JRIFST
مقالهٔ کامل پژوهشی

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال ۱۴۰۰، جلد ۱۰، شماره ۱، صفحات ۷۰-۵۹
DOI: 10.22101/JRIFST.2021.257952.1201

بررسی محتوای فنول و خواص آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ صمغ انزروت

نجمه خادمی‌پور[۱]، انوشه شریفان[۲*]،حسین باخدا[۳]

۱- دانشجوی دکتری، زیست‌فناوری مواد غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- دانشیار،گروه زیست‌فناوری مواد غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
* نویسندهٔ مسئول (a_sharifan@srbiau.ac.ir)
۳- استادیار، گروه مکانیزاسیون کشاورزی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۲۹
تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۱۱/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۴
تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۰/۰۱/۱۴

واژه‌های کلیدی
استخراج با سیال فوق‌بحرانی
انزروت
فعالیت آنتی‌اکسیدانی

چکیده

امروزه یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشأ گیاهی مورد استقبال محققین قرار گرفته است. گیاه دارویی انزروت متعلق به خانواده بقولات است. در این پژوهش تلاش شده است که تأثیر دو روش استخراج سیال فوق‌بحرانی و خیساندن با حلال متانول بر ترکیبات مؤثر عصارهٔ صمغ بررسی و ضمن ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره، همبستگی بین ترکیبات فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز ارزیابی شود. نتایج این پژوهش نشان داد که ترکیبات فنول و فلاونوئید کل عصارهٔ استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی افزایش غیرمعنی‌داری را نسبت به عصاره‌های حاصل از خیساندن داشته است (P>۰/۰۵)، بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش‌های، ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازیل (DPPH)، ۲-۲- آزینو-بیس۳-اتیل بنزوتیازلوین-۶-سولفونیک اسید (ABST)، کاپراک (CUPRUC)، فسفومولیبدنم (PMB) و ظرفیت کاهش یون آهن (FRAP) در عصارهٔ حاصل از استخراج با سیال فوق‌بحرانی مشاهده شد که این افزایش تنها برای DPPH، در مقایسه با خیساندن، تفاوت معنی‌دار نشان داده است (P≤۰/۰۵)، نتایج آزمون همبستگی نیز نشان داد که ضرایب برآوردشده بین فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی عصارهٔ صمغ انزروت به روش سیال فوق‌بحرانی در سطح ۹۵ درصد معنی‌دار بوده است. باتوجه‌به یافته‌های این پژوهش، صمغ انزروت حاوی ترکیبات فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی بوده است و استفاده از سیال فوق‌بحرانی در فشار ۱۰۰ بار، دمای ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد و ۳۰ دقیقه زمان، درمقایسه با روش خیساندن، علی‌رغم وجود ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی تفاوت معنی‌داری نشان نداده است که باتوجه‌به هزینهٔ بالای این روش، استفاده از روش خیساندن برای استخراج عصارهٔ صمغ انزروت پیشنهاد می‌شود.

مقدمه

تحقیق‌ها نشان داده است که استفاده از فراورده‌های گیاهی، با کاهش خطر ابتلابه برخی بیماری‌ها مانند سرطان‌ها و تصلب شرائین همراه است (Arasu *et al.*, 2015; Xia, Li, Zhang, & Jiang, 2021) و در بیشتر موارد دلایل سلامتی‌بخش فراورده‌های گیاهی به متابولیت‌های ثانویه نسبت داده شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل‌توجهی را از خود نشان می‌دهند (Kim *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2014). لازم به ذکر است که گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد در بروز بیماری‌های مزمن نقش مهمی را دارند و آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند ویتامین E و ویتامین C نقش

محافظتی بالایی در برابر اکسیژن‌های فعال دارند (Xia *et al.*, 2021) و همچنین بیشتر خواص آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی به‌دلیل ترکیبات فلاونوئیدی و فنولیک اسیدها، کاروتن‌ها و ویتامین می‌باشد، ازاین‌رو، در سال‌های اخیر متابولیت‌های ثانویهٔ آنتی‌اکسیدان به‌طور گسترده موردبحث قرارگرفته‌اند (Al-Dhabi, Arasu, Park, & Park, 2014; Balachandran *et al.*, 2014).

گیاه دارویی انزروت[1] متعلق به جنس *Astragalus* و خانوادهٔ بقولات[2] است. پراکنش این گیاه در استان‌های جنوب ایران (کرمان، سیستان‌وبلوچستان، فارس و هرمزگان) می‌باشد (نصرتی، فاخری، سلوکی، مهدی‌نژاد و ولی‌زاده، ۱۳۹۸). گیاه انزروت درختچه‌ای مرتفع و پوشیده از کرک‌های کوتاه با خارهای بلند است، دارای ساقه‌های متعدد و منشعب است که به خوشه‌های بلند منتهی می‌شود (نصرتی و همکاران، ۱۳۹۸). ویژگی‌های دارویی گونهٔ *A. fasciculifolius* متعدد بوده است و شامل ضدسرطان (Huang *et al.*, 2012)، ضدالتهاب (Lu *et al.*, 2013)، ضدویروس و ضدباکتری (Huang *et al.*, 2008) است. در جنس گون *آستراگالوس* بیش از ۱۴۰ نوع ترکیب‌های شیمیایی مانند سیکلوارتان تری‌ترپن گلیکوزید[3]، ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و پلی‌ساکاریدهای مختلف شناسایی شده‌اند (Li *et al.*, 2014). امروزه می‌توان از روش‌های نوین استخراج جهت افزایش بازده استخراج، کاهش زمان استخراج، کاهش میزان مصرف حلال، تقویت کیفیت اسانس و عصاره و درنتیجه جلوگیری از آلودگی‌های زیست‌محیطی استفاده کرد (Wang & Weller, 2006). روش سیال فوق‌بحرانی، به‌عنوان یک روش نوین تولید اسانس و عصاره با کیفیت بالا در مقایسه با روش‌های استخراج با تقطیر آبی یا حلال‌های مایع، معرفی شده است (Capuzzo, Maffei, & Occhipinti, 2013). Glišić و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند که اسانس و عصارهٔ فوق‌بحرانی هویج در برابر *باسیلوس سرئوس*[4] مؤثرتر از اسانس و عصارهٔ حاصل از تقطیر آبی است. باتوجه‌به مطالعه‌های انجام‌شده، تاکنون مطالعه‌ای روی صمغ گیاه انزروت در راستای تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی انجام نشده است. در پژوهش‌هایی مشابه نصرتی و همکاران (۱۳۹۸) میزان فنول کل، فلاونوئید و آنتوسیانین عصارهٔ استخراج‌شده با حلال متانول را در نمونه‌های گل، برگ و ریشهٔ گیاه انزروت بررسی کردند و Sarikurkcu، Sahinler و Tepe (۲۰۲۰) نیز خواص فیتوشیمیایی و فعالیت‌های زیستی سه گونهٔ *آستراگالوس* را بررسی کردند که نتایج نشان داده است که به‌ترتیب عصاره‌های *آستراگالوس ژیمنولوبوس*[5]، *آستاراگالوس اونوبرچیس*[6] و *آستراگالوس لپورینوس*[7] ازنظر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی غنی‌تر هستند. باتوجه‌به اهمیت‌یافتن منابع جدید گیاهی جهت کاربرد در صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی، هدف از انجام این پژوهش بررسی محتوای فنول، خواص آنتی‌اکسیدانی و ارزیابی همبستگی بین محتوای فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ صمغ انزروت استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی و خیساندن می‌باشد آزمون همبستگی پیرسون برای یافتن ارتباط معنی‌دار بین دو متغیر استفاده می‌شود. در راستای مطالعه‌های انجام‌شده تا زمان نگارش این مقاله؛ تاکنون مطالعه‌ای روی عصارهٔ صمغ انزروت و بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی آن و همبستگی با ترکیبات فنول آنها انجام نشده است، لذا نتایج این پژوهش می‌تواند در ادبیات پژوهشی صمغ انزروت ارزش بالایی داشته باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری صمغ گیاه انزروت

صمغ گیاه انزروت، پس از تأیید گونهٔ گیاهی توسط متخصص گیاه‌شناسی دانشگاه هرمزگان، از مناطق شمالی استان هرمزگان- ایران، جمع‌آوری، تمیز و خشک شد و با استفاده از آسیاب خانگی پودر و تا زمان عصاره‌گیری در یخچال با دمای ۴ تا ۶ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد.

استخراج عصارهٔ صمغ انزروت با روش سیال فوق‌بحرانی

در این روش ۲۰ گرم پودر صمغ انزروت با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول به‌عنوان اصلاحگر ترکیب شد، سپس عصاره‌گیری توسط دی‌اکسیدکربن فوق‌بحرانی (Suprex MPS/225 Multipurpos، ساخت آمریکا) در دمای ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد و فشار ۱۰۰ بار به مدت ۳۰ دقیقه صورت گرفت (Delfanian, Esmaeilzadeh Kenari, & Sahari,

[1] *Astragalus fasciculifolius* Boiss
[2] Fabaceae
[3] Cycloartane triterpene glycoside
[4] *Bacillus cereus*
[5] *Astragalus gymnolobus*
[6] *Astragalus onobrychis*
[7] *Astragalus leporinus*

2015). پس از پایان عمل استخراج محلول توسط دستگاه سانتریفیوژ مدل (Germany HERMLE- z200A، ساخت آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محلول بالای لوله، جمع‌آوری و با کاغذ صافی واتمن شمارهٔ ۱ صاف شد. در ادامه توسط اواپراتور تحت‌خلأ در دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد حلال تبخیرشده و عصارهٔ به‌دست‌آمده به‌صورت خشک‌شده، به‌منظور جلوگیری از نور، با فویل آلومینیوم پوشانده و تا زمان آزمایش در فریزر با دمای ۱۸- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد (مهدی‌نیا لی‌چایی، اسماعیل‌زاده‌کناری و دین‌پناه، ۱۳۹۶). استخراج به روش خیساندن با استفاده از حلال متانول خالص و با استناد به یافته‌های Benabderrahim، Sarikurkcu، Elfalleh و Ozer (۲۰۱۹) انجام شد، برای این کار، ۵ گرم از نمونهٔ پودر صمغ، در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال متانول به مدت ۲۴ ساعت و در دمای اتاق خیسانده شد و در ادامه حلال متانول با اواپراتور تحت‌خلأ خارج و نمونهٔ باقی‌مانده تا زمان انجام آزمون در یخچال با دمای ۴-۶ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فنول کل

برای محاسبهٔ ترکیبات فنول کل در نمونه‌های عصاره، از روش فولین-سیوکالتیو[1] استفاده شد (Cheung, Cheung, & Ooi, 2003). محلول آبی عصارهٔ صمغ استخراج‌شده با غلظت ۱ (میلی‌گرم عصاره بر ۱ میلی‌لیتر آب) تهیه شد و ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتیو ۱۰ درصد (حجمی/حجمی) محلول در آب و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول آبی ۷/۵ درصد (وزنی/حجمی) سدیم بیکربنات مخلوط شد. مخلوط فوق به مدت ۴۵ دقیقه در گرم‌خانه با دمای ثابت ۴۵ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری و جذب هر نمونهٔ محلول با اسپکتوفتومتر (اسپکول مدل ۲۰۰۰، ساخت آلمان) و در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. اندازه‌گیری میزان جذب برای هر نوع عصارهٔ استخراج‌شده در سه تکرار صورت گرفت (برای هر روش استخراج سه عصاره استخراج شد) و میانگین سه تکرار به‌عنوان نتیجه ثبت شد. از محلول اسید گالیک به‌عنوان نمونهٔ استاندارد استفاده و منحنی جذب برای ۲/۵ تا ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اسید گالیک رسم شد، بر مبنای جذب خوانده‌شده در غلظت‌های مختلف اسید گالیک، ترکیبات فنول کل به‌صورت میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم از عصاره بیان شد (Slinkard & Singleton, 1977).

اندازه‌گیری فلاونوئید کل

برای بررسی محتوای فلاونوئید ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۳ میلی‌لیتر متانول، ۰/۲ میلی‌لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد (وزنی/حجمی)، ۰/۲ میلی‌لیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب هر نمونه با اسپکتوفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. از غلظت‌های مختلف کوئرستین[2] ۲/۵ تا ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، برای رسم منحنی جذب کوئرستین استفاده شد و میزان فلاونوئید برحسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره گزارش شد (Singh, Sharma, & Sharma, 2015).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط رادیکال‌های آزاد ۲,۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازیل[3]

برای هر کدام از عصاره‌های استخراج‌شده گیاه انزروت (سه عصاره به روش سیال فوق‌بحرانی و سه عصاره به روش خیساندن)، محلول ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر متانول تهیه و به لولهٔ آزمایش منتقل شد، سپس ۱ میلی‌لیتر محلول متانولی ۲,۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازیل (DPPH) به آن اضافه شد، محتویات هر لوله با ورتکس به‌طور کامل مخلوط شد. محلول بلانک (لولهٔ حاوی تمام اجزاء واکنش‌گر به‌غیراز عصاره) نیز استفاده شد و محلول‌های نهایی در دمای اتاق در محیط تاریک به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند. پس از آن، جذب نوری توسط اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعریف شد. سپس درصد مهار رادیکال DPPH هر عصاره با استفاده از رابطهٔ (۱) محاسبه می‌شود:

رابطهٔ (۱)

$$\text{درصد بازدارندگی DPPH (درصد)} = ((A-B)/A) \times 100$$

در رابطهٔ (۱)، A و B به‌ترتیب جذب نوری نمونهٔ شاهد و جذب نوری نمونه هستند (Jaradat *et al.*, 2017).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌صورت IC50[4] (میلی‌گرم بر لیتر)

میزان آنتی‌اکسیدانی که لازم است تا میزان DPPH به ۵۰

[1] Folin-Ciocalteu's reagent

[2] Quercetin

[3] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

[4] The antioxidant half maximal inhibitory concentration (IC50)

درصد مقدار اولیه برسد (غلظت مهار میانه) یا (IC50) عصارهٔ گیاه انزروت براساس روش Jaradat و همکاران (۲۰۱۷) و ازطریق رگرسیون خطی به‌دست‌آمده از منحنی درصد ممانعت‌کنندگی در غلظت‌های مختلف به‌صورت میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط ظرفیت کاهش یون آهن[1]

برای‌این‌منظور، از روش Kocak و همکاران (۲۰۱۶) با اندکی تغییر استفاده شد. ۱ میلی‌لیتر از محلول معرف قدرت آنتی‌اکسیدانی و احیاکنندگی آهن (FRAP[2]) ۲۰ میلی‌مولار به ۱ میلی‌لیتر عصاره (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر متانول) اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت. میزان جذب با اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد. منحنی کالیبراسیون با استفاده از سولفات آهن رسم شد.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش فسفومولیبدنم[3]

۰/۲ میلی‌لیتر عصاره (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حلال متانول) به ۲ میلی‌لیتر محلول معرف (۰/۶ میلی‌گرم اسید سولفوریک، ۲۸ میلی‌مولار فسفات سدیم و ۴ میلی‌مولار آمونیوم مولیبدات) اضافه شد. نمونهٔ حاصل، پس از ۹۰ دقیقه نگهداری در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد، با اسپکتوفتومتر در طول موج ۶۹۵ نانومتر خوانده شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل به‌عنوان معادل ترولوکس[4] بیان شد.

ارزیابی فعالیت مهار رادیکال کاتیون‌های ۲-۲ آزینو-بیس۳-اتیل بنزوتیازلوین-۶-سولفونیک اسید[5]

برای تولید رادیکال ۲-۲ آزینو-بیس۳-اتیل بنزوتیازلوین-۶-سولفونیک اسید (ABTS) از واکنش محلول ۷ میلی‌مولار ABTS با ۲/۴۵ میلی‌مولار سولفات پتاسیم استفاده شد، محلول حاصل به مدت ۱۲-۱۶ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق قرار گرفت. قبل از شروع سنجش، محلول ABTS با متانول رقیق و سپس محلول نمونه (۱ میلی‌لیتر) به محلول ABTS (۲ میلی‌لیتر) اضافه و به‌وسیلهٔ ورتکس یکنواخت شد. جذب نمونه در ۷۳۴ نانومتر پس از انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق خوانده شد. فعالیت مهار رادیکال کاتیونی ABTS به‌عنوان معادل ترولوکس بیان شد (Zengin *et al*., 2015).

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط فعالیت کاهندهٔ یون مس[6]

۰/۵ میلی‌لیتر عصاره (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حلال متانول) به مخلوط واکنش حاوی کلرید مس، نئوکوپروین[7] و بافر استات آمونیوم اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت کاپراک[8] به‌عنوان معادل ترولوکس بیان شد (Apak, Güçlü, Özyürek, Esin Karademir, & Erçağ, 2006).

تجزیه‌وتحلیل آماری

محتوای فنول و فلاونوئید کل نمونه‌های عصارهٔ صمغ انزروت استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی و خیساندن با حلال متانول در ۳ تکرار (سه بار استخراج برای هر روش صورت گرفت)، بررسی شدند، برای بررسی اختلاف بین عصاره‌های مختلف از آزمون t استفاده شد. بررسی همبستگی بین ترکیبات فنول کل و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در حجم‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های صمغ انزروت (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر متانول) با انجام آزمون پیرسون بررسی و نتایج با خطای ۵ و ۱ درصد گزارش شد. برای انجام آزمون‌های آماری از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۵ و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel نسخهٔ ۲۰۱۶ استفاده شده است.

نتایج و بحث

بررسی ترکیبات فنول، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره

فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات، به‌دلیل خصوصیات اکسایش-کاهش آنهاست که به‌عنوان عوامل کاهنده، دهنده‌های هیدروژن، اطفاکننده‌های اکسیژن و چلاته‌کنندهٔ[9] عناصر فلزی عمل می‌کنند (Rice-Evans, Miller, &

[1] Ferric ion reduction capacity
[2] Ferric Reducing Antioxidant Power
[3] Phospho molybdenum
[4] Trolox
[5] 2,2 Azino-bis 3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid ABTS
[6] Cupric ion reducing activity (CUPRAC)
[7] Neocuproine
[8] CUPRAC: Cupric ion reducing activity
[9] Chelating

Paganga, 1997). محتوای فنول و فلاونوئید کل نمونهٔ عصاره گیاه انزروت استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی و خیساندن با حلال در جدول (۱) ارائه شده است. باتوجه‌به جدول (۱) مشخص شد که میزان فنول کل عصارهٔ انزروت استخراج‌شده با سیال فوق‌بحرانی برابر با ۳۹/۱ (میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره) و میزان ترکیبات فلاونوئید کل برابر با ۱۸/۹ (میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره) بوده است و میزان فنول و فلاونوئید کل برای عصارهٔ استخراج‌شده به روش خیساندن نیز به‌ترتیب برابر با ۳۸/۵ (میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره) و ۱۷/۵ (میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره) بیان شده است. باتوجه‌به جدول (۱)، بین میزان ترکیبات فنول موجود در عصاره، به روش‌های سیال فوق‌بحرانی و خیساندن تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد و میزان ترکیبات فنول موجود از میزان ترکیبات فلاونوئید بیشتر بوده است.

باتوجه‌به نتایج ارائه‌شده در جدول (۱)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی در تمام روش‌های آزمون بیشتر از عصارهٔ استخراج‌شده به روش خیساندن بوده است. در جدول (۱) نشان داده شده است که میزان بازدارندگی DPPH برای نمونه‌های عصارهٔ استخراج‌شده به روش خیساندن و سیال فوق‌بحرانی به‌ترتیب برابر با ۳۶/۶ و ۵۹/۹ (درصد) بوده است، فعالیت بازدارندگی DPPH عصارهٔ استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی در سطح اطمینان ۹۵ درصد بالاتر از فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ انزروت استخراج‌شده به روش خیساندن بوده است ($P\leq$۰/۰۵). میزان احیای یون آهن (FRAP) عصاره‌های استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی و خیساندن نیز بررسی شد و نتایج حاکی از بالابودن توان احیاکنندگی عصارهٔ سیال فوق‌بحرانی بوده است، مقادیر بیان‌شده برای سیال فوق‌بحرانی و خیساندن به‌ترتیب برابر با ۲۹/۸ و ۲۸/۳ (میلی‌مولار آهن بر گرم عصاره) بوده است، که فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد. ارزیابی فعالیت ضداکسیدان به‌وسیلهٔ رادیکال آزینو بیس یا پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اتیل تیازولین سولفونیک ($ABTS^+$) معادل ترولوکس (واحد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی براساس $ABTS^+$) نیز نشان داد که تفاوت بین دو عصارهٔ استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی و خیساندن در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار نبوده است ($P>$۰/۰۵).

جدول ۱- بررسی محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های انزروت استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی و خیساندن با متانول

روش استخراج	فنول کل (میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم عصاره)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین بر گرم عصاره)	DPPH (درصد)	FRAP (میلی‌مولار آهن بر گرم عصاره)	ABST (میلی‌مولار ترولوکس بر گرم عصاره)	PMB (میلی‌مولار ترولوکس بر گرم عصاره)	CUPRAC (میلی‌مولار ترولوکس بر گرم عصاره)	IC50 (میلی‌گرم بر لیتر)
سیال فوق‌بحرانی	۳۹/۱۰±۰/۱۰ ^{a}	۱۸/۹۰ ±۰/۹۰ ^{a}	۵۹/۹۰±۱/۰۰ ^{a}	۲۹/۳۰±۰/۵۰ ^{a}	۸/۵۰±۰/۸۰ ^{a}	۸/۸۰±۰/۸۰ ^{a}	۴/۹۰±۰/۰۷ ^{a}	۵/۱۰±۰/۰۵ ^{a}
خیساندن	۳۸/۵۰±۰/۸۰ ^{a}	۱۷/۵۰ ±۱/۱۰ ^{a}	۳۶/۶۰±۱/۲۰ ^{b}	۲۸/۳۲±۰/۹۰ ^{a}	۷/۱۴ ±۰/۳۰ ^{a}	۸/۱۲±۰/۴۰ ^{a}	۴/۴۰±۰/۱۰ ^{a}	۵/۸۰±۰/۰۳ ^{b}

نتایج بیان‌شده، میانگین سه بار تکرار ± انحراف استاندارد است.
تفاوت حروف در هر ستون بیان‌گر تفاوت آماری معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد است.

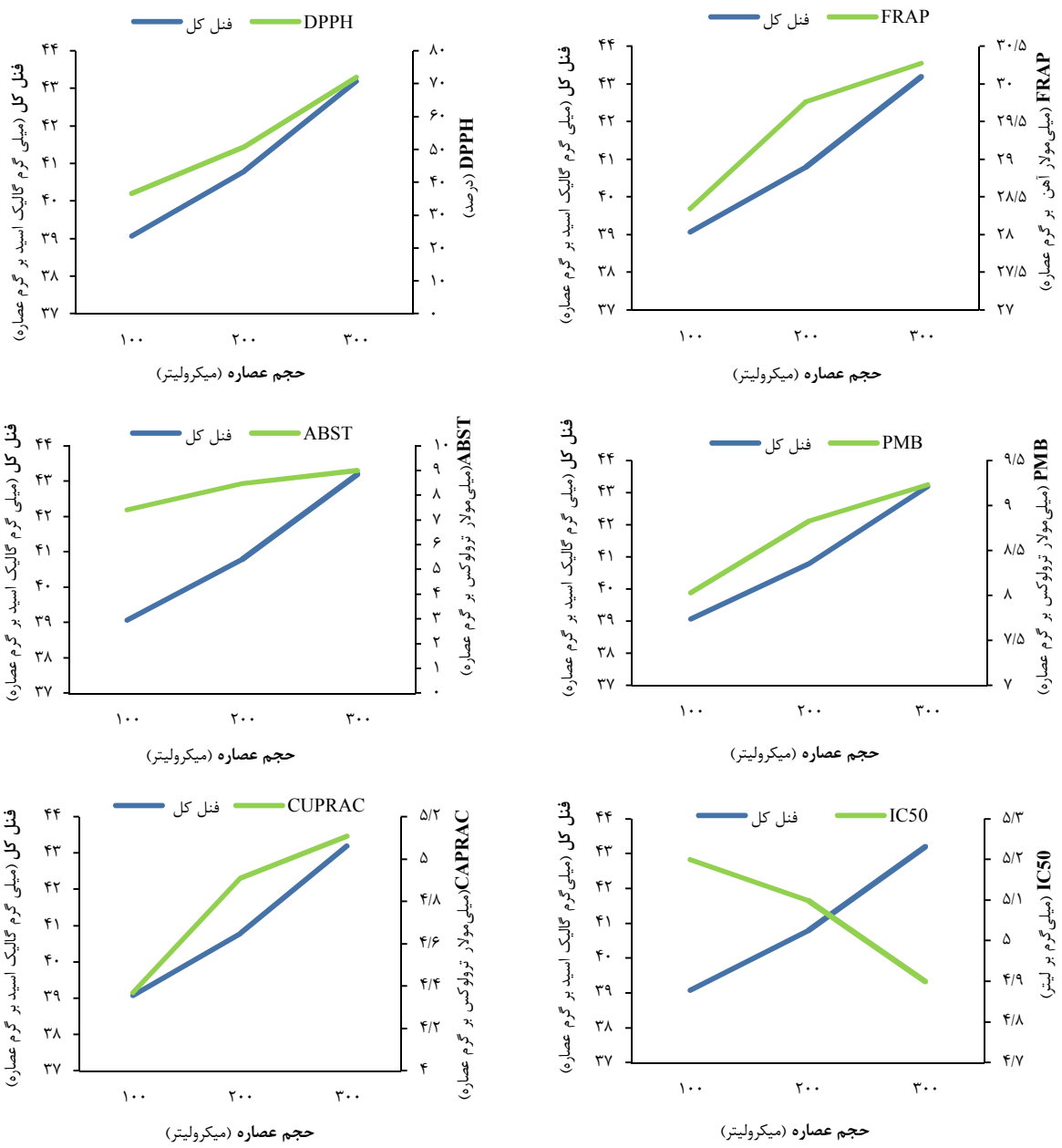
PROOF

مقادیر گزارش‌شده برای نمونه‌های عصارهٔ سیال فوق‌بحرانی و خیساندن به‌ترتیب برابر ۷/۴۰ و ۸/۵۰ (میلی‌مولار ترولوکس بر گرم عصاره) بوده است. اندازه‌گیری فعالیت ضداکسیدانی به‌طریق فسفومولیبدنم (PMB) نیز نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی براین‌مبنا برای عصارهٔ استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی برابر با ۸/۸۰ (میلی‌مولار ترولوکس بر گرم عصاره) و برای عصارهٔ استخراج‌شده به روش خیساندن برابر با ۸ (میلی‌مولار ترولوکس بر گرم عصاره) بوده است که این اختلاف نیز در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش کاپراک (CUPRUC) نیز مشخص شد که عصارهٔ سیال فوق‌بحرانی با مقدار ۴/۹۰ (میلی‌مولار ترولوکس بر گرم عصاره) نسبت به عصارهٔ حاصل از خیساندن با مقدار ۴/۴۰ (میلی‌مولار ترولوکس بر گرم عصاره) افزایش غیرمعنی‌داری را نشان داده است ($P>۰/۰۵$). میزان IC50 عصارهٔ استخراج حاصل از خیساندن بیشتر از مقدار IC50 عصارهٔ سیال فوق‌بحرانی، با مقادیر به‌ترتیب ۵/۸۰ و ۵/۱۰ بوده است که اختلاف مشاهده‌شده معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$).

بررسی همبستگی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنول کل

برای بررسی همبستگی بین ظرفیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی و محتوای فنول آنها، با استفاده از آزمون پیرسون انجام و نتایج به‌صورت جدول (۲) و شکل (۱) گزارش شده است. با استناد به نتایج ارائه‌شده در شکل (۱) با افزایش غلظت عصارهٔ استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی، میزان ترکیبات فنول افزایش یافته است و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر مبنای بازدارندگی DPPH نیز افزایش یافته است که نشان از وجود همبستگی بین مقادیر ترکیبات فنول و بازدارندگی DPPH است، در جدول (۲) ضریب همبستگی بین ترکیبات فنول و پارامتر بازدارندگی DPPH برابر با ۰/۸۷۲ ذکر شده است. بین محتوای فنول کل و خاصیت احیاکنندگی یون آهن نیز ارتباط مستقیمی وجود داشته است که ضریب همبستگی بیان‌شده برای این دو متغیر نیز ۰/۷۰۶ بوده که در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار بوده است. با افزایش میزان ترکیبات فنول نمونه‌های عصارهٔ انزروت استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش ABST نیز افزایش یافته است، ضریب همبستگی بین دو پارامتر ترکیبات فنول و ABST برابر با ۰/۸۴۵ بوده است که در سطح اطمینان ۹۹ درصد معنی‌دار است. ضریب همبستگی بین ترکیبات فنول کل و فسفومولیبدنم نیز برابر با ۰/۷۲۱ است و این ضریب برای تست کاپراک معادل با ۰/۸۰۹ است که در سطح اطمینان ۹۹ درصد معنی‌دار بوده است. با افزایش میزان ترکیبات فنول، مقادیر IC50 روندی معکوسی را نشان داده است که ضریب همبستگی باتوجه‌به نتایج جدول (۲) نیز برابر با ۰/۶۷۷- بوده است و این همبستگی در سطح ۹۵ درصد معنی‌دار معرفی شده است.

همان‌گونه‌که در جدول (۲) نیز گزارش شده است، علاوه‌بر ترکیبات فنول، ترکیبات فلاونوئیدی نیز دارای همبستگی معنی‌داری با فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی DPPH، FRAP، ABST، PMB و CUPRAC بوده است و ضرایب همبستگی بیان‌شده در سطوح ۹۵ درصد برای FRAP و در سطح ۹۹ درصد برای DPPH، ABST، PMB و CUPRAC معنی‌دار بوده است و بر میزان IC50 عصاره با ضریب ۰/۶۰۸ تأثیر معنی‌دار نداشته است. همبستگی بین روش‌های مختلف بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز بررسی شد و مطابق با نتایج مندرج در جدول (۲)، ضریب همبستگی بین مقادیر گزارش‌شده درصد بازدارندگی DPPH، با مقادیر گزارش‌شده برای FRAP معادل با ۰/۷۷۲ بوده است که بیانگر همبستگی معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد است. ضرایب همبستگی بین مقادیر بازدارندگی DPPH و ABST، PMB و CUPRAC نیز به‌ترتیب ۰/۹۱۸، ۰/۹۱۲ و ۰/۹۲۸ بوده است که بیانگر همبستگی معنی‌دار در سطح ۹۹ درصد است. نتایج آزمون پیرسون نشان داد که همبستگی بین متغیرهای FRAP با ABST و PMB، به‌ترتیب ۰/۷۷۴ و ۰/۷۷۸ بوده است و در سطح ۹۵ درصد همبستگی معنی‌داری وجود داشته است و با پارامتر CUPRAC نیز ضریب ارائه‌شده ۰/۸۵۴ بوده است که در سطح اطمینان ۹۹ درصد همبستگی بالایی را نشان داده است. بین نتایج ABST با نتایج حاصل از روش‌های PMB و CUPRAC نیز همبستگی مشاهده‌شده در سطح ۹۹ درصد معنی‌دار بوده است و ارتباط بین PMB و CUPRAC نیز با ضریب همبستگی برابر با ۰/۹۵۲ در سطح ۹۹ درصد معنی‌دار بوده است.



شکل ۱- بررسی همبستگی ترکیبات فنول کل و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی در حجم‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)

جدول ۲- ضرایب همبستگی حاصل از آزمون پیرسون بین محتوای ترکیبات فنول و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی

	فنول	فلاونوئید	IC50	DPPH	FRAP	ABST	PMB	CUPRAC
فنول	۱	۰/۷۴۵*	-۰/۶۷۷**	۰/۸۷۲**	۰/۷۶۰*	۰/۸۴۵**	۰/۷۲۱*	۰/۸۰۹**
فلاونوئید		۱	-۰/۵۵۳	۰/۸۸۷**	۰/۷۲۳*	۰/۹۱۳**	۰/۸۷۳**	۰/۸۹۹**
IC50			۱	-۰/۶۰۸	-۰/۱۱۴	-۰/۶۴۷	-۰/۴۸۷	-۰/۴۳۸
DPPH				۱	۰/۷۷۲*	۰/۹۱۸**	۰/۹۱۲**	۰/۹۲۸**
FRAP					۱	۰/۷۷۴*	۰/۷۷۸*	۰/۸۵۴**
ABST						۱	۰/۹۳۸**	۰/۹۵۲**
PMB							۱	۰/۹۵۲**
CUPRAC								۱

* همبستگی در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است.

** همبستگی در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار است.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استخراج عصارهٔ انزروت با روش سیال فوق‌بحرانی توانسته است، مقادیر ترکیبات فنول و فلاونوئید بالاتری را نسبت به عصارهٔ استخراج‌شده به روش خیساندن داشته باشد، بااین‌وجود این افزایش معنی‌دار نبوده است. استخراج ترکیبات موجود در ماتریکس‌های گیاهی، به عوامل متعددی بستگی دارد که مهم‌ترین آنها حلال و روش استخراج می‌باشند. انتخاب حلال و روش استخراج بستگی به قسمت‌های مختلف یک گیاه و نیز مواد متشکلهٔ آن دارد و بسیار مشکل خواهد بود که برای هر دسته از ترکیبات گیاهی، حلال مخصوصی انتخاب شود، زیرا همراه با این ترکیبات، مواد دیگری نیز وجود دارد که روی درجهٔ حلالیت این مواد تأثیرگذار می‌باشند (Weizhen & Lahu, 2011). ترکیبات فنولی شامل گروه وسیعی از ترکیبات هستند که ساختارهای متفاوت و اغلب قطبی دارند ولی ممکن است به علت اتصال گروه‌های غیرقطبی به مولکول آنها، دارای ساختمان غیرقطبی و محلول در حلال‌هایی با قطبیت کمتر نیز شده باشند (Weizhen & Lahu, 2011)، علاوه‌بر این، استخراج همچنین تحت‌تأثیر بسیاری از عوامل دیگر، مانند ترکیب حلال، زمان استخراج، دما، pH، نسبت جامد به مایع و اندازهٔ ذرات قرار دارد (Escribano-Bailon, 2003). در استخراج به روش سیال فوق‌بحرانی، از حلال اتانول به‌عنوان اصلاحگر استفاده شده است و حلال مورداستفاده در روش خیساندن متانول بوده است که باتوجه‌به قطبی‌بودن این حلال‌ها و همچنین قطبیت ترکیبات فنول توانسته است، مقادیر زیادی از ترکیبات مؤثر را استخراج کند. محتوای فنول و فلاونوئید کل نمونه‌ها در عصاره‌های استخراج‌شده با سیال فوق‌بحرانی بیشتر از خیساندن بوده است، از مهم‌ترین دلایل مؤثر بر استخراج ترکیبات فنولی با سیال فوق‌بحرانی، فشار، دما و زمان استخراج با سیال فوق‌بحرانی است، به‌گونه‌ای‌که در فشارهای پایین، مانند فشار ۱۰۰ بار که در این پژوهش استفاده شده است، دانسیتهٔ سیال کربن دی‌اکسید، پایین‌بوده و اتصال بین سیال و ترکیبات فنولی کمتر می‌شود و همین امر منجربه استخراج ترکیبات کمتری نیز می‌شود، که می‌تواند از دلایل میزان ترکیبات فنول و فلاونوئید استخراج‌شده در این پژوهش باشد، درمورد دما نیز بیان شده است که دمای بالا، منجربه‌افزایش ویسکوزیتهٔ سیال کربن دی‌اکسید و درنتیجه کاهش نفوذپذیری می‌شود، سرعت انتقال جرم کاهش می‌یابد و اگر در مدت زمان بالاتر در دمای نامناسب و بالا قرار بگیرد، امکان تخریب ترکیب وجود دارد (Paes, Dotta, Barbero, & Martínez, 2014). دمای استفاده‌شده در فرایند استخراج با سیال فوق‌بحرانی، ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد و مدت زمان فرایند، ۳۰ دقیقه بوده است و فشار استفاده‌شده در این فرایند نیز (۱۰۰ بار) بوده است، که فشار پایین مورداستفاده، ممکن است منجربه‌کاهش استخراج ترکیبات فنول در این پژوهش شده باشد و لازم است در این مورد، شرایط استخراج عصاره از صمغ انزروت با سیال فوق‌بحرانی، بهینه‌سازی شود. در پژوهشی مشابه Herzi، Bouajila، Camy، Romdhane و Condoret (۲۰۱۳) استخراج عصاره از گیاه سندروس[1] را با روش‌های سوکسله، تقطیر آبی و سیال فوق‌بحرانی موردمطالعه قرار دادند و گزارش کردند که بهترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصارهٔ استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی بوده است، آنها دلیل افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراج‌شده با سیال فوق‌بحرانی را زمان استخراج کم و عدم تخریب حرارتی بیان داشته است. فرزانه‌مقدم، سرگلزایی و بلوریان (۱۳۹۸) با بررسی و بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنولی میوهٔ عناب با سیال فوق‌بحرانی و اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی آن بیان داشتند که با افزایش فشار سیال فوق‌بحرانی از ۱۰۰ تا ۲۵۰ بار میزان استخراج ترکیبات فنولی افزایش یافته است و در فشارهای بالاتر از ۲۵۰ میزان ترکیبات مؤثر استخراج‌شده کاهش یافته است، بیشترین ترکیبات استخراج‌شده در فشار ۲۵۰ بار بوده است و با افزایش ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش یافته است. نتایج این پژوهش نشان داد که عصارهٔ حاصل از سیال فوق‌بحرانی، فعالیت بازدارندگی DPPH بالاتر و معنی‌داری را نسبت به عصارهٔ استخراج‌شده به روش خیساندن داشته است و با افزایش حجم عصاره (شکل ۱)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH نیز افزایش یافته است، ضریب همبستگی موردمطالعه بین ترکیبات فنول عصارهٔ سیال فوق‌بحرانی و فاکتور DPPH نیز معنی‌دار بوده است. میرزایی و دهقان (۱۳۹۵) بیان کردند که اگر چه بین ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی رابطهٔ مستقیمی

[1] Tetraclinis articulata

وجود دارد، اما فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ گیاهی فقط براساس محتوای ترکیبات فنولی نیست، عصاره‌ها شامل ترکیبات خیلی پیچیده و متنوعی از ترکیبات مختلف با فعالیت مشخص و متفاوت هستند و نمی‌توان فعالیت آنتی‌اکسیدانی را تنها به میزان فنول موجود در عصاره ربط داد.

در تست ABST، از رادیکال $ABST^{+}$ برای تخمین فعالیت آنتی‌اکسیدانی استفاده شده است، این رادیکال هم در حلال‌های آلی و هم حلال‌های آبی به‌صورت محلول است و می‌تواند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی لیپوفیلی و هیدروفیلی عصاره‌ها را نشان دهد، در این پژوهش بیان شد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی ABST و PMB در عصاره‌های استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی به‌صورت غیرمعنی‌دار بالاتر از عصاره‌های حاصل از خیساندن بوده است. قدرت احیاکنندگی عصاره‌ها با استفاده از دو روش CUPRAC و FRAP، نیز بررسی شد و مطابق با نتایج جدول (۱)، مقادیر بیان‌شده برای CUPRAC و FRAP بین دو روش سیال فوق‌بحرانی و خیساندن معنی‌دار نبوده است ($P>۰/۰۵$). IC50 گزارش‌شده برای عصارهٔ استخراج‌شده به روش سیال فوق‌بحرانی کمتر از عصارهٔ استخراج‌شده به روش خیساندن بوده است که بالابودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های سیال فوق‌بحرانی، پایین‌بودن IC50 را تأیید می‌کند.

مهدی‌نیا لی‌چایی و همکاران (۱۳۹۶) نیز استخراج عصارهٔ گیاه متکا[1] با روش فراصوت و سیال فوق‌بحرانی را بررسی کردند و گزارش دادند که محتوای فنولیک ترکیبات استخراج‌شده در روش سیال فوق‌بحرانی و فراصوت، اختلاف معنی‌داری با هم نداشته است، اما در بررسی بازدارندگی DPPH مشخص شده است که عصارهٔ حاصل از سیال فوق‌بحرانی، افزایش معنی‌داری نسبت به عصارهٔ حاصل از فراصوت داشته است. Ferrentino و همکاران (۲۰۲۰) نیز بیان داشتند که استخراج اسانس روغنی از دانه‌های سیب به روش سیال فوق‌بحرانی، میزان ترکیبات فنول بالاتری را نسبت به روش سوکسله نشان داده است که با تحقیق‌های این پژوهش هم‌خوانی ندارد، در پژوهش Ferrentino و همکاران (۲۰۲۰) از فشارهای ۱۰ تا ۳۰ مگاپاسکال استفاده شده است که در مقایسه با ۱۰ مگاپاسکال (۱۰۰ بار) فشار استفاده‌شده در این پژوهش، شرایط متعادل‌تری را ایجاد کرده است. به‌گونه‌ای‌که Ferrentino و همکاران (۲۰۲۰) بیان داشته است استفاده از فشار حدود ۲۴ مگاپاسکال به‌همراه دمای ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد، بهترین شرایط استخراج بوده است و با افزایش فشار سیال فوق‌بحرانی، راندمان استخراج کاهش یافته است.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که استخراج عصارهٔ انزروت با روش سیال فوق‌بحرانی، در شرایط فشار ۱۰۰ بار، ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد و زمان استخراج ۳۰ دقیقه، میزان ترکیبات فنول و فلاونوئید بالاتری را نسبت به عصارهٔ استخراج‌شده با خیساندن داشته است که این تفاوت معنی‌دار نبوده است، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ سیال فوق‌بحرانی نسبت به خیساندن بیشتر بوده است که در بررسی میزان فعالیت DPPH، نسبت به عصارهٔ حاصل از خیساندن افزایش معنی‌داری را داشته است. راندمان استخراج در روش سیال فوق‌بحرانی ۱۵/۹۱ و برای استخراج به روش خیساندن ۲۶/۳۱ درصد بوده است و همبستگی بین ترکیبات فنول و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی DPPH، FRAP، ABST، PMB، CUPRUC و IC50 در سطوح ۹۵ و ۹۹ درصد معنی‌دار بوده است. با استناد به نتایج این پژوهش می‌توان بیان کرد، صمغ انزروت ترکیبی غنی از ترکیبات فنول و فلاونوئید است که تأثیر معنی‌داری بر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی داشته است و توانسته است اکسیداسیون را کاهش دهد. باتوجه‌به هزینهٔ بالای استخراج ترکیبات مؤثر با روش سیال فوق‌بحرانی، شرایط استخراج سیال فوق‌بحرانی موجود در این پژوهش در مقیاس‌های صنعتی مناسب نیست و نیاز به بهینه‌سازی شرایط می‌باشد.

[1] *Ferula persica*

منابع

فرزانه‌مقدم، ف.، سرگلزایی، ج.، و بلوریان، ش. (۱۳۹۸). استخراج ترکیبات فنولی میوه عناب با سیال فوق بحرانی کربن دی‌اکسید و بهینه‌سازی و اندازه گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی آن. *پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران*، ۱۵(۵)، ۵۲۹-۵۴۲. doi:https://doi.org/10.22067/ifstrj.v15i5.74636

مهدی‌نیا لی‌چایی، ب.، اسماعیل‌زاده‌کناری، ر.، و دین‌پناه، غ. (۱۳۹۶). بهینه سازی استخراج عصاره گیاه متکا با روش های فراصوت و سیال فوق بحرانی و بررسی فعالیت ضد اکسایشی عصاره آن. *علوم و صنایع غذایی ایران*، ۱۴(۷۳)، ۵۱-۵۹.

میرزایی، ز.، و دهقان، غ. (۱۳۹۵). ارتباط بین تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی با مقادیر متفاوت ترکیبات فنولی. *مجله مطالعات علوم پزشکی*، ۲۷(۴)، ۳۲۱-۳۲۹.

نصرتی، ف.، فاخری، ب.، سلوکی، م.، مهدی‌نژاد، ن.، و ولی‌زاده، م. (۱۳۹۸). بررسی برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گیاه دارویی انزروت (*Astragalus fasciculifolius* Boiss) در رویشگاه‌های طبیعی جنوب استان سیستان و بلوچستان. *تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*، ۳۵(۱)، ۶۸-۷۹. doi:https://doi.org/10.22092/ijmapr.2019.121991.2327

Al-Dhabi, N. A., Arasu, M. V., Park, C. H., & Park, S. U. (2014). Recent studies on rosmarinic acid and its biological and pharmacological activities. *EXCLI journal, 13*, 1192-1195. doi:https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.253

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Esin Karademir, S., & Erçağ, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International journal of food sciences and nutrition, 57*(5-6), 292-304. doi:https://doi.org/10.1080/09637480600798132

Arasu, M. V., Jung, M. W., Kim, D. H., Park, H. S., Ilavenil, S., Al-Dhabi, N. A., & Choi, K. C. (2015). Identification and phylogenetic characterization of novel Lactobacillus plantarum species and their metabolite profiles in grass silage. *Annals of microbiology, 65*(1), 15-25. doi:https://doi.org/10.1007/s13213-014-0830-2

Balachandran, C., Sangeetha, B., Duraipandiyan, V., Raj, M. K., Ignacimuthu, S., Al-Dhabi, N., . . . Arasu, M. V. (2014). A flavonoid isolated from Streptomyces sp.(ERINLG-4) induces apoptosis in human lung cancer A549 cells through p53 and cytochrome c release caspase dependant pathway. *Chemico-Biological Interactions, 224*, 24-35. doi:https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.09.019

Benabderrahim, M. A., Sarikurkcu, C., Elfalleh, W., & Ozer, M. S. (2019). Datura innoxia and Dipsacus laciniatus: Biological activity and phenolic composition. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 19*, 101163. doi:https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101163

Capuzzo, A., Maffei, M. E., & Occhipinti, A. (2 .(۰۱۳Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances. *Molecules, 18*(6), 7194-7238. doi:https://doi.org/10.3390/molecules18067194

Cheung, L., Cheung, P. C., & Ooi, V. E. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food chemistry, 81*(2), 249-255. doi:https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00419-3

Delfanian, M., Esmaeilzadeh Kenari, R., & Sahari, M. A. (2015). Antioxidative effect of loquat (Eriobotrya japonica Lindl.) fruit skin extract in soybean oil. *Food Science & Nutrition, 3*(1), 74-80. doi:https://doi.org/10.1002/fsn3.193

Escribano-Bailon, M. (2003). Polyphenol extraction from foods. In C. S.-B. Mike Saltmarsh, Gary Williamson (Ed.), *Methods in polyphenol analysis*.

Farzaneh Moghaddam, F., Sargolzaei, J & ,Bolourian, S. (2019). Optimization of phenolic compounds extraction of Ziziphus Jujuba using supercritical fluid of carbon dioxide and measurement of its antioxidant activity. *Iranian Journal Food Science and Technology Research, 15*(5), 529-542. doi:https://doi.org/10.22067/ifstrj.v15i5.74636 (in Persian)

Ferrentino, G., Giampiccolo, S., Morozova, K., Haman, N., Spilimbergo, S., & Scampicchio, M. (2020). Supercritical fluid extraction of oils from apple seeds: Process optimization, chemical characterization and comparison with a conventional solvent extraction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 64*, 102428. doi:https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102428

Glišić, S. B., Mišić, D. R., Stamenić, M. D., Zizovic, I. T., Ašanin, R. M., & Skala, D. U. (2007 .(Supercritical carbon dioxide extraction of carrot fruit essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. *Food chemistry, 105*(1), 346-352. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.062

Herzi, N., Bouajila, J., Camy, S., Romdhane, M & ,Condoret, J.-S. (2013). Comparison of different methods for extraction from Tetraclinis articulata: Yield, chemical composition and antioxidant activity. *Food chemistry, 141*(4), 3537-3545. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.065

Huang, C., Xu ,D., Xia, Q., Wang, P., Rong, C., & Su, Y. (2012). Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance of human hepatic cancer cells by Astragaloside II. *Journal of Pharmacy and Pharmacology, 64*(12), 1741-1750. doi:https://doi.org/10.1111/j.2042-715۸,۲۰۱۲,۰۱۵۴۹x

Huang, X., Wang, D., Hu, Y., Lu, Y., Guo, Z., Kong, X., & Sun, J. (2008). Effect of sulfated astragalus polysaccharide on cellular infectivity of infectious bursal disease virus. *International Journal of Biological Macromolecules, 42*(2), 16-۶ .۱۷۱doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2007.10.019

Jaradat, N., Adwan, L., K'aibni, S., Zaid, A. N., Shtaya, M. J., Shraim, N., & Assali, M. (2017). Variability of chemical compositions and antimicrobial and antioxidant activities of Ruta chalepensis leaf essential oils from three Palestinian regions. *BioMed research international, 2017*. doi:https://doi.org/10.1155/2017/2672689

Kim, S.-J., Rahman, M. M., Lee, M.-k., Seo, J. M., Arasu, M. V., Suzuki, T., . . . Shim, J.-h. (2014). Identification and quantification of volatile and phenolic compounds composition in Buckwheat Sprouts by GC/MS and HPLC. *Asian Journal of Chemistry, 26*(3), 777. doi:http://dx.doi.org/10.14233/ajchem.2014.15538

Kocak, M. S., Sarikurkcu, C., Cengiz, M., Kocak, S., Uren, M. C & ,.Tepe, B. (2016). Salvia cadmica: Phenolic composition and biological activity. *Industrial Crops and Products, 85*, 204-212. doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.015

Lee, S.-W., Seo, J. M., Lee, M.-K., Chun, J.-H., Antonisamy, P., Arasu, M. V . . . ,.Kim, S.-J. (2014). Influence of different LED lamps on the production of phenolic compounds in common and Tartary buckwheat sprouts. *Industrial Crops and Products, 54*, 320-326. doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.024

Li, X., Qu, L., Dong ,Y., Han, L., Liu, E., Fang, S., . . . Wang, T. (2014). A review of recent research progress on the astragalus genus. *Molecules, 19*(11), 18850-18880. doi:https://doi.org/10.3390/molecules191118850

Lu, J., Chen, X., Zhang, Y., Xu, J., Zhang, L., Li, Z . . . ,.He, X. (2013). Astragalus polysaccharide induces anti-inflammatory effects dependent on AMPK activity in palmitate-treated RAW264. 7 cells. *International journal of molecular medicine, 31*(6), 1463-1470. doi:https://doi.org/10.3892/ijmm.2013.1335

Mehdinia lichaei, B., Esmaeilzadeh kenari, R., & Dinpanah, G. (2018). Optimization of extraction of Ferula persica plant extract using ultrasound and supercritical fluid methods and investigation antioxidant activity of its extract. *Food Science and Technology, 14*(73), 51-59.(in Persian)

Mirzaee, Z., & Dehghan, G. (2016). The relationship between the antioxidant activity with different amounts of phenolic compounds. *Studies in Medical Sciences, 27*(4), 321-329 . (in Persian)

Nosrati, F., Fakheri, B., Solouki, M., Mahdi Nezhad, N., & Valizadeh, M. (2019). Analysis of some phytochemical characteristics of Astragalus fasciculifolius Boiss. in natural habitats of South Sistan and Baluchistan Province, Iran. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 35*(1), 68-79. doi:https//:doi.org/10.22092/ijmapr.2019.121991.2327 (in Persian)

Paes, J., Dotta, R., Barbero, G. F., & Martínez, J. (2014). Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) residues using supercritical CO2 and pressurized liquids. *The Journal of Supercritical Fluids, 95*, 8-16. doi:https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.07.025

Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science, 2*(4), 152-159. doi:https://doi.org/10.101/۶S1360-1385(97)01018-2

Sarikurkcu, C., Sahinler, S. S., & Tepe, B. (2020). Astragalus gymnolobus, A. leporinus var. hirsutus, and A. onobrychis: Phytochemical analysis and biological activity. *Industrial Crops and Products, 150*, 112366. doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112366

Singh, R., Sharma, S., & Sharma, V. (2015). Comparative and quantitative analysis of antioxidant and scavenging potential of Indigofera tinctoria Linn. extracts. *Journal of integrative medicine, 13*(4), 269-278. doi:https//:doi.org/10.1016/S2095-4964(15)60183-2

Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture, 28*(1), 49-55 .

Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology, 17*(6), 300-312. doi:https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004

Weizhen, C., & Lahu, Y. (2011). Outline for British Pharmacopoeia 2011. *Chin. Pharm. Aff, 9* .

Xia, G.-H ,.Li, X.-H., Zhang, Z., & Jiang, Y.-h. (2021). Effects of fermentation treatments on Polygonatum odoratum flavones' antioxidant activities. *Saudi Journal of Biological Sciences, in Press*. doi:https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.01.026

Zengin, G., Sarikurkcu, C., Gunes, E., Uysal, A., Ceylan, R., Uysal, S., . . . Aktumsek, A. (2015). Two Ganoderma species: profiling of phenolic compounds by HPLC–DAD, antioxidant, antimicrobial and inhibitory activities on key enzymes linked to diabetes mellitus, Alzheimer's disease and skin disorders. *Food & Function, 6*(8), 2794-2802. doi:https://doi.org/10.1039/C5FO00665A

Study on the Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Gum Extract of *Astragalus fasciculifolius* Boiss

Najmeh Khademi Pour[1], Anoushe Sharifan[2*], Hosein Bakhoda[3]

1- PhD. Student, Department of Food Biotechnology, Science and Research university, Tehran, Iran
2- Associate Professor, Department of Food Biotechnology, Science and Research university, Tehran, Iran
*Corresponding author (a_sharifan@srbiau.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Mechanization, Science and Research university, Tehran, Iran

Abstract

According to consumers trend for using natural conservator compounds, the efforts for finding new herbal resources replaced with synthetic antioxidant has increased. Anzarut is a medicinal plant with *Astragalus fasciculifolius* Boiss and belongs to the Astragalus genus and Fabaceae family. This research aimed to study the effect of two methods of extraction (supercritical fluid and maceration by methanol as solvent) on impressive composition in *Astragalus fasciculifolius* Boiss, also examining antioxidant activities and finding correlation coefficient between phenol and flavonoid content and capacity of antioxidant. The result showed phenol and flavonoid content in gum extract by supercritical fluid was more than extracts by maceration, and this difference was significant ($P>0.05$). Most of the antioxidant activity in all methods include 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2 Azino-bis (3-ethylbenzothiazloine-6-sulfonic acid) (ABST), Cupric ion reducing activity (CUPRAC), Phospho molybdenum (PMB), ferric ion reduction capacity (FRAP) was observed in gum extract by supercritical fluid, but only the increase in the DPPH method was found significant. Correlation findings that resulted in coefficients were significant ($P\leq0.05$), and there was a good relation between antioxidant capacity and phenolic compounds. Citing our findings, using supercritical fluid at 100Mp, 35 °C, and 30 min did not significantly affect antioxidant activity compared with maceration. According to the high cost of extraction by supercritical fluid, this method must be optimized.

Keywords: Antioxidant activity, *Astragalus fasciculifolius* Boiss, Supercritical fluid