ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، تعیین محتوی فنولی و فلاونوئیدی کل عصاره‌های آبی ، اتانولی و متانولی صمغ گیاه دارویی باریجه *Ferula gummosa Boiss*

۱-مصطفی قاسمی ۲-مصطفی گواهی

۱-دانشجوی کارشناسی‌ارشد زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران
۲-استادیار گروه نانو زیست فناوری، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران

Email: mostafaghasemi9330@gmail.com
Email: m.govahi@ausmt.ac.ir

چکیده

استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، روشی برای از میان بردن رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از عوارض آن‌ها می‌باشد. گیاهان، دارای میزان چشمگیری فنول و فلاونوئید می‌باشند که درتمام قسمت‌های گیاهان پراکنده و به گیاهان ویژگی آنتی‌اکسیدانی می‌دهند. گیاه دارویی باریجه از خانواده چتریان درمناطق مختلفی از ایران رشد می‌کند. هدف از این پژوهش بررسی محتوای ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فعالیت ضداکسایـشی عصاره صمغ باریجه تحت‌تأثیر حلال‌های مختلف می‌باشد. مقدار فنل کل از روش فولین‌سیوکالتیو، میزان فلاونوئیدها رنگ‌سنجی آلومینیوم‌کلرید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روشDPPH بررسی گردید. نتایج این مطالعه نشان‌داد، عصاره متانولی در مقایسه با دیگر عصاره‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری دارد.

کلمات کلیدی: عصاره، آنتی‌اکسیدانی، فنول و فلاونوئید کل، DPPH، باریجه

۱. مقدمه

استفاده روز افزون از گیاهان دارویی سبب شده است که ارزش تجارت جهانی آن‌ها از ۵۱ میلیارد دلار در سال ۲۰۰۲، طی دو سال به ۱۰۰ میلیارد دلار رسیده و پیش بینی می‌شود تا سال ۲۰۵۰ به ۵ تریلیون دلار برسد[۱]. گیاهان دارویی دارای مواد مؤثری می‌باشند که برای درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند[۲]. نیاز بدن انسان به آنتی‌اکسیدان‌ها مسئله بسیار مهمی است زیرا آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که مانع فعالیت رادیکال‌های آزاد شده و یا سبب حذف آن‌ها می‌شوند و از سلول‌های

بدن در برابر اثرات مخرب این ترکیبات حفاظت می‌کند. در حقیقت آنتی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که برای پیشگیری و یا کند نمودن آسیب‌های ناشی از واکنش‌های اکسیداسیون در بدن به کار می‌روند و به عنوان خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد عمل نموده و از این رو باعث پیشگیری از آسیب ناشی از این ترکیبات در بدن می شوند[۳]. رادیکال‌های آزاد، واکنش‌گرهای به شدت مقاومی می‌باشند که عموماً در تمامی نقاط حاضر هستند و توانایی داشتن منشأ داخلی یا خارجی را دارند و غالباً از اکسیژن و نیتروژن فعال به دست آمده و توانایی این را دارند که با بیومولکول‌هایی مانند DNA، پروتئین و.... واکنش دهند و منتهی به آسیب و یا مرگ‌سلولی و انواع بیماری‌ها به ویژه سرطان شوند[۴, ۵].

در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی در زمینه ارزیابی خواص آنتی‌رادیکالی و آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی صورت گرفته است. مواد مؤثره گیاهان دارویی نظیر ترکیبات فنولیک که در قسمت‌های مختلف گیاه وجود دارند، موجب افزایش کیفیت و پایداری اکسیداتیو در برخی سامانه‌های غذایی می‌شوند[۶]. اکسیداسیون علاوه بر کاهش کیفیت تغذیه‌ای و تنزل ایمنی محصول چنانچه در سطح پیشرفت‌های صورت گرفته باشد موجب واکنش‌های نامطلوب شیمیایی و احتمالاً بیولوژیکی شده و محصول را غیر قابل مصرف می‌کند[۷]. در دهه‌های اخیر، در جهت حذف یا کاهش ترکیبات سنتزی، پژوهش‌های بسیاری به جهت جایگزینی مواد شیمیایی یا طبیعی صورت گرفته و تحقیقات بسیار زیادی عنوان شد که گیاهان دارویی، حاوی ترکیباتی با خواص آنتی‌اکسیدانی و یا آنتی‌رادیکالی می‌باشند[۸].

بدون تردید مراجعه به گیاهان دارویی، از کهن‌ترین رویکردهای انسان‌ها برای معالجه بیماری‌ها بوده و دائماً رابطه بسیار نزدیکی میان بشر و گیاه وجود داشته است. بدین سبب این امکان وجود دارد که گیاهان را منبعی از مواد شیمیایی نهفته مؤثر دانست که این مواد نهفته مؤثر را می‌توان علاوه بر دارو به عنوان نمونه‌ای بی‌همتا برای تولید آنالوگ‌های طبیعی به جای مواد شیمیایی دانست[۹]. با توجه به اهمیت گیاهان دارویی در سال‌های اخیر و نیاز به شناخت همه جانبه آن‌ها به سبب استفاده هرچه بیشتر و به روزرسانی داده‌های پیشین، جنبه‌های گوناگون گیاه باریجه به عنوان یکی از گیاهان دارویی با ارزش و اثربخش در طب سنتی، شامل خصوصیات گیاه‌شناختی، مشخصات رویشی و اکولوژیکی، نحوه بهره‌برداری، کشت زراعی، ترکیب‌های شیمیایی و مصارف پزشکی و درمانی آن بیان شده است[۱۰].

باریجه یا کما با نام علمی *Ferula gummosa Boiss* یکی از گیاهان دارویی و صنعتی ایران می‌باشد که در بین صادرات گیاهان دارویی رتبه اول را داراست[۱۱]. باریجه بومی مناطق شرق و غرب ایران می‌باشد و در استان‌هایی نظیر سمنان، خراسان، اصفهان، فارس و استان‌های مرکزی پراکنده شده است. در مناطق مختلف به آن باریجه، بالنبو، بالیجه،کما، بالامبو، اشق و در کتب قدیمی بارزد و انجدان و به زبان عربی قنه و در کردی و ترکی قاصنی و قاسنی گفته می‌شود و در هند معروف به جواشیر می‌باشد. از باریجه، صمغ معطری به نام گالبانوم[1] به دست می‌آید که در اثر زخم و یا نیش حشرات شیرابه‌ای از آن خارج شده که سفید رنگ بوده و به تدریج در مجاورت هوا سفت شده و به رنگ قهوه‌ای یا زرد مایل به سبز یا قرمز در خواهد آمد که به آن نیز باریجه گویند و در زبان محلی کاسنی گفته می‌شود[۱۲].

[1] Galbanum

باریجه گیاهی بلند، برخاسته و پایا است که ارتفاع آن ۰.۸ تا ۳ متر است. برگ‌ها به شدت ریش و بریده، برگ‌های پایینی یا بن رست‌ها بسیار بلند که تقریبا طول آن ۳۰ سانتی‌متر می‌باشد[۱۳]. از نظر دارویی دارای ویژگی‌های ضدعفونی کننده، ضد اسپاسم، تسکین‌دهنده درد، ضد التهاب، مقوی معده، ترمیم‌کننده زخم‌های سطحی، شیر افزا و مفید برای حافظه می‌باشد. این صمغ در صنعت کارخانه‌های چسب‌سازی، تولید پارچه، لوازم آرایشی–بهداشتی، چسب الماس و جواهرسازی نیز کاربرد دارد. گیاه باریجه به دلیل داشتن قابلیت استحصال شیرابه‌ای با ارزش دارویی و صنعتی، بسیار مورد توجه است. اگر چه این شیرابه از حیث صادرات گیاهان دارویی مرتعی ایران در رتبه اول قرار دارد و خواص دارویی و کاربردهای صنعتی فراوانی دارد اما اطلاعات اندکی در زمینه مکانیسم‌های بیوشیمیایی و ژنتیکی تولید این ترکیبات وجود دارد[۱۴–۱۷]. این گیاه بیشتر به عنوان طعم‌دهنده در محصولات غذایی نظیر نوشابه‌های غیرالکلی و فرآورده‌های گوشتی و همچنین به عنوان معطرکننده و یا تثبیت‌کننده عطرها در فرآورده‌های آرایشی استفاده می‌شود . در گذشته مصرف این گیاه همراه با آنغوزه در درمان ناراحتی‌های عصبی کاربرد داشته است[۱۸].

پیشینه تاریخی استفاده از این گیاه به بیش از ۳۰۰۰ سال قبل بر می‌گردد و در درمان بیماری‌های داخلی و ضدعفونی‌کننده زخم‌ها کاربرد داشته است[۱۹]. ترکیب لیمونن جدا شده از اسانس این گیاه را از عوامل اصلی بوی معطر باریجه ذکر کردند[۲۰]. این گیاه علفی، چندساله و مونوکارپیک است که در سال آخر رویش (سال پنجم تا هشتم) به ساقه می‌رود و تشکیل گل و میوه می‌دهد[۲۱]. تولید این گیاه به علت دوره طولانی خواب بذر و همین طور منوکارپیک بودن آن، دارای محدودیت است. تحقیقات بر روی شکستن خواب بذر و جوانه زنی این گیاه نشان داده است که حداقل زمان لازم برای انجام آن، با استفاده از پیش تیمارهای مختلف، ۴۰ روز است[۲۲].

خانواده چتریان یکی از خانواده‌های گیاهی بزرگ ایران است. تعدادی از گونه‌های این خانواده به مصرف تغذیه انسان می‌رسند و غالباً در گروه‌های سبزیجات ریشه‌ای و سبزیجات معطره طبقه‌بندی می‌شوند (هویج، جعفری، گشنیز و شوید). میوه‌ها و دانه‌های گروه دیگری برای معطر کردن مواد غذایی به کار می‌روند (زیره، گلپر و انیسون). صمغ حاصل از باریجه دارای مصارف صنعتی است[۲۳].

منابع ژنتیکی اصلی چنین گیاهانی همواره از عرصه‌های طبیعی تأمین شده است. به ویژه اکوسیستم‌های خشک و نیمه خشک کشور ایران خاستگاه عمده گیاهان دارویی موجود است. با این حال چنین مجموعه‌هایی هرگز توان تحمل حجم بالای برداشت‌های مورد نیاز برای مراکز فراوری گیاهان دارویی را ندارند. علاوه بر آن روش‌های ناپایدار بهره‌برداری توسط افراد بومی و محلی منجر به تخریب بخش وسیعی از رویشگاه‌های طبیعی این گیاهان در ایران شده است[۲۴].

شواهدی وجود دارد که نشان‌دهنده کاهش قابل توجه در فراوانی گونه‌های گیاهی خاصی است که از نظر بازار مصرف داخلی یا خارجی مطلوبیت دارند. بدیهی است که ادامه این روند خطر انقراض منابع ژنتیکی و اکوسیستم‌های گیاهی مرتبط با گیاهان دارویی را در پی خواهد داشت. از سویی، کاهش فراوانی گیاهان دارویی در عرصه‌های طبیعی، جمع‌آوری آن‌ها از این مناطق را نیز اقتصادی نموده و بازسازی این عرصه‌ها لزوم مطالعات اکولوژیکی را دوچندان می‌کند[۲۵].

داروهای گیاهی در تمام مناطق در حال توسعه به طور گسترده استفاده می‌شوند. برخلاف استفاده زیاد، اطلاعات کمی در مورد سلامت و کارایی درمان های گیاهی وجود دارد. نشان داده شده است که برخی از داروهای گیاهی فعالیت ضد سرطانی دارند. کمبود شواهد علمی در ارتباط با مسیرهای فعالیت گیاهان دارویی استفاده بالینی آن‌ها را کاهش می‌دهند[۲۶, ۲۷].

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱.تهیه عصاره‌های گیاهی

به منظور بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی ، صمغ گیاه باریجه از عطاری معتبر تهیه و سپس به جهت استفاده در مراحل بعدی آزمایشات با استفاده از دستگاه آسیاب برقی، آسیاب و پودر شد.

به هدف تهیه عصاره آبی ۸ گرم از صمغ پودر شده گیاه در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ دقیقه بر روی هیتر استریر قرار گرفت و در ادامه محلول ساخته شده بر روی سکوی آزمایشگاه قرار گرفت تا به دمای محیط برسد. همچنین برای تهیه عصاره‌های متانولی و اتانولی، بر اساس همان نسبت در عصاره آبی، گیاه در متانول۸۰ درصد و اتانول ۷۰ درصد به صورت جداگانه نیز مخلوط شدند و سپس بر روی هیتر استیرر در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفتند.

در ادامه تمامی عصاره‌های به دست آمده به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور شیکردار قرار گرفتند. در ادامه محلول‌های ساخته شده با دور ۶۰۰۰rpm به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و سپس با کاغذ واتمن صاف شدند.

حذف حلال الکی برای عصاره‌های اتانولی و متانولی توسط دستگاه تبخیر در خلا[2] انجام گرفت و در مورد حذف آب در عصاره آبی، حذف حلال با دستگاه فریز درایر انجام شد. سپس عصاره‌های خشک شده به ویال‌های شیشه‌ای منتقل شده و تا هنگام تحقیقات بعدی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

۲-۲. تعیین مقادیر فنل کل

جهت تعیین میزان فنل کل موجود در عصاره‌های گیاه باریجه با استفاده از روش فولین- سیوکالتو[3] به شیوه‌ی طیف‌سنجی مشخص شد. در این آزمون ابتدا ۳۰۰ میکرولیتر از هر یک از عصاره‌ها با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو ۱ مولار مخلوط گردید. در ادامه ۱/۸۹ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد و پس از ورتکس ترکیب حاصل به مدت ۵ دقیقه در یک مکان ثابت قرار داده شد. سپس ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد (*w/v*) به ترکیب فوق اضافه شده و محلول حاصله مجدداً ورتکس شد. در این مرحله ۱/۷ میلی‌لیتر آب دیونیزه به ترکیب بالا اضافه گردید تا به حجم نهایی ۴۰۰۰ میکرولیتر برسد، ترکیب نهایی مجدداً ورتکس شده و سپس به مدت۹۰ دقیقه در شرایط تاریکی در دمای آزمایشگاه نگهداری شد، در مرحله نهایی جذب نوری نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV/vis در طول موج ۷۶۵ نانومتر سنجیده شد. از کوئرستین به منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک عصاره بیان گردید.

---

[2] Rottarry Buchi

[3] Folin-Ciocalteu

۳-۲. تعیین میزان محتوای فلاونوئیدی کل

جهت سنجش میزان فلاونوئید عصاره‌های گیاه بر اساس روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. در این روش، مقدار ۱۵۰۰ میکرولیتر از هر یک از عصاره‌ها با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با ۱۵۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد ترکیب شده و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار گرفت.

در ادامه جذب محصول حاصله توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV/vis در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره خشک مشخص گردید. منحنی استاندارد کوئرستین نیز در غلظت‌های مختلف تهیه گردید.

۴-۲.تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی به روش دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)

تأثیر آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی[4] به کمک ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) مورد ارزیابی قرار گرفت. DPPH ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور گروه‌های فنیل در ساختار خود به راحتی به رادیکال آزاد تبدیل می‌گردد. این ترکیب با گرفتن یک الکترون از ترکیب آنتی‌اکسیدان، از رنگ بنفش به زرد تغییر رنگ می‌دهد. اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH یکی از روش‌های معتبر، دقیق، آسان و مقرون به صرفه با قابلیت تکرارپذیری بالا می‌باشد که در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این روش برای مقایسه اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های تهیه شده محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۴۰، ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از عصاره‌ها در حلال‌های (متانولی، اتانولی و آبی) را با ۱ میلی‌لیتر DPPH (۳۰۰ میکرومولار) مخلوط کرده و در ادامه حجم نهایی ترکیب با متانول به ۴۰۰۰ میکرولیتر رسانده شد. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. بعد از این مدت میزان جذب نوری در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج فرابنفش-مرئی (UV/vis) قرائت گردید. لازم به ذکر است که در نمونه کنترل، عصاره با متانول جایگزین شد. در نهایت درصد مهار رادیکال‌های DPPH توسط عصاره با رابطه (۱) محاسبه گردید:

$$I\ (\%) = (A_0 - A_S)/A_0 \times 100 \qquad (۱)$$

که در اینجا A_0 جذب کنترل (حاوی همه اجزا واکنشگر بدون نمونه) و A_S جذب نمونه و I (%) درصد به دام‌اندازی رادیکال DPPH می‌باشد.

[4] Radical scavenging capacity

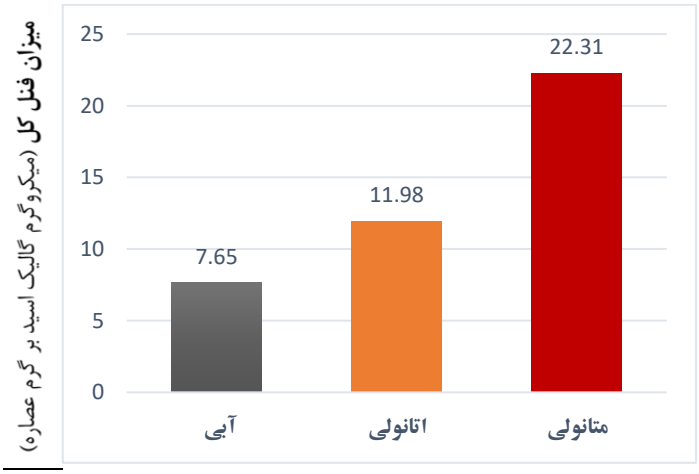
۳. تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری داده‌ها به صورت خطای استاندارد ± میانگین ارائه گردیده است. اختلاف معنی‌دار توسط آنالیز واریانس (ANOVA) از طریق آزمون تقریبی چند دامنه‌ای دانکن و با استفاده از نرم افزار SPSS 26 مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

۴. نتایج

۴-۱. تأثیر نوع حلال بر محتوای فنلی کل

نتایج حاصل از بررسی و مقایسه اثر حلال‌های مختلف بر محتوای ترکیب‌های فنلی کل عصاره‌های صمغ گیاه باریجه بدین صورت می‌باشد که تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها حاکی از معنادار بودن اثر حلال‌های مختلف بر میزان ترکیب‌های فنلی کل دارد. بیشترین میزان فنل مربوط به عصاره متانولی باریجه به مقدار ۱.۳۲±۲۲.۳۱ میلی‌گرم گالیک اسید به وزن خشک عصاره بود و کمترین میزان فنل در عصاره آبی باریجه به میزان ۰.۱۶±۷.۶۵ میلی‌گرم گالیک اسید بر وزن خشک مشاهده شد. (شکل ۱)

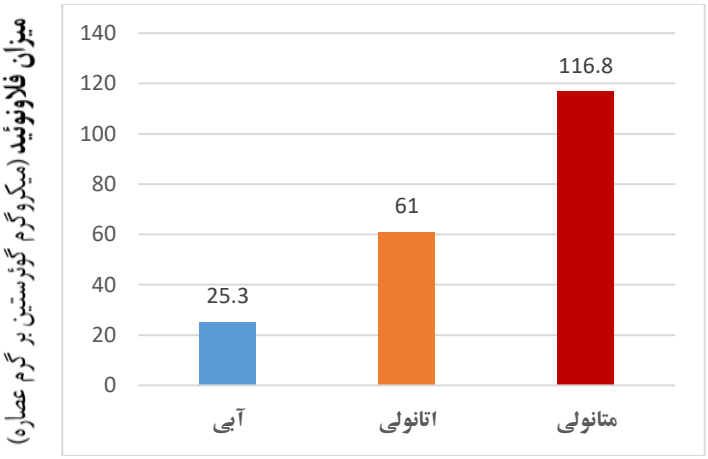


شکل ۱: اثر حلال‌های مختلف بر محتوای فنل کل گیاه باریجه.

۴-۲. تأثیر نوع حلال بر محتوای فلاونوئیدی کل

نتایج حاصل از بررسی و مقایسه اثر حلال‌های مختلف بر محتوای فلاونوئیدی کل عصاره‌های صمغ گیاه باریجه به این شکل بوه که تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که اثر حلال‌های مختلف بر میزان محتوای فلاونوئیدی کل معنادار است.

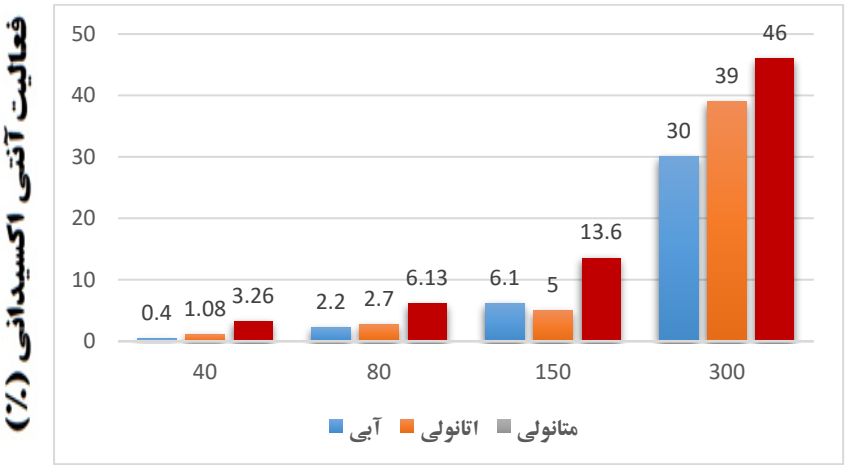
به طور کلی بیشترین میزان محتوای فلاونوئیدی مربوط به عصاره متانولی باریجه به مقدار ۹۴.۳۸±۳.۶۷ میلی‌گرم کوئرستین به گرم وزن خشک عصاره بود و کمترین میزان مربوط به عصاره آبی باریجه به میزان ۱۹.۵۴±۰.۶۲ میلی‌گرم کوئرستین بر وزن خشک مشاهده گردید. (شکل ۲)



شکل۲: اثر حلال‌های مختلف بر محتوای فلاونوئیدی کل گیاه باریجه.

۳-۴.تأثیر نوع حلال بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار رادیکال DPPH

نتایج حاصل از بررسی اثر حلال‌های مختلف بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های صمغ گیاه باریجه در غلظت‌های مختلف با روش مهار رادیکال DPPH به این صورت به دست آمده که تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان دهنده معنی‌دار بودن اثر حلال‌های مختلف بر میزان فعالیت عصاره‌ها بر بازدارندگی فعالیت رادیکال DPPH است به صورتی که بالاترین فعالیت بازدارندگی مربوط به عصاره‌ی متانولی باریجه ۴۶٪ در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است و کمترین فعالیت بازدارندگی مربوط به عصاره‌ی اتانولی باریجه ۱.۰۸٪ در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. به طور کلی عصاره متانولی باریجه در پاکسازی DPPH بیشترین تأثیر را داشت و با افزایش غلظت فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش یافته است. با توجه به نتایج، نوع و غلظت عصاره‌ها تاثیر معناداری بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد داشتند. (شکل ۳)



شکل۳: میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار رادیکال‌های DPPH عصاره‌های گیاه باریجه در غلظت‌های مختلف.

۵. بحث

اهمیت آنتی‌اکسیدان‌ها به طور ویژه از دو جهت مناسب وارسی است. اولین مورد، مهیا کردن سلامتی انسان‌ها به منظور حذف رادیکال‌های آزاد و مورد دیگر در زمینه صنعت غذا می‌باشد. گیاهان محتوی ترکیبات بسیاری هستند که هر یک حاوی ساختاری متفاوت از هم می‌باشند. ساخت این ترکیبات به یکسری مسائل وابسته می‌باشد که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به نوع حلال و روش ساخت اشاره کرد. انتخاب حلال برای هر دسته از ترکیبات گیاهی بی‌اندازه سخت خواهد بود؛ بدین سبب که در کنار این ترکیبات، مواد دیگری نیز وجود دارند که بر اندازه حلالیت این مواد مؤثر می‌باشند[۲۸].

خلیلی و ابراهیم‌زاده فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان را به وجود ترکیبات فنلی در آن‌ها مرتبط دانستند. ترکیبات فنلی حاوی فنل‌های ساده (با یک حلقه آروماتیک حاوی دست کم یک گروه هیدروکسی) با دو بخش فنلی بوده که فلاونوئیدها را به وجود می‌آورند[۲۹]. فلاح و همکاران در یک تحقیق شرح دادند ترکیبات فنلی کم و بیش در تمام بخش‌های گیاه وجود داشته و در اغلب فرآیندهای فیزیولوژیک مانند رشد سلولی، جوانه زنی دانه و رسیدن میوه تأثیر دارند[۳۰].

دسته بزرگی از ترکیبات فنلی با بیش از ۳۰۰۰ شکل، فلاونوئیدها بوده که یکی از مهم‌ترین ترکیبات ثانویه گیاهان نیز هستند که اکثراً در گیاهان دارویی با اندازه‌های متفاوت یافت می‌شوند. نزدیک به ۴۰۰۰ نوع ترکیب مربوط به گروه فلاونوئیدها در گیاهان وجود داشته که طی مسیر سنتز فنل پروپانوئید در گیاه سنتز خواهد شد و بیشتر شامل آنتوسیانین‌ها، فلاونول و فلاون می‌باشد[۳۱, ۳۲]. در این پژوهش، آزمایش‌ها وجود ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی را تایید می‌کند. هم‌چنین بالاترین مقدار این ترکیبات مربوط به عصاره متانولی می‌باشد. نظیر این نتیجه به دست آمده صادقی و همکاران در پژوهشی بیان کردند میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در عصاره متانولی چوچاق نسبت به عصاره‌های دیگر آن بیشتر بوده و هم‌چنین این عصاره فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری دارد[۳۳].

بدان جهت که ترکیبات زیست فعال موجود در گیاهان نظیر فنل‌ها و فلاونوئیدها دارای قابلیت نهفته به سبب پاکسازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه باریجه به روش مهار رادیکال آزاد DPPH مورد بررسی قرار گرفت. رادیکال آزاد DPPH با پذیرش اتم هیدروژن از گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره، منجبر به کاهش محتوی DPPH و تغییر رنگ محلول واکنش می‌شود که در این تحقیق، بالاترین میزان مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد مربوط به عصاره متانولی بوده است[۳۴]. مبنا روش DPPH بر پایه بی‌رنگ شدن محلول DPPH می‌باشد که توسط آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره انجام می‌شود این اقدام از طریق مهار رادیکال‌های آزاد صورت می‌گیرد. به دام‌اندازی رادیکال پایدار DPPH به شیوه متداول برای بررسی توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد در نمونه‌های مختلف استفاده می‌شود[۳۵].

بر اساس تحقیقات کامکار و همکاران که در بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی زیره سبز و بلغست انجام شد، بالاترین تأثیر مهارکنندگی مربوط به عصاره آبی بوده است[۳۶]. در مطالعه‌ای که Sultana و همکاران در مورد انواع عصاره‌های Corncob انجام دادند توانایی کنترل رادیکال‌های آزاد عصاره متانولی بیشتر از دیگر عصاره‌ها گزارش شد[۳۷]. در پژوهشی عربشاهی و اروج از سه حلال آب ، متانول و استون برای ارزیابی خصوصیات آنتی‌اکسیدانی برگ‌های شاه توت به کار بردند که زیادترین میزان ترکیبات فنلی توسط حلال متانول استخراج گردید[۳۸]. در پژوهشی که توسط گواهی و همکاران با مطالعه فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی روی گیاه بشقابی (*Scutellaria pekinensis*) انجام شد مشخص شد که عصاره آبی این گیاه بالاترین میزان مهار رادیکال آزاد نسبت به عصاره متانولی را داراست[۳۹].

به طور کلی تضاد بین نتایج به دست آمده در پژوهش‌های گوناگون می‌تواند در رابطه با تفاوت میان ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان، ساختار متفاوت واکنش آن‌ها و کاربردهای مختلف واکنش‌های مهاری آن‌ها در روش‌های انتخابی باشد. قابلیت آنتی اکسیدانی محاسبه شده یک نمونه در رابطه با روش به کار رفته و منشأ ایجاد رادیکال آزاد یا کنش‌گر اکسیدکننده می‌باشد[۳۶].

فاضلی نسب و همکاران در مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که گیاهانی که دارای مقدار زیادی فنل و فلاونوئید بوده‌اند به نسبت خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشتند اگر چه با توجه به این که خاصیت آنتی‌اکسیدانی، مربوط به جز مخصوصی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بوده است، بنابراین حتماً گیاهانی که دارای مقدار زیادی از مواد فنلی و فلاونوئیدی باشند خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری ندارند[۴۰, ۴۱].

در مجموع گیاهان دامنه گسترده‌ای از فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سایر فعالیت‌ها را از خود ارائه می‌دهند. نظر به اینکه نتایج به دست آمده از آخرین مطالعات، عصاره گیاه باریجه دارای خاصیت مهارکنندگی رادیکال آزاد بوده و ایضاً در ارتباط با تعیین ساختار ترکیبات آلی آن نیز، مقدار چشمگیری فنل و فلاونوئید در آن رویت شد.

نتایج به دست آمده از این پژوهش اهمیت و تأثیر این گیاه دارویی را بیشتر از گذشته نشان داده است و عصاره باریجه در ارتباط با خواص آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌اکسیدان‌های موجود در بازار باشد.

۶. نتیجه‌گیری

میزان ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های تهیه شده توسط حلال‌های متانول ٪۸۰، اتانول ٪۷۰ و آبی از صمغ گیاه باریجه تحت تأثیر نوع حلال می‌باشند. نتایج در کل نشان داد عصاره متانولی باریجه

در آزمون DPPH، نسبت به عصاره‌های دیگر دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری می‌باشد. علاوه بر این با توجه به نتایج این آزمون‌ها مشخص شد که صمغ باریجه دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی بوده و استفاده از آن به منظور تهیه آنتی‌اکسیدان طبیعی پیشنهاد می‌گردد.

۷. قدردانی

بدین وسیله از حمایت‌های مالی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل صمیمانه تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

۸. مراجع

۱. *Joshi, S.V., et al., Are natural fiber composites environmentally superior to glass fiber reinforced composites? Composites Part A: Applied science and manufacturing, 2004. 35(3): p. 371-376.*
۲. *Soetan, K. and O. Aiyelaagbe, The need for bioactivity-safety evaluation and conservation of medicinal plants-A review. Journal of medicinal plants research, 2009. 3(5): p. 324-328.*
۳. *Akhbari, M. and Z. Aghajani, karimi E, Mazochi A.[Study of chemical compounds of essential oil and Antioxidant and antimicrobial activity of oily compounds of menthe longifolia]. Cell Mol Biol Let2016. 6: p. 44-9.*
٤. *Espin, J.C., C. Soler-Rivas, and H.J. Wichers, Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2, 2-diphenyl-١-picrylhydrazyl radical. Journal of Agricultural and Food chemistry, 2000. 48(3): p. 648-656.*
٥. *Sharififar, F., et al., In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic Zataria multiflora Boiss. Food control, 2007. 18(7): p. 800-805.*
٦. *Lee, S.-J., et al., Identification of volatile components in basil (Ocimum basilicum L.) and thyme leaves (Thymus vulgaris L.) and their antioxidant properties. Food Chemistry, 2005. 91(1): p. 131-137.*
۷. *Esterbauer, H., R.J. Schaur, and H. Zollner, Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. Free radical Biology and medicine, 1991. 11(1): p. 81-128.*
۸. *Kulisic, T., et al., Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essentia1 oil. Food chemistry, 2004. 85(4): p. 633-640.*
۹. *Morteza-Semnani, K., et al., Antimicrobial effects of methanolic extracts of some species of Stachys and Phlomis. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 2007. 17(57): p. 57-66.*
۱۰. *Rezaei, F. Bernar, and D.S. SHAFIEI, Ferula gummosa Boiss. Research of medicinal and aromatic plants of Iran, 2003. 17(1): p. 1-73.*
۱۱. *Nabei, M.Q., Investigating the effect of using the razor method on the survival and reproduction of the Ferula gummosa Boiss. Research of medicinal and aromatic plants of Iran, 2003. 19(3): p. 269-285.*
۱۲. *Mirhaider, H., Herbal knowledge: the use of plants in the prevention and treatment of diseases. Ferula gummosa Boiss ed. 1997: Volume 6.*
۱۳. *Maassoumi, A.A., Color flora of Iran, Professor Ahmad Kahraman. nature of Iran, 2017. 2(5): p. 108-110.*
۱٤. *Hamedi, H., et al., A novel bioactive edible coating based on sodium alginate and galbanum gum incorporated with essential oil of Ziziphora persica: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food model. Food hydrocolloids, 2017. 72: p. 35-46.*

.۱۵ *Ahmad Sobhani Najafabadi, M.N., Hamid Farahmand, Ali Reza Abbasi, Evaluation of Ferula gummosa Transcriptome by RNA-Seq. Iranian Journal of Field Crop Science, 2020. 51(2): p.- .*

.۱۶ *Eslami Jadidi Bahman, D.A.A., Nemati Farkhondeh, Rezaei Bashari, The effect of cytotoxicity of coma extract (Ferula gummosa) on MCF7 cancer cell line. Journal of Animal Biology, 2014. 5.(4)*

.۱۷ *DINI, M ,.et al., DISTRIBUTION OF GALBANUM SOURCES IN TEHRAN PROVINCE. 2002.*

.۱۸ *Rezaei, M., F. Bernar, and D.S. SHAFIEI, Ferula gummosa. 2003.*

.۱۹ *Sanseverino, A.M., et al., Cohalogenation of limonene, carvomenthene and related unsaturated monoterpenic alcohols .Journal of the Brazilian Chemical Society, 2000. 11: p. 381-386.*

.۲۰ *Sayah, M., et al., Antiepileptic potential and composition of the fruit essential oil of Ferula gummosa boiss. 2001.*

.۲۱ *Ghahraman, A., Cormophytes of Iran. University of Tehran Press ,1993 .Vol II.*

.۲۲ *Nadjafi, F., et al., Seed germination and dormancy breaking techniques for Ferula gummosa and Teucrium polium. Journal of Arid Environments, 2006. 64(3): p. 542-547.*

.۲۳ *Gholamreza Bakhshi Khaniki, Trees and shrubs of Iran,. Payame Noor University Press., 2008.*

.۲۴ *Mirinejad, S.J., Report of the Trade Operation Office of the Ministry of Agriculture. 1989. 163.*

.۲۵ *Radjabian, T., et al., Effects of GA3 and chilling on seed germination of Ferula assa-foetida, as a medicinal plant. Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research, 2007. 23.(3)*

.۲۶ *Cassileth, B. and G. Deng, Alternative and complementary medicine. 1995.*

.۲۷ *Eisenberg, D.M., et al., Unconventional medicine in the United States--prevalence, costs, and patterns of use. New England Journal of Medicine, 1993. 328(4): p. 246-252.*

.۲۸ *Samsamshariat, S., Extraction of effective components of herbal medicine determination and evaluation methods. 1993, Mani Pres Esfahan Publication.*

.۲۹ *Khalili, M. and M.A. Ebrahimzadeh, A review on antioxidants and some of their common evaluation methods. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 2015. 24(120): p. 188-208.*

.۳۰ *Falleh, H., et al., Ultrasound-assisted extraction: Effect of extraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidant activity of Mesembryanthemum edule L. Aizoaceae shoots. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2012. 11(2): p. 243-249.*

.۳۱ *Morelló, J.-R., et al., Evaluation of L-phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic profile in olive drupe (Olea europaea L.) from fruit setting period to harvesting time. Plant Science, 2005. 168(1): p. 65-72.*

.۳۲ *Siriamornpun, S. and M. Suttajit, Microchemical components and antioxidant activity of different morphological parts of Thai wild purslane (Portulaca oleracea). Weed science, 2010. 58(3): p. 182-188.*

.۳۳ *Sadeghi, A., et al., Identify and measure the phenolic acids, radical scavenging activity and reducing power iron methanol extracts and ethanol Eryngium caucasicum. J. Res. and Innovation in Food Sci. and Tech, 2014. 2: p. 193-204.*

.۳۴ *Hwang, E.-S., Effect of cooking method on antioxidant compound contents in cauliflower. Preventive Nutrition and Food Science, 2019. 24(2): p. 210.*

.۳۵ *Lee, K.W., et al., Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. Journal of agricultural and food chemistry, 2003. 51(22): p. 6516-6520.*

.۳۶ *Kamkar, A., et al., Study of antioxidant functional of the water, methanol, and ethanol extracts of endemic cuminum cyminum L. and cardaria draba L. in the In-vitro systems. The Horizon of Medical Sciences, 2010. 16(2): p. 37-44.*

.۳۷ *Sultana, B., F. Anwar, and R. Przybylski, Antioxidant potential of corncob extracts for stabilization of corn oil subjected to microwave heating. Food chemistry, 2007. 104(3): p. 997-1005.*

.۳۸ *Arabshahi-Delouee, S. and A. Urooj, Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (Morus indica L.) leaves. Food chemistry, 2007. 102(4): p. 1233-1240.*

۳۹. *Govahi, M., et al., Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activity, and Determination of Phenolic and Flavonoid Content of Aqueous and Methanolic Extracts of Scutellaria pekinensis. Journal of Ilam University of Medical Sciences, 2019. 27(3): p. 91-100.*

۴۰. *Hossain, M.A. and M.D. Shah ,A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant Merremia borneensis. Arabian Journal of Chemistry, 2015. 8(1): p. 66-71.*

۴۱. *Mirzaei, A., et al., The antioxidant capacities and total phenolic contents of some medicinal plants in Iran. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 2011. 1(3): p. 160-167.*

Evaluation of antioxidant activity, determination of phenolic and flavonoid content of total aqueous, ethanolic and methanolic extracts of the gum of the medicinal plant Ferula gummosa Boiss

1-Mostafa Ghasemi, 2-Mostafa Govahi

1. *Master student of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of New Technologies, Amol, Iran*

2. *Assistant Professor, Department of Nano Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol Specialized University of New Technologies, Amol, Iran*

Abstract

Using natural antioxidants is a way to eliminate free radicals and prevent their side effects. Plants have a significant amount of phenol and flavonoids that are scattered in all parts of plants and give them antioxidant properties. The medicinal plant Ferula gummosa Boiss from the Chetrian family grows in different regions of Iran. This research aims to investigate the content of phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity of Ferula gummosa Boiss gum extract under the influence of different solvents. The amount of total phenol were assayed by Folin–Ciocalteu method, the amount of flavonoid by aluminum chloride colorimetric, and the antioxidant activity by DPPH method. The results of this study showed that methanol extract has higher antioxidant activity compared to other extracts.

Key words: extract, antioxidant, total phenol and flavonoid, DPPH, Ferula gummosa Boiss

*Corresponding author

E-mail: mostafaghasemi9330@gmail.com