتر از واریته *A. sativum* mgQE/gFW ۰/۲۶۴ و گزارش گردید و همچنین در برگ‌های واریته ۰/۱۸۵ *ampeloprasum*(HGH-I) mgQE/gFW و غلظت بالاتری از برگ‌های واریته *A. sativum* (0.034 mgQE/gFW) را دارا بود؛ و به طور کلی غلظت فلاونوئیدها در پیاز این گیاه بیشتر از برگ‌ها می‌باشد [۱۷].

Table 5. The results of model variance analysis and different antioxidant treatments of different extracts of *Allium ampeloprasum* and common antioxidants in terms of DPPH inhibition percentage

Resource changes	Degrees of freedom	Average of squares
		Percent inhibitory activities
Model choice	13	250.0178***
Type of antioxidant*	13	250.0178***
Error trial	28	0.2419
Cv		0.5827

*: alcoholic and aqueous extracts of kenival *** means there is a significant difference at the level of 0.1% according to the LSD test.

مجاز استفاده در مواد غذایی یعنی ۲۰۰ میکرو گرم بر لیتر وحتى در غلظت پایین‌تر ۱۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر با

همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها (Table 6) نشان می‌دهد که کلیه آنتی اکسیدان‌های رایج در حداکثر غلظت

اختلاف معنی دار بالا از اکثر غلظت‌های عصاره‌های گیاه *Allium ampeloprasum* قدرت مهار کنندگی بیشتر و قویتری دارد. بالاترین قدرت مهار کنندگی مربوط به TBHQ ۹۶ می‌باشد، از طرف دیگر با افزایش غلظت

عصاره به طور معنی داری قدرت مهار کنندگی افزایش نشان داده‌اند (Figure 1).

Table 6. Comparison of the average DPPH inhibitory percentage in different concentrations of *Allium ampeloprasum* extract and common synthetic antioxidants

Samples	Average percent inhibition sell(%)				
	BHT	BHA	TBHQ	Aqueous extract	Alcoholic extract
100	92.4290± 0.035 ^C	92.7884± 0.012 ^C	93.9594± 0.035 ^B	73.1826± 1.575 ^H	72.9507± 0.323 ^H
200	94.1565± 0.023 ^B	94.6435± 0.035 ^B	96.0000± 0.035 ^A	74.6434± 0.377 ^G	75.2811± 0.174 ^G
400	-----	-----	-----	78.3536± 1.237 ^F	77.7507± 0.613 ^F
600	-----	-----	-----	83.5014± 0.479 ^D	82.0173± 0.930 ^E

Different letters in each concentration indicate a significant difference at the 5% probability level based on LSD test.

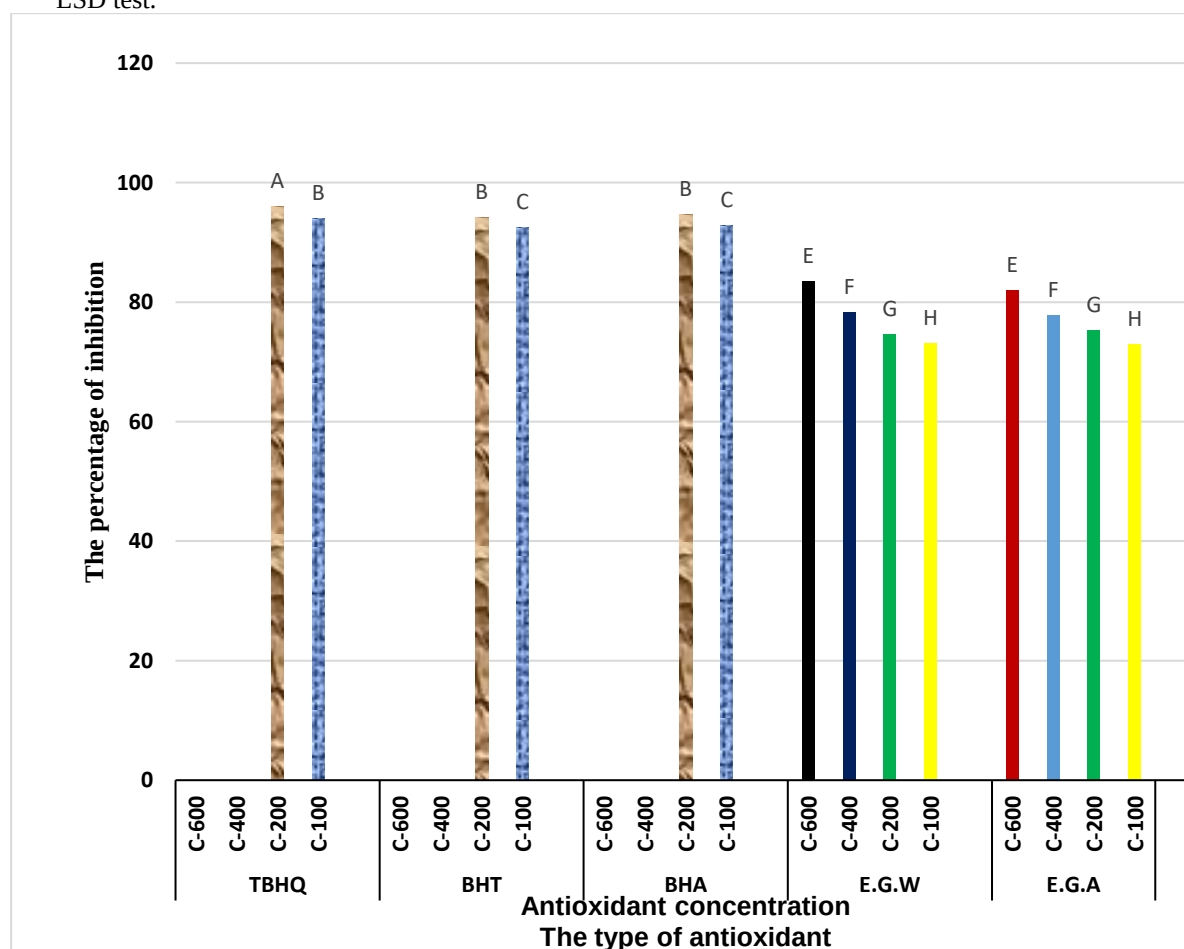


Figure 1. Comparing the average antioxidant and the concentration of different extracts of carnial and common antioxidants in terms of DPPH inhibition percentage.

عصاره پیاز در واریته *A. sativum* (67.23 μM TE/gFW) بود و به طور کلی قدرت احیاکنندگی DPPH در پیاز این گیاه بیشتر از برگ‌ها بود [۱۷]

۴-۴- آنالیز نتایج قدرت احیاکنندگی کل

در مرحله قدرت احیاء کنندگی کل عصاره‌ها را بررسی کرده و نتایج آنالیز بر اساس تجزیه واریانس دو عامله آنتی اکسیدان و غلظت مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که هم مدل و هم تیمارهای انواع آنتی اکسیدان‌ها شامل آنتی اکسیدان‌های رایج و غلظت‌های مختلف عصاره‌های حلال‌های مختلف در سطح ۰/۱ درصد بر اساس آزمون LSD معنی دار می‌باشند (Table 7). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که آنتی اکسیدان‌های رایج در یک گروه قرار دارند و بیشترین قدرت احیاء کنندگی مربوط به TBHQ با مقدار ۲/۰۵۹۰ میکرو گرم بر میلی لیتری باشد و بین نمونه‌های عصاره‌ها اختلاف معنی داری وجود ندارد و در یک گروه از لحاظ آماری قرار می‌گیرند و بیشترین مقدار مربوط به عصاره آبی به میزان ۰/۱۰۴۱ میکرو گرم بر میلی لیتری باشد (Table 8).

Garcia-Herrera و همکاران در سال ۲۰۱۴ مطالعه‌ای را بر روی میزان قدرت احیاکنندگی DPPH در عصاره الکلی گیاه *Allium ampeloprasum. A* دادند و این میزان را (15.12 mg/ml methanolic extract) گزارش کردند. این میزان در عصاره الکلی آزمایش شده بیشتر است. با توجه به نظریه هررا و همکاران میزان قدرت آنتی اکسیدانی به واریته و شرایط رشد از جمله آب و هوا، نور، بارندگی و خاک بستگی دارد [۱۸].

Najda و همکاران در سال ۲۰۱۶ بر روی قدرت احیاکنندگی DPPH پیاز و برگ‌های دو واریته از گیاه *Allium ampeloprasum* به نام‌های *ampeloprasum* (GHG-I) و *A. sativum* کار کردند. مطالعه مذکور نشان داد پتانسیل احیا در بخش‌های مختلف گیاه متفاوت است. این میزان در برگ‌های واریته (GHG-I) بیشتر (17.56 μM TE/gFW) از عصاره حاصل از برگ‌های واریته *A. sativum* (13.99 μM TE/gFW) می‌باشد. همچنین در عصاره حاصل از پیاز واریته (GHG-I) بالاتر (81.14 μM TE/gFW) از

Table 7. The results of analysis of variance of the model and different antioxidant treatments and concentrations in terms of total reducing power

Resource changes	Degrees of freedom	Average of squares
		The power of total regeneration
Model choice	24	3.7909***
Type of antioxidant*	4	15.2150***
The concentration of antioxidants	4	4.2662***
Interaction effect of type and concentration of antioxidants	16	0.8160***
Error trial	50	0.0012
Cv		3.0118

Table 8. Comparison of the average treatment of antioxidants in terms of total reducing power

Treatment of extracts	The power of total regeneration
Aqueous extract	0.017±0.1041B
Alcoholic extract	0.014±0.0248B
TBHQ	0.122±2.0590A
BHT	0.090±1.4723A
BHA	0.114±2.0263A

Numbers with the same letters in the columns do not have significant differences based on the LSD test at the 5 percent level.

همچنین بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی مربوط به غلظت ۸۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر با مقدار ۱/۶۸۳۳ میکرو گرم بر میلی لیتر می باشد و کمترین مقدار مربوط به غلظت ۱۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر به میزان ۰/۴۵۰۲ میکرو گرم بر میلی لیتر می باشد (Table 9).

Table 9. Comparison of the average main concentration treatment in terms of total regenerative power

Treatment concentration(micro g ml)	Average power resuscitation promoting total
800	1.6833±0.144 ^A
600	1.5863±0.111 ^B
400	1.2267±0.065 ^C
200	0.7400±0.065 ^D
100	0.4502±0.036 ^E

Numbers with the same letters in the columns do not have significant differences based on the LSD test at the 5 percent level.

معنی داری با سایر نمونه ها دارد. بر اساس مطالعه مذکور قدرت احیاکنندگی به نوع گیاه بستگی دارد و این میزان در گیاه *Allium ampeloprasum* کمتر از این ۵ گونه می باشد [۱۸].

۴-۵- میزان فلاونوئیدهای مختلف در عصاره های

آبی و الکلی گیاه کنیوال مناطق مختلف

میزان فلاونوئیدهای مختلف در عصاره های آبی و الکلی گیاه کنیوال مناطق مختلف در جدول زیر (Table 9) آمده است.

Garcia-Herrera و همکاران در سال ۲۰۱۴ مطالعه ای را بر روی خواص آنتی اکسیدانی گیاه *Allium ampeloprasum*. A احیاکنندگی را در عصاره الکلی این گیاه (0.7mg/ml methanolic extract) گزارش کردند که بیشتر از میزان اندازه گیری شده در این پژوهش می باشد. در مطالعه ای که توسط میزایی و همکاران بر روی خواص آنتی اکسیدانی پنج گیاه خاکشی، بارهنگ، زنیان، گشنیز و شنبلیله انجام دادند، قدرت احیای آهن را برحسب میکرومول آهن در گرم عصاره به ترتیب ۲۳۲/۹، ۷۴۶/۶، ۱۱۶۹، ۶۲۴/۳۶، ۳۰۰/۶ را برای این پنج گیاه گزارش کردند. قدرت احیای بارهنگ تفاوت

Table 9. The amount of different flavonoids in the aqueous and alcoholic extracts of the carnial plant from different regions.

Type of extract	Total flavonoids (mg/liter extract)*	
	Inhibition time of standard quercetin	The concentration of quercetin
Blue	0.036±4.56	04/0±9.26
Alcoholic	0.036±4.51	03/0±11

* The data are the average of three repetitions ± standard deviation.

میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی برا ساس روش CUPRAC برپایه استاندارد TROLOX بر اساس آنالیز واریانس یک عامله بررسی شد (Table 10).

۴-۶- آنالیز نتایج ظرفیت آنتی اکسیدانی کل بر

اساس روش کوپراک

Table 10. The results of variance analysis of model and different antioxidant treatments (alcoholic and aqueous extracts) in terms of antioxidant capacity based on CUPRAC method

Resource changes	Degrees of freedom	Average of squares Antioxidant capacity, total (method CUPRACmmolTE/g)
Model choice	1	0.0233***
Type of antioxidant*	1	0.0233***
Error trial	4	0.00003
Cv		3.4699

*: Alcoholic and aqueous extracts of kenival and common antioxidants (BHA, BHT, TBHQ) *** means there is a significant difference at the level of 0.1% according to the LSD test.

نتایج نشان می دهد که هم مدل وهم تیمارهای انواع آنتی اکسیدان ها شامل آنتی اکسیدان های رایج و غلظت های مختلف عصاره های مختلف با حلال ها و غلظت های

مختلف *Allium ampeloprasum* در سطح ۰/۱ درصد بر اساس آزمون LSD معنی دار می باشند (Table 11).

Table 11. Comparing the average of the main treatment of antioxidants in terms of total antioxidant capacity based on the CUPRAC method

Treatment of extracts	Average antioxidant capacity, total , based on the method of CUPRAC
Aqueous extract	0.0015±0.0747B
Alcoholic extract	0.0012±0.1992A

بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی مربوط به غلظت ۸۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر با مقدار ۱/۶۸۳۳ باشد و کمترین مقدار مربوط به غلظت ۱۰۰ به میزان ۰/۴۵۰۲ میکرو گرم بر میلی لیتر می باشد. Garcia- در مطالعه ای که توسط میزایی و همکاران (۱۳۹۰) بر روی خواص آنتی اکسیدانی پنج گیاه خاکشی، بارهنگ، زنیان، گشنیز و شنبلیله انجام دادند، قدرت احیای آهن را برحسب میکرومول آهن در گرم عصاره به ترتیب ۶۲۴/۳۶، ۱۱۶۹، ۷۴۶/۶، ۲۳۲/۹، ۳۰۰/۶ را برای این پنج گیاه گزارش کردند. قدرت احیای بارهنگ تفاوت معنی داری با سایر نمونه ها دارد [۲۱]. بر اساس مطالعه مذکور قدرت احیاکنندگی به نوع گیاه بستگی دارد و این میزان در گیاه *Allium ampeloprasum* کمتر از این ۵ گونه می باشد.

۵- نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج گزارش شده، مشخص است که میزان فنل کل در عصاره آبی بیشتر از عصاره الکلی است، در حالی که میزان فلاونوئید تام در عصاره الکلی بسیار بیشتر از عصاره آبی است. همچنین، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی به روش Cuprac نیز در عصاره الکلی بیشتر از عصاره آبی است. از سوی دیگر، قدرت احیاکنندگی آهن سه ظرفیتی در عصاره آبی بیشتر از عصاره الکلی است، در حالی که قدرت احیای DPPH در هر دو عصاره مشابه است. نتایج فوق الذکر نشان دهنده میزان قابل توجهی از

مقادیر بر اساس استاندارد TROLOX و منحنی کالیبراسیون بدست آمده با معادله شماره ۱ ($r=0.999$) که در زیر آمده است بدست آمده است.

$$Y = 1.67 \times 10^4 \times C - 0.033$$

که با استفاده از آن مقدار ظرفیت آنتی اکسیدانی کل (TAC) بر پایه استاندارد ترولوکس تعیین می شوند. بر اساس نتایج بالاترین ظرفیت مربوط به عصاره الکلی و کمترین مربوط به عصاره آبی می باشد. کمال روستا و همکاران در سال ۱۳۸۹ بر روی خاصیت آنتی اکسیدانی و چلاته کنندگی عصاره دارچین مطالعه و دریافتند که عصاره دارچین علاوه بر خاصیت آنتی اکسیدانی دارای خاصیت چلاته کنندگی بر فلز مس است و می توان به عنوان منبعی از آنتی اکسیدان ها و چلاته کننده های طبیعی مورد استفاده قرار بگیرد [۲۰].

۴-۷- قدرت احیای آهن سه ظرفیتی

نتایج نشان می دهد که آنتی اکسیدان های رایج در یک گروه قرار دارند و بیشترین قدرت احیاءکنندگی مربوط به TBHQ با مقدار ۲۰/۰۵۹۰ میکرو گرم بر میلی لیتر می باشد و بین نمونه های عصاره ها اختلاف معنی داری وجود ندارد و در یک گروه از لحاظ آماری قرار می گیرند و بیشترین مقدار مربوط به عصاره آبی به میزان ۰/۱۰۴۱ میکرو گرم بر میلی لیتر می باشد.

در کاهش آسیب‌های سلولی ناشی رادیکال‌های آزاد مصرف گردد.

ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و همچنین قدرت آنتی اکسیدانی *Allium ampeloprasum* گیاه عصاره می‌باشد. لذا می‌تواند به عنوان منبع خوبی از آنتی اکسیدان‌ها

۶-منابع

- [1] Pirs, S., et al., *Hydrogels and biohydrogels: investigation of origin of production, production methods, and application*. Polymer Bulletin, 2023. **80**(10): p. 10593-10632.
- [2] Nalbandi, H., S.S. Seiedlou Heris, and P. Ahmadi Gheshlagh, *Determination of Optimum Performance Characteristics of Combined Infrared-Convectional Dryer in Drying of Banana Slices*. Agricultural Mechanization, 2021. **6**(1): p. 11-21.
- [3] Amiri, S., et al., *Effect of Aloe vera gel-based active coating incorporated with catechin nanoemulsion and calcium chloride on postharvest quality of fresh strawberry fruit*. Journal of Food Processing and Preservation, 2022. **46**(10): p. e15960.
- [4] Jalilian, F., et al., *Green synthesized silver nanoparticle from Allium ampeloprasum aqueous extract: Characterization, antioxidant activities, antibacterial and cytotoxicity effects*. Advanced Powder Technology, 2020. **31**(3): p. 1323-1332.
- [5] Feghhi-Najafabadi, S., L. Safaeian, and B. Zolfaghari, *In vitro antioxidant effects of different extracts obtained from the leaves and seeds of Allium ampeloprasum subsp. persicum*. Journal of Herbmmed Pharmacology, 2019. **8**(3): p. 256-260.
- [6] Mehdizadeh, T., A. Kaboudari, and A. Reale, *Stimulatory effect of Allium ampeloprasum L. ssp. iranikum Wendelbo on the probiotic Bifidobacterium bifidum in Iranian white cheese*. Journal of Dairy Science, 2021. **104**(10): p. 10550-10557.
- [7] Esfahani, S.S.N., et al., *Persicoimide Isolated from Allium ampeloprasum Subsp. Persicum with Apoptotic Effects against Breast Cancer Cell Lines: Apoptotic effects of Persicoimide*. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020: p. 43-52.
- [8] Rabinowitch, H.D., *Leek and Other Main Allium ampeloprasum Crops*, in *Edible Alliums: Botany, Production and Uses*. 2022, CABI GB. p. 131-155.
- [9] Karimi Sani, I., et al., *Physico-chemical, organoleptic, antioxidative and release characteristics of flavoured yoghurt enriched with microencapsulated Melissa officinalis essential oil*. International Journal of Dairy Technology, 2020. **73**(3): p. 542-551.
- [10] Hirscheegger, P., et al., *Origins of Allium ampeloprasum horticultural groups and a molecular phylogeny of the section Allium (Allium: Alliaceae)*. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2010. **54**(2): p. 488-497.
- [11] Dey, P. and K.L. Khaled, *An extensive review on Allium ampeloprasum a magical herb*. Int. J. Sci. Res, 2013. **4**: p. 371-377.
- [12] Arjeh, E., et al., *Phenolic compounds of sugar beet (Beta vulgaris L.): Separation method, chemical characterization, and biological properties*. Food Science & Nutrition, 2022. **10**(12): p. 4238-4246.
- [13] Karimi Sani, I., et al., *Impact of operating parameters and wall material components on the characteristics of microencapsulated Melissa officinalis essential oil*. Flavour and Fragrance Journal, 2019. **34**(2): p. 104-112.
- [14] Kamińska, A. and G.y. Chwatko, *Estimation of lipoyllysine content in meat and its antioxidative capacity*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020. **68**(39): p. 10992-10999.
- [15] Shraim, A.M., et al., *Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation*. Lwt, 2021. **150**: p. 111932.
- [16] Hassani, D., I.K. Sani, and S. Pirs, *Nanocomposite Film of Potato Starch and Gum Arabic Containing Boron Oxide Nanoparticles and Anise Hyssop (Agastache foeniculum) Essential Oil: Investigation of Physicochemical and Antimicrobial Properties*. Journal of Polymers and the Environment, 2023: p. 1-12.
- [17] Najda, A., et al., *Comparative studies of nutritional and health-enhancing properties in the "garlic-like" plant Allium ampeloprasum var. ampeloprasum (GHG-L) and A. sativum*. Scientia Horticulturae, 2016. **201**: p. 247-255.
- [18] García-Herrera, P., et al., *Nutrients, phytochemicals and antioxidant activity in wild populations of Allium ampeloprasum L., a valuable underutilized vegetable*. Food research international, 2014. **62**: p. 272-279.
- [19] Bernaert, N., et al., *Antioxidant capacity, total phenolic and ascorbate content as a function of the genetic diversity of leek (Allium ampeloprasum var. porrum)*. Food chemistry, 2012. **134**(2): p. 669-677.

- [20] Kamalirusta, L., et al., *Investigation of antioxidant and chelating properties of cinnamon extract*. Scientific Research Journal of Food and Nutrition Sciences, 2013. **11**: p. 37-46.
- [21] Mirzaei, A., et al., *Evaluation of the antioxidant and phenol properties of the hydraulic extract of clay, rainbow, zinc, coriander and fenugreek*. Journal of Medical Sciences of FASA, 2015. **1**(3): p. 104-111.
- [1] 1919.



Scientific Research

Evaluation of radical scavenging and antioxidant activity and determination of flavonoid compounds in aqueous and alcoholic extracts of *Allium ampeloprasum*

Nishteman Satari^{1*}, Fardin Mirahmadi², Kambiz Hassanzadeh³

1. M.Sc. in Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Sanandaj Branch, Sanandaj, Iran.

2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Sanandaj Branch, Sanandaj, Iran.

3. Associate Professor, Department of Pharmacology, Kurdistan University of Medical Sciences. Sanandaj, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: 2023/12/18 Accepted: 2024/1/31	The plant <i>Allium ampeloprasum</i>, belonging to the Liliaceae family, is an important source of antioxidant compounds. In this study, the anti-radical and antioxidant activities, as well as the determination of phenolic and flavonoid compounds in the aqueous and alcoholic extracts of this plant, were investigated. In this laboratory study, the aqueous and alcoholic extracts of <i>Allium ampeloprasum</i> were prepared by adding 50 grams of the plant and mixing it in a 1:5 ratio with distilled water or ethanol. The total phenolic and flavonoid content was determined by spectrophotometry, and the antioxidant activity of the plant at different concentrations was measured using the Cuprac method, DPPH free radical scavenging, and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. Data analysis was performed using SAS software and one-way analysis of variance. Based on the results, the total phenolic content in the aqueous extract was 86.9859 and 23.4 micrograms of gallic acid per milliliter in the alcoholic extract. The total flavonoid content was 42.81 in the aqueous extract and 345.54 micrograms of quercetin per milliliter in the alcoholic extract. Additionally, the total antioxidant capacity in the aqueous extract was 0.2362 and 0.3876 in the alcoholic extract, and the Cuprac method reported 0.0747 in the aqueous extract and 0.1992 in the alcoholic extract. The ferric reducing antioxidant power was 0.1041 in the aqueous extract and 0.0248 in the alcoholic extract, while the DPPH radical scavenging activity was 73.18 in the aqueous extract and 72.95 in the alcoholic extract. According to the study results, <i>Allium ampeloprasum</i> is a good source of antioxidant compounds, and its consumption can reduce oxidative damages in the body and improve health. Moreover, after extraction and purification, it can be used in pharmaceutical and food industries.
Keywords: Allium ampeloprasum, Free radicals, Antioxidant, Reducing power, Polyphenols	
DOI: 10.22034/FSCT.21.151.32. *Corresponding Author E-Mail: satari3128@gmail.com	