

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 پذیرش: تیر ۱۳۹۷

تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۳۹۷

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۶

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 به منظور 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 DPPH-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 انجام شده 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 هیتادکانوئیک اسید با (۰/۱٪) است.

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

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 سزکوئی‌ترین‌ها 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، روغن‌ها مخلوطی از تری‌گلیسیرید اسیدهای چرب بلند زنجیره اشباع یا غیراشباع هستند؛ به بیان دیگر استر گلیسرول و اسیدهای چرب بلند زنجیر می‌باشند. اسیدهای چرب اشباع شامل دسته‌ای از اسیدهای چرب هستند که در ساختار مولکولی آنها پیوند دوگانه وجود ندارد. اغلب این ترکیب‌های فرار 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 مایعات 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 کمیت محصول گیاهی مؤثر است (Omidbaigi, 2009). ترکیب‌های فنلی به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیلی، می‌توانند به عنوان دهنده الکترون عمل کنند و رادیکال‌های آزاد شده 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 روغن‌های 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 چویل‌القاء 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 ترکیب‌های فنلی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی آنها وجود دارد؛ از این رو 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 angulata* و *Ferulago contracta* است (Khanahmadi et al., Khalighi-Sigaroodi et al., 2006). 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، خوش‌عطر و بو، دارای برگ‌هایی شبیه گیاه رازیانه است، اما چویل نسبت به رازیانه دارای برگ‌های کشیده‌تر و ساقه‌ای لطیف و تردتر است. چویل از لحاظ مورفولوژی گیاهی است پایا، علفی و عموماً بدون کرک، ساقه‌های این گونه گیاهی دارای ارتفاع ۶۰ تا ۱۵۰ سانتی‌متر است که عموماً کانال‌دار و شیاردار است؛ گلبرگ‌های گیاه بدون کرک و به رنگ زرد، همچنین برگ‌های آن قاعده‌ای به طول ۴۰-۲۰ و عرض ۳۰-۲۰ سانتی‌متر از دسته گل آذین‌ها و پانیکول است که دارای چترهای میوه‌دار به طول ۴-۱/۵ سانتی‌متر هستند. این گیاه در مناطق کوهستانی سرسبز و برف‌گیر زاگرس روئیده و با آغاز فصل بهار و ذوب شدن برف‌ها شروع به رشد می‌کند. گیاه چویل در گذشته

تعدادی از بیماری‌ها می‌شود (Khanahmadi *et al.*, 2009). با توجه به اینکه رادیکال‌های آزاد می‌توانند باعث ابتلاء انسان به تعداد زیادی از بیماری‌ها گردند، از این رو 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 به عنوان 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

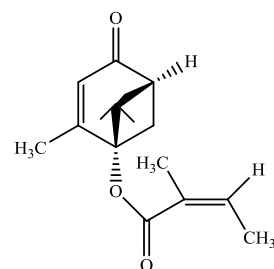
جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه

در این تحقیق گیاه چویل در اوایل فصل بهار سال ۱۳۹۵ از منطقه کوه سفید شهرستان ایزد واقع در شمال شرق 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 شیب‌های شمالی و برف‌گیر 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، به صورت 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

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 نگه دارنده، آنتی‌اکسیدان، آرام‌بخش، 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، ضد التهاب و ضد ویروس است (Abdelaal Selim & Hassan Ouf, 2012). 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) و تری‌گلیسیرید و (کلسترول خوب بدن) (High-density lipoprotein) 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

آنتی‌اکسیدان‌ها با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد موجب کاهش اثرهای مخرب آنها و پیشگیری از ایجاد

۵ میلی لیتر BF₃ به عنوان استاندارد داخلی اضافه گردید. نمونه به مدت ۲ دقیقه رفلاکس، سپس مقدار ۱ میلی لیتر 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 میلی لیتر از لایه بالایی (محلول هپتان) به لوله آزمایش منتقل شده و مقداری سدیم سولفات بدون آب (به عنوان ماده جاذب رطوبت) به آن اضافه گردید. نمونه‌ها را به مدت ۴ دقیقه سانتریفیوژ کرده (۲۵۰۰ دور در دقیقه) (Hectic ZENTRIFUGEN ROTOFIX 32 A) و محلول حاصل که حاوی متیل استر اسیدهای چرب بود به ستون کروماتوگرافی گازی تزریق گردید.

اندازه‌گیری ترکیب‌های فنلی کل عصاره

برای تعیین ترکیب‌های فنلی از محلول استاندارد گالیک اسید با غلظت‌های مختلف استفاده شد. بدین منظور 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 نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت گردید. سپس منحنی کالیبراسیون با استفاده از جذب نمونه‌های استاندارد رسم و غلظت ترکیب‌های 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 غلظت‌های مختلف استفاده گردید. اندازه‌گیری فلاونوئیدها به روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم (Bousselsela *et al.*, 2012) با مقداری تغییر انجام شد. بدین منظور، 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 میلی لیتر از محلول ۱۰٪ سدیم

یک از قسمت‌های گیاه را در ۳۰۰ میلی لیتر از حلال (آب، اتانول و متانول) ریخته و به مدت 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. بدین منظور ۵ گرم نمونه آسیاب شده گیاه (اندام‌های هوایی و بذریه‌ها) داخل محفظه سوکسله قرار داده شد؛ آنگاه ۳۰۰ میلی لیتر n-هگزان به عنوان حلال چربی گیاه به بالن دستگاه اضافه و سیستم به مدت ۸ ساعت (تا بی‌رنگ شدن کامل حلال محفظه سوکسله) در نقطه جوش 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 بدست آمده در جدول ۱ نشان داده شده است.

آنالیز متیل استر اسیدهای چرب با کروماتوگرافی گازی

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

شناسایی اسیدهای چرب موجود در روغن گیاه

تهیه متیل استر اسیدهای چرب

مقدار ۰/۱ گرم از نمونه روغن بدست آمده توزین شد و به یک ارلن ۵۰ میلی لیتری منتقل گردید. سپس به ارلن

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 شناسایی شده مربوط به اسید چرب پتروسلینیک اسید ($C_{18:1}$) بوده است که شامل: $C_{18:1}(n-12)$ اسید اولئیک ($63/6\%$) و $C_{18:1}(n-9)$ اسید لینولئیک ($19/7\%$) 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

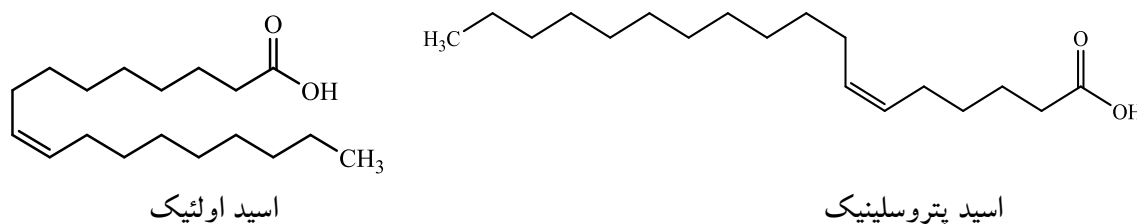
استات به آن افزوده شد. میزان جذب نور بعد از گذشت ۴۰ دقیقه در حضور شاهد در ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Win X-ma 2000) خوانده شد. با استفاده از جذب محلول‌های استاندارد منحنی کالیبراسیون رسم و براساس معادله خط بدست آمده غلظت فلاونوئیدها در گیاه محاسبه گردید.

اندازه‌گیری مقدار تانن در عصاره

برای اندازه‌گیری مقدار تانن موجود در عصاره از معرف تانیک اسید با غلظت‌های مختلف استفاده شد. برای هر لوله آزمایش ۰/۱ گرم PVP (Polyvinylpyrrolidone) یک میلی‌لیتر عصاره و یک میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد. لوله‌ها به مدت پنج دقیقه هم زده و بعد از ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، 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. بدین منظور عصاره‌گیری با حلال متانول ۸۰٪ و در مجاورت امواج اولتراسونیک (ULTRACONIC-DT 255H BANDELIN) انجام شد. برای تهیه غلظت‌های 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 به شدت 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. بدین منظور، ابتدا درصد مهار DPPH محاسبه و در مقابل غلظت عصاره نمودار آن رسم گردید (Guerrero *et al.*, 2006).



شکل ۲- دو اسید چرب مهم شناسایی شده در دانه گیاه چویل

نتایج مربوط به اندازه‌گیری ترکیب‌های 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 محلول‌های 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 $y = 0.0059x + 0.2574$ 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 میلی‌گرم تانیک اسید بر میلی‌گرم گیاه خشک نشان داده شده است. نتایج ارائه شده نشان می‌دهد که میزان تانن موجود در اندام‌های 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 اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی براساس میزان IC_{50} در جدول ۵ برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره گزارش شده است.

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 Mazza و Fukumoto (۲۰۰۰) نشان داده شد که بیشترین درصد اسید چرب در بذر گشنیز مربوط به ترکیب‌هایی از جمله 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 $y = 0.0065x + 0.038$ استنتاج گردید. میزان فنل کل استخراج شده توسط عصاره آبی بیشترین میزان را نسبت به حلال‌های 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 ترکیب‌های 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

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

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

جدول ۵- فعالیت آنتی اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه چویل

عصاره نمونه	دانه	گل	ساقه
فعالیت آنتی اکسیدانی 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 آنتی اکسیدانی

$$(\text{IC}_{50}(\mu\text{g/ml})) = [\text{Abs}_0 - \text{Abs}_1 / \text{Abs}_0] \times 100$$

بحث

طبق بررسی های انجام شده روی پیشینه گیاه چویل هیچ گونه فعالیت فیتوشیمیایی بر روی اندام های مختلف گیاه انجام نشده است و بررسی های 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)؛ به دلیل این خاصیت، در سیستم غذایی و بیولوژیکی با باند کردن رادیکال های آزاد از اکسید شدن چربی و تنش های اکسیداتیو در بدن جلوگیری می کند. در این مطالعه ارزیابی میزان فنل، فلاونوئید، تانن، ظرفیت آنتی اکسیدانی و شناسایی و اندازه گیری

اسیدهای چرب گیاه چویل انجام شده است. ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدان با روش DPPH بر مبنای IC₅₀ نشان داد که خاصیت آنتی اکسیدانی دانه گیاه نسبت به اندام های 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 آنتی اکسیدانی قابل توجهی دارند. طبق نتایج بدست آمده در جدول ۳ میزان فلاونوئید موجود در عصاره متانولی اندام گل گیاه نسبت به سایر اندام های گیاهی بیشتر است. فنل ها و ترکیب های پلی فنلی مانند فلاونوئیدها اهمیت ویژه ای در صنایع غذایی و دارویی دارند. گیاه دارویی *Ferulago* به خوبی به عنوان یک منبع غنی از ترکیب های فعال بیولوژیکی مانند کومارین ها، فورانو کومارین ها، پیرانو کومارین ها، ترین ها، مونوترین، ترکیب های معطر، فلاونوئیدها و فنیل پروپانوئیدها است (Jimenez et al., 2000). ترکیب های فنلی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی شامل فلاونوئیدها، تانن ها، آتوسیانین ها و غیره هستند که معمولاً در میوه ها، سبزی ها، برگ ها، دانه ها، ریشه و در سایر قسمت های گیاه دیده می شوند. اولئیک اسید، اسید چربی با فرمول شیمیایی C₁₈H₃₄O₂ و لینولئیک اسید با فرمول شیمیایی C₁₈H₃₂O₂ دو اسید چرب غیراشباع یا ضروری هستند که در بسیاری از گیاهان خانواده چتریان یافت می شوند. 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 می دهد اختلاف قابل توجهی بین میزان اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چرب غیراشباع در گیاه چویل وجود دارد.

سپاسگزاری

بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاون محترم پژوهشی دانشگاه بیرجند و دانشکده علوم، که امکان این پژوهش را فراهم نموده اند، اعلام می داریم.

منابع مورد استفاده

- 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) Jasas. 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 roots 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 angulata* (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-induced diabetic rats. Pharmacognosy Research, 2: 132-137.
 - Abdelaal Selim, Y. and Hassan Ouf, N., 2012. Anti-inflammatory new coumarin from the *Ammi majus* L. Organic and 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.
 - Bousselfela, H., Benhouda, A., Yahia, M., Benbia, S., Ghecham, A. and Zidani, A., 2012. In vitro evaluation of antioxidant and antibacterial activities of extracts of *Hertia cheirifolias* leaves. Nutritional 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., Dritas, 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 annuum*) 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

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

R. Sheykhi¹, Gh. Bagherzade^{2*} and R. Khani³

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.