Archive of SID

دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۴، شماره ۵، صفحه ۷۶۵-۷۵۷ (۱۳۹۷)
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2018.116261.2191

کاربرد کروماتوگرافی گازی برای شناسایی و تعیین مقدار اسیدهای چرب دانه *Ferulago angulate* (Schlecht.) Boiss. و بررسی خواص فیتوشیمیایی آن

راضیه شیخی[۱]، قدسیه باقرزاده[۲*] و روح‌اله خانی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گرایش فیتوشیمی، دانشکده علوم، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

۲*- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

پست الکترونیک: gbagherzade@gmail.com, bagherzadeh@birjand.ac.ir

۳- استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۶ تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۷

چکیده

گیاه چویل با نام علمی *Ferulago angulate* (Schlecht.) Boiss. متعلق به تیره چتریان (Apiaceae) است. بیش از ۳۵ گونه در جهان و ۷ گونه در ایران رشد می‌کند؛ سه گونه بومی آن شامل *Ferulago phialocarpa* Rech. f. & H. Reidl.، *Ferulago contracta* Boiss. & Hausskn. و *Ferulago angulate* (Schlecht.) Boiss. است. این پژوهش به‌منظور تعیین میزان و ترکیب اسیدهای چرب و اندازه‌گیری ترکیب‌های فنلی، فلاونوئید، تانن و آنتی‌اکسیدان موجود در گیاه چویل بومی منطقه ایذه در استان خوزستان انجام شد. در این تحقیق اندام‌های مختلف گیاه در اردیبهشت سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری و در شرایط معین خشک گردید. اندازه‌گیری ترکیب‌های موجود در دانه گیاه انجام شد. اندازه‌گیری محتوای فنل و فلاونوئید کل در عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی با استفاده از روش اسپکتروفتومتری انجام و نتایج حاصل برحسب میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌گرم گیاه خشک برای نمونه‌های جمع‌آوری شده بیان گردید. میزان کل تانن برای هر یک از نمونه‌های جمع‌آوری شده، با استفاده از نمودار استاندارد بر حسب تانیک اسید و با استفاده از روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه، با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد ۲و´۲-دی‌فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه‌گیری شد. استخراج روغن موجود در گیاه از طریق دستگاه سوکسله و با استفاده از حلال n-هگزان انجام و برای شناسایی ترکیب‌های موجود در روغن گیاه از روش GC-Mass استفاده شد. براساس نتایج این تحقیق که برای اولین بار بر روی دانه این گونه گیاه انجام‌شده است، معین گردید که دو اسید چرب اولئیک اسید (۶۳/۶٪) و لینولئیک اسید (۱۹/۷٪) بیشترین مقدار اسید چرب را به خود اختصاص دادند. از سوی دیگر کمترین مقدار درصد اسید چرب مربوط به میرستئیک اسید و هپتادکانوئیک اسید با (۰/۱٪) است.

واژه‌های کلیدی: چویل (*Ferulago angulate* (Schlecht.) Boiss.)، فنل، فلاونوئید، تانن، آنتی‌اکسیدان.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

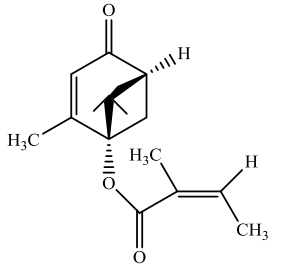
خانواده چتریان در بین گیاهان از گستردگی وسیعی برخوردار است. این خانواده شامل ۳۰۰ نوع گونه گیاهی و ۳۰۰۰ گونه معطر می‌باشد که اغلب در ساختار آنها ترپن‌ها و سزکوئی ترپن‌ها دیده می‌شوند. گیاهان این خانواده یکساله، دوساله و چندساله هستند. *Ferulago angulata* گیاهی از خانواده چتریان، از نوع گیاهان گل‌دار، شاخه گیاهی نهاندانگان و رده دولپه‌ای‌هاست. روغن‌های گیاهی، چربی‌هایی هستند که در دمای محیط مایع هستند. این روغن‌ها بیشتر از بخش‌های مختلف گیاه از قبیل بذر، میوه و یا جوانه گیاه استخراج می‌شوند. از نظر شیمیایی، روغن ها مخلوطی از تری‌گلیسرید اسیدهای چرب بلند زنجیره اشباع یا غیراشباع هستند؛ به بیان دیگر استر گلیسرول و اسیدهای چرب بلند زنجیر می‌باشند. اسیدهای چرب اشباع شامل دسته ای از اسیدهای چرب هستند که در ساختار مولکولی آنها پیوند دوگانه وجود ندارد. اغلب این ترکیب‌های فرّار به علت ساختار آب‌گریزی در آب نامحلول هستند. اسیدهای چرب غیراشباع طبیعی که در ساختار گیاهان وجود دارند حداقل دارای دو پیوند دوگانه می‌باشند و بیشتر به صورت مایعاتی بی‌رنگ هستند. در ساختمان دسته‌ای از چربی‌ها اسیدهای چرب با پیوند سه‌گانه نیز مشاهده شده‌اند. میزان ترکیب‌های مؤثره در گیاهان و همچنین عملکرد آنها در اکوسیستم به عواملی مانند موقعیت جغرافیایی، اقلیم منطقه، ارتفاع از سطح دریا، خاک و نوع گونه وابسته است. هر یک از این عوامل بر کیفیت و کمّیت محصول گیاهی مؤثر است (Omidbaigi, 2009). ترکیب‌های فنلی به‌دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیلی، می توانند به‌عنوان دهنده الکترون عمل کنند و رادیکال های آزادشده را خنثی کنند. ترکیب‌های فنلی که وزن بیشتری دارند توانایی بیشتری در پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد دارند که این توانایی بیشتر به ماهیت گروه‌های جابه‌جاشونده هیدروکسیلی و تعداد حلقه‌های آروماتیکی و همچنین موقعیت گروه هیدروکسیل بستگی دارد (Amirghofran *et al.*, 2006). همچنین مطالعات نشان داده است که مواد مغذی موجود در روغن های گیاهی می‌توانند به‌عنوان منبعی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی عمل کرده و رادیکال‌های آزاد موجود را در بدن مهار کرده و به‌عنوان یک ضد سرطان عمل نمایند. یکی از مهمترین ویژگی‌های گیاه چویل القاء سلول‌های آپوپتوز در درمان سلول‌های بدخیم سرطانی بوده است (Naseri *et al.*, 2013). گیاهان دارویی با توجه به دارا بودن ترکیب‌های فنلی زیاد، از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردارند و ثابت شده است که ارتباط قابل توجهی بین مقدار ترکیب های فنلی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی آنها وجود دارد؛ ازاین‌رو می‌توانند به‌عنوان یک پایه برای استفاده به عنوان داروی جدید و یا در طراحی آنها بکار گرفته شوند (Elmasta *et al.*, 2006).

Ferulago angulate در ایران چویل نام دارد که سه گونه بومی منطقه خوزستان شامل *Ferulago phialocarpa*، *Ferulago contracta* و *Ferulago angulata* است (Khalighi-Sigaroodi *et al.*, 2006؛ Khanahmadi *et al.*, 2009). این گیاه در کشورهای ترکیه، سوریه، لبنان، عراق، ایران پراکنش دارد (Baser *et al.*, 2002). گیاه چویل در ایران در ارتفاعات شمال‌شرقی، شمال‌غربی و بیشتر در مناطق کوهستانی زاگرس مرکزی و ناحیه ایرانی و تورانی می‌روید (Taran *et al.*, 2010). گیاه چویل در فاصله دمایی ۱۵ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد دارای حداکثر رشد است. خاک مناسب برای رشد آن، سنگ‌ریزه‌ای با شوری و قلیائیت بسیار ناچیز با عمق کم و در بعضی نقاط نیمه‌عمیق است. چویل گیاهی است سبز کمی مایل به تیره، خوش عطر و بو، دارای برگ هایی شبیه گیاه رازیانه است، اما چویل نسبت به رازیانه دارای برگ های کشیده‌تر و ساقه‌ای لطیف و تُردتر است. چویل از لحاظ مورفولوژی گیاهی است پایا، علفی و عموماً بدون کرک، ساقه‌های این گونه گیاهی دارای ارتفاع ۶۰ تا ۱۵۰ سانتی‌متراست که عموماً کانال‌دار و شیاردار است؛ گلبرگ های گیاه بدون کرک و به رنگ زرد، همچنین برگ های آن قاعده‌ای به طول ۴۰-۲۰ و عرض ۳۰-۲۰ سانتی متر از دسته گل آذین ها و پانیکول است که دارای چترهای میوه‌دار به طول ۴-۱/۵ سانتی متر هستند. این گیاه در مناطق کوهستانی سرسبز و برف گیر زاگرس روییده و با آغاز فصل بهار و ذوب شدن برف ها شروع به رشد می‌کند. گیاه چویل در گذشته

www.SID.ir

Archive of SID

به‌عنوان آرام‌بخش، مسکن و دارویی مقوی برای تقویت قوای جنسی بکار می‌رفت (Ozturk *et al.*, 2004). اثرهای ضد میکروبی گیاه چویل بر روی استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و سالمونلا تیفی با عصاره‌های آبی و اتانولی در شرایط آزمایشگاهی انجام شده است (Rustaiyan *et al.*, 2002). گونه گیاهی *ferulago* سابقه استفاده طولانی در طب سنتی دارد. از کاربردهای آن می‌توان به خاصیت نگه‌دارنده، آنتی‌اکسیدان، آرام بخش، ضدانگل، مؤثر در درمان فشار خون و اختلالات طحال اشاره کرد (Demetzos *et al.*, 2000). همچنین گیاه چویل دارای فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی مانند ضد باکتری، ضد انعقاد، ضدالتهاب و ضدویروس است (Abdelaal Selim & Hassan Ouf, 2012). تحقیقات Verma و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که فلاونوئید موجود در عصاره گیاه باعث کاهش سطح قند خون شده است. فلاونوئید موجود در گیاه چویل باعث افزایش توان پاسخ ایمنی هومورال و کاهش (کلسترول بد بدن) (Low-density lipoprotein) LDL، تری‌گلیسیرید و (کلسترول خوب بدن) (High-density lipoprotein) HDL خون می‌گردد. همچنین گفته شده که بهره‌برداری از پودر گیاه چویل باعث کاهش معنی‌دار برخی باکتری‌های زیان‌بار و افزایش باکتری‌های سودمند گردیده، در حالی‌که افزایش وزن توده بدنی را موجب نمی‌شود. مطالعات Baser و همکاران (۲۰۰۲) بر روی گیاه چویل، فعالیت ضد میکروبی یک مونوترپن استری جدید را به نام فرولاگون نشان داد. در شکل ۱ ساختار فرولاگون نشان داده شده است.



شکل ۱- ساختار فرولاگون

آنتی‌اکسیدان ها با خنثی کردن رادیکال های آزاد موجب کاهش اثرهای مخرب آنها و پیشگیری از ایجاد تعدادی از بیماری‌ها می‌شود (Khanahmadi *et al.*, 2009). با توجه به اینکه رادیکال های آزاد می‌توانند باعث ابتلاء انسان به تعداد زیادی از بیماری‌ها گردند، ازاین‌رو استفاده از گیاه چویل برای رفع یا کاهش این موضوع می‌تواند مؤثر باشد. همچنین با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه چویل و کاربرد این ترکیب‌ها به‌عنوان نگه دارنده در صنایع عطرسازی، آرایشی و بهداشتی و صنایع غذایی، استفاده این گیاه از این جنبه نیز حائز اهمیت است (Fernandez-Agullo *et al.*, 2013). Rustaiyan و Sedagat (۲۰۰۲) در واکنشی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه چویل در شرایط آزمایشگاهی توسط رادیکال DPPH بر مبنای IC_{50} را به اثبات رسانده‌اند.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه

در این تحقیق گیاه چویل در اوایل فصل بهار سال ۱۳۹۵ از منطقه کوه سفید شهرستان ایذه واقع در شمال‌شرق استان خوزستان جمع‌آوری گردید. این گیاه در نقاط صعب‌العبور منطقه از ارتفاع ۲۷۰۰ تا ۳۲۰۰ متری و در تمام جهات و با فراوانی بیشتر در شیب های شمالی و برف گیر رشد می‌کند. بعد از شستشو با آب، هر یک از اندام‌های گیاه (دانه، گل و برگ) از هم جدا و در اتاقی در معرض جریان هوا و دور از نور خورشید خشک گردید. سپس اجزای گیاه خشک شده، به‌صورت مجزا در اندازه‌های مناسب خرد و برای انجام آزمایش‌های فیتوشیمیایی در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده علوم، گروه شیمی دانشگاه بیرجند نگهداری شد.

روش عصاره‌گیری گیاه

بعد از اینکه آماده‌سازی گونه گیاهی انجام شد، عصاره آبی، اتانولی و متانولی گیاه برای انجام مطالعات فیتوشیمیایی استخراج گردید. برای تهیه عصاره از روش ماسراسیون استفاده گردید. بدین صورت که در ابتدا ۱۰۰ گرم از پودر هر

www.SID.ir

Archive of SID

یک از قسمت های گیاه را در ۳۰۰ میلی‌لیتر از حلال (آب، اتانول و متانول) ریخته و به‌مدت ۲۴ ساعت (دور ۲۵۰ در دقیقه) هم زده شد. سپس عصاره‌ها برای اندازه‌گیری میزان فنل، فلاونوئید، تانن و قدرت آنتی‌اکسیدان مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری میزان چربی کل

برای استخراج چربی کل از روش پیوسته استخراج استفاده شده است. اساس این روش بر مبنای مجاورت گیاه با حلال غیرقطبی مانند هگزان است. بدین‌منظور ۵ گرم نمونه آسیاب شده گیاه (اندام های هوایی و بذر به طور جداگانه) داخل محفظه سوکسله قرار داده شد؛ آنگاه ۳۰۰ میلی‌لیتر n–هگزان به‌عنوان حلال چربی گیاه به بالن دستگاه اضافه و سیستم به مدت ۸ ساعت (تا بی‌رنگ شدن کامل حلال محفظه سوکسله) در نقطه‌جوش حلال حرارت داده شد. پس از استخراج، حلال به وسیله روش تبخیر در خلأ حذف شد و چربی باقیمانده در بالن توزین گردید و درصد چربی برای اندام‌های مختلف گیاه محاسبه شد. درصد روغن بدست‌آمده در جدول ۱ نشان داده شده است.

آنالیز متیل‌استر اسیدهای چرب با کروماتوگرافی گازی

برای آنالیز متیل‌استر اسیدهای چرب از دستگاه کروماتوگرافی گازی ساخت شرکت Varian مدل ۶۸۹۰ مجهز به ستون مویینی سیلیکائی با طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر استفاده شد. دمای ستون ۱۷۵ درجه سانتی‌گراد، دمای آشکارساز ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و دمای محفظه تحریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت جریان گاز حامل هلیم ۱/۲ میلی‌لیتر بر دقیقه بود.

شناسایی اسیدهای چرب موجود در روغن گیاه

تهیه متیل‌استر اسیدهای چرب

مقدار ۰/۱ گرم از نمونه روغن بدست آمده توزین شد و به یک ارلن ۵۰ میلی‌لیتری منتقل گردید. سپس به ارلن ۵ میلی‌لیتر BF_3 به عنوان استاندارد داخلی اضافه گردید. نمونه به مدت ۲ دقیقه رفلاکس، سپس مقدار ۱ میلی‌لیتر هپتان به محلول در حال جوش اضافه و پس از یک دقیقه محلول تا دمای محیط سرد شد. پس از سرد شدن مقدار کمی محلول سدیم کلرید اشباع به محلول اضافه شد و به خوبی مخلوط گردید. حدود یک میلی‌لیتر از لایه بالایی (محلول هپتان) به لوله آزمایش منتقل‌شده و مقداری سدیم سولفات بدون آب (به عنوان ماده جاذب رطوبت) به آن اضافه گردید. نمونه‌ها را به‌مدت ۴ دقیقه سانتریفیوژ کرده (۲۵۰۰ دور در دقیقه) (Hectic ZENTRIFUGEN ROTOFIX 32 A) و محلول حاصل که حاوی متیل‌استر اسیدهای چرب بود به ستون کروماتوگرافی گازی تزریق گردید.

اندازه‌گیری ترکیب‌های فنلی کل عصاره

برای تعیین ترکیب های فنلی از محلول استاندارد گالیک اسید با غلظت های مختلف استفاده شد. بدین‌منظور ابتدا ۰/۱ میلی لیتر از استاندارد یا عصاره، ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین فنل شیکالتو و ۲ میلی لیتر محلول سدیم کربنات ۱۰٪ با هم مخلوط و در دمای اتاق در تاریکی قرار داده شد. پس از گذشت یک ساعت جذب نمونه ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت گردید. سپس منحنی کالیبراسیون با استفاده از جذب نمونه‌های استاندارد رسم و غلظت ترکیب های فنلی در گیاه با استفاده از معادله خط بدست آمد (Makkar *et al*., 1993).

اندازه‌گیری مقدار فلاونوئید کل عصاره

برای تعیین ترکیب‌های فلاونوئیدی از محلول استاندارد روتین با غلظت های مختلف استفاده گردید. اندازه‌گیری فلاونوئیدها به روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم (Bousselsela *et al*., 2012) با مقداری تغییر انجام شد. بدین‌منظور، یک میلی لیتر از استاندارد یا عصاره و یک میلی لیتر محلول کلرید آلومینیوم ۲٪ را باهم مخلوط کرده و به حجم رسانده شد. سپس ۳ میلی‌لیتر از محلول ۱۰٪ سدیم

www.SID.ir

Archive of SID

استات به آن افزوده شد. میزان جذب نور بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در حضور شاهد در ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Win X-ma 2000) خوانده شد. با استفاده از جذب محلول های استاندارد منحنی کالیبراسیون رسم و براساس معادله خط بدست آمده غلظت فلاونوئیدها در گیاه محاسبه گردید.

اندازه‌گیری مقدار تانن در عصاره

برای اندازه گیری مقدار تانن موجود در عصاره از معرف تانیک اسید با غلظت های مختلف استفاده شد. برای هر لوله آزمایش ۰/۱ گرم PVP (Polyvinylpyrrolidone) یک میلی‌لیتر عصاره و یک میلی‌لیتر آب‌مقطر ریخته شد. لوله‌ها به مدت پنج دقیقه هم زده و بعد از ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرارگرفتند، آنگاه نمونه‌ها به مدت پنج دقیقه سانتریفوژ گردید (۳۰۰۰ دور در دقیقه) و بعد محلول شفاف حاصل جدا گردید. آنگاه جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Rhazi *et al*., 2015).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدان

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی از ترکیب DPPH استفاده شد. بدین‌منظور عصاره‌گیری با حلال متانول ۸۰٪ و در مجاورت امواج اولتراسونیک (ULTRACONIC-DT 255H BANDELIN) انجام شد. برای تهیه غلظت های مختلف عصاره متانولی تهیه و بعد یک میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار به ۳ میلی‌لیتر از عصاره افزوده و مخلوط حاصل به‌شدت هم زده شد. جذب نمونه‌ها پس از ۳۰ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (محلول بلانک شامل حلال است). برای بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از رابطه IC_{50} استفاده شد. بدین‌منظور، ابتدا درصد مهار DPPH محاسبه و در مقابل غلظت عصاره نمودار آن رسم گردید (Guerrero *et al*., 2006).

نتایج

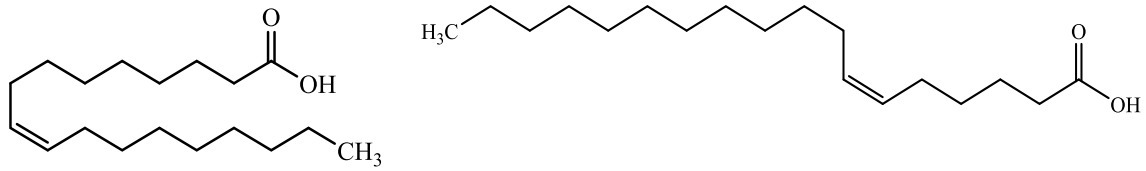
تعداد نوزده اسید چرب در روغن دانه گیاه چویل شناسایی شد که ۱۰۰٪ کل اسیدهای چرب روغن را تشکیل می‌داد. نتایج همچنین نشان می‌دهد که عمده‌ترین اسید چرب شناسایی‌شده مربوط به اسید چرب پتروسلینیک اسید ($C_{18:1}$) بوده است که شامل: (n-12) $C_{18:1}$ اسید اولئیک (۶۳/۶٪) و (n-9)$C_{18:1}$ اسید لینولئیک (۱۹/۷٪) است.

جدول ۱- اسامی اسیدهای چرب و میزان درصد آنها در دانه گیاه چویل

شماره	ترکیب اسید چرب	درصد مقدار ترکیب
۱	Lauric acid ($C_{12:0}$)	۲/۴
۲	Lauroleic acid ($C_{12:1}$)	۰/۳
۳	Myristic acid ($C_{14:0}$)	۰/۱
۴	Myristoleic acid ($C_{14:1}$)	۰/۱
۵	Palmitic acid ($C_{16:0}$)	۶/۲
۶	Palmitoleic acid ($C_{16:1c}$)	۰/۸
۷	Palmitoleic acid ($C_{16:1t}$)	۰/۳
۸	Heptadecanoic acid ($C_{17:0}$)	۰/۱
۹	Stearic acid ($C_{18:0}$)	۱/۶
۱۰	Oleic acid ($C_{18:1}$)	۶۳/۶
۱۱	Linoleic acid ($C_{18:1}$)	۱۹/۷
۱۲	Trans-linoleic acid ($C_{18:3t}$)	۰/۶
۱۳	α-Linoleic acid($C_{18:3c}$)	۰/۳
۱۴	Gondoic acid ($C_{20:1c}$)	۰/۳
۱۵	Arachidic acid ($C_{20:0}$)	۰/۹
۱۶	Behenic acid ($C_{22:0}$)	۰/۴
۱۷	Erucic acid ($C_{22:1c}$)	۰/۲
۱۸	Lignoceric acid ($C_{24:0}$)	۰/۶
۱۹	Nervonic acid ($C_{24:1c}$)	۰/۲

www.SID.ir

Archive of SID



اسید اولئیک　　اسید پتروسلینیک

شکل ۲- دو اسید چرب مهم شناسایی‌شده در دانه گیاه چویل

دو اسید چرب غیراشباع که برای بدن انسان مهم هستند لینولئیک اسید و لینولنیک اسید می‌باشند (شکل ۲). بیشترین اسید چرب موجود در بذر گیاهان خانواده چتریان، اسید پتروسلینیک است. در پی تحقیقات Fukumoto و Mazza (۲۰۰۰) نشان داده شد که بیشترین درصد اسید چرب در بذر گشنیز مربوط به ترکیب هایی ازجمله پتروسلینیک اسید، لینولئیک اسید و اولئیک اسید بوده است.

همچنین طبق نتایج بدست آمده در جدول ۲ میزان فنل کل در عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی از معادله رگرسیون منحنی کالیبراسیون گالیک اسید y=۰/۰۰۶۵x+۰/۰۳۸ استنتاج گردید. میزان فنل کل استخراج شده توسط عصاره آبی بیشترین میزان را نسبت به حلال های دیگر به خود اختصاص می‌دهد. بالاترین میزان فنل کل در بین اندام‌های مختلف گیاه چویل (جدول ۲) مربوط به عصاره آبی دانه است. آب یک حلال قطبی و پروتیک است و به این دلیل برای جداسازی ترکیب‌های فنلی حلال مناسبی است. در مطالعات انجام شده توسط Mohammadi و همکاران (۲۰۱۵)، نشان داده شد که بیشترین میزان ترکیب های فنلی در عصاره آبی بوده است که این نکته با نتایج بدست‌آمده همخوانی دارد.

جدول ۲- میزان ترکیب‌های فنلی گیاه چویل

(برحسب میلی‌گرم بر گرم گیاه خشک)

اندام	عصاره		
	اتانولی	متانولی	آبی
دانه	۱۲/۷۶۸	۴/۹۴۴	۲۵/۵۳۶
گل	۱۷/۷۱۲	۲۲/۸۰۰	۲۰/۶۸۸
ساقه	۱۱/۵۹۲	۱۸/۹۶۰	۱۶/۷۵۲

نتایج مربوط به اندازه‌گیری ترکیب های فلاونوئیدی برحسب میلی گرم روتین بر میلی‌گرم گیاه خشک در جدول ۳ نشان داده شده است. از ۳ حلال متانول، آب و اتانول برای استخراج ترکیب‌های فلاونوئید استفاده گردید؛ برای هر یک میزان جذب محلول های استاندارد بدست آمده و در نهایت بهترین حلال تعیین شد. میزان ترکیب‌های فلاونوئیدی در عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی از رابطه رگرسیون منحنی کالیبراسیون روتین y=۰/۰۰۵۹x+۰/۲۵۷۴ بدست آمد.

جدول ۳- میزان فلاونوئید گیاه چویل

(برحسب میلی‌گرم بر گرم گیاه خشک)

اندام	عصاره		
	اتانولی	متانولی	آبی
دانه	۳/۶۲۹	۴/۲۳۵	۰/۱۹۲
گل	۴/۲۳۸	۴/۳۰۵	۲/۶۱۴
ساقه	۱/۰۷۱	۱/۵۹۹	۰/۰۴۵

نتایج حاصل از اندازه‌گیری تانن کل در جدول ۴ برحسب میلی گرم تانیک اسید بر میلی‌گرم گیاه خشک نشان داده شده است. نتایج ارائه شده نشان می دهد که میزان تانن موجود در اندام های مختلف گیاه در مراحل رشد مختلف متفاوت است و در عصاره متانولی گل بیشترین مقدار و در عصاره آبی ساقه کمترین مقدار را دارد.

نتایج حاصل از اندازه گیری خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی براساس میزان IC_{50} در جدول ۵ برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره گزارش شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- میزان تانن گیاه چویل
(برحسب میلی‌گرم بر گرم گیاه خشک)

اندام	عصاره		
	اتانولی	متانولی	آبی
دانه	۱/۰۳۷	۰/۴۵۷	۰/۷۴۷
گل	۱/۲۱۱	۱/۲۳۰	۰/۰۵۵
ساقه	۰/۳۰۶	۱/۲۱۰	۰/۰۱۳

جدول ۵- فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه چویل

عصاره نمونه	دانه	گل	ساقه
فعالیت آنتی‌اکسیدانی IC_{50} (µg/mL)	۹۰/۰۶	۷۲/۹۵	۴۵/۷۸

به علت اینکه میزان تجمع ترکیب های فنلی در دانه گیاه چویل از سایر اندام ها بیشتر بود، بنابراین انتظار داریم که فعالیت آنتی اکسیدانی این اندام بیشتر از سایر بخش های دیگر گیاه باشد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

$$(IC_{50}(\mu g/ml)) = [Abs_0\text{-}Abs_1/Abs_0]\times 100$$

بحث

طبق بررسی‌های انجام شده روی پیشینه گیاه چویل هیچ‌گونه فعالیت فیتوشیمیایی بر روی اندام‌های مختلف گیاه انجام نشده است و بررسی‌های فیتوشیمیایی و شناسایی اسیدهای چرب گونه گیاهی چویل در منطقه کوه سفید در حوالی شهرستان ایذه برای اولین بار انجام شده است. مطالعات انجام شده نشان داد که گیاه چویل از فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی برخوردار است (Kaur *et al.*, 2011)؛ به‌دلیل این خاصیت، در سیستم غذایی و بیولوژیکی با باند کردن رادیکال های آزاد از اکسیدشدن چربی و تنش های اکسیداتیو در بدن جلوگیری می کند. در این مطالعه ارزیابی میزان فنل، فلاونوئید، تانن، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و شناسایی و اندازه‌گیری اسیدهای چرب گیاه چویل انجام شده است. ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدان با روش DPPH بر مبنای IC_{50} نشان داد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دانه گیاه نسبت به اندام‌های گل و ساقه بیشترین مقدار را داراست. عصاره گیاه چویل میزان فنلی و فلاونوئید بالایی دارد و فعالیت آنتی اکسیدانی خوبی را نشان می دهد که با محتوای فنلی گیاه رابطه مستقیم دارد. فلاونوئیدها از مهمترین ترکیب های فنلی هستند که خاصیت ضدالتهابی، ضد باکتری، ضد تب، ضد آلرژی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارند. طبق نتایج بدست آمده در جدول ۳ میزان فلاونوئید موجود در عصاره متانولی اندام گل گیاه نسبت به سایر اندام‌های گیاهی بیشتر است. فنل ها و ترکیب های پلی‌فنلی مانند فلاونوئیدها اهمیت ویژه‌ای در صنایع غذایی و دارویی دارند. گیاه دارویی Ferulago به‌خوبی به‌عنوان یک منبع غنی از ترکیب های فعال بیولوژیکی مانند کومارین‌ها، فورانو کومارین‌ها، پیرانوکومارین‌ها، ترپن‌ها، مونوترپن، ترکیب های معطر، فلاونوئیدها و فنیل پروپانوئیدها است (Jimenez et al., 2000). ترکیب های فنلی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی شامل فلاونوئیدها، تانن‌ها، آنتوسیانین‌ها و غیره هستند که معمولاً در میوه‌ها، سبزی‌ها، برگ‌ها، دانه‌ها، ریشه و در سایر قسمت‌های گیاه دیده می‌شوند. اولئیک اسید، اسید چربی با فرمول شیمیایی $C_{18}H_{34}O_2$ و لینولئیک اسید با فرمول شیمیایی $C_{18}H_{32}O_2$ دو اسید چرب غیراشباع یا ضروری هستند که در بسیاری از گیاهان خانواده چتریان یافت می‌شوند. طبق نتایج بدست آمده در جدول ۱ نشان داده شد که بیشترین درصد اسید چرب موجود در گیاه چویل مربوط به دو ترکیب اولئیک و لینولئیک اسید بوده است. همان طور که جدول ۱ نشان می‌دهد اختلاف قابل توجهی بین میزان اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چرب غیراشباع در گیاه چویل وجود دارد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاون محترم پژوهشی دانشگاه بیرجند و دانشکده علوم، که امکان این پژوهش را فراهم نموده‌اند، اعلام می‌داریم.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مورد استفاده

- Abdelaal Selim, Y. and Hassan Ouf, N., 2012. Anti-inflammatory new coumarin from the *Ammi majus* L. Organicand Medicinal Chemistry Letters, 2: 1-4.
- Amirghofran, Z., Bahmani, M., Azadmehr, A. and Javidnia, K., 2006. Anticancer effects of various Iranian native medicinal plants on human tumor cell lines. Neoplasma, 53: 428-433.
- Baser, H.C., Demirci, B., Demirci, F., Hashimoto, T., Yoshinori, A. and Yoshiaki, N.A., 2002. Ferulagone: A new monoterpene ester from *Ferulago thirkeana* essential oil. Planta Medica, 68(6): 564-567.
- Bousselsela, H., Benhouda, A., Yahia, M., Benbia, S., Ghecham, A. and Zidani, A., 2012. In vitro evaluation of antioxidant and antibacterial activites of extracts of *Hertia cheirifolias* leaves. Nutural Science, 4(11): 825-831.
- Demetzos, C., Perdetzoglou, D., Gazouli, M., Tan, K. and Economakis, C., 2000. Chemical analysis and antimicrobial studies on three species of *Ferulago* from Greece. Planta Medica, 66: 560-563.
- Elmasta, M., Drirtas, I., Isildak, O. and Aboul-Enein, H.Y., 2006. Antioxidant activity of S-Carone isolated from Spearmint (*Mentha Spicata* L.). Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 29(10): 1465-1475.
- Fernandez-Agullo, A., Pereira, E., Freire, M.S., Valentao, P., Andrade, P.B., Gonzalez Alvarez, J. and Pereira, J.A., 2013. Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. Industrial Crops and Products, 42: 126-132.
- Fukumoto, L.R. and Mazza, G., 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(8): 3597-3604.
- Guerrero, J.L.G., Guirado, C.M., Fuentes, M.M.R. and Pérez, A.C., 2006**.** Nutrient composition and antioxidant activity of 10 pepper (*Capsicum annuun*) varieties. European Food Research and Technology, 224: 1-9.
- Jimenez, B., Grande, M.C., Anaya, J., Torres, P. and Grande, M., 2000. Coumarins from *Ferulago capillaris* and *F. brachyloba*. Phytochemistry, 53: 1025-1031.
- Kaur, R., Kapoor, K. and Kaur, H., 2011. Plants as a source of anticancer agents. Journal of Natural Product and Plant Resources, 1: 119-124.
- Khalighi-Sigaroodi, F., Hadjiakhoondi, A., Shafiee, A., Mozaffarian, V.A., Shahverdi, A.R. and Alavi, S.H.R., 2006. Phytochemical analysis of *Ferulago bernardii* Tomk & M.Pimen. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 14(4): 214-221.
- Khanahmadi, M., Rezazade, Sh., Shahrezaei, F. and Taran, M., 2009. Study on chemical composition of essential oil and anti-oxidant and anti-microbial properties of *Artemisia haussknechtii*. Journal of Medicinal Plants, 3(31): 132-141.
- Makkar, H.P.S., Bluemmel, M., Borowy, N.K. and Becker, K., 1993. Total phenolic, flavonoids and tannin contents in different extracts of *Artemisia absinthium*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 61: 161-165.
- Mohammadi, A., Amiri, H., Khodayari, H., Zarei, A., Eghbali, D. and Azarbani, F., 2015. Phytochemical and anti-Candida evaluation of essential oil of Thymus eriocalyx (Ronniger) Jalas. In different stages of plant growth in Lorestan province. Eco-phytochemistry of medicinal plants, 3(2): 8-17.
- Naseri, M., Monsef-Esfahani, H.R., Saeidnia, S., Dastan, D. and Gohari, A.R., 2013. Antioxidant coumarins from rotts of *Ferulago subvelutina*. Asian Journal of chemistry, 25: 1875-1878.
- Omidbaigi, R., 2009. Production and Processing Of Medicinal Plants (Vol. 1). Astan Quds Razavi, 438p.
- Ozturk, B., Gur, S., Coskun, M., Kosan, M., Erdurak, C., Hafez, G., Ozgunes, O. and Cetinkaya, M., 2004. Relaxant effect of *Ferulago syriaca* root extract on human corpus cavernosum. European Urology Supplements, 3: 62.
- Rhazi, N., Hannache, H., Oumam, M., Sesbou, A., Charrier, B., Pizzi, A. and Bouhtoury, F.Ch., 2015. Green extraction process of tannins obtained from Moroccan *Acacia mollissima* barks by microwave: Modeling and optimization of the process using the response surface methodology RSM. Arabian Journal of Chemistry, In press. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535215001343.
- Rustaiyan, A. and Sedagat, S., 2002. *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss. From Iran. Journal of Essential Oil Research, 14(6): 447-448.
- Rustaiyan, A., Sedaghat, S., Larijani, K., Khossravi, M. and Masoudi, S., 2002. Composition of the essential oil of *Ferulago angilata* (Schlecht.) Boiss. Essential Oil Research, 14: 447-448.
- Taran, M., Ghasempour, H.R. and Shirinpour, E., 2010. Antimicrobial activity of essential oils of *Ferulago angulata* subsp. *carduchorum*. Jundishapur Journal of Microbiology, 3(1): 10-14.
- Verma, L., Singour, P.K., Chaurasiya, P.K., Rajak, H., Pawar, R.S. and Patil, U.K., 2010. Effect of ethanolic extract of *Cassi occidentalis* Linn. for the management of alloxan-ind uced diabetic rats. Pharmacognosy Research, 2: 132-137.

www.SID.ir

Archive of SID

The application of gas chromatography to detect and analyze the fatty acids content and its phytochemical properties in *Ferulago angulate* (Schlecht.) Boiss.

R. Sheykhi[1], Gh. Bagherzade[2*] and R. Khani[3]

1- M.Sc. of Phytochemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Birjand, Birjand, Iran
2*- Corresponding author, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Birjand, Birjand, Iran
E-mails: gbagherzade@gmail.com, bagherzadeh@birjand.ac.ir
3- Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Birjand, Birjand, Iran

Received: November 2017 Revised: July 2018 Accepted: July 2018

Abstract

Chavil (*Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss.), belonging to the apiaceae family, consists of 35 species in the world. While seven species exist in Iran, three species including *Ferulago phialocarpa, Ferulago contracta* Boiss., and *Ferulago angulata* are native to Khuzestan province. The present research was conducted to determine the composition and content of fatty acids, phenolic compounds, flavonoid, tannin and antioxidant in *Ferulago angulata* native to Izeh region, Khuzestan province. In this research, different organs of the plant were collected in may 2016 and dried under certain conditions. The measurement of compounds in the seeds was performed. The content of phenol and total flavonoid in the methanol, ethanol, and water extracts was measured with spectrophotometric method and the results were expressed as mg of gallic acid per mg of dry matter. The total tannin content of samples was determined using tannic acid as standard spectrophotometrically. Furthermore, the antioxidant activity of plant extracts was evaluated by inhibiting free radical 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Oil extraction from seeds was carried out by Soxhlet apparatus using n-hexane as solvent, and the GC-Mass method was used to identify the compounds in the plant oil. According to the results of this research, carried out on the seeds of this plant for the first time, it was determined that oleic acid (63.6%) and linoleic acid (19.7%) had the highest content of fatty acid and the lowest content of fatty acid content was related to myristic acid and heptadecanoic acid (0.1%).

Keywords: *Ferulago angulate* (Schlecht.) Boiss., phenol, flavonoid, tannin, antioxidant.

www.SID.ir