تاثیر نوع حلال و شرایط استخراج بر عملکرد استخراج، محتوای ترکیبات فنولی کل و فعالیت ضد اکسایشی عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال از اندام هوایی گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis L.*)

نازنین زهرا بشارتی[۱]، ماندانا بی مکر[۲*]، علی گنجلو[۲]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد فناوری مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۲- دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۰۳ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۸/۱۹)

چکیده

در مطالعه حاضر عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال از اندام هوایی گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis L.*) به روش خیساندن با استفاده از حلال‌های آب، اتانول، استون، مخلوط اتانول/آب و استون/آب استخراج گردید. در میان حلال‌های مورد مطالعه عصاره اتانولی حاوی بالاترین ترکیبات فنولی کل بود. تاثیر نسبت حلال به ماده اولیه (۱:۴۰-۱:۱۰ میلی‌لیتر بر گرم) و اندازه ذرات (۲/۳۶-۰/۵ میلی‌متر) بر عملکرد کمی و کیفی استخراج عصاره اتانولی در دمای محیط (۲۵ درجه سلسیوس) نیز مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده با استفاده از نسبت ۱:۳۰ میلی‌لیتر بر گرم ماده اولیه و اندازه ذراتی معادل ۱ میلی‌متر در دمای محیط می‌توان به بالاترین عملکرد کمی استخراج عصاره خام و ترکیبات فنولی کل به ترتیب معادل ۰/۱۷±۳/۵ درصد و ۱/۰۸±۳۶/۹۴ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم نمونه دست یافت. فعالیت ضد اکسایشی عصاره به دست آمده تحت شرایط فوق در غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به ترتیب معادل ۲/۶۸±۶۲/۹۵ درصد مهار رادیکال‌های آزاد ۱،۱- دی فنیل-۲-پیکریل- هیدرازیل (DPPH) و ۱/۲۰±۱۵۳/۱۸ میکرومول یون آهن در لیتر برای قدرت احیاء کنندگی آهن (FRAP)بود. ضریب همبستگی بالا (R^2>۰/۹۵۹۴) بین میزان ترکیبات فنولی کل و فعالیت ضد اکسایشی حاکی از نقش کلیدی ترکیبات فنولی در بروز فعالیت ضد اکسایشی می‌باشد. در نهایت عصاره اتانولی به‌دست آمده از اندام هوایی همیشه بهار تحت شرایط مذکور را می‌توان به عنوان یک منبع طبیعی از ترکیبات ضد اکسایش فنولی جهت استفاده در صنایع غذایی، دارویی به عنوان نگهدارنده طبیعی معرفی نمود.

کلید واژگان: فعالیت ضد اکسایشی، اندام هوایی همیشه بهار، ترکیبات فنولی کل، استخراج با حلال.

*مسئول مکاتبات: mandana.bimakr@znu.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

۱- مقدمه

ترکیبات ضد اکسایش از جمله ترکیبات سلامت بخشی هستند که به طور موثر از واکنش‌های تولید رادیکال‌های آزاد که سبب آسیب و یا مرگ سلولی، بروز بیماری‌های قلبی- عروقی و انواع سرطان می‌شود جلوگیری می‌کنند. از طرفی نقش و اثرات سودمند ترکیبات ضد اکسایش در جلوگیری یا به تاخیر انداختن زوال مواد غذایی در اثر فساد اکسایشی از طریق اهداء هیدروژن و جذب رادیکال‌های آزاد و در نتیجه ممانعت از پیشرفت فرایند اکسایش نیز به اثبات رسیده است [۱, ۲]. امروزه با توجه به اثبات سمیت و خطراتی که ترکیبات ضد اکسایش مصنوعی نظیر بوتیلید هیدروکسی آنیزول[1]، بوتیلید هیدروکسی تولوئن[2] برای سلامتی انسان ایجاد می‌کنند و توجه بسیاری از مصرف کنندگان به مصرف ترکیبات طبیعی در رژیم غذایی، هدف بسیاری از تحقیقات به جداسازی ترکیبات ضد اکسایش ایمن از منابع طبیعی و ارزان قیمت به‌منظور جایگزینی ترکیبات ضد اکسایش مصنوعی معطوف شده است [۳].

گیاهان دارویی منابع ارزشمندی هستند که امروزه به وفور به تنهایی یا در ترکیب با سایر مواد اولیه دارویی برای تولید داروهای کم خطر برای انسان در بسیاری از کشورها خصوصا کشورهای پیشرفته مورد استفاده قرار می‌گیرند. گیاه همیشه بهار[3] (*Calendulaofficinalis* L.) گیاهی علفی از خانواده کاسنیان (Asteraceae) و بومی اروپا، آمریکای شمالی و نواحی مدیترانه است. همیشه بهار دارای ساقه ای به طول ۲۰ تا ۵۰ سانتی‌متر و برگ‌های بیضوی و پوشیده از کرک با کناره‌های موج‌دار است که به‌راحتی در شرایط مساعد رشد می‌کند [٤]. استفاده از گل همیشه بهار برای درمان بسیاری از بیماری‌ها به قرن دوازدهم بر می‌گردد[۵, ٦]. تاکنون خواص ضد اکسایشی [۷]، ضد التهابی [٦، ۸]، ضد توموری [۹] و ضد میکروبی [۱۰،۱۱] عصاره گل گیاه همیشه بهار گزارش شده است. بر اساس یافته‌های محققان وجود متابولیت‌های ثانویه نظیر استرول‌ها، کارتنوئیدها، پلی‌فنول‌ها، تانن‌ها و ساپونین‌ها در بروز خصوصیات مذکور نقش کلیدی دارند [۱۲]. در میان این ترکیبات، پلی فنول‌ها به دلیل ایفای نقش موثر در بروز خصوصیات فیزیولوژیکی نظیر فعالیت‌های ضد آلرژی، ضد التهابی، ضد میکروبی و ضد اکسایشی اهمیت بسیاری یافته اند [۱۳]. به علاوه، ترکیبات پلی فنولی به‌طور گسترده در بخش‌های مختلف گیاهان به عنوان متابولیت‌های ثانویه یافت می‌شوند. لذا جداسازی کارآمد آنها از بخش‌های مختلف ماتریکس گیاهی از اهمیت به سزایی برخوردار است. فاکتورهای مختلفی نظیر ماهیت حلال، نسبت حلال به ماده اولیه، درجه حرارت، زمان استخراج و اندازه ذرات بر خصوصیات کمی و کیفی عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال موثر می‌باشند [١٤]. نتایج بسیاری از مطالعات حاکی از آن است که ماهیت حلال (قطبی، نیمه قطبی و غیر قطبی) نقش کلیدی در بازیافت حداکثری ترکیبات زیست فعال و ترکیب نهایی عصاره حاصل از منابع گیاهی دارد. در این راستا در پژوهشی حلال اتانول با غلظت ٤٨/٨ درصد برای به حداکثر رساندن عملکرد کمی استخراج و فعالیت ضد اکسایشی عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال جنسینگ قرمز کره‌ای معرفی شد [۱۵]. بابار و همکاران (۲۰۱٤) دریافتند که با استفاده از حلال متانول می‌توان به بالاترین میزان استخراج ترکیبات فنولی کل از غلاف نخود فرنگی، پوست سیب زمینی و گوجه فرنگی و ضایعات گل کلم [۱] و لیمو [١٦] دست یافت.در حالی که با استفاده از حلال حاوی آب و اتانول می‌توان به بالاترین میزان استخراج پلی فنول‌ها از گیاه مریم گلی دست یافت [۱۷]. لذا با انتخاب صحیح فاکتورهای موثر بر فرایند استخراج می‌توان از لحاظ کمی و کیفی به استخراج کارامد دست یافت. بر اساس بررسی منابع انجام شده با توجه به اطلاعات در دسترس تا کنون مطالعه‌ای در زمینه استخراج ترکیبات فنولی از اندام هوایی گیاه همیشه بهار صورت نگرفته است. بدین منظور هدف از انجام این پژوهش در مرحله اول بررسی کارآیی پنج حلال با قطبیت‌های مختلف شامل آب مقطر، استون، اتانول، اتانول:آب و استون:آب و در مرحله دوم بررسی تاثیر اندازه ذرات ماده اولیه و نسبت ماده اولیه به حلال بر عملکرد کمی استخراج ومیزان ترکیبات فنولی کل عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال از اندام هوایی گیاه همیشه بهار به عنوان یک منبع بالقوه ارزان قیمت از ترکیبات ضد اکسایش طبیعی بود. در نهایت فعالیت ضد اکسایشی به دو روش مهار رادیکال‌های آزاد ۱،۱- دی فنیل-۲- پیکریل- هیدرازیل[4] و قدرت احیاء کنندگی آهن[5] و همچنین همبستگی بین میزان ترکیبات فنولی

1. Butylatedhydroxyanisole(BHA)
2. ButylatedHydroxytoluene (BHT)
3. Marigold

4. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)
5. Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

کل و فعالیت ضد اکسایشی عصاره گیاه دارویی همیشه بهار به دست آمده تحت بهترین شرایط عملیاتی ارزیابی گردید.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه و شیمیایی

گیاه همیشه بهار در تابستان سال ۱۳۹۶ از زمین‌های دانشگاه زنجان با موقعیت جغرافیایی 36°41'27.7"N 48°24'07.0"E جمع آوری و توسط متخصص گیاه شناسی دانشگاه زنجان شناسایی شد. کلیه مواد شیمیایی و معرف‌ها با درجه خلوص آزمایشگاهی از شرکت مرک (Merck,Darmstadt, Germany) خریداری شدند.

۲-۲- آماده‌سازی نمونه و استخراج به روش خیساندن

به منظور آماده‌سازی نمونه‌ها جهت استخراج ترکیبات زیست فعال ابتدا اندام هوایی از سایر بخش‌ها جدا گردید و پس از شستشو توسط آب مقطر، در سایه و دمای محیط (۲۵ درجه سلسیوس) تا رسیدن به رطوبت نهایی ۰/۱±۹ درصد خشک شدند. میزان رطوبت اندام هوایی گیاه همیشه بهار با روش خشک کردن در آون با دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس تا رسیدن به وزن ثابت و از طریق رابطه $y\ (\%) = m_1-m_2/m_1 \times 100$ اندازه‌گیری شد [۱۸]. در این رابطه m_1 و m_2 به ترتیب نشان‌دهنده جرم اولیه نمونه و جرم نمونه پس از خشک کردن در آون می‌باشد. نمونه‌های خشک شده با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی پودر و از الک‌های آزمایشگاهی با مش‌های معادل ۸-۳۵ به منظور استحصال ماده اولیه با اندازه ذرات یکسان عبور داده شد. پودرهای خشک اندام هوایی همیشه بهار تا قبل از انجام عصاره گیری (روز بعد) در کیسه‌های پلی اتیلنی بسته بندی شده و در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

به‌منظور بررسی اثر حلالبر عملکرد کمی استخراج عصاره خام و میزان ترکیبات فنولی کل، ۳ گرم پودر خشک اندام هوایی همیشه بهار گذرانده شده از الک با مش ۸ (اندازه ذرات ۲/۳٦ میلی‌متر) با آب مقطر، استون، اتانول، اتانول:آب (۷۰:۳۰) و استون:آب (۷۰:۳۰) با رعایت نسبت ۱ گرم ماده اولیه به ٤۰ میلی‌لیتر حلال مخلوط شد و به مدت ۲٤ ساعت در ظروف تیره درب‌دار و در دمای محیط قرار داده شد. سپس مخلوط با استفاده از قیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و محلول به‌دست آمده در ٤۰۰۰ rpm به مدت۱۰ دقیقه و در دمای محیط سانتریفوژ (HeraeusBiofugeStratos, D-37520, Germany) گردید. مایع رویی جمع آوری و حلال اضافی با استفاده از دستگاه تبخیر کننده چرخان[1] (Specord 250, Analytik Jena, Germany) تحت خلاء جدا گردید. در نهایت عصاره فنولی اندام هوایی همیشه بهار به روش انجمادی کاملا خشک گردید و تا زمان آزمایشات بعدی در دمای ۱۸- درجه سلسیوس در ظروف شیشه ای تیره نگهداری شد [۱۹]. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. به منظور بررسی تاثیر شرایط استخراج بر عملکرد کمی استخراج عصاره خام و میزان ترکیبات فنولی کل، ۳ گرم پودر خشک اندام هوایی همیشه بهار با اندازه ذراتی در محدوده ۲/۳٦-۰/۵ میلی‌متر (مش معادل ۸-۳۵) با نسبت‌های حلال به ماده اولیه در محدوده ۱:٤۰-۱:۱۰میلی‌لیتر بر گرم با بهترین حلال به دست آمده از مرحله قبل مخلوط شد. فرایند استخراج و آماده‌سازی عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال به روش اشاره شده در بالا انجام شد.

۲-۳- اندازه‌گیری عملکرد کمی استخراج عصاره

میزان عملکرد کمی استخراج عصاره از طریق رابطه ۱ محاسبه گردید[۲۰].

$$Y = (m/M) \times 100 \qquad \text{رابطه ۱:}$$

در این رابط، Y معادل عملکرد کمی استخراج عصاره، m معادل وزن عصاره خشک شده بر حسب گرم و M معادل وزن نمونه اولیه بر حسب گرم است.

۲-٤- اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی کل

میزان ترکیبات فنولی کل به روش رنگ‌سنجی با استفاده از شناساگر فولین-سیکالتی و مورد بررسی قرار گرفت [۲۱].۰/۵ میلی‌لیترازعصاره با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد و پس از انتقال به لوله آزمایش با ۲/۵ میلی‌لیتر شناساگر فولین-سیکالتیو (قبلا با نسبت ۱ به ۱۰ با آب دیونیزه شده رقیق شده است) به خوبی مخلوط گردید. محلول به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق و مکان تاریک قرار گرفت. سپس۲/۵ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد (وزنی- حجمی) به آن

1. Rotary evaporator

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

اضافه و به آرامی بهمزده شد. پس از نگهداری محلول نهایی به مدت۳۰ دقیقه در دمای اتاق و مکان تاریک میزان جذب محلول در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف سنج نوری- ماوراء بنفش قرائت گردید. میزان ترکیبات فنولی کل بر اساس معادله به دست آمده از منحنی استاندارد اسید گالیک ($Y= 0.010\ X+0.1892;\ R^2=0.999$) برحسب میلی‌گرم معادل اسید گالیک برگرم وزن عصاره بیان شد.

۲-۵- ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی عصاره فنولی اندام هوایی همیشه بهار

۲-۵-۱- ارزیابی فعالیت ضدرادیکالی به روش مهار رادیکال‌های آزاد ۱،۱- دی فنیل-۲- پیکریل- هیدرازیل (DPPH)

برای بررسی اثر ضد رادیکالی عصاره اندام هوایی همیشه بهار از روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH استفاده شد. اساس این روش به دام اندازی رادیکال‌های آزاد DPPH برمبنای توانایی هیدروژن دهی ترکیبات ضداکساینده و در نتیجه بی‌رنگ شدن رنگ ارغوانی محلول حاوی رادیکال‌های آزاد DPPH است. جهت انجام این آزمایش ۲ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH به ۲ میلی‌لیتر از عصاره با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر افزوده و مخلوط حاصل به خوبی تکان داده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرار گرفت. سپس جذب مخلوط توسط دستگاه طیف‌سنج نوری- ماوراءبنفش در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد [۲۲]. از ویتامین ث با غلظت مشابه (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به عنوان کنترل مثبت برای مقایسه استفاده شد.

در نهایت درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد.

رابطه۲: $Y_{(\%)} = (A_c - A_s / A_c) \times 100$

در این رابطه، Y معادل میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بر حسب درصد، A_s میزان جذب نمونه (حاوی نمونه و رادیکال DPPH) و A_c میزان جذب محلولDPPH خالص است.

۲-۵-۲- اندازه‌گیری میزان فعالیت ضداکسایشی به روش قدرت احیاء کنندگی آهن (FRAP)

به‌منظور اندازه‌گیری توانایی عصاره فنولی اندام هوایی همیشه بهار برای احیاء نمودن آهن ۱۵۰ میکرولیتر عصاره با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۲۸۵۰ میکرولیتر محلول FRAP مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار گرفت. محلول FRAP با مخلوط کردن ۲۵ میلی‌لیتر محلول ۳۰۰ میلی مولار بافر استات با pH معادل ۳/۶ با ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۱۰ میلی‌مولار TPTZ و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۲۰ میلی مولار $FeCl_3.6H_2O$ به دست می آید. میزان جذب مخلوط نهایی در طول موج ۵۹۳ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری- ماوراءبنفش قرائت شد. قدرت احیاء کنندگی آهن بر اساس معادله به دست آمده از منحنی استاندارد ($Y= 0.0005x +0.9784;\ R2= 0.997$) $FeSO_4.7H_2O$ بر حسب میکرومول Fe^{2+} بر لیتر محاسبه گردید. [۲۳]. از ویتامین ث با غلظت مشابه (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به عنوان کنترل مثبت برای مقایسه استفاده شد.

۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایشات به صورت فاکتوریل کامل در قالب طرح کاملا تصادفی با دو فاکتور (نسبت ماده اولیه به حلال و اندازه ذرات ماده اولیه) انجام شد. تجزیه و تحلیل واریانس به روش مدل خطی تعمیم یافته[1] و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی[2] در سطح اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از نرم افزار V.16 (Minitab Inc.State College, PA, USA) Minitab انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ استفاده شد. تمام آزمایشات با حداقل سه تکرار صورت پذیرفت و داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار گزارش گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تاثیر نوع حلال بر عملکرد کمی استخراج عصاره خام و میزان ترکیبات فنولی کل

عصاره خام استخراج شده از منابع گیاهی معمولا شامل تمام ترکیبات محلول قابل استخراج نظیر پروتئین‌ها، پکتین، قندها، مواد معدنی، ویتامین‌ها و ترکیبات شیمیایی گیاهی است.

1. Generalized linear model
2. Tukey's test

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

کارایی استخراج تحت تاثیر عواملی نظیر ماهیت شیمیایی ترکیبات گیاهی، روش استخراج مورد استفاده، اندازه ذرات ماده اولیه و نوع حلال قرار دارد [۲۴]. همان‌طور که در جدول ۱ ملاحظه می‌شود میزان عملکرد کمی استخراج عصاره خام در صورت استفاده از حلال آب به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) بیشتر از سایر حلال‌ها بود (۰/۲۲±۵/۰۴ درصد) که این امر را می‌توان به استخراج ترکیباتی غیر از ترکیبات فنولی نظیر کربوهیدرات‌ها و غیره نسبت داد. کمترین میزان عملکرد کمی استخراج عصاره خام با استفاده از حلال استون خالص به دست آمد(۰/۰۸±۱/۷۶ درصد). از طرفی ترکیب آب با حلال‌های آلی می‌تواند استخراج ترکیبات محلول در آب و حلال آلی را به‌طور هم‌زمان تسهیل نماید. لذا همان‌طور که ملاحظه می‌شود با ترکیب هر یک از حلال‌های استون و اتانول خالص با آب مقطر میزان بازده استخراج عصاره خام نیز افزایش یافت که نشان‌دهنده نقش کلیدی ترکیب شیمیایی حلال بر میزان عملکرد کمی استخراج ترکیبات زیست فعال می‌باشد. نتایج به دست آمده با نتایج مطالعات محققانی از جمله ساچیندرا و همکاران (۲۰۱۰) [۲۵]، بابار و همکاران (۲۰۱۴)[1]، کمالی و همکاران (۲۰۱۵) [۲۶]، پاپوتسیس و همکاران (۲۰۱۶) [۱۶] مطابقت داشت. در این راستا طی مطالعه‌ای یونگ و همکاران (۲۰۱۴) دریافتند که حلال استون کمترین و حلال‌های آب و اتانول بیشترین توانایی را در استخراج کمی عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال از برگ نوعی گیاه به نام *Gonostegiahirta* دارند [۲۷]. هاسمیدا و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی تاثیر حلال‌های مختلف بر عملکرد کمی استخراج ترکیبات زیست فعال از نوعی بلوط دریافتند که با استفاده از آب مقطر و استون خالص به عنوان حلال می‌توان به بالاترین عملکرد کمی دست یافت [۲۸]. این در حالی است که حلال متانول خالص، متانول ۶۰ درصد به ترتیب برای شبدر قرمز، نوعی کلم برگ به عنوان بهترین حلال برای استخراج حداکثر عصاره خام حاوی ترکیبات زیست فعال معرفی شده است [۲۹]. دو و همکاران (۲۰۱۳) نیز با استفاده از حلال استون ۵۰ درصد توانستند به بالاترین عملکرد کمی استخراج از نوعی گیاه دارویی با نام علمی *Limnophilaaromatica* دست یابند [۳۰]. از نتایج مطالعات محققان مختلف می‌توان چنین استنباط نمود که با استفاده از یک حلال یا سامانه چند جزئی شامل حلال‌های مختلف برای تمامی منابع حاوی ترکیبات زیست فعال نمی‌توان به نتایج یکسانی دست یافت. در ادامه با توجه به اینکه ماهیت ترکیبات فنولی از قطبی تا غیر قطبی متغیر است انتخاب حلال مناسب برای استخراج کارآمد ترکیبات فنولی نیز ضروری است [۳۱]. مقادیر ترکیبات فنولی کل استخراج شده از اندام هوایی گیاه دارویی همیشه بهار با استفاده از حلال‌های مختلف در محدوده ۳۱/۱۲-۲۱ میلی‌گرم معادل گالیگ اسید در گرم نمونه قرار داشت. بر اساس نتایج به دست آمده با استفاده از حلال اتانول میزان ترکیبات فنولی استخراج شده از اندام هوایی همیشه بهار به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) در مقایسه با سایر حلال‌ها بالاتر بود (۰/۱۶±۳۱/۱۲ میلی‌گرم معادل گالیگ اسید). عصاره آبی حاوی کمترین میزان ترکیبات فنولی بود (۰/۴۲±۲۱/۰۰ میلی‌گرم معادل گالیگ اسید). دلیل این امر را می‌توان به میزان قطبیت ترکیبات فنولی موجود در اندام هوایی همیشه بهار و حلالیت بیشتر آنها در اتانول نسبت به سایر حلال‌ها نسبت داد. با افزودن آب به حلال‌های اتانول و استون میزان ترکیبات فنولی استخراج شده از اندام هوایی همیشه بهار کاهش یافت که این امر را می‌توان با خروج بیشتر ترکیبات غیرفنولی مرتبط دانست. نتایج به دست آمده با نتایج پاپوتسیس و همکاران (۲۰۱۶) [۱۶]، اباد-گارسیا و همکاران (۲۰۰۷) [۳۲] و دو و همکاران (۲۰۱۴) [۳۰] مطابقت داشت. نتایج به دست آمده نقش کلیدی حلال اتانول را برای استخراج ترکیبات فنولی از اندام هوایی گیاه دارویی همیشه بهار تایید می‌نماید.

Table 1 Effect of different solvents on crude extraction yield and total phenolic content from aerial parts of marigold.

Solvent type	Crude extraction yield (%)	Total phenolic content (mg GAE/g)
water	5.04^{A}±0.22	21.00^{D}±0.42
Ethanol	3.00^{C}±0.15	31.12^{A}±0.16
Acetone	1.76^{E}±0.08	29.27^{B}±0.09
Ethanol: Water (70:30 *v/v*)	3.82^{B}±0.10	27.49^{C}±0.29
Acetone: Water (70:30 *v/v*)	2.41^{D}±0.04	27.00^{C}±0.13

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

۳-۲- بررسی تاثیر شرایط استخراج بر میزان عملکرد کمی استخراج عصاره خام و ترکیبات فنولی کل

تاثیر نسبت حلال به ماده اولیه بر میزان عملکرد کمی استخراج عصاره خام و ترکیبات فنولی کل به دست آمده از گیاه همیشه بهار در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود با افزایش نسبت حلال به ماده اولیه از ۱۰ تا ۳۰ میلی‌لیتر بر گرم میزان عملکرد کمی استخراج عصاره خام و ترکیبات فنولی کل به ترتیب از ۱/۳٤ تا ۲/٤٤ درصد و از ۲۸/۸۸ تا ۳۲/۹۵ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم نمونه به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۵) افزایش یافت. افزایش گرادیان غلظت ترکیبات هدف بین حلال و ماتریکس گیاهی را می‌توان دلیل افزایش پاسخ‌های مورد مطالعه با افزایش نسبت حلال به ماده اولیه دانست [۳۳]. جووانویچ و همکاران (۲۰۱۷) عدم کارآیی نسبت پایین حلال به ماده اولیه را با افزایش گرانروی مخلوط حلال و ماده اولیه و در نتیجه جلوگیری از خروج ترکیبات پلی فنولی از ماتریکس گیاهی مرتبط دانسته‌اند [۳٤]. به‌علاوه اشباع شدن حلال از ترکیبات فنولی در نسبت‌های پایین حلال به ماده اولیه را می‌توان به‌عنوان یکی دیگر از دلایل ناکارآمدی این فاکتور برای استخراج ترکیبات زیست فعال معرفی نمود. از طرفی با افزایش نسبت حلال به ماده اولیه از ۳۰ به ٤۰ میلی‌لیتر بر گرم میزان عملکرد کمی استخراج عصاره خام و میزان ترکیبات فنولی کل استخراج شده از اندام هوایی گیاه همیشه بهار اندکی کاهش یافت. نتایج به دست آمده با نتایج جوانوویچ و همکاران (۲۰۱۷)[۳٤]، کوجیک و همکاران (۲۰۱٦) [۳۵]، پاز و همکاران (۲۰۱۵) [۳٦] و الساندرو و همکاران (۲۰۱۲)[۳۷] مطابقت داشت. ذکر این نکته که افزایش بیش از حد نسبت حلال به ماده اولیه با افزایش فاصله موثر نفوذ ترکیبات هدف از داخل ماتریکس گیاهی می‌تواند سبب کاهش پاسخ‌های مورد مطالعه گردد ضروری است. بر این اساس شانگ و همکاران (۲۰۱۸) دریافتند که با افزایش نسبت حلال به ماده اولیه از حد آستانه ۱۵ میلی‌لیتر بر گرم ماده اولیه میزان عملکرد کمی استخراج کاهش می‌یابد [۳۷]. بر اساس نتیجه به دست آمده نسبت حلال به ماده اولیه معادل ۳۰ میلی‌لیتر بر گرم را می‌توان به عنوان نسبت مطلوب برای استخراج عصاره خام از اندام هوایی گیاه دارویی همیشه بهار معرفی نمود.

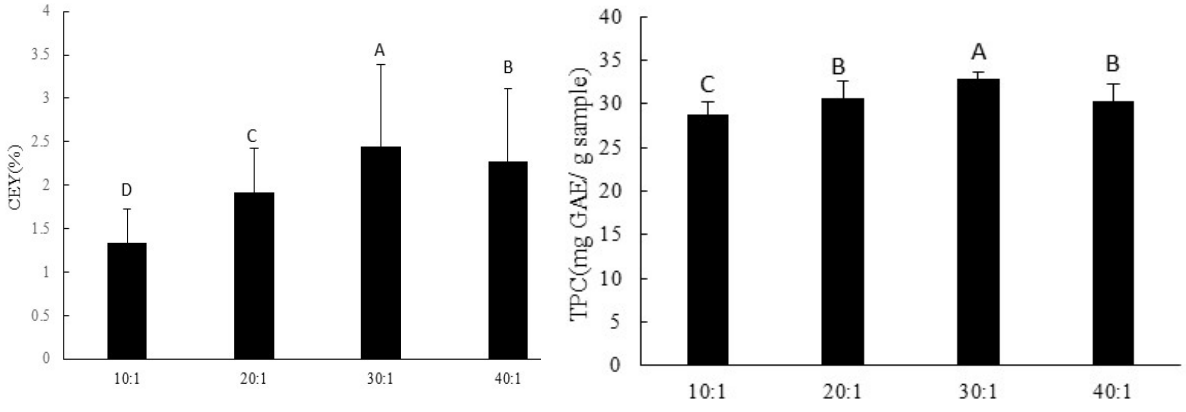

Fig 1 Effect of different solvent to raw material ratios on crude extraction yield (CEY) and total phenolic content (TPC) of marigold extract.

نتایج مطالعات متعدد حاکی از آن است که اندازه ذرات ماده اولیه نیز تاثیر بسزایی بر کمیت و کیفیت فرایند استخراج دارد [۳۹, ٤۰]. به‌طوری که اندازه بزرگ ذرات سبب کاهش انتقال جرم از داخل ماتریکس گیاهی به داخل حلال و اندازه بسیار کوچک ذرات نیز سبب بروز مشکلات تکنولوژیکی در فرایند اختلاط و صاف کردن نمونه می‌گردد. لذا بررسی تاثیر اندازه ذرات ماده اولیه بر میزان عملکرد کمی استخراج عصاره خام و ترکیبات فنولی کل ضروری است. همان‌طور که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود بالاترین میزان عملکرد کمی استخراج عصاره خام و ترکیبات فنولی کل با در نظر گرفتن اندازه ذرات ماده

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

اولیه معادل ۱ میلی‌متر قابل دستیابی است. به علاوه کمترین میزان پاسخ‌های مورد مطالعه با استفاده از ماده اولیه با اندازه ذراتی معادل ۰/۵ میلی‌متر به دست آمد. با کاهش اندازه ذرات ماده اولیه نسبت سطح به حجم کاهش یافته که این امر سبب افزایش تماس ماده اولیه با حلال و در نتیجه افزایش میزان استخراج ترکیبات زیست فعال از ماتریکس گیاهی می‌گردد [۴۱].

در نهایت با توجه به نتایج به‌دست آمده بیشترین میزان عملکرد کمی استخراج عصاره خام و ترکیبات فنولی کل در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، نسبت حلال به ماده اولیه ۳۰:۱میلی‌لیتر بر گرم و اندازه ذرات ۱ میلی‌متر به ترتیب معادل ۰/۱۷± ۳/۵ درصد و ۱/۰۸±۳۶/۹۴ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در گرم عصاره قابل دستیابی است. لازم به ذکر است فعالیت ضد اکسایشی عصاره به‌دست آمده تحت شرایط مذکور معادل ۲/۶۸±۶۲/۹۵ درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و۱/۲۰±۱۵۳/۱۸ میکرومول یون آهن در لیتر در روش قدرت احیاء کنندگی آهن بود. این در حالی است که فعالیت ضداکسایشی برای ویتامین ث در غلظت مشابه معادل ۹۰ درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ۱۲۰/۰۵ میکرومول یون آهن در لیتر در روش قدرت احیاء کنندگی آهن به دست آمد.

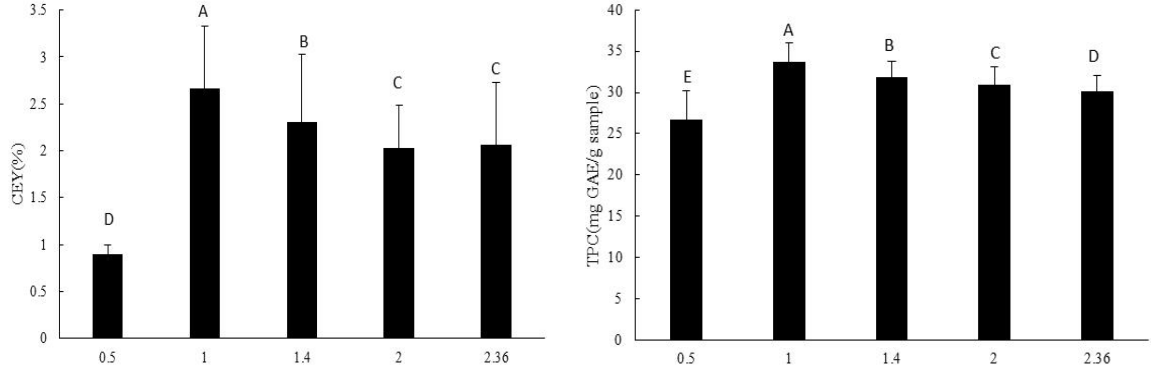

Fig 2 Effect of different particle size of raw material on crude extraction yield (CEY) and total phenolic content (TPC) of marigold extract.

۳-۳- بررسی همبستگی بین میزان ترکیبات فنولی کل و فعالیت ضد اکسایشی

بررسی فعالیت ضد اکسایشی به عبارتی بررسی میزان توانایی ترکیبات زیست فعال جهت مهار فرایندهای اکسایشی در بدن انسان و مواد غذایی است که به ترتیب می‌توانند سبب بروز بیمارهای قلبی- عروقی، پیری و زوال مواد غذایی گردند. اما تنها استفاده از یک روش برای ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی ترکیبات زیست فعال به این دلیل که ترکیبات ضد اکسایش ممکن است به روش‌های مختلف عمل کنند کافی نیست. لذا در این مطالعه فعالیت ضد اکسایشی عصاره حاوی ترکیبات زیست فعال استخراج شده از اندام هوایی گیاه همیشه بهار به روش‌های مختلف نظیر DPPH و FRAP اندازه‌گیری شده است. فعالیت ضد اکسایشی اندازه‌گیری شده به روش DPPH و FRAP برای عصاره اندام هوایی استخراج شده از گیاه دارویی همیشه بهار تحت شرایط مختلف به ترتیب در دامنه ۶۰/۱۲- ۴۷ درصد و ۱۴۸/۲۹-۱۳۷/۲۸ میکرومول یون آهن در لیتر به دست آمد. به از طرفی ترکیبات فنولی از مهم‌ترین ترکیبات زیست فعالی هستند که فعالیت ضد اکسایشی از خود بروز می‌دهند. لذا در این بخش به‌منظور بررسی نقش ترکیبات فنولی در بروز فعالیت ضد اکسایشی عصاره اندام هوایی همیشه بهار رابطه همبستگی بین میزان ترکیبات فنولی کل و فعالیت ضد اکسایشی از طریق تجزیه و تحلیل رگرسیون خطی مطالعه گردید. نتایج به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل رگرسیون خطی وجود همبستگی مطلوب بین میزان ترکیبات فنولی کل و فعالیت ضد اکسایشی عصاره به‌دست آمده از اندام هوایی همیشه بهار را تایید می‌نماید. مقادیر R^2 برای روابط همبستگی میان میزان ترکیبات فنولی کل و فعالیت ضد اکسایشی به روش‌های FRAP وDPPH، به ترتیب معادل ۰/۹۸۱۸ و ۰/۹۵۹۴ به دست آمد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود با افزایش میزان ترکیبات فنولی میزان فعالیت ضد اکسایشی افزایش

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

یافت. لذا فعالیت ضد اکسایشی عصاره اندام هوایی گیاه دارویی همیشه بهار را می‌توان به حضور ترکیبات فنولی نسبت داد. نقش ترکیبات فنولی در بروز فعالیت ضد اکسایشی عصاره‌های به دست آمده از پوست مرکبات [٤٢]، تفاله لیمو [١٦] و جنسینگ قرمز کره‌ای [١٥] نیز گزارش شده است. فعالیت ضد اکسایشی ترکیبات فنولی را می‌توان به توانایی این ترکیبات در روبش رادیکال‌های آزاد، اهداء اتم(های) هیدروژن، الکترون‌ها و یا کلاته کردن یون‌های فلزی نسبت داد [٤٣]. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان اندام هوایی گیاه دارویی همیشه بهار را نیز در کنار گل‌های آن به عنوان ماده اولیه مناسب جهت استخراج ترکیبات زیست فعال ارزشمند به منظور استفاده در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی- بهداشتی معرفی نمود.

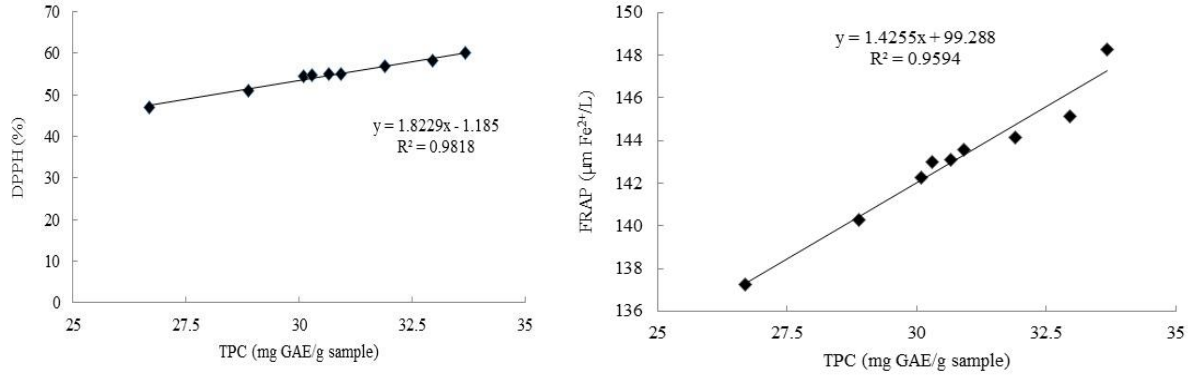

Fig 3 Relationship between total phenolic content, DPPH radical scavenging activity and FRAP for aerial parts of marigold extract.

٤- نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر اندام هوایی گیاه دارویی همیشه بهار با توجه به اهمیت یافتن منابع طبیعی جدید برای استحصال ترکیبات زیست فعال با فعالیت ضد اکسایشی مطلوب به عنوان ماده اولیه مد نظر قرار گرفت. در مرحله اول با توجه به نقش کلیدی حلال مورد استفاده برای استخراج ترکیبات زیست فعال از پنج نوع حلال استفاده گردید که با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان اتانول را به عنوان حلال مناسب جهت استخراج ترکیبات زیست فعال معرفی نمود. در ادامه با بررسی تاثیر نسبت حلال به ماده خام و اندازه ذرات ماده اولیه مشخص گردید که با در نظر گرفتن نسبت حلال به ماده اولیه معادل ١:٣٠میلی‌لیتر بر گرم و اندازه ذرات ١ میلی‌متر می‌توان به بالاترین عملکرد کمی استخراج و کیفیت عصاره از لحاظ میزان ترکیبات فنولی و فعالیت ضد اکسایشی دست یافت. به‌طوری‌که در شرایط مذکور عملکرد کمی استخراج معادل ٣/٥ درصد، ترکیبات فنولی کل معادل ٣٦/٩٤ میلی‌گرم معادل گالیک اسید به ازاء گرم نمونه، فعالیت ضد اکسایشی معادل ٦٢/٩٥ درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ١٥٣/١٨ میکرومول یون آهن در لیتر به روش قدرت احیاء کنندگی آهن بود. نتایج تجزیه و تحلیل رگرسیون خطی حاکی از نقش کلیدی ترکیبات فنولی در بروز فعالیت ضد اکسایشی عصاره به دست آمده از اندام هوایی گیاه دارویی همیشه بهار است. در نهایت با توجه به نتایج به دست آمده اندام هوایی گیاه دارویی همیشه بهار را می‌توان به عنوان منبع طبیعی جهت استخراج ترکیبات زیست فعال ارزشمند تحت شرایط مذکور جهت استفاده در صنایع غذایی، دارویی و ارایشی- بهداشتی معرفی نمود.

٥- تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان نامه با عنوان "بررسی اثر روش‌های مختلف خشک کردن و پیش تیمارهای فراصوت و مایکروویو بر سینتیک خشک کردن و استخراج ترکیبات زیست فعال از اندام هوایی همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.)"در مقطع کارشناسی ارشد فناوری مواد غذایی در سال ١٣٩٦و کد ١٤٠٥٣٣٢ است که با حمایت دانشگاه زنجان انجام شده است.

٦- منابع

[1] Babbar, N., et al., 2014, Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

evaluation as natural sources of antioxidants. Journal of Food Science and Technology, 51:2568-2575.
[2] Rice-Evans, C.A., J.M. Miller, and G.Paganga, 1996, Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids Free Radical Biology and Medicine, 20: 933-956.
[3] Ito, N., et al., 1986, Studies on antioxidants: their anticarcinogenic and modifying effects on chemical carcinogenesis. Food and Chemical Toxicology, 24: 1099-1102.
[4] Zargari, A., 1995, Medicinal plants. Tehran: Tehran University Publications.
[5] Kemper, K. J, 1999, Calendula (*Calendula officinalis*). Longwood Herbal Task Force. 1-13.
[6] Zitterl-Eglseer, K., Sosa, S., Jurenitsch, S., Schubert-Zsilavecz, J., Loggia, M., Tubaro, R., A. Bertoldi andM. Franz, 1997, Antioedematous activities of the main triterpendiol esters of marigold (*Calendula officinalis*L.). Journal of Ethnopharmacology, 57, 139–144.
[7] Cetkovic, G.S., et al., 2004, Antioxidant properties of marigold extracts. Food Research International 37: 643-650.
[8] Preethi, K.C., G. Kuttan, and R. Kuttan,2006,Antioxidant potential of *Calendula officinalis* flowers in vitro and *in vivo*. Pharmaceutical Biology, 44: 691-697.
[9] Jimenez-Medina, E., et al., 2006, A new extract of the plant *Calendula officinalis* produces a dual in vitro effect: Cytotoxic anti-tumor activity and lymphocyte activation. BMC Cancer,6: 119.
[10] Chandurkar, P., et al., 2015, Antimicrobial activity of aqueous, acetone and methanol extracts of *Calendula officinalis* L. (Marigold) flower. International Journal of Pure & Applied Bioscience, 3(2): 386-388.
[11] Maspi, N., Ghafarifar, F., Bahrami, A.M., S. Bastaminezhad, andShamsi M, 2010,Evaluation of Leishmanicidal effect of watery & ethanolic flowers *Calendula officinalis* extract on promastigotes of Leishmania major (MRHO/IR/75/ER) *in Vitro*. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences, 18(1): 28-34
[12] Piccagliy, R., M. Marotti, and S.Grandi, 1998, Lutein and lutein ester content in different types of *Tagetespatula* and *T. erecta*. Industrial Crops and Products, 8: 45-51.
[13] Mohsen, S.M. and A.S.M. Ammar, 2009, Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. FoodChemistry, 112: 595-598.
[14] Ng, L.Y., et al., 2012, Influence of different extraction parameters on antioxidant properties of Carica papaya peel and seed. Research Journal of Phytochemistry, 6: 61-74.
[15] Lee, J.W., et al., 2016, Effect of koreanred ginseng extraction conditions on antioxidant activity, extraction yield, and ginsenoside Rg1 and phenolic content: optimization using response surface methodology. Journal of Ginseng Research, 40: 229-236.
[16] Papoutsis, K., et al., 2016, Impact of different solvents on the recovery of bioactive compounds and antioxidant properties from lemon (*Citrus limon* L.) pomace waste. Food Science and Biotechnology, 25(4): 971-977.
[17] Dent, M., et al., 2013, Theeffect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in Dalmatianwild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts. Food Technology and Biotechnology, 51 (1): 84-91
[18] AOAC., *Official methods of analysis (15th ed.). Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.* 1990.
[19] Razali, N., et al., 2012, Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindusindica* L. Food chemistry, 131:441-448.
[20] Zhu, K.X., et al., 2011, Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. Food Chemistry, 126: 1122-1126.
[21] Singleton, V.L., R. Orthofer, and R.M. Lamuela-Raventos, 1999, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299: 152-178.
[22] Pyo, Y.H., T.C. Lee, and Y.C. Lee, 2005, Effect of lactic acid fermentation on enrichment of antioxidant properties and bioactive isoflavones in soybean. Journal of Food Science, 70: 215-220.
[23] Benzie, I.F.F. and J.J. Strain, 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

Berberisasiatica fruits using response surface methodology (RSM). Food Chemistry, 207: 115–124.

[34] Jovanovic, A.A., et al., 2017, Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymusserpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assistedtechniques. Separationand Purification Technology, 179: 369-380.

[35] Cujic, N., et al., 2016, Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. Food Chemistry, 194: 135-142.

[36] Paz, J.W., et al., 2015, Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from native plants in the Mexican desert. Ultrasound Sonochemistry, 22: 474-481.

[37] Alessandro, L.G., et al., 2012, Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. Separation and Purification Technology, 93: 42-47.

[38] Shang, H., et al., 2018, Extraction condition optimization and effects of drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from comfrey (*Symphytumofficinale* L.) root. International Journal of Biological Macromolecules, 112: 889-899.

[39] Miloševic, S., et al., 2011, Determination of extraction conditions of *Ginkgo biloba* L. leaves by supercritical CO_2 using response surface methodology. Hemijskaindustrija, 65: 147-157.

[40] Çam, M. and Y. Hisil, 2010, Pressurized water extraction of polyphenols from pomegranate peels. Food Chemistry, 123: 878-885.

[41] Silva, E.M., H. Rogez, and Y. Larondelle, 2007, Optimization of extraction of phenolics from *Ingaedulis* leaves using response surface methodology. Separation and Purification Technology, 55: 381-387.

[42] Shofinita, D., S. Feng, and T.A.G. Langrish, 2015, Comparing yields from the extraction of different citrus peels and spray drying of the extracts. Advanced Powder Technology, 26:1633-1638.

[43] Amarowicz, R., et al.,2004, Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food Chemistry, 84(4): 551-562.

measure of "antioxidant power": The FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239: 70-76.

[24] Stalikas, C.D., 2007, Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. Journal of Separation Science, 30: 3268-3295.

[25] Sachindra, N.M., et al., 2010, Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of extracts from Indian seaweeds. Journal of Food Science and Technology, 47: 94-99.

[26] Kamali, F., SadeghiMahonak, A.R. and; Nasiri far, Z., 2015,The effect of ultrasound-assistedconditions on the extraction of phenolic compounds and flavonoids from Autumn olive fruits (*Elaeagnusumbellate*). Food Technology & Nutrition, 12(2): 23-32.

[27] Wong, J.Y., et al., 2014, Evaluation of antioxidant activities in relation to total phenolics and flavonoids content of selected Malaysian wild edible plants by multivariate analysis. International Journal of Food Properties, 17:1763-1778.

[28] Hasmida, M.N., et al., 2014, Effect of different extraction techniques on total phenolic content and antioxidant activity of *Quercusinfectoria* galls. International Food Research Journal, 21(3): 1039-1043.

[29] KhorasaniEsmaeili, A., et al., 2015, Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of various solvent extracts from in vivo and in vitro grown *Trifoliumpratense* L. (Red Clover). BioMed Research International, 1-11.

[30] Quy Diem Do, et al., 2014, Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophilaaromatica*. Journal of Food and Drug Analysis, 22(3):296-302.

[31] Khoddami, A., M.A. Wilkes, and T.H.Roberts, 2013, Techniques for analysis of plant phenolic compounds. Molecules, 18: 2328-2375.

[32] Abad-García, B., et al., 2007, Optimization and validation of a methodology based on solvent extraction and liquid chromatography for the simultaneous determination of several polyphenolic families in fruit juices. Journal of Chromatography A, 1154: 87-96.

[33] Belwal, T., et al., 2016, Optimization extraction conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]

Effect of solvent type and extraction conditions on extraction yield, total phenolic content and antioxidant activity of extract containing bioactive compounds from aerial part of marigold (*Calendula officinalis* L.)

Behsarati, N. Z.[1], Bimakr, M.[2*], Ganjloo, A.[2]

1. MSc in Food Technology, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan,Iran
2. Associate Professor, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

(Received: 2018/11/24 Accepted:2019/11/10)

In the present study, the extract containing bioactive compounds from marigold (*Calendula officinalis* L.) medicinal plant was extracted using water, ethanol, acetone, ethanol/water and acetone/water as solvent. Among the solvents studied, the ethanolic extract contained the highest total phenolic compounds. The effect of the solvent to raw material ratio (40:1-10:1 mL/g) and particle size (0.5-2.36 mm) on the quantitative and qualitative properties of ethanolic extract at ambient temperature (25°C) were investigated. Based on the results, the highest crude extraction yield and total phenolic compounds equal to 3.5 ± 0.17% and 36.94 ± 0.81 mg GAE/gram of sample was obtained using a ratio of 30:1 mL/g and a particle size of 1 mm at ambient temperature. At the concentration of 1 mg/ml, the antioxidant activity of the extract was 62.95 ± 2.68 % and 153.18 ± 1.20 µM Fe^{2+}/L, respectively. The high correlation coefficient (R^2>09594) between total phenolic compounds and antioxidant activity indicates the key role of phenolic compounds in antioxidant activity. Finally, the ethanolic extract obtained from *C. officinalis*under mentioned conditions can be introduced as a natural source of phenolic antioxidants for application in the food and nutraceutical industry as a natural preservative.

Keywords: Antioxidant activity, Aerial part of marigold, Total phenolic compounds, Solvent extraction.

* Corresponding Author E-Mail Address: mandana.bimakr@znu.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-12-18]