Spring (2023) 11(4): 43-54
DOI: 10.30473/EAB.2023.66048.1893
Received: 9 Nov 2022 Accepted: 8 Jun 2023

Experimental Animal Biology Open Access

ORIGINAL ARTICLE

Evaluation of antioxidant properties of the Chilville plant *(Ferrolago cardochrome)* and the relationship between extracted compounds and treatment of diseases

Mahdieh Salehi[1], Maryam Moslehishad[2], Seyede Marzieh Hosseini[3], Fatemeh Ghamari[4*]

[1] Department of Food Science and Technology, Medical Sciences Tehran, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[2] Department of Food Science and Technology, Safadasht Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[3] Department of Food Science and Technology, Faculty of Nutritional Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
[4] Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

Correspondence
Fatemeh Ghamari
Email:
fatemehghamari@outlook.com

How to cite
Salehi, M., Moslehishad, M., Hosseini, S.M. & GhamariM F. (2023). Evaluation of antioxidant properties of the Chilville plant*(Ferrolago Cardochrome)* and the relationship between extracted compounds and treatment of diseases. Experimental Animal Biology, 12(4), 43-54.

ABSTRACT
The plant's essential oils have attracted consumers' attention due to their naturalness and unique functional properties such as antioxidants and preservatives and in some disease treatments. *Ferulago carduchorum* is a native plant that grows in western Iran and was previously used as a natural preservative in delaying the destruction of meat and as an antiseptic plant. In this study, the essence of *Ferulago carduchorum* was examined. The composition of the essential oil, antioxidant properties, total phenolic content, DSC, and FTIR essential oil was investigated by *Ferulago carduchorum*. To extract the essential oil from the sample, the essential oil was distilled from distilled water in a Clevenger for 7 hours from the *Ferulago carduchorum* plant. Gas chromatography was used to identify the percentage of compounds in chamomile essential oil. The antioxidant activity of essential oils was determined using the ABTS free radical inhibition method. The folic acid reagent was also used to measure total phenol content. The highest composition of essential oils is α-Pinen, which is 30.18%. The results showed that essential oil with a concentration of 300 mg/ml (highest amount) had the highest antioxidant capacity and the highest percentage of free radical inhibition and essential oil with a concentration of 100 mg/ml (highest range) had the highest phenolic content. This plant can be introduced as a plant with antioxidant properties for the food industry and the treatment and prevention of diseases.

KEYWORDS
Ferrolago Cardochrome, Essential Oil, Antioxidant Properties, Physicochemical Characteristics.

© 2023, by the author(s). Published by Payame Noor University, Tehran, Iran.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

سال یازدهم، شماره چهارم، پیاپی چهل‌وچهارم، بهار ۱۴۰۲ (۵۴-۴۳)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۸

DOI: 10.30473/EAB.2023.66048.1893

نشریه علمی

زیست‌شناسی جانوری تجربی

«مقاله پژوهشی»

بررسی خواص آنتی اکسیدانی گیاه چویل (*فرولاگوکاردوکروم*) و رابطه ترکیبات استخراج‌شده آن و درمان بیماری‌ها

مهدیه صالحی[۱]، مریم مصلحی شاد[۲]، سیده مرضیه حسینی[۳]، فاطمه قمری[۴*]

[۱] گروه علوم و صنایع غذایی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[۲] گروه علوم و صنایع غذایی، واحد صفادشت، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[۳] گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

[۴] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

نویسنده مسئول:
فاطمه قمری
رایانامه:
fatemehghamari@outlook.com

چکیده

ترکیبات گیاهی به‌دلیل ماهیت طبیعی و خصوصیات منحصربه‌فرد عملکردی مانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی و نگهدارندگی و درمانی موردتوجه مصرف‌کنندگان قرار گرفته‌اند. تنش اکسایشی در فرآیندهای زیستی اتفاق می‌افتد و مهم‌ترین عامل پیری و عوارض بیماری‌های مزمن است. چویل (*Ferulagocarduchorum*) یک گیاه بومی است که در غرب ایران رشد می‌کند و در گذشته به عنوان نگهدارندهِ طبیعی مواد غذایی در به تأخیر انداختن فساد گوشت و به عنوان ادویه و در درمان برخی بیماری‌ها و ضدعفونی استفاده می‌شد. در این مطالعه ترکیبات اسانس، خواص آنتی‌اکسیدانی، محتوای فنل کل، آزمون DSC و FTIR اسانس مورد ارزیابی قرار گرفت. برای استخراج اسانس از گیاه چویل به روش تقطیر در دستگاه کلونجر به مدت ۷ ساعت اسانس‌گیری شد. جهت شناسایی ترکیبات از دستگاه کروماتوگراف گازی استفاده شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد ABTS تعیین گردید. برای اندازه‌گیری محتوی فنل کل از معرف فولین سیوکالتو استفاده شد. بیشترین ترکیب موجود در اسانس ترکیب alpha-pinen به میزان ۳۰/۱۸٪ می‌باشد. نتایج نشان داد که اسانس با غلظت ۳۰۰mg/mL (بالاترین رنج غلظت) دارای بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و بالاترین میانگین درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد (۷/۵ ± ۳۳/۵۲) می‌باشد، همچنین اسانس با غلظت ۱۰۰mg/mL (بالاترین رنج غلظت) دارای بیشترین میزان محتوای فنلی (۶/۴۷ ± ۱۰۳/۶۵) است. در آزمون FTIR جهت بررسی گروه‌های عاملی، مشخص شد که بیشترین آن مربوط به گروه هیدروکسیل ($3387/11\ cm^{-1}$) بود. اسانس گیاه چویل می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان در صنعت غذا باشد و جهت پیشگیری و درمان بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی

گیاه چویل، اسانس، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی.

استناد به این مقاله:

صالحی، مهدیه، مصلحی شاد، مریم، حسینی، سیده مرضیه و قمری، فاطمه (۱۴۰۲). بررسی خواص آنتی اکسیدانی گیاه چویل (*فرولاگوکاردوکروم*) و رابطه ترکیبات استخراج‌شده آن و درمان بیماری‌ها. فصلنامه زیست‌شناسی جانوری تجربی، ۱۱(۴)، ۵۴-۴۳.

۱- مقدمه

به‌طور متوسط یک‌چهارم داروهای تولیدی در جهان دارای منشأ گیاهی هستند که براساس ترکیب گیاهی فرمولاسیون و سنتز شده‌اند (Handa, 2008). تحقیقات نشان می‌دهد که بذرها، آجیل‌ها، ادویه‌ها، میوه‌ها و سبزی‌ها منابع غذایی بسیار غنی را تشکیل می‌دهند که شامل انواع ویتامین‌های ضروری برای سلامتی انسان هستند (Orhevba & Iwunze, 2013).

گیاهان دارویی به دلیل ماهیت طبیعی با بدن سازگاری بهتری دارند و در اغلب موارد فاقد عوارض ناخواسته هستند. لذا به‌خصوص در موارد مصرف طولانی و بیماری‌های مزمن بسیار مناسب می‌باشند. در سال‌های اخیر با افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان استفاده از داروهای گیاهی و به‌طور کلی فراورده‌های طبیعی به‌طور چشمگیری افزایش یافته است (Carabias-Martins et al., 2005).

اسانس‌ها ترکیباتی فرار، طبیعی و پیچیده هستند که دارای بوی قوی و مشخص هستند و در گیاهان معطر به عنوان متابولیت ثانویه تشکیل می‌شوند. آن‌ها معمولاً با روش‌های تقطیر با آب یا بخار به دست می‌آیند. اسانس‌ها به عنوان ضدعفونی‌کننده شناخته شده‌اند زیرا دارای خواص ضد باکتری، ضد قارچ، ضدویروس، دارویی و دارای عطر قوی هستند و حتی در مومیایی کردن و محافظت از مواد غذایی به عنوان ضد میکروب استفاده می‌شدند. بسیاری از اسانس‌ها ترکیبات ضد درد، آرام‌بخش، ضدالتهاب، ضد اسپاسم و بی‌حس‌کننده موضعی هستند. در طبیعت، اسانس‌ها نقش مهمی در حفاظت از گیاهان به عنوان ضد باکتری، ضدویروس، ضد قارچ و حشره‌کش ایفا می‌کنند. همچنین آنها در مواردی می‌توانند باعث جذب حشرات شوند و در تسهیل گرده‌افشانی و دانه‌پراکنی نقش مهمی ایفا می‌کنند و البته در موارد نامطلوب باعث دفع حشرات می‌شوند. اسانس‌ها از گیاهان معطر مختلف که معمولاً متمرکز در مناطق گرم مانند کشورهای مدیترانه‌ای و گرمسیری هستند استخراج می‌شوند که آنها بخش مهمی از فارماکوپه[1] سنتی را نشان می‌دهند. اسانس‌ها مایع، فرار، زلال و به‌ندرت رنگی، محلول در چربی، محلول در حلال‌های آلی و معمولاً دارای دانسیته کمتر از آب هستند (Massotti et al., 2003).

آنها می‌توانند به وسیله‌ی تمام اندام‌های گیاه به عنوان مثال جوانه، گل، برگ، شاخه، دانه، میوه، ریشه و چوب یا پوست آنها سنتز شوند و در سلول‌های ترشحی، حفره‌ها، کانال‌ها، سلول‌های اپیدرمی یا کرک‌های غده‌ای ذخیره شوند. روش استخراج اسانس با توجه به نوع استفاده از آن انتخاب می‌شود. به عنوان مثال استخراج تقطیر با بخار آب برای مرکبات ترجیح داده می‌شود و برای استفاده‌های عطری از اسانس، استخراج با حلال‌های چربی‌دوست و گاهی اوقات با دی‌اکسید کربن فوق بحرانی انجام می‌شود؛ بنابراین تفاوت شیمیایی اسانس‌ها براساس نوع روش انتخابی استخراج تفاوت دارد. محصول استخراجی می‌تواند در کیفیت، کمیت و نوع ترکیبات با توجه به اقلیم، ترکیب خاک، اندام بوته، مراحل رویشی گیاه متفاوت باشد (Massotti et al., 2003).

چویل (*فرولاگوکاردوکروم*) یک گیاه بومی ایران است که در غرب کشور رشد می‌کند. درگذشته این گیاه به‌عنوان نگهدارندهِ طبیعی در به‌تأخیرانداختن فساد گوشت استفاده می‌شد (Golfakhrabadi et al., 2015). بررسی‌های انجام‌شده بر بخش هوایی این گیاه نشان می‌دهد، روغن و عصاره به‌دست‌آمده از این گیاه دارای میزان بالایی از هیدروکربن‌های منوترپن (۹۳/۸ و ۷۰ درصد) می‌باشد (Rustaiyan *et al.*, 2017). گیاه *فرولاگوکاردوکروم* از لحاظ مورفولوژی،گیاهی علفی، پایا، بدون کرک، ایستاده، منفرد، با ساقه هایی شیاردار و ارتفاع ۶۱ تا ۱۵۱ سانتی‌متر می‌باشد. چویل گیاهی سبزتیره، خوش‌عطر و بو و دارای ساقه‌ای بسیار لطیف است و در کوهستان‌های برف‌گیر و سرسبز زاگرس در فصل بهار و اوایل اردیبهشت هم‌زمان با رویش قارچ خوراکی، کرفس، تره کوهی و دیگر گیاهان دارویی رویش خود را آغاز کرده و عمر آن بیشتر از یک ماه تجاوز نمی‌کند (Jahantab et al., 2011). در سال‌های اخیر برخی محققان، بررسی‌هایی درخصوص مواد مؤثره اجزای مختلف این گیاه انجام داده‌اند. در بررسی اجزای روغن اسانس سرشاخه‌های هوایی این گیاه تعداد چهل‌وسه ترکیب که ۸۹/۷ درصد اجزا را تشکیل می‌داد، شناسایی شد که ۷۷/۱ درصد آن مونوترپن و ۱۲/۶ درصد سس کویی‌ترپن بود (Golfakhrabadi et al., 2015). همچنین فعالیت ضد باکتری و ضد قارچی نیز در مورد این گیاه گزارش شده است (Hosseini et al., 2013). ایل قشقایی در طب سنتی از این گیاه به عنوان ادویه استفاده نموده و گل‌های باز نشده‌ی آن در معطر کردن روغن حیوانی و فراورده‌های شیری استفاده می‌کردند. گیاه چویل از زمان‌های قدیم به صورت سنتی به عنوان مسکن، هضم‌کننده و در درمان کرم‌های روده و هموروئید مصرف می‌شد. این گیاه یکی از بهترین مواد برای تولید عطر و کرم می‌باشد و گزارش‌هایی درباره‌ی اثر بازدارندگی استیل کولین، اثرات سیتوتوکسیک و فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن وجود دارد(Jahantab et al., 2011).

هدف از پژوهش حاضر تعیین ترکیبات اسانس گیاه چویل به

[1] Pharmacopoeia(

عنوان گیاه بومی ایران و ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی و خصوصیات فیزیکی-شیمیایی اسانس می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱ جمع‌آوری گیاه

گیاه چویل (*فرولاگو کاردوکروم*) در اواخر ماه خرداد از ارتفاعات شهر بیستون در استان کرمانشاه جمع‌آوری شد. شکل تازه‌ی این گیاه، بسیار معطر و دارای ساقه‌های ترد و پرآب هست. گونه‌ی کاردوکروم (گونه‌ی بومی ایران) که در هرباریوم دانشگاه علوم دارویی (شماره ۳۰۵۴) بررسی شد، در این پژوهش استفاده شد.

۲-۲ آماده‌سازی نمونه

پس از جمع‌آوری گیاه چویل (*فرولاگو کاردوکروم*)، ناخالصی‌ها از گیاه جدا شدند. برای جلوگیری از ایجاد تغییر در ترکیبات آن، گیاه به‌منظور خشک‌شدن، روی زمین در سایه قرار گرفت. ساقه‌های ترد چویل (*فرولاگو کاردوکروم*) در مدت دو هفته به‌طور کامل در سایه خشک شدند. سپس گیاه خشک‌شده به‌منظور استفاده در آزمایش‌ها در محیط خشک، خنک و تاریک نگهداری شد. گیاه خشک‌شده جهت افزایش راندمان اسانس‌گیری با آسیاب برقی کاملاً پودر شد.

۲-۳ تهیه‌ی اسانس از گیاه چویل (*فرولاگوکاردوکروم*)

تهیه‌ی اسانس در آزمایشگاه فارماکوگنوزی دانشکده داروسازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران صورت گرفت. گیاه چویل (*فرولاگوکاردوکروم*) آسیاب‌شده داخل دستگاه کلونجر قرار داده شد و با روش تقطیر با آب داغ به مدت ۷ ساعت اسانس‌گیری شد و در ظرف شیشه‌ای تیره در یخچال (دمای ۴ درجه سلسیوس) برای آزمون‌های بعدی نگهداری شد (Golfakhrabadi et al., 2015).

جدول ۱. غلظت‌های اسانس در پژوهش حاضر

نمونه	میزان اسانس (mg/ml)
۱	۳۰۰
۲	۱۵۰
۳	۲۰۰
۴	۱۰۰
۵	۵۰
۶	۱۲/۵

۲-٤ ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس چویل (*فرولاگوکاردوکروم*)

اسانس استخراج‌شده از گیاه چویل (*فرولاگوکاردوکروم*)، با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی با طیف‌سنج جرمی برای ترکیب‌های تشکیل‌دهنده‌ی اسانس مورد بررسی قرار گرفت (Sjjadiet al., 2012).

۲-۵ تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس

در این تحقیق به‌منظور بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه چویل (فرولاگوکاردوکروم) از روش ABTS استفاده شد. رادیکال ABTS با حل‌کردن در آب و در معرض پتاسیم پرسولفات طی مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت حاصل شد. سپس جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر با حضور پیتید طی مدت ۵ دقیقه به‌وسیله الایزاریدر تعیین گردید (Kaushik et al.,2007).

۲-٦ تعیین محتوای فنل کل

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل با روش رنگ‌سنجی فولین سیوکالتو انجام شد. ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول اسانس با ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین و ۷ میلی‌لیتر آب مقطر را باهم مخلوط کرده و به مدت ۸ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد و سپس ۱/۵ میلی‌لیترسدیم کربنات ٪۲۰ و آب مقطر اضافه شد و بعد از مخلوط‌کردن به مدت ۲ ساعت در دمای محیط و به‌دوراز نور نگه‌داشته شدند و سپس جذب آنها در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. از گالیک اسید به‌عنوان استاندارد استفاده شد (Jahantab et al., 2011).

$$T = \frac{\mathrm{C.V}}{M}$$

۲-۷ طیف فروسرخ با تبدیل فوریه (FTIR)

برای آنالیز ساختار شیمیایی از طیف‌سنج مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) استفاده شد. محدوده عدد موجی $۴۰۰۰cm^{-1}$ تا ۵۰۰ بود (Arisianti et al., 2006).

۲-۸ آنالیزگرماسنجی رویشی تفاضلی (DSC)

آنالیز حرارتی نمونه‌ها با روش گرماسنجی روبشی تفاضلی انجام شد. مقدار ۴ تا ۸ میلی‌گرم از نمونه در صفحه آلومینیومی دستگاه قرار داده شد و گرم‌شدن دستگاه با سرعت ثابت ۱۰ درجه سلسیوس بر دقیقه در گستره ۳۰ تا ۴۰۰ درجه سلسیوس تحت گاز آرگون با جریان ۲۰ میلی‌لیتر بر دقیقه انجام شد (Arisiantiet al., 2006).

۹-۲ تجزیه و تحلیل آماری

با استفاده از جداول تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA)، آنالیز داده‌ها صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از مقایسه‌ی میانگین Duncan انجام پذیرفت. آنالیز با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS Statistics,Version22 انجام شد و نتایج با سطح اطمینان ۰/۰۵ گزارش شدند.

۳- نتایج

۱-۳ تعیین ترکیبات اسانس

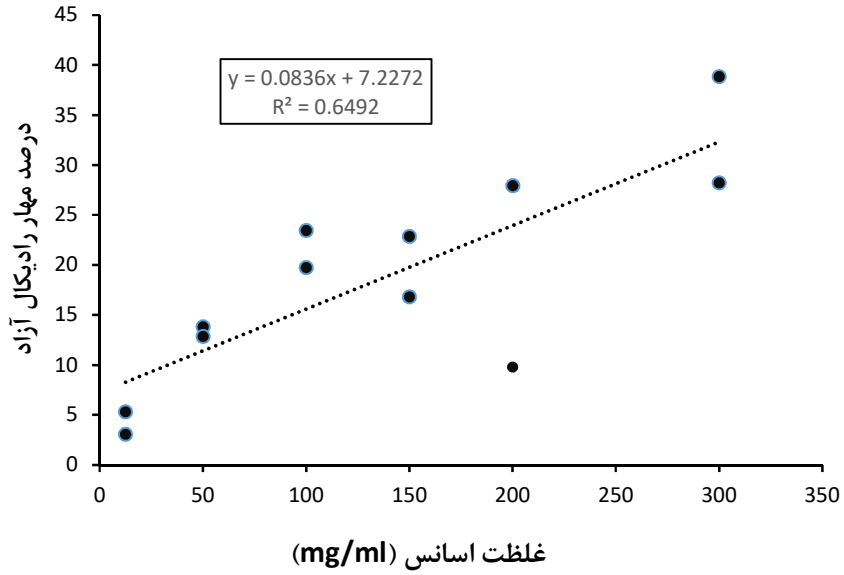
جدول ۲ ترکیبات به‌دست‌آمده از آنالیز کروماتوگرافی گازی- با دتکتور جرمی اسانس گیاه چویل نشان داده شده است.

جدول ۲. ترکیبات موجود در اسانس گیاه چویل

شماره	زمان بازداری (دقیقه)	درصد	نام ترکیب
۱	۶/۸۹۵	۳۰/۱۸	alpha-Pinene
۲	۱۱/۰۲	۱۸/۶۱	trans-beta-Ocimene
۳	۲۲/۶۰۱	۹/۵۲	Bornyl acetate
۴	۱۰/۲۶۸	۵/۶۴	Cymene
۵	۱۱/۷۸۳	۴/۷۲	gamma-Terpinene
۶	۸/۹۰۹	۳/۸۳	beta-Myrcene
۷	۱۵/۶۴۹	۳/۲۳	trans-Carveol
۸	۷/۲۹۵	۳/۱۱	Camphene
۹	۱۰/۴۳۴	۲/۹۳	Limonene
۱۰	۳۰/۲۰۸	۲/۵۴	GERMACRENE-D
۱۱	۱۶/۶۵۵	۱/۹۷	trans-1,8-Dihydroxymenth-2-ene
۱۲	۱۱/۳۲۶	۱/۹۰	cis-beta-Ocimene
۱۳	۸/۲۹۶	۱/۷۸	beta-Pinene
۱۴	۳۴/۱۲۵	۱/۱۴	Geranyl isovalerate
۱۵	۳۳/۳۲۶	۰/۸۹	Geranyl isovalerate
۱۶	۱۵/۴۰۵	۰/۸۸	CIS-VERBENOL
۱۷	۸/۱۷۲	۰/۸۶	Sabinene
۱۸	۳۱/۰۳۳	۰/۸۱	Benzene, 1-ethyl-2,4-dimethyl-
۱۹	۱۳/۵۴۸	۰/۷۷	LINALOOL L
۲۰	۷/۴۶۶	۰/۶۷	verbenene
۲۱	۴۹/۵۱	۰/۵۷	Suberosin
۲۲	۱۵/۷۷۳	۰/۵۴	trans-p-Mentha-2,8-dienol
۲۳	۱۴/۸۸۱	۰/۵۳	NEO-ALLO-OCIMENE
۲۴	۱۷/۶۹۳	۰/۴۹	BETA. FENCHYL ALCOHOL
۲۵	۶/۵۲۷	۰/۴۷	alpha-Thujene
۲۶	۱۶/۵	۰/۳۸	BORNEOL L
۲۷	۹/۳۸۶	۰/۲۳	1,5,8-p-menthatriene
۲۸	۹/۵۹۹	۰/۱۵	DELTA.3-Carene
۲۹	۶/۳۵۱	۰/۱۲	Tricyclene
۳۰	۹/۸۷۴	۰/۱۲	alpha-Terpinene

۳-۲ فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس

شکل ۱ رابطه بین غلظت اسانس و درصد مهار رادیکال آزاد را نشان می‌دهد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مهار رادیکال آزاد ABTS در مقایسه با پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ترولوکس به عنوان استاندارد بررسی شد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۳۴ نانومتر قرائت گردید.



شکل ۱. رابطه غلظت اسانس و درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد

جدول ۳ میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برحسب ترولوکس و درصد مهار رادیکال آزاد برای غلظت‌های مختلف اسانس چویل را نشان می‌دهد.

جدول ۳. میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و درصد مهار رادیکال آزاد براساس غلظت‌های مختلف اسانس* (SE±میانگین)

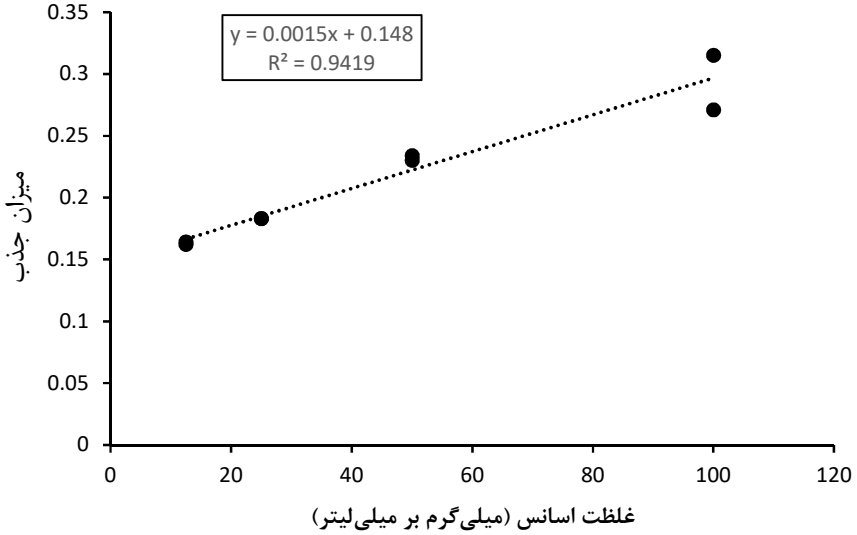
غلظت اسانس (mg/ml)	میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برحسب ترولکس	میانگین درصد مهار رادیکال آزاد
۱۲/۵	۰ c	۴/۱۷±۱/۵۹ c
۵۰	۰/۰۵۸±۰/۰۰۵ bc	۱۳/۳۲±۰/۶۸ bc
۱۰۰	۰/۱۲±۰/۰۲ ab	۲۱/۵۹±۲/۶۱ ab
۱۵۰	۰/۱۰۷±۰/۰۳۲ abc	۱۹/۸۲±۴/۲۷ abc
۲۰۰	۰/۰۹۹±۰/۰۹۷ abc	۱۸/۸۶±۱۲/۸۳ abc
۳۰۰	۰/۲۱±۰/۰۵۷ a	۳۳/۵۲±۷/۵ a

* میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه ازنظر آماری تفاوت معنی‌دار ندارند ($P\geq$۰/۰۵). SE=Standard Error

نتایج نشان داد که اسانس با غلظت ۳۰۰mg/ml دارای بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برحسب ترولوکس و بالاترین میانگین درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد بود. همچنین مشخص شد که میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برحسب ترولوکس و میانگین درصد مهار رادیکال آزاد در غلظت‌های ۱۲/۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ اسانس باهم تفاوت معنی‌دار نداشتند ($p\geq$۰/۰۵).

۳-۳ تعیین محتوای فنلی در اسانس

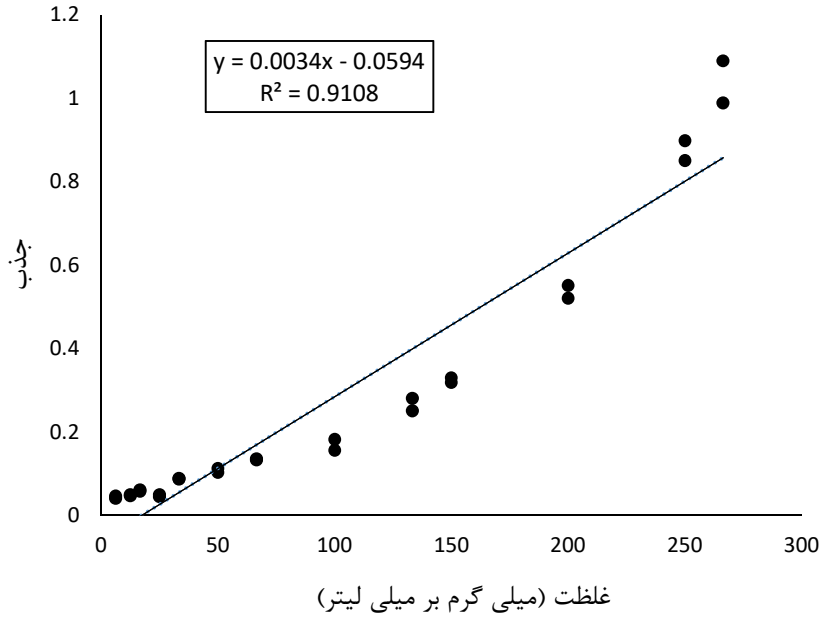
نمودار ۲ رابطه‌ی بین غلظت و میزان جذب اسانس را نشان می‌دهد.



شکل ۲. رابطه‌ی بین غلظت اسانس و میزان جذب

همان‌گونه که در نمودار ۲ ملاحظه می‌گردد، بین میزان جذب و غلظت اسانس رابطه خطی و مستقیم وجود دارد. به‌طوری که با افزایش غلظت اسانس، میزان جذب نیز افزایش می‌یابد.

نمودار ۳ منحنی استاندارد گالیک اسید را نشان می‌دهد. روش فولین- سیوکالتیو از متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنلی می‌باشد. اساس کار در این روش، احیای معرف فولین توسط ترکیبات فنلی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی‌رنگ است.



شکل ۳. منحنی استاندارد گالیک اسید

جدول ۴ غلظت‌های معادل گالیک اسید اسانس چویل را نشان می‌دهد.

جدول ٤. محتوای ترکیبات فنلی اسانس چویل برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گالیک اسید* (SE±میانگین)

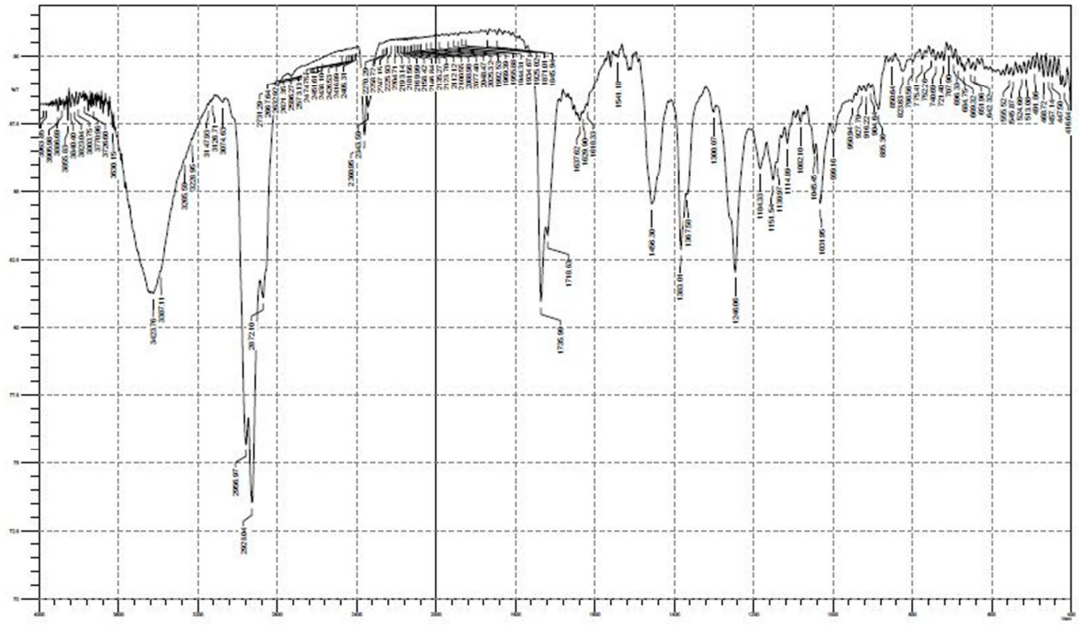
غلظت اسانس (mg/ml)	غلظت معادل گالیک اسید
۱۲/۵	۶۵/۴۱ ± ۰/۲۹ c
۲۵	۷۱/۲۹ ± ۰/۰۰ c
۵۰	۸۵/۷۱ ± ۰/۵۹ b
۱۰۰	۱۰۳/۶۵ ± ۶/۴۷ a

* میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه ازنظر آماری تفاوت معنی‌دار ندارند ($P\geq$۰/۰۵). SE=Standard Error

براساس نتایج به‌دست‌آمده از بررسی محتوای فنلی بر مبنای غلظت معادل گالیک اسید مشخص شد که اسانس با غلظت۱۰۰mg/ml دارای بیشترین میزان غلظت معادل گالیک اسید (محتوای فنلی) است. همچنین مشخص شد که غلظت‌های ۱۲/۵ و ۲۵ اسانس اختلاف معناداری با یکدیگر نداشتند ($P\geq$۰/۰۵).

٤-۳ نتایج حاصل از بررسی طیف‌سنجی مادون‌قرمز و گرماسنجی روبشی تفاضلی

نمودار ۴ طیفFTIR اسانس گیاه چویل را نشان می‌دهد.



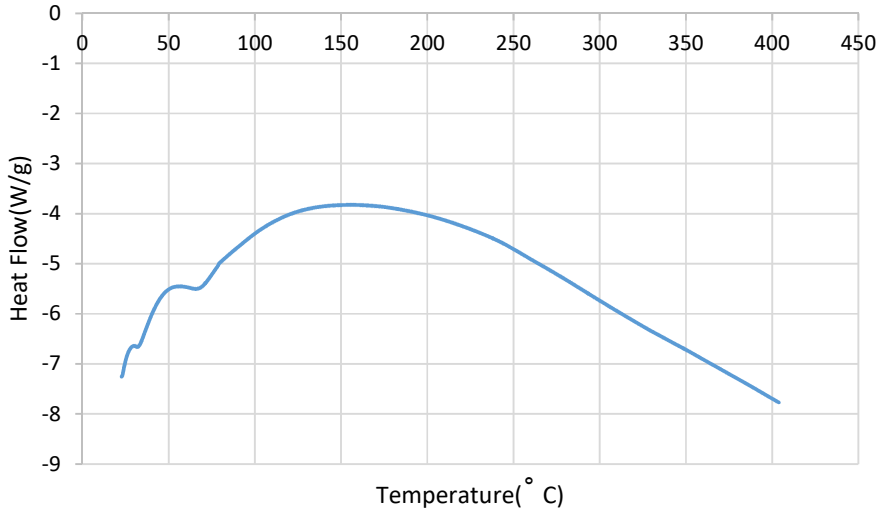
شکل ٤. طیف FTIR اسانس گیاه چویل

پیک‌های شاخص مربوط به طیف در جدول ۵ ارائه شده است.

جدول ۵. پیک‌های شاخص طیف فروسرخ با تبدیل فوریه اسانس

پیوندها	عدد موجی (cm^{-1})
OH کششی	۳۳۸۷/۱۱
CH کششی	۲۹۲۸/۰۴
COO^- کششی نامتقارن	۱۷۳۵/۹۹
COO- کششی متقارن	۱۲۴۶/۰۶

شکل ۵ نتایج حاصل از بررسی گرماسنجی روبشی تفاضلی برای اسانس را نشان می‌دهد.



شکل ۵. روند تغییرات گرماسنجی روبشی تفاضلی اسانس چویل

نمودار ۵ ترموگرام گرماسنجی روبشی تفاضلی اسانس گیاه چویل را در محدوده‌ی دمایی ۳۰ تا ۴۰۰ درجه‌ی سلسیوس نشان می‌دهد. با توجه به نمودار اسانس در دمای ۵۵/۷۴ درجه سلسیوس پیک اندوترمیک که مربوط به از دست‌رفتن آب نمونه است و دمای تغییر فازی اسانس را می‌دهد.

٤- بحث

٤-١ ترکیبات اسانس چویل

در اسانس گیاه چویل درمجموع ۳۰ ترکیب با استفاده از کروماتوگرافی گازی شناسایی گردید که در جدول ۲ آورده شده است. بیشترین مقدار ترکیبات شناسایی‌شده به‌ترتیب متعلق به α-Pinene با ۳۰/۱۸ درصد، trans-β- Ocimene با ۱۸/۶۱ درصد، Bornylacetate با ۹/۵۲ درصد، Cymene با ۵/۶۴ درصد و γ-Terpinene با ۴/۷۲ درصد بود. در بین ۱۰ ترکیب گزارش‌شده دو ترکیب Limonene با ۲/۹۳ درصد و D-Germacrene با ۲/۵۴ درصد کمترین میزان را به خود اختصاص دادند.

در مطالعه‌ای فعالیت بیولوژیکی و ترکیب روغن اسانسی گیاه *Ferulago carduchorum* را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد بیشترین ترکیب روغن اسانسی (z)-β-ocimene (۴۳/۳ درصد)، α- pinene (۱۸/۲۳ درصد) و بورنیلاستات (۳/۹۸ درصد) بود. در بین ۴۳ ترکیب شناسایی‌شده، مونوترپن‌ها ترکیبات غالب بودند (۸۴/۶۳ درصد). روغن اسانسی اثر قابل‌توجهی در برابر *کاندیدا آلبیکانس* داشت (Golfakhabadi *et al.*, 2015).

٤-٢ خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس چویل

امروزه حفظ ایمنی ماده غذایی و کیفیت آن در دوره نگهداری امری است که نه‌تنها توجه متخصصین صنعت غذا و مسئولین سلامت کشورها را به خود جلب کرده، بلکه بی‌توجهی به آن می‌تواند صدمات جبران‌ناپذیری به جامعه وارد کند. مرکز کنترل و نظارت بر محصولات غذایی، آنتی‌اکسیدان‌ها را تحت عنوان افزودنی‌های غذایی طبقه‌بندی کرده است و آنها را مواد محافظت‌کننده‌ی غذا، عنوان می‌کند. امروزه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نظیر ویتامین‌های A، C، E، بتاکاروتن و آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی بیشتر شده است و با افزودن این ترکیبات به چربی‌ها و مخصوصاً روغن‌های گیاهی غیراشباع میزان اکسیداسیون کاهش می‌یابد (Scott et al., 1997).

پن و همکاران در سال ۲۰۰۸ ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره اتانولی گیاه هفت‌بند ژاپنی و کاربرد آن در روغن بادام‌زمینی را مورد بررسی قرار دادند. عصاره‌ی گیاه هفت‌بند ژاپنی با اتانول ۹۵ درصد استخراج شد. این گیاه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی است که با روش DPPH، آنتی‌اکسیدانی کل و مهار رادیکال

هیدروکسیل اندازه‌گیری شد. یک همبستگی مثبت بین کاهش غلظت و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه هفت‌بند پیدا شد که قابل قیاس با BHT شد و یک آنتی‌اکسیدان مناسب برای بادام‌زمینی شناخته شد. کاهش اکسیداسیون تحت نظارت روش واکنش مواد تیوباریتوریک اسید بود. گیاه هفت‌بند ژاپنی نسبت به BHT اکسیداسیون لیپیدها را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد (Pan et al., 2007). در این تحقیق مشابه مطالعه حاضر در انتها این نتیجه حاصل شد که ترکیبات فنولی موجود در گیاهان از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی برخوردار هستند به‌طوری‌که در این تحقیق اسانس گیاه چویل نسبت به آنتی‌اکسیدآن‌های سنتزی خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری داشت و همچنین مشابه تحقیق حاضر مشخص شد بین غلظت و خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس رابطه‌ی مستقیم وجود دارد.

در مطالعه انجام‌شده در سال ۱۳۹۰ خواص آنتی‌اکسیدانی دو گونه گیاه چویل را در دو سیستم مدل مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق مقدار کل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و میزان ماده خشک استخراج‌شده از دو گونه‌ی *آنگولاتا* و *سابولتینا* اندازه‌گیری شد. خصوصیات آنتی‌اکسیدانی این دو گونه در دو سیستم مدل: به دام‌انداختن رادیکال های آزاد با استفاده از روش DPPH و بررسی قدرت احیاکنندگی تعیین گردید. مقدارکل ترکیبات فنولی براساس واکنشگر فولین سیوکالتو، مقدارکل فلاونوئیدهای ماده خشک اندازه‌گیری شد و نتایج حاصل بیانگر قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج شده بود (Rosta et al., 2011).

٤-٣ محتوای فنلی اسانس چویل

نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که اسانس چویل دارای محتوای فنلی قابل‌ملاحظه‌ای است و اسانس با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دارای بیشترین میزان غلظت معادل گالیک اسید (محتوای فنلی) است و غلظت‌های ۱۲/۵ و ۲۵ اسانس اختلاف معناداری با یکدیگر نداشتند ($P\geq$۰/۰۵).

مطالعات‌نشان می‌دهد که حلال‌های متانول واتانول با نفوذ بر داخل سلول‌های گیاهان، ترکیبات طبیعی ثانویه شامل فنول‌ها و فلاونوئیدهای بیشتری را استخراج می‌کند و این میزان برای حلال‌هایی نظیر آب، اتیل‌استات و کلروفرم کمتر است (Khorasani et al., 2015).

با مطالعه محتوای ترکیبات فنلی جمعیت‌های وحشی گیاه *Vaccinium myrtillus* در دامنه کوه‌های مونتنگر و صربستان دریافتند که محتوای ترکیبات فنلی کل در مناطقی که میزان دریافت نور بیشتری داشتند، نسبت به سایر رویشگاه‌ها بیشتر است. پیشنهاد شده است که فعالیت آنزیم‌های درگیر در تولید ترکیبات فنلی در شرایط مختلف اقلیمی تغییر می‌یابد(Gohari et al., 2011). صبورا و همکاران نیز با مقایسه محتوای ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های هوایی دو جمعیت گیاه بشقابی سنبله‌ای در شمال ایران به نتایج مشابهی رسیدند (Sabura et al., 2014)

٤-٥ طیف‌سنجی مادون‌قرمز و گرماسنجی روبشی تفاضلی اسانس

نتایج حاصل از طیف‌سنجی مادون قرمز در ناحیه اثر انگشت طیف بیانگر و مشخصه اسانس چویل است که در شکل ۴ نشان داده شده و گروه‌های کربوکسیلیک و هیدروکسیل در این طیف قابل مشاهده است. مطالعات پیشین نیز نشان داد که گروه‌های کاربردی کربوکسیلیک اسید، الکل، آلدئیدها، آمین‌ها، آمیدها، مشتقات گوگرد، هیدروکربن‌های آلی و هالوژن‌ها که مسئولیت خواص دارویی مختلف را نشان می‌دهند در اسانس و عصاره گیاهان مختلف به فراوانی وجود دارند (Rasooli et al., 2008).

گرماسنجی روبشی تفاضلی (DSC)، اسانس چویل در محدوده‌ی دمایی ۳۰ تا ۴۰۰ درجه‌ی سلسیوس را نشان می‌دهد. با توجه به نمودار اسانس در دمای ۵۵/۷۴ درجه سلسیوس پیک اندوترمیک که مربوط به از دست‌رفتن آب نمونه هست را نشان می‌دهد و دمای تغییر فاز اسانس را می‌دهد.

٥- نتیجه‌گیری

بیشترین ترکیب موجود در اسانس ترکیب α-Pinen به میزان ۳۰/۱۸٪ می‌باشد. این ترکیب دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی می‌باشد. در این پژوهش براساس نتایج آزمون آنتی‌اکسیدانی و قابلیت مهارکنندگی رادیکال آزاد در اسانس گیاه چویل، ارتباط مثبتی بین تغییرات غلظت اسانس و تغییرات درصد مهار رادیکال آزاد مشاهده شد، به‌طوری‌که با کاهش غلظت اسانس گیاه، قابلیت مهار رادیکال آزاد نیز نسبتاً کم می‌شود. در اسانس گیاه چویل درصد مهار رادیکال آزاد در غلظت‌های ۳۰۰-۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند که می‌توان نتیجه گرفت که خاصیت آنتی‌اکسیدانی این اسانس تنها در غلظت‌های بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر قابل‌ملاحظه است؛ اما درصد مهار رادیکال آزاد در غلظت‌های ۲۰۰-۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر

با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند؛ کـه ایـن امـر رابطـه مثبـت غلظت اسانس و درصد مهار رادیکال آزاد را نشان می‌دهد (Nori et al., 2017). در این پژوهش مشخص شد که اسـانس چویـل دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت مهار رادیکـال آزاد بـالایی است. تولیدرادیکال‌های آزاد با کاهش تواتایی آنتی‌اکسیدانی منجر به تنش اکسایشی می‌شود و سبب آسیب به مولکول‌هـای سـلول مانند پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود. بنابراین کنتـرل آن از طریـق اسـتفاده از مـواد آنتـی‌اکسـیدانی یکـی از اهـداف در پیشگیری و کنترل بیماری‌هاسـت. بـدین‌ترتیـب از ایـن اسـانس می‌توان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در مواد غذایی و همچنـین تولید محصولات فراسودمند گیاهی استفاده نمود.

باتوجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی قابـل قبـول از گیـاه *فرولاگـو کاردوکروم* و بعد از انجام آزمایش‌های تکمیلی (مانند سم‌شناسـی) پیشنهاد می‌شود در آینده از این گیاه به عنوان یک آنتی‌اکسـیدان طبیعی در صنایع غذایی استفاده شود. با جایگزین‌نمـودن ترکیـب آنتی‌اکسیدانی طبیعی این گیاه به‌جای آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی متداول، می‌توان غذای فراسودمند تولید کرد که علاوه‌بر خاصـیت آنتی‌کسیدانی برای پیشگیری از بیماری‌ها هم مفید باشند. به دلیل اینکه گیاه چویل بوی مطبوع قابل‌توجهی دارد، باتوجه به سابقه‌ی استفاده از این گیاه در طب سنتی، چویل می‌تواند به‌عنـوان ادویـه به‌کار رود. به علت عطر زیاد می‌توان در تولید عطر و کرم استفاده شود. باتوجه به خـواص درمـانی چویـل و اسـتفاده از آن در طـب سنتی پیشنهاد می‌گردد پس از تولید محصول غنی‌شده با اسـانس چویل اثرات درمانی آن روی انسان مورد بررسی قرار گیرد.

References

Arisianti.Y, Hui. ZH, Sagis. L. 2006. Multilayer microcapsules based on supramolecular structures produced from bovin serum albumin and high methoxy pectin. 11th International congress on engineerin and food. Athens, Greece: 29-30.

Carabias-Martínez R, Rodríguez-Gonzalo E, Revilla-Ruiz P, Hernández-Méndez J. 2005, Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. Journal of Chromatography A.;1089(1-2):1-17.

Gohari AR, Hajimehdipoor H, Saeidnia S, Ajani Y, Hadjiakhoondi A. 2011. Antioxidant activity of some medicinal species using FRAP assay. Journal of Medicinal Plants.1(37):54-60.

Golfakhrabadi. F, Khanavi. M, Ostad. S, Saeidnia. S, Vatandoost. H, Abai. M, Hafizi. M, Yousefbeyk. F, RazzaghiRad.Y, Baghenegadian. A, Ardekani. M. 2015. Biological activities and composition of Ferulagocarduchorum essential oil. J Arthropod born diseases; 9 (1): 104-115.

Handa S.2008. An Overview Of Extraction Techniques For Medicinal And Aromatic Plants. United Nations Industrial Development Organization and the International Centrefor Science and High Technology,266.

Hosseini. N, Arjmand. H, Ghorbanpour. M, Azhdehark. V. 2013. Chemical analysis of essential oil from different populations of Ferulago angulate subsp.carduchorum in iran. J of Medicinal Plant and By-products; 1: 69-74.

Jahantab A, Sepehri Adel M, Ghasemi Z, Aryan Y, Nori S, 2011. Study of the Ecology of the Medicinal plant Ferulago angulate (Schlecht) Boiss. In Central Zagros (Kohgiluyeh region). Environmental Plant Physiology (Iranian Plant Ecophysiological Research); 6(4): 1-8.

Kaushik V, Roos. YH. 2007. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic–sucrose–gelatin systems. LWT-Food Science and Technology. 31;40(8):1381- 91.

KhorasaniEsmaeili A, Taha RM, Mohajer S, Banisalam B. 2015. Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Content of Various Solvent Extracts from In Vivo and In Vitro Grown Trifolium pratense L. (Red Clover). BioMed Research International1- 11.

Masotti V, Juteau F, Bessie're J.M, Viano J. 2003. Seasonal and Phonological Variations of the Essential Oil from the Narrow Endemic Species Artemisia molinieri and its Biological Activities. J. Agric. Food Chem; 51: 7115-7121.

Nori Sh. 2017. Investigation of antioxidant properties and inhibition of alpha-glucosidase enzyme extract of Moringa pergina and *ferrolago cardocroma* (small) plants covered with polymeric coatings prepared by spraying method. Thesis in Food Industry, Faculty of Pharmacy, Islamic Azad University, Tehran Branch of Medical Sciences.

Pan Y, Zhang X, Wang H, Liang Y, Zhu J, Li H, Zhang Z, Wu Q. 2007. Antioxidant potential of ethanolic extract of Polygonum cuspidatum and application in peanut oil. Food Chemistry. 31;105(4):1518- 24.

Rasooli I, Fakoor MH, Yadegarinia D, Gachkar L, Allameh A, Rezaei MB. 2008.Antimycotoxigenic characteristics of Rosmarinus officinalis and Trachyspermumcopticum L. essential oils. International Journal of Food Microbiology. 29;122(1-2):135-9.

Rosta A, Kadivar M, Keramat J, Soliman Zadeh S. 2011. Investigation of antioxidant properties of two species of Ferulago plant (Chivil) in two model systems. Conference on Promoting Lifelong Food, Beverage, Cosmetics and Health with Emphasis on Reducing Consumption of Preservatives.

Rustaiyan A, Faridchehr A, AriaeeFard M. 2017. Constituents and biological activities of some Iranian Ferulago species; Europen J pharmaceutical and medical research; 4 (6): 106-107.

Saboura A, Ahmadi A, Zeinali A, Parsa M. 2014. Comparison between the Contents of Phenolic and Flavonoid Compounds and Aerial Part Antioxidant Activity in Scutellaria pinnatifida in Two NorthIranian Populations. Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences. Oct 15;13(3):249-66.

Sajjadi S. E, Shokoohinia Y, Jamali M. 2012. Chemical composition of essential oil of *Ferulago macrocarpa* (Fenzl) Boiss. Fruits. Research in Pharmaceutical Sciences.; 7 (3): 197-200.

Scott G. 1997. Antioxidants In Science, Technology, Medicine and Nutrition. Elsevier, Woodhead publishing, 348.