مقایسهٔ خواص آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ برگ و دانهٔ گیاه کینوا: مطالعهٔ آزمایشگاهی

تهمینه اسفندیاری سبزوار [۱*]، مریم تاتاری[۲]، حبیب‌الله فرخی[۳]

۱. دانشجوی دکترای گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان
۲. مدرس دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیروان، شیروان، ایران
۳. مسئول سازمان فنی و حرفه‌ای پسران شهرستان شیروان، شیروان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۲/۰۴
تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۱۸

چکیده

اهداف کینوا (گیاهی شبیه به برنج و دارای برگ و دانه) با نام علمی *Quino chenopodium. Willd* گیاهی است که به‌دلیل ارزش غذایی بالا، مورد توجه واقع شده است. وجود ترکیبات مغذی از جمله ترکیب اسید آمینه، اسیدهای چرب ضروری، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، مواد معدنی و ویتامین‌ها سبب شده است تحقیقاتی دربارهٔ ویژگی‌های این گیاه انجام شود، در حالی‌که تاکنون مطالعات کمی در ایران به‌عمل آمده است.

مواد و روش‌ها به‌منظور بررسی فواید تغذیه‌ای گیاه کینوا، خواص آنتی‌اکسیدانی برگ‌ها و دانهٔ این گیاه ارزیابی شده است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه در برابر رادیکال‌های DPPH به‌شدت به محتوای فنلی نمونه بستگی دارد. در این تحقیق با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا، مواد متشکلهٔ عصارهٔ دانه و برگ تفکیک و سپس شناسایی شد. همچنین، خواص آنتی‌اکسیدانی آن به‌روش تخریب رادیکال‌های آزاد (DPPH) سنجیده و برای اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی از روش Follin-Ciocalteu استفاده شد.

یافته‌ها میزان فنول کل در عصارهٔ دانه و برگ کینوا به‌ترتیب ۵۴/۴ و ۷۶/۳ (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره) و میزان فلاونویید در عصارهٔ دانه و برگ کینوا به‌ترتیب ۲۶/۳ و ۳۶/۷ (میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره) به‌دست آمد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که غلظت عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی تأثیر معناداری بر مهار رادیکال آزاد DPPH دارد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری نتایج شناسایی مواد تشکیل‌دهندهٔ عصارهٔ برگ کینوا نشان داد که این عصاره حاوی درصد بالاتری از ترکیبات فنلی (۴۰/۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره) و در نتیجه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به دانهٔ این گیاه است.

کلیدواژه‌ها:
ترکیب فنولی، خواص آنتی‌اکسیدان، فلاونویید، کینوا.

مقدمه

کینوا با نام علمی *Quino chenopodium. Willd* گیاهی سنتی است با قدمت ۵۰۰۰ ساله. کینوا بومی کوه‌های آند در بولیوی، شیلی و پروست و شبه غلاتی است که پخته مصرف می‌شود. تا این اواخر، کشت این گیاه برای امرار معاش در آمریکای جنوبی صورت می‌گرفت، ولی با توجه به معرفی جهانی و افزایش مصرف این گیاه کشت آن در سایر نقاط دنیا آغاز شد [۱].

این گیاه امروزه مورد توجه بسیاری از افرادی است که به‌دنبال تغییر سبک‌زندگی خودند. گیاه کینوا نسبت به برنج سبک‌تر است و راحت‌تر هضم می‌شود. به‌همین دلیل، جایگزین مناسبی برای برنج به‌شمار می‌رود. دانه‌های کینوا منبعی غنی از کربوهیدرات (۷۷/۶ درصد)، پروتئین (۱۲/۹ درصد)، منیزیم،

* **نویسندهٔ مسئول: اسفندیاری سبزوار**
نشانی: دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان، شیروان ایران

تلفن: **دورنگار:** -
رایانه: tesphandyari@yahoo.com
شناسه ORCID: 0000-0002-2146-7262

مجلهٔ علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۵، شمارهٔ ۳، مرداد و شهریور ۱۳۹۷، ص
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۷۴۸۷-۱۶۰۶

فیبر، فسفر، ویتامین B1، B2، B6، B9، پتاسیم، آهن (در مجموع ۳/۰ درصد)، لیپید (۶/۵ درصد) و جز آن است و نه آمینو اسید ضروری دارد [۲].

از برگ‌های جوان این گیاه نیز به‌صورت سبزی تازه یا پخته در ترکیب غذایی استفاده می‌شود. برگ‌های این گیاه حاوی مقادیر کافی فیبر (۱/۹ درصد)، نیترات (۰/۴ درصد)، سدیم (۲۸۹ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم)، ویتامین C (1/2 g/kg-2/3) و پروتئین (27-30g/kg) است [۳] و پتانسیل بالقوه‌ای برای مکمل‌های غذایی استفاده می‌شود. فراتر از عملکرد تغذیه‌ای، این گیاه در ارتقای سلامت و جلوگیری از ایجاد بیماری‌ها نیز نقش دارد.

ویژگی‌های اکسیدکنندگی اکسیژن نقش حیاتی در اعمال بیولوژیکی متفاوت مثل استفاده از غذا، و انتقال الکترون برای تولید ATP دارد، در حالی که اکسیژن برای حیات ضروری است، همچنین، باعث اکسیدکردن مواد درون سلول می‌شود و نقش تخریب‌کننده دارد [۴].

توانایی افزایش تولید مولکول‌های فعال شیمیایی، از جمله گونه‌های فعال اکسیژن، ویژگی کلی فاکتورهای تنش‌زایی است که موجودات زنده هر روز در معرض آن قراردارند [۵]. اکسیژن به اشکال بسیار فعال مثل رادیکال‌های سوپراکسید (O^{-2})، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تبدیل می‌شود و به DNA آسیب می‌رساند، یا اینکه آنزیم‌های ضروری و پروتئین‌های ساختاری را تخریب می‌کند. همچنین، واکنش های زنجیره‌ای از کنترل خارج‌شده مثل واکنش‌های اتواکسایشی و پراکسایشی را برمی‌انگیزد [۶].

پلی‌فنول‌ها انواعی از آنتی‌اکسیدان‌هاست که در جلوگیری از بسیاری بیماری‌ها از جمله سرطان نقش دارد [۷]. این ترکیبات بسیار متنوع است و آثار متفاوتی دارد. ترکیبات فنولی شامل ویتامین‌ها، رنگ‌دانه‌ها و فلاونوییدها، ویژگی‌های ضدجهشی و در نتیجه ضدسرطانی، همچنین فعالیت کاهش قند خون را بر عهده دارد [۷]. این ترکیبات متابولیت‌های ثانویهٔ فعال گیاهی است که به فراوانی در میوه‌ها، دانه‌ها و برگ‌ها یافت می‌شود. این ترکیبات در شرایط آزمایشگاهی، فعالیت پاداکسایشی قوی در زمینهٔ مهار گونه‌های فعال اکسیژن، نیتروژن، کلرین، آنیون سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسیل، هیپوکلروس اسید و پراکسی نیتروس اسید نشان داده است [۸]. همچنین، این ترکیبات قادر به چنگالی کردن یون‌های فلزی و در نتیجه کاهش فعالیت پرواکسیدانی این یون‌هاست[۸].

فلاونوییدها و اسیدهای فنولی مهم‌ترین گروه‌های پلی‌فنولی را تشکیل می‌دهند. اسیدهای فنولی عمده در گیاهان مشتقات هیدروکسیل‌شدهٔ بنزوییک و سینامیک اسیدهاست. هیدروکسی سینامیک اسیدها به‌فراوانی در اغلب گیاهان یافت می‌شود، اما میزان هیدروکسی بنزوییک اسید گیاهان خوراکی به‌طور کلی بسیار پایین است. به‌دلیل مزیت‌های سلامتی‌بخش اسیدهای فنولی، تحقیقات روی این ترکیبات گیاهی در چند سال اخیر رو به افزایش است [۹]. اسیدهای فنولی ترکیبات پاداکسایشی قوی است و عملکرد ضدمیکربی، ضدویروسی، ضدسرطان‌زایی، ضدالتهابی و اتساع عروق آن گزارش شده است [۹،۱۰].

در تحقیق دینی و همکاران [۱۱] در سال ۲۰۰۴، در دانه‌های کینوای برداشت‌شده از آمریکای جنوبی مقادیری ترکیبات فلاونوییدی شناسایی شد. در سال ۲۰۰۳ موروتا [۱۲] گزارشی مبنی بر عملکرد بیولوژیکی فلاونوییدها ارائه کرد. وی نشان داد که این نوع عملکرد وابسته به بخش آگلیگونی آن است، بنابراین آنالیز کمّی و کیفی این بخش در فلاونویید گلیکوزیدها اهمیت ویژه‌ای دارد.

البته، تاکنون اطلاعات زیادی در مورد ارزش تغذیه‌ای اندام سبز این گیاه، همچنین ترکیبات فنلی برگ‌های این گیاه در دسترس نیست [۱۳]. بنابراین، هدف از این پژوهش تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان برخی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی عصارهٔ برگ و دانهٔ گیاه کینوا نظیر فنل کل و فلاونویید کل است تا بتوان بخشی از این گیاه را انتخاب و برداشت کرد که بیشترین مقدار ترکیبات و خصوصیت آنتی‌اکسیدانی را دارد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تحقیقی آزمایشگاهی است، شامل جمع‌آوری، شناسایی، عصاره‌گیری از گیاه کینوا (دانه و برگ)، اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی، فلاونوییدی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاه. تمام مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک آلمان و رادیکال آزاد (DPPH) از شرکت سیگمای

آمریکا خریداری شد و بالاترین درصد خلوص را دارا بود.

به‌منظور مطالعهٔ پژوهشی-کاربردی در مورد کینوا، نمونه‌های این گیاه در پاییز از رویشگاه طبیعی آن (استان خوزستان) به‌صورت محلی جمع‌آوری شد. نمونه‌های دانه (۱۰۰ میلی گرم) با آسیاب به‌صورت پودر درآمد. برای تهیهٔ عصارهٔ الکلی، این مقدار از پودر داخل لولهٔ آزمایش ریخته و با اتانول (۲/۱، حجمی/حجمی) به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. نمونه‌ها به‌مدت ۶۰ دقیقه در ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد روی دستگاه روتامتر قرارگرفت. سپس با فیلتر صاف شد [۱۴].

برای استخراج شیمیایی (اتانول) عصارهٔ برگ‌ها، مقدار ۱ گرم از برگ خشک با ۲۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد (حجمی/حجمی) به‌مدت ۱ساعت در دمای اتاق ترکیب شد. پس از آن به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و محلول رویی جدا شد. این عمل دوباره تکرار شد. پس ازآن، فاز مایع جدا شد که حاوی حلال و عصاره بود و به‌کمک دستگاه روتاری اواپراتور مدل Hbcontrol و با دمای ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد تغلیظ و حلال تا حد امکان جداسازی شد [۱۵].

اندازه‌گیری محتوای تام فنلی عصاره‌ها

محتوای تام فنولیکی با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. به ۱۰۰ میکرولیتر از هر عصاره ۱۰۰ میکرولیتر واکنشگر فولین سیوکالتیو ۰/۲ نرمال اضافه و پس از ۵ دقیقه،۷۰۰ میکرولیتر از محلول ۷۵ گرم بر لیتر کربنات سدیم به آن اضافه شد. نمونه در لولهٔ اپندورف به‌مدت ۲ ساعت در تاریکی نگهداری شد و پس از این مدت، جذب مخلوط در طول موج ۷۳۵ نانومتر با دستگاه اسپکتوفوتومتر در مقابل بلانک قرائت شد.

اسید گالیک استاندارد برای رسم منحنی کالیبره‌سازی به‌کار رفت. میزان تام فنولیک بر اساس میزان معادل «میلی‌گرم اسید گالیک در گرم عصاره» گزارش شد. آزمایش‌ها سه بار تکرار و میانگین آن گزارش شد [۱۶].

اندازه‌گیری محتوای تام فلاونویید عصاره‌ها

محتوای تام فلاونوییدی با استفاده از معرف کلرید آلومینیم اندازه‌گیری شد. به ۰/۲۵ میلی‌لیتر از هر عصاره، ۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۱۵ میلی‌لیتر محلول سدیم نیتریت ۵ درصد اضافه شد. پس از ۵ دقیقه، ۰/۱۵ میلی‌لیتر محلول آلومینیم کلرید ۱۰ درصد اضافه و بلافاصله محلول فوق با ۱/۲ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شد. جذب مخلوط نیم ساعت بعد از نگهداری در دمای اتاق، در طول موج ۵۱۰ نانومتر در مقابل بلانک خوانده شد. کل محتوای فلاونوییدی بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش شد. آزمایش‌ها سه بار تکرار و میانگین آن گزارش شد [۱۷].

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی

بررسی خاصیت آنتی‌رادیکالی به‌روش DPPH، توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون در ترکیبات و عصاره‌های مختلف در این تست با میزان بی‌رنگ‌کردن محلول بنفش ۲و۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل یا (DPPH) در متانول سنجش شد. مخلوط واکنش شامل ۲ میلی‌لیتر عصاره در رقت‌های مختلف و ۲ میلی‌لیتر محلول الکلی حاوی DPPH (۰/۱۵ میلی‌مولار) است. پس از ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در تاریکی، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر علیه بلانک قرائت شد. پس از آن درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH محاسبه شد [۱۸].

غلظتی از عصاره‌های گیاه دارای درصد مهار رادیکالی ۵۰ درصد IC_{50} تعریف می‌شود. هر چه این عدد کوچک‌تر باشد، قدرت آنتی‌اکسیدانی یا مهار رادیکال‌های آزاد بیشتر است. در این تست کنترل مثبتی از آنتی‌اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) استفاده و همهٔ آزمایش‌ها سه مرتبه تکرار شد.

آنالیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

از میان تکنیک‌های جداسازی، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) بیشترین رشد و کارایی را داشته است و سالیانه میلیون‌ها دلار صرف خرید و فروش دستگاه‌های HPLC در دنیا می‌شود. علت این رشد را می‌توان به حساسیت بالا، تعیین مقدار کمی با صحت بالا، قابلیت آنالیز نمونه‌های غیرفرار و حساس به دما نسبت داد که با تکنیک GC (کروماتوگرافی گازی) امکان‌پذیر نیست. در تحقیق حاضر برای تجزیهٔ کمّی و کیفی اسیدهای فنولی و فلاونوییدها از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا استفاده شد.

فاز متحرک مورد استفاده در این بررسی شامل آب دیونیزه، متانول، اسید استیک با نسبت ۲:۱۸:۸۰ میلی‌لیتر

(حجمی/حجمی)، سرعت جریان فاز متحرک در ستون ۱ میلی‌لیتر در هر دقیقه، سیستم مورد استفاده ایزوکراتیک و دمای ستون ۲۸ درجهٔ سانتی‌گراد بود.

برای اندازه‌گیری محتوای گالیک اسید، کافئیک اسید و کلروژنیک اسید نمونه و ترکیبات فلاونوییدی، میزان ۲۰ میکرولیتر از عصارهٔ فنولی و فلاونوییدی استخراجی (تهیهٔ عصاره) بعد از تغلیظ با دستگاه تبخیرکنندهٔ چرخشی و عبور از فیلتر ۰/۲میکرون جداگانه به ستون دستگاه HPLC تزریق شد. با مقایسهٔ زمان تأخیر و سطح زیرمنحنی نمونه، با نمونه‌های استاندارد در طول موج ۲۸۰ نانومتر، میزان اسیدهای فنولی شناسایی و میزان این ترکیبات ا رسم منحنی استانداردها تعیین شد [۱۹].

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری شامل تجزیهٔ واریانس داده‌ها ($p<۰/۰۵$) برای تیمارهای غلظت‌های مختلف به‌کارگیری عصارهٔ برگ و دانه در تست آنتی‌اکسیدان DPPH، همچنین مقایسهٔ میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن است که با به‌کارگیری بستهٔ نرم‌افزاری SAS، نسخهٔ ۹، انجام گرفت.

یافته‌ها و بحث

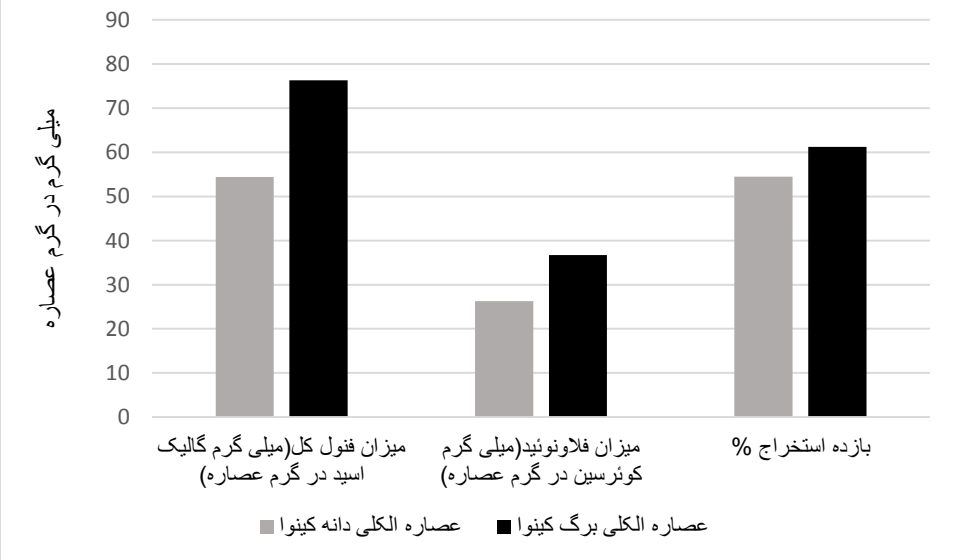
میزان ترکیبات فنولی در عصاره‌ها

هضم بسیار بالای دانه‌های کینوا و ارزش غذایی فوق‌العادهٔ آن، استفادهٔ بالقوهٔ آن را به‌عنوان منبع غلات جدید، و عمدتاً در تغذیهٔ انسان، همچنین در تغذیهٔ حیوانات در پی داشته است [۲۰].

جدول ۱ و شکل ۱ میزان کل ترکیبات فنولی و بازده استخراج عصاره‌های الکلی دانه و برگ کینوا را نشان می‌دهد. میزان کل ترکیبات فنولی به‌روش فولین سیوکالتو و بر اساس منحنی استاندارد گالیک اسید تعیین شد. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود عصارهٔ برگ غنی از ترکیبات فنولی و فلاونوییدی (به‌ترتیب ۷۶/۳ و ۳۶/۷ میلی‌گرم بر گرم عصاره) و میزان بازده استخراج نیز قابل‌ملاحظه است.

جدول ۱. میزان کل ترکیبات فنولی و بازده استخراج عصارهٔ الکلی کینوا

نمونه	میزان فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره)	میزان فلاونویید (میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره)	بازده استخراج (٪)
عصارهٔ الکلی دانهٔ کینوا	۵۴/۴±۰/۳۵	۲۶/۳±۰/۲۳	۵۴/۵±۰/۹۸
عصارهٔ الکلی برگ کینوا	۷۶/۳±۰/۶۷	۳۶/۷±۰/۴۳	۶۱/۲±۱/۲



شکل ۱. میزان کل ترکیبات فنولی و بازده استخراج عصارهٔ الکلی کینوا

همچنین، با استفاده از روش ABTS (3-ethylobenzothiazoline-6-sulphonate) با v. Aztek و v. Rawa، بیشترین

مقدار در دانه‌های کینوا مشاهده شد (۲/۲ ± ۲/۲).

پناریتا و همکاران با استفاده از داده‌های موجود در مورد کینوا و استفاده از روش ABTS بالاترین مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل TAC را ارائه کردند. (۲۵) نتایج به‌دست‌آمده برای کینوا نزدیک به داده‌های به‌دست‌آمده برای چاودار (Gallardo و همکاران، ۲۰۰۶) بود.(۲۵) مقدار کل پلی‌فنول‌های کل در دانه‌های چاودار به‌طور معناداری بیش از بذرهای آمارانت بود و نیسمبا و همکاران اثر مشابهی را مشاهده کردند [۲۱].

فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

جدول ۲ و شکل ۲ میزان کاهش جذب محلول DPPH را در غلظت‌های مختلف هر دو عصاره و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که غلظت عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی تأثیر معناداری بر مهار رادیکال آزاد DPPH دارد (p<۰/۰۰۵). فعالیت ضدرادیکالی در عصارهٔ برگ و دانهٔ کینوا و نیز در آنتی‌اکسیدان سنتزی وابسته به غلظت بود، به‌طوری که با افزایش غلظت عصاره‌ها بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر، درصد مهارکنندگی عصارهٔ الکلی برگ و دانه به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافت. در تمامی فعالیت غلظت‌های مورد بررسی آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT ضدرادیکالی بالاتری به خود اختصاص داد.

میزان IC_{50} عصارهٔ برگ و دانه و BHT به‌ترتیب ۲۸/۵، ۴۳/۲ و ۲۱/۳ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد. در تمامی گیاهان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوییدی رابطهٔ مستقیم دارد [۲۲]. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی، به‌دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به‌دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره‌ها افزایش می‌یابد. بدین ترتیب، باعث توقف پیشروی واکنش زنجیری طی فرایند اکسایش می‌شود [۲۲]. نوع، ماهیت و غلظت ترکیبات پلی‌فنولی موجود در عصاره‌های گیاهی در میزان فعالیت ضدرادیکالی عصارهٔ گیاهی مؤثر است.

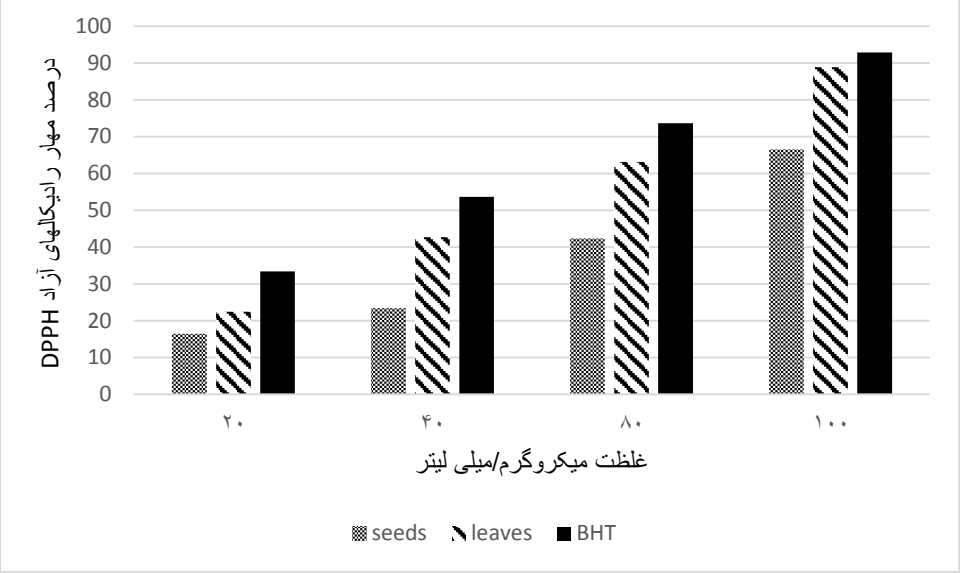
ترکیبات فنولی، گروه مهمی از ترکیبات گیاهی است که متابولیت‌های ثانویه را تشکیل می‌دهد و در پاسخ به استرس‌های محیطی ایجاد می‌شود [۲۳]. هر چه میزان ترکیبات فنول تام بیشتر باشد، خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز بیشتر می‌شود. ترکیبات فنولی با وزن مولکولی زیاد توانایی زیادی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد دارد و این توانایی پاکسازی بیشتر به تعداد حلقه‌های آروماتیکی و ماهیت گروه‌های جابه‌جاشوندهٔ هیدروکسیل بستگی دارد [۲۳]. توانایی مهارکنندگی گروه‌های فنولی به‌دلیل وجود عامل هیدروکسیل و گروه‌های قابل‌تعویض متوکسی در مولکول‌هاست [۲۴].

پاول پاسکو و همکاران [۲۴] در سال ۲۰۰۹ آنتوسیانین‌ها، کل پلی‌فنول‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دانه‌ها و جوانهٔ گل سرخ و کوینولا در طول رشد را به‌دست آوردند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به طول رشد آن بستگی دارد و حداکثر مقدار (در تمام روش‌های مورد استفاده) در روز چهارم در مورد گل سرخ و در ششمین روز در مورد کینوا به‌دست آمد.

گالاردو و همکاران در سال ۲۰۰۶، نشان دادند مقادیر DPPH به‌طور معناداری پایین‌تر از مقادیر ABTS در نمونه‌های تمام دانه‌هاست. در دانه‌های کینوا، اثر متقابلی را مشاهده کردیم. همبستگی قوی بین ABTS و (r=۰/۹۸) DPPH وجود داشت که قبلاً مشاهده شد.(۲۵) این همبستگی بین پلی‌فنول کل و TAC از تمامی روش‌های فعال آنتی‌اکسیدانی (همهٔ r> ۰/۹۷) را نسیمبا و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند [۲۴].

جدول ۲. میزان کاهش جذب محلول DPPH در غلظت‌های مختلف هر دو عصاره و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT

غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	درصد مهارکنندگی عصارهٔ دانهٔ کینوا	درصد مهارکنندگی عصارهٔ برگ کینوا	درصد مهارکنندگی BHT
۲۰	۱۶/۴±۰/۵۴	۲۲/۴±۰/۶	۳۳/۴±۰/۴۳
۴۰	۲۳/۴±۰/۳۴	۴۲/۷±۰/۴	۵۳/۶±۰/۴۳
۸۰	۴۲/۳±۰/۲۳	۶۳/۱±۰/۱	۷۳/۶±۰/۴۳
۱۰۰	۶۶/۵±۰/۸	۸۸/۸±۰/۹	۹۲/۸±۰/۴۳



نمودار ۲. مقایسهٔ میانگین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH غلظت‌های مختلف عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی

تجزیهٔ کمّی و کیفی اسیدهای فنولی و فلاونوییدها با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

نوع و میزان اسیدهای فنولی موجود در عصارهٔ الکلی دانه و برگ‌های کینوا با مقایسهٔ زمان بازداری پیک‌های نمونه با زمان بازداری پیک‌های مربوط به استانداردهای اسیدهای فنولی و فلاونوییدی تعیین شد. گالیک اسید از مشتقات هیدروکسی بنزوییک اسیدهاست و در ساختار شیمیایی خود سه گروه هیدروکسیل دارد. از آنجا که قطبیت بالایی دارد، نسبت به سایر ترکیبات زودتر خارج می‌شود. در میان اسیدهای فنولی مورد بررسی، گالیک اسید بیشترین ترکیب فنولی موجود در دانهٔ کینواست. میزان اسیدهای فنولی گالیک، کلروژنیک و کافئیک به‌ترتیب میکروگرم در گرم بافت خشک دانه و برگ‌ها اندازه‌گیری شد (جدول ۳).

در گذشته، ترکیباتی نظیر وانیلیک اسید گلوکوسیل استر در دانهٔ کینوا شناخته شد. این در حالی است که در مورد ترکیبات فنولی آن داده زیادی موجود نیست [۲۶]. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان از برگ گیاه کینوا پتانسیل بالقوه و منبع غنی ترکیبات فنولی و فلانوییدی نام‌برد [۲۷]. با توجه به جدول ۳، فراوان‌ترین اسید فنولی موجود در برگ‌ها گالیک اسید و کلروژنیک اسید است

جدول ۳. میزان اسیدهای فنولی و ترکیبات فلاونوییدی در عصارهٔ دانه و برگ گیاه کینوا

نمونه: عصارهٔ الکلی برگ	زمان بازداری استاندارد (دقیقه)	مقدار (میکروگرم بر گرم بافت خشک)	نمونه: عصارهٔ الکلی دانه	زمان بازداری (دقیقه)	مقدار (میکروگرم بر گرم بافت خشک)
گالیک اسید	۳,۲	۱۵۸,۵±۸,۴	گالیک اسید	۳,۲	۸۳±۴,۷
کلروژنیک اسید	۱۳,۴	۵۶,۴±۲,۵	کلروژنیک اسید	۱۳,۴	-
کافئیک اسید	۱۶,۹	-	کافئیک اسید	۱۶,۹	-
پاراکوماریک اسید	۳۴,۱	۳۲,۳±۳,۱	پاراکوماریک اسید	۳۴,۱	۱۲±۰,۲۴
کوئرستین	۱۴,۹	۷,۵±۰,۶	کوئرستین	۱۴,۹	۴,۵±۱,۲
کامفرول	۱۳,۲	۴۰,۳±۴,۵	کامفرول	۱۳,۲	۲۳,۳±۳,۲

نتایج حاصل از آنالیز آماری

تمامی اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار و تمامی اطلاعات به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد گزارش شد. آنالیز واریانس یک‌سویه (ANOVA) برای مقایسهٔ میانگین‌ها به‌کار رفت، و در صورت معناداری آزمون دانکن برای مقایسات زوجی استفاده شد. همچنین، از نرم‌افزار SPSS برای محاسبهٔ ضریب همبستگی بین مشخصه‌ها استفاده شد. نتایج با احتمال ۰/۰۵ $p<$ معنادار در نظر گرفته شد.

آنالیز مقایسه‌ای غلظت‌های مختلف عصاره بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کینوا نشان داد که تأثیر این عامل بر میزان فنل کل و متعاقب آن بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه معنادار بود (جدول ۴). مقایسهٔ میانگین داده‌های حاصل از خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ برگ و دانهٔ کینوا در غلظت‌های مختلف نشان داد که این میزان دفع رادیکال‌های آزاد در برگ بیش از دانه بود ($p<$۰/۰۵).

جدول ۴. نتایج تحلیل واریانس داده‌های مربوط به غلظت‌های استفاده‌شده در تست آنتی‌اکسیدان به‌روش DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی	منبع تغییرات	درجهٔ آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	مقدار F
عصارهٔ برگ کینوا	تیمار (غلظت عصاره)	۴	۰/۸۴۰	۰/۱۷۸	*۸۷/۹
	خطا	۱۲	۰/۰۲۵	۰/۰۰۲۳	
	کل	۱۶	۰/۸۶۵		
عصارهٔ دانهٔ کینوا	تیمار (غلظت عصاره)	۴	۰/۷۵	۰/۱۳۴	*۸۰/۴
	خطا	۱۲	۰/۰۱۷	۰/۰۰۱۹	
	کل	۱۶	۰/۷۶۷		

* معنادار در سطح احتمال ۵ درصد

.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد عصارهٔ الکلی بخش‌های مختلف گیاه کینوا (برگ و دانه) حاوی غلظت‌های مختلفی از ترکیبات مختلف آنتی‌اکسیدانی است، به‌طوری که برگ‌ها دارای میزان فنلی و فلاونوییدی بالاتری است. به‌همین دلیل اثر آنتی‌اکسیدانی خوبی دارد که در این ویژگی نسبت به کارهای مشابه محققان دیگر قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نشان داده است.

نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز ترکیبات فنولی عصارهٔ دانه و برگ، نتایج حاصل از آزمون‌های ارزیابی فعالیت ضدرادیکالی را تأیید می‌کند. قدرت ضداکسایشی بالای عصارهٔ الکلی برگ کینوا را می‌توان با حضور ترکیباتی نظیر گالیک اسید و کلروژنیک اسید مرتبط دانست. برای استفادهٔ عملی از این ترکیبات در صنعت توصیه می‌شود تحقیقات بیشتری در زمینهٔ شناسایی ترکیبات (اجزا) و ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ برگ گیاه کینوا انجام شود. تحقیقات ثابت کرده است که دانه‌ها و جوانه‌های مزرعه‌ای فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبتاً زیادی دارد. با توجه به این امر، به‌نظر می‌رسد که کینوا جایگزین بهتری برای غلات سنتی است. همچنین، جوانه‌های آن باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به بذر می‌شود که ممکن است به اختلاف در محتوای پلی‌فنل‌ها، آنتوسیانین‌ها و سایر ترکیبات بینجامد.

محصولات زراعی و جوانه‌ای در رژیم غذایی سنتی منبع مفید تغذیه‌ای و با ارزش غذایی بسیار بالاست. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصارهٔ الکلی بخش‌های مختلف گیاه کینوا (برگ و دانه) حاوی غلظت‌های مختلفی از ترکیبات مختلف آنتی‌اکسیدانی است، به‌طوری که برگ‌ها میزان فنلی و فلاونوییدی بالاتری دارد. به‌همین دلیل دارای اثر آنتی‌اکسیدانی خوبی است و در این ویژگی نسبت به کارهای مشابه محققان دیگر قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نشان می‌دهد.

اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH روش‌های معتبر، دقیق، آسان و مقرون‌به‌صرفه با قابلیت تکرارپذیری بالاست که در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی استفاده می‌شود.

نتایج به‌دست‌آمده در آنالیز ترکیبات فنولی عصارهٔ دانه و برگ، نتایج حاصل از آزمون‌های ارزیابی فعالیت ضدرادیکالی را تأیید می‌کند. نتایج آنالیز واریانس نشان داد، نوع و غلظت عصاره‌ها و آنتی‌آکسیدان‌های سنتزی تأثیر معناداری بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد دارد. همچنین، نتایج حاکی از آن بود که توانایی عصاره‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت فعالیت ضدرادیکالی آن افزایش می‌یابد. قدرت ضداکسایشی بالای عصارهٔ الکلی برگ کینوا را می‌توان با حضور ترکیباتی نظیر گالیک اسید و کلروژنیک اسید مرتبط دانست. برای استفادهٔ عملی از این ترکیبات در صنعت، توصیه می‌شود تحقیقات بیشتری در زمینهٔ شناسایی ترکیبات (اجزا) و ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی عصارهٔ برگ گیاه کینوا انجام شود.

References

[1]. Bhargava A, Shukla S, Ohri D. Chenopodium quinoa-an Indian perspective. Industrial Crops and Products. 2006; 23: 73-87.
[2]. Konishi Y, Hirano S, Tsuboi H, Wada M. Distribution of minerals in quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) seeds. Bioscience Biotechnology and Biochemistry. 2004; 68:231-234.
[3]. Navruz-Varli S, Sanlier N. Nutritional and health benefits of quinoa (Chenopodium quinoa Willd.). Journal of Cereal Science. 2016; 69: 371-376.
[4]. De Ron AM et al. Protein crops: Food and feed for the future. Frontiers in Plant Science. 2018; 8.
[5]. Kris-Ethertonmet PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF. Bioactive compounds in foods: their role in prevention of cardiovascular disease and cancer. American Journal of Medicine. 2002; 113: 71-88.
[6]. Ajith TA, Janardhanan KK. Indian medicinal mushroom as a source of antioxidant and antitumor agents. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition. 2007; 40(3): 157-62.
[7]. Piotr M et al. Polyphenolic profile, antioxidant and anti-inflammatory activity of eastern teaberry (Gaultheria procumbens L.) leaf extracts. Molecules. 2014; 19(12): 20498-20520.
[8]. Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients. 2010; 12(2): 1231-1246.
[9]. Martinez-Gonzalez AI et al. Polyphenolic compounds and digestive enzymes: in vitro non-covalent interactions. Molecules. 2017; 22(4): 669.
[10]. Petti S, Scully C. Polyphenols, oral health and disease: A review. Journal of Dentistry. 2009; 37: 413-423.
[11]. Mattila P, Hellström J. Phenolic acids in potatoes, vegetables and some of their products. Journal of Food Composition and Analysis. 2007; 20: 152-160.
[12]. Dini I, Tenore GC, Dini A. Phenolic constituents of Kancolla seeds. Food Chemistry. 2004; 84: 163-168.
[13]. Murota K, Terao J. Antioxidative flavonoid quercetin: Implication of its intestinal absorption and metabolism. Archives of Biochemistry and Biophysics. 2003; 417: 12-17.
[14]. Gawlik-Dziki U, wieca M, Sułkowski M, Dziki D, Baraniak B, Czyz J. Antioxidant and anticancer activities of Chenopodium quinoa leaves extracts- in vitro study. Food and Chemical Toxicology. 2013; 57: 154-160.
[15]. Hirose Y, Fujita T, Ishii T, Ueno N. Antioxidative properties and flavonoid composition of Chenopodium quinoa seeds cultivated in Japan. Food Chemistry. 2010; 119: 1300-1306.
[16]. Graf BL, Poulev A, Kuhn P, Grace MH, Lila MA, Raskin LM. Quinoa seeds leach phytoecdysteroids and other compounds with anti-diabetic properties. Food Chemistry. 2014; 163: 178-185.
[17]. Nickel J, Pio Spanier L, Torma Botelho F, Gularte MA, Helbig E. Effect of different types of processing on the total phenolic compound content, antioxidant capacity, and saponin content of Chenopodium quinoa Willd grains. Food Chemistry. 2016; 209: 139-143.
[18]. Ordoñez AAL, Gomez JD, Vattuone MA, Lsla MI. Antioxidant activities of sechium edule (Jacq) Swartz extracts. Food Chemistry. 2006; 97: 452-458.
[19]. Tang Y, Li X, Chen PX, Zhang B, Hernandez M, Zhang H, Marcone MF, Liu R, Tsao R. Characterisation of fatty acid, carotenoid, tocopherol/ tocotrienol compositions and antioxidant activities in seeds of three Chenopodium quinoa Willd. Genotypes, Food Chemistry. 2015; 174: 502-508.
[20]. Miranda M, Vega Galvez A, Quispe-Fuentes I, Rodriguez MJ, Maureira H, Martinez EA. Nutritional aspects of six quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) ecotypes from three geographical areas of Chile. Chilean J. Agr. Res. 2012; 72: 175-181.
[21]. Paśko P et al. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. Food Chemistry. 2009; 115(3): 994-998.
[22]. Pande GC, Akoh C. Organic acids, antioxidant capacity, phenolic content and lipid characterization of Georgia-grown underutilized fruit crops. Food Chemistry. 2010; 120: 1067-1075.
[23]. Swetie R, Raesh Ch, Arun S. Antioxidant potential of mint (Mentha Spicata L.) in Radiation processed lamb meat. Food Chemistry. 2007; 100: 451-458.
[24]. Lagouri V, Boskou D. Nutrient antioxidants in oregano. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 1996; 47: 493-497.
[25]. Lilian E. Abugoch James. Advances in Food and Nutrition Research.2009. ISSN 1043-4526,
[26]. Nsimba RY, Kikuzaki H, Konisi Y. Antioxidant activity of various extracts and fractions of Chenopodium quinoa and Amaranthus spp. seeds. Food Chemistry .2008; 106: 760-766.
[27]. Kokanova-Nedialkova Z, Nedialkov PT, Nikolov SD. The genus chenopodium: phytochemistry, ethnopharmacology and pharmacology. Pharmacognosy Reviews. 2009; 3: 280-306...

Antioxidative properties comparison of Chenopodium quinoa leaves and seeds extract: *in vitro* study

Tahmineh Esfandiari Sabzevar[1*], Maryam Tatari[2], Habibullah Farokhi [3]

1. Ph.D. student of medicinal plants of Islamic Azad University, Shirvan Branch, Iran
2. Faculty member Islamic Azad University, Shirvan Branch, Iran
3. Head of Boys' Technical and Vocational Training Organization, Shirvan, Iran

Abstract

Background Quinoa (*Quino Chenopodium. Willd*) is attended due to its high nutritional value recently. Nutrients of Quinoa including amino acids, antioxidant compounds, essential fatty acids, minerals and vitamins led to research on the characteristics of this plant, while few studies have been done in Iran on characteristics of Quinoa.

Materials and Methods To assess the nutraceutical potential of quinoa, the antioxidant capacity of quinoa leaves and seeds was investigated. The antioxidant activity against DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radicals is highly depends on the phenolic content of samples. In this research, using high performance liquid chromatography (HPLC), the ingredients of seed and leaf extracts were separated and identified. In addition, its antioxidant properties were measured by the evaluation of DPPH free radical scavenging and were used to measure the content of phenolic compounds by Follin-Ciocalteu method.

Results Total phenol content in the seeds and leaves extract of quinoa**,** 54.4 and 76.3 (mg gallic acid per gram of extract) respectively and flavonoids in extracts of quinoa seeds and leaves 26.3 and 36.7 (mg quercetin per gram of extract) respectively were obtained. Analysis of variance showed that the concentration of synthetic antioxidant has significant effect on DPPH free radical scavenging (p<0.05).

Conclusion The results of ingredients identification revealed that Quinoa leaf extract contains a higher percentage of phenolic compounds (40.3 mg Gallic acid per gram of extract) and thus has higher antioxidant properties than the seeds of this plant.

Received: 2017/**04/24**
Accepted: 2017/11/09

Keywords: antioxidant property, flavonoid, phenolic compounds, Quinoa.