

سنجش فعالیت ضداکسایشی و محتوی فنل کل در قسمت‌های مختلف دانه چهار ژنوتیپ آفتابگردان (*Helianthus annus* L.)

اسعد آقایی^۱، رضا درویش‌زاده^۲، علی‌اصغر حاتم‌نیا^{۳*}، نصرت‌اله عباسی^۴

^۱ کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

^۲ دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

^۳ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام

^۴ دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۵

چکیده

در این مطالعه محتوی فنل کل، محتوی فلاونوئید و فعالیت ضداکسایشی در قسمت‌های مختلف دانه (مغز و پوسته) چهار ژنوتیپ آفتابگردان مورد ارزیابی قرار گرفت. فعالیت ضداکسایشی عصاره‌ها با استفاده از سنجش‌های تعیین قدرت احیاکنندگی، ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت و ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH تعیین گردید. نتایج نشان داد که میزان محتوی فنل و فلاونوئید کل وابسته به قسمت‌های مختلف دانه و نوع ژنوتیپ می‌باشد، به طوری که محتوی فنل و فلاونوئید کل در مغز دانه به ترتیب ۷/۶ و ۳/۸ برابر میزان آنها در پوسته بود. فعالیت ضداکسایشی عصاره مغز به طور معنی‌داری بیشتر از عصاره پوسته بود که می‌توان آن را به میزان بالای محتوی فنل و فلاونوئید نسبت داد. به طور کلی نتایج نشان داد که ژنوتیپ S1 دارای بیشترین میزان محتوی فنل کل و فعالیت ضداکسایشی می‌باشد. در عصاره‌های مغز، ظرفیت همبستگی مثبت بین محتوی فنل کل با FRAP، ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت و ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH مشاهده گردید. نتایج این تحقیق نشان دادند که مغز دانه‌های آفتابگردان را می‌توان به عنوان ضداکساینده‌های طبیعی در رژیم غذایی مورد استفاده قرار داد.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، فعالیت ضداکسایشی، محتوی فنل، محتوی فلاونوئید پوسته، مغز.

مقدمه

درمقابل ژنوتیپ‌های آجیلی آفتابگردان، بذر بزرگتری داشته که غالباً سیاه رنگ با نوارهای سفید بوده، میزان روغن پایین (حدود ۳۰ درصد) و درصد پوسته بالاتری دارند، همچنین میزان پروتئین در این دانه‌ها بیشتر می‌باشد. نوع آجیلی یکی از مهمترین انواع آفتابگردان در ایران است که عمدتاً در نواحی شمال غرب و غرب ایران کاشت می‌شوند (وفایی و همکاران، ۱۳۸۷).

رادیکال‌های آزاد طی پدیده‌های بیوشیمیایی طبیعی بدن تولید می‌شوند. با وجود اینکه مقادیر کم

آفتابگردان (*Helianthus annus* L.) یک گونه از جنس *Helianthus* و خانواده Asteraceae (Compositae) است که عمدتاً شامل سه نوع روغنی، آجیلی (غیر روغنی) و زینتی می‌باشد (Gonzalez-Perez and Vereijken, 2007). ژنوتیپ‌های روغنی آفتابگردان، دارای بذر سیاه کوچک با میزان پوسته کم و روغن بسیار بالایی می‌باشند (حدود ۵۰ درصد).

*نویسنده مسئول: hatamniya60@gmail.com

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: چهار ژنوتپ بانه-قلمی (S1)، ارومیه-پسته‌ای (S2)، همدان-قلمی (S3) و سقز-قلمی (S4) از نوع آجیلی بوده و از توده خزانه ژنی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه ارومیه تهیه گردیدند.

عصاره‌گیری ترکیبات فنلی: ۱/۵ گرم از پودرهای آماده شده با ۲۵ میلی‌لیتر از متانول مخلوط شده و با استفاده از دستگاه سوکسله در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۳۰ دقیقه عصاره‌گیری شد (Wijeratne et al., 2006).

تعیین محتوی فنل کل: محتوی فنل کل موجود در عصاره‌ها با استفاده از معرف فولین سیوکالتو و طبق روش Tsantili و همکاران (۲۰۱۰) با اندکی تغییرات تعیین گردید. به ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده، ۰/۲ میلی‌لیتر معرف سیوکالتو و ۲/۶ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. بعد از ۳ دقیقه ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷ درصد به آن اضافه شد و به صورت دوره‌ای به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق بهم زده شد. با گذشت ۹۰ دقیقه جذب مخلوط در دمای اتاق و در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Biowave, WPA S2100, England) اندازه‌گیری و مقدار آن با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه گردید.

تعیین محتوی فلاونونوئیدی کل: محتوی فلاونونوئید موجود در عصاره‌ها طبق روش Lenucci و همکاران (۲۰۰۶) با اندکی تغییرات سنجیده شد. به این صورت که ۰/۲۵ میلی‌لیتر از عصاره‌های ۱۰ برابر رقیق شده با ۱/۲۵ میلی‌لیتر از آب مقطر و ۰/۰۷ میلی‌لیتر نیتريت سدیم ۵ درصد مخلوط شد. بعد از گذشت ۵ دقیقه، ۰/۱۵ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به آن اضافه و اجازه داده شد تا واکنش کامل شود. بعد از زمان ۶ دقیقه، ۰/۵ میلی‌لیتر هیدرواکسید سدیم یک مولار به آن اضافه شد. در پایان به تمامی لوله‌های آزمایش یک میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و بلافاصله جذب آن

این رادیکال‌ها چندان برای بدن مضر نیستند افزایش مقدار آنها در داخل بدن می‌تواند سبب اکسیده شدن مولکول‌های بدن مانند پروتئین‌ها، لیپیدها و حتی DNA شده و در نتیجه باعث ایجاد طیفی از بیماری‌های مختلف مانند سرطان، بیماری‌های قلبی-عروقی، التهابی و غیره شوند (Kaur and Kapoor, 2001; Hu and Willett, 2002; Gomes et al., 2003). از این رو انسان ناگزیر به استفاده از ترکیبات ضد اکساینده می‌باشد که در سال‌های اخیر ترکیبات مصنوعی از جمله BHT (butylated hydroxytoluene) BHA (butylated hydroxyanisole) PG (propyl gallate) و TBHQ (tertiary butyl hydroxyl quinone) تولید شدند که با وجود داشتن خواص ضد اکسایشی دارای اثرات مضر مانند سرطان‌زایی می‌باشند (Huang et al., 2005). از این رو مطالعات زیادی برای یافتن ترکیبات طبیعی و بخصوص گیاهی انجام شده و هنوز در حال انجام است.

ترکیبات ضد اکساینده گیاهی تنوع و گستره بالایی دارند اما در میان آنها بیشتر توجهات معطوف به ترکیبات فنلی است زیرا این ترکیبات دارای توانایی بالایی در جاروب کردن و از بین بردن رادیکال‌های آزاد هستند (Parr and Bolwell, 2000; Kulisic et al., 2004). در میان میوه‌ها و دانه‌هایی که حاوی ضد اکساینده‌های طبیعی هستند، آفتابگردان به عنوان منبعی قابل توجه از ترکیبات فنلی شناخته شده است و با توجه به میزان بالای مصرف محصولات آن در رژیم غذایی، می‌تواند جایگاه ویژه‌ای در مبارزه با عوامل اکساینده داشته باشد (Velioglu et al., 1998; Pedrosa et al., 2000; Halvorsen et al., 2002). لذا در این مطالعه سعی شده که ظرفیت و توانایی ضد رادیکالی عصاره‌های پوسته و مغز دانه چند ژنوتپ آجیلی آفتابگردان سنجیده شود.

موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد. درصد جمع‌آوری از رابطه زیر بدست آمد.

$$\text{درصد جمع‌آوری} = \frac{100}{A_{\text{sample}}} (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}})$$

رادیکال

سنجش قدرت احیاءکنندگی: قدرت احیاءکنندگی عصاره‌ها با استفاده از سنجش FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) بر اساس روش Nilsson و همکاران (۲۰۰۵) تعیین گردید. ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌های تهیه شده با ۳ میلی‌لیتر از معرف FRAP مخلوط شد. سپس در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید و جذب واکنش در ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار آن با استفاده از منحنی استاندارد اسید آسکوربیک محاسبه شد.

در این تحقیق اختلاف بین قسمت‌های مختلف دانه و انواع ژنوتیپ‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و تست Tukey در سطح آماري ۵ درصد ($P < 0.05$) آنالیز گردید. همبستگی بین پارامترهای مختلف مورد مطالعه بررسی شد. به‌منظور محاسبات آماری و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار SPSS استفاده گردید.

نتایج

مقایسه محتوی فنل کل پوسته و مغز دانه‌ی ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان در شکل ۱ نشان داده شده است. محتوی فنل کل در دامنه‌ی بین ۱/۵۵ (پوسته ژنوتیپ S4) تا ۲۰/۱۲ (مغز ژنوتیپ S1) میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک وجود داشت که میان بخش‌های مختلف دانه و ژنوتیپ‌های مختلف اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد ($P < 0.05$) در میزان محتوی فنل کل مشاهده شد، به‌طوری که میزان فنل کل پوسته حدود ۱۳ درصد میزان فنل کل مغز بود. بیشترین میزان محتوی فنل کل در مغز مربوط به ژنوتیپ S1 (۲۰/۱۲ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) و کمترین میزان محتوی فنل کل مربوط

بوسیله‌ی دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۰nm سنجیده شد و مقدار آن با استفاده از منحنی استاندارد کاتچین محاسبه شد.

ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH: میزان جمع‌آوری رادیکال DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) با استفاده از روش Wu و همکاران (۲۰۰۳) با اندکی تغییرات محاسبه گردید. طبق این روش ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره‌ها با ۱/۵ میلی‌لیتر از DPPH (۱/۵ میلی‌مولار در اتانول ۹۶ درصد) مخلوط گردید. سپس بعد از انکوبه کردن در تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه جذب آن در ۵۱۵ نانومتر خوانده شد. سپس درصد جمع‌آوری رادیکال DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{RAS\%} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$

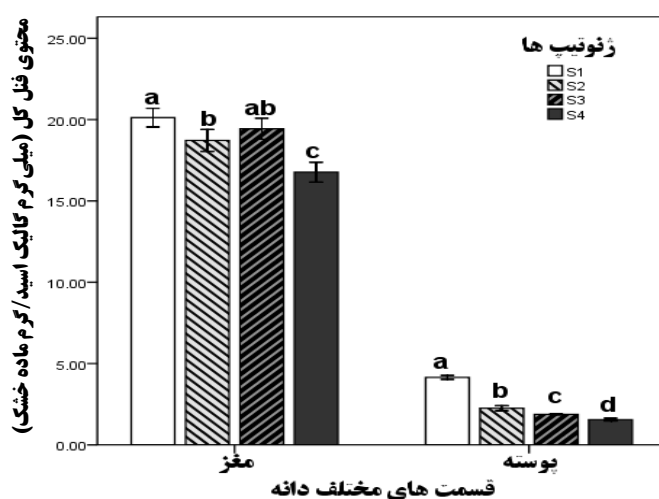
در این معادله A_0 مربوط به شاهد (شامل تمامی عوامل واکنش به استثناء عصاره) و A_1 مربوط به محلول واکنش حاوی عصاره است. EC_{50} غلظتی از عصاره بوده که در آن غلظت میزان جمع‌آوری رادیکال ۵۰ درصد است.

ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت: برای سنجش ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت از واکنش Griess Illosvoy استفاده شد (Garrat, 1964). مخلوط واکنش حاوی ۲ میلی‌لیتر سدیم نیتروپروسید (۱۰ میلی‌مولار)، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین و ۵۰ میکرولیتر عصاره تهیه شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵۰ دقیقه انکوبه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از مخلوط واکنش به یک میلی‌لیتر از معرف سولفانیلک اسید (۳۳ درصد در استیک اسید گلاسیال ۲۰ درصد) اضافه و اجازه داده شد برای مدت ۵ دقیقه واکنش کامل گردد. سپس یک میلی‌لیتر نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلرید به آن اضافه شد و برای مدت ۳۰ دقیقه مخلوط در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. در پایان به تمامی نمونه‌ها ۲ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه، و جذب محلول در طول

فلاوونوئید کل در بین بخش‌های مختلف دانه و ژنوتیپ‌های مختلف وجود دارد، به طوری که مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان فلاوونوئید کل مغز حدود ۳/ برابر میزان فلاوونوئید کل پوسته می‌باشد. همچنین بیشترین و کمترین میزان محتوی فلاوونوئید کل به ترتیب در مغز ژنوتیپ S3 (۷/۱۳ میلی‌گرم کاتچین/ گرم ماده خشک) و پوسته S4 (۰/۲۹ میلی‌گرم کاتچین/ گرم ماده خشک) مشاهده شد.

به ژنوتیپ S4 (۱۶/۷۷ میلی‌گرم/ گرم ماده خشک) بود، همچنین بیشترین و کمترین میزان محتوی فنل کل پوسته به ترتیب در ژنوتیپ S1 (۴/۱۵ میلی‌گرم/ گرم ماده خشک) و S4 (۱/۵۵ میلی‌گرم/ گرم ماده خشک) مشاهده شد.

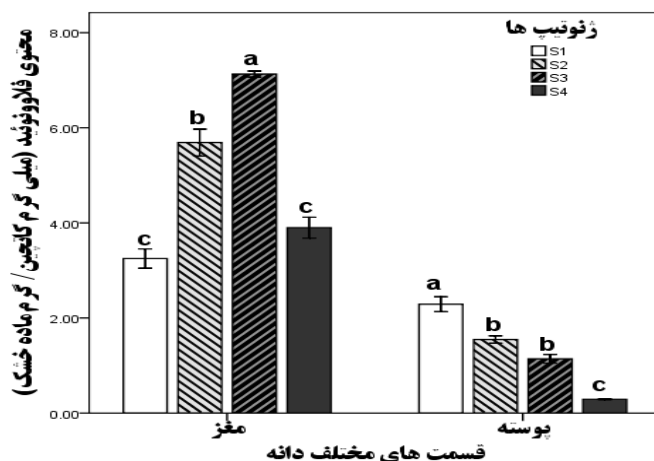
محتوی فلاوونوئید کل پوسته و مغز دانه‌ی ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد ($P < 0/05$) در میزان محتوی



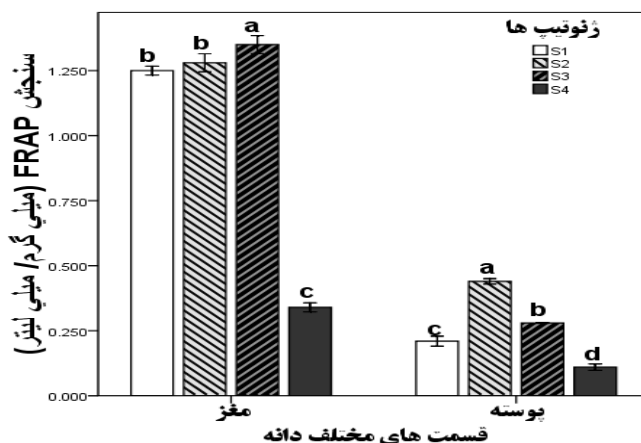
شکل ۱: محتوی فنل کل در بین قسمت‌های مختلف دانه و ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان. ستون‌های عمودی نشانگر میانگین و انحراف معیار هستند. میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. S1 (بانه-قلمی)، S2 (ارومیه-پسته‌ای)، S3 (همدان-قلمی) و S4 (سقر-قلمی).

ژنوتیپ S4) تا ۱/۳۵ (مغز ژنوتیپ S3) میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را از خود نشان دادند. همچنین عصاره پوست ژنوتیپ S2 در میان پوسته‌ها فعالیت ضد اکسایشی بیشتری را از خود نشان داد و در بین عصاره‌های مربوط به قسمت مغز بیشترین میزان فعالیت سنجش FRAP در ژنوتیپ S3 مشاهده شد (شکل ۳).

بر اساس نتایج به دست آمده از فعالیت سنجش FRAP، اختلاف معنی‌دار بین قسمت‌های مختلف دانه و ژنوتیپ‌های مختلف در سطح احتمال ۵ درصد مشاهده شد (شکل ۳). به طوری که مقایسه میانگین‌ها نشان داد که فعالیت سنجش FRAP در مغز (۱/۰۵ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) حدوداً ۴ برابر پوسته (۰/۲۶ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) می‌باشد. بخش‌های مختلف دانه فعالیت ضد اکسایشی با دامنه‌ای از ۰/۱۱ (پوسته



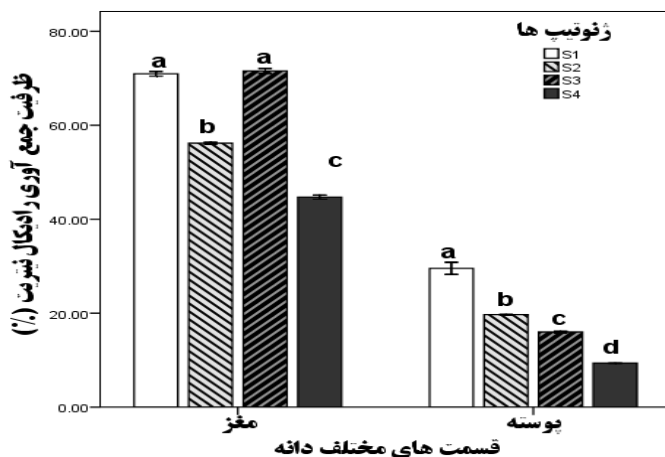
شکل ۲: محتوی فلاونوئید کل در بین قسمت‌های مختلف دانه و ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان. ستون‌های عمودی نشانگر میانگین و انحراف معیار هستند. میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. S1 (بانه-قلمی)، S2 (ارومیه-پسته‌ای)، S3 (همدان-قلمی) و S4 (سقر-قلمی).



شکل ۳: سنجش FRAP در بین قسمت‌های مختلف دانه و ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان. ستون‌های عمودی نشانگر میانگین و انحراف معیار هستند. میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. S1 (بانه-قلمی)، S2 (ارومیه-پسته‌ای)، S3 (همدان-قلمی) و S4 (سقر-قلمی).

درصد مشاهده شد، چنانچه در بین عصاره‌های مربوط به قسمت مغز دانه ژنوتیپ‌ها بیشترین و کمترین درصد ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت به ترتیب در ژنوتیپ‌های S3 (۷۱/۵۶٪) و S4 (۴۴/۷۰٪) مشاهده شد. همچنین بیشترین درصد ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت در بین عصاره‌های مربوط به قسمت پوسته دانه در ژنوتیپ S1 (۲۹/۵۴٪) بود.

همان‌گونه که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، در قسمت‌های مختلف دانه از نظر ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت تفاوت معنی‌داری وجود دارد، به‌طوری‌که میانگین ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت در مغز دانه‌ها ۶۰/۸۵ درصد و در پوسته دانه‌ها ۱۸/۶۵ درصد می‌باشد. علاوه بر این، در بین ژنوتیپ‌ها نیز اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵



شکل ۴: ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت در بين قسمت‌های مختلف دانه و ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان. ستون‌های عمودی نشانگر میانگین و انحراف معیار هستند. میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند. S1 (بانه-قلمی)، S2 (ارومیه-پسته‌ای)، S3 (همدان-قلمی) و S4 (سقز-قلمی).

ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH در ژنوتیپ S1 به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود.

نتایج مربوط به شاخص EC_{50} در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان شاخص EC_{50} رابطه منفی با فعالیت‌های ضد اکسایشی دارد، چنانچه شاخص EC_{50} پایین‌تر نشان‌دهنده فعالیت ضد اکسایشی بالاتر و بر عکس می‌باشد. نتایج مربوط به مقایسه میانگین‌ها نشان داد که شاخص EC_{50} برای پوسته (۰/۶۱۷ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) و مغز (۰/۱۰۶ میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) می‌باشد، که نشان‌دهنده رابطه منفی بین شاخص EC_{50} با فعالیت‌های ضد اکسایشی است.

نتایج مربوط به میزان ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH در جدول ۱ ارائه شده است. داده‌های بدست آمده در این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد ($P < 0/05$) در بین قسمت‌های مختلف دانه مشاهده شد. میانگین ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH در مغز و پوسته به‌ترتیب ۷۷/۴۲ و ۲۸/۵۹ درصد بود. نتایج نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها نیز اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد ($P < 0/05$) مشاهده گردید. به‌طوری‌که در مغز، بیشترین و کمترین میزان ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH به‌ترتیب در ژنوتیپ‌های S1 و S2 با ۸۷/۵۳ و ۶۲/۴۶ درصد دیده شد. همچنین در پوسته میزان

جدول ۱: ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH (%) و شاخص EC_{50} (میلی‌گرم/ میلی‌لیتر) در بین قسمت‌های مختلف دانه و ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان. داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار می‌باشند.

قسمت‌های مختلف دانه/ژنوتیپ	بانه-قلمی (S1)	ارومیه-پسته‌ای (S2)	همدان-قلمی (S3)	سقز-قلمی (S4)
مغز				
جمع‌آوری رادیکال DPPH	۸۷/۵ \pm ۰/۳۸ a	۶۲/۴ \pm ۰/۲۵ c	۸۷/۴ \pm ۰/۳۱ a	۷۲/۱ \pm ۰/۱۶ b
شاخص EC_{50}	۰/۰۹۲ \pm ۰/۰۱۴ c	۰/۱۲۶ \pm ۰/۰۱۵ a	۰/۰۹۹ \pm ۰/۰۱۵ ab	۰/۱۱۰ \pm ۰/۰۰۵ ab
پوسته				
جمع‌آوری رادیکال DPPH	۳۹/۳ \pm ۰/۶۹ a	۲۴/۰ \pm ۰/۶۰ c	۲۲/۸ \pm ۱/۳۱ c	۲۸/۵ \pm ۰/۶۲ b
شاخص EC_{50}	۰/۳۹ \pm ۰/۰۸ b	۰/۷۷ \pm ۰/۱۱ a	۰/۷۴ \pm ۰/۱۳ a	۰/۵۷ \pm ۰/۰۱ ab

*در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف متفاوتی هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

مشاهده نشد. در قسمت پوست دانه بین محتوی فنل کل با ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت ($r = 0/956$) و ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH ($r = 0/848$) همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده گردید و همچنین بین محتوی فلاونوئید کل با ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r = 0/976$) دیده شد (جدول ۲).

همبستگی بین شاخص‌های مختلف اندازه‌گیری شده در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد در قسمت مغز دانه بین محتوی فنل کل با سنجش FRAP ($r = 0/877$)، ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت ($r = 0/927$) و ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH ($r = 0/578$) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد، اما بین محتوی فلاونوئید با سنجش‌های ضداکسایشی اندازه‌گیری شده همبستگی معنی‌داری

جدول ۲: همبستگی بین محتوی فنل کل، محتوی فلاونوئیدها، سنجش FRAP، ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت، ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH و EC_{50} در قسمت‌های مختلف دانه‌ی ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان.

EC_{50}	ظرفیت جمع- آوری رادیکال DPPH	ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت	FRAP سنجش	محتوی فلاونوئید	محتوی فنل کل	
						مغز دانه
-0/397	0/578*	0/927**	0/877**	0/162	1	محتوی فنل کل
-0/164	-0/010	0/284	0/476	1		محتوی فلاونوئید
-0/101	0/302	0/843**	1			سنجش FRAP
-0/496	0/765**	1				ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت
-0/751**	1					ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH
1						EC_{50}
						مغز دانه
-0/747*	0/848**	0/956**	0/009	0/884**	1	محتوی فنل کل
-0/337	0/528	0/976**	0/398	1		محتوی فلاونوئید
0/592*	-0/463	0/278	1			سنجش FRAP
-0/437	0/663*	1				ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت
-0/846*	1					ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH
1						EC_{50}

* همبستگی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار می‌باشند. ** همبستگی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشند.

ژنوتیپ‌های چینی (۱۰/۸۸ میلی‌گرم/ گرم ماده خشک) و مصری (۶/۸۸ میلی‌گرم/ گرم ماده خشک) گزارش شده است (Hamed et al., 2012). همچنین Pedrosa و همکاران (۲۰۰۰) گزارش داده‌اند که

بحث

میانگین محتوی فنل کل برای مغز دانه در این مطالعه ۱۸/۷۶ میلی‌گرم/ گرم ماده خشک بود که بسیار بالاتر از مقداری است که برای مغز آفتابگردان

توانایی احیاء عصاره‌های سنجیده شده با FRAP همبستگی بالایی ($r=0/877$ برای مغز) مشاهده شد، همچنین Szydłowska-Czeraniak و همکاران (۲۰۱۱) همبستگی بالایی را در مورد محتوی فنل کل پوسته آفتابگردان و سنجش FRAP ($r=0/92$) گزارش کردند. در مورد محتوی فلاونوئید این همبستگی ضعیف بود. به هر حال بایستی به این نکته اشاره کرد که علاوه بر میزان فنل کل که در ظرفیت ضد اکسایشی موثر هستند، انواع مختلف ترکیبات فنلی نیز دارای ظرفیت و توان ضد اکسایشی مختلفی می‌باشند، پس قابل پیش بینی است که ژنوتیپ‌های مختلف حتی با میزان مشابه محتوی فنل کل دارای توانایی ضد اکسایشی مختلفی باشند (Szydłowska-Czeraniak et al., 2011; Hatamnia et al., 2015).

رادیکال نیتريت نتیجه واکنش نیتريك اكسيد با اكسيژن می‌باشد، از طرف دیگر مواد ضد اکساینده مانند ترکیبات فنلی می‌توانند در رقابت با نیتريك اكسيد با اكسيژن ترکیب شده و تشکیل رادیکال نیتريت را به میزان زیادی کاهش دهند و آن را به محصولات احیایی تبدیل نماید (Marcocci et al., 1994). بنابراین ظرفیت جمع‌آوری رادیکال نیتريت یکی از سنج‌های مهم ارزیابی برای ترکیبات ضد اکساینده محسوب می‌شود (حاتم نیا و ملک زاده، ۱۳۹۴).

در سنجش DPPH، رادیکال DPPH توسط یک ترکیب ضد اکساینده مانند ترکیبات فنلی احیاء شده و به شکل خنثی تبدیل می‌گردد. ترکیبات فنلی با دادن یک اتم هیدروژن به DPPH سبب تبدیل آن به فرم DPPH-H شده و در حین انجام این واکنش رنگ محلول از بنفش (حالت رادیکال) به زرد (حالت خنثی) تبدیل می‌شود (Shahidi and Wanasundara, 1992; Sanchez-Moreno et al., 1999; Huang et al., 2005). همچنین توانایی عصاره‌ها در خنثی سازی نیمی از رادیکال‌های

پوسته دانه آفتابگردان تنها حدود ۰/۷ تا ۵/۴ درصد از کل محتوی فنل دانه را در خود دارد در حالی که متوسط مقادیر فنل کل برای پوسته در این مطالعه حدود ۲/۴۶ میلی‌گرم/گرم ماده خشک بوده و ۱۱/۵۹ درصد از فنل کل دانه را به خود اختصاص داده است که بیشتر از میزان گزارش شده توسط Pedrosa و همکاران (۲۰۰۰) می‌باشد. همچنین میانگین مقادیر فنل کل برای پوسته در این مطالعه (۲/۴۶ میلی‌گرم/گرم ماده خشک) بیشتر از مقادیر گزارش شده توسط Szydłowska-Czeraniak و همکاران (۲۰۱۱) است که برابر ۱/۶۶ میلی‌گرم/گرم ماده خشک بود. به هر حال میزان pH و نوع حلال استفاده شده نیز می‌تواند در میزان فنل کل تشخیص داده شده موثر باشد (Leonardis et al., 2005). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۵ درصد ($P<0/05$) در میزان محتوی فنل و فلاونوئید کل در بین ژنوتیپ‌های مختلف وجود داشت، به طوری که در هر دو قسمت دانه (مغز و پوسته) بیشترین میزان محتوی فنل کل در ژنوتیپ S1 و کمترین میزان در ژنوتیپ S4 مشاهده شد (شکل ۱). همچنین اختلاف معنی‌داری میان ژنوتیپ‌های مختلف از لحاظ محتوی فنل و فلاونوئید کل مشاهده شد که می‌تواند در اثر اختلاف در محیط رشد گیاه و همچنین عامل ژنوتیپ باشد (Akbari et al., 2012; Hatamnia et al., 2015).

همچنین در این تحقیق قدرت عصاره‌ها در احیاء کردن یون فریک بوسیله سنجش FRAP مورد ارزیابی قرار گرفت. این سنجش روشی است ساده، ارزان، سریع و بسیار حساس که توانایی احیاء ترکیبات رادیکالی را با محاسبه میزان تبدیل یون فریک (Fe^{3+}) به فرس (Fe^{2+}) به عنوان معیاری برای پی بردن به توانایی ضد اکسایشی مورد ارزیابی قرار می‌دهد (Prior and Cao, 1999). بین محتوی فنل کل و

منابع

حاتم نیا، ع.ع. و ملک زاده، پ. (۱۳۹۴). سنجش میزان محتوی فنل کل و فعالیت ضداکسایشی در قسمت‌های مختلف میوه بنه (*Pistacia atlantica* subsp. *Kurdica*). فصلنامه فیزیولوژی محیطی گیاهی. شماره ۳۷. سال دهم. جلد ۱. صفحات ۸-۱.

وفایی، ن.، توکلی پور، ح و قدس ولی، ع. (۱۳۸۷). بررسی عوامل موثر بر ظرفیت پوست گیری و برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی دانه آفتابگردان روغنی استان گلستان. هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی. ۲۳ تا ۲۵ مهر. مشهد.

- Akbari, V., Jamei, R., Heidari, R. and Jahanban Sfhlan, A. (2012). Antioxidant activity of different parts of Walnut (*Juglans regia* L.) fruit as a function of genotype. *Food Chemistry*. 135: 2404–2410.
- De Leonardis, A., Macciola, V. and Di Domenico, N. (2005). A first pilot study to produce a food antioxidant from sunflower seed shells (*Helianthus annuus*). *European Journal of Lipid Science and Technology*. 107: 220–227.
- Garrat, D.C. (1964). *The quantitative analysis of drugs* (Vol. 3). pp. 456–458. Japan: Chapman and Hall.
- Gomes, C.A., Cruz, T.G., Andrade, J.L., Milhazes, N., Borges, F. and Marques, M.P. (2003). Anticancer activity of phenolic acids of natural or synthetic origin: A structure activity study. *Journal of Medicinal Chemistry*. 46: 5395–5401.
- Gonzalez-Perez, S. and Vereijken, J.M. (2007). Sunflower proteins: Overview of their physicochemical, structural and functional properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87: 2173–2191.
- Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M.C., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S.F., Wold, A.B., Haffner, K., Baugerod, H., Andersen, L.F., Moskaug, J.O., Jacobs, D.R. and Blomhoff, R. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *The Journal of Nutrition*. 132: 461–471.
- Hamed, S.F., Suzanne Wagdy, M. and Megahed, M.G. (2012). Chemical characteristics and antioxidant capacity of

DPPH به‌وسیله شاخص EC_{50} مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنان که اشاره شد عوامل ژنوتیپی، شرایط اکولوژیکی و محیطی گیاه می‌تواند روی تولید ترکیبات فنلی و همچنین مکان تجمع آنها و در نهایت روی میزان فعالیت ضداکسایشی بخش خاصی از گیاه تاثیر گذار باشد (Kalt, 2005; Akbari et al., 2012). بنابراین، همان طوری که نتایج نشان داد ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH در بین قسمت‌های مختلف دانه و ژنوتیپ‌های مختلف دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد، به‌طوری‌که فعالیت ضداکسایشی مغز بیشتر از پوسته و بیشترین میزان ظرفیت جمع‌آوری رادیکال DPPH در ژنوتیپ S1 مشاهده شد (جدول ۱).

نتیجه‌گیری نهایی

هدف از این تحقیق ارزیابی فعالیت ضداکسایشی و محتوی فنل کل در پوسته و مغز دانه‌ی ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان بود. نتایج نشان داد که مغز دانه دارای مقادیر چشم‌گیری از ترکیبات فنلی هستند، از طرفی پوسته‌ها نیز از این ترکیبات بی‌بهره نبودند و می‌توانند به عنوان یک محصول جانبی به همراه مغزهای کوچک در تغذیه بطور مورد استفاده قرار گیرد. همچنین همبستگی بالایی بین محتوی فنل کل و فعالیت ضداکسایشی مشاهده شد، به‌طوری‌که ژنوتیپ S1 با بالاترین میزان محتوی فنل کل دارای بیشترین فعالیت ضداکسایشی بود. با توجه به اینکه نوع ترکیبات فنلی نیز علاوه بر میزان فنل در فعالیت ضداکسایشی موثر است می‌توان گفت که این ژنوتیپ دارای ترکیباتی با فعالیت ضداکسایشی قوی‌تری می‌باشند. در کل می‌توان گفت که دانه‌های آفتابگردان می‌توانند منبع طبیعی مناسبی برای ترکیبات ضداکساینده باشند.

- Ayet, G. and Robredo, L.M. (2000).** Determination of caffeic and chlorogenic acids and their derivatives in different sunflower seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80: 459–464.
- Prior, R.L. and Cao G. (1999).** In vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*. 27: 1173–1181.
- Parr, A.J. and Bolwell, G.P. (2000).** Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80: 985–1012.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. and Saura-Calixto, F. (1999).** Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International*. 32: 407–412.
- Shahidi, F. and Wanasundara, J.P.D. (1992).** Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 32: 67–103.
- Szydłowska-Czerniak, A., Trokowski, K. and Szlyk, E. (2011).** Optimization of extraction conditions of antioxidants from sunflower shells (*Helianthus annuus* L.) before and after enzymatic treatment. *Industrial Crops and Products*. 33: 123–131.
- Tsantili, E., Shin, Y., Nock, J.F. and Watkins, C.B. (2010).** Antioxidant concentrations during chilling injury development in peaches. *Postharvest Biology and Technology*. 57: 27–34.
- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B.D. (1998).** Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 4113–4117.
- Wijeratne, S.S.K., Abou-Zaid, M.M. and Shahidi, F. (2006).** Antioxidant polyphenols in almond and its coproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 312–318.
- Wu, H.C., Chen, H.M. and Shiau, C.Y. (2003).** Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*. 36: 949–957.
- Egyptian and Chinese sunflower seeds. *Life Science Journal*. 9: 320–328.
- Hatamnia, A.A., Rostamzad, A., Hosseini, M., Abbaspour, N., Darvishzadeh, R., Malekzadeh, P. and Mohammad Aminzadeh, B. (2015).** Antioxidant capacity and phenolic composition of leaves from ten Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) genotypes. *Natural Product Research*. Article in Press.
- Hu, F.B. and Willett W.C. (2002).** Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *Journal of the American Medical Association*. 288: 2569–2578.
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L. (2005).** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 1841–1856.
- Kalt, W. (2005).** Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*. 70: R11–R19.
- Kaur, C. and Kapoor H.C. (2001).** Antioxidants in fruits and vegetables – the millenium’s health. *International Journal of Food Science and Technology*. 36: 70–725.
- Kulicic, T., Radonic, A., Katalinic, V. and Milos, M. (2004).** Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*. 85: 633–640.
- Lenucci, M.S., Cadinu, D., Taurino, M., Piro, G. and Dalessandro, G. (2006).** Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 398–415.
- Marcocci, L., Packer, L., Droy-Lefai, M.T., Sekaki, A. and Gardes-Albert, M. (1994).** Antioxidant action of *Ginkgo biloba* extracts EGb 761. *Methods in Enzymology*. 234: 462–475.
- Nilsson, J., Pillai, D., Onning, G., Persson, C., Nilsson, A. and Akesson, B. (2005).** Comparison of the 2,2'-azinobis-3-ethylbenzotiazo-line-6-sulfonic acid (ABTS) and ferric reducing anti-oxidant power (FRAP) methods to asses the total antioxidant capacity in extracts of fruit and vegetables. *Molecular Nutrition and Food Research*. 49: 239–246.
- Pedrosa, M.M., Muzquiz, M., Garcí-a-Vallejo, C., Burbano, C., Cuadrado, C.,**