



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

تاثیر عصاره دانه سفالاریای سوری (*Cephalaria syriaca* L.)، تولید شده در تاریخ‌های کاشت و شرایط

آبیاری مختلف بر کیفیت نوشیدنی کفیر

افشین چاره‌خواه^۱، امیر رحیمی^{۲*}، سینا سیاوش مقدم^۳، منصوره سلیمانی فرد^۴، مهدی قیاسی^۵، جلنا پوپویچ جورڈویچ^۶

۱- کارشناسی ارشد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه.

۲- دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه.

۳- دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت.

۴- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان، اردکان.

۵- استاد، گروه فناوری غذایی و بیوشیمی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بلگراد، بلگراد، صربستان.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۷/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۳/۲۷

کلمات کلیدی:

عصاره دانه سفالاریای سوری،

ترکیبات پلی فنولی و فلاونوئید،

قدرت ضد اکسیدانی و ضد-

رادیکالی،

غنی‌سازی کفیر.

DOI: 10.22034/FSCT.22.166.42.

* مسئول مکاتبات:

emir10357@gmail.com,
e.rahimi@urmia.ac.ir

سفالاریای سوری (*Cephalaria syriaca* L.) از جمله گیاهان دارویی یک‌ساله می‌باشد که تاکنون تحقیقات اندکی در مورد آن گزارش شده است. در پژوهش حاضر، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل، فعالیت ضد اکسیدانی و ضد رادیکالی سفالاریای سوری تحت شرایط اکولوژیک ارومیه (زمان‌های کشت بهار، انتظاری، پاییز و رژیم آبیاری کامل، آبیاری تکمیلی، دیم) مورد مطالعه و مقایسه قرار گرفت. در این پژوهش، ابتدا ۱ گرم از پودر دانه گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر حلال اتانول-آب (۷۰:۳۰) ترکیب سپس به مدت ۳ ساعت بر روی شیک پلیت با دور ۱۱۰۰ rpm و در نهایت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در حمام فرا صوت قرار داده شد. شناسایی و اندازه‌گیری مقادیر فنولی تام و فلاونوئیدها توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، و اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسیدانی و ضد رادیکالی توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از نرم‌افزار SAS و روش آزمون آنالیز واریانس انجام شد. نتایج نشان داد که عصاره استخراج شده مربوط به تیمار بدون آبیاری و کشت پاییزی، نسبت به دو رژیم دیگر آبیاری، افزایش معنی‌داری در میزان فنول کل ($25/308 \text{ mg QUEg}^{-1}$)، فلاونوئید ($2/202 \text{ mg QUEg}^{-1}$) و درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH ($37/149$)، درصد مهار رادیکال‌های نیتریک اکسید ($35/563$) و سوپر اکسید ($27/292$) داشت. نتایج شناسایی ترکیبات فنولی نشان داد گالیک اسید، کلروژنیک اسید، کوماریک اسید و کروسیتین به‌عنوان ترکیبات اصلی پلی‌فنل سفالاریای سوری شناسایی شدند که این ترکیبات با افزایش تنش خشکی بر محتوای آنها در گیاه افزوده شد به طوری که در شرایط یکسان، گالیک اسید ($1222/10592 \text{ mg QUEg}^{-1}$) و سینامیک اسید (mg) $0/86 \text{ QUEg}^{-1}$ به ترتیب بالاترین و کمترین مقدار را داشتند. نتایج ارگانولپتیک کفیر غنی‌سازی شده نشان داد که تیمار ۰/۲ میلی‌گرم پودر عصاره در ۱۰۰ سی‌سی کفیر بهترین نتایج را داشت. نتایج نهایی نشان داد می‌توان از خواص فراسودمند گیاه سفالاریا سوری در محصولات دارویی و غذایی بهره‌مند شد.

۱- مقدمه

ایریدوئید^۳، فلاونوئید^۴، تری‌ترین^۵، آلکالوئید^۶ و لیگنان^۷ در طب سنتی به اشکال مختلف استفاده شده است و اکثر این ترکیبات دارای فعالیت‌های ضدمیکروبی^۸، ضدقارچی^۹، ضداکسیدانی^{۱۰} و سمیت سلولی^{۱۱} می‌باشند [۱۹ و ۲۰]. علاوه بر مزایای چشمگیر این گیاه دارویی، تاکنون تحقیقات جامعی درباره خواص دارویی و کاربردهای سفالاریای سوری انجام نشده است [۲۰]. این گونه‌ی گیاهی تحمل بالایی به تنش خشکی از خود نشان می‌دهد؛ از این رو با توجه به تشدید تنش خشکی در منطقه می‌تواند به عنوان گیاه جایگزین متحمل به خشکی در کشور معرفی گردد. با نظر به این که برای اولین بار در ایران و استان آذربایجان غربی نسبت به مطالعه بر روی این گونه‌ی گیاهی اقدام شد جهت افزایش عملکرد و توسعه‌ی مواد فنولی و فلاونوئیدی کل، ترکیب اسیدهای فنولی، مهار رادیکال‌های نیتریک اکسید و سوپراکسید، مشخص نمودن زمان و شرایط مناسب جهت تولید این گیاه ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به قرارگیری ایران در نواحی خشک و نیمه‌خشک جهان و مواجه آن با تنش کم‌آبی، همچنین اهمیت تاریخ‌های کشت مناسب در افزایش عملکرد و توسعه‌ی مواد موثره در گیاه، پراکنش و تولید پایین آن در ایران، در تحقیق حاضر ابتدا گیاه سفالاریای سوری در رژیم‌های مختلف آبیاری و تاریخ‌های کاشت در شرایط اکولوژیک ارومیه (استان آذربایجان غربی) کشت و برداشت شد سپس مواد فنولی و فلاونوئیدی کل، شناسایی و ترکیب اسیدهای فنولی، خواص ضداکسیدانی، درصد مهار رادیکال‌های نیتریک اکسید و سوپراکسید گیاه سفالاریای سوری در رژیم‌های مختلف مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. در نهایت بهترین تیمار جهت غنی‌سازی یک سیستم مدل غذایی از جمله کفیر بکار گرفته شد.

۲- مواد و روش

۲-۱- مواد

بذر سفالاریای سوری از کشور ترکیه تهیه شده و در مزرعه تحقیقاتی گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه ارومیه کشت داده شد. آزمایش به صورت

رادیکال‌های آزاد مولکول‌های ناپایدار با واکنش‌پذیری بالا هستند که از جمله این ترکیبات می‌توان به انواع اکسیژن فعال (سوپراکسید و هیدروکسیل) و نیتروژن فعال (نیتریک اکسید) و گونه‌های غیررادیکالی مانند نیتروزاسید و پراکسید هیدروژن اشاره کرد [۲۱]. اشکال اکسیژن فعال استرس اکسیداتیو را در سیستم بدن انسان آنتریک کرده و مکانیسم ضداکسیدان در برابر رادیکال‌های بدن را غیرفعال می‌کنند. ثابت شده است که رادیکال‌های آزاد به سلول‌های بدن حمله کرده و منجر به اختلال فیزیولوژیکی می‌شوند [۳]. از جمله نگهدارنده‌های شیمیایی کاربردی در محصولات، منجر به تولید این گونه‌های فعال و پایدار شده؛ که در نهایت منجر به ایجاد سرطان می‌شوند. بر این اساس با کاهش مصرف مواد شیمیایی نگهدارنده [۵ و ۵۴]، گیاهان دارویی به دلیل عوارض جانبی کمتر، کاربرد و توسعه بیشتری یافته است [۱۲-۶] و اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی بر اساس ویژگی‌های ضد میکروبی و ضداکسیدانی، کاربرد گسترده‌ای در صنایع مختلف از جمله پزشکی، دارویی و صنایع غذایی پیدا کرده‌اند [۱۳ و ۱۴]. سفالاریای سوری (*Cephalaria syriaca* L.) یکی از هفت جنس شناسایی شده در خانواده *Dipsacaceae* از گیاهان دارویی، می‌باشد [۱۵]. خاستگاه سفالاریای سوری مناطق شرقی و جنوب شرقی ترکیه، آناتولی مرکزی، مدیترانه‌ی شرقی، نواحی غرب و مرکز آسیا، جنوب اروپا و شمال و جنوب آفریقا عنوان شده است [۱۶ و ۱۷]، گرچه گزارش‌هایی از پراکنش این گیاه در ایران نیز وجود دارند [۱۸]. گرچه گیاه دارویی سفالاریای سوری در بسیاری از مناطق جهان به عنوان علف هرز مزارع گندم شناخته شده است و منجر به کاهش عملکرد و اجزای عملکرد گندم نان می‌شود؛ اما برای این گیاه خواص دارویی مختلفی ذکر شده است. سفالاریای سوری دارای خواص تسکین‌دهندگی^۱ و آرام‌بخشی^۲ می‌باشد [۱۸]. مطالعات فیتوشیمیایی روی جنس سفالاریا نشان می‌دهند که قرن‌هاست از ترکیبات مختلف این جنس نظیر

7. Lignans

8. Antimicrobial

9. Antifungal

10. Antioxidant

11. Cytotoxic

1. Mitigating

2. Relaxing

3. Iridoids

4. Flavonoids

5. Triterpenes

6. Alkaloids

اسپلیت-پلات در قالب طرح پایه بلوک-های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گردید که در آن عامل اول رژیم-های آبیاری در سه سطح (دیم؛ آبیاری تکمیلی؛ طی دو مرحله، زمان ورود گیاه به فاز گلدهی، و مرحله دیگر زمان پر کردن دانه؛ آبیاری کامل) و عامل دوم تاریخ-های مختلف کاشت (کشت پاییزی: ۱۵ مهرماه، کشت انتظاری: در ۱۵ آذرماه، کشت بهاره: ۱۵ فروردین-ماه) بودند. سایر مواد غذایی از جمله دانک کفیر، شیر و دوغ پگاه، شکر، و شیرخشک از بازار محلی ارومیه خریداری شد. مواد شیمیایی از جمله اسید استیک، اسید کلریدریک، کلروفرم، استونیتریل (درجه خلوص HPLC)، نمک فسفات دی هیدروژن پتاسیم، و متانول (درجه خلوص HPLC، شرکت Sigma Aldrich، آمریکا)، از شرکت آدوراطب ارومیه (کشور ایران) خریداری شد.

بهینه‌سازی استخراج عصاره از گیاه سفالاریای سوری

با استفاده از دستگاه Fisons آب دو بار تقطیر تهیه شد. برای استخراج عصاره از دانه گیاه سفالاریای سوری از روش Soleimanifard و همکاران (۲۰۱۹) با تغییرات جزئی استفاده شد. در این روش ابتدا بخش‌های مختلف گیاه خشک شده توسط آسیاب الکتریکی (Sunny مدل SG-80) پودر شده و سپس ۱ گرم از پودر حاصل به بطری شیشه‌ای درب دار منتقل و ۱۰ میلی-لیتر حلال استخراج اتانول-آب (۷۰:۳۰) به آن اضافه شد. در مرحله بعد، ابتدا بطری به مدت ۳ ساعت بر روی شیک پلیت با دور ۱۰۰۰ g همزده شده، سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در حمام فرا صوت قرار داده شد. در نهایت محلول با عصاره جدا شده در مرحله قبل مخلوط و توسط خشک-کن تصعیدی (دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد در فشار ۰/۰۰۱ میلی-بار به مدت ۲۴ ساعت) خشک شد. نمونه خشک شده قبل از تزریق با حلال مورد استفاده در استخراج به صورت محلول در آمده و پس از صاف شدن از فیلتر ۰/۴۵ میکرون مورد استفاده قرار گرفت [۲۱].

شناسایی و تعیین مقدار کمی اسیدهای فنلی (ترکیبات پلی-فنل) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

جداسازی، شناسایی و تعیین مقدار کمی اسیدهای فنولی مورد مطالعه در این پژوهش با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با

کارایی بالا (مدل سری ۱۱۰۰ ساخت کمپانی Agilent آمریکا)، مجهز به یک لوپ تزریق به حجم ۲۰ میکرولیتر، پمپ گرادیان چهار حلالی، سیستم گاز زدا، آون ستون (تنظیم شده در ۲۵°C) و آشکارساز آرایه دیودی، که در طول موج‌های ۲۷۲، ۲۵۰ و ۳۱۰ نانومتر تنظیم شده، صورت گرفت. به منظور کشیدن نمونه و تزریق به دستگاه HPLC از میکروسرنگ ۲۵ میکرولیتری (شرکت SGE ساخت استرالیا مدل F-LC25) استفاده شد. برای جداسازی و اندازه‌گیری کمی اسیدهای فنلی در نمونه‌های استخراجی از دستگاه HPLC با ستون اکتادسیل-سیلان (ZORBAX Eclipse XDB) به طول ۲۵ سانتی‌متر، قطر ۴/۶ میلی‌متر و اندازه ذرات پرکننده ۵ میکرومتر و ستون محافظ به طول ۱ سانتی‌متر استفاده شد. این دستگاه مجهز به دو پمپ رفت و برگشتی، یک آون، یک گاز زدای پیوسته، یک لوپ نمونه به اندازه ۲۰ میکرولیتر و یک آشکار ساز UV/Visible (مدل SPD-10 AVP، ساخت کشور آمریکا) مجهز به سل کوارتز با حجم ۸ میکرولیتر بود. نرم افزار مورد استفاده Chemstation بود. حلال‌های HPLC (استیک اسید، استونیتریل و آب مقطر) و نمونه استخراجی قبل از استفاده توسط سیستم نگهدارنده فیلتر غشایی ۰/۴۵ میکرون (مدل Millipore) صاف شدند. به منظور جداسازی بهتر ترکیبات از برنامه شویش استفاده شد که برای این منظور ابتدا فاز متحرک با نسبت ۱۰ درصد استونیتریل و ۹۰ درصد محلول یک درصد استیک اسید با جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه شروع و طی ۵ دقیقه به نسبت ۲۵ درصد استونیتریل و ۷۵ درصد محلول یک درصد استیک اسید با جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه رسید، سپس طی ۱۰ دقیقه به نسبت ۶۵ درصد استونیتریل و ۳۵ درصد محلول یک درصد استیک اسید با جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه رسید. زمان جداسازی ۱۵ دقیقه بود.

محتوای فنل کل

جهت اندازه‌گیری مقدار فنول کل، ۱۰۰ میلی‌گرم پودر عصاره در یک میلی‌لیتر متانول حل شد [۲۲]. بدین منظور به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره پودر دانه گیاهی، ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتیو^{۱۲} (۵۰ درصد)، ۲ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم (۲ درصد) و ۲/۸ لیتر آب مقطر اضافه گردید. محلول حاصل به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق در محیطی تاریک نگهداری شد؛ سپس جذب آن در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به نمونه شاهد با

بازداری پیک‌های مربوط به تیمارهای متفاوت عصاره سفالاریای سوری (دانه و برگ) با پیک مربوط به نمونه استاندارد استفاده گردید. جهت شناسایی ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدها از روش Soleimanifard و همکاران در سال ۲۰۱۹ استفاده شد [۲۱].

بدین منظور ۰/۲ میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر متانول تهیه شد؛ سپس جهت حصول زمان بازداری ترکیبات متنوع، ۲۰ میکرولیتر از عصاره‌های متفاوت و استاندارد مرتبط را به طور جداگانه توسط سرنگ به دستگاه HPLC تزریق شد. جهت تعیین مقادیر پلی‌فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌های متفاوت، سطح زیر منحنی اندازه‌گیری و با سطح زیر منحنی استاندارد، اندازه‌گیری شد.

درصد مهار کنندگی رادیکال نیتریک اکسید

جهت محاسبه درصد مهار رادیکال‌های آزاد نیتريت از روش نیکخواه و همکاران (۱۳۸۷) با تغییرات جزئی انجام شد [۲۳]. به‌منظور به ۱۰ میکرولیتر از عصاره ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین (۱۰ میلی‌مولار) و ۲ میلی‌لیتر سدیم نیتروپروسید (۱۰ میلی‌مولار) اضافه گردید و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵۰ دقیقه انکوبه گردید. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول فوق با ۱ میلی‌لیتر سولفانیلک اسید (۰/۳۳ درصد در گلاسیال استیک اسید ۱۰ درصد) مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه جهت تکمیل واکنش در حال استراحت گذاشته شدند. بعد از آن ۱ میلی‌لیتر نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید (۰/۱ درصد) اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد داده شد. یک رنگ صورتی پخش شده در محلول ایجاد گردید. جذب آن در ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{NO radical scavenging \%} = \frac{(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{sample}}} \times 100$$

که در این معادله، A blank جذب مخلوط بدون عصاره و

A sample جذب مخلوط حاوی عصاره می‌باشد.

کشت دانک کفیر

در این تحقیق دانک کفیر (مجموعه‌ای از اسید لاکتیک باکتری‌ها و قارچ‌ها) به مدت ۳ ماه در شیر پس چرخ پاستوریزه (به نسبت ۱ به ۵)، شیر خشک (آذربایجان غربی) دوغ یا ماست (پگاه) (جهت کاهش pH) کشت داده شد و در اینکوباتور مجهز به همزن، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. عمل پاساژ دادن

استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. محتوای فنل کل نمونه‌ها بر اساس میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن نمونه خشک گیاه (mg QUEg^{-1}) (با استفاده از منحنی استاندارد گالیک‌اسید) تعیین گردید [۲۳].

محتوای فلاونوئیدی

جهت تعیین محتوای فلاونوئیدی موجود در بخش‌های مختلف گیاه ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره دانه گیاهی، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول (۸۰ درصد)، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر، و ۱۰۰ میکرولیتر محلول استات پتاسیم (یک مولار) به آن اضافه شد. بعد از ۵ دقیقه از انجام واکنش، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومینیوم کلرید (۱۰ درصد) اضافه گردیده و بعد از گذشت ۴۰ دقیقه جهت انجام واکنش، جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به نمونه شاهد (نمونه شاهد حاوی همه موارد موجود در تیمار جز عصاره می‌باشد و بجای حجم عصاره، متانول ۸۰ درصد بکار گرفته شد) اندازه‌گیری شده و محتوای فلاونوئید کل بر اساس میلی‌گرم معادل کوثرستین بر گرم وزن خشک گیاه (mg QUEg^{-1}) (با استفاده از منحنی استاندارد کوثرستین) مشخص گردید [۲۲].

تعیین فعالیت ضد اکسیدانی به روش DPPH

به منظور اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسیدانی، از خنثی‌سازی رادیکال آزاد ۲ و ۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل^{۱۳} استفاده گردید [۲۴]. بدین منظور ۵۰ میکرولیتر از عصاره تیمار گیاهی-متانول (حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر محلول عصاره تیمارهای مختلف با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول) تهیه شده را با ۹۵۰ میکرولیتر محلول DPPH مخلوط نموده و جهت انجام واکنش، به مدت ۴۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. سپس میزان جذب نوری آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد.

$$I (\%) = \frac{(A_B - A_S)}{A_B} \times 100$$

در معادله ۱ AB میزان جذب نمونه شاهد (حاوی همه اجزاء واکنش بجز نمونه اصلی) و AS میزان جذب نمونه در نظر گرفته شد.

شناسایی و تعیین کمیت ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدی

جهت شناسایی ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدی موجود در عصاره تیمارهای مختلف گیاه سفالاریای سوری، از مقایسه زمان

13 . 2, 2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

برای آبیاری کامل ۱۴/۸ و ۱۱.۳ میلی گرم بر گرم اسید گالیک می‌باشند. با توجه به داده‌های حاصل در این بخش مشخص شد مخلوط حلال‌های اتانول- آب با نسبت‌های ۷۰:۳۰ برای گیاهان بدون آبیاری بیشترین میزان جذب را در طول موج جذب مختص به گالیک‌اسید (۷۲۰ نانومتر) داشت. برخی از پژوهشگران با بررسی اثر رژیم‌های مختلف آبیاری و کودهای زیستی بر خصوصیات مورفولوژیک، اسانس و محتوی فنل و فلاونوئید در رازیانه بالاترین درصد اسانس و محتوی فنل کل در رژیم آبیاری مشاهده شد [۲۷]. برخی محققین با بررسی اثر تاریخ کاشت و کود شیمیایی بر محتوی رطوبت، فلاونوئید و شاخصهای جوانه زنی بذره‌های بالنگو شیرازی در طی پر شدن دانه گزارش کردند بیشترین میزان فلاونوئید مربوط به تاریخ کشت ۱۵ اسفندماه (۲۶۴/۰) بود که افزایش ۶۳/۹۷ درصدی نسبت به کشت ۱۵ مهرماه داشت [۲۸].

محتوای فنل و فلاونوئید

جدول ۱ نتایج تجزیه واریانس برای خواص شیمیایی و ضد-اکسیدانی سفالاریای سوری را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج مشخص شد بالاترین میزان فنول به ترتیب مربوط به تیمارهای بدون آبیاری (۲۱/۹۶ میلی گرم بر گرم گالیک اسید)، آبیاری تکمیلی (۱۷/۶۲ میلی گرم بر گرم گالیک اسید) و آبیاری کامل (۱۴/۲۵ میلی گرم بر گرم گالیک اسید) بود (جدول ۱). چنین روندی برای محتوای فلاونوئید نیز قابل ملاحظه است، به طوری که میزان آن به ترتیب در تیمارهای بدون آبیاری (۱/۸۹ میلی گرم بر گرم گالیک اسید)، آبیاری تکمیلی (۱/۵۱ میلی گرم بر گرم گالیک اسید) و آبیاری کامل (۱/۲ میلی گرم بر گرم گالیک اسید) بیشترین بود (شکل ۱). پیش از این فعالیت ضد اکسیدانی ترکیبات استخراج شده از گیاه سفالاریای سوری تأیید شده است [۲۹، ۳۰].

این گیاه حاوی ترکیبات فنل متعددی می‌باشد که ارتباط مستقیمی با عملکرد ضد اکسیدانی گیاه دارد، این ترکیبات به واسطه جذب رادیکال‌ها از طریق گروه هیدروکسیل خود چنین نقشی را ایفا می‌کنند [۳۱]. فنول‌های گیاهی در واقع، متابولیت‌های ثانویه هستند

دانک‌های کفیر، هر ۲۴ ساعت یک بار تحت شرایط استریل، در ظروف استریل انجام شد. افزودن شیر خشک، ماست و یا دوغ، به صورت تجربی جهت افزایش سرعت رشد دانک‌های کفیر، به شیر پس چرخ حاوی دانک‌های کفیر افزوده شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوبه شدن، دانک‌ها از کفیر تولید شده جدا شد. سپس پودر عصاره سفالاریای سوری به نسبت ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی گرم به ۱۰۰ سی سی کفیر افزوده و پس از همزدن با میکسر و جهت آزمون‌های بعدی در در یخچال نگهداری شد [۲۵].

آزمون ارگانولپتیکی

ارزیابی ویژگی‌های ارگانولپتیکی تیمارهای نوشیدنی کفیر، توسط ۱۲ نفر پانلیست انجام شد. پانلیست‌ها جهت آشنایی با ویژگی‌های هدف در محصول نهایی از جمله رنگ، پخش پذیری پودره عصاره در محصول، یکنواختی در نوشیدنی، طعم تازه، عطر مناسب، و پذیرش کلی محصول نهایی آموزش داده شدند. در این آزمون، از روش هدونیک ۵ نقطه‌ای استفاده شد که به محصول با شرایط متفاوت از جمله عالی امتیاز ۵، خوب ۴، متوسط ۳، بد ۲ و خیلی بد ۱، تعلق گرفت. مقداری نان و یک فنجان آب بین نمونه‌ها جهت تمیز کردن کام پانلیست‌ها، به آنها ارائه شد [۲۱].

تجزیه و تحلیل آماری

پس از یادداشت برداری و تجمیع داده‌ها در برنامه Excel، آزمون LSR دانکن و تجزیه واریانس برای تمام صفات به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام گرفت. همچنین مقایسه میانگین‌ها با روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای پنج درصد در همین نرم افزار انجام گردید. در نهایت کلیه نمودارها با برنامه Excel ترسیم شدند.

بحث و نتیجه‌گیری

بهینه‌سازی روش استخراج عصاره از گیاه سفالاریای سوری

امروزه سیستم‌های چند حلالی جهت بهینه‌سازی استخراج و حصول ترکیبات فنولی از گیاهان کاربرد زیادی دارد. اتانول به عنوان یک ماده سالم و به عنوان یک حلال موثری جهت استخراج ترکیبات فنولی گزارش شده است، بنابراین جهت حصول و بازیابی این گروه‌های فیتوشیمیایی، به ویژه زمانی که این ترکیبات برای تولید محصولات نوتراسوتیکال (غذا-دارو) کاربرد دارند، از اتانول استفاده می‌شود [۲۶]. با بررسی مخلوط حلال‌های اتانول-آب و استون-آب مشخص شد که عصاره‌های مستخرج با اتانول-آب و استون-آب برای تیمار دیم به ترتیب دارای ۲۲/۶، ۱۸/۴ و

میزان فنول در سفالاریایی سوری افزایش یافته است که هماهنگ با نتایج سایر محققین است، همچنین با توجه به این که اثر ضد-اکسیدانی به محتوای فلاونوئید در بخش های مختلف گیاهان جنس سفالاریا بر می گردد [۳۳] و رشد این بخش ها تحت تأثیر رژیم های آبیاری قرار دارند؛ معنی داری اثر آبیاری بر بروز این صفت قابل انتظار بود.

که در شرایط مطلوب محیطی، از مسیر شیکمیک اسید^{۱۴} و از متابولیسم فنول پروپانوئید سنتز می شوند [۳۲]. این ترکیبات نقش فیزیولوژیک و بوم شناختی برجسته ای در برهم کنش گیاه با محیط، جذب حشرات گرده افشان، محافظت گیاهان در مقابل عوامل تنش زای زیستی و غیرزیستی و تولید مثل گیاهان، ویژگی های ضد گیاه خواری و ضد میکروبی و همان طور که اشاره شد کارکرد ضد اکسیدانی دارند [۳۳]. به همین دلیل با افزایش تنش خشکی

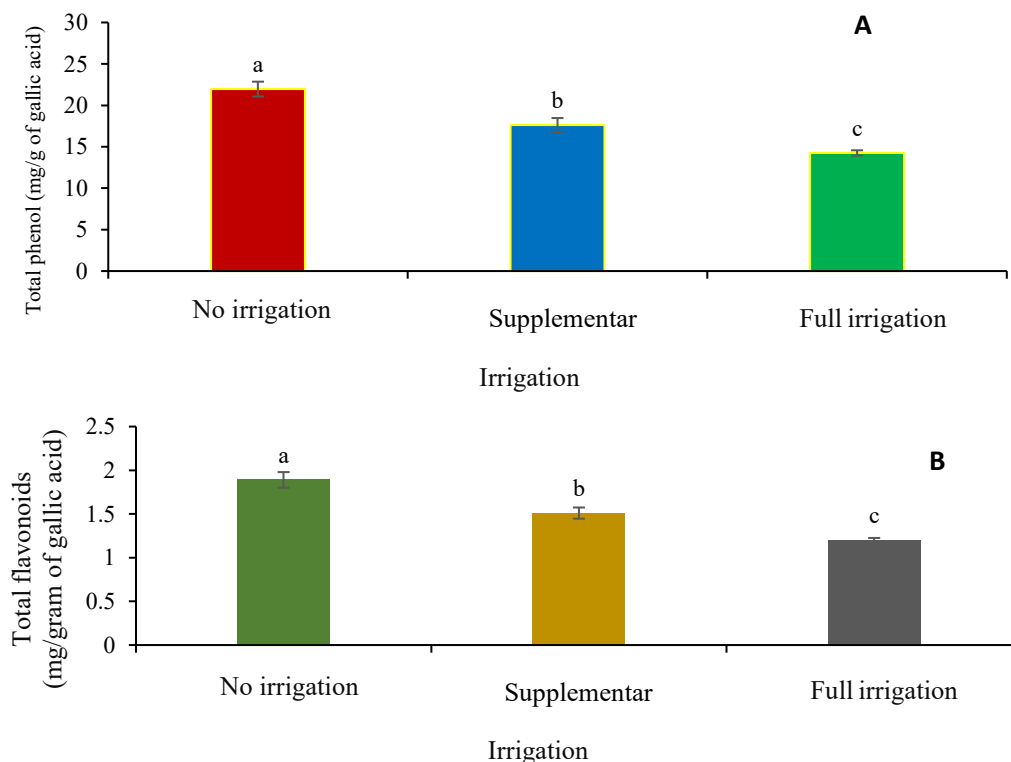


Fig 1. The results of the comparison of the simple effect of irrigation regimes on the content of phenol (a) and total flavonoid (b) of *Cephalaria syriaca* L.

Table 1. Variance analysis of biochemical traits of *Cephalaria syriaca* L. under different irrigation regimes and planting dates

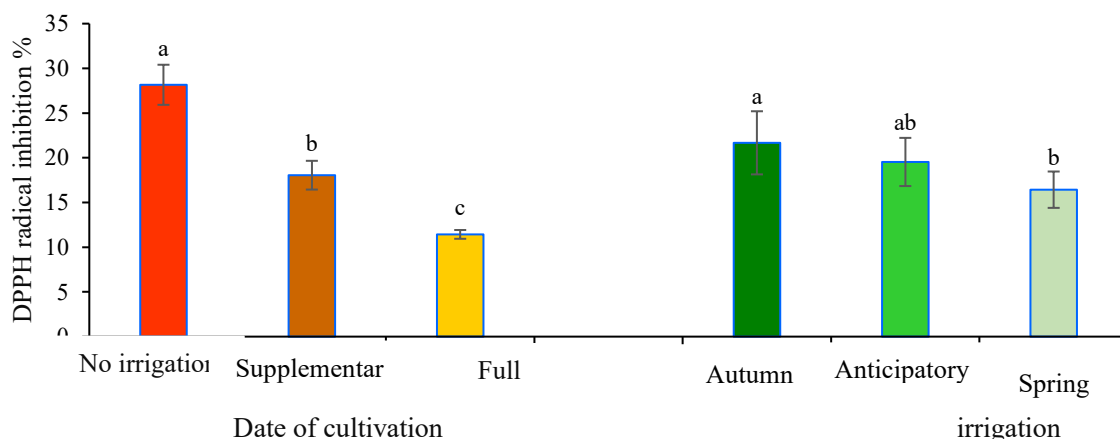
Sources of change	degrees of freedom	Mean square				
		Total phenol	Total flavonoids	DPPH radical	Nitric Oxide	superoxide radical
Block	2	11.27	0.061	44.59	48.23	7.62
Irrigation regime	2	134.4	1.092	638.5	716.3	288.8
Error a	4	3.26	0.029	14.18	13.67	4.51
date of cultivation	2	11.25	0.083	62.39		33.2
Irrigation × planting date	4	3.66	0.047	27.60	81.4	9.8
error b	12	3.71	0.027	15.34	38.77	7.74
coefficient of variation (%)		10.73	10.68	20.39	32.21	13.22

ns, * and ** are non-significance and significance respectively at the probability level of five and one percent.

قدرت مهارکنندگی رادیکال DPPH

DPPH یکی از مهم‌ترین روش‌های ارزیابی قدرت ضد اکسیدانی در گیاهان است. طبق مشاهدات و مقایسات میانگین حاصل از این تحقیق، ظرفیت مهارکنندگی رادیکال DPPH تحت تیمار خشکی (بدون آبیاری) با میانگین ۲۸/۱۶ درصد بیشتر بود و پس از آن تیمارهای آبیاری تکمیلی (۱۸/۰۵ درصد) و آبیاری کامل (۱۱/۴۳ درصد) قرار داشتند. از سویی دیگر، کشت پاییزه (۲۱/۶۷ درصد) و کشت انتظاری (۱۹/۵۳ درصد) بالاترین ظرفیت مهارکنندگی را داشتند (شکل ۲). بالا بودن مهارکنندگی رادیکال DPPH در گیاهان تیمار شده با تنش خشکی قابل انتظار بود زیرا ضد اکسیدان‌ها با حذف رادیکال‌های آزاد و کاهش تنش اکسیداتیو باعث کاهش تخریب فیزیولوژیکی و افزایش مقاومت بافت‌ها در

برابر تنش‌ها و آلودگی‌های میکروبی می‌شوند [۳۵]. برخی محققین گزارش کردند گیاه دارویی سفالاریای سوری دارای خاصیت مهارکنندگی رادیکال DPPH می‌باشد [۱۸]. در همین باره، Rahimi و همکاران (۲۰۱۹) [۳۰] دامنه این صفت را ۴۷/۱۰ درصد الی ۶۰/۱۶ درصد عنوان کردند که تقریباً بیشتر از میزان مشاهده شده در این پژوهش است ولی حداقل میزان ۱۸/۸ درصدی در فعالیت مهارکنندگی یا جمع‌آوری‌کنندگی رادیکال DPPH که توسط Kavak و Baştürk (۲۰۲۰) گزارش شده است، که همراستا با تحقیق حاضر می‌باشد [۳۶]. به دلیل بالا بودن این خاصیت در سفالاریای سوری، پیشنهاد شده است که از آن در پیشگیری بیماری‌هایی که از طریق غذا به انسان منتقل می‌گردد، استفاده شود [۱۸].

**Fig 2.** Simple effects of irrigation regime and cultivation date on the changes in DPPH radical scavenging properties of Syrian cephalaria.

بدون آبیاری و کشت بهاره در آبیاری کامل بود. این روند برای سایر ترکیبات نیز مشاهده شد. خواص بی نظیر ترکیبات پلی فنولی مانند کاهش سطح قند خون، کاهش خطر بیماری های قلبی، محافظت در برابر سرطان و ... از یک طرف و میزان بالای این ترکیبات در گیاه سفالاریای سوری از طرفی دیگر، پتانسیل تبدیل این گیاه دارویی به یک گیاه تغذیه ای با ارزش را حکایت دارد. تغییرات محتوای ترکیبات پلی فنول در تاریخ های مختلف کاشت به احتمال زیاد به تفاوت شرایط آب و هوایی در نتیجه اعمال تیمارهای مربوطه برمی گردد. همچنین، با افزایش تنش خشکی، محتوای ترکیبات پلی فنولی در گیاه دارویی سفالاریای سوری افزایش می یابد که این امر ارتباط مستقیم با ظرفیت ضد اکسیدانی آن ها دارد. برخی محققین گزارش کردند که انتخاب محیطی که با تنش خشکی منجر به ایجاد بالاترین سطوح فلاونوئید مانند لوتئولین و آپیزین و ترکیبات فنولی مانند اسید کلروژنیک در گیاه دارویی و افزایش محتوای ترکیبات فنولی گیاه دارویی علف چای [۳۷]؛ افزایش محتوای پلی فنول کل و ترکیبات آن در سایر گیاهان دارویی نظیر مریم گلی [۳۸] و زیره سبز [۳۹] می شود. به نظر می رسد، در نتیجه اعمال تنش های غیر زیستی، الگوی بیان ژن های کلیدی و مکانیسم های مولکولی آن ها در مسیر فنیل پروپانوئید تغییر می یابد.

Table 2. Polyphenol compounds of *Cephalaria syriaca* L. in the studied treatments (mg QUEg⁻¹)

Irrigation	cultivation	CA	RA	Ru	GA	ChA	Co	Qu	CiA	A
No irrigation	Autumn	25.33	13.25	19.17	1222.1	255.3	248.4	141.1	0.86	12.75
No irrigation	Anticipatory	19.41	11.17	16.61	1222.0	231.9	203.4	132.0	0.6	10.08
No irrigation	Spring	17.51	9.67	16.46	1221.9	197.4	173.9	118.3	0.5	8.05
Supplementary	Autumn	13.0	11.26	13.16	1221.9	185.1	178.3	102.0	0.3	6.10
Supplementary	Anticipatory	12.04	10.87	9.19	1221.8	174.4	163.4	28.41	0.28	5.77
Supplementary	Spring	14.63	9.87	8.98	1221.8	143.6	143.8	6.55	0.24	4.74
Full	Autumn	13.19	9.84	6.57	1221.7	117.7	130.2	10.45	0.27	5.68
Full	Anticipatory	9.00	2.51	5.92	1221.6	115.3	118.7	16.02	0.53	7.03
Full	Spring	2.85	3.76	5.68	1221.6	101.4	31.53	0.00	0.66	1.27
Total average	-	14.13	9.12	11.31	1222.1	169.1	154.6	61.66	0.47	6.83

CA: caffeic acid, RA: rosmarinic acid, Ru: rutin, GA: gallic acid, ChA: chlorogenic acid, Co: coumaric acid, Qu: quercetin, CiA: cinnamic acid, A: apigenin

شده که عامل سرطان در بدن انسان به شمار می رود [۴۰]، بنابراین عواملی که پیش سازهای عوامل سرطانزا از جمله نیتريت را مهار یا به اصطلاح جمع آوری کنند، می توانند به عنوان عملکرد حفاظتی در برابر سرطان نقش مهمی ایفا کنند. نیتريك اکسید و سوپر اکسید نقش مهمی در عملکردهای فیزیولوژیکی ایفا می نمایند [۴۱]. رادیکال های آزاد مانند رادیکال سوپر اکسید قادر به اکسیداسیون نامحدود اجزاء متنوع سلولی و آسیب به

شناسایی و تعیین درصد ترکیبات پلی فنولی

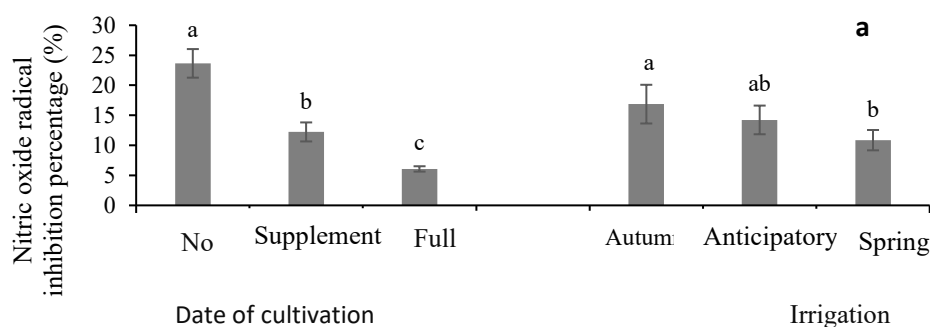
جدول (۲) ترکیبات مختلف پلی فنول سفالاریای سوری برای تیمارهای مورد مطالعه را ارائه داده است. بر اساس میانگین کل، ترکیبات گالیک اسید (۱۲۲۱/۸)، کلروژنیک اسید (mg QUEg⁻¹ ۱۶۹/۱^۱، کوماریک اسید (mg QUEg⁻¹ ۱۵۴/۶) و کورستین (mg QUEg⁻¹ ۶۱/۶۶) به عنوان ترکیبات اصلی و کافئیک اسید (mg QUEg⁻¹ ۱۱/۳۱)، روتین (mg QUEg⁻¹ ۱۴/۱۳)، رزماریک اسید (mg QUEg⁻¹ ۹/۱۲)، آپیزین (mg QUEg⁻¹ ۶/۸۳^۱ و سینامیک اسید (mg QUEg⁻¹ ۰/۴۷) به عنوان ترکیبات جزئی در محتوای پلی فنول سفالاریای سوری شناسایی گردید (جدول ۲). از نظر گالیک اسید اختلاف زیادی بین تیمارهای مورد مطالعه مشاهده نشد. بالاترین میزان کلروژنیک اسید در کشت پاییزه تحت شرایط بدون آبیاری (mg QUEg⁻¹ ۲۵۵/۳) و پایین ترین مقدار آن در کشت بهاره تحت آبیاری کامل (mg QUEg⁻¹ ۱۰۱/۴) حاصل شد. نتایج پژوهش حاضر به وضوح نشان می دهد که با افزایش تنش خشکی و نیز با تأخیر در کشت میزان کوماریک اسید در گیاه دارویی سفالاریای سوری افزایش می یابد. دامنه تغییرات کورستین از صفر تا mg QUEg⁻¹ ۱۴۱/۱^۱ متغیر بود که به ترتیب مربوط به کشت پاییزه در تیمار

۳-۴- قدرت مهار کنندگی رادیکال نیتريك اکسید و سوپر اکسید

در گذشته، در تولید فرآورده های گوشتی از جمله سوسیس و کالباس، از نیتريت به عنوان عامل تولید رنگ و نگهدارنده برای دوره طولانی استفاده می شد. همچنین نیتريت موجود در سبزیجات، در بدن انسان می تواند توسط یک سری واکنش های باکتریایی به نیتريت تبدیل شود، این نیتريت به نیتروزآمین تبدیل

که- تاریخ کاشت پاییزه و تیمار تنش خشکی (بدون آبیاری) برای بهبود ظرفیت ضد-اکسیدانی گیاه دارویی سفالاریای سوری در شرایط این آزمایش، مناسب است. برخی محققین گزارش کردند که فعالیت-های ضد-اکسیدانی آویشن باغی تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی از جمله تنش خشکی قرار دارد و در شرایط تنش این فعالیت افزایش می-یابد. مطالعات مهار رادیکال اکسید نیتریک نشان می‌دهد که آنتوسیانین و مواد فنولی موجود در توت، شاه توت، فیلانتوس، پوست نوعی کاج به طور بالقوه جمع کننده یا مهار کننده نیتریک اکسید هستند [۴۵-۴۴]. در آزمایشات نشان داده شد که نیتریک اکسید از ترکیب نیتروپروسید حاصل می‌شود که این ماده جهت تشکیل نیتريت با اکسیژن واکنش می‌دهد. عصاره‌های مذکور در تحقیق پژوهشگران نقش مهارکنندگی در تشکیل نیتريت نشان دادند که این عمل را به شکل رقابت با اکسیژن نشان داده و منجر به مهار مستقیم نیتريت شدند، به طوری که هر چقدر غلظت ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بیشتر بود قدرت مهارکنندگی نیز بیشتر بود [۴۶]. نیکخواه و همکاران (۱۳۸۷) با بررسی عصاره شاه توت، توت سیاه و توت فرنگی نتایج مشابهی را گزارش دادند [۲۹]. با بررسی تاثیر رژیم آبیاری و تاریخ کشت بر میزان ترکیبات پلی فنول گیاه سفالاریای سوری (جدول ۲) مشخص شد که در رژیم بدون آبیاری و فصل پاییز، به ترتیب گالیک اسید، کلروژنیک اسید، کوماریک اسید و کورستین، بالاترین مقادیر ترکیبات فنولی را دارا بودند که احتمال می‌رود دلیل افزایش مهارکنندگی اکسید نیتریک و سوپراکسید در رژیم بدون آبیاری و کشت پاییزی، بالا بودن ترکیبات مذکور را توجیه می‌کند.

ساختارهای بیولوژیکی-اند. یک راه مؤثر برای حذف رادیکال-های آزاد استفاده از ترکیبات ضد-اکسیدانی است که به-عنوان مهارکننده-های رادیکال-های آزاد عمل می-کنند. بنابراین لازم است توجه ویژه-ای به استفاده از ضداکسیدان-ها برای حفظ سلول-ها از آسیب-های بیولوژیک رادیکال-های آزاد به-خصوص تحت شرایط تنش خشکی صورت گیرد [۴۲]. نیتریک اکسید یکی از رادیکال-های آزاد بوده که می-تواند در ایجاد بیماری-های التهابی نقش داشته باشد؛ بدین گونه که با رادیکال سوپراکسید واکنش داده و ترکیبی به نام پروکسی نیتريت (یک اکسیدان قوی) تولید کند که منجر به آسیب-های اکسیداتیو مختلف شود [۴۳]. نتایج مربوط به قدرت مهار کنندگی رادیکال نیتریک اکسید و سوپر اکسید در شکل ۳ ارائه شده است. در بررسی میانگین تیمارها مشاهده شد که در میان رژیم-های آبیاری به-ترتیب تیمار بدون آبیاری (۲۳/۶۵ درصد)، آبیاری تکمیلی (۱۲/۲۳ درصد) و آبیاری کامل (۶/۰۷ درصد) و در میان تیمارهای تاریخ کشت به-ترتیب تیمارهای کشت پاییزه (۱۶/۸۶ درصد)، کشت انتظاری (۱۴/۲۳ درصد) و در کشت بهاره (۱۰/۸۶ درصد) بیشترین ظرفیت مهار-کنندگی رادیکال نیتریک اکسید را داشتند (شکل ۳a). مشابه با دو صفت پیشین ظرفیت مهار-کنندگی رادیکال سوپر اکسید در تیمار بدون آبیاری (۲۷/۲۸ درصد) و کشت پاییزه (۲۲/۹۴ درصد) بالاترین مقدار و در آبیاری کامل (۱۶/۲۱ درصد) و کشت بهاره (۱۹/۰۹ درصد) کمترین مقدار را داشتند. همچنین آبیاری تکمیلی (۱۹/۶۴ درصد) و کشت انتظاری (۲۱/۱ درصد) نیز وضعیتی حدواسط داشتند (شکل ۳b). در مجموع با توجه به نتایج ارائه شده چنین می-توان استنباط کرد



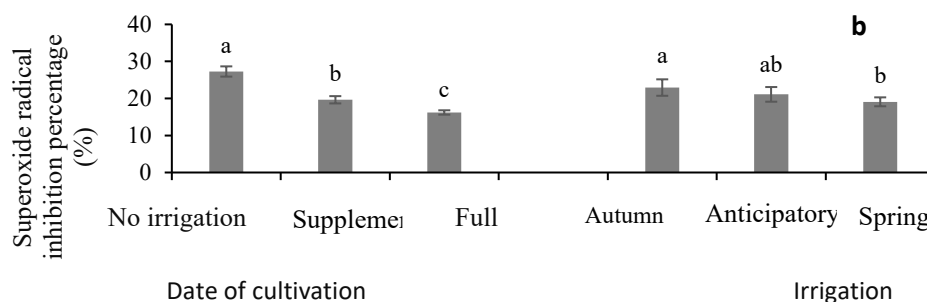


Fig 3. The results of comparisons of the simple effects of irrigation regimes and cultivation date on the scavenging capacity of nitric oxide radical (a) and superoxide radical (b) in *Cephalaria syriaca* L.

پخش پذیری پودره عصاره در محصول، یکنواختی در نوشیدنی، طعم تازه، عطر مناسب، و پذیرش کلی محصول نهایی مورد بررسی قرار گرفت. در مقایسه سه تیمار، مشخص شد نمونه‌ها در همه موارد (بجز رنگ و طعم تازه) با هم اختلاف معنی‌داری باهم داشتند. بر اساس نتایج نهایی مشخص شد در مجموع، تیمار حاوی ۰/۲ میلی گرم پودر عصاره در ۱۰۰ سی سی کفیر، بهترین نتایج را به همراه داشت.

آزمون ارگانولپتیک

بعد از بررسی ویژگی‌های فنولی، ضد اکسیدانی و ضد رادیکالی، و مشخص شدن تیمار بهینه (کشت پاییزی با تنش خشکی یا بدون آبیاری)، مقادیر ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی گرم از تیمار بهینه به ۱۰۰ سی سی کفیر افزوده و بعد از میکس و یخچال‌گذاری، تست ارگانولپتیک توسط گروه پانلیست مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمون ویژگی‌های هدف در محصول نهایی از جمله رنگ،

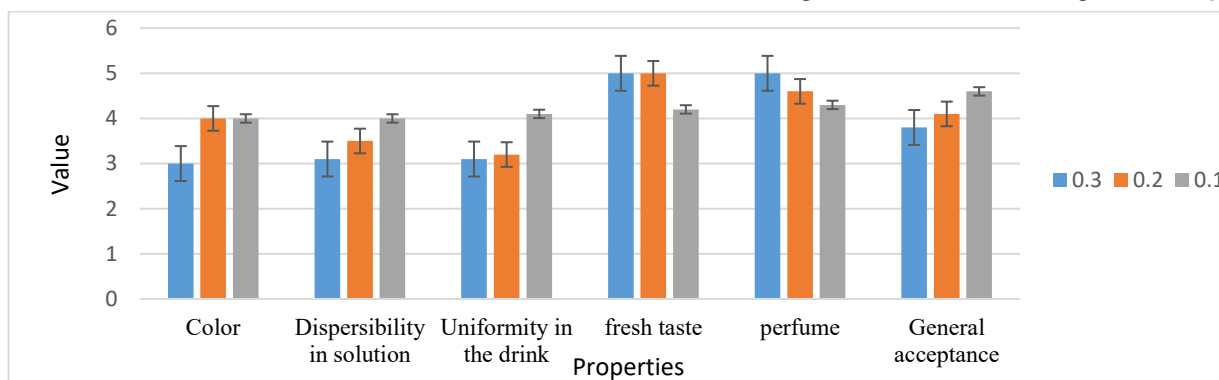


Fig 4. The results of the organoleptic test of kefir enriched with *Cephalaria syriaca* L. plant extract powder

۴- نتیجه گیری

کلروژنیک اسید، کوماریک اسید و کروستین به عنوان ترکیبات اصلی پلی-فنل سفالاریای سوری شناسایی شدند که این ترکیبات با افزایش تنش خشکی بر محتوایشان در گیاه افزوده شد. نتایج ارگانولپتیک کفیر نشان داد که تیمار ۰/۲ میلی گرم پودر عصاره در ۱۰۰ سی سی کفیر بهترین نتایج را نشان داد.

در این پژوهش مشخص شد عصاره مربوط به تیمار بدون آبیاری و کشت پاییزی، نسبت به دو رژیم دیگر آبیاری، افزایش معنی‌داری در میزان فنول کل، فلاونوئید و درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH، درصد مهار رادیکال‌های نیتریک اکسید و سوپر اکسید نشان داد. همچنین مشخص شد گالیک اسید،

۵- منابع

[1]Çakir, A, Mavi, A, Kazaz, C, Yildirim, A. and Kufrevio Glu, O.I. 2006. Antioxidant activities of the extracts and components of *Teucrium orientale* L. var.

orientale. Turkish Journal of Chemistry, 30, 1-12. ISSN: 1300-0527

[2]Squadrito, G.L. and Pryor, W.A. 1998. Oxidative chemistry of NO.: The roles of superoxide, ONOO-,

- and carbon dioxide. *Free Radical Biology & Medicine*, 25, 392-403. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00095-1](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00095-1)
- [3] Alizadeh Behbahani, B. and Shahidi, F. 2019. Melissa officinalis Essential Oil: Chemical Compositions, Antioxidant Potential, Total Phenolic Content and Antimicrobial Activity. *Nutrition and Food Sciences Research*, 6(1), 17- 25. <https://doi.org/10.29252/nfsr.6.1.17>
- [4] Nooshkam, M, Varidi, M, and Verma, D.K. 2020. Functional and biological properties of Maillard conjugates and their potential application in medical and food: A review. *Food Research International*, 131, 109003. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres>
- [5] Jalil Sarghaleh, S, Alizadeh Behbahani, B, Hojjati, M, Vasiee, A, and Noshad, M. 2023. Evaluation of the constituent compounds, antioxidant, anticancer, and antimicrobial potential of Prangos ferulacea plant extract and its effect on Listeria monocytogenes virulence gene expression. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1202228>
- [6] Noshad, M, Behbahani, B. A, Nikfarjam, Z, and Zargari, F. 2023. Antimicrobial activity between Coriandrum sativum seed and Cuminum cyminum essential oils against foodborne pathogens: A multi-ligand molecular docking simulation. *LWT*, 185, 115217. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115217>
- [7] Sureshjani, M.H, Yazdi, F.T, Mortazavi, S.A, Behbahani, B. A, and Shahidi, F. 2014. Antimicrobial effects of Kelussia odoratissima extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro. *Journal of Paramedical Sciences*, 5(2), 115-120. <https://doi.org/10.22037/jps.v5i2.5943>
- [8] Yazdi, F. T, and Behbahani, B. A. 2013. Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic Teucrium polium L. extracts on gram positive and gram negative bacteria "in vitro". *Archives of Advances in Biosciences*, 4(4), 56-62. <https://doi.org/10.22037/jps.v4i4.4925>
- [9] Nooshkam, M, Varidi, M, and Alkobeisi, F. 2022. Bioactive food foams stabilized by licorice extract/whey protein isolate/sodium alginate ternary complexes. *Food Hydrocolloids*, 126, 107488. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd>
- [10] Alizadeh Behbahani, B, Falah, F, Vasiee, A, and Tabatabaee Yazdi, F. 2021. Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a Lepidium perfoliatum seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil. *Food Science & Nutrition*, 9(5), 2458-2467. <https://doi.org/10.1002/fsn.3.2186>
- [11] Alizadeh Behbahani, B, Noshad, M, and Jooyandeh, H. 2020. Improving oxidative and microbial stability of beef using Shahri Balangu seed mucilage loaded with Cumin essential oil as a bioactive edible coating. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 101563. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101563>
- [12] Yazdi, F. T, Tanhaeian, A, Azghandi, M, Vasiee, A, Alizadeh Behbahani, B, Mortazavi, S. A. and Roshanak, S. 2019. Heterologous expression of Thrombocidin-1 in Pichia pastoris: Evaluation of its antibacterial and antioxidant activity. *Microbial Pathogenesis*, 127, 91-96. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.11.047>
- [13] Alizadeh Behbahani, B, and Imani Fooladi, A. A. 2018. Development of a novel edible coating made by Balangu seed mucilage and Feverfew essential oil and investigation of its effect on the shelf life of beef slices during refrigerated storage through intelligent modeling. *Journal of Food Safety*, 38(3), e12443. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfs.12443>
- [14] Katar, D, Arslan, Y, Subasi, I, and Kodas, R. 2012. The effect of different sowing dates on yield and yield components of Cephalaria (Cephalaria syriaca) under Ankara/Turkey ecological condition. *Biological Diversity and Conservation*, 5(3), 48-53. ISSN 1308-8084
- [15] Ali, K.A, Sakri, F.Q. and Li, Q.X. 2012. Isolation and purification of allelochemicals from Cephalaria syriaca plant. *International Journal of Biosciences*, 2, 90-103.
- [16] Başar, Ş, Karaoğlu, M.M, and Boz, H. 2016. The Effects of Cephalaria Syriaca Flour on the Quality of Sunn Pest (Eurygaster Integriceps). *Damaged Wheat. Journal of Food Quality*, 39(1),13-24. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103215>
- [17] Ozar, A, Rahimi, A, Chiyaneh, E.R. and Rezaeieh, K.A.P. 2016. Medicinal Plants of Sulduz Region, West Azerbaijan Province, Iran and their Characteristics. *Der Pharmacia Lettre*, 8(8), 36-44.
- [18] Atalan, E, Bulbul, A.S. and Ceylan, Y. 2020. Cephalaria syriaca (L.): Investigation Of Antimicrobial, Antibiofilm, Antioxidant Potential And Seed Morphology. *Freeseenius Enviromental Bulletin*, 29(7), 3641-3649.
- [19] Sultana, N, Tek, A.L. and Serçe, S. 2017. Karyotype analysis of Cephalaria syriaca cv. Karahan, a new cultivar developed from a wild population. In *International Symposium on Medicinal Aromatic and Dye plants*. 403-410.
- [20] Babaei, K, Amini Dehaghi, M, Modares Secondari, M. and Jabari, R. 1389. The effect of drought stress on morphological traits, proline content and thymol percentage in thyme (Thymus vulgaris) and Iranian medicinal and aromatic plants research, 26(2): 251-239. [In Persian]
- [21] Soleimanifard, M, Sadeghi Mahoonak, A, Sepahvand, A, Heydari, R. and Farhadi, S. 2019. Spanish olive leaf extract-loaded nanostructured lipid carriers: production and physicochemical characterization by Zetasizer, FT-IR, DTA/TGA, FE-

- SEM and XRD. Journal of Food Processing and Preservation. 43 (7), e13994.
- [22] Chang, C.C, Yang, M.H, Wen, H.M. and Chern, J.C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food Drug Analysis, 10, 123-7.
- [23] Meda, A, Lamien, C.E, Romito, M, Millogo, J. and Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chemistry, 91, 571-577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>
- [24] Azizian Shermeh, O, Taherizadeh, M, Valizadeh, M. and Qasemi A. 2018. Robial and antioxidant activities and determining phenolic and flavonoid contents of the extracts of five species from different families of the medicinal plants grown in Sistan and Baluchestan Province. JFUMS, 7(4), 465-79. [In Persian]
- [25] Soleimanifard, M., Alami, M., Heydari, R. A., Sadeghi Mahoonak, A. R., Najafiy, G. 2018. Extraction of kefir and its effect on Farinography properties of wheat dough and quality of France bread. JFST, 14 (72), 301-312. [In Persian]. <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-9412-fa.html>
- [26] Nacz, M., and Shahidi, F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 41: 1523-1542.
- [27] Ramazanpoor, Z., Mir Mahmoodi, T., Yazdan Seta, S. 2021. Study the effect of different irrigation regimes and biofertilizers on morphological characteristics, essential oil and phenol and flavonoids contains in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) Environmental Stresses in Crop Sciences, 16, 531-545. [In Persian]. <http://dx.doi.org/10.22077/escs.2023.4814.2072>
- [28] Karimi, T. 2022. Evaluate the effect of sowing date and fertilizer on moisture content and flavonoid content of seed Lallelantia (*Lallelantia royleana* Benth.) during grain filling. Journal of Seed Research, 12 (3), 1-16. [In Persian]. ISSN: 2252-0961.
- [25] Nikkhah, A, Khayami, M. and Heydari, R. 2017. Investigating the inhibitory activity of nitric oxide radicals by anthocyanin extracts of blackberry, strawberry and blackberry fruits. Scientific-Research Quarterly Journal of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. 25, 1, 120-128. [In Persian]
- [26] Rahimi, A, Siavash Moghaddam, S, Ghiyasi, M, Heydarzadeh, S, Ghazizadeh, K. and Popović-Djordjević, J. 2019. The Influence of chemical, organic and biological fertilizers on agrobiological and antioxidant properties of Syrian cephalaria (*Cephalaria Syriaca* L.). Agriculture, 9(6), 122. <https://doi.org/10.3390/agriculture9060122>
- [27] Hatano, T, Yasuhara, T, Yoshihara, R, Agata, I, Noro, T. and Okuda, T. 1990. Effects of interaction of tannins with co-existing substances. VII.: inhibitory effects of tannins and related polyphenols on xanthine oxidase. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 38(5), 1224-1229. <https://doi.org/10.1248/cpb.38.1224>.
- [28] Razali, N, Razab, R, Junit, S. M. and Aziz, A. A. 2008. Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale*). Food chemistry, 111(1), 38-44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.024>
- [29] Sun, F, Hayami, S, Ogiri, Y, Haruna, S, Tanaka, K, Yamada, Y. and Kojo, S. 2000. Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 1500(2), 181-185. [https://doi.org/10.1016/S0925-4439\(99\)00100-3](https://doi.org/10.1016/S0925-4439(99)00100-3)
- [30] Chrzęszcz, M, Krzemińska, B, Celiński, R, and Szweczyk, K. 2021. Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Plants Belonging to the *Cephalaria* (Caprifoliaceae) Genus. Plants, 10(5), 952. <https://doi.org/10.3390/plants10050952>
- [31] Wang, S. Y, and Lin, H.S. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. Journal of agricultural and food chemistry, 48(2), 140-146. <https://doi.org/10.1021/jf9908345>.
- [32] Kavak, C, and Baştürk, A. 2020. Antioxidant activity, volatile compounds and fatty acid compositions of *Cephalaria syriaca* seeds obtained from different regions in Turkey. Grasas y Aceites, 71(4), 379. <https://doi.org/10.3989/gya.0913192>
- [33] Caliskan, O, Radusiene, J, Temizel, K. E, Staunis, Z, Cirak, C, Kurt, D., & Odabas, M. S. 2017. The effects of salt and drought stress on phenolic accumulation in greenhouse-grown *Hypericum pruinatum*. Italian Journal of Agronomy, 12(3). <https://doi.org/10.4081/ija.2017.918>
- [34] Bettaieb, I, Hamrouni-Sellami, I, Bourgou, S, Limam, F, and Marzouk, B. 2011. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. Acta Physiologiae Plantarum, 33(4), 1103-1111. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0638-z>
- [35] Rebey, I.B, Zakhama, N, Karoui, I.J, and Marzouk, B. 2012. Polyphenol composition and antioxidant activity of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed extract under drought. Journal of food science, 77(6), C734-C739. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02731.x>.
- [36] Bartsch, H. and Montesano, R., 1984. Relevance of nitrosamines to human cancer. Carcinogenesis, 5, 1381-1393. <https://doi.org/10.1136/oem.57.3.180>
- [37] Zhonggao, C, Felgines, O, Texier, C, Besson, D.J, Liu, J. and Wang, S. 2005. Antioxidant activities

of total pigment extract from blackberries. Food Technology and Biotechnology, 43(1), 97-102. ISSN 1330-9862

[38] Nickavar, B, Alinaghi, A. and Kamalinejad, M. 2008. Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha* species. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 7(3), 203-209. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2010.766>

[39] Tsuda, T, Kato, Y. and Osawa, T. 2000. Mechanism for the peroxynitrite scavenging activity by anthocyanins. Federation of European Biochemical Societies Letters, 484, 207-210. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(00\)02150-5](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(00)02150-5).

[40] Pergola, C, Rossi, A, Dugo, P, Cuzzocrea, S. and Sautebin, L. 2006. Inhibition of nitric oxide

biosynthesis by anthocyanin fraction of blackberry extract. Nitric Oxide, 15(1), c30-39. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2005.10.003>.

[41] Yu, L, Zhao, M, Wang, J.S, Cui, C.h, Yang, B, Jiang, Y. and Zhao, Q. 2007. Antioxidant, immunomodulatory and anti-breast cancer activities of phenolic extract from pine (*Pinus massoniana* Lamb.) bark. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9, 122-125. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2007.06.006>

[42] Marcocci, L, Packer, L, Droy-Lefai, MT, Sekaki, A. and Gardes-Albert, M. 1994. Antioxidant action of Ginkgo biloba extracts EGb 761. Methods of Enzymology, 234, 462-475. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(94\)34117-6](https://doi.org/10.1016/0076-6879(94)34117-6).



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

The effect of *Cephalaria syriaca* L. seed extract, produced in different planting dates and irrigation conditions, on the quality of kefir drink

Afshin Charehkhah¹, Amir Rahimi^{*2}, Sina Siavash Moghaddam³, Mansooreh Soleimanifard⁴, Mahdi Ghiyasi², Jelena Popović-Djordjević⁵

1-M.Sc. Student, Department of Plant Production and Genetics, Plant Genetics Section, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

*2. Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

3-Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

4-Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Ardakan University, Ardakan, Iran

5-Professor, Department of Food Technology and Biochemistry, Faculty of Agriculture, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received:2024/10/2

Accepted:2025/6/17

Keywords:

Sourdough,

Lactobacillus plantarum,

bread,

oat flour

DOI: 10.22034/FSCT.22.166.42.

*Corresponding Author E-

emir10357@gmail.com,

e.rahimi@urmia.ac.ir

Cephalaria syriaca L. is an annual medicinal plant with limited prior research. This study investigated the total phenolic and flavonoid content, antioxidant activity, and antiradical properties of *Cephalaria syriaca* L. under different ecological conditions in Urmia, Iran, including spring, delayed, and autumn planting dates, as well as full irrigation, supplementary irrigation, and dryland regimes. The extraction process involved mixing 1 g of seed powder with 10 mL of ethanol-water solvent (70:30), followed by shaking at 1000 rpm for 3 hours and sonication at 40°C for 15 minutes. Total phenolics and flavonoids were quantified using high-performance liquid chromatography (HPLC), while antioxidant and antiradical activities were measured via spectrophotometry. Data were analyzed using SAS software and ANOVA. Results revealed that extracts from non-irrigated, autumn-cultivated plants exhibited significantly higher total phenolics (125.31 mg QUE/g), flavonoids (12.20 mg QUE/g), DPPH radical inhibition (37.15%), nitric oxide radical scavenging (35.56%), and superoxide radical inhibition (27.29%). HPLC analysis identified gallic acid, chlorogenic acid, coumaric acid, and quercetin as the primary polyphenols, with concentrations increasing under drought stress. Notably, gallic acid showed the highest content (1222.11 mg QUE/g), while cinnamic acid had the lowest (0.86 mg QUE/g). Organoleptic evaluation of kefir enriched with **C. syriaca** extract demonstrated that the addition of 0.2 mg/mL of extract yielded the best results. These findings underscore the potential of **C. syriaca** as a functional ingredient in pharmaceutical and food products, leveraging its bioactive properties for health benefits.