



Phytochemical Composition, Antioxidant Activity, and Anticancer Effects of Root and Sprout Extracts of Quinoa (*Chenopodium quinoa*) on AGS Gastric Cancer Cells

Fatemeh Shirali¹, S. Ebrahim Seifati^{1*} 

¹ Department of Arid Land and Desert Management, School of Natural Resources and Desert Studies, Yazd University, Yazd, Iran, Email: seifati@yazd.ac.ir

Article type:	Abstract
Research article	<p>This study aimed to investigate the phytochemical composition, antioxidant activity, and anticancer effects of root and sprout samples from Multi-hued Bulk, Black, and Titicaca Quinoa varieties (<i>Chenopodium quinoa</i> willd.) on Human Gastric Adenocarcinoma Cell Line (AGS). These varieties were cultivated using a complete randomized block design with four replications in arid and semi-arid regions of Iran (research field of Yazd University). Root samples were harvested before seed filling from a soil depth of 30 cm. Once the seed germination and filling stages were complete, 100 g of seeds from each variety were randomly selected without hulling to produce sprouts. The total saponins content, phytochemical composition, and antioxidant activity (Ferric reducing antioxidant power and DPPH free radical inhibition) of the hydroethanolic extract (80:20) (obtained using the Soxhlet method, at 100, 250, 500, and 1000 mg/mL) were evaluated for root and sprout samples of all three varieties. Based on the results, the highest saponin contents (mg/g dry weight) were observed in the Black root (4.24) and Titicaca root (1.7), while the lowest saponin content (0.6) was found in the Black sprout. The Black and Titicaca sprout extracts at 1000 mg/mL had significantly higher total phenolic (172.68 mgGAE/gDW) and flavonoid (128.17 mgQ/gDW) contents, as well as antioxidant capacity compared to the corresponding samples from the Multi-hued Bulk variety and the root samples of all three varieties. The lowest and highest DPPH IC₅₀ values were observed in the Black sprout and Multi-hued Bulk root extracts at 1000 mg/mL (1.11 and 3.15 mg/mL, respectively). The average cell viability of AGS was observed in the Black sprout extract (33.46) and Titicaca (36.11) varieties at 1000 mg/mL, 72 hours after the treatment, respectively. Findings could contribute to the development and accessibility of this medicinal plant for patients with gastric cancer.</p>
<p>Article history Received: 2023-02-20 Accepted: 2024-05-10 Published: 2024-06-12</p>	
<p>Keywords Cancer Cytotoxic effects Flavonoid Saponins Soxhlet Titicaca</p>	

Cite this article as: Shirali, F., Seifati, S.E. (2024). Phytochemical Composition, Antioxidant Activity, and Anticancer Effects of Root and Sprout Extracts of Quinoa (*Chenopodium quinoa*) on AGS Gastric Cancer Cells. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.*, 12(1): 55-74.



©The author(s)
Doi:

Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Dor:



ترکیبات فیتوشیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثرات ضدسرطانی عصاره ریشه و جوانه کینوا (*Chenopodium quinoa*) بر رده سلولی آدنوکارسینوم معده

فاطمه شیرعلی^۱، سیدابراهیم سیفتی^{۱*}

^۱ گروه مدیریت مناطق خشک و بیابانی، دانشکده منابع طبیعی و کورشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران، رایانامه: seifati@yazd.ac.ir

چکیده

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

به منظور بررسی محتوای ساپونین، ترکیبات فیتوشیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر سمیت سلولی ریشه و جوانه ارقام مولتی هد بالک، بلک و تیتیکاکا بر رده سلولی آدنوکارسینوم (AGS) سرطان معده، ارقام در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار در مزرعه نمونه مناطق خشک و نیمه‌خشک دانشگاه یزد کشت شدند. نمونه‌های ریشه، قبل از پرشدن دانه و از عمق ۳۰ سانتی‌متری خاک برداشت شد. همچنین از هر رقم، پس از کامل شدن مرحله رشد زایشی، ۱۰۰ گرم بذر به طور تصادفی جهت تولید جوانه بدون این که پوست‌گیری شود، برداشت گردید. محتوای ساپونین کل نمونه‌ها، ترکیبات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی (قدرت احیاکنندگی آهن و مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH) عصاره هیدروآتانولی (۸۰:۲۰) ریشه و جوانه هر سه رقم که به روش سوکسله تهیه شده بود، در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مورد ارزیابی قرار گرفت. بیشترین میزان ساپونین بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک نمونه، در ریشه بلک (۴/۲۴) و سپس ریشه تیتیکاکا (۱/۷) و کمترین میزان آن (۰/۶) در جوانه بلک مشاهده شد. همچنین به ترتیب عصاره جوانه ارقام بلک و تیتیکاکا در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از نظر محتوای کل ترکیبات فنولی (۱۷۲/۶۸ میلی‌گرم گالیک اسید به گرم ماده خشک)، فلاونوئیدی (۱۲۸/۱۷ میلی‌گرم کوئرستین به گرم ماده خشک) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، نسبت به نمونه‌های متناظر در رقم مولتی‌هد بالک و ریشه هر سه رقم، برتری معنی‌داری نشان دادند. کمترین و بیشترین $DPPH\ IC_{50}$ به ترتیب در عصاره جوانه بلک (۱/۱۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و ریشه مولتی‌هد بالک (۳/۱۵) مشاهده شد. کمترین درصد زنده‌مانی سلول‌های رده AGS به ترتیب در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره جوانه بلک (۳۳/۴۶) و تیتیکاکا (۳۶/۱۱) در زمان ۷۲ ساعت بود. نتایج این مطالعه می‌تواند منجر به توسعه و تسهیل دسترسی بیماران مبتلا به سرطان معده به این گیاه دارویی شود.

واژه‌های کلیدی:

تیتیکاکا
ساپونین
سرطان
سمیت سلولی
سوکسله
فلاونوئید

استناد: شیرعلی، فاطمه؛ سیفتی، سیدابراهیم. (۱۴۰۳). ترکیبات فیتوشیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثرات ضدسرطانی عصاره ریشه و جوانه کینوا (*Chenopodium quinoa*) بر رده سلولی آدنوکارسینوم معده. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۱۲(۱)، ۷۴-۵۵.

Doi:
Dor:

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.



مقدمه

کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd.) یک شبه غله از خانواده تاج خروسیان^۱ (Sigsgaard et al., 2008) و زیرخانواده چغندریان^۲ (Singh and Singh, 2016) است که بخش‌های مختلف ریشه، برگ و بخصوص دانه آن به دلیل وجود مقادیر زیادی مواد معدنی از جمله کلسیم، فسفر، آهن، پتاسیم و روی، انواع ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه ضروری و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ارزش غذایی بالایی داشته و به عنوان غذای انسان و دام در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Stikić et al., 2020).

در سال‌های اخیر با توجه به گزارش آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان^۳ که موارد ابتلا به انواع سرطان در سال ۲۰۲۰ را در حدود ۱۹/۳ میلیون نفر و تعداد موارد منجر به فوت را تقریباً ۱۰ میلیون نفر اعلام نمود (Sung et al., 2021)، مطالعات متعددی در رابطه با سمیت سلولی گیاهان به خصوص گیاه کینوا بر روی این بیماری انجام شد (Stikić et al., 2020; Fan et al., 2022; Aliyari et al., 2022) که اگرچه این مطالعات اغلب با تمرکز بر روی رقم یا ارقام خاص نبود اما نتایج آنها نشان داد که بخش‌های مختلف کینوا همچون برگ و دانه به دلیل ترکیبات فنولی (Stikić et al., 2020; Agarwal et al., 2023) می‌تواند اثرات سمیت سلولی موثری در کنترل رشد و جلوگیری از تکثیر سلول‌های سرطانی همچون رده سلولی HepG2 سرطان کبد (Mohamed et al., 2019) و رده‌های سلولی C4-I، HTB-35 و HTB-34 سرطان دهانه رحم انسانی (Paško et al., 2019) داشته باشد. اما با وجود شناسایی ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریشه (Dubal et al., 2020; Khan et al., 2013) و جوانه (Laus et al., 2020).

2017; Paucar-Menacho et al., 2018; Al-qabba et al., 2020) کینوا حتی به‌طور معنی‌دار نسبت به دانه، تاکنون پژوهش مشخصی در مورد کارایی سمیت سلولی این دو بخش از گیاه کینوا بر یک رده سلولی سرطانی گزارش نشده است.

از طرفی، پوست‌گیری دانه کینوا به جهت فراوری آن (چه برای مصارف غذایی و چه به لحاظ دارویی)، ضمن بالا بردن هزینه تمام شده، اگرچه موجب حذف ساپونین می‌شود اما با آسیب به بذر و جنین، محتوای معدنی دانه را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد (Mhada et al., 2020). این در حالی است که نتایج مطالعات نشان می‌دهد که آمینواسیدهای ضروری موجود در دانه کینوا، با جوانه‌زنی افزایش معنی‌داری می‌یابد که احتمالاً به دلیل تأثیر فرآیند جوانه‌زنی در افزایش فعالیت آنزیم‌ها و کاهش محتواهای ضد مغذی (به عنوان مثال، ساپونین‌ها) است. دانشمندان معتقدند جوانه‌زنی یک روش امیدوارکننده برای افزایش ارزش غذایی دانه‌های کینواست چرا که جوانه این گیاه می‌تواند یک منبع بسیار مهم از پروتئین‌ها با خواص عملکردی قابل توجه‌تری نسبت به دانه ارائه دهد (Barakat et al., 2024). از سویی دیگر، برای دسترسی سریع‌تر و ارزان‌تر جوامع انسانی به ترکیبات موثره کینوا، می‌توان از ریشه‌های آن در تولید دمنوش‌های گیاهی استفاده نمود، به طوری که از نظر کیفیت و زیست‌توده برای این امر، کافیت برداشت کل گیاه زمانی که ارتفاع بوته حدود ۱۰۰ سانتی‌متر است، انجام شود (Zhou et al., 2023).

اما با توجه به این مهم که سرطان معده به عنوان پنجمین سرطان شایع و سومین سرطان کشنده در جهان (Eom et al., 2023)، شایع‌ترین نوع سرطان در مردان در سال ۲۰۲۰ به ویژه در کشور ایران گزارش شده است (Shakuntala et al., 2022; Ilic and Ilic, 2022). این مطالعه با هدف مقایسه کارایی عصاره

1. Amaranthacea
2. Chenopodiaceae
3. IARC

به جهت تهیه نمونه ریشه ارقام مورد مطالعه، از هر تکرار به صورت تصادفی، ریشه‌ها از عمق ۳۰ سانتی‌متری خاک (Padda and Picha, 2007) و قبل از مرحله پر شدن دانه (Schmöckel, 2021) برداشت گردید (شکل ۱ ب). نمونه‌های جمع‌آوری شده دو مرتبه با آب مقطر استریل شستشو و جهت ادامه مطالعه در فضای کاملاً استریل و به دور از هر گونه گرد و غبار و آلودگی، سایه خشک شدند.

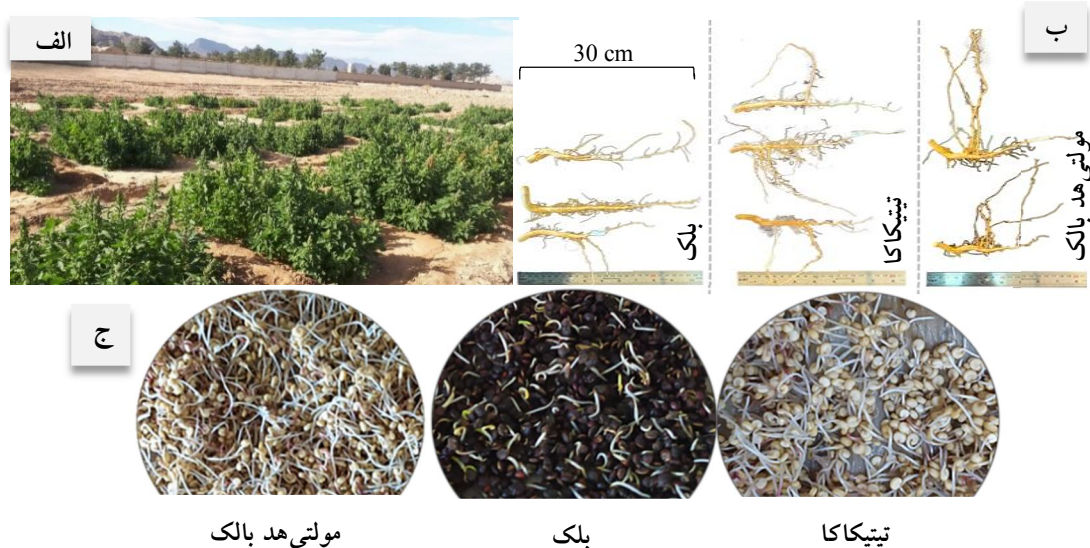
همچنین از هر رقم، پس از کامل شدن دوره رشد زایشی و پر شدن دانه، ۱۰۰ گرم بذر به طور تصادفی از هر تکرار برداشت شد (به منظور قابل تعمیم بودن نتایج برای مصرف دانه بلافاصله پس از برداشت از مزرعه و در راستای اهداف مطالعه، عمل پوست‌گیری بر روی بذور انجام نگرفت). بذور پس از ضدعفونی با محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم، یک مرتبه با آب مقطر (pH خنثی) شسته شدند و سپس بر روی کاغذ صافی مرطوب، درون ظرف پتری‌دیش در دستگاه ژرminatور (IKH-RH) با تیمار ۱۶ ساعت روشنایی (۲۰ سانتی‌گراد) و ۸ ساعت تاریکی (۱۵ سانتی‌گراد) و رطوبت ۶۰-۵۰ درصد قرار گرفتند. در طول آزمایش، ظروف پتری هر ۱۲ ساعت یکبار بررسی شدند و بذرهایی که حداقل طول ریشه‌چه آنها به ۲ میلی‌متر رسیده بود، به عنوان جوانه‌زده ثبت و از دستگاه خارج شدند (Prado et al., 2000). مشاهدات به مدت ۴ روز (۹۶ ساعت) با شرایط کاملاً یکسان برای همه ارقام ادامه یافت به طوری که در این مدت، حداقل ۸۰ درصد از بذور، جوانه زده بودند (شکل ۱ ج). جوانه‌ها به همراه بقایای دانه به دلیل نزدیکی به شرایط مصرف واقعی، در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در یک آون همرفتی مکانیکی به منظور انجام آزمایشات فیتوشیمیایی و بررسی سمیت سلولی، تا وزن ثابت، خشک گردیدند (Piñuel et al., 2019).

ریشه و جوانه حاصل از دانه پوست‌گیری نشده سه رقم تجاری کینوا شامل بلک، تیتیکاکا و مولتی‌هد بالک به منظور بررسی محتوای فیتوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و اثر سمیت آنها بر رده سلولی آدنوکارسینوم معده انسان^۱ انجام شد. به منظور قابل تعمیم بودن نتایج این پژوهش در رابطه با کارایی محصول برداشت شده از مزرعه به‌طور مستقیم برای مصارف دارویی از جمله سرطان معده، ارقام مورد مطالعه در این پژوهش، ابتدا در اقلیم خشک و نیمه‌خشک یزد، کشت و سپس نمونه‌برداری جهت آزمون‌های مورد نظر به صورت تصادفی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ارقام بلک^۲، تیتیکاکا^۳ از موسسه تحقیقات تهیه و اصلاح نهال و بذر کرج و رقم مولتی‌هد بالک^۴ از موسسه بذور شور کشور کانادا دریافت و در مردادماه ۱۳۹۹ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار در مزرعه پژوهشی دانشگاه یزد (مزرعه نمونه مناطق خشک و نیمه‌خشک) با مشخصات جغرافیایی "۳۵° ۲۱' ۵۴" (طول) و "۴۰' ۴۹" ۳۱۰ (عرض) و ارتفاع ۱۲۶۱ متر از سطح دریا، کمینه دمای صفر و بیشینه دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد و همچنین متوسط بارندگی سالانه حدود ۵۶ میلی‌متر کشت شدند (شکل ۱ الف). مزرعه مورد مطالعه هر دو هفته یکبار با آب چاه کشاورزی دانشگاه یزد ($EC=0.91 \text{ dSm}^{-1}$) آبیاری شد. سایر اقدامات زراعی شامل کوددهی و سمپاشی بر اساس الگوی کشت منطقه و به طور کاملاً یکسان برای تمامی ارقام و تکرارهای کشت، انجام و بلوک بندی صرفاً جهت در نظر گرفتن شیب زمین اعمال گردید.

1. Human Gastric Adenocarcinoma Cell Line; AGS
2. Black Quinoa
3. Titicaca
4. Multi-hued Bulk



شکل ۱- الف: مزرعه پژوهشی مناطق خشک و نیمه خشک، دانشگاه یزد،

ب: نمونه ریشه و ج: نمونه جوانه ارقام مورد مطالعه

ظروف تمام استریل و به دور از هرگونه آلودگی هواخشک و پودر خشک شده عصاره‌ها به منظور انجام آزمایشات فیتوشیمیایی و سمیت سلولی در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در نهایت برای ادامه مطالعه، غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره در ۳ تکرار تهیه گردید.

تعیین محتوای فنول کل^۱: جهت اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فنولی کل از روش Soland و Laima (۲۰۰۳) استفاده شد. در این روش جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Analytik Jena specord 210, Analytik Jena GmbH+Co) قرائت گردید. سپس محتوای کل ترکیبات فنولی با استفاده از معادله خط منحنی استاندارد اسید گالیک (mgGAE/gDW) $y = 0.0035x - 0.0077$; $R^2 = 0.99$ به دست آمده از سنجش شد. در معادله خط، y نشان‌دهنده میزان جذب عصاره است.

تعیین میزان ساپونین ریشه و جوانه: جهت اندازه‌گیری میزان ساپونین کل نمونه‌ها، مقدار ۰/۵ گرم پودر نمونه‌های مورد نظر در لوله آزمایش ریخته شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای جوش به‌لوله‌های آزمایش اضافه و لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه بن‌ماری در دمای ۶۰ درجه قرار داده شدند. پس از آن به مدت ۳۰ ثانیه به شدت تکان داده شدند. کف حاصله پس از گذشت ۱۵ و ۳۰ دقیقه اندازه‌گیری (شکل ۲ الف) و در نهایت میزان ساپونین به ازاء وزن پودر نمونه گیاهی با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Koziol, 1991).

(۱)

{وزن خشک نمونه گیاهی (g) / (۰/۰۰۰۸ + (cm)

ارتفاع کف × ۰/۴۲۳} = (mg/gDW) ساپونین

عصاره‌گیری: به‌منظور تهیه عصاره به روش سوکسله، مقدار ۳۰ گرم از پودر نمونه ریشه و جوانه هر رقم کینوای مورد مطالعه با ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد در دمای متوسط ۵۰ الی ۶۰ درجه سانتی‌گراد عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل در دمای اتاق در

1.Total phenolic content; TPC

تعیین قدرت احیاکنندگی آهن^۳: به منظور تعیین قدرت احیاکنندگی عصاره نمونه های ریشه و جوانه سه رقم مورد مطالعه، از روش Oyaizu (۱۹۸۶) استفاده شد. در این روش، میزان جذب محلول حاصل در طول موج ۷۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

سنجش بقای سلول با انجام آزمون MTT^۴: پس از تعیین دو رقم بلک و تیتیکاکا به عنوان ارقام برتر از نظر خصوصیات فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی مورد مطالعه، اثر سمیت سلولی عصاره حاصل از ریشه و جوانه این دو رقم بر رده سلولی AGS سرطان معده که از آزمایشگاه ژنتیک دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد (یزد، ایران) در آبان ماه سال ۱۴۰۰ تهیه شده بود (شکل ۲ ج) با استفاده از روش MTT بررسی گردید (Hosseini et al., 2019). جهت انجام این آزمون، سلول‌ها در محیط کشت کامل، حاوی ۹۰ درصد محیط کشت RPMI^۵، ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و ۱ درصد پنی سیلین-استرپتومایسین در انکوباتور (دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO₂ ۵ درصد) کشت داده شدند. شمارش سلولی به وسیله لام نئوبار انجام گرفت (شکل ۲ د) و تعداد ۱۰-۵ هزار سلول به همراه ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت RPMI به هر چاهک در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته شد. پلیت‌های حاوی سلول به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری و پس از آن، محیط چاهک‌ها به طور کامل تخلیه و سپس ۱۸۰ میکرولیتر محیط کشت به همراه ۲۰ میکرولیتر تیمار از هر غلظت به چاهک‌ها اضافه شد.

تعیین محتوای فلاونوئید کل^۱: سنجش میزان فلاونوئید کل غلظت‌های مختلف عصاره نمونه‌های ریشه و جوانه ارقام مورد مطالعه، بر اساس روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید انجام شد (Kaijv et al., 2006). در این روش که برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف کوئرستین استفاده شد، جذب محلول پس از ۵ دقیقه در طول موج ۵۰۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. در نهایت با استفاده از معادله خط به دست آمده از منحنی کالیبراسیون ($y=0.0003x+0.0047; R^2=0.93$) غلظت فلاونوئید در عصاره‌ها بر حسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم ماده خشک عصاره (mgQ/gDW) گزارش شد. در فرمول خط، y نشان‌دهنده میزان جذب عصاره است.

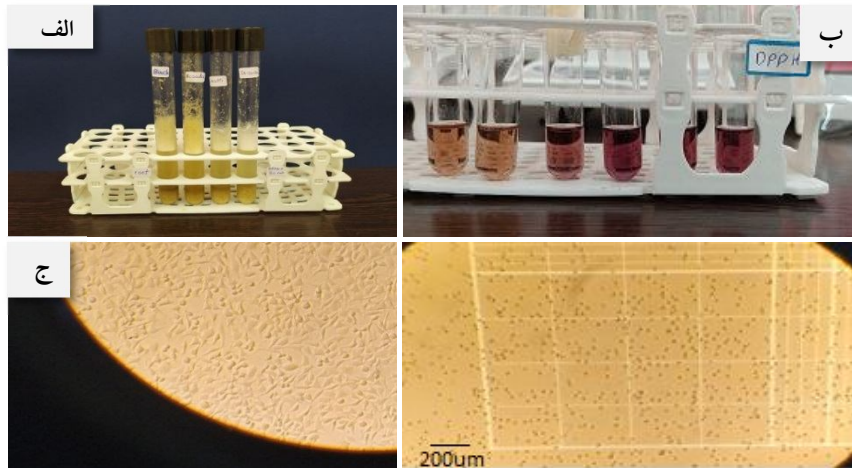
تعیین قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH^۶: جهت تعیین قدرت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، ابتدا محلول ۰/۱ میلی‌مولار از DPPH تهیه و سپس ۴ غلظت مختلف از عصاره به محلول DPPH اضافه گردید به طوری که حجم نهایی برابر ۳ میلی‌لیتر شد. جذب نمونه‌ها پس از ۳۰ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید (شکل ۲ ب). فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH بر اساس درصد با استفاده از رابطه زیر (Brand-Williams et al., 1995) محاسبه و غلظت موثر عصاره برای مهار ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد (DPPH IC₅₀) نیز تعیین گردید.

(۲)

$$\text{DPPH free radical scavenging\%} = \frac{A_B - A_S}{A_B} \times 100$$

3. Ferric reducing antioxidant power; FRAP
4. (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
5. Roswell Park Memorial Institute

1. Total flavonoid content; TFC
2. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl



شکل ۲- الف: سنجش ساپونین نمونه‌ها از طریق شاخص کف‌کنندگی، ب: سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، ج: سلول‌های سرطانی رده AGS و د: شمارش سلول‌های سرطانی به وسیله لام نئوبار

نگهداری شد تا اثر سیتوکسیک عصاره ریشه و جوانه ارقام مورد مطالعه کینوا بر آن مشخص شود. آماده‌سازی محلول MTT، طبق کیت BIO-IDEA شرکت ایده زیست نو ترکیب (تهران، ایران) انجام شد.

تجزیه‌های آماری

تجزیه آماری داده‌های یادداشت‌برداری شده در هر دو مرحله از این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS²⁷ انجام شد. نرم‌الیتی داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف^۲ و همگنی واریانس‌ها از طریق آزمون بارتلت-لون^۳ بررسی گردید. پس از تأیید نرمال بودن داده‌ها، تجزیه داده‌های مربوط به آزمایشات فیتوشیمیایی شامل سه رقم تیتیکاکا، بلک و مولتی‌هد بالک کینوا، دو نوع عصاره ریشه و جوانه و چهار سطح غلظت (۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و نیز آزمایشات سمیت سلولی رده AGS سرطان معده شامل دو رقم تیتیکاکا و بلک، دو نوع عصاره ریشه و جوانه در سه بازه زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و چهار سطح غلظت (۱۰۰، ۲۵۰،

مجدداً سلول‌ها به انکوباتور منتقل شدند. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، اولین پلیت با ترکیب MTT تیمار شد. بعد از اضافه کردن محلول MTT، پلیت حاوی سلول به انکوباتور منتقل و پس از ۳ ساعت انکوباسیون، تمام محلول MTT موجود در چاهک‌ها تخلیه و به هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر^۱ DMSO اضافه و پیتاژ شد. در این مرحله پلیت‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در انکوباتور و سپس به مدت ۳۰ ثانیه در دستگاه شیکر انکوباتور قرار داده شد تا رنگ ارغوانی در چاهک‌ها پخش و یک دست شود. جذب نوری چاهک‌ها به وسیله دستگاه الیزاید (Bio Tec ELx 800) در طول موج ۵۷۰ نانومتر خوانده شد.

در این مطالعه هیچ گونه تیماری بر سلول‌های گروه کنترل صورت نگرفت و هر چاهک صرفاً حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت RPMI و سلول بود. اما در گروه تیمار با عصاره ریشه و جوانه، چاهک‌های سلول با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره به میزان ۲۰ میکرولیتر در هر چاهک نیز تیمار شدند. پلیت‌ها بعد از تیمار سلول‌ها، به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در انکوباتور

2. Kolmogorov-Smirnov
3. Bartlett-Levene

1. Dimethyl sulfoxide

بارزترین خواص ساپونین‌ها به دلیل ویژگی آب‌دوستی-چربی‌دوستی آنهاست که می‌توان از این ویژگی به عنوان آزمون جهت تشخیص وجود ساپونین در نمونه‌های گیاهی بهره برد (Hostettmann and Marston, 1995). نتایج جدول تجزیه واریانس مربوط به محتوای ساپونین کل نمونه‌های ریشه و جوانه ارقام مورد مطالعه کینوا نشان داد بین ریشه و جوانه ارقام مولتی‌هد بالک، بلک و تیتیکاکا، از نظر محتوای ساپونین تفاوت معنی‌دار ($P\text{-value} \leq 0.01$) وجود دارد (جدول ۱). به طوری که بیشترین میزان ساپونین ($4/24$ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک نمونه) در ریشه رقم بلک و پس از آن ریشه تیتیکاکا ($1/7$ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک نمونه) و کمترین میزان آن ($0/6$ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک نمونه) در جوانه رقم بلک مشاهده شد (شکل ۳).

۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی به ترتیب با ۳ و ۶ تکرار انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها درخصوص تمامی صفات یادداشت‌برداری شده با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P\text{ value} \leq 0.05$) مورد بررسی قرار گرفت. تمامی نمودارها از طریق نرم‌افزار Excel 2016 رسم گردید.

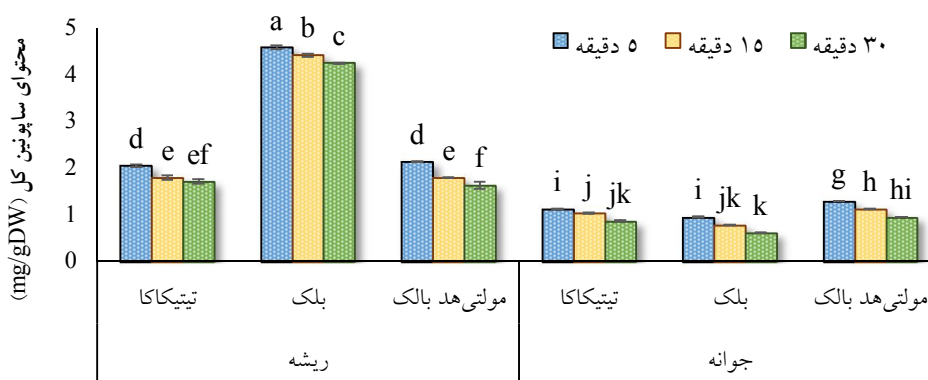
نتایج

ترکیبات فیتوشیمیایی عصاره‌های مورد مطالعه: به نحوی که اثرات ساده و متقابل سه‌گانه رقم، نوع نمونه گیاهی و غلظت عصاره (به استثنا اثر متقابل نوع نمونه در غلظت عصاره)، اختلاف معنی‌دار ($P\text{-value} < 0.01$) نشان دادند (جدول ۲).
محتوای ساپونین کل: تشکیل کف پایدار، یکی از

جدول ۱: تجزیه واریانس محتوای ساپونین کل موجود در عصاره ریشه و جوانه ارقام کینوای مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		۵ دقیقه	۱۵ دقیقه	۳۰ دقیقه
رقم	۲	۲/۵۰**	۲/۶۱**	۲/۵۸**
نمونه گیاهی	۱	۱۴/۵۱**	۱۲/۹۹**	۴/۰۶**
رقم × نمونه گیاهی	۲	۴/۶۱**	۴/۲۷**	۴/۷۵**
خطا	۱۲	۰/۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴
ضریب تشخیص		۰/۸۷	۰/۹۱	۰/۹۲

** نمایانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد ($P\text{-value} \leq 0.01$) است.



شکل ۳: محتوای ساپونین کل (میلی‌گرم بر گرم ماده خشک) ریشه و جوانه سه رقم کینوا

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، از نظر صفت مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری ($P\text{-value} > 0.05$) ندارند.

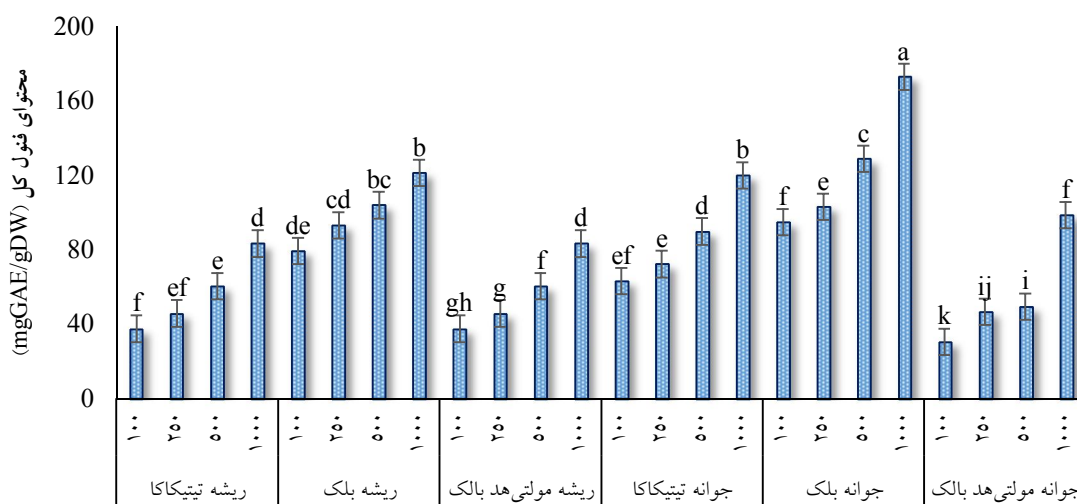
۱۱۹/۶۸ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن خشک عصاره تعیین شد، هرچند عصاره ریشه رقم بلک از این نظر اختلاف معنی داری ($P\text{-value}>0.05$) با عصاره جوانه رقم تیتیکاکا نداشت. اگرچه به طور متوسط محتوای فنول کل ریشه تمامی ارقام مورد مطالعه نسبت به عصاره جوانه کمتر بود (شکل ۴) ولی کمترین مقدار این شاخص در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره جوانه رقم مولتی هد بالک (۳۰/۴۵) میلی گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک عصاره) مشاهده شد.

ترکیبات فیتوشیمیایی عصاره های مورد مطالعه: نتایج جدول تجزیه واریانس برای خصوصیات فیتوشیمیایی مورد بررسی در این پژوهش نشان داد که اثرات ساده و متقابل سه گانه رقم، نوع نمونه گیاهی و غلظت عصاره (به استثناء اثر متقابل نوع نمونه در غلظت عصاره)، اختلاف معنی دار ($P\text{-value}\leq 0.01$) داشتند (جدول ۲).
محتوای فنول کل: بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده ها، بیشترین محتوای فنول کل در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر جوانه و ریشه رقم بلک و جوانه رقم تیتیکاکا به ترتیب با مقدار ۱۷۲/۶۸، ۱۲۱/۱۶ و

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی و آنتی اکسیدانی غلظت های مختلف عصاره ریشه و جوانه ارقام کینوای مورد مطالعه

میانگین مربعات				د.ف.ت	منابع تغییر
احیاکنندگی عنصر آهن (میلی مول آهن)	مهار رادیکال آزاد DPPH (درصد)	فلاونوئید (میلی گرم کوئرستین بر گرم ماده خشک)	فنول (میلی گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک)		
۰/۰۲۹**	۳۹۲۲/۶۵**	۲۶۲۰/۹۴**	۱۳۱۱۷/۴۶**	۲	رقم
۰/۱۱**	۴۶۰/۶۶**	۹۵۹۰/۱۱**	۱۰۶۸۶/۹۰**	۱	نوع نمونه
۰/۱۴**	۸۸۹۸/۱۳**	۲۰۶۴۰/۸۶**	۱۳۲۲۶/۴۱**	۳	غلظت عصاره
۰/۰۱۷**	۱۰۲۵/۲۵**	۳۷۶۲/۳۰**	۱۹۶۸۳/۶۰**	۲	رقم*نوع نمونه
۰/۰۰۳**	۲۱۷/۵۷**	۴۱/۰۶**	۲۱۸/۸۷**	۶	رقم*غلظت عصاره
۰/۰۰۱ ^{NS}	۱۰۱/۱۳**	۳۶/۵۰ ^{NS}	۱۳۹۴/۳۴**	۳	نوع نمونه*غلظت عصاره
۰/۰۰۱**	۱۱۶/۰۴**	۲۴۹/۲۱**	۴۴۳/۶۰**	۶	رقم*نوع نمونه*غلظت عصاره
۰/۰۰۱	۳/۶۴	۲۴/۶۴	۳۹/۳۷	۳۲	خطا
۰/۹۷	۰/۹۹	۰/۹۸	۰/۹۸		ضریب تشخیص

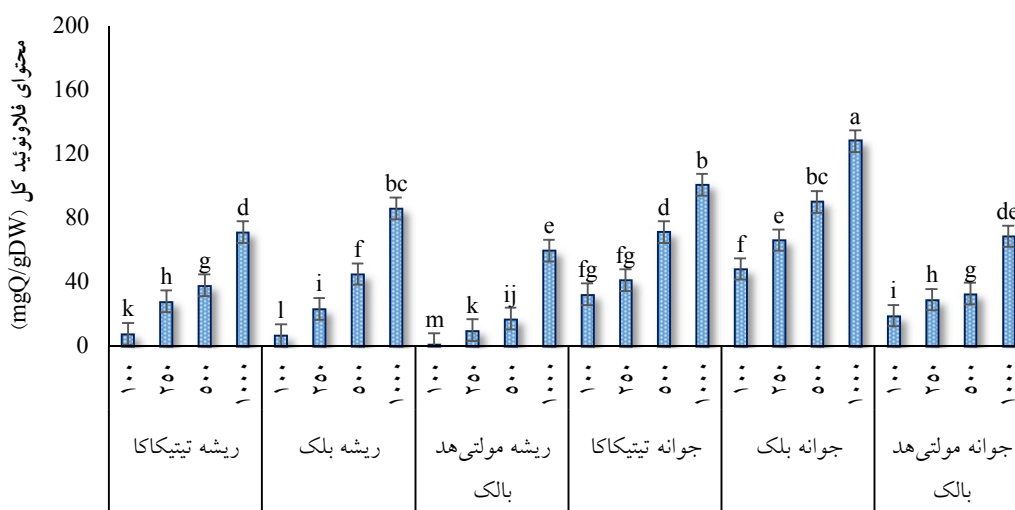
^{NS} و ** به ترتیب عدم معنی داری ($P\text{-value}>0.05$) و معنی داری در سطح یک درصد ($P\text{-value}\leq 0.01$) را نشان می دهد



شکل ۴: محتوای فنول (میلی گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک عصاره) ریشه و جوانه سه رقم کینوا میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، از نظر صفت مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری ($P\text{-value} > 0.05$) ندارند.

خشک عصاره) مشاهده شد. اگرچه نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، جوانه تیتیکاکا و ریشه بلک در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، از نظر محتوای فلاونوئید تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند. کمترین محتوای فلاونوئید کل نیز مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره ریشه رقم مولتی‌هد بالک (۱/۳۳ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم ماده خشک) بود (شکل ۵).

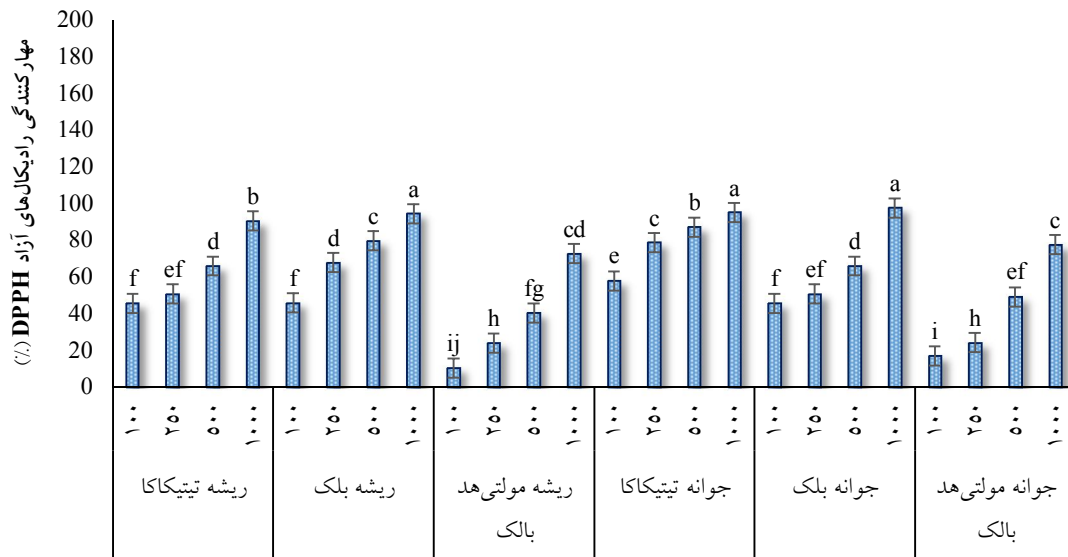
محتوای فلاونوئید کل: در خصوص محتوای فلاونوئید کل نیز نتایج حاکی از برتری عصاره جوانه در تمامی ارقام مورد مطالعه نسبت به غلظت‌های متناظر آنها در نمونه ریشه بود، اما بیشترین میزان به ترتیب در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره جوانه رقم بلک (۱۲۸/۱۷ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک عصاره) و پس از آن در عصاره جوانه رقم تیتیکاکا (۱۰۰/۷۵ میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن



شکل ۵: محتوای فلاونوئید (میلی‌گرم کوئرستین بر گرم ماده خشک عصاره) ریشه و جوانه سه رقم کینوا میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، از نظر صفت مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری ($P\text{-value} > 0.05$) ندارند.

مولتی هد بالک (۱۰/۴۳ درصد) بود (شکل ۶). به طور کلی نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان دادند که مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با افزایش غلظت عصاره، روند صعودی داشت به نحوی که این افزایش در عصاره‌های حاصل از جوانه ارقام مورد مطالعه بیشتر از ریشه بود. همچنین در مطالعه حاضر کمترین میزان IC_{50} در عصاره جوانه رقم بلک (۱/۱۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و بیشترین میزان آن در عصاره ریشه رقم مولتی هد بالک (۳/۱۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مشاهده شد (شکل ۷).

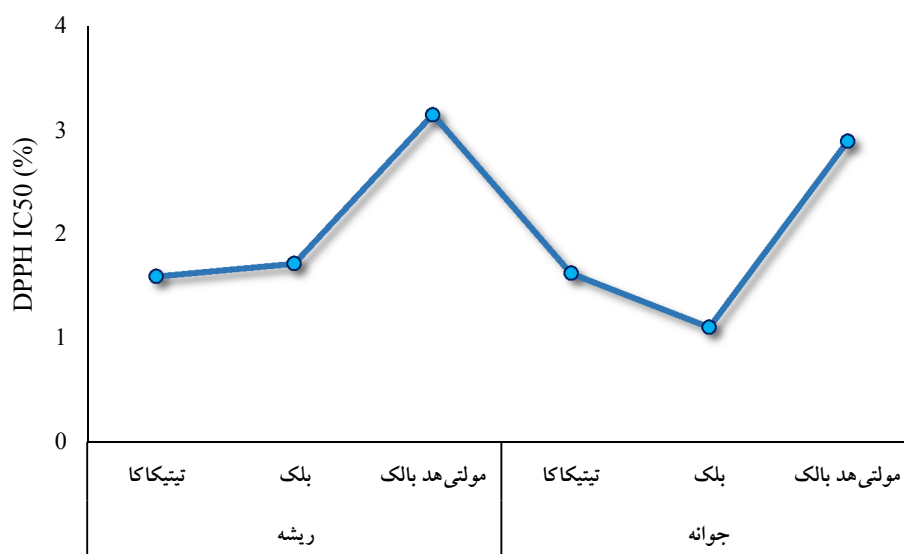
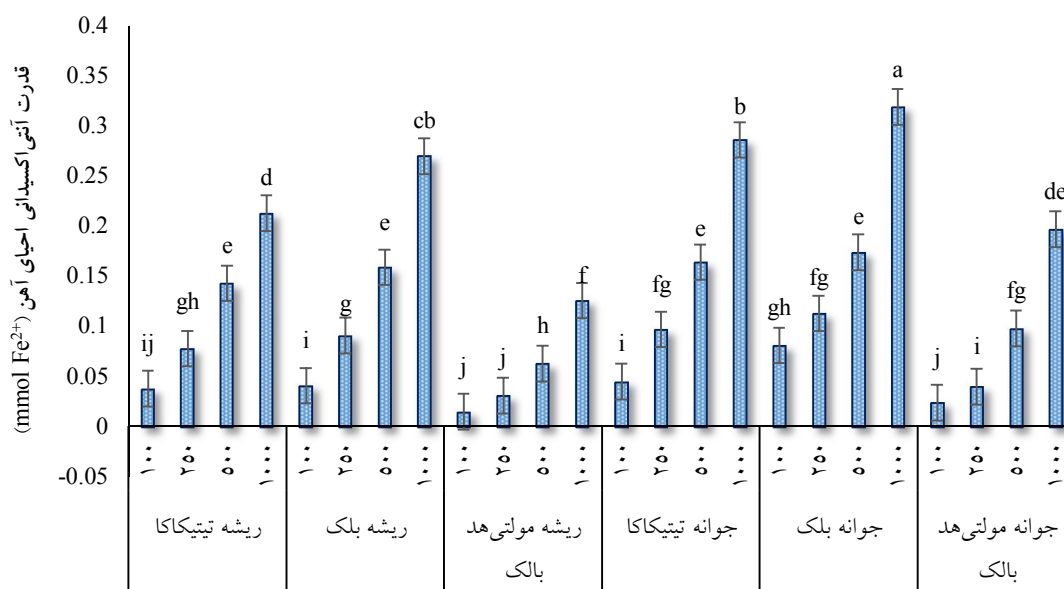
محتوای آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مورد مطالعه مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH: اگرچه به ترتیب عصاره‌های جوانه بلک (۹۷/۵۷ درصد)، جوانه تیتیکاکا (۹۵/۱۵ درصد) و ریشه بلک (۹۴/۴۳ درصد) در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، بیشترین درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH را از خود نشان دادند، اما از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ($P\text{-value} > 0.05$). همچنین کمترین مقدار مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره ریشه رقم



شکل ۶: مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH غلظت‌های مختلف عصاره‌های ریشه و جوانه کینوا میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، از نظر صفت مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری ($P\text{-value} > 0.05$) ندارند.

معنی‌داری ($P\text{-value} \leq 0.01$) با یکدیگر داشتند. کمترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس این خصوصیت نیز مشابه با قابلیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH، در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره ریشه رقم مولتی هد بالک (۰/۱۵ میلی‌مول آهن) مشاهده شد (شکل ۸).

قدرت احیاءکنندگی آهن: بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره جوانه رقم بلک (۰/۳۲ میلی‌مول آهن) و پس از آن عصاره جوانه رقم تیتیکاکا در همین غلظت (۰/۲۹ میلی‌مول آهن) بود که از این نظر اختلاف

شکل ۷: میزان DPPH IC₅₀ عصاره نمونه‌های برگ و بذر ارقام کینوای مورد مطالعهشکل ۸: مقایسه میانگین قدرت آنتی‌اکسیدانی احیای آهن (میلی‌مول) غلظت‌های مختلف عصاره‌های ریشه و جوانه کینوا میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، از نظر صفت مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری ($P > 0.05$) ندارند.

حاصل از ریشه و جوانه دو رقم بلک و تیتیکاکا جهت انجام آزمایشات سلولی و بررسی اثر سیستم‌توکسیکی رده سلولی AGS سرطان معده انتخاب شدند. ارزیابی سمیت سلولی عصاره ریشه و جوانه دو رقم بلک و تیتیکاکا کینوا: نتایج حاصل از تجزیه واریانس سنجش زنده‌مانی رده سلولی AGS در این پژوهش نشان داد که بین ارقام، نمونه‌های گیاهی

اما با توجه به این که ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، به عنوان بخش مهمی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی، نقش به‌سزایی در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد دارند به نحوی که این ترکیبات، سبب بروز خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی گیاهان می‌شود (Mohamed et al., 2019)، پس از انجام آزمایشات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی، عصاره

و زمان، تفاوت معنی دار ($P\text{-value} \leq 0.01$) وجود دارد (جدول ۳). بر همین اساس بین تمامی اثرات ساده و دوگانه نیز اختلاف معنی دار مشاهده گردید.

جدول ۳: تجزیه واریانس زنده‌مانی سلول‌های سرطانی معده با استفاده از سنجش MTT غلظت‌های مختلف عصاره‌های ریشه و جوانه ارقام تیتیکاکا و بلک کینوا

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات غلظت عصاره			
		۱۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
رقم	۱	۶۰۵/۵۱**	۴۶۸/۲۸**	۴۹۵/۲۶**	۴۲۱/۱۷**
نمونه گیاهی	۱	۱۶۲۵/۴۸**	۲۰۵۶/۳۲**	۲۰۰۰/۱۴**	۱۶۵۸/۷۷**
زمان	۲	۵۰۴۵/۳۵**	۴۹۰۰/۴۱**	۵۰۲۹/۷۹**	۵۴۴۲/۹۱**
رقم*نمونه گیاهی	۱	۸۵/۹۳**	۲۰۴/۴۹**	۱۸۷/۰۴**	۱۰۳/۹۳**
رقم*زمان	۲	۲۱۴۰/۸۵**	۲۰۵۳/۹۲**	۲۱۱۱/۱۳**	۲۲۶۳/۴۲**
نمونه گیاهی*زمان	۲	۲۳۴۵/۱۹**	۲۳۷۱/۹۸**	۲۴۱۲/۴۶**	۲۵۱۲/۰۶**
رقم*نمونه گیاهی*زمان	۷	۱۱۲۱/۹۷**	۱۱۳۹/۴۱**	۱۱۵۸/۴۱**	۱۱۹۱/۶۹**
خطا	۶۰	۶/۴	۹/۱	۹/۴	۷/۵
انحراف معیار		۶/۳۶	۹/۱۰	۹/۳۸	۷/۴۷
ضریب تشخیص		۰/۹۷	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۷

* و ** به ترتیب نمایانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج ($P\text{-value} \leq 0.05$) و یک درصد ($P\text{-value} \leq 0.01$) است.

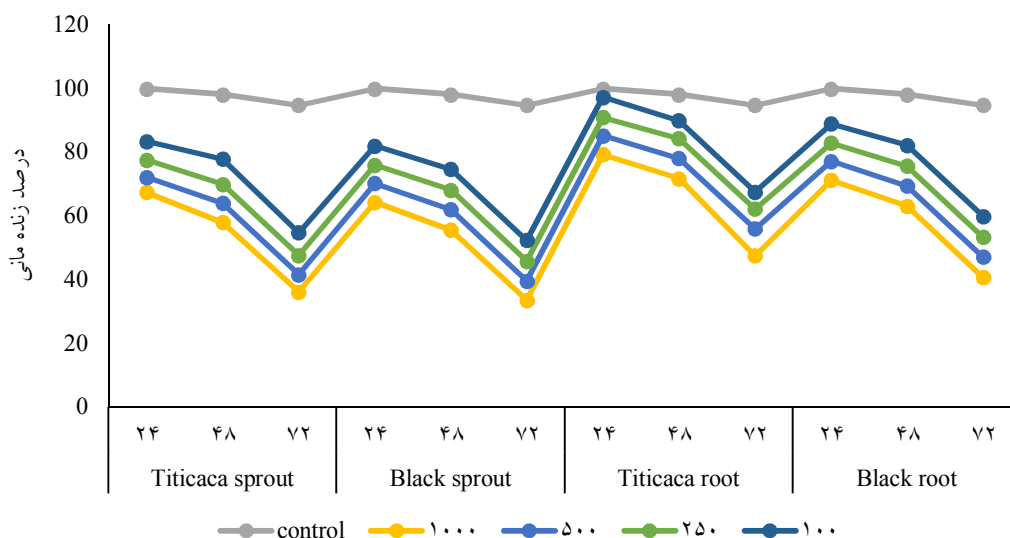
و تیتیکاکا (۳۶/۱۱) در زمان ۷۲ ساعت پس از تاثیر عصاره بود که از این نظر اختلاف معنی داری با هم نداشتند ($P\text{-value} > 0.05$). نتایج همچنین حاکی از این بود که میزان زنده‌مانی سلول‌های سرطانی در عصاره ریشه ارقام مورد مطالعه به طور متوسط بیشتر از عصاره جوانه بود. زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تاثیر عصاره نیز نسبت به زمان ۷۲ ساعت، به طور متوسط اثر سمیت کمتری بر رده سلولی AGS سرطان معده در تمام غلظت‌های مورد مطالعه دو رقم بلک و تیتیکاکا داشتند (جدول ۴).

بر اساس نتایج جدول ۵، با افزایش زمان و غلظت عصاره نمونه‌های هر دو رقم بلک و تیتیکاکا، درصد سلول‌های زنده کاهش معنی دار ($P\text{-value} < 0.01$) داشت. به طوری که در تمامی زمان‌های مورد مطالعه، بیشترین میزان زنده‌مانی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و کمترین میزان آن در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (شکل ۹). در همین راستا، نتایج مقایسه میانگین داده‌های سنجش زنده‌مانی نشان داد کمترین میزان زنده‌مانی به ترتیب در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره جوانه ارقام بلک (۳۳/۴۶)

جدول ۴: مقایسه میانگین اثر غلظت‌های عصاره ریشه و جوانه ارقام تیتیکاکا و بلک کینوا بر رده سلولی AGS در زمان‌های ۲۴ تا ۷۲ ساعت.

نمونه گیاهی	رقم	زمان	غلظت عصاره (میلی‌گرم بر گرم عصاره) ± انحراف معیار			
			۱۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
ریشه	تیتیکاکا	۲۴	۹۴/۱۲±۱/۴۸ ^a	۸۷/۸۴±۴/۵۰ ^a	۸۲/۰۹±۴/۳۴ ^a	۷۶/۲۰±۴/۴۴ ^a
		۴۸	۸۹/۸۷±۲/۳۱ ^b	۸۴/۲۲±۴/۹۷ ^b	۷۸/۰۲±۴/۷۸ ^b	۷۱/۶۶±۴/۷۹ ^b
		۷۲	۶۸/۶۷±۲/۳۳ ^g	۶۲/۰۰±۴/۷۱ ^g	۵۵/۷۵±۴/۸۲ ^g	۴۵/۶۷±۲/۰۸ ^g
	بلک	۲۴	۸۵/۸۴±۴/۸۲ ^c	۷۹/۸۲±۱/۱۷ ^c	۷۴/۰۶±۳/۰۳ ^c	۶۸/۱۸±۳/۳۱ ^c
		۴۸	۸۴/۰۸±۴/۸۸ ^{cd}	۷۵/۵۶±۱/۲۶ ^d	۶۹/۳۵±۳/۳۱ ^d	۶۳/۰۰±۳/۲۷ ^d
		۷۲	۵۹/۸۲±۴/۹۲ ^h	۵۳/۲۸±۱/۲۷ ^h	۴۷/۰۳±۴/۳۲ ^h	۴۰/۶۳±۳/۲۹ ^h
جوانه	تیتیکاکا	۲۴	۸۴/۰۸±۴/۳۹ ^d	۷۴/۵۲±۳/۰۳ ^d	۶۹/۰۵±۴/۵۷ ^d	۶۳/۴۸±۱/۴۵ ^d
		۴۸	۷۷/۸۲±۱/۶۹ ^f	۶۹/۸۴±۳/۲۷ ^e	۶۳/۹۴±۴/۶۱ ^{ef}	۵۸/۹۳±۱/۵۶ ^e
		۷۲	۵۴/۷۰±۱/۵۹ ⁱ	۴۷/۵۲±۳/۲۹ ⁱ	۴۱/۵۷±۱/۶۲ ⁱ	۳۶/۱۱±۰/۳۴ ^h
	بلک	۲۴	۷۸/۹۰±۴/۱۷ ^f	۷۲/۸۸±۱/۵۲ ^d	۶۷/۱۳±۱/۵۹ ^{de}	۶۱/۲۴±۱/۵۲ ^d
		۴۸	۷۴/۵۷±۲/۳۲ ^f	۶۸/۰۸±۱/۶۴ ^f	۶۱/۸۷±۱/۶۴ ^f	۵۵/۵۱±۱/۶۴ ^e
		۷۲	۵۲/۲۸±۲ ⁱ	۴۵/۷۴±۱/۶۵ ⁱ	۳۹/۴۹±۱/۶۵ ⁱ	۳۳/۴۶±۱/۴۲ ^h

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، تفاوت معنی‌داری ($P\text{-value} > 0.05$) ندارند.



شکل ۹: درصد زنده‌مانی رده سلولی AGS سرطان معده پس از تیمار با عصاره‌های ریشه و جوانه ارقام بلک و تیتیکاکا کینوا

بحث

انجام گرفته است، اما در هر صورت مقایسه میزان ساپونین در اندام‌های مختلف این گیاه دشوار است، چرا که عوامل متعددی از جمله رقم، مرحله و محل رشد و همچنین تنش‌های محیطی می‌تواند بر میزان ساپونین در اندام‌های مختلف این گیاه اثرگذار باشد (Solíz-Guerrero et al., 2002; Zurita-Silva et al.,)

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، میزان ساپونین در ریشه سه رقم مورد بررسی بیشتر از جوانه آنها بود و از این لحاظ بیشترین میزان ساپونین در ریشه رقم بلک مشاهده شد. اگرچه در رابطه با میزان ساپونین در اندام‌های غیر از دانه گیاه کینوا تاکنون مطالعات اندکی

رادیکال‌های آزاد DPPH نیز در همین نمونه و پس از آن در عصاره جوانه رقم تیتیکاکا غلظت مشابه مشاهده شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی بسته به تعداد و آرایش گروه‌های هیدروکسیل متفاوت است. به نحوی که با افزایش ترکیبات فنولی در بدن و انتقال اتم‌های هیدروژن به رادیکال‌های آزاد، پیشرفت اکسیداسیون کاهش می‌یابد (Lim et al., 2020).

محققین نشان دادند نه تنها کینوای قرمز و سیاه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به ارقام غیررنگی دارند بلکه همبستگی معنی‌داری نیز بین ترکیبات فنولی و فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS^۲ در این ارقام وجود دارد (Pellegrini et al., 2018). بنابراین می‌توان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر در جوانه ارقام با رنگ تیره کینوا را به محتوای بالاتر ترکیبات فنولی آن‌ها نسبت داد (Liu et al., 2020). افزون بر این، پژوهشگران بیان داشتند که میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی (Laus et al., 2021; Darwish et al., 2017) و نیز محتوای پروتئینی (Pilco-Quesada et al., 2020; Ramos-Pacheco et al., 2024) در دانه‌های کینوا که نقش مهمی در احیا رادیکال‌های آزاد دارند، پس از جوانه‌زنی به سبب فعل و انفعالات فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی که طی این فرایند انجام می‌گیرد، تا دو برابر افزایش می‌یابد. از طرفی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل در محیط واکنش در غلظت‌های بالاتر عصاره، اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت آنتی‌اکسیدانی نیز بیشتر می‌شود (Wang et al., 2024; Nabavi et al., 2012). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را همچنین می‌توان به عنوان غلظت بازدارنده نیمی از رادیکال‌های آزاد (DPPH IC₅₀) محاسبه نمود به طوری که هرچه این مقدار کمتر باشد، قابلیت مهار

(2014). به نحوی که گزارش شد اگر این گیاه در اقلیم‌های شور و خشک رشد کند، میزان ساپونین در دانه‌های آن کاهش می‌یابد (Gómez-Caravaca et al., 2012). همسو با نتایج این مطالعه، پژوهشگران در بررسی میزان ساپونین اندام‌های جوانه، دانه، برگ، ساقه، ریشه، سبوس^۱ و پریکارپ گیاه کینوا، گزارش نمودند که بالاترین میزان ساپونین به ترتیب در ریشه (۱۳/۹ میلی‌گرم بر صد گرم نمونه) و پس از آن در سبوس دانه (۸/۳۴ میلی‌گرم بر صد گرم نمونه) مشاهده شد (Lim et al., 2020). در همین راستا در بررسی دیگری که به منظور مقایسه میزان ساپونین دانه و جوانه کینوا انجام شد، نتایج حاکی از آن بود که میزان ساپونین موجود در دانه پس از جوانه‌زنی به طور چشمگیری کاهش یافت (Suárez-Estrella et al., 2021). این در حالی است که محققین در بررسی‌ای که بر روی میزان ساپونین دانه پوست‌گیری نشده هفت واریته کینوا (سه واریته قرمز، دو واریته سفید و دو واریته سیاه) انجام دادند، بیان نمودند که دانه‌های ارقام سیاه و قرمز مورد مطالعه، بالاترین میزان ساپونین را دارند (Han et al., 2019).

در پژوهش ما همچنین گزارش شد که به طور کلی محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در جوانه ارقام مورد مطالعه کینوا بیشتر از ریشه بوده به نحوی که میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در عصاره جوانه رقم بلک و در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. دانشمندان معتقدند پلی‌فنول‌ها به صورت طبیعی در گیاهان وجود دارند و به واسطه اثرات آنتی‌اکسیدانی خود قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد هستند (Shalaby and Shanab, 2013). از طرفی، بیشترین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی احیا آهن و قدرت مهارکنندگی

2. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)

1. Quinoa seed brans

روتین بر صد گرم وزن خشک) نسبت به ریشه (۵۴/۱۴ میلی گرم روتین بر صد گرم وزن خشک) کینوا گزارش شد که این نتایج با گزارش ما در رابطه با محتوای فلاونوئید کل جوانه نسبت به ریشه ارقام بلک و تیتیکاکا و کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطانی رده AGS، مطابقت داشت. همچنین نتایج مطالعه Ogutcuo و همکاران نشان داد گلیکوزیدهای ساپونین موجب کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطان MCF-7 پستان و افزایش آپوپتوز در سلول‌های MCF-7 می‌شود (Ogutcuo et al., 2023).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج آزمایشات فیتوشیمیایی نشان داد بیشترین میزان فنول و فلاونوئید در این مطالعه، در عصاره جوانه رقم بلک در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد. همچنین اگرچه بیشترین درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و خاصیت آنتی‌اکسیدانی احیا آهن متعلق به جوانه بلک در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود اما ریشه بلک در همین غلظت نیز درصد بالایی از فعالیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داد به طوری که عصاره ریشه رقم بلک با عصاره جوانه رقم تیتیکاکا در این غلظت از نظر این دو خصوصیت، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. در این پژوهش همچنین اثرات سمیت سلولی عصاره‌های حاصل از ریشه و جوانه دو رقم بلک و تیتیکاکا گیاه کینوا بر رده سلولی AGS سرطان معده در شرایط آزمایشگاهی بررسی و نتایج نشان داد میزان بقا در سلول‌های سرطانی تحت تاثیر عصاره، وابسته به عوامل زمان، غلظت و نمونه گیاهی است. به طوری که بیشترین اثر سمیت سلولی بر رده سلولی AGS در کاربرد غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره جوانه رقم بلک در زمان ۷۲ ساعت پس از تاثیر عصاره مشاهده شد. به طور کلی نتایج این

رادیکال آزاد بیشتر خواهد شد (Seifati et al., 2024). بر این اساس، در پژوهشی که به منظور بررسی و مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی بخش‌های مختلف بذر، پوسته، جوانه، ریشه و ساقه گیاه کینوا انجام شد، کمترین میزان DPPH IC₅₀ در عصاره جوانه یک روزه کینوا (۰/۵۵ میلی گرم بر صد گرم نمونه) گزارش گردید (Lim et al., 2020). در پژوهش حاضر نیز کمترین میزان DPPH IC₅₀ نیز در جوانه رقم بلک گزارش شد.

اگرچه تاکنون هیچ مطالعه‌ای در خصوص مقایسه اثرات ضد سرطانی عصاره جوانه و ریشه گیاهان به خصوص در ارقام مختلف گیاه کینوا صورت نگرفته است، اما همسو با نتایج این مطالعه در رابطه با کارایی سمیت سلولی عصاره جوانه ارقام مورد مطالعه کینوا، در بررسی‌ای که به منظور تعیین قابلیت ضد سرطانی جوانه کلم بروکلی (*Brassica oleracea* L. var. *italica* cv. Cezar) در برابر رده سلولی AGS سرطان معده انجام شد، محققین نشان دادند که جوانه کلم بروکلی تاثیر معنی‌داری بر کاهش زنده‌مانی سلول‌های سرطانی دارد که احتمالاً به دلیل محتوای بالای فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک موجود در عصاره جوانه این گیاه است (Gawlik-Dziki et al., 2014). همچنین در پژوهشی که به منظور بررسی کارایی سمیت سلولی جوانه‌های شبدر قرمز (*Trifolium pratense*)، سفید (*T. repens*)، زرشکی (*T. incarnatum*) و ایرانی (*T. resupinatum*) بر رده سلولی MCF7 سرطان پستان انجام شد، نتایج نشان داد جوانه‌های شبدر قرمز غنی‌ترین محتوای ایزوفلاون‌ها (تا ۴۲۶/۲ میلی گرم در صد گرم روزانه) و کمترین میزان زنده‌مانی رده سلولی مورد مطالعه را دارد (Galanty et al., 2022). در همین رابطه، در مطالعه lim و همکاران (۲۰۲۰) نیز بیشترین میزان فلاونوئید کل در عصاره جوانه (۶۱/۶۸ میلی گرم

حالت پوست‌گیری نشده و بدون پوست نیز مورد
آزمون قرار گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان از خانم مهندس نسرين حیدری
خورمیزی که در انجام این پژوهش و تهیه رده سلولی
AGS سرطان معده یاری رساندند، تقدیر می‌نمایند.
همچنین از دانشکده منابع طبیعی و گروه
زیست‌شناسی دانشگاه یزد و همچنین گروه
زیست‌شناسی دانشگاه علم و هنر یزد به خاطر
حمایت‌های تحقیقاتی که نمودند، کمال تقدیر و تشکر
را داریم.

پژوهش نشان داد علاوه بر این که محتوای ساپونین
جوانه حاصل از دانه پوست‌گیری نشده ارقام کینوا در
این مطالعه کمتر از ریشه بود، به دلیل محتوای فنولی
و آنتی‌اکسیدانی بالاتر، عصاره جوانه رقم بلک در
غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در مدت زمان ۷۲
ساعت توانست نتایج مطلوب تری در کاهش بقای
سلول‌های سرطانی رده AGS نشان دهد. بر اساس
نتایج این پژوهش، پیشنهاد می‌شود در مطالعات
بعدی، علاوه بر سنجش زنده‌مانی سلول‌های سالم
نسبت به سلول‌های سرطانی تحت تاثیر عصاره ریشه
و جوانه این دو رقم، محتوای ترکیبات فیتوشیمیایی و
آنتی‌اکسیدانی عصاره بذر و جوانه ارقام کینوا در دو

References

- Agarwal, A., Shaida, B., Rastogi, M., and Singh, N. B. 2023. Food packaging materials with special reference to biopolymers-properties and applications. *Chemistry Africa*, 6(1): 117-144.
- Aliyari, M. A., Motahar, S. F. S., Salami, M., Betti, M., Hosseini, E., Habibi-Kelishomi, Z. and Ghasemi, A. 2022. Structural, functional, and anti-cancer properties of conjugates of quinoa protein isolate and olive leaf polyphenolic extract: Application in production of bread. *Food Structure*, 33: 100292.
- Al-Qabba, M. M., El-Mowafy, M. A., Althwab, S. A., Alfheaid, H. A., Aljutaily, T., and Barakat, H. 2020. Phenolic profile, antioxidant activity, and ameliorating efficacy of *Chenopodium quinoa* sprouts against CCl4-induced oxidative stress in rats. *Nutrients*, 12(10): 2904.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. L. W. T. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1): 25-30.
- Darwish, A. M., Al-Jumayi, H. A. and Elhendy, H. A. 2021. Effect of germination on the nutritional profile of quinoa (*Cheopodium quinoa* Willd.) seeds and its anti-anemic potential in Sprague-Dawley male albino rats. *Cereal Chemistry*, 98(2): 315-327.
- Dubal, K. N., Ghorpade, P. N. and Kale, M. V. 2013. Studies on bioactive compounds of *Tectaria coadunata* (wall. Ex hook. & Grev.) C. Chr. *Asian J Pharm Clin Res*, 6(2): 186-187.
- Eom, J. W., Lim, J. W. and Kim, H. 2023. Lutein Induces Reactive Oxygen Species-Mediated Apoptosis in Gastric Cancer AGS Cells via NADPH Oxidase Activation. *Molecules*, 28(3): 1178.
- Fan, X., Guo, H., Teng, C., Zhang, B., Blecker, C. and Ren, G. 2022. Anti-colon cancer activity of novel peptides isolated from in vitro digestion of quinoa protein in Caco-2 cells. *Foods*, 11(2): 194.
- Galanty, A., Niepsuj, M., Grudzińska, M., Zagrodzki, P., Podolak, I. and Paško, P. 2022. In the search for novel, isoflavone-rich functional foods—comparative studies of four clover species sprouts and their chemopreventive potential for breast and prostate cancer. *Pharmaceuticals*, 15(7): 806.
- Gawlik-Dziki, U., Świeca, M., Dziki, D., Sęczyk, Ł., Złotek, U., Różyło, R. and Czyż, J. 2014. Anticancer and antioxidant activity of bread enriched with broccoli sprouts. *BioMed research international*, 1-14

- Gómez-Caravaca, A. M., Iafelice, G., Lavini, A., Pulvento, C., Caboni, M. F. and Marconi, E. 2012. Phenolic compounds and saponins in quinoa samples (*Chenopodium quinoa* Willd.) grown under different saline and nonsaline irrigation regimens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(18): 4620–4627.
- Han, Y., Chi, J., Zhang, M., Zhang, R., Fan, S., Huang, F. and Xue, K. 2019. Characterization of saponins and phenolic compounds: antioxidant activity and inhibitory effects on α -glucosidase in different varieties of colored quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 83(11): 2128–2139.
- Hosseini, F. S., Karimabad, M. N., Hajizadeh, M. R., Khoshdel, A., Falahati-Pour, S. K., Mirzaei, M. R. and Mahmoodi, M. 2019. Evaluating of induction of apoptosis by *Cornus mass* L. extract in the gastric carcinoma cell line (AGS). *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 20(1): 123.
- Hostettmann, K. and Marston, A. 1995. *Chemistry and pharmacology of natural products: Saponins*. London: Cambridge University Press.
- Ilic, M., and Ilic, I. 2022. Epidemiology of stomach cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 28(12): 1187–1203.
- Kaijv, M., Sheng, L. and Chao, C. 2006. Antioxidation of flavonoids of Green Rhizome. *Food Science*, 27(3): 110–115.
- Khan, I. H., Javaid, A., Ahmed, D. and Khan, U. 2020. Identification of volatile constituents of ethyl acetate fraction of *Chenopodium quinoa* roots extract by GC-MS. *Int J Biol Biotechnol*, 17(1): 17-21.
- Koziol, M. J. 1991. Afrosimetric estimation of threshold saponin concentration for bitterness in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54(2): 211–219.
- Laus, M., Cataldi, M., Soccio, M., Alfarano, M., Amodio, M., Colelli, G., Flagella, Z. and Pastore, D. 2017. Effect of germination and sprout storage on antioxidant capacity and phenolic content in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Proceedings of the SIBV-SIGA Joint Congress Sustainability of Agricultural Environment: Contributions of Plant Genetics and Physiology*, Pisa, Italy, 19–22.
- Lim, J. G., Park, H. M. and Yoon, K. S. 2020. Analysis of saponin composition and comparison of the antioxidant activity of various parts of the quinoa plant (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Science and Nutrition*, 8(1): 694–702.
- Liu, M., Zhu, K., Yao, Y., Chen, Y., Guo, H., Ren, G., Yang, X. and Li, J. 2020. Antioxidant, anti-inflammatory, and antitumor activities of phenolic compounds from white, red, and black *Chenopodium quinoa* seed. *Cereal Chemistry*, 97(3): 703–713.
- Mhada, M., Metougui, M. L., El Hazzam, K., El Kacimi, K. and Yasri, A. 2020. Variations of saponins, minerals and total phenolic compounds due to processing and cooking of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds. *Foods*, 9(5): 660.
- Mohamed, D. A., Fouda, K. A. and Mohamed, R. S. 2019. In vitro Anticancer Activity of Quinoa and Safflower Seeds and Their Preventive Effects on Non-alcoholic Fatty Liver. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 22(8): 383–392.
- Nabavi, S. M., Nabavi, S. F. and Ebrahimzadeh, M. A. 2012. Free radical scavenging and antioxidant activities of *Dorema aitchisonii*. *Journal of food and drug analysis*, 20(1): 1-8.
- Ogutcu, G., Tulay, P., Kukner, A., Calis, I. and Senol, H. (2023). The Effect of Cycloartane-Type of Saponins from *Astragalus* Species on the Proliferation of MCF-7 and MDA-MB-231 Breast Cancer Cells. *Turkish Journal of Oncology/Türk Onkoloji Dergisi*, 38(3).
- Oyaizu, M. 1986. Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6): 307–315.
- Padda, M. S. and Picha, D. H. 2007. Antioxidant activity and phenolic composition in 'Beauregard' sweetpotato are affected by root size and leaf age. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132(4): 447-451.

- Paško, P., Tyszka-Czochara, M., Namieśnik, J., Jastrzębski, Z., Leontowicz, H., Drzewiecki, J. and Gorinstein, S. 2019. Cytotoxic, antioxidant and binding properties of polyphenols from the selected gluten-free pseudocereals and their by-products: In vitro model. *Journal of Cereal Science*, 87: 325-333.
- Paucar-Menacho, L. M., Martínez-Villaluenga, C., Duenas, M., Frias, J. and Penas, E. 2018. Response surface optimisation of germination conditions to improve the accumulation of bioactive compounds and the antioxidant activity in quinoa. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(2): 516–524.
- Pellegrini, M., Lucas-gonzales, R., Ricci, A. and Fontecha, J. 2018. Chemical, fatty acid, polyphenolic profile, techno-functional and antioxidant properties of flours obtained from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds. *Industrial Crops & Products*, 111: 38–46.
- Pilco-Quesada, S., Tian, Y., Yang, B., Repo-Carrasco-Valencia, R. and Suomela, J. P. 2020. Effects of germination and kilning on the phenolic compounds and nutritional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Journal of Cereal Science*, 94: 102996.
- Piñuel, L., Boeri, P., Zubillaga, F., Barrio, D. A., Torreta, J., Cruz, A., Vásquez, G., Pinto, A. and Carrillo, W. 2019. Production of white, red and black quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd. Var. Real) protein isolates and its hydrolysates in germinated and non-germinated quinoa samples and antioxidant activity evaluation. *Plants*, 8(8): 257.
- Prado, F. E., Boero, C., Gallardo, M. and Gonzalez, J. A. 2000. Effect of NaCl on Germination, growth, and Soluble Sugar Content in *Chenopodium quinoa* Willd. Seeds. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 41(1): 27-34.
- Ramos-Pacheco, B. S., Choque-Quispe, D., Ligarda-Samanez, C. A., Solano-Reynoso, A. M., Palomino-Rincón, H., Choque-Quispe, Y., and Aiquipa-Pillaca, Á. S. 2024. Effect of Germination on the Physicochemical Properties, Functional Groups, Content of Bioactive Compounds, and Antioxidant Capacity of Different Varieties of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Grown in the High Andean Zone of Peru. *Foods*, 13(3): 417.
- Seifati, S. E., Ranaiezadeh, M. R., Daneshmand, F., Karimi Bekr, Z. and Rezaee, M. B. 2024. The Phytochemical Content and Cytotoxic Effects of Quinoa Commercial Cultivars (*Chenopodium quinoa* Willd.) on MCF7 Cell Line of Breast Cancer. *Journal of Medicinal plants and By-product*.
- Shakuntala, T. S., Krishnan, S. K., Das, P., Sudarshan, K. L., Kotian, C. M., Santhappan, S., Vishwakarma, M. B., Sureshkumar, N. and Mathur, P. 2022. Descriptive Epidemiology of Gastrointestinal Cancers: Results from National Cancer Registry Programme, India. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 23(2): 409–418.
- Shalaby, E. A., and Shanab, S. M. M. 2013. Comparison of DPPH and ABTS assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. 42(5): 556-564.
- Sigsgaard, L., Jacobsen, S. E. and Christiansen, J. L. 2008. Quinoa, *Chenopodium quinoa*, provides a new host for native herbivores in northern Europe: Case studies of the moth, *Scrobipalpa atriplicella*, and the tortoise beetle, *Cassida nebulosa*. *Journal of Insect Science*, 8(1): 50-54.
- Singh, K. V., and Singh, R. (2016). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), functional superfood for today's world: A Review. *World scientific news*, (58): 84-96.
- Soland, S. F., and Laima, S. K. 1999. Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agriculture*, 1: 1–5.
- Stikić, R. I., Milinčić, D. D., Kostić, A., Jovanović, Z. B., Gašić, U. M., Tešić, Ž. L., Djordjević, N. Z., Savić, S. K., Czekus, B. G. and Pešić, M. B. 2020. Polyphenolic profiles, antioxidant, and in vitro anticancer activities of the seeds of Puno and Titicaca quinoa cultivars. *Cereal Chemistry*, 97(3): 626–633.
- Suárez-Estrella, D., Borgonovo, G., Buratti, S., Ferranti, P., Accardo, F., Pagani, M. A. and Marti, A. 2021. Sprouting of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Effect on saponin

- content and relation to the taste and astringency assessed by electronic tongue. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75: 635-641.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. and Bray, F. 2021. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3): 209-249.
- Wang, S., Liu, G., Xie, C., Zhou, Y., Yang, R., Wu, J. and Tu, K. 2024. Metabolomics Analysis of Different Quinoa Cultivars Based on UPLC-ZenoTOF-MS/MS and Investigation into Their Antioxidant Characteristics. *Plants*, 13(2): 240.
- Zhou, X., YUE, T., Wei, Z., Yang, L., Zhang, L., Wu, B. and Peng, P. 2023. Tea-making technology by using quinoa raw materials. *Food Science and Technology*. 43: 1-9.