دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر
فصلنامه‌ی کاربرد شیمی در محیط زیست

سال پنجم، شماره‌ی ۲۰
پاییز ۱۳۹۳، صفحات ۲۵-۱۹

بررسی ترکیبات شیمیایی عصاره گیاه دارویی سرخارگل در روش‌های مختلف خشک کردن به روش HPLC

طالب قبائی
دانشگاه جامع علمی کاربردی جهاد کشاورزی اردبیل، اردبیل، ایران
محمد ابراهیمی*
دانشگاه جامع علمی کاربردی جهاد کشاورزی استان اردبیل، اردبیل، ایران
بهنام عزیزی
دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه، میانه، ایران
سیامک محمدی
گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، اردبیل، ایران
حجت اقبـال
بخش تحقیق و توسعه، شرکت تعاونی دانش بنیان پژوهشگران داروی سبز، مشکین شهر، ایران
مهدی احمدی سابق
گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران

چکیده

سرخارگل گیاهی علفی و چند ساله متعلق به تیره گل ستاره بوده و منشا آن شمال آمریکا گزارش شده است. سرخارگل دارای خواص آنتی ویروس ، ضد باکتری و ضد قارچ می‌باشد. در این مطالعه اندام هوائی سرخارگل با استفاده از شش روش مختلف خشک کردن شامل سایه، گل‌خانه، آفتاب و خشک‌کن کابینتی صنعتی با دماهای ۵۰، ۶۰ و ۸۰ درجه سلسیوس خشک گردید. مواد موثره با روش اولتراسونیک با امواج مافوق صوت استخراج گردیده و مقادیر مشتقات کافییک اسید ، آلکامیدها (۸ و۹) با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و مقدار ترکیبات فنل کل گیاه با دستگاه اسپکتروفتومتری تعیین مقدار شدند. نتایج نشان داد که نمونه‌های خشک شده در گل‌خانه با پوشش پلاستیکی دارای بیش‌ترین مقادیر کلروژنیک اسید (۳/۱۸ میلی‌گرم برگرم در ماده خشک)، اکیناکوزید (۲۹/ ۴ میلی‌گرم بر گرم در ماده خشک)، سیناریک اسید (۱/۵۵ میلی‌گرم بر گرم در ماده خشک) و فنل کل (۳۶۳ میلی‌گرم بر گرم در ماده خشک) می‌باشند. هم‌چنین نمونه‌های خشک شده در سایه دارای بالاترین مقادیر کافتاریک اسید (۲۵/۸ میلی‌گرم بر گرم در ماده خشک)، شیکوریک اسید (۳۶/۵۷ میلی‌گرم بر گرم در ماده خشک) و آلکامیدها (۳۶۱/۱ میکروگرم برگرم در ماده خشک) می‌باشند. به‌طور کلی با توجه به نتایج این تحقیق

* Email: talebghabaei@yahoo.com

می‌توان اظهار نمود که خشک کردن با استفاده از گل‌خانه با پوشش پلاستیکی و خشک کردن در سایه برای به‌دست آوردن بالاترین مقدار ترکیبات مواد موثره در سرخارگل مناسب می‌باشد.

کلید واژه: سرخارگل، کافییک اسید، آلکامیدها ، فنل کل، HPLC

مقدمه

سرخارگل((MoenchEchinaceae purpurea (L.)گیاهی علفی و چند ساله متعلق به تیره گل ستاره بوده و منشا آن شمال آمریکا گزارش شده است [۱]. بومیان آمریکا از اوایل قرن ۱۷ اکیناسه را برای درمان مارگزیدگی، بیماری‌های لثه و دهان، سرماخوردگی، سرفه، مسمومیت‌های خونی، گلو درد، درد معده و روده استفاده می‌نمودند. این گیاه هم‌چنین از دیرباز برای درمان مخملک، سیفلیس، مالاریا و دیفتری به کار می‌رفت. در آمریکا سالانه بیش از ۳۰۰ میلیون دلار به فروش می‌رسد[۲]. ماده موثره سرخارگل منجر به پیشگیری دیابت نوع دوم [۳] وبیماری‌های قلبی و عروقی [۴] شده‌اند. هم‌چنین سرخارگل دارای خاصیت ضد ویروسی [۵]، ضد باکتری [۶] و ضد قارچی [۷] می‌باشد. جنس اکیناسه شامل نه گونه می‌باشد[۸]. که ازمیان آن‌ها فقط سه گونه زیر دارای پتانسیل داروئی می‌باشد:

E. pallida E. angustifolia, D.C. var. angustifolia (Nutt.) Nutt., And E.purpurea(L.)Moench

تلاش برای پرورش دو گونه اول در اروپا ناموفق بود، لذا گونهPurpurea به جای آن‌ها کاشته و برای محصولات داروئی به کار گرفته شد[۲]. خشک‌کردن یکی از قدیمی-ترین روش‌های نگهداری محصولات کشاورزی بعد از برداشت است. این فرآیند شامل حذف رطوبت با استفاده از عمل تبخیر تا حد رسیدن به یک آستانه خاص است تا بتوان محصول را برای مدت طولانی انبار کرد و فعالیت‌های آنزیمی، میکروارگانیسم‌ها و مخمرها در آن متوقف شود. خشک‌کردن طبیعی و خشک‌کردن با هوای داغ به دلیل در برداشتن هزینه‌های کم‌تر هنوز هم از مهم‌ترین روش‌های مورد استفاده در تولید ماده گیاهی خشک هستند. روش خشک‌کردن طبیعی(سایه و آفتاب) معایب زیادی دارد برای مثال امکان جابه‌جایی مقادیر زیاد ماده گیاهی و دست‌یابی به استانداردهای ثابت کیفیت مقدور نمی‌باشد. علاوه بر این دمای بالا و تشعشعات شدید خورشیدی اثر منفی بر کیفیت نمونه‌ها دارد [۹]. تاکنون در مورد تاثیر خشک‌کردن بر کمیت و کیفیت ماده موثره سرخارگل در سطح ملی و به صورت کاربردی تحقیقاتی صورت نگرفته است. لین و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی سه روش خشک کردن سرخارگل ، خشک کردن به روش انجماد در خلا، خشک کردن با باد خنک با دمای ۳۰ درجه سلسیوس و خشک کردن با هوای گرم در دماهای ۴۰، ۵۵ و ۷۰ درجه سلسیوس گزارش شده است. خشک کردن به روش انجماد اگرچه نیاز به تجهیزات بالا و هزینه‌های عملیاتی زیادی دارد اما بهترین روش خشک کردن برای به‌دست آوردن مشتقات کافئیک اسید و مواد فنلی بالا می‌باشد[۱۰]. چوکساری و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از سه روش خشک کردن در آفتاب، سایه و کوره در اندام هوایی سرخارگل اظهار داشتند که خشک کردن با کوره در دمای ۴۰ درجه سلسیوس بهترین روش در مقایسه با روش‌های دیگر برای به‌دست آوردن بالاترین سطح کافتاریک اسید و شیکوریک اسید می‌باشد[۱۱]. هویا و همکاران (۲۰۰۲)، تاثیر دماهای مختلف خشک کردن (۳۰،۴۰،۶۰ و۸۰) درجه سلسیوس و سرعت هوای مختلف (۱ و ۲ متر بر ثانیه) بر شیکوریک اسید و آلکیل آمید سرخارگل را مورد بررسی قرار داده به این نتیجه رسیدند که نمونه‌های خشک شده (اندام هوایی) در دمای ۴۰ درجه سلسیوس دارای بالاترین سطح شیکوریک اسید و آلکیل آمید هستند و سرعت هوا تاثیر معنی‌داری بر محتوای مواد موثره ندارد[۱۲].

امروزه گیاه داروئی سرخارگل به‌طور گسترده در ایران کشت می‌شود و کشت آن در حال گسترش است، لذا دست‌یابی به دانش فنی خشک‌کردن این گیاه داروئی ارزشمند برای به‌دست آوردن کمیت و کیفیت بالای ماده موثره ضروری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- خشک کردن در سایه:در داخل سالن در دمای ۲۵ درجه سلسیوس.
- خشک کردن در آفتاب کامل : در هوای آزاد در معرض تابش مستقیم آفتاب خشک شدند.
- خشک کردن در گل‌خانه با پوشش پلاستیکی: دمای گل‌خانه ۳۰ درجه سلسیوس بود.
- خشک کردن در خشک کن کابینتی صنعتی در دمای ۸۰ درجه سلسیوس.
- خشک کردن در خشک کن کابینتی صنعتی در دمای ۶۰ درجه سلسیوس.
- خشک کردن در خشک کن کابینتی صنعتی در دمای ۵۰ درجه سلسیوس.

کروماتوگرافی مایع با کارایی با HPLC[1]

یکی از دقیق‌ترین و پیشرفته‌ترین تکنیک‌ها برای شناخت، تعیین مقدار و جداکردن اغلب مواد متشکله گیاهان دارویی مثل اسیدها و مشتقات آن‌ها، فلاونوییدها، ترپن‌ها، آمین‌ها، آلکالوییدها و آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. دارای کارآیی و کاربرد بسیار زیاد و تمام اتوماتیک بوده و قادر به انجام کلیه اعمال جداسازی و آنالیزهایی که با روش‌های دیگر غیرقابل انجام است، با زمان کم‌تری می‌باشد. یکی از محاسن مهم این تکنیک، داشتن دتکتورهای مختلف و ستون‌های پر شده از انواع مختلف فاز جامد(فاز ثابت) می‌باشد که می‌توانند در این تکنیک مورد استفاده قرار گیرند. از طرف دیگر فاز مایع با درصدهای مختلف و متعدد که به‌طور اتوماتیک با برنامه خاصی وارد ستون می‌شوند کفایت و کارآیی این روش را افزایش می‌دهد. فاز جامد(ثابت) در داخل یک ستون فلزی استیل به قطر حدوداً ۵ میلی‌متر قرار گرفته است. فاز متحرک، توسط پمپ‌های مخصوص و با فشار و حرارت مشخصی همراه با ماده مورد آنالیز ابتدا وارد پیش ستون(مواد اضافی که ممکن است باعث خرابی ستون گرد را جذب نموده) و سپس وارد ستون اصلی می‌شود. حرارت دستگاه تا ۲۰۰ درجه سلسیوس و فشار آن ۲۰۰ اتمسفر پیش‌بینی شده است. نمونه‌های تفکیک شده به وسیله ستون، توسط دتکتورهای مختلف تعیین هویت شده و مورد ارزیابی قرار می‌گیرد

استخراج مواد موثره سرخارگل

روش عصاره‌گیری به روش اولتراسونیک توسط امواج ما فوق صوت صورت می‌گیرد[۱۳].

شناسایی مواد موثره سرخارگل

از دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) برای شناسایی مشتقات کافییک اسید [۱۴] و آلکامیدها [۱۵] استفاده می‌شود. پیک‌های خروجی با پیک‌های استاندارد مطابقت داده شده بر اساس زمان بازداری و سطح زیر منحنی تعیین ماهیت و تعیین غلظت می‌گردند.

شناسایی محتوای فنل کل گیاه

محتوای فنل کل گیاه بر اساس روش کلرومتری (رنگ سنجی) توسط دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری می‌شود[۱۶]. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ با سطح معنی‌داری پنج درصد در قالب طرح فاکتوریل کاملا تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

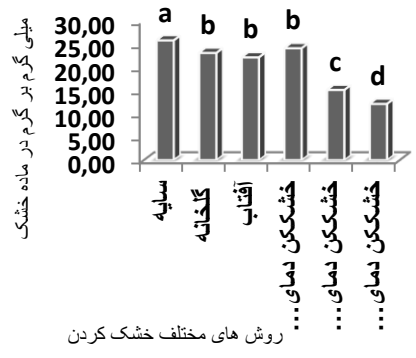
[1] High Performance Liquid Chromatography

جدول۱: تجزیه واریانس ترکیبات شیمیایی سرخارگل

منابع تغییر	درجه‌آزادی	کافتاریک	کلروژنیک	اکیناکوزید	شیکوریک	سیناریک	آلکامیدها	فنل کل
خشک‌کردن	۵	۹۱/۵۸**	۲/۱۹**	۴/۳۲**	۲۲۵/۰۵**	۱/۳۶**	۲۳۲۴۵/۲۶**	۳۷۲۷۳/۷۹**
اندام گیاهی	۳	۱۳۲۶/۳۰**	۱۳/۹۳**	۲۴/۶۵**	۲۳۹۶/۳۱**	۲/۱۰**	۱۷۶۰۳۶/۴۰**	۱۴۷۴۹۳/۶۷**
اثر متقابل	۱۵	۱۵/۲۷**	۰/۲۷**	۰/۶۹**	۳۹/۲۲**	۰/۳۳**	۴۰۵۷/۶۹**	۵۴۳۲/۰۲**
خطا	۴۸	۰/۶۵	۰/۰۱۹	۰/۰۰۶	۰/۱۷	۰/۰۰۳	۱۰/۳۱	۱۵/۳۲
ضریب تغییر (درصد)	-	۷/۸۱	۱۳/۱۱	۵/۹۰	۳/۲۲	۱۶/۵۴	۲/۵۲	۳/۳۴

کافتاریک اسید

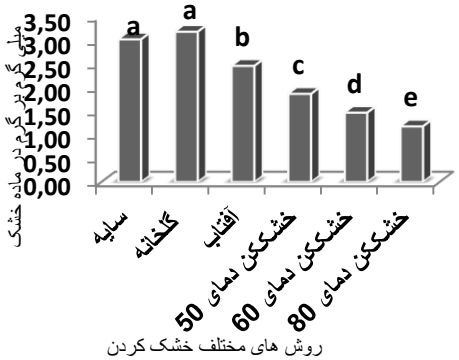
نتایج مقایسه شش روش خشک کردن مطابق جدول تجزیه واریانس(جدول ۱) بیان‌گر وجود تفاوت معنی دار در سطح یک درصد در میزان کافتاریک اسید می‌باشد. هم-چنین مقایسه میانگین‌ها (شکل۱) نشان می‌دهد که بالاترین میزان کافتاریک اسید در نمونه خشک شده به روش سایه خشک و به مقدار ۲۵/۸ میلی گرم از هر گرم ماده خشک و کم‌ترین مقدار هم از نمونه خشک شده در خشک‌کن با دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مقدار ۱۲/۱ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک به‌دست آمد.



شکل۱: تاثیر روش‌های مختلف خشک‌کردن بر مقدار کافتاریک اسید

کلروژنیک اسید

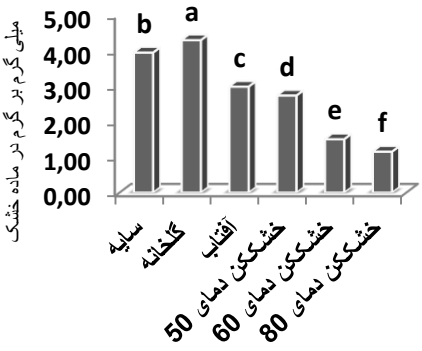
نتایج مقایسه شش روش خشک کردن مطابق جدول تجزیه واریانس(جدول۱) بیان‌گر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد در میزان کلروژنیک اسید می‌باشد. هم-چنین مقایسه میانگین‌ها (شکل ۲) نشان می‌دهد که بالاترین میزان کلروژنیک اسید در نمونه خشک شده در سایه و گلخانه به مقدار ۳/۰۲ و ۳/۱۸ میلی‌گرم از هر گرم ماده خشک به‌دست می‌آید.کم‌ترین مقدار هم از نمونه خشک شده در خشک‌کن با دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مقدار ۱/۱۸ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک به‌دست آمد.



شکل۲: تاثیر روش‌های مختلف خشک‌کردن بر مقدار کلروژنیک اسید

اکیناکوزید

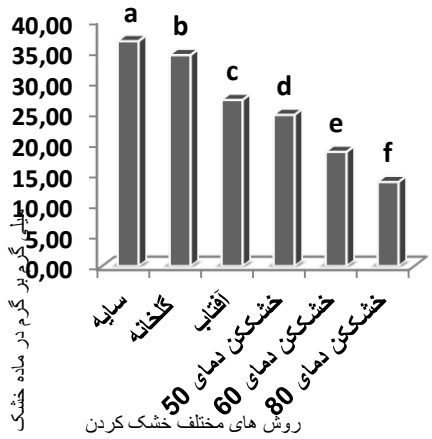
نتایج مقایسه شش روش خشک کردن مطابق جدول تجزیه واریانس(جدول۱) بیان‌گر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد در میزان اکیناکوزید می‌باشد. هم‌چنین مقایسه میانگین‌ها (شکل ۳) نشان می‌دهد که بالاترین میزان اکیناکوزید در نمونه خشک شده در گل‌خانه و به مقدار ۴/۲۹ میلی‌گرم از هر گرم ماده خشک به‌دست آمد.کم-ترین مقدار هم از نمونه خشک شده در خشک‌کن با دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مقدار ۱/۱۵ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک به‌دست آمد.



شکل ۳: تاثیر روش‌های مختلف خشک‌کردن بر مقداراکیناکوزید

شیکوریک اسید

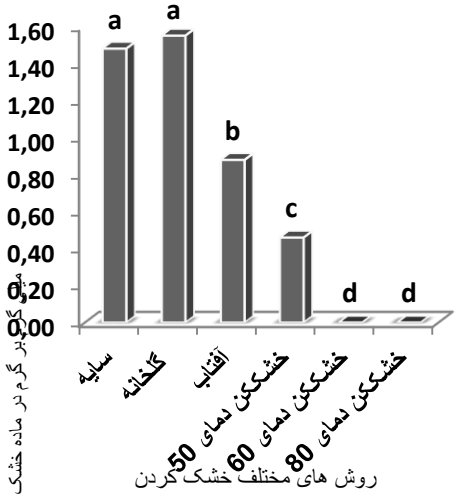
نتایج مقایسه شش روش خشک کردن مطابق جدول تجزیه واریانس(جدول ۱) بیان‌گر وجود تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد در میزان شیکوریک اسید می‌باشد. مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴) نشان می‌دهد که بالاترین میزان شیکوریک اسید در نمونه خشک شده در روش سایه و به مقدار ۳۶/۵۷ میلی‌گرم از هر گرم ماده خشک به‌دست آمد.کم‌ترین مقدار هم از نمونه خشک شده در خشک‌کن با دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مقدار ۱۳/۷۰ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک به‌دست آمد.



شکل۴: تاثیر روش‌های مختلف خشک‌کردن بر مقدارشیکوریک اسید

سیناریک اسید

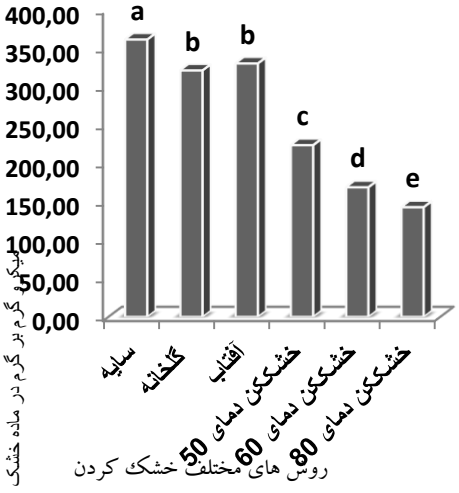
نتایج مقایسه شش روش خشک کردن مطابق جدول تجزیه واریانس(جدول ۱) بیانگر وجود تفاوت معنی دار در سطح یک درصد در میزان سیناریک اسید می‌باشد.همچنین مقایسه میانگین‌ها (شکل ۵) نشان می‌دهد که بالاترین میزان سیناریک اسید در نمونه خشک شده در روش سایه خشک و گلخانه به مقدار ۱/۴۸ و ۱/۵۵ میلی‌گرم از هر گرم ماده خشک به‌دست آمد.کم‌ترین مقدار هم از نمونه خشک شده در خشک‌کن با دمای ۸۰ و ۶۰ درجه سلسیوس به مقدار صفر میلی‌گرم بر گرم ماده خشک به‌دست آمد.



شکل۵: اثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر مقدار سیناریک اسید

آلکامیدها

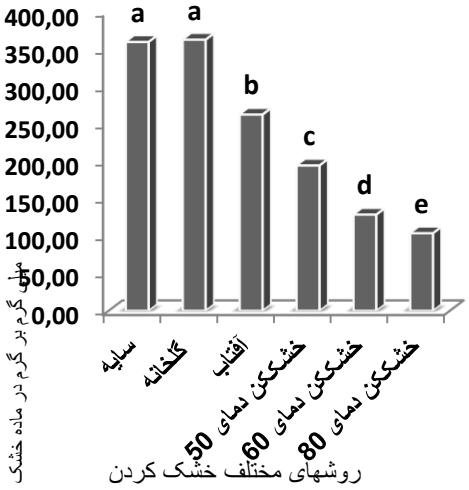
نتایج مقایسه شش روش خشک کردن مطابق جدول تجزیه واریانس(جدول ۱) بیان‌گر وجود تفاوت معنی دار در سطح یک درصد در مقدار آلکامیدها می‌باشد. هم‌چنین مقایسه میانگین‌ها (شکل۶) نشان می‌دهد که بالاترین مقدار آلکامیدها در نمونه خشک شده در روش سایه و به مقدار ۳۶۱/۱ میکروگرم از هر گرم ماده خشک به‌دست آمد.کم-ترین مقدار هم از نمونه خشک شده در خشک‌کن با دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مقدار ۱۴۳ میکروگرم بر گرم ماده خشک به‌دست آمد.



شکل۶: تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر مقدار آلکامیدها

فنل کل

نتایج مقایسه شش روش خشک کردن مطابق جدول تجزیه واریانس(جدول ۱) بیان‌گر وجود تفاوت معنی دار در سطح یک درصد در مقدارمحتوای فنل کل می‌باشد. هم-چنین مقایسه میانگین‌ها (شکل۷) نشان می‌دهد که بالاترین مقدار فنل کل در نمونه خشک شده در روش سایه و گل-خانه به مقدار ۳۶۰ و ۳۶۳ میلی‌گرم از هر گرم ماده خشک به‌دست آمد.کم‌ترین مقدار هم از نمونه خشک شده در خشک‌کن با دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مقدار ۱۰۴ میلی-گرم بر گرم ماده خشک به‌دست آمد.



شکل۷: تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر مقدار محتوای فنل کل

بحث و نتیجه‌گیری

در تمام روش‌های خشک کردن کم‌ترین مقادیر ماده موثره استخراجی مربوط به روش خشک‌کردن با خشک‌کن کابینتی با دمای ۸۰ درجه سلسیوس می‌باشد و بیش‌ترین مقادیر ماده موثره کافتاریک اسید، آلکامیدها و شیکوریک اسید در روش خشک کردن در سایه به‌دست آمد و بیش-ترین مقادیر کلروژنیک اسید، سیناریک اسید، اکیناکوزید و فنل کل از روش خشک‌کردن در گلخانه به‌دست آمدند. هم‌چنین از میان دماهای مختلف خشک کردن در خشک‌کن کابینتی هرچه دما افزایش می‌یابد مقدار ماده موثره کاهش می‌یابد به‌طوری‌که بیش‌ترین ماده موثره در دمای ۵۰ درجه سلسیوس به‌دست آمد. خشک‌کردن با استفاده از گل‌خانه با پوشش پلاستیکی در گل‌خانه و خشک کردن در سایه برای به‌دست آوردن بالاترین مقادیر ماده موثره سرخارگل مناسب می‌باشد. با افزایش دما در روش‌های مختلف خشک‌کردن مقادیر ماده موثره کاهش می‌یابد.

منابع

[۱] امیدبیگی، ر.، (۱۳۸۱) بررسی کشت و سازگاری سرخارگل در شمال تهران.، علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، جلد ششم، شماره چهارم، ص ۲۴۰-۲۳۱.

[۲] تقی‌زاده، م.، جاروندی، ص.، یاسا، ن.، (۱۳۸۱)، مروری بر گیاه اکیناسه.، فصل‌نامه گیاهان داروئی، سال اول، شماره چهارم.

[3] Paynter, N.P., Yeh, H.C., Voutilainen, S., Schmidt, M.I., Heiss, G., Folsom, A.R., Brancati, F.L. and Kao, W.H., 2006, Coffee and sweetened beverage consumption and the risk of type 2 diabetes mellitus: the atherosclerosis risk in communities study., American Journal of Epidemiology, 164(11):1075-1084.
[4] Morton, L.W., Abu-AmshaCaccetta, R., Puddey, I.B. and Croft, K.D., 2000, Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease., Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 27(3):152-159.
[5] Jassim, S.A., and Naji, M.A., 2003, Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective., Journal of Applied Microbiology, 95(3):412-427.
[6] Sotillo, D.R., Hadley, M., and Wolf-Hall, C., 1998, Potato peel extract a non mutagenic antioxidant with potential antimicrobial activity., Journal of Food Science, 63(5): 907-910.
[7] Bowels, B.L., and Miller, A.J., 1994, Caffeic acid activity againstClostridium botulinumspores., Journal of Food Science, 59(4):905-908.
[8] McKeown, K.A., 1999, A review of the taxonomy of the genus Echinacea. p. ASHS Press, Alexandria, VA. 482–489
[9] Soysal, Y. and oztekin, S., 2001, Technical and aromatic economic performance of a tray dryer for medicinal and aromatic plants., Jornal of Agricultural Engineering Reasearch, 79(1) :73-79.
[10] Lin, S-D ., Sung, J-M., and Chen, C-L., 2011, Effects of drying and storage conditions on caffeic acid derivatives and total phenolics of echinacea purpurea grown in Taiwan., Food Chemistry.125:226-231.
[11] Coksari, G., Gulpinar, A., Kan, Y., Kartal, M., 2011, Effects of different drying methods on caffeic acid derivatives content of echinacea purpurea cultivated in Turkey., Planta Medica, 77-PL 78 .
[12] Hevia, F., Melin, P., Berti, M., Fischer, S. and Pinochet, C., 2002, Effect of drying temperature and air speed on cichoric asid and alkylamide content of Echinacea purpurea., Acta Horticulturae.,576:321-325.
[13] Hu, C., and Kitts, D. D., 2000, Studies on the antioxidant of Echinacea root extract. journal of Agricultural and Food chemistry,48:1466-1472.
[14] Chen, C. L., Zhang, S. C. and Sung, J. M., 2008, Biomass and caffeoyl phenols production of echinacea purpurea grown in Taiwan.Expl Agric, 44:497-507.
[15] Chung, L. C., Shih, C. Z. and Jih, M. S., 2009,Caffeoyl phenols and alkamides of cultivated Echinacea purpurea and echinacea atrorubens var. paradoxa., Pharmaceutical Biology, 47(9):835-840.
[16] Taga, M. S., Miller, E. E. and Pratt, D. E., 1984, Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants., Journal Am. Oil. Chem. Soc, 61:928-931.