



Evaluation of the Antioxidant Activity of Aqueous and Alcoholic Extracts of Caper (*Capparis spinosa* L.) Leaf from Hirmand City

Abdolvahed Safarzaei^{1*}

^{1*}. Corresponding author, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran, E-mail: vsafarzaei@ymail.com

Received: February 2024

Revised: June 2024

Accepted: August 2024

Abstract

Background and Objectives: Extracts from various medicinal plants contain valuable bioactive and phytochemical compounds, including polyphenols and flavonoids, known for their potent antioxidant, antimicrobial, anticancer, and antidiabetic properties. The caper plant (*Capparis spinosa* L.), native to Hirmand City, is a rich source of bioactive compounds such as saccharides, glycosides, flavonoids, alkaloids, phenolic acids, terpenoids, fatty acids, vitamins, and steroids. Novel extraction methods, such as ultrasound-assisted extraction, offer significant advantages over traditional techniques like Soxhlet and maceration. Ultrasound facilitates efficient extraction, reduces processing time, and preserves heat-sensitive bioactive compounds. This study aimed to assess the efficacy of ultrasound waves in extracting phenolic and antioxidant compounds from caper leaves.

Methodology: Response Surface Methodology (RSM) and Box–Behnken Design (BBD) were employed to optimize two extraction parameters for phenolic and antioxidant compounds from caper leaves using ethanolic and aqueous solvents: extraction time (15, 30, 45 min) and ultrasound power (100, 200, 300 watts). Design Expert software suggested 13 treatments for extraction. Dried plant leaves were ground and dissolved in 70% ethanol (for alcoholic extraction) or distilled water (for aqueous extraction) at 1:4 w/v. Ultrasonic bath treatment with a constant frequency of 40 kHz was applied. Alcoholic extracts were concentrated using a rotary evaporator under vacuum, while aqueous extracts were processed in a vacuum oven at 40°C. The antioxidant activity of the extracts was assessed using the Folin-Ciocalteu colorimetric method for total phenolic content (TPC) and the DPPH free radical inhibition method, determining the half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) index. Mean comparisons between the antioxidant test results of aqueous and alcoholic extracts were performed using the Mann-Whitney U test in a completely randomized design at $\alpha = 5\%$ with SAS software version 9.1.

Results: Statistical analysis using the RSM model indicated that the quadratic model was the best fit for the measured parameters. The significant effects of time and ultrasound power on phenolic compound extraction and DPPH free radical inhibition ability in alcoholic extracts were determined with regression coefficients of 0.99 and 0.98, respectively. For aqueous extracts, the regression coefficients were 0.98 and 0.99, respectively. The TPC of caper leaf extracts obtained via ultrasound-assisted extraction with ethanol and distilled water solvents was 20.77 ± 0.32 mg/g and 17.53 ± 0.54 mg/g, respectively. The IC₅₀ values of ethanol and distilled



water extracts were 13.16 ± 0.60 $\mu\text{g/ml}$ and 20.42 ± 0.81 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The optimal extraction conditions were identified as an extraction time of 45 minutes and an ultrasound power of 300 watts. Under these conditions, the TPC values were 27.4 mg/g (ethanolic extract) and 23.8 mg/g (aqueous extract), while the IC₅₀ values were 8.1 $\mu\text{g/ml}$ and 10.8 $\mu\text{g/ml}$, respectively.

Conclusion: Ultrasound-assisted extraction is highly efficient for both alcoholic and aqueous extraction of phenolic and antioxidant compounds from caper leaves. A direct correlation was observed between TPC levels and DPPH free radical inhibition ability. Alcoholic extracts contained higher phenolic compound concentrations and exhibited higher antioxidant activity than aqueous extracts.

Keywords: plant extracts, free radicals, antioxidants, ultrasonic waves.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی برگ گیاه دارویی کاپاریس (*Capparis spinosa* L.) رویشی در شهرستان هیرمند

عبدالواحد صفرزائی^{*۱}

*۱- نویسنده مسئول، دانش آموخته دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
پست الکترونیک: vsafarzaei@ymail.com

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۴۰۳

تاریخ اصلاح نهایی: تیر ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: بهمن ۱۴۰۲

چکیده

سابقه و هدف: عصاره‌های استخراجی از گیاهان دارویی حاوی ترکیبات زیست فعال و فیتوشیمیایی با ارزش مانند پلی‌فنل‌ها و فلاونوئیدها با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد سرطانی و ضد دیابتی هستند. گیاه کاپاریس (*Capparis spinosa* L.) از گیاهان دارویی بومی شهرستان هیرمند بوده که اندام‌های مختلف آن حاوی ترکیبات زیست فعال متنوع از جمله ساکاریدها، گلیکوزیدها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، فنلیک‌اسیدها، ترپنوئیدها، اسیدهای چرب، ویتامین‌ها و استروئیدها می‌باشند. استفاده از روش‌های نوین در استخراج ترکیبات زیست فعال از گیاهان دارویی، از جمله روش فراصوت نسبت به روش‌های سنتی استخراج مانند سوکسله و غرقابی علاوه بر بهبود کارایی استخراج باعث حفظ ترکیبات زیست فعال حساس به حرارت و کاهش زمان استخراج می‌گردند. از این رو، این مطالعه با هدف ارزیابی کارایی امواج فراصوت در استخراج ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی از برگ گیاه کاپاریس انجام گردید.

مواد و روش: به منظور بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان از برگ گیاه کاپاریس با حلال‌های اتانول و آب از روش سطح پاسخ و طرح باکس بنکن با انتخاب فاکتورهای زمان در سه سطح (۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه) و توان حمام فراصوت در سه سطح (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ وات) استفاده شد و بوسیله نرم‌افزار دیزاین اسپرت، ۱۳ تیمار برای استخراج عصاره پیشنهاد گردید. پس از آسیاب کردن برگ‌های خشک شده گیاه و انحلال آن در حلال اتانول ۷۰ درصد (برای عصاره‌گیری الکلی) و حلال آب مقطر (برای عصاره‌گیری آبی) با نسبت ۴:۱ وزنی/حجمی از تیمار حمام فراصوت با فرکانس ثابت ۴۰ کیلوهرتز استفاده شد و جداسازی حلال الکلی و تغلیظ عصاره با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخشی تحت خلأ و جداسازی حلال آبی با استفاده از آن خلأ در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد انجام شد. پس از استخراج عصاره‌های الکلی و آبی، آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی برای هر یک از عصاره‌ها با استفاده از روش رنگ‌سنجی فولین سیوکالچو به منظور ارزیابی محتوای ترکیبات فنلی کل و روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با تعیین شاخص IC_{50} انجام شد. مقایسات میانگین بین نتایج آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی برگ گیاه به وسیله آزمون یو-من-ویتنی در طرح کاملاً تصادفی و در سطح $\alpha=5\%$ به وسیله نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام گردید.

نتایج: نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری با روش سطح پاسخ از بخش مدل نشان داد که مدل Quadratic با درجه دوم برای آزمون‌های اندازه‌گیری شده در این مطالعه، دارای اختلاف معنی‌دار با سایر مدل‌ها بود و این مدل برای آنالیز آماری آزمون‌ها انتخاب گردید. اثرهای معنی‌دار متغیرهای زمان و توان فراصوت بر میزان استخراج ترکیبات فنلی و قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره‌های الکلی برگ گیاه به ترتیب با ضرایب رگرسیونی ۰/۹۹ و ۰/۹۸ و اثرهای معنی‌دار متغیرهای زمان و توان فراصوت بر میزان استخراج ترکیبات فنلی و قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH عصاره‌های آبی برگ گیاه به ترتیب با ضرایب رگرسیونی ۰/۹۸ و ۰/۹۹ تعیین شدند. میزان ترکیبات فنلی کل استخراجی از برگ گیاه کاپاریس با حلال‌های اتانول و آب مقطر به روش فراصوت به ترتیب $20/77 \pm 0/32$ و $17/53 \pm 0/54$ میلی‌گرم بر گرم و میزان IC_{50} عصاره‌های استخراجی از برگ گیاه با حلال اتانول و آب مقطر به روش فراصوت به ترتیب $13/16 \pm 0/60$ و $20/42 \pm 0/81$ میکروگرم بر میلی‌لیتر ارزیابی گردید. شرایط بهینه استخراج الکلی و آبی ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی برگ گیاه، زمان ۴۵ دقیقه و توان فراصوت ۳۰۰ وات بدست آمد و در این

شرایط بهینه، میزان ترکیبات فنلی کل عصاره‌های الکلی و آبی برگ گیاه به ترتیب ۲۷/۴ و ۲۳/۸ میلی‌گرم بر گرم و میزان IC_{50} عصاره‌های الکلی و آبی نیز به ترتیب ۸/۱ و ۱۰/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر حاصل شد. نتیجه‌گیری: روش فراصوت دارای کارایی بالایی در استخراج الکلی و آبی ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان از برگ گیاه کاپاریس می‌باشد. البته بین میزان ترکیبات فنلی کل عصاره و قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH ارتباط مستقیمی وجود دارد. به‌طور کلی، عصاره‌های الکلی برگ گیاه دارای ترکیبات فنلی و قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بیشتری نسبت به عصاره‌های آبی بودند.

واژه‌های کلیدی: عصاره‌های گیاهی، رادیکال‌های آزاد، آنتی‌اکسیدان‌ها، امواج فراصوت

مقدمه

ترکیبات زیست فعال تشکیل‌دهنده عصاره‌ها و اسانس‌های استخراجی از گیاهان دارویی دارای نقش بسزایی در درمان در طب سنتی می‌باشند (Mishra & Tiwari, 2011). ترکیبات زیست فعال مختلف از جمله ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی به دلیل مزیت‌ها و ویژگی‌های فیزیولوژیک با ارزش مانند ضدآلرژی، ضد التهاب، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد دیابت و ضد سرطان در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی-بهداشتی و کشاورزی کاربرد دارند (Safarzaei et al., 2022). اثرهای سودمند ترکیبات فنلی، به ویژگی آنتی‌اکسیدانی آنها مربوط می‌شود (Rodrigues et al., 2008). اثر آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی به گروه هیدروکسیل آزاد حلقه آروماتیک آنها نسبت داده می‌شود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود وابسته است (Sohrabi & Kavooosi, 2018). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند از فعالیت اکسیداسیونی جلوگیری کرده یا حداقل، روند فعالیت آن را کند کنند. آنتی‌اکسیدان‌ها به‌طور مستقیم تولید ذرات فعال را مهار کرده یا به‌طور غیرمستقیم اثر محافظتی سایر آنتی‌اکسیدان‌ها را تقویت می‌کنند (Khlebnikov et al., 2007). سازوکار عمل این ترکیبات شامل حذف رادیکال‌های آزاد و عمل به عنوان یک عامل احیاکننده، کلات‌کننده و یا جمع‌کننده اکسیژن منفرد است. به‌طور کلی، ترکیبات فنلی به فنل‌های ساده، فنلیک‌اسیدها، کومارین‌ها، فلاونوئیدها، استیلین‌ها، پروسیانیدین‌ها، لیگنان‌ها و لیگنین‌ها تقسیم‌بندی می‌شوند (Saboura et al., 2014).

عوامل مختلفی مانند نوع حلال، غلظت و قطبیت حلال، نسبت نمونه به حلال، زمان استخراج، دمای استخراج، فرکانس، توان و شدت امواج فراصوت در فرایند استخراج ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان دارای اهمیت هستند (Safarzaei et al., 2023). فرایند استخراج با استفاده از روش‌های سنتی مانند سوکسله و غرقابی و فناوری‌های نوین مانند مایکروویو، امواج فراصوت، سیال فوق بحرانی و آب تحت بحرانی قابل انجام است (Razavi & Kenari 2021). استخراج با استفاده از امواج فراصوت از جمله مؤثرترین روش‌های دستیابی ترکیبات مؤثره و زیست فعال از گیاهان محسوب می‌شود که هم در مقیاس آزمایشگاهی و هم در مقیاس صنعتی قابل اجراست. سامانه‌های پروب و حمام، دو روش متداول کاربرد امواج فراصوت هستند. سامانه حمام فراصوت برای استخراج عصاره از نمونه‌های گیاهی خشک و پودر شده در مقیاس بزرگ و صنعتی روشی کارآمد می‌باشد (Wu et al., 2007). این در حالی است که سامانه پروب فراصوت با وجود تأثیر بیشتر بر بافت‌های گیاهی ناشی از تماس مستقیم و مداوم نمونه با امواج فراصوت ساطع شده از پروب به‌طور گسترده‌ای برای فراصوت‌دهی نمونه‌ها با حجم کم مناسب بوده و قابلیت تکرارپذیری آن نیز محدود می‌باشد. از سوی دیگر، احتمال آلودگی نمونه و تولید کف در این روش نسبت به حمام فراصوت بیشتر است. از این‌رو، کاربرد حمام فراصوت به دلیل اثر همزمان بر طیف وسیعی از نمونه‌ها و قابلیت تکرارپذیری بالا بر سامانه پروب فراصوت ارجحیت دارد (Luque-Garcia & De Castro, 2003).

۸۸ و ۵۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیان کردند. این پژوهشگران همچنین میزان ترکیبات فنلی کل عصاره‌های آبی ریشه و میوه گیاه کاپاریس را به ترتیب ۱۵/۴ و ۱۷/۲ میلی‌گرم بر گرم و میزان IC_{50} عصاره‌های آبی ریشه و میوه گیاه را به ترتیب بیشتر از ۲۰۰۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و اثرهای ضد میکروبی عصاره‌های استخراجی را در مهار فعالیت باکتری‌های گرم مثبت (گونه‌های استافیلوکوکوس (*Staphylococcus*) و باسیلوس (*Bacillus*))، باکتری‌های گرم منفی (سودوموناس آئروژینوزا (*Pseudomonas aeruginosa*) و اشریشیاکلی (*Escherichia coli*)) و گونه‌های قارچی (کاندیدا (*Candida*) و آسپرژیلوس (*Aspergillus*)) گزارش نمودند. تاکنون مطالعاتی پیرامون بهینه‌سازی شرایط استخراج آبی و الکلی ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی غنچه، برگ و ریشه گیاه کاپاریس با حمام فراصوت انجام شده است. Boudries و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه‌ای به بهینه‌سازی شرایط استخراج الکلی ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی غنچه‌های گیاه کاپاریس به روش فراصوت پرداختند و شرایط بهینه استخراج ترکیبات فنلی و مهارکننده رادیکال‌های آزاد را در زمان ۲۴۰ دقیقه، دمای ۶۰ درجه سانتیگراد، غلظت ۵۰ درصد حلال اتانول و توان ۱۰۰ وات حمام فراصوت گزارش کردند. Safarzaei و همکاران (۲۰۲۳) در مطالعه‌ای دیگر، شرایط بهینه استخراج آبی ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی برگ و ریشه گیاه کاپاریس را در زمان ۳۶ دقیقه و شدت امواج فراصوت ۹۱ درصد بیان نمودند.

با توجه به گرایش روزافزون عامه مردم به طب سنتی و استفاده از ترکیبات طبیعی مشتق شده از منابع گیاهان دارویی در درمان و پیشگیری از بیماری‌ها، در این تحقیق سعی بر آن است تا شرایط بهینه استخراج آبی و الکلی ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی برگ گیاه کاپاریس بررسی شود.

گیاه کاپاریس با نام علمی *Capparis spinosa* L. گیاهی علفی چندساله، درختچه‌ای و بوته‌ای با ریشه‌ای چوبی و منشعب و برگ‌های متناوب با اندازه‌های مختلف و دارای دم‌برگ بوده (شکل ۱) که به عنوان یک گیاه مقاوم و سازگار با آب و هوای مناطق خشک و نیمه‌خشک و خاک‌های شور و آهکی می‌تواند به منظور افزایش فضای سبز، بیابان‌زدایی و سودآوری در مناطق دارای آب و هوای سخت استفاده شود (Afzali et al., 2023). غنچه، برگ، میوه و ریشه این گیاه دارای مصارف دارویی و غذایی متنوع می‌باشند (Chedraoui et al., 2017). از جمله ترکیبات زیست فعال گیاه کاپاریس می‌توان به ساکاریدها، گلیکوزیدها، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ایندول‌ها و فنلیک‌اسیدها، تریپنوئیدها، روغن‌های فرار، اسیدهای چرب، ویتامین C، ویتامین E و استروئیدها اشاره کرد (Moufid et al.; Zhou et al., 2010). کارتنوئیدهای عمده گیاه کاپاریس، لوتئین و ویولاگزانتین هستند و ترکیب اصلی توکوفرول شناسایی شده در برگ‌ها، آلفا توکوفرول است (Tlili et al., 2009). گیاه کاپاریس دارای اثرهای ضد دیابت و کاهش‌دهنده لیپیدهای خون می‌باشد (Yang et al., 2008؛ Huseini et al., 2013؛ Mollica, 2017). این گیاه در طب سنتی به دلیل اثرهای دیورتیک، ضد فشار خون و شل‌کننده عروق کاربرد گسترده‌ای دارد (Zeggwagh et al., 2007). عصاره‌های آبی و الکلی برگ، غنچه، ریشه و میوه گیاه کاپاریس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بازدارنده‌ای را در آزمون‌های شیمیایی و بیولوژیکی با مهار فعالیت باکتریایی و قارچی از خود نشان داده‌اند. Mahboubi و Mahboubi (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای، میزان ترکیبات فنلی کل عصاره‌های اتانولی ریشه و میوه گیاه کاپاریس را به ترتیب ۲۲/۴ و ۳۱/۷ میلی‌گرم بر گرم و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (شاخص IC_{50}) عصاره‌های اتانولی ریشه و میوه گیاه را به ترتیب



شکل ۱- کاپاریس

Figure 1. *Capparis spinosa* L.



شکل ۲- موقعیت جغرافیایی روستای عبدالرحمان صفرزائی

Figure 2. Geographical location of Abdul-Rahman Safarzaei village

پودر ۲۰۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) از کمپانی سیگما آلمان خریداری شده بودند.

شناسایی و آماده‌سازی گیاه

گیاه کاپاریس در اسفندماه سال ۱۴۰۱ از مزارع روستای عبدالرحمان صفرزائی (با مختصات جغرافیایی ۳۱ درجه و ۲

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

همه محلول‌ها و مواد شیمیایی مورد استفاده سطح آنالیتیکال بودند. معرف فولین سیوکالچو، اسیدگالیک، کربنات سدیم بدون آب (Na_2CO_3) و اتانول از کمپانی مرک آلمان، آب مقطر دوبار تقطیر از شرکت زلال طب ایران و

(al., 2017).

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل

میزان ترکیبات فنلی کل موجود در عصاره گیاه کاپاریس از طریق رنگ‌سنجی به روش فولین سیوکالچو بررسی شد (Hayouni et al., 2007). برای انجام آزمون، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول عصاره ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام با سمپلر به لوله آزمایش منتقل و بعد ۵۰۰ میکرولیتر از معرف فولین سیوکالچو (که با آب مقطر، ۱۰ برابر رقیق شده بود) و ۱۰۰۰ میکرولیتر آب مقطر به آن اضافه و حل گردید. پس از گذشت یک دقیقه، ۱۵۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد در دمای اتاق به لوله اضافه و توسط شیکر لوله به‌طور مناسب همگن شد. محتویات لوله آزمایش به مدت دو ساعت در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شد و بعد مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Aquarius سری ۷۵۰۰ ساخت شرکت CECIL انگلستان در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت گردید. میزان ترکیبات فنلی کل از روی معادله خط رسم شده بر مبنای استاندارد اسیدگالیک و برحسب میلی‌گرم در گرم عصاره بیان شد.

تعیین فعالیت آنتی‌رادیکالی

تعیین فعالیت آنتی‌رادیکالی از طریق آزمون دی پی پی اچ و به وسیله معرف ۲و۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل انجام گردید (Sharififar et al., 2007). بدین منظور، پنج میلی‌لیتر از محلول متانولی دی پی پی اچ یک میلی‌مولار به ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره تهیه شده با حلال متانول اضافه گردید و پس از اختلاط، در دمای اتاق و در مکان تاریک به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری و در ادامه جذب نمونه و شاهد در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

روش‌های آماری

به منظور بررسی اثر متغیرهای مستقل مورد مطالعه (زمان و توان فراصوت) بر میزان ترکیبات فنلی و قدرت رادیکال‌گیرندگی عصاره‌های آبی و الکلی از روش سطح

دقیقه عرض شمالی و ۶۱ درجه و ۳۹ دقیقه طول شرقی) شهرستان هیرمند واقع در استان سیستان و بلوچستان جمع‌آوری و با همکاری هرباریوم و آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی دانشگاه زابل شناسایی شد. برگ گیاه در فروردین‌ماه جمع‌آوری و در دمای اتاق و دور از نور خورشید به‌طور کامل خشک گردید و بعد به منظور آماده‌سازی برگ برای استخراج عصاره، توسط آسیاب آزمایشگاهی پودر و از الک ۴۰ مش عبور داده شد.

استخراج عصاره آبی و الکلی به روش فراصوت

۵۰ گرم از نمونه پودر شده برگ گیاه با ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول ۷۰ درصد (برای عصاره‌گیری الکلی) و ۵۰ گرم از نمونه پودر شده گیاهی با ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال آب مقطر (برای عصاره‌گیری آبی) به نسبت ۱:۴ حجمی/وزنی مخلوط گردید و ظروف حاوی حلال و نمونه در حمام فراصوت مدل SB-5200D ساخت کشور چین با قابلیت کنترل دما مجهز به ترموستات و سیستم گردش آب در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) با فرکانس ثابت ۴۰ کیلوهرتز قرار داده شدند. سطوح تیماری روش فراصوت در طرح باکس بنکن شامل سه سطح زمان (۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه) و سه سطح توان فراصوت (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ وات) در نظر گرفته شد. پس از اعمال تیمار فراصوت، عصاره الکلی استخراج شده با ۷۸۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ و بعد قسمت شفاف بالای مخلوط با سمپلر جدا گردید و از صافی ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد. جداسازی حلال الکلی و تغلیظ عصاره توسط تبخیرکننده چرخشی تحت خلأ در دمای ۴۰ درجه سلسیوس با هدف ممانعت از آسیب به ترکیبات فنلی و ۲۰۰ دور در دقیقه انجام شد. عصاره آبی نیز از کاغذ صافی واتمن شماره یک عبور داده شد. به منظور حذف باقیمانده حلال الکلی و حذف حلال آبی، عصاره‌ها درون پلیت پخش و درون آون خلأ با دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. در نهایت، عصاره‌های الکلی و آبی خشک شده تا انجام فرایند آزمون در فریزر با دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شد (Ghorbani et

درجه سوم (Cubic)، مدل Quadratic برای برازش داده‌ها انتخاب شد. مقایسات میانگین بین نتایج آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی برگ گیاه به وسیله آزمون یو-من-ویتنی در طرح کاملاً تصادفی و در سطح $\alpha=5\%$ به وسیله نرم‌افزار SAS.9.1 انجام شد.

پاسخ و نرم‌افزار Design Expert نسخه ۱۲ استفاده گردید. براساس طرح سطح پاسخ، مدل Box-Behnken برای بررسی دو متغیر در سه سطح انتخاب شد و ۱۳ حالت (تیمار) برای بررسی روند میزان استخراج و تعیین شرایط بهینه توسط نرم‌افزار پیشنهاد گردید (جدول ۱). از بین مدل‌های درجه اول (Linear)، درجه دوم (Quadratic) و

جدول ۱- تیمارهای طراحی شده در آزمون سطح پاسخ و مقادیر پاسخ‌ها برای آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی برگ گیاه کاپاریس

Table 1. Treatments designed in response surface test and response values for antioxidant tests of alcoholic and aqueous extracts of *Capparis spinosa* leaf

Treatment	Extraction time (A) (min)	Ultrasound power (B) (W)	TPC of leaf alcoholic extract (mg.g ⁻¹)	IC ₅₀ of leaf alcoholic extract (µg.ml ⁻¹)	TPC of leaf aqueous extract (mg.g ⁻¹)	IC ₅₀ of leaf aqueous extract (µg.ml ⁻¹)
1	15	100	15.22	17.74	12.10	31.72
2	30	59	14.44	18.72	11.32	32.36
3	45	100	17.36	16.08	14.46	26.24
4	9	200	18.42	15.32	14.60	24.76
5	30	200	20.28	13.42	18.24	18.10
6	30	200	20.22	13.46	17.22	20.30
7	30	200	20.25	13.44	17.29	19.82
8	30	200	20.27	13.42	17.28	19.93
9	30	200	20.86	12.22	17.25	20.17
10	51	200	23.16	10.76	19.34	16.16
11	15	300	24.18	10.02	20.26	14.62
12	30	341	28.22	8.06	25.34	10.28
13	45	300	27.10	8.44	23.22	11.06

TPC: Total phenolic content

نتایج

انتخاب بهترین مدل

در سطح ۹۵٪ بودند در مدل نگهداری شدند. سپس رابطه کلی با استفاده از ضرایب داده شده برای هر پارامتر حاصل گردید (Dehghan Tanha *et al.*, 2019).

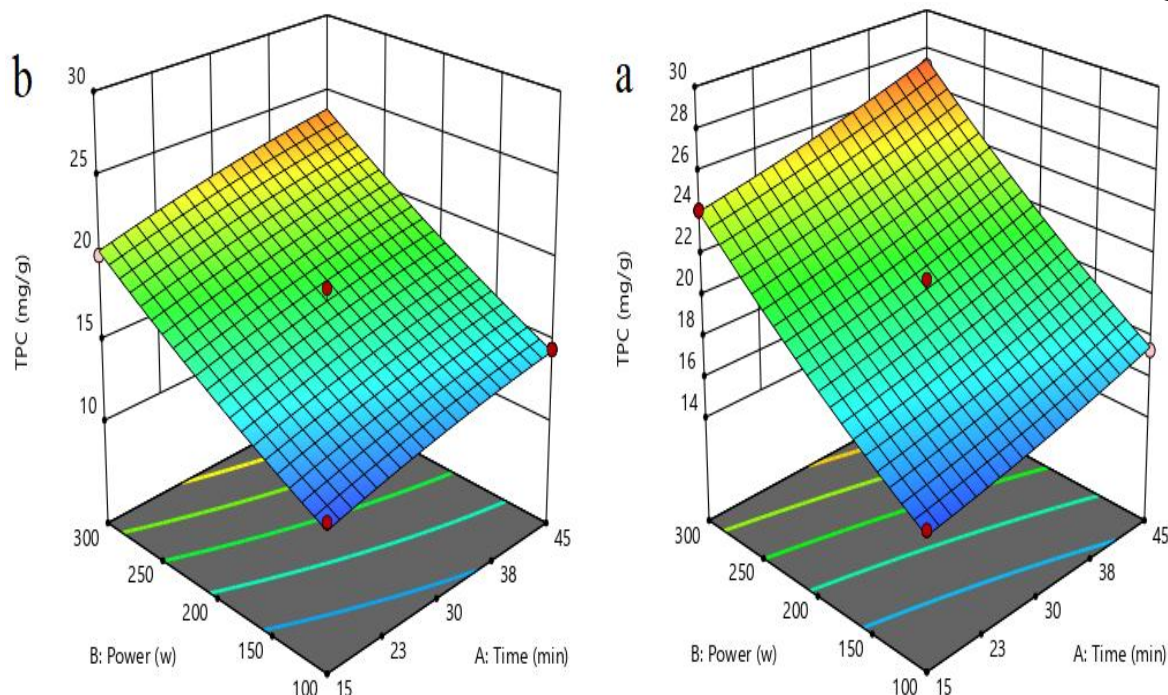
اثر زمان و توان فراصوت بر استخراج آبی و الکلی ترکیبات فنلی برگ

با توجه به شکل ۳ که اثر همزمان دو متغیر زمان و توان فراصوت را بر میزان ترکیبات فنلی کل برگ گیاه کاپاریس نشان می‌دهد، مشاهده گردید که با افزایش زمان (از ۱۵ تا ۴۵ دقیقه) و توان فراصوت (از ۱۰۰ تا ۳۰۰ وات) مقدار

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری بوسیله روش سطح پاسخ از بخش مدل نشان داد که مدل Quadratic یا درجه دوم برای آزمون‌های اندازه‌گیری شده در این مطالعه، دارای اختلاف معنی‌دار با سایر مدل‌ها بود و این مدل برای آنالیز آماری آزمون‌ها انتخاب گردید. پس از انتخاب بهترین مدل، برای تعیین رابطه کلی با توجه به جدول ANOVA، پارامتری که آزمون F برای آن معنی‌دار نباشد ($P > 0.05$) از مدل حذف شد و سایر پارامترها که دارای اختلاف معنی‌دار

استخراج ترکیبات فنلی کل از برگ گیاه با حلال‌های اتانول

و آب مقطر افزایش یافت.



شکل ۳- نمودار سه بعدی اثر همزمان متغیرهای مدت زمان عصاره‌گیری و توان فراصوت بر میزان ترکیبات فنلی کل عصاره‌های اتانولی (a) و آبی برگ گیاه کاپاریس (b)

Figure 3. Three-dimensional diagram of simultaneous effects of extraction time and ultrasound power variables on total phenolics content of alcoholic (a) and aqueous (b) extracts of *Capparis spinosa* leaf

در این مطالعه، میزان میانگین ترکیبات فنلی کل استخراجی از برگ گیاه کاپاریس با حلال‌های اتانول و آب مقطر به روش فراصوت به ترتیب 20.77 ± 0.32 و 17.53 ± 0.54 میلی‌گرم بر گرم بدست آمد. البته بین میزان میانگین ترکیبات فنلی کل عصاره‌های الکلی و آبی برگ گیاه، اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($P > 0.05$). ضریب رگرسیونی (R^2) بالا و نزدیک بین مقادیر واقعی و پیش‌بینی‌شده در این تحقیق بیانگر همبستگی بسیار خوب بین نتایج بدست آمده از روش تجربی و مقادیر پیش‌بینی‌شده میزان استخراج الکلی (به ترتیب ۰/۹۹ و ۰/۹۸) و استخراج آبی (به ترتیب ۰/۹۸ و ۰/۹۴) ترکیبات فنلی کل برگ با روش‌های آماری هستند (جدول‌های آنالیز واریانس ۲ و ۳).

با توجه به متغیرهای مستقل معنی‌دار در فرایند استخراج الکلی و آبی ترکیبات فنلی کل از برگ گیاه براساس جدول‌های آنالیز واریانس، روابط کلی را می‌توان به شرح زیر گزارش کرد.

رابطه کلی تعیین میزان استخراج ترکیبات فنلی کل از برگ گیاه با حلال اتانول

$$Y = 11.21 + 0.23 A + 0.26 B + 0.000045 B^2$$

رابطه ۱

برگ گیاه با حلال آب مقطر:

رابطه کلی تعیین میزان استخراج ترکیبات فنلی کل از

$$Y = 6/36 + 0/15 A + 0/02 B$$

که در این روابط، Y: میزان ترکیبات فنلی کل استخراجی برحسب میلی گرم بر گرم، A: زمان برحسب دقیقه و B: توان فراصوت برحسب وات می باشد. با توجه به جدول های آنالیز واریانس ۲ و ۳، توان فراصوت (B) با بیشترین مجموع مربعات به عنوان مؤثرترین فاکتور استخراج ترکیبات فنلی کل از برگ گیاه کاپاریس با حلال های الکلی و آبی بدست

آمد. در شرایط بهینه (زمان ۴۵ دقیقه و توان فراصوت ۳۰۰ وات)، میزان ترکیبات فنلی کل استخراجی از برگ گیاه کاپاریس با حلال الکلی و آبی به ترتیب ۲۷/۴۵ و ۲۳/۸۲ میلی گرم بر گرم حاصل گردید که نشان دهنده بالاتر بودن میزان ترکیبات فنلی کل استخراجی از برگ گیاه با حلال الکلی در مقایسه با حلال آبی است (جدول های ۴ و ۵).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر متغیرهای مدت زمان عصاره گیری و توان فراصوت بر میزان ترکیبات فنلی کل عصاره های الکلی برگ گیاه کاپاریس

Table 2. ANOVA of extraction time and ultrasound power variables effects on total phenolics content of *Capparis spinosa* leaf alcoholic extracts

S.O.V.	d.f.	M.S.
Model	5	40.26**
A (Time)	1	17.30**
B (Ultrasound power)	1	182.29**
A B	1	0.1521
A ²	1	0.2336
B ²	1	1.43**
Residual	7	0.1040
Lack of fit	3	0.1444
Pure error	4	0.0737
R ²	0.9964	
Adjusted R ²	0.9938	
Predicated R ²	0.9825	

* and **: significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر متغیرهای مدت زمان عصاره گیری و توان فراصوت بر میزان ترکیبات فنلی کل عصاره های آبی برگ گیاه کاپاریس

Table 3. ANOVA of extraction time and ultrasound power variables effects on total phenolics content of *Capparis spinosa* leaf aqueous extracts

S.O.V.	d.f.	M.S.
Model	5	37.77**
A (Time)	1	18.07**
B (Ultrasound power)	1	168.80**
A B	1	0.09
A ²	1	0.5376
B ²	1	1.12
Residual	7	0.3009
Lack of fit	3	0.4450
Pure error	4	0.1928
R ²	0.9890	
Adjusted R ²	0.9811	
Predicated R ²	0.9440	

* and **: significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ۴- نتایج به دست آمده از فرآیند بهینه‌سازی با مدل **Quadratic** برای آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی برگ گیاه کاپاریس

Table 4. Optimization process results by quadratic model for antioxidant tests of *Capparis spinosa* leaf alcoholic extracts

Optimal point	Time (min)	Ultrasound power (W)	Total phenolic content (mg.g ⁻¹)	IC ₅₀ (μg.ml ⁻¹)	Desirability
1	45	300	27.45	8.14	0.950
2	45	296	27.21	8.29	0.936
3	45	292	26.97	8.44	0.921
4	39	300	26.71	8.66	0.910

جدول ۵- نتایج به دست آمده از فرآیند بهینه‌سازی با مدل **Quadratic** برای آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی برگ گیاه کاپاریس

Table 5. Optimization process results by quadratic model for antioxidant tests of *Capparis spinosa* leaf aqueous extracts

Optimal point	Time (min)	Ultrasound power (W)	Total phenolic content (mg.g ⁻¹)	IC ₅₀ (μg.ml ⁻¹)	Desirability
1	45	300	23.82	10.79	0.950
2	45	296	23.60	11.02	0.936
3	45	292	23.374	11.27	0.921
4	39	300	23.373	11.36	0.910

به طریق آماری (به ترتیب با ضرایب رگرسیون ۰/۹۷ و ۰/۹۱) همبستگی بسیار خوبی را با نتایج واقعی بدست آمده به روش تجربی (به ترتیب با ضرایب رگرسیون ۰/۹۸ و ۰/۹۹) نشان داد. با توجه به پارامترهای معنی‌دار در فرآیند استخراج الکلی و آبی ترکیبات آنتی‌اکسیدان از برگ گیاه براساس جدول‌های آنالیز واریانس ۶ و ۷، روابط کلی را می‌توان به شرح زیر گزارش کرد.

رابطه کلی تعیین میزان IC₅₀ عصاره استخراجی از برگ گیاه با حلال اتانول

$$Y = 23/11 - 0/05 A - 0/04 B$$

رابطه کلی تعیین میزان IC₅₀ عصاره استخراجی از برگ گیاه با حلال آب مقطر

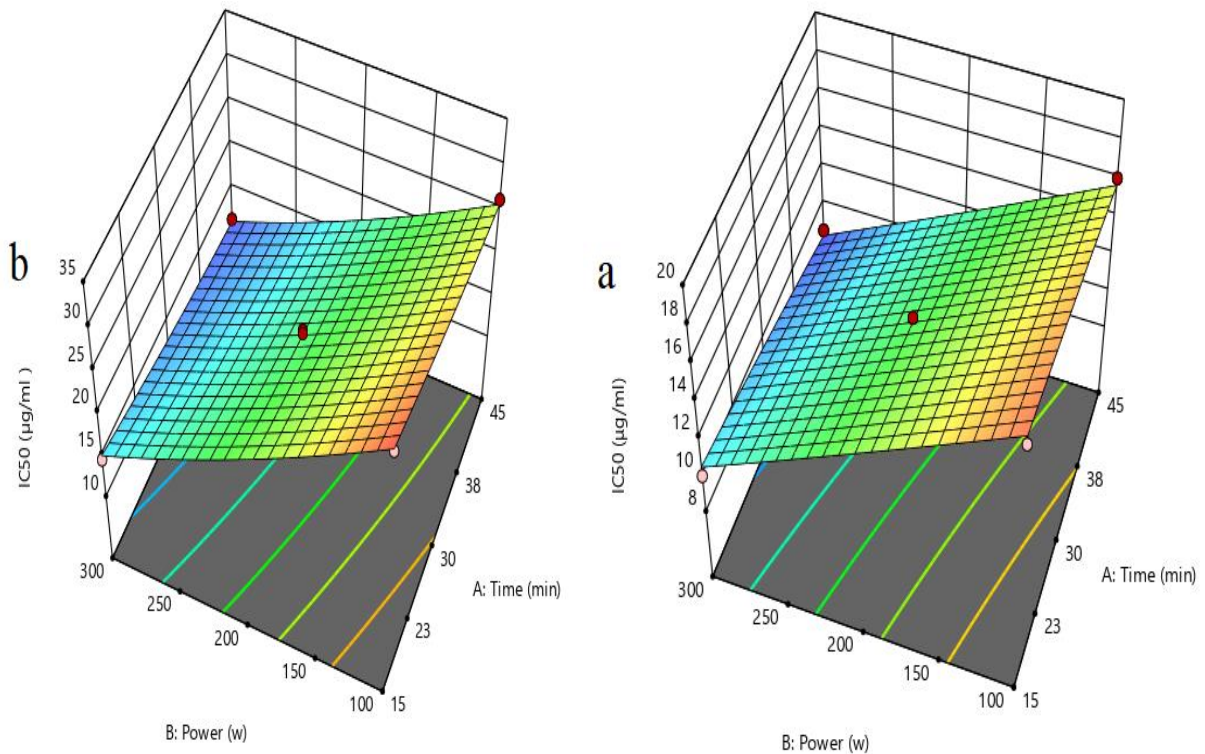
$$Y = 47/71 - 0/34 A - 0/12 B + 0/000083 B^2$$

که در این روابط، Y: میزان IC₅₀ عصاره استخراجی برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر، A: زمان برحسب دقیقه و B: توان فراصوت برحسب وات می‌باشد. با توجه به

اثر زمان و توان فراصوت بر میزان شاخص IC₅₀ و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی برگ براساس شکل ۴ که تأثیر همزمان متغیرهای مستقل زمان و توان فراصوت را بر میزان شاخص IC₅₀ عصاره‌های آبی و الکلی برگ نشان می‌دهد، مشخص گردید که با افزایش زمان (از ۱۵ تا ۴۵ دقیقه) و توان فراصوت (از ۱۰۰ تا ۳۰۰ وات) یک روند نزولی در میزان شاخص IC₅₀ عصاره‌های الکلی و آبی برگ گیاه و افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها وجود دارد. در این مطالعه، میزان میانگین IC₅₀ عصاره‌های استخراجی از آب مقطر به روش فراصوت به ترتیب ۱۳/۱۶/±۰/۶۰ و ۲۰/۴۲±۰/۸۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آمد که نشان داد ترکیبات آنتی‌اکسیدان استخراجی از عصاره‌های الکلی نسبت به حلال آبی بیشتر است. البته میزان میانگین IC₅₀ عصاره‌های الکلی و آبی برگ گیاه کاپاریس دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر بودند (P<۰/۰۵). میزان IC₅₀ پیشگویی شده عصاره‌های الکلی و آبی استخراجی توسط مدل

عصاره‌های استخراجی از برگ گیاه با حلال اتانول و آب مقطر به روش فراصوت به ترتیب ۸/۱۴ و ۱۰/۷۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آمد (جدول‌های ۴ و ۵).

جدول‌های آنالیز واریانس ۶ و ۷، توان فراصوت (B) به عنوان مؤثرترین فاکتور استخراج الکلی و آبی ترکیبات آنتی‌اکسیدان از برگ گیاه کاپاریس بدست آمد. در شرایط بهینه (زمان ۴۵ دقیقه و توان فراصوت ۳۰۰ وات)، IC_{50}



شکل ۴- نمودار سه بعدی اثر همزمان متغیرهای مدت زمان عصاره‌گیری و توان فراصوت بر میزان IC_{50} عصاره‌های اتانولی (a) و آبی برگ گیاه کاپاریس (b)

Figure 4. Three-dimensional diagram of simultaneous effects of extraction time and ultrasound power variables on IC_{50} of alcoholic (a) and aqueous (b) extracts of *Capparis spinosa* leaf

جدول ۶- تجزیه واریانس اثر متغیرهای مدت زمان عصاره‌گیری و توان فراصوت بر میزان IC_{50} عصاره‌های الکلی برگ گیاه کاپاریس

Table 6. ANOVA of extraction time and ultrasound power variables effects on IC_{50} of *Capparis spinosa* leaf alcoholic extracts

S.O.V.	d.f.	M.S.
Model	5	25.53**
A (Time)	1	11.73**
B (Ultrasound power)	1	115.79**
A B	1	0.0016
A ²	1	0.0877
B ²	1	0.0274
Residual	7	0.3602
Lack of fit	3	0.4464
Pure error	4	0.2955
R ²	0.9806	
Adjusted R ²	0.9668	
Predicated R ²	0.9127	

* and **: significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ۷- تجزیه واریانس اثر متغیرهای مدت زمان عصاره‌گیری و توان فراصوت بر میزان IC_{50} عصاره‌های آبی برگ گیاه کاپاریس

Table 7. ANOVA of extraction time and ultrasound power variables effects on IC_{50} of *Capparis spinosa* leaf aqueous extracts

S.O.V.	d.f.	M.S.
Model	5	113.34**
A (Time)	1	56.19**
B (Ultrasound power)	1	504.12**
A B	1	0.9216
A ²	1	1.13
B ²	1	4.83*
Residual	7	0.6514
Lack of fit	3	0.4528
Pure error	4	0.8004
R ²	0.9920	
Adjusted R ²	0.9863	
Predicted R ²	0.9743	

* and **: significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

بحث

و ریشه گیاه کاپاریس با حلال الکلی به روش فراصوت، یک روند افزایشی را در استحصال این ترکیبات با گذشت زمان از ۱۰ تا ۴۰ دقیقه گزارش کردند. از این رو، روند افزایشی استخراج ترکیبات فنلی از برگ گیاه با افزایش زمان منطقی به نظر می‌رسد.

فاکتور توان فراصوت نیز به دلیل محتوای انرژی بالای امواج منجر به ایجاد نیروی برشی و شکستن و تخریب دیواره‌های سلولی و افزایش احتمال رهایش محتویات گیاه به محیط استخراج و بهبود انتقال جرم می‌گردد (Safarzaei *et al.*, 2023). تخریب ساختار سلول سبب افزایش نفوذپذیری غشاء سلولی و تجزیه متابولیت‌های ثانویه حاصل از برهم‌کنش‌های ماتریس (پلی‌فنل‌ها با لیپوپروتئین‌ها) و افزایش انحلال‌پذیری و انتقال جرم پلی‌فنل‌ها می‌شود (Oroian *et al.*, 2020). توان فراصوت همچنین باعث کاهش اندازه ذرات و افزایش سطح تماس شده، از این رو، انتشار حلال در بافت گیاه را آسان نموده و افزایش می‌دهد (Li *et al.*, 2007).

سیستم‌های حلال دوگانه (هیدروالکلی) مانند اتانول ۷۰ درصد به دلیل میل ترکیبی بالا با ترکیبات فنلی، بازده استخراج پلی‌فنل‌ها را افزایش می‌دهند. علاوه بر این، حلال‌های با قطبیت و کشش سطحی بالا و ویسکوزیته و فشار بخار نسبتاً پایین مانند ترکیب آب و اتانول از

نتایج این مطالعه بیانگر آن است که با افزایش فاکتورهای زمان (از ۱۵ تا ۴۵ دقیقه) و توان حمام فراصوت (از ۱۰۰ تا ۳۰۰ وات) میزان استخراج ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان از برگ گیاه کاپاریس با حلال‌های اتانولی و آبی یک روند افزایشی را نشان داد و عصاره‌های اتانولی برگ گیاه کاپاریس نسبت به عصاره‌های آبی دارای میزان ترکیبات فنلی و قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد بیشتری بودند. Safarzaei و همکاران (۲۰۲۳) در بهینه‌سازی شرایط استخراج ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان از برگ و ریشه گیاه کاپاریس (*C. spinosa*) با حلال آبی به روش فراصوت بیان کردند که یک روند افزایشی در میزان استخراج با گذشت زمان وجود دارد. پارامتر زمان، مدت انتقال جرم را افزایش می‌دهد. Wang و همکاران (۲۰۰۸) در بهینه‌سازی استخراج ترکیبات فنلی از سبوس گندم به روش فراصوت، افزایش معنی‌داری را در میزان استخراج ترکیبات فنلی از ۱۰ تا ۳۰ دقیقه گزارش کردند. Mazarei و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای به بهینه‌سازی استخراج آبی پلی‌ساکاریدها از برگ گیاه کاپاریس به روش فراصوت پرداختند و یک اثر افزایشی را در میزان استخراج با گذشت زمان از ۶۰ تا ۱۲۰ دقیقه گزارش کردند. Safarzaei و همکاران (۲۰۲۲) در استخراج ترکیبات فنلی، آنتی‌اکسیدان و ضد میکروبی از برگ

حجمی وزنی حلال به گیاه ۱۵/۹ به ۱ گزارش کردند که در این مطالعه دما و نسبت نمونه و حلال ثابت بوده، اما در اثر افزایشی زمان در میزان استخراج با یکدیگر مطابقت دارند. در مطالعه Bhojar و همکاران (۲۰۱۱)، میزان ترکیبات فنلی کل برگ‌های گیاه کاپاریس منطقه ترانس هیمالیا بین ۲۱/۴ تا ۲۷/۶ میلی‌گرم بر گرم گزارش شد که با مقادیر بهینه این مطالعه مطابقت دارد. Rashedi و همکاران (۲۰۱۵) میزان ترکیبات فنلی کل عصاره‌های متانولی استخراجی از برگ گیاه کاپاریس رویشی در استان خوزستان به روش غرقابی را ۲۸/۷ میلی‌گرم بر گرم گزارش کردند که نشان داد میزان ترکیبات فنلی کل استخراجی از برگ گیاه با حلال متانول نسبت به حلال اتانول در این مطالعه بیشتر است.

Rouhani (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای میزان ترکیبات فنلی کل استخراجی از برگ گیاه کاپاریس با حلال‌های اتانول و آبی به روش غرقابی را به ترتیب ۵/۳۸ و ۱/۰۵ میلی‌گرم بر گرم گزارش کرد که در مقایسه با میزان بهینه این مطالعه، ترکیبات فنلی کل استخراجی از برگ با حلال الکی و آبی به مراتب کمتر هستند، اما میزان بیشتر ترکیبات فنلی کل استخراجی با حلال الکی در مقایسه با حلال آبی با این مطالعه مطابقت دارد. دلیل این تفاوت در میزان ترکیبات فنلی کل استخراجی از برگ گیاه کاپاریس می‌تواند ناشی از تأثیر کارآمد امواج فراصوت در فرایند استخراج ترکیبات فنلی از برگ گیاه نسبت به روش سنتی استخراج غرقابی باشد. تنش برشی حاصل از امواج فراصوت منجر به شکسته شدن مولکول‌های پلیمری بزرگ و استخراج بهتر ترکیبات فنلی نسبت به روش غرقابی می‌شود (Safarzaei et al., 2023).

شاخص IC_{50} به غلظتی از عصاره اختصاص دارد که قادر به مهار ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH باشد (Amiri, 2011). تعیین میزان مهار رادیکال‌های DPPH که در واقع ارزیابی توانایی ترکیبات احیاکننده مانند فنل‌ها در انتقال اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد می‌باشد، روش مرسوم محاسبه قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بوده و بر پایه بی‌رنگ شدن محلول DPPH توسط آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره استوار است. بنابراین هر چه عصاره

هم‌گسیختگی سلولی و رهائش ترکیبات استخراجی را آسان نموده و منجر به افزایش شدت حفره‌زایی فراصوت و افزایش نفوذپذیری سلولی می‌گردند (Tsiaka et al. 2023). آب موجود در حلال‌های آلی منجر به افزایش قطبیت محیط استخراج شده و امکان نفوذ حلال به ماتریس جامد مواد گیاهی و تورم آنها را فراهم می‌کند (Smaoui et al. 2020). Boudries و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه‌ای به بهینه‌سازی استخراج اتانولی ترکیبات فنلی از غنچه‌های گیاه کاپاریس به روش فراصوت پرداختند و افزایش معنی‌داری را در میزان استخراج ترکیبات فنلی با افزایش زمان از صفر تا ۲۴۰ دقیقه و افزایش توان حمام فراصوت از صفر تا ۱۰۰ وات گزارش کردند.

Aliyazicioglu و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه‌ای به بررسی ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراجی از گیاه *Capparis spinosa* L. با حمام فراصوت پرداختند و میانگین ترکیبات فنلی کل گیاه را ۰/۳۷۰۱ میلی‌گرم بر گرم گزارش کردند که در مقایسه با نتایج این مطالعه، مقدار کمتری از این ترکیبات را نشان می‌دهد. این موضوع می‌تواند ناشی از تفاوت در شرایط محیطی محل رویش گیاه باشد (Aliyazicioglu et al., 2013). Boudries و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه‌ای، میزان بهینه ترکیبات فنلی کل استخراجی از غنچه گیاه کاپاریس با حلال اتانول به روش فراصوت را ۳۹/۹۶ میلی‌گرم اسیدگالیک در یک گرم وزن خشک عصاره در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد، غلظت اتانول ۵۰ درصد، توان فراصوت ۱۰۰ وات و زمان ۲۴۰ دقیقه گزارش کردند که در مقایسه با این مطالعه، میزان ترکیبات فنلی کل استخراجی بیشتر می‌باشد. این اختلاف می‌تواند ناشی از تفاوت در میزان ترکیبات فنلی کل بخش‌های مختلف گیاه کاپاریس و نیز تأثیر دما و افزایش زمان در فرایند استخراج نسبت به این مطالعه باشد. Mazarei و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای بیشترین بازده استخراج پلی‌ساکاریدها از برگ گیاه کاپاریس را ۶/۷۳ درصد در شرایط بهینه ۱۱۹/۸ دقیقه، دمای ۷۲/۸ درجه سانتیگراد حمام فراصوت و نسبت

نشان داد میزان IC_{50} عصاره‌های استخراجی از برگ گیاه با حلال متانول نسبت به میزان بهینه IC_{50} عصاره‌های استخراجی با حلال اتانول و آب در این مطالعه کمتر و قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراجی بیشتر است. Rouhani (۲۰۱۶) در مطالعه‌ای، میزان IC_{50} عصاره‌های استخراجی از برگ گیاه کاپاریس رویشی در شهرستان گناباد با حلال اتانول و آب مقطر به روش غرقابی را به ترتیب $39/66$ و 1305 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کرد که نسبت به میزان بهینه این مطالعه، IC_{50} عصاره‌های استخراجی از برگ با حلال‌های الکلی و آبی به مراتب بیشتر هستند، اما میزان کمتر IC_{50} عصاره‌های استخراجی با حلال الکلی در مقایسه با حلال آبی با این مطالعه مطابقت دارد. دلیل این تفاوت در میزان IC_{50} عصاره‌های استخراجی از برگ گیاه کاپاریس می‌تواند ناشی از کارایی روش نوین فراصوت در استخراج ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان از برگ گیاه نسبت به روش سنتی استخراج غرقابی باشد. افزایش قدرت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای فراصوت شده به دلیل اعمال شدت صوت و زمان کوتاه فرایند نسبت به روش غرقابی می‌باشد. از سوی دیگر، با توجه به گونه و ژنوتیپ، شرایط محیطی و محل رویش گیاه، میزان ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی برگ‌های گیاه کاپاریس می‌توانند متفاوت باشند (Safarzaei et al., 2020).

نتایج این مطالعه بیانگر آن است که برگ‌های گیاه کاپاریس رویشی در شهرستان هیرمند با وجود شرایط آب و هوایی سخت منطقه سیستان، وزش بادهای شدید 120 روزه، خشکسالی بیش از دو دهه، میزان بارندگی بسیار اندک و وجود ریزگردها و گردوغبار در هوا، به دلیل سازگاری و انطباق ساختارهای گیاه با شرایط سخت، دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی نسبت به گیاه کاپاریس رویشی در سایر نقاط کشور می‌باشد. با توجه به موج مهاجرت جمعیتی ناشی از خشکسالی در چند سال اخیر از روستاهای مرزی شهرستان هیرمند مانند روستای عبدالرحمان صفرزائی به استان‌های همجوار، خالی از سکنه شدن روستاها، کمبود فرصت شغلی و از سوی دیگر

دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدان بیشتری باشد، میزان IC_{50} آن نیز کمتر خواهد بود (Safarzaei et al., 2023). در شرایط بهینه، کارایی عصاره‌های اتانولی برگ گیاه کاپاریس در جمع‌آوری رادیکال‌های DPPH بیشتر از عصاره‌های آبی بود که با میزان ترکیبات فنلی کل موجود در برگ گیاه رابطه مستقیم داشت. هر چه عصاره دارای ترکیبات فنلی بیشتری بود میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدان بیشتر و IC_{50} کمتری را از خود نشان داد. این موضوع به دلیل نقش احیاکننده فنل‌ها در انتقال اتم هیدروژن به رادیکال‌های آزاد، مهار آنها و اثر آنتی‌اکسیدانی وابسته به میزان ترکیبات فنلی می‌باشد. نظر به اینکه ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی از عوامل اصلی آنتی‌اکسیدان محسوب می‌شوند (Amiri, 2011)، بنابراین بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ را می‌توان به بالا بودن میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی نسبت داد. Zia-Ul-Haq و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه‌ای به تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های هوایی گیاه کاپاریس پرداختند و میزان خاصیت بازدارندگی از اکسیداسیون عصاره‌های متانولی برگ، گل و میوه گیاه کاپاریس را به ترتیب $104/17$ ، $86/04$ و $69/1$ درصد گزارش کردند که نشان می‌دهد درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ گیاه بیشتر از گل و میوه آن بوده است. از جمله ترکیبات آنتی‌اکسیدان عمده برگ گیاه کاپاریس می‌توان به روتین اشاره کرد. Moghaddasian و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه‌ای راجع به تغییرات روزانه میزان روتین در گیاه کاپاریس رویشی در شهرستان تفرش ملاحظه کردند که در میان اندام‌های هوایی (برگ، ریشه، ساقه و غنچه) غنچه گل و برگ اندام‌های اصلی تولیدکننده روتین بودند و میزان روتین در صبح بیشتر مشاهده گردید. در پژوهشی دیگر از همین محققان، میزان روتین برگ گیاه کاپاریس پرورش‌یافته در شهرستان تفرش $10/4$ میلی‌گرم بر گرم گزارش شد (Moghaddasian et al., 2012). Rashedi و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای به منظور بررسی فیتوشیمیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه کاپاریس در استان خوزستان، میزان IC_{50} عصاره متانولی برگ گیاه را $4/83$ میکروگرم بر میلی‌گرم گزارش کردند که

امواج فراصوت می‌تواند منجر به تخریب ساختارهای گیاهی، افزایش خروج ترکیبات موجود در گیاه به محیط استخراج و بهبود بازده استخراج ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان گردد. در این مطالعه، شرایط بهینه استخراج ترکیبات فنلی کل و آنتی‌اکسیدان، زمان ۴۵ دقیقه و توان فراصوت ۳۰۰ وات بدست آمد که در آن میزان بهینه استخراج ترکیبات فنلی کل از برگ گیاه با حلال آبی و الکلی به ترتیب ۲۳/۸ و ۲۷/۴ میلی‌گرم بر گرم و میزان بهینه IC₅₀ عصاره‌های آبی و الکلی استخراجی به ترتیب ۱۰/۸ و ۸/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده گردید. به‌طورکلی، عصاره‌های الکلی استخراجی با حمام فراصوت دارای میزان ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان بیشتر نسبت به عصاره‌های آبی بودند.

فرسایش بیش از حد خاک، استفاده از ظرفیت کشت و پرورش گیاهان مقاوم به خشکی و کاهش‌دهنده فرسایش خاک از جمله کاپاریس می‌تواند زمینه عدم مهاجرت از روستاها، افزایش میزان اشتغال در این مناطق و افزایش ارزآوری از طریق صادرات فرآورده‌های کشاورزی، دارویی و آرایشی-بهداشتی حاصل از گیاه کاپاریس را فراهم نماید. علاوه بر این، روش استخراج فراصوت در مقایسه با روش‌های سنتی استخراج، یکی از روش‌های سریع و با کارایی بالا می‌باشد. به‌طوری‌که با افزایش فاکتورهای زمان و توان فراصوت، استخراج ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان از برگ گیاه با حلال الکلی و آبی افزایش یافت و توان فراصوت به عنوان تأثیرگذارترین فاکتور انتخاب شد. تنش برشی، حفره‌زایی و افزایش دما و فشار ایجاد شده در اثر

References

- Afzali, S.F., Sadeghi, H. and Taban, A., 2023. A comprehensive model for predicting the development of defense system of *Capparis spinosa* L.: a novel approach to assess the physiological indices. *Scientific Reports*, 13(1), 12413.
- Aliyazicioglu, R., Eyupoglu, O.E., Sahin, H., Yildiz, O. and Baltas, N., 2013. Phenolic components, antioxidant activity, and mineral analysis of *Capparis spinosa* L. *African Journal of Biotechnology*, 12(47): 6643-6649.
- Amiri, H., 2011. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of *Salvia multicaulis* Vahl. *Journal of Medicinal Plants*, 8(1): 111-117.
- Bhojar, M.S., Mishra, G.P., Naik, P.K. and Srivastava, R.B., 2011. Estimation of antioxidant activity and total phenolics among natural populations of Caper (*Capparis spinosa*) leaves collected from cold arid desert of Trans-Himalayas. *Australian Journal of Crop Science*, 5(7): 912-919.
- Boudries, H., Nabet, N., Chougui, N., Souagui, S., Loupassaki, S., Madani, K. and Dimitrov, K., 2019. Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant phenolics from *Capparis spinosa* flower buds and LC-MS analysis. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3): 2241-2252.
- Chedraoui, S., Abi-Rizk, A., El-Beyrouthy, M., Chalak, L., Ouaini, N. and Rajjou, L., 2017. *Capparis spinosa* L. in a systematic review: A xerophilous species of multi values and promising potentialities for agrosystems under the threat of global warming. *Frontiers in Plant science*, 8, 1845.
- Dehghan Tanha, R., Mahdian, E., Amini Fard, M.H., Bayat, H. and Karajian, R., 2019. Optimization of ultrasound-assisted extraction of total phenolic content from *Capsicum annum* fruits with response surface methodology. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 11(1): 87-97.
- Ghorbani, M., Aboonajmi, M., Ghorbani, J.M. and Arabhosseini, A., 2017. Effect of ultrasound extraction conditions on yield and antioxidant properties of the fennel seed (*foeniculum vulgare*) extract. *Journal of Food Science and Technology*, 14(6): 63-73.
- Hayouni, E., Abedrabba, M., Bouix, M. and Hamdi, M., 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105(3): 1126-1134.
- Huseini, H.F., Hasani-Rnjbar, S., Nayebi, N., Heshmat, R., Sigaroodi, F.K., Ahvazi, M., Alaei, B.A. and Kianbakht, S., 2013. *Capparis spinosa* L. (Caper) fruit extract in treatment of type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Complementary therapies in medicine*, 21(5): 447-452.
- Khlebnikov, A.I., Schepetkin, I.A., Domina, N.G., Kirpotina, L.N. and Quinn, M.T., 2007. Improved quantitative structure-activity relationship models to

- predict antioxidant activity of flavonoids in chemical, enzymatic, and cellular systems. *Bioorganic and medicinal chemistry*, 15(4): 1749-1770.
- Li, J.W., Ding, S.D. and Ding, X.L., 2007. Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from *Zizyphus jujuba* cv. jinsixiaozao. *Journal of food engineering*, 80(1): 176-183.
 - Luque-Garcia, J. and De Castro, M.L., 2003. Ultrasound: a powerful tool for leaching. *Trends in Analytical Chemistry*, 22(1): 41-47.
 - Mahboubi, M. and Mahboubi, A., 2014. Antimicrobial activity of *Capparis spinosa* as its usages in traditional medicine. *Herba Polonica*, 60(1): 39-48.
 - Mazarei, F., Jooyandeh, H., Noshad, M. and Hojjati, M., 2017. Polysaccharide of caper (*Capparis spinosa* L.) Leaf: Extraction optimization, antioxidant potential and antimicrobial activity. *International journal of biological macromolecules*, 95: 231-224.
 - Mishra, B.B. and Tiwari, V.K., 2011. Natural products: An evolving role in future drug discovery. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(10): 4769-4807.
 - Moghaddasian, B., Alaghemand, A. and Eradatmand Asli, D., 2013. Diurnal change in routine content in *Capparis spinosa* growing wild in Tafresh/Iran. *European J Experimental Biology*, 3(3): 30-34.
 - Moghaddasian, B., Eradatmand, A. and Alaghemand, A., 2012. Quantitative analysis of quercetin in different parts of *Capparis spinosa* by HPLC. *Annals of Biological Research*, 3(12): 5775-5778.
 - Mollica, A., 2017. Anti-diabetic and anti-hyperlipidemic properties of *Capparis spinosa* L.: In vivo and in vitro evaluation of its nutraceutical potential. *Journal of functional foods*, 35: 32-42.
 - Moufid, A., Farid, O. and Eddouks, M., 2015. Pharmacological Properties of *Capparis spinosa* Linn. *Int J Diabetol Vasc Dis Res*, 3(5): 99-104.
 - Oroian, M., Ursachi, F. and Dranca, F., 2020. Influence of ultrasonic amplitude, temperature, time and solvent concentration on bioactive compounds extraction from propolis. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64: 105021.
 - Rashedi, H., Amiri, H. and Gharezi, A., 2015. Assessment of phytochemical and antioxidant properties of the *Capparis spinosa* L. in Khuzestan province. *Journal of Qazvin University of Medical Science*, 18(6): 11-17.
 - Razavi, R. and Kenari, R.E., (2021). Antioxidant evaluation of *Fumaria parviflora* L. extract loaded nanocapsules obtained by green extraction methods in oxidative stability of sunflower oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(3), 2448-2457.
 - Rodrigues, S., Pinto, G.A. and Fernandes, F.A., 2008. Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(1): 95-100.
 - Rouhani, H., 2016. Determination some the ecological, antioxidant and antimicrobial properties of caper (*Capparis spinosa*) in habitat Gonabad. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Torbat-e-Heydarieh, Torbat-e-Heydarieh.
 - Safarzaei, A., Esmailzadeh Kenari, R. and Farahmandfar, R., 2023. Optimization of aqueous extraction conditions of phenolic and antioxidant compounds of Caper (*Capparis spinosa*) leaves and roots using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 138(20): 26-40.
 - Safarzaei, A., Sarhadi, H. and Dashipour, A.R., 2022. Optimization of antimicrobial and antioxidant aextraction of caper (*Capparis spinosa*) leaves and roots assisted by ultrasonic waves. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 13(4): 31-50.
 - Safarzaei, A., Sarhadi, H., Khodaparast, M.H.H., Shahdadi, F. and Dashipour, A.R., 2020. Optimization of aqueous and alcoholic extraction of phenolic and antioxidant compounds from Caper (*Capparis spinosa* L.) Roots assisted by ultrasound waves. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 22(4): e100747.
 - Sharififar, F., Moshafi, M.H., Mansouri, S.H., Khodashenas, M. and Khoshnoodi, M., 2007. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control*, 18(7): 800-805.
 - Smaoui, S., Ben Hlima, H., Fourati, M., Elhadef, K., Ennouri, K. and Mellouli, L., 2020. Multiobjective optimization of *Phoenix dactylifera* L. seeds extraction: mixture design methodology for phytochemical contents and antibacterial activity. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(10): e14822.
 - Sohrabi, F. and Kavooosi, G.R., 2018. Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(1): 95-100.
 - Tlili, N., Nasri, N., Saadaoui, E., Khaldi, A. and Triki, S., 2009. Carotenoid and tocopherol composition of leaves, buds, and flowers of *Capparis spinosa* grown

- wild in Tunisia. Journal of agricultural and food chemistry, 57(12): 5381-5385.
- Tsiaka, T., Lantzouraki, D.Z., Polychronaki, G., Sotiroudis, G., Kritsi, E., Sinanoglou, V.J., Kalogianni, D.P. and Zoumpoulakis, P., 2023. Optimization of ultrasound-and microwave-assisted extraction for the determination of phenolic compounds in peach byproducts using experimental design and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Molecules, 28(2): 518.
 - Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y. and Li, X., 2008. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. Food Chemistry, 106(2):804-810.
 - Wu, Y., Cui, S.W., Tang, J. and Gu, X., 2007. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds by response surface methodology. Food chemistry, 105(4): 1599-1605.
 - Yang, T., Liu, Y., Wang, C. and Wang, Z., 2008. Advances on investigation of chemical constituents, pharmacological activities and clinical applications of *Capparis spinosa*. Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica, 33(21): 2453-2458.
 - Zeggwagh, N., Michel, J. and Eddouks, M., 2007. Cardiovascular effect of *Capparis spinosa* aqueous extract. part VI: in vitro vasorelaxant Effect. American Journal of Pharmacology and Toxicology, 2(3): 135-139.
 - Zhou, H., Jian, R., Kang, J., Huang, X., Li, Y., Zhuang, C., Yang, F., Zhang, L., Fan, X., Wu, T. and Wu, X., 2010. Anti-inflammatory effects of caper (*Capparis spinosa* L.) fruit aqueous extract and the isolation of main phytochemicals. Journal of agricultural and food chemistry, 58(24): 12717-12721.
 - Zia-Ul-Haq, M., Cavar, S., Qayum, M., Imran, I. and Feo, V.d., 2011. Compositional studies: antioxidant and antidiabetic activities of *Capparis decidua* (Forsk.) Edgew. International journal of molecular sciences, 12(12): 8846-8861.