

استخراج و شناسایی ترکیبات فنولی گلبرگ های شقایق (*Papaver rhoeas L.*) و تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریایی آن

فاطمه قره داغی قره تپه^۱، سید ابراهیم حسینی^۱، غلامحسن اسدی^{۱*}، ژاله خوشخو^۲

^۱گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

^۲گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده: این پژوهش، با هدف استخراج و شناسایی ترکیبات فنولی شقایق (*Papaver rhoeas L.*) به منظور سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی و ویژگی های ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفت. استخراج، شناسایی ترکیبات زیست فعال، مقدار ترکیبات موثره عصاره، فعالیت آنتی اکسیدانی، حداقل غلظت مهارکنندگی، حداقل غلظت کشندگی و هاله عدم رشد به ترتیب با روش حلال و با کمک فرایند فراصوت، کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی (GC-MS)، آزمون MBC، MIC، DDPH و دیسک دیفوزن انجام شد. نتایج GC-MS منجر به دستیابی به ۱۸ ترکیب از عصاره اتانولی گلبرگ های شقایق گردید. نتایج نشان داد از میان ترکیبات، هگزادکانوئیک اسید و ۱۲،۹-اکتادکانوئیک اسید به میزان قابل توجهی، فراوان تر از سایر ترکیبات در گلبرگ شقایق بودند. از دیگر ترکیبات مهم شناسایی شده می توان به مورفین و مشتقات مفنمیک اسید اشاره کرد. نتایج آزمون DDPH نشان داد که عصاره اتانولی گلبرگ های شقایق توانایی مهار رادیکال های آزاد و فعالیت آنتی اکسیدانی را دارد. نتایج آزمون هاله عدم رشد، MIC و MBC در *E.coli* و *S.aureus* نیز نشان داد که عصاره اتانولی گلبرگ های شقایق در مقابل *S.aureus* کارایی بیشتری دارد. بنابراین با توجه به یافته های فوق می توان نتیجه گرفت که گلبرگ های شقایق دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی هستند.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، ضد میکروبی، فراصوت، کروماتوگرافی.

asadi@srbiau.ac.ir

۱- مقدمه

آسیای شرقی و غربی به صورت وحشی رشد می کند و در بسیاری از مناطق جهان به صورت تجاری برای صنایع دارویی و غذایی کشت می شود [۲].

به طور کلی، شقایق ترکیبات آنتوسیانین، فلاونوئید و آلکالوئید را در گلبرگ، ریشه و ساقه خود دارد و بیشتر خواص دارویی آن مربوط به ترکیبات فنولیک و آلکالوئیدی آن است. طبق برخی مطالعات بررسی عصاره متانولی شقایق با استفاده از کروماتوگرافی گازی-طیف سنجی جرمی (GC-MS) نشان داده که در ریشه،

گیاه شقایق با نام علمی *Papaver rhoeas L.* به خانواده *Papavaraceae* تعلق دارد. این گیاه یکی از گیاهان چندساله و دوبرگی است که در ابعاد، شکل برگ ها، گلبرگ ها و کاسبرگ ها بسیار متنوع است. همچنین دارای گل هایی با ۴ تا ۶ گلبرگ قرمز یا بنفش است [۱]. این گیاه در مناطق مختلف اروپای شرقی،

¹ P.rhoeas

برگ و گلبرگ به ترتیب ۲۲، ۱۹ و ۱۷ ماده شیمیایی وجود دارد و رایج ترین ترکیبات آلی شامل آلکالوئیدها، ترکیبات فنولی، اسیدهای چرب، استرها، ترپنوئیدها، فیتواسترول ها، رتومرین، ۱۵، ۱۲، ۹-اکتادکاترین-۱-اول، اسید هگزادکانوئیک، دکاربومتوکسیتابرسونین و گاما-سیتوسترول است. به طور خاص، ترکیبات اصلی عصاره گلبرگ های شقایق شامل دکاربومتوکسی تابرسونین، اسید هگزادکانوئیک، ۱۵، ۱۲، ۹-اکتادکاترین-۱-الکل، گلیسرین، گاما-سیتوسترول، بنزیل بنزوئلات، اکسید آمی ترپتیلین، ۴، ۳-دی-هیدرو-۷، ۶-دی-متوکسی ایزوکوئینولین-۲-اکسید و تتراهیدرو-۴-هیدروکسی-۴-متیل هستند که بسیاری از این ترکیبات به عنوان آنتی اکسیدان و ضد سرطان عمل می کنند [۳].

ترکیبات پلی فنولی گروه بزرگی از متابولیت های ثانویه در گیاهان هستند که به وفور در گیاهان دارویی، میوه ها و سبزیجات یافت می شوند [۴]. پلی فنول ها اجزای زیستی مهمی هستند و وظایف تغذیه ای را در فعالیت های ضد دیابت، ضد چربی، ضد چاقی و آنتی اکسیدانی انجام می دهند [۵]. در مجموع از آب، حلال های آلی متانول و اتانول برای استخراج مواد موثره موجود در گیاهان دارویی استفاده می شوند که امروزه به طور گسترده از روش فراصوت همراه با مخلوط کردن نمونه با حلال آلی و قرار دادن آن در حمام اولتراسوند طی زمان و دمای مشخص استفاده می شود. زیرا امواج صوتی تولید شده در طول فرآیند، دیواره سلول نمونه را پاره کرده و منجر به استخراج ترکیبات فنولی در زمان کمتر و با افزایش نرخ راندمان و کارایی استخراج ترکیبات زیست فعال می شود. هرچند، فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات زیست فعال گیاهان دارویی، در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از آزمون های مختلفی مانند ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن^۱، قدرت آنتی اکسیدانی کاهشی فریک^۲، DPPH^۳ و ABTS^۴ اندازه گیری می شود. با این حال، DPPH محبوب ترین و گسترده ترین روشی است که برای ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدانی استفاده می شود [۶]. همو و همکاران در سال ۲۰۲۴، پژوهشی را با هدف شناسایی و تعیین فعالیت های ضد افسردگی، ضد درد، خصوصیت ضد التهابی

و ضد استروویت عصاره ریشه و عصاره برگ گونه وحشی *P. rhoeas* انجام دادند. استخراج متابولیت های ثانویه و غربالگری فیتوشیمیایی، وجود فنل ها، فلاونوئیدها، ساپونین ها، تانن ها، کومارین ها، ترپنوئیدها و آلکالوئیدها را نشان داد. نتایج استخراج تایید کرد که عصاره ها غنی از متابولیت های ثانویه هستند. لذا ریشه و برگ گیاه شقایق را منبع قابل توجهی از مولکول های فعال زیستی برای استفاده در صنعت داروسازی پیشنهاد دادند [۷].

افقیر و همکاران در سال ۲۰۲۴، با هدف مقایسه ترکیبات فیتوشیمیایی، فعالیت آنتی اکسیدانی و اثرات ضد میکروبی در عصاره های آبی و متانولی گلبرگ های شقایق گونه های *Hypericum perforatum*^۵ و *P. rhoeas* مراکشی را مورد مطالعه قرار دادند. فعالیت آنتی اکسیدانی و اثرات ضد میکروبی بر روی شش باکتری (گرم- و گرم+) آزمایش شد. نتایج نشان داد؛ در مقایسه با عصاره متانولی، عصاره آبی هر دو نوع گیاه *P. rhoeas* و *H. perforatum* محتوای فنلی کل بالاتری داشتند. از سوی دیگر عصاره آبی *P. rhoeas* غلظت فلاونوئید کل بالاتری را در مقایسه با *H. perforatum* از خود نشان داد. در نتیجه اذعان نمودند، عصاره های هر دو گونه گیاه شقایق فعالیت های آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی را دارا می باشند و دارای غلظت بالایی از ترکیبات زیست فعال هستند. لذا قابلیت پتانسیل بالای فعالیت زیستی، آنها را از نظر تجارت دارویی در صنعت داروسازی ارزشمند می سازد [۸].

سرابندی و همکاران در سال ۲۰۲۳، عصاره گلبرگ شقایق را با فرآیند خشک کردن پاششی، ریزپوشانی کردند. طی خشک کردن پاششی پودر عصاره شقایق کپسوله، راندمان کپسولاسیون ترکیبات فنولیک (۹۳-۸۴٪)، آنتوسیانین (۸۳-۷۱٪) و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره در مهار رادیکال های آزاد به روش DPPH (۶۸-۸۰٪) بدست آمد [۹].

همو و همکاران در سال ۲۰۲۳، ترکیبات فنولی، فعالیت های ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی گلبرگ های گیاه شقایق *P. rhoeas* سه منطقه جغرافیایی مختلف در مراکش را جمع آوری کردند و نمونه ها را با تست DPPH، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، هاله عدم رشد و فعالیت ضد میکروبی بر روی چهار باکتری بیماری زا و

¹ Oxygen radical absorption capacity (ORAC)

² Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

³ (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (DPPH)

⁴ (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)

⁵ *H. perforatum*

یک مخمر مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد تمامی گونه های *P.rhoeas* از سه منطقه مورد مطالعه سرشار از ترکیبات پلی فنول ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین ها می باشند که در خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی مورد مطالعه نقش دارند. علاوه بر این، هرچند نتایج متفاوتی در محتوای فنولی و فعالیت های زیستی همه گونه های *P.rhoeas* بدست آمد اما تمامی گونه ها قابلیت مهار رادیکال های آزاد را داشته و همچنین با فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی بالا قابلیت مبارزه با عفونت های میکروبی را از خود نشان دادند. لذا گیاه شقایق را به عنوان گیاه دارویی پیشنهاد نمودند [۱۰]. برخی از محققین، مطالعه ای را بر روی محتوای اسیدهای چرب و روغن های فرار موجود در گلبرگ شقایق انجام دادند. در این تحقیق، ترکیب اسیدهای چرب و ترکیبات فرار دو نوع صنعتی و چهار نوع خوراکی گونه های شقایق مقایسه گردید. نتایج نشان داد یازده نوع اسید چرب پالمیتیک اسید، پالمیتوئیک اسید، مارگاریک اسید، استئاریک اسید، اولئیک اسید، لینولئیک اسید، لینولنیک اسید، آراشینیک اسید، ایکوزنوئیک اسید، ایکوزادینوئیک اسید و بهنیک اسید در روغن فرار شقایق وجود دارد که اسیدهای لینولئیک، اولئیک و پالمیتیک اجزای اصلی همه گونه ها بودند. در میان اسیدهای چرب تک غیراشباع پالمیتوئیک اسید، اولئیک اسید و ایکوزنوئیک اسید، مقدار اولئیک اسید در بالاترین درصد وجود داشت. هرچند تفاوت های عمده در ترکیبات فرار (مانند ۲ و ۳ متیل بوتانال و ۳ متیل بوتانول γ -n-کاپرولاکتون، پنتوفوران) بسته به ژنوتیپ و سال مشاهده شد [۱۱].

عبدالجبار و همکاران در سال ۲۰۲۲ ترکیبات فیتوشیمیایی و ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی گلبرگ ها، برگ ها و ریشه های شقایق (*P.Decaisnei* (PD)، (گونه بومی از کردستان عراق) را با استفاده از GC-MS، DPPH و ABTS بررسی کردند. نتایج نشان داد بیشترین ترکیبات آلی در PD شامل آلکالوئیدها، فنولیک ها، اسیدهای چرب، استرها و فیتواسترول ها، روماین، دکاربومتوکسی تابرسونین، ۹، ۱۲، ۱۵-اکتادکاترین-۱-آل، اسید هگزادکانوئیک و گاما-سیتوسترول است. همچنین گزارش دادند ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره های موجود در اجزای گیاه در محدوده ۵/۱۴۳-۱/۳۹ میکروگرم در میلی لیتر برای DPPH و ۴/۱۲-۲۷۶/۱۲۳ میکروگرم در میلی لیتر برای ABTS است.

همچنین، پروفایل آلکالوئیدی دو گونه شقایق وحشی، یعنی *P.glaucum*(PG) و *P.Decaisnei*(PD) در شمال عراق با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد؛ آلکالوئید پروآپوپورفین نوع مکامبری و آلکالوئید آپورفین نوع رومرین از PD جدا شده است و آلکالوئیدهای بنزیلازوکوئینولین پاپورین(اصلی ترین آلکالوئید)، پالودین و -N-متیل آسیملوبین نوع آپورفین از PG به دست آمده است. بنابراین، پیشنهاد شد PG و PD می توانند منابع قابل اعتمادی برای آلکالوئیدها باشند [۱۰].

شقایق و همکاران در سال ۲۰۱۹ ظرفیت آنتی اکسیدانی و توزیع آلکالوئیدهای نوسکاپین، تبین، کدئین، پاپاورین و مورفین موجود در ریشه، ساقه و کاسبرگ، شش گونه شقایق در مناطق مختلف ایران را با روش DPPH و HPLC بررسی کردند. نتایج نشان داد؛ مقدار آلکالوئیدها در گونه های گیاهی و اجزاء آنها بسیار متفاوت است. طبق نتایج آنها، نوسکاپین بیشترین آلکالوئید فعال در ریشه، ساقه و کاسبرگ گونه های مختلف شقایق بود، اگرچه مورفین در برخی از گونه ها و قسمت های گیاه مشاهده نشد. بیشترین مقادیر مورفین، کدئین، تبین، پاپاورین و نوسکاپین به ترتیب در کاسبرگ *P.dubium* و ریشه *P.arenarium*، *P.dubium* و *P.tenuifolium* یافت شد. همچنین، ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره ها نیز در محدوده ۲۲/۱ در *P.dubium* تا ۳۳/۴۲ میلی گرم در گرم در *P.lacerum* متغیر بود. طبق نتایج آنها، ریشه بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در میان سایر اندام های شقایق داشت [۱۳].

ویلکویچ و همکاران در سال ۲۰۱۹، عصاره گلبرگ های تازه شقایق *P.rhoeas* را به منظور تعیین محتوای آنتوسیانینی با HPLC مطالعه نمودند. نتایج نشان داد بیشترین آنتوسیانین های موجود در عصاره های *P.rhoeas* دلفینیدین-۳-O-گلوکوزید، سیانیدین-۳-O-گلوکوزید، سیانیدین-۳-O-روتینوزید، پئونیدین-۳-O-گلوکوزید، پتوندین-۳-O-گلوکوزید، پتوندین-۳-استیل گلوکوزید و دلفینیدین-۳-p-کوماروئیل گلوکوزید می باشد [۱۴].

چوبان و همکاران در سال ۲۰۱۷، ترکیبات آلکالوئیدی موجود در ساقه گیاه شقایق *P.rhoeas* که از مناطق مختلفی در ترکیه و قبرس شمالی جمع آوری و با روش کروماتوگرافی لایه نازک

درجه سانتی‌گراد در دقیقه به ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و در نهایت با سرعت ۳۰ سانتی‌گراد در دقیقه به ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای ورودی نمونه و آشکارساز به ترتیب بر روی ۲۵۰ و ۲۴۰ سانتی‌گراد تنظیم شد [۷]. سپس گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت ۱ میلی‌لیتر در دقیقه به ستون تزریق شد و یک میکرولیتر از هر روغن فرار به دستگاه تزریق شد. در نهایت، تفسیر و تشخیص داده‌ها با استفاده از زمان بازدارندگی، ارتفاع پیک و مقایسه سایر مؤلفه‌ها با ترکیبات استاندارد یا با اطلاعات موجود در کتابخانه آدامز، Wiley، Mass Finder، GC/MS یا جداول NIST برای شناسایی ترکیبات زیست فعال انجام شد [۳، ۱۴].

فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره شقایق با استفاده از روش DPPH و با استفاده از ۱،۱-دی‌فنیل-۲-پیکریل‌هیدرازیل انجام شد [۹، ۱۰]. آزمون با مقدار ۵۰ میکرولیتر عصاره به ۲۰۰۰ میکرولیتر در $6 \times 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ (۹۵٪ رادیکال آزاد) در متانول و انکوباسیون به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انجام شد. در نهایت، جذب در طول موج ۵۱۷ nm خوانده و درصد مهار رادیکال آزاد با استفاده از معادله زیر تعیین شد [۳، ۱۳].

$$\%EPPH = \frac{Abs_{control} - Abs_{sample}}{Abs_{control}} \times 100 \quad (1)$$

که در آن $Abs_{control}$ ، میزان جذب محلول (شاهد) بدون استخراج و Abs_{sample} ، میزان جذب نمونه با استخراج است.

همچنین حداقل غلظت مهارکنندگی با روش میکرودايلوشن براث تعیین گردید. کشت میکروارگانیسم مورد آزمون برای تهیه سوسپانسیون سلولی مولر هیتتون براث دوبار برای سوبیه‌های باکتریایی و به دست آوردن 10^6 واحد تشکیل کلنی (CFU/ml) و $2 \times 10^3 \text{ cells/ml}$ تغلیظ شد. سپس نمونه‌ها در دی متیل سولفوکسید ۴٪ (DMSO) و $100 \mu\text{l}$ از هر رقت در میکروول‌ها قرار گرفت و به طور جداگانه با $100 \mu\text{l}$ سوسپانسیون باکتریایی تلقیح داده شد. پس از مخلوط دقیق، میکرو پلیت‌های تلقیح شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. حداقل غلظت بازدارندگی به عنوان پایین‌ترین غلظت برای مهار شد قابل ملاحظه ای از میکروارگانیسم‌ها بیان گردید [۱۵].

برای تعیین حداقل غلظت میکروبی 100 میکرولیتر از بخشی از براث از هر چاهک گرفته شد، روی محیط کشت مولر هیتتون

مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج آنها دوازده آلکالوئید مهم در گروه‌های روئادین (ایپگلاوکامین، گلاوکامین، گلاودین، ایزوروئادین، ایزوروئازنین، روئادین، روئازنین)، پروآپورفین (مکامبرین)، آپورفین (رومرین)، پرومورفین (رومرین)، پرومورفین استخراج گردید و بیشترین میزان غلظت بازدارنده حداقلی (MIC) در نمونه عصاره آلکالوئید آپورفین (رومرین)، در برابر استافیلوکوکوس اورئوس با مقدار $1/22 \mu\text{g/mL}$ و کاندیدا آلبیکنس با مقدار $2/4 \mu\text{g/mL}$ مشاهده گردید. در نتیجه پیشنهاد دادند که در *P. Rhoear* نمونه پورفین فعال‌ترین عصاره و رومرین آلکالوئید اصلی می‌باشد [۱۵].

در این مطالعه با هدف استخراج و شناسایی ترکیبات موثره موجود در گلبرگ‌های گیاه دارویی شقایق (*Papaver rhoeas L.*) به منظور ارزیابی قدرت کشندگی، ویژگی‌های بازدارنده و فعالیت آنتی اکسیدانی مورد بحث و بررسی قرار گرفته است.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد و روش‌ها

برای تهیه نمونه‌ها، گلبرگ‌های شقایق در اوایل اردیبهشت ماه از باغ گیاه شناسی نوشهر واقع در منطقه جلگه ای با مختصات جغرافیایی (Zone: 39S Easting: 545628.00 m E Northing: 4055673.00 m N) جمع‌آوری شدند و پس از جداسازی پرچم‌ها و کاسبرگ‌ها، کلیه گلبرگ‌ها پس از سه روز خشک شدن در سایه به آزمایشگاه منتقل شدند.

سپس برای استخراج مواد موثره گلبرگ‌های شقایق، ۱۰ گرم گلبرگ شقایق و ۴۰ میلی‌لیتر حلال اتانول استفاده شد. سپس نمونه‌ها در دستگاه مولد امواج اولتراسونیک مدل Q125 (Qsonica, USA) به طول موج ۵۲۰ نانومتر و با شدت ۲۰۰ هرتز به مدت ۲ دقیقه قرار گرفت [۵].

به منظور شناسایی ترکیبات موثر عصاره استخراجی شقایق، از دستگاه GC-MS مدل Agilent 6890N-5973N ساخت کشور آمریکا مجهز به جرم‌سنج و ستون کاپیلری ۳۰ متری با قطر ۰/۲۵ میلی‌متر استفاده شد. در ابتدا، کوره ستون به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴۰ سانتی‌گراد تنظیم شد، سپس با سرعت ۱۰

آگار گسترده و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت برای باکتری انکوباسیون انجام گردید. پایین ترین غلظتی که میکروارگانیسم‌های انکوبه کاملاً کشته می‌شوند (کاهش ۹۹/۹٪ در CFU/ml در مقایسه با شاهد) به عنوان MBC تعریف گردید [۱۶، ۱۷].

برای ارزیابی ویژگی ضد میکروبی عصاره گلبرگ شقایق، ابتدا با استفاده از روش دیسک دیفوزیون، با تغییرات جزئی به روش اوبیهی و همکاران انجام شد. این روش شامل سوسپانسیون میکروبی PBS با چگالی نوری CFU/mL بر روی محیط آگار نوترینت از طریق غوطه‌ور کردن پتری‌دیش‌ها بود. عصاره‌های اتانولی در DMSO حل شدند [۸].

سپس، دیسک‌های استریل با قطر ۶ میلی‌متر از کاغذ واتمن با ۱۵ میکرولیتر از عصاره اشباع شدند و در مرکز هر پتری‌دیش روی سطح آگار قرار گرفتند. فرآیند انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. نتایج با اندازه گیری ناحیه شفاف اطراف دیسک و قطر مناطق بازدارنده (هاله عدم رشد) تجزیه و تحلیل شد و در نهایت میانگین قطر مناطق بازدارنده گزارش گردید [۴، ۱۸].

برای آنالیزهای آماری، کلیه آزمون‌ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی، با سه تکرار و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ در سطح $\alpha=0.05$ تجزیه و تحلیل شد. علاوه بر این از آزمون پارامتریک t مستقل^۳ برای تعیین نرمال بودن متغیرهای وابسته پژوهش استفاده شد. همچنین از آزمون کولموگروف اسمیرنوف نیز در صورت عدم پیروی داده‌ها از توزیع نرمال بهره گرفته شد و در بررسی معناداری اختلاف میانگین داده‌ها، آزمون غیرپارامتریک Mann-Whitney U test بکار گرفته شد.

۳- بحث و نتایج

کروماتوگرام بدست آمده از عصاره اتانولی گلبرگ شقایق در شکل ۱ آورده شده است. همچنین خلاصه‌ای از مشخصات پیک‌ها در جدول ۱ آورده شده است. بر اساس شکل ۱ و داده‌های جدول ۱، کمترین و بیشترین مقادیر زمان بازداری، به ترتیب مربوط

به پیک ۱ ($R.T=9.056$) و پیک ۱۸ ($R.T=48.767$) می‌باشد. همچنین کمترین و بیشترین مساحت و ارتفاع به ترتیب مربوط پیک ۴ ($Area=1340.59$ ، $Height=2433298$) و پیک ۸ ($Area=27894862$ ، $Height=5559397$) می‌باشد. علاوه بر این، کمترین و بیشترین درصد ارتفاع نسبت به بیشینه^۴ (بیشینه درصد) و درصد مساحت نسبت به کل مساحت نمودار (درصد اجزا از کل)^۵ به ترتیب متعلق به پیک ۴ و ۸ است.

مشخصات پیک‌های بدست آمده در جدول ۱ با اطلاعات کتابخانه‌های تطبیق داده شد و نتایج در جدول ۲ آورده شده‌اند. با توجه به جداول ۱ و ۲ و با در نظر گرفتن فاکتور مساحت که نشان‌دهنده فراوانی نسبی ترکیبات است، سه ترکیب با کمترین فراوانی شامل فنول، ۲ (H^3) فورانون دی هیدرو و ۲۶-کتادینال-۳،۷-دی متیل-(E) و سه ترکیب با بیشترین فراوانی شامل هگزادکانوئیک اسید، ۱۲-۹-اکتا دکانوئیک اسید و H^4 -پیران-۴-وان-۲،۳-دی هیدرو-۵،۳-دی هیدروکسی-۶-متیل می‌باشد.

زمان بازداری نشان‌دهنده زمان لازم برای عبور یک ترکیب از ستون کروماتوگرافی است و هرچه این مقدار کمتر باشد، نشان‌دهنده ترکیباتی با قطبیت کمتر و هرچه این مقدار بیشتر باشد، نشان‌دهنده حضور ترکیباتی با قطبیت بیشتر است. لذا می‌توان نتیجه گرفت؛ هرچه از پیک ۱ به سمت پیک ۱۸ پیش می‌رود بر قطبیت ترکیبات افزوده می‌شود؛ بطوریکه پیک ۱ و ۲ با ترکیبات ۲ (H^3) فورانون دی هیدرو (گاما-بوتیرولاکتون نوعی هتروسیلیک آروماتیک و جزء دسته فوران‌ها)، ۲-هیدروکسی-۲-سیکلوپنتن-۱-وان (جزء دسته سیکلوپنتنون‌ها) دارای کمترین قطبیت و پیک ۱۸ با ترکیب ۱۲-۹-کتادینال-۳،۷-دی متیل (با وجود دو پیوند دوگانه در ساختار نوعی دی‌ان بشمار می‌رود)، دارای بیشترین قطبیت هستند. از سوی دیگر مقادیر ارتفاع و مساحت نشان‌دهنده فراوانی و غلظت ترکیبات در نمونه می‌باشند. بطوریکه ارتفاع پیک نشان‌دهنده فراوانی لحظه‌ای و مساحت پیک نشان‌دهنده کل فراوانی ترکیب در طول زمان بازداری است. همچنین Pct Max و Pct Total نشان‌دهنده نسبت فراوانی یک ترکیب به ترکیب با بیشترین فراوانی و نسبت آن به کل ترکیبات موجود در نمونه هستند و درصد مساحت نشان‌دهنده

^۴ Percentage of Maximum (Pct Max)

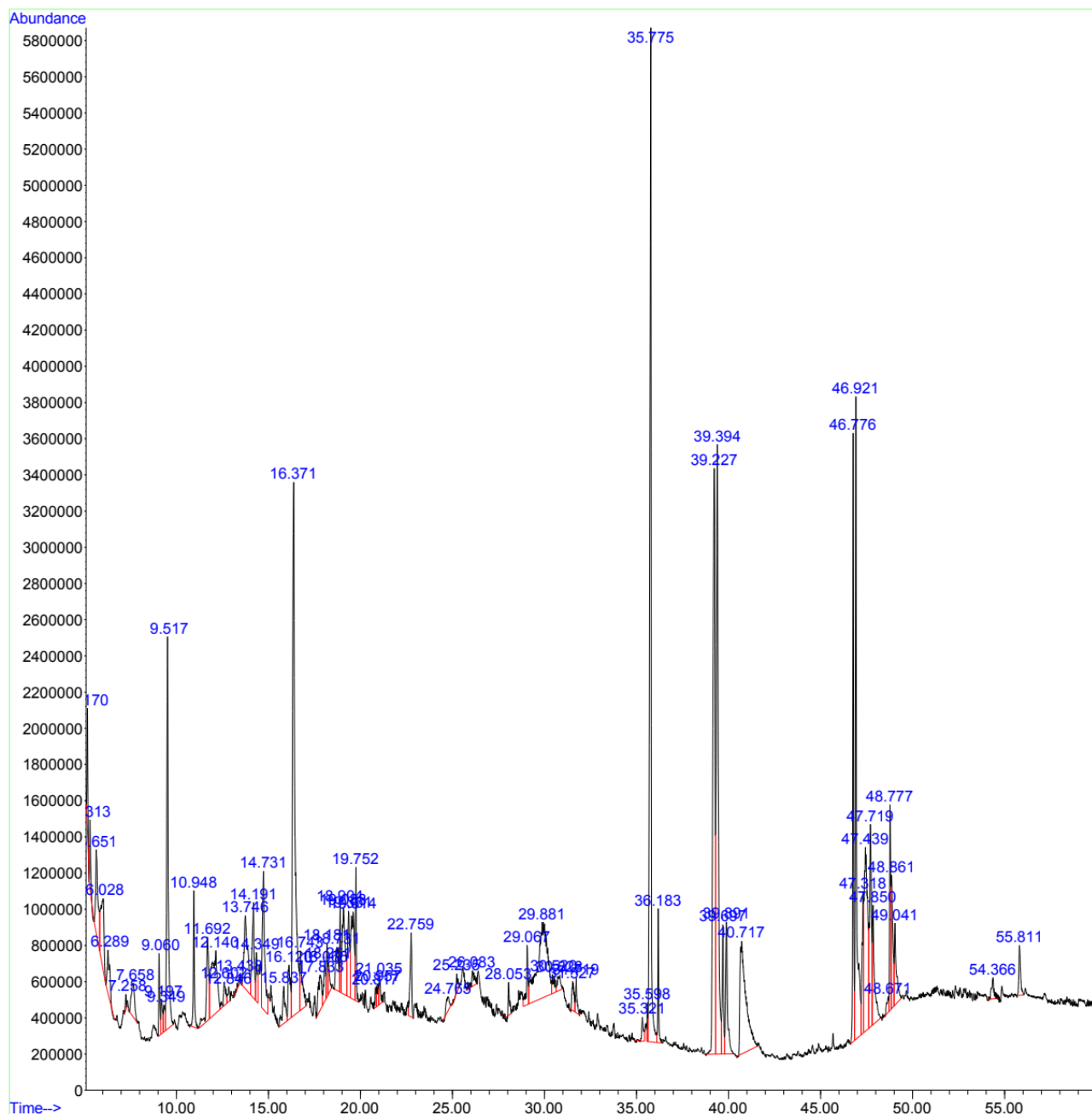
^۵ Percentage of Total (Pct Total)

^۶ Area Pct

^۱ Phosphate-Buffered Saline (PBS)

^۲ Statistical Package for Social Science (SPSS)

^۳ Independent t test



شکل ۱. ترکیبات فنولی و مواد موثره استخراجی از عصاره اتانولی گلبرگ شقایق به روش کروماتوگرافی گازی طیف سنج جرمی

نشان‌دهنده اطمینان بیشتر از شناسایی صحیح ترکیب است. لذا مقادیر کیفیت بالاتر از ۹۰ به وفور در جدول ۲ به چشم می‌خورد که خود دلیلی قاطع بر تایید هویت ترکیبات شناسایی شده می‌باشد.

از سوی دیگر مقایسه ترکیبات شیمیایی استخراج شده از عصاره اتانولی گلبرگ شقایق با تحقیقات پیشین نشان داد؛ حضور ترکیبات فنول ها، ترپنوئیدها، آلدئیدها، استرها و اسیدهای چرب پالمیتیک اسید، لینولئیک اسید و لینولنیک اسید، مطابق با نتایج هممو و همکاران در سال ۲۰۲۴، گوپچو و همکاران

نسبت مساحت پیک یک ترکیب به کل مساحت پیک‌ها است و برای تعیین فراوانی نسبی ترکیبات در نمونه استفاده می‌شود.

بنابر آنچه در جدول ۲ نشان داده شده ترکیبات فنول (هیدروکربن آروماتیک)، ۱۲،۹-اکتادکانوئیک اسید(لینولئیک اسید، اسید چرب غیر اشباع) و هگزا دکانوئیک اسید (پالمیتیک اسید رایج‌ترین اسید چرب اشباع در طبیعت) به ترتیب کمترین و بیشترین ترکیبات در عصاره شقایق به شمار می‌آیند و با توجه به اینکه فاکتور کیفیت نیز نشان‌دهنده اطمینان از شناسایی ترکیب می‌باشد مقادیر بالاتر،

جدول ۱. پارامترهای بدست آمده از مواد موثره عصاره اتانولی گلبرگ شقایق به روش کروماتوگرافی گازی طیف سنج جرمی

پیک	زمان بازگشت (بازگشت)	زمان بازگشت اولیه	مقدار بیشینه	زمان بازگشت آخر	نوع پیک	مساحت زیر نمودار پیک	ارتفاع پیک	% ارتفاع نسبت به بیشینه	% مساحت نسبت به کل مساحت نمودار (اجزا از کل عصاره)
۱	۹/۰۵۶	۶۷۴	۶۸۱	۶۹۸	rBV	۱۸۵۸۳۱۳	۴۵۷۸۹۳	۶/۶۶	۱/۱۲۸
۲	۹/۵۱۷	۷۴۳	۷۶۰	۸۰۶	rVB _r	۱۱۵۷۵۵۳۱	۲۱۳۴۲۲۶	۴۱/۵	۷/۰۲۴
۳	۱۰/۹۴۵	۹۹۶	۱۰۰۵	۱۰۲۶	rVB _r	۲۶۰۹۲۵۶	۷۳۱۶۹۶	۹/۳۵	۱/۵۸۳
۴	۱۱/۶۸۵	۱۱۲۷	۱۱۳۲	۱۱۵۱	rVB _r	۱۱۳۴۰۵۹	۲۴۳۳۲۹	۴/۰۷	۰/۶۸۸
۵	۱۴/۷۳۳	۱۶۳۹	۱۶۵۵	۱۶۸۴	rVB _r	۴۹۷۷۰۹۹	۶۹۰۵۸۲	۱۷/۸۴	۳/۰۲
۶	۱۶/۳۷۷	۱۹۱۵	۱۹۳۷	۱۹۸۳	rBV _r	۲۳۷۷۶۶۷۰	۲۸۱۵۲۵۹	۸۵/۲۴	۱۴/۴۲۸
۷	۱۹/۷۵۲	۲۵۰۹	۲۵۱۶	۲۵۳۰	rBV	۲۲۱۳۳۱۵	۷۳۱۱۶۵	۷/۹۳	۱/۳۴۳
۸	۳۵/۷۸۱	۵۲۴۰	۵۲۶۶	۵۳۰۹	rBV	۲۷۸۹۴۸۶۲	۵۵۵۹۳۹۷	۱۰۰	۱۶/۹۲۷
۹	۳۶/۱۷۷	۵۳۲۶	۵۳۳۴	۵۳۵۴	rBV	۲۱۷۹۹۹۵	۷۳۰۸۶۶	۷/۸۲	۱/۳۲۳
۱۰	۳۹/۲۲۵	۵۸۲۴	۵۸۵۷	۵۸۶۹	rVB _r	۲۵۳۸۵۲۲۸	۳۲۱۷۵۴۳	۹۱	۱۵/۴۰۴
۱۱	۳۹/۳۹۴	۵۸۷۲	۵۸۸۶	۵۹۲۳	rVV ₄	۲۲۸۴۰۷۱۶	۳۳۰۴۰۵۳	۸۱/۸۸	۱۳/۸۶
۱۲	۳۹/۶۹۲	۵۹۲۶	۵۹۳۷	۵۹۵۵	rVB _r	۲۸۱۹۹۷۲	۶۲۵۲۹۲	۱۰/۱۱	۱/۷۱۱
۱۳	۳۹/۸۸۴	۵۹۵۵	۵۹۷۰	۵۹۸۹	rBV _r	۳۲۲۱۰۵۹	۶۴۰۳۲۴	۱۱/۵۵	۱/۹۵۵
۱۴	۴۰/۶۶۵	۶۰۸۴	۶۱۰۴	۶۱۰۵	rBV _r	۲۵۹۲۰۴۳	۶۰۸۷۴۹	۹/۲۹	۱/۵۷۳
۱۵	۴۶/۷۷۳	۷۱۳۶	۷۱۵۲	۷۱۶۵	rBV _r	۱۰۸۰۷۰۶۳	۳۳۴۲۶۶۲	۳۸/۷۴	۶/۵۵۸
۱۶	۴۶/۹۱۹	۷۱۶۶	۷۱۷۷	۷۲۰۰	rVV _r	۱۲۰۰۶۲۷۹	۳۳۰۷۶۱۳	۴۳/۰۴	۷/۲۸۵
۱۷	۴۷/۷۱۲	۷۳۰۸	۷۳۱۳	۷۳۲۹	rVB _r	۲۴۳۴۹۸۴	۶۵۳۹۳۰	۸/۷۳	۱/۴۷۸
۱۸	۴۸/۷۶۷	۷۴۸۶	۷۴۹۴	۷۵۰۵	rVB _r	۴۴۷۱۸۱۴	۱۰۸۱۲۸۷	۱۶/۰۳	۲/۷۱۲

در سال ۲۰۲۳ و عبدالجبار و همکاران در ۲۰۲۲ است [۱۱، ۷، ۳].

طبق جدول ۲ پالمیتیک اسید در صدر اسیدهای چرب استخراج شده عصاره شقایق می‌باشد. اما طبق نتایج گوپچو و همکاران، که در سال ۲۰۲۳ به چاپ رسیده است، اولئیک اسید، بالاترین میزان اسید چرب را در نمونه شقایق داشته است. لذا نتایج حاصل با یافته آنها مطابقت ندارد. نکته قابل توجه اینکه؛ نتایج بررسی اسیدهای چرب نشان می‌دهد، بیشترین و کمترین میزان اسیدهای چرب به ترتیب مربوط به پالمیتیک اسید، لینولئیک اسید، لینولنیک اسید، اتیل استر لینولئیک اسید، استر اسید لینولئیک و اتیل استر پالمیتیک اسید می‌باشد. علاوه بر این وجود ترکیبات آلکالوئیدی نظیر بتائین (پارامرفین) و ایزو تالاسامین (نوعی آلکالوئید هتیدین و جز دسته دی ترپنوئیدها) با نتایج هممو

و همکاران در سال ۲۰۲۴، هممو و همکاران در سال ۲۰۲۳، عبدالجبار و همکاران در سال ۲۰۲۲، جعفر و همکاران در سال ۲۰۲۱ و شقایق و همکاران در سال ۲۰۱۹ مطابقت دارد [۳، ۷، ۱۰، ۱۲، ۱۳].

از طرف دیگر طبق جدول ۲ ایزوتالاسامین را می‌توان به عنوان آلکالوئید اصلی برشمرد. اما جعفر و همکاران در سال ۲۰۲۱ پاپاورین بنزیلیزوکینولین، شقایق و همکاران در سال ۲۰۱۹ نوسکاپین و چوبان و همکاران در سال ۲۰۱۷ رومرین را به عنوان آلکالوئید اصلی *P.rhoeas* معرفی کردند. از این لحاظ، یافته با نتایج آنها مطابقت ندارد [۱۲، ۱۳]. نکته شایان ذکر اینکه؛ مطابق جدول ۲ در بین سه ترکیب ایزوتالاسامین، بتائین و مشتق تری متیل سلیل مفنمیک اسید به عنوان ترکیبات مخدر و غیرمخدر شناسایی شده، میزان تری متیل سلیل مفنمیک اسید (ترکیب غیر

جدول ۲. ترکیبات استخراج شده از عصاره گلبرگ شقایق به روش GC-MS

پیک	شناسایی از کتابخانه	سایر اسامی	کیفیت	% ترکیب
۱	۲(H ^۳) فورانون دی هیدرو	گاما بوتیرو لاکتون	۸۶	۱/۱۲۸
۲	۲-هیدروکسی-۲-سیکلوپنتن-۱-وان	-	۹۰	۷/۰۲۴
۳	H ^۴ -پیران-۴-وان-۲،۳-دی هیدرو-۵،۳-دی هیدروکسی-۶-متیل	پیرانون	۸۳	۱/۵۸۳
۴	فنول	-	۷۶	۰/۶۸۸
۵	۴-پیریدین کربوکسامید	ایزو نیپکتامید	۴۰	۳/۰۲
۶	H ^۴ -پیران-۴-وان-۲،۳-دی هیدرو-۵،۳-دی هیدروکسی-۶-متیل	پیرانون	۹۴	۱۴/۴۲۸
۷	۲،۶-اکتادینال-۷،۳-دی متیل-(E)	گرانیال، الفا-سیترال، ترانس سیترال	۹۶	۱/۳۴۳
۸	هگزادکانوئیک اسید	پالمیتیک اسید، امرسول ۱۴۰	۹۹	۱۶/۹۲۷
۹	اتیل استر هگزادکانوئیک اسید	پالمیتیک اسید، اتیل پالمیتات	۹۹	۱/۳۲۳
۱۰	۹،۱۲-اکتادکانوئیک اسید-(Z Z)	لینولئیک اسید، تلهاریک اسید، یونیک اسید، امرسول ۳۱۰	۹۹	۱۵/۴۰۴
۱۱	۹،۱۲،۱۵-اکتادکانوئیک اسید-(Z Z Z)	لینولنیک اسید، آلفا-اینداسترن ۱۲۰	۹۹	۱۳/۸۶
۱۲	اتیل استر لینولئیک اسید	مندنول، اتیل لینولات	۹۹	۱/۷۱۱
۱۳	۹،۱۲،۱۵-اتیل استر اکتا دکانوئیک اسید-(Z Z Z)	لینولئیک اسید، اتیل آلفا لینولات	۹۹	۱/۹۵۵
۱۴	فنول ۴،۴-(۱-متیل اتیل ادین) بیس	بیسفنول A، دیان، دیانو، پارا بیس A	۹۸	۱/۵۷۳
۱۵	ایزو-تالاسامین	-	۸۳	۶/۵۵۸
۱۶	مشتق تری متیل سیلیل مفنامیک اسید	تری متیل سیلیل ۲-(۲،۳-دی متیلانیلینو) بنزوات	۴۶	۷/۲۸۵
۱۷	تباتین	پارا-مورفین، مورفینان	۹۹	۱/۴۷۸
۱۸	۹-تترادکادی ان-۱-آل	-	۹۶	۲/۷۱۲

علاوه بر این، طبق جدول ۴، نتایج آزمون کولموگروف اسمیرنوف، بررسی نرمال بودن متغیرها نشان می‌دهد متغیر فعالیت آنتی اکسیدانی دارای توزیع نرمال می‌باشد.

جدول ۳. آمار توصیفی متغیر فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH)

میانگین	انحراف استاندارد	تعداد	گروه
۲۱/۴۴	۰/۴۵	۳	اسید آسکوربیک IC ₅₀
۸۳۷	۱۲	۳	عصاره شقایق IC ₅₀
۴۲۹/۲۲	۴۴۶/۷۶۵۱۷	۶	کل

استروئیدی غیرمخدر) بصورت مجزا، نسبت به دو ترکیب ایزوتالاسامین، تبائین (آکالوئیدهای مخدر) بیشتر می‌باشد. هرچند مجموع آکالوئیدهای مخدر نسبت به ترکیب غیر استروئیدی غیرمخدر بیشتر است. علاوه بر این مقایسه دو آکالوئید مخدر نشان داد؛ میزان ایزوتالاسامین نسبت به تبائین (پارا مرفین) به مراتب بیشتر می‌باشد. بر اساس نتایج جدول ۳، آمار توصیفی میانگین و انحراف استاندارد متغیر فعالیت آنتی اکسیدانی نشان می‌دهد که میانگین IC₅₀ عصاره شقایق به طور قابل ملاحظه ای بیشتر از اسید آسکوربیک می‌باشد.

¹ Half-Maximal Inhibitory Concentration

جدول ۴. آمار استنباطی نتایج آزمون کولموگروف اسمیرنوف برای متغیر DPPH

سطح معناداری Sig.	درجه آزادی	مقدار شاخص آزمون
۰/۰۵۶	۶	۰/۳۱۹

مطابق جدول ۵، مقدار F برای آزمون لون برای متغیر فعالیت آنتی اکسیدانی برابر ۳/۷ است که در سطح ۵ درصد معنادار نمی‌باشد ($\text{sig} > 0.05$). این نتایج بیانگر این است که در سطح ۵ درصد، فرض برابر بودن واریانس بین دو گروه را نمی‌توان رد کرد ($\text{sig} > 0.05$) و واریانس متغیر وابسته دو گروه با یکدیگر تفاوت معناداری ندارند و شرط برابری واریانس‌ها مورد تایید است. به عبارت دیگر، شرط برابری واریانس‌های بین گروهی رعایت شده است و گروه‌ها دارای شباهت (همسانی) می‌باشند. در ادامه، نتایج آزمون t مستقل در جدول ۵ نشان می‌دهد که مقدار شاخص t با توجه به برقراری فرض همسانی واریانس، جهت بررسی مقایسه ای میانگین IC_{50} بین اسید اسکوربیک و عصاره شقایق در حالت برابری واریانس برای این آزمون، برابر ۱۱۷/۶۳۳- است که در سطح ۵ درصد معنادار می‌باشد ($\text{sig} < 0.05$). بنابراین، بین IC_{50} اسید اسکوربیک و عصاره شقایق اختلاف معناداری وجود دارد. طبق نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه شاهد و عصاره اتانولی گلبرگ شقایق، می‌توان نتیجه گرفت که هرچه مقدار IC_{50} کمتر باشد، توانایی

مهار رادیکال‌های آزاد بیشتر است. بنابراین اسکوربیک اسید به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی نسبت به عصاره شقایق محسوب می‌شود و در مقایسه با عصاره شقایق، توانایی بسیار بالاتری در مهار رادیکال‌های آزاد دارد. در حالی که عصاره شقایق توانایی کمتری در مقایسه با اسکوربیک اسید برای مهار رادیکال‌های آزاد است. با این حال، عصاره شقایق همچنان فعالیت آنتی اکسیدانی دارد؛ اما با کارایی کمتر نسبت به اسکوربیک اسید دارد. بطوریکه نتایج DPPH با یافته‌های افقیر و همکاران در سال ۲۰۲۴، هممو و همکاران در سال ۲۰۲۳، عبدالجبار و همکاران در سال ۲۰۲۲، شقاقی و همکاران در سال ۲۰۱۹ و چوبان و همکاران در سال ۲۰۱۷ مبنی بر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره شقایق مطابقت دارد. هرچند نتایج شقاقی و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داد که ریشه بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در مقایسه با اندام‌های گیاهی گلبرگ، کاسبرگ و ریشه گیاه شقایق داشته است [۳، ۷، ۸، ۱۳، ۱۵].

تجزیه و تحلیل متغیرهای MIC، MBC و هاله عدم رشد طبق نتایج جدول ۶ نشان می‌دهد که میانگین MIC و MBC در *E.coli* بیشتر از *S.aureus* می‌باشد؛ اما این اختلاف در MBC بیشتر است. در مقابل، میانگین هاله عدم رشد *S.aureus* بیشتر *E.coli* بوده است.

جدول ۵. نتایج آزمون t مستقل برای مقایسه میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH)

نتایج آزمون t برای مقایسه میانگین	فاصله اطمینان ۹۵٪		تفاوت خطای Std.	تفاوت میانگین	سیگما (دو طرفه)	درجه آزادی	t	سیگما	F	نتایج آزمون لون
	بالا	پایین								
واریانس‌های برابر فرض شده است	-۷۹۶/۳۱۰۷	-۸۳۴/۸۰۹۳۰	۶/۹۳۳۰۷	-۸۱۵/۵۶	۰/۰۰	۴	-۱۱۷/۶۳۳	۰/۱۲۷	۳/۷	واریانس‌های برابر فرض شده است
واریانس‌های برابر فرض نشده است	-۷۸۵/۸۰۹۴۳	-۸۴۵/۳۱۰۵۷	۶/۹۳۳۰۷	-۸۱۵/۵۶	۰/۰۰	۲/۰۰۶	-۱۱۷/۶۳۳			واریانس‌های برابر فرض نشده است

جدول ۶. آمار توصیفی متغیرهای حداقل غلظت بازدارنده رشد باکتری‌ها، حداقل غلظت کشندگی باکتری‌ها و هاله عدم رشد

میانگین	انحراف استاندارد	میانگین	گروه	متغیر
۳	۳/۶۰۸۴۴	۱۰/۴۱۶۷	<i>E.coli</i>	MIC
۳	۳/۶۰۸۴۴	۸/۳۳۳۳	<i>S. aureus</i>	
۳	۷/۲۱۶۸۸	۲۰/۸۳۳۳	<i>E.coli</i>	MBC
۳	۰/۰۰۰۰۰	۱۲/۵	<i>S. aureus</i>	
۳	۰/۵۷۷۳۵	۸/۳۳۳۳	<i>E.coli</i>	هاله عدم رشد
۳	۰/۵۷۷۳۵	۱۰/۶۶۶۷	<i>S. aureus</i>	

لذا طبق جدول ۹ مقدار شاخص t با توجه به برقراری فرض همسانی واریانس، جهت بررسی مقایسه ای میانگین MIC در دو گروه *E.coli* و *S.aureus* در حالت برابری واریانس برای این آزمون، برابر 0.707 است که در سطح ۵ درصد معنادار نمی باشد ($sig > 0.05$). بنابراین، گروه اثر معناداری بر MIC ندارد و تفاوت میانگین MIC در بین *E.coli* و *S.aureus* معنادار نمی باشد و براساس نتایج جدول ۹ میانگین متغیر MBC در *E.coli* بیشتر از *S.aureus* می باشد.

مطابق نتایج جدول ۱۰، مقدار U آزمون یو من ویتنی برای مقایسه میانگین MBC در گروه های مورد مطالعه برابر $1/5$ است که در سطح ۵ درصد معنادار نمی باشد ($sig > 0.05$)؛ لذا گروه اثر معناداری بر MBC ندارد و تفاوت میانگین MBC بین *E.coli* و *S.aureus* معنادار نمی باشد. همچنین همانطور که اشاره شد، متغیر هاله عدم رشد دارای توزیع نرمال می باشد.

مطابق نتایج جدول ۱۱، مقدار آماره F برای آزمون لون برای

مطابق نتایج جدول ۷، در تمامی متغیرها، به جز MBC، مقدار شاخص آزمون در سطح ۵ درصد معنادار نمی باشد ($sig > 0.05$)؛ لذا نمی توان فرض نرمال بودن متغیرهای MIC و هاله عدم رشد را رد کرد. در مقابل، مقدار شاخص آزمون متغیر MBC در سطح ۵ درصد معنادار است ($sig < 0.05$). بنابراین می توان گفت که متغیرهای MIC و هاله عدم رشد از توزیع نرمال برخوردار هستند، ولی متغیر MBC از توزیع نرمال پیروی نمی کند.

مطابق نتایج جدول ۸، مقدار شاخص F برای آزمون لون برای متغیر MIC برابر 0.000 است که در سطح ۵ درصد معنادار نمی باشد ($sig > 0.05$). این نتایج بیانگر این است که در سطح ۵ درصد، فرض برابر بودن واریانس بین دو گروه را نمی توان رد کرد ($sig > 0.05$) و واریانس متغیر وابسته دو گروه با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارند و شرط برابری واریانس ها مورد تایید است. به عبارت دیگر، شرط برابری واریانس های بین گروهی رعایت شده است و گروه ها دارای شباهت (همسانی) می باشند.

جدول ۷. آمار استنباطی حداقل غلظت بازدارنده، حداقل غلظت کشندگی و هاله عدم رشد آزمون کولموگروف اسمیرنوف

سطح معناداری سیگما	درجه آزادی	مقدار شاخص آزمون	متغیر
۰/۰۰۲	۶	۰/۴۰۷	MBC
۰/۰۵۶	۶	۰/۳۱۹	MIC
۰/۲	۶	۰/۱۹۵	هاله عدم رشد

جدول ۸. نتایج آزمون t مستقل برای مقایسه میانگین متغیر MIC

نتایج آزمون t برای مقایسه میانگین		نتایج آزمون لون	
فاصله اطمینان ۹۵٪	تفاوت خطای Std.	تفاوت میانگین	سیگما (دوطرفه)
بالا	پایین	درجه آزادی	t
۱۰/۲۶۳۵۱	-۶/۰۹۶۸۵	۴	۰/۷۰۷
۱۰/۲۶۳۵۱	-۶/۰۹۶۸۵	۴	۰/۷۰۷
			۱
			۰/۰۰۰
			واریانس های برابر فرض شده است
			واریانس های برابر فرض نشده است

جدول ۹. میانگین و مجموع رتبه های متغیر MBC

مجموع رتبه ها	میانگین رتبه	تعداد	گروه
۱۳/۵	۴/۵	۳	<i>E.coli</i>
۷/۵	۲/۵	۳	<i>S. aureus</i>
			MBC

جدول ۱۰. نتایج آزمون یو من ویتنی برای مقایسه میانگین متغیر MBC.

شاخص	MBC
Mann-Whitney U	۱/۵
Wilcoxon W	۷/۵
Z	-۱/۵۸۱
Asymp. Sig. (2-tailed)	۰/۱۱۴
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	۰/۲ ^b

متغیر هاله عدم رشد برابر ۰/۰۰۰ است که در سطح ۵ درصد معنادار نمی‌باشد ($\text{sig} > 0.05$). این نتایج بیانگر این است که در سطح ۵ درصد، فرض برابر بودن واریانس بین دو گروه را نمی‌توان رد کرد ($\text{sig} > 0.05$) و واریانس متغیر وابسته دو گروه با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارند و شرط برابری واریانس‌ها مورد تایید است. به عبارت دیگر، شرط برابری واریانس‌های بین گروهی رعایت شده و گروه‌ها دارای شباهت (همسانی) می‌باشند. علاوه بر این، جدول ۱۱ نشان می‌دهد که مقدار شاخص t با توجه به برقراری فرض همسانی واریانس، بررسی مقایسه ای میانگین هاله عدم رشد در *S.aureus* و *E.coli* در حالت برابری واریانس برای این آزمون، برابر ۴/۹۵- است که در سطح ۵ درصد معنادار می‌باشد ($\text{sig} < 0.05$). بنابراین، گروه اثر معناداری بر هاله عدم رشد دارد و بین میانگین هاله عدم رشد در دو گروه *S.aureus* و *E.coli* اختلاف معناداری وجود دارد.

طبق نتایج آزمایشات هاله عدم رشد، MIC و MBC در حضور باکتری‌های *S.aureus* و *E.coli* قطر هاله عدم رشد عصاره شقایق در حضور *S.aureus* بزرگتر می‌باشد که این امر نشان می‌دهد عصاره شقایق ممکن است دارای ترکیباتی باشد که به طور خاص برای مهار و از بین بردن باکتری گرم مثبت *S.aureus* مؤثرتر هستند. نتایج بدست آمده با یافته‌های افقیر و همکاران ۲۰۲۴ مطابق دارد [۸]. از سوی دیگر، نتایج

نشان می‌دهد، عصاره شقایق در مقابل *S.aureus* کارایی بیشتری دارد، زیرا هم MIC و هم MBC پایین‌تری در مقایسه با *E.coli* دارد. بنابراین قدرت ضد باکتریایی قوی تری دارد. به عبارت دیگر با کاهش میزان کدورت، عصاره شقایق رشد باکتری گرم مثبت *S.aureus* را نسبت به باکتری گرم منفی *E.coli* به مراتب بیشتر مهار کرده است. به همین علت مقادیر MIC باکتری *S.aureus* کمتر از باکتری *E.coli* می‌باشد. یافته‌های آزمون MIC عصاره شقایق با نتایج پژوهش افقیر و همکاران در سال ۲۰۲۴، هممو و همکاران در سال ۲۰۲۳ و چوبان و همکاران در سال ۲۰۱۷ مبنی بر مهار بیشتر *S.aureus* توسط عصاره شقایق مطابقت دارد [۷، ۸، ۱۵]. علاوه بر این با توجه به مقادیر کمتر MBC باکتری *S.aureus* نسبت به *E.coli* می‌توان نتیجه گرفت که عصاره شقایق در از بین بردن باکتری گرم مثبت *S.aureus* نسبت به باکتری گرم منفی *E.coli* مؤثرتر بوده است. لذا باکتری گرم مثبت کمتری رشد کرده و کمتر مشاهده شده است. یافته‌های آزمون MBC نتایج پژوهش افقیر و همکاران در سال ۲۰۲۴ مبنی بر رشد و مشاهده کمتر *S.aureus* در محیط حاوی عصاره شقایق تایید می‌نماید [۸].

۴- نتیجه گیری

تنوع ترکیبات زیست فعال در عصاره گلبرگ‌های شقایق، که هر کدام دارای خصوصیات فیزیکی و شیمیایی متفاوتی می‌باشند؛ نشان‌دهنده اهمیت زیستی یا فیزیولوژیکی آن‌ها در شقایق می‌باشد. قطبیت ترکیبات بر اساس زمان بازداری متفاوت ترکیبات، نشان‌دهنده تفاوت در قطبیت آن‌ها است، که می‌تواند در تعیین خواص حلالیت و واکنش‌پذیری شیمیایی آنها مؤثر باشد. علاوه بر این، ارزیابی‌های کیفیت مرتبط با هر ترکیب نیز در تایید هویت و اطمینان از دقت شناسایی ترکیبات، بسیار تاثیرگذار بوده است. همچنین از نتایج آزمون‌های فعالیت آنتی

جدول ۱۱. نتایج آزمون t مستقل برای مقایسه میانگین متغیر هاله عدم رشد.

فاصله اطمینان ۹۵٪	تفاوت خطای Std.		تفاوت میانگین	سیگما (دو طرفه)	درجه آزادی	t	سیگما	F	نتایج آزمون لون
	بالا	پایین							
-۱/۰۲۴۵	-۳/۶۴۲۱۶	۰/۴۷۱۴	-۲/۳۳۳۳۳	۰/۰۰۸	۴	-۴/۹۵	۱	۰/۰۰۰	واریانس‌های برابر فرض شده است
-۱/۰۲۴۵	-۳/۶۴۲۱۶	۰/۴۷۱۴	-۲/۳۳۳۳۳	۰/۰۰۸	۴	-۴/۹۵			واریانس‌های برابر فرض نشده است

9. K. Sarabandi, Z. Akbarbaglu, S. H. Peighambardoust, A. Ayaseh, S. M. Jafari, Food Chem..429: p. 136885.(2023).

10. A. Hmamou, E. M. El-Assri, M. El Khomsi, M. Kara, S. Zuhair Alshawwa, O. Al Kamaly, F. E. El oumari, N. Eloutassi, A. Lahkimi, Saudi Pharm. J., 31(8): p. 101686.(2023).

11. K. Gupcsó, Z. Kókai, M. Bálint, S. Tavaszi-Sárosi, É. Z. Németh, Foods.12(17): p.1-13.(2023).

12. H. J. Jafaar, O. Isbilen, E. Volkan, G. Sariyar, BMC Res. Notes, 14:(1) p. 348.(2021).

13. A. Shaghaghi, A. Alirezalu, E. Nazarianpour, A. Sonboli, S. Nejad-Ebrahimi, Ind. Crops Prod., 142: p. 111870(2019).

14. J. M. H. Velickovic, M. N. Mitic, B. B. Arsic, D. Paunovic, B. T. Stojanovic, J. N. Veljkovic, D. S. Dimitrijevic, S. D. Stevanovic, D. A. Kostic, HPLC Analysis of extracts of fresh petals of *Papaver rhoeas* L. Studia Universitatis Babes-Bolyai, Chemia, 2019. 3: p. 239-247.

15. İ. Çoban, G. Gulsoy Toplan, B. Özbek Çelik, Ç. Gürer, G. Sariyar, Variation of alkaloid contents and antimicrobial activities of *Papaver rhoeas* L. growing in Turkey and northern Cyprus. Pharm. Biol., 55(1): p. 1894-1898(2017).

16. D. A. Kostic, S. S. Mitic, M. N. Mitic, A. R. Zarubica, J. M. Velickovic, A. S. Dordevic, S. S. Randelovic, J. Med. Plant Res. 4(17): p. 1727-1732.(2010).

17. A. El Hamdaoui, F. Msanda, H. Boubaker, D. Leach, I. Bombarda, P. Vanloot, N. El Aouad, A. Abbad, E. H. Boudyach, F. Achemchem, A.

اکسیدانی، حداقل غلظت مهارکنندگی، حداقل غلظت کشندگی و هاله عدم رشد نیز می‌توان استنباط نمود؛ از گلبرگ های شقایق به عنوان گیاه دارویی می‌توان برای توسعه راهکارهای درمانی جدید با توجه به ویژگی های ضد میکروبی و ضدباکتریایی استفاده کرد.

مراجع

1. M. M. A. N. Ranjha, S. Amjad, S. Ashraf, L. Khawar, M. N. Safdar, S. Jabbar, M. Nadeem, S. Mahmood, M. A. Murtaza, Int. J. Fruit Sci., 20(sup3): p. S1201-S1221.(2020).

2. C. Ngernsaengsarua, N. Leksungnoen, P. Chanton, T. Andriyas, P. Thaweekun, S. Rueansri, R. Tuntianupong, W. Hauyluek, Plants. 12(11): p. 2105.(2023).

3. A. A. Jabbar, F. O. Abdullah, K. K. Abdulrahman, Y. Galali, A. S. Sardar, Research Square., p:1-18. (2022).

4. L.-X. Zheng, X.-Q. Chen, K.-L. Cheong, Int. J. Biol. Macromol., 151: p. 344-354.(2020).

5. Y. Zhao, J. Du, H. Zhou, S. Zhou, Y. Lv, Y. Cheng, Y. Tao, J. Lu, H. Wang, Food Hydrocoll., 129: p. 107665.(2022).

6. A. Pedramnia, A. Sharifi, H. Tavakolipour, Innovation in Food Science and Technology. 2(4):p. 45.(2010).

7. A. Hmamou, M. El Khomsi, E. M. El-Assri, M. Kara, F. El Ouadrhiri, A. Bendaoud, ... , A. Lahkimi, J. Ethnopharmacol., 319, 117208(2024).

8. H. Afqir, S. Belmalha, A. Farihi, A. Elbouzidi, M. Bouhrim, A. Elrherabi, A. Boutagayout, A. Oubihi, M. Ouhssine, Ecol. Eng. Environ. Tech.. 25(2): p.88–101.(2024).

Elmoslih, A. Ait Ben Aoumar, A. El Mousadik,
Biochem. Syst. Ecol.. 76: p. 1-7.(2018).

18. T.-B. Zou, M. Wang, R.-Y. Gan, W.-H. Ling,
Int. J. Mol. Sci.,12(5): p. 3006-3017.(2011).



Extraction and identification of phenolic compounds from papaver petals (*Papaver rhoeas L.*) and determination of their antioxidant and antibacterial activity

Fatemeh Gharahdaghigharahtappeh¹, Seyed Ebrahim Hosseini¹, Gholamhassan Asadi^{1*}, Zhaleh Khoshkhoo²

¹ Department of food science and technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

² Department of food science and technology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Abstract: This study aimed to extract and identify phenolic compounds from papaver petals (*Papaver rhoeas L.*) to evaluate their antioxidant activity, inhibitory, and bactericidal properties. Extraction, identification of bioactive compounds, quantification of active extract components, antioxidant activity, minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC), and inhibition zone were carried out using solvent extraction with ultrasound assistance, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), DPPH assay, MIC, MBC, and disk diffusion method, respectively. The GC-MS results led to the identification of 18 compounds from the ethanolic extract of papaver petals. Among these, hexadecanoic acid and 9, 12-octadecanoic acid were significantly more abundant than other compounds in the petals. Additionally, other important identified compounds included morphine and derivatives of mefenamic acid. Furthermore, the DPPH assay results indicated that the ethanolic extract of papaver petals has free radical scavenging ability and antioxidant activity. The inhibition zone, MIC, and MBC tests against *E. coli* and *S. aureus* showed that the ethanolic extract of papaver petals was more effective against *S. aureus*. Based on the above findings, it can be concluded that papaver petals possess antioxidant properties and exhibit antimicrobial characteristics.

Keywords: Antioxidant, Antimicrobial, Ultrasound, Chromatography.